

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. Niklewski (Poznań), *Fr. X. Skupieński* (Łódź),

W. Szafer (Kraków), *P. Wiśniewski* (Lublin), *J. Zabłocki* (Toruń).

Redaktorzy — Rédacteurs:

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



W A R S Z A W A



TREŚĆ — SOMMAIRE:

Vol. XXIII. Nr 2.

	Str.
Bauer Z.: Badania cyto-ekologiczne nad trzema gatunkami tatrzańskimi rodzaju <i>Ranunculus</i> L. — Cyto-ecological studies in three species of <i>Ranunculus</i> from the Tatra Mts.	229
Szwabowicz A.: Badania embriologiczne nad <i>Hypochoeris uniflora</i> Vill. — Embryological studies in <i>Hypochoeris uniflora</i> Vill.	243
Gajewski W.: An amphiploid hybrid of <i>Geum urbanum</i> L. and <i>G. molle</i> Vis. et Panc.	259
Zurzycka A. i Zurzycki J.: Badania nad ruchami fototaktycznymi chloroplastów. II. — Studies on the phototactic movements of chloroplasts. II.	279
Miczyński K.: Badania nad zmiennością wirusa ziemniaczanego „X” pod wpływem ultradźwięku. — Investigations on the mutations of potato virus „X” induced by ultrasonics	289
Ryka C.: Studia cytologiczne nad <i>Vicia cracca</i> L. i <i>V. tenuifolia</i> Rth. — Cytological studies in <i>Vicia cracca</i> L. and <i>V. tenuifolia</i> Rth.	321
Kostecka-Mądalska O.: Próby skrócenia okresu wegetacji u <i>Ricinus communis</i> L. — Endeavour of shortening of the vegetation period of <i>Ricinus communis</i> L.	335
Skalińska M.: Meiosis in a polyhaploid twin plant and a hexaploid hybrid of <i>Valeriana sambucifolia</i> Mik.	359
Banach-Pogan E.: Badania kariologiczne nad gatunkami rodzaju <i>Dentaria</i> L. występującymi w Polsce. — Karyological studies in species of <i>Dentaria</i> L. occurring in Poland	375
Bajer A.: Cine-Micrographic studies on mitosis in endosperm I. — Badania kinematograficzne nad mitozą w endospermie I.	383
Kurtz W.: Plankton stawów rybackich (zimochowów) w Żabieńcu. — Le plancton des étangs viviers de Żabieniec	413
Biuletyn Ogrodów Botanicznych. Nr. 1	431

Badania cyto-ekologiczne nad trzema gatunkami tatrzańskimi rodzaju *Ranunculus* L.

*Cyto-ecological studies in three species of Ranunculus
from the Tatra Mts.*

ZOFIA BAUER

z Zakładu Anatomii i Cytologii Roślin U. J.

(Wpłynęło 28.X.53)

WSTĘP

Przedmiotem niniejszej pracy było cytologiczne opracowanie trzech gatunków z rodzaju *Ranunculus*, a mianowicie:

R. platanifolius L.

R. alpestris L.

R. glacialis L.

Badania moje dotyczyły:

1. Ustalenia somatycznej liczby chromosomów
2. Morfologii chromosomów.

Poprzednio rodzaj *Ranunculus* był cytologicznie badany przez licznych autorów; prace Sorokin (1924) i Senjaninovej (1926) prowadzone były nad gatunkiem *R. acris* L. Prace Langleta (1927, 1932) podają somatyczne liczby chromosomów licznych gatunków tego rodzaju. W pracy Lartera (1932) uwzględniona została morfologia chromosomów i mejoza w komórkach macierzystych ziarn pyłku. Böcher (1938) opracował mejozy u niektórych gatunków północnych rodzaju *Ranunculus*. Badania Gregory'ego (1941) dotyczące filogenezy i cytologii *Ranunculaceae*, obejmują również szereg gatunków z rodzaju *Ranunculus*.

CHARAKTERYSTYKA EKOLOGICZNO-SOCJOLOGICZNA BADANYCH GATUNKÓW

R. platanifolius L. (*R. aconitifolius* ssp. *platanifolius* (L) Rouy et Fouc.) występuje w Polsce w Karpatach i Tatrach jako charakterystyczny i częsty składnik zioło i traworośli, rzadziej w kosówce (B. Pawłow-

ski 1928). Dolinami rzek górskich schodzi w Tatrach w regiel górny i dolny i stąd na Podhale (J. Walas 1938). Wg. Hegi'ego występuje on w górach całej Europy (z wyjątkiem Wielkiej Brytanii) aż do wysokości 2600 m; znajdowany był zarówno na wapieniu jak i na granicie.

R. alpestris L. należy we florze polskiej do grupy gatunków alpejsko-środkowo-europejskich czyli takich, których występowanie ograniczone jest do jednego obszaru, a mianowicie gór Europy środkowej systemu alpejskiego, od Pirenejów po Kaukaz (Pawłowski 1928, Hegi 1906). Gatunek ten jest w Tatrach bardzo pospolity w piętrze halnym wśród skał i muraw górskich, występuje najchętniej na podłożu wapiennym. Pomimo, że jest to gatunek wapieniolubny (Szafer 1949), może on również występować na granicie, głównie na wysokości od 1400 — 1800 m n. p. m., sięga jednak i do 2400 m w nielicznych okazach, lecz wówczas tylko na piargach i stromych ścianach z przepływem wody dostarczającej węglanu wapnia (Pawłowski 1928), *R. alpestris*, podobnie jak *R. platanifolius* z swych stanowisk powyżej granicy lasu dolinami rzek schodzi niżej do wysokości 935 m n. p. m. (u wylotu Doliny za Bramką) (Kotula 1890 cyt. wg. Walasa 1938). Jeden z badanych przeze mnie okazów mniej więcej z tej samej wysokości został zebrany w Dolinie Strążyskiej, drugi zaś w Dolinie Białego.

R. glacialis L. jest gatunkiem pochodzenia górskiego, wykazującym dysjunkcję arktyczno-górską; należy on do grupy gatunków, które w epoce lodowej z gór Europy centralnej przywędrowały na północ i wchodzą obecnie w skład tundry arktycznej (Pawłowski 1928, Szafer 1949). W związku z tym jedno centrum jego występowania ograniczone jest do piętra alpejskiego gór Europy centralnej i północnej na wysokości 2100 — 2864 m n. p. m., drugie zaś do krajów arktycznych Europy, Azji i Ameryki północnej (Hegi 1906). W Polsce występuje tylko w Tatrach granitowych, na piargach i w szczelinach skalnych, jako stały i charakterystyczny składnik zespołu *Oxyrieto-Saxifragetum*. Najniższe jego stanowisko jest nad Czarnym Stawem ponad Morskim Okiem (1650 m n. p. m.). Występuje po szczyt Rysów (na wysokości 2503 m) (Pawłowski 1928).

MATERIAŁ I METODY

W poprzednich pracach nad rodzajem *Ranunculus* większość autorów opierała się na materiałach pochodzących z różnych ogrodów botanicznych Europy. Natomiast w niniejszej pracy do badań użyto wyłącznie materiału z naturalnych stanowisk. Stanowisko, wysokość nad poziom morza oraz warunki ekologiczno-socjologiczne stanowiska podane zostały w tabelach I — III.

TABELA I

Stanowiska zbadanych okazów *R. platanifolius*

Karpaty Zachodnie

1. Droga ze schroniska na szczyt Babiej Góry	1350 m	Z. Pinetum mughi carpaticum, ziołorośla nad brzegiem strumienia na wapieniu.
Tatry wapienne		
2. Droga pod Reglami	900 m	Z. Fagetum tatricum, cieniste zbocze z grubą liściastą ściółką, z <i>Pirola uniflora</i> .
3. Ścieżka nad Doliną Strążyską	ok. 1000 m	Z. Fageto-Abietetum, na brzegu ścieżki pod bukiem.
4. Zbocza doliny Kościeliskiej	ok. 100 m	Z. Abieto-Piceetum, na brzegu lasu z <i>Carex montana</i> i <i>Pirola uniflora</i> .
5. Szczyt Łysanek	1448 m	Z. Piceetum excelsae, trawiaste skupienia pod drzewami z <i>Rosa alpina</i> i <i>Sorbus aucuparia</i> .
Tatry wysokie		
6. Nad Morskim Okiem od strony Miedzianego	ok. 1400 m	Z. Pinetum mughi carpaticum, mokre miejsca; potok płynie pod kosówką; z <i>Thalictrum aquilegifolium</i> i z <i>Sambucus racemosa</i> .

Rośliny przeznaczone do badań wykopywane były wraz z grudą ziemi, przywożone do Zakładu i sadzone w doniczkach. Po zakorzenieniu (2—3 tyg.) utrwalane były stożki wzrostu korzeni. Tylko *R. glacialis* został częściowo utrwalony w terenie (pod Zawratem), ze względu na trudne zakorzenianie i szybkie ginięcie roślin w obcym środowisku.

Do utrwalania używano utrwalaczy wodnych: Navashina, jego modyfikacji wg. Delaunay'a oraz utrwalacza Lewitzky'ego (5:5). Na ogół lepsze rozstawienie chromosomów w metafazie dawały utrwalacze Delaunay'a i Lewitzky'ego, na co przypuszczalnie miała wpływ mniejsza koncentracja utrwalacza. Błoczki parafinowe krajano na mikrotomie na 10 μ ; barwiono preparaty fioletem gencjanowym wg. Newtona, zastępując olejek goździkowy roztworem fenolu w ksylenie w stosunku 1 : 3.

Rysunki wykonano przy pomocy obiektywu imeryyjnego Reicherta 100 $\times$ N. A. 1.30, okularu kompensacyjnego Zeissa 20 $\times$ i aparatu rysunkowego Leitz. Mikrofotografie wykonano przy pomocy obiektywu apochromatycznego Zeissa 90 $\times$ N. A. 1.30, oraz okularu kompensacyjnego Zeissa 10 $\times$.

WYNIKI BADAŃ CYTOLOGICZNYCH

1. Liczby chromosomów.

Somatyczne liczby chromosomów trzech badanych gatunków ustalono na podstawie podziałów mitotycznych w stożkach wzrostu korzeni. Płytki metafazowe wykazywały bardzo dobre rozstawienie chromosomów w płaszczyźnie równikowej, pozwalające nie tylko na liczenie, ale i na zbadanie morfologii chromosomów.

TABELA II
Stanowiska *R. alpestris*.

Tatry wapienne

1. Zbocza Doliny Strążyskiej	ok. 950 m	Szczelina w skale wapiennej, ponad strumieniem, od strony zach. — nieliczne okazy.
2. Zbocza Doliny Białego	ok. 950 m	Szczelina w skale wapiennej w najwęższej części doliny, ok. 1 m powyżej drogi.
3. Zbocza Doliny Jaworzynki od strony Kopy Magury	ok. 1200 m	Z. <i>Salicetum herbaceae</i> i <i>Salicetum reticulatae</i> , zbocza silnie nasłonecznione z <i>Primula minima</i> i <i>Gentiana praecox</i> .
4. Zbocza Kobylarza i grzbiet Kobylarza	ok. 1300 m 1470 m	Z. <i>Pinetum mughii carpaticum</i> i nasłonecznione i suche zbocza z kosówką, <i>Poa alpina</i> , var. <i>vivipara</i> , <i>Viola alpina</i> i inne.
5. Przełęcz między Kopami	1500 m	Z. <i>Salicetum herbaceae</i> , niskie murawy między kosówką z <i>Gentiana praecox</i> , w nielicznych okazach.
6. Ścieżka na piargach k. Wielkiej Turni	ok. 1600 m	Szczeliny skał wapiennych i małe poletka muraw z <i>Chrysanthemum alpinum</i> , <i>Papaver Burseri</i> i <i>Pedicularis versicolor</i> .
7. Kominek k. Wielkiej Turni	ok. 1700 m	Skały wapienne i szczeliny skalne z <i>Linum sp.</i> i <i>Dryas octopetala</i> .
8. Małołączniak	1900 m	Z. <i>Salicetum herbaceae</i> . Żleby skaliste z resztkami śniegu z <i>Primula carpatica</i> .

Tatry wysokie

9. Zbocza Mięguszwieckiego nad Morskim Okiem	ok. 1550 m	Piargi i szczeliny skalne z <i>Soldanella carpatica</i> , <i>Geum montanum</i> .
10. Wyższa część drogi na Przełęcz pod Chłopkiem	ok. 2100 m	Z. <i>Versicoloreto-Agrostidetum alpinum</i> ; piargi i szczeliny skalne.
11. Droga na Szpiglasową od strony Pięciu Stawów	ok. 2100 m	Niskie murawy i szczeliny skalne.

TABELA III
Stanowiska *R. glacialis*.

Tatry wysokie.

1. Zbocza Mięguszwieckich nad Czarnym Stawem	ok. 1650 m	Z. <i>Oxyrieto-Saxifragetum</i> ; Piargi i wilgotne szczeliny skalne.
2. Zbocza Żabiego nad Czarnym Stawem	ok. 1800 m	Z. <i>Oxyrieto-Saxifragetum</i> ; wilgotne piargi.
3. Droga na Przełęcz pod Chłopkiem	ok. 2100 m	Z. <i>Oxyrieto-Saxifragetum</i> ; wilgotne piargi wśród mchu.
4. Zbocza Małego Koziego Wierchu z drogi na Zawrat	ok. 2100 m	Z. <i>Oxyrieto-Saxifragetum</i> ; wilgotne piargi wśród mchu z <i>Gentiana punctata</i> .

(Zespoły w tabelach I — III wg. Pawłowskiego 1927).

R. platanifolius: zbadano rośliny z sześciu stanowisk (Tabela 1). Wszystkie zbadane rośliny miały liczbę chromosomów $2n = 16$ (ryc. 1a). Liczba ta różni się od podanej dla tego gatunku przez Langleta (1927), który znalazł $2n = 14$.

R. alpestris: dla okazów tego gatunku pochodzących z 11 stanowisk tatrzańskich (Tabela II) ustalono również liczbę $2n = 16$ (ryc. 2a). Liczba ta jest zgodna z wynikami badań poprzednich: Böcher (1938) i Langlet (1927) w pracach swych nad rodzajem *Ranunculus* podali dla *Ranunculus alpestris* również $2n = 16$. Liczba ta okazała się stałą dla różnych okazów polskich w obrębie gatunku, mimo dających się obserwować różnic morfologicznych między roślinami pochodzącymi z różnych stanowisk. Mianowicie okazy zbierane na Przełęczy między Kopami były bardzo drobne o krótkich ogonkach, małych blaszkach liściowych i drobnych kwiatach, ustawionych na szypułce, bez podkwiatków. Natomiast okazy znalezione w szczelinie skalnej w Dolinie Białego były od poprzednich kilkakrotnie większe i posiadały po dwa wyraźne podkwiatki. Obie formy miały jednak tę samą liczbę chromosomów. Różni-



Fig. 1—3. Somatic metaphases and uszeregowanie chromosomów w/g typów Fig. 1 i 1a *R. platanifolius* L. Fig. 2 i 2a. *R. alpestris* L. Fig. 3 i 3a. *R. glacialis* L. ($\times 2500$) Somatic metaphases and various types of chromosomes from each set. 1, 1a, *R. platanifolius* L. 2, 2a — *R. alpestris* L. 3, 3a *R. glacialis* L. ($\times 2500$)

ce morfologiczne mogły być wywołane wpływem środowiska, albo też mogą być wynikiem różnic genowych w obrębie gatunku.

R. glacialis: dla tego gatunku, badanego na roślinach z czterech stanowisk (Tabela III), ustalono również somatyczną liczbę chromosomów $2n = 16$ (ryc. 3a) zgodnie z wynikami podanymi przez Langleta (1932) dla roślin tego gatunku ze Szwajcarii (Przełęcz św. Bernarda) i przez Böchera (1938) dla roślin z Grenlandii. Nadto na Grenlandii została wykryta przez Sørensen i Westergaarda (niepublikowane badania podane przez Löve i Löve (1948) tetraploidalna forma tego gatunku. To występowanie dwóch typów chromosomowych w północnym centrum rozmieszczenia, a jednego tylko (diploidalnego) w górach Europy Środkowej świadczy o górskim pochodzeniu *R. glacialis* i wskazuje na domniemany kierunek jego wędrówki z południa na północ. Należy dodać, że w materiale pochodzącym z masywu Mięguszwieckiego z drogi na Przełęcz pod Chłopkiem udało mi się znaleźć w obrębie tkanek korzenia jednej rośliny sektor z tetraploidalną liczbą chromosomów. W niektórych komórkach kory pierwotnej obok normalnych pły-

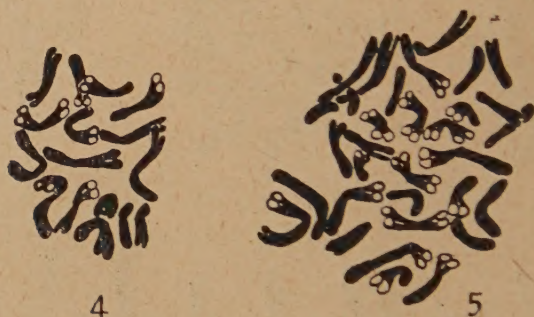


Fig. 4—5. *R. glacialis* L. — Normalna płytka metafazowa ($2n = 16$) oraz płytka z podwójną liczbą chromosomów z sektora tetraploidalnego

Root-tip metaphases of *R. glacialis*. 4 — normal diploid plate. 5 — plate with the double chromosome number from the tetraploid sector of the same root.

tek diploidalnych $2n = 16$ (ryc. 4) widoczne były metafazy w komórkach z podwójną liczbą chromosomów $2n = 32$ (ryc. 5). Normalne komórki diploidalne były znacznie mniejsze od komórek posiadających jądra z podwójną liczbą chromosomów. Tę zależność wielkości komórki od liczby chromosomów w jądrze komórkowym ilustruje tabela IV, w której podane są w mikronach wymiary dziesięciu komórek obu typów wzdłuż najdłuższej i najkrótszej ich osi. Rysunki tych komórek przedstawia ryc. 6. Domniemana geneza tej somatycznej mutacji poliploidalnej omówiona będzie w części dyskusyjnej.

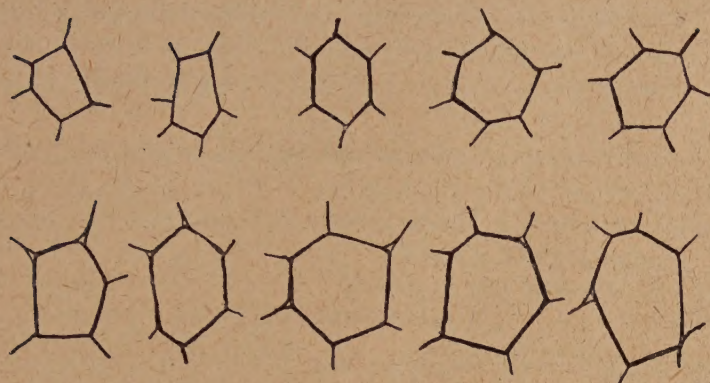


Fig. 6. *R. glacialis*. 1-szy rząd: kontury komórek normalnych, 2-gi rząd: kontury powiększonych komórek sektora tetraploidalnego (230 $\times$)

R. glacialis. — 1st row — outlines of five normal diploid cells; 2nd row — outlines of five enlarged cells from the tetraploid sector of the same root ($\times$ 230)

TABELA IV

Komórki diploidalne dług. — szerokość w μ		Komórki tetraploidalne dług. — szerokość w μ	
16	11	17	21
13	13	18	20
13	10	22	19
16	9	21	16
12	10	19	14

2. Morfologia chromosomów.

Gatunki badane nadają się wybitnie do studiów nad morfologią chromosomów ze względu na niską liczbę chromosomów, duże ich rozmiary i dobre rozstawienie chromosomów w płytkach metafazowych. Na ogół położenie centromeru w chromosomach i proporcje między obu ramionami dają się dokładnie ustalić. Pomiary ramion chromosomów dają wobec tego dobre podstawy do poznania morfologii chromosomów i identyfikowania chromosomów homologicznych. W toku mej pracy wybrałam po 6 najlepszych płytek metafazowych dla każdego z badanych gatunków; wykonałam na nich pomiary ramion wszystkich chromosomów w obrębie każdej komórki. Podane w Tabeli V wyniki są średnią arytmetyczną tych pomiarów. Całkowita długość poszczególnych chromosomów u badanych gatunków wynosi od 2,7 do 7,5 μ u *R. platanifolius*, od 3,0 do 7,0 μ u *R. alpestris* i od 2,75 do 6,5 μ u *R. glacialis*. W wyniku badań ustalono pięć typów chromosomów. Podstawą do ustalania typów były, zgodnie z kryteriami ustalonymi przez Lewitzky'ego (1931) — proporcje długości ramion.

- Typ I. — chromosomy równoramienne z kinetochorem umieszczonym centralnie; proporcje ramion — 10 : 10.
- Typ II. — chromosomy z kinetochorem submedialnym; proporcje ramion — 10 : 8.
- Typ III. — chromosomy z jednym ramieniem wyraźnie dłuższym od drugiego; proporcje ramion — 10 : 6, 10 : 5, 10 : 4.
- Typ IV. — chromosomy z kinetochorem subterminalnym; proporcje ramion — 10 : 3 i 10 : 2.
- Typ V. — chromosomy z trabantem.

Jak wynika z danych przedstawionych na Tabeli V i fig. 7. na ogół kompleksy chromosomowe trzech badanych gatunków wykazują znaczny stopień podobieństwa: u wszystkich występują po dwie pary chromosomów równoramiennych, po jednej parze z kinetochorem submedialnym i po jednej parze chromosomów z trabantem. Różnice morfologii chromosomów dają się zauważyć odnośnie do liczby chromosomów Typu III i IV, a mianowicie: *R. alpestris* i *R. glacialis* posiadają po trzy pary chromosomów typu III i po jednej parze chromosomów typu IV, *R. platanifolius* zaś posiada po dwie pary obu typów III i IV. U *R. platanifolius* występują też większe różnice pomiędzy długością poszczególnych par

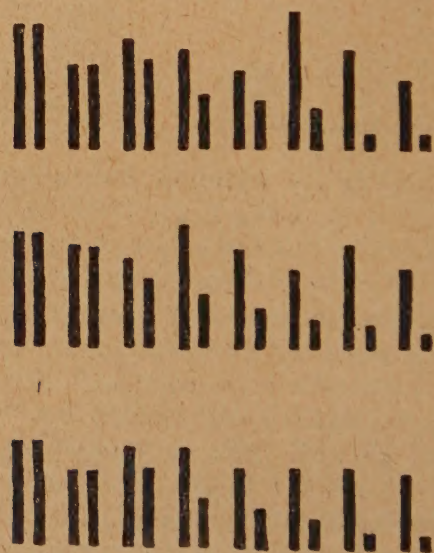


Fig. 7. Idiogramy: 1 rząd *R. platanifolius* L. — 2 rząd *R. alpestris* L. — 3 rząd *R. glacialis* L.

Idiograms of *R. platanifolius* (1st row), *R. alpestris* (2nd row) and *R. glacialis* (3rd row)

chromosomów niż u obu pozostałych gatunków. Suma długości wszystkich chromosomów jest też najwyższa u tego gatunku, nieco niższa u *R. alpestris* a najniższa u *R. glacialis*.

Tabela V.

Typ	<i>R. platanifolius</i>				<i>R. alpestris</i>				<i>R. glacialis</i>			
	Całkowita długość chrom. w μ	Długość ramion w μ		Proporcje ramion	Całkowita długość chrom. w μ	Długość ramion w μ		Proporcje ramion	Całkowita długość chrom. w μ	Długość ramion w μ		Proporcje ramion
I	7.5	3.75	3.75	10:10	7.0	3.5	3.5	10:10	6.5	3.25	3.25	10:10
	5.0	2.5	2.5	10:10	6.0	3.0	3.0	10:10	4.5	2.25	2.25	10:10
II	6.2	3.4	2.8	10:8	4.75	2.75	2.0	10:8	5.5	3.0	2.5	10:8
III	4.75	3.0	1.75	10:6	5.42	3.75	1.67	10:4	4.5	3.0	1.5	10:5
	4.1	2.5	1.6	10:6	4.3	3.0	1.3	10:4	3.75	2.5	1.25	10:5
					3.45	2.45	1.0	10:4	3.5	2.5	1.0	10:4
IV	5.5	4.25	1.25	10:3	4.9	3.25	0.75	10:2	3.0	2.5	0.5	10:2
	3.5	3.0	0.5	10:2								
V	2.7	2.2	0.5		3.6	2.5	0.5		2.75	2.25	0.5	

DYSKUSJA

Badania cytologiczne objęte tą pracą przeprowadzono — jak wyżej podkreśliłam — wyłącznie na materiale pochodzącym z licznych naturalnych stanowisk. Spośród trzech gatunków, *R. glacialis* okazał się w Tatrach morfologicznie najbardziej jednolity. Wiąże się to przypuszczalnie z faktem, że gatunek ten występuje tu jedynie w piętrze alpejskim, jako stały i charakterystyczny składnik zespołu *Oxyrieto-Saxifragetum* (Pawłowski 1928). Natomiast pozostałe dwa gatunki wykazują znaczny stopień różnicowania morfologicznego, przypuszczalnie w związku z ich występowaniem w bardziej różnorodnych stanowiskach i szerszym zasięgiem pionowym niż *R. glacialis*, *R. platanifolius*, stały i charakterystyczny składnik ziolo i traworośli, sięgający w piętro kosodrzewiny, podobnie jak *R. alpestris* występujący głównie w piętrze halnym, schodzą dolinami rzek w regiel dolny (Wallas 1938). Ta wędrówka stwarza odmienne warunki klimatyczne i edaficzne, mające niewątpliwie wpływ na ich fenotyp. Nie jest jednak wykluczone, że w obrębie tych obu gatunków występuje szereg biotypów, różniących się między sobą genetycznie. Tego rodzaju zróżnicowanie występuje często w obrębie gatunków, jak dowiodły badania Turessona (1930), Clausena, Kecka i Hiesey'a (1941) i innych.

Rodzaj *Ranunculus* posiada dwie podstawowe liczby chromosomów 7 i 8; w obu grupach występują zarówno gatunki diploidalne jak i poliploidalne. Trzy gatunki będące przedmiotem moich badań są diploidami, należącymi do grupy z podstawową liczbą 8. Liczba ta według Gregor'y'ego (1941) jest bardziej pierwotna od liczby 7. Wyniki moich badań nad *R. alpestris* i *R. glacialis* są zgodne z podanymi poprzednio dla tych gatunków przez Langleta (1927, 1932) i Böchera (1932). Jednakże należy nadmienić, że na Grenlandii wykryta została przez Sørensen a i Westergaarda (cyt. wg. Löve a. Löve 1948) forma tetraploidalna ($2n = 32$). Ten zaczątek zróżnicowania poliploidalnego na północy przemawia na korzyść górskiego pochodzenia *R. glacialis* i jego ekspansji na daleką północ, gdzie działanie klimatu arktycznego mogło indukować podwojenie liczby chromosomów. W związku z tym należy dodać, że podobne zjawisko podwojenia liczby chromosomów, choć tylko w grupie komórek somatycznych, udało się raz zaobserwować w ciągu niniejszych badań. U *R. glacialis*, pochodzącego z masywu Miękuszwieckiego, w stożku wzrostu jednego korzonka obok normalnych komórek diploidalnych (ryc. 4) występowały komórki z tetraploidalną liczbą chromosomów (ryc. 5). Zjawisko wyspowego występowania grup komórek poliploidalnych w obrębie tkanek diploidalnych, tzw. mixoploidalność, obserwowana była przez Breslawetz (1926) u *Cannabis sativa* L., Navashina (1930) u *Crepis tectorum*, Kostoffa (1930) u *Nicotiana glauca*, Miduno (1937) u *Cephalanthera* i *Epipactis*. Koshuchow (1928) indukował zdwojenie liczby chromosomów w tkankach korzeni roślin z rodziny *Cucurbitaceae* działaniem niskich i wysokich temperatur. Wyniki jego badań pozwalają przypuszczać, że przyczyną podwojenia liczby chromosomów w merystemie *R. glacialis* było działanie niskiej temperatury. Mianowicie rośliny z tego stanowiska zostały zebrane w sezonie letnim 1949, bezpośrednio po opadzie śnieżnym. Niska temperatura (ok. -3°C), na którą wystawione były te rośliny mogła wywołać zakłócenia w mitozach i w konsekwencji podwojenie liczby chromosomów. To przypuszczenie jest tym bardziej uzasadnione, że w tymże roku somatyczne mutacje podobnego typu były obserwowane również u innych roślin doświadczalnych z Tatr: *Gentiana Clusii* (Skalińska 1951), *Cardamine Opizii* (Banach 1952), *Soldanella carpatica* (Sateczek 1951).

Oдноśnie do liczby chromosomów *R. platanifolius*, należy stwierdzić, że wyniki moich badań różnią się od danych z literatury, gdyż podana przez Langleta (1927) liczba wynosi 14, a nie 16. *R. platanifolius* traktowany jest przez niektórych systematyków nie jako odrębny gatunek, lecz jako podgatunek w obrębie gatunku *R. aconitifolius* ssp. *platanifolius* (Rouy i Fouc). W związku z tym zasługuje na uwagę

fakt, że również odnośnie do liczby chromosomów u gatunku *R. aconitifolius* istnieje ta sama rozbieżność w literaturze; uwidacznia to poniższe zestawienie:

<i>R. aconitifolius</i> L.	—	2n = 16	Langlet 1927
			Larter 1932
„	„	—	2n = 14 Gregory 1941

Jeżeli przyszłe badania potwierdzą istnienie dwóch powyżej podanych liczb chromosomowych u każdej z tych obu blisko spokrewnionych ze sobą form, będzie to oznaczało istnienie cytologicznego zróżnicowania każdej z nich na dwa typy o różnych liczbach podstawowych — 7 i 8, mających być może różne rozmieszczenie geograficzne. W zestawieniu liczb chromosomów Tischlera (1950) podane są również inne gatunki *Ranunculus*, które posiadają formy 14-to i 16-to chromosomowe, np. *R. bulbosus* L. i *R. polyanthemus* L.

Wg. Sharpa (1943) dla ustalenia pokrewieństwa pomiędzy gatunkami w obrębie rodzaju i poniekąd między rodzajami w obrębie rodzin ważne są nie tylko liczby chromosomów, ale i badania nad ich morfologią. Wielkie znaczenie w tej dziedzinie miały prace Lewitzky'ego (1931) dotyczące kariotypu, czyli typu kariologicznego gatunku. Pojęcie to opiera się na:

1. liczbie chromosomów
2. długości poszczególnych chromosomów z uwzględnieniem proporcji ramion i położenia centromeru
3. występowaniu dodatkowych przewężeń i ich umieszczeniu.

Na ogół porównanie kariotypów różnych gatunków w obrębie rodzaju pozwala stwierdzić pewne ich wspólne cechy, lecz równocześnie dają się uchwycić i określone różnice. U badanych przeze mnie gatunków daje się wyraźnie obserwować ogólne podobieństwo ich kompleksów chromosomowych, przejawiające się w występowaniu tych samych typów chromosomów (Tabela V). Różnice między tymi gatunkami polegają głównie na tym, że *R. platanifolius* ma 2 pary chromosomów typu III i IV, podczas gdy *R. alpestris* i *R. glacialis* posiadają po 3 pary typu III i po tylko jednej parze typu IV. Istnieją też pewne różnice dotyczące ogólnej długości chromosomów trzech badanych gatunków. Wyniki porównania kompleksów chromosomowych *R. platanifolius*, i *R. glacialis* i *R. alpestris* nasuwają przypuszczenie pokrewieństwa między tymi gatunkami, a zwłaszcza między obu ostatnimi. Obserwacje te są zgodne ze szczegółami klasyfikacji w obrębie rodzaju *Ranunculus*, podawanymi przez Rouy i Foucaud (1893). Gatunki zbadane przeze mnie cytologicznie

zaliczają oni do sekcji *Leucoranunculus* w obrębie rodzaju. Do tej samej sekcji należy również *R. aconitifolius*, nie reprezentowany we florze polskiej. Zestawienie danych dotyczących liczb podstawowych i ogólnej morfologii chromosomów poszczególnych rodzajów rodziny *Ranunculaceae* zostało podjęte przez Gregory'ego (1941) celem zilustrowania ich stosunków pokrewieństwa. Przedstawione w jego pracy drzewo genealogiczne rodzajów różni się wyraźnie od dawniejszego schematu Englera, gdyż ujmuje w osobną grupę rodzaje z małymi chromosomami. (*Isopyrum*, *Aquilegia*, *Anemonella*, *Thalictrum*). *Ranunculus* figuruje w tym schemacie z dwiema liczbami podstawowymi 7 i 8, zgodnie z wynikami otrzymanymi dla licznych jego gatunków. Obie liczby podstawowe reprezentowane są zarówno przez diploidalne, jak i poliploidalne gatunki. Liczbę 8, bardzo pospolitą w całej rodzinie *Ranunculaceae* uznaje Gregory jako pierwotną, z której przypuszczalnie powstała liczba 7 (str. 476). Należy jednak zaznaczyć, że w jego pracy różnice pomiędzy poszczególnymi gatunkami w obrębie rodzajów opierają się raczej na liczbie chromosomów niż na ich szczegółowej morfologii.

STRESZCZENIE.

Badania nad *Ranunculus platanifolius* L., *R. alpestris* L. i *R. glacialis* L. zostały przeprowadzone na okazach pochodzących z szeregu naturalnych stanowisk tatrzańskich, z uwzględnieniem ekologiczno-socjologicznych warunków poszczególnych stanowisk. Badania cytologiczne przeprowadzone były na mitozach w stożkach wzrostu korzeni.

Rodzaj *Ranunculus* posiada dwie podstawowe liczby chromosomów: 7 i 8. Według Gregory'ego (1941) liczbą pierwotną w rodzaju tym jest 8. Trzy zbadane gatunki należą do tej właśnie ośmio-chromosomowej grupy i są diploidalne ($2n = 16$). Liczby ustalone w toku pracy dla *R. alpestris* i *R. glacialis* potwierdzają wyniki otrzymane poprzednio dla tych gatunków z innych obszarów geograficznych. Natomiast liczba chromosomów 16 stwierdzona u tatrzańskich przedstawicieli *R. platanifolius* jest odmienna od podanej przez Langleta (1927) liczby 14.

Studia porównawcze nad morfologią chromosomów badanych gatunków wykazały na ogół znaczne podobieństwo pomiędzy kompleksami, choć pozwoliły na uchwycenie pewnych różnic; wyniki badań tych pozwoliły stwierdzić, że różnice dotyczą głównie proporcji ramion chromosomów nierównoramiennych, występujących tu w liczbie czterech (typ III i IV).

Praca niniejsza została wykonana w Zakładzie Anatomii i Cytologii Roślin U. J. Pani Prof. dr. M. Skalińskiej wyrażam serdeczne podziękowanie za kierownictwo pracy i cenne wskazówki udzielane mi w toku prowadzenia badań.

SUMMARY

This study deals with the following three species: *Ranunculus platanifolius* L., *R. alpestris* L. and *R. glacialis* L. The material for the investigations originated from a variety of natural habitats in the Tatra Mts and for one species (*R. platanifolius*) also from Western Carpathians (Babia Góra). The author has taken into consideration the ecology, plant communities, altitude etc. of the various habitats. The chromosome numbers of the three species were determined on root tip mitoses.

The genus *Ranunculus* has two basic chromosome numbers: 7 and 8. According to Gregory (1941) eight represents the more primitive number within the genus. The three species investigated belong to this group and are diploid ($2n = 16$). These numbers established in the course of the present work for specimens of *R. alpestris* and *R. glacialis* from the Tatra Mts confirm the results of previous studies on these two species carried out on specimens from other geographic areas. On the other hand the chromosome number of *R. platanifolius* established in plants originating from six separate habitats in the Tatra Mts and in Western Carpathians, does not agree with the number 14 found by Langlet (1927) for this species.

Comparative studies concerning the chromosome morphology of the three species revealed in general a high degree of similarity of their chromosome complements; they permit however to establish some differences chiefly concerning the length of the arms in the heterobrachial chromosomes (Table V of the Polish text).

The present studies have been carried out in the Institute of Plant Anatomy and Cytology of the Jagellonian University in Krakow. The author expresses her sincere thanks to Professor Dr. M. Skalińska for guidance and valuable advice given in the course of the investigations.

LITERATURA

- Böcher T., 1938. Cytological Studies in the Genus *Ranunculus*. Dansk. Bot. Arkiv 9, 1-33.
- Breslawetz. 1926. Polyploide Mitosen bei *Cannabis sativa* L. Ber. der deutsch. bot. Ges. 44, 498-502
- Clausen J., Keck D. D. and Hiesey W. M. 1941. Regional differentiation in plant species. Amer. Nat. 75, p. 231-250.
- Darlington C. D. i Janaki Ammal. 1945. Chromosome atlas of cultivated plants. Allen and Unwin, London.
- Gregory W. C. 1941. Phylogenetic and cytological studies in the *Ranunculaceae*. Trans. Amer. Phil. Soc. N. S. 31, 443-520.
- Hruby K. 1932. Les chimères chromosomiques et la mixoploidie. Publ. de Fac. de Sciences Univ. Charles. Praha p. 3-32.
- Hegi G. Illustrierte Flora von Mittel-Europa. III. München.

- Koshuchov Z. A. 1928. Über experimentelle Chromosomenzahlverdoppelung in den somatischen Zellen mit abnormen Temperaturen. *Angewandte Bot., Zeitsch. für Erforschung der Nutzpflanzen* 10. 140-148.
- Kostoff D. 1930. A Chromosomal Chimaera in Tobacco. *Journ. of Heredity*. 21, 445-448.
- Kulczyński S., Paczowski J. i Pawłowski B. 1927. *Flora Polska*, Tom III.
- Langlet O. 1927. Beiträge zur Zytologie der *Ranunculaceae*, *Svensk Bot. Tidskr.* 21, H. 1, 1-17.
- Langlet O. 1932. Über Chromosomenverhältnisse und Systematik der *Ranunculaceae*. *Svensk. Bot. Tidskr.* 26, 381-400.
- Larter H. 1932. Chromosome variation and Behaviour in *Ranunculus*, L. *Journ. of Genetics*. 26, 256-283.
- Lewitsky G. A. 1931. The karyotype in systematics. *Trudy po prikl. bot. gen. i selekcii*. Leningrad. 187-239.
- Löve B. a. Löve D., 1948. Chromosome numbers of northern Plant species. Report of the Dept. of Agr. Univ. Inst. of Applied Sciences. Reykjavik.
- Miduno T. 1937. Chromosomenstudien an *Orchidaceen*: I. Karyotyp und Mixoploidie bei *Cephalanthera* und *Epipactis*. *Cytologia* 8, 505-515.
- Navashin M. 1930. Unbalances somatic chromosomal variation in *Crepis*. *Univ. of Calif. Publ. in Agricult. Sciences*. 6. 96-106.
- Pawłowski B., Sokołowski M. i Wallisch K. 1927. Die Pflanzenassoziationen des Tatra-Gebirges. cz. III. *Bull. Acad. d. Sc. Ser. B*.
- Pawłowski B. 1928. Elementy geograficzne i pochodzenie flor tatrzańskich piętra turniowego. *Rozpr. Wydz. Mat.-Fiz. Przyr. P. A. U.* 68, B. Nr. 3.
- Rouy et Foucaud, 1893. *Flore de France*.
- Satczek K., 1951, Cytological studies in species of the genus *Soldanella* L. *Bull. Acad d. Sc. Sér. B*. 285-300.
- Senjaninowa M. 1926. Das Verhalten des Nucleolus und der Trabanten während den somatischen Mitosen und der Reifeteilungen bei *Ranunculus acris*. L. *Zeitschr. Zellforsch. und mikr. Anat.* 3, 417-430.
- Sharp L. 1943. *Fundamentals of Cytology*. New-York,
- Skalińska M., 1951, Cytological studies in *Gentiana* — species from the Tatra and Pieniny Mts. *Bull. Acad. d. Sc. Sér. B* 119-136.
- Sorokin H., 1927. A. Study of Meiosis in *Ranunculus acris*. L. *Amer. Journ. of Bot.* 14, 76-84.
- Szafer W., 1949. *Geografia roślin*. Warszawa.
- Tischler G., 1950. Die Chromosomenzahlen der Gefäßpflanzen Mitteleuropas. W. Junk, Haga.
- Turesson G. 1930. The selective effect of climate upon the plant species. *Hereditas*, 14, 99-152.

Badania embriologiczne nad *Hypochoeris uniflora* Vill.

Embryological studies in Hypochoeris unifloru Vill.

ANNA SZWABOWICZ

z Zakładu Anatomii i Cytologii Roślin U. J.

(Wpłynęło dn. 28.X.53)

W s t ę p

Compositae stanowią rodzinę, w której rozmnażanie na drodze apomiksji jest dość rozpowszechnione. Największą ilość gatunków apomiktycznych stwierdzono obok *Gramineae* właśnie wśród przedstawicieli tej rodziny (Gustafsson 1947, Bergman 1935). Ze znanych przykładów wystarczy wymienić rodzaje *Antennaria*, *Hieracium* i *Taraxacum* rozmnażające się przez partenogenezę diplosporyczną albo też połączoną z aposporią (Gustafsson 1947, Schnarf 1929).

Znane są liczne przypadki, gdy apomiksja łączy się z poliploidalnością; w obrębie rodzaju *Crepis* apomiktyczne gatunki mają $2n = 33, 44, 55, 77$ lub 88 , podczas gdy u wszystkich seksualnych gatunków należących do tej samej grupy $2n = 22$ (Gustafsson 1947).

Jednakże badania Bergmana (1935) nad *Leontodon hispidus* L. ($2n = 14$) i *Picris hieracioides* L. ($2n = 10$) wykazały, że tendencja do rozmnażania apomiktycznego może istnieć również wśród gatunków diploidalnych, a najnowsze badania nad *Doronicum* (Wcisło 1952) dowiodły, że i wysokie poliploidy mogą mieć normalne rozmnażanie seksualne.

Apomiksja zatem nie wiąże się wyłącznie z poliploidalnością; gatunki diploidalne, o niskiej liczbie chromosomów, mogą ją również niekiedy wykazywać. Jednakże zjawiska apomiksji u diploidów zdają się być stosunkowo rzadkie. Mając to zagadnienie na uwadze wybrałam do badań nad rozmnażaniem gatunek *Hypochoeris uniflora* Vill. *Hypochoeris* jest rodzajem systematycznie bliskim rodzajowi *Leontodon*; *H. uniflora* jest podobnie jak *Leontodon hispidus* gatunkiem diploidalnym. Dla tatrzańskich przedstawicieli tego gatunku M. Skalińska (1950) ustaliła somatyczną liczbę chromosomów $2n = 10$. Liczba ta została potwierdzona przez Stebbinsa, Jenkinsa i Walters (1953) dla roślin pochodzących z Ogro-

du Botanicznego w Kopenhadze. Płytkę metafazową z komórki peryblemu w stożku wzrostu korzenia rośliny z Tatr przedstawia fig. 1. Chromozomy badanego gatunku są duże, zróżnicowane odnośnie wielkości i kształtu. Długość chromosomów najmniejszej pary wynosi w przybliżeniu $3,3 \mu$, największej zaś $7,3 \mu$. Przeważają chromozomy nierównoramienne z kinetochorem subterminalnym. Pod względem embriologicznym gatunek *H. uniflora* w ogóle nie był dotychczas opracowany, jak o tym świadczy brak jakiejkolwiek wiadomości o całym rodzaju *Hypochoeris* w niedawno opublikowanej „Plant Embryology“ Johansena (1950).

Badany przeze mnie gatunek występuje w górach Europy (w Alpach, Sudetach i Karpatach) w piętrze subalpejskim i alpejskim na humusowych słonecznych zboczach (Hegi, 1929).

Materiał i metody pracy

Materiał mój pochodzi z dwu stanowisk: w Tatrach Wysokich z trawiastego zbocza pod Opalonym (wys. około 1700 m) oraz w Tatrach zachodnich spod Giewontu (wys. 1800 m n. p. m.).

Młodsze i starsze pączki oraz rozwinięte i przekwitłe kwiaty utrwalalam w terenie; pączki zanurzane były na dwie minuty w mieszaninie alkoholu 95% z kwasem octowym (w stosunku 3 : 1), po czym przenoszono je do utrwalacza Navashina rozcieńczonego do połowy wodą destylowaną.

Grubość skrawków mikrotomowych wynosiła 10 i 14 μ . Dla badania woreczków załączkowych najlepsze obiekty otrzymywałam na przekrojach podłużnych.

Część preparatów, głównie młodsze stadia, barwiłam metodą Newtona fioletem gencjanowym, różnicując roztworem fenolu w ksylolu, część zaś, głównie starsze stadia, hematoksyliną alunową Mejera.

Rysunki wykonałam spod obiektywów: 8a (71 $\times$) Reicherta, obiektywów immersyjnych Leitza 90 $\times$ i 100 $\times$ przy okularach 5 $\times$ PZO, 9 $\times$ Reicherta i K 20 $\times$ Zeissa. Użyłam aparatu rysunkowego Leitza. Powiększenia rysunków podane są przy odnośnych figurach tekstu.

Wykształcenie pylników i pyłku.

W utrwalonym materiale najmłodszym stadium znalezionym w pylnikach były tetrady pyłku; na ogół są one wykształcone prawidłowo. Również obserwowane w późniejszych stadiach ziarna pyłku mają wygląd normalny. Posiadają one egzynę z charakterystyczną rzeźbą i trzema porami. W jednym tylko koszyczku, uszkodzonym przez larwy owadów, zaobserwowałam w pyłku pewien procent ziarn nadmiernie dużych. Zaobser-

wowane zjawisko wymagałoby dalszych badań, które jednak wychodzą poza zakres obecnej pracy.

W komorach pylnikowych na uwagę zasługuje wygląd tapetum. W późniejszych stadiach jest ono przekształcone w peryplazmodium. Poszczególne komórki tapetum zatracają błony i zlewają się wypełniając przestrzeń między pierwotnymi ziarnami pyłku. Jądra peryplazmodium w tym stadium silnie się barwią i często mają charakterystyczny kształt pałeczkowaty.

Zalążek i woreczek zalążkowy.

a) Szczegóły budowy i rozwoju zalążka.

Zalążek u *Hypochoeris uniflora* jest jak u wszystkich *Compositae* anatropowy o jednym integumencie. Integument we wczesnych stadiach składa się w całości z wielobocznych komórek, o dużych, silnie barwiących się jądrach. Warstwa komórek epidermalnych nie wyróżnia się wyraźnie od reszty. W miarę wzrostu zalążka w integumencie wyróżnicowuje się wewnętrzna partia komórek, na przekroju okrągłych lub owalnych, a w pobliżu bieguna antypodalnego silnie wklínówujących się. Komórki wewnętrznych warstw integumentu barwią się silniej od reszty. W starszym zalążku powiększają swe rozmiary i wykazują tendencję do rozluźniania.

Najbardziej wewnętrzna część integumentu tzw. integumentalne tapetum, przylegająca bezpośrednio do woreczka zbudowana jest z jednej warstwy komórek, początkowo prawie izodiametrycznych na przekroju prostokątnych, stopniowo wydłużających się w kierunku prostopadłym do osi podłużnej zalążka. Komórki te, bogate w treść cytoplazmatyczną, w młodszych zalążkach barwią się tak samo jak pozostałe komórki integumentu, w późniejszych stadiach zaś znacznie intensywniej.

W części mikropylarnej integumentu obserwujemy kilka, zwykle około ośmiu, włosowato wydłużonych komórek.

Hypochoeris uniflora posiada zalążek cienkoosrodkowy; jego nucellus zbudowany jest z jednej warstwy komórek. Jest on widoczny w młodych zalążkach jako owalny lub nieco klinowaty twór otoczony częściowo przez obrastający go integument. W stadium późniejszym komórki ośrodka otaczają komórkę archesporu. Należy zaznaczyć, że tkanka nucellusa stosunkowo wczesnie ulega degeneracji. W początkowych stadiach rozwoju woreczka zalążkowego widzimy już tylko jej szczątki, szczególnie w części chalazalnej. W woreczku dojrzałym na biegunie antypodalnym zauważyć się dają wzdłuż ścian woreczka drobne komórki. Podobne twory u *Tragopogon*, *Bidens* i *Calendula* interpretuje Dahlgren (1920, str. 490 i 507) jako resztki nucellusa. U *Hypochoeris uniflora* mogą to być jednak komórki integumentu wnikaające do światła woreczka.

W miarę rozwoju kształt, jak też rozmiary zalążka ulegają zmianie. Z prawie kulistego, a raczej w zarysie lekko sercowatego, zalązek przekształca się w twór bardzo wydłużony. Również woreczek przechodzi ewolucję kształtu. W początkowych stadiach owalny, rozszerza się powoli w części środkowej, przyjmując w dojrzałej swej postaci formę wrzecionowatą. Część najszersza woreczka przypada wówczas na wysokości komórki jajowej i jądra bielmowego (fig. 8). Biegun antypodalny jest często bardzo wąski i wydłużony.

Dzięki znacznemu wydłużaniu się zalążka ulegają zmianie w ciągu rozwoju wzajemne proporcje woreczka i zalążka: długość bardzo młodego woreczka ośmioletrowego mieści się w długości zalążka około 2,5 razy, natomiast dojrzałego woreczka w kwiecie rozwiniętym około 4 razy.

b) Rozwój woreczka zalążkowego.

Woreczek zalążkowy rozwija się z jednej komórki archesporu, stanowiącej równocześnie komórkę macierzystą woreczka. Wyróżnia się ona swoimi rozmiarami spośród otaczających komórek nucellusa i integumentu. Jest bogata w treść i posiada duże, jasne jądro.

Podziału mejotycznego w moim materiale nie obserwowałam, natomiast miałam możność oglądać już gotowe diady oraz tetrady. Komórki diady są stosunkowo duże i oddzielone od siebie wyraźną błoną komórkową. Obecność tetrad świadczy o skutecznionych podziałach mejotycznych. Spośród komórek tetrady chalazalna makrospora daje początek woreczkowi zalążkowemu (fig. 2 i 3).

Różne stadia rozwojowe wtórnego ośmioletrowego woreczka zalążkowego były reprezentowane w badanym materiale dość licznie. W stadium dwujądrowym (fig. 4) obserwowałam silną wakuolizację; jądra w pobliżu biegunów woreczka połączone były pasmem cytoplazmy. Rozsuniecie jąder świadczy o wcześnie zachodzącej polaryzacji. W woreczku czterojądrowym, przy dalej jeszcze posuniętej polaryzacji, dwa jądra w części chalazalnej leżeć mogą w poprzek woreczka, jedno obok drugiego (fig. 5); w późniejszych stadiach leżą one piętrowo jedno nad drugim

Fig. 1—7b. *Hypochoeris uniflora*. 1. — metafaza somatyczna ($\times 3000$). 2 — tetradą z powiększoną makrosporą chalazną. 3. — rozwijająca się makrospora. 4. — stadium dwujądrowe woreczka zalążkowego. 5 — stadium czterojądrowe woreczka zalążkowego — młodsze. 6. — stadium czterojądrowe woreczka zalążkowego — starsze. 7a — podział mitotyczny poprzedzający stadium ośmioletrowe (rekonstrukcja z pięciu kolejnych skrawków) — (fig. 2—7a $\times 650$). 7b — jedna z czterech płytek metafazowych ($\times 2300$).

1. — Somatic metaphase ($\times 3000$). 2. — normal tetrad; the basal megaspore enlarged. 3. — the basal megaspore after the abortion of the three sister-cells. 4. — bi-nucleate embryosac, 5, 6. — younger and older four-nucleate embryosac. 7a — the last mitoses preceding the eight-nucleate stage (reconstruction from 5 successive sections) (Fig. 2—7a $\times 650$), 7b — One of the four plates in higher magnification ($\times 2300$).

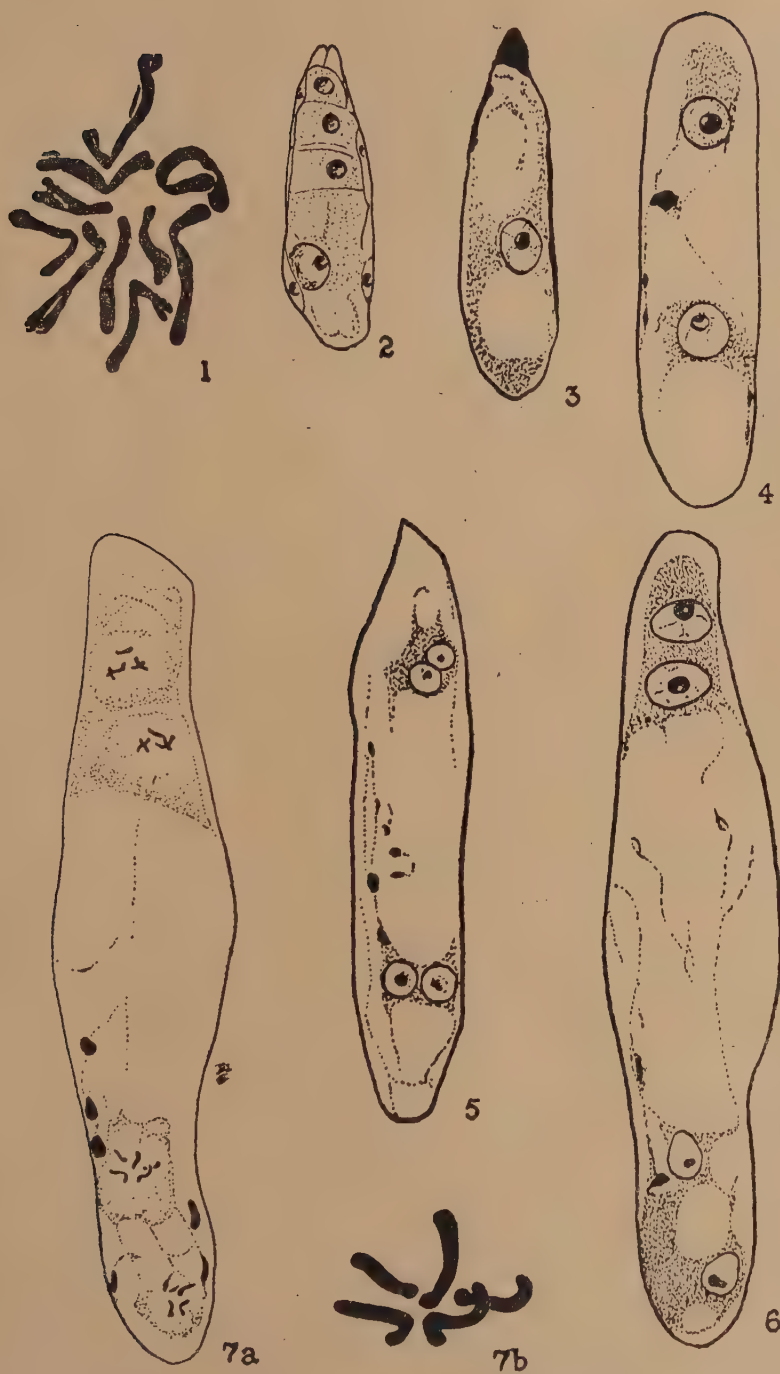


Fig. 1—7b.

(fig. 6). Również w części mikropylarnej zwykle, (choć nie zawsze), jedno jądro położone jest nad drugim.

Często w młodszych stadiach rozwoju woreczka zalążkowego można jeszcze znaleźć na biegunie mikropylarnym szczątki wyciśniętych i zdegenerowanych makrospor siostrzanych. Widoczne są też jeszcze resztki nucellusa, głównie dokoła chalazalnej części woreczka.

W jednym z rozpatrywanych zalążków miałam możliwość zaobserwować ostatni podział mitotyczny poprzedzający stadium ośmionądrowe (fig. 7a). Jak wiadomo w tym czterojądrowym stadium, jedno z dzielących się na biegunie mikropylarnym jąder daje początek dwóm synergidom, podczas gdy drugie daje jądro komórki jajowej i jedno jądro biegunowe — również jako twory siostrzane. Na biegunie chalazalnym z jednego z obu jąder powstają dwie antypody, trzecia zaś antypoda oraz drugie jądro biegunowe rozwijają się z drugiego jądra, którego wrzeciono mitotyczne podczas podziału zorientowane jest prostopadle do poprzedniego. Na obrazach mikroskopowych omawianego zalążka na pięciu kolejnych skrawkach miałam możliwość stwierdzenia, że te podziały odbywają się ściśle jednocześnie; wszystkie cztery jądra były w stadium metafazy. Dwie płytki metafazowe znajdowały się na biegunie mikropylarnym, trzecia na biegunie chalazalnym, wreszcie czwarta odsunięta była nieco od tego bieguna ku centrum; na podstawie porównania z rozmieszczeniem jąder w stadium czterojądrowym, można przypuszczać, że to położenie jądra jest normalne. Wobec tego, że oś wrzeciona jest tu zorientowana równolegle do osi podłużnej woreczka zalążkowego, po podziale jedno z potomnych jąder znalazłoby się w pobliżu obu pozostałych antypod, a drugie leżałoby w świetle woreczka nieco bliżej środka.

Należy dodać, że w woreczku tym można było ustalić liczbę chromosomów w niektórych płytkach, a zwłaszcza zupełnie wyraźnie w płytce metafazowej jądra, mającego dać po podziale jądro biegunowe i trzecią antypodę (fig. 7b). Ułatwia tu liczenie niezmiernie niska liczba chromosomów u badanego gatunku ($2n = 10$). W normalnym haploidalnym woreczku zalążkowym jądra posiadają po pięć chromosomów. Spostrzeżenie to jest ważne, gdyż świadczy o odbytym w stadium wcześniejszym podziale redukcyjnym.

W gotowych młodych woreczkach zalążkowych mogłam wyróżnić wszystkie charakterystyczne elementy: aparat jajowy, dwa jądra biegunowe blisko siebie oraz trzy antypody. Zlanie jąder biegunowych i przesunięcie ich do centrum ku aparatowi jajowemu następuje prawdopodobnie wcześniej. W bardzo rzadkich przypadkach jądro bielmowe może zachować położenie centralne.

c) Elementy dojrzałego woreczka.

W dojrzałym woreczku komórka jajowa, synergidy oraz jądro biel-mowe wykształcone są w sposób typowy (fig. 8). Synergidy, w zarysie trójkątne, bardzo duże, z wakuolą w rozszerzonej części, sięgają silnie wydłużonymi częściami do mikropylu, nie wchodząc weń jednak głęboko. Ich jajowate, jasne jądra ustawiają się zazwyczaj wzdłuż osi długiej komórek. W komórce jajowej treść gromadzi się wokół jądra, powyżej zaś występuje duża wakuola. Większe od jądra komórki jajowej jądro biel-mowe o dużym, silnie wybarwionym jąderku, leży w pobliżu komórki jajowej.

Największą trudność przedstawiało w dojrzałym woreczku znalezienie antypod. W młodszych stadiach występują wyraźnie trzy antypody, natomiast w woreczkach starszych degenerują one i widoczne są tylko w formie ciemno wybarwionych szczątków (fig. 8), po czym znikają zupełnie. Kilkakrotnie w kwiatach już rozwiniętych mogłam zaobserwować ich szczątki w bardzo wydłużonej i zwężonej części chalazalnej woreczka. W woreczkach starszych zadecydowanie o ilości, a nawet obecności antypod jest często bardzo trudne. Trudność polega na tym, że biegun chalazalny woreczka jest pozbawiony tapetum, a wydłużone trójkątne komórki przylegającej części integumentu mogą robić wrażenie antypod (fig. 9).

d) Nienormalne woreczki zalążkowe.

Wśród około pięćdziesięciu dojrzałych woreczków, które obserwowałam, znalazłam oprócz przeważającej ilości woreczków normalnych również kilka wykształconych nieprawidłowo. Dwa zalążki posiadały woreczki pozbawione całkowicie treści: jeden z nich nie odbiegał kształtem od innych, drugi zaś był rozczłonkowany i prawie w całości zarośnięty tkanką integumentu. W spłaszczonej chalazalnej i centralnej części widoczna była tylko ściana dna woreczka, w części mikropylarnej, w bezkształtnej zawartości trudno było wyróżnić jakieś elementy.

Inne anomalie dotyczyły wewnętrznej organizacji woreczka. Jeden z woreczków wykazywał opóźniony i defektywny wzrost (fig. 10). Widoczne w nim były zarysy synergid, pod nimi przypuszczalnie komórka jajowa nosząca cechy degeneracji oraz domniemane jądra biegunowe jeszcze nie złane, chociaż w normalnym woreczku proces ten zachodzi stosunkowo wcześniej. Obecności antypod nie stwierdziłam, co zresztą ze względu na ich znikliwość jest rzeczą normalną.

Drugi nienormalny woreczek zawierał 12—13 jąder (fig. 13 a, b). Woreczek ten był nadmiernie rozszerzony. W środkowej jego części zamiast typowych dwóch jąder biegunowych zaobserwowałam 7—8 jąder: cztery z nich były w pewnej odległości od głównej grupy. Na biegunie mikropylarnym znajdowały się dwa wyraźne, lecz nadmiernie duże jądra synergid ze zwiększoną ilością jąderek, a oprócz nich jeszcze trzy mniejsze jądra; brak było natomiast typowo wykształconej komórki jajowej.

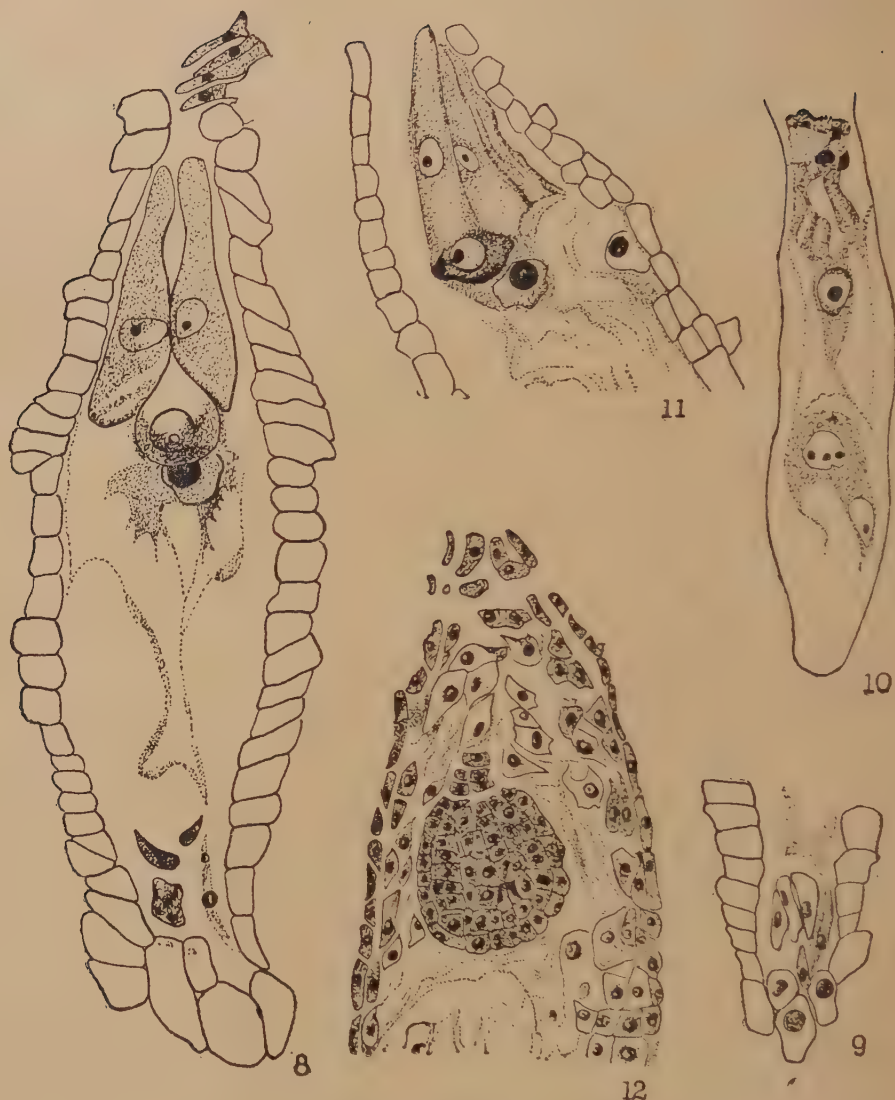


Fig. 8—12. *Hypochoeris uniflora*. 8. dojrzały woreczek zalążkowy, antypody degenerujące. 9. biegun chazalny dojrzałego woreczka zalążkowego z widocznymi jeszcze antypodami. 10. woreczek zalążkowy nietypowo wykształcony. 11. górna część woreczka zalążkowego z wpukloną komórką integumentu (fig. 8—11 $\times 343$). 12. zarodek w endospermie ($\times 240$).

8 — mature embryosac with abortive antipodals. 9 — three antipodals in the chalazal region of a mature embryosac. 10 — abnormal embryosac. 11 — top of a normal embryosac with an enlarged cell of the integument. (fig. 8—11 $\times 434$), 12 — embryo surrounded by endosperm ($\times 240$).

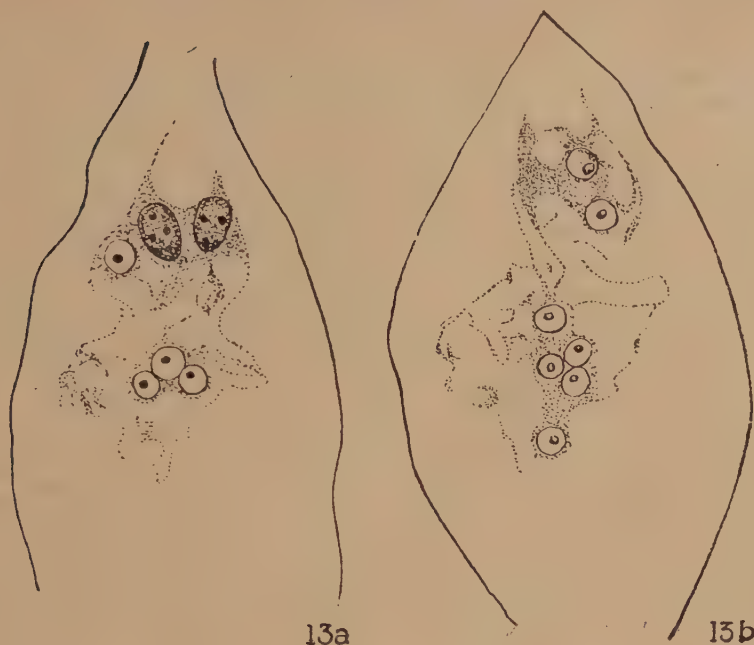


Fig. 13a. b. *Hypochoeris uniflora*. Anormalny woreczek zalążkowy o zwiększonej ilości jąder przedstawiony na dwóch przekrojach ($\times 434$).
Abnormal embryo sac with increased number of nuclei (two successive sections) ($\times 434$).

W woreczku tym mamy do czynienia nie tylko z powiększoną ilością jąder, ale równocześnie z prawie zupełnym brakiem zróżnicowania elementów i zakłóceniem polaryzacji.

W trzecim wreszcie przypadku chodziło o woreczek wykształcony zupełnie prawidłowo, w którego światło jednak wyraźnie wpuklała się jedna komórka integumentu (fig. 11).

Drobniejszych odchyleń od normy w pracy mojej nie uwzględniam.

Z a r o d e k.

Wnikania łagiewki pyłkowej ani najmłodszych stadiów rozwoju zarodków nie obserwowałam. W moim materiale znalazłam zarodki wielokomórkowe (fig. 12), a także znacznie starsze z wykształconymi już liścieniami i wyraźnym wieszadełkiem. Obecność wieszadełka świadczy o rozwoju zarodka z komórki jajowej.

Endosperma w tych stadiach jest już całkowicie rozwinięta. W części zewnętrznej przy ścianach woreczka składa się ona z drobnych, zwarcie ułożonych komórek, środek woreczka wypełniają natomiast komórki duże, o nieregularnych kształtach.

D y s k u s j a.

Najczęstszych przykładów apomiksji dostarczyły dotychczas gatunki poliploidalne. Jednak praca Bergmana (1935) nad *Leontodon hispidus* ($2n = 14$) i *Picris hieracioides* ($2n = 10$) oraz praca Wcisło (1952) nad *Doronicum austriacum* ($2n = 60$) i *Doronicum Clusii* ($2n = 120$) udowodniły, że pewne diploidy mogą również wykazywać skłonność do apomiksji, a niektóre wysokie poliploidy mogą posiadać zdolność normalnego rozmnażania seksulanego. Przystępując do opracowania pod względem embriologicznym gatunku *Hypochoeris uniflora* Vill. postawiłam sobie pytanie, czy gatunek ten, będący gatunkiem diploidalnym ($2n = 10$) rozmnaża się seksualnie czy też apomiktycznie.

Podziałów mejotycznych w komórkach macierzystych pyłku w materiale moim nie znalazłam. Jednakże normalnie wykształcone tetrady i całkowita płodność pyłku pozwalają przypuszczać, że podziały te miały przebieg prawidłowy.

Również nie napotkałam na podziały komórki macierzystej woreczka zalążkowego. Obserwowane przeze mnie stadia późniejsze — diady, a następnie tetrady, o wyglądzie normalnym, wskazują na prawidłowy przebieg obu podziałów mejotycznych. Zaobserwowany przeze mnie wzrost chalazalnej makrospory (fig. 2) oraz obecność szczątków siostrzanych komórek (fig. 3) świadczą o tym, że woreczek rozwinął się z jednej makrospory. Nadto opisany wyżej (fig. 7 a, b) podział mitotyczny w stadium czterojądrowego woreczka, w którym cztery metafazowe płytki zawierają każda po pięć chromosomów, dowodzi jego haploidalnego charakteru.

Znane są gatunki roślin, u których mejoza ulega zakłóceniu w zalążkach: już Juel (1895, 1900 b) wykazał, że u pewnych gatunków *Antennaria* komórka macierzysta woreczka rozwija się wprost w woreczek zalążkowy z ominięciem obu podziałów mejotycznych, a więc bez tworzenia się tetrad (cytow. wg Sharpa-Jaretzkyego 1931, Schnarfa 1929). Jak stwierdził Rosenberg (1927), u *Hieracium* zostaje zapoczątkowany wprawdzie podział heterotypowy, chromosomy jednak nie rozchodzą się na bieguny w anafazie i dookoła całego ich kompleksu rozrzuconego wzdłuż wrzeciona tworzy się nowa błona jądrowa. Utworzone w ten sposób jądro restytucyjne odbywa normalnie podział homotypowy tak, że zamiast czterech jąder haploidalnych powstają dwa jądra diploidalne (cytow. wg Sharpa-Jaretzkyego 1931, Schnarfa 1929). W obu więc wymienionych przykładach powstają w efekcie woreczki zalążkowe, których elementy mają somatyczną liczbę chromosomów.

Woreczki diploidalne powstać też mogą drogą zaniku ścian między diadami i zlania się obu haploidalnych jąder. Zjawisko takie obserwował Bergman (1935) u *Leontodon hispidus* var. *hyoseroides* i podkreślił

nienormalny kształt jąder diady. W innych zalążkach tej samej rośliny obserwował Bergman zanikanie ścian między komórkami tetrazy, tak że wszystkie cztery makrospory brały udział w rozwoju woreczka.

Elementy gotowego woreczka *Hypochoeris uniflora* mają charakter typowy. Potężnie rozwinięte synergidy odpowiadają dokładnie podanemu przez Schnarf (1931, str. 14) opisowi tych komórek u *Compositae*. Również komórka jajowa i jądro bielmowe wykształcone są normalnie.

Zjawisko wczesnego zanikania antypod zaobserwowane u *Hypochoeris uniflora* nie jest czymś wyjątkowym u Okrytonasiennych. Schnarf (1931, str. 14) określa antypody jako twory bardzo zmienne i dlatego nie przypisuje im większego systematycznego znaczenia. Zanikanie antypod stwierdziła Cuchtmannówna (1930) u *Petunia violacea* i w pracy swej omówiła to zjawisko u innych *Solanaceae* (za Guignard'em 1902) oraz u *Scrophulariaceae* (za Balicką - Iwanowską 1899), u *Malvaceae* (za Stenarem 1925) i u innych rodzin. U *Compositae* antypody są niepozorne i częściowo wczesnie degenerują u przedstawicieli podrodziny *Liguliflorae* n. p. *Lactura muralis*, *Reichardia tingitana*, *Hypochoeris maculata*, *Crepis biennis* i różnych gatunków *Hieracium* (Schnarf 1931, str. 221, Dahlgren 1920).

Pozostaje omówienie przypadków teratologicznych. Wśród tworów nienormalnych znalezionych w toku mej pracy u *Hypochoeris uniflora* na uwagę zasługuje woreczek o zwiększonej ilości jąder, przy równoczesnym prawie całkowitym braku zróżnicowanych elementów (fig. 13 a, b). Woreczki podobnego typu opisane były w pracach embriologicznych. M. Skalińska (1928) obserwowała je u diploidalnego mieszańca *Aquilegia chrysantha* $\times$ *A. vulgaris*. Woreczek podany przez nią na fig. 34 (str. 1359) posiadał elementy tylko częściowo zróżnicowane: zawierał bowiem cztery do pięciu wyraźnych antypod, natomiast wśród siedmiu komórek na biegunie mikropylarnym nie było można wyróżnić ani synergid ani komórki jajowej. Chiarugi i Francini (1930) obserwowali wielokrotnie w woreczkach zalążkowych apomiktycznego gatunku *Ochna serrulata* anomalie dotyczące różnicowania elementów i to zarówno w woreczkach aposporycznych jak i utworzonych drogą normalnej sporogenezy. Anomalie te polegały na zwiększeniu ilości jąder biegunowych (od 3—6) kosztem elementów bieguna mikropylarnego lub chalazalnego. Zjawisko podobne było obserwowane u rodzaju *Alchemilla* (Murbek 1901), a także sporadycznie u *Plumbago zeylandica* (Dahlgren 1916); u tego ostatniego gatunku wszystkie jądra przekształciły się w jądra biegunowe.

U *Ochna serrulata* występują też anomalie polaryzacji oraz zmniejszenie lub zwiększenie ogólnej ilości jąder w woreczkach zalążkowych. W woreczku jednojądrowym przedstawionym na fig. 201 Tab. X. można

dopatrzyć się zarysów synergid i komórki jajowej, natomiast pozostałe elementy stłoczone są w formie nieodróżnicowanych jąder.

Bergman (1935) natrafił na zwiększoną ilość jąder w woreczkach u *Leontodon hispidus*, gatunku rozmnażającego się seksualnie, zdradzającego jednak skłonność do aposporii. Nadliczbowe jądra obserwował on zarówno w diploidalnych woreczkach aposporycznych, jak i w pewnych nienormalnych woreczkach haploidalnych. Woreczki aposporyczne tworzyły się tu w obrębie chalazy poza właściwym terenem woreczka zalążkowego i miały liczbę jąder z reguły większą od ośmiu. W woreczkach tych zwykle wyróżnicowana była tylko komórka jajowa, czasami jednak również jądro bielmowe, antypody i synergidy. Te woreczki aposporyczne były zupełnie bezpłodne.

W koszyczkach jednej rośliny *Leontodon hispidus* var. *hyoseroides* znalazł Bergman woreczki haploidalne utworzone przez zanik ścian między makrosporam. Wszystkie cztery makrospory razem rozwijały się w nienormalny woreczek ośmio- lub więcej jądrowy; zdarzały się woreczki, które zawierały dziewięć, jedenaście, dwanaście lub szesnaście jąder.

Zwiększoną ilość jąder w woreczku obserwowała raz jeden, a więc zupełnie wyjątkowo, R. Czapikówna (1954) u seksualnie rozmnażającej się *Centaurea scabiosa*. Według autorki tej „twór taki przedstawia prawdopodobnie podwójny woreczek zalążkowy”.

W opisanym przeze mnie anormalnym woreczku u *Hypochoeris* odrębniały się dwie grupy jąder: jedna na biegunie mikropylarnym, druga w centrum woreczka. W pierwszej wyróżnicowane były wyraźnie tylko jądra synergid, grupa środkowa zawierała prawdopodobnie liczne niezlane jądra biegunowe. Jednakże charakter tych elementów był nieokreślony, gdyż brakło tu typowego ich zróżnicowania; przypuszczać należy, że woreczek ten podobnie jak u *Centaurea* jest tworem podwójnym. Wskazują na to zwiększone rozmiary woreczka oraz ilość jąder (około trzynastu). Znikliwe antypody w tym stadium w sąsiednich woreczkach już degenerują.

Znaleziony w badanym materiale woreczek z wpukloną komórką integumentalną (fig. 12) zasługuje na uwagę z tego względu, że znane są przypadki, gdy komórka taka rozwinąć się może w dodatkowy apomiktyczny zarodek, który wdziera się w światło woreczka normalnego.

Podkreślić muszę, że nienormalnie wykształcone woreczki trafiały się w moim materiale tylko sporadycznie, przy czym w jednym tylko przypadku zaistniałaby możliwość utworzenia dodatkowego zarodka z komórki integumentu.

Obserwowane przeze mnie zarodki znajdowały się wszystkie w części mikropylarnej woreczka i posiadały normalnie wykształcone wieszadełko,

czego nie obserwujemy nigdy w zarodkach powstałych z komórek nucellusa czy integumentu. Szczegóły te świadczą o tym, że zarodki *Hypochoeris uniflora* rozwijają się normalnie z komórek jajowych, a nie na drodze apomiksji.

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

1. Tetrady pyłku u gatunku *Hypochoeris uniflora* Vill. ($2n = 10$) oraz gotowe ziarna pyłku są na ogół normalne. Ziarna pyłku otoczone są egzyną o charakterystycznej rzeźbie.

W komorach pylnikowych tapetum wykształcone jest w formie peryplazmodium.

2. Zalążek jest odwrócony, cienkośrodkowy o jednym integumencie. Tkanka nucellusa degeneruje stosunkowo wcześniej. Jedyna komórka archesporu jest jednocześnie komórką macierzystą woreczka zalążkowego; daje ona tetradę. Chalazalna makrospora po trzykrotnym podziale daje początek ośmioletkowemu woreczkowi zalążkowemu. W podziale mitotycznym czteroletkowemu zalążka stwierdzono haploidalną liczbę chromosomów $n = 5$.

3. W dojrzałym woreczku zalążkowym synergidy, komórka jajowa i jądro bielkowe wykształcone są w sposób typowy i charakterystyczny dla *Compositae*. Antypody jednoletkowe, zakładają się w liczbie trzech, lecz wcześniej degenerują.

4. Wśród około pięćdziesięciu dojrzałych woreczków dwukrotnie obserwowałam woreczek ze zdegenerowaną treścią, raz zaś niezupełnie typowy w stadium degeneracji. Prócz tego znalazłam raz woreczek o zwiększonej ilości jąder, będący prawdopodobnie tworem podwójnym oraz woreczek z wpukloną do jego światła komórką integumentu.

5. Zarodek umieszczony jest typowo w części mikropylarnej. Wykształca on wieszadelko. Szczegóły te świadczą o jego pochodzeniu z komórki jajowej.

Pracę niniejszą wykonałam w Zakładzie Anatomii i Cytologii Roślin Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, pod kierunkiem Prof. Dr M. Skalińskiej, której wyrażam głęboką wdzięczność za wskazówki i pomoc w czasie prowadzenia badań.

SUMMARY

The embryology and the mode of reproduction of *Hypochoeris uniflora* Vill. has been investigated on plants originating from two separate habitats in the Tatra Mts. This species has a normal sexual reproduction and shows no tendency to develop apomictic additional embryosacs, like those occurring occasionally in ovules of the closely related genus *Leontodon* (*L. hispidus*, Bergman, 1935).

Hypochoeris uniflora is a diploid species with ten somatic chromosomes (Fig. 1). Its pollen is wholly fertile. In the ovules the tetrad formation proceeds normally, the chalazal megaspore giving rise to the eight-nucleate embryo-sac, while the three sister-cells degenerate. Although the meiotic divisions were not observed, their normal course could be inferred from the occurrence of normal tetrads as well as from the reduced chromosome number found in the developing female gametophyte; in one ovule the last mitotic division in the four-nucleate stage could be studied; all the four nuclei were at the stage of metaphase (Fig. 7). Owing to the very low chromosome number of this species the haploid number ($n = 5$) could be established without difficulty.

The mature embryo-sac represents the normal type (Fig. 8), its antipodals however, seen in the number of three in younger stages, are of a very short duration and degenerate early. The majority of the investigated ovules (about 50) possess typically developed embryo-sacs. Exceptionally some abnormal embryo-sacs were found in the material studied. In two ovules the embryo-sac failed to develop, while in two others an abnormal development has taken place. In the first of these abnormal ovules degeneration phenomena were in progress; the egg-cell manifested signs of a beginning abortion and the fusion of the two polar nuclei which in the normal course of development occurs relatively early, was distinctly delayed. In the second abnormal embryo-sac (Fig. 13) the number of nuclei was increased, attaining 12 to 13; in the centre 7 to 8 nuclei were visible; the remaining 5 nuclei were grouped in the micropylar region, however a typical differentiation of the synergids and the egg-cells was lacking. Thus, the abnormal embryo-sac shows a disturbed polarisation and a defective differentiation of its components. It should be added that in another ovule an enlarged cell of the integument was pressed in into the cavity of an otherwise normal embryo-sac. This detail deserves mention since in some species such sporophytic cells may produce adventive embryos.

Abnormal embryo-sacs however represent rare exceptions. In later stages of seed development most ovules contain in the micropylar region a typically formed embryo with a distinct suspensor which shows its origin from the egg-cell.

The author's sincere thanks are due to Prof. Dr. M. Skalińska, Head of the Institute of Plant Anatomy and Cytology, Univ. of Krakow, for guidance and valuable advice during the course of the work.

LITERATURA.

- Bergman B., 1935. Zytologische Studien über die Fortpflanzung bei den Gattungen *Leontodon* und *Picris*. Sv. Bot. Tidskr. 29. 155—301.
- Chiarugi A. e Francini E., 1930. Apomissia in *Ochna serrulata* Walp. Nuovo Giornale Botanico Italiano, N. s. 37. 1—250.
- Cuchtman S., 1930. O budowie woreczka zarodkowego *Petunia violacea* Lindl. Acta Soc. Bot. Pol. 7. 197 — 204.
- Czapik R., 1954. Badania nad cytologią i rozmnażaniem *Centaurea scabiosa* L. Acta Soc. Bot. Pol. 23, 175—194.
- Dahlgren K. V., 1920. Zur Embryologie der Kompositen mit besonderer Berücksichtigung der Endospermibildung. Zeitschr. für Bot. 12. J. H. 9. 481 — 516.
- Dahlgren K. V., 1924. Studien über die Endospermibildung der Kompositen. Sv. Bot. Tidskr. Bd. 18, H. 2. 177 — 203.
- Gustafsson A., 1946-47. Apomixis in higher plants. III. Biotype and species formation. Lunds. Univ. Arsskrift. Bd. 12.
- Hegi G., 1929. Illustrierte Flora von Mittel-Europa. Bd. VI 2. München.
- Johansen D. A. 1950. Plant Embryology. Embryogeny of the Spermatophyta. Waltham, Mass. U. S. A., Chr. Bot. Comp.
- Poddubnaja - Arnoldi W., 1931. Ein Versuch der Anwendung der Embryologischen Methode bei der Lösung einiger systematischen Fragen. Beih. Bot. Zbl. Bd. XLVIII. 141 — 237.
- Schnarf K., 1929. Embryologie der Angiospermen. Berlin.
- Schnarf K., 1931. Vergleichende Embriologie der Angiospermen. Berlin.
- Sharp L. W. (übersetzt v. R. Jaretsky), 1931. Einführung in die Zytologie. Berlin.
- Skalińska M., 1927-28. Etudes sur la Stérilité partielle des Hybrides du Genre *Aquilegia*. Suppl. Bd. II. Zeitschr. f. ind. Abst. u. Vererb. 1343 — 1372.
- Skalińska M., 1950. Studies in chromosome numbers of Polish Angiosperms. Acta Soc. Bot. Pol. Vol. 20. Nr. 1. 45 — 68.
- Stebbins G. L. Jr., Jenkins J. A., a. Walters M. S., 1953. Chromosomes and phylogeny in the *Compositae*, tribe *Cichorieae*. Univ. Calif. Publ. Bot. 26. 401 — 430.
- Szafer Wł., Kulczyński St., Pawłowski B., 1924. Rośliny Polskie. Książnica Atlas. Lwów- Warszawa.
- Wcisło H., 1952. Cytological and embryological studies in *Doronicum* L. Bull. Int. Acad. Pol. Sc. Sér. B. 1951 147 — 166.

An amphiploid hybrid of *Geum urbanum* L. and *G. molle* Vis. et Panc.

W. GAJEWSKI

Botanic Garden, University of Warsaw
(entered: 20.X.53)

I. Introduction

The previously described amphiploid between two *Geum* species (W. G a j e w s k i 1953) arose as progeny of a highly sterile hybrid of *Geum rivale* x *G. macrophyllum* with an asyndetic type of meiosis. The amphiploid plants, found in the second generation, probably arose from the union of unreduced gametes. The amphiploid here described arose in the F_1 generation of a rather fertile hybrid with an almost normal course of meiosis.

Geum rivale, *G. macrophyllum*, *G. urbanum* and *G. molle* all belong to the *Eugeum* subgenus and like the majority of the species in this subgenus have the somatic chromosome number $2n = 42$. Usually, the hybrids from this subgenus have a normal course of meiosis with 21 bivalents in the majority of PMC's, and only few univalents are found in the rest of PMC's. Almost all hybrids of *G. macrophyllum* (and of two very closely related species) with other *Eugeum* species are an exception as their meiosis is asyndetic.

In my previous paper I was inclined to believe that among hexaploid *Eugeum* species the amphiploids should be obtained primarily between those species which gave asyndetic hybrids and form unreduced gametes. When in hybrids the course of meiosis is normal the progeny is composed of hexaploid or rarely of aneuploid plants. However, the second amphiploid hybrid found in my *Geum* cultures arose from two species, the hybrid of which had a normal type of meiosis. The fertility of this amphiploid, contrary to expectations, was fairly high.

The hybrid *G. urbanum* x *G. molle* has a normal course of meiosis but is only partially fertile. The F_2 generation of this hybrid is also he-

xaploid like the parental species and F_1 hybrids. The amphiploid described here was found in F_1 generation among many hexaploid sister plants, and not till the third vegetative period of this F_1 culture. In autumn when collecting seeds I noticed that one plant was more fertile and had bigger achenes than the rest of ab. forty F_1 hybrids. The observation in the following season indicated that this plant differed from the rest of the sister plants in nearly all respects, e. g. the shape and size of leaves, the dimensions of sepals, petals and achenes, and the degree of pollen and seed fertility. The cytological examination showed that the chromosome number of this plant was $2n = 84$, which was double the number in the parental species and F_1 hybrids.

It is unknown how this amphiploid originated and any conjectures are difficult to make. When the plant was identified as an amphiploid it was already three years old with a big, branched, creeping caudex already rotten in its basal parts. The shoot with the doubled chromosome number could develop as the result of bud mutation on a hexaploid plant which at the time of inspection was already dead. Also the doubling of the chromosome number could take place in a very early stage of the zygote development, then, the whole plant was dodecaploid from the very first year of growth and only escaped my attention. It is also just possible that this exceptional plant arose from the union of two unreduced gametes produced by the parental species. This last supposition seems to be the least plausible, as I have never observed the formation of unreduced gametes in any pure *Geum* species.

In the literature many examples are known of the apparition of amphiploids in F_1 interspecific generation, both as bud mutation and as the result of an early doubling in the zygote. As an example of the former mode of apparition of an amphiploid can be given *Primula kewensis* (Newton a. Pellew 1929) and of the latter — *Nicotiana digluta* (Clausen a. Goodspeed 1925, Clausen 1928).

The amphiploid described here proves that polyploidity in the genus *Geum* can arise not only through gametic doubling but also as the result of somatic doubling. As in the evolution of the whole *Geum* genus amphiploidity plays decisive rôle (in the whole genus not one diploid species is so far known) the description of this new amphiploid plant and its progeny will be a contribution to the knowledge of the ways new polyploid forms in this genus appear.

II. Parental species and F_1 generation

Geum urbanum L. is the commonest *Geum* species in Europe, often found as an anthropochoric plant in the neighbourhood of human settlements, roadsides and pastures. In more natural habitats it is found in

forests and other shadowed places. Its present large distributional area is undoubtedly partly due to human activity, especially in its northern parts. The species represents a south-european genetic element.



Fig. 1. *G. molle* V i s. et P a n c.

Geum molle V i s. et P a n c. is much more restricted in its distribution, it appears on the Balcan Peninsula ranging from Serbia and Montenegro to Bulgaria, Macedonia and Albania. This species also grows in the Abruzzza province in Italy. It is a plant from thinly growing forests and shrubs, where there is much light, of the lower mountain zones.

On the Balcan Peninsula both species grow together on large territories and have many opportunities to cross. Beck v. M a n n a g e t t a (1899) indicates natural hybrids between these two species from the Balcan Peninsula, but there are no precise data on their frequency. The parental species are represented in figs. 1 a. 2 and a map of their distribution in fig. 3.

In my cultures *G. urbanum* was obtained from natural station from the neighbourhood of Warsaw, *G. molle* was raised from seeds gathered from the natural station in Rhodope Mountains in Bulgaria obtained from

the Botanical Garden in Sofia. Both species were cultivated in Warsaw during many years and were several times propagated by seeds. During their culture both species proved to be constant and uniform in regard to major specific traits.



Fig. 2. *G. urbanum* L.

The crossing of the two species was done in 1949 in both reciprocal directions. Seed setting after cross-pollination was high, and in both reciprocal crosses good achenes were obtained in approx. 80%. The numerous F_1 plants raised were vigorous and surpassed the parental species in height of floral stems. The reciprocal hybrids were identical. Some idea of the specific traits in the parental species and F_1 hybrids may be obtained by comparing figs. 1, 2, 4 a. 5 and from the short description given below:

a) Shape of caudical and stem leaves (fig. 5): The shape of leaves of *G. molle* is very characteristic. The caudical leaves are lyrate as in all *Eugeum* species but the terminal leaflet is entire, ovoid, shallowly incised with cordate base and with sharply serrate margin. On the long petiole there are only a few pairs of small lateral leaflets. In the caudical

leaves of *G. urbanum* the terminal leaflet is large, pinnately divided into three cuneate lobes, and the lateral leaflets are more conspicuous. Also the stem leaves of these two species differ greatly. The stipules in *G. urbanum* are much greater than in *G. molle*. As can be judged from figs 4 and 5 the shape of leaves in F_1 hybrids is nearly intermediate between the parental species.

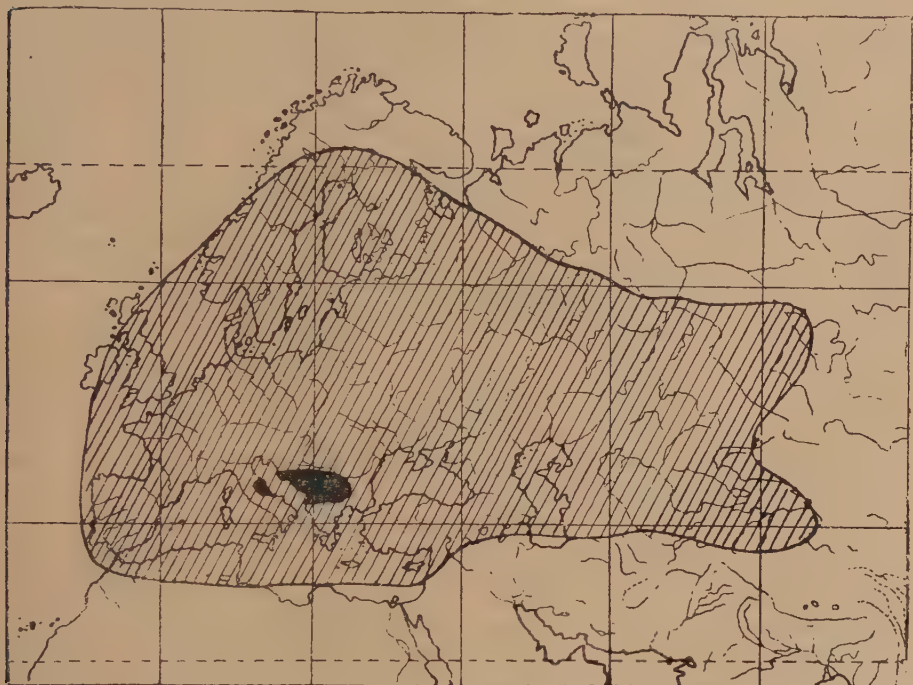


Fig. 3. The geographical distribution of *G. molle* (black) and of *G. urbanum* (hatches)

b) Floral stems: *G. molle* has floral stems from 40 to 60 cm high, usually with 1 to 3 flowers per stem. The floral peduncles after anthesis are rigid and elongated. *G. urbanum* has higher floral stems ranging from 60 to 80 cm, it is much more branched with 5 to 9 and even 12 and more flowers per stem. In F_1 hybrids the floral stems are up to 90 cm high with from 5 to 9 flowers per stem like in *G. urbanum*.

c) Pubescence: *G. molle* has stems and leaves densely a. softly pubescent (the specific name reflects this character). The hairs are long, straight, and soft, usually directed downwards. The upper part of the stem together with the floral peduncles and the calyx is densely covered with glandular hairs. *G. urbanum* is sparsely haired with short, soft hairs intermingled with few longer and stiffer bristles, the glandular



Fig. 4. F_1 hybrid *G. molle* x *G. urbanum*

hairs are absent. The pubescence of F_1 hybrids is dense though perhaps somewhat shorter than in *G. molle* but there are no glandular hairs in it.

d) Structure of flowers: The flowers of the two parental species are rather similar. They differ in the following traits: in *G. molle* the sepals at anthesis are horizontally spread and only during ripening of achenes they bend downward and are reflexed to the peduncle, in *G. urbanum* the sepals are reflexed already during flowering. The petals of *G. molle* are less intensively yellow than those of *G. urbanum* and are broad-elliptic in *G. molle*, and obovate in *G. urbanum*. The average length and width of petals of *G. molle* are 11,5 and 9,2 mm and in *G. urbanum* — 5,8 a. 4,6 mm respectively. *G. molle* has a hairy gynophore which is 1 mm long, in *G. urbanum* there is no gynophore. The receptacle in *G. urbanum* is densely covered with long, yellow hairs while in *G. molle* it is only sparsely haired with much shorter hairs. The achenes are numerous in both species (ab. 160 on one receptacle), they are in *G. urbanum* longer and less pubescent than in *G. molle*. The rostrum in *G. molle* is shorter and covered with many glandular hairs. In F_1 hybrids the sepals are reflexed downward already during anthesis, the petals are intensively yellow like those of *G. urbanum*. The shape and size of petals are inter-



Fig. 5. Basal leaves of *G. molle* (left), *G. urbanum* (right) and of F_1 hybrid *G. molle* $\times$ *G. urbanum* (centre).

mediate, their average length and width are 9,2 a. 7,2 mm respectively. There is no gynophore and the receptacle is covered with short hairs like in *G. molle*. The dimensions of achenes are rather similar to those of *G. urbanum* but the achenes are more haired and the rostrum is glabrous.

Besides the traits mentioned above, both species differ in many other respects such as for instance: the time of flowering and fruiting, the resistance to low temperatures and to the attack of parasitic fungi. The F_1 hybrids are healthy, resistant, vigorous plants showing distinct hybrid vigour. The fertility of these hybrids is distinctly lowered and varies in different years, which is apparent from the following table:

Year	Pollen fertility in %			Seed fertility in %		
	from	to	average	from	to	average
1950	27,9	45,7	32,6	20,0	23,6	22,5
1951	25,5	31,4	26,6	14,0	27,3	23,1
1952	19,4	26,0	21,4	13,0	28,5	18,8
1953	20,6	12,1	15,3	1,8	8,5	6,9
average:			23,9			16,3

In 1953 the fertility was distinctly lower which was most probably caused by a severe attack on all my *Geum* cultures by a parasitic fungus which was not identified.

Drawings of meiosis in PMCs of F_1 hybrids are given in fig. 6. It is apparent that meiosis develops rather regularly with only few minor disturbances. In diakinesis in the 12 analysed PMC's I have found only

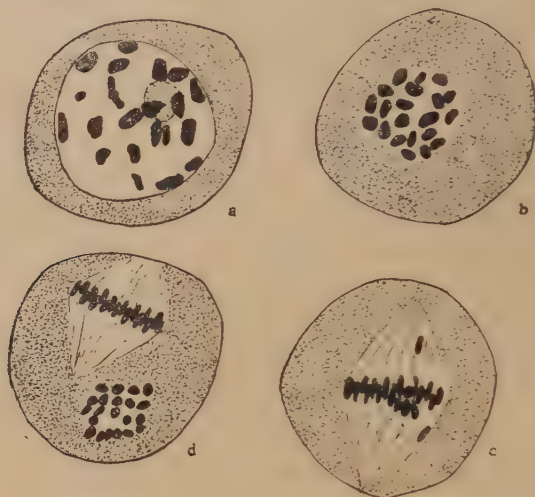


Fig. 6. The course of meiosis in PMC's of *G. urbanum* $\times$ *G. molle* F_1 hybrid: a — diakinesis with 21 bivalents, b — metaphase I with 21 bivalents, c — metaphase I with 2 univalents, d — metaphase II with 21 chromosomes on the plate.

21 bivalents in each cell. In 44 PMC's at metaphase of the first division following configurations have been observed:

21 _{II}		in 34 PMC's (fig. 6b)
20 _{II} + 2 _I		in 8 PMC's (fig. 6c)
18 _{II} + 6 _I		in 1 PMC
17 _{II} + 8 _I		in 1 PMC

During metaphase the univalents lie on the spindle off the metaphasal plate. At anaphase, in the majority of the analysed PMC's, all chromosomes are separated to the two anaphasal groups, and only in 2—3% of PMC's some univalents lag on the spindle. In 12 PMC's the number of chromosomes in metaphase II plates has been counted, and in all instances it is 21 (fig. 6d). Similarly to the first meiotic division also the second one is almost normal. The tetrads are always composed of four normally looking spores. Nevertheless the majority of the young pollen grains degenerate.

III. The description of the amphiploid plant.

In autumn 1951 when collecting seeds from the F_1 generation of *G. urbanum* x *G. molle* I found one plant with a fertility much higher than in sister plants. The good achenes of this plant were also distinctly bigger. In 1951 this culture was already three years old. In the preceding year I did not notice this plant, which, however, did not mean that this plant appeared in 1951 as I could easily have missed it before. The high fertility and the enlarged dimensions of the achenes seemed to indicate that it could have been an amphiploid with a doubled chromosome number. The seeds gathered from this plant were sown separately. The plants obtained from them flowered abundantly in 1953.



Fig. 7. Amphiploid plant from F_1 *G. molle* x *G. urbanum*.

The supposed amphiploid plant flowered also in 1952 and from careful observation and measurement it appeared that it had thicker, less dissected and broader leaves, thicker and shorter floral stems, bigger floral organs, bigger achenes, and higher pollen and seed fertility. The study of meiotic divisions in PMC's confirmed the supposition that the plant was amphiploid. In metaphase I 42 bivalents instead of the 21 in

other F_1 plants were found in many PMC's. The morphological differences between this dodecaploid plant and the hexaploid hybrids can be compared from figs. 4 a. 7.

A detailed description of all the specific traits of the amphiploid plant will not be given here but in order to illustrate the enlarged dimensions of organs in the amphiploid the measurements of sepals and petals are given.

Length of petals in mm	7,5	8	8,5	9	9,5	10	10,5	11	11,5	n	M	m
F_1 plant with $2n = 42$	3	8	10	14	15	6	1	1		58	9,0	0,19
Amphiploid with $2n = 84$			1	5	6	16	7	6	1	42	10,1	0,21

Width of petals in mm	6	6,5	7	7,5	8	8,5	9	9,5	n	M	m
F_1 plant with $2n = 42$	6	7	20	18	4	2	1		58	7,3	0,16
Amphiploid with $2n = 84$					3	9	19	11	42	9,2	0,19

Length of the sepals in mm	5	6	7	8	9	10	11	n	M	m
F_1 plant with $2n = 42$	4	8	12	7	2			33	6,9	0,18
Amphiploid with $2n = 84$			2	10	10	4	4	30	8,4	0,19

As it appears from the tables the dimensions of petals and sepals in the amphiploid are distinctly greater than in hexaploid plants. As it has often been pointed out in other polyploids, here also the width of petals is more enlarged than their length. Still more conspicuous are the differences in the shape of the leaves. The leaves of the amphiploid when compared with those of hexaploid hybrids have much shorter petioles with fewer lateral leaflets and with big, broad, intensely green, and less incised terminal leaflet. Some organs of the amphiploid and the corresponding ones of a hexaploid hybrid are illustrated to scale in fig. 8, in which the differences are plainly visible. The fertility of this amphiploid during three years was as follows:

Year	Av. pollen fert.	Av. seed fert.
1951	—	66,1%
1952	69,4%	53,5%
1953	71,2%	49,0%
Average	70,3%	56,1%



Fig. 8. Basal leaves, floral stems, flowers, fruit-heads and achenes of *G. molle* x *G. urbanum* F₁ hybrid (left) and of the amphiploid plant (right) drawn to scale.

When pollen and seed fertility of the amphiploid (70,3% a. 56,1% respectively) are compared to the fertility of hexaploid hybrids (23,9% and 16,3% respectively) it become apparent that the fertility of the amphiploid has increased ab. three times.

A sideview analysis of meiosis in 73 PMC's of the amphiploid showed during the first metaphase: 1) all chromosomes were tightly packed in the metaphasal plate and no univalents were visible in the spindle in 65 cells, 2) 2 univalents were visible in spindle in 3 cells, 3) from 4 to 10 univalents were off the plate in the remaining 5 cells. In the polar view analysis it was rather difficult to count exactly all chromosomes as they were crowded in large numbers in the plate. In 3 PMC's the number



Fig. 9. Metaphase I in the PMC's of the amphiploid plant:
a — with 42 chromosomes, b — with 43 chromosomes.

was found to be 42 and in 1 PMC — 43 (fig. 9a, b). The course of anaphase I and the whole second division is nearly normal. The rare univalents are usually segregated to the polar groups together with the bivalent halves and only seldom the univalents are left on the spindle. The tetrads look quite normal but ab. one third of young pollen grains degenerates.

IV. The progenies of hexaploid F_1 hybrids and of the amphiploid plant

In 1953 I had 62 plants from the F_2 generation and 45 plants obtained from the amphiploid plant. All these plants have flowered and set seeds abundantly. These rather small numbers are due to the shortness of place. Nevertheless the comparison of these two populations is very interesting. Whereas the progeny of the hexaploid hybrids is extremely variable and no two identical plants are to be found, the progeny of the amphiploid is morphologically very uniform and the differences among the individuals are small. Photographs of dried leaves from 9 plants from each of the two progenies in figs. 10 a. 11 illustrate well the great



Fig. 10. Basal leaves of 9 plants from the F_2 generation *G. molle* × *G. urbanum*.

differences between the two groups. In the F_2 generation raised from hexaploid hybrids the segregation is conspicuous in all studied traits: ramification of floral stems, degree and character of pubescence on leaves, stems, sepals, petals and achenes, dimensions of petals and sepals,



Fig. 11. Basal leaves of 9 plants from the second generation of the amphiploid plant.

length and degree of pubescence on the receptacle, length of the gynophore, dimensions of achenes, time of flowering and others. To illustrate the character of the segregation in F_2 measurements of petal lengths are tabulated below:

Length in mm:	4,5	5	5,5	6	6,5	7	7,5	8	8,5	9
G. molle										
G. urbanum	2	1	18	7	3	5				
F_1							3	8	10	14
F_2			1	2	2	3	5	7	18	9

Length in mm:	9,5	10	10,5	11	11,5	12	12,5	n	M	m
G. molle		2	3	5	12	8	5	35	11,5	0,22
G. urbanum								36	5,8	0,20
F_1	15	6	1	1				58	9,0	0,19
F_2	5	3	3	2	1	1		62	8,7	0,32

Together with the morphological traits also the degree of fertility showed a marked segregation. The seed fertility of all 62 F_2 plants is as follows:

% of good achenes	0	10	20	30	40	50	60
number of plants	12	22	20	2	4	2	

As it appears in the majority of F_2 plants fertility is lower than in F_1 hybrids, though some plants are markedly more fertile.

The most striking feature in the second generation from the amphiploid F_1 plant is its uniformity. Most of the traits show no or very small segregation. For comparison I give here measurements of petal lengths in the 45 plants of this generation:

Length of the petals in mm:	9	9,5	10	10,5	11	11,5	12	n	M	m
Number of plants	9	5	10	15	4	2	45	10,6	0,20	

When the petal length of this F_2 generation is compared with the variation of the same character in the original F_1 amphiploid it will be seen that the average length is somewhat greater but the coefficient of variability is nearly the same. All these F_2 plants similarly as the amphiploid are eglandular, have stems ranging from 53 to 71 cm with from

2 to 4 or 5 flowers per stem. In all plants the gynophore is 2—3 mm long a. hairy, and the receptacle 5—6 mm long with short pubescence. The receptacle is often flattened and sometimes bifid on the top. I have never observed this trait in parental species and their F_1 hybrids. The number of the achenes on the receptacle ranges from 160 to 220. The achenes are 7—8 mm long, strongly pubescent with a glabrous rostrum 6—8 mm long. The sepals are 9,5—11 mm long and recurved at anthesis. The petals are intensively yellow, 10,5—11 mm long and 9,5—10,5 mm broad. The plants are robust and flower and set fruit abundantly. The fertility of these plants is high although not quite uniform:

Pollen fertility in %	40	60	80	100
Number of plants	21	19	5	
Seed fertility in %	40	60	80	100
Number of plants	23	22		

As we see the fertility of this F_2 generation is nearly the same as of the F_1 amphiploid.

In 4 plants of this F_2 generation the somatic chromosome number from root tips was ascertained to be $2n = 84$ (fig. 12a). The course of me-

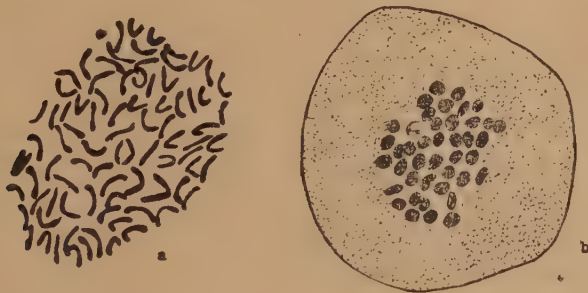


Fig 12. a — somatic plate with 84 chromosomes from a plant of the second amphiploid generation, b — metaphase I with 42 bivalents in PMC from a plant of the second amphiploid generation.

iosis was checked in several plants on aceto-carmin smear preparations of PMC's. In all plants the course of meiosis is quite normal and the percentage of cells in which 2 or more univalents are seen at meta- or anaphase is small. Cells with visible univalents are only 3—4% of the total of examined cells. On fig. 12b a regular metaphase I plate from one of the F_2 plants is shown.

The F_3 generations from several F_2 plants were sown this year and will flower in two years.

V. Discussion

The amphiploid described in this paper arised from an interspecific hybrid with a nearly normal chromosome coniugation. Notwithstanding the high degree of chromosome homology of both parental species the coniugation of chromosomes in meiosis of the amphiploid is highly normal with bivalents only in the majority of PMC's. In my previous papers (W. G a j e w s k i 1952, 53). I have tried to prove that the hexaploid *Eugeum* species are allohexaploids with two genomes homologous to the two genomes of the tetraploid *G. montanum* of the *Oreogeum* subgenus. The evolution in the *Eugeum* subgenus (disregarding few dodecaploid species) has consisted chiefly of genic differentiation and perhaps also of small chromosomic rearrangements that have not destroyed the gross chromosome homology of different species. The now existing hexaploid *Eugeum* species are rather old judging from their very disjunctive distribution on four continents and represent a completly „diploidized“ type of polyploids. The basic chromosome number for the *Euguem* subgenus is 21 which is triploid in relation to the basic number 7 characteristic for the whole genus *Geum* and many other rosaceous genera.

According to S t e b b i n s' s (1947, 1950) classification of polyploid types this amphiploid should be regarded as „segmental allopolyploid“. In S t e b b i n s' s opinion sterile interspecific hybrids with normal coniugation at meiosis indicate that the parental species have chromosomes differing in many small chromosomal segments. The coniugating chromosomes are thus only partially homologous. Due to crossing over between semihomologous chromosomes gametes with duplicated or deficient chromosomal segments arise. Such gametes degenerate. After the doubling of the chromosome number coniugation between truly homologous chromosomes takes place and fertility is restored.

I have studied many interspecific hybrids among different hexaploid *Eugeum* species and in most cases the chromosomes of the different species do coniugate. In few cases of nearly complete asynapsis, e. g. in the hybrid *G. rivale* x *G. macrophyllum* (W. G a j e w s k i 1950, 53), asynapsis is most probably due not to the lack of homology between chromosomes of the two parental species but to desynapsis caused by genic, or more generally by some pysiological factors. In many interspecific hybrids within the *Eugeum* subgenus with nearly the same high degree of chromosome coniugation I have observed differences in degree of fertility ranging from fertile hybrids to completely sterile ones. The differences in fertility of these hybrids cannot be explained solely by differences in the structural composition of chromosomes from the parental species. Both the degree of chromosome coniugation and the degree of fertility depend, above all, on the genic composition of the hybrid,

on the sensitivity of hybrids to many external factors and also on the general vigour of hybrids. The coniugation of chromosomes and the whole course of meiosis are highly sensitive to many internal and external conditions, and many facts indicate that this sensitivity may be different in different hybrids. In his recent paper Grant (1952) convincingly demonstrates the great sensitivity of the meiotic processes in the hybrid *Gilia millefoliata* x *achilleaefolia* to the nutritional state of the plant. In Grant's hybrid the number of bivalents formed at meiosis is greater in well nurished plants than in the starved ones. In starved plants with low bivalent number the percentage of unreduced gametes increases. The same sensitivity appears in amphiploids of the second generation, but the parental species do not react to the nutritional factors. Grant writes that the parental species „are presumably well buffered against a fairly wide range of environmental conditions“.

Still more complicated are the relations of the gametic fertility to the internal and external conditions. Especially complicated are the relations of amphiploid fertility to the coniugation of chromosomes before and after the doubling of the chromosome number in the hybrid. In my work on *Anemone* (W. Gajewski 1946) I tried to establish a rather simple relation between amphiploid fertility and the degree of chromosome coniugation in the F_1 hybrid before the chromosome doubling. These attempts, I must now admit, were based on superficial analysis of insufficient data, and led to unwarranted conclusions. The relation, however, is much more complicated than I then believed, and the fertility of the amphiploid depends on many various factors such as for instance: 1) the degree of structural homology between parental chromosomes, 2) the number of chiasmata formed at prophase and metaphase which is a function of genic action and chromosome dimensions, 3) the genes influencing different meiotic processes and the development of gametophytes and zygotes, and 4) the sensitivity of all these processes to environmental conditions which can be different in pure species, F_1 hybrids and amphiploid plants.

As the F_1 hybrid is rather fertile and has normal coniugation it is to be expect that the amphiploid will be rather unfertile, with polyvalents at meiosis and will not breed true. This, however, is not the case. The chief source of this discrepancy between expectations and the behaviour of the amphiploid is the fact that in the *Geum* genus the bivalents at metaphase are held usually by only one chisama and there is no opportunity to form polyvalents. The formation of bivalents only between truly homologous chromosomes assures the fertility and constancy of this amphiploid.

There must be many factors responsible for the great differences in the degree of ploidity found in different plant groups. It is a well known fact that in some groups, like for instance the genus *Geum*, the majority of the species are polyploids, whereas in other groups natural polyploids do not exist. In the genus *Geum* all cytologically examined species are polyploids, and diploid species with $2n = 14$ are known only from related genera *Waldsteinia* and *Coluria*. The *Geum* species cross very easily, the interspecific hybrids are usually vigorous and the fertile hybrids give also healthy and vigorous progenies. This high compatibility and the ability of the different genomes to work harmoniously together is, in my opinion, one of the reasons of the fertility of polyploids and of their great rôle in the evolution of this genus.

In the evolution of the genus *Crepis* (B a b c o c k 1947), which is one of the best cytogenetically studied of all genera, polyploidity has played only a minor rôle. From Babcock's and his collaborators work we see that compatibility in *Crepis* is lower than in the *Geum* genus, and, what is more important, the hybrids are usually sterile and often weak and sublethal. Also amphiploids raised in this genus (P o o l e 1931, 32, H o l l i n g s h e a d 1930a, b) are more or less sterile and of reduced vigour. It is not an accident that the only larger group of north-american polyploids found in this genus forms an „agamic complex“ which indicates that, in this case, polyploids can be maintained when they lose the ability of sexual reproduction. These facts suggest that the relatively high viability and fertility of the amphiploid described in this paper can be explained by the genic constitution of the parental genomes which, being structurally sufficiently homologous, have at the same time the ability to work harmoniously together in the vegetative and generative development of the hybrid plants. The second cause of the high fertility and constance of this amphiploid is a strong „differential affinity“ of the coniugating chromosomes and the low chiasmata frequency.

In my previous paper (W. G a j e w s k i 1953) I expressed the opinion that the chances to obtain dodecaploid amphiploids from highly fertile with normal chromosome coniugation hybrids of hexaploid *Eugeum* species are small because the progenies of these hybrids also are always hexaploid. It appeared, however, that this was not the case and the amphiploid obtained from a fertile hybrid proved to be even more fertile than the previously described amphiploid obtained from a sterile asynthetic hybrid. Thus the possibility to obtain fertile amphiploids from fertile, with normal chromosome coniugation hexaploid *Eugeum* hybrids does exist.

SUMMARY

1. An interspecific F_1 hybrid between two hexaploid ($2n = 42$) species *Geum urbanum* x *G. molle* is described. This hybrid has a nearly normal course of meiosis with 21 bivalents in the majority of PMC's and forms, on the average, 23,9% of good pollen grains and 16,3% of good achenes.

2. In the F_1 generation, besides hexaploid plants, one dodecaploid plant with $2n = 84$ was found. The amphiploid differed in many traits from the hexaploid sister plants and formed, on the average, 70,3% of good pollen grains and 56,1% of good achenes. Its course of meiosis was very normal with 42 bivalents in the majority of the PMC's studied, and with only few cells with two or more univalents.

3. The progeny from hexaploid hybrids showed conspicuous segregation of all characters studied, whereas, the progeny of the amphiploid plant was very uniform.

4. The reasons for the high fertility and constancy of this amphiploid are discussed.

LITERATURE CITED

- B a b c o c k E. B., 1947, The Genus *Crepis* I. The Taxonomy, Phylogeny, Distribution and Evolution of *Crepis*. Univ. Calif. Publ. Bot., 21, 1—197.
- B e c k v. M a n n a g e t t a G., 1895. Die *Geum*-Arten der Balkanländer. Verh. d. Zoolog. Bot. Gez. Wien, 45.
- C l a u s e n R. E., 1928, Interspecific hybridization in *Nicotiana*. VII. The cytology of hybrids of the synthetic species *digluta* with its parents *glutinosa* and *Tabacum*. Univ. Calif. Publ. Bot., 11, 177—211.
- C l a u s e n R. E. a G o o d s p e e d T. H., 1925. Interspecific hybridization in *Nicotiana*. II. A tetraploid *glutinosa-Tabacum* hybrid, an experimental verification of Winge's hypothesis, *Genetics*, 10, 278—284.
- G a j e w s k i W., 1946, Cytogenetic Investigations on *Anemone* L. I. *Anemone Janczewskii* a New Amphidiploid Species of Hybrid Origin. Acta Soc. Bot. Pol., 17, 129—194.
- G a j e w s k i W. 1952, The hybrids between two subgenera of *Geum* L. Acta Soc. Bot. Pol., 21, 489—516.
- G a j e w s k i W., 1953, A Fertile Amphipolyploid Hybrid of *Geum rivale* with *G. macrophyllum*. Acta Soc. Bot. Pol., 22, 411—439.
- G r a n t V., 1952, Cytogenetics of the hybrid *Gilia millefoliata* x *achilleaefolia*. I. Variations in meiosis and polyploidy rate as affected by nutritional and genetic conditions. *Chromosoma*, 5, 372—390.
- H o l l i n g s h e a d L., 1930a. Cytological investigation of hybrids and hybrid derivatives of *Crepis capillaris* and *Crepis tectorum*. Univ. Calif. Publ. Agric. Sci., 6, 55—94.
- H o l l i n g s h e a d L., 1930b. A lethal factor in *Crepis* effective only in an interspecific hybrid. *Genetics*, 15, 114—140.

- Newton W. C. F. a. Pellew C., 1929, *Primula kewensis* and its derivatives. Jour. Genetics, 20, 405—467.
- Poole C. F., 1931, The interspecific hybrid *Crepis rubra* x *C. foetida*, and some of its derivatives. I. Univ. Calif. Publ. Agric. Sci., 6, 169—200.
- Poole C. F., 1932, The interspecific hybrid *Crepis rubra* x *C. foetida*, and some of its derivatives. II. Two selfed generations from an amphidiploid hybrid. Univ. Calif. Publ. Agric. Sci., 6, 231—255.
- Stebbins G. L. Jr., 1947, Types of polyploids: their classification and significance. Advances in Genetics I, 403—429.
- Stebbins G. L. Jr., 1950. Variation and Evolution in Plants, Columbia Univ. Press, New York.

Badania nad ruchami fototaktycznymi chloroplastów. II.

Studies on the phototactic movements of chloroplasts. II.

ALICJA ZURZYCKA I JAN ZURZYCKI

(Wpłynęło 2.XI.53 r.)

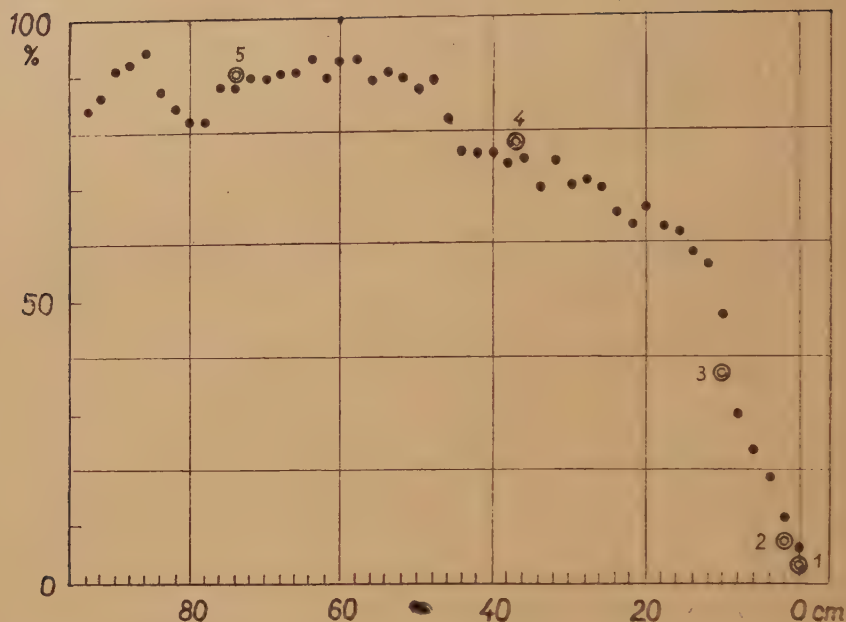
Celem niniejszej pracy było zbadanie kilku dalszych zagadnień, dotyczących działania światła białego na ruchy fototaktyczne chloroplastów, a mianowicie:

- 1) wpływu stopniowej zmiany intensywności światła na przejście chloroplastów do parastrofii,
- 2) wpływu światła przerywanego na przebieg reakcji fototaktycznych,
- 3) przebiegu reakcji fototaktycznych w zależności od czasu trwania pozycji wyjściowej i
- 4) zmęczenia w ruchach fototaktycznych.

Jako materiału użyto, podobnie jak poprzednio (Zurzycka i Zurzycki 1953) *Lemna trisulca* L. Doświadczenia przeprowadzano przy pomocy aparatury opisanej w jednej z prac poprzednich (Zurzycka i Zurzycki 1951).

1. Wpływ stopniowej zmiany intensywności światła na przejście chloroplastów do parastrofii.

We wszystkich dotychczasowych badaniach wywoływano reakcje fototaktyczne nagłą zmianą intensywności światła. W związku z tym należało sprawdzić, czy zmiana układu chloroplastów w komórce spowodowana jest dostosowywaniem się do nowej intensywności światła, czy też jest rezultatem nagłego skoku intensywności. Dla przekonania się, która z tych możliwości jest słuszna, przeprowadzano rejestrację zmian układu chloroplastów w reakcji epistrofia — parastrofia przy stopniowej zmianie intensywności światła (z 90 luksów na 13300). Stopniową zmianę intensywności światła osiągnęto przez przesuwanie lampy na ławie optycz-



Ryc. 1. Zmiany układu chloroplastów przy stopniowym zwiększaniu intensywności światła przez przybliżanie lampy o 2 cm co 15 minut. Rzędne — procent epistrofii, odcięte — położenie lampy na ławie optycznej. Punkty 1—5 oznaczają średni procent epistrofii uzyskany w badaniach poprzednich dla różnej intensywności światła przy zastosowaniu nagłej zmiany intensywności.

Fig. 1. Changes in chloroplasts arrangement caused by increasing light intensity when the lamp is approached 2 cm every 15 mins. Abscissae — percentage of epistrophe, ordinates — distance of lamp. Spots 1—5 indicate the average epistrophe percentage obtained in previous investigations for sudden changes in intensity of light.

nej co 15 minut o 2 cm. Odpowiada to w przybliżeniu średniemu wzrostowi intensywności o około 10%.

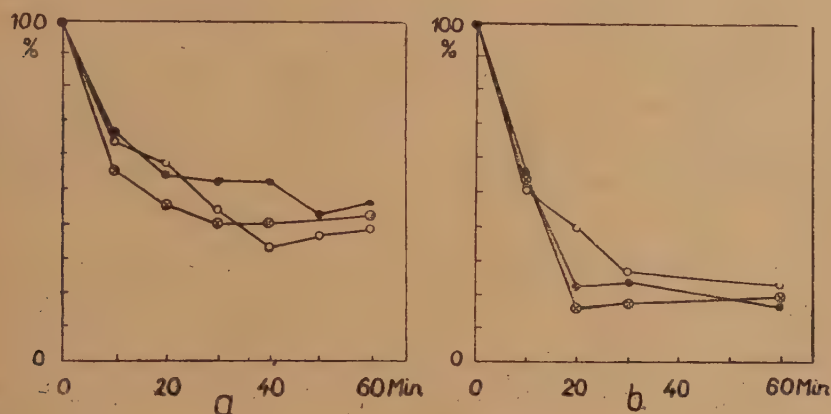
Wynik doświadczenia (ryc. 1) pozwala stwierdzić, że niezależnie od tego czy intensywność światła jest zmieniana stopniowo czy nagle, układ końcowy chloroplastów jest identyczny — jest on zatem zależny wyłącznie od intensywności światła a nie od jej skoku.

2. Wpływ światła przerywanego na przebieg reakcji fototaktycznych.

Badania nad działaniem światła przerywanego miały na celu rozstrzygnięcie zagadnienia, czy układ chloroplastów dostosowuje się do sil-

nej intensywności światła, działającej z przerwami, tak jak gdyby działała ona ciągle, czy też odpowiada średniej intensywności, wynikającej z sumy padającego światła.

Światło przerywane dozowano przy pomocy sektora, wykonującego 1 obrót w ciągu 16 sekund. Światło silne miało natężenie 8300 luksów, światło słabe (otrzymane przez osadzenie matówki na sektorze) intensywność 400 luksów. Stosowano działanie światła o stosunku światło silne do światło słabe — 1:1 i 3:1.



Ryc. 2. a. Przebieg reakcji fototaktycznej przy naświetlaniu światłem ciągłym —x—, oraz przerywanym w stosunku 1:1 sek —●—, i 8:8 sek —○—. Odcięte czas w minutach, rzędne procent epistrofii

b. Przebieg reakcji fototaktycznej przy naświetlaniu światłem ciągłym —x—, i przerywanym w stosunku 1,5:0,5 sek. —●—, i 12:4 sek. —○—. Odcięte — czas w minutach, rzędne — procent epistrofii.

Fig. 2. a. Course of phototactic reaction in continuous light —x—, and in light interchangeable in ratio of 1:1 secs —●—, and 8:8 secs —○—. Abscissae — time in mins, ordinate — epistrophe percentage.

b. Course of phototactic reactions in continuous light —x—, and in light interchangeable in ratio of 1,5:0,5 secs —●—, and 12:4 secs —○—. Abscissae — time in mins. ordinate — epistrophe percentage.

W wypadku pierwszym (stos. 1:1) działano okresami 1:1 lub 8:8 sek. Średnia intensywność światła wynosiła 4300 luksów. Wyniki tego doświadczenia przedstawia ryc. 2a. Ryc. 2b przedstawia wyniki podobnego doświadczenia, przeprowadzonego dla stosunku światło silne: światło słabe — 3:1, dozowanego w okresie 1,5:0,5 i 12:4 sek. Średnie końcowe % epistrofii (z 6 powtórzeń) osiągnięte w wymienionych powyżej wypadkach przedstawia Tablica I.

TABLICA I

Światło silne: światło słabe — 1:1 (Średnia intensywność 4300 luksów)		Światło silne: światło słabe — 3:1 (Średnia intensywność 6300 luksów)	
1:1 sek.	44,56	1,5:0,5 sek.	16,62
8:8 sek.	45,08	12:4 sek.	20,20
kontrola	41,50	kontrola	19,90

Na podstawie powyższych danych można stwierdzić, że układ chloroplastów dostosowuje się zawsze do średniej intensywności światła, wynikającej z sumy światła padającego, niezależnie od tego, czy jest ono dozowane w sposób ciągły, czy przerywany oraz niezależnie od sposobu przerywania.

3. Przebieg reakcji fototaktycznych w zależności od czasu trwania pozycji wyjściowej.

W badaniach poprzednich stwierdzano sporadycznie, że szybkość reakcji fototaktycznych zdaje się niekiedy zależeć od czasu w jakim chloroplasty były ustawione w położeniu początkowym. Dla sprawdzenia tej hipotezy przeprowadzono badania przebiegu reakcji fototaktycznych w tych samych komórkach liścia

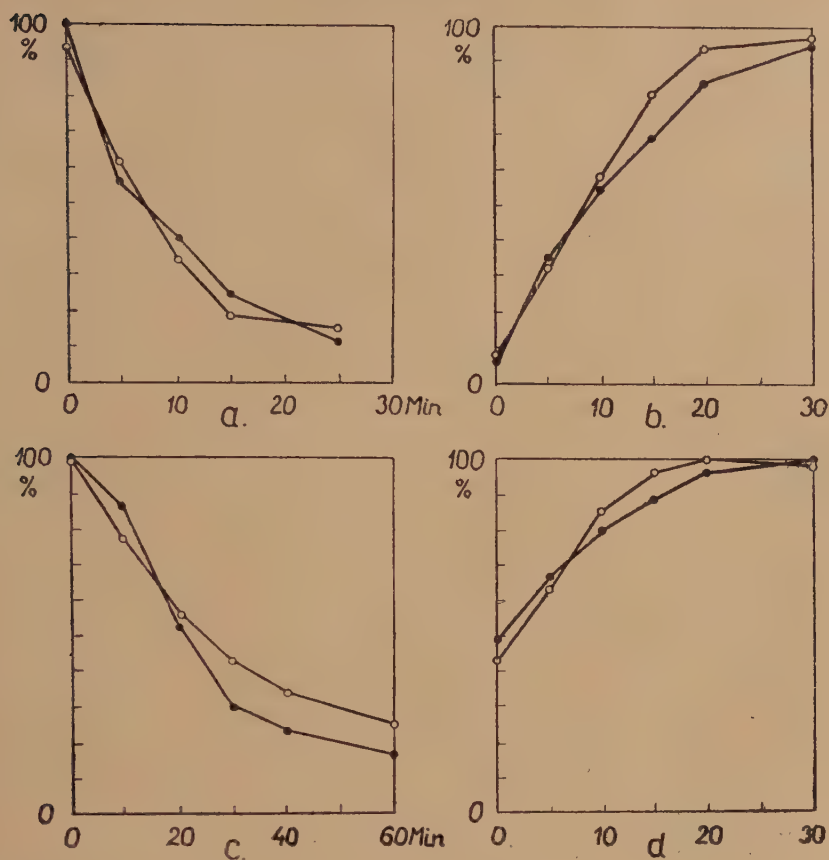
- 1) po $\frac{1}{2}$ godziny utrzymywania chloroplastów w pozycji wyjściowej,
- 2) po 5 godzinach utrzymywania chloroplastów w pozycji wyjściowej.

Wyniki doświadczeń przedstawia ryc. 3 a-d. Pozycjami wyjściowymi były: epistrofia (reakcja epistrofia — apostrofia i epistrofia — parastrofia), parastrofia (reakcja parastrofia — epistrofia) oraz apostrofia (reakcja apostrofia — epistrofia).

Jak wynika z wykresów przebieg reakcji jest w granicach błędu identyczny, jest zatem niezależny od poprzedniego naświetlania. Według Sen na (1908) chloroplasty z dużymi ziarnami skrobi poruszają się wolniej niż chloroplasty bez skrobi. Jednak ani czas 5 godzin ani intensywność 13300 luksów nie była wystarczająca na utworzenie takiej ilości skrobi, która mogłaby wpływać na szybkość reakcji.

4. Zmęczenie w ruchach fototaktycznych.

Celem tej części pracy było stwierdzenie czy często powtarzane reakcje fototaktyczne przebiegają jednakowo, niezależnie od ilości powtó-

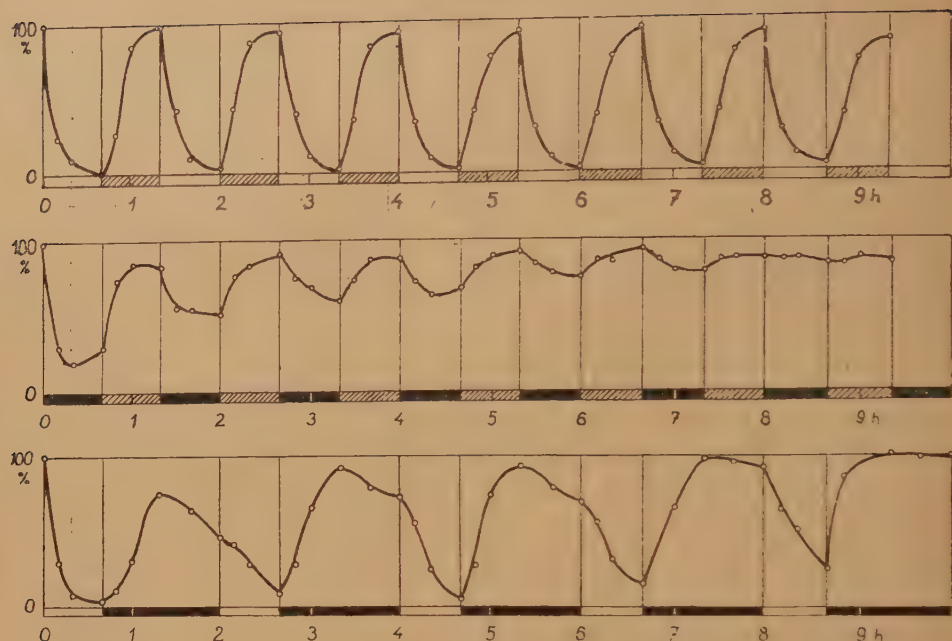


Ryc. 3a-d. Przebieg reakcji fototaktycznej w tych samych komórkach przy poprzednim trwaniu pozycji wyjściowej 30 minut —●— i 5 godzin —○—, a — reakcja epistrofia-parastrofia, b — reakcja parastrofia-epistrofia, c — epistrofia-apostrofia, d — apostrofia-epistrofia.

Fig 3a-d. Course of phototactic reaction when the initial arrangement lasted 30 mins —●— and when it lasted 300 mins. —○—. The same cells were used in both cases, a — epistrophe-parastrophe reaction, b — parastrophe-epistrophe reaction, c — epistrophe-apostrophe reaction, d — apostrophe-epistrophe reaction.

zeń, czy też podlegają zjawisku zmęczenia, objawiającym się w wolniejszym przebiegu lub ustaniu reakcji.

W reakcji epistrofia — parastrofia — epistrofia (zmiana intensywności światła $90 \div 13300 \div 90$ luksów co 40 minut) w ciągu 10 — 12 godzin trwania doświadczenia chloroplasty reagują bardzo regularnie, osiągając po 40 minutach pełną epistrofię względnie parastrofię. Krzywe otrzymane dla tych reakcji (ryc. 4a), odznaczają się we wszystkich po-



Ryc. 4. Przebieg wielokrotnie powtarzanych reakcji fototaktycznych. Światło silne (13300 luksów) , światło średniej intensywności (90 luksów) , ciemność . Odcięte — czas w godzinach, rzędne — procent epistrofii.

Fig. 4. Course of often repeated reactions. Strong light (13300 luxes) , medium light (90 luxes) , darkness . Abscissae — time hours, ordinates — epistrophe percentage.

wtórzeniach niezwykłą regularnością, a procenty epistrofii po określonym czasie trwania reakcji są w większości wypadków bardzo zbliżone.

Reakcję epistrofia — apostrofia — epistrofia wywoływano stosowaniem 40-minutowych okresów światła słabego (90 luksów) i ciemności. W powtarzających się okresach światła i ciemności zostaje zawsze uzyskana epistrofia (często ponad 100% w porównaniu z epistrofią początkową), natomiast apostrofia, silna w pierwszym okresie ciemności, w następnych staje się coraz słabsza, aż wreszcie zaciemnienie nie wywołuje przesunięcia chloroplastów do apostrofii (ryc. 4b).

Reakcję parastrofia — apostrofia — parastrofia uzyskiwano stosowaniem 40 minutowych okresów światła silnego (13300 luksów) oraz dłuższych (ze względu na długość przebiegu reakcji parastrofia — apostro-

fia) 80 minutowych okresów ciemności. Jak wynika z ryc. 4c, ucieczka chloroplastów do parastrofii odbywa się mniej więcej regularnie w ciągu całego czasu trwania doświadczenia, natomiast przebieg reakcji parastrofia — apostrofia jest niejednolity. Jak stwierdzono poprzednio (Zurzycka i Zurzycki 1953), reakcja ta przebiega w dwu fazach. W pierwszej chloroplasty przechodzą do epistrofii, w następnej przybierają układ właściwy apostrofii. O ile początkowo wymienione procesy przebiegają typowo, to w dalszych istnieje tylko szybki powrót do epistrofii. Druga część reakcji natomiast następuje coraz słabiej i w końcu apostrofia nie tworzy się w ogóle i w ciemności utrzymuje się epistrofia.

Doświadczenia te wskazują, że wywołanie parastrofii względnie epistrofii odbywa się bardzo regularnie, reakcje tego typu nie podlegają zatem zmęczeniu. Natomiast reakcja epistrofia — apostrofia a również druga część reakcji parastrofia — apostrofia, podlega zmęczeniu już po kilku kolejnych powtórzeniach i apostrofia w ogóle nie zostaje osiągnięta. Układem w którym utrzymują się chloroplasty po zmęczeniu jest epistrofia.

Zjawisko zmęczenia występujące w reakcji epistrofia — apostrofia potwierdza wysuniętą już poprzednio hipotezę o biologicznym charakterze tej reakcji (Zurzycka i Zurzycki 1950). Zjawisko zmęczenia tłumaczy w dużym stopniu trudności z otrzymywaniem apostrofii i spotykany często przy tej reakcji nieregularny jej przebieg.

Streszczenie wyników.

1. Układ chloroplastów jest identyczny, zarówno wówczas, gdy zmiana intensywności jest dozowana w formie skoku, jak i wówczas, gdy intensywność wzrasta stopniowo z uniknięciem skoku.

2. Przy świetle przerywanym układ chloroplastów odpowiada średniej intensywności wynikającej z sumy padającego światła.

3. Przebieg reakcji fototaktycznych jest niezależny od czasu trwania chloroplastów w pozycji wyjściowej.

4. Przy wielokrotnie powtarzanych reakcjach fototaktycznych epistrofia i parastrofia zostaje stale osiągana normalnie, natomiast reakcja epistrofia — apostrofia ulega zmęczeniu, co objawia się utrzymywaniem się epistrofii w ciemności.

Z Zakładu Fizjologii Roślin U. J.

SUMMARY

This investigation has been undertaken to examine further the influence of white light on phototactic movements of chloroplasts in *Lemna trisulca* L.

1. Influence of gradual changes in light intensity on the epistrophe — parastrophe reaction.

In all previous investigations phototactic reactions were induced by sudden changes in light intensity. It has appeared necessary to examine whether the changes in chloroplast arrangements in cells are caused by accomodation of chloroplasts to the new intensity, or by the jump in light intensity. For this purpose the intensity of light has been altered gradually by altering the distance of its source every 15 mins by 2 cms, simultaneously the changes in chloroplast arrangements have been registered. The results obtained (fig. 1) show that the final arrangement of chloroplasts is the same both when the intensity of light is changed gradually or suddenly. The arrangement is therefore dependent on the intensity and not on the jump.

2. Influence of interchangeable strong and weak light.

Experiments with interchangeable strong and weak light have been carried out to establish, whether the arrangement of chloroplasts accomodates itself to strong light acting at intervals so as if the strong light were continuous or whether the chloroplast arrangement is accomodated to the average intensity of the sum total of acting light. Interchangeable light was regulated by a sector. The intensity of strong light was 8300 luxes and of weak light 400 luxes, in the later case a dim glass was placed on the sector. When strong and weak light were used in the ratio of 1:1 the intervals were 1:1 and 8:8 secs. The average intensity was then 4300 luxes. When strong and weak light were used in the ratio of 3:1 the intervals were 1,5:0,5 and 12:4 secs. Characteristic results in these cases are given in fig. 2 a and b, while the average final percentage of epistrophe (from 6 countings) in Table I.

From these results it appears that the chloroplast arrangement is always accomodated to the average intensity of the sum total of acting light and is not dependent on the way light is regulated e. i. it will be the same both when the light is steady and when it is interchangeable.

3. Influence of the time the initial arrangement is maintained on the course of phototactic reactions.

To examine this problem the experiment was repeated twice: once when the initial arrangement was maintained half an hour, and the second

time when this position was maintained for 5 hours. The results are given in fig. 3 a — d. It appears from the curves that, within limits of error, the course of reactions does not depend on the time the foregoing intensity of light lasts.

4. Exhaustion of phototactic movements.

In the epistrophe — parastrophe — epistrophe reaction (intensity of light is changed every 40 mins) during the 10 — 12 hours the experiment lasts, the chloroplasts react very regularly. They attain full epistrophe or parastrophe after 40 mins. The curves for these reactions are in all repetitions extremely regular.

The epistrophe — apostrophe — epistrophe reaction was induced by 40 min. intervals of medium light and darkness. During the repeated intervals of light and darkness epistrophe is usually obtained (often in more than 100%). However apostrophe obtained very fully at first, is reached later in a smaller degree, and finally, intervals of darkness do not induce the displacement of chloroplasts to apostrophe.

The parastrophe — apostrophe — parastrophe reaction was obtained by 40 min. intervals of strong light and 80 min. intervals of darkness. The intervals of darkness were longer because the parastrophe — apostrophe reaction is much slower. As it appears from fig. 4 the displacement of chloroplasts to parastrophe is more or less regular, throughout the experiment. However, the course of the parastrophe — apostrophe reaction develops in two stages: in the first chloroplasts reach epistrophe, and in the second they attain the proper apostrophe arrangement. At first this double process develops regularly, but after some time only epistrophe is reached very quickly, much quicker than before, while the second stage is continued less often. Finally apostrophe is never reached and epistrophe is maintained in darkness.

These experiments show that parastrophe and epistrophe are obtained without disturbances, and these reactions are not exhausted. On the other hand the epistrophe — apostrophe and the second stage in the parastrophe — apostrophe reactions can be exhausted after several successive repetitions. When after exhaustion chloroplasts cease to reach apostrophe, they remain in epistrophe. Exhaustion in the epistrophe — parastrophe reaction confirms the hypothesis made in a previous paper that this reaction is of a biological character. This explains also the irregularities observed often in the course of this reaction and the difficulties in obtaining it.

LITERATURA

1. Senn G., 1903. Die Gestalts — und Lageveränderung der Pflanzenchromatophoren. Engelmann Leipzig.
2. Zurzycka A.a. Zurzycki J., 1950. The influence of temperature on the phototactic movements of chloroplasts. Acta Soc. Bot. Pol. 20 665—680.
3. Zurzycki J. a. Zurzycka A., 1951. Investigation onto phototactic movements of chloroplasts in *Selaginella Martensii* Spring. Bull. Acad. Pol. des Sciences et des Lettres. Serie B. I. 235 — 251.
4. Zurzycka A. i Zurzycki J., 1953. Badania nad ruchami fototaktycznymi chloroplastów. I. (Studies on the phototactic movements of chloroplasts. I.) Acta Soc. Bot. Pol. 22 667 — 678.

Badania nad zmiennością wirusa ziemniaczanego „X” pod wpływem ultradźwięku

*Investigations on the mutations of potato virus „X” induced by
ultrasonics*

K. A. MICZYŃSKI

Zakład Botaniki W. S. R., w Krakowie

(Wpłynęło 2.XI.53).

WSTĘP

Zagadnienie zmienności wirusów jest niewątpliwie jednym z najtrudniejszych do wytłumaczenia w całej wirusologii. Szereg wirusów, zarówno roślinnych jak i zwierzęcych, tworzy rasy różniące się w pierwszym rzędzie siłą infekcyjną z jaką atakują inne organizmy. Badania ostatnich dziesięcioleci wykazały, że w parze z różnicami wirulencji tych ras idą również mniej lub więcej wyraźne różnice ich własności fizyko-chemicznych, serologicznych i in. Powstawanie rozmaitych ras wirusów stoi w oczywistym związku z mniejszą lub większą ich podatnością na wpływy różnego rodzaju czynników. Wirusy roślinne możemy pod tym względem podzielić na dwie grupy; do pierwszej należeć będą wirusy o małej zmienności jak np. wirus krzaczastości pomidorów, (tzw. „bushy stunt”); do drugiej — wirusy o dużej zmienności, występujące normalnie w wielu rasach, jak np. wirus mozaiki tytoniowej, wirus ziemniaczany X i in. Szereg danych wskazuje na to, że różnice w zachowaniu się tych dwóch grup wirusów, należy w pierwszym rzędzie przypisać ich własnościom fizykochemicznym. Stwierdzono na przykład (B a w d e n 1950), że do grupy pierwszej należą przeważnie wirusy, posiadające cząsteczki kształtu kulistego, z dużą procentowo zawartością kwasów nukleinowych. Do grupy drugiej należą z reguły te wirusy, których cząsteczki, posiadające kształty pałeczek, wykazują tendencję do skupiania się w długie łańcuchy. Fakt, że te ostatnie występują zwykle w większej masie w tkance żywiciela, może również do pewnego stopnia tłumaczyć ich większą zmienność.

Istotne przyczyny zmienności wirusów roślinnych nie są znane, jak również nie jest znany mechanizm całkowitej utraty zdolności zakaźnej

przez pewne wirusy bez ich jednoczesnej denaturacji. Pojęcie „rasy” wirusa jest pojęciem bardzo szerokim, a jednocześnie bardzo złożonym i nie da się sprowadzić do prostej zależności zmian zachodzących w obrazie choroby wirusowej od jednego, a nawet kilku czynników. Identyfikacji ras wirusów roślinnych dokonywano na podstawie różnego rodzaju kryteriów. Praktycznie najważniejszym i niewątpliwie najczulszym z nich jest kryterium objawowe, klasyfikujące różne rasy wirusów na podstawie różnic w objawach chorobowych, występujących na określonym doborze roślin testowych. Trzeba przy tym pamiętać, że mówiąc o rodzaju objawów wywoływanych na roślinie przez daną rasę wirusa, należy zawsze ściśle zdefiniować zewnętrzne warunki środowiska w jakich te objawy występują. Czynniki te jak: temperatura, światło, wilgotność i inne, mają bowiem bezpośredni wpływ na objawy wirusowego schorzenia.

Jednym z najbardziej zmiennych wirusów roślinnych jest wirus ziemniaczany X, szeroko rozpowszechniony wśród upraw ziemniaka. Jest on zarazem może i najtrudniejszy do zwalczenia, gdyż właściwie nie znamy dotychczas uprawianych odmian ziemniaków, które by go nie zawierały. Wszystkie europejskie ziemniaki, w mniejszym lub większym stopniu są nosicielami rozmaitych ras wirusa X. Rasy te występują bardzo często jako formy bezobjawowe, tzw. utajone, lub też jako łagodna mozaika na liściach. Różne odmiany ziemniaków bardzo różnie reagują na zakażenie poszczególnymi rasami wirusa X. Ta sama rasa, bezobjawowa dla jednej odmiany, na drugiej może wywołać wyraźne objawy schorzenia i na odwrót.

PRZEGLĄD DOTYCHCZASOWYCH BADAŃ NAD ZMIENNOŚCIĄ WIRUSA X.

Fakt występowania wirusa X ziemniaków w wielu różnych rasach znany jest już od dość dawna. Szereg badaczy poświęciło temu problemowi swoje prace, starając się jednocześnie ustalić odpowiednie kryteria dla klasyfikacji wyodrębnionych przez siebie ras. Pierwotnie klasyfikacja ta opierała się na rozróżnianiu rozmaitych typów zewnętrznych objawów, występujących na tytoniu i paru innych roślinach testowych, tzw. typów mozaikowych („mottle”), i nekrotycznych („ringspot”), (Johnson J. 1925; Koch K. 1933; Koehler E. 1935 i 1937). Salaman (Salaman R. N. 1938) pierwszy zwraca uwagę na duże braki takiej klasyfikacji, stwierdzając jednocześnie, że odmiany ziemniaków porażone wirusem X zawierają mieszaninę różnych ras tego wirusa. Rasy te różnią się ostrością wywoływanych objawów chorobowych. Droga żmudnej selekcji wyodrębnił on z kilku odmian ziemniaków oraz opisał sześć rozmaitych ras wirusa X, klasyfikując je według objawów na różnych roślinach testowych, włączwszy w to również odpowiednio dobrany asortyment odmian ziemniaczanych. Rośliną szczególnie nadającą się do tego celu okazała się

odmiana tytoniu „White burley“. Na tej też głównie roślinie oparł Salaman klasyfikację wyróżnionych przez siebie ras. Rasy te to rasa „H“, tzw. utajona, nie dająca na tytoniu żadnych objawów, wzgl. tylko lekką mozaikę liści; rasy „G“ i „D“, wywołujące chlorotyczną mozaikę typu „mottle“ wierzchołka liścia; rasa „L“, wywołująca już silniejszą mozaikę o charakterystycznym szyldkretowym desenie i wreszcie rasy „S“ i „N“, objawiające się silną nekrozą blaszki liściowej, a często zniszczeniem całej rośliny. Według Salamana rasy typu „mottle“ i typu „ringspot“ nie wykazują zasadniczych różnic w fizykochemicznych i serologicznych właściwościach. Większość też ras wirusa X, opisanych przez innych badaczy, stanowi według Salamana, tylko różne kombinacje wyodrębnionych przez niego sześciu podstawowych typów. Do tej pory wyodrębniono i opisano jeszcze wiele innych ras wirusa X (Koehler E. 1935, 1937, 1939, 1942, 1951; Ladeburg R. i in. 1949; Roland F. 1950; i szereg innych autorów), ustalając jednocześnie nowe kryteria ich klasyfikacji. Tak na przykład Koehler (1937, 1939), dzieli zbadane przez siebie rasy wirusa X, na podstawie różnic temperatur inaktywacji, na dwie grupy: X^N (68°) i X^E (75°). Późniejsze badania wykazały, że podział ten pokrywa się również z pewnymi różnicami w specyfice serologicznej obu tych grup, (Stapp C. i Bercks R. 1939; Matthews R. 1949). W roku 1943 Cockerham podaje jeszcze inne kryterium, ważne z punktu widzenia praktycznego. Ustala on dla angielskich odmian ziemniaków dwa typy ras wirusa X, tzw. typ „X“ i typ „B“, które na odpowiednio dobranych asortymentach wzorcowych odmian, wywołują objawy wprost przeciwnego rodzaju. Do tego sposobu klasyfikacji skłania się również Roland (1950). Ostatnio Koehler (Koehler E. i Ross H. 1951; Ross H. i Koehler E. 1953), na podstawie kilkuletnich badań przeprowadzonych z kilkudziesięciu odmianami ziemniaków, dzieli wyodrębnione uprzednio typy ras N i E na mniejsze grupy, zależnie od rodzaju reakcji wywoływanej na tych odmianach. Stwierdza on dużą zgodność w reagowaniu ziemniaków i tytoniu na zakażenie poszczególnymi grupami tych ras.

W toku prac badawczych nad wyodrębnianiem rozmaitych ras wirusa X ujawniła się ich wielka niestałość (Koehler E. 1935, 1937, 1939, 1942; Matthews R. 1949; Salaman 1938). Brak stałości polegał na przechodzeniu jednych ras w drugie, przy czym obserwowano zmiany, idące zarówno w kierunku osłabienia, jak i wzmożenia wirulencji. W wielu wypadkach zmienność taką udało się wywołać sztucznie, działając rozmaitymi czynnikami na wirusa X *in vivo*, bądź też *in vitro*. W ten na przykład sposób Salaman (1938) otrzymał łagodną rasę „G“, pasażując nekrotyczną rasę „S“ przez liście buraka cukrowego lub wyki, względnie mieszając *in vitro* soki tych roślin z sokiem chorego tytoniu. Podobną

zmianę otrzymał, wystawiając korzenie chorych roślin tytoniu na działanie temperatury 25°C przez okres 9 dni. Zarówno przy temp. 40°, jak i 3°C następowało całkowite zniszczenie wirusa w tkankach korzeniowych. Zmiany w przeciwnym kierunku obserwował Matthews (1949), przeszczepiając łagodne, mozaikowe rasy wirusa X na roślinę *Cyphomandra betacea*. Po przeszczepieniu tych ras z powrotem na tytoń otrzymywał rasy nekrotyczne. Koehler (1937, 1941) poddawał działaniu podwyższonej temperatury surowe wyciągi z roślin tytoniu, zakażonych ostrą rasą Cs 35. Działając na te wyciągi temperaturą 50°C przez 24 godziny, otrzymał rasę nienekrotyczną. W drugim doświadczeniu próbka przechowywana jedynie przez 10 min. w temperaturze 64°C, wywoływała po zaszczepieniu na tytoń objawy jeszcze ostrzejszej infekcji, aniżeli rasa wyjściowa. Kausche (1938), pracując nad rasami wirusa X, wyodrębnionymi przez Kohlera, sugeruje, że podczas procesów frakcjonowania białek tego wirusa, mogą powstawać zupełnie nowe rasy.

Badano poza tym wpływ szeregu innych czynników, jak promieni UV, promieni X, oraz wielu substancji chemicznych, działających utleniająco lub redukująco na wirusa X *in vitro* (Bawden F. 1950). We wszystkich wypadkach obserwowano osłabienie infekcyjności preparatów wirusowych, postępujące stopniowo ze zwiększeniem dawki odnośnych czynników. Osłabienie to mierzone ilością plamek nekrotycznych („local lesions“), tworzących się na liściu szczepionym, przy pewnej koncentracji działających czynników, doprowadzało zwykle do zupełnej inaktywacji biologicznej wirusa. Jego własności serologiczne pozostawały częstokroć bez zmiany. Nie zostało dotychczas stwierdzone o ile tego rodzaju oddziaływania mogą wpłynąć na zmianę ras. Ostatnio Larson (Larson R. i in. 1952) donosi o interesującym sposobie sztucznego wywoływania zmian ras wirusa X *in vivo*. Rośliny tytoniu *Nicotiana rustica*, zakażone nekrotyczną rasą tego wirusa, wystawiał autor na działanie par betachloretylamin. Przeszczepienia wykonane z tak potraktowanych roślin na zdrowe tytoń, wykazały dużą zmienność objawów chorobowych, dających się zgrupować w cztery różne typy.

Do tej pory nie wiemy właściwie nic o przyczynach i mechanizmie zmienności wirusa X *in vivo*, zachodzących niewątpliwie na skutek oddziaływania takich czy innych warunków siedliska w wolnej przyrodzie. Wiadomo, że szczególnie podwyższona temperatura, powyżej 30°C, oraz silna insolacja mogą spowodować w pewnych warunkach maskowanie się objawów choroby wirusowej. Maskowanie to ustępuje natychmiast, gdy odnośne czynniki przestaną działać (Bawden 1939, 1950). Stwierdzono również zależność odwrotną, której przypisać należy szczególnie ostre formy choroby, jakie obserwujemy na tytoniach zakażonych wirusem X w okresie zimowym (Bawden 1950; Bawden i Roberts 1948;

Matthews 1949). Należy przypuszczać, że tego rodzaju czynniki klimatyczne mogą również wywołać stałą zmianę ras, o ile działają przez czas dłuższy, jak to już np. stwierdzono w wypadku mozaiki tytoniowej (Johnson J. 1947). Przypuszczenie to potwierdzają ostatnie badania Kozłowskiej (1952), wskazujące na dużą rolę kompleksowego działania czynników klimatycznych, a przede wszystkim insolacji, temperatury i wilgotności.

Zadaniem niniejszej pracy było zbadanie wpływu jeszcze jednego czynnika na ewentualną zmianę ras wirusa ziemniaczanego X, a mianowicie ultradźwięku. Czynnikiem ten nie występujący normalnie w przyrodzie, jest z tego względu ciekawy, że może działać w rozmaity sposób zależnie od tego który z komponentów energii ultraakustycznej (mechaniczny, termiczny, fizykochemiczny), odgrywa dominującą rolę w indukowanym przez ultradźwięki procesie. Chodziło również o zdobycie pewnych orientacyjnych danych co do przydatności energii ultraakustycznej w badaniach struktury wirusa X. Dotychczasowe badania na ten temat, jeśli chodzi o wirusy roślinne, są bardzo skromne. Jedynym obiektem nad którym przeprowadzono doświadczenia, jest mozaika tytoniowa. Jeszcze w roku 1934 Takahashi, Christensen, a potem Stanley, działając *in vitro* na oczyszczone lub surowe preparaty wirusa mozaiki tytoniowej ultradźwiękiem rozmaitej częstości drgań, stwierdzili osłabienie infekcyjności nadźwiękawianych preparatów. Osłabienie to objawiało się zmniejszeniem ilości plamek nekrotycznych na szczepionych liściach *Nicotiana glutinosa*. Następnie Oster w roku 1947, stosując bardzo niskie częstości drgań akustycznych, wykazał, że krzywa spadku infekcyjności nadźwiękowionych preparatów wirusa mozaiki tytoniowej zbliża się do typu logarytmicznego. Preparaty te traciły przy tym właściwości podwójnego załamania światła w prądzie wraz ze zmniejszeniem się lepkości. Przy pomocy mikroskopu elektronowego badacz ten stwierdził, że jednostki wirusowe krystaliczne o długości 280μ ulegają przełamaniu na połowy, a te połówki na mniejsze cząsteczki tak, że procentowa zawartość tych ostatnich wzrasta w miarę przedłużenia czasu nadźwiękawiania. Zachowanie się w ten sposób otrzymanych cząsteczek białka wirusowego przypominało zachowanie się ich w ultracentryfudze, gdzie kryształki mozaiki tytoniowej ulegają również w pewnym procencie połamaniu, tracąc jednocześnie zdolności zakaźne. Nadźwiękawianie preparatów wirusa mozaiki tytoniowej nie powodowało denaturacji białka wirusowego, pozbawiając je jedynie własności zakaźnych.

MATERIAŁ I METODY BADAWCZE

Materiał roślinny

W pracy niniejszej badałem wpływ nadźwiękowienia na własności zakaźne ekstraktów, otrzymywanych z roślin tytoniu porażonych wirusem X. Ekstrakty te po nadźwiękowieniu szczepiono na rośliny testowe, obserwując następnie zmiany zachodzące w objawach choroby wirusowej w porównaniu z egzemplarzami roślin kontrolnych, zaszczerpionych ekstraktami nienadźwiękowionymi. Jako rośliny testowej użyłem tytoniu *Nicotiana tabacum* — odmiany White Burley. W wyjątkowych tylko wypadkach posługiwałem się również bielunem (*Datura stramonium*), a to wówczas gdy zachodziła wątpliwość co do właściwego zaklasyfikowania obserwowanych objawów. Doświadczenia prowadzono w szklarni, w specjalnych izolatorach, w okresie letnim i jesienno zimowym. Rośliny testowe sadzono pojedynczo do doniczek w ziemię uprzednio wysterylizowaną. Do szczepień brano siewki tytoniu równe wiekiem, o 3—4 rozwiniętych listkach i mniej więcej jednakowej wielkości. Ekstrakty do badań przygotowywano z roślin, wykazujących silną nekrozę blaszki liściowej, wywołaną rasą S lub N wirusa X według nomenklatury Salamana. Rasę tę otrzymałem z materiału, znajdującego się w posiadaniu laboratorium wirusologicznego IHAR w Krakowie. Ponieważ jak się okazało materiał ten zawierał mieszaninę co najmniej kilku ras wirusa X, starałem się o możliwie jak najlepsze odizolowanie ras nekrotycznych od towarzyszących im ras łagodniejszych. W tym celu przeszczepiałem kilkakrotnie wyselekcjonowane, nekrotyczne partie zarażonych liści na nowe młode siewki tytoniu. Mimo tych zabiegów zmuszony byłem niejednokrotnie posługiwać się materiałem, który nie był zupełnie jednolity.

Przygotowywanie ekstraktów

Preparaty wirusowe do badań przygotowywałem w sposób następujący. Z roślin tytoniu zakażonych ostrą rasą wirusa X, zbierano liście z wyraźnymi objawami tej choroby. Liście te następnie zamrażano w lodówce w temperaturze ok. -5°C przez 24 godz. celem łatwiejszego wyekstrahowania ich zawartości. Na następny dzień, po rozdrobnieniu zamrożonej masy, wyciskano z niej sok zawierający zwykle ponad 50% całej ilości białka wirusowego, zawartego w chorych liściach (B a w d e n 1950). Sok ten uwalniano następnie od części stałych, cedząc go przez gęste lniane płótno. W ten sposób uzyskiwano gotowy ekstrakt do badań. W jednej serii doświadczeń jako materiału wyjściowego użyłem w ten sposób przygotowanych surowych ekstraktów tytoniowych; w drugiej serii poddawałem je jeszcze dalszemu oczyszczaniu przez ogrzewanie w cienkościennej zlewce na łaźni wodnej o temperaturze 55° przez 5—

10 min. Zabieg ten powodował koagulację chloroplastów, jak również strącał znaczny procent zdrowego białka (B a w d e n 1939). Po odwirowaniu strąków uzyskiwałem bardziej oczyszczony klarowny ekstrakt o intensywnie brunatnym zabarwieniu. Oczyszczone w wyżej opisany sposób, względnie „surowe“ soki zawirusowanych roślin poddawałem nadźwiękowieniu.

N a d Ź w i ę k a w i a n i e

Nadźwiękawianie przeprowadzano na dwóch różnych aparaturach ultradźwiękowych wyposażonych w wibratory piezokwarcowe. Pierwsza z nich przy częstotliwości drgań ok. 1200 KHz wytwarzała na kwarcu efektywne napięcie w granicach od 800 do 1000 V, zależnie od aktualnego napięcia sieci; druga przy częstotliwości drgań 600 KHz produkowała w podobnych warunkach napięcie robocze w granicach 3800 do 4000 V (ryc. 1).

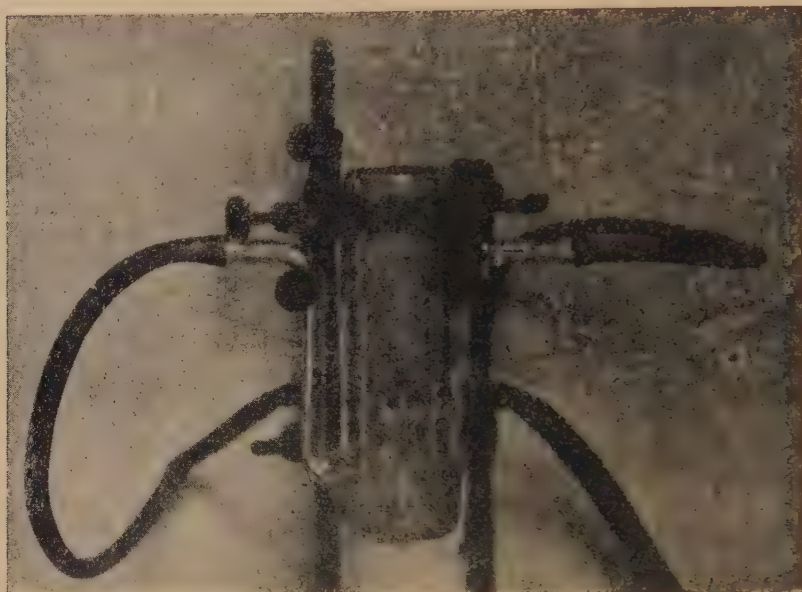


Ryc. 1. Aparatura ultradźwiękowa użyta w doświadczeniach serii III i IV.
The ultrasonic generator used in experimental groups no. III and IV.

Obliczona na podstawie tych wielkości moc ultraakustyczna, emitowana przez wibrator piezokwarcowy, wynosiła w pierwszym wypadku 0,9—1,4 Watt/cm², w drugim wypadku 5,05—5,5 Watt/cm². Obliczeń tych dokonano, stosując wzory podane przez Hüttera (Hütter Th. 1949) i Biquarda (Biquard P. 1934), które to wzory dają wielkości prawie jednoznaczne. Według danych Giacomini'ego (1949) wzory powyższe dają wartości w granicach błędu $\pm 10\%$ w porównaniu z wartościami, otrzymanymi z bezpośrednich pomiarów. W rzeczywistości emitowana moc ultraakustyczna była niewątpliwie nieco większa, gdyż zastosowane oscylatory piezokwarcowe posiadały tzw. komorę powietrzną,

zwiększającą do pewnego stopnia amplitudę drgań kwarcu. Mocy tej nie mogłem dokładnie określić wobec braku odpowiednich przyrządów pomiarowych.

Nadźwiękawiane ekstrakty umieszczano w specjalnym naczyniu szklanym (ryc. 2), o przekroju mniejszym nieco od powierzchni drgającego kwarcu. Naczynie to zanurzano następnie w oleju transformatorowym, wypełniającym oscylator piezokwarcowy, w ten sposób, że dno na-



Ryc. 2. Naczynie szklane używane do nadźwiękawiania ekstraktów.
The glass-container used for treatment of extracts.

czynia umieszczano wprost nad kwarcem w odległości ok. 1 cm od jego powierzchni. Do sporządzenia dna użyto cienkiego celuloиду. Materiał ten okazał się o wiele lepszy aniżeli szkło, gdyż powodował minimalne tylko straty energii ultraakustycznej przedostającej się z cieczy oscylatora do nadźwiękawianego roztworu. W rezultacie, o ile można wnioskować z wysokości fontanny wzbudzanej w nadźwiękawianym ekstrakcie, efektywne wykorzystanie energii akustycznej aparatu wynosiło co najmniej 90%. Podczas nadźwiękawiania temperatura próbek utrzymywana była na stałym poziomie, dzięki zaopatrzeniu naczynia eksperymentalnego w chłodnicę wodną. W podobny sposób za pomocą osobnej chłodnicy chłodzony był olej, wypełniający oscylator piezokwarcowy. Wszystkie nadźwiękawiania przeprowadzono bez jakichkolwiek przerw. Należy zaznaczyć, że energia ultradźwiękowa emitowana w kierunku pionowym, napotykając na wolną powierzchnię cieczy, tworzyła w niej falę typu stojącego.

Przebieg obserwacji

Po skończonym nadźwiękawianiu preparat wirusowy szczepiono na młode roślinki tytoniu. Rośliny te bezpośrednio przed szczepieniem przechowywano w ciemności przez ok. 24 godziny, celem uzyskania materiału reagującego bardziej jednolicie na zakażenie (B a w d e n 1950). Szczepień dokonywano według ogólnie przyjętych metod w wirusologii roślinnej. Rozcierano badaną próbkę na powierzchni dwóch liści każdej szczepionej rośliny, posypanych karborundem. Resztki pozostawionego na liściach soku zmywano obfitym strumieniem wody. W ten sam sposób szczepiono rośliny kontrolne, używając do szczepień ekstraktów nienadźwiękowionych, przechowywanych przez czas nadźwiękawiania w termostacie w temperaturze analogicznej do temperatury nadźwiękawiania. Liczebność serii roślin szczepionych wynosiła w poszczególnych doświadczeniach od 5 do 14 sztuk.

Po szczepieniu obserwowano rozwój objawów chorobowych przez ok. 1,5 do 2 miesięcy. Jakość ich określana była wpierw na liściach szczepionych, a następnie na kilku pierwszych liściach rozwijających się później. Objawy występujące na liściach starszych są nietypowe i nie nadają się do pewnego rozróżniania poszczególnych ras wirusa X (S a l a m a n R. 1938). Celem ujednostajnienia klasyfikacji obserwowanych objawów oparłem się na nomenklaturze ras wirusa X podanej przez S a l a m a n a (1938). Dla objawów „nietypowych“ wywoływanych jak gdyby przez mieszaninę różnych ras tego wirusa wprowadziłem pewne nowe symbole, których znaczenie określiłem tak samo na podstawie badań Salamana nad objawami zakażeń mieszanych. Należy zaznaczyć, że wprowadzenie symboli użytych przez Salamana nie było równoznaczne ze stwierdzeniem obecności tych samych ras na obserwowanych roślinach. Nie obserwowano bowiem rodzaju objawów, jakie użyty tutaj materiał mógłby rozwinąć i na innych roślinach testowych, którymi posługiwał się Salaman dla identyfikacji wyodrębnionych przez siebie ras. Symbolikę tę przyjąłem jednakże ze względu na dużą zgodność obserwowanych objawów z objawami, które na tytoniu rozwijają rasy opisane przez tego badacza. Ogółem wśród występujących objawów wyróżniłem 8 różnych typów, różniących się zarówno intensywnością jak i dynamiką rozwoju. Przy zaliczaniu obserwowanych objawów do tego lub innego typu, brałem pod uwagę całość symptomów choroby wirusowej na zakażonej roślinie; a więc zarówno objawy występujące bezpośrednio po szczepieniu na liściach szczepionych, jak i objawy rozwijające się później na młodszych liściach (tzw. objawy wtórne). Jeśli chodzi o pierwsze objawy zakażenia, występujące na liściach szczepionych, podzieliłem je na trzy grupy wg następującego schematu:

grupa LL — silne plamki lub pierścienie nekrotyczne,
 grupa Ll — pierścienie ze słabą nekrozą powierzchniową skórki,
 grupa ll — chlorytyczne przejaśnienia.

Opisy wyróżnionych ośmiu typów objawowych, uszeregowane od bardziej nekrotycznych do coraz to łagodniejszych, podaję poniżej.

Objawy typu „S“.

(fot. 5)

— Po kilku dniach od szczepienia pojawiają się na liściach szczepionych lokalne plamki lub pierścienie nekrotyczne (tzw. „local lesions“). Po tygodniu do 14 dni występują objawy, opasujące całą roślinę, wpierw jako wyraźna mozaikowatość liści, przybierająca następnie formę pierścieni lub figur nekrotycznych różnego kształtu. Często występuje potem nekroza większych partii blaszki liściowej, postępująca stopniowo od wierzchołka ku podstawie liścia.

Objawy typu „S + L“.

(fot. 1)

— Na liściach szczepionych zjawiają się również niekiedy nekrotyczne „local lesions“. W okresie późniejszym występuje mozaika typu L Salamana, z wyraźnie znekrotyzowanymi partiami między głównymi nerwami liścia lub też wzdłuż tych nerwów (tzw. „dissected XL pattern“ Salamana).

Objawy typu „L + S“.

(fot. 2)

— Posiadają już wyraźny charakter mozaikowy z lekko tylko zaznaczoną powierzchniową nekrozą skórki liścia „Local lesions“ występują przeważnie w postaci chlorytycznych przejaśnień. Objawy wtórne — w postaci wyraźnej, lekko znekrotyzowanej mozaiki, przypominającej typ L Salamana.

Objawy typu „L“.

(fot. 6)

— Liście szczepione wykazują chlorytyczne plamki, lub też nie rozwijają żadnych objawów. Objawy wtórne występują w formie wyraźnej, żółto-zielonej mozaiki.

Objawy typu „L + G”.
(fot. 4)

— Na liściach szczepionych brak jakichkolwiek objawów. Objawy wtórne w postaci rozmytej mozaiki chlorytycznej typu tzw. „mottle”, z gdzieniegdzie rozrzuconymi żółtymi plamkami.

Objawy typu „G”.
(fot. 3)

— Na liściach szczepionych brak jakichkolwiek objawów na innych liściach mozaika typu „mottle”.

Objawy typu „H + G”.

— Na liściach szczepionych brak objawów. Objawy występujące później, w postaci ledwo widocznej mozaiki wierzchołka liścia.

Typ „H”.

— Rośliny bezobjawowe, które dały pozytywną reakcję odczynu odchylenia dopełniacza lub precypitacji.

Metody serologiczne

Rośliny nie wykazujące po zaszczepieniu żadnych objawów badano metodami serologicznymi na obecność wirusa X. Te z nich, które wykazały pozytywną reakcję, klasyfikowano jako typ H. Zastosowałem tutaj metodę odchylenia dopełniacza, opracowaną dla wirusa X przez Kozłowską (A. Kozłowska 1950), oraz częściowo metodę precypitacji według Jermoliewa (Jermoliew E. i Hruska L. 1947). Odpowiednie surowice otrzymałem z laboratorium wirusologicznego IHAR w Krakowie. Wyniki testów serologicznych przedstawione są w tabelach nr 1 i 2, gdzie podany jest wynik badania każdej bezobjawowej rośliny, dającej pozytywną reakcję serologiczną. W tabelach tych w rubryce „symbol grupy” oznaczono literą K grupę roślin kontrolnych w każdym doświadczeniu, a literami N₁, N₂, N₃, — odpowiednie grupy roślin, szczepione ekstraktami nadźwiękowionymi. Obecność pozytywnej reakcji serologicznej oznaczona jest krzyżem, przy czym w zależności od intensywności występowania odczynu, mamy krzyż pojedynczy, podwójny, lub potrójny. Brak pozytywnej reakcji oznacza pozioma kreska.

W tabeli I zestawione są wyniki badań roślin bezpośrednio szczepionych ekstraktami nadźwiękowionymi; tabela II przedstawia analogiczne dane co do roślin, na które przeszczepiono poprzednie egzemplarze.

T a b e l a I.

Reakcje serologiczne tytoni bezobjawowych, zaszczepionych bezpośrednio ekstraktami nadzwiekowionymi.

Nr serii doświadczeń.	Nr doświadczenia.	Symbol grupy.	Nr rośliny.	Odchylenia dopełniacza			Precypitacja.	
				Rozcieńczenie surowicy:			Surowice:	
				1 : 10	1 : 20	bez surow.	anti-x.	kontrola
I.	2	N ₃	4	+++	++	—	++	—
II.	3	N ₃	4	+++	++	—	++	—
III.	1	N ₁	5	+++	++	—		
"	"	"	6	+++	+	—		
"	"	"	7	++	+	—		
"	"	"	8	++	++	—		
"	"	"	9	+++	++	—		
"	"	"	10	++	++	—		
"	"	N ₂	3	+++	++	—		
"	"	"	4	+++	++	—		
"	"	"	5	+++	++	—		
"	"	"	6	+++	++	—		
"	"	"	7	++	+	—		
"	"	"	8	+++	+	—		
"	"	"	9	+++	+	—		
"	"	"	10	++	+	—		
"	2	N ₁	4	+++	+++	—	++	—
"	"	"	5	+++	++	+	++	—
"	"	"	6	+++	++	—	++	+
"	"	N ₂	2	+++	++	—	+	—
"	"	"	3	++	+	—	—	—
"	"	"	4	++	++	+	+	—
"	"	"	5	+++	+	—	—	—
"	"	"	6	+++	+	—	—	—
IV.	1	N ₁	5	+++	++	—		
"	"	"	6	++	+	—		
"	"	"	7	+++	+	—		
"	"	"	8	+++	+	—		
"	"	"	9	+	—	—		
"	"	"	10	++	—	—		
"	"	N ₂	4	+++	++	—		
"	"	"	5	+++	+	—		
"	"	"	6	+++	++	—		
"	"	"	7	+++	+	—		
"	"	"	8	+++	—	—		
"	"	"	9	+	—	—		
"	"	"	10	+	+	—		

PRZEBIEG DOŚWIADCZEŃ I OTRZYMANE WYNIKI

Ogółem przeprowadziłem 11 doświadczeń, które podzielić można na 4 grupy (w tabelach oznaczone jako „serie“). W pierwszej, obejmującej cztery eksperymenty, nadzwiekawiałem surowe ekstrakty z chorych ty-

Tabela II.

Reakcje serologiczne tytoni bezobjawowych otrzymanych po przeszczepieniu materiału na świeże rośliny testowe

Nr serii doświad- czeń	Nr doświad- czenia	Symbol grupy	Nr rośli- ny	Odchylenie dopełniacza			Precypitacja	
				Rozcieńczenie surowicy			Surowice:	
				1 : 10	1 : 20	bez surow:	anti-X	kontr.
I.	2	N ₃	5	++++	+	—		
III.	1	N ₁	6	++++	+	—		
"	"	"	7	++++	+	—		
"	"	"	8	++	—	—		
"	"	"	9	++	+	—		
"	"	"	10	+	—	—		
"	"	N ₂	3	++++	++	—		
"	"	"	4	++++	+	—		
"	"	"	5	++++	+	—		
"	"	"	6	++	+	—		
"	"	"	7	++	+	—		
"	"	"	8	++++	+	—		
"	"	"	9	++++	+	—		
"	2	N ₁	3				++	—
"	"	"	4				+	—
"	"	"	5				+	—
"	"	"	6				+	—
"	"	N ₂	2				+	—
"	"	"	3				++	—
"	"	"	4				+++	—
"	"	"	5				+	—
IV.	1	N ₁	5	++++	++	—		
"	"	"	6	++++	+	—		
"	"	"	7	++++	++	+		
"	"	"	8	++++	+	—		
"	"	"	9	++++	+	—		
"	"	"	10	++	—	—		
"	"	N ₂	4	++	+	—		
"	"	"	5	++++	++	—		
"	"	"	6	++++	+	—		
"	"	"	7	++	—	—		
"	"	"	8	++	+	—		
"	"	"	9	++++	++	—		
"	"	"	10	++	—	—		
"	"	N ₃	7	++++	++	—		
"	"	"	8	++	+	—		
"	"	"	9	++++	+	—		
"	"	"	10	++	+	—		

toni, stosując aparaturę mniejszej mocy o częstotliwości drgań 1200 KHz. W drugiej serii trzech doświadczeń, nadźwiękowałem na tej samej apa-

raturze ekstrakty oczyszczone z chlorofilu. Trzecia seria, obejmująca również trzy doświadczenia, przeprowadzona była z ekstraktami oczyszczonymi z chlorofilu, ale przy zastosowaniu aparatury silniejszej mocy ultrakustycznej, przy częstotliwości drgań 600 KHz, wreszcie w czwartej serii doświadczeń nadźwiękawiałem na tej samej aparaturze wyciągi nieoczyszczone z chlorofilu. Wyniki wszystkich doświadczeń wraz ze szczegółowymi danymi co do przebiegu obserwacji podane są w tabelach III IV, V, VI. Oznaczenia podane jak w tabelach I i II. W części A każdej tabeli podane są obserwacje roślin szczepionych bezpośrednio ekstraktami nadźwiękowionymi; w części B przedstawione są wyniki przeszczepień tych roślin dokonane po rozwinięciu się objawów zakażenia, na świeże roślinki tytoniu. Przeszczepień tych dokonywano celem stwierdzenia, czy wywoływane ultradźwiękiem zmiany objawów utrzymują się w typie. Dopiero takie stwierdzenie mogło stanowić pewną przesłankę, że rzeczywiście w danym wypadku mamy do czynienia ze zmianą rasy. Przeszczepienia wykonano tylko jednorazowo. Brak ich w ogóle w doświadczeniu nr 4 serii I i nr 1 serii II. W rubrykach pt. „ilość roślin w grupie“, podane są cyfry ułamkowe, których licznik oznacza ilość roślin na których stwierdzono występowanie objawów wirusa X (względnie typu H), mianownik zaś całą ilość zaszczepionych roślin w danej grupie.

Jak wynika z porównania rubryk „objawy“ obu części tabel, serie doświadczeń nr I, II i IV wykazują względną stałość występujących typów objawowych. Jedynie w serii nr II widzimy w doświadczeniu nr 1 i nr 2 tendencję do złagodzenia symptomów choroby wirusowej po przeszczepieniu. Zgodność tę można stwierdzić również porównując części A i B wykresów (wykresy: 1, 2, 3, 4), przedstawiających dynamikę rozwoju objawów w poszczególnych seriach roślin szczepionych bezpośrednio po nadźwiękowieniu (część A) lub przeszczepionych (część B). (Objaśnienie wykresów na str. 306). Jeśli chodzi o dynamikę rozwoju objawów zakażenia zaobserwowano w kilku doświadczeniach serii II i III pewne opóźnienie występowania objawów na roślinach szczepionych ekstraktami nadźwiękowionymi, w porównaniu z kontrolnymi. Opóźnienie takie obserwowano również w doświadczeniach prowadzonych jesienią w porównaniu z letnimi.

Już pobieżny rzut oka na tabele wskazuje na wyraźny wpływ ultradźwięków, idący w kierunku eliminacji ras nekrotycznych wirusa X i faworyzowaniu ras słabszych. Wpływ ten zaznacza się oczywiście o wiele silniej przy użyciu aparatury o większej mocy, potęgując się w miarę przedłużania czasu ekspozycji. Ekstrakty oczyszczone z chlorofilu okazały się bardziej wrażliwe na nadźwiękawianie i reagowały bardziej jednolicie aniżeli ekstrakty surowe. Bliższa analiza wyników wykazuje jednakże wielką niejednolitość rezultatów poszczególnych doświadczeń. Niejedno-

T a b e l a I I I

Wyniki doświadczeń serii I, (nadźwiękawianie ekstraktów surowych); moc ultraakustyczna; 0,9 – 1,4 Watt/cm², częstość drgań 1200 KHz.

Nr doświadczenia	Symbol grupy	C z ę ś ć A										C z ę ś ć B								
		Nadźwiękawianie			Data szczepienia	Ilość roślin w grupie	Objawy na liściach szczepionych			Objawy wtórne			Data prze-szczepienia	Ilość roślin w grupie	Objawy na liściach szczepionych			Objawy wtórne		
		Czas min.	Ilość soku cm	Temp. °C			Data pojawienia	Ilość roślin	Objawy	Data pojawienia	Ilość roślin	Objawy			Data pojawienia	Ilość roślin	Objawy	Data pojawienia	Ilość roślin	Objawy
1	K	—	—	—	26.IX	8/8	3.X	8	LL	8.X	8	S	15.XI	8/9	23.XI	8	LL	2.XII	6	S
	N	120	—	20	„	8/8	„	6	LL	„	4	S	„	9/9	„	7	LL	„	4	S
2	K	—	25	—	3.X	5/5	10.X	5	LL	16.X	5	S	20.XI	3/5	29.XI	3	LL	7.XII	3	S
	N ₁	60	40	21	„	5/5	„	3	LL	„	3	S	„	4/5	30.XI	2	LL	„	2	S
	N ₂	110	40	21	„	5/5	„	5	LL	„	3	S+L	„	3/5	„	2	LL	„	1	S
	N ₂	180	40	25	„	5/5	„	4	LI	„	3	S+L	„	5/5	3.XII	4	LI	„	4	S+L
	N ₂	180	40	20	„	8/8	„	8	LI	„	8	L+S	„	8/8	„	8	LI	„	8	L+S
3	K ₁	—	—	—	8.XI	7/8	15.XI	7	LI	21.X	7	L+S	14.XII	8/3	23.XII	6	II	4.I	8	L+S
	K ₁₁ *)	—	—	—	„	8/8	„	8	LI	„	8	L+S	„	8/8	„	8	LI	„	8	L+S
	N ₁	180	40	20	„	8/8	„	8	LI	„	8	L+S	„	8/8	„	8	LI	„	8	L+S
	N ₂	240	40	20	„	8/8	„	8	LI	„	8	L+S	„	8/8	„	8	II	„	8	L+S
4	K	—	40	—	15.XI	9/9	23.XI	9	LI	30.XI										
	N	270	—	20	„	8/9	„	2	LL	„										

*) Próbką kontrolna trzymana przez czas nadźwiękawiania w lodówce,

Tabela IV.

Wyniki doświadczeń serii II (nadźwiękowanie ekstraktów oczyszczonych z chlorofilu) moc ultraakustyczna: 0,9 — 1,4 Watt cm²,
częstość drgań: 1200 KHz.

C z ę ś ć A										C z ę ś ć B											
Nz doświadczeń	Sym-bol grupy	Nadźwiękawianie:			Data szczepie-nia	Ilość roślin		Objawy na liś-ciach szczepionych			Objawy wtórne			Data przeczce-pienia	Ilość roślin w grupie	Objawy na liś-ciach szczepionych			Objawy wtórne		
		Czas min.	Ilość soku cm.	Temp. oC		Data poja-wienia	Ilość roślin	Obja-wy	Data poja-wienia	Ilość roślin	Obja-wy	Data poja-wienia	Ilość roślin			Obja-wy	Data poja-wienia	Ilość roślin	Obja-wy		
1	K	—	—	—	21.IX	13/13	27.IX	13	L1	6.X	6	S									
	N ₁	60	20	27	" "	12/13	" "	7	L1	" "	2	S									
	N ₂	120	20	27	" "	12/13	" "	5	11	10.X	6	L+S									
2	K	—	—	—	23.IX	4/4	27.IX	4	L1	7.X	2	S+L	4.XII	4/4	10.XII	4	11	17.XII	4	L+S	
	N	120	20	27	" "	4/4	—	=	=	10.X	4	L	" "	4/4	" "	1	11	22.XII	1	L+S	G
3	K	—	—	—	6.X	5/6	15.X	5	LL	20.X	2	S	14.XII	6/6	22.XII	4	L1	2.I	2	S	
	N ₁	60	35	20	" "	6/6	" "	6	11	22.X	1	S	" "	6/6	" "	5	11	" "	2	S+L	
	N ₂	120	35	20	" "	6/6	" "	4	11	24.X	4	L+S	" "	6/6	" "	3	11	5.I	1	L+S	
	N ₃	180	35	20	" "	6/6	" "	—	—	" "	1	L	" "	6/6	" "	—	—	5.I	3	L+G	G

TABELA VI

Wyniki doświadczeń serii IV (Nadzwiekawianie ekstraktów surowych): moc ultraakustyczna: 5,05 – 5,5 Watt/cm²,
częstość drgań: 600 KHz.

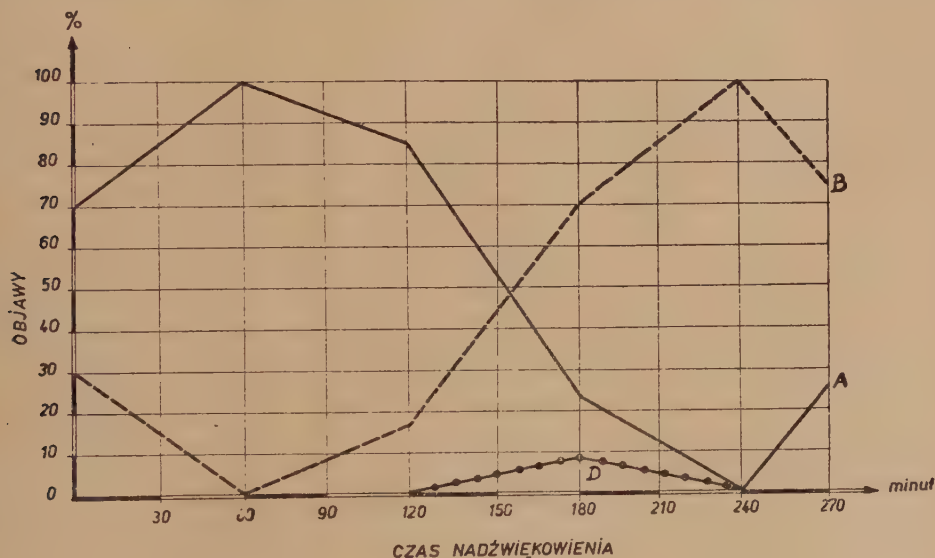
C z ę ś ć A										C z ę ś ć B									
Nr doświadc.	Symbol grupy	Nadzwiekawianie:			Data szczepienia	Ilość roślin w grupie	Objawy na liściach szczepionych:			Objawy wtórne			Data prze- szczenia	Ilość roślin w grupie	Objawy na liściach szczepionych			Objawy wtórne	
		Czas min.	Ilość soku ccm.	Temp. °C			Data poja- wie- nia	Ilość roślin	Obja- wy	Data poja- wie- nia	Ilość roślin	Obja- wy			Data poja- wie- nia	Ilość roślin	Obja- wy		
1	K	—	—	—	15.X	14/14	21.X	14	11	29.X	2 8 4	S S+L L+S	14.XII	11/14	11	11	4.I	11	S+L
	N ₁	60	40	18	"	10/14	"	2 8	11	"	2 2 6	L+S G+H H	"	10/10	8 2	11	4.I	6 2 2	H L+S H+G
	N ₂	120	40	18	"	11/14	24.X	—	—	10.XI	4 7	G H	"	10/11	—	—	"	3 7	G H
	N ₃	30	40	20	"	10/14	—	—	—	29.X	3 3 4	L+S G H+G	"	8/9	—	—	"	2 2 4	L+S G H

T a b e l a V.

Wyniki doświadczeń serii III. (nadźwiękawiania ekstraktów oczyszczonych z chlorofilu) moc ultraakustyczna:
5,05 — 5,5 Watt/cm², częstość drgań: 600 KHz.

C z ę ś ć A.													C z ę ś ć B.								
Nr doświad- czenia	Symbol grupy	Nadźwiękawianie			Data szcze- pienia	Ilość roślin w grupie	Objawy na liściach szczepionych			Objawy wtórne			Data prze- szczepienia	Ilość roślin w grupie	Objawy na liściach szczepionych			Objawy wtórne			
		Czas min.	Ilość soku ccm.	Temp. °C			Data poja- wie- nia	Ilość roślin	Obja- wy	Data poja- wie- nia	Ilość roślin	Obja- wy			Data poja- wie- nia	Ilość roślin	Obja- wy	Data poja- wie- nia	Ilość roślin	Obja- wy	
1.	K	—	—	—	15.V	10/10	20.V	10	LL	27.V	4 6	S S+L	20.VII	10/10	23.VII	10	LL	2.VIII "	5 5	S S+L	
	N _r	60	25	20	"	10/12	—	—	—	30.V	4 6	G H	20.VII	10/10	—	—	—	5.VIII "	5 5	G H	
	N _s	120	25	28	"	9/12	—	—	—	30.V	1 8	G H	"	8/12	—	—	—	" "	1 7	G H	
2.	K	—	—	—	25.VI	6/7	2.VII	6	LL	10.VII	6	S+L	12.VIII	6/6	16.VIII	6	LL	25.VIII	6	S+L	
	N ₁	30	25	20	"	6/7	—	—	—	"	3 3	G H	"	6/6	—	—	—	27.VIII "	2 4	G H	
	N ₂	120	25	20	"	7/7	—	—	—	16.VII	2 5	G H	"	5/7	—	—	—	29.VIII "	1 4	G H	
3.	K	—	—	—	28.VI	4/4	2.VII	4	LL	8.VII	4	S	"	4/4	18.VIII	4	LL	27.VIII	4	S	
	N ₁	60	25	20	"	4/4	—	—	—	10.VII	4	H+G	"	4/4	—	—	—	"	4	H+G	
	N ₂	180	25	25	"	4/4	—	—	—	15.VII	4	H+G	"	2/4	—	—	—	29.VIII	2	H+G	

litość ta występuje szczególnie wyraźnie w seriach nr I i II, nadźwiękanych aparaturą mniejszej mocy ($0,8-1,4 \text{ Watt/cm}^2$). Tak np. w doświadczeniu nr 3 serii I nie stwierdzono żadnego wpływu na zmianę objawów infekcji nawet po czterogodzinnym nadźwiękowaniu. Inne natomiast doświadczenia tej samej serii wykazują wyraźną zmianę objawów już po wiele krótszym czasie nadźwiękowania. Tak samo jeżeli chodzi o rodzaj występujących typów choroby wirusowej i ich wzajemny ilościowy stosunek, przy zastosowaniu jednakowego czasu nadźwiękowania poszczególne doświadczenia tej samej serii wykazują nieraz znaczne rozbieżności. W wielu wypadkach rozbieżności te spowodowane były niewątpliwie niejednorodnością materiału użytego do badań, a także pewnymi różnicami w warunkach nadźwiękowania (ilość cm^3 ekstraktu w próbce, temperatura nadźwiękowania itp.). Jeśli chodzi o serię I, wpływ zmiennych warunków doświadczenia był tu raczej nieistotny. We wspomnia-

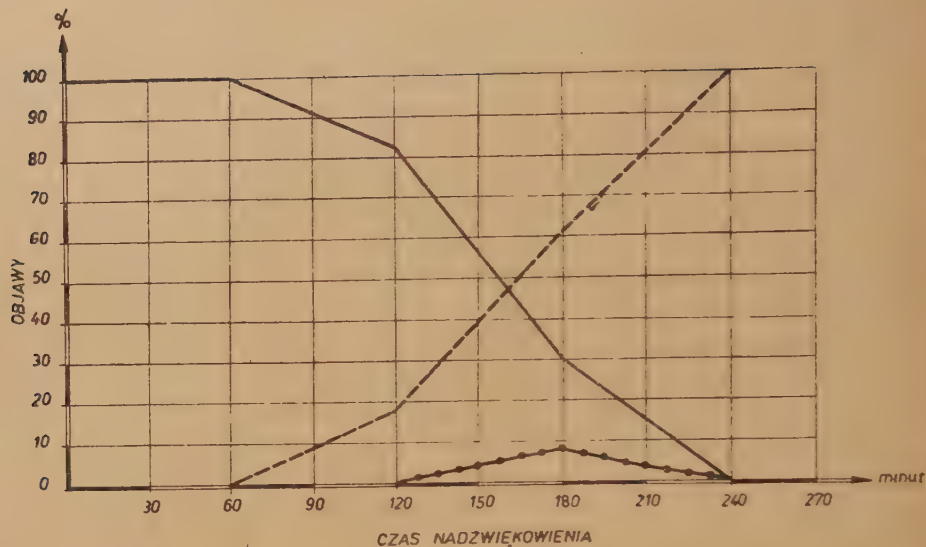


Wykres 1A. Występowanie typów objawowych wirusa X w zależności od czasu nadźwiękowania surowego ekstraktu mocą akust. = $0,9-1,4 \text{ Watt/cm}^2$, przy częstotliwości drgań ok. 1200 KHz. Na osi rzędnych % roślin wykazujących poszczególne typy objawów.

Objaśnienia znaków: A — grupa objawów S; B — grupa objawów L; C — grupa objawów G; D — grupa objawów H.

The types of external symptoms produced on tobacco plants by raw, sonised extracts of the Virus X, plotted against time of sonic irradiation. Applied acoustical power: $0,9-1,4 \text{ Watt/cm}^2$; frequency: 1200,000 cycles. The ordinates represent % of plants showing the given type of symptoms; abscissae — time of irradiation.

Explanation of symbols used: A — the S group of symptoms; B — the L group of symptoms; C — the G group of symptoms; D — the H group of symptoms.



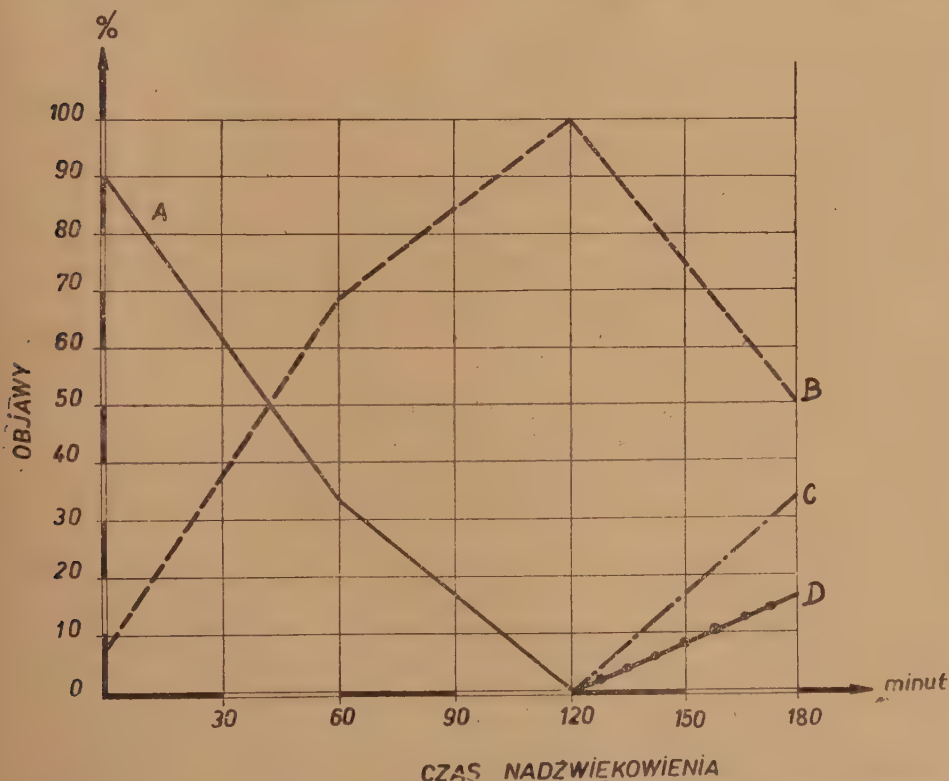
Wykres 1 B. Wynik przeszczepień typów objawowych wirusa X z doświadczeń serii I (por. wykres 1 A). Objasnienia jak na wykresie 1 A.

The result of reinoculations of Virus X symptoms obtained in experiments series I (see textfig. no 1 A). For explanations see textfig. no 1 A.

nym już wyżej doświadczeniu nr 3 tej serii czterogodzinne nadzwiekowanie nie wywołało widocznej zmiany objawów typu L + S, podczas gdy już zaledwie jednogodzinna ekspozycja typu S w drugim doświadczeniu, wywołała wyraźne modyfikacje obrazu choroby. Widać tu wyraźną zależność uzyskanych zmian od rodzaju materiału wyjściowego. Oba te doświadczenia przeprowadzono z tą samą ilością ekstraktu w jednakowych warunkach temperatury.

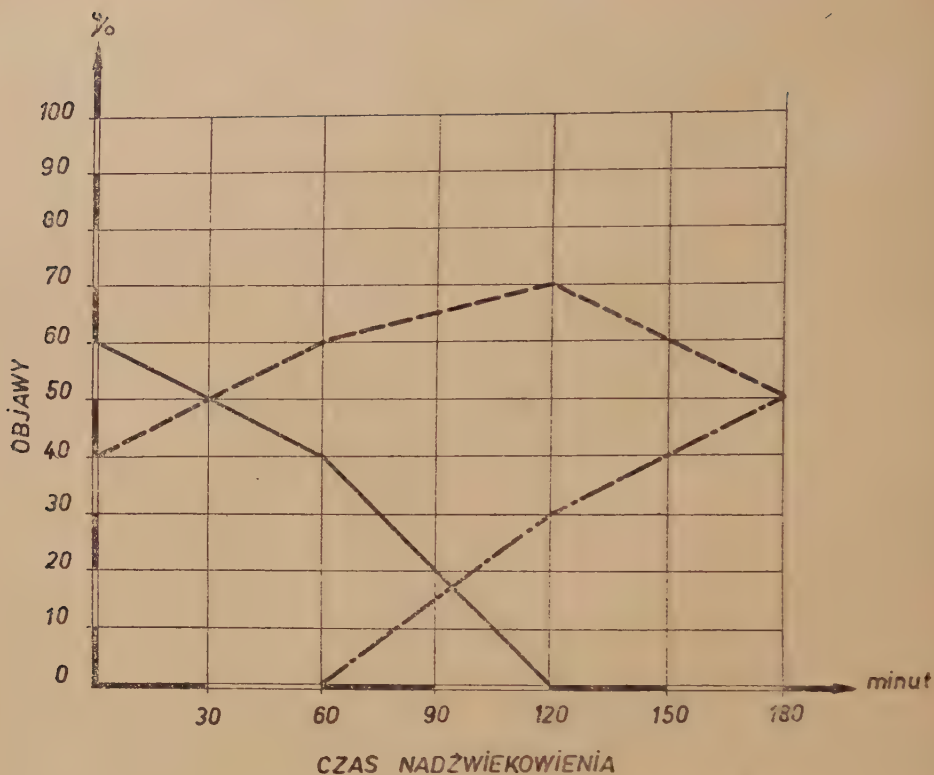
Ze względu na przytoczone powyżej rozbieżności otrzymanych wyników, trudno jest dać ogólny obraz rezultatów całości doświadczeń. Dlatego ograniczyłem się jedynie do sumarycznego przedstawienia procentowego występowania poszczególnych typów objawów w doświadczeniach każdej z czterech serii osobno. Na załączonych wykresach nr 1, 2, 3, 4, przedstawione są sumarycznie wyniki każdej z czterech serii doświadczeń. Na osi rzędnych zaznaczono procent obserwowanych typów objawowych łącznie dla całości doświadczeń danej serii. Dla większej przejrzystości rysunku wyróżnione uprzednio rodzaje objawów podciągnięto pod 4 charakterystyczne grupy w następujący sposób. Grupa S obejmuje typy nekrotyczne S i S + L; grupa L obejmuje typy mozaikowe nekrotyczne L + S, L i L + G; grupa G odpowiada tylko typowi G; wreszcie grupa H obejmuje typy H + G i H. Każdy wykres składa się z dwóch części A i B, obrazujących dane zawarte w analogicznych częściach po-

szczególnych tablic. Jak wynika z wykresów nadźwiękowanie spowodowało wyraźny zanik nekrotycznych typów wirusa X, połączony z wysunięciem na plan pierwszy objawów łagodniejszych. W pierwszej serii doświadczeń dominującą rolę przyjmuje grupa objawów L, podczas gdy bardziej łagodne typy G i H prawie nie występują. W drugiej serii, w której nadźwiękowiano ekstrakty częściowo oczyszczone z białka niewirusowego, mamy obraz podobny, z tym że tu już przy krótszym czasie nadźwiękowania gwałtownie spada procentowa ilość objawów nekrotycznych, a równocześnie podnosi się procent objawów typu L. Po nadźwiękowaniu trzygodzinnym pojawiają się typy łagodniejsze G a nawet H. Serie nr III i IV przedstawiają całkiem inny obraz. W pierwszej z nich już w początkowych fazach nadźwiękowania zanikają zupełnie objawy nekrotyczne, a na ich miejsce pojawiają się od razu typy łagodne G i H. Ten ostatni



Wykres 2 A. Występowanie typów objawowych wirusa X w zależności od czasu nadźwiękowania ekstraktu oczyszczonego z chlorofilu mocą akust. = 0,9-1,4 Watt/cm², przy częstotliwości drgań ok. 1200 KHz. Objaśnienia jak na wykresie 1 A.

The types of external symptoms produced on tobacco plants by purified, sonicated extracts of the Virus X, plotted against time of sonic irradiation. Applied acoustical power: 0,9-1,4 Watt/cm²; frequency: 1200.000 cycles per sec. For explanations see textfig. no 1 A.

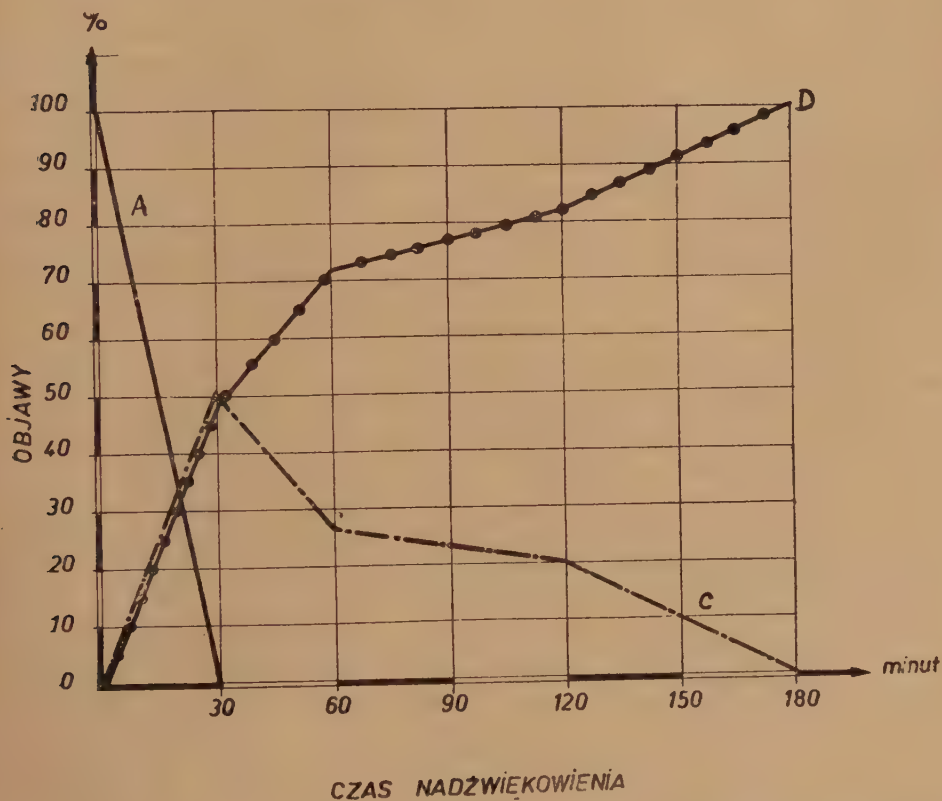


Wykres 2 B. Wynik przeszczepień typów objawowych wirusa X z doświadczeń serii II (por. wykres 2 A). Objaśnienia jak na wykresie 1 A.

The result of reinoculations of Virus X symptoms obtained in experiments series II (see textfig. no. 2 A). For explanations see textfig. no. 1 A.

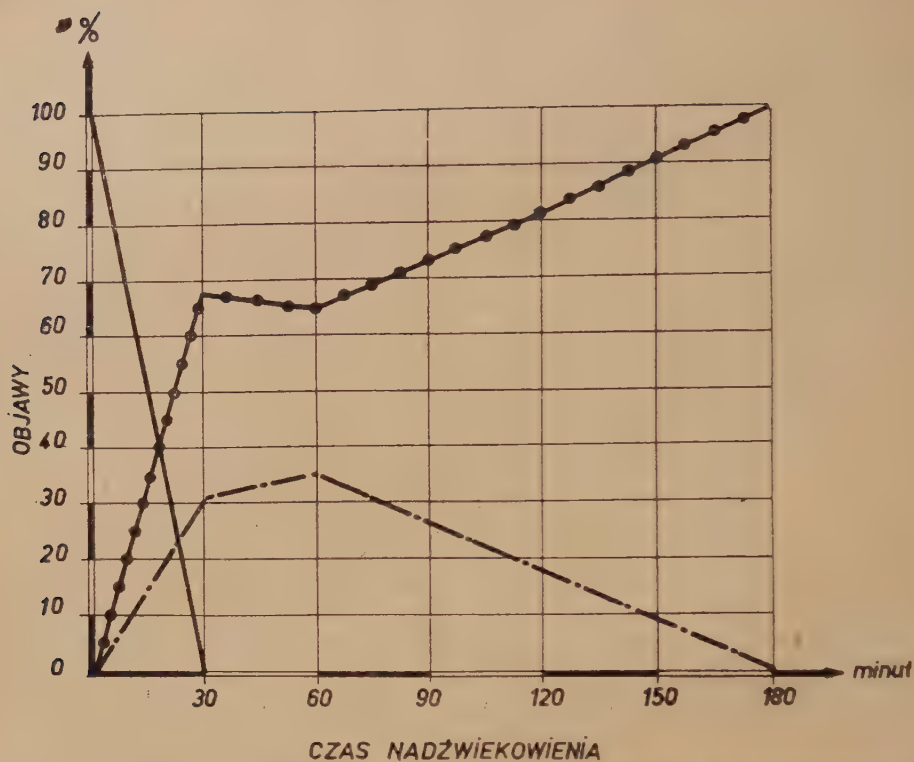
wypiera wkrótce wszystkie pozostałe. Typ L nie pojawia się tutaj wcale. W czwartej serii przebieg doświadczeń jest podobny, a jedynie nieco złagodzony obecnością grupy L w materiale wyjściowym. Podobne zupełnie stosunki jak na wykresach otrzymamy, jeżeli te same wielkości procentowe ułożymy w tabelki korelacji. Poniżej przytoczone są takie tabelki, obliczone dla doświadczeń części A, każdej z czterech serii. Widać tutaj również wyraźną zależność pomiędzy rodzajem występujących objawów, a warunkami nadźwiękowania. Przy zastosowaniu mniejszej energii fal ultraakustycznych obserwowane objawy grupują się przeważnie wokół typów S — L. Inne typy występują raczej sporadycznie. Przy zastosowaniu większych mocy, zarówno w surowych jak i oczyszczonych ekstraktach widać nagły przeskok z typów nekrotycznych u roślin kontrolnych

do typów najłagodniejszych. Obliczone współczynniki korelacji potwierdzają liczbowo zaobserwowane zależności. Rzucają jednocześnie światło na jeszcze jedną z nich. Mianowicie zarówno przy użyciu większych jak i mniejszych mocy ultraakustycznych, doświadczenia z ekstraktami oczyszczonymi wykazują wyższy stopień współzależności występowania danego typu objawów od długości czasu nadźwiękowania. Wskazywałoby to na większą ciągłość w stopniowej zmianie objawów wywołanej przez ekstrakty nadźwiękawiane w stanie oczyszczonym w porównaniu z ekstraktami surowymi. Ciągłość ta występuje wyraźniej w serii II, natomiast w serii III jest już przerwana i ogranicza się raczej do zmiany typów w obrębie ras łagodnych nienekrotycznych.



Wykres 3 A. Występowanie typów objawowych wirusa X w zależności od czasu nadźwiękowania ekstraktów oczyszczonych z chlorofilu mocą akust. = 5,05-5,5 Watt/cm², przy częstotliwości drgań 600 KHz. Objaśnienia jak na wykresie nr 1 A.

The types of external symptoms produced on tobacco plants by purified, sonised extracts of the Virus X, plotted against time of sonic irradiation. Applied acoustical power: 0,05—5,5 Watt/cm²; frequency: 600.000 cycles per sec. Explanations as in textfig. 1 A.



Wykres 3 B. Wyniki przeszczepień typów objawowych wirusa X z doświadczeń serii III (por. wykres 3 A). Objaśnienia jak na wykresie 1 A.
The results of reinoculations of Virus X symptoms obtained in experiments series III (see textfig. no 3 A). Explanations as in textfig. no 1 A.

Tabele korelacji

Seria I. (ekstrakty surowe, nadźwiękawiane aparaturą o mocy akust. 0,9 — 1,4 Watt/cm²; częstość drgań akust. = 1200 KHz.).

Czas ekspozycji w min.	Objawy w %							
	S	S+L	L+S	L	L+G	G	H+G	H
K = 0	44,8	24,2	31					
30								
60	60	40						
90								
120	46,2	38,4		15,4				
150								
180		23	69					8
210								
240			100					
270		25	75					

Współczynnik korelacji $r = 0,5005$.

Seria II. ekstrakty czyszczone, nadźwiękawiane aparaturą o mocy akust. 0,9 — 1,4 Watt/cm²; częstość drgań = 1200 KHz.

Czas ekspozycji w min.	O b j a w y w %							
	S	S + L	L + S	L	L + G	G	H + G	H
K = 0	31,8	59,1	9,1					
30								
60	16,7	16,7	55,5	11,1				
90								
120			45,4	54,6				
150								
140				17	33	33		17

Współczynnik korelacji = 0,8809.

Seria III (ekstrakty czyszczone; nadźwiękawianie przy użyciu aparatury mocy: 5,05 — 5,5 Watt/cm²; częstość drgań akust. = 600 KHz).

Czas ekspozycji w min.	O b j a w y w %							
	S	S + L	L + S	L	L + G	G	H + G	H
K = 0	40	60						
30						50		50
60						28,3	28,3	43,4
90								
120						18,6		81,4
150								
180							100	

Współczynnik korelacji; $r = 0,627$.

Seria IV. (ekstrakty surowe, nadźwiękawiane, przy użyciu aparatury o mocy: 5,05 — 5,5 Watt/cm²; częstość drgań akust. = 600 KHz).

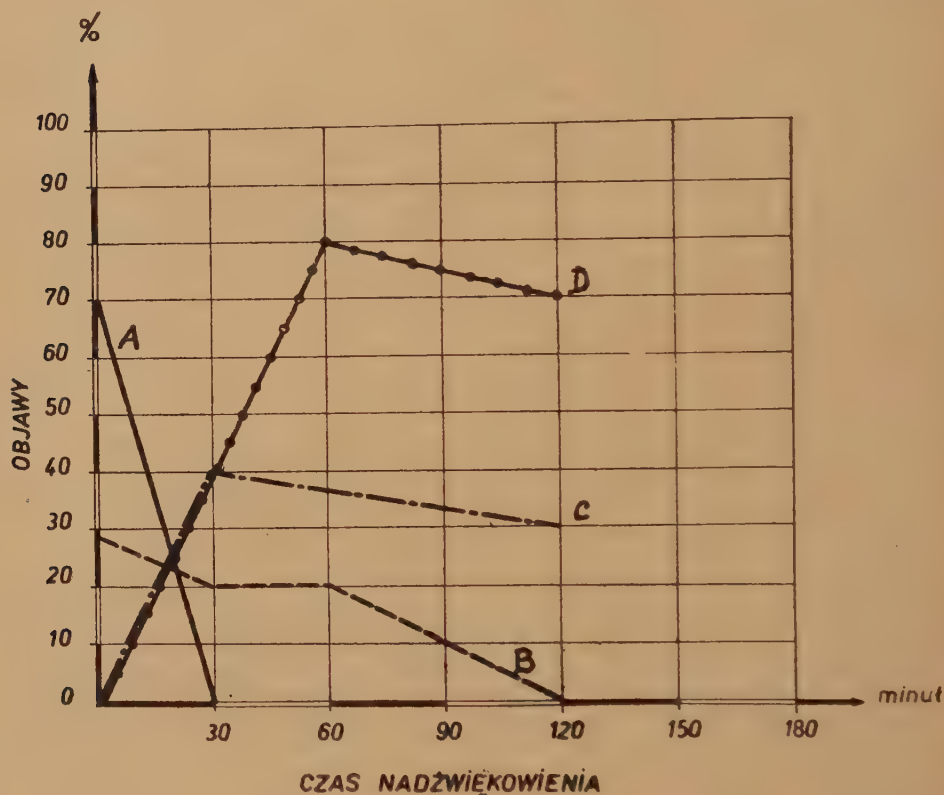
Czas ekspozycji w min.	O b j a w y w %							
	S	S + L	L + S	L	L + G	G	H + G	H
K = 0	14,4	57,1	28,6					
30			30			30	40	
60			20				20	60
90								
120						30		70

Współczynnik korelacji $r = 0,3238$.

Wpływ nadźwiękawiania na własności serologiczne białka wirusowego

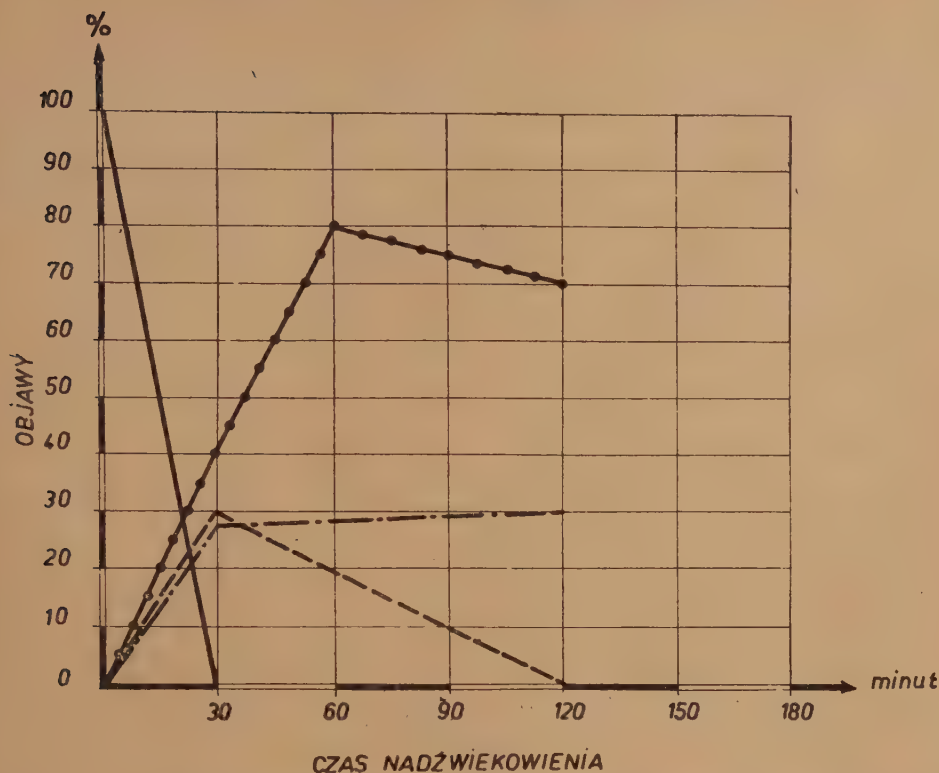
W tabelce VII przedstawione są wyniki testów serologicznych, wykonanych metodą precipitacji, z próbkami ekstraktów z doświadczenia

nr 3 serii II. Zastosowałem tutaj tzw. metodę próbowkową precypitacji, opracowaną przez B a w d e n a (B a w d e n F. 1950) Symbol „K” oznacza wyniki precypitacji próbki kontrolnej, symbole $N_1, 2, 3, \dots$ — odpowiednie wyniki próbek, nadźwiękowionych przez 1, 2 lub 3 godziny. Jak wynika z danych przedstawionych w tabelce, nastąpiło wyraźne opóźnienie występowania precypitacji w ekstraktach nadźwiękowionych. Co więcej, ekstrakty te przy małych rozcieńczeniach w ogóle nie dają reakcji z surowicą rozcieńczoną w stosunku 1/500.



Wykres 4 A. Występowanie typów objawowych wirusa X w zależności od czasu nadźwiękowania ekstraktu surowego mocą akust. = 5,05—5,5 Watt/cm², przy częstoci drgań 600 KHz. Objasnienia jak na wykresie nr 1 A.

The types of external symptoms produced on tobacco plants by raw sonised extracts of the Virus X, plotted against time of sonic irradiation. Applied acoustical power: 0,05—5,5 Watt/cm²; frequency: 600.000 cycles per sec. For explanation see textfig. no 1 A.



Wykres 4 B. Wynik przeszczepień typów objawowych wirusa X z doświadczeń serii IV (por. Wykres 4 A). Objaśnienia jak na wykresie nr 1 A.

The result of reinoculations of Virus X symptoms obtained in experiments series IV (see textfig. no 4 A) Explanations as in textfig. no 1 A.

DYSKUSJA I WNIOSKI

Przytoczone powyżej wyniki badań sugerują następujące wnioski.

1. Nadźwiękawianie ekstraktów tytoniowych, porażonych nekrotyczną rasą wirusa X, powoduje zmiany wirulencji połączone z zupełną nie-raz zmianą rodzaju objawów. Zmiany te idą zawsze w kierunku osłabienia wirulencji nadźwiękowionych ekstraktów, nigdy zaś w kierunku przeciwnym.

2. Otrzymane po nadźwiękowieniu zmiany objawów utrzymują się na ogół w typie. Przypuszczalnie mamy więc tu do czynienia z jakąś stałą zmianą „rasy” wirusa ziemniaczanego X. Należy jednakże zaznaczyć, że wniosek ten wyciągnięto na podstawie jednorazowego tylko przeszczepienia otrzymanych po nadźwiękowieniu objawów.

3. Zmiany objawów wywołane nadźwiękowieniem, zależą przede wszystkim od typu zastosowanej aparatury. Stosując aparaturę o mocy akustycznej przewyższającej 5 Watt/cm², o częstotliwości drgań = 600 KHz,

Tabela VII
Wpływ nadźwiękowienia na własności serologiczne białka wirusa X.

Symbol grupy		Precypitacja wystąpiła po:	Rozcieńczenie antygenów						
			1:8	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1025
Rozc. surow. 1:32	K	5 min. 2 godz.	++ +++	++ +++	++ +++	+ ++	+ ++	— +	— +
	N ₁	5 min. 2 godz.	+++ +++	+++ +++	++ +++	++ ++	+ ++	— +	— +
	N ₂	5 min. 2 godz.	+ +++	++ +++	+ ++	+ ++	— ++	— +	— +
	N ₃	5 min. 2 godz.	++ +++	+ +++	+ ++	— ++	— +	— +	— —
Rozc. surow. 1:500	K	5 min. 2 godz.	++ +++	++ +++	++ +++	+ +++	— ++	+ ++	— +
	N ₁	5 min. 2 godz.	+ +++	+ +++	+ ++	— ++	— ++	— +	— +
	N ₂	5 min. 2 godz.	— +	— —	— —	— +	— ++	— ++	— +
	N ₃	5 min. 2 godz.	— —	— —	— —	— ++	— +	— +	— +

otrzymano o wiele dalej idące zmiany, aniżeli przy zastosowaniu aparatury słabszej mocy o częstości drgań = 1200 KHz. Można przypuszczać, że poszczególne typy objawów, występujące na tytoniu po zakażeniu wirusem X, są szczególnie wrażliwe na działanie energii akustycznej określonej mocy i częstości drgań. Tak więc zastosowanie mocy akustycznej powyżej 5 Watt/cm², przy częstości drgań 600 KHz. eliminuje z czasem zupełnie rasy objawowe na korzyść bezobjawowych. Nadźwiękawianie mniejszą energią ultraakustyczną faworyzuje wybitnie typ objawów L, wpływając tylko w małym stopniu na zmianę tego typu objawów na rasy łagodniejsze. Takie przypuszczenie jest bardzo prawdopodobne, gdyż na przykład w doświadczeniu nr 3 serii I nawet 4-godzinne nadźwiękowanie nie wywarło widocznego wpływu na materiał wyjściowy, zawierający grupę objawową L z małą tylko domieszką typów nekrotycznych S.

4. Ultradźwięk nawet dość dużej mocy nie powoduje całkowitej denaturacji białka wirusowego, które tracąc jedynie właściwości wywoływania zewnętrznych objawów chorobowych, zachowuje częściowo zdolność mnożenia się. Większość roślin, nie wykazujących po zaszczepieniu ekstraktami nadźwiękowionymi objawów zakażenia wirusem, po przebadaniu metodami serologicznymi okazała się jego nosicielami.

5. Ekstrakty wirusowe oczyszczone częściowo z obcych białek są bardziej podatne na wszelkie zmiany, wywołane nadźwiękawianiem, aniżeli ekstrakty surowe. Reagują one też bardziej jednolicie.

Powstaje pytanie jaki jest mechanizm zmian wywoływanych nadźwiękawianiem, w objawach chorobowych wirusa X i jakie czynniki odgrywają tutaj główną rolę. Działanie ultradźwięków na białko wirusowe może być bardzo różnorodne. Mogą tu wchodzić w grę zarówno oddziaływania ściśle mechaniczne, jak i pochodne od nich wpływy termiczne i biochemiczne. Wyniki porównawczych badań szybkości precypitacji ekstraktów nadźwiękowionych i nie nadźwiękowionych, przedstawione w tabeli nr 7, należy przypuszczalnie interpretować za B a w d e n e m (1950) i M a l k i e l e m (1947), jako wskazówkę częściowego rozpadu białka wirusowego pod wpływem nadźwiękowania. Takie rozdrobnione cząstki białka wirusowego precypitują trudniej, a przy odpowiednim rozcieńczeniu surowicy nie precypitują wcale w dość dużym zakresie rozcieńczeń antygenów. Zjawisko to wywołane jest większą stosunkowo adsorpcją surowicznych przeciwciał przez rozdrobnione antygeny. Według danych O s t e r a (1947), zjawisko rozpadu cząsteczek białka wirusa mozaiki tytoniowej pod wpływem nadźwiękowania, towarzyszyło spadkowi infekcyjności nadźwiękowionych preparatów. Spadek ten postępował znacznie szybciej od obserwowanej dezintegracji cząstek wirusa. Stąd wniosek, że utrata względnie zmiana właściwości infekcyjnych nadźwiękowanego ekstraktu, nie była bezpośrednio związana z rozpadem cząsteczek białka wirusowego, który to rozpad następował nieco później. Ze względu na duże podobieństwo fizyko-chemiczne wirusa mozaiki tytoniowej i wirusa X, należy przypuszczać, że i w tym wypadku mamy do czynienia z podobnym zjawiskiem. Jako główną przyczynę obserwowanych zmian objawów należałoby więc przyjąć nie wyłącznie mechaniczne, ale również biochemiczne oddziaływanie ultradźwięków na cząstki wirusa X. Jest to tym bardziej uzasadnione, że rozpad tych cząsteczek obserwowano już przy zastosowaniu stosunkowo małych mocy ultraakustycznych, nie wywołujących zbyt daleko idących zmian objawów. Zmiany te występowały natomiast wyraźnie przy nadźwiękawianiu energią akustyczną o mocy przewyższającej 5 Watt/cm². Występowało wtedy z reguły zjawisko kawitacji w nadźwiękawianych ekstraktach. Szereg autorów jak np. B e r g m a n n (1942), P o h l m a n (1951), E l p i n e r (1952), S t a n l e y (1934), uważa kawitację za bezpośrednią przyczynę różnorodnych oddziaływań chemicznych i biochemicznych ultradźwięku, na skutek powstawania w tych warunkach aktywnych chemicznie substancji jak (H₂O₂, O₃, HNO₃ itp.). Być może, że zmianę silnie nekrotycznych ras wirusa X w formy bezobjawowe, należy przypisać tym właśnie czynnikom. Podobnie można przypuszczać, że ważną rolę przy

inaktywacji ras nekrotycznych i ewentualnej zamianie ich w formy mozaikowe, odgrywa czynnik termiczny ultradźwięku. Wytwarzana energia termiczna zwiększa się bowiem w miarę przedłużania czasu nadźwiękowania (por. P o h l m a n R. 1951), co jak widać z wykresu idzie w parze ze stopniowym zanikiem ras nekrotycznych. Większą czułość na działanie ultradźwięku ekstraktów pozbawionych chlorofilu należy być może przypisać nieobecności w nich nadmiaru obcego, niewirusowego białka, które, jak to już zostało niejednokrotnie stwierdzone (E l p i n e r J. 1952; R i v e r s i inn. 1937), zmniejsza skuteczność nadźwiękowania, powodując zbytnią absorpcję emitowanej energii ultraakustycznej.

Pozostają do rozstrzygnięcia dwa zasadnicze problemy. 1) Do jakiego stopnia obserwowane zmiany objawów należy uważać za wyniki rzeczywistej zmiany ras wirusa X, oraz 2) Jeżeli tak jest istotnie to czy działanie ultradźwięków posiada charakter wyłącznie selekcjonujący dane typy objawów, czy też bezpośrednio indukuje mutacje jednych ras w inne.

Wyniki niniejszej pracy mogą rzucić jedynie pewne światło na oba te problemy. W pierwszym wypadku można jedynie przypuszczać, że w opisanych doświadczeniach mieliśmy rzeczywiście do czynienia ze zmianami ras wirusa X. Zarówno bowiem warunki metodyczne przeprowadzonych doświadczeń, (jednorazowe tylko przeszczepianie uzyskanych objawów; użycie jako rośliny testowej wyłącznie tytoniu; zastosowanie do badania roślin bezobjawowych wyłącznie metod serologicznych), jak i ich zakres, nie pozwalają rozstrzygnąć tego zagadnienia definitywnie. Jeśli chodzi o drugi problem można jedynie stwierdzić, że pewne typy objawów chorobowych były szczególnie wrażliwe na rodzaj zastosowanej fali ultraakustycznej. Być może, że moc zastosowanej energii dźwiękowej grała tu decydującą rolę. Za przyjęciem teorii selektywnego działania ultradźwięku przemawia częściowo fakt użycia w materiale wyjściowym mieszaniny różnych ras wirusa X, a także obserwowana częściowa dezintegracja jego cząstek. Z drugiej strony trudno przypuścić aby poszczególne rasy wirusa X tak znacznie różniły się wrażliwością na działanie fal ultraakustycznych. Stwierdzone bowiem niejednokrotnie różnice ich właściwości fizyko-chemicznych były raczej minimalne, niemniej jednak zastosowanie ultradźwięków otwiera niewątpliwie nowe perspektywy dla badań w wirusologii roślinnej.

STRESZCZENIE

Autor opisuje wstępne doświadczenia, prowadzone nad zmiennością wirusa ziemniaczanego X, pod wpływem ultradźwięków.

1. Ekstrakty z roślin tytoniu, porażonych ostrą rasą wirusa X, poddawano nadźwiękowieniu, stosując aparatury ultradźwiękowe różnej mo-

cy i rozmaity czas ekspozycji. Efekt nadźwiękowienia badano następnie, szczepiąc nadźwiękowane ekstrakty na rośliny testowe.

2. Stwierdzono zmiany wirulencji nadźwiękowionych ekstraktów. Ekstrakty wywołujące uprzednio nekrozę, po nadźwiękowieniu produkowały objawy mozaiki różnego rodzaju, względnie w ogóle nie dawały żadnych objawów.

3. Spadek wirulencji nadźwiękowionych ekstraktów postępował proporcjonalnie do długości okresu nadźwiękawiania, oraz zależał od typu użytej aparatury. Nadźwiękawianie aparaturą o mocy ponad 5 Watt/cm², przy częstotliwości drgań 600 KHz, powodowało o wiele większe zmiany w ostrości objawów, aniżeli użycie aparatury o mniejszej mocy ultrakustycznej.

4. Większość roślin, nie wykazujących po zaszczepieniu ekstraktami nadźwiękowionymi żadnych objawów chorobowych, dawała pozytywną reakcję odchylenia dopełniacza, a nawet niekiedy i precypitacji.

5. Wywołane nadźwiękowieniem zmiany objawów utrzymywały się na ogół w typie po przeszczepieniu na świeże rośliny testowe.

Autor nie wyklucza możliwości, że mamy tu do czynienia z rzeczywistą zmianą ras wirusa X.

Kierownikowi Zakładu Botanicznego im. Janczewskiego prof. dr A. K o z ł o w s k i e j, wyrażam serdeczne podziękowanie za cenne uwagi przy wykonywaniu niniejszej pracy.

SUMMARY

The author describes preliminary experiments on the mutability of the potato virus X, induced by ultrasonics.

1. Extracts of tobacco plants juice, infected previously by a necrotic strain of potato virus X, have been sonised by ultrasonic apparatuses of various acoustic power, during different lapses of time. Inoculation of the sonised juices on the tests plants was applied in order to investigate the results of ultraacoustic treatment.

2. Some changes in the virulence of tobacco extracts which underwent sonic treatment, have been stated. They did not acquire more virulence by sonisation. On the contrary extracts, which produced severe necroses previously (when inoculated on the tobacco leaves), evoked only mosaic or mottle symptoms after sonic treatment. Often no external symptoms have been visible at all.

3. The changes in external symptoms, obtained after sonisation, have remained, when reinoculated on fresh test plants, stable in most cases. It is therefore very probable, that these changes have occurred as the result of actual mutations in the strains of virus X.

4. The reduction in virulence of the sonised extracts proceeds in proportion with the duration of the acoustic treatment. It is strictly correlated with the type of the apparatus which is used. The variation in the symptoms, produced by sonisation, depends also in the first instance, on the quality of the ultrasonic generator. If the apparatus surpasses 5 Watt/cm² of acoustic power, and its frequency amounts to 600.000 cycles per sec., the changes are much greater than, when a weaker apparatus of 1200.000 cycles per sec. is used.

5. It is supposed, that extracts of infected tobacco plants, which produce, when inoculated on test plants, special types of symptoms of virus X, are specially susceptible to acoustical energy of a given power and frequency. So, by applying acoustical power amounting to more than 5 Watt/cm², at 600.000 cycles per sec., for a sufficient lapse of time, we eliminate symptomatical types of the virus X, whereas other ones, the so called „masked“ types, last. The application of lesser ultrasonic power favours strongly the so called „L“ (mosaic) type of symptoms, whereas it influences only feebly its change in other milder types. This case also is sustained by the experiment no 3, series I, where even a four hours sonisation did not influence the primordial material, which was mainly composed of the type L with only a small addition of necrotic S types of virus X.

6. A pretty strong sonisation does not denature completely virus protein, which is still partly capable of reproduction. It produces however no more symptoms of disease on the infected plants. The majority of plants, which after inoculation with the sonic treated extracts, did not show any visible symptoms of virus infection, gave positive results in complement fixation or precipitin tests.

7. Virus extracts partly purified of healthy proteins are more sensitive to acoustical treatment, than the raw ones. They react more uniformly.

8. Two problems must be solved; 1) To what degree the observed changes of symptoms can be ascribed to real mutations in the potato virus X strains? 2) if so be remains to know, if the influence of sonisation has only the character of selectionning the given types of virus strains or whether it intrinsically induces mutations of one strain into another. Results of this investigation can only throw some light on both these problems. As to the first instance, we can only suppose, that in the described experiments, we did come upon changes in the strains of virus X. The methodical conditions of experiments do not allow to solve this problem definitely. In regard to the second problem the author can only state, that some of the types of symptoms, evoked on tobacco by virus X infection, has been specially sensitive to the kind of the applied

acoustical wave. The fact of having used in the primordial material a mixture of several strains of the virus X, as well as a partial desintegration of its molecules, induces the author to accept the hypothesis of a selective action of ultrasonics. On the other hand it is difficult to imagine, that the separate strains of virus X, could differ so much in the way they react to the sonic treatment. It has been often stated, that the differences of their physicochemical properties are small. In spite of all this, the use of ultrasonics opens new perspectives in plant virusology.

LITERATURA

- Bawden F., 1939. *Plant Viruses and Virus Diseases*. 272 pp. Leiden; *Chronica Botanica*.
- Bawden F., 1950. *Plant Viruses and Virus Diseases*. 335 pp. Waltham, Frans Verdoorn.
- Bawden F. i Roberts G., 1947. The influence of light intensity on the susceptibility of plants to certain viruses. *Ann. Appl. Biol.* 34: 286 — 294.
- Bawden F. i Roberts G., 1948. Photosynthesis and predisposition of plants to infection with certain viruses. *Ann. Appl. Biol.* 35: 418 — 428.
- Bergmann L., 1942. *Der Ultraschall und seine Anwendung in Wissenschaft und Technik*. 445 pp. Berlin, VDI — Verlag G. m. b. h.
- Biquard P., 1934. *Revue d'Acoustique*. 3: 120 — 123.
- Cockerham G., 1943. The reaction of potato varieties to viruses X, A, B and C. *Ann. Appl. Biol.* 30: 338 — 346.
- Elpiner A., 1952. Ultrazwukowyje wołny w mikrobiologii. *Mikrobiologia*. 2: 228 — 238.
- Elpiner J. — Zbarskij J. — Harłamowa W. Diejstwie ultrazwukowych wołn na aminokisłoty. *C. R. Acad. Sci. USSR*. Vol. 73 nr. 6 1255 — 1258.
- Giacomini A., 1949. Contributo alla tecnica delle ricerche sulla azione biologica degli ultrasuoni. — *Nuovo Cimento*. 6: 39 — 42.
- Huter Th. — Pohlman R., 1949. Eine optische Methode zur Bestimmung der Ultraschallabsorption in undurchsichtigen Medien. *Z. angew. Phys.* 5: 405—41.1
- Jermoliew E. i Hruska L., 1947. Serologicka metoda urcovani virovych chorob u brambori. — *Sbornik vyzkumnych ustavu CRS. Svazek 175*: 1 — 39.
- Johnson J., 1925. *Res. Bull. Wiss. Agric. Exp. Sta.* 36: 41 — 48.
- Johnson J., 1947. *Phytopathology*. 37: 822 — 826.
- Kausche G., 1938. Zur Frage der experimentellen Erzeugung einer Variante beim X-Mosaikvirus der Kartoffel. *Naturwissenschaften*. 26: 381 — 382.
- Koch K., 1933. *Phytopathology*. 23: 319 — 342.
- Kozłowska A., 1949. Investigations on the strains of potato virus X in ultraviolet light. — *Bull. de l'Academie Polonaise des Sciences et des Lettres, serie B*: 215 — 232.
- Kozłowska A., 1950. Investigation of masked virus X in potatoes by complement fixation test. — *Bull. de l'Academie Polonaise des sciences et des Lettres, serie B*. 65 — 84.
- Kozłowska A., 1952. — W druku.
- Koehler E., 1935. Über die Variabilität des Ringmosaikvirus (X — Virus) der Kartoffel. *Naturwiss.* 49: 828 — 830.

- Koehler E., 1937. Fortgeführte Untersuchungen mit verschiedenen Stämmen des X — Virus der Kartoffel. *Phytopathol. Z.* 10: 31 — 41.
- Koehler E., 1939a. Über die X^E Gruppe der Kartoffel X — Virus. *Zbl. Bakteriologie. Parasitenkunde Infektionskrankh. Abt. II.* 101: 29 — 40.
- Koehler E., 1939b. *Arch. ges. Virusforschung.* 1.
- Koehler E., 1942. Über die Variabilität und Mutabilität Pflanzenpathogener Virussarten dargestellt am Kartoffel X — Virus und am Tabakmosaikvirus. *Biol. Zbl.* 61: 298 — 328.
- Koehler E. — Ross H., 1951. Das Verhalten deutscher Kartoffelsorten gegenüber verschiedenen Stämmen des X — Virus im Propfversuch. *Züchter.* 21: 179 — 185.
- Ladeburg R. — Larson R. — Walker J., 1949. The ringspot type of potato virus X. *Am. potato Journ.* 26: 432 — 435.
- Larson R. — Stahman M. — Walker J., 1952. Mutations of potato virus X induced by nitrogen mustard. *Phytopathology.* 42: 25.
- Malkiel S., 1947. Immunological study of Tobacco Mosaic Virus. *J. of Immun.* 57: 55 — 61.
- Matthews R., 1949 (a i b). Studies on potato virus X. *Ann. Appl. Biol.* 36: 448 — 474.
- Oster G., 1947. Studies of the sonic treatment of tobacco mosaic virus. *J. Gen. Phys.* 31: 88 — 94.
- Pohlman R., 1951. *Die Ultraschalltherapie.* 392 pp. Bern, Hans Huber Verlag.
- Roland F., 1950. Etude preliminaire sur les variantes du virus X. *Parasitica.* 6: str. 51 — 62.
- Rivers T. T. — Smadel J. — Chambers L., 1937. Effect of intense sonic vibrations on elementary bodies of vaccinia. *J. Exp. Med.* 65: 667 — 681.
- Ross H. — Koehler E., 1953. Das Verhalten deutscher Kartoffelsorten gegenüber verschiedenen Stämmen des X virus im Propfversuch. *Züchter.* 23: 72 — 86.
- Salaman R., 1938. The potato virus X, its strains and reactions. *Phil. Trans. Royl. Soc. London.* 229: 137 — 217.
- Stanley W., 1934. The action of high frequency sound waves on tobacco mosaic virus. *Science* 85: 339 — 342.
- Stapp C. — Bercks R. 1939. Zur Frage der serologischen Nachweis von Kartoffelviren. *Arb. Biol. Reichsanst. Land. u. Forstwirtschaft.* 23: 21 — 25.
- Takahashi W. — Christensen R., 1934. The virucidal action of high frequency sound radiation. *Science.* 79: 415 — 416.

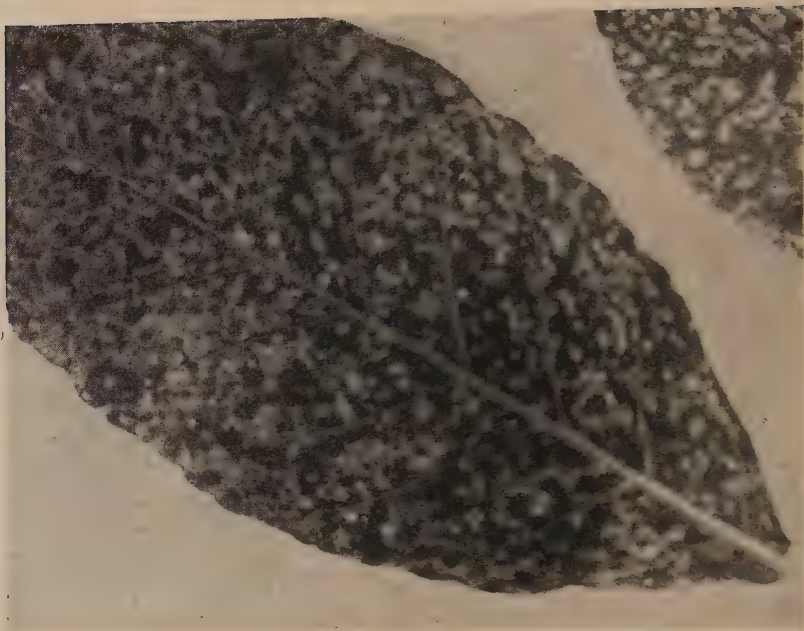
Tablica I — Plate I



Fot. 1. — Typ objawowy S + L (wg Salamana). *The S + L type of symptoms (acc. to Salaman).* Fot. 2. — Typ objawowy L + S. *The L + S type of symptoms.*



Fot. 3. — Typ objawowy G. *The G type of symptoms.*
Fot. 4. — Typ objawowy L + G. *The L + G type of symptoms.*



Fot. 5. — Typ objawowy S. *The S type of symptoms.*



Fot. 6. — Typ objawowy L. *The L type of symptoms.*

Studia cytologiczne nad *Vicia cracca* L. i *V. tenuifolia* Rth.

Cytological studies in Vicia cracca L. and *V. tenuifolia* Rth.

CZESŁAWA RYKA

Z Zakładu Anatomii i Cytologii Roślin U. J.

(Wpłynęło dn. 2.XI.53 r.)

W s t ę p

Punktem wyjścia dla rozpoczęcia moich badań nad cytologią *Vicia cracca* L. i *Vicia tenuifolia* Rth., było ukazanie się pracy Kostrakiewicza „Studia systematyczne nad polskimi gatunkami rodzaju *Vicia* L.“ W pracy tej autor szeroko omówił zagadnienie odrębności gatunkowej tych dwóch gatunków krytycznych.

Badania morfologiczno-anatomiczne, przeprowadzone przez Kostrakiewicza, opierały się na materiale polskim głównie z okolic Krakowa. Ponieważ jednak dawniejsze badania cytologiczne, które doprowadziły do wykrycia różnic w somatycznej liczbie chromosomów obu gatunków, przeprowadzone były tylko na materiale z poza obszaru Polski, celem mojej pracy było cytologiczne opracowanie dwóch wspomnianych gatunków rodzaju *Vicia* L. na roślinach pochodzących z naturalnych stanowisk w Polsce, dla ustalenia ich somatycznej liczby chromosomów.

Poprzednio gatunek *Vicia cracca* L. badany był przez kilku autorów, którzy podali następujące liczby chromosomów: $2n = 12$ (Sakamura 1914 i 1920, cyt. wg Tischlera 1950), $2n = 14$ (Sveshnikowa 1927, Senn 1938), oraz $2n = 28$ (Sveshnikowa 1927, A. Löve a. D. Löve 1944).

Oba pierwsze typy są diploidalne z podstawowymi liczbami $x = 6$ i 7 , ostatni jest tetraploidem z podstawową liczbą 7 .

Jeśli chodzi o gatunek *Vicia tenuifolia* Rth. to ustalono tu liczbę chromosomów $2n = 24$ (Sveshnikowa 1927 i 1937 oraz Heitz 1931), czyli jest to tetraploid o podstawowej liczbie 6 .

Materiał i metody.

Na jakim materiale opierały się poprzednie prace, tego dokładnie nie mogłam stwierdzić. W każdym razie materiał *Vicia cracca* L. zbadany przez Sveshnikową pochodzi częściowo z nasion okazów zielnikowych. Jedyne stanowiska, które wymienia ona w swojej pracy, są to okolice Kazania i Moskwy. Materiał Sakamury pochodzi z okolic Tokio (cytowane wg. Sveshnikowej 1937), a A. Löve i D. Löve badali rośliny z Północy.

Mój materiał pochodził wyłącznie z naturalnych stanowisk i zbierany był w postaci nasion. Nasiona gatunku *V. cracca* L. zebrane były z siedmiu stanowisk (Tab. I).

Jak wynika z powyższych danych, materiał *V. cracca* L. pochodzi wyłącznie z obszaru Polski południowej, skutkiem czego rozpiętość szerokości geograficznej obejmującej wymienione stanowiska jest niewielka. Rozpiętość wzniesienia ponad poziom morza mieści się w granicach od 220 m (Bieżanów) do około 950 m (Droga pod Regłami w Zakopanem). Występują na tych stanowiskach dość duże różnice klimatyczne; w grę wchodzi również zmienność środowiskowa u roślin z różnych stanowisk.

Pomimo, że *V. cracca* L. jest gatunkiem pospolitym, zbieranie materiału w postaci nasion następuje duże trudności; gatunek ten rośnie na kośnych łąkach i polach uprawnych, gdzie nasiona rzadko tylko mają możliwość dojrzeć przed skoszeniem, oraz na przydrożach i miedzach, gdzie są często spasane przez zwierzęta. Na brzegu lasu wzdłuż drogi pod Regłami, *V. cracca* L. występuje wprawdzie dość obficie, ale na ogół wskutek dużego zacienienia tylko nieliczne egzemplarze zakwitają.

Materiał do badań cytologicznych nad gatunkiem *V. tenuifolia* Rth., która jest znacznie rzadsza na terenie Polski, pochodzi z jednego tylko stanowiska mieszczącego się między Sikornikiem a Przegorzałami pod Krakowem. *V. tenuifolia* Rth. rośnie tam na stromym zboczu, a raczej uskoku, pokrytym trawą i krzewami. Uskok ten jest tak stromy, że roślinność pokrywająca go, nie może być spasana przez zwierzęta, co umożliwia swobodne wysiewanie się nasion i rozwój siewek. Należy zaznaczyć, że nasiona do moich badań nad tym gatunkiem były z tego samego stanowiska, z którego zbierał swój materiał Dr Kostrakiewicz. Stąd też ważną jest rzeczą, że oba gatunki badane przeze mnie cytologicznie, były już systematycznie i anatomicznie dokładnie opisane.

Przeznaczone do badań nasiona wysiewałam w pracowni Zakładu Anatomii i Cytologii Roślin U. J., na szalki Petriego, na bibułę filtracyjną. Stożki wzrostu korzeni z wykiełkowanych nasion utrzymywałam między godziną 10 — 12, utrwalaczem Delaunay'a. Zatopione w parafinie korzonki krajałam na mikrotomie. Grubość skrawków wynosiła 10 μ . Preparaty barwione były fioletem gencjanowym; do różnicowania używałam roz-

TABELA 1.
Lista zbadanych stanowisk *Vicia cracca*

L. p. stanowiska	Data zbioru nasion	Miejscowość i stanowisko	2n
1	lipiec 1951	Sikornik koło Krakowa — wśród trawy, przy drodze. ($\pm$ 275 m. n. p. m.)	14
2	sierpień 1951	Zakopane — brzeg pola z owsem ($\pm$ 850 m. n. p. m.)	14
3	sierpień 1950	Droga ze Szczawnicy Dolnej do Krościenka, brzeg łąki. ($\pm$ 460 m. n. p. m.)	14
4	sierpień 1950	Koło Szczawnicy, droga do Szlachtovej. ($\pm$ 500 m. n. p. m.)	14 i mikso- ploidy
5	sierpień 1951	Biezanów — pole. ($\pm$ 220 m. n. p. m.)	28
6	sierpień 1952	Zakopane — Droga pod Regłami w pobliżu Doliny Za Bramką. Młodnik świerkowy na nasłonecznionym zboczu. ($\pm$ 950 m. n. p. m.)	14
7	sierpień 1952	Zakopane — Droga pod Regłami Brzeg starego lasu świerkowego (płn. — cień), między Doliną Strążyką a Za Bramką. ($\pm$ 930 m. n. p. m.)	14

tworu fenolu w ksylene (1 : 3). Rysunki płytek metafazowych wykonane były spod aparatu Leitza przy użyciu obiektywu imersyjnego Progress $\times 90$ N. A. 1,25 oraz okularu kompensacyjnego $20 \times$ Zeissa, rysunki epidermis przy użyciu obiektywu PZO — $10 \times$ i okularu PZO — $10 \times$, pyłków przy użyciu obiektywu PZO $40 \times$ i okularu PZO — $10 \times$.

Wyniki badań.

a) *Vicia cracca* L.

Zbadanie liczby chromosomów siedmiu różnych biotypów tego gatunku wykazało dla roślin z sześciu stanowisk liczbę $2n = 14$ (fig. 1, 2). Jedynie w materiale z jednego stanowiska, z Biezanowa nieoczekiwanie

wystąpił typ tetraploidalny $2n = 28$ (fig. 5, 6). Na specjalną uwagę zasługują siewki, które rozwinęły się z nasion pochodzących od jednej rośliny rosnącej przy drodze ze Szczawnicy do Szlachtowej. W stożkach wzrostu ich korzonków w przewodzie występowała diploidalna liczba chromosomów; wszelako można było znaleźć tu również grupy komórek o większych rozmiarach i większych jądrach; obserwowane wśród nich mitozy pozwoliły stwierdzić istnienie podwojonej liczby chromosomów

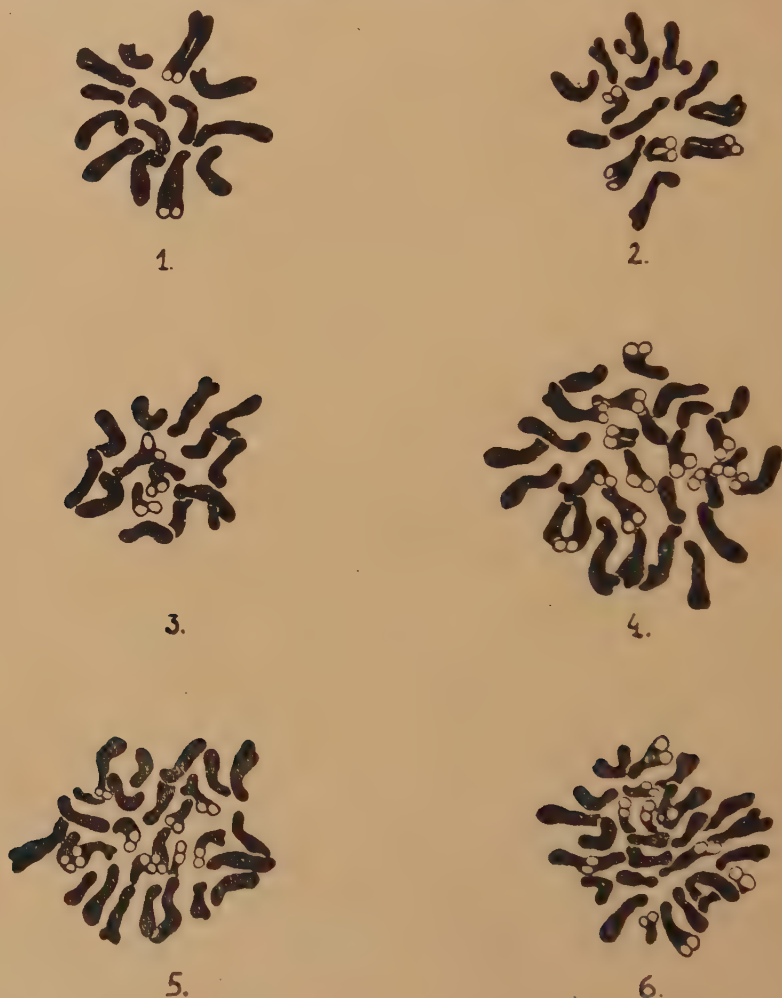


Fig. 1—6. *Vicia cracca* L., metafazy somatyczne, 1, 2 — płytki diploidów: 1 — z Si-kornika, 2 — z Zakopanego. 3, 4 — płytka diploidalna i tetraploidalna z rośliny miksploidalnej. 5, 6 — płytki rośliny tetraploidalnej z Biezanowa. ($\times 2600$).
Vicia cracca L., somatic metaphases from root tips. 1, 2 — plates of two diploid plants. 3, 4 — a diploid and a tetraploid plate of a mixploid plant. 5, 6 — two plates of a tetraploid plant ($\times 2600$).

(fig. 4). Występowały zatem wyspowo grupy komórek tetraploidalnych wśród tkanek diploidalnych. Organizmy takie znane są pod nazwą mikso-ploidów.

Odnosnie morfologii chromosomów według Sveshnikowej (1927) chromosomy wszystkich badanych już gatunków rodzaju *Vicia* L. można podzielić na cztery grupy:

Do grupy pierwszej zalicza badaczka chromosomy o proporcji ramion mniejszej niż 2 : 1 (tu należą też chromosomy równoramienne); do grupy drugiej chromosomy o proporcji ramion równej, lub większej niż 2 : 1, do grupy trzeciej chromosomy z główkami, do czwartej zaś chromosomy z główką i trabantem. Wszystkie podane przez badaczkę typy chromosomów występują u badanych przeze mnie okazów *Vicia cracca* L., jednak nie zawsze widoczne są chromosomy z trabantami. Dawały się one wyraźnie dostrzec w płytkach metafazowych korzonków okazów zakopiańskich (fig. 2). Należy jednak dodać, że trabanty są strukturami, które nie zawsze się ujawniają. Niekiedy są one niewidoczne bądź na skutek nie dość dobrego utrwalenia, bądź na skutek położenia ich w płytce. Trabantów nie znalazłam w płytkach tetraploidalnych, ale chromosomy w tych płytkach są tak ciasno obok siebie ułożone, że dokładne ustalenie ich liczby nastrocza trudności, a tym bardziej trudne jest obserwowanie szczegółów ich morfologii.

W związku z pojawieniem się wyższego typu chromosomowego u *V. cracca* L. ($2n = 28$), wyłoniło się zagadnienie czy istnieją różnice morfologiczne i anatomiczne między typem diploidalnym a tetraploidalnym. W celu wyjaśnienia go, zebrałam szereg okazów *Vicia cracca* L. z Sikornika pod Krakowem (rośliny z tego stanowiska były wyłącznie diploidami), oraz z Biezanowa, skąd pochodził typ tetraploidalny. Należy zaznaczyć, że w roku 1952 nie znalazłam już tam na poprzednim stanowisku tej samej rośliny, która dostarczyła mi nasion do badań cytologicznych w roku 1951. Ponieważ badany okaz na polu uprawnym uległ zniszczeniu, z konieczności wzięłam do badań anatomicznych rośliny rosnące w odległości około 2 m od stanowiska poprzedniego. Rośliny te w roku ubiegłym nie owocowały; zachowywały się one charakterystycznie, gdyż wprawdzie tworzyły pączki kwiatowe, ale je zrzucały przed rozwinięciem kwiatów.

Roślina tetraploidalna zbadana cytologicznie w roku 1951, wykształciła zaledwie 9 nasion. Wykiełkowały z nich tylko 4, a pozostałe w liczbie 5 były zdegenerowane. Należy zaznaczyć, że rośliny z Biezanowa pokrojem swym nie różniły się zupełnie od roślin rosnących na Sikorniku pod Krakowem. Chcąc uchwycić różnice anatomiczne, zestawiałam porównawczo epidermis z dolnej powierzchni listków z okazów rosnących na Sikorniku i w Biezanowie. Okazało się, że ani zwykle komórki epidermis,

ani komórki szparkowe roślin z Biezanowa nie były większe niż u roślin pochodzących z Sikornika. Różnica zaznacza się w tym, że ściany zwykłych komórek epidermis są nieco mniej sfalowane (fig. 7. 8) u pierwszych niż u drugich.

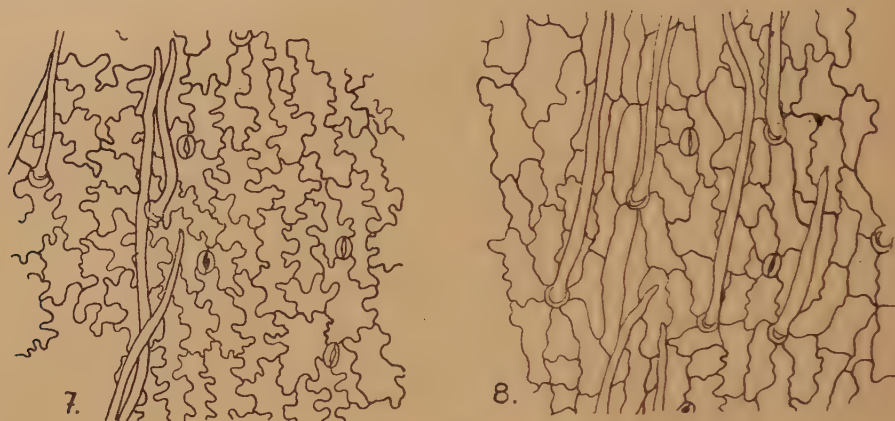


Fig. 7. 8. *Vicia cracca* L. epidermis z dolnej powierzchni listków: 7 — diploida z Sikornika, 8 — tetraploida z Biezanowa ($\times 110$).

Vicia cracca L., epidermis from the lower surface of the leaflets of a diploid (7) and a tetraploid plant (8) ($\times 110$).

U licznych gatunków ważnym wskaźnikiem, jeśli chodzi o określenie typu chromosomowego jest wielkość ziarn pyłku.

Przed przystąpieniem do wykonania pomiarów ziarn pyłku, barwiłam ten pyłek acetokarminem w celu wyznaczenia procentu jego płodności. Pyłek roślin z Sikornika okazał się płodnym prawie w 100%. Jeśli występowały ziarna pyłku zdegenerowane, to było ich niewiele. U żadnej z badanych roślin ilość zdegenerowanych ziarn pyłku nie przekroczyła 20%. Natomiast pyłek roślin z Biezanowa okazał się w 70% do 90% bezpłodnym (fig. 9).

Pyłki *V. cracca* L. są kształtu owalnego, mierzyłam ich oś dłuższą, a pomiary wykonałam na około 1500 ziarnach umieszczonych w glicerynie. U biotypów diploidalnych skala zmienności żywych ziarn pyłku mieści się w granicach od 25,4 — 50,8 μ , największa zaś ilość przypada mniej więcej na wielkości od 32,7 — 47,6 μ . Natomiast u domniemanego tetraploidalnego biotypu skala zmienności waha się w granicach od 23,6 do 47,2 μ , ale wobec znikomej ilości ziarn pyłku żywych, mierzone były również ziarna zdegenerowane (Tabela II).

Pomiary ziarn pyłku dokonane przeze mnie nie pokrywały się z pomiarami podanymi przez Kostrakiewicza (od 28,71 do 30,20 μ). Rozbieżność pochodzi stąd, że przed wykonaniem pomiarów badacz ten

niszczył treść żywą ziarna pyłku, stosując metodę acetolizy Erdmanna; skutkiem czego pozostająca egzyzna kurczyła się. Dzięki temu wielkość pyłków zdegenerowanych występujących obficie u tetraploida mieściła się w skali wahań, podanej przez Kostrakiewicza.



Fig. 9. *Vicia cracca* L., ziarna pyłku domniemanego tetraploida: A, B — ziarna żywe, C — G — ziarna zdegenerowane ($\times 540$).

Vicia cracca L. Viable (A, B) and sterile (C—G) pollen grains of a putative tetraploid plant ($\times 540$).

Jak wynika zatem z porównania próbek pyłku roślin diploidalnych i domniemanych tetraploidów, nie ujawniła się oczekiwana różnica wielkości pomiędzy obu typami chromosomowymi. Kryterium na podstawie którego można u licznych innych gatunków zorientować się w różnicach liczby chromosomów u poszczególnych typów, tutaj całkowicie zawodzi. W znacznej mierze przyczyną tego jest wysoki procent pyłku bezpłodnego i jak się wydaje upośledzony rozwój pewnych ziarn, które jednak treść żywą zachowały.

b) *Vicia tenuifolia* Rth.

Wyniki moich badań nad gatunkiem *V. tenuifolia* Rth. są potwierdzeniem wyników poprzednich autorów, którzy podali liczbę chromosomów $2n = 24$. Jest to liczba tetraploidalna przy liczbie podstawowej 6.

Przedstawiciele gatunku *V. tenuifolia* Rth. z okolic Krakowa są również tetraploidami z tą samą liczbą podstawową. (fig. 10, 11).

TABELA II

Pomiary ziarn pyłku *V. cracca* L.

Stanowiska roślin	Średnica ziarn pyłku w mikronach																n
	23,5	25,4	27,2	29,0	30,8	32,7	34,5	36,3	38,1	39,9	41,7	43,5	45,2	47,2	49,0	50,8	
1.																	
a)				2		4	3	2	2	20	38	85	40	25	3		224
b)				6	2	10	10	13	5	20	24	58	50	16			214
c)			3	7	5	11	4	13	18	48	59	46	9	1			223
d)		1		31	44	50	26	16	13	12	14	20	10	5	1	1	234
5.	7	54	71	75	12	5	1										231

Objaśnienie do tabeli II:

Stanowisko 1. — pyłek *V. cracca* L. z roślin zebranych na Sikorniku (a. b. c. d. poszczególne okazy roślin).

Stanowisko 5. — pyłek rośliny pochodzącej z Bieżanowa.

Z okazów zebranych na Sikorniku są mierzone wyłącznie ziarna pyłku żywe. z okazu zaś pochodzącego z Bieżanowa mierzone ziarna pyłku żywe i zdegenerowane.



Fig. 10, 11. *Vicia tenuifolia* Rth. Płytki metafazowe ($\times 2600$).
Vicia tenuifolia Rth. Somatic metaphases from root tips ($\times 2600$).

Dyskusja.

Typ chromosomowy *Vicia cracca* L. w Polsce nie był poprzednio badany. Według Sveshnikowej istnieje pewna regularność rozmieszczenia geograficznego różnych typów chromosomowych w obrębie gatunku, który wykazuje zróżnicowanie kariologiczne. Mianowicie tetraploidy występują na północ od styczniowej izotermy O, od niej zaś na południe występują typy diploidalne. Fakt występowania na północy biotypów z wyższymi liczbami chromosomów został stwierdzony u licznych gatunków (Skalińska 1947). Zgodnie z koncepcją Sveshnikowej u okazów *V. cracca* pochodzących z północy została również stwierdzona liczba tetraploidalna (Löve i Löve 1944). Pomimo, że sama badaczka stwierdziła pewne odchylenia od tego rozmieszczenia, gdyż opisuje typ 14-chromosomowy z okolic Kazania i 12-chromosomowy z okolic Moskwy (1937, str. 955), wyniki najnowszych badań przynoszą na ogół potwierdzenie jej koncepcji. Liczby chromosomów *V. cracca* ustalone na podstawie 10 próbek nasion z Ogrodu Botanicznego Europy północnej i środkowej zostały podane w krótkiej publikacji Renkonen i Therman (1952), która ukazała się już po ukończeniu niniejszej pracy. Wyniki tych badań dowodzą, że nie tylko na północy, ale również i w Europie środkowej typ 28-chromosomowy znajduje się w przewadze; w badanym materiale z 10 próbek, tylko jedna przedstawiała typ 14-chromosomowy. Tym bardziej zasługuje na podkreślenie fakt, że w materiale z Polski południowej (na północ od styczniowej izotermy O) rośliny z sześciu stanowisk okazały się diploidami z podstawową liczbą 7 ($2n = 14$); tylko jeden biotyp z okolic Krakowa (stanowisko 5) był tetraploidem. Należy przypuszczać zatem, że rozmieszczenie typów 14 i 28-chromosomowych jest mniej regularne i że zasięgi ich częściowo zachodzą na siebie. Należy podkreślić, że obserwowane tetraploidy były znacznie gorzej przystosowane do warunków otoczenia niż biotypy diploidalne; rośliny te zrzucały pączki kwiatowe, wykształcały małą ilość nasion, a więc nie mają szans rozprzestrze-

nienia się i w konsekwencji przypuszczalnie skazane są na wyginiecie. Występujące sporadycznie w Polsce południowej rośliny tetraploidalne powstały zapewne na drodze mutacji.

Na poparcie przypuszczenia tego mogę przytoczyć obserwację moją dotyczącą występowania w niektórych siewkach (stanowisko 4) podwojonej liczby chromosomów w grupach dużych komórek rozrzuconych wyspowo wśród tkanek diploidalnych. Takie miksoploidy powstały niewątpliwie na drodze mutacji somatycznych. Płytki tetraploidalne, które u nich znalazłam, odpowiadają swoim wyglądem płytkom z korzonków roślin tetraploidalnych (fig. 4), lecz komórki są większe i chromosomy w nich są luźniej rozstawione niż w płytkach tetraploidów.

Termin „miksoploidy“ został wprowadzony przez N e m e c a w roku 1930. Ostatnio zjawiska miksoploidowości w korzonkach *Narcissus poeticus* były opisane przez O l s z e w s k ą (1952).

Niska płodność u poliploidów *V. cracca* L. znajduje swoje wyjaśnienie w badaniach S v e s h n i k o w e j (1937), która obserwowała u tego gatunku znaczne zakłócenia w mejozie. Opisany przez tę badaczkę nierówny rozdział chromosomów na bieguny podczas mejozy u tetraploidów *V. cracca* L. jest przyczyną obniżonej płodności tych roślin i małej ilości wykształconych nasion.

Jest faktem godnym uwagi, że S v e s h n i k o w a (1937 r. str. 960. tabl. 1) nie znalazła prawie żadnych różnic morfologicznych między typami diploidalnymi a tetraploidalnymi *V. cracca*. Fakt ten potwierdziły moje własne obserwacje. Jedyna uchwytna różnica anatomiczna wykazała się w słabszym sfalowaniu błon komórkowych epidermis u okazów tetraploidalnych.

Oba znalezione w materiale z Polski typy *V. cracca* L. posiadają podstawową liczbę 7. Typ 12-chromosomowy mógł powstać wg. S v e s h n i k o w e j (1937) przez zlanie się dwóch chromosomów w obrębie siedmiochromosomowego kompleksu 14-chromosomowej formy, co doprowadziło do wytworzenia jednej pary dużych chromosomów dwuramiennych.

Wobec istnienia 12-chromosomowego typu *V. cracca* nasuwa się pytanie, czy *Vicia tenuifolia* R t h., która ma 24 chromosomy nie może przedstawiać tetraploida tej formy o podstawowej liczbie 6. Przeciwnie temu przypuszczeniu przemawiają następujące fakty: 12-chromosomowy typ *V. cracca* (fig. 11 z prac S v e s h n i k o w e j) posiada jedną parę dużych dwuramiennych chromosomów z centromerem medialnym, względnie submedialnym. W przypadku podwojenia kompleksu *V. tenuifolia* R t h. musiałaby posiadać 2 pary takich chromosomów; jednak fig. 9 w pracy S v e s h n i k o w e j pozwala stwierdzić obecność tylko jednej takiej pary. Należy dodać, że w badanym przeze mnie materiale *V. tenuifolia*, stwierdziłam nieco odmienne zróżnicowanie, gdyż oba chromosomy największej

pary były wyraźnie nierównoramienne. Obecność tylko jednej pary dużych chromosomów pozwala przypuszczać, że *V. tenuifolia* przedstawia typ allotetraploidalny. Na korzyść tej interpretacji przemawia również doskonała płodność tego gatunku; jak wiadomo allopoliploidy w przeciwieństwie do autopoliploidów posiadają wysoki stopień płodności.

Definitywne potwierdzenie słuszności powyższych rozważań znalazłam we wzmiankowanej publikacji R e n k o n e n i T h e r m a n. Autorzy fińscy wśród badanych próbek *V. cracca* znaleźli oprócz wymienionych poprzednio typów 14 i 28-chromosomowych również typ 12-chromosomowy, a nadto typ 24-chromosomowy, który reprezentuje nieznaną poprzednio u *V. cracca* tetraploidalną formę z podstawową liczbą 6.

Tetraploidalny gatunek *V. tenuifolia* R t h. jest dobrze przystosowany do naszych warunków klimatycznych i kontrastuje bardzo wyraźnie zarówno ze sporadycznie u nas występującymi tetraploidalnymi typami *V. cracca* L., jak i z opisanymi przez S v e s h n i k o w ą bardzo delikatnymi typami 12-chromosomowymi.

Te obserwacje przemawiają na korzyść poglądu, że *V. tenuifolia* R t h. jest gatunkiem odrębnym od *V. cracca* L.

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

1) Niniejsze badania cytologiczne dotyczące dwu gatunków rodzaju *Vicia* L. wykazały istnienie na obszarze Polski południowej dwóch typów chromosomowych *V. cracca* L. $2n = 14$ (6 stanowisk) i $2n = 28$ (1 stanowisko). W badanym materiale nie znalazłam 12-chromosomowego typu *V. cracca* L. Wynik badań nad *V. tenuifolia* R t h. daje potwierdzenie ustalonej poprzednio liczby $2n = 24$.

2) Typy 14-chromosomowe *V. cracca* okazały się przeważającymi w Polsce południowej, a nie różniące się od nich morfologicznie, lecz wykazujące niższą płodność tetraploidalne biotypy są tu znacznie rzadsze, w przeciwieństwie do ich częstego występowania w Europie środkowej.

3) Znalezione biotypy tetraploidalne *V. cracca* L. pojawiły się przypuszczalnie na drodze mutacji. Przypuszczenie znajduje potwierdzenie w fakcie, że wśród diploidalnych siewek *V. cracca* L. z jednego stanowiska (okolica Szczawnicy) wystąpiły miksploidy.

4) Wyniki badań porównawczych nad liczbą i morfologią chromosomów *V. cracca* L. i *V. tenuifolia* R t h. dowodzą odrębności systematycznej obu badanych gatunków.

Pracę niniejszą wykonałam w Zakładzie Anatomii i Cytologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. W tym miejscu składam Pani Prof. Dr. M. Skalińskiej serdeczne podziękowanie za cenne rady i wskazówki, którymi kierowałam się przy wykonywaniu pracy.

SUMMARY

The present study gives chromosome numbers of two species of *Vicia* L. viz.: *V. cracca* L. and *V. tenuifolia* Rth. The material was collected in the form of seeds in natural habitats of Southern Poland. Previous investigations (Sveshnikova 1927, 1937) have revealed the occurrence of a karyological differentiation within the species *V. cracca*. Of the three chromosomic types known hitherto in this species, the diploid type with 14 somatic chromosomes (Fig. 1, 2) seems to be the most frequent in the south of Poland, since it has been found in 6 separate habitats. On the other hand, the tetraploid type ($2n = 28$, fig. 5, 6) has been detected only in one habitat, despite the fact that it seems to occur rather frequently in Europe and its distribution is not limited to northern countries. The tetraploid plants found in the vicinity of Krakow are morphologically similar to the diploids; only some anatomical differences could be traced (Fig. 7, 8). They seem however to be ill-adapted to their actual habitat: their pollen is highly sterile (Fig. 9); the fruits fail to develop normally, most flower buds being shed before the expansion of the flowers. The study of seedlings from a quite different habitat (nr. Szczawnica. Pieniny Mts) has shown the occurrence of mixoploids among them (fig. 3, 4). The above observations suggest that, in the area studied, the prevailing type is represented by diploids, while the occasionally found tetraploids, as well as mixoploids, may have arisen by mutation. The third karyological type, a diploid with the basic number 6 ($2n = 12$) was not found in the material investigated.

The chromosome number of *V. tenuifolia* Rth. ($2n = 24$) established previously (Sveshnikova 1927, Heitz 1931) has been confirmed for the Polish representatives of this species in the course of the present study (Fig. 10, 11).

The present investigation has been done in the years 1951, 52 in the Institute of Plant Anatomy and Cytology of the University of Kraków. I desire to express my sincere thanks to the Head of the Institute, Professor M. Skalińska for valuable suggestions and advice in the course of my work.

LITERATURA

- 1) Heitz E. 1932. — Nucleolen und Chromosomen in der Gattung *Vicia*. *Planta. Archiv für Wissenschaftliche Botanik*, 15 Band, 495—505, Berlin.
- 2) Kostrakiewicz K. 1951. — *Studia systematyczne nad polskimi gatunkami rodzaju Vicia L. Materiały do fizjografii kraju*. P. A. U. Nr. 27, Kraków.
- 3) Lewitsky G. A. 1931. — *Morfologija chromosom. Trudy po prikl. bot. gen. i selekcii*. 27, 187—239, Leningrad.
- 4) Löve A. a. Löve D. 1948 — *Chromosome numbers of northern Plant species. Report of Agr. Univ. Inst. of Applied Sciences, Reykjavik.*

- 5) Nemec B. 1931. — Mixoploidy and the Cellular Theory. Report of proc. of the V Intern. Botan. Congress Cambridge 1930. 233.
- 6) Olszewska M. 1952. — Zjawiska miksooidalności u *Narcissus poeticus*. Acta Soc. Bot. 20, 685—700.
- 7) Renkonen K. O. i Therman E. 1952. — Chromosome number and anti-A 1 — Agglutinins in seeds of *Vicia cracca*. Annales Med. Exper. Fenn. 30. 327—328.
- 8) Senn A. 1937. — Chromosome Number Relationships in the Leguminosae. Bibliographia Genetica. 12, 175—336.
- 9) Skalińska M. 1947. — Polyploidy in *Valeriana officinalis* Linn. in relation to its ecology and distribution. Journ. Linn. Soc. Botany. 53, 159—186.
- 10) Sveschnikowa I. 1927. — Kariologiczeskij oczerk roda *Vicia*. Bull. Appl. Bot. Gen. nad Plant Breeding. Vol. 17, 37—72. Leningrad.
- 11) Sveschnikowa I. 1928. — Die Genese des Kerns im Genus *Vicia*. Verh. d. V. Intern. Kongr. f. Vererbungswissenschaft Berlin 1927, 1415—1421.
- 12) Sveschnikowa I. 1937. — Eliementy formoobrazowanija u mnogoletnich form *Vicia*. Biologiczeskij Žurnał. 6, 949—970.
- 13) Szafer W., Kulczyński S., Pawłowski B. 1924. — Rośliny polskie. Lwów — Warszawa.
- 14) Tischler S. 1950. — Die Chromosomenzahlen der Gefäßpflanzen Mitteleuropas. W. Junk. Haga.

Próby skrócenia okresu wegetacji u *Ricinus communis* L.

*Endeavours of shortening of the vegetation period of
Ricinus communis* L.

OLGA KOSTECKA-MĄDALSKA

(Wpłynęło dnia 9.XII.53 r.)

Dotychczasowa literatura na temat rącznika (*Ricinus communis* L.) w Polsce jest nieliczna. Oprócz kilku krótkich prac i artykułów ogłoszonych w czasopismach farmaceutycznych (19, 37, 45, 56) oraz doniesień w Pracach Doświadczalnych (48), istnieje praca Derynga (8) z 1939 r. oraz popularna książeczka Kaznowskiego (21) z 1950 r.

Autorzy stwierdzają, co również potwierdziła praktyka, że istnieje możliwość uprawy rącznika i otrzymania zbiorów w warunkach klimatycznych Polski.

Deryng, na podstawie kilkuletnich doświadczeń, stwierdził, że zawartość oleju w nasionach rącznika aklimatyzowanego w Polsce (Ogród Farmakognostyczny w Warszawie) odpowiada zawartości oleju w nasionach sprowadzonych z zagranicy. Również jakość oleju odpowiada wymaganiom Farmakopei Polskiej i krajów obcych (8).

Kaznowski (21 str. 4) pisze: „Trzeba było poświęcić kilkanaście lat żmudnej pracy, by wyhodować odmianę wcześniejszą i mniej wymagającą, która by lepiej znosiła nasz klimat. Pracy tej nie można uważać za całkowicie zakończoną i trwa ona dalej, obecnie mamy odmianę rącznika, która nie boi się naszego, dość krótkiego i stosunkowo chłodnego lata i w sprzyjających warunkach daje zupełnie zadowalający urodzaj. Odmianę tę nazwaliśmy rącznikiem puławskim”...

Od 1947 r. sieje się rącznik w Ogrodzie Roślin Leczniczych Akademii Medycznej we Wrocławiu. Tutejsza Centrala Zielarska dostarczyła Ogródowi nasion uważanych za odmianę puławską. Nasiona te nie posiadały żadnej metryki. Większość cech roślin wyrosłych z tych nasion pokrywa się z ogólnym opisem puławskiego rącznika (21).

Oprócz odmiany z Centrali Zielarskiej, Ogród posiadał również różne nasiona rącznika pochodzące z Wrocławia, Krakowa i Poznania, które sia-

no do 1950 r. Już w 1951 r. nasion tych nie wysiewano. Być może, że na skutek krzyżowania się tych różnych odmian, odmiana otrzymana jako puławska uległa pewnym nieznacznym zmianom.

Z wiosną 1953 r. otrzymałam od prof. L. K a z n o w s k i e g o nasiona typowej odmiany puławskiej. Porównując je z naszymi nasionami zauważyłam, że odmiana puławska dała w 1952 r. nasiona mniejsze niż większość naszych nasion z tego samego roku. 100 nasion naszych ważyło średnio 36,83 g, natomiast 100 nasion odmiany puławskiej ważyło średnio 31,19 g. Barwa nasion odmiany puławskiej była bardziej brązowa, natomiast nasze nasiona były popielato-brązowe.

Nasiona odmiany puławskiej wysiałam w Ogrodzie Roślin Lecznicych w celu przeprowadzenia obserwacji systematycznych i fenologicznych. Dla porównania wysiałam również nasze nasiona rącznika. Miejsca z wysianymi nasionami były od siebie izolowane wysokimi drzewami oraz 8 — 10 m szerokim pasem wody.

Zanim rozstrzygnie się, czy są to te same odmiany czy też nie, będę na razie odmianę hodowaną w naszym Ogrodzie nazywać w tej pracy naszą odmianą.

Rącznik nasz uprawiany w Ogrodzie Roślin Lecznicych na różnych powierzchniach dał w 1949 r. 100 kg, w 1950 — 250 kg, w 1951 — 350 kg nasion, które sprzedano Centrali Zielarskiej jako materiał siewny dla województwa wrocławskiego. Wykazywały one dużą żywotność wyrażającą się 100% kiełkowania w temp. 28°C.

Nasza odmiana daje dobry plon przy odpowiedniej temperaturze i nasłonecznieniu. Ponieważ wczesne jesienne przymrozki niszczą późniejsze niedojrzałe owocostany, postanowiłam wykonać szereg doświadczeń zmierzających do dalszego skrócenia okresu jego wegetacji. Wykonanie takich badań we Wrocławiu było tym bardziej celowe, że właśnie okolice nizinne Śląska uważa się za odpowiednie do uprawy rącznika (21).

Doświadczenia przeprowadzałam na terenie uprawnym Ogrodu Roślin Lecznicych Akademii Medycznej we Wrocławiu, otoczonym od zachodu i północy wysokimi drzewami z podszyciem oraz zabudowaniami chroniącymi go od szkodliwych wiatrów. Glebę Ogrodu stanowią mady lekkie na warstwowanych osadach aluwialnych.

Doświadczenia rozpoczęłam w 1950 r. i prowadziłam je przez trzy lata. Obejmowały one jaryzację nasion rącznika, wpływ różnej długości dnia na rozwój rośliny, wreszcie wpływ trzech różnych wyciągów na rącznik w różnych warunkach uprawy.

Rezultaty otrzymane z doświadczeń opracowałam metodą statystyczną (11, 27, 38). O doświadczeniach z 1950 i 1951 r., które nie dały oczekiwanych rezultatów, tylko krótko wspominam. Ze względu na oszczędność miejsca podaję w tabelach tylko końcowe wyniki wyrażone przez

średnie arytmetyczne i ich średnie błędy. Dla wykazania istotnych różnic pomiędzy średnimi posługiwałam się tablicami F i s h e r a dla „t” według oznaczenia „Studenta” (11). Przy porównaniu dwu średnich arytmetycznych M_{n_1} i M_{n_2} obliczałam „t” z wzoru:

$$t = \frac{M_{n_1} - M_{n_2}}{\sqrt{\frac{m_{n_1}^2}{n_1} + \frac{m_{n_2}^2}{n_2}}}$$

przy czym M_{n_1} i M_{n_2} oznaczają średnie arytmetyczne porównywanych wartości z n_1 i n_2 osobników. Znaki n_1 i n_2 oznaczają również ilość powtórzeń. W powyższym wzorze m_{n_1} i m_{n_2} są odpowiednimi średnimi błędami.

Stosując tablice dla „t” możemy wykazać istotność różnic, przy pewnym określonym stopniu prawdopodobieństwa, zależnie od stopnia swoobody.

W analizowaniu wyników przyjmowałam normę N e y m a n a.

Na rozwój rącznika mają duży wpływ warunki meteorologiczne. Danych tych podać na razie nie mogę, ale one i tak nie wpływają w moich doświadczeniach na istotę rzeczy.

—————:—

Z obserwacji poczynionych w Ogrodzie Roślin Leczniczych, jak również zebranych przeze mnie wynika, że najodpowiedniejszym okresem siania rącznika w warunkach wrocławskich jest czas między 5 a 15 maja.

Nasiona siano zawsze na głębokość 5 cm posługując się odpowiednim kołkiem. Siano w ten sposób, że do dwu dołków leżących w odstępach 10 cm wrzucano po jednym nasieniu, a po wykiełkowaniu obu, jedną roślinę usuwano. Siano na przemian w odstępach 1 m.

Próby siania nasion moczonych i suchych nie wykazywały celowości moczenia.

Zauważyłam, że nasiona rącznika posiadają duże możliwości życiowe. Mianowicie nasiona, które przypadkiem spadły na ziemię w jesieni, a być może jeszcze jesieni poprzedniej, po przeoraniu, znalazły się na znacznej głębokości. Na wiosnę wyrosły z nich okazy samosiejek o wyglądzie normalnym. Gdy usiłowałam przesadzić je na inne pole, okazało się, że niektóre z nich miały korzenie na znacznej głębokości, a część podłścieniowa miała do 35 cm długości. Aby wydostać się na powierzchnię liścienie musiały przebić około 25 cm warstwę ziemi.

W czasie doświadczeń w 1950 i 1951 r. stosowałam normalne zabiegi uprawowe. Po tygodniu od wejścia roślin odbyło się pierwsze spulchnianie ziemi z jednoczesnym pieleniem. Następne pielenie i spulchnianie gleby miało miejsce po miesiącu od czasu wejścia rącznika. W wypadku posuchy, dwa razy w tygodniu zraszano pole z rącznikiem rozpyloną wodą wodociągową.

Gdy zachodziła potrzeba przesadzania, przenoszono roślinę wraz z ziemią okrywającą korzenie do głębokiego dołka, a następnie starannie zasypywano i podlewano. Przesadzano zawsze rano na pole świeżo przygotowane.

Pierwsze próby w 1950 r. dotyczyły jaryzacji w temp. 25°, 30°, 35°C oraz w temp. pokojowej od 18 — 19°C przez 5 dni.

Doświadczenie założono 10 maja. Sam proces jaryzacji, ponieważ odbywał się w wyższej temperaturze, wymagał warunków w miarę możliwości sterylnych. Nasiona przemywano wodą bromową, a szalki z mokrą bibułą sterylizowano. Po 14 godzinnym moczeniu nasion w temperaturze pokojowej, przenoszono je do odpowiedniej temperatury w termostacie. Codziennie kontrolowano wilgotność szalki, a w razie potrzeby dodawano sterylizowanej wody wodociągowej. Po 5 dniach wysadzano na pole, po 24 okazy z każdej temperatury, na 3 różnych poletkach po 8 egzemplarzy. Wysadzanie na pole odbyło się dnia 16 maja 1950 r. w czasie od godz. 8 — 13-ej.

Doświadczenie powtórzyłam 8 maja 1951 r. Obejmowało ono to samo zagadnienie; zastosowałam tylko różny czas działania temperatury 25°, 30°, 35°C i temperatury pokojowej od 18 do 20°C, a mianowicie przez 2, 4, 6 i 10 dni. Czas oddziaływania 10-dniowy uważałam za maksymalny, ponieważ rośliny tak urosły, że zachodziła obawa uszkodzenia korzenia przy przesadzaniu.

Po odpowiednim czasie oddziaływania wysadzono do ziemi, z każdej serii po 27 egzemplarzy, na 3 poletka odległe od siebie o kilka m. Nasiona, które przebywały w termostacie w odpowiedniej temperaturze tylko 2 dni, wysadzono w ilości 18 egzemplarzy na 2 poletka. Ogółem założyłam 48 poletek po 9 m² powierzchni. Dla porównania wysiano do ziemi 36 nasion w dniu 9 maja, na 4 różne poletka, jako kontrolne. (Ryc. 1).

6/25	6/30	6 35	6 pok	4/pok	4/25	4 30	4 35
kont.	10/30	10/pok	kontr	10/25	10,35	6 30	10 pok
2 pok.	4/pok.	6 pok	10 pok	2/35	4/35	6 35	10 35
2 35	4/35	6 35	10 35	2 30	4 30	kont	10 30
2/30	4/30	6/30	10/30	2 25	4 25	6 25	10 25
2 25	4/25	6 25	10 25	2 pok	4 pok	6 pok	kontr.

Ryc. 1.

Powyższa ryc. 1, podaje rozkład poletekznaczonych uławkami. Licznik podaje ilość dni trwania jaryzacji, mianownik zaś temperaturę jaryzowania. Np.: 2/25 tzn. dwa dni w temp. 25°C. Na każdym poletku, które posiadało powierzchnię 9 m², rośło 9 roślin.

Dwukrotne powtórzenie tego doświadczenia z 1950 i 1951 r. nie dało oczekiwanych rezultatów. Wprawdzie w wyższej temperaturze nasiona kiełkowały szybciej lecz późniejszy rozwój roślin był podobny. Pewne nieznaczne skrócenie okresu wegetacji wystąpiło w serii 10/35 jednak w czasie kwitnienia i owocowania nie można było uchwycić istotnych różnic pomiędzy poszczególnymi seriami. U wszystkich okazów doświadczalnych pierwszy kwiatostan zakwitł w czasie od 45 do 50 dni od założenia doświadczenia. Pierwszy zbiór nasion odbył się w 1950 r. między 2 a 5 września, a w 1951 r. między 3 a 7 września.

Otrzymane rezultaty pokrywają się ze spostrzeżeniami K a z n o w s k i e g o (21), który podaje, że rącznik wcześniej dojrzewający prawie nie reaguje na zabieg jaryzacji.

Nasiona otrzymane z pierwszych zbiorów roślin jaryzowanych przez 10 dni w temp. 35°C w 1951 r. zdawały się być większe od nasion kontrolnych. Porównałam ich wagę. Zważyłam 6 prób po 100 nasion z każdej serii, która była poddana jaryzacji przez 10 dni, a mianowicie: z temp. 35°, 30°, 25°C oraz kontrolne. Tab. I podaje przeliczenia tych danych.

TABELA I
Średnie arytmetyczne wagi nasion w g i ich średni błąd.

Temp. jaryz.	35°	30°	25°	Kontrolne
M ± m	38,60 ± 0,66.	37,98 ± 0,79	36,45 ± 0,97	36,83 ± 0,72

Z Tab. I można zauważyć, że nasiona otrzymane z okazów jaryzowanych w temperaturze 35°C wykazują największą wagę. Pewne podwyższenie wagi nasion zaznaczyło się również w serii jaryzowanej w temp. 30°C.

Doświadczenia te wykazały, że wprawdzie jaryzowanie nie wpływa zdecydowanie na szybszy rozwój, wywołuje jednak pewne zmiany w organizmie przejawiające się wytwarzaniem większych nasion. Zabieg ten mógłby mieć zastosowanie w wypadku prowadzenia doświadczeń zmierzających w kierunku zwiększania ilości plonu (53).

—:—:—

Wiadomo, że stosunek dnia do nocy w cyklu dobowym ma swój wpływ na szybkość rozwoju rośliny (7, 12, 13, 22, 31, 32, 36, 46, 52). Rącznik uważa się za roślinę „dnia krótkiego“.

Sądząc, że na tej drodze uda mi się skrócić okres wegetacji, działałam na ręcznik w okresie świetlnym (7, 33, 36) różnym czasem naświetlenia dziennego.

8 maja 1950 r. wysadziłam do ziemi nasiona ręcznika w specjalnych rynienkach eternitowych na głębokość 6 cm. Rynienki umieściłam w pomieszczeniu o temp. od 18 — 20°C. Rośliny kiełkowały w większości w czasie od 14 — 16 maja. Wcześniejsze i późniejsze wschody wyeliminowałam z doświadczenia. W czasie od 14 — 28 maja rynienki z roślinami wynosiłam codziennie na odpowiedni czas z ciemności na światło. Naświetlano siewki ręcznika w ciągu doby przez 8, 10, 12, 14, 24 godzin. Kontrolne pozostawały po wejściu w warunkach normalnego dobowego naświetlenia. Rośliny naświetlane 24 godzin były przez 12 godzin na świetle dziennym, a następnych 12 godzin w pomieszczeniu oświetlonym elektrycznymi lampami.

Doświadczenia prowadzone w tych warunkach pozwalały na krótki okres oddziaływania fotoperiodycznego tj. około 15 dni, a to dlatego, że małe rośliny musiano przesadzać na pole by nie uszkodzić systemu korzeniowego.

Przed wysadzeniem na pole pomierzono okazy. Z każdej serii wzięto do pomiarów 16 okazów. Tab. II podaje zestawienie pomiarów.

TABELA II
Średnia pomiarów roślin w cm i ich średni błąd

Ilość godzin naświetlania dziennego	Wysokość	Długość liścieni	Szerokość liścieni	Długość liści	Szerokość liści
8	10,1 ± 0,19	5,9 ± 0,48	4,2 ± 0,10	0,33 ± 0,21	0
10	10,4 ± 0,52	6,6 ± 0,89	4,9 ± 1,22	0,7 ± 1,33	0,3 ± 0,20
12	13,8 ± 0,23	7,6 ± 0,42	5,1 ± 1,03	2,3 ± 0,20	1,1 ± 0,41
14	14,9 ± 0,24	7,2 ± 0,22	5,8 ± 1,12	2,6 ± 0,32	1,1 ± 0,32
24	12,0 ± 0,72	3,9 ± 0,50	3,2 ± 0,37	1,5 ± 0,13	0,5 ± 0,20
kontrola	12,3 ± 0,42	4,6 ± 0,49	3,6 ± 0,86	1,6 ± 0,51	0,7 ± 0,21

Z Tab. II widać, że najstosowniejszym fotoperiodem, w początkowym rozwoju ręcznika u nas hodowanego, jest 12 i 14 godzinne naświetlenie dzienne. Przy tym naświetleniu rośliny były największe i miały najlepiej rozwinięte liście. W tym czasie rozwinęły się pierwsze dwa liście, podczas gdy przy innym naświetleniu liście były mniejsze a pierwsze liście bardzo drobne lub nierozwinięte. Zauważyłam również, że liście u roślin o skróconym okresie oddziaływania światła (8 i 10 godzin) były mniejsze, bardziej mięsiste i jaśniejszej barwy niż inne dłużej przez dzień naświetlane.

Pierwsza para liści, rozwiniętych już na polu, u roślin krócej naświetlanych (8 i 10 godzin), była podobnego zarysu o blaszce bardzo nieznacznie wydłużonej, natomiast liście pierwszej pary u roślin dłużej naświetlanych (12 i 14 godzin) były różnego zarysu w obrębie jednego okółka. Jeden z nich miał zarys kolisty, drugi zaś znacznie wydłużony, ostro-jajowaty. Seria zaś roślin pozostających stale na świetle wykształciła oba liście pierwszego okółka wydłużone o zarysie ostro-jajowatym.

Poza tym rośliny pozostające stale na świetle miały liścienie o barwie zielonej z odcieniem czerwonym. Najprawdopodobniej wytworzyły one większą ilość antocjanu, który może powstać u roślin z osłabionym aparatem chlorofilowym (44). Liście pierwsze, które rozwinęły się w pełni dopiero po przesadzeniu na pole, w tej grupie roślin, miały bardziej intensywną barwę zieleni.

Rozsadę wysadzono na pole dnia 29 maja 1950 r. o godz. 7 rano, po 16 egzemplarzy z jednej serii na 2 poletka po 8 sztuk. Po miesiącu od czasu wysadzenia wszystkie okazy miały wygląd bardzo podobny. Pączki kwiatowe zawiązały się w czasie od 18 — 20 czerwca, a pierwszy zbiór u 80% roślin odbył się 31 sierpnia.

Ponieważ nie znalazłam różnic w rozwoju roślin, nasunęło się podejrzenie, że czas oddziaływania „dnia krótkiego“ nie był wystarczający (33, 36).

Założyłam więc w 1951 r. drugie doświadczenie wprost na polu. Dnia 7 maja wysiano ręcznik w 5 szeregach po 40 nasion w szeregu. Siano na głębokość 6 cm, po 2 nasiona obok siebie. Rośliny wschodziły w czasie od 15 — 17 maja. Po wzejściu obu sąsiednich nasion jedną roślinę słabszą usuwano. W ten sposób pole pokryte zostało ręcznikiem, gdzie poszczególne rośliny znajdowały się w szeregach odległych od siebie o 1 m i w odstępach 1 m, a prócz tego między sobą naprzemianległe.

Rośliny, zaledwie ukazujące się nad ziemią, przykrywałam pudłami tekturowymi. W celu zupełnego zaciemnienia, pudła wkrecałam brzegami w ziemię i przyciskałam z góry kamieniami. Pudła w ciągu dnia zdejmowałam:

z I serii na czas od 9 ³⁰ — 17 ³⁰
z II „ „ „ „ 9 — 19
z III „ „ „ „ 8 — 20
z IV „ „ „ „ 6 ³⁰ — 20 ³⁰

Seria V, kontrolna, pozostawała bez osłony.

Po upływie określonego czasu pudła z powrotem umieszczano nad roślinami. Zaciemnianie roślin trwało od 15 maja do 18 czerwca, tj. mniej więcej do czasu zawiązania się pączków kwiatowych, który to moment uważa się za koniec okresu świetlnego (33, 52). Z każdej serii było zaciemnianych po 15 roślin.

W początkowym okresie rozwoju, podobnie jak w 1950 r. okazał się lepszy rozwój roślin naświetlanych 12 i 14 godzin w ciągu doby. Ośmiodzinne naświetlenie w ciągu dnia było niewystarczające. Wykształcenie pierwszej pary liści było podobne jak w zeszłym roku. Rośliny, które rosły na polu bez przykrycia były na ogół takie same jak naświetlane 12 i 14 godzin w ciągu dnia.

Pączki kwiatowe zawiązywały się różnie u różnych egzemplarzy tego samego szeregu. Granice średnich arytmetycznych czasu zawiązywania się pączków kwiatowych były jednakowe (od 40 do 45 dni od czasu siewu).

Wszystkie rośliny owocowały po raz pierwszy w czasie od 31 sierpnia do 4 września. Również w tym doświadczeniu nie zaznaczył się dodatni wpływ czasu naświetlania na szybkość owocowania.

Należy więc naszą odmianę rącznika zaliczyć za Minkiewiczem i Borkowskim (35) „do roślin fotoperiodycznie obojętnych, u których długość fazy rozwojowej nie zmienia się pod wpływem zmian w cyklicie dobowej“.

Nasiona w tym doświadczeniu zbierałam z każdej serii razem. W pierwszych 3 zbiorach rącznika oznaczyłam procent łupiny nasiennej w stosunku do całego nasienia. Oznaczenia tego dokonałam przez ważenie 4 prób z każdego szeregu doświadczalnego. Tłuszcz oznaczałam w nasionach metodą Soxhlet'a (22, 23) używając patronów ekstrakcyjnych sporządzonych z bibuły filtracyjnej (50). Zawartość tłuszczu w nasionach pozbawionych łupin nasiennych oznaczałam jako „ekstrakt eterem etylowym“. W Tab. III nasiona pozbawione łupin nasiennych nazywam jądrami nasinnymi. W niej zestawiałam średnie arytmetyczne i ich średni błąd. Podana poniżej „zawartość tłuszczu“ jest średnią arytmetyczną z dwu oznaczeń.

TABELA III

Czas dzien. naświetlania w godzinach	Ciężar 100 nasion w g	„ łupiny nasiennej w nasionach	Ciężar jądra nasinnego w całym nasieniu	zawartość oleju w jądrami nasinnymi	zawartość oleju w całym nasieniu
8	36,20 ± 0,93	28,18 ± 0,72	71,82	65,32	46,91
10	36,01 ± 0,72	27,20 ± 0,80	72,80	67,28	48,97
12	36,95 ± 1,56	24,77 ± 0,68	75,23	68,90	51,83
14	37,23 ± 1,05	23,72 ± 0,83	76,28	69,31	52,96
kontrolne	36,70 ± 1,60	26,69 ± 0,86	73,31	65,05	47,68

Jak z Tab. III widać ciężar nasion nie różni się istotnie między sobą. Z analizy uzyskanych średnich odnoszących się do różnego wykształcania się łupiny nasiennej w zależności od czasu naświetlenia, istotna róż-

nica występuje tylko między 12 godzinnym naświetlaniem i kontrolą oraz 14 godzinnym naświetlaniem i kontrolą.

Procentowa zawartość tłuszczu w jądrach nasiennych również ulega zmianie przy różnym czasie naświetlania. Rośliny pódane naświetlaniu przez 12 i 14 godzin w ciągu doby wydały nasiona o największym procencie tłuszczu, średnio 51,83 i 52,96% w stosunku do całych nasion, podczas gdy inne mają go około 47%.

Z porównania Tab. III z danymi z literatury (8) wynika, że zawartość tłuszczu w nasionach rącznika u nas hodowanego nie jest mniejsza niż zawartość tłuszczu w nasionach importowanych.

—:—

Wyżej przytoczone doświadczenia z 1950 i 1951 r. stwierdzają, że zabiegami jaryzacji oraz regulowaniem stosunku dnia do nocy nie można skrócić okresu wegetacji rącznika u nas hodowanego.

Tego rodzaju oddziaływanie może mieć wpływ na kształtowanie się samej rośliny oraz na jej plonowanie.

Wobec tego w 1952 r. przeprowadziłam doświadczenia oparte na całym innych założeniach.

Wiadomo z literatury, że wyciągi glebowe działają dodatnio na rozwój mikroorganizmów (2, 5, 9, 24, 25, 26). Znany jest wpływ próchnicy na rozwój glonów (14, 49). Höveler stwierdził dodatni wpływ związków próchnicznych na system korzeniowy (18). Hilitzer w badaniach ekologicznych wyróżnił rośliny, które reagują dodatnio na próchnicę, takie na które próchnica wpływa ujemnie i takie, które są względem próchnicy obojętne (19). Niklewski i jego uczniowie (40, 41, 42, 43) wykazali, że dodatek obornika zawierającego próchnicę lub dodatek preparatu próchnicznego, do kultur wodnych lub wazonowych, wywiera dodatni wpływ na wykształcanie się korzeni u roślin. Dodatek próchnicy wywoływał w niektórych wypadkach szybszy rozwój i lepsze plonowanie roślin. Błażowski i Prosińska wykazali, że kwasy huminowe powodują intensywniejsze pobieranie soli mineralnych przez rośliny wyższe (4). Gumińska zaobserwowała, że „nawożenie próchnicą” pomidorów uprawianych w ziemi w wazonach wpływa korzystnie na ich rozwój (39).

S. i Z. Gumińscy (15) wykazali, że dodatek próchnicy do pożywek płynnych, przy niedostatku tlenu w podłożu, wpływa dodatnio na rozwój pomidorów w kulturach wodnych. Stwierdzono również, że wyciąg z liści bukowych, podobnie jak próchnica, przy niedostatku tlenu w podłożu, wpływa bardzo dodatnio na rozwój roślin (16).

Znane jest powszechnie działanie farmakologiczne różnych wyciągów roślinnych na organizm żywy. Na roślinach zaobserwowano wpływ wy-

ciągów z *Digitalis* i *Colchicum* (6). Wiadomo, że trucizny w małych dawkach pobudzają przebieg procesów życiowych.

Odkryto również mikroorganizmy glebowe dla których alkaloidy nie są truciznami lecz stanowią dobrą pożywkę. Organizmy te korzystają z alkaloidów, które dostają się do gleby (30).

Jak wiadomo wałowanie i motyczenie są środkami pielęgnacji działającymi na roślinę. Pominąwszy zagadnienie zwalczania chwastów, zabieg motyczenia powoduje również silne przewietrzanie gleby (51). W doświadczeniach w ZSRR stwierdzono nadwyżki plonów wywołane wałowaniem gleby (20).

W 1951 r. zauważyłam, że podlewanie niektórych roślin na polu nie oczyszczonym roztworem humianu sodu wpływa na nie dodatnio. Znacznie lepszy wzrost początkowy, w porównaniu z kontrolą, wykazywała rozsada *Capsicum annuum* L. podlewana roztworem próchnicznym. Podobnie zachowywała się rozsada *Beta vulgaris* L., zaś rozsada *Solanum lycopersicum* L. reagowała słabo. Na rozsadach *Salvia officinalis* L. i *Nicotiana tabacum* L. nie stwierdziłam pozytywnego rezultatu podlewania próchnianem sodu. Lepszy natomiast wzrost obserwowałam na rozsadzie *Nicotiana tabacum* podlewanej wyciągiem z liści *Atropa belladonna* L. Wyżej wymienione rośliny podlewane wyciągiem z liści *Urtica dioica* L. lub liści *Juglans regia* L. nie wykazywały różnic w porównaniu z roślinami podlewanymi wodą. Wyciąg z liści z *Juglans regia* działał natomiast dodatnio na wzrost młodej rozsady *Salvia officinalis*.

Opierając się na przytoczonych danych, założyłam w 1952 r. kombinowane doświadczenie nad rącznikiem stosując systematyczne wałowanie i motyczenie ziemi między rosnącymi roślinami z równoczesnym podlewaniem roztworem humianu sodu, wyciągiem z liści *Atropa belladonna* lub wyciągiem z liści *Juglans regia*.

Doświadczenie założono na polu po ziemniakach. Glebę parceli doświadczalnej stanowiły mady lekkie na warstwowanych osadach aluwialnych z kilkunastocentymetrową warstwą próchniczną; pole wyrównane.

W jesieni roku poprzedniego dokonano orki, po nawożeniu obornikiem. Z wiosną zaorano powtórnie i po wyprawieniu ziemi założono pole rącznikowe.

Dla łatwiejszego wykonywania zabiegów doświadczenie założono w następujący sposób:

Na większym polu rącznikowym wycięto trzy grzędy o wymiarach 4×16 m każda (ryc. 2). Odstępy między grzędami wynosiły 30 cm. Na każdej grzędzie wysadzono 4 rzędy nasion. Odstępy pomiędzy rzędami i między roślinami wynosiły 1 m. W miejsca numerowane wsiano po 2 nasiona na 6 cm głęboko w odstępach 8 cm od siebie. Sianie przeprowadziłam

I				II				III			
O	P	A	J	O	P	A	J	O	P	A	J
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.1	.	.1	.	.1	.	.1	.	.1	.	.1
.1	.	.1	.	.1	.	.1	.	.1	.	.1	.
.	.2	.	.1	.	.2	.	.2	.	.2	.	.2
.2	.	.2	.	.2	.	.2	.	.2	.	.2	.
.	.3	.	.3	.	.3	.	.3	.	.3	.	.3
.3	.	.3	.	.3	.	.3	.	.3	.	.3	.
.	.4	.	.4	.	.4	.	.4	.	.4	.	.4
.4	.	.4	.	.4	.	.4	.	.4	.	.4	.
.	.5	.	.5	.	.5	.	.5	.	.5	.	.5
.5	.	.5	.	.5	.	.5	.	.5	.	.5	.
.	.6	.	.6	.	.6	.	.6	.	.6	.	.6
.6	.	.6	.	.6	.	.6	.	.6	.	.6	.
.	.7	.	.7	.	.7	.	.7	.	.7	.	.7
.7	.	.7	.	.7	.	.7	.	.7	.	.7	.
.	.8	.	.8	.	.8	.	.8	.	.8	.	.8
.8	.	.8	.	.8	.	.8	.	.8	.	.8	.
.	.9	.	.9	.	.9	.	.9	.	.9	.	.9
.9	.	.9	.	.9	.	.9	.	.9	.	.9	.
.	.10	.	.10	.	.10	.	.10	.	.10	.	.10
.10	.	.10	.	.10	.	.10	.	.10	.	.10	.
.	.11	.	.11	.	.11	.	.11	.	.11	.	.11
.11	.	.11	.	.11	.	.11	.	.11	.	.11	.
.	.12	.	.12	.	.12	.	.12	.	.12	.	.12
.12	.	.12	.	.12	.	.12	.	.12	.	.12	.
.	.13	.	.13	.	.13	.	.13	.	.13	.	.13
.13	.	.13	.	.13	.	.13	.	.13	.	.13	.
.	.14	.	.14	.	.14	.	.14	.	.14	.	.14
.14	.	.14	.	.14	.	.14	.	.14	.	.14	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

Walowana

Nie ruszana

Motyczona

Ryc. 2

15.V.1952 r. Rośliny wzeszły między 22 a 24 maja. Po wzejściu i zawiązaniu się pierwszej pary liści usuwano jeden słabszy lub większy okaz, odbiegający od przeciętnego. Tylko w jednym miejscu na grzędzie II rząd P nr 4 oba wysiane nasiona nie wzeszły. W to miejsce przesadziłam 1 okaz, ale on nie był brany pod uwagę w dalszych obserwacjach. Ogółem skielkowało 93% nasion zasianych. Z obserwacji wyłączałam również 24 roślin brzeźnych, które na ryc. 2 zostały zaznaczone a nie otrzymały numerów porządkowych.

Grzędy ponumerowałam liczbami I, II i III. Rzędy na każdej grzędzie oznaczałam: O = kontrolne, P = podlewane roztworem humianu sodu. A = podlewane wyciągiem z liści *Atropa belladonna* i J — podlewane wyciągiem z liści *Juglans regia*.

Do obserwacji miałam 14 roślin w każdym rzędzie. Ilość roślin w każdym rzędzie jest w moim osobnikowym doświadczeniu ilością powtórzeń.

Grzędę I wałowałam przy pomocy wału gładkiego co 10 dni między rzędami roślin. W najbliższym zaś sąsiedztwie rośliny. glebę ubijano ręcznie. W około każdego okazu sporządzano małą nieckę, również dobrze ubitą. W niej gromadził się płyn przy podlewaniu.

Na grzędzie II gleby nie ruszano, stosując jedynie pielenie chwastów.

Grzędę III motyczono co 10 dni na głębokość 6 — 8 cm.

Co 10 dni wszystkie rośliny podlewano w następujący sposób: pod każdą roślinę danego rzędu wlewano odpowiedni płyn w ilości 150 cm³. Roztworem humianu sodowego podlewano wszystkie okazy rzędu P na wszystkich trzech grzędach. Podobnie na wszystkich trzech grzędach podlewano rośliny wyciągiem z liści *Atropa belladonna* w rzędach A, a wyciągiem z liści *Juglans regia* w rzędach J. Dla porównania na wszystkich trzech grzędach wlewano pod każdą roślinę rzędu O po 150 cm³ wody. Zabiegi te po raz pierwszy zastosowano na polu 29 maja. Drugie wałowanie, motyczenie i podlewanie odbyło się 3 czerwca. Dalej czynność tę powtarzano co 10 dni, a mianowicie 13.VI. 23.VI. 3.VII. 13.VII. 23.VII. 2.VIII, 12.VIII i 23.VIII.

Roztwór humianu sodu używany do podlewania otrzymywałam z ziemi próchnicznej, pochodzącej z parkowej części Ogrodu Roślin Lecznicych (24). Za każdym razem używałam tej samej ziemi w ilości 4 kg suchej masy, po odjęciu znajdującej się w niej wody. Ziemię przesianą przez sito, o okach średnicy 0,5 cm, i przesuszoną na powietrzu, przechowywałam w suchej piwnicy. Otrzymany wyciąg glebowy uzupełniałam wodą destylowaną do 13 l, gdyż prawie ta ilość była mi potrzebna do 2-krotnego podlania 42 roślin. Raz sporządzony wyciąg służył mi na dwa podlewania. Płyn przechowywałam przez 10 dni w lodówce w temperaturze około 3°C.

Humian sodu użyty do podlewania w dniu 23 czerwca 1952 r. miał: $P_h = 7,1$, zawierał 0,169% suchej masy, a 0,967% popiołu.

Wyciąg z liści *Atropa belladonna* i liści *Juglans regia* otrzymywałam w następujący sposób: 150 g świeżych liści wraz z ogonkami liściowymi, po pokrajaniu nożem na drobne kawałki, ekstrahowałam 7 l wody przez dwie godziny w temperaturze 60 — 70°C. Następnie po odsączeniu przez szklaną watę używałam wyciągu do podlewania. Do każdego podlewania sporządzałam świeży wyciąg z liści.

W połowie czerwca dały się już zauważyć różnice w wykształceniu się roślin. Wszystkie okazy grzędy wałowanej (ryc. 2) posiadały lepiej rozwinięte liście i wyglądały na większe.

Dnia 13 czerwca pomierzyłam wysokość roślin. Ostateczne wyniki podaje Tab. IV.

TABELA IV
Średnie arytmetyczne pomiarów wysokości w cm i ich średni błąd

Rząd	O	P	A	J
Grzęda I	19.5 ± 0.45	23.8 ± 0.97	22.2 ± 0.86	18.9 ± 0.21
.. II	16.3 ± 0.26	18.4 ± 0.12	19.2 ± 0.25	15.6 ± 1.02
.. III	15.4 ± 0.65	16.7 ± 0.73	17.2 ± 0.45	14.2 ± 0.91

Z analizy Tab. IV wynika, że najlepszy wzrost roślin występował na wszystkich rzędach grzędy I, a najsilniej zaznaczył się w rzędach IP i IA. Ten lepszy rozwój wszystkich roślin z grzędy I jest niewątpliwie rezultatem wałowania pola. Zabieg ten wpływa więc dodatnio na wzrost rącznika we wczesnym okresie jego rozwoju. W rzędzie IP i IA najintensywniejszy wzrost wywołany został sumą dwu czynników, a mianowicie wałowaniem i podlewaniem próchnicą lub wyciągiem z liści *Atropa*.

Na dwu pozostałych grzędach obserwuje się lepszy wzrost w rzędach podlewanych próchnicą lub wyciągiem z liści *Atropa*. Na grzędzie III wpływ tych wyciągów zarysowuje się słabo.

Efekt wzrostowy, jak widać z Tab. IV, wywołany tylko podlewaniem próchnicą (IIP) lub wyciągiem z liści *Atropa* (IIA) jest równy efektowi wywołanemu wałowaniem (IO).

Wpływ podlewania wyciągiem z *Juglans regia* nie przejawia się na wszystkich trzech grzędach.

W następnych miesiącach wysokość roślin mniej więcej wyrównała się na wszystkich trzech grzędach. We wzroście nie zaznaczył się żaden dodatni wpływ. W połowie sierpnia wszystkie okazy posiadały wysokość w granicach od 98 — 120 cm.

Rośliny z grzędy I charakteryzowały się wykształceniem większej ilości liści, przy czym były one znacznie większe niż u roślin na grzędach II i III. Dnia 15 lipca policzyłam na poszczególnych roślinach ilości liści. Liczyłam tylko całkowicie wykształcone. Wyniki przeliczeń podaje Tab. V.

Z analizy średnich arytmetycznych Tab. V wynika, że istotne różnice zaznaczają się między IO a IIO, IO i IIIO. Przejawia się tu dodatni wpływ

TABELA V
Średnie arytmetyczne ilości liści i ich średni błąd

Rząd	O	P	A	J
Grzęda I	18,9 ± 1,06	25,9 ± 2,68	20,1 ± 1,56	20,7 ± 1,30
„ II	13,9 ± 1,91	18,6 ± 1,22	17,6 ± 2,10	13,8 ± 1,08
„ III	15,4 ± 1,82	16,2 ± 2,01	15,9 ± 1,76	15,3 ± 1,08

wałowania na wykształcanie się ilości liści. Istotne różnice występują też między IP a IO. W tym wypadku zwiększenie ilości liści jest wynikiem działania próchnicy.

Pewna nadwyżka zaznacza się między IA a IO, odpowiadająca dodatniemu wpływowi podlewania wyciągiem z liści *Atropa*, która jednak w porównaniu średnich arytmetycznych nie daje istotnej różnicy, z powodu małej ilości powtórzeń. Podobny wypadek mamy między IJ a IO.

Na grzędzie II zaznacza się istotna różnica między IIP a IIO. Inne średnie nie wykazują tych różnic.

Z Tab. V widać, że wałowanie (IO) wpływa na wykształcanie się ilości liści tak, jak zabieg podlewania próchnicą (IIP).

Na grzędzie I, zwłaszcza w rzędzie IP i IA, liście były duże, a nerwy większych liści miały od 30 — 35 cm długości.

Dalsze obserwacje dotyczyły czasu zawiązywania się pączków kwiatowych. Wyniki ilustruje Tab. VI.

TABELA VI
Średnia ilość dni od czasu siewu do czasu zawiązania się pączków kwiatowych

Rząd	O	P	A	J
Grzęda I	45,3 ± 0,57	39,5 ± 0,42	41,4 ± 0,44	45,3 ± 0,49
„ II	46,0 ± 0,33	43,1 ± 0,66	43,5 ± 1,02	45,2 ± 0,61
„ III	46,7 ± 0,44	43,6 ± 0,45	44,0 ± 1,10	46,1 ± 0,55

Analiza średnich arytmetycznych Tab. VI wykazuje, że istotne różnice zachodzą między IP a IO oraz między IA a IO, nie ma zaś istotnej różnicy między IO a IJ. W kolumnie O nie zaznaczają się istotne różnice

między poszczególnymi grzędami. W kolumnie P i A zaznaczył się mniej lub więcej wyraźnie dodatni wpływ podlewania próchnicą i wyciągiem z liści *Atropa*. Dodatni wpływ, wyrażający się skróceniem okresu od siewu do zawiązania się pązków kwiatowych, wystąpił najwyraźniej w IP tj. przy wałowaniu i podlewaniu próchnicą. Skrócenie w tym wypadku wyraża się o 6,5 dni. Analogicznie lecz nieco słabiej zaznacza się dodatni wpływ podlewania wyciągiem z liści *Atropa* w rzędzie IA, gdzie nastąpiło skrócenie tego okresu o 4,6 dni. Średnie arytmetyczne w kolumnie J nie różnią się istotnie od odpowiednich średnich z kolumny O.

Następne obserwacje dotyczyły czasu zakwitania. Końcowe wyniki są zebrane w Tab. VII.

TABELA VII
Średnie ilości dni od siewu do czasu kwitnienia pierwszego kwiatostanu

Rząd	O	P	A	J
Grzęda I	53,1 ± 0,52	45,7 ± 0,67	48,8 ± 0,91	52,5 ± 0,58
II	54,0 ± 0,65	51,7 ± 0,53	51,5 ± 0,83	53,6 ± 0,62
„ III	55,2 ± 0,62	52,4 ± 0,47	52,1 ± 0,53	53,8 ± 0,47

Widoczne skrócenie czasu od siewu do zakwitania występuje na grzędzie I w rzędzie IP i IA. Na grzędzie II i III zaznacza się nieznacznie dodatni wpływ podlewania próchnicą i wyciągiem z liści *Atropa*.

Z porównania Tab. VI z Tab. VII otrzymamy średnie czasu zakwitania pązków pierwszego kwiatostanu, przy odpowiednich warunkach uprawy.

TABELA VIII
Średnia ilość dni od czasu pązkowania do zakwitania pierwszego kwiatostanu

Rząd	O	P	A	J
Grzęda I	7,8	6,2	7,4	7,2
„ II	8,0	8,7	8,0	8,4
„ III	8,3	8,8	8,6	7,8

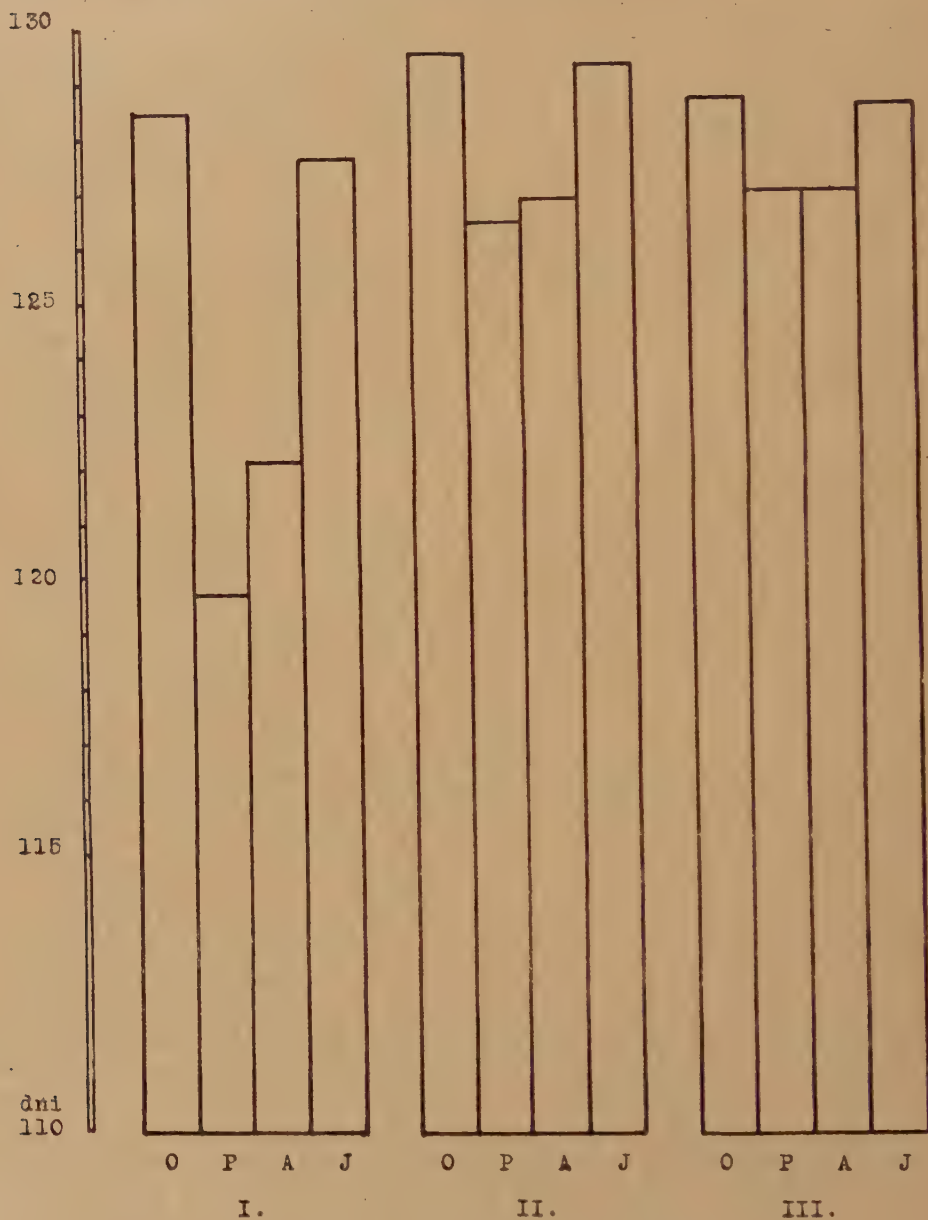
Z tego zestawienia (Tab. VIII) daje się zauważyć skrócenie czasu zakwitania pązków na grzędzie I rząd IP, gdzie skrócenie to osiąga czas około 2 dni.

Następne obserwacje dotyczyły czasu dojrzewania pierwszego owocostanu. Za czas ten przyjęłam dzień kiedy już większość owoców (około 75%) była dojrzała.

Drugi kwiatostan zakwitł w czasie od 5 — 8 dni po pierwszym. W zależności od czasu dojrzewania pierwszego owocostanu nastąpiło też doj-

rzewanie drugiego. Ponieważ plonowanie jest innym zagadnieniem pomijam je tutaj.

Dane dotyczące czasu dojrzewania owoców pierwszego owocostanu zebrane są w Tab. IX, a graficznie przedstawione na ryc. 3.



Rys. 3.

TABELA IX

Średnie ilości dni od siewu do dojrzewania pierwszego owocowania i ich średni błąd

Rząd	O	P	A	J
Grzęda I	128,5 ± 0,46	119,8 ± 0,57	122,2 ± 0,43	127,7 ± 0,54
.. II	129,5 ± 0,41	126,5 ± 0,63	126,9 ± 0,59	129,3 ± 0,41
.. III	128,7 ± 0,49	127,0 ± 0,56	127,0 ± 0,51	128,5 ± 0,32

Analizując wyniki Tab. IX widzimy, że dodatni wpływ działania próchnicy i wyciągu z liści *Atropa* zaznaczył się na wszystkich trzech grzędach. Wyraźnie korzystny wpływ wystąpił na grzędzie I w rzędzie I P, gdzie skrócenie osiągnęło 9,7 dnia i w rzędzie I A ze skróceniem 7,3 dnia.

Z porównania Tab. IX. z Tab. VII. otrzymamy średni czas od zakwitania do dojrzewania owoców pierwszego kwiatostanu. Średnie ilości dni zebrane są w Tab. X.

TABELA X

Średnie ilości dni od zakwitania do dojrzewania pierwszego kwiatostanu

Rząd	O	P	A	J
Grzęda I	75,4	74,1	73,4	75,2
.. II	75,5	74,8	75,4	75,7
.. III	73,5	74,6	74,9	74,7

Z Tab. X. widać, że zabiegi uprawowe stosowane w moim doświadczeniu nieznacznie (maksimum 2,1 dnia na 75,5) skróciły czas od zakwitania do dojrzewania pierwszego kwiatostanu (IA).

—:—

Dodatkowo zaobserwowałam na którym z kolei węźle na łodydze głównej zakwita pierwszy kwiatostan. Dane zebrane są w Tab. XI.

TABELA XI

Średnie ilości węzłów i ich średni błąd

Rząd	O	P	A	J
Grzęda I	6,0 ± 0,23	5,1 ± 0,15	5,7 ± 0,14	5,9 ± 0,31
.. II	6,1 ± 0,21	5,7 ± 0,18	6,1 ± 0,18	6,2 ± 0,21
.. III	6,4 ± 0,27	5,4 ± 0,17	6,5 ± 0,23	6,8 ± 0,18

Z Tab. XI. wynika, że na wszystkich trzech grzędach rośliny podlewane próchnicą mają najmniejszą ilość węzłów. U większości tych okazów pierwszy kwiastostan zakwitł na piątym węźle. Na 42 egzemplarzy roślin podlewanych próchnicą było 17 o 6 węzłach oraz 2 o 7 węzłach. We wszystkich innych rzędach w przeważającej ilości występowały rośliny o 6 węzłach, dość licznie również o 7 węzłach, rzadko o 5 węzłach. W jednym tylko wypadku na grzędzie I rząd A wystąpił 1 egzemplarz, u którego pierwszy kwiatostan zakwitł na 4 węźle.

Ta obserwacja zdaje się wskazywać na to, że próchnica w pewien regulujący sposób wpływa też na wytwarzanie węzłów u rącznika. Należałoby to stwierdzić na większej ilości roślin.

Równolegle z ostatnio podanym doświadczeniem przeprowadziłam w r. 1952 inne doświadczenie nad rącznikiem, oparte na innych założeniach. Na poletkach wałowanych, gdzie te same okazy były podlewane roztworem próchnianu sodu a także rozpuszczonym „nawozem ogrodowym“, otrzymałam również skrócenie okresu od siewu do dojrzewania o około 8 dni w stosunku do kontroli.

Dla wyjaśnienia późnego dojrzewania nasion u rącznika w 1952 r. dodam, że warunki meteorologiczne we Wrocławiu były niekorzystne dla uprawy rącznika.

O m ó w i e n i e w y n i k ó w.

Jakie są powody skrócenia okresu wegetacji w wyżej podanych warunkach, trudno jest zdecydowanie powiedzieć. Należałoby zająć się tym zagadnieniem bliżej w kulturach wodnych, czy też wazonowych, w celu dokładnego ustalenia warunków doświadczenia, aby w ten sposób znaleźć czynniki, które wywołały te zmiany. Być może, że przejawia się tu wpływ kilku czynników razem.

Według wszelkiego prawdopodobieństwa zabieg wałowania powodował pogorszenie się warunków tlenowych. Ponieważ równocześnie wprowadzano do gleby dodatki wyciągów próchnicznych lub z liści *Atropa belladonna*, wywoływało to początkowo szybszy wzrost (Tab. IV) i silniejsze rozwinięcie liści (Tab. V), jak również przyspieszenie rozwoju w okresie wegetatywnym (Tab. VI). Na podstawie doświadczeń G u m i Ń s k i c h (15, 16) przypuszczać można, iż korzenie rącznika przy niedostatku tlenowym w podłożu zmieniły normalny metabolizm oddechowy. Próchnica, względnie substancja czynna w wyciągu z liści *Atropa*, służyła w tych warunkach za akceptor wodoru w procesie oddychania (15). Ten typ przemian oksydo-redukcyjnych powoduje widocznie szybszy rozwój organizmu.

Ponieważ oddychanie i związane z tym pobieranie związków mineralnych (28, 29) ma decydujący wpływ na rozwój rośliny, na tej więc drodze dopatruję się przyczyny skrócenia okresu wegetacji u rącznika. Przypuszczenie moje jest również poparte tym, że gros skrócenia wegetacji dokonało się w okresie największego wzrostu (Tab. VI), kiedy oddychanie jest najintensywniejsze (53).

Szybszy wzrost (Tab. IV) mógł być spowodowany z jednej strony przez zmienione warunki oddechowe i pobieranie soli mineralnych, z drugiej przez rozwój systemu korzeniowego (18, 41). Ten rozwój korzeni spowodował zapewne powiększenie się ilości i powierzchni liści (Tab. V).

Na skrócenie okresu wegetacji mogą mieć również wpływ mikroorganizmy glebowe, które produktami swojej działalności wywołują zmiany rozwojowe u rośliny wyższej; chodzi tu zwłaszcza o witaminy i biosy (3).

Dodatni wpływ podlewania wyciągiem z liści *Atropa* można wiązać ze stymulującym działaniem małych ilości trucizn, w tej liczbie i alkaloidów, na organizm żywy. Nie należy jednak pomijać działania innych ciał czynnych znajdujących się w tym wyciągu.

Na koniec stwierdzam, że to „poprawianie gleby“, jak określają niektórzy badacze, można spowodować nie tylko dodatkiem obornika lub próchnicy, ale również wyciągiem z liści *Atropa*, a być może wyciągiem z innych roślin, jak wykazały moje próbne obserwacje dotyczące rozsady.

STRESZCZENIE

Ricinus communis L. hodowany w Ogrodzie Roślin Leczniczych Akademii Medycznej we Wrocławiu, poddałam szeregowi zabiegów w celu uzyskania skrócenia okresu jego wegetacji. Spośród tych zabiegów tylko podlewanie próchnicą, przy równoczesnym wałowaniu gleby pod okazami *Ricinus*, dało skrócenie okresu wegetacji tj. od siewu do owocowania o ± 10 dni. Podobny ale słabszy wynik (o ± 7 dni) uzyskałam przez podlewanie wałowanych okazów rącznika wyciągiem z liści *Atropa belladonna* L. (Tab. IX).

Wałowanie gleby, podlewanie roztworem próchnianu sodu lub wyciągiem z liści *Atropa* wpływa dodatnio na wzrost oraz na wykształcanie się liści u *Ricinus* w pierwszym okresie jego życia (Tab. IV i V).

Dodatek do ziemi roztworu humianu sodu lub wyciągu z liści *Atropa* powoduje nieznaczne przyspieszenie rozwoju rośliny w różnych warunkach uprawy. Wyrażne skrócenie okresu od siewu do zawiązania się pączków kwiatowych uzyskałam przez wałowanie gleby i podlewanie roztworem próchnianu sodu lub wyciągiem z liści *Atropa* (Tab. VI).

Okres od pączkowania do zakwitania ulega skróceniu o $\pm$ 2 dni na grzędzie wałowanej i podlewanej próchnicą (IP, Tab. VIII).

Podlewanie wyciągiem z liści *Juglans regia* L. nie wywiera zdecydowanego wpływu na rozwój rącznika.

Zmiany rozwojowe u rącznika w wyżej podanych warunkach, należy łączyć przyczynowo ze zmiennymi warunkami oddechowymi korzeni.

Nie wykluczam również możliwości wpływania mikroorganizmów glebowych.

Dodatni wpływ wyciągu z liści *Atropa belladonna* może być wywołany stymulującym działaniem małych ilości trucizn.

Stwierdzam również, że „poprawianie gleby“, jak określają niektórzy badacze, można osiągnąć nie tylko dodatkiem substancji zawierającej próchnicę, ale także wyciągiem z liści *Atropa* lub innych roślin.

Przeprowadziłam też jaryzację nasion *Ricinus communis* w temperaturze 25°, 30°, 35°C oraz w temperaturze pokojowej przez 2, 4, 6 i 10 dni. Ten zabieg nie doprowadził do wyraźnego skrócenia okresu od siewu do dojrzwania. Pewne nieznaczne skrócenie otrzymałam przy 10-dniowej jaryzacji w temperaturze 30° i 35°C.

Rośliny jaryzowane przez 10 dni w temperaturze 30° i 35°C wydały nasiona większe w porównaniu z roślinami, które przeszły okres jaryzacji w temperaturze niższej oraz w porównaniu z kontrolnymi.

Również regulowaniem czasu naświetlenia dziennego w stosunku do nocy nie uzyskałam u naszego rącznika skrócenia okresu vegetacji. W początkowym rozwoju zaznaczyły się tylko różnice we wzroście i wykształceniu liścieni i liści (Tab. II).

12-to i 14-to godzinne naświetlenie w ciągu doby spowodowało procentowe zmniejszenie się łupiny nasiennej na wagę w stosunku do całego nasienia (Tab. III), oraz zdaje się zwiększać gromadzenie się ilości tłuszczu w nasionach (Tab. III).

Doświadczenia z jaryzacją i fotoperiodyzmem wskazują na pewne możliwości wpływania na rącznik w celu otrzymania lepszego plonu.

—:—:—

P. Prof. Drowi Stefanowi Gumińskiemu za cenne uwagi do niniejszej pracy serdecznie dziękuję. P. Mgr B. Wojciechowskiej za koleżeńską pomoc, ogrodnikowi M. Łatkowskiemu, pracownikom J. Kulpie i M. Niedbajle za pomoc techniczną w wykonywaniu doświadczeń składam podziękowanie.

Z Zakładu Botaniki Farmaceutycznej
i Ogrodu Roślin Leczniczych Akad. Med.
we Wrocławiu

SUMMARY

Ricinus communis L. cultivated in the Medical Plant Garden of the Medical High School in Wrocław was subjected to some experiments in order to obtain a shortening of its vegetation period.

Watering of plants by means of sodium humate solution, combined with rolling has been proved to be the most effective factor. It resulted in shortening of the vegetation period (i. e. the period from sowing to first fructification) about 10 days (Tab. IX). A less shortening (about 7 days) was obtained by the author by watering the cultivated plants with leaf-extract of *Atropa belladonna* L.

The same factors used in other condition of cultivation resulted in an insignificant acceleration of development.

The time from bud forming to flowering becomes 2 days shorter when the ground is rolled and watered by humus solution (Tab. VIII).

The time from flowering to maturation is scarcely influenced by these cultivation activities (Tab. X).

Rolling and watering with humus solution or with leaf-extract of *Atropa belladonna* has a positive effect on the growth and leaf forming of *Ricinus communis* in its first life period (Tab. IV and V).

Watering with a leaf-extract of *Juglans regia* L. does not influence distinctly the development of the castor-oil plant.

A shortening of the vegetation period of *Ricinus* was probably influenced by more than one factor. Rolling resulted probably in deterioration of aeration conditions. Extract of humus or *Atropa*-leaves introduced simultaneously into soil resulted at the beginning in acceleration of growth and leaf development as well as in acceleration of development in the vegetative period (Tab. VI). It may be supposed on the ground of some experiments of S. Gumiński and Z. Gumińska (15, 16) that the roots of *Ricinus communis* had changed their normal metabolism in conditions of insufficient soil aeration. Humus or an active substance of *Atropa*-leaves served then as an hydrogen acceptor in the respiration process.

This process can also be influenced by soil microorganisms which cause changes in development of the higher plants by some products of their vital activity. Vitamins and bioses come there in account.

A positive effect of watering by means of the leaf-extract of *Atropa* may be connected with the stimulating action of small amounts of poisonous substances (e. g. alkaloids) on the living organism. The influence of other active substances present in these extracts is not to be overlooked, too.

Soil „improving“ can be obtained — as has been shown in the author's experiments — not only by adding of manure or humus but also by adding of extract of *Atropa*-leaves, and possibly of other plants.

Besides the above experiments the author has carried out a vernalization of *Ricinus*-seeds at temp. 35°, 30°, 25°C and at the room temperature during 2, 4, 6 and 10 days. No distinct shortening of vegetation period was obtained. Vernalization during 10 days at temp. 35° and 30°C resulted in larger seeds (Tab. I).

No shortening of the vegetation period of *Ricinus* was also obtained by changing the length of day illumination. 12 and 14 hours of illumination per day caused much thinner seed coats and an increase of fat amount (Tab. III).

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

LITERATURA

1. Barbacki S. — 1935. Ogólna metodyka doświadczeń polowych w zarysie.
2. Bassalik K. i Neugebauer J. — 1933. Acta Soc. Bot. Poloniae, X: 481—493.
3. Ber A. — 1950. Hormony wzrostu roślin zielonych, grzybów i bakterii. — Książka i Wiedza, Warszawa.
4. Błagowieszczenski A. W. i Prosoreskaja A. A. — 1935. Biochemische Zeitschrift, 282: 99—103.
5. Bortels H. — 1930. Archiv f. Mikrobiol., 1: 333—342.
6. Browińska-Szmalowa Z. — 1953. Acta Poloniae Pharmaceutica, X: 119—130.
7. Czajłachian M. C. — 1936. C. r. Acad. Scien. URSS 1(X)2: 89—93.
8. Deryng J. — 1939. Acta Poloniae Pharmaceutica, III: 246—308.
9. Dzierzbicki A. — 1909. Bull. Intern. de l'Acad. de Sc. de Cracovie. Classe d. Sc. Math. et Natur. 651—660.
10. Farmakopea Polska II. — 1946.
11. Fisher R. A. — 1936. Statistical Methods of Research Workers. Ed. 6.
12. Garner W. W. and Allard H. A. — 1920. Journ. Agric. Res. 18: 553—606.
13. Garner W. W. and Allard H. A. — 1936. In: Dugger B. M. Biological effects of radiations, 2: 677—713.
14. Gumiński S. — 1947. Acta Soc. Bot. Poloniae, XVI: 91—115.
15. Gumiński S. — 1950. Acta Soc. Bot. Poloniae, XX: 589—620.
16. Gumiński S. i Gumińska Z. — 1953. Acta Soc. Bot. Poloniae XXII: 45—63.
17. Hiltzer A. — 1932. Beih. z. Bot. Zentralbl. 49: 467—495.
18. Höveler W. — 1892. Jhb. f. wiss. Bot. 24: 283—316.
19. Jabłonowski W. — 1952. Acta Poloniae Pharmaceutica, IX: 173—180.
20. Jakuszkin W. — 1950. Szczegółowa uprawa roślin. Książka i Wiedza, Warszawa.

21. Kaznowski L. — 1950. Ręcznik. — PWR i L. Warszawa.
22. Klebs G. — 1918. Flora, 111: 128—151.
23. Klein G. — 1931—32. Handbuch der Pflanzenanalyse. Bd. I—II.
24. KostECKA O. — 1949—50. Acta Soc. Bot. Poloniae, XX: 169—200.
25. Krzemieniewska H. — 1910. Bull. de l'Acad. Pol. de Sc. Cracoviae. Ser. B. 376—413.
26. Krzemieniewski S. — 1908. Roczn. Nauk Roln. 4: 1—116.
27. Lityński A. — 1928. Elementarne metody biometryczne w zastosowaniu do hodowli i doświadczalnictwa. Lwów.
28. Lundegardh H. u. Burström H. — 1933. Biochem. Zeitschr. 261: 235—251.
29. Lundegardh H. u. Burström H. — 1935. Biochem. Zeitschr. 277: 223—249.
30. Łypacewicz J. — 1930. Acta Soc. Bot. Poloniae, VII: 553—581.
31. Łysenko T. D. — 1948. Agrobiologia. Sielchozgis.
32. Łysenko T. D. i Prezent I. L. — 1935. Selekcja i teoria stadialnawo rozwitka rastienij. Moskwa.
33. Maksimow M. — 1950. Fizjologia roślin. PWR i L. Warszawa.
34. Melchers G. — 1939. Ber. d. Deutsch. Bot. Gessel. 57: 29—48.
35. Minkiewicz I. A. i Borkowski W. E. — 1952. Maslicznje kultury. Moskwa.
36. Murneck A. E. and Whyte R. O. — 1948. Vernalization and Photoperiodism. Waltham, Mass. U. S. A.
37. Muszyński J. — 1932. Kronika Farmaceutyczna nr 13 i 14.
38. Neyman J. — 1934. Roczn. Nauk Roln. i Leś. 31: 223.
39. Niklewska-Gumińska Z. — 1950. Roczn. Nauk Roln. 54: 273—297.
40. Niklewski B. — 1934. Biochem. Zeitschr. Heft 1, 271.
41. Niklewski B., 1949. Nawożenie roślin na Ziemiach Polskich, Poznań.
42. Niklewski B. i Wojciechowski J. — 1938. Acta Soc. Bot. Poloniae, XV: 61—151.
43. Niklewski B. i Wojciechowski J. — 1947. Acta Soc. Bot. Poloniae, XVIII: 66—90.
44. Noack K. — 1922. Zeitschr. f. Botanik, 14: 1—74.
45. Ossowski A. i Deryng J. — 1937. Kronika Farmaceutyczna, nr 23, 297—299.
46. Paczowski J. — 1947. Bioindukcja w państwie roślinnym. Poznań 1930.
47. Popowa G. — 1930. Kleszczewina. Moskwa.
48. Prace doświadczalne oraz Sprawozdania z działalności Rolniczych i Ogrodniczych Zakładów Doświadczalnych. 1932—1937 r.
49. Pringsheim E. G. — 1936. Beih. z. Bot. Zentralbl. Abt. A. 55: 100—121.
50. Rutkowski A. — 1951. Podstawy badań tłuszczów jadalnych. Poznań. PWN.
51. Świętochowski B. — 1949. Ogólna uprawa roślin. PWR i L. Warszawa.
52. Szczepotiewa F. — 1939. Sow. Botanika, 89—93.
53. Tiuwin M. G. — 1939. Sow. Botanika, 13—20.
54. Wojciechowski J. — 1948. Rozpr. Pol. Akad. Umiej. 73, dz. B. 26.
55. Wojciechowski J. i Kuźdowicz A. — 1939. Acta Soc. Bot. Poloniae, XVI: 81—94.
56. Wolski P. — 1949. Farmacja Polska, V, 52—56.

Meiosis in a polyhaploid twin plant and a hexaploid hybrid of *Valeriana sambucifolia* Mikan

M. SKALIŃSKA

Institute of Plant Anatomy and Cytology, University of Kraków

(entered: 15.XII.53 r.)

1. ORIGIN AND MORPHOLOGY OF THE TWIN-PLANTS

A pair of twins has been found among seedlings of *Valeriana sambucifolia* Mikan germinated in the laboratory in 1950. The mother-plant, *V. sambucifolia* ($2n = 56$) originated from the northern slope of Giewont in the Tatra Mts. This plant (Field N. 229, Skalińska, 1951) has been transplanted from its natural habitat in July 1948 into the experimental field of the Institute of Plant Anatomy and Cytology and flowered there in 1949. Seeds developed after open pollination were harvested and sown on the 15th March 1950 on Petri dishes in the laboratory. Most seeds germinated after 7 to 10 days. From one of these seeds a pair of twins of distinctly unequal size developed; the smaller partner appeared on the eighth day, the larger — two days later. The smaller plant represented a polyhaploid ($2n = 28$) whereas the larger seedling proved to be a hexaploid ($2n = 42$) evidently representing a cross-product of *V. sambucifolia* with a tetraploid plant. In *Valeriana* neither twins nor hybrids between different chromosomic types have been described hitherto; thus, the plants deserved a more detailed study.

Studies in twins of various plant genera have shown that in numerous instances the partners may be almost identical; sometimes however they may manifest distinct differences both in respect of morphology and of chromosome numbers (Müntzing, 1937, Skovsted, 1939). The twin plants of *Valeriana* manifested a high degree of dissimilarity since the first stages of their development. As it has been already mentioned, the smaller twin plant has been more precocious at germination. This seedling had a tiny rootlet of c. 2 mm. and a single very small cotyledon; a growing point however was not yet formed at this stage. On the other

hand, the larger seedling seemed to be normally developed: it had two cotyledons and a stouter rootlet. A few days after germination the two plants labelled A (the larger seedling) and B (the smaller seedling) were planted into separate pots in light soil; they were kept under glass jars in the first period of their development.

Twin plant A. Primarily this plant was regarded as the „normal“ partner in the pair of twins, representing a true *sambucifolia* type, like its mother plant. It soon became evident however that in spite of its nearly normal appearance this plant does not equal in respect of the speed of development the fast-growing *sambucifolia* plants from the same sample of seeds. After two months its leaves still remained small, sharply contrasting with the abundantly developed foliage of the true *sambucifolia* seedlings. The examination of root-tip mitoses has proved that this plant was a hexaploid with 42 somatic chromosomes (Fig. 1, 15), thus, it represented a chromosomic type unknown previously in *Valeriana*. Therefore this plant was given special care. In view of its delayed and somewhat defective growth it was kept in a greenhouse during the winter, since it was probable that it would not survive the conditions of the experimental field. The plant however failed to flower in two successive years 1951 and 1952 and died in late summer of that year.

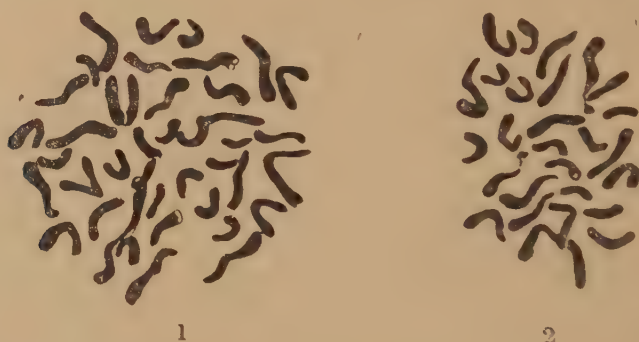


Fig. 1, 2 — Somatic metaphases from root tips of the twin plants of *Valeriana sambucifolia*; 1 — the hexaploid twin plant A, 2 — the polyhaploid twin plant B. (the same plates as in Fig. 15 and 16) ($\times 3100$).

As far as the origin of this plant is concerned, presumably it has arisen from a spontaneous cross in the experimental field. In 1949 many specimens of *Valeriana* species brought from natural habitats were growing there. Among these specimens a tetraploid strain of *V. exaltata* (Field N. 225, cf. S k a l i ŋ s k a, 1951) was growing in the vicinity of the *sambucifolia* mother plant. The partial overlapping of its flowering time

with that of the strictly allogamous species *V. sambucifolia* favoured a spontaneous cross-pollination by insects. It should be added that attempts at obtaining hybrids between octoploid and tetraploid types of *Valeriana* were done by the author repeatedly since 1945 but without any success. Artificial crosses failed altogether or led to the production of unviable embryos (S k a l i ŋ s k a 1947 and unpublished). The occurrence of a plant with 42 chromosomes proves however that in rare instances such a hexaploid type is able to develop.

Twin plant B. In the first stages the development of this plant was notably delayed, before a growing point has become differentiated. Later on, very small leaves were formed and, after overcoming the difficulties of the early stages of development, the plant begun to grow more normally, although it maintained its dwarf habit. Two months after germination — in the end of May — a few root tips could be fixed and in June the plant has been transplanted into the experimental field. It flowered in May 1951 and perished soon afterwards. This plant was totally sterile. Before the expansion of its flowers a part of its flower buds has been fixed for the study of meioses in PMC's and of later stages of pollen development.

Morphologically, the smaller twin plant represented a dwarfed specimen of *V. sambucifolia*. The comparison of the height of this twin plant with that of flowering plants from the same sample of seeds permit to establish a notable difference; normal *sambucifolia*-plants attained in the experimental field the height of c. 100 cm whereas the flowering stem of plant B was only 30 cm high and its inflorescence was poorly developed. On the other hand, in respect of other features this plant represented a true *V. sambucifolia*: as well known, *V. sambucifolia* develops overground runners which are organs of vegetative propagation; runners 10 to 15 cm long were present also in the polyhaploid plant. The lower stem leaves (about 5 cm long) had 3 pairs of slightly toothed lateral leaflets, and the upper ones (3 to 4 cm long) usually two pairs only. The low number of lateral leaflets in stem leaves is one of the features by which *V. sambucifolia* may be easily identified and distinguished from any other *Valeriana* species. A third character of *V. sambucifolia*, namely the early flowering, should be also mentioned; in 1951 the polyhaploid plant flowered in the half of May, simultaneously with normal *sambucifolia* plants. The above details show that the twin plant B really does represent a dwarfed *V. sambucifolia*. The chromosome number of this plant ($2n = 28$) established on root tip mitoses (Fig. 2, 16) permits to assume that the plant developed from a synergid, thus it represented a polyhaploid type of the octoploid *V. sambucifolia*.

2. A SECOND HEXAPLOID HYBRID

In view of the fact that a hexaploid hybrid has been found among the seedlings of *V. sambucifolia* as the larger member of a twin pair, the possibility of the occurrence of other plants of the same type has been taken into consideration. Therefore, a detailed morphological examination of the remaining plants from the same lot has been undertaken during their flowering season in summer 1951. As a result of this study a single aberrant plant has been detected among the progeny of *V. sambucifolia*. The cytological investigation of this plant carried out on meiosis in P.M.C's has proved that it represented a second hexaploid hybrid. The finding of this plant compensated partially the loss of the twin plant A which represented the same chromosomic type but perished before flowering.

It seems probable that the twin plant A and the second hexaploid (Field N. 229/3) have arisen from the same cross-pollination by insects. The mother plant developed in 1949 a single inflorescence; its first fruits have been dispersed by the wind and only the last achenes (in the number of 17) were harvested. This detail is of importance in view of the fact that in the experimental field the second half of the flowering period of *V. sambucifolia* overlaps the beginning of flowering of the tetraploid strain of *V. exaltata*. The seeds which gave the hexaploid hybrids developed and ripened simultaneously.

Morphologically, plant 229/3 was intermediate between the mother species *V. sambucifolia* and the putative pollen parent *V. exaltata*. Short overground runners were present. (The same is true of the hexaploid twin plant). The lower stem leaves had 6 pairs of slightly toothed lateral leaflets while the upper ones had 5 pairs. These numbers are intermediate between those of *V. sambucifolia* whose stem leaves bear only 3—4 pairs, and those of *V. exaltata* (tetraploid strain, Field N. 225) with 7—8 pairs. The flowering stem of the hexaploid plant however was shorter than that of the very vigorous mother plant and of the still taller plants of the tetraploid strain of *V. exaltata*. Possibly the vigour of this plant was somewhat affected. It should be added that it was totally sterile and it did not survive the second winter season.

3. THE ANTHERS

The course of meiosis in P.M.C's has been studied in the polyhaploid twin plant B, as well as in the hexaploid hybrid 229/3 probably corresponding to twin plant A in respect of its karyological structure.

Flower buds of these two plants have been fixed in May, 1951. The fixation has been done, during the author's serious illness, by Dr

H. W c i s ł o, research worker in the Institute; her excellent help is greatly appreciated by the author. Of the fixatives used, the best results were obtained with the N a v a s h i n's fixative diluted with an equal part of distilled water (according to M a n t o n, 1942). In addition, in spring 1952 buds of one plant of the tetraploid strain of *V. exaltata* have been fixed for comparison with the obviously abnormal tetraploid twin plant B. The microtome sections 10 to 13 μ thick, were stained with Newton's gentian violet.

In *Valeriana* species on transversal sections of normally developed young buds in the anthers groups of P.M.C's are visible usually arranged in bowshaped rows. In early prophase, they form a rather compact tissue, uniformly filling the space between the layers of the tapetal cells. At metaphase, owing to the growth of the anthers they lie separate after having rounded up. In post-meiotic stages the anthers' size increases considerably.

Of the two plants studied, the hexaploid hybrid 229/3 had, on the whole, normally developed anthers, whereas the flower buds of the polyhaploid plant seemed to have a defective development. In order to estimate the deviations from a normal development occurring in this plant, a detailed comparison of buds and anthers of the tetraploid twin plant B with those of a normal tetraploid plant (*V. exaltata*, field N. 225) has been carried out at various stages. In order to ascertain the dimensions of the floral parts at different stages of development, measurements have been done under the microscope with the aid of an eyepiece micrometer scale. The measurements concerned the diameter of the flower buds at prophase of meiosis (pachytene) and at later stages, the diameter of the pollen sacs in the corresponding stages and the size of the P.M.C's.

At pachytene, the diameter of a bud of the polyhaploid twin plant B hardly attains 0.5 mm while in the normal tetraploid plant 225 it is larger, the respective value being 0.7 mm. This last value however corresponds to a later stage in the polyhaploid; in flower buds of this size the degeneration of the pollen grains already sets in.

The diameter of the pollen sacs was measured together with the tapetal layer on transversal sections of the buds. The stages of meiosis ranged from prophase (pachytene) to the tetrad stage. Also some post-meiotic stages have been taken into consideration. The differences between the two plants are considerable. At pachytene the respective values are: for the polyhaploid 57 μ only, while for *V. exaltata* — 96 μ ; at interkinesis the diameter is 72 μ in the first plant and 112 μ in the second. Thus, in this stage the pollen sacs of the polyhaploid attain hardly 2/3 of the normal width. The value found at pachytene in *V. exaltata* corresponds in the polyhaploid to a much later stage of bud development in which

the periplasmodium nuclei are visible among the pollen grains already coated by their exines. Likewise, the value found at interkinesis in *V. exaltata* corresponds to a still later post-meiotic stage of the polyhaploid with notable size differences of the pollen grains making their appearance (Fig. 23).

It is interesting to note that the diameter of the P.M.C's (measured at I. Metaphase and at Interkinesis along the axis of the spindles) is approximately the same in the two tetraploids (c. 16 μ). In the polyhaploid however in the more limited space of a loculus the number of P.M.C's is lower than in the normal tetraploid plant. This shows that the number of cell divisions in pre-meiotic stages must have been lower than normal in the imperfectly developed anthers of the polyhaploid plant. Probably in consequence of this defective development, the P.M.C's are crowded in the narrow space available and frequently they fail to round up. The intense growth following tetrad formation in anthers of normal plants is in sharp contrast to the conditions, observed in the polyhaploid, the growth of the anthers is notably delayed and degeneration of most pollen grains sets in short time later (Fig. 24).

On the other hand, in the hexaploid hybrid 229/3 the development of the floral organs was approximately normal. The anthers were notably larger than in the polyhaploid twin plant B; their normally occurring elongation resulted in a looser arrangement of the P.M.C's and rendered possible their rounding up at late prophase.

4. MEIOSIS

A. The hexaploid hybrid. The course of meiosis in P.M.C's of this plant was quite normal. Pairing was complete or almost complete. The most frequent configurations occurring at I. Metaphase were represented by 21 bivalents or 20 bivalents and 2 univalents (Fig. 3, 4). Polyvalents were not formed. The bivalents with one terminal chiasma form a regular equatorial plate (Fig. 17, 18). Details of I. Metaphase and Anaphase could be studied easily owing to a very good fixation of the respective stages. The spindles were relatively broad and the paired chromosomes were less crowded than those of the polyhaploid twin plant in the respective stages. At I. Anaphase the two plates in polar view show a regular distribution of 21 chromosomes to each pole (Fig. 5). The chromosomes manifest distinct size differences: large and smaller chromosomes could be easily distinguished. These size differences correspond to the differentiation in the somatic set (Fig. 1, 15) in which longer and shorter chromosomes are visible. The I. Telophase is perfectly normal, without lagging chromosomes. At Interkinesis two daughter nuclei with the reduced chromosome number are formed; interkinesis seems to be

a stage of a relatively long duration; this stage is suitable for counting the chromosomes in view of the fact that they retain their stain-ability. The number 21 was invariably found on the poles (Fig. 6). The homoeo-



Fig. 3—7. Meiosis in the hexaploid hybrid 229/3; 3 — I Metaphase (21 bivalents); 4 — I Metaphase (20 bivalents and 2 univalents); 5 — two plates of I Anaphase with 21 chromosomes the plain chromosome in the lower plate was found in the preceding section; its position in the plate is approximate). ($\times 3100$). 6 — Interkinesis, 21 chromosomes on each pole; 7 — a normal tetrad and two primary pollen grains ($\times 1500$).

typic division, likewise, has a normal course. The tetrad formation occurs in the usual way; the cell walls delimiting the four microspores arise presumably by furrowing. In early stages of pollen development distur-

bances were not observable (Fig. 7). The exine was well formed (Fig. 25). Later stages of pollen development have been studied on acetocarmine smears. In older buds, short before the expansion of the flowers, the pollen grains had a very uniform appearance in respect of their size; however, in spite of the very regular course of meiosis and of later stages of development they were unviable. Most pollen grains were still uninucleate at this stage; all were imperfectly filled, their protoplast showing distinct signs of abortion.

B. The tetraploid twin plant B. In spite of the defective development of the anthers, this plant had on the whole a surprisingly regular course of meiosis. The chromosome pairing was complete or almost complete. At I. Metaphase up to 14 bivalents could be discerned. In the majority of the P.M.C's the congression of the bivalents was normal; in the I. Metaphase spindle they were arranged in a rather regular equatorial plate (Fig. 8, 20), usually however they were crowded in the relatively narrow spindle. Only occasionally the appearance of the equatorial plate was somewhat irregular, with unorientated bivalents and two or four univalents lying off the spindle (Fig. 9, 21). The separation of the paired chromosomes at I. Anaphase and their distribution to the poles had a normal course in most cells. Accordingly, at I. Telophase 14 chromosomes may be counted easily on each pole (Fig. 11, 22). At Interkinesis the great majority of the cells showed a quite regular distribution (14—14) (Fig. 13).

Disturbances during the first meiotic division were rather rare; they consisted in some instances in a delayed separation of some pairs which at I. Telophase persisted between the two groups of chromosomes already on the poles (Fig. 10). An abnormal telophase of this type was observed in a loculus with the majority of the P.M.C's at interkinesis. In the vicinity of this cell two other abnormal P.M.C's have been found; one of these cells contained a restitution nucleus with 28 chromosomes, while in the second presumably a somewhat earlier stage of formation of a restitution nucleus could be observed (Fig. 12). A further rare deviation from a normal development consisted in an unsynchronuous progress of meiosis in P.M.C's occurring in the same pollen sac. In a normal development all P.M.C's in a loculus are at the same stage or show a gradual transition to a later stage from the bottom to the top of a pollen sac. One of the abnormalities observed was the occurrence of single P.M.C's at earlier stages irregularly dispersed among cells representing a more advanced stage; e. g., among P.M.C's at Interkinesis sometimes cells at I. Metaphase, thus notably delayed in their development could be found in some loculi.

The homoeotypic division had also on the whole a normal course. Occasionally one single spindle, probably from restitution, could be ob-

served. Some minor disturbances (chiefly single chromosomes left outside the II. Metaphase spindles) rarely occurred. The most important irregularities started at the time of tetrad formation. They consisted in a defective development of the cell walls delimiting the four microspores. As a result, besides the normal one-nucleate microspores, also larger cells

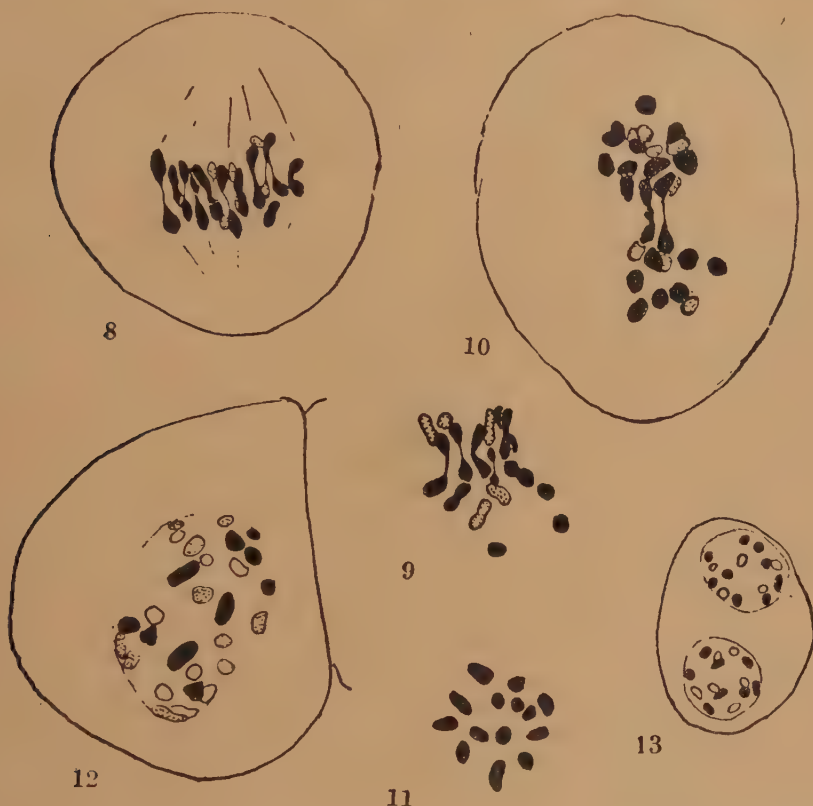


Fig. 8—13. Meiosis in the polyhaploid twin plant B. 8 — I Metaphase (14 bivalents); 9 — I Metaphase (12 bivalents and 4 univalents) (the same as in Fig. 21 on the left; in Fig. 9 the chromosomes are slightly spaced for clarity); 10 — abnormal I Telophase with connections persisting between two bivalents and uneven chromosome distribution to the poles (12—16); 11 — I Telophase (one pole) 14 chromosomes; 12 — probable formation of a restitution nucleus at interkinesis; 13 — normal interkinesis with 14 chromosomes on each pole. (8—12 $\times$ 3100; 13—1500 $\times$).

with two or three nuclei appeared at the tetrad stage (Fig. 14). Owing to the imperfect growth of the anthers, the P.M.C.'s were found at this stage unusually crowded in the narrow space of the loculi; vivid divisions start in this period in the tapetal cells; their intense growth, preceding the formation of the periplasmodium, contributed evidently to this strong

crowding of the P.M.C's and of microspores partly freed already of the membranes of their mother cells. In these conditions a strong competition seems to occur between the developing microspores which undergo a very irregular further development. Notable size differences appear at that time (Fig. 23). The largest — chiefly two- and three-nucleate cells con-

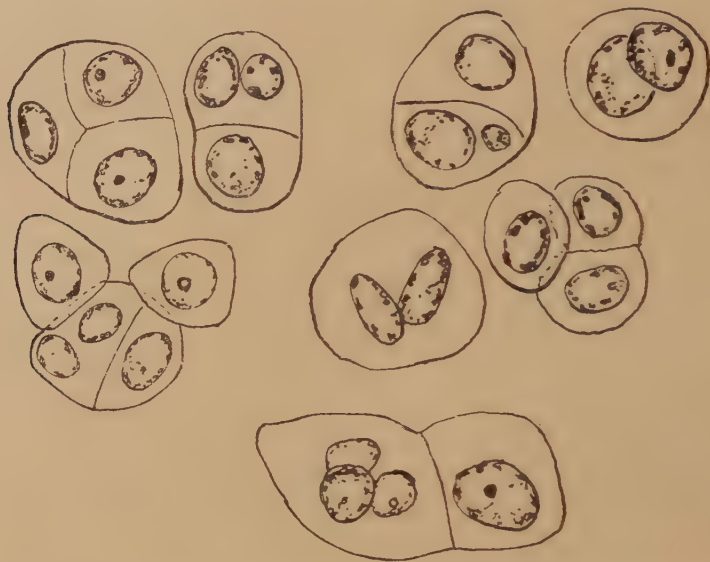


Fig. 14. Abnormal tetrads and primary pollen grains of the polyhaploid twin plant B. Note the bi- and trinucleate cells. ($\times 1500$).

tinue their development while the majority of the uni-nucleate microspores gradually degenerate. Their abortion begins soon after the penetration of the periplasmodium among the microspores. In later stages they are almost completely devoid of their living contents; their exines, already formed are shrunk and wrinkled. On the other hand, the larger, chiefly bi- or tri-nucleate primary pollen grains continue for a time their development. Their size increases enormously (Fig. 24). Ultimately these giant grains also degenerate. The striking size differences among the pollen grains are maintained after their abortion. In a pollen sac usually only a few giant grains are formed; they are surrounded by strongly wrinkled entirely empty small grains.

5. DISCUSSION

In most polyhaploids studied hitherto asynesis has been observed at meiosis; only occasionally a few bivalents appeared in addition to the univalents (e. g. *Triticum compactum*, Gaines and Aase, 1926;

Nicotiana Tabacum, Chipman and Goodspeed, 1927; Lammerts, 1934). This behaviour may be regarded as the consequence of allopolyploidy of the parent species of the respective polyhaploids. In rare instances however a high degree of regularity could be observed in chromosome pairing of polyhaploid organisms; a polyhaploid member of a pair of twins which appeared in the progeny of a tetraploid *Solanum* hybrid (*S. chaucha* $\times$ *S. tuberosum*) has been described by Lamm (1938). At meiosis this polyhaploid formed 12 bivalents. Likewise, a polyhaploid plant which appeared spontaneously in a 72-chromosomic strain of *Poa pratensis* (Müntzing, 1940) had a normal chromosome pairing in 76% of the P.M.C.'s studied. The formation of 18 bivalents in this polyhaploid is the more interesting as *P. pratensis* is considered an allopolyploid species; this assumption expressed by Müntzing is supported by the observations of Kiellander (1942) on a sub-haploid plant of this species which appeared as a member of a triplet set. The sub-haploid plant ($2n = 18$) manifested a well marked similarity to *Poa trivialis* L., thus, according to this author it may be assumed that *Poa trivialis* is one of the species which have contributed to the formation of *Poa pratensis* (p. 219).

A fertile polyhaploid plant of *Bromus inermis* Leyss. studied by Elliott and Wilsie (1948) deserves special mention. This plant ($2n = 28$) formed at meiosis in P.M.C's not only bivalents but also some polyvalents and the chromosome distribution at I. Anaphase was quite regular. A further example of a complete chromosome pairing in P.M.C's of a polyhaploid is represented by the twin plant B of *Valeriana sambucifolia* described in the present paper. Its four chromosome sets were able to form up to 14 bivalents in the way of autosyndesis. This ability of pairing suggests that they are homologous at least to some extent. According to Meurman (1925) however in octoploid conditions *V. sambucifolia* (= *V. excelsa* Poir.) forms exclusively bivalents at meiosis in P.M.C's. In spite of this it seems to represent a species which has arisen by autopolyploidy. In connection with this it should be added that the putative origin of *V. sambucifolia* has been discussed in a previous paper (Skalińska, 1951, p. 165). Presumably it represents a northern mountain species possibly derived from an almost extinct diploid ancestral form similar to that described by Runquist (1937) from the northern shore of the island Svano (Ångermanland). The octoploid *V. sambucifolia* Mikán occurring in mountain regions of Central Europe represents a younger form which could have evolved from that diploid through chromosome doubling achieved in two steps. In natural autopolyploids however usually the chromosome sets are no longer strictly identical. Presumably their differentiation has been attain-

ed gradually as a result of gene mutations or other changes (D o b z-
h a n s k y, 1947) this contributed to a divergent evolution of their
once identical sets. The degree of dissimilarity attained by *V. sambucifolia*
however does not affect the mode of pairing in the spontaneously formed
polyhaploid: autosyndetic pairing is complete or almost complete.

The hexaploid hybrid 229/3 represents in respect of its karyological
structure the combination of two sets of different origin: 28 chromosomes
representing the reduced set of *V. sambucifolia* and introduced into the
cross by the normal egg-cell of the mother plant; in addition, 14 chro-
mosomes of the pollen parent, probably *V. exaltata*. It seems probable
that also this hybrid has an autosyndetic chromosome conjugation: the
four sets derived from *V. sambucifolia* correspond to the somatic chro-
mosome complement of the polyhaploid twin plant; presumably also in
the hexaploid hybrid they form 14 pairs in the absence of identical mates;
it is plausible that the remaining 7 bivalents resulted likewise from an
autosyndetic pairing of the chromosomes of the pollen parent.

The putative father plant seems to represent an autotetraploid of
a rather recent origin. The morphological features of the hexaploid hy-
brid (see p. 362) suggest that the pollen parent belonged to a tetraploid
strain of *V. exaltata*. According to the author's previous studies, diploid
strains of this species prevail in Poland (S k a l i ń s k a, 1951). The
occurrence of a tetraploid strain native in a single habitat in western
Poland gives evidence of a cytological differentiation of this species; the
tetraploids have arisen evidently by spontaneous chromosome doubling.
Thus, autosyndetic pairing at meiosis in the hexaploid hybrid seems to
be more probable than the other possibility, that of allo-autosyndesis:
14 bivalents resulting from inter-specific pairing between *exaltata* and
sambucifolia chromosomes and 7 from intra-specific pairing of two *sam-
bucifolia* sets.

The two twin plants had a notably lowered vitality and were sterile.
In the polyhaploid the lack of vigour manifested itself in its dwarf
habit and the defective development of the anthers. As a consequence,
the post-meiotic stages were strongly affected; a quite abnormal develop-
ment preceded the total abortion of the pollen grains (Fig. 24) in spite
of a normal course of meiosis in most P.M.C's.

In the hexaploid twin plant A the four chromosome sets of *V. sam-
bucifolia* were exactly identical with those of twin plant B; the addition
of two sets of the pollen parent must have resulted in an ill-balanced
structure unable of a normal development.

The second hexaploid hybrid (229/3) corresponded in general in res-
pect of its cytological structure to twin plant A; it surpassed however
this plant by a higher degree of vitality. The development of its vegeta-

tive parts and of flowers was normal; disturbances started only in relatively late stages of pollen development leading to its abortion.

It seems probable that some factors causing a lowered vitality of the two twin plants and the pollen sterility of the hexaploid hybrid 229/3 are linked with the structure of the mother plant *V. sambucifolia*. In the course of evolution of this polyploid allogamous species some lethals or sublethals may have arisen during the gradually occurring differentiation. In the selfed progeny of some polyploids unviable types (e. g. albino seedlings in *Phleum pratense*, Norden ski ö l d, 1953), may appear as a consequence of a very complex segregation. In the diploids such deleterious mutations are eliminated by natural selection, whereas in the polyploids the respective factors remain concealed in many generations since recombination by cross pollination prevents their manifestation. However in polyhaploids and in some hybrid structures their deleterious influence, no longer balanced by the normal chromosome complement is able to make its appearance.

Studies in morphological characters of the hexaploid hybrid 229/3 are of importance in connexion with the problem of evolution in the section *Officinalis* in view of the fact that this hybrid showed a well marked similarity to some British biotypes. The author's previous investigations concerning morphology, cytology, ecology and geographic distribution of *Valeriana* in Great Britain (1945, 1947) and in Poland (1951) contributed to elucidate some evolutionary lines in the section *Officinalis* of this genus. A more primitive stage of evolution has been attained in Central Europe than in Great Britain. The more primitive stage is expressed by the occurrence of three distinct species sharply delimited both morphologically and cytologically (S k a l i ń s k a, 1951). Their distinct separation is in sharp contrast with conditions observed in Great Britain where a range of intergrading forms connects the extremes (S p r a g u e, 1943, T o d d, 1942). In 1947 the author expressed the opinion that the intergrading forms are presumably of hybrid origin, thus, a kind of fusion occurred between the formerly separate groups resulting in the production of a so-called „hybrid swarm“ (A l l a n, 1940) or a large polyploid complex representing the polymorphic species *Valeriana officinalis* s. lato in Great Britain.

An experimental attack of the problem in the way of artificial crossing of the extreme forms was followed by a missuccess; the almost negative results of crosses did not allow to test the validity of the author's assumption concerning the origin of British intergrading forms. However a spontaneous cross between *V. sambucifolia* and a tetraploid strain of *V. exaltata* gave rise to a hybrid plant the morphological features of which roughly correspond to some intermediate British biotypes. The

presence of overground runners and an increased number of pairs of lateral leaflets observed in this hybrid are frequently combined in plants representing intermediate forms in Great Britain; on the other hand, they do not occur together in plants native in Central Europe. With regard to the number of lateral leaflets in the hexaploid hybrid, this value (5 to 6 pairs) is intermediate between *V. sambucifolia* (3 to 4 pairs) and *V. exaltata* (7 to 8 pairs). The collective species *V. officinalis* shows in this respect a high degree of diversity: the continuous range extends from 3 to 10 pairs; forms with 5 or 6 pairs are most frequent chiefly among octoploids (cf. Table 2, S k a l i ŋ s k a, 1947). Although the hybrid differs from the British forms by its hexaploid chromosome number, its morphological similarity to some intermediate biotypes from the British Isles strongly suggests that they could have arisen by hybridisation. A more exact reconstruction of British biotypes would result from the fertilization of a normal egg-cell of *V. sambucifolia* by an unreduced gamete of a tetraploid strain of *V. exaltata*. Although tetraploid types produce rather frequently unreduced (giant) pollen grains, it is evident that the synthesis of an octoploid hybrid with the part of such grains can be hardly expected as a result of artificial crosses, in view of the considerable difficulties. It may be anticipated however that such unreduced pollen grains would be favoured on the stigma of octoploid plants and would be able to compete successfully with normal grains, like in some other genera (e. g. *Aquilegia*, S k a l i ŋ s k a, 1937).

SUMMARY

A pair of dissimilar twins which appeared among seedlings of *Valeriana sambucifolia* M i k a n ($2n = 56$) represented a very small polyploid ($2n = 28$) presumably developed from a synergid and a hexaploid hybrid ($2n = 42$) which originated from a spontaneous cross probably with a tetraploid *V. exaltata*. In addition in the same group of seedlings a second hexaploid hybrid has been detected. The two twin plants had a notably lowered vitality; the hexaploid sister-plant was more vigorous, it was however totally sterile in spite of a regular course of meiosis. In most P. M. C's 21 bivalents were formed presumably by autosome pairing. A regular meiosis with complete or almost complete chromosome pairing has been observed also in P. M. C's of the polyploid twin plant. Disturbances beginning before the formation of tetrads led to a highly abnormal development and to a total pollen sterility.

The author's opinion expressed in 1947 that the British *Valeriana officinalis* s. lato represents a non-uniform polyploid complex of hybrid origin is supported by the well marked similarity of the spontaneous hybrid to British intergrading forms assigned to that species.

REFERENCES

- Allen H. H., 1940, Natural hybridization in relation to taxonomy. The New Systematics. ed. J. S. Huxley, Oxford, 515 — 528.
- Chipman, R. H. and Goodspeed T. H., 1927. Inheritance in *Nicotiana Tabacum*. VIII. Cytological features of purpurea haploid. Univ. Calif. Pub. Bot. 11, 141 — 158.
- Dobzhansky T., 1947. Genetics and the Origin of Species. New York.
- Elliott F. C. and Wilsie C. R., 1948. A fertile polyhaploid in *Bromus inermis*. Journ. of Her., 39, 376 — 380.
- Gaines E. P. and Aase H. C., 1926. A haploid wheat plant. Amer. Journ. Bot. 13, 377 — 385.
- Kiellander C. L., 1942. A subhaploid *Poa pratensis* L. with 18 chromosomes and its progeny. Svensk Bot. Tidskr. 36, 200 — 220.
- Lamm R., 1938. Notes on a haploid Potato hybrid. Hereditas, 24, 391 — 396.
- Lammerts W. E., 1934. On the nature of chromosome association in *Nicotiana Tabacum* haploids. Cytologia, 6, 38 — 50.
- Meurman O., 1925. The chromosome behaviour in some dioecious plants and their relatives etc. Comment Biol. Helsingf., 2, 1 — 104.
- Müntzing A., 1937. Polyploidy from twin seedlings. Cytologia, Fuji Jub. Vol. 211 — 227.
- Müntzing A., 1938. Note on heteroploid twin plants from eleven genera. Hereditas, 24, 487 — 491.
- Müntzing A., 1940. Further studies on apomixis and sexuality in *Poa*. Hereditas. 26, 115 — 190.
- Nordenskiöld H., 1953. A genetical study in the mode of segregation in hexaploid *Phleum pratense*. Hereditas, 39, 469 — 488.
- Runquist E., 1937. Cytologische und morphologische *Valeriana*-Untersuchungen. Hereditas, 23, 279 — 286.
- Skalińska M., 1937. Synthesis of hypertetraploid types of *Aquilegia*. Amer. Nat. 71, 610 — 612.
- Skalińska M., 1947. Polyploidy in *Valeriana officinalis* Linn. in relation to its ecology and distribution. Journ. Linn. Soc. Botany, 53, 159 — 186.
- Skalińska M., 1951. Studies in cyto-ecology, geographic distribution and evolution of *Valeriana* L. Bull. Acad. Pol. des Sciences et des Lettres Sér. B. 1950, 149 — 175.
- Skovsted A., 1939. Cytological studies in twin plants. Comptes Rend. Lab. Carlsberg, Sér. Phys. 22, 427 — 445.
- Sprague T. A., 1943. Field studies on *Valeriana officinalis* Linn. in the Cotswold Hills. Proc. Linn. Soc. London, Sess. 155, 93 — 104.
- Todd, B. H., 1942. The cytology of the *Valerianaceae* with special reference to the status of the British forms of *Valeriana officinalis* Thesis. Univ. of Durham, 1941 (A preliminary note on this paper in Vasculum, 27 (1942) 26 — 27).

EXPLANATION OF PLATE I.

Fig. 15, 16 — Somatic metaphases in root tips of the twin plants: 15 — the hexaploid hybrid ($2n = 42$); 16 — the polyhaploid plant B ($2n = 28$). Navashin gentian violet.

Magnification c. 1800 $\times$.

Fig. 17—19 — Meiosis in P.M.C's of the hexaploid hybrid 229/3; 17, 18 top — distinct bivalents, 18 bottom — two univalents (First Metaphase, side view); 19 — polar view of the First Metaphase plate.

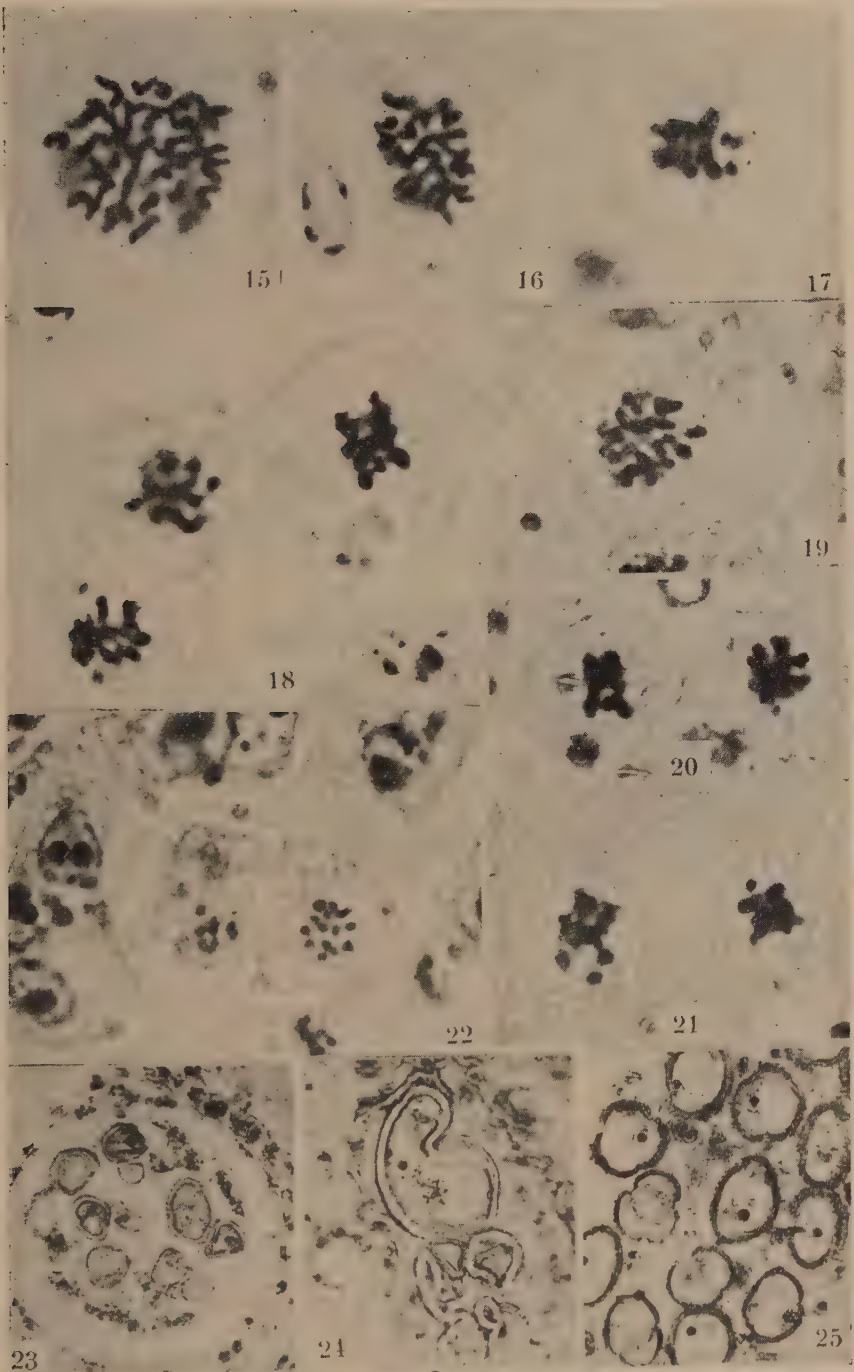
Fig. 20—22 — Meiosis in P.M.C's of the polyhaploid twin plant B; 20 — two approximately normal I Metaphase spindles (side view and polar view); 21 — two First Metaphases with univalents (side view). Note the crowding of chromosomes in the plates; 22 — Three P.M.C's at First Telophase surrounded by multinucleate tapetal cells; in the middle P.M.C. one distinct pole with 14 chromosomes. Magnification of Figs 17—22 c. 1500 $\times$.

Fig. 23, 24 — Later stages of pollen development and abortion in the polyhaploid twin plant; 23 — cross-section of a loculus near the top of the anther at the stage in which size differences between the pollen grains begin to appear; the largest grain is bi-nucleate; 24 — Later stage; longitudinal section of a loculus; one giant pollen grain and a group of shrunken small pollen grains.

Fig. 25 — Pollen grains in a young bud of the hexaploid hybrid 229 3 before their abortion. Magnification of Figs 23—25 c. 400 $\times$

The microphotos have been taken with Leitz Makam combined with the Practiflex camera with the use of a Leitz oil immersion lens $\times 100$ and a Leitz periplan eyepiece $\times 10$. (Figs 15—22) and a Zeiss compensating eyepiece $\times 5$ (Figs. 23—25).

PLATE I



Badania kariologiczne nad gatunkami rodzaju *Dentaria* L., występującymi w Polsce

Karyological studies in species of Dentaria L. occurring in Poland.

E. BANACH-POGAN

Z Zakładu Anatomii i Cytologii Roślin U. J.

(wpłynęło, dn. 15.XII.53 r.)

Rodzaj *Dentaria* L. jest blisko spokrewniony z rodzajem *Cardamine* L. i przez niektórych badaczy uznawany jest za jego sekcję (Schulz 1903). Potwierdzeniem tego bliskiego pokrewieństwa jest ta sama dla obydwu rodzajów podstawowa liczba chromosomów $x = 8$.

Z dotychczasowych badań wynika, iż gatunki rodzaju *Dentaria* są wysokimi poliploidami i w ogromnej przewadze posiadają euploidalne liczby chromosomów:

Cardamine polyphylla (W. K.) O. E. Schulz $n = 24$ (Schwarzenbach 1922)

C. pinnata (Lam.) R. Brown $n = 24$ (Schwarzenbach 1922)

C. pentaphylla R. Brown $n = 24$ (Schwarzenbach 1922)

C. bulbifera (L.) Crantz $n = \text{ca. } 48$ (Schwarzenbach 1922)

C. savensis O. E. Schulz $2n = \text{co najmniej } 80$ (Manton 1932)

Aneuploidalna liczba chromosomów $2n = 52-54$ podana została dotychczas tylko dla gatunku *C. enneaphyllos* (L.) Cr. przez Matick (in litt. 1949, cyt. wg Tischlera 1950).

Badania kariologiczne nad gatunkami rodzaju *Dentaria*, występującymi w Polsce, zostały podjęte jako kontynuacja poprzednich badań nad rodzajem *Cardamine* (Banach 1951, Banach w druku).

Rodzaj *Dentaria* jest reprezentowany w Polsce przez trzy gatunki:

D. enneaphyllos L.

D. glandulosa W. K.

D. bulbifera L.

Gatunki te są roślinami trwałymi; wykształcają płożące się kłącza, stanowiące narządy rozmnażania wegetatywnego. Podczas gdy jednak

gatunki *D. enneaphyllos* i *D. glandulosa* mogą rozmnażać się płciowo, to *D. bulbifera* rzadko tworzy normalnie rozwinięte nasiona; rozmnaża się niemal wyłącznie wegetatywnie, głównie przez bulwki umieszczone w pachwinach liści.

Celem pracy było ustalenie somatycznej liczby chromosomów trzech gatunków rodzaju *Dentaria*, występujących we florze Polski.

Gatunek *D. glandulosa* nie był dotychczas w ogóle badany kariologicznie. Nie została również dotychczas ustalona definitywnie liczba chromosomów dla *D. enneaphyllos*.

Materiał do badań pochodził z 12 stanowisk naturalnych. Somatyczne liczby chromosomów zostały ustalone na płytkach metafazowych w stożkach wzrostu korzeni. Materiał utrwalano utrwalaaczami wodnymi wg Navashina. Skrawki o grubości 10 μ barwiono fioletem gencjanowym wg Newtona.

Dentaria enneaphyllos L. $2n = 80$.

Ogólny zasięg *D. enneaphyllos* obejmuje łuk łańcuchów górskich od Alp Wschodnich poprzez Sudety, Karpaty Zachodnie aż po Tatry, oraz Wyżynę Czesko-Morawską. Na północy stanowiska tego gatunku sięgają po Wartę, obejmując wyżynny obszar między Odrą i Wisłą. Najbardziej na południe wysunięte stanowiska mieszczą się w Górach Iliryskich, na Węgrzech, na pñ.-zach. obszarze półwyspu Bałkańskiego, w środkowych Apeninach (H e g i).

D. enneaphyllos reprezentuje we florze Polski element górski (S z a f e r 1930). Występuje w lasach bukowych zarówno na stanowiskach górskich, jak i niżowych. Górskie stanowiska *D. enneaphyllos* rozmieszczone są w Karpatach śląsko-żywieckich, w Tatrach (Hruby Regiel), oraz w Sudetach. Ze stanowisk górskich gatunek ten schodzi na niż, gdzie stanowiska jego są jednak rzadkie. Znane są stanowiska niżowe *D. enneaphyllos* na Śląsku, na południowym obszarze Wyżyny Małopolskiej, Lubelskiej, oraz w Poznańskim (S z a f e r 1930, Flora polska 1927).

Somatyczna liczba chromosomów *D. enneaphyllos* została ustalona na materiale pochodzącym z 3 stanowisk (Tablica I).

TABLICA I.
Wykaz stanowisk *Dentaria enneaphyllos* L.

Nr stanowiska	Stanowisko
12	Poznańskie; Góry Stołowe, nad Wodospadami (zebrał J. S z w e y k o w s k i).
14	Okolice Częstochowy; Sokole Góry, wzgórze Kamienne Górkę (zebrał H. B ł a s z c z y k).
20	Okolice Olkusza; wieś Bukowno (zebrał T. T a c i k).

Liczba chromosomów ustalona dla *D. enneaphyllos* na materiale z Polski wynosi $2n = 80$ (Ryc. 1, 4). Typ ten, w odniesieniu do podstawowej liczby chromosomów $x = 8$ reprezentuje typ dekaploidalny. Liczba chromosomów $2n = 80$ jest podana dla *D. enneaphyllos* po raz pierwszy. Uprzednio *M a t t i c k* (l. c.) podała dla tego gatunku aneuploidalną liczbę $2n = 52-54$. Już z dotychczasowych badań wynika, że gatunek *D. enneaphyllos* jest w obrębie swego zasięgu kariologicznie niejednolity; dalsze badania będą mogły rzucić światło na stopień tego zróżnicowania.

Dentaria glandulosa W. K. $2n = 48$.

Zasięg gatunku *D. glandulosa* obejmuje Karpaty, Siedmiogród, Banat, północny Bałkan. Najbardziej na zachód wysunięte stanowiska znajdują się w Karpatach Zachodnich (do Sudetów), najbardziej północne — w Górach Świętokrzyskich, najbardziej wschodnie — na Wołyniu, Podolu, w Besarabii (*H e g i*). W środkowej Syberii występuje podgatunek *C. glandulosa subsp. sibirica* O. E. *S c h u l z* (*S c h u l z* l. c.).

D. glandulosa reprezentuje we florze Polski karpacki element geograficzny (*S z a f e r* 1930, 1949). Ze stanowisk górskich, rozmieszczonych na obszarze Polski w reglu dolnym Karpat, poprzez stanowiska na Podkarpaciu gatunek ten schodzi na niż. Stanowiska *D. glandulosa* na niżu, rzadsze, rozmieszczone są na obszarze płd. wsch. Śląska, Wyżynie Małopolskiej, w Krakowskim (tu gatunek ten jest dość pospolity), w Kotlinie Sandomierskiej, w Górach Świętokrzyskich (*S z a f e r* 1930, Flora polska 1927).

D. glandulosa występuje w cienistych lasach i zaroślach, zwłaszcza w lasach bukowych. Materiał do badań kariologicznych zebrany został z sześciu stanowisk, głównie w Tatrach (Tablica II).

Nie badany dotychczas w ogóle pod względem kariologicznym gatunek *D. glandulosa* występuje w Polsce jako typ hexaploidalny: znaleziona dla tego gatunku liczba chromosomów wynosi $2n = 48$ (Ryc. 2, 5).

TABLICA II.
Wykaz stanowisk *Dentaria glandulosa* W. K.

Nr stanowiska	Stanowisko
1	Tatry; droga z Zakopango do Morskiego Oka.
3, 16	Tatry; Jaszczurówka (dwa różne stanowiska).
6	Tatry; Droga z Zakopango do Doliny Kościeliskiej.
15	Tatry; Dolina Strążyska.
18	Karpaty Sądeckie; Droga z Rytra do Krościenka.



Fig. 1—3. Somatyczne metafazy w stożkach wzrostu korzeni:

Somatic metaphases in root tips:

1. — *Dentaria enneaphyllos* L. $2n = 80$, 2. — *D. glandulosa* W. K. $2n = 48$, 3. — *D. bulbifera* L. $2n = 96$ (c. 2500 $\times$).

Dentaria bulbifera L. $2n = 96$.

Zasięg gatunku *D. bulbifera* jest bardzo szeroki i mieści w sobie zasięgi pozostałych gatunków europejskich rodzaju *Dentaria*. Rozpościera się on pomiędzy 37° — 60° szerokości geogr. północnej i między 0° — 48° długości geogr. wschodniej. Zasięg ten obejmuje więc obszar Europy, z wyłączeniem półwyspu Pirenejskiego, północnych obszarów: Anglii, półwyspu Skandynawskiego i Z. S. R. R., oraz szereg stanowisk na Kaukazie i w Azji Mniejszej (wg H e g i e g o).

D. bulbifera reprezentuje we florze Polski element geograficzny środkowo-europejski (S z a f e r 1949). Gatunek ten posiada swoje stanowiska w cienistych lasach liściastych na całym obszarze Polski, zarówno w górach jak i na niżu (Flora polska 1927).

Materiał do badań został zebrany z trzech stanowisk górskich (Tablica III).

Na materiale tym ustalono somatyczną liczbę chromosomów $2n = 96$ (duodekaploid) (Ryc. 3, 6). Liczba ta jest zgodną z obliczoną poprzednio na podziałach mejotycznych w komórkach macierzystych ziarn pyłku ($n = \text{ca. } 48$) przez S c h w a r z e n b a c h a (l. c.), dla materiału ze Szwajcarii.

TABLICA III.
Wykaz stanowisk *Dentariabulbifera* L.

Nr stanowiska	Stanowisko
2	Tatry; Jaszczurówka.
5	Tatry; Hruby Regiel.
17	Karpaty Sądeckie; droga z Rytra do Krościenka.

Wysoki stopień poliploidalności gatunku *D. bulbifera* pozostaje, być może, w związku z jego wzmożoną zdolnością wegetatywnego rozmnażania się. Obserwowano na szeregu gatunków, iż ich zdolność wegetatywnego rozmnażania się wzrasta częstokroć (jakkolwiek nie zawsze) z podwyższeniem liczby chromosomów; znane są przypadki, w których wegetatywny sposób rozmnażania jest inicjowany przez poliploidalne podwyższenie liczby chromosomów (Gustafsson 1946, 47, 48).

D. bulbifera jest w całym swoim zasięgu niemal całkowicie bezpłodna. Zjawisko to pozostające w związku z wegetatywnym rozmnażaniem (Hegil c., Schwarzenbach l. c.) było interpretowane przez niektórych badaczy jako wynik mieszańcowego pochodzenia tego gatunku. Zagadnienie to było dyskutowane przez szereg autorów (Ernst 1918, cyt. wg Gustafssona 1947, Gams 1922, Schwarzenbach 1922, Fritsch 1922, Leopold 1928, cyt. wg Gustafssona 1947, Lewis 1943), Ernst (l. c.) wysunął przypuszczenie, że gatunek *C. bulbifera* mógł powstać w wyniku skrzyżowania *C. pentaphylla* (= *C. digitata*) z jednym z gatunków: *C. polyphylla*, *C. pinnata*, *C. enneaphylla*. Wg Gamsa (l. c.) natomiast, *C. bulbifera* ma pochodzenie polifiletyczne; powstała jako formy mieszańcowe *C. pentaphylla* x *C. polyphylla*, oraz *C. pentaphylla* x *C. enneaphylla*. Przeciw koncepcjom Ernsta i Gamsa występuje Leopold (l. c.) twierdząc, że *C. bulbifera* jest w całym swoim zasięgu uderzająco jednolita (pomimo pewnej zmienności cech morfologicznych), wobec czego jej powstanie nie może być natury polifiletycznej. *C. bulbifera* silnie odchyła się od gatunków zachodnio i środkowo-europejskich (również od gatunków *C. pinnata*, *C. pentaphylla*, *C. enneaphylla*, *C. polyphylla*), natomiast jest bardzo zbliżona do *C. quinquefolia* — gatunku posiadającego zasięg przesunięty na wschód. Budowa zarodka *C. bulbifera* jest zbliżona do budowy zarodka *C. quinquefolia* a odbiega od budowy zarodków gatunków uważanych przez Ernsta i Gamsa za formy rodzicielskie *C. bulbifera*. Uderzającym jest również fakt, iż działaniem pewnych czynników zewnętrznych można spowodować tworzenie się bulwek w pachwinach liści *C. quinquefolia*.

Nie jest więc wykluczone, że gatunek *C. bulbifera* mógł wyróżnić się intraspecyficznie z gatunku *C. quinquefolia*. Dla dalszego opracowania omawianego zagadnienia konieczne jest zbadanie kariologii gatunku *C. quinquefolia*.

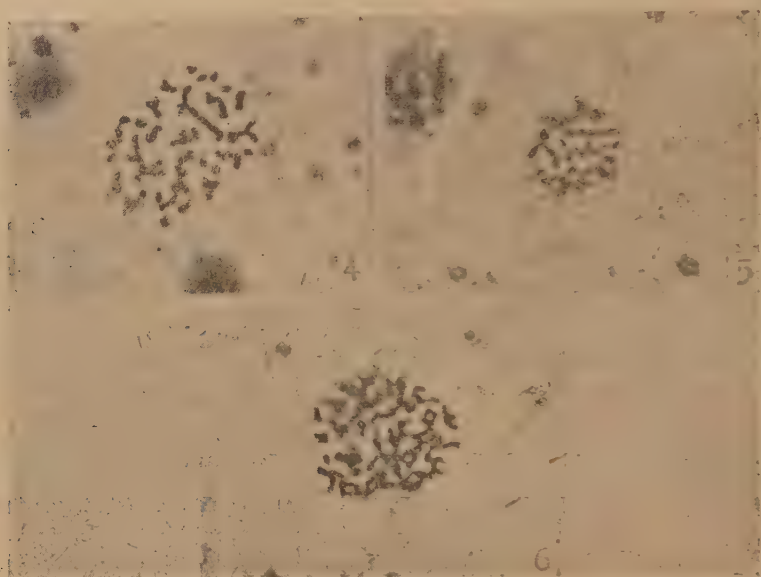


Fig. 4—6 Mikrofotografie somatycznych metafaz w stożkach wzrostu korzeni (tych samych co Fig. 1—3):

Microphotos of somatic metaphase plates in root tips (the same as Figs. 1—3):

4. — *Dentaria enneaphyllos* L. $2n = 80$, 5. — *D. glandulosa* W. K. $2n = 48$, 6. — *D. bulbifera* L. $2n = 96$ (c. 1650 $\times$).

STRESZCZENIE WYNIKÓW

Na materiale z szeregu naturalnych stanowisk w Polsce zostały ustalone liczby chromosomów trzech gatunków, reprezentujących we florze Polski rodzaj *Dentaria* L.:

D. enneaphyllos L. $2n = 80$ (typ dekaploidalny)

D. glandulosa W. K. $2n = 48$ (typ hexaploidalny)

D. bulbifera L. $2n = 96$ (typ duodekaploidalny)

Występujące na terenie Polski gatunki rodzaju *Dentaria* są wysokimi poliploidami i posiadają, w odniesieniu do podstawowej liczby chromosomów dla rodzaju *Dentaria* $x = 8$, wyłącznie euploidalne liczby chromosomów.

Somatyczna liczba chromosomów dla *D. enneaphyllos* $2n = 80$ jest podana po raz pierwszy. Poprzednio Mattick (in litt. 1949, cyt. wg Tischlera 1950) podaje dla tego gatunku aneuploidalną liczbę chromosomów $2n = 52-54$.

Gatunek *D. glandulosa* nie był dotychczas w ogóle badany kariologicznie.

Dla gatunku *D. bulbifera* znalezione somatyczną liczbę chromosomów $2n = 96$, zgodnie z poprzednimi wynikami badań Sch warzenbacha (1922) przeprowadzonymi na podziałach mejotycznych w komórkach macierzystych ziarn pyłku ($n = \text{ca. } 48$).

Praca została wykonana w Zakładzie Anatomii i Cytologii Roślin U. J. Kierownikowi Zakładu P. Prof. Dr M. Skalińskiej składam serdeczne podziękowanie za zainteresowanie, oraz cenne wskazówki udzielane mi w czasie prowadzenia badań.

Badania terenowe wykonane zostały z zasiłku Komitetu Badań Fizjograficznych Polskiej Akademii Umiejętności.

SUMMARY

In the course of the present work the following chromosome numbers of three species, representing the genus *Dentaria* L. in the flora of Poland have been determined:

D. enneaphyllos L. — $2n = 80$ (decaploid)

D. glandulosa W. K. — $2n = 48$ (hexaploid)

D. bulbifera L. — $2n = 96$ (duodecaploid)

The specimens investigated originated from a variety of natural habitats in Poland.

With regard to the basic number in the genus *Dentaria* $x = 8$, the above results show that these species are high polyploids with euploid numbers.

The number $2n = 80$ of *D. enneaphyllos* is reported here for the first time. A different number $2n = 52-54$ for this species has been previously reported by Mattick (in litt. 1949, cit. acc. to Tischer 1950). It would represent an aneuploid number.

The species *D. glandulosa* has not been cytologically investigated till now; the chromosome number $2n = 48$ is given here for the first time.

The number $2n = 96$ established for *D. bulbifera* on Polish material agrees with that previously determined by Schwarzenbach (1922) in P.M.C's ($n = \text{ca. } 48$) on material from Switzerland.

The present study has been carried out in the Institute of Plant Anatomy and Cytology of the Jagiellonian University of Kraków. The author is greatly indebted to Professor M. Skalińska, Head of Institute for valuable suggestions and never failing interest during the course of the work.

LITERATURA

- B a n a c h E. 1951. Studies in karyological differentiation of *Cardamine pratensis* L. in connection with ecology. Bull. de l'Acad. Pol. des Sc. et des Lettres. Classe de Sc. Mat. et Nat. Ser. B. 1950. 197—211.
- B a n a c h E. Dalsze badania cytologiczne nad gatunkami rodzaju *Cardamine* L. (w druku).
- F r i t s c h K. 1922. Ist *Cardamine bulbifera* als Abkömmling eines Bastardes aufzufassen. Berichte der Deutsch. Bot. Ges. 40, p. 193—196.
- G a m s H. 1922. Nocheinmal die Herkunft von *Cardamine bulbifera* (L.) Crantz und Bemerkungen über sonstige Halb und Ganzweisen. Berichte der Deutsch. Bot. Ges. 40, p. 362—367.
- G u s t a f s s o n A. 1946—1947. Apomixis in higher plants. Lund Univ. Arsskr. 43.
- G u s t a f s s o n A. 1948. Polyploidy, life-form and vegetative reproduction. Hereditas 34, p. 1—22.
- H e g i G. Illustrierte Flora von Mitteleuropa. 4.
- L e w i s D. 1943. Physiology of incompatibility in plants. III. Autopolyploids. Journ. of Gen. 45, p. 171—185.
- M a n t o n I. 1932. Introduction in the general cytology of the *Cruciferae*. Ann. Bot. 46, p. 509—556.
- S c h u l z O. E. 1903. Monographie der Gattung *Cardamine*. Englers Bot. Jahrb. 32, p. 280—623.
- S c h w a r z e n b a c h F. 1922. Untersuchungen über die Sterilität von *Cardamine bulbifera* (L.) Crantz unter der Annahme eines hybriden Ursprungs dieser Art. Flora 115, p. 393—514.
- S z a f e r W., K u l c z y ŋ s k i S., P a c z o s k i J., P a w ł o w s k i B. 1927. Flora polska 3.
- S z a f e r W. 1930. Element górski we florze niżu polskiego. P. A. U. Rozprawy Wydz. Matem.-Przyr. 69, seria 3, 29, p. 1—112.
- S z a f e r W. 1949. Zarys Geografii Roślin, Warszawa.
- T i s c h l e r G. 1950. Die Chromosomenzahlen der Gefässpflanzen Mitteleuropas. S. - Gravenhage.

Cine-Micrographic studies on mitosis in endosperm. I.

Badania kinematograficzne nad mitozą w endospermie. I.

by

A. BAJER

Laboratory of Plant Physiology. Jagellonian University. Kraków.

entered 15.XII.54

STRESZCZENIE — SUMMARY

W badaniach nad mechanizmem mitozy u roślin metoda kinematograficzna była użyta zaledwie kilkakrotnie. Wydaje się to dziwne, ponieważ metoda filmowania w zwolnionym tempie pozwala szczególnie dobrze analizować powolne ruchy i przemieszczenia, często nie do stwierdzenia przy bezpośredniej obserwacji. Autor zastosował tę metodę do badań nad mitozą w endospermie *Haemanthus katharinae*. Metoda badań używana w poprzednich pracach została udoskonalona i udało się przedłużyć czas życia komórek po wypreparowaniu, a także eksperymentalnie rozpląszczyć żywe wrzeciono mitotyczne prawie do grubości chromosomów, przy czym mitoza jest kontynuowana w tych warunkach od wczesnej profazy do telofazy, a następnie jąder spoczynkowych.

Celem pracy było stwierdzenie *kiedy rozpoczyna się rola kinetochorów w profazie*, zbadanie ruchu chromosomów w metakinezie i czynników, wpływających na ten ruch w czasie mitozy. Przy pomocy metody filmowej zostały wykonane obserwacje nad tworzeniem się wrzeciona i przemieszczaniem się chromosomów w profazie. Stwierdzono, że najpierw chromozomy są powoli przesuwane w kierunku środka wrzeciona i w wyniku tego procesu trwającego zazwyczaj ponad 30 min. tworzą one luźny kłębek w środku wrzeciona. Wtedy w wyniku krótkotrwałego procesu, nie trwającego dłużej jak 2—4 min. są silnie zciśnięte, przy czym siła powodująca ten proces działa od bieguna w kierunku równika. To stadium znaleziono ponadto u ponad 20 roślin badanych *in vivo*, a także na trwałych preparatach (u wszystkich badanych pod tym aspektem), najprawdopodobniej występuje więc u wszystkich roślin, nadano więc mu nazwę: *stadium kontrakcji mitotycznej*. Po zakończeniu tego krótkotrwałego stadium objawia się po raz pierwszy w mitozie kierująca rola kinetochoru i zapewne w tym stadium *następuje połączenie kinetochorów z wrzecionem*. Stadium kontrakcji jest drugim, oprócz początku anafazy, stadium, które można w mitozie ściśle umieścić w czasie. Jest to stadium zakończenia bardzo ważnego etapu mitozy: tworzenia wrzeciona. Obserwacje wykazały, że w metakinezie działają dwie siły: jedna skierowana od środka wrzeciona do biegunów i powodująca rozprostowywanie się ramion chromosomów, druga skierowana do równika i powodująca ruch kinetochorów w kierunku równika i tworzenie się

plytki metafazowej. Te dwie siły działają równocześnie, a pierwsza także jeszcze w metafazie. W czasie metakinezy obserwowano kilkakrotnie dziwny i trudny do wytłumaczenia fakt: ruch kinetochoru do bieguna. Odległość przebyta przez taki kinetochor jest mała i następnie kinetochor wędruje normalnie do płytki. Obserwacja metafazy i anafazy w rozplaszczonych komórkach wskazuje, że jakkolwiek istnieje silna tendencja do ustawienia kinetochorów w jednej linii (można przyjąć, że podział w rozplaszczonych komórkach jest w płaszczyźnie dwuwymiarowej, mamy więc do czynienia z linią nie zaś płaszczyzną), nie jest to sine qua non dla anafazy. Od ustawienia kinetochorów zależy kierunek ruchu chromosomów i biegunowość podziału i ustawienie kinetochorów w jednej linii powoduje podział dwubiegunowy, czyli normalny, w formie litery T lub Y trójbiegunowy, w formie krzyża, czterobiegunowy. To wskazuje, że kierunek ruchu chromosomów jest wynikiem orientacji kinetochorów. W kilku wypadkach obserwowano w komórkach rozplaszczonych zaburzenia przypominające typ *Sciara* wzg. zaburzenia typu meiotycznego mieszańców roślinnych. Wg. autora te zaburzenia obserwowane po raz pierwszy w mitozie roślin są wywołane najprawdopodobniej wyłącznie warunkami mechanicznymi. Są duże trudności w wytłumaczeniu powyższych zaburzeń na podstawie współczesnych hipotez mechanizmu mitozy, ponieważ wskazują one że 1. chromosom może być przesuwany razem z aparatem (mechanizmem), który go porusza i przy tym mechanizm ten nie zatracza zdolności działania, 2. mechanizm mitozy i zaburzeń meiotycznych jest ten sam.

INTRODUCTION

It is astonishing that if the literature on mitosis in plants is reviewed few papers describing cine-micrographic methods will be found. S c h n e i d e r's (1938) and B a r b e r's (1939) cine-micrographic studies in *Tradescantia* staminal hairs, which are unsuitable for such studies, are probably the most known. However cine-micrography has great advantages as is evident from studies on mitosis in animal tissues (M ö l l e n d o r f and O s t r o u c h 1939, H u g h e s and S w a n n 1948, H u g h e s 1950 and many others). Acceleration is of special importance in all studies on chromosome movements, especially in the analysis of such stages as late prophase, metakinesis and the formation of the metaphase plate. In these stages chromosome movements are most difficult to analyse exactly, and only a few attempts on fixed and living material have been reported. Numerous questions concerning these stages, as well as later ones, have not yet been answered. We know that the kinetochores play an important role in the normal course of mitosis and that their activity ends in late anaphase, but so far no information has been advanced on the beginning of their activity. Also the behaviour of chromosome arms has not been sufficiently studied. In consequence most hypotheses of mitosis deal mainly with anaphase and are exceptionally unsatisfactory in explaining the metaphase plate stabilisation (cf. review of S c h r a d e r 1953). The analysis of mitosis up to metaphase is one of the main aims of this paper and the following questions are mainly dealt with:

1. At what stage of mitosis does the activity of kinetochores begin, i. e. when do they begin to guide the chromosomes?
2. What are the movements of chromosomes in metakinesis?
3. Is the arrangement of the kinetochores in one plane necessary in metaphase?
4. What are the factors on which the direction of anaphase chromosome movements depends?

For experiments cells of normal dimensions, and flattened experimentally to approximately $6\ \mu$ were used.

MATERIAL AND METHODS

Endosperm of *Haemanthus katharinae* B a k. was used. Detailed notes on this material and the characteristic traits of normal and injured cells are to be found in my previous paper (B a j e r 1953 b).

All observations were made in a normal hanging drop on agar with glucose, in pure oxygen and a specially adopted chamber (Fig. 1).

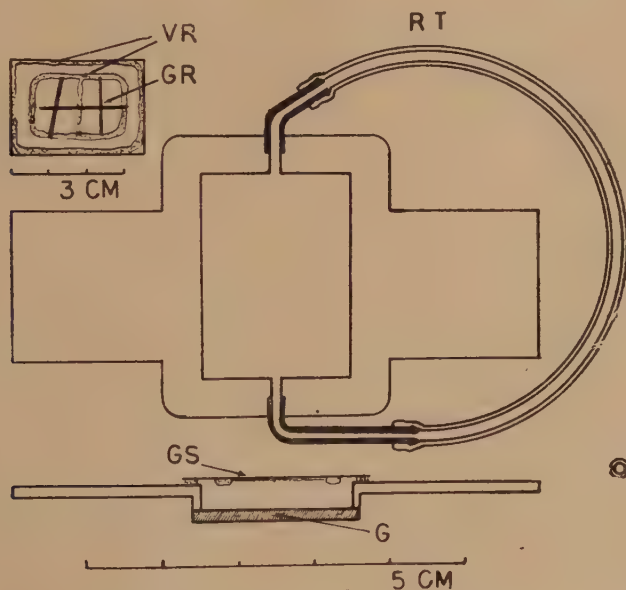


Fig. 1. Oxygen chamber. Upper left corner: glass square with two vaseline rectangles (VR), the inner one surrounds the liquid with endosperm cells, the outer one fixes the glass to the chamber. GR — glass rods. The glass square (upper left corner) and the chamber are not drawn to scale. In the lower drawing the way to fix the glass square (GS) to the chamber is shown. To blow out the air and to fill the chamber with oxygen the rubber tube (RT) is removed from one side and joined with the tube supplying oxygen, it is then replaced and shuts the chamber.

Technical notes. An embryo sac at the most suitable stage of development is chosen and after cutting off its upper part a small drop of completely transparent liquid is pressed out and put aside. This liquid contains no cells. The remaining contents of the sac are then gently pressed out on a cover slip (24×32 mm, No 0) covered beforehand with a 0.4% agar and 3.5% glucose solution. A vaseline ring is drawn on the glass round the agar, though it is more convenient to draw two vaseline rectangles (10×15 mm) before the agar is smeared. The layer of endosperm with the liquid surrounding it must be very thin. As the drops of liquid with endosperm are fairly large it is very convenient, in order to obtain uniformly thin layers, to place crosswise very thin (0.2 mm diameter) glass rods or a small quantity of glass wool in the pressed out drops. The cover slip is placed in a special chamber (Fig. 1) and about 20 ml of oxygen are blown through gently to remove the air. The lower glass of the chamber should to be covered on the inside with soap of the kind divers use to prevent condensation of water vapour. An inverted microscope is very convenient for observation, and if this type is not used, the chamber after the preparation of endosperm should be placed upside-down for about 15 mins to allow the cells to adhere to the agar. After some experience the preparations are so thin that an immersion lens can be used without difficulty. When this method is used, and when the preparations are well done, all uninjured, cells continue mitosis from early prophase to telophase, numerous cells enter mitosis after preparation and mitosis may be observed for 15 hrs or more. Also even 27 hrs after preparation normal mitosis (metaphase, anaphase and telophase) was observed. In experiments where this method is applied the thickness of the drops is of the greatest importance. In large drops the penetration of oxygen is not sufficient, and in consequence most cells die in prophase, though most mitoses in metakinesis are continued to telophase. Bullough (1952) reports that in animal tissues (mice) during prophase a free supply of oxygen is necessary. This is also the case in *Haemanthus*, though in the endosperm of numerous other plants (Bajer and Molè-Bajer 1954) as well as in some animal (rat) tissues (Roosen-Runge 1953) oxygen is not necessary during prophase.

Flattening of the spindles. When the drop is very thin numerous cells and spindles, especially those on the outer parts of the agar, flatten to approximately 6μ , whereas the normal diameter of the spindle is approximately 20μ and the thickness of metaphase chromosomes approximately 4μ . The speed at which the spindles are flattened is important which will be explained further (cf. observations). It is rather difficult to make preparations well; when too much liquid is placed on the glass square, cells do not flatten and when too little, most of them die quickly. When everything is done correctly, several flattened cells may be observed in each preparation. Numerous flattened cells continue mitosis from very early prophase and probably enter mitosis after preparation. Divisions can be observed for more than 20 hrs.

Zeiss phase contrast equipment and time lapse cine micrography was used. The rate of records was 6 per minute, thus the rate during projections (16 micrographies per second) was accelerated 160 times. A 16 mm cine camera was used. Cells were filmed from prophase to telophase, though in most cases one stage only was recorded, for instance: prophase to contraction stage, prophase to metakinesis, metaphase or anaphase. The different stages of mitosis in 56 filmed cells were analysed exactly, and special stress was laid on metakinesis. Also numerous cells were not filmed and measurements in these cells were made with the use of a drawing prism. Thus during this work about 500 chosen cells were observed very distinctly.

OBSERVATIONS

The course of normal mitosis in the endosperm of *Haemanthus* has been described previously (B a j e r 1953a, b). In the present paper only new facts and those not described sufficiently will be given.

Mitosis in flattened cells. Mitosis is continued in all observed cases in the cells which flatten slowly, i. e. during 1—2 hours or more after preparation. The thickness of such cells is approximately 6μ , while the thickness of metaphase chromosomes is approximately 4μ , and the diameter of a normal spindle is more than 20μ . The arrangement of chromosomes is similar to that observed by H u g h e s (1952) in tissue cultures treated with solutions of abnormal tonicity. However, it is necessary to add that the spindle is not destroyed, which H u g h e s (1952) observed to be the result of hypotonic solutions, though often the chromosome arrangements are similar to those described by H s u and P o m e r a t (1953 a, b).

It is astonishing that in such flattened spindles in *Haemanthus* mitosis is usually normal, and cell walls and resting nuclei are formed, sometimes even several hours after preparation. All mitotic stages, are similar to those in a normal spindle, though chromosomes lie often in one plane only and very seldom their arms overlap. Microphotos (Figs. 10, 11, 18) illustrate such cells. In my opinion disturbances of mitosis occurring in the flattened cells are caused by the thinness of the cells. They will be described more fully further on. The course of mitosis in flattened spindles, in spite of differences in mechanical conditions, may be compared to that in normal ones, though the different stages may be prolonged (cf. Table I). Normal mitosis in such cells will not be described here. It is difficult to decide whether the cytoplasm of such cells is quite normal. The structure of the cytoplasm, the presence of chondriosomes and the refraction coefficient indicate that it is normal, and on the contrary the presence of vacuoles and the formation of splits are symptoms of an abnormal state. This question cannot be solved satisfactorily at present.

Mitosis is usually interrupted in cells which are flattened too quickly. Usually such cells are thinner than 6μ , their refraction coefficient is much lower than in normal cells, their chromosomes swell, and neither the chromosomes nor the cytoplasm have any structure which is indicated by the vigorous Brownian movements. The decrease of the refraction coefficient is the best sign of the approaching death of a cell.

Notes on chromosome structure. Flattened cells are very suitable for studies of chromosome structure. As the chromosomes are large and are arranged in one layer there is often no difficulty in

TABLE I

Duration of different stages of mitosis in *Haemanthus katharinae* (in mins)

No of cell	Early prophase to contraction stage	Metakinesis and metaphase	Anaphase to max. separation of chromosomes
<i>Not flattened cells</i>			
593	210	85	40
595	240	60	40
597	180	70	45
681	180	40	30
682	240	45	40
683	240	70	40
684	300	90	45
685	300	65	40
686	270	100	35
687	360	70	30
<i>Flattened cells</i>			
888	180	85	65
889	180	100	35
890	180	130	55
892	240	75	50
893	180	100	60
894	240	120	60
900	210	100	35
901	180	80	40
930	240	130	40
932	180	60	40

observing distinctly the same chromosome from early prophase to late telophase. In early prophase the chromosome structure is much more distinct than later in this stage. From very early prophase the chromosome structure is at least double but the two chromatids are not closely united till metakinesis. Process of quick disjunction of chromatids in metaphase just before anaphase begins is clearly visible on an accelerated motion picture. The distinctly quadruple structure of chromosomes becomes visible in metakinesis. Prophase chromosomes have often „wooly out-

lines", i.e. lumpbrush appearance. This semblance of chromosomes has been described by numerous recent writers (Huskins 1948, Galinsky 1949, Mota 1952). My observations of kinetochores confirm Lima de Faria's (1949) suggestion that the kinetochore consists of two slightly separated granules. At the beginning of anaphase, or in late metaphase a similar structure of kinetochores can be observed (Fig. 19 B).

Spindle formation and mitotic contraction stage. In most endosperms studied till now (cf. Bajer and Molè-Bajer 1954, in press) in the first stage of spindle formation a clear usually structurless space appears round the prophase nucleus. This space, first described by Junger (1930) in fixed *Iris* endosperm cells, forms very slowly and motion pictures add no new data to what is already known. On the other hand changes in the arrangement of chromosomes are rather astonishing. In flattened and in normal cells the changes of chromosome arrangements are alike. As prophase continues the chromosomes, so far displaced regularly throughout the nucleus, are very slowly pressed together and pushed to the middle of the spindle. They form a regular *loose ball* in the centre of a clear space which in later stages develops into a mitotic spindle. The fact that direction of chromosome movement in this process lasting more than 30 minutes in-

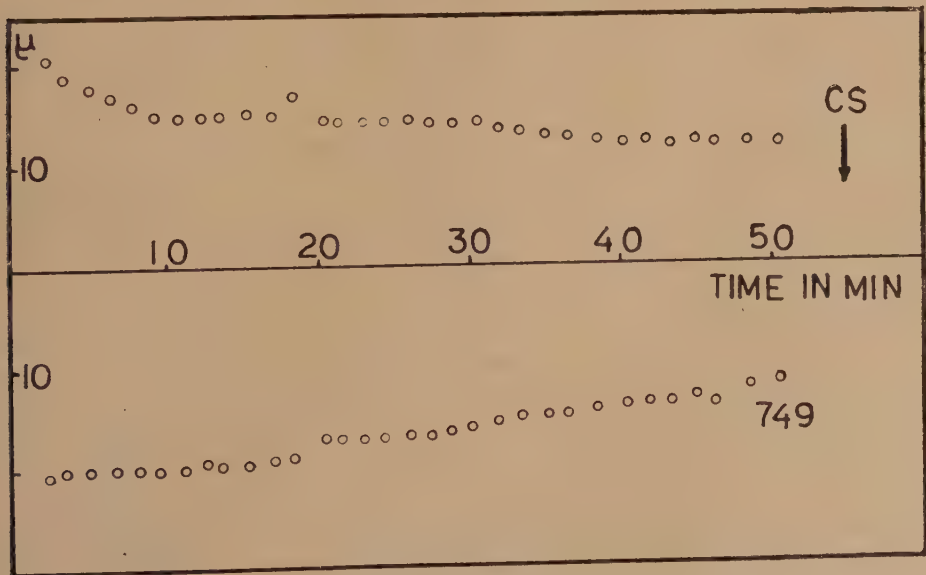


Fig. 2. Changes in space occupied by chromosomes in prophase. Diminishing of the diameter of the nucleus in prophase along the axis of the future spindle. Arrow (CS) marks beginning of contraction stage. The position of abscissa is chosen arbitrarily Cf. the curve in Fig. 3. Cell No. 769.

dicates that the acting forces are directed from the poles or from the two opposite sides of the prophase nucleus. Curves in Fig. 2 show how the diameter of the nucleus decreases. The nuclear wall disappears during this loose ball stage, but, as a rule there are still one or more nucleoli present. After the more or less regular ball is formed the motion picture shows no changes in the chromosome arrangement for at least 10—15 minutes. Then a curious stage lasting 2—3 minutes begins. During this stage the chromosomes are more or less strongly pressed from the direction of the spindle poles. One receives a *strong impression* from the motion picture that a *purely mechanical force* is then acting. After this the chromosome arms become all tangled and intertwined and in this state it is very difficult to trace the shape of all chromosomes. In flattened spindles this process also takes place, though not so distinctly. The curves in Fig. 3 and Fig. 4 C best illustrate the stage just described. It usually lasts less than 4 minutes, and is difficult to analyse with methods other than cine micrography. This stage has been observed in all cells studied in prophase, though not in all the cells is the space occupied by chromosomes contracted in the same extents. As I have found this stage in nume-

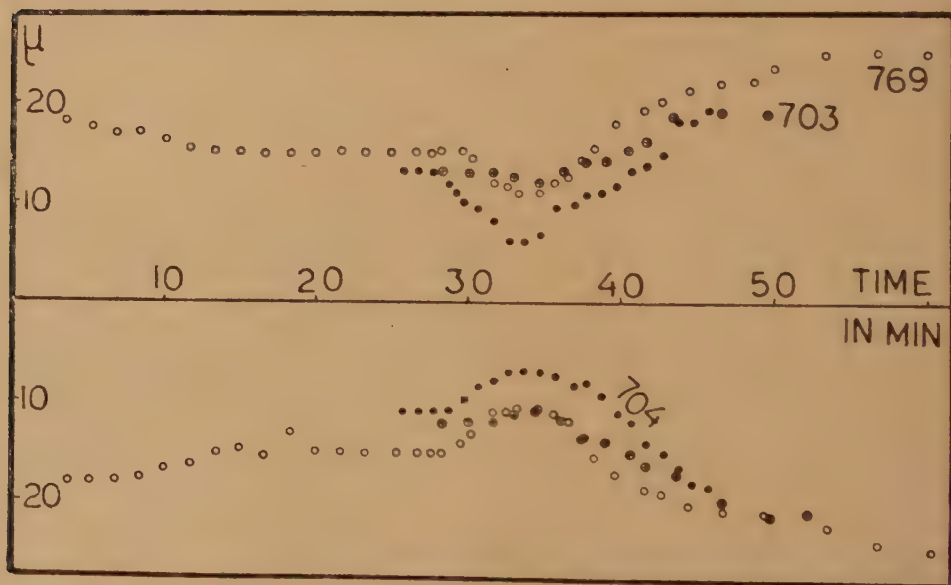


Fig. 3. Contraction stage. The changes of nucleus diameter in contraction stage and beginning of metakinesis. The differences of space occupied by chromosomes along the long axis of the future spindle. In cell No 703 the shrinking of the nucleus is smallest of all observed. During the contraction stage the shrinking of the nucleus takes place, the diameter of the nucleus increases when chromosome arms move to the poles. In cell No 769 the shrinking of the nucleus in contraction stage is considerable. The position of abscissa is chosen arbitrarily.

rous plants (cf. discussion), and as it is probably to be found in most plants I have called it the *mitotic contraction stage*.

Metakinesis and metaphase. Immediately after the chromosomes are pushed to the middle of the spindle two contrary for-

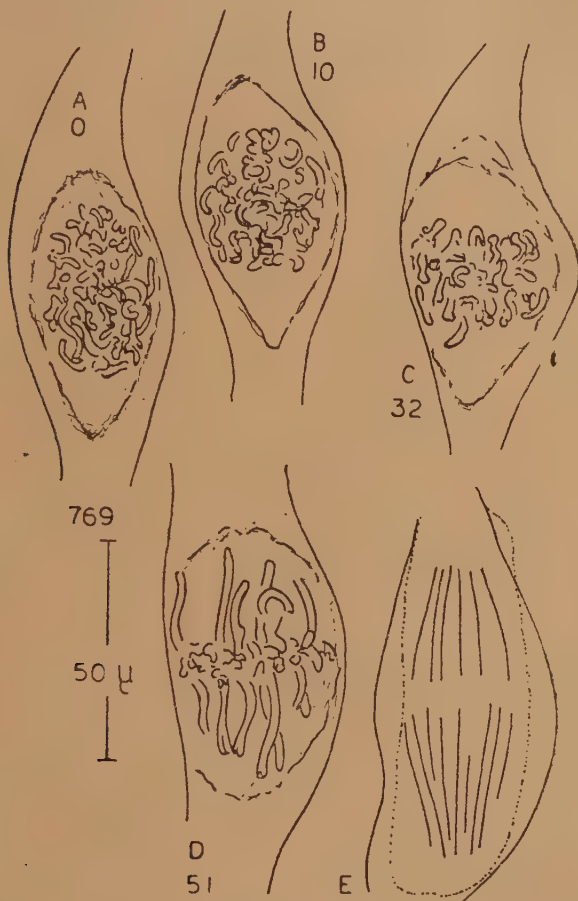


Fig 4. Changes in chromosome arrangement and lines traced by kinetochores in anaphase. A — prophase chromosomes spread evenly throughout the nucleus, C — contraction stage, D — early metaphase, E — lines of kinetochores movement in anaphase, the outlines of the cell in late anaphase are dotted in. Drawing are done from cine micrographs. Numbers — time in mins.

ces begin to act simultaneously one directed to the poles and the other to the middle of the spindle (cf. discussion). Metakinesis begins and chromosome arms — in large *Haemaphysalis* chromosomes they are about 20 μ long — bent irregularly in the contraction stage, begin to stretch out toward the poles, while the kinetochores move simultaneously toward the

middle of the spindle. These are the most characteristic features of metakinesis. In all not flattened cells the ends of chromosome arms move at the rate of 1—1,4 μ per minute (cf. Table II). The curves in Figs. 3 and 5 illustrate the course of metakinesis. The straightening of chromosome arms lasts usually not more than 20 minutes. While stretching out the arms are often waved to and fro and some resemble slowly moving fish or a rope placed in a stream of water. This is also observed in metaphase

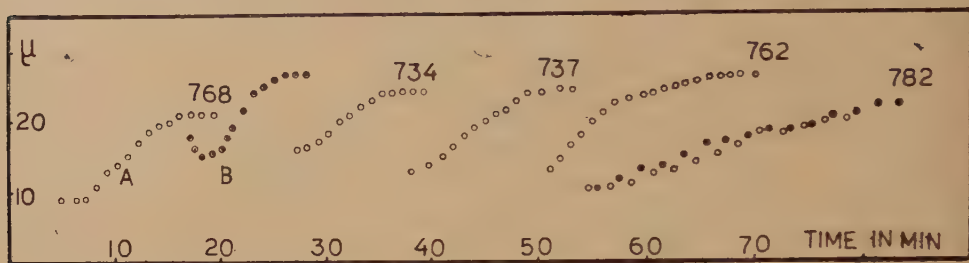


Fig. 5. Movements of chromosome arm ends in metakinesis in different cells (Nos of cells are given). In cell No 768 the movements of the ends of two chromosomes was marked, measurements on the end of chromosome B began before contraction stage. The differences in the rapidity of chromosome ends are small. In cell No 782 the movement marked for two chromosome ends, was remarkably slow. The position of abscissa is chosen arbitrarily.

and in flattened cells. Ultimately the chromosomes have a tendency to arrange themselves parallelly to the spindle length (Östergren's 1949 factor δ).

In very rare cases single kinetochores moving toward the poles may be seen. It is very difficult to distinguish the bent ends of chromosome arms from small chromosomes, as in *Haemanthus* the set is composed of both long and short chromosomes. This fact has made it necessary to eliminate all observations doubtful in this respect, but even so at least 4 cases are certain. Microphotos (Fig. 17) show a chromosome with its kinetochore directed to the pole when moving towards it and away from it when it returns to the plate. The curve of the movement of this chromosome and another one in a flattened cell are given in Fig. 6. The movement is jerky which means that the acting forces are not in equilibrium and the fact that the chromosome changes its position so that its arms are parallel to the long spindle axis and they are waving indicates that the chromosome is subject to forces, one directed to the pole and the other directed to the plate. Some observations seem to indicate that though some chromosomes are distinctly pulled toward the poles, to most of them a sudden jerk toward the pole is given. This, however, is not absolutely proved.

TABLE II
Comparison of the velocities in the mitotic spindle μ /min

		Velocities in μ /min												mean of mean and mean of max				
Metakinesis	movement to the poles	kinetochores	mean	0,36*	0,35*	0,32	0,28							—				
		max	1,0	—	0,4	0,6							—					
	ends of chro- mosome arms	mean	2	1,6	1,2	1,2	1,1	1,1	1	0,9	0,9	0,9	0,9	0,8	0,7	0,7	0,5	0,4
		max	2	2,5	1,3	2,5	1,5	2,0	1,1	1,1	1,4	1,1	1,0	1,0	1,2	1,7	1,6	1,0
	movement of kine- tochores to equator	mean	0,6	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2							0,3			
	max	1,1	0,5	0,3	0,2	0,2							0,4					
Anaphase	movement of ki- netochores to the poles	mean	0,9	0,9	0,8	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7			0,7				
		max	1,0	1,0	0,8	1,2	0,8	1,0	1,0	1,0	1,0			0,9				
Prophase	formation of loose ball	mean	0,3	0,2	0,2	0,2	0,1							0,2				
		max	0,4	0,5	0,7	0,2	0,2							0,4				
Contraction stage	movement to the equator	mean	2,5	1,7	1,7	1,0	1,0	1,0	0,8	0,7			1,3					
		max	2,5	1,8	1,7	1,8	1,5	1,0	1,3	0,7			1,4					
Anaphase	elongation of the spindle i. e. pushing body action	mean	0,5	0,5	0,4	0,4	0,3	0,3			0,4		0,4					
		max	0,4	0,7	0,4	0,4	1,0	0,3					0,6					

* Movement in flattened cells

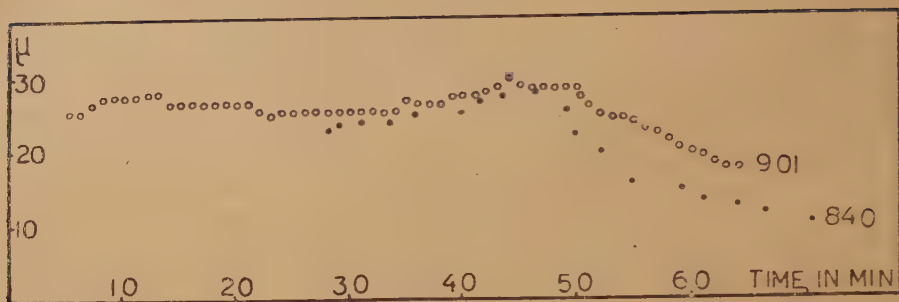


Fig 6. Movement of kinetochore to the pole and its return to the equator in metakinesis. The poleward movement is slow jerky and interrupted. Movement to the equator resembles the movement in cell No 850. The position of abscissa is chosen arbitrarily.

As a result of the contraction stage and the poleward movement of chromosome arms most kinetochores are directed to the equator of the cell. They begin to *move toward the equator at the same time as the chromosome arms stretch out*. It is remarkable that the kinetochores move towards the plate at the rate of $1/3$ — $1/4$ of the rapidity of chromosome ends to the pole (cf. Fig. 7 and Table II).

At metaphase in normal spindles the kinetochores lie in one plane, while in flattened spindles this is often not the case. When the spindles are very thin ($6\ \mu$) the kinetochores may be either arranged in two or more rows or from a half-circle or a Y (Figs. 10, 11 and 19 respectively). When the kinetochores are not arranged in one line in metaphase, the metaphase lasts much longer and numerous attempts to form a normal metaphase plate are to be observed. It is the lack of space, i. e. solely *mecha-*

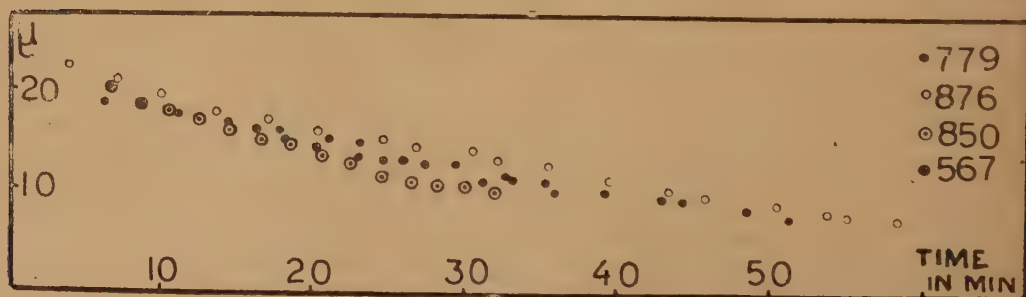


Fig. 7. Movements of kinetochores to the equator. Note the very slow movement in this stage in comparison to anaphase. The velocity of kinetochores differed slightly in different cases, the quickest kinetochores is seen in cell No 850 which resembles that in Fig. 6. The position of abscissa is chosen arbitrarily.

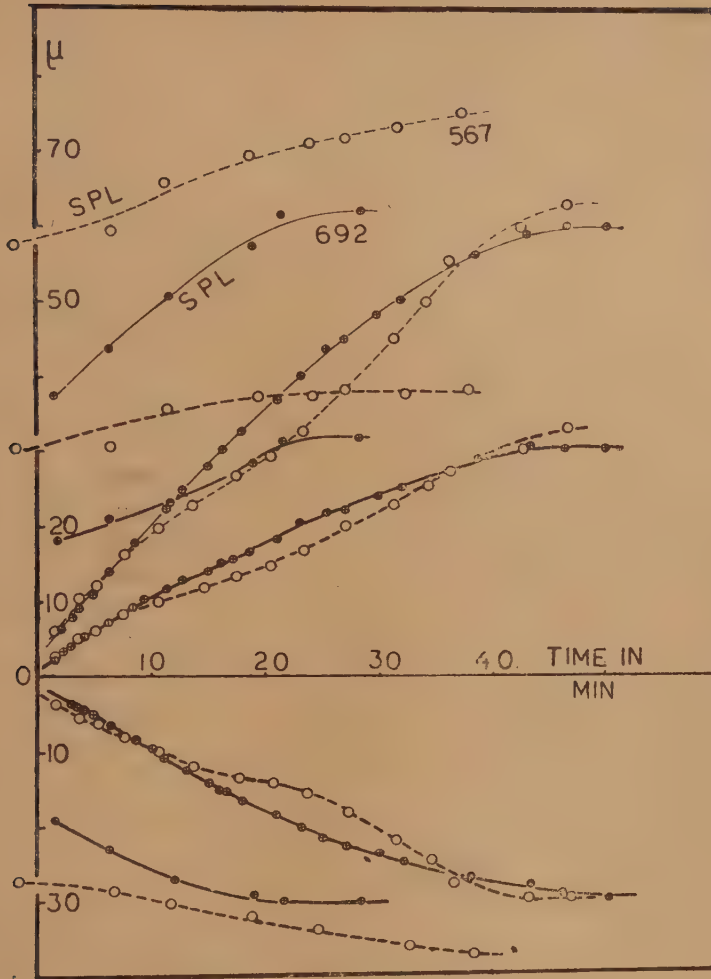


Fig. 8. Curves for the separation of daughter chromosomes in anaphase and spindle elongation (SPL): Curves for two chromosomes and the resultant ones. Note the changes in the course of the resultant curves.

nical conditions which prevent the kinetochores arranging themselves in a line. Observations in cells of different thickness confirm this statement. When the metaphase plate is Y shaped three polar anaphase results, and when it is shaped in a cross four polar anaphase follows. The different arrangement of chromosomes in the plate of flattened cells depends on how quickly and to what thickness cells are flattened. The flattening of cells may begin 2—5 or more hours before metaphase, when the cells are still in prophase or in later stages. Multipolar mitoses are

much more frequent when flattening begins in prophase than when it begins in metakinesis, though in the first case normal two polar mitoses also occur. However, in all cases multipolar mitoses are rare.

Motion pictures show also that in metaphase the spindles shorten and simultaneously their thickness increases. In different cases the shortening of the spindle length is not the same. The spindles are shortest at the beginning of anaphase. Fig. 17 M — O illustrate this process. Flattened cells have not been measured in this respect.

A n a p h a s e. In this stage my attention has been specially directed to the lines the moving kinetochores trace and to the pushing body action. The lines traced by the kinetochores are given in Figs. 4, 12 and 13. From this point of view the analysis of normal and flattened cells has been undertaken. The purpose of such an analysis has been to establish whether the lines kinetochores trace are directed to one point or rather to an area. It is evident that as anaphase continues the chromosomes become more and more crowded. At the beginning of anaphase the kinetochores move along parallel lines, then they deviate toward the poles. The deviations in direction of the chromosomes from the parallels in not flattened cells become well visible when we prolong the lines. The prolonged lines of kinetochore movements often cut outside the cell. At late anaphase chromosome ways again become parallel. In this late stage the movement of chromosomes is caused by the pushing body action.

Observations made during the present work on changes in the shape of the spindle during metaphase and anaphase support the results described in the previous papers (B a j e r 1953b, c).

Pushing body action is best illustrated by Fig. 9. Cine micrographic analysis shows that not flattened cells are usually shoved in one direction as a result of pushing body action. As a result curves illustrating the movements of two chromosome groups are very seldom symmetrical. The two chromosome groups usually move symmetrically when the spindle is surrounded by a sufficiently large amount of cytoplasm. When the Brownian movements are recorded on motion film it is seen that in the pushing body small particles usually oscillate irregularly. In some cases however, the particles move in one direction only i. e. to one of the poles, and follow the movement of the chromosomes. The particles during their movement to the pole do not oscillate to the sides.

In flattened cells the large area of the touching plane with which cells are fixed to the agar offers a strong resistance to the pushing body action mainly at the poles, and prevents the elongation of the spindle. In consequence the pushing body action is directed to the part of the spindle which offers least resistance. It may act in one or two directions

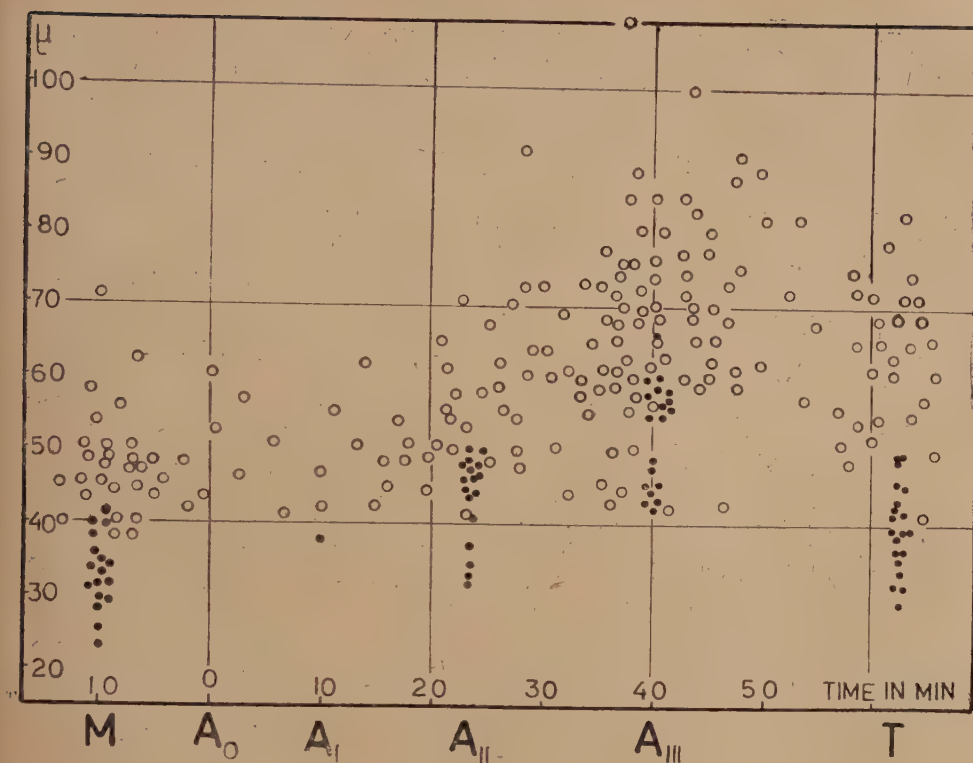


Fig. 9. Changes in the spindle length in anaphase — pushing body action. Only one measurement was made in each regularly dividing cell (white circles), cells not flattened. M — metaphase, A_0 — anaphase beginning, A_I , A_{II} , A_{III} — early middle and late anaphase respectively. Beginning of anaphase considered as 0 time. Black circles: measurements in fixed Carnoy fluid cells, imbedded in paraffine and cut in the usual manner. Measurements made in unstained cells with the aid of phase contrast illumination. As the time in these cells could not be measured, the cells have been ranged in time after comparison with living cells. All fixed cells are from old endosperm while the living ones are, in most cases, young. The age of the cells and contraction due to the action of fixative fluid have shortened the distances.

and causes the bending of long chromosome arms. The arms of daughter chromosome may not be bent simultaneously.

Observations on anaphase and telophase in multipolar mitosis throw some light on primary cell wall formation. It has been found that the cell wall originates in all places where chromosomes have passed independently from the number of chromosome groups. In the first stages the primary cell wall is similar to the arrangement of kinetochores in the metaphase plate. Then gradually the cell wall grows between the daughter nuclei.



Figs. 10—11. Flattened cells. Fig. 10. A — late prophase just before metakinesis, B — metakinesis, C — metaphase, kinetochores are arranged not in one plane but in several layers one on the other, D — anaphase, E — resting nuclei. B — 23,5 mins after A, C — 50 mins after A, D — 2 hrs after A, E — 11 hrs after A. Cell No 888



Figs. 10-11. Flattened cells. Fig. 11. A — metaphase with kinetochores arranged in half circle, nevertheless anaphase is normal, C — beginning of cell wall formation D — resting nuclei, B — 52,5 mins after A, C — 1 hr 17,5 mins after A, D — 10 hrs after A. Cell No 889.

During the present investigations also the action of hyper- and hypotonic solutions has been observed. The results do not fully support Bělař's (1929) observations. Hypertonic solutions cause a prolongation of the anaphase separation i. e. pushing body action. In hypotonic solutions the pushing body action is usually directed not to poles but to the sides of the spindle and chromosome arm also stretch out sideways. It is not known to what extent the stretching of chromosome arms is caused by the swelling of the spindle, which results from the hypotony of the solutions. Strong hypertony causes an increase of the refraction coefficient, plasmolysis of the cell, and stops the course of mitosis. High concentrations cause the death of the cell. Hypotonic solutions lessen the refraction coefficient of the cytoplasm, destroying its structure and diminish its viscosity coefficient which is shown by the more vigorous Brownian movements in strong hydrated cytoplasm.



Fig. 12. Lines of kinetochores movement in normal (No 827) and flattened (No 936) cells. In cell No 827 the outlines of the spindle and of the cell in metaphase and late anaphase are drawn in continuous and dotted lines respectively. When the lines traced by kinetochores are prolonged they interset in metaphase and in anaphase outside the cell, this is also the case in flattened cells.

Disturbances in mitosis. Only disturbances in chromosome movements will be considered. Disturbances in the formation of the metaphase plate and the resulting multipolar mitosis have already been described. Now two other types of disturbances will be reported.

a. **Mitosis resembling the *Sciara* type.** Anaphase resembling that of *Sciara* and *Micromalthus* meiosis described by Metz (1926) and Scott (1936) may be found in quickly flattened cells of *Haemanthus* endosperm. Usually such cells die in telophase but sometimes resting nuclei are found. Figs. 14 and 21 represent such anaphases. When in these figures the lines traced by the kinetochores are prolonged, it becomes visible that there is one pole only. To this one pole

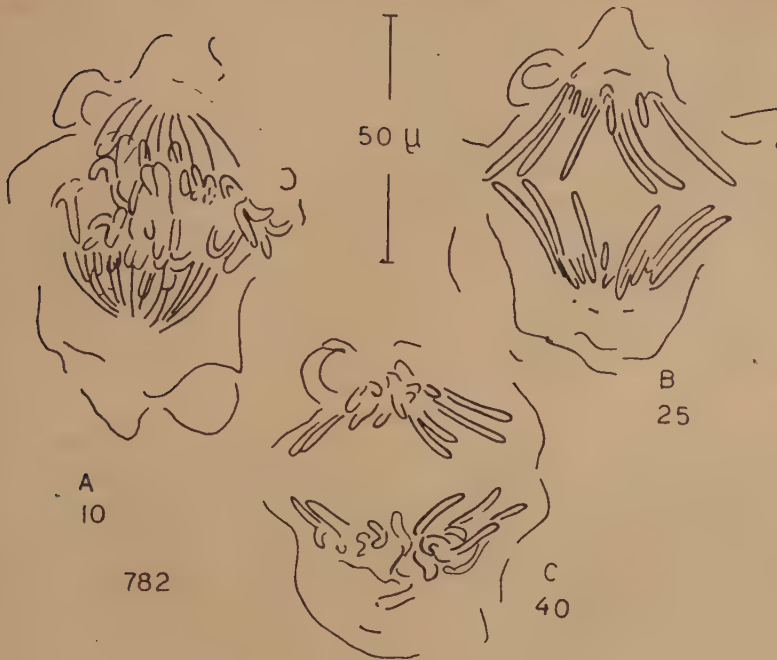


Fig. 13. Action of pushing body in flattened cell and lines traced by kinetochores. Time is measured in mins from the beginning of anaphase and is given in the Fig. In B and C it can be seen that pushing body acts to the sides of the cell. Drawings from cine micrographs.

moves one group of the chromosomes. The second group of daughter chromosomes moves on lines radiating from this pole. It is most astonishing that numerous chromosomes move with the arms first and the kinetochores follow them, and not the other way round which would be normal. Such mitoses are very rare and their appearance is most amazing. On Fig. 21 chromosome arms bent after they have been forced into the cytoplasm can be seen. The appearance and shape of chromosome indicate that they are under the influence of a force acting in the same direction as their movement. These disturbances are found in flattened cells of different thickness. The cell in Fig. 21 is less than $6\ \mu$ thick, and the one in Fig. 14 more than $7\ \mu$.

b. Disturbances of the meiotic types. Fig. 20 illustrates a cell with disturbances resembling the disturbances reported in numerous plant hybrids. The thickness of this cell is less than $5\ \mu$ and its chromosomes are placed in a single layer. In anaphase chromosomes move toward the poles independently of one another and their movement is not synchronised. The movement of these single chromosomes is remarkably slow, and its rapidity may be 10 times slower than in normal

anaphase. From two daughter chromosomes only one may move at a time, and while one moves the other remains motionless. In Fig. 20 chromosomes marked with an arrow behave very strangely: two daughter chromosomes are pushed to one of the poles by a third moving one, and during the process of the pushing to the poles of two daughter chromosomes they separate. The process of this pushing is different from pushing body action. The separation of these daughter chromosomes is the consequence of the action of forces acting on their kinetochores and pulling them to the poles. This is shown not only by the increasing distances between the daughter kinetochores but also by changes in the shape of all three chromosomes. Disturbances of this kind are found very seldom and only in very thin cells.

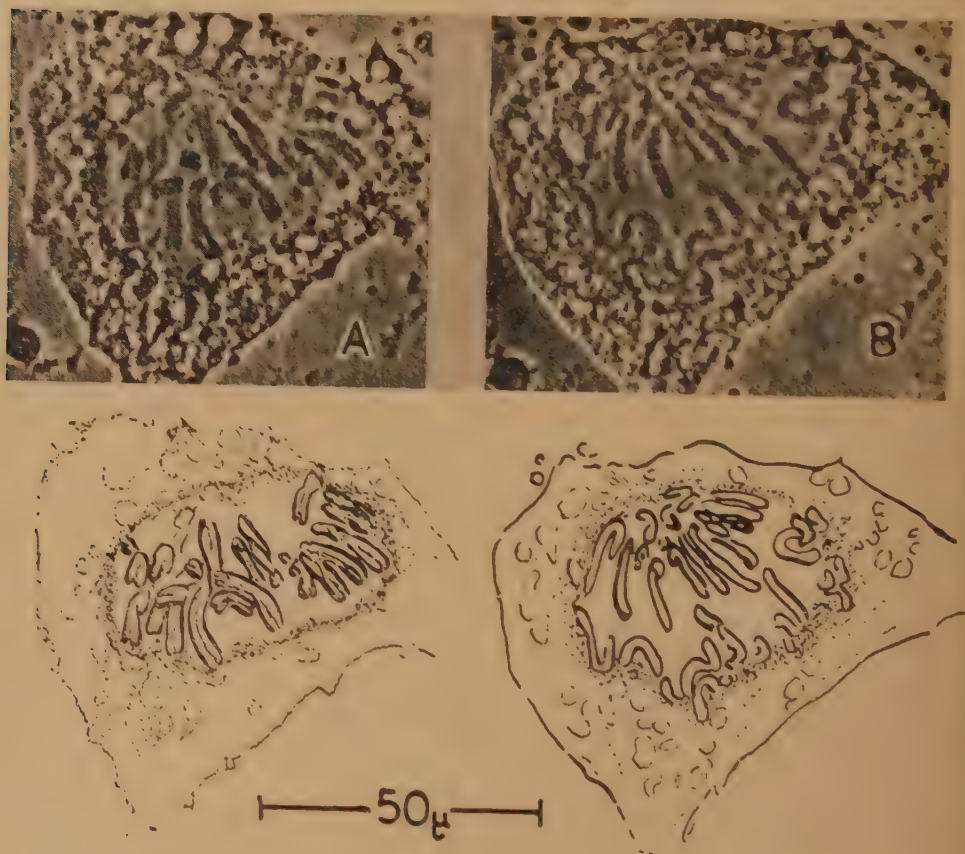


Fig. 14. Mitosis resembling that in *Sciara*, i. e. monocentric mitosis. A — metaphase, B — anaphase. The lines of kinetochore movement intersect in the upper pole and the lower pole seems to be dispersed or not existent. Some chromosomes move with arms first. B — 18 mins after A. Cell No 902.

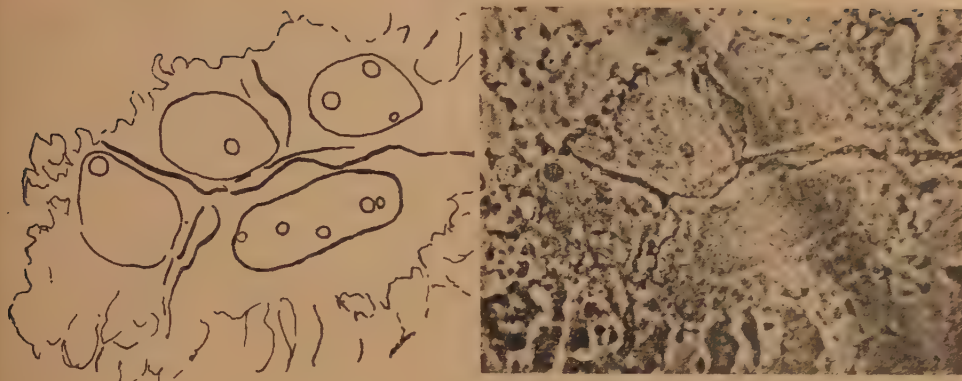


Fig. 15. Four daughter nuclei in flattened cell after, either four polar mitosis, or mitosis resembling that in *Sciara*. 10 hrs after preparation.

DISCUSSION

The facts observed in the course of the present work will now be compared with the reports of other writers and confronted with the current hypotheses of mitosis mechanism. The author wishes to stress, however, that it is not his aim to support or criticise any of the mitosis hypothesis, but to point out some difficulties in explaining the chromosome movement.

In view of the astonishing fact that mitosis is continued in the strange conditions in flattened cells this method appears to be of importance for future studies on the understanding of the mechanism of mitosis. The question should be here raised whether the disturbances previously described and found sometimes in flattened cells — i. e. multi- or monopolar mitosis or disturbances resembling those in meiosis — are caused by pathological changes on the submicroscopic level or by the strange purely mechanical conditions. In flattened cells mitosis may be almost considered as if it were taking place in one plane, that is in two dimensions only, and observations show that disturbances depend on how quickly and how much the cells are flattened. For those reasons it is the author's opinion that disturbances in flattened cells involve no new mechanism and are caused by mechanical conditions.

Stage of mitotic contraction. From the data obtained the existence of the contraction stage becomes evident. Observations on this stage and on the beginning of metakinesis show that *the guiding role of kinetochores in chromosome movements during mitosis first manifests itself in the stage of mitotic contraction. In this stage the interaction of the spindle and chromosomes begins.*

For some unknown reason the contraction stage and its important role during mitosis is usually overlooked by most writers. However, both S c h a e d e (1929 a, b) and S c h n e i d e r (1938) describe it, but not quite correctly. S c h a e d e (1929 a) writes: „Ist die Spindel vollkommen fertig, so besuchen sich die Chromosomen nach ihren Zentrum, und hier einen rundlichen Knäuel zu bilden, der recht dicht sein kann. Während dieser Wanderung behält die Gesamtheit der Chromosomen mit nur geringen Abweichungen die Form des rundlichen Körpers, den sie bei Auflösung der Kernmembran bilden, und der demnach nur in Umfang abzunehmen, indem die Chromosomen sich einander nähren“. The last part of this statement is not correct, and it seems that Schaeede noticed only the slow shrinking of the nucleus and the formation of a „loose ball“ and not the contraction stage. Schneider (1938) describes this stage more fully in his paper on cine micrographic studies in *Tradescantia* staminal hairs. He reports that at the beginning of metakinesis..., ein deutlich erkennbares, eigenartig rasches Zuzammenzucken des ganzen Kernes“ may be observed and „Verkleinerung des Kernes nur einer scheinbaren Kontraktion entspricht“. Also W a d a (1950) on the basis of direct observations in *Tradescantia* cells writes that ...,at the time of spindle formation may generate forces or pressures in the direction from the pole to the equator of the nucleus. Therefore all the chromosomes... are pushed toward the equator“. The methods used by both S c h a e d e (1929 a, b) and W a d a (1950) made it impossible to distinguish the separate nature of the two processes: 1. the slow formation of the loose chromosome ball, 2. the contraction stage lasting a few minutes only. It is also probable that this stage is not characteristic in staminal hairs, though the author found it in root tips of: *Tradescantia*, *Allium*, *Vicia*, *Agrostemma*, *Lupinus* and some other material. The contraction stage was also noticed in *in vivo* studies on *Hymenophyllum* (Bajer and Molè - Bajer 1953) and in the endosperm of more than 15 genera (Bajer and Molè - Bajer 1954). It seem likely that the contraction stage is to be found in most, if not in all, plants.

M e t a k i n e s i s. Three processes will be discussed: 1. the poleward movement of chromosome arm ends, 2. the movement of kinetochores to the equator, 3. the movement of kinetochores to the poles.

1. To gain some knowledge as to the nature of the forces causing the poleward movement of the chromosome arms, curves for the movement of long chromosome arm ends have been plotted and exact measurements have been made. It appeared that the process of stretching of all analysed chromosome arms is similar in several respects: a) chromosome ends in the first part of their way move with a constant mean rapidity when the distance is sufficiently long, b) they stretch as much as possible,

and c) the way this movement stops. The above suggests the following conclusion: *the poleward force causing the poleward movement of chromosome arm ends acts with equal strength throughout all the movement.* This force is nothing else than the γ and the δ factors of Östergren (1949) i. e. „the tendency of spindle to arrange rod shape bodies in parallel to spindle fibers“, and the „tendency of the spindle to extrude bodies out of it“. This force is also active in metaphase and, which is strange, in flattened cells also. Changes in chromosome structure cannot alone explain the straightening of the chromosome arms, though these changes may play some part in these processes. The elimination of persisting nucleoli in metaphase (Yamaha and Sinoto 1925, Zircle 1928, Schaeede 1929 b and others) is the consequence of its action. The nature of this force is not known though attempts to explain it have been made. It has sometimes been explained that the elimination of nucleoli is the consequence of currents inside the spindle (above cited authors) or the growing of the spindle fibres to the poles (Bajer 1953 c). The conclusion drawn seems to be in agreement with these two hypotheses. Some other explanations of the poleward force, such as those referring the action of the force to changes in chromosome structure, cannot alone explain such movement.

2. The observations here reported support Schaeede's (1929 a) statement that in metakinesis two forces exist: *one acting to the poles, the other to the equator of the spindle. These two forces act simultaneously.* The second force causes the movement of kinetochores to the equator. The characteristic feature of this movement is that it is very slow. It is approximately twice as slow as the anaphase movement. This suggests that the effective force which causes the movement is in metakinesis of the same order as in anaphase (in metakinesis chromosomes are twice as big as in anaphase), when the pushing body does not act.

3. The poleward movement of kinetochores is extremely rare. Curves plotted for this movement seem to indicate that the kinetochores are violently pulled in two opposite directions, which suggests that the equilibrium of the acting forces is disturbed. Similar pulls are reported by Hughes and Swann (1948) in metaphase of chick tissue culture, and have been observed by the present author in his cinematographic studies of abnormal cells of *Iris* endosperm. It is however, necessary to stress that cine-micrographic studies on mitosis in numerous endosperms with chromosomes of different dimensions (*Asparagus*, *Iris*, *Leucoium*) do not show the oscillations of individual chromosomes in metaphase of the normal cells. In the poleward movement observed in metakinesis of *Haemanthus* the kinetochore seems to play an important role. The mechanism causing this movement is probably different from that which

causes the stretching out of chromosome arms as their rapidities and durations differ.

The movement of kinetochores to the poles at metakinesis of meiosis is well known in some animals as the pre-metaphase stretch described by Hughes-Schrader (1943, 1947). However though the mechanism of the poleward movements of kinetochores in plants and animals may be similar, the mechanism of the backward movements is different, because in animals it is caused by changes in chromosome structure (chromosome contraction).

Metaphase plate. In metaphase the kinetochores tend or arrange themselves in one plane even in the difficult mechanical conditions. However this is not necessary for the normal course of anaphase, which is shown by observations in flattened cells. These facts support Östergren's (1951) statement: "...that an equatorial arrangement is by no means in itself a necessary condition that must be fulfilled if mitosis (meiosis) shall perform its primary purpose of distributing the daughter (partner) chromosomes". Observations on metaphases in flattened cells with different kinetochore arrangements allow one to draw the following conclusion: *two, three, or more polar mitosis is dependent on the shape of the metaphase plate i. e. on the arrangement of kinetochores in the plate which may be in one line, Y-, or cross shaped.* This indicates that the arrangement (orientation) of kinetochores governs the regularity of mitosis, and that chromosomes move in the direction in which their kinetochores are directed. This indicates that the process of kinetochore orientation is most important in mitosis. The importance of analogic process in meiosis was pointed out by Östergren (1951). Schrader's (1935) observations on the behaviour of long chromosomes lead him to assume that the kinetochores participate in the formation of the spindle, which seems to support the conclusions drawn here from observations of *Haemanthus*.

Anaphase. The asymmetrical movement of daughter chromosome groups in anaphase and its causes have been described previously (Bajer and Molè-Bajer 1954). Now the following problems will be discussed:

1. the existence of the centres on spindle poles and *Sciara* like disturbances,
 2. disturbances in anaphase resembling meiosis in hybrids,
 3. pushing body action.
1. It is generally accepted that in normal mitosis in animals the lines of chromosome movement intersect at one point, at the spindle pole. This problem is much more complicated in plants. In normal not flattened cells the prolonged lines of chromosome movement (before the pushing

body causes the parallel movement of chromosomes) intersect usually at the spindle pole. On the other hand lines traced by chromosomes in flattened cells may be more or less dispersed though also in these cells they are usually slightly convergent. This indicates that there is a tendency for the lines of forces causing the chromosome movements to converge at the poles or at one pole, which in some cases may even lead to mitosis similar to that in *Sciara* (monocentric mitosis). In this last case, however, the influence of the pushing body is important. In mitosis of the *Sciara* type it seems that either one of the poles is missing or it is very dispersed, while the existence of the opposite pole is obvious. *The movement of chromosomes with the kinetochores following the arms is in Haemanthus the result of mechanical conditions.* Sax and O'Mara (1941) write that in pollen tubes the chromosome arms often precede the kinetochores, and they conclude that such movement, though similar to *Sciara*, is caused by conditions of space. Observations on flattened cells of *Haemanthus* also indicate that it is not necessary to assume that a new mechanism is involved in such movements i. e. autonomous movement of chromosomes.

2. The chromosomes move to the poles separately and their movements are not synchronised because the cell is very thin (mechanical conditions). It may be concluded that: *each anaphase chromosome has its own movement mechanism which may act independently of the others and that a chromosome with its moving mechanism may be shoved or pushed about in the spindle.* If it is correct to assume that in flattened cells there is no new mechanism and the mechanism of *Sciara* like division and meiosis like disturbances in *Taemanthus* is the same as in *Sciara*, it becomes very difficult to explain the observed facts on the basis of traction fibres, their fixation to the poles and so on, though it is evident that the force causing the chromosome movement in anaphase is attached to the kinetochore.

3. The present observations on the action of the pushing body are not in full agreement with Bělař's (1929) studies, though they support a number of his results (cf. text).

The bending of chromosome arms in one direction as seen in photographic records and the action of hypotonic solutions are the best proof of the pushing body action in flattened cells and it indicates that it acts in the direction of the least resistance. In flattened spindles the curving of daughter chromosome arms is a result of the pushing body action in flattened cells and it indicates that it acts in the direction of the least resistance. In flattened spindles the curving of daughter chromosome arms as a result of the pushing body action, is not simultaneous, it may begin

from the centre of the pushing body and sometimes the ends of the daughter chromosome arms do not touch at all, which does not support the hypothesis according to which interzonal connections elongate and are the nature of a pushing body action (Carlson 1952). The curving of chromosome arms is also reported by Heitz (1943) in root tips of different plants and is explained by him as the consequence of pushing body action.

The direction of Brownian movements in the pushing body changes constantly but some rare particles move without oscillations in the same direction as the anaphase chromosomes. This suggests the existence of currents or the wave of submicroscopical changes, i. e. changes in hydration (Wasserman 1929, cited from Schrader 1953). However, such particles are very rare and have not been observed in detailed studies on Brownian movements in the mitotic spindle (Bajer 1953 a). The possibility that there are currents in the spindle was announced long ago by Speck (according to Schrader 1953) and confirmed by Schaeede (1929 a, b), Schneider (1938, 1939) and some other writers. Lately, Pfeifer (1952) has called attention to this hypothesis and its significance for the understanding of the mechanism of mitosis. He writes that: "...eine Erklärung der Chromosomenbewegung durch Strömungsvorgänge aus heuristischen Gründen mehr als andere Deutungen beachtenswert" is. However, important arguments have been advanced against such a hypothesis. So far no convincing data proving the existence of currents in the spindle have been advanced and this hypothesis has not been generally accepted.

Although the facts reported by numerous writers support some of the hypotheses of mitosis, it is the opinion of the author that the experimental data on the mechanism of mitosis are at present not sufficient either to prove conclusively any of the now existent hypotheses of mitosis, or to build a new one.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author wishes to express his very sincere gratitude to Prof. Dr W. Szafer Director of the Botanical Garden for plant material and to Prof. Dr H. Niewodniczański for the cine camera they have made available.

SUMMARY

1. Time lapse cine micrography and phase contrast illumination were used for the studies on mitosis in endosperm of *Haemanthus katharinae*.

A method which makes possible observations from early prophase to resting nuclei is described in detail. Also detailed information is given

on a method of flattening spindles to approximately $7\ \mu$ whereas the thickness of chromosomes is approximately $4\ \mu$. Mitosis in flattened spindles was observed from very early prophase to resting nuclei. The methods described are quick, easy and may be used for experimental purposes.

2. The formation of the spindle and changes in chromosome arrangement were observed and it was found that in prophase the chromosomes are at first slowly pushed to the centre of the nucleus and then abruptly compressed. The compression of chromosomes was found to be of general occurrence and it was called the mitotic contraction stage. This stage is very short and lasts 2 — 4 mins, during which the guiding role of kinetochore in chromosome movements and the interaction of chromosomes and the spindle begin. The contraction stage similarly to the of beginning of anaphase is strictly limited and the moment when it begins may be defined exactly. The formation of the spindle, most important in the course of mitosis, ends before the contraction stage begins, though it does not mean that structural changes in the spindle may not occur also after the contraction stage.

3. It has been proved that two forces act in metakinesis: one is directed from the centre of the spindle to the poles causing the straightening of chromosome arms and their movement to the poles, and the other is directed to the equator and causes the movement of the chromosomes to the plate and the formation of the metaphase plate. The first force is also active in metaphase. In some very rare cases a very queer poleward movement of kinetochores has been observed in metakinesis.

4. The observations of metaphases and anaphases in flattened cells show that though the kinetochores have a tendency to arrange themselves in a line (in cells with normal dimensions they form the plate) this is not a necessary condition for anaphase to take place. The arrangement of chromosomes, i. e. the kinetochore orientation, governs the direction of chromosome movement and on it depends whether mitosis will be two-three- or four polar. This indicates that the direction of chromosome movement is the result of how kinetochores are orientated.

5. In some rare cases disturbances resembling meiosis in *Sciara* or some irregular meiosis in plant hybrids were found. It is the author's opinion that these disturbances are caused only by the unusual mechanical conditions in flattened cells. Their significance for the understanding of some problems in mitosis is discussed.

REFERENCES

- Bajer A., 1953a. Absolute viscosity and living mitotic spindle structure. *Acta Soc. Bot. Pol.*; 22: 331 — 348.
- Bajer A., 1953b. Endosperm valuable material for experimental studies of mitosis in vivo. *Ibid*; 22: 475 — 482.
- Bajer A., 1953c. Observations on spindle structure and persisting nucleoli. *Ibid*; 22: 653 — 666.
- Bajer A., and Molè-Bajer J., Influence of extreme temperatures on mitosis in vivo. I. *Hymenophyllum*. *Ibid*; 22: 267 — 298.
- Bajer A., and Molè-Bajer J., 1954. Endosperm, material for studies on physiology of cell division. *Ibid*. 23: 69—98.
- Bělař K., 1929. Beiträge zur Kausalanalyse der Mitose. III. *Z. Zellf.* 10: 71 — 134.
- Barber H. N. 1939. The rate of movement of chromosomes on the spindle. *Chromosoma*; 1: 33 — 50.
- Bullough W. S., 1952. The energy relations of mitotic activity. *Biol. Rev.*; 27: 133 — 168.
- Carlson J. G., 1952. Microdissection studies on the dividing neuroblast of the grasshopper, *Hortophaga viridifasciata*. *Chromosoma*; 5: 199 — 220.
- Galinsky J., 1949. The effect of certain phosphates on mitosis in *Allium* roots. *Journ. Hered*; 44: 23 — 29.
- Heitz E., 1943. Kleinere Beiträge zur Zellenlehre. I. Zur Kenntins der Stemmkörperwirkung. *Ber. Schweiz. Bot. Ges.*; 53: 193 — 199.
- Hsu T. C., and Pomerat C. M., 1953a. Mammalian chromosomes in vitro II. *Juorn. Hered*; 44: 23 — 29.
- Hsu T. C. and Pomerat C. M., 1953b. Mammalian chromosomes in vitro. III. *Journ. Morph*; 98: 301 — 330.
- Huskins L. C., 1948. Segregation and reduction in somatic tissues. I. *J. Hered*; 39: 311 — 325.
- Hughes A., 1950. The effect of inhibitory substances on cell division. *Quar. J. Micr. Sc*; 91: 251 — 278.
- Hughes A., 1952. Some effects of abnormal tonicity on dividing cells in chick tissues cultures. *Quart. J. Micr. Sc*; 93: 207 — 219.
- Hughes A., and Swann M. M., 1948. Anaphase movement in the living cell. *J. exp. Biol.*; 25: 45 — 70.
- Hughes-Schrader S., 1943. Polarisation, kinetochore movements, and bivalent structure in meiosis of male mantids. *Biol. Bull.*; 85: 265 — 300.
- Hughes-Schrader S., 1947. The „pre-metaphase stretch“ and kinetochore orientation in Phasmids. *Chromosoma*; 3: 1 — 21.
- Jungers V., 1930. Figures caryocinetiques cloisonnement du protoplasme dans l'endosperme d'Iris. *La Cellule*; 40: 291 — 354.
- Lima de Faria A., 1949. The structure of the centromere of the chromosomes of rye. *Hereditas*; 35: 289 — 295.
- Metz W. C., 1926. An apparent case of monocentric mitosis in *Sciara*. *Science*; 63: 190 — 191.
- Mota M., 1952. The action of seed extracts on chromosomes. *Arquivo de Patolog*; 24 (3): 336 — 357.
- Möllendorf W., und Ostrouch M., 1939. Zur Kenntnis der Mitose. VII. *Zschr. exp. Zellf*; 29: 323 — 355.
- Östergren G., 1949. A survey of factors working at mitosis. *Hereditas*; 35: 525 — 528.

- Östergren G., 1951. The mechanism of co-orientation in bivalents and multivalents. *Hereditas*; 37: 85 — 136.
- Pfeiffer H., 1951. Polarisationsoptische Untersuchungen am Spindelapparat mitotischer Zellen. *Cytologia*; 16: 194 — 200.
- Roosen-Runge E. C., 1953. Postmortem mitotic activity of spermatogonia and spermatocytes in the albino rat. *Exp. cell res*; 4: 52 — 59.
- Sax K., and O'Mara J. G., 1941. Mechanism of mitosis in pollen tubes. *Bot. Gaz*; 102: 629 — 636.
- Scott A. C., 1936. Haploidy and aberrant spermatogenesis in a coleopteran, *Micromalthus debilis* Le Conte. *J. Morph*; 50: 485 — 515.
- Schaeede R., 1929a. Kritische Untersuchungen über die Mechanik der Karyokinese. *Planta*; 8: 383 — 397.
- Schaeede R., 1929b. Über das Verhalten des Nucleolus während der Kernteilung. *Protoplasma*; 5: 41 — 54.
- Schneider B., 1938. Zellteilung der Pflanzenzelle in Reihenbild. *Zschr. f. Zellf.*; 28: 829 — 860.
- Schneider B., 1939. Die Plasmaveränderungen bei der Pflanzenzellteilung. *Arch. exp. Zellf*; 22: 298 — 303.
- Schrader F., 1935. Notes on the mitotic behaviour of long chromosomes. *Cytologia*; 6: 422 — 431.
- Schrader F., 1951. A critique of recent hypotheses of mitosis. *Michigan. Symp. Cytol.* 37 — 51.
- Yamaha Y., and Sinoto Y., 1925. On the behaviour of nucleolus in the somatic mitosis of higher plants with microchemical notes. *Bot. Mag. Tokyo*; 39: 205 — 219.
- Wada B., 1950. The mechanism of mitosis based on studies of the submicroscopic structure and of the living state of the *Tradescantia* cell. *Cytologia*; 16: 1—26.
- Zirkle C., 1928. Nucleolus in root tip mitosis in *Zea Mays*. *Bot. Gaz.* 86: 402 — 418.

EXPLANATION OF PLATES

Plate I

Fig. 16 Straightening of chromosome arms during metaphase plate formation, A — several mins after contraction stage, chromosomes are gathered in the middle of the nucleus, some arms begin to move toward the poles. Changes in the arrangement of the arms are visible in D — F. B — 3 mins after A, C — 11 mins after A, D — 47 mins after A, E — 1 hr 7 mins after A, F — 1 hr 70 mins. after A. Cell No 811.

Fig. 17. Movement of a chromosome to the pole, its return to the equator and movement of two sister chromosomes in anaphase. A and B — prophase with nucleolus, the long axis of the nucleus is much shorter than in A. C — several mins. after contraction stage. D — F movement of the chromosome to the pole, H — L and M (Plate II) return of this chromosome to the equator with kinetochore directed toward the equator: note that simultaneously chromosome arms straighten. The chromosome marked with an arrow (C) is probably the same which moves to the pole in the next figures. The graph of the poleward and return movement of the chromosome is given in Fig. 6. N — metaphase. O — early anaphase, note that the length of the spindle is much shorter than in the earlier stages and when it elongates in

anaphase. O — T the movement of small daughter chromosomes in anaphase. U — beginning of cell wall formation. Cell No 840. B — 47 mins. after A, C — 54,5 mins. after A, — D — 1 hr 12 mins. after A, E — 1 hr 17 mins. after A, F — 1 hr 29 mins. after A, G — 1 hr 35 mins. after A, H — 1 hr 37,5 mins. after A, I — 1 hr 41 mins. after A, K — 1 hr 43 mins. after A, L — 1 hr — 46 mins. after A, M — 2 hrs after A, N — 2 hrs 5 mins. after A, O — 3 hrs 51,5 mins. after A, P — 3 hrs 58 mins. after A, R — 4 hrs 24 mins. after A, S — 4 hrs 32 mins. after A, T — 5 hrs after A, 5 hrs, 12 mins. after A. Cell No 840.

Plate II.

Fig. 17. Description in Plate I.

Fig. 18. Prophase and beginning of metakinesis in flattened cell. In A the (at least) double structure of chromosomes and their lumpbrush structure or more exactly their woolly outlines are visible. The structure is less visible in B than in C. The coiling of chromatids one around the other is seen in B and C, nucleolus is visible in A — B and disappears in C, B — 1 hr 50 mins. after A, C — 2 hrs 17 mins. after A. Cell No 895.

Plate III

Fig. 19. Three polar anaphase in flattened cell. A — metakinesis, B — metaphase just before anaphase begins, kinetochores are arranged in a Y shape, C — D anaphase. E — cell wall formation, E — three resting nuclei, one much smaller than the other two. V — 47,5 mins. after A, C — 54 mins. after A, D — 1 hr 9 mins. after A. E — 2 hrs 25 mins. after A, F — 10 hrs after A. Cell No 894.

Plate IV

Fig. 20. Anaphase disturbances resembling irregular meiosis in some plant hybrids. When A, B, and C are compared it can be seen that: 1) daughter chromosomes do not move simultaneously because of the lack of space, 2) different chromosomes move separately and not synchronously, 3) chromosomes do not move in straight lines. 4) chromosomes may be shoved slightly to one side of the spindle together with their movement mechanisms (long chromosomes in the upper right part of the spindle). The guiding role of kinetochore is discernable. D — single chromosomes scattered in the cytoplasm, cell probably dead. B — 1 hr mins. after A, C — 1 hr 30 mins. after A, D — 10 hrs after A. Cell No 925.

PLATE I



PLATE II

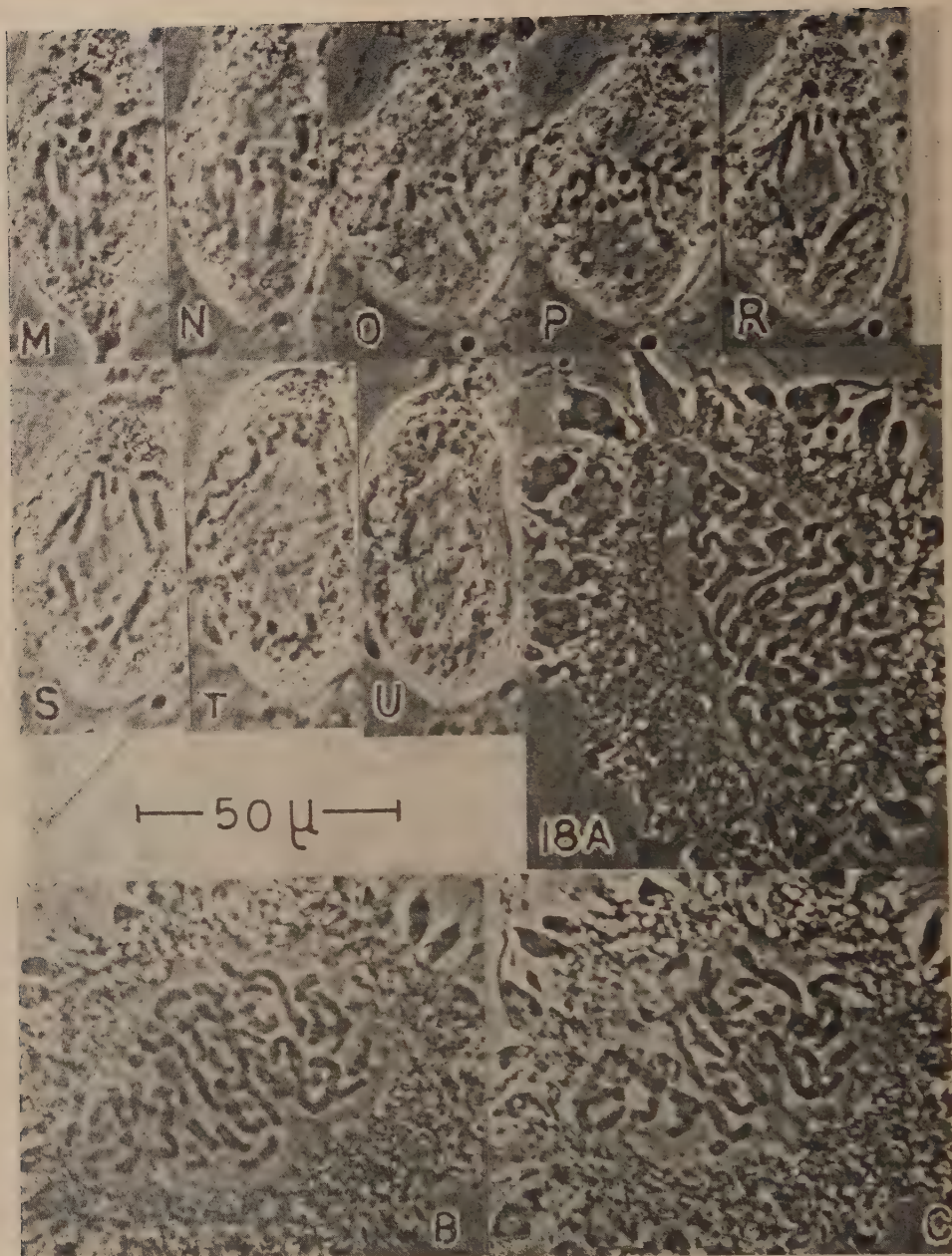


PLATE III

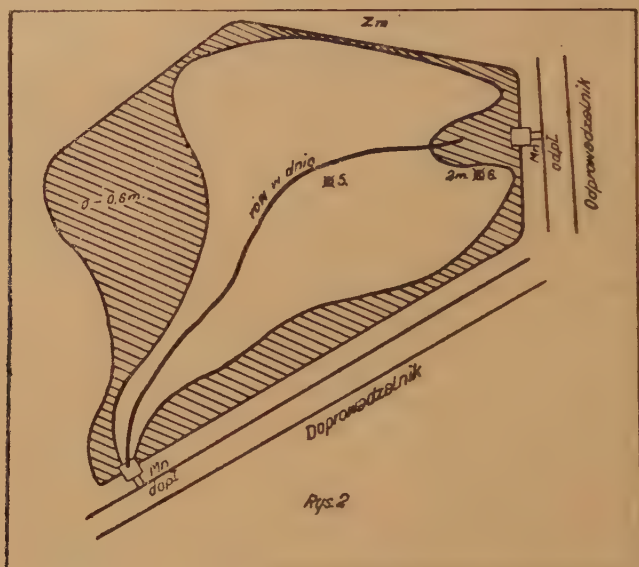


PLATE IV



Dopiero praca Luer-Jeziorskiej opublikowana w *Planta Polonica* w 1939 r. pt. „Materiały do flory planktonu rzeki Jeziorki“, daje wyraźny obraz biologiczny rzeki i jest pomocą przy badaniu fitoplanktonu stawów — założonych sztucznie z jej wód.

Tematem mojej pracy jest heloplankton stawów (zimochowów) na terenie Żabieńca, opracowywanych w 5-cio miesięcznym okresie czasu (od XI.52 do III.53 r.).



Rys. 2.

II. Metodyka

Materiał zbierany do opracowania planktonu dwóch zimochowów: drugiego i młyńskiego, obejmował próby: neuston, pionowe (z jednego stanowiska pelagicznego), siatkowe i naturalne oraz próby naturalne z mnicha dopływowego i z doprowadzalnika obok mnicha przy zimochowie drugim. Lokalizację stanowisk przedstawia rysunek 1 i 2 na szkicach stawów. Stanowiska: 1 — pelagiczne, 2 — litoralne, 3 — w mnichu dopływowym i 4 w doprowadzalniku obok mnicha — wyznaczono na zimochowie drugim wg. rys. 1; stanowisko 5 — pelagiczne i 6 — litoralne, wyznaczono na zimochowie młyńskim wg. rys. 2.

Próby, poza naturalnymi, konserwowano 4% roztworem formaliny i przechowywano w zakorkowanych słoikach. Próby pionowe, pobrano przy pomocy flaszki Meyer'a. Próby planktonu naturalnego (woda bezpośrednio czerpana ze zbiornika) pobrano dla celów porównawczych, celem uniknięcia błędu z punktu widzenia fizjograficznego. Do badań jakościowych wzięto próby przy pomocy siatki planktonowej nr 24 (plankton siatkowy) — po przekątnej stawów a pod lodem przeciąganej na sposób rybacki. Do badań ilościowych używano komór Kolkwita o pojemności 1 cm³ wody, licząc poszczególne organizmy przesuwając kolejno pod

mikroskopem wszystkie pola widzenia i przerachowując ilości te na 1 litr wody. Wszystkie próbki pobrano ze stanowisk pelagicznych, tylko w marcu z powodu odmarzniętych brzegów i zbyt słabego lodu na stawach wzięto próby ze stanowisk litoralnych.

III. Układ termiczny.

Terminy pobrania prób i warunki meteorologiczne przedstawia tabela 1 i wykres 1.

TABELA 1

M-ce	Dzień	Godzina	Temperatura w °C		U w a g i
			powietrza	wody	
XI	15	10	10,2	6,2 w. p. 6,4 p. d.	
XII	14	10.30	4	1,6 p. l. 1,2 p. d.	stawy pokryte lodem
I	18	10	—2	0,2 p. l. 0,2 p. d.	stawy pokryte lodem i śniegiem
II	8	10	—8	0,2 p. l. 0,2 p. d.	stawy pokryte lodem i śniegiem
III	22	10	13	4,2 p. l. 4,5 p. d.	stawy pokryte lodem brzegi odmarznięte

Skróty: p. l. — pod lodem, p. d. — przy dnie, w. p. — warstwa powierzchniowa.

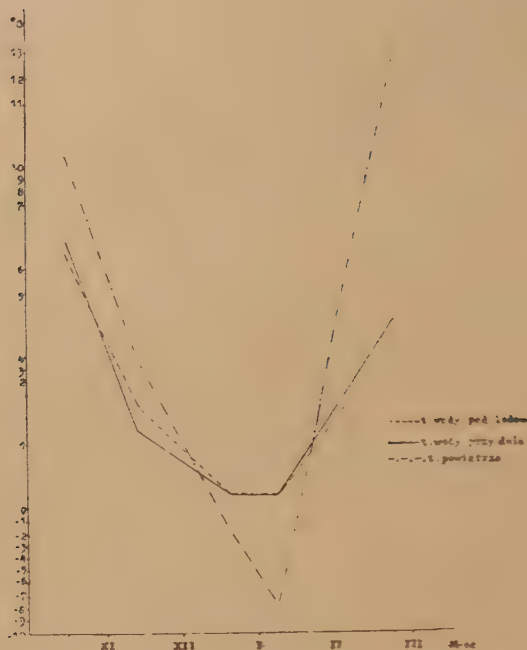
Temperatura w zimochowach (jednakowa w Z_2 i w Z_m) na jesieni i na wiosnę jest na powierzchni niższa niż przy dnie. Na jesieni na głębokości 1,5 m podwyższenie będzie wynosiło 0,2°C a na wiosnę 0,3°C — według uwarstwienia odwrotnego.

W grudniu panuje okres uwarstwienia prostego, temperatura wody na powierzchni była wyższa niż przy dnie, na głębokości 1,5 m obniżenie wynosiło 0,4°C.

W styczniu i w lutym nastąpił okres wczesnej homotermii — zniknięcia uwarstwienia termicznego. Okres ten trwa dość długo, bo dwa miesiące.

W marcu rozpoczyna się ponownie okres uwarstwienia odwrotnego; przy dnie (jak to już raz zaznaczono) temperatura jest wyższa o 0,3°C. Z powyższych badań wynika, że układ termiczny w stawach jest inny jak w jeziorach, w których okres homotermii przypada na listopad i kwiecień a nie styczeń i luty.

Zaobserwowany układ termiczny zimochowów związany był niewątpliwie z niewielką głębokością stawów, z długotrwałym pokryciem stawów lodem i śniegiem oraz ze stałym przepływem wody.



Wykres 1. Krzywe temperatury wody i powietrza (temperatura w Z_2 i w Z_m w okresie badań była jednakowa).

Courbes des température de l'eau et de l'atmosphère (La température de Z_1 et Z_m lors des études a été la même).

IV. P l a n k t o n oraz spostrzeżenia botaniczno-fizjologiczne

Materiały ilościowe ujęte globalnie zebrano w tabeli 2 dla zimocho-
wu drugiego i młyńskiego z oznaczeniem ilości dla fito- i zooplanktonu.
Szczegółowe dane wyjściowe, ilościowe i jakościowe zebrano w oddzielne
tabele (3 i 4) dla dwóch zimochowów z oznaczeniem ilości w poszczegól-
nych pionach w każdym miesiącu badanego okresu. Najliczniejszy plank-
ton znaleziono w listopadzie na całym pionie na stanowisku 1 na Z_2
i na stanowisku 5 na Z_m . Najuboższy w lutym na tych samych stanowi-
skach. W lutym obydwie stawy pokryte były najgrubszym lodem około
45 cm i śniegiem przy temperaturze powietrza -8°C (tabela 1), co miało
duży wpływ na egzystencję planktonu. Krzywe na wykresie 2 dla Z_2
i wykresie 3 dla Z_m , obrazują sezonowe zmiany ilościowe dla fito- i zoo-
planktonu jak również maksima ilościowe przypadające dla Z_2 w gru-
dniu na głębokości 1,5 m, a dla Z_m w listopadzie na tej samej głębokości.
Minima ilościowe, jak widać z wykresów, obejmują cały pion stanowisk
pelagicznych (1 i 5) i przypadają w lutym dla Z_2 i Z_m .

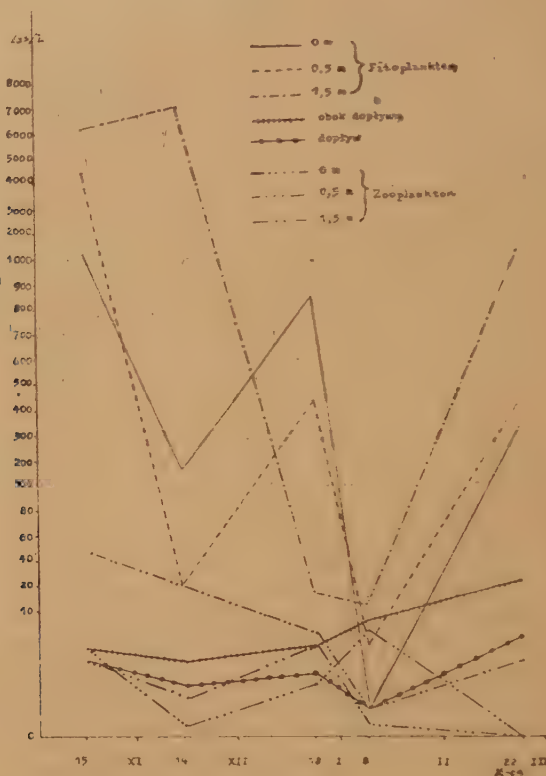
T A B E L A 2

Globalne ilościowe zestawienie planktonu w tysiącach egzemplarzy na litr

Le tableau illustrant le chiffre total du plancton (en milliers par 1 litre)

Zimochów	M-ce	XI			XII			I			II			III			Uwagi
	Głębokość w m	0	0,5	1,5	0	0,5	1,5	0	0,5	1,5	0	0,5	1,5	0	0,5	1,5	
Z ₂		1170	4350	6180	158	21	6918	841	432	17	2	7	12	316	400	1189	Fitoplankton
		7	6	48	1	2	24	4	7	9	8	1	2	0	0	6	Zooplankton
Ogółem		1177	4356	6228	159	23	6942	845	439	26	10	8	14	316	400	1195	Razem
Z _m		597	3163	4071	1273	29	79	270	20	107	10	16	6	270	990	321	Fitoplankton
		2	22	22	1	0	13	0	0	3	2	1	0	0	0	4	Zooplankton
Ogółem		599	3185	4094	1274	29	92	270	20	110	12	17	6	270	990	325	Razem

Znalezione ilości organizmów planktonowych w okresie badanym wahaly się dla Z_2 w granicach 8 — 6942, dla Z_m w granicach 6 — 4093 tys. egzemplarzy na litr.



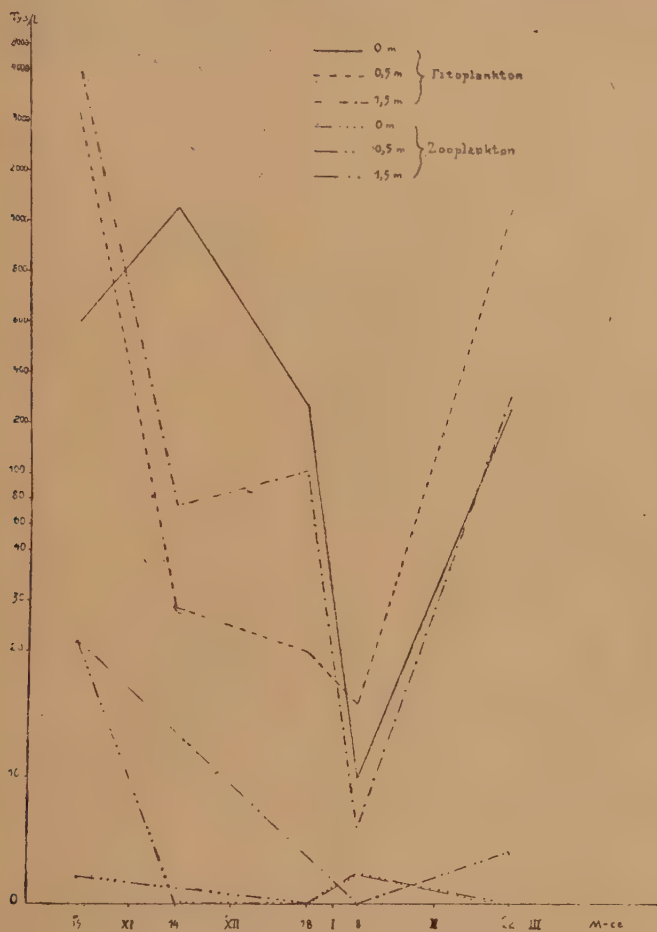
Wykres 2. Krzywe obrazujące sezonowe zmiany planktonu w Z_2 w okresie badań.

Courbes illustrantes les changements du plancton dans Z_2 selon les saisons.

W grudniu nastąpiło przesunięcie uwarstwienia biologicznego z głębokości 1,5 m do neuston, bardzo wyraźne w Z_m a przesłonięte zakwittem *Asterionella formosa* Hassal w Z_2 na głębokości 1,5 m. Przesunięcie uwarstwienia biologicznego w styczniu jest zupełnie wyraźne. Zakwit *Asterionella formosa* w Z_2 okazał się niekorzystny w grudniu w momencie obumierania, gdyż opadając na dno tworzył nagromadzenie substancji pochodzenia organicznego. W styczniu silny rozwój sinic w neustonie w Z_2 , z rodzaju *Aphanothece* a w Z_m z rodzaju *Microcistis* scharakteryzował rozkład tanatocenozy i zanieczyszczenie wody o charakterze organicznym. Rozkład tanatocenozy pociąga za sobą zużycie tlenu a to znowu powoduje śnięcie ryb, zwłaszcza, że długotrwałe pokrycie stawów

lodem, odcina drogę adsorbcji tlenu z powietrza i stwarza w ogóle nie sprzyjające środowisko o złych warunkach edaficznych.

Porównując wykres temperatury z wykresami sezonowych zmian ilości organizmów planktonowych w rozmieszczeniu pionowym oraz z ilościami globalnymi widzimy, że przesunięcie uwarstwienia biologicznego



Wykres 3. Krzywe obrazujące sezonowe zmiany planktonu w Z_m w okresie badań.

Courbes illustrantes les changements du plancton dans Z_m selon les saisons.

a więc rozwój planktonu jest wprost proporcjonalny do temperatury. Zaciemnienie stawów — a przez to zmiana warunków fizyko-biologicznych, spowodowana długotrwałym pokryciem stawów lodem i śniegiem (grubości od 20—45 cm) — miało duży wpływ na przesunięcie uwarstwienia biologicznego.

Powyższe warunki sprzyjają rozwojowi sinic, które charakteryzują zmianę środowiska (procesy gnilne) — co hamuje rozwój zielenic, które mają tak duży wpływ na odświeżanie wody. Brak rozwoju fitoplanktonu, pośrednio może więc mieć wpływ na egzystencję ryb. Wszystkie znalezione w wymienionych warunkach okrzemki miały zielone chromatofory. Zaznaczyć tu trzeba, że w normalnych warunkach a zwłaszcza w licznych otoczeniu zielenic — okrzemki przeważnie mają chromatofory koloru brązowego.



Rys 3

Duże ilości sinic wyróżniały się zdecydowaną przewagą fikocyjanu. Zaciemnienie stawów pokrywą lodową, wytworzenie zmiany całego biotopu, rzuca światło na ciekawe zagadnienia ekologiczne organizmów planktonowych. Wspomniane warunki sprzyjają rozwojowi niektórych stałych (są i zmienne, oddzielny temat moich badań) żelazo-organizmów, z których dominuje *Anthophysa vegetans* Stein w ilości 43000 egz. na 1 litr wody na głębokości 1,5 m; piękny jej okaz znaleziony w grudniu przedstawia odręczny (z powodu braku aparatu rysunkowego) rysunek 3.

Należy przypuszczać, że *Anthophysa* żyje zupełnie dobrze na powierzchni biopelu, ponieważ znaleziono ją także w próbkach siatkowych pobranych przy dnie — z naruszeniem dna.

Z bardzo licznych organizmów, które uważam za żelazo-organizmy, spośród okrzemek znaleziono:

Synedra ulna Ehr.

Synedra acus Kütz.

Navicula gracilis Ehr.

Fragilaria crotonensis Kitton.

Gomphonema acuminatum Ehr.

Amphora ovalis Kütz.

Diatoma vulgaris Bory.

Melosira granulata (Ehr.) Ralfs.

oraz *Melosira varians* C. A. Ag., którą z okrzemek zaliczyć należy w pierwszym rzędzie do żelazo-organizmów. Znalezienie dużych ilości anthophyso-tryptonu i bardzo dobrze rozwijające się *Anthophysa* w ciemności, potwierdza badania Kurtz W. (1952) przeprowadzone nad tym organizmem. Pojawienie się żelazo-organizmów jest indykátorem, wskaźnikiem, mówiącym o rozpuszczonych znacznych ilościach soli żelaza w wodzie.

Anthophysa jako mezosaprob i towarzyszące jej inne saproby a z okrzemek głównie *Melosira varians*, są indykátorami dość znacznego zanieczyszczenia wody, wykazującymi złe warunki fizyko-biologiczne środowiska. W lutym znajdowano duże ilości tryptonu z przewagą detrytu, oraz całą masę koloidalnych kuleczek, pochodzenia plazmatycznego, pozbijanych niekiedy w płaty. Pojawienie się tak dużych ilości tryptonu a głównie płatów pochodzenia plazmatycznego potworzonych z porozorywanego i obumarłego potamoplanktonu naniesionego przez silny przybór wody w Jeziorce (w końcu stycznia wylew rzeki Jeziorki), sprzyja rozwojowi procesów gnilnych i zanieczyszczeniu wody o charakterze organicznym, co powoduje znów rozwój sinic.

W okresie mrozów (-8°C) organizmy planktonowe, głównie okrzemki, spotykano martwe bez treści cytoplazmatycznej.

Tabele 3 i 4 szczegółowego pionowego rozmieszczenia planktonu, orientują nas dobrze o ilościowym rozmieszczeniu poszczególnych rodzajów organizmów i o przewadze fitoplanktonu w obydwóch zimochowach w badanym okresie.

W marcu zaobserwowano u okrzemek z rodzaju *Cymbella* i *Navicula* tworzenie się auksospor, u zielenic z rodzaju *Eudorina* — oogonie, podział oddzielnych komórek kolonii na nowe coenobia. Spostrzeżenia te mają znaczenie fenologiczne, ponieważ jest to pierwszy pojaw przedwiośnia.

TABELA 5

Zestawienie ilościowe zooplanktonu
Chiffre total du zooplancton

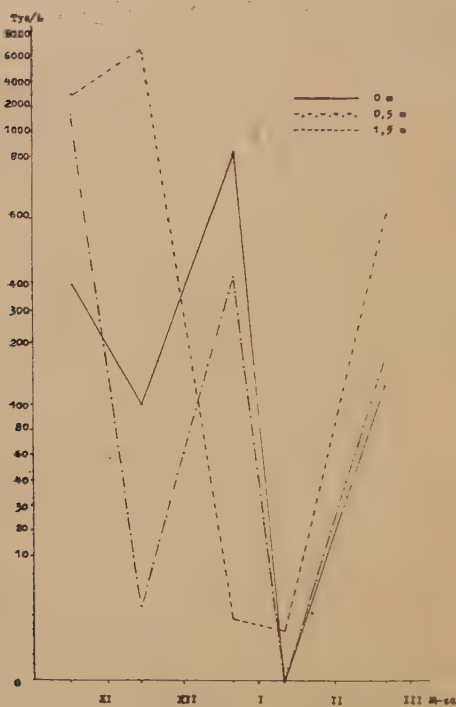
Rodzaj	Rząd	W tysiącach egzemplarzy na litr	
		Zimochów drugi	Zimochów młyński
Asplanchna		39	30
Conchilus		—	2
Brachionus		30	—
Polyarthra		11	—
Tiarthra		6	—
Anurea		7	12
	Rotatoria ogółem	93	44
Synchaeta		3	2
Stentor		3	—
Epiphanes		2	—
Halteria		2	1
Vorticella		9	9
Paramaecium		1	—
Glaucema		7	7
Stylonychia		—	2
	Infuseria ogółem (Ciliata)	27	21
Cyclops		1	2
Nauplius		2	1
	Copepoda ogółem	3	3
Chydorus	Cladocera ogółem	—	1
Spongilla	Spongiae ogółem	1	—
Macrobiotus	Tardigrada ogółem	1	—
Hydra	Cnidaria ogółem	—	1
O g ó ł e m		125	69

TABELA 6
Wyszczególnienie dominantów fitoplanktonu
Specification des dominants du phytoplancton

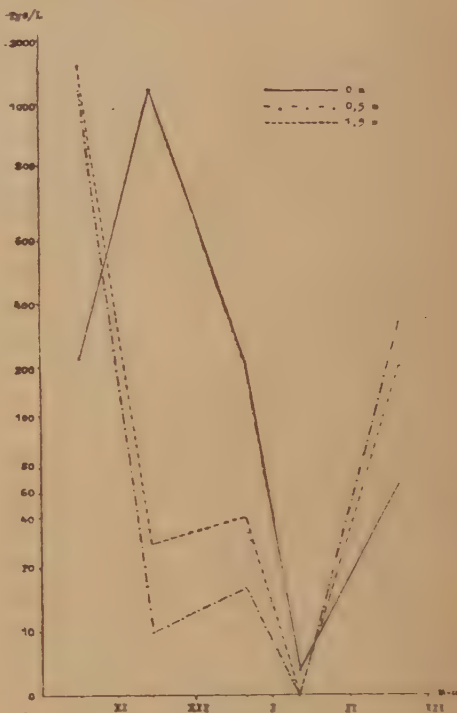
M-c	Rodzaj	Zimochów	Głębokość w m		
			0	0,5	1,5
XI	Asterionella	Z ₂	(+)	(+)	(+)
XI	Chlorella		—	—	—
XI	Asterionella	Z _m	+	(+)	(+)
XI	Chlorella		(+)	+	+
XII	Asterionella	Z ₂	+	+	+
XII	Chlorella		(+)	—	(+)
XII	Anthophysa		—	—	(+)
XII	Chroococus	Z _m	+	+	—
	Chlorella		(+)	—	—
	Melosira		—	—	(+)
	Nitzschia		(+)	—	—
	Asterionella		—	(+)	—
	Synura		—	—	+
I	Aphanothece	Z ₂	+	—	—
	Holopedium		—	—	+
	Fragilaria		—	+	—
I	Microcistis	Z _m	+	—	—
	Diatoma		—	+	—
	Nitzschia		(+)	—	+
II	Ankistrodesmus	Z ₂	—	—	+
II	Peridinium	Z _m	+	—	—
III	Diatoma	Z ₂	+	—	—
	Chlorella		(+)	(+)	(+)
	Fragilaria		—	—	+
III	Melosira	Z _m	+	—	—
	Navicula		—	(+)	—
	Fragilaria		—	—	+
	Chlorella		—	+	(+)

Uwaga: Plus oznacza dominantą pierwszego rzędu, plus w nawiasie — drugiego rzędu

Z bardzo nielicznego zooplanktonu spotykano najliczniejszy w listopadzie na stanowiskach pelagicznych (1 i 5). Zestawienie ilościowe zooplanktonu (tabela 5), orientuje nas o znalezionych ilościach rodzajów organizmów i o globalnej ilości poszczególnych rzędów. Z form zooepiplanktonowych znaleziono *Stentor*.



Wykres 4



Wykres 5

Wykres 4. Krzywe ilości dominujących organizmów fitoplanktonowych w Z_2 .
Courbes des quantités des organismes prédominants du phytoplancton de Z_2 .

Wykres 5. Krzywe ilości dominujących organizmów fitoplanktonowych w Z_m .
Courbes des quantités des organismes prédominants du phytoplancton de Z_m .

Organizmy dominujące na poszczególnych pionach obrazuje tabela 6 dla fitoplanktonu i tabela 7 dla zooplanktonu. Na czoło dominantów fitoplanktonu wysuwa się z okrzemek *Asterionella*, z zielenic *Chlorella*. Spośród żelazo-organizmów widoczne są różnice jakościowe na głębokości 1,5 m w obydwóch stawach. W Z_2 w grudniu dominuje *Anthophysa* a w Z_m *Melosira*, która dopiero w marcu pojawia się jako dominant w neustonie. Dominujące grupy organizmów fito- i zooplanktonowych dla Z_2 i Z_m , wyraźnie zaznaczono na wykresach 4, 5 i 6 z dostatecznie widocznym rozmieszczeniem ich na poszczególnych pionach.

TABELA 7

Wyszczególnienie dominantów zooplanktonu

Specification des dominants du zooplancton

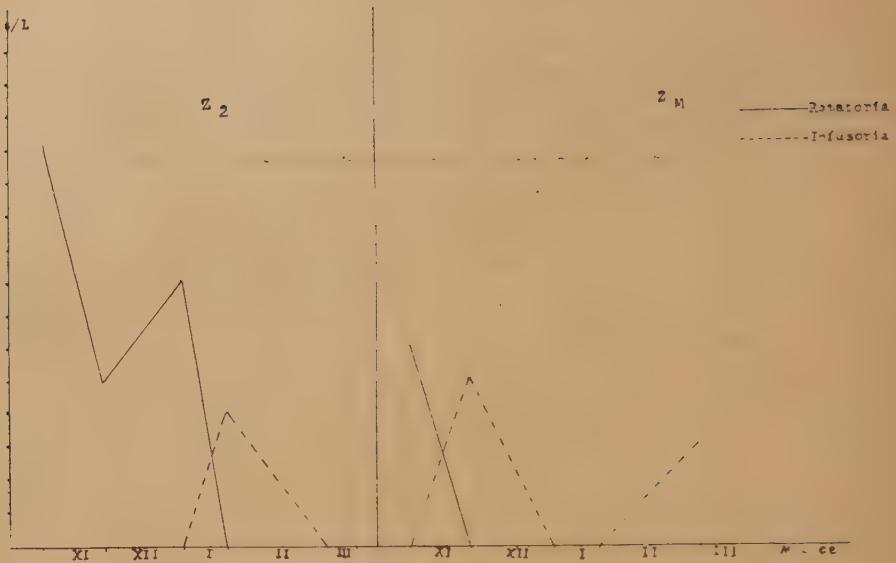
M-ce	Rodzaj	Zimochów	Głębokość w m		
			0	0,5	1,5
XI	Asplanchna	Z ₂	—	—	+
XI	Anurea	Z _m	—	—	+
XII	Anurea	Z ₂	—	—	+
XII	Glaucoma	Z _m	—	—	+
I	Asplanchna	Z ₂	—	—	+
II	Glaucoma	Z ₂	+	—	+
III	Vorticella	Z _m	—	—	+

TABELA 8

Ilości znalezionych rodzajów w neustonie w dwóch pionach

w Z₂ i w Z_mQuantités des genres trouvées dans le neuston dans les deux répartitions
verticales de Z₂ et Z_m

Głębokość w m	XI		XII		I		II		III	
	Z ₂	Z _m	Z ₂	Z _m	Z ₂	Z _m	Z ₂	Z _m	Z ₂	Z _m
0	30	18	12	20	16	12	5	8	12	10
0,5	37	26	9	5	12	3	5	14	12	17
1,5	47	36	62	20	9	17	7	5	28	17



Wykres 6. Krzywe dla dominantów zooplanktonu w Z_2 i w Z_m .

Courbes des dominants du zooplancton.

Przez cały okres badań w mnichu dopływowym i w doprowadzalniku obok mnicha (na stanowisku 3 i 4, tylko dla Z_2) znajdowano przewagę tryptonu, detrytu i anthophyso-tryptonu i koloidalnych płatów potworzonych z obumarłego i zniszczonego planktonu, który należałoby może nazywać koloido-trypton.

Z organizmów planktonowych b. nielicznych (wykres 2) spotykano tylko przedstawicieli fitoplanktonu.

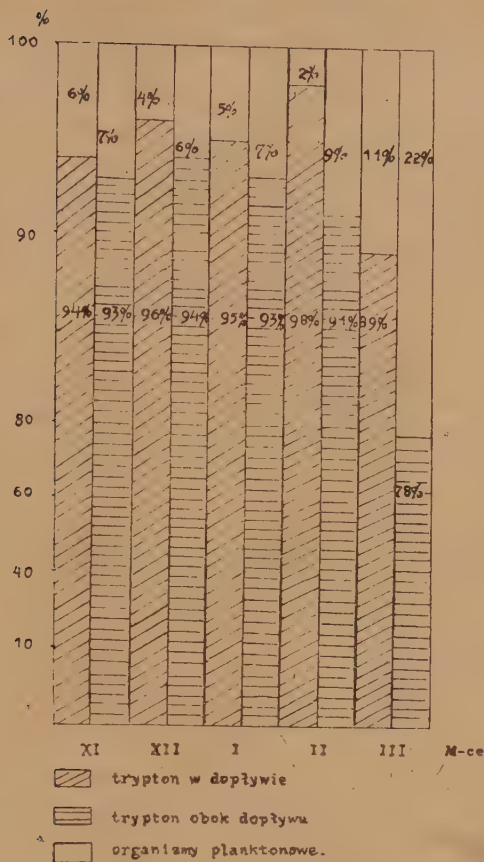
Znalezione rodzaje w mnichu dopływowym i w doprowadzalniku obok mnicha:

Mnich dopływowy

Synedra
Rhoicosphaenia
Navicula
Asterionella
Gomphonema
Pandorina
Chlorella
Chroococcus

Doprowadzalnik obok mnicha

Cymbella
Gomphonema
Amphora
Diatoma
Melosira
Epithemia
Apiocistis
Tetraëdron
Chlorella
Peridinium



Wykres. 7. Wahania tryptonu w stosunku do planktonu w mnichu dopływowym i w odprowadzalniku obok mnicha.

Fluctuations du tripton par rapport au plancton dans l'affluent et dans sa proximité

Z powyższego zestawienia widzimy, że znaleziono tylko dwa rodzaje wspólne dla mnicha dopływowego i doprowadzalnika obok mnicha, a więc różnice jakościowe są duże — a ilościowe minimalne.

Ilości tryptonu w rzekach (w danym wypadku) w mnichu dopływowym i w doprowadzalniku obok mnicha zawsze są większe niż w stawach, ponieważ płynąca woda spłukuje brzegi i porywa ze sobą drobne części.

Wahania procentowe tryptonu w stosunku do planktonu w mnichu dopływowym i w doprowadzalniku obok mnicha obrazuje wykres 7.

Ogółem znalezione ilości rodzajów organizmów planktonowych w neustonie i w dwóch badanych pionach w zimochowie drugim i młyńskim zebrane są w tabeli 8.

Plankton stawów (zimochowów) w Żabieńcu, opracowano jako pracę zleconą dla I.R.S.'u. W pracy przyjęto układ wg. wskazówek dr. K. S t e g m a n a. Szkice stawów wykonał mgr inż. J. W i e n i a w s k i.

STRESZCZENIE

Badaniami objęto plankton dwóch stawów (zimochowów) w Żabieńcu p. Piasecznem. Dwa stawy — drugi i młyński, utworzone sztucznie z wód rzeki Jezioroki, wypływającej pod Wygnanką w powiecie Grójeckim — nie były dotąd biologicznie badane. Wyniki badań w 5-cio miesięcznym okresie czasu podano we wnioskach.

WNIOSKI

1. Najliczniejszy plankton znaleziono w listopadzie, najuboższy w lutym. Widoczne są zdecydowane różnice ilościowe i jakościowe nie tylko sezonowe, ale także między poszczególnymi pionami w danym miesiącu, nie mówiąc już o wyraźnych różnicach między stanowiskami na Z_2 i Z_m .
2. Na czoło dominantów heloplanktonu w dwóch zimochowach wysuwa się: z fitoplanktonu *Asterionella* z okrzemek, *Chlorella* z zielenic, a z zooplanktonu *Asplanchna* z wrotków.
3. Przesunięcie uwarstwienia biologicznego zapoczątkowane w grudniu a ustalone w styczniu, nastąpiło na skutek długotrwałego pokrycia stawów lodem grubości około 20—45 cm oraz śniegiem i zależne jest od temperatury.
4. Pokrycie stawów lodem i śniegiem pogarsza stan fizyko-biologiczny stawów, powoduje obumieranie planktonu, grubienie warstwy tanatocenozy i jej rozkład, a więc sprzyja procesom gnilnym i zanieczyszczeniu wody o charakterze organicznym. Wskazane jest w takich okresach zmiatanie śniegu z lodu, likwidowanie zaciemnienia panującego w zimochowach i ułatwianie w ten sposób egzystencji fitoplanktonowi, który ma tak duży wpływ na odświeżanie wody — i w okresie zimowym jest tak ważnym spektrem biologicznym. Fitoplankton stanowi pokarm dla zooplanktonu. Czy zooplankton może mieć wpływ na odżywianie karpia w momentach przerywania snu zimowego jest kwestią otwartą.
5. Przy długotrwałym pokryciu stawów lodem i śniegiem wskazana jest większa aeryzacja (zwiększenie ilości przerebli) zimochowów zwłaszcza, że gruba warstwa lodu odcina drogę adsorpcji tlenu z powietrza, co stwarza dysharmonię środowiska.
6. Zaciemnienie stawów pokrywą lodową rzuca światło na ciekawe zagadnienia ekologiczne organizmów planktonowych i potwierdza badania przeprowadzone nad żelazo-organizmami. Całą masę okrzemek należałoby zaliczyć do żelazo-organizmów.
7. W mnichu dopływowym i w doprowadzalniku obok mnicha dominuje trypton dochodzący do 98%.

R É S U M É

Les recherches concernent le plancton de deux étangs (où les carpes passent l'hiver) à Żabieniec près Piaseczno. Les deux étangs (Z_2 et Z_m), formées artificiellement par les eaux de la rivière Jeziora, prenant sa source près de Wągnanka dans le district de Grójec, n'ont pas été jusqu'à présent examinés au point de vue biologique.

Les résultats de ces recherches de 5 mois ont été rapportés dans les „conclusions“.

C o n c l u s i o n s

1. Le plancton le plus abondant a été trouvé au mois de novembre, le moins riche en février. On voit de grandes différences de quantité et de qualité causées non seulement par les saisons mais aussi entre les postes Z_2 et Z_m .
2. A la tête des dominants du héloplancton dans deux étangs (au les carpes passent l'hiver) se posent; *Asterionella* (diatomées) du phyto-plancton, de même que *Chlorella* (chlorophycées) et du zooplancton — *Asplanchna* (rotateurs).
3. Le déplacement des couches biologiques, commencé au mois de décembre et constaté en janvier, a eu pour cause le fait que les étangs magasin hivernal ont été couverts d'une couche de glace épaisse de 20—45 cm, de même que de neige; ce déplacement dépend donc de la température.
4. La glace et la neige, qui couvrent les étangs, ont une mauvaise influence sur l'état physico-biologique des étangs; elles causent le dépérissement du plancton, rendent la couche de tanatocénose plus épaisse, tout en contribuant à la décomposition de cette dernière, ce qui favorise les procès putréfactifs et l'infection de l'eau de caractère organique.
5. L'obscurcissement des étangs par une couche de glace met en lumière un problème écologique, fort intéressant, des organismes de plancton, tout en confirmant les recherches poursuivies en matière de ferro-organismes. Un grand nombre de diatomées se classeraient après mon opinion parmi les ferro-organismes. Dans l'affluent et dans sa proximité le tripton prédomine, en atteignant 98%.

L I T E R A T U R A

1. B o w k i e w i c z J., 1927. Życie wód słodkich.
2. B o w k i e w i c z J., 1926. Materiały do typologii jezior Suwalszczyzny. Archiwum Hydrobiologii i Rybactwa.
3. C a b e j s z e k I., 1950. Plankton roślinny jeziora Charzykowo. Inst. Bad. Leśnictwa.

4. Kurtz W., 1952. *Anthophysa vegetans* Stein w Wiśle oraz rola jej przy ustalaniu żelaza w wodzie. Acta Soc. Bot. Poloniae Vol. XXI. str. 402—415.
5. Lityński A., 1952. Hydrobiologia ogólna. Państw. Wydaw. Naukowe.
6. Leur-Jeziorańska A., 1939. Materiały do flory planktonu rzeki Jeziorki. Planta Polonica. Vol. VIII.
7. Pascher A., 1930. Die Süßwasser Flora. Heft 10 (*Diatomeae*).
8. Pascher A., 1927. Die Süßwasser Flora. Heft 14 (*Chlorophyceae*).
9. Pascher A., 1913. Die Süßwasser Flora. Heft 4 (*Flagellatae*).
10. Pascher A., 1925. Die Süßwasser Flora. Heft 12 (*Cyanophyceae*).
11. Schoenichen W., 1927. Einfachste Lebens-Formen des Tier-und Pflanzenreiches.
12. Staff F., 1947. Hodowla ryb w stawach. W-wa Kursy Rol. Im. Staszica.
13. Tymowski J., 1951. Gospodarka stawowa. Biblioteka Rolnicza Samopomocy Chłopskiej.
14. Żadin W., 1949 i 1950. Zizń priesnykh wod ZSSR. T. II i III.

BIULETYN OGRODÓW BOTANICZNYCH

Nr 1. 1954

Od redakcji

Zgodnie z uchwałą powziętą w dniu 30.IX.1953 roku na Zjeździe kierowników uniwersyteckich ogrodów botanicznych, zwołanym przez Komitet Botaniczny P. A. N. — do czasopisma *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* będzie dołączany Biuletyn poświęcony Ogrodom Botanicznym.

W pierwszym numerze Biuletynu zamieszczamy o g ó ł n e informacje o dziesięciu Ogrodach Botanicznych i Farmakognostycznych; dalsze natomiast numery pragniemy poświęcić bardziej szczegółowemu omówieniu prac, podejmowanych w poszczególnych Ogrodach.

L. Karpowicz

1. OGROD BOTANICZNY UNIWERSYTETU JAGIELLOŃSKIEGO

Kraków, ul. Kopernika 27.

P o ł o ż e n i e g e o g r a f i c z n e :

50° 4' — szer. geogr.

19°58' — dług. geogr.

209 m n.p.m.

W ł a d z e n a d r z ę d n e : Uniwersytet Jagielloński.

D a t a z a ł o ż e n i a : 1783 r.

P o w i e r z c h n i a :

ogólna	8,72 ha
budynków	935 m ²
szklarni	1700 m ²

I m i ę i n a z w i s k o d y r e k t o r a : prof. dr Władysław Szafer, kierownik Instytutu Botan. U. J.

Prof. dr B. Pawłowski — zastępca.

Inny personel:

naukowy: adiunktów	2
asystentów	3
inspektor	1
techniczny: ogrodników	7
laborant	1

Kolekcje ogólne i specjalne:

ogółem hodowlanych gatunków i odmian: 3.123

w tym: drzew i krzewów	980 gat.
system państwa roślinnego	427 "
biologia zapylania kwiatów	45 "
biologia rozsiewania nasion	37 "
grupy geograficzne	117 "
" endemitów i roślin chronionych	28 "
alpinarium	142 "
rośliny wodne i błotne	32 "
" lecznicze	280 "
" użytkowe	68 "
grupa pontyjska	28 "
" roślin solniskowych	11 "
" genetyczna	35 "
" rodzaju <i>Ribes</i>	25 "
" " <i>Alchemilla</i>	24 "
" kosaćców	40 "

Działy specjalne i tereny doświadczalne:
doświadczalny ogródek genetyczny.

Zajęcia dydaktyczne: ćwiczenia ze studentami.

Nasieniarnia, biblioteka itp.:

nasieniarnia, zielnik,
muzeum dendrologiczne,
pracownia,
biblioteka (wspólna z Instytutem Botanicznym).

Czas otwarcia Ogrodu:

kwiecień — październik od 8-mej do zmroku
opłaty: 2 zł (ze szklarniami)

1,50 zł — normalny

75 gr — ulgowy

30 gr — wycieczkowy

studenci: biologii, W. S. P., farmacji —
bezpłatnie.

Wydawnictwa własne: Index Seminarum. Przewodnik po
Ogrodzie (nowe wydanie w opracowaniu).

Działalność publiczna:

specjalny etatowy asystent techniczny
oprowadza wycieczki,
sporadyczne prelekcje w Ogrodzie.

2. OGRÓD BOTANICZNY UNIwersYTETU POZNAŃSKIEGO

Poznań, ul. Dąbrowskiego 165.

Położenie geograficzne:

52°25' 3" — szer. geogr.

16°53'10" — dług. geogr.

84 m n.p.m.

Władze nadrzędne: Uniwersytet Poznański.

Data założenia: 1923 r. (systematyka), 1935 r. (pozostałe działy).

Powierzchnia:

ogólna	14 ha
budynków	438 m ²
szklarni	516 m ²

Imię i nazwisko dyrektora: doc. dr Zygmunt Czu-
biński, kierownik katedry Systematyki i Geogr. Roślin.

Inny personel:

naukowy: adiunkt	1
asystentów	2
techniczny: ogrodników	3
instruktor	1

Kolekcje ogólne i specjalne:

drzew i krzewów	ok. 2 200 gat. i odm.
roślin zielnych	2 500 "
" szklarniowych	1 100 "
Kolekcje specjalne:	
drzewa i krzewy ozdobne	
rośliny lecznicze	130 "
" chronione	30 "
" użytkowe	180 "
grupy biologiczne	140 "

Działy specjalne i tereny doświadczalne:

- a. ekologiczny (0.6 ha)
- b. genetyczny (0.02 ha)
- c. geograficzny
- d. hodowlany
- e. zbiorowiska leśne (1 ha)
- f. sad doświadczalny (0,02 ha)
- g. poletka doświadczalne (0.05 ha).

Zajęcia dydaktyczne:

- a. zajęcia dydaktyczne ze studentami biologii
- b. oprowadzanie wycieczek szkolnych i uniwersyteckich
- c. dostarczanie nasion i roślin do ogródków szkolnych
- d. pomoc w planowaniu i zakładaniu ogródków szkolnych
- e. ćwiczenia z sadownictwa i dendrologii dla studentów W.S.R.

Nasieniarnia, biblioteka itp.:

nasieniarnia, biblioteka, zielnik (zapoczątkowany w 1952 r.).
pracownia.

Czas otwarcia Ogrodu:

1.V.—30.VIII. od 9 do 20.

1.IX.—15.X. od 9 do 18.

Wstęp bezpłatny.

Wydawnictwa własne: Index Seminarum, Przewodnik po Ogrodzie (w opracowaniu).

Działalność publiczna: Oprowadzanie wycieczek pozaszkolnych. W projekcie organizowanie wystaw i prelekcji.

3. OGROD BOTANICZNY UNIWERSYTETU WARSZAWSKIEGO

Warszawa, Al. Ujazdowskie 4.

Położenie geograficzne:

52°13' 5" — szer. geogr.

21° 1'49" — dług. geogr.

121 m n.p.m.

Władze nadrzędne: Uniwersytet Warszawski.

Data założenia: 1818 r.

Powierzchnia:

parku	4 ha
części gosp.	1,16 ha
szklarni	1,090 m ²

Imię i nazwisko dyrektora: prof. dr Bolesław Hryniewicz, kierownik Zakładu Systematyki i Geografii Roślin.

Inny personel:

naukowy: adiunktów	2
asystent	1
techniczny: ogrodników	4
laborantów	3
urzędniczka	1
magazynier	1
rzemieślnik	1

Kolekcje ogólne i specjalne:

drzew i krzewów	ok. 900 gat. i odm.
system państwa roślinnego	„ 2 000 „ „ „
biologia roślin	„ 300 „ „ „
grupy biologiczne (torfowisko, step, wydmy, słonorośla, błotne i wodne rośliny, alpinarium, pnącza, rośliny chronione)	„ 825 „ „ „
rośliny lecznicze	ok. 300 gat. i odm.
„ użytkowe	„ 90 „ „ „
„ niżowe polskie	„ 400 „ „ „
„ ozdobne	„ 200 „ „ „
róże	90 odmian
rośliny szklarniowe	„ 1020 gat. i odm.

Działy specjalne i tereny doświadczalne:
genetyczny — prace cytologiczno-genetyczne nad rozwojem
Geum.

Zajęcia dydaktyczne:

- zajęcia ze studentami biologii, leśnictwa, ogrodnictwa, farmacji, W. S. P. oraz uczniami szkół ogólnokształcących
- prowadzenie praktyk wakacyjnych dla studentów biologii
- dostarczanie nasion i roślin żywych pokrewnym placówkom, szkołom i innym instytucjom.

Nasieniarnia, biblioteka itp.: nasieniarnia, pracownia, zielnik (przy Zakł. Syst. i Geogr. Rośl.), biblioteka, muzeum (zaczątek).

Czas otwarcia Ogrodu:

koniec kwietnia — październik od 8 rano do zmroku
opłaty: 60 gr — normalny
30 „ — ulgowy
15 „ — wycieczkowy
(studenci biologii — bezpłatnie).

Wydawnictwa własne: Index Seminum, Przewodnik po Ogrodzie (1953 r.).

Działalność publiczna:

- wycieczki specjalne, m. in. dla nauczycieli, oprowadzane są przez personel naukowy
- pomoc w planowaniu ogródków szkolnych, zakładaniu specjalnych kolekcji itp. dla różnych instytucji.

4. OGRÓD BOTANICZNY UNIwersYTETU WROCLAWSKIEGO

Wrocław, ul. Kanonia 6—8.

Położenie geograficzne:

51°6' — szer. geogr.

17°2' — dług. geogr.

120 m n.p.m.

Władze nadrzędne: Uniwersytet Wrocławski im. Bolesława Bieruta.

Data założenia: 1811 r.

Powierchnia:

ogólna	4,5 ha
stawu	0,75 ha
szklarni czynnych	861 m ²
„ zniszczonych	524 m ²
budynków gospod.	175 m ²

Imię i nazwisko dyrektora: prof. dr Stefan Macko, kierownik Zakładu Ekologii i Geografii Roślin.

Inny personel:

naukowy: adiunktów	2
asystent	1
techniczny: inspektor	1
ogrodników	3
laborantów	2

Kolekcje ogólne i specjalne:

Kolekcja ogólna 3 500 gat.

Kolekcja specjalna 410 „

(w tym: *Proteaceae* — 20, *Iris* — 50, *Saxifraga* — 100, *Primula* — 20, *Berberis* — 30, *Bromeliaceae* — 60, *Mesembrianthemum* — 60, *Allium* — 30, *Erica* — 20, *Veronica* — 20);

alpinarium

demonstracyjne poletka roślin użytkowych, dekoracyjnych i grupy ekologiczne.

Działy specjalne i tereny doświadczalne: prowadzone są prace aklimatyzacyjne i fizjologiczne.

Zajęcia dydaktyczne:

a. ćwiczenia ze studentami.

b. praktyki wakacyjne dla studentów botaniki i uczniów liceów ogrodniczych

c. doszkalanie personelu technicznego Ogrodu.

Nasieniarnia, biblioteka itp.:

nasieniarnia, laboratorium przy szklarni, biblioteka, zielnik i pracownie naukowe w Instytucie Botanicznym (na terenie Ogrodu).

Czas otwarcia Ogrodu: od wczesnej wiosny do jesieni od 9 do 19. Opłata: 50 gr.

Wycieczki szkolne, zakładów pracy, pracownicy naukowci i studenci mogą korzystać z Ogrodu każdego dnia bezpłatnie po uprzednim porozumieniu się z kierownictwem Ogrodu.

Wydawnictwa własne: Index Seminum.

Działalność publiczna:

- a. w dni otwarcia zorganizowane jest oprowadzanie po Ogrodzie
- b. wycieczki szkolne i zakładów pracy są oprowadzane przez pracowników nauk.-techn. i asystentów
- c. w okresie zimy wspólnie z P. T. B. organizowane są prelekcje popularne, połączone ze zwiedzaniem szklarni
- d. pracownicy Ogrodu udzielają stale konsultacji studentom, nauczycielom, miłośnikom roślin itp.

5. OGRÓD BOTANICZNY INSTYTUTU HODOWLI I AKLIMATYZACJI ROŚLIN

Bydgoszcz, Pl. Weyssenhoffa 11.

Położenie geograficzne:

53°8' — szer. geogr.

18°1' — dług. geogr.

46 m n.p.m.

Władze nadrzędne: Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin.

Data założenia: 1946 r.

Powierzchnia:

ogólna	2,5 ha
budynków	144 m ²
szklarni	101 m ²

Imię i nazwisko dyrektora: mgr Andrzej Michalski.

Inny personel:

naukowy	3
techniczny: ogrodnik	1
laborant	1

Kolekcje ogólne i specjalne:

Kolekcja ogólna	ok. 2 000 gat.
Kolekcje specjalne:	
system państwa roślinnego	„ 500 „

biologia roślin	ok. 150 gat.
ekologia	„ 350 „
rośliny użytkowe	„ 230 „
„ ozdobne	„ 100 „
drzewa i krzewy	„ 600 „
rośliny szklarniowe	„ 80 „

Działy specjalne i tereny doświadczalne:
badania z zakresu ekologii.

Zajęcia dydaktyczne: upowszechnianie wiedzy botanicznej i rolniczej.

Nasieniarnia, biblioteka itp.: sekcja nasienna, zielnik, biblioteka, pracownia.

Czas otwarcia Ogrodu:

15.IV.—1.XI. od 8 do zmroku,

opłaty: 20 gr.

Wydawnictwa własne:

Delectus Seminum,

Przewodnik po Ogrodzie.

Działalność publiczna:

a. wycieczki są oprowadzane przez personel naukowy

b. udział w wystawach.

6. OGRÓD BOTANICZNY I ROŚLIN LECZNICZYCH AKADEMII MEDYCZNEJ

Białystok, ul. Kilińskiego 1.

Położenie geograficzne:

53°81' — szer. geogr.

23°10' — dług. geogr.

135 m n.p.m.

Władze nadrzędne: Akademia Medyczna w Białymstoku.

Data założenia: 1951 r.

Powierzchnia:

ogólna 1,7 ha

szklarnie 2

dom ogrodnika

Imię i nazwisko dyrektora: prof. dr Witold Sławiński, kierownik Zakładu Biologii A. M.

Inny personel:

naukowy: asystent 1

techniczny: laborantów 2

ogrodnik 1

Kolekcje ogólne i specjalne

Kolekcje ogólne — 775 gat. i odm.

Nasieniarnia, biblioteka itp.: nasieniarnia, zielnik, biblioteka, pracownia.

Czas otwarcia Ogródu:

w okresie letnim raz w tygodniu od 11 do 15, wejście bezpłatne.

Wydawnictwa własne: Index Seminarum.

Działalność publiczna: zwiedzających oprowadzają informatorzy.

7. OGRÓD BOTANICZNY ZARZĄDU ZIELENI MIEJSKIEJ

Łódź, ul. Kozińskiego 58.

Położenie geograficzne:

51°45' — szer. geogr.

19°25' — dług. geogr.

188—195 m n.p.m.

Władze nadrzędne: Ministerstwo Gospodarki Komunalnej.

Data założenia: 1945 r.

Powierzchnia:

ogólna	54 ha
budynków	350 m ²
szklarni	48 m ²

Imię i nazwisko dyrektora: dyrektora brak. Kierownik naukowy działu roślin leczniczych — prof. dr Jan Muszyński, kierownik Zakładu Farmakognozji i uprawy roślin leczniczych A. M. w Łodzi.

Inny personel:

naukowy: asystent	1
techniczny: inspektor	1
ogrodnik	1
kier. admin.	1
zastępca adm.	1

Kolekcje ogólne i specjalne:

drzew i krzewów	109 gat.
bylin	456 „
szklarniowych	160 „
szkółkowych	120 „
róż	40 odm.
roślin jednorocznych	350 gat.

Działy specjalne i tereny doświadczalne:
szkółki (w likwidacji)
teren doświadczalno-aklimatyzacyjny.

Zajęcia dydaktyczne:

- a. zajęcia dydaktyczne ze studentami wydz. farmaceut. A. M.,
botaniki i biologii Uniwersytetu Łódzkiego
- b. prowadzenie praktyk wakacyjnych
- c. wycieczki szkolne
- d. pokazy dla studentów Politechniki
- e. zajęcia praktyczne i pokazy dla nauczycieli.

Nasieniarnia, biblioteka itp.: nasieniarnia.

Czas otwarcia Ogrodu: maj — październik od 8 do 15
tylko dla wycieczek. Wstęp bezpłatny.

Wydawnictwa własne: Index Seminarum.

Działalność publiczna:

- a. dostarczanie szkołom itp. nasion i sadzonek
- b. dostarczanie szkołom zielników
- c. prelekcje dla nauczycieli
- d. artykuły w miejscowej prasie.

8. OGRÓD ROŚLIN LECZNICZYCH AKADEMII MEDYCZNEJ

Lublin, Pl. Stalina 5.

Położenie geograficzne:

51°15' — szer. geogr.

22°35' — dług. geogr.

200 m n.p.m.

Władze nadrzędne: Akademia Medyczna w Lublinie.

Data założenia: 1948 r.

Powierzchnia: ogólna — 0,75 ha.

Imię i nazwisko dyrektora: doc. dr Aleksander
Ożarowski, kierownik Zakładu Farmakognozji.

Inny personel:

naukowy: asystent 1

techniczny: ogrodnik 1

Kolekcje ogólne i specjalne: kolekcja ogólna —
200 gat. roślin leczniczych.

Działy specjalne i tereny doświadczalne:
prowadzone są doświadczenia nawozowe.

Zajęcia dydaktyczne: zajęcia dydaktyczne ze studenta-
mi Akademii Medycznej.

Czas otwarcia Ogrodu: kwiecień — październik od 8 do 14 (do wewnętrznego użytku).

Wydawnictwa własne: Index Seminarum.

9. OGRÓD FARMAKOGNOSTYCZNY AKADEMII MEDYCZNEJ W POZNANIU

Poznań-Sołacz, ul. Niestachowska (adres kierownictwa — ul. Stalin-gradzka 1).

Położenie geograficzne:

52°25' — szer. geogr.

16°53' — dług. geogr.

89 m n.p.m.

Władze nadrzędne: Akademia Medyczna w Poznaniu.

Data założenia: 1924 r.

Powierzchnia: ogólna — 1,5 ha.

Imię i nazwisko dyrektora: doc. dr Bogusław Borowski, kierownik Zakładu Farmakognostycznego A. M.

Inny personel:

naukowy: adiunkt	1
asystentów	3
inż. ogrodnik	1
techniczny: ogrodników	2

Kolekcje ogólne i specjalne:

drzew i krzewów	80 gat.
system państwa roślinnego	378 „
bylin	600 „
dwuletnich	120 „
rocznych	200 „
roślin pnących	20 „
„ płożących	15 „

Działy specjalne i tereny doświadczalne: poletka doświadczalne dostarczające materiału do badań fitochemicznych.

Zajęcia dydaktyczne: w roku 1953—54, w związku ze zmianą programu, zajęcia dydaktyczne ze studentami nie są prowadzone.

Nasieniarnia, biblioteka itp.: nasieniarnia, biblioteka, pracownia.

Czas otwarcia Ogrodu: kwiecień — październik od 8 do 20 (do wewnętrznego użytku).

Wydawnictwa własne: Selectus Seminarum.

Działalność publiczna: oprowadzanie wycieczek.

10. OGRÓD FARMAKOGNOSTYCZNY AKADEMII MEDYCZNEJ W WARSZAWIE
 Warszawa, ul. Krakowskie Przedmieście 26.

Położenie geograficzne:

52°14' — szer. geogr.

21° 2' — dług. geogr.

Władze nadrzędne: Akademia Medyczna w Warszawie.

Data założenia: 1917 r.

Powierzchnia:	ogólna	ok. 8,5 ha
	budynków	62 m ²
	szklarni	30 m ²

Imię i nazwisko dyrektora: prof. dr Jakub Deryng
 kierownik Zakładu Farmakognozji A. M.

Inny personel:

naukowy: adiunkt	1
asystent	1

Kolekcje ogólne i specjalne:

kolekcja ogólna system.	— 650 gat. i odm.
alpinarium i paprociarnia	— 35 " " "
drzew i krzewów	— 160 " " "
roślin szklarniowych	— 103 " " "

Działy specjalne i tereny doświadczalne:

a. dział naukowo-doświadczalny, dostarczający materiału do prac laboratoryjnych

b. dział hodowlano-uprawny.

Zajęcia dydaktyczne: zajęcia dydaktyczne ze studentami Akademii Medycznej.

Nasieniarnia, biblioteka itp.: nasieniarnia, pokój laboratoryjny, biblioteka przy Zakładzie Farmakognozji A. M.

Czas otwarcia Ogródu: otwarty do wewnętrznego użytku w miesiącach wiosenno-letnich od 8 do 15.

U w a g a: Na wzmiankę zasługuje jeszcze **PARK W OLIWIE** o ogólnej powierzchni 12,5 ha, pozostający pod zarządem Prezydium Miejskiej Rady Narodowej w Gdańsku.

Park w Oliwie obejmuje arboretum, bogate alpinarium, ogród szkolny i palmiarnię.

Grupy specjalne stanowią: rośliny chronione, lecznicze, użytkowe i ozdobne.

Park w Oliwie jest głównym ośrodkiem dydaktycznym dla szkół ogólnokształcących i akademickich.

Doraźną pomocą w rozstrzyganiu kwestyj naukowych służy personel naukowy Zakładu Botaniki Politechniki Gdańskiej i Akademii Medycznej w Gdańsku.

UWAGI DLA AUTORÓW

Redakcja przyjmuje tylko pierwsze maszynopisy (a nie kopie). Objętość nadesłanych prac 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 umieszczanych 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, gdyż gdzie indziej sporządzane są klisze a gdzie indziej składane są objaśnienia do nich. Materiał tabelaryczny nie może zajmować więcej niż $\frac{1}{4}$ 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 i pierwszą i ostatnią liczbę stronic, oznaczoną literami arabskimi. W wypadku wydawnictwa książkowego a nie periodycznego, należy podać liczbę stronic, 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.

Odnośniki 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 oznaczane 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.

Rękopisy należy przysyłać do rektorów: 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 1400 egz. + 100 nadb. Papier dzielowy ilustracyjny kl. V g 70 format B1.
Objętość 13,5 ark. Zam. 13C z dnia 9.I.54, druk ukończ. w maju 1954 5-B-13680

Stołeczne Zakłady Graficzne, Drukarnia Naukowa, Warszawa, ul. Śniadeckich 8.