Rocznik Naukowo-Dydaktyczny Akademii Pedagogicznej w Krakowie

Zeszyt 206 Prace Botaniczne IV 1999

Mieczysław Rozmus, Maria Drewniak,
Andrzej Komaś, Marian Kobrzyński, Józef Krawczyk

Analiza kariotypu nowych heksaploidalnych form *Triticale*

Streszczenie

Przeprowadzono badania kariologiczne dwustu osobników dziesięciu nowych linii heksaploidalnego *Triticale*. Wykazały one, że żadna z linii nie osiągnęła pełnej stabilizacji kariologicznej. Stopień stabilizacji, wyrażony procentem osobników euploidalnych, był różny dla różnych linii. U osobników euploidalnych komórki somatyczne zawierały 7 par chromosomów genomu R. U aneuploidów stwierdzono deficyt różnej liczby chromosomów, różnych genomów, przy czym najczęściej obserwowano deficyt chromosomów genomu 5B. Natomiast sumarycznie stosunkowo częściej od innych genomów stwierdzono deficyt chromosomów genomu R. Szczegółowa analiza morfologii chromosomów wybranych 6 linii *Triticale* wykazała większe zmiany w genomie R w porównaniu do genomów A i B. Zakres zmian był różny w poszczególnych liniach.

Wstęp

Klasyczne już dziś badania Müntzinga (1930, 1939, 1957, 1963) i jego współpracowników nad różnymi formami *Triticale* wykazały, że potomstwo tych roślin może być zróżnicowane pod względem kariologicznym, w szczególności w odniesieniu do liczby chromosomów. Krolow (1962), Rozmus (1970), Ruebenbauer i Gacek (1971), Tarkowski (1974), Ruebenbauer (1976) stwierdzili, że mniej ustabilizowanymi pod względem cytogenetycznym są *Triticale* oktoploidalne o genomowym składzie AA BB DD RR, natomiast *Triticale* heksaploidalne (AA BB RR) cechuje większa stabilność cytogenetyczna. Jej przejawem jest niższy procent osobników aneuploidalnych w ich potomstwie. Badania późniejsze Stefanowskiej (1977) nad mieszańcami pomiędzy *Triticale* i *Secale cereale* oraz *Triticum vulgare* wskazują na możliwość koniugacji chromosomów homeologicznych pszenicy i żyta.

Rogalska (1977) w toku badań nad heksaploidalnymi liniami *Triticale* wykazała ich zróżnicowanie w odniesieniu do liczby chromosomów żytnich (R); tylko jedna z badanych linii okazała się stabilna i zawierała siedem par chromosomów genomu R. Z powyższych danych wynika, że potomstwo *Triticale* może być zróżnicowane zarówno w odniesieniu do liczby chromosomów, składu chromosomalnego, jak i struktury chromosomów. W toku przeprowadzonych przez nas badań nad mejozą w komórkach archesporu męskiego, form będących przedmiotem niniejszej pracy, stwierdziliśmy w znacznym procencie obecność zakłóceń cyklu mejotycznego, prowadzących w konsekwencji do powstania mikrospor zróżnicowanych co do liczby, a być może i struktury chromosomów. Sugeruje to możliwość udziału w procesach zapylenia i zapłodnienia ziaren pyłku o nieściśle haploidalnej liczbie chromosomów i być może zmienionej strukturze (por. *Mikrosporogeneza u nowych heksaploidalnych form* Triticale – Rozmus i wsp., praca zawarta w niniejszym opracowaniu).

Prowadzone badania nad morfologią chromosomów miały na celu stwierdzenie, w jakim stopniu chromosomy genomów A i B pochodzących od pszenic i chromosomy genomu R pochodzące od żyta zachowały swą indywidualność w komórkach mieszańców międzyrodzajowych jakimi są *Triticale*.

Pracę wykonano w ramach realizacji pierwszego etapu problemu rządowego PR–4, koordynowanego przez Zakład Roślin Zbożowych IHAR w Krakowie. Autorzy składają serdeczne podziękowanie koordynatorowi za powierzenie interesujących badań.

Materiał i metody

Badania kariologiczne obejmowały 10 linii oznaczonych jako LT 166/77, LT 350/74, LT 173/73, LT 523/77, LT 444/77, LT 135/77, LT 259/72, LT 99/77, LT 402/77, LT 41/77. Cześć materiałów a mianowicie LT 350/74, LT 173/73, LT 259/72 pochodziła ze Stacji Hodowli Roślin Dańków – Hodowla w Laskach. Materiały te otrzymano w postaci ziarniaków ze zbioru 1977 r. Każda z prób obejmowała około 20 ziarniaków. Ziarniaki każdej grupy wysiewano na szalkach Petriego, na bibule filtracyjnej nasączonej wodą wodociągową. Proces kiełkowania przebiegał w warunkach laboratoryjnych w temperaturze 20°C. Po trzech dniach od momentu wysiania pobierano do wody korzenie zarodkowe, przetrzymywano je celem skrócenia chromosomów w temp. 0°C przez 24 godziny. Po tym czasie odcinano wierzchołki wzrostu korzeni i utrwalano je przez 4 godziny w uproszczonym utrwalaczu Carnoy'a będącym mieszaniną 100% alkoholu etylowego i lodowatego kwasu octowego w stosunku objętościowym 3:1. Po utrwaleniu materiał płukano wielokrotnie alkoholem etylowym 70%. Dla wyróżnicowania jąder komórkowych i chromosomów stosowano cytochemiczną reakcję Feulgena. Preparaty wykonano techniką rozgniotową na szkiełku podstawowym w kropli 45% kwasu octowego. Po oddzieleniu szkiełka podstawowego od nakrywkowego preparaty przeprowadzano przez dwie zmiany alkoholu etylowego, butylowego i ksylem. Preparaty zamykano w balsamie kanadyjskim. Wybór i modyfikacja opisanej techniki sporządzania trwałych preparatów dla tego materiału podyktowany był koniecznością uzyskania czytelnych obrazów cytologicznych o nieuszkodzonych i dobrze rozłożonych chromosomach.

Identyfikacji poszczególnych chromosomów dokonywano głównie na podstawie pomiarów chromosomów pod mikroskopem, obliczenia indeksów ramion wyznaczających lokalizację centromerów. Wykorzystując uzyskane dane, sporządzano kariotypy, a następnie porównywano je z wynikami Stefanowskiej (1977). W związku z różnym stopniem skrócenia porównywanych chromosomów, jedynym sposobem porównania długości chromosomów było przeliczenie tego parametru na jednostki względne, którego dokonano według propozycji Stefanowskiej (1977). Zestawiała ona osobno genomy pszeniczne (A i B) i genom żytni (R). Przyjęła łączną długość genomów A i B za 100% oraz długość genomu R również za 100%. Wyniki przeprowadzonej analizy porównawczej morfologii chromosomów zestawiono w tabelach. Obliczone odchylenia analizowanych parametrów chromosomów (długość całkowita i indeks ramion) posortowano do czterech wyznaczonych przedziałów (I-IV) (tabela 1). W tabelach podano procentowy udział chromosomów w poszczególnych przedziałach. Tego typu szczegółowe porównania przeprowadzono dla 6 linii: LT 166/77, LT 523/77, LT 444/77, LT 135/77, LT 41/77, LT 402/77.

Przedział odchylenia	Różnica długości całkowitej chromosomu w stosunku do przyjętego wzorca	Różnica wartości indeksu ramion w stosunku do przyjętego wzorca
I	0,00 – (± 0,50%)	0,00 – (± 0,25)
II	(± 0,51%) – (± 1,00%)	(± 0,26) – (± 0,50)
III	(± 1,01%) – (± 1,50%)	(± 0,51) – (± 0,75)
IV	powyżej (± 1,50%)	powyżej (± 0,75)

Tabela 1. **Wyznaczone przedziały odchyleń analizowanych parametrów chromosomów *Triticale***

W toku badań podjęto również próbę dostosowania dla tych materiałów metod i technik prowadzących do ujawnienia podłużnego zróżnicowania chromosomów *Triticale*. Zastosowano technikę różnicowego barwienia chromosomów według Weimarck 1975. W tej procedurze barwienia rozgnioty wykonano w 45% kwasie octowym. Szkiełka nakrywkowe oddzielano od podstawowych przy pomocy suchego lodu (całość materiału zostaje na szkiełku podstawowym). Następnie preparaty odwadniano w 100% alkoholu etylowym przez 10 minut. Po wysuszeniu w temperaturze pokojowej preparaty przenoszono do 5% roztworu wodorotlenku baru na 15 minut również w temperaturze pokojowej. Po wyjęciu preparaty płukano w wodzie bieżącej przez około 30 minut. W kolejnym etapie tej procedury preparaty przenoszono do 2xSSC (mieszanina 0,15M NaCl i 0,15M cytrynianu sodu) w temperaturze 60°C na około 90 minut. Po przepłukaniu w kilku zmianach wody destylowanej preparaty barwiono odczynnikiem Giemsy (2% roztwór w buforze Sörensena będącym mieszaniną 0,07M KH_2PO_4 i 0,07M Na_2HPO_4 w pH=6,8). Preparaty, po wypłukaniu w wodzie destylowanej i wysuszeniu, zamykano w Euparalu.

Analizy cytologiczne oraz mikrofotografie wykonano przy użyciu mikroskopów MB-50 i NfPK z nasadką mikrofotograficzną Zeissa.

Wyniki badań

A. Liczby chromosomów

Badania kariologiczne dwustu osobników wykonane na chromosomach metafazalnych wykazały, że 118 osobników to osobniki euploidalne o somatycznej liczbie chromosomów 2n=42. Analizowany materiał dziesięciu linii był zróżnicowany w stosunku do procentu potomstwa euploidalnego. Odsetek obserwowanych aneuploidalnych osobników był różny dla różnych linii. Spotykano tu osobniki o liczbach chromosomowych od 2n=14 do 2n=60. Najwyższy procent potomstwa euploidalnego sięgający 90,0% stwierdzono wśród osobników linii LT 350/74 oraz LT 444/77, najniższy natomiast dotyczył osobników linii LT 41/77 oraz LT 166/77. Dodać należy, że w potomstwie rodu LT 99/77 nie stwierdzono w ogóle osobników euploidalnych (tabela 2).

Numer linii	Liczba analizowanych roślin	Liczba i procent euploidalnych roślin (2n=42)	Liczba analizowanych metafaz	Stwierdzone somatyczne liczby chromosomów
LT 166/77	20	3 15,0%	21	42. 41. 37. 36. 34. 28. 27. 14.
LT 350/74	20	18 90,0%	25	42. 41. 36
LT 173/73	20	15 75,0%	23	42. 41. 36. 34. 33. 32
LT 523/77	20	14 70,0%	20	42, 60, 59, 41, 39, 34, 30, 29, 26
LT 444/77	20	18 90,0%	20	42. 41. 40. 39
LT 135/77	20	17 85,0%	30	42. 39. 31
LT 259/72	20	16 80,0%	29	42. 41. 38. 37. 25
LT 99/77	20	0 0,00%	20	41. 37. 34. 30. 25
LT 41/77	20	2 10,0%	30	42, 56, 45, 41, 40, 33, 39, 22, 20, 14
LT 402/77	20	15 75,0%	25	42. 43,40, 39. 36. 35. 14
Razem/ Średnia	200	118 59,0%	233	

Tabela 2. **Liczby chromosomów w stożkach wzrostu korzeni w 10 analizowanych heksaploidalnych liniach *Triticale***

B. Skład chromosomalny

Wszystkie osobniki euploidalne (2n=42) badanego materiału były typowymi amfidiploidami, gdyż zawierały 7 par chromosomów homologicznych genomu A, 7 par chromosomów homologicznych genomu B oraz 7 par chromosomów homologicznych genomu R. Wśród osobników aneuploidalnych zdecydowaną większość stanowiły hypoaneuploidy (tabela 2, 3). Tylko w linii LT 402/77, LT 41/77, LT 523/77 zaobserwowano hiperaneuploidy. Liczbę 2n=41 chromosomów stwierdzono u 8 analizowanych linii (LT 166/77, LT 350/74, LT 173/73, LT 523/77, LT 444/77, LT 259/72, LT 99/77, LT 41/77). W analizowanym materiale stwierdzono obecność trzech osobników monosomicznych w stosunku do chromosomu 6R, dwóch do 2A, 6B, 7B, ponadto po jednym osobniku monosomicznym w stosunku do chromosomów: 1A, 3A, 6A, 7A, 4B, 5B, 2R, 3R, 7R. Wśród badanych aneuploidów wystąpiło 8 osobników o liczbie chromosomów 2n=40. Były one zróżnicowane na 5 osobników podwójnie monosomicznych oraz trzy nullisomiczne. Osobniki podwójnie monosomiczne różniły się pomiędzy sobą składem chromosomalnym; u jednego monosomia dotyczyła chromosomów 6B i 6R, u drugiego 2A i 4A, u trzeciego natomiast monosomią objęte były chromosomy 6A i 1B, u czwartego 3B i 1R, u piątego 6A i 2B. Wśród osobników nullisomicznych w jednym przypadku nullisomia dotyczyła pary chromosomów 4A, zaś w drugim – pary 1R, natomiast w trzecim – pary 2R.

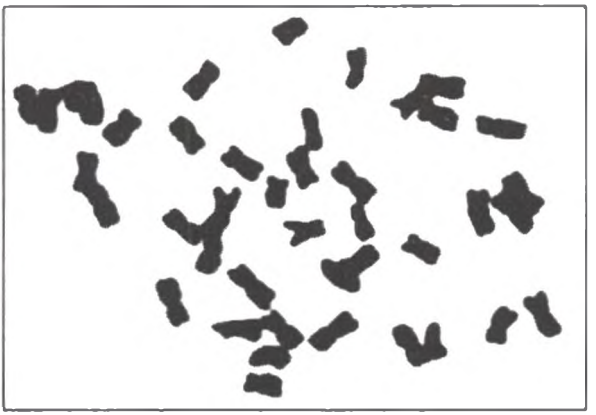
Osobniki o somatycznej liczbie chromosomów 2n=39 spotkano w siedmiu przypadkach. Ich skład chromosomalny przedstawiał się następująco: 6 z nich było potrójnymi monosomikami, a tylko 1 był nullisomikiem w stosunku do pary 4R i monosomikiem w stosunku do 2R. W pozostałych sześciu przypadkach stwierdzono absencję chromosomów w następujących typach: w jednym przypadku monosomia dotyczyła chromosomów 5B, 6R, 7R, w drugim 1B, 5R, 7R, w trzecim 1A, 5A, 6R, w czwartym 7B, 3R, 5R, w piątym 7B, 4R, 5R i w szóstym 3R, 4R, 7R. Liczbę chromosomów 2n=37 spotkano w jednym przypadku; osobnik ten był monosomiczny w stosunku do chromosomów 6A, 3B, 5B, 1R, 3R.

Osobniki o liczbie chromosomów 2n=36 spotkano w czterech przypadkach. Każdy z nich miał inny skład chromosomalny. Pierwszy był monosomiczny w stosunku do chromosomów 1A, 1B, 3B, 3R oraz nullisomiczny do pary 2A. Drugi był monosomiczny w stosunku do chromosomów 7B, 3R, 6R, 7R oraz nullisomiczny w odniesieniu do pary chromosomów 5B. Trzeci cechował się tym, że był podwójnie monosomiczny w stosunku do chromosomów 5B i 6R oraz podwójnie nullisomiczny w stosunku do chromosomów 1A i 3A. Czwarty był monosomiczny w stosunku do sześciu chromosomów, a mianowicie: 7A, 1B, 4B, 3R, 4R, 5R. Liczba chromosomów 2n=35 reprezentowana była u jednego osobnika potrójnie monosomicznego (4B, 5R, 7R) i podwójnie nullisomicznego (7A, 1B). U dwóch osobników spotkano liczby chromosomów 2n=34. Pierwszy z nich był monosomiczny w stosunku do sześciu chromosomów (3A, 5A, 4B, 6B, 7B, 3R) oraz nullisomiczny w stosunku do 5R, drugi natomiast był monosomiczny w stosunku do chromosomów 2A, 3A, 2B, 1R, 5R, 6R i nullisomiczny w stosunku do 7B. Liczbę chromosomów 2n=33 spotkano u dwóch osobników. Pierwszy był monosomiczny w stosunku do siedmiu chromosomów (1A, 2A, 4A, 5A, 5B, 7B, 5R) i nullisomiczny w stosunku do pary 7A. Drugi był monosomiczny w stosunku do 1A, 2A, 6A, 7A, 6B, 1R, 3R, 5R, 6R, 7R oraz nullisomiczny w stosunku do 1R i 2R. Liczba chromosomów 2n=32 była reprezentowana przez jednego osobnika, był to osobnik poczwórnie monosomiczny (4A, 7A, 5B, 7B) i potrójnie nullisomiczny

(1A, 2A, 5A). Podobnie liczbę chromosomów 2n=31 odnotowano tylko w jednym przypadku, był to osobnik osobnik monosomiczny w stosunku do 4A, 6A, 2B, 5B, 3R i nullisomiczny w stosunku do 4B, 2R, 6R.

Różny skład chromosomalny reprezentowały też dwa spotkane osobniki o liczbach chromosomów 2n=30. Jeden z nich był monosomiczny w stosunku do czterech chromosomów (1B, 2B, 1R, 3R) oraz nullisomiczny w stosunku do czterech par chromosomów (3B, 5B, 2R, 6R). Drugi osobnik natomiast był monosomiczny w stosunku do ośmiu chromosomów (3A, 4A, 1B, 3B, 5B, 1R, 2R, 3R) oraz nullisomiczny w stosunku do dwóch chromosomów 6A i 2B). Osobnik o 29 chromosomach okazał się monosomiczny w stosunku do siedmiu chromosomów (4A, 5A, 6A, 1B, 3B, 4R, 7R) i nullisomiczny w odniesieniu do chromosomów 5B, 2R i 6R. Spotkany jeden raz w badanym materiale osobnik o 28 chromosomach nie był typowym tetraploidem lecz cechował się monosomią w stosunku do dziesięciu chromosomów (1A, 4A, 2B, 3B, 4B, 7B, 2R, 3R, 4R, 7R) oraz nullisomią dotyczącą chromosomów 3A i 6R. W badanym materiale odnotowano również jednego osobnika o liczbie chromosomów 2n=27, był on monosomiczny w stosunku do chromosomów 1A, 2A, 3A, 3B, 4B, 6B, 7B oraz nullisomiczny w stosunku do 4A, 1R, 2R i 6R. Podobnie dwa spotkane osobniki o liczbie chromosomów 2n=14 nie były typowymi diploidami. Jeden z nich był monosomiczny w stosunku do dziesięciu chromosomów (3A, 1B, 3B, 4B, 6B, 1R, 2R, 5R, 6R, 7R) i nullisomiczny w odniesieniu do chromosomów 1A, 2A, 4A, 6A, 7A, 2B, 5B, 3R, 4R); drugi zaś był monosomiczny w odniesieniu do sześciu chromosomów (3A, 3B, 1R, 2R, 3R, 7R) oraz nullisomiczny w stosunku do jedenastu chromosomów (1A, 5A, 1B, 2B, 4B, 5B, 6B, 7B, 4R, 5R, 6R). Jak wspomniano na początku tego rozdziału, zaledwie w jednym przypadku spotkano się z osobnikiem hiperaneuploidalnym o liczbie chromosomów 2n=43. Osobnik ten cechował się trisomią w odniesieniu do chromosomów 4R (tabela 3).

Reasumując, należy stwierdzić, że u badanych organizmów hypoaneuploidalnych deficyt chromosomów poszczególnych genomów obejmował wszystkie genomy (A, B, R). Jednak najczęściej eliminowane były chromosomy genomu R (żytnie). W odniesieniu do genomu A najczęściej spotykano deficyt chromosomów 3A i 4A; jeżeli chodzi o genom B to najczęściej stwierdzono brak chromosomów 5B, natomiast w obrębie genomu R – nieobecność chromosomów 2R i 6R. Z przedstawionej analizy wynika, że aż w dwudziestu jeden przypadkach organizmów hypoaneuploidalnych spotkano się ze zjawiskiem nullisomiczności w odniesieniu do jednej lub większej liczby par chromosomów homologicznych. Fakt ten dowodzi słuszności przedstawionego we wstępnej części pracy poglądu co do możliwości wnoszenia do zygoty, nieściśle zredukowanej do połowy liczby chromosomów za pośrednictwem gamet męskich. Przykłady analizowanych płytek metafazowych roślin euploidalnych i aneuploidalnych przedstawiają fig. 1–2.



GENOM		OZNACZENIE CHROMOSOMÓW						
		1	2	3	4	5	6	7
R	Dł. ramion (µm)	2,77 2,77	2,65 2,55	2,88 2,21	3,37 2,35	3,37 1,80	3,60 1,46	2,62 2,47
	I	**1,00**	**1,04**	**1,30**	**1,43**	**1,87**	**2,46**	**1,06**
A	Dł. ramion (µm)	2,73 1,95	2,36 2,28	2,90 1,98	2,06 1,46	2,58 1,43	2,66 1,72	2,36 1,72
	I	**1,40**	**1,03**	**1,46**	**1,41**	**1,81**	**1,54**	**1,37**
B	Dł. ramion (µm)	2,85 2,24	2,73 1,72	2,28 1,23	3,15 1,57	2,81 1,27	2,58 1,87	2,73 1,46
	I	**1,26**	**1,58**	**1,85**	**2,00**	**2,21**	**1,37**	**1,87**

Fig. 1. **Kariogram rośliny euploidalnej 2n=42**

Numer linii	Liczba chromosomów	OZNACZENIE							
		1A	2A	3A	4A	5A	6A	7A	1B
LT 166/77	41								
	41			–1					
	41	–1							
	41								
	41								
	41								
	41						–1		
	41								
	37						–1		
	36	–1	–2						–1
	34			–1		–1			
	27	–1	–1	–1	–2				
	28	–1		–2	–1				
	14	–2	–2	–1	–2		–2	–2	–1
LT 350/74	41								
	36								
LT 173/73	41		–1						
	36	–2		–2					
	34		–1	–1					
	33	–1	–1		–1	–1		–2	
	32	–2	–2		–1	–2		–1	
LT 523/77	41								
	41							–1	
	39								
	30								–1
	30			–1	–1		–2		–1
	29				–1	–1	–1		–1
LT 444/77	41		–1						
	40								
	40				–2				
	40								
	39								–1
LT 135/77	39	–1				–1			
	39								
	39								
	31				–1		–1		
LT 259/72	41								
	41								
LT 99/77	41								
	41								
	41						–1		
	41			–1					
LT 41/77	41								
	41								
	40		–1		–1				
	40						–1		–1
	40								
	39								
	33				–1				
	20	–1	–1	–2	–2		–1	–1	–2
LT 402/77	43								
	40								
	40						–1		
	39								
	36							–1	–1
	35							–2	–2
	14	–2		–1		–2			–2
Razem			10	12	8	9	12	8	15
		69							

(–1) brak jednego chromosomu, (–2) brak pary chromosomów homologicznych, (+1) nadliczbowy chromosom

Tabela 3. **Skład chromosomów w aneuploidalnych liniach *Triticale* (w tabeli uwzględniono jedynie część**

CHROMOSONÓW												
2B	3B	4B	5B	6B	7B	1R	2R	3R	4R	5R	6R	7R
							–1					
				–1								
											–1	
		–1										
												–1
	–1		–1			–1		–1				
	–1							–1				
		–1		–1	–1			–1		–2		
	–1	–1		–1	–1	–2	–2				–2	
–1	–1	–1			–1		–1	–1	–1		–2	–1
–2	–1	–1	–2	–1		–1	–1	–2	–2	–1	–1	–1
			–1									
			–2		–1			–1			–1	–1
			–1								–1	
–1					–2	–1				–1	–1	
			–1		–1					–1		
			–1		–1							
					–1							
			–1								–1	–1
–1	–2		–2			–1	–2	–1			–2	
–2	–1		–1			–1	–1	–1				
	–1		–2				–2		–1		–2	–1
						–2						
				–1							–1	
										–1		–1
											–1	
					–1			–1		–1		
							–1		–2			
–1		–2	–1				–2	–1			–2	
								–1				
			–1									
				–1								
	–1											
					–1							
											–1	
	–1					–1						
					–1					–1		
		–1				–2	–2			–1	–1	–1
	–2	–2		–1		–1	–2	–1	–1		–1	–1
									+1			
							–2					
–1												
								–1	–1			–1
		–1						–1	–1	–1		
		–1	–1									–1
–2	–1	–2	–2	–2	–2	–1	–1	–1	–2	–2	–2	–1
6	11	6	18	7	13	10	14	12	6	15	15	10
76						82						

analizowanych płytek metafazowych, pozwalających na identyfikację poszczególnych typów chromosomowych)

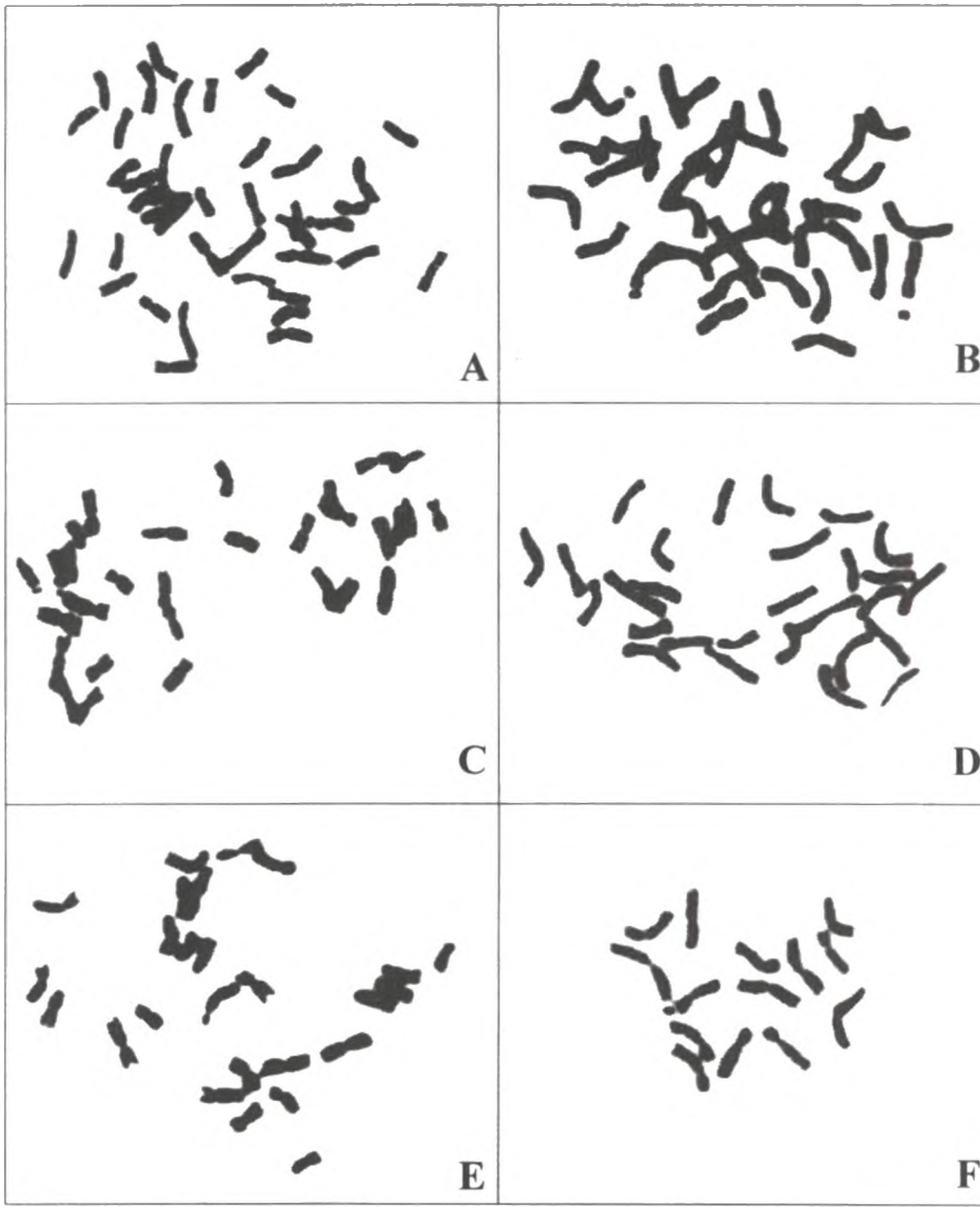


Fig. 2A–F. **Aneuploidalne płytki metafazowe analizowanych linii *Triticale* barwione metodą Feulgena:** ***A.*** **2n=41;** ***B.*** **2n=36;** ***C.*** **2n=30;** ***D.*** **2n=28;** ***E.*** **2n=26;** ***F.*** **2n=14**

C. Morfologia chromosomów

Szczegółowo przeanalizowano morfologię chromosomów LT 166/77, LT 523/77, LT 444/77, LT 135/77, LT 41/77, LT 402/77 i porównano z morfologią chromosomów wzorcowych genomów A, B i R (Stefanowska 1977) (tabela 4–6). W linii LT 166/77 zaobserwowano dużą zmienność długości prawie wszystkich chromosomów z genomu R. Jedynie chromosom 3R wykazywał niewielkie odchylenia od wzorca. Parametry chromosomów z genomów A i B w tej linii były porównywalne z wzorcem, oprócz chromosomu 1B. W linii T 523/77 podobnie jak w poprzedniej duże odchylenia od parametrów wzorcowych stwierdzono dla chromosomów genomu R. Tylko morfologia chromosomu 7R wykazywała względną stabilność. Chromosomy genomów A i B w większości były porównywalne z wzorcem, różnice dotyczyły jedynie chromosomów 4A i 4B. Przeanalizowane chromosomy z linii LT 444/77 charakteryzowały się najmniejszymi zmianami w morfologii. Niewielkie odchylenia odnotowano jedynie w odniesieniu do niektórych chromosomów genomu R. Morfologia chromosomów w linii LT 135/77 charakteryzowała się również dużą zbieżnością z odpowiednimi parametrami przedstawionymi w literaturze. Odchylenia stwierdzono w odniesieniu do typów chromosomowych: 7A, 1R, 3R, 5R i 7R. W linii LT 41/77 chromosomy genomów A i B wykazywały niewielkie odchylenia od wzorca. Natomiast zdecydowanie większe zmiany w morfologii chromosomów stwierdzono w chromosomach 1R, 4R, 5R, 6R. W ostatniej analizowanej linii LT 402/77 zwraca uwagę duży zakres zmienności chromosomów genomu A. Natomiast analogicznie do poprzednich linii chromosomy genomu R wykazują dużą zmienność analizowanych parametrów.

Zastosowanie metody C–prążków ujawnia występowanie heterochromatyny centromerycznej, telomerycznej i interkalarnej. Telomeryczne prążki widoczne są na wszystkich chromosomach genomu R, zawsze występują one na krótszych ramionach chromosomów, natomiast dłuższe ramiona chromosomów 5R i 6R są ich pozbawione. Prążki interkalarne zlokalizowane są przede wszystkim na dłuższych ramionach chromosomów, widoczne są one jako małe punkty bądź wąskie pasma. Wzór prążkowy chromosomów żytnich w płytkach metafazowych w *Triticale* i w chromosomach *Secale cereale* różni się ilością i lokalizacją heterochromatyny. W chromosomach żytnich pochodzących z *Triticale* zaobserwowano redukcję heterochromatyny. W celu uniknięcia nieporozumień, związanych z identyfikacją poszczególnych typów chromosomowych, w zestawieniu (fig. 3) zastosowano podwójne oznaczenie.

Dyskusja

Studia nad kariologią dziesięciu linii *Triticale* przeprowadzone w toku niniejszej pracy ujawniły, że żadna z badanych grup roślin nie wykazywała pełnej stabilizacji kariologicznej, bowiem w obrębie każdej z grup występowały osobniki aneuploidalne (tabela 1). Występowanie w potomstwie *Triticale* zarówno heksaploidalnych (2n=42) jak i oktoploidalnych (2n=56) osobników nie jest zjawiskiem nowym. Już w pionierskich pracach Müntzinga (1939) nad pszenżytem oraz w dalszych pracach tegoż autora (Müntzing 1957; Müntzing, Hrishi, Tarkowski 1963) jak również innych (Nakajima 1952, 1956; Riley 1960; Krolow 1962; Rozmus 1970; Ruebenbauer i Gacek 1971; Tarkowski 1974; Stefanowska

Typ chromosomowy	LT 166/77								LT 523/77							
	I		II		III		IV		I		II		III		IV	
	Dług całk	Ind ram	Dług całk	Ind ram	Dług całk	Ind ram	Dług Całk	Ind ram	Dług całk	Ind ram	Dług Całk	Ind ram	Dług całk	Ind ram	Dług całk	Ind ram
1A	60,0	*100*	40,0						83,3	*100*	16,7					
2A	85,7	*100*			14,3				33,3	*100*	66,7					
3A	66,6	*100*	33,4						66,7	*66,7*	33,3	*33,3*				
4A	100	*100*							33,3	*100*			66,7			
5A	90,0	*80,0*	10,0	*20,0*					33,3	*100*	50,0		16,7			
6A	62,5	*100*	37,5							*83,3*	100	*16,7*				
7A	87,5	*100*	12,5						60,0	*100*	40,0					
1B	11,1	*77,7*	44,4	*11,1*	22,2	*11,1*	22,2		83,3	*100*	16,7					
2B	71,4	*57,1*	28,6	*42,8*					83,3	*33,3*		*66,7*	16,7			
3B	71,4	*85,7*	14,3	*14,3*	14,3				33,3	*50,0*	66,7	*50,0*				
4B	100	*71,4*		*28,6*					33,3	*66,7*	50,0		16,7	*33,3*		
5B	100	*50,0*		*50,0*					60,0	*80,0*			40,0			*20,0*
6B	88,9	*55,5*	11,1	*44,4*					83,3	*66,7*	16,7	*33,3*				
7B	71,4	*57,1*	14,3	*42,8*	14,3				50,0	*100*	50,0					
1R		*100*			57,1		42,9			*100*	33,3		66,7			
2R	57,1	*100*					42,9		16,7	*100*	50,0				33,3	
3R	42,9	*42,9*	57,1	*57,1*					33,3	*66,7*	16,7	*33,3*	33,3		16,7	
4R	14,3	*71,4*	42,7	*28,6*	14,3		28,6			*100*	66,7		16,7		16,7	
5R	66,7	*77,7*	22,2	*22,2*			11,1		33,3		33,3	*100*			33,3	
6R	40,0	*20,0*	20,0	*80,0*	20,0		20,0						60,0	*100*	40,0	
7R	42,8	*85,7*	28,6	*14,3*	28,6				20,0	*60,0*	80,0	*40,0*				

Tabela 4. **Procentowy udział chromosomów w wyznaczonych przedziałach zmienności (I–IV), odbiegających długością całkowitą i wartością indeksu ramion od przyjętego wzorca w analizowanych liniach *Triticale* LT 166/77 i LT 523/77**

Typ chromo-somowy	LT 444/77								LT 135/77							
	I		II		III		IV		I		II		III		IV	
	Dług całk	Ind ram	Dług całk	Ind ram	Dług całk	Ind ram	Dług Całk	Ind ram	Dług całk	Ind ram	Dług całk	Ind ram	Dług całk	Ind ram	Dług całk	Ind ram
1A	100	*100*							83,3	*100*	16,7					
2A	100	*100*							66,7	*100*	33,3					
3A	50,0	*100*	50,0						66,7	*66,7*	33,3	*33,3*				
4A		*100*	75,0		25,0				40,0	*100*	60,0					
5A	100	*100*							83,3	*100*	16,7					
6A		*100*	100						100	*100*						
7A	66,7	*100*	33,3						33,3	*100*	16,7		16,7		33,3	
1B	66,7	*100*			33,3				33,3	*66,7*	33,3	*33,3*	33,3			
2B	100	*100*							60,0	*60,0*	40,0	*40,0*				
3B	83,3	*100*	16,7						100	*83,3*		*16,7*				
4B	100	*83,3*		*16,7*					75,0	*50,0*	25,0	*25,0*		*25,0*		
5B	83,3	*83,3*	16,7	*16,7*					60,0	*20,0*	40,0	*40,0*		*40,0*		
6B	100			*80,0*		*20,0*			66,7	*66,7*	33,3	*33,3*				
7B	66,7	*100*	33,3						66,7	*66,7*		*33,3*	33,3			
1R	33,3	*100*	66,7						16,7	*100*	16,7		16,7		50,0	
2R		*100*	50,0		50,0				33,3	*100*	33,3		33,3			
3R	83,3	*83,3*	16,7	*16,7*						*100*	20,0		40,0		40,0	
4R	16,7	*33,3*	50,0	*66,7*	33,3				25,0	*100*	75,0					
5R	33,3	*83,3*	66,7	*16,7*					50,0	*33,3*	16,7	*66,7*	33,3			
6R	40,0	*60,0*		*40,0*	60,0				25,0	*50,0*	75,0	*50,0*				
7R		*100*	66,7		16,7		16,7		33,3		16,7	*100*	16,7		33,3	

Tabela 5. **Procentowy udział chromosomów w wyznaczonych przedziałach zmienności (I–IV), odbiegających długością całkowitą i wartością indeksu ramion od przyjętego wzorca w analizowanych liniach *Triticale* LT 444/77 i LT 135/77**

Typ chromosomowy	LT 41/77								LT 402/77							
	I		II		III		IV		I		II		III		IV	
	Dług całk	Ind ram	Dług całk	Ind ram	Dług całk	Ind ram	Dług Całk	Ind ram	Dług całk	Ind ram	Dług całk	Ind ram	Dług całk	Ind ram	Dług całk	Ind ram
1A	71,4	*85,7*	28,6	*14,3*					75,0	*100*			25,0			
2A	100	*100*							70,0	*100*	20,0		10,0			
3A	100	*100*							66,7	*88,9*	11,1	*11,1*	22,2			
4A	60,0	*100*	40,0						50,0	*100*	40,0		10,0			
5A	62,5	*75,0*	25,0	*12,5*	12,5			*12,5*	62,5	*62,5*	12,5	*37,5*			25,0	
6A	28,6	*85,7*	57,1	*14,3*			14,3		44,4	*77,7*	22,2	*22,2*	33,3			
7A	85,7	*100*	14,3						80,0	*100*	20,0					
1B	100	*100*							50,0	*100*	50,0					
2B	87,5	*100*	12,5						57,1	*100*	42,8					
3B	66,7	*83,3*	33,3	*16,7*					66,7	*66,7*	11,1	*33,3*	22,2			
4B	100	*80,0*		*20,0*					75,0	*50,0*	25,0	*50,0*				
5B	75,0	*12,5*	25,0	*75,0*		*12,5*			75,0	*25,0*		*50,0*		*25,0*	25,0	
6B	100			*100*					87,5	*62,5*	12,5	*37,5*				
7B	57,1	*71,4*	42,9	*28,6*					75,0	*62,5*	12,5	*37,5*	12,5			
1R	20,0	*100*	40,0				40,0		11,1	*100*	33,3		55,5			
2R	75,0	*100*	25,0						44,4	*100*	33,3		11,1		11,1	
3R	71,4	*57,1*	14,3	*42,9*	14,3				37,5	*50,0*	50,0	*50,0*	12,5			
4R	28,6	*28,6*	42,9	*71,4*			28,6		28,6	*71,4*	28,6	*28,6*	42,8			
5R	14,3		42,9	*57,1*	14,3	*42,9*	28,6		12,5	*25,0*	25,0	*75,0*	62,5			
6R	20,0	*20,0*	40,0	*80,0*	20,0		20,0		12,5	*25,0*	25,0	*50,0*	25,0	*25,0*	37,5	
7R	33,3	*100*	50,0				16,7		50,0	*87,5*	25,0	*12,5*	25,0			

Tabela 6. **Procentowy udział chromosomów w wyznaczonych przedziałach zmienności (I–IV), odbiegających długością całkowitą i wartością indeksu ramion od przyjętego wzorca w analizowanych liniach *Triticale* LT 41/77 i LT 402/77**

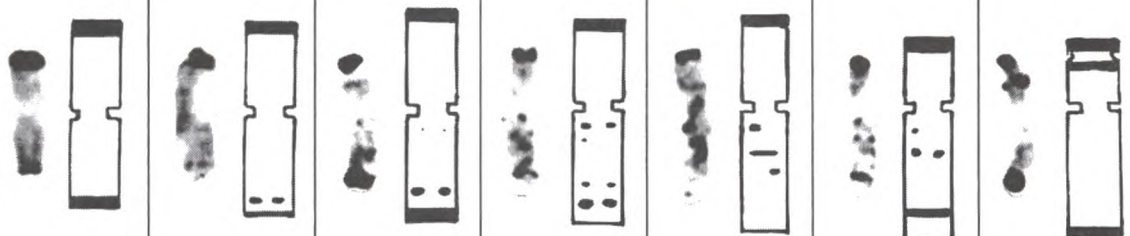
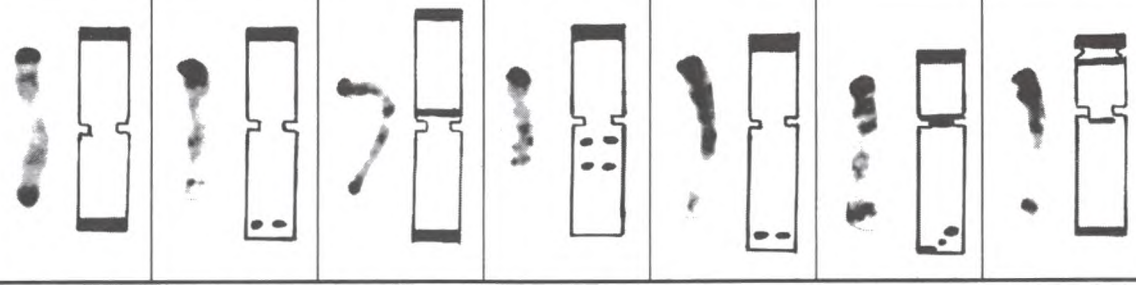
Oznaczenie chromosomów żytnich (R) (Rozmus 1972)	**1R**	**2R**	**3R**	**4R**	**5R**	**6R**	**7R**
Oznaczenie chromosomów żytnich (R) (Darvey 1975)	**2R**	**4R**	**3R**	**6R**	**7R**	**5R**	**1R**
Obraz mikroskopowy chromosomów żytnich w *Secale cereale*							
Obraz mikroskopowy chromosomów żytnich w *Triticale* LT 41/76							

Fig. 3. **Obrazy chromosomów żytnich w *Secale cereale* i *Triticale* LT 41/76 barwionych metodą prążków C (wg Weimarck 1975)**

1973; Rogalska 1974, 1977) opisywane było zjawisko zróżnicowania aneuploidalnego potomstwa *Triticale*. Interesujący jednak jest fakt, że równoczesne badania większej ilości zróżnicowanych co do pochodzenia wyjściowych materiałów *Triticale* pozwoliły stwierdzić, że stopień stabilizacji wyrażany procentem osobników euploidalnych w danej grupie był różny dla różnych grup (tabela 1); umożliwia to dokonanie selekcji materiałów wyjściowych już we wczesnych etapach prac hodowlanych, a ponadto rzuca światło na problem doboru komponentów rodzicielskich do krzyżowań pomiędzy pszenicą i żytem podnoszone również przez wielu badaczy *Triticale* (Sanches–Monge 1958; Szkutina i Chwostowa 1966; Szułyndin i Naumowa 1966; Müntizing 1957; Ruebenbauer i Nalepa 1970). Analizując skład chromosomalny osobników euploidalnych (2n=42) stwierdzono we wszystkich przypadkach, iż liczba ta była sumą diploidalnych liczb chromosomów gatunków wyjściowych, a więc zawierała siedem par chromosomów genomu A, siedem par chromosomów genomu B oraz siedem par chromosomów genomu R. Zjawiska substytucji chromosomalnej nie stwierdzono u badanych osobników euploidalnych. Zjawisko takie znane jest jednak u innych heksaploidalnych form *Triticale*. Substytucje chromosomalne prowadzące do zastąpienia niektórych chromosomów genomu R chromosomami genomu A lub B opisywała Rogalska (1977), badając identyfikację chromosomów genomu R w komórkach somatycznych 41 linii heksaploidalnych *Triticale*, określanych jako rewertanty morfologiczne do pszenicy. Jeżeli chodzi o osobników aneuploidalnych (tabela 3) w badanym materiale to za wyjątkiem jednego osobnika były to hypoaneuploidy wykazujące deficyt różnej ilości chromosomów przynależnych do różnych genomów.

Badania nasze tylko w pewnym stopniu potwierdziły pogląd innych badaczy (Lewitsky i Beneckaja 1931; Riley i Kimber 1961) zakładający, iż chromosomy genomu R w komórkach *Triticale* podlegają częściej eliminacji aniżeli chromosomy A i B. Okazuje się bowiem, że – sumarycznie rzecz biorąc – chromosomy genomu R podlegały eliminacji z nieco większą częstotliwością aniżeli pozostałe, to jednakże chromosom 5B był tym, który najczęściej podlegał eliminacji. Stwierdzenie tego faktu ma bardzo istotne znaczenie, gdyż w chromosomach tej pary zlokalizowane są geny determinujące regularną koniugację chromosomów homologicznych (Riley, Kempana 1963; Riley, Chapman 1963). Z hodowlanego punktu widzenia linie wykazujące tendencje do eliminacji chromosomów nie są przydatne jako materiały wyjściowe.

Wystąpienie wśród badanych aneuploidów osobników nullisomicznych w stosunku do niektórych chromosomów (tabela 3) stanowi dowód, że u *Triticale* nietypowe liczby chromosomów przekazywane są potomstwu zarówno za pośrednictwem gamet męskich jak i żeńskich. Wyniki badań Morrisona (1953), Searsa (1965), Rileya i Chapmana (1958) oraz innych nad pszenicą sugerują analogiczny mechanizm przekazywania potomstwu nieprawidłowych liczb chromosomów. Natomiast z badań Tsuchiya (1960) oraz Ramage (1955) nad liniami trisomicznymi jęczmienia wynika, że trisomia jest w przypadku tego gatunku przekazywana potomstwu wyłącznie za pośrednictwem gamet żeńskich. Podobnie u żyta (Rozmus 1965) nieprawidłowe liczby chromosomów wnoszone są do zygoty najczęściej za pośrednictwem gamet żeńskich.

Prowadzone w toku niniejszej pracy badania nad morfologią chromosomów wykazały, że chromosomy genomów A i B pochodzących od pszenic i chromosomy genomu R pochodzące od żyta zachowały swą indywidualność w komórkach mieszańców międzyrodzajowych jakimi są *Triticale*. Zaobserwowano jednak zmiany w morfologii chromosomów, któ-

re dotyczyły w większym stopniu chromosomów genomu R. Zmiany te mogą być skutkiem translokacji i delecji (Lukaszewski 1997; Ren, Zhang 1997) bądź też mogą wynikać z różnego czasu trwania replikacji chromosomów żytnich i pszenicznych.

Literatura

Krolow K.D. (1962), Z. Pflanzenzücht. 48: 177–196

Lewitsky G.A., Beneckaja K.G. (1931), *Trudy po Prikl.*, Bot. Genet i Sel. 27: 1–241

Lukaszewski A. (1997), Euphytica 94: 257–261

Morrison J.W. (1953), Heredity 7: 203–217

Müntzing A. (1930), Hereditas 13: 185–341

Müntzing A. (1939), Hereditas 25: 387–430

Müntzing A. (1957), Cytologia (suppl.) 51–56

Müntzing A., Hrishi N.J., Tarkowski Cz. (1963), Hereditas 49: 78–90

Nakajima G. (1952), Cytologia 17: 144–185

Nakajima G. (1956), Wheat Inform. Serv. 3: 27–28

Ramage R.T. (1955), Ph. D. Thesis Minesota Univ.

Ren Z. (1997), Science in China (Series C) 40/3: 323–331

Riley R. (1960), Heredity 15: 407–429

Riley R., Chapman V. (1958), Nature 182: 713–715

Riley R., Chapman V. (1963) Heredity 18: 473–484

Riley R., Kempana C. (1963), Heredity 18: 287–306

Riley R., Kimber G. (1961), Heredity 16: 275–290

Rogalska S.M. (1974), Genetica Polonica 15: 1–2

Rogalska S.M. (1977), Genetica Polonica 18: 317–324

Rozmus M. (1965), Acta Biol. Crac. 8: 113–121

Rozmus M. (1970), Rocz. Nauk.-Dydakt. WSP 39, Prace Botaniczne III: 65–75

Ruebenbauer T. (1976), *Biologia pszenicy*, PWN, Warszawa, 47–63

Ruebenbauer T., Gacek E. (1971), Biul. IHAR 3

Ruebanbauer T., Nalepa S. (1970), HRAiN 14: 4

Sanches-Monge E. (1958), I Internat. Wheat Genet. Sympos. Vinnipeg, Manitoba: 191–207

Sears E.R. (1965), Heredity 20 (suppl.) 29–45

Stefanowska S. (1973), Post. Nauk Roln. 73

Stefanowska S. (1977), Genetica Polonica 18: 309–315

Szkutina F.M., Chwostowa W.W. (1966), *Eksperimentalnaja poliploidia w selekcji rastienij*, Nauka, Nowosybirsk

Szułyndin A.F., Naumowa L.N. (1966), *Cytologia i Genetica*, Naukowa Dumka, Kijów

Tarkowski C. (1974), *Genetyka. Hodowla Roślin. Nasiennictwo*, PWN, Warszawa

Tsuchiya T. (1960), Jap. Journ. Bot. 17: 177–213

Weimarck A. (1975), Hereditas 79: 293–300