

METODY OTRZYMYWANIA SZTUCZNYCH POLIPLOIDÓW U ROŚLIN

A. KUŹDOWICZ

Zakład Cytologii i Genetyki IHAR — Bydgoszcz

Zaburzenia wywołane przez czynniki zewnętrzne w normalnym przebiegu podziałów komórkowych mogą prowadzić do powstania ras poliploidalnych. Zaburzenia te mogą wywrzeć wpływ na podziały somatyczne względnie na podziały redukcyjne przy tworzeniu komórek rozrodczych.

W pierwszym przypadku zmiana ulega somatyczna liczba chromosomów w komórkach, przy czym może ona zostać podwojona lub uwielokrotniona. Z takich zmienionych komórek powstają z kolei mniejsze lub większe partie tkanek, a także całe rośliny o zmienionej liczbie chromosomów. W przypadku drugim zakłócenia doznają podziały redukcyjne, w wyniku których powstać mogą komórki rozrodcze o niezredukowanej liczbie chromosomów. Ze złączenia się dwóch takich komórek może powstać organizm poliploidalny.

Znamy kilka metod służących do wywoływania zmian chromosomowych. Niektóre z nich, jak np. metoda wirówkowa czy regeneracyjna, mają już dzisiaj raczej historyczne znaczenie, inne, jak stosowanie zmiennych temperatur, są już bardzo rzadko stosowane. Najbardziej skuteczne i najwydatniejsze okazały się metody chemiczne, a szczególnie kolchicynowanie.

W metodzie wirówkowej poddaje się wirowaniu kiełkujące nasiona względnie młode roślinki. Pod wpływem wirowania jądra komórkowe zostają odrzucone na jedną ze ścian komórki, w wyniku czego nie dochodzi po kariokinezie do normalnej cytokinezy. Wirówkę, jako czynnik wywołujący zmiany chromosomalne, stosowano najpierw do roślin niższych, a dopiero Kostoff (1935) i Schwanitz (1938) zastosowali ją również do roślin wyższych. W badaniach Kostoffa działaniu wirówki poddane były kiełkujące nasiona jednego z gatunków tytoniu. Schwanitz zastosował tę metodę do młodych siewek buraka, przy czym czas działania wynosił 6 godzin przy 3000 obrotach na minutę. W wyniku tych zabiegów autorzy ci otrzymali rośliny z różnymi liczbami chromosomów.

Metodę regeneracyjną zastosowali po raz pierwszy Marschall'owie (1907). Obiektem ich badań był mech. Większego znaczenia metoda ta nabrała od chwili, kiedy Winklerowi (1916) udało się przez regenerację z kallusa odciętego pędu otrzymać pęd poliploidalny z rośliny diploidalnej. Doświadczenia te wykonał Winkler na gatunkach z rodziny psiankowatych. Otrzymane przez niego zregenerowane pędy były częściowo czystymi tetraploidami, a częściowo chimerami sektorialnymi z tkankami di- i tetraploidalnymi.

Planowe badania nad regeneracją kallusa przy dekapitacji roślin przeprowadził Jörgensen (1928). Okazało się, że po ścięciu albo po zranieniu pędu z regenerującego kallusa odrastają pędy, wśród których u jednych roślin częściej, u innych rzadziej mogą zdarzyć się tetraploidy.

Zjawisko występowania u diploidalnych roślin pojedynczych komórek albo grup komórek poliploidalnych znane było już dawno. Szczególną uwagę zwrócił na nie Winkler (1916), który u diploidalnych psianek stwierdził tetraploidalne partie tkanek. Jednak wszystkie te obserwacje, a także podobne, dokonane przez innych badaczy, traktowano raczej jako przypadkowe względnie jako anormalne zjawiska, gdyż nie zgadzały się one z powszechnie przyjętym poglądem o stałości liczby chromosomów we wszystkich komórkach danej rośliny. Dopiero badania Geitlera i innych cytologów wykazały jasno, że liczba chromosomów w komórkach somatycznych roślin, a także i zwierząt, ulegać może podwojeniu względnie uwielokrotnieniu, głównie dzięki procesowi nazwanemu endomitozą. Pod tym określeniem rozumiemy pomnożenie liczby chromosomów wewnątrz jądra podczas wzrostu jądra i komórki. Błona jądrowa zostaje przy tym zachowana i nie dochodzi do wytworzenia wrzeciona podziałowego. Zjawisko to zostało omówione w referacie H. Teleżyńskiego. Tutaj chcielibyśmy tylko zwrócić uwagę na to, że przy regeneracji i tworzeniu się kallusa zjawisko endomitotycznej poliploidyzacji odgrywa dużą rolę. Dzięki endomitozie w kallusie mogą powstać komórki tetraploidalne, które z kolei mogą dać początek pędom o takiej samej liczbie chromosomów.

Metoda regeneracyjna jako metoda sztucznego wytwarzania poliploidów może być jednak stosowana tylko u tych gatunków roślin, które wykazują łatwą zdolność regeneracji, np. pewne gatunki z rodziny psiankowatych. Nie nadaje się metoda ta również do tworzenia poliploidów na dużą skalę.

Dalszą metodą służącą do uwielokrotniania liczby chromosomów jest stosowanie szoku termicznego, który wywołuje zahamowanie mechanizmu rozchodzenia się chromosomów w czasie anafazy.

Już w 1892 r. Gierassimow zastosował tą metodę do wywołania zmian chromosomalnych w komórkach glonu skrętnicy. Niskie temperatury wywołały zaburzenia w podziałach mitotycznych, w wyniku czego powstały komórki tetraploidalne. Stosowanie krańcowych temperatur na tkanki somatyczne prowadzi jednak rzadko do celu. Metodę tę stosuje się głównie podczas podziałów redukcyjnych, a więc przy tworzeniu się komórek rozrodczych. Według Randolph'a (1932) zastosowanie bodźca termicznego daje najlepsze wyniki podczas pierwszego podziału zapłodnionej komórki jajowej, gdyż wtedy powstaje zarodek we wszystkich swych partiach poliploidalny; o ile temperatura zadziała dopiero na późniejsze podziały zygoty, to wtedy powstać mogą zarodki tylko częściowo poliploidalne, które mogą mieć znaczenie dla hodowcy tylko wtedy, o ile z takich sektorów poliploidalnych powstaną również kwiaty. Stosowanie tej metody wymaga jednak przeprowadzenia dokładnych badań wstępnych, a to w celu ustalenia czasokresu, jaki upływa między zapyleniem, a zapłodnieniem. Dopiero na tej podstawie można zastosować w odpowiednim momencie wyższą temperaturę. Sztucznie zapyłony kwiatostan przenosi się do kamery, w której panuje odpowiednia temperatura i powietrze nasycone parą. Wysokość temperatur w zależności od rośliny waha się w granicach od + 40

do + 47°C. Do kamery wstawia się nie całe rośliny, a tylko same kwiatostany, np. kłosa. Czas działania temperatury musi być również dla każdego obiektu ustalony za pomocą badań.

Stosując tę metodę Randolph (1932) uzyskał u kukurydzy 5% tetraploidów, Freisleben u owsa 5%, Dorsey (1936) u pszenic 3% oraz taki sam procent u mieszańców pszeniczno-żytnich (cyt. za Schwanitzem).

Metoda szoku termicznego znalazła większe zastosowanie w produkcji roślin ozdobnych (tulipany, hiacynty i petunie o dużych kwiatach). Do masowego stosowania metoda ta jednak nie nadaje się.

Regeneracja kallusa, a zwłaszcza nagłe zmiany krańcowych temperatur, odegrały na pewno ważną rolę w powstawaniu naturalnych poliploidów. Uszkodzenie roślin przez zwierzęta w warunkach naturalnych i regeneracja nowych pędów z takich roślin także mogła doprowadzić do powstania poliploidów. Ważną rolę w powstawaniu nowych ras poliploidalnych w naturze odgrywają gwałtowne zmiany temperatur. Dowodem tego mogą być obserwacje przeprowadzone w Pamirze. Baranow (1953) podaje, że w wyniku zaburzeń wywołanych przez niskie temperatury w podziale redukcyjnym u ziemniaka powstały w naturalnych warunkach formy poliploidalne odróżniające się wyraźnie od odmian wyjściowych.

Pewną rolę w indukowaniu poliploidalności odgrywają również promienie Rentgena oraz neutrony. Pod wpływem naświetlania tymi promieniami mogą powstać komórki dwujądrowe i poliploidalne. (Atabekowa, 1936 oraz Gustafsson i Mac Key, 1948). Promienie Rentgena i neutrony stosuje się jednak głównie dla wywołania mutacji genowych i strukturalnych w obrębie chromosomów. Do tych celów, zwłaszcza u roślin niższych, stosuje się również promienie ultrafioletowe.

Najbardziej wydajne i jednocześnie najłatwiejsze w zastosowaniu przy wywoływaniu sztucznej poliploidyacji okazały się metody chemiczne. Już w 1894 r. Gierassimow po udanych eksperymentach wywoływania poliploidalności za pomocą niskich temperatur uzyskał takie same efekty stosując eter, chloroform i wodzian chloralu. Również Nemeč w 1904 r. zastosował ten związek do tkanek wegetatywnych, a dopiero później Wettstein użył go do wywoływania zaburzeń w podziałach mejotycznych. Stosując injekcję wodzianu chloralu do puszek mchów, Wettstein otrzymał poliploidalne mchy.

Oprócz wodzianu chloralu wypróbowano cały szereg innych chemikaliów, jak chloroform, eter, acenaften, sublimat, kwaśny siarczyn sodu oraz dużą ilość alkaloidów, z których najlepsza okazała się kolchicyna. W ostatnich latach wypróbowane zostały także sulfonoamidy i antybiotyki.

Nie będziemy się dalej zatrzymywać nad stosowaniem tych różnych związków dla wywoływania poliploidalności, a omówimy szczegółowiej metody działania kolchicyną, które okazały się najlepsze i najpraktyczniejsze w użyciu.

Wpływ kolchicyny na przebieg podziałów komórkowych był już znany dawno fizjologom (Dixon, 1905). Jednak do badań nad wywoływaniem poliploidów u roślin wprowadzili kolchicynę dopiero w 1937 r. Blakeslee i Avery oraz Nebel i Ruttle. Mechanizm działania kolchicyny i innych środków mitotycznych jest tematem specjalnego referatu.

Do wywoływania poliploidalności stosowana była kolchicyna początkowo w roztworach wodnych, przy czym działaniu poddawane były kieł-

kujące nasiona. Metoda ta jest stosunkowo najłatwiejsza w użyciu, jednak uszkodzenia, jakich doznają wyrosłe z takich nasion rośliny i ich korzenie przy odpowiednio wysokich koncentracjach kolchicyny, są zbyt duże, a tym samym procent uzyskanych poliploidów jest niewielki. Metoda ta ma już dzisiaj zastosowanie tylko do tych roślin, których nie można traktować innym sposobem (rośliny o bardzo małych nasionach).

W 1938 roku Györffy wprowadza dość duże ulepszenie do techniki kolchicynowania, które polega na tym, że działaniu poddaje się nie nasiona, a same wierzchołki pędów. Autor ten nakładał na wierzchołki wzrostu młodych roślin watę namoczoną w odpowiednich roztworach kolchicyny (0,1 — 0,2%). Wata pozostawała na roślinach przez 3 — 5 dni. Później metodę tę zmodyfikowano w stosunku do pewnych roślin w ten sposób, że na młode ledwo widoczne zawiązki liściowe dawano wprost krople wodnego roztworu kolchicyny, względnie kolchicynę nakładano w postaci zawiesiny w agarze (1,5 — 2% dodatek agaru). Stosowano również kolchicynę jako pastę kolchicynowo-lanolinową. Metody te mogą być stosowane nie tylko na młodych siewkach, ale również na pączkach kątowych starszych pędów. Ujemną stroną tych metod jest to, że zbyt często należy się tu liczyć z możliwościami wystąpienia diploidalnych pędów przybyszowych. Dlatego konieczne jest stałe prowadzenie obserwacji i dokładne usuwanie wybijających się pędów diploidalnych.

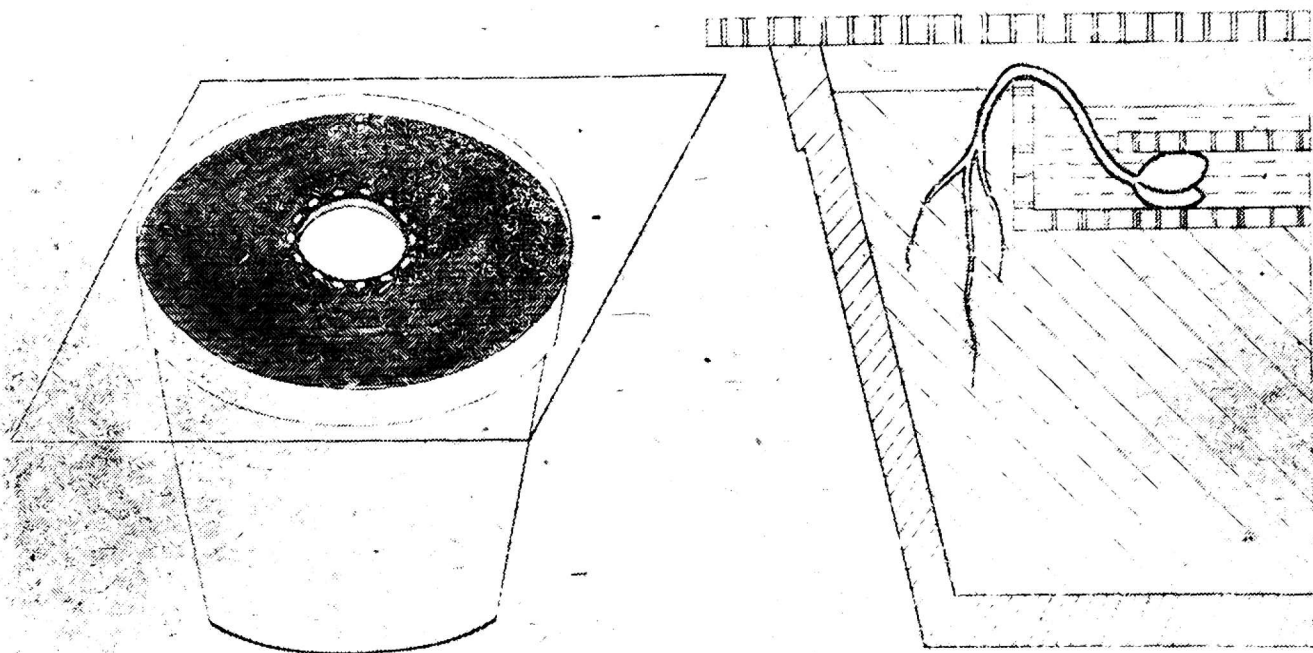
Inne modyfikacje metody traktowania kolchicyną tylko wierzchołków wzrostowych polegają na rozpylaniu wodnego roztworu kolchicyny na młode roślinki (Schwanitz, 1938) w zastosowaniu do buraków i warzyw.

Ze względu na dużą wrażliwość korzeni starano się chronić je przed bezpośrednim wpływem alkaloidu w różnoraki sposób. I tak w Svalöf (wg Levana, 1948) zanurza się do kolchicyny części szczytowe pędów nasienne buraków. Straub (1941) podaje, że najprostszy sposób traktowania wierzchołków wzrostu łodygi to wyjęcie młodych siewek z gleby i zanurzenie wierzchołkami do roztworu kolchicyny. Korzenie tak odwróconych roślin trzeba naturalnie chronić przed wyschnięciem (owinąć w wilgotną watę).

Esser (1953) podaje jeszcze inne modyfikacje tej metody. Do doniczki napełnionej ziemią inspektową wkładamy płytkę Petri'ego albo inne płytke naczynko, przy czym musi ona być zagłębiona na całą swą wysokość w ziemi. Następnie dookoła tej płytki sadzimy w małych odstępach nasiona tej rośliny, którą chcemy poddać działaniu kolchicyny. Kiedy, z nasion rozwiną się roślinki o odpowiednio długiej części podliścieniowej wtedy nalewamy do płytki kolchicyny i przeginamy roślinki tak, aby wierzchołki były zanurzone w kolchicynie. Płytką szklaną o dobranej średnicy przyciskamy wierzchołki wszystkich roślin, tak aby były całkowicie zanurzone w kolchicynie. Doniczkę dla zapobieżenia parowaniu roztworu nakrywa się płytą szklaną (rys. 1). Po zabiegu przepłukuje się rośliny w wodzie i przesadza, z chwilą gdy zaczną wyraźnie rosnać. Metoda ta może być jednak stosowana tylko do roślin o długim hypokotylu.

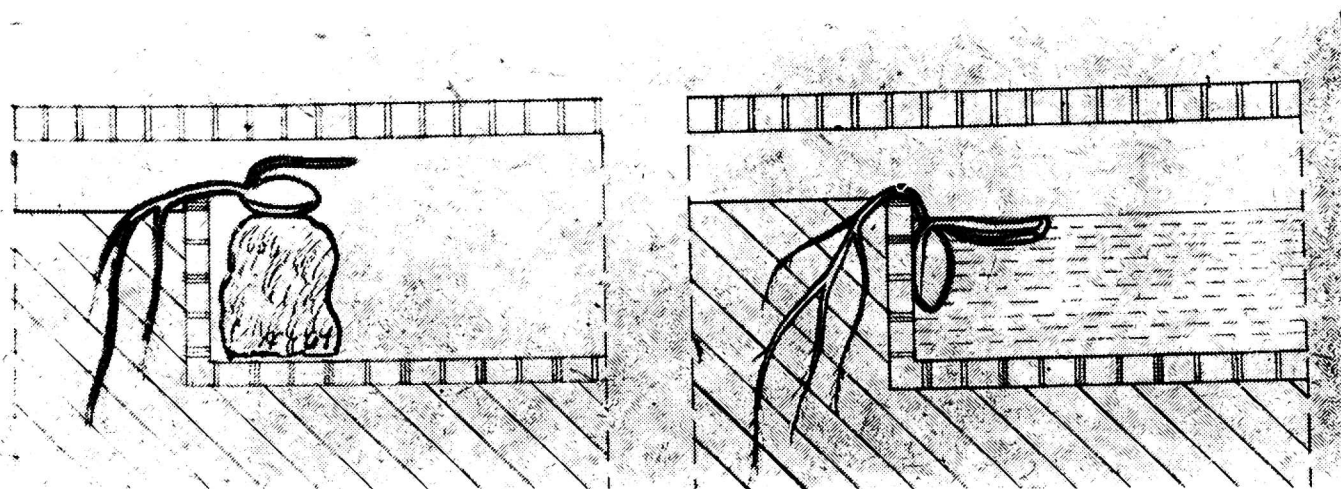
W zastosowaniu do traw metoda Essera przedstawia się następująco: Doniczka z płytką jest taka sama jak podana powyżej. Nasiono nie wysiewa się jednak do ziemi, a układa się na wałeczku z waty ułożonym w płytce. Na krótko przed wyjściem pierwszego liścia koleoptile zaczynamy kol-

chicynowanie. Usuwamy watę i nacinamy koleoptile lub rozrywamy igiełką, tak aby kolchicina mogła dojść do stożka wzrostu, z którego rozwinię się pierwszy pęd rośliny. Siewki wiszą teraz na korzonkach we wnętrzu płytki. Nie trzeba tu już dodawać płytki dla obciążenia, gdyż dzięki ciężarowi nasienia wierzchołki i tak zanurzają się w kolchicynie (rys. 2).



Rys. 1. Traktowanie roślin dwuliściennych.

Z l e w e j: doniczka z zagłębioną w ziemi szalką Petri'ego. Dookoła szalki wysiane nasiona. Całość przykryta płytą szklaną. Z p r a w e j: schematyczny przekrój przez doniczkę i szalkę Petri'ego, szalka wypełniona kolchicyną. Płytką szklaną wewnątrz szalki przytrzymuje wierzchołek wzrostu w kolchicynie. Doniczka przykryta płytą szklaną (wg Essera).



Rys. 2. Traktowanie siewek traw

Wycinki z schematycznego przekroju przez doniczkę i szalkę. Z l e w e j: kielki traw na waleczku waty wyłożonym wewnątrz szalki. Korzonki ponad krawędzią szalki wrastają w glebę. Koleoptile kieruje się do środka szalki. Z p r a w e j: nasienie z naciętym koleoptile zanurzone w kolchicynie (wg Essera).

Metody Essera są, jak widzimy, dość kłopotliwe w praktycznym zastosowaniu. Dlatego też wprowadza się ostatnio do kolchicynowania młodych siewek siatki o odpowiednich rozmiarach oczek, na których umiesz-

cza się roślinki, a następnie wstawia się taką siatkę do kolchicyny w ten sposób, że tylko wierzchołki pozostają zanurzone w roztworze. W naszym Zakładzie stosujemy do tych celów papier kartonowy, w którym wycina się odpowiednie otworki, a następnie, dla zapobieżenia nasiąkaniu, zanurza się go w parafinie.

Wszystkie wymienione tutaj metody traktowania kolchicyną (oprócz moczenia kiełkujących nasion) mają na celu daleko idącą ochronę systemu korzeniowego od tego alkaloidu.

Wyżej wymienionym metodom można przeciwstawić drugą grupę sposobów traktowania, w której działa się również na części łodygowe, jednak nie przez zanurzanie tych części w kolchicynie, lecz podawanie roztworów kolchicyny w sposób możliwie naturalny poprzez system tkanek przewodzących. Nawaszin i Gierassimowa (1940) poddają działaniu wodnych roztworów kolchicyny (0,2% przez kilka godzin) odcięte liście i kłącza, z których następnie regenerują całe rośliny. Wśród wyrosłych z takich regeneratów pędów może być duży procent poliploidów. Metoda ta ma jednak również ograniczone możliwości stosowania. Można ją wykorzystać tylko do takich obiektów, które wykazują zdolności regeneracyjne (np. gatunki z rodz. złożonych — mniszek). Ci sami autorzy stosowali również kolchicynę wprost poprzez korzenie, przy czym dla uniknięcia większych uszkodzeń systemu korzeniowego zalecają raczej krótkie jej oddziaływanie. Żebrak A. (1955) otrzymał tetraploidy gryki zanurzając korzeniami młode siewki tej rośliny w 0,0125% roztworze kolchicyny na okres 48 godzin. Również Wellensieck (1947), opierając się na podobnej zasadzie, zastosował w stosunku do zbóż dawki kolchicyny poprzez korzenie. Wellensieck zmodyfikował jednak tę metodę w ten sposób, że przerywał dawki kolchicyny zanurzając w międzyczasie korzenie do wody, a następnie znów do kolchicyny. Dzięki takiemu traktowaniu korzenie nie były tak silnie zatrutowane, jak przy stałym zanurzeniu w kolchicynie. Dalszą modyfikację metody dawkowania kolchicyny poprzez system korzeniowy wprowadził G. Rosen (1949). Młode roślinki buraków wyrosłe w ziemi podlewa on słabymi roztworami kolchicyny (0,4%) i za pomocą specyficznych warunków stara się o dobre działanie kolchicyny.

W naszym Zakładzie (praca nie opublikowana) dla uniknięcia naturalnego pobierania kolchicyny poprzez korzenie, a to w celu ochrony ich przed toksycznym działaniem tego alkaloidu, przeprowadziliśmy próby iniekcji kolchicyny poprzez łodygę. Na tej drodze trudno jest jednak wprowadzić kolchicynę do pędu, a sam efekt działania zależy tu w dużym stopniu od przypadku. Tą drogą usiłował również Oltmann (1950) wprowadzać roztwory kolchicyny do łodygi dla wywołania zmian chromosomowych.

Nową metodę traktowania kolchicyną, opartą również na zasadzie wprowadzania kolchicyny poprzez tkanki przewodzące rośliny przy jednoczesnej ochronie korzeni, opracowali Becker i Skiebe (1955). Pędy, albo części pędów, które mają być poddane działaniu kolchicyny, odcina się i wstawia do roztworu kolchicyny, a następnie szczepi się je na odpowiednio przygotowanej podkładce. Naturalnie metodę tę stosować można do roślin, które dają się łatwo szczepić. Ponieważ jednak technika szczepienia jest już dziś stosunkowo dobrze opracowana, istnieją więc dość duże możliwości zastosowania tej metody. Przy pomocy tej metody, jak podają wymienieni autorzy, udało się im uzyskać dużą liczbę czystych poliploidów.

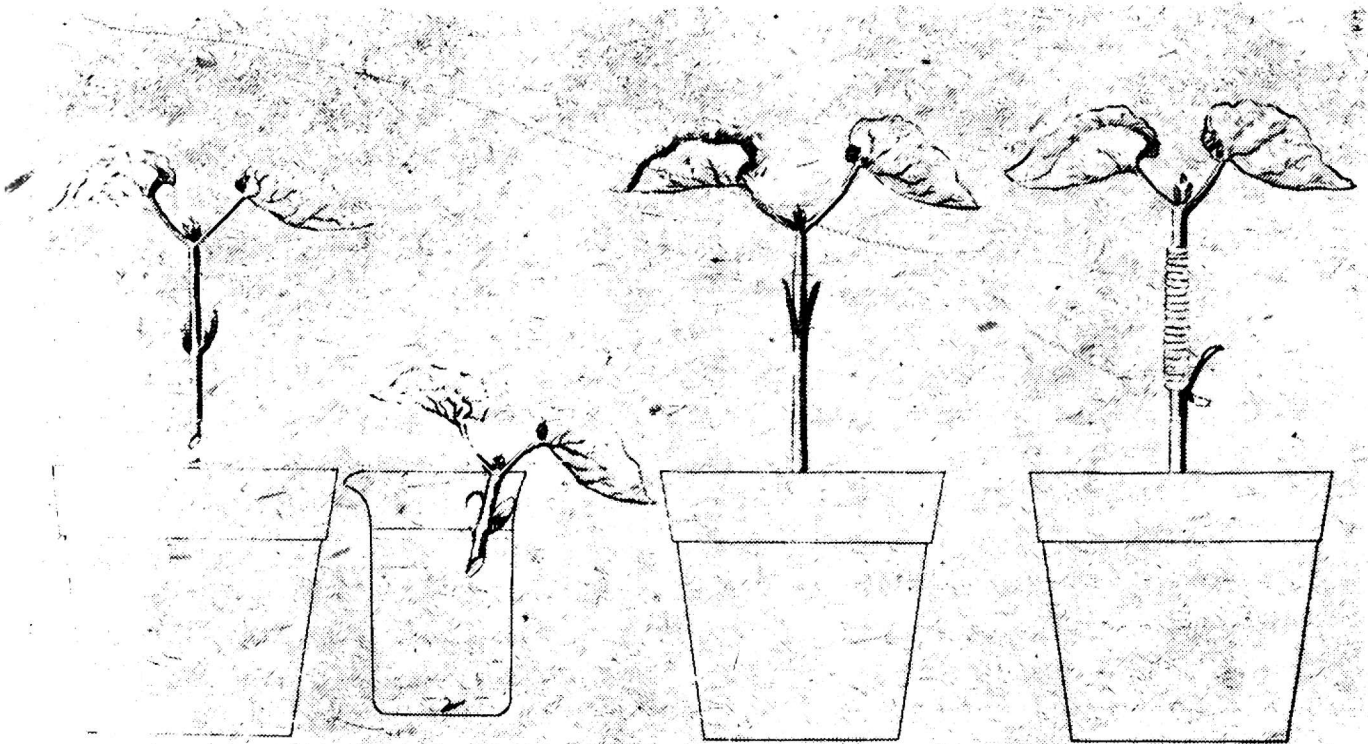
W przypadkach zanurzania wierzchołków pędów do kolchicyny powstają najczęściej pędy o charakterze chimer.

Rośliny przeznaczone do kolchicynowania tą metodą po rozwinięciu pierwszych liści ścina się w ten sposób, aby przyszyły zraz posiadał jak najdłuższą łodyżkę. Taki zraz wstawia się następnie do kolchicyny na okres 24 — 96 godzin. Koncentrację roztworu kolchicyny i czas jej działania trzeba wypróbować. Według danych autorów koncentracje te wahają się w granicach 0,01 — 0,1%, przy czym nie mogą być wyższe niż 0,1%.

W celu uniknięcia zatykania się tkanek przewodzących przez bańki powietrza ścina się koniec zraza ponownie po wstawieniu go do kolchicyny.

Po wyjęciu z kolchicyny tę część zraza, która była zanurzona w roztworze, trzeba naturalnie obciąć. Zraz taki po przycięciu szczepi się teraz na odpowiedniej podkładce.

Autorzy tej metody podają, że trzeba następnie przenieść na 14 dni zszczipione rośliny do pomieszczenia, w których wilgotność wynosi 90—95%, a temperatura 20°C. Nam się wydaje, że tak długie trzymanie szczipionych roślin w wilgotnych kamerach jest niepotrzebne. Większość gatunków zrasta się na ogół już po kilku dniach. Tak długi pobyt w tak nasyczonej wilgotnością atmosferze wydelikaca zbyt silnie rośliny.



— Rys. 3. Metoda kolchicynowania poprzez tkanki przewodzące w połączeniu ze szczepieniem (wg Beckera).

Również technika szczepienia przedstawiona przez autorów na załączonym rysunku (rys. 3) nie jest zbyt dobrze pomyślana. O ile podkładka pozbawiona jest zupełnie liści, to wtedy trudniej przyjmują się na niej szczepienia. Dlatego należałoby, naszym zdaniem, szczepić na podkładkach posiadających własny aparat asymilacyjny. Z własnej praktyki wiemy, że przy szczepieniach młodych rozwojowo zrazów na starszych podkładkach

lepiej udają się szczepienia za skórę niż szczepienia w klin, jak to polecają autorzy. Na podkładkę można również wziąć inny gatunek, bardziej żywotny pod względem wzrostu.

Oprócz młodych roślin można tą metodą kolchicynować również części roślin, np. pędy boczne. Może to mieć szczególne znaczenie dla prac nad mieszańcami międzygatunkowymi i międzyrodzajowymi przy przywracaniu im płodności przez poliploidyzację. Dzięki tej metodzie nie ryzykujemy straty takiego mieszańca.

Tak przedstawiałyby się w bardzo dużym skrócie różne metody stosowania kolchicyny. Z kolei należałoby zastanowić się nad tym, jakie stężenia kolchicyny i jakie czasy działania dają najlepsze wyniki.

Dla większości gatunków stężenia i czas działania zostały już ustalone. Wahają się one w granicach 0,01 — 0,2%. Straub (1941, 1950) wypowiada się za niższymi stężeniami przy dłuższym czasie działania, gdyż im silniejsza jest koncentracja kolchicyny tym bardziej toksycznie działa ona, a tym samym i mniej należy się spodziewać poliploidów. Pogląd Strauba popiera Becker i Skiebe (1953).

W naszym zespole stwierdziliśmy również, że zawsze lepsze efekty dawały niższe koncentracje kolchicyn, dłużej działające. Douwes (1952) wprowadził pojęcie tzw. dawki traktowania, którą oblicza się z przemnożenia procentu roztworu kolchicyny i czasu działania (np. 0,025% — 4 h = 0,10).

Efekt poliploidyzacji, zdaniem tego autora, jest taki sam czy zmienimy czas czy koncentrację, a więc np. 0,025% x 12 h czy 0,050 x 6 h. Autor ten opowiada się raczej za wyższymi koncentracjami w krótszym czasie działania. Dużą rolę w kolchicynowaniu odgrywa jednak temperatura, w jakiej przeprowadzamy sam zabieg. Najlepsze okazały się temperatury w granicach 23 — 26°C.

Należałoby tu jeszcze wspomnieć o technice kolchicynowania, stosowanej w Svälöf w Szwecji, gdzie hodowla sztucznych poliploidów jest może najbardziej zaawansowana. Wypróbowano tam szeroko różne metody stosowania kolchicyny. Dla większości roślin według Levana (1948) można zastosować następującą technikę:

R o ś l i n y d w u l i ś c i e n n e: 1,7% roztwór kolchicyny w 1—2% agarze. Nasiona wysiewa się rzędowo do skrzynek. Po wzejściu jeden rząd pozostawia się jako kontrolę. W pozostałych rzędach na roślinki za pomocą pędzelka nanosi się krople kolchicyny w agarze, przy czym pierwszy zabieg powinien być wykonany jak najwcześniej. Następnie za kilka dni po raz wtóry nanosi się kolchicynę w agarze. Zabiegi te powtarza się 3—4 razy. Te wszystkie rośliny, u których po zewnętrznych oznakach da się zauważyć wpływ kolchicyny, przesadza się po pewnym czasie i prowadzi się wśród nich dalszą selekcję tetraploidalnych sektorów chromosomowych. Największe stopnie poliploidalności uzyskuje się zwykle w wyniku silnego traktowania, przy którym przeżywa tylko niewielka ilość roślin.

R o ś l i n y j e d n o l i ś c i e n n e. Trawy i inne jednoliścienne rośliny wymagają pewnej modyfikacji tej techniki. Nasiona tych roślin skiełkowie się w piasku. Następnie pochewkę nasienną dookoła punktu wzrostu łodygi rozrywa się i tak odsłonięty kielek zanurza się do 0,25% roztworu kolchicyny na około 30 minut. Korzenie nie powinny wejść

w kontakt z kolchicyną. Za pomocą tej techniki otrzymano w Svalöf tetraploidy u żyta, jęczmienia i innych zbóż.

U roślin dwu- i wieloletnich opisana wyżej technika ma mniejsze znaczenie praktyczne, gdyż w ciągu długiego okresu rozwojowego tych roślin tkanki z podwójną liczbą chromosomów mogą zaniknąć, a tym samym nie wziąć udziału w tworzeniu komórek płciowych. Dlatego też u tych roślin traktuje się pędy kwiatowe. W zastosowaniu do buraków cukrowych opracowano w Hilleshög następującą technikę: młode pędy kwiatowe zanurza się w próbówce z 2% roztworem kolchicyny, gdzie pozostają one przez dwa dni. Część zanurzona w kolchicynie ginie, a na niższych bocznych pędach rozwijają się zmienione kwiaty, przy czym wpływ kolchicyny jest silniejszy na górnych, a słabszy na dolnych partiach pędu. Na takich bocznych pędach prowadzi się selekcję na podstawie wielkości pyłku i odpowiednie pędy tetraploidalne krzyżuje się między sobą. Nowsze prace z zakresu produkcji sztucznych poliploidów u różnych roślin uprawnych opublikowali ostatnio Bragdoll (1955) i Bremer-Reinders (1952).

Rośliny traktowane kolchicyną, a także pierwsze pokolenia tych roślin, zawiązują na ogół małe ilości nasion, które poza tym są przeważnie źle wykształcone, a zarodek ich jest słabo rozwinięty. Nasiona te słabo kiełkują i przy zwykłym wysiewie wiele z nich przepada. Dlatego też dla uzyskania jak największej ilości siewek z takich nasion trzeba często zastosować taką metodę kiełkowania, jaką stosuje się do nasion mieszańcowych. Postępuje się z nimi w następujący sposób. Dezynfekuje się je przez 20 min. w 3% wodzie utlenionej, płucze się w ciągu 30 min. w wodzie i przez noc moczy się na bibule w przegotowanej wodzie wodociągowej. Następnie nacina się łupinę nasienną lub usuwa się ją zupełnie. Po ukazaniu się korzenia zarodkowego przenosi się je na pożywkę (1,3% agar z rozcieńczonym do 50% roztworem pożywki Knoppa). Kiedy uzyskają odpowiednią wielkość, pikuje się je do ziemi (K. Wangenheim, 1954). Metodę tę wypróbowaliśmy w naszym zakładzie do trudno kiełkujących nasion różnych roślin. Dzięki niej uzyskuje się prawie 100% kiełkowania nasion.

Reasumując, trzeba stwierdzić, że dzięki metodzie kolchicynowania hodowcy mają szerokie możliwości produkowania sztucznych poliploidów. Samo produkowanie poliploidów u niektórych gatunków roślin nie przedstawia już dziś specjalnych trudności, gdyż dobierając do każdej rośliny odpowiednią metodykę, można zawsze dojść do celu. Dłużej trwająca jest jednak następna, najważniejsza część pracy, a mianowicie selekcja w obrębie wyprodukowanych sztucznie form. Dopiero z tą chwilą rozpoczyna się właściwa twórcza rola hodowcy.

LITERATURA

1. A t a b e k o w a A. (1936): Die Wirkung der Röntgenbestrahlung ruhender und keimender Samen. *Protoplasma*, 25, s. 234.
2. B e c k e r G. und S k i e b e K. (1955): Eine neue Methode der Colchicinbehandlung. *Züchter*, 25, s. 161—163.
3. B l a k e s l e e A. F. and A v e r y A. G. (1937): Methods of inducing doubling of chromosomes in plants. *Journ. of Heredity*, Vol. 28, s. 393 — 411.
4. B r a g d o M. (1955): Production of polyploids by colchicine. *Euphytica*, Vol. 4, s. 76 — 82.

5. Bremer - Reinders and Bremer G. (1952): Methods used for producing polyploid agricultural plants. *Euphytica*. Vol. 1, s. 87 — 94.
6. Douwes H. (1952): Colchicine treatment of young cotton seedling as a means of inducing polyploidy. *Journ. of Genetics*, nr 51, s. 7 — 25.
7. Esser K. (1953): Eine Eintauchmethode zur Colchicinbehandlung. *Züchter*, 23, s. 148 — 150.
8. Gierasimoff J. J. (1902): Abhängigkeit der Grösse der Zelle von der Menge ihrer Kernmasse. *Z. Allg. Physiol.* 1, s. 220.
9. Gustafsson A. — McKey J. (1948): The genetical effects of mustard gas substances and neutrons. *Hereditas* 34, s. 371 — 386.
10. Györfy B. (1940): Die Colchicinmethode zur Erzeugung polyploider Pflanzen. *Züchter* 12, s. 139 — 149.
11. Jørgensen C. A. (1928): The experimental Formation of heteroploid Plants in the Genus *Solanum*. *Journ. of Gen.* 19, s. 133.
12. Kostoff D. (1935): Chromosome aberation by centrifuging. *Z. ind. Abst. u. Vererb. Lehre* 69, s. 301.
13. Levana A. (1948): Citogeneticzeskij otdiel. 1931 — 1947 r. Svalöfskaja Sielekcjonnaja Stancja. Moskwa 1955. Tłum. z angielskiego.
14. Müntzing A. (1948): Iskusstwiennaja poliploidia ziernowych kultur Svalöfskaja Sielekcjonnaja Stancja. Moskwa 1955. Tłum. z angielskiego.
15. Nawaszin M. S. i Gierasimowa E. N. (1940): Wwiedienije kolchicina czerez koreń dla połuczenija poliploidalnych rastienij. *Dokl. Akad. Nauk. SSSR*, 26, s. 609 — 612.
16. Nemeč B. (1904): Über die Einwirkung des Chloralhydrats auf die Kern- und Zellteilung. *Zt. Bot.* 39, s. 645 — 730.
17. Nebel B. R. and Ruttle M. I. (1938): The cytological and genetical significance of Colchicine. *Journ. of Heredity* 29, s. 3 — 9.
18. Oltmann W. (1950): Die Herstellung polyploider Pflanzen mit Hilfe von Colchicin — Injektionen. *Züchter* 20, s. 209 — 210.
19. Randolph L. F. (1923): Some effects of high temperature on polyploidy and other variations in maize. *Prac. Nat. Acad. Sci.* 18.
20. Rosen G. (1949): Problems and Methods in the Production of Tetraploids within the Genus *Beta*. *Soeker* 10, s. 197—217.
21. Schwanz F. (1937): Experimentelle Erzeugung polyploider Pflanzenrassen. *Forsch. dienst* 4, s. 455 — 463.
22. Schwanz F. (1938): Die Herstellung polyploider Rassen bei Beta — Rüben und Gemüsearten durch Behandlung mit Colchicin. *Züchter* 10, s. 278 — 279.
23. Straub J. (1941): Wege zur Polyploidie, Berlin.
24. Wangenheim K. H. (1954): Ursache von Kreuzungsschwierigkeiten. *Ztschr. Pflanz.* 34, s. 7 — 18.
25. Wellensieck S. J. (1947): Methods for producing triticals. *Journ. of Heredity*, 38, s. 167 — 173.
26. Winkler H. (1916): Über die experimentelle Erzeugung von Pflanzen mit abweichenden Chromozomenzahlen. *Zeitschr. Bot.* 8, s. 417 — 531.
27. Żebrak A. R. i E. H. (1955): Izmienčiwost mieżsortowych amfidiploidow greczichi. *Bot. Żurn.* 40, nr 2, s. 180—199.