

TOMASZ ILNICKI

*Instytut Botaniki Uniwersytetu Jagiellońskiego
Kopernika 27, 31-501 Kraków
E-mail: tomaszilnicki67@gmail.com*

PODSUMOWANIE CYTOTAKSONOMICZNO-GEOGRAFICZNYCH BADAŃ WYBRANYCH GATUNKÓW Z RODZAJÓW *POTENTILLA* (ROSACEAE), *HIERACIUM* I *PILOSELLA* (ASTERACEAE) ORAZ *ACONITUM* (RANUNCULACEAE) NALEŻĄCYCH DO RÓŻNYCH GRUP FILOGENETYCZNYCH MAGNOLIOPSIDA

WSTĘP

Rodzaje *Potentilla*, *Hieracium*, *Pilosella* i *Aconitum* należące do dwuliściennych (Magnoliopsida) różnią się stopniem zaawansowania ewolucyjnego. *Aconitum* należy do rodziny Ranunculaceae, obejmującej prawie wyłącznie rośliny zielne. Bywa, że kwiaty mają jeszcze wydłużoną oś ze skrętolegle osadzonymi słupkami. Rzadko można wyróżnić kielich i koronę, przez co nawiązują one do prymitywnych magnoliowców. Listki okwiatu są zawsze wolne. Skrętolegle ułożone pręciki są podzielone na nitkę i pylnik. Kwiaty mogą być bardzo wyspecjalizowane, jak u *Aconitum*, o kształcie grzbiecistym, ale najczęściej mają symetrię promienistą. Owocem jest najczęściej mieszek. Rodzina Rosaceae, do której należy *Potentilla* zawiera drzewa, krzewy i rośliny zielne. Kwiaty są u nich najczęściej zróżnicowane na kielich i koronę, pięciokrotne, ale z apokarpijnym słupkiem u wielu przedstawicieli rodziny, przez co przypominają one jeszcze najprymitywniejsze Angiospermae. Posiadają jądrowy typ rozwoju bielma (SOLTIS i SOLTIS 2004). Owoce mogą być złożone z mięsistych pestkowców lub suche, w postaci drobnych orzeszków (*Potentilla*). Można tę rodzinę zaliczyć do średniozaawansowanych ewolucyjnie dwuliściennych. Ostatnia z omawianych rodzin (Asteraceae) jest najbardziej zaawansowana ewolucyjnie, co wyraża się w jej wysokiej pozycji na drzewie filogenetycznym (KORNAŚ i MEDWECKA-KORNAŚ 2002). Kwiaty *Hieracium* i *Pilosella* mają grzbiecistą

i mocno uproszczoną budowę, a ich kielich tworzy wieniec włosków określany puchem kielichowym. Kwiaty są umieszczone na rozszerzeniu osi łodygi zwanym osadnikiem, tworząc kwiatostan zwany koszyczkiem. Występuje tutaj komórkowy typ rozwoju bielma (SOLTIS i SOLTIS 2004). Owocem jest charakterystyczna niełupka, opatrzona na szczycie wieniec włosków powstałych z przekształcenia puchu kielichowego.

Uzyskane wyniki badań cytogenetycznych (kariologiczne dotyczące jądra komórkowego) były wykorzystane w celach biosystematycznych zarówno w wyjaśnianiu przebiegu ewolucji, jej kierunku w obrębie gatunku i rodzaju, w połączeniu ze zjawiskami migracji gatunków i zasiedlania przez nie nowych terenów, jak i w ustalaniu ich pochodzenia (SZELĄG i współaut. 2007; MITKA i współaut. 2007; ILNICKI i KOŁODZIEJEK 2008; ILNICKI i MITKA 2009, 2011; ILNICKI i współaut. 2010, 2011; ILNICKI i SZELĄG 2011; SZELĄG i ILNICKI 2011). Umożliwiły także dokonanie pewnych międzyrodzajowych porównań związanych z budową chromosomów i kariotypu gatunków należących do różnych grup filogenetycznych Magnoliopsida. Badania te opierały się zarówno na najprostszymi wynikach z ustalonych liczb chromosomowych u badanych taksonów, jak i na znacznie bardziej szczegółowych danych chromosomowych uzyskanych z użyciem metod różnicowego barwienia c-banding (heterochromatyna) i fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (rDNA) oraz pomiarów ilości 2C DNA.

Badania tego typu mogą być następnie pogłębiane przez inne analizy wykorzystujące metody biologii molekularnej, w tym m.in. sekwencjonowanie DNA i tworzenie bibliotek sekwencji nukleotydowych (ang. bacterial artificial chromosome, BAC), w połączeniu z hybrydyzacją *in situ*: fluore-

scencyjną hybrydyzacją *in situ* (FISH) i/lub genomową hybrydyzacją *in situ* (GISH) w celu dokładnego poznania struktury molekularnej chromatyny oraz tworzenia fizycznych map genowych badanych gatunków (IŁNICKI 2014).

EWOLUCJA RETIKULARNA

We wszystkich omawianych rodzajach Magnoliopsida stwierdzono powszechne występowanie zjawisk hybrydyzacji i poliploidyzacji (GREGORY 1941, MÜNTZING i MÜNTZING 1941, NYLEHN i współaut. 2003, MRÁZ i PAULE 2006, IŁNICKI i MITKA 2009, IŁNICKI i SZELAĞ 2011). Zjawiska te nastąpiły w minionych epokach historii ziemi u większości gatunków okrytozalążkowych i są źródłem zmienności genetycznej generowanej przez krzyżówki międzygatunkowe. Odpowiadają one w efekcie za ewolucję zwaną retikularną (siateczkową) (GOLDBLATT 1980, LEWIS 1980, MASTERSON 1994, FRANCISCO-ORTEGA i współaut. 1996, SOLTIS i współaut. 2003, WISSEMAN 2007, ROGALSKA i współaut. 2007).

Przyjmuje się, że większość gatunków poliploidalnych stanowią allopoliploidy powstałe na skutek wcześniejszej hybrydyzacji (WISSEMAN 2007, ROGALSKA i współaut. 2007). Taki allopoliploid posiada, w zależności od historii jego powstania, dwa lub więcej rodzajów genomów (każdy rodzaj genomu występuje w komórce organizmu przynajmniej w podwojonej liczbie). Istnieje też inny pogląd, według którego autopoliploidy posiadające zwielokrotniony (więcej niż dwa) genom jednego rodzaju występują dużo częściej niż dotychczas sądzono (SOLTIS i współaut. 2003). Z kolei rzadkim przypadkiem jest zjawisko homoploidalności, czyli występowania płodnych mieszańców na wyjściowym poziomie ploidalności, bez zwielokrotnienia liczby chromosomów drogą poliploidyzacji. Mieszańce te są nierówno rozmieszczone w grupach taksonomicznych. Tylko 6–16% rodzajów posiada takie taksony (ELLSTRAND i współaut. 1996). Powodem tak rzadkiego ich występowania jest częsty brak koniugacji chromosomów w mejozie, wynikający z różnic w budowie chromosomów pochodzących od różnych gatunków. Przykładami mieszańców płodnych są *Gilia achilleaefolia* (STACE 1993), *Aconitum × gayeri*, *A. × pawlowskii* (IŁNICKI i MITKA 2011), *Hieracium × krasani* (MRÁZ i współaut. 2005,

2011) i *H. × grofae* (CHRTEK i współaut. 2006). Homoploidy ze względu na 50-krotnie częstsze produkowanie niezredukowanych gamet stanowią formę przejściową w powstawaniu allopoliploidów (RAMSEY i SCHEMSKE 1998). Wymieniony wcześniej *H. × krasani* jako krzyżówka, która powstała z udziałem dwóch gatunków: *H. alpinum* i *H. transylvanicum*, uczestniczył dodatkowo w powstaniu rośliny allotetraploidalnej przez krzyżówkę wsteczną z *H. alpinum* lub mieszańcową rośliną pochodzącą z krzyżówki (MRÁZ i współaut. 2005, 2011).

Uważa się powszechnie, że poliploidy o mieszańcowym pochodzeniu, z dużymi modyfikacjami genetycznymi, są bardziej ekspansywne i posiadają wyższy, niż ich diploidalni rodzice, potencjał ewolucyjny pozwalający zasiedlać nowe tereny (ADAMS i WENDEL 2005, TE BEEST i współaut. 2012, GÓRALSKI i współaut. 2013). W takich przypadkach możemy mieć do czynienia np. z rozpoznaniem allopoliploidem, u którego nastąpiła przebudowa genomów [translokacje chromosomowe, częściowa utrata lub modyfikacja genów (subfunkcjonalizacja), zmiana wzoru ekspresji genów (efekt pozycji) czy częściowa eliminacja repetytywnych sekwencji] (SOLTIS i współaut. 2003). Badania porównawcze chromatyny interfazowej i chromosomów mitotycznych u uzyskanego z hodowli eksperymentalnej mieszańca *Cattleya waltersiana* × *schoenbrunnensis* i jednego z jego rodziców *C. schoenbrunnensis* (Orchidaceae) *in vivo* i *in vitro* pokazują wyraźną niestabilność cytologiczną u tego pierwszego pod względem liczby chromosomów i struktury jąder interfazowych z heterochromatynowymi chromocentrami (KOBYLEC i współaut. 2009). Ten przykład z badań eksperymentalnych pokazuje, jakim przemianom w naturze może podlegać kariotyp nowopowstałego taksonu mieszańcowego, które generują niekiedy jego wielki potencjał ewolucyjny umożliwiający zdobycie nowych nisz ekologicznych. Takim mocno ekspansywnym gatunkiem okazał się

allopoliploid *Aconitum firmum*, którego różne podgatunki występują na południu Europy w Karpatach Południowych, a dalej na

połnoc, w Karpatach Zachodnich i Alpach (MITKA i współaut. 2007, ILNICKI i współaut. 2009).

APOMIKSJA

Wybrane rodzaje *Potentilla*, *Hieracium*, *Pilosella* i *Aconitum*, ze względu na dużą liczbę występujących u nich gatunków poliploidalnych [wg IWATSUBO i NARUHASHI (1991) takich gatunków *Potentilla* jest 77%], są odpowiednie do prowadzenia badań hybrydyzacji i poliploidyzacji w celu lepszego zrozumienia ewolucji tak odmiennych grup taksonomicznych jak Ranunculaceae, Rosaceae i Asteraceae, w których występuje, związana z tymi zjawiskami, agamospermia, będąca apomiktycznym (wegetatywnym) sposobem rozmnażania. (MÜNTZING i MÜNTZING 1941; SKALIŃSKA 1967, 1968; GADELLA 1984; NYLEHN i współaut. 2003; MRÁZ i PAULE 2006; KRAHULEC i współaut. 2008; ILNICKI i KOŁODZIEJEK 2008; ILNICKI i MITKA 2009, 2011; ILNICKI i SZELĄG 2011; NOVIKOFF i MITKA 2011; RANI i współaut. 2012). Jest ona wyjątkowym sposobem reprodukcji roślin okrytozalążkowych, choć też z udziałem nasion, polegającym na pominięciu częściowym lub całkowitym procesu mejozy komórki macierzystej megaspor i powstaniu niezredukowanego pod względem liczby n woreczka zalążkowego. Może się to odbywać na dwa sposoby: albo woreczek zalążkowy rozwinie się z niezredukowanej komórki archesporu, u której nastąpiło zahamowanie mejozy (diplosporia charakterystyczna dla *Hieracium*), albo z innej komórki nucellusa (aposporia u *Pilosella*). Jedna z komórek woreczka zalążkowego rozwija się, z pominięciem zapłodnienia, w zarodek, z którego powstaje nowy organizm, identyczny z rośliną macierzystą ze względu na brak rekombinacji genetycznej towarzyszącej normalnie rozmnażaniu płciowemu (CZAPIK 1977).

W rodzinie *Ranunculaceae* zanotowano niewiele przypadków taksonów rozmnażających się drogą agamospermii (w kompleksie *Ranunculus auricomus* i *R. kuepferi*) (IZMAŁOW 1966, 1996; HÖRANDL 2010). U *Potentilla* (Rosaceae) agamospermia występuje stosunkowo często, choć zdecydowana większość gatunków rozmnaża się drogą płciową (RANI i współaut. 2012). W badaniach ILNICKIEGO i KOŁODZIEJKA (2008) określono dla obszaru Polski liczbę chromosomów $2n$ u gatunków z apomiktycznej grupy *Potentilla*

collina ($2n = 35$), w tym nieznaną dotychczas liczbę u gatunków *P. wimanniana* ($2n = 35$) i *P. leucopolitana* var. *schultzei* f. *koernickei* ($2n = 35$). Poza tym potwierdzono liczbę $2n$ dla dwóch blisko spokrewnionych gatunków: *P. argentea* ($2n = 35$) i *P. incana* ($2n = 28$). Brak widocznych różnic pomiędzy genomami badanych gatunków z grupy *P. collina* umożliwił ustalenie wspólnego dla nich uśrednionego kariotypu, który posiada siedem typów chromosomowych stanowiących podstawową (genomową) liczbę chromosomów ($x = 7$). Warto nadmienić, że w przypadku tego gatunku zbiorowego dużym utrudnieniem w podawaniu faktycznej liczby $2n$ jest obecna w merystemach korzeni polisomatyczność polegająca na występowaniu części komórek merystematycznych korzenia z odmiennymi niż u większości komórek liczbami chromosomów. Podobne zjawisko wyrażające się w mozaikowym wzorze tkanek merystemu obserwowane było u gatunków w rodzajach: *Batrachium* (ZALEWSKA-GAŁOŚZ i współaut. 2015), *Caltha* (CIEŚLAK i współaut. 2000) oraz *Bromus* (KULA 1999).

Rodzaje *Hieracium* i *Pilosella* (Asteraceae) szczególnie obfitują w gatunki apomiktyczne i poliploidy. W rodzaju *Hieracium* tylko 5% gatunków na Półwyspie Bałkańskim to płciowo rozmnażające się diploidy; na Półwyspie Iberyjskim stanowią one 24% (SZELĄG i współaut. 2007, SZELĄG i ILNICKI 2011). Oba rodzaje są słabo poznane pod względem szczegółowej struktury kariotypu. Różni autorzy ograniczali się najczęściej do podania tylko liczby chromosomów $2n$ (MRÁZ 2001, CHRTEK i współaut. 2004, CASTRO i współaut. 2007, ILNICKI i SZELĄG 2011) lub do przedstawienia ogólnej budowy kariotypu (FEDERICO i FIORINI 1996, COŞKUNCELEBI i HAYIRLIO LUAYAZ 2006). Pierwsze, szczegółowe badania cytogenetyczne zostały przeprowadzone w tej grupie u *Hieracium transylvanicum* z wykorzystaniem klasycznej metody barwienia chromosomów błękitem toluidyny oraz FISH (ILNICKI i współaut. 2010). Gatunek ten należy do „mniejszości” rozmnażającej się płciowo w rodzaju *Hieracium*. Występuje często na terenie o charakterze refugialnym (Bałkany). Z tego powodu szczegółowa ana-

liza jego kariotypu jako gatunku wyjściowego (ang. basic species) jest bardzo istotna w kontekście rozważań filogenetycznych i w rozwikłaniu zagadki apomiksji w celach hodowlanych (ILNICKI 2011). U *H. transylvanicum* nie stwierdzono żadnych istotnych odchyśleń w organizacji kariotypu pod względem ilości i dystrybucji sekwencji rDNA w genomie zarówno w klasycznych analizach, jak i metodą FISH, pomimo tego, że u roślin zazwyczaj te sekwencje należą do najbardziej zmiennych (SCHUBERT 1984; HASTEROK

i współaut. 2001; FULNEČEK i współaut. 2002; ILNICKI i współaut. 2009, 2010; ILNICKI i MITKA 2011). Stałość genomu potwierdza więc reliktowy charakter gatunku. Równolegle z naszymi badaniami były prowadzone inne z wykorzystaniem metody FISH, ale tym razem u jednoliściennych, na diploidalnym, seksualnym gatunku trawy *Brachiaria brizantha*, należącym do grupy taksonomicznej razem z blisko spokrewnionymi do niego apomiktycznymi i poliploidalnymi gatunkami (NIELSEN i współaut. 2010).

CYTOTAKSONOMIA I CYTOGEOGRAFIA

Czterdzieści pięć gatunków zostało zbadanych jedynie pod względem liczby i morfologii chromosomów (ILNICKI i SZELĄG 2011, SZELĄG i ILNICKI 2011). Tego typu dane mają znaczenie fitogeograficzne. Na przykład diploidalny *Hieracium alpicola* subsp. *glandulifolium* = *Pilosella serbica* został odkryty w rejonie Bałkanów. Wcześniej znano przedstawicieli grupy *H. alpicola* tylko z Tatr (diploid) i Alp (tetraploid), a później z rumuńskich Karpat (SZELĄG i współaut. 2007, SZELĄG i ILNICKI 2011). Nie bez znaczenia było również ustalenie poziomu ploidalności taksonów. W tej grupie gatunków poliploidy bardzo często rozmnażają się drogą agamospermii (MRÁZ i SZELĄG 2004, ROTREKLOVÁ i współaut. 2005). Stopień ploidalności jest pośrednią wskazówką na taksonomiczne i filogenetyczne związki między taksonami (SZELĄG i współaut. 2007). Do istotnych odkryć z udziałem znawcy *Hieracium*, Z. Szeląga, należy zaliczyć znalezienie i opisanie dla taksonomii kilku nowych gatunków tego rodzaju, pochodzących z południowej Europy (w tym z Bałkanów), dla których zostały też podane liczby chromosomowe $2n$ (ILNICKI i SZELĄG 2011; SZELĄG i ILNICKI 2011).

W rodzaju *Aconitum* zbadano cytogenetycznie dziesięć gatunków europejskich z dwóch sekcji: diploidalnej *Cammarum* ($2n = 16$) i tetraploidalnej *Aconitum* ($2n = 32$). Poza podaniem liczby chromosomów $2n$ dla sekcji *Cammarum* dodatkowo przeprowadzono szczegółową analizę chromosomów z organizatorami jąderka (NOR). Okazało się, że niektóre gatunki o gruczołowym owłosieniu z serii *Toxicum*: *A. toxicum*, *A. lasiocarpum* i *A. degenii*, wykazują utrwaloną heterozygotyczność strukturalną pary 1. i 3. chromosomów z organizatorem jąderka. Wyraża się to w tym, że tylko jeden z chromoso-

mów danej pary homologów z NOR posiada dobrze widocznego satelitę przy organizatorze jąderka (zjawisko dominacji jąderkowej u mieszańców). To zróżnicowanie objawia się też w różnej wielkości segmentów heterochromatynowych zlokalizowanych w obszarze występowania satelity (JOACHIMIAK i współaut. 1999). Z kolei chromosomy z NOR u *A. variegatum* z serii *Variegata* nie wykazały takiego zróżnicowania w klasycznej analizie morfologii chromosomów i z c-binding (ILNICKI i MITKA 2011). Na podstawie tych analiz potwierdzono podział sekcji *Cammarum* na dwie serie: *Toxicum* i *Variegata*. Z kolei rozmieszczenie heterochromatyny w kariotypie *A. firmum* z sekcji *Aconitum* wskazuje na jego mieszańcowe pochodzenie z krzyżówki pomiędzy cytotypem zachodniokarpackim *A. variegatum* a sudeckim *A. plicatum* (MITKA i współaut. 2007, ILNICKI i MITKA 2009, MITKA 2012). Dodatkowe badania z wykorzystaniem metody FISH potwierdziły wcześniej uzyskany wynik (ILNICKI i współaut. 2009). Poza tym, na podstawie dystrybucji i wielkości segmentów heterochromatynowych w kariotypie udowodniono mieszańcowe pochodzenie *A. ×pawlowskii* z krzyżówki pomiędzy cytotypem *A. lasiocarpum* subsp. *kotulae* i tatrzańskim *A. variegatum* (ILNICKI i MITKA 2011). *A. ×pawlowskii* został wcześniej opisany przez MITKĘ i STARMÜHLERA (2000).

Szeroko zakrojone badania zmienności cytogenetycznej *A. variegatum* z terenu Karpat Zachodnich i okolic (Wyżyna Małopolska i Śląska) przeprowadzono z wykorzystaniem metody c-binding (ILNICKI i współaut. 2011). Dziewięć zbadanych populacji tego gatunku wykazuje dużą zmienność w procentowej zawartości heterochromatyny w kariotypie w przedziale od 8,8 do 16,8%. Polimorfizm ten wyra-

za się szczególnie dobitnie w zróżnicowanym występowaniu segmentów niecentrycznych (poza centromerem). Różnice w zawartości tej frakcji nie mają przełożenia na zawartość DNA, która nie wykazuje istotnej zmienności (dane niepubl.). Obecność wyjątkowo ubogich w heterochromatynę cytotypów, wyróżniających się na tle innych zbadanych cytotypów gatunku, wskazuje na refugialny charak-

ter Wyżyny Małopolskiej, Gorców i Pienin. Badania MITKI i KOZIOLA (2009) nad *A. moldavicum* prowadzą do podobnych wniosków, że rejon Wyżyny Małopolskiej jest „prastarym” miejscem występowania tego gatunku. Z kolei badania PAWŁOWSKIEGO (1991) udowodniły, że w tym rejonie w czasie ostatniego pleniglacjału bytowały leśne zwierzęta, co wskazuje na typowo ostojowy charakter obszaru.

EWOLUCYJNE WNIOSKI Z ANALIZY GENOMU U BADANYCH RODZAJÓW

Na podstawie stopnia asymetrii kariotypu (wg STEBBINS 1971) można opisać kariotypy rodzajów *Potentilla*, *Hieracium* i *Pilosella* jako bardzo symetryczne i stałe, bez widocznej zmienności w budowie, posiadające chromosomy metacentryczne i submetacentryczne („1A”-„2A”). Natomiast genom *Aconitum* jest bimodalny, na który składają się dwa duże i sześć wyraźnie mniejszych chromosomów o budowie subteloцентриcznej („3C”) (JOACHIMIAK i współaut. 1999, ILNICKI i współaut. 2011). Ta asymetria pogłębia się w trakcie ewolucji w kierunku od diploidów ku tetraploidom (LESZCZAK 1950).

Pod względem wielkości genomu rodzaj *Potentilla* ma zdecydowanie najmniejsze chromosomy, od 0,9 do 1,5 μm . Pomiaru ich wielkości u *Potentilla collina* (ILNICKI i KOŁODZIEJEK 2008) korespondują z danymi uzyskanymi przez IWATSUBO i NARUHASHI (1991). *Hieracium* ma chromosomy średniej wielkości, od 2,64 do 4,62 μm (ILNICKI i współaut. 2010), a *Aconitum* posiada zdecydowanie największe ze wszystkich badanych przez nas gatunków, od ok. 2,0 do 10,0 μm (ILNICKI i współaut. 2011). Podobne relacje obserwuje się przy porównaniu ilości 2C DNA u tetraploidów: *Potentilla erecta* ($2n=4x=28$) – 0,89 pg, *Hieracium piliferum* ($2n=4x=36$) – 15,57 pg, *Pilosella aurantiaca* ($2n=4x=36$) – 7,79 pg (BENNETT i LEITCH 2005, SUDA i współaut. 2007, CHRTEK i współaut. 2009) i *Aconitum firmum* ($2n=4x=32$) – ok. 22 pg (dane niepubl.).

Zgodnie z najnowszymi poglądami na temat zmian ewolucyjnych w ilości DNA, u roślin okrytozalążkowych w trakcie ewolucji dochodzi do zmniejszenia się rozmiarów genomu kosztem sekwencji niekodujących DNA. Niewielkiej zawartości DNA w genomach towarzyszy wyższe tempo dywergencji, a gatunki z dużą ilością DNA są bardziej narażone na wyginięcie (OLSZEWSKA i SAKOWICZ 2006). To może sugerować, że rodza-

je *Potentilla*, *Hieracium* i *Pilosella* o mniejszych genomach z bardziej zaawansowanych ewolucyjnie rodzin Rosaceae i Asteraceae posiadają większe możliwości na „eksperymentowanie” z ewolucyjnymi „wynalazkami” typu agamospermia, która u tych dwóch rodzin występuje wyjątkowo często (CZAPIK 2007). Z drugiej strony, badania porównawcze dotyczące zawartości DNA przeprowadzone na wielu gatunkach rodziny Asteraceae dowodzą, że wiele z nich ma duże genomy (VALLS i współaut. 2013).

W porównaniu do *Hieracium transylvanicum*, niektóre gatunki *Aconitum*, w tym szczególnie tetraploidy, wykazują dużą zmienność w ilości sekwencji rDNA w kariotypie oraz w morfologii satelitów, które towarzyszą organizatorom jąderka, obszarom występowania rDNA (ILNICKI i współaut. 2009, 2010; ILNICKI i MITKA 2011). Na podstawie analiz porównawczych ilości DNA u di- i tetraploidów stwierdzono eliminację nieznanych sekwencji DNA (dane niepubl.). W świetle przedstawionych danych można raczej wykluczyć, że są to sekwencje rDNA, gdyż wyraźnie podlegają one u tetraploidalnych *Aconitum* amplifikacji, a nie eliminacji (ILNICKI i współaut. 2009). Można więc sądzić, że w grupie tetraploidów zachodzi bardzo intensywna ewolucja. Z drugiej strony, na podstawie stwierdzonej stałości budowy chromosomów u pozostałych gatunków należących do omawianych rodzajów (poza wymienionym wyżej rodzajem *Aconitum*) nie można wnioskować o braku występowania u nich intensywnych procesów ewolucyjnych, ponieważ mutacje chromosomowe mogą dotyczyć drobnych fragmentów chromatyny (trudnych albo niemożliwych do zaobserwowania w mikroskopie). Należy przy tym pamiętać o dużej liczbie czynników genetycznych wpływających na ewolucję, jak np. mutacje genowe czy epimutacje (ROGAŁSKA i współaut. 2007).

Poza tym ewentualny brak zmienności w strukturze wewnętrznej chromosomów może być „rekompensowany” mutacjami genomowymi, polegającymi na występowaniu w obrębie gatunku serii liczb chromosomowych będących wielokrotnością liczby genomowej (podstawowej x). W efekcie, w rodzajach *Potentilla*, *Hieracium* i *Pilosella*, w zależności od danego gatunku występuje seria liczb od $2n=2x$ (diploidalna), $2n=3x$, $2n=4x$... $2n=12x$ (dodekaploidalna) (SKALIŃSKA 1967, ILNICKI i KOŁODZIEJEK 2008, ILNICKI i SZELĄG 2011). U

Aconitum stwierdzono stosunkowo niewiele takich przypadków (SIMON i współaut. 1999). W obrębie gatunku formy z różnymi liczbami $2n$ mogą tworzyć rasy chromosomowe, które ze względu na swoje allopatryczne (odrębne) rozmieszczenie geograficzne nie krzyżują się ze sobą. Z tego powodu nazywa się je rasami geograficznymi podniesionymi do rangi podgatunków (SULMA 1938, patrz też STACE 1993). SULMA (1938) opisuje wiele takich ras chromosomowych w obrębie 62 gatunków.

PODSUMOWANIE CYTOTAKSONOMICZNO-GEOGRAFICZNYCH BADAŃ WYBRANYCH GATUNKÓW Z RODZAJÓW *POTENTILLA* (ROSACEAE), *HIERACIUM* I *PILOSELLA* (ASTERACEAE) ORAZ *ACONITUM* (RANUNCULACEAE) NALEŻĄCYCH DO RÓŻNYCH GRUP FILOGENETYCZNYCH *MAGNOLIOPSIDA*

Streszczenie

Praca prezentuje podsumowanie badań biosystematycznych wybranych gatunków rodzajów: *Potentilla* (Rosaceae), *Hieracium* i *Pilosella* (Asteraceae) oraz *Aconitum* (Ranunculaceae), należących do różnych grup filogenetycznych Magnoliopsida. Informacje uzyskane z klasycznych badań cytogenetycznych są zazwyczaj traktowane jedynie jako punkt wyjścia do prowadzenia dalszych analiz w celu poznania struktury molekularnej chromatyny i chromosomów z wykorzystaniem metod biologii molekularnej, takich jak na przykład: fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ* (FISH), genomowa hybrydyzacja *in situ* (GISH) czy metoda BAC (ang. bacterial artificial chromosome). Badania prowadzono w celu

poznania: (i) zjawisk hybrydyzacji i poliploidyzacji, w połączeniu z agamicznym sposobem rozmnażania gatunków apomiktycznych, (ii) kierunków ewolucji w obrębie gatunku i rodzaju w połączeniu ze zjawiskiem migracji gatunku i kolonizacji przez niego nowych terenów. Zmienność chromosomowa obejmuje różnice w morfologii i liczbie chromosomów, ilości DNA, rozmiarach chromosomów, symetrii kariotypu oraz w rozmieszczeniu i liczbie prążków na chromosomach. Na tej podstawie można prześledzić przebieg ewolucji wśród taksonów, określić ich wzajemne pokrewieństwo oraz dokonać porównań międzyrodzajowych.

CONCLUSIONS FROM CYTOTAXONOMICAL AND CYTOGEOGRAPHICAL STUDIES OF SELECTED SPECIES FROM THE GENERA *POTENTILLA* (ROSACEAE), *HIERACIUM* AND *PILOSELLA* (ASTERACEAE) AS WELL AS *ACONITUM* (RANUNCULACEAE) BELONGING TO DIFFERENT PHYLOGENETIC GROUPS WITHIN *MAGNOLIOPSIDA*

Summary

Biosystematics of some species of the genus *Potentilla*, *Hieracium*, *Pilosella* and *Aconitum* belonging to different phylogenetic groups within *Magnoliopsida* is surveyed. The information obtained from classical cytogenetic studies is usually treated as a mere starting point for further analyses, which can be carried out with the help of molecular biology methods such as fluorescence *in situ* hybridization (FISH), genomic *in situ* hybridization (GISH) or bacterial artificial chromosome method (BAC). The biosystematic studies put emphasis on: getting to know (i) the phenomena

of hybridization and polyploidization connected with exceptional way of agamic reproduction of agamosperous species, and (ii) the direction of the course of evolution within species and genus in connection with migration of species and colonization of new habitats. Chromosome variation includes differences in their number, size, morphology, content of DNA, karyotype symmetry and inner organization (chromosome bands). On this basis, the course of evolution among taxa can be tracked, their reciprocal relationships determined and intergeneric comparisons performed.

LITERATURA

- ADAMS K. L., WENDEL J. F., 2005. *Polyploidy and genome evolution in plants*. Opin. Plant Biol. 8, 135–141.
- BENNETT M. D., LEITCH I. J., 2005. *Nuclear DNA amounts in angiosperms: progress, problems, and prospects*. Ann. Bot. 95, 45–90.
- CASTRO M., MATEO G., ROSSELLO J. A., 2007. *Chromosome numbers in Hieracium and Pilosella species (Asteraceae) from the Iberian Peninsula and the Balearic Islands*. Bot. J. Linn. Soc. 153, 311–320.
- CHRTEK J., MRÁZ P., SEVERA M., 2004. *Chromosome numbers in selected species of Hieracium s. str. (Hieracium subgen. Hieracium) in the Western Carpathians*. Preslia 76, 119–139.
- CHRTEK J., MRÁZ P., SENNIKOV A. N., 2006. *Hieracium ×grofiae – rediscovered diploid hybrid from the Ukrainian Carpathians*. Biologia (Bratislava) 61, 365–373.
- CHRTEK J., ZAHRADNÍČEK J., KRAK K., FEHRER J., 2009. *Genome size in Hieracium subgenus Hieracium (Asteraceae) is strongly correlated with major phylogenetic groups*. Ann. Bot. 104, 161–178.
- CIEŚLAK E., ILNICKI T., FLIS M., 2000. *Cytotaxonomical studies on the Caltha palustris complex (Ranunculaceae) in Poland. Preliminary report*. Acta Biol. Cracov. Ser. Bot. 42, 121–129.
- COŞKUNCELEBI K., HAYIRLIOĞLU-AYAZ S., 2006. *Notes on chromosome numbers and karyotypes of five species in Hieracium L. s. str. (Asteraceae) from Turkey*. Caryologia 59, 19–24.
- CZAPIK R., 1977. *Apomiksja w systemach klasyfikacyjnych rozmnażania Angiospermae*. Wiad. Bot. 21, 239–248.
- CZAPIK R., 2007. *Embriologia traw*. [W:] Księga Polskich Traw. FREY L. (red.). Instytut Botaniki im. W. Szafera, Polska Akademia Nauk, Kraków.
- ELLSTRAND N. C., WHITKUS R., RIESEBERG L. H., 1996. *Distribution of spontaneous plant hybrids*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 5090–5093.
- FEDERICO S., FIORINI G., 1996. *Karyology of Hieracium L. subg. Hieracium (Asteraceae) from Munt Amiata (Central Italy)*. Caryologia 49, 287–299.
- FRANCISCO-ORTEGA J., JANSEN R. K., SANTOS-GUERRA A., 1996. *Chloroplast evidence of colonization, adaptive radiations, and hybridization in the evolution of the Macaronesian flora*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 93, 4085–4090.
- FULNEČEK J., LIM K. Y., LEITCH A. R., KOVARIK A., MATYÁSEK R., 2002. *Evolution and structure of 5S rDNA loci in allotetraploid Nicotiana tabacum and its putative parental species*. Heredity 88, 19–25.
- GADELLA T. W. J., 1984. *Cytology and the mode of reproduction of some taxa of Hieracium subgenus Pilosella*. Proc. Koninkl. Nederl. Acad. Wet. C 87, 387–399.
- GOLDBLATT P., 1980. *Polyploidy in angiosperms. Monocotyledons*. [W:] Polyploidy. Biological relevance. LEWIS W. H. (red.). New York, Plenum Press, 219–239.
- GÓRALKI G., JUDASZ A., GACEK P., GRABOWSKA-JOACHIMIAK A., JOACHIMIAK A. J., 2013. *Polyploidy, alien species and invasiveness in Polish angiosperms*. Plant Syst. Evol. 300, 225–238.
- GREGORY W. C., 1941. *Phylogenetic and cytological studies in the Ranunculaceae*. Trans. Am. Phil. Soc. 31, 443–520.
- HASTEROK R., JENKINS G., LANGDON T., JONES N., MAŁUSZYŃSKA J., 2001. *Ribosomal DNA is an effective marker of Brassica chromosomes*. Theor. Appl. Genet. 103, 486–490.
- HÖRANDL E., 2010. *The evolution of self-fertility in apomictic plants*. Sex. Plant. Reprod. 23, 73–86.
- ILNICKI T., 2011. *Apomikty – do czego mogą się nam przydać?* Ekonatura 9, 20.
- ILNICKI T., 2014. *Plant biosystematics with the help of cytology and cytogenetics*. Caryologia 67, 199–208.
- ILNICKI T., KOŁODZIEJEK J., 2008. *Chromosome numbers of Potentilla subsect. Collinae (Rosaceae) from Poland*. Caryologia 61, 170–175.
- ILNICKI T., MITKA J., 2009. *Chromosome numbers in Aconitum sect. Aconitum (Ranunculaceae) from the Carpathians*. Caryologia 62, 198–203.
- ILNICKI T., MITKA J., 2011. *Chromosome numbers in Aconitum sect. Cammarum (Ranunculaceae) from the Carpathians*. Caryologia 64, 446–452.
- ILNICKI T., SZELĄG Z., 2011. *Chromosome numbers in Hieracium and Pilosella (Asteraceae) from Central and Southeastern Europe*. Acta Biol. Cracov. Ser. Bot. 53, 102–110.
- ILNICKI T., GOLCZYK H., HASTEROK R., JOACHIMIAK A., 2009. *Excessive rDNA amplification in tetraploid forms of Aconitum*. The 4th Conference of Polish Society of Experimental Plant Biology, September 21–25, 2009, Kraków, Poland. Acta Biol. Cracov. Ser. Bot. 51 (Supplement 1), str. 77.
- ILNICKI T., HASTEROK R., SZELĄG Z., 2010. *Cytogenetic analysis of Hieracium transylvanicum (Asteraceae)*. Caryologia 63, 192–196.
- ILNICKI T., JOACHIMIAK A., SUTKOWSKA A., MITKA J., 2011. *Cytotypes Distribution of Aconitum variegatum L. in Central Europe*. [W:] Geobotanist and Taxonomist. A volume dedicated to Professor Adam Zając on the 70th anniversary of his birth. ZEMANEK B. (red.). Institute of Botany, Jagiellonian University, Cracow, 169–192.
- IWATSUBO Y., NARUHASHI N., 1991. *Karyomorphological and cytogenetical studies in Potentilla (Rosaceae) I. Karyotypes of nine Japanese species*. Cytologia 56, 1–10.
- IZMAIŁOW R., 1966. *Macrosporogenesis in the apomictic species Ranunculus cassubicus*. Acta Biol. Cracov. Ser. Bot. 8, 183–195.
- IZMAIŁOW R., 1996. *Reproductive strategy in the Ranunculus auricomus complex (Ranunculaceae)*. Acta Soc. Bot. Pol. 65, 167–170.
- JOACHIMIAK A., ILNICKI T., MITKA J., 1999. *Karyological studies on Aconitum lasiocarpum (Rchb.) Gayer (Ranunculaceae)*. Acta Biol. Cracov. Ser. Bot. 41, 205–211.
- KOBYLEC E., ILNICKI T., JOACHIMIAK A., CYBULARZ-URBAN T., 2009. *Preliminary investigation of cytological stability of the hybrid Cattleya waltersiana × C. schoenbrunnensis, and C. schoenbrunnensis (Orchidaceae) in vivo and in vitro*. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych 534, 107–117.
- KORNAŚ J., MEDWECKA-KORNAŚ A., 2002. *Geografia Roślin*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- KRAHULEC F., KRAHULCOVÁ A., FEHRER J., BRÄUTIGAM S., SCHUHWERK F., 2008. *The structure of the agamic complex of Hieracium subgen. Pilosella in the Sumava Mts and its comparison with other regions in Central Europe*. Preslia 80, 1–26.
- KULA A., 1999. *Cytogenetic studies in the cultivated form of Bromus carinatus (Poaceae)*. Fragm. Flor. Geobot. Pol. Suppl. 7, 101–106.
- LESZCZAK W., 1950. *Studia cytologiczno-ekologiczne nad gatunkami tatrzańskimi rodzaju Aconitum*. Acta Soc. Bot. Pol. 20, 647–667.
- LEWIS W. H., 1980. *Polyploidy in angiosperm. Dicotyledons*. [W:] Polyploidy: Biological relevance.

- LEWIS W. H. (red.). New York, Plenum Press, 241–268.
- MASTERSON J., 1994. *Stomatal size in fossil plants: evidence for polyploidy in majority of angiosperms*. Science 264, 421–423.
- MITKA J., 2012. *Aconitum in Central Europe: from Linnaen taxonomy to molecular markers*. Modern Phytomorphol. 1, 7–9.
- MITKA J., KOZIOŁ M., 2009. *Aconitum moldavicum (Ranunculaceae) on the Małopolska Upland*. Fragm. Flor. Geobot. Pol. 16, 7–25.
- MITKA J., STARMÜHLER W., 2000. *Phenetic variability of Aconitum lasiocarpum (Rchb.) Gayer (Ranunculaceae): extension of taxonomic and geographic borders*. Acta Soc. Bot. Pol. 69, 145–155.
- MITKA J., SUTKOWSKA A., ILNICKI T., JOACHIMIĄK A., 2007. *Reticulate evolution of high-alpine Aconitum (Ranunculaceae) in the eastern Sudetes and Western Carpathians (Central Europe)*. Acta Biol. Cracov. Ser. Bot. 49, 15–26.
- MRÁZ P., 2001. *Chromosome numbers in selected species of Hieracium sect. Alpina (Asteraceae) from Central and Eastern Europe*. Folia Geobot. 36, 321–332.
- MRÁZ P., SZELĄG Z., 2004. *Chromosome numbers and reproductive systems in selected species of the genera Hieracium L. and Pilosella Hill (Asteraceae) from Romania*. Ann. Bot. Fenn. 41, 405–414.
- MRÁZ P., PAULE J., 2006. *Experimental hybridization in the genus Hieracium s. str.: crosses between diploid taxa*. Preslia 78, 1–26.
- MRÁZ P., CHRTEK J., FEHRER J., PLÁČKOVÁ I., 2005. *Rare recent natural hybridization in Hieracium s. str. - evidence from morphology, allozymes and chloroplast DNA*. Plant Syst. Evol. 255, 177–192.
- MRÁZ P., CHRTEK J., FEHRER J., 2011. *Interspecific hybridization in the genus Hieracium s. str.: evidence for bidirectional gene flow and spontaneous allopolyploidization*. Plant Syst. Evol. 293, 237–245.
- MÜNTZING A., MÜNTZING G., 1941. *Some new results concerning apomixis, sexuality and polymorphism in Potentilla*. Bot. Not. 111, 237–278.
- NOVIKOFF A. V., MITKA J., 2011. *Taxonomy and ecology of the genus Aconitum L. in the Ukrainian Carpathians*. Wulfenia 18, 37–61.
- NIELEN S., ALMEIDA L. M., CARNEIRO V. T. C., ARAUJO A. C. G., 2010. *Physical mapping of rDNA genes corroborates allopolyploid origin in apomictic Brachiaria brizantha*. Sex. Plant Reprod. 23, 45–51.
- NYLEHN J., HAMRE E., NORDAL I., 2003. *Facultative apomixis and hybridization in arctic Potentilla section Niveae (Rosaceae) from Svalbard*. Bot. J. Linn. Soc. 142, 373–381.
- OLSZEWSKA M., SAKOWICZ T., 2006. *Ewolucja rozmiarów genomów jądrowych u roślin okrytozalążkowych*. Post. Biol. Kom. 33, 737–751.
- PAWŁOWSKI J., 1991. *Fauna pleniglacji i jej zróżnicowanie*. [W:] Geografia Polski, Środowisko Przyrodnicze. STARKEL L. (red.). Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 160–164.
- RAMSEY J., SCHEMSKE D. W., 1998. *Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants*. Ann. Rev. Ecol. Syst. 29, 467–501.
- RANI S., KUMAR S., JEELANI S. M., GUPTA R. C., KUMARI S., 2012. *Additions to the cytologically investigated species of Potentilla L. (Rosaceae) from India*. Pl. Syst. Evol. 298, 485–497.
- ROGAŁSKA S. M., ACHREM M., KALINKA A., 2007. *Mechanizmy zmian genomowych i zmian w ekspresji genów w mieszańcowych poliploidach roślinnych*. Kosmos 56, 421–433.
- ROTREKLOVÁ O., KRAHULCOVÁ A., MRÁZ P., MRÁZOVÁ V., MÁRTONFIOVÁ L., PECKERT T., ŠINGLIAROVÁ B., 2005. *Chromosome numbers and breeding systems of some European species of Hieracium subgen. Pilosella*. Preslia 77, 177–195.
- SCHUBERT I., 1984. *Mobile nucleolus organizing regions (NORs) in Allium (Liliaceae s. lat.)? Inferences from the specificity of silver staining*. Pl. Syst. Evol. 144, 291–305.
- SIMON J., BOSCH M., MOLERO J., BLANCHÉ C., 1999. *A concept of chromosome numbers in tribe Delphinieae (Ranunculaceae)*. Biodiversity <http://www.ub.es/botanica/greb/cromodel.pdf>, str. 1–33.
- SKALIŃSKA M., 1967. *Cytological analysis of some Hieracium species, subgenus Pilosella, from mountains of southern Poland*. Acta Biol. Cracov. Ser. Bot. 10, 127–141.
- SKALIŃSKA M., 1968. *Studies in twin plants of Hieracium*. Acta Biol. Cracov. Ser. Bot. 11, 179–186.
- SOLTIS D. E., SOLTIS P. S., TATE J. A., 2003. *Advances in the study of polyploidy since Plant speciation*. New Phytologist 161, 173–191.
- SOLTIS P. S., SOLTIS D. E., 2004. *The origin and diversification of angiosperms*. Am. J. Bot. 91, 1614–1626.
- STACE C. A., 1993. *Taksonomia roślin i biosystematyka*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- STEBBINS G. L., 1971. *Chromosomal evolution in higher plants*. Edward Arnold, London.
- SUDA J., KRAHULCOVÁ A., TRÁVNÍČEK P., ROSENBAUMOVÁ R., PECKERT T., KRAHULEC F., 2007. *Genome size variation and species relationships in Hieracium sub-genus Pilosella (Asteraceae) as inferred by flow cytometry*. Ann. Bot. 100, 1323–1335.
- SULMA T., 1938. *Problem ras geograficznych w świecie roślin na tle badań cytologicznych*. Kosmos (Ser. B) 63, 227–320.
- SZELĄG Z., ILNICKI T., 2011. *Diploid chromosome numbers in Hieracium and Pilosella (Asteraceae) from Macedonia and Montenegro*. Acta Biol. Cracov. Ser. Bot. 53, 124–126.
- SZELĄG Z., ILNICKI T., NIKIETIĆ M., TOMOVIĆ G., 2007. *Diploid chromosome numbers in five Hieracium species from Serbia and Montenegro*. Acta Biol. Cracov. Ser. Bot. 49, 119–121.
- TE BEEST M., ROUX J. J., RICHARDSON D. M., BRYSTING A. K., SUDA J., KUBEŠOVÁ M., PYŠEK P., 2012. *The more the better? The role of polyploidy in facilitating plant invasions*. Ann. Bot. 109, 19–45.
- VALL S. J., CANELA M. A., GARCIA S., HIDALGO O., PELLICER J., SÁNCHEZ-JIMÉNEZ I., SIJAK-YAKOVLEV S., VITALES D., GARNATJE T., 2013. *Genome size variation and evolution in the family Asteraceae*. Caryologia 66, 221–235.
- WISSEMANN V., 2007. *Plant evolution by means of hybridization*. Syst. Biodiver. 5, 243–253.
- ZALEWSKA-GAŁOŚ J., JOPEK M., ILNICKI T., 2015. *Hybridization in Batrachium group: Controversial delimitation between heterophyllous Ranunculus penicillatus and the hybrid Ranunculus fluitans × R. peltatus*. Aquat. Bot. 120 (B), 160–168.