

CITOTAKSONOMSKA ISTRAŽIVANJA VRSTA
RODA *LEUCANTHEMUM* ADANS. EM. BRIQU.
ET CAV. NA PODRUČJU JUGOSLAVIJE*

S 13 slika u tekstu i 1 tablom u prilogu

DRAŽENA MIRKOVIĆ

(Iz Instituta za botaniku Sveučilišta u Zagrebu)

Primljeno u štampu 31. 9. 1965.

I. Uvod

Rod *Leucanthemum* Adans. em. Cav. et Briqu. široko je rasprostranjen po čitavoj Evropi do Kavkaza, nadalje u Japanu i Sj. Americi. Na području Jugoslavije unutar ovog roda dolaze mnoge autohtone vrste, a među njima mnogi progresivni endemi, koji ne predstavljaju ništa drugo nego filogenetski mlade svojte koje se nisu uspjele daleko rasprostraniti. Takvim endemima obiluju polimorfni i varijabilni rodovi, kakav je upravo rod *Leucanthemum*. Zbog takvih karakteristika često je vrlo teško utvrditi radi li se u pojedinim slučajevima o čistim vrstama, podvrstama ili varijetetima. Napose je to teško utvrditi isključivo na temelju morfoloških studija primjeraka, rasprostranjenosti i fitocenološke pripadnosti. U takvim slučajevima mogu nam pomoći i od velike su važnosti citogenetska i citotaksonomska istraživanja. Favarger (1959:44) napominje... »citologija dozvoljava da se žive vrste klasificiraju na prirodan način, dok morfologija suhih primjeraka odviše često vodi do pogrešne i umjetne klasifikacije«.

Zbog velikog bogatstva oblika roda *Leucanthemum* postoji obilna literatura koja obrađuje njegovu taksonomiju s vrlo različitih stavova. Neki autori uzimaju ga kao zaseban rod (Giroux 1933, Hayek 1931, Heywood 1958, Horvatić 1935, 1954, 1963), drugi kao podrod (Hegi 1928, Briquet et Cavillier 1916) ili kao sekciju (Fiori 1927, Beck 1930—i 1933, Horvatić 1928) unutar velikog kompleksnog roda *Chrysanthemum*. U okviru roda *Chrysanthemum* autori su uvrštavali svojte koje se toliko razlikuju u morfološkom i anatomskom pogledu, posebno u anatomiji plodova, da prelaze okvire karakteristika potrebnih samo za jedan rod. Stoga se iz tog kompleksnog roda nužno izdvajaju

* Izvadak iz magistarskog rada obranjenog na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu 30. 3. 1965.

tri zasebna i ravnopravna roda: *Chrysanthemum*, *Tanacetum* i *Leucanthemum*.

U ovom radu uzeta su u obzir najnovija gledišta, gdje je rod *Leucanthemum* shvaćen kao zaseban rod, te će se u tekstu upotrebljavati samo taj naziv.

II. Pregled literature

Vrlo rano uočena je potreba citološkog, odnosno citotaksonomskog istraživanja vrsta roda *Leucanthemum*. Prvi je doprinos dao Tahara (1915) istraživši broj kromosoma kod vrste *Chrysanthemum Leucanthemum* L. Na objavljenim crtežima (Tahara 1921) lijepo se može uočiti 18 kromosomskih tvorevina u metafaznim pločama promatranim s pola I mejotske diobe. Cooper i Mahony (1935) potvrđuju ovaj broj ($n = 18$) u metafazi II mejotske diobe, koji pripada varijetetu *pinnatifidum*. Shimotomai (1937) istražuje materijal donešen iz prirode i utvrđuje također $n = 18$ u mejozi matičnih stanica polena i $2n = 36$ u metafazi somatskih stanica. Do god. 1950. bile su studirane svojte ovog roda samo s $n = 18$, odnosno $2n = 36$. Tada slijede istraživanja autora koji pronalaze nove citološke oblike roda *Leucanthemum*. Polya (1950) nalazi vrstu s $2n = 18$ sakupljenu u prirodnoj populaciji na teritoriju Mađarske. Dorrick (1952) konstatira da vrste roda *Leucanthemum* koje uspijevaju uz Mediteran imaju uglavnom $2n = 18$ osim jedne iznimke koju je odredio kao *L. maximum* (Ramond) DC. s $2n = 90$, iz Pirineja u sjevernoj Španiji. U istom radu Dorrick (1952) opisuje primjerke s $2n = 54$, koje je dobio iz botaničkog vrta u Losani.

Kako su pronađeni oblici roda *Leucanthemum* s različitim brojem kromosoma, odnosno s različitim stupnjem poliploidije, određeno je da se oblici s $2n = 18$ nazivaju diploidi, s $2n = 36$ tetraploidi, s $2n = 54$ heksaploidi itd. Osnovni broj čitave grupe $x = 9$.

Slijedi još niz citoloških istraživanja. Martin i Smith (1955) nalaze mnoge diploidne forme na području SAD. God. 1956. Duckert i Favarger su vršili detaljna istraživanja na fiksiranom materijalu iz *Barthelemya* te izbrojili $2n = 18$ u dvije somatske metafaze mladog ovarijskog tkiva i $n = 9$ u mnogim metafazama I mejotske diobe. Favarger (1959) pronalazi čitavu populaciju ivančica determiniranih kao subsp. *triviale* var. *alpicola* Greml i u La Brivinu na planinama Jure. Favarger (1959) utvrđuje također i tetraploidnu svojtu (*C. ircutianum* Turcz.), te heksaploidnu (*C. montanum* All.). Sve te svojte stavlja pod kolektivnu vrstu *C. Leucanthemum* L. sensu lato. Böcher i Larsen (1957) su citotaksonomski studirali *C. Leucanthemum* kao kompleksnu vrstu. U tu su svrhu izvršili oko 30 prebrojavanja na teritoriju Irske, Francuske, Jugoslavije i Poljske. Na temelju vlastitih istraživanja zaključuju da diploidne forme više nastanjuju zapadnije područja, dok tetraploidne forme dolaze više istočno, a u centru Evrope rastu diploidne i tetraploidne forme izmiješano. S tog razloga autori smatraju da su upravo na tom području potrebna detaljnija citološka istraživanja. Baksayeva 1956. i 1957. objavljuje nalaze iz Mađarske, Albanije i Čehoslovačke, gdje smatra da diploidne forme nisu rijetke na brežulj-

cima visine 300—700 m. U istoj regiji, na nešto hladnijim mjestima, autorica nalazi mnoge heksaploidne forme ($2n = 54$). Nakon komparacije primjeraka B a k s a y-eva (1957) smatra, da tu biljku može identificirati s vrstom *L. maximum* (Ramond) DC. iz Pirineja. Ta je vrsta vrlo rijetka, ali po pretpostavkama autorice trebalo bi da bude jako rasprostranjena u planinskim područjima Evrope, gdje se sada naziva raznim imenima. F a v a r g e r (1959) smatra da je takva konstatacija nešto preuranjena, jer zasad te različite svojte nisu kariološki ispitane. Osim toga postavlja se pitanje da li je moguće obuhvatiti opsegom jedne vrste niz svojti koje nastanjuju tako različita područja.

B ö c h e r i L a r s e n (1957) nalaze i oktoploidnu formu ($2n = 72$) na osnovu proučavanja primjeraka s područja sjeverne Italije i Jugoslavije. Taj broj potvrđuje i F a v a r g e r (1959) na temelju istraživanja plodova iz Botaničkog vrta Sveučilišta u Ljubljani.

M u l l i g a n (1958) je pri istraživanju vrsta roda *Leucanthemum* u Sj. Americi utvrdio da najčešće dolaze diploidne forme, dok su tetraploidne strogo lokalizirane. Autor napominje da heksaploidne forme nisu bile nađene. T a n a k a (1960) je u Japanu vršio komparativno-morfološka i citološka istraživanja endemične tetraploidne vrste *L. yoshinogathum*, za koju smatra da je nastala autopoliploidijom od diploidne *L. makinoi*.

S k a l i n s k a, P i o t r o w i c z, S o k o l o v s k a - K u l c z y s k a i dr. (1961) i S k a l i n s k a (1963, 1964) istraživali su oko 30 autohtonih populacija varijeteta vrsta *Leucanthemum* (ovdje se rod još uzima kao jedna kolektivna vrsta) s područja Poljske. Autori su uočili vrlo jasnu kariološku diferencijaciju vrste, koja je u skladu s ekološkom i geografskom distribucijom. Na temelju istraživanja utvrđuju da su tetraploidi najfrekventiraniji oblici (dolaze u 25 populacija) i da su vrlo rašireni po čitavoj Poljskoj. S druge strane su diploidne populacije upadljivo rijetke; nađene su u Tatrama na visinama iznad 1750 m. Nadalje su uočili i treći kromosomski tip — heksaploid, koji je ograničen samo na planinske livade. Autori napominju da su daljnje studije u toku.

K n a b e n (1961) je započeo istraživanja u Norveškoj. Za sada autor sve primjerke stavlja pod jedan zajednički naziv kao grupu *Leucanthemum*-kompleks i smatra da većinu primjeraka ovog kompleksa predstavljaju u Norveškoj poliploidi. G a d e l l a i K l i p h u i s (1963) su pri istraživanju kromosomskog broja zeljastih biljaka u Nizozemskoj izvršili također i citološka ispitivanja nekih svojta roda *Leucanthemum*. Sve svojte pokazale su se kao tetraploidi.

Činjenica da se u posljednim godinama u mnogim zemljama sve više vrše detaljnija istraživanja u tom pravcu ukazuju na zanimljivost tog roda s citogenetskog i citotaksonomskog gledišta.

Citološki su istražene i hortikulturene svojte ovog roda koje prema mišljenju D o w r i c k a (1953) potječu od prirodne vrste *L. maximum* ($2n = 90$) iz Pirineja, a prema mišljenju D a r l i n g t o n a (1956) od *C. indicum* ($2n = 54$) iz Kine. D o w r i c k (1953) je detaljno istražio vrtno forme i utvrdio da njihovi kromosomski brojevi vrlo variraju, pa je $2n = 85, 90, 128, 148, 160, 171$ itd.

III. Metodika rada

Broj kromosoma studiran je u mejotskoj i mitotskoj diobi. Mitotski kromosomi promatrani su u stadijima diobe meristemskih stanica korijenovog vrška i mladog izdanka, a mejotski u diobi matičnih stanica polena.

Korijenovi vrškovi uzimani su dijelom od lončanica, a dijelom od sjemenki proklijalih na vlažnom filter-papiru. Nepovrijeđeni korijeni tretirani su otopinom 8-oksikinolina (konc. 0,003 M/l) kod temperature 26° C u trajanju 3—4 sata ili kolhicina (0.05%-tna vod. otopina), kod iste temperature, u trajanju 2 sata. Nakon ovog pretretmana korjenčići su fiksirani aceto-alkoholom (1 : 3). Uporedo s ovim postupkom rađena je obavezno i kontrola bez pretretmana otopinama 8-oksikinolina ili kolhicina. Kontrolni materijal služio je kao dokaz da prije spomenute otopine nisu same (pomoću tzv. kolhicinmitoze) izazvale umjetnu poliploidiju. Iz fiksativa nakon 24 sata korjenčići su se prenosili u vodenu otopinu pektinaze (Ostergren i Hennen 1962). Obradi pektinazom slijedilo je bojanje Feulgenovim reagensom (uz prethodnu hidrolizu u $\frac{n}{1}$ HCl kod 60° C). Nakon toga su korjenčići preparirani u 45%-tnoj octenoj kiselini gnječenjem (squash metodom). Rađeni su trajni preparati u kanadskom balzamu i polutrajni u glicerinu.

Za promatranje kromosoma u mejozi matičnih stanica polena uzimani su mladi i svježi cvjetni pupovi. Kod svojti ovog roda bilo je dosta teško dobiti povoljne stadije, jer je građa cvata složena, a cvjetovi ne dozrijevaju podjednako u isto vrijeme. Povoljni stadiji nalaze se samo u pupovima određene starosti, što se po vanjskom izgledu ne može ustanoviti. Pupovi su fiksirani u aceto-alkoholu (1 : 3), a zatim bojani karm-octenom kiselinom. Razmazom su se izolirale matične stanice polena, kako bi preparat bio što tanji. Trajni preparati rađeni su u euparalu (Darlington i LaCour 1963).

Povoljni stadiji mitotskih i mejotskih dioba crtani su pomoću aparata za crtanje, a neki su i fotografirani. Nakon opetovane kontrole crteža izvršeno je brojanje kromosoma.

IV. Materijal

Biljni materijal potreban za ovaj rad sakupljen je u razdoblju od 1960. do 1965. godine s područja čitave Jugoslavije, koliko je to bilo moguće. Dijelom su biljke dobivene u sjemenu, a dijelom su donešene žive s terena. Svi primjerci su determinirani po ključu za rod *Leucanthemum* Horvatić 1963. Primjerci svojta uglavnom se nalaze sačuvani u vlastitom herbariju i u živom stanju u Botaničkom vrtu Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu.

Rasprostranjenost, stanište i izvorno nalazište pojedinih vrsta:

1. *L. rotundifolium* (W. K.) DC. — *Chrysanthemum r.* W. R. Kar-patsko-balkanski endem. Dolazi isključivo u planinskom pojasu na vap-nenačkoj podlozi. Karakterističan je u klekovini bora. Jedino za sada sigurno nalazište u Jugoslaviji je planina Vranica u Bosni 1600—1800 m. Istraživani materijal sakupljen je upravo na tom nalazištu.

2. *L. atratum* (Jacqu.) DC. — *Chrysanthemum a.* Jacqu. Endem vap-nenačkih Alpa. Staništa su planinski pašnjaci i planinska vapnena točila. Kod nas dolazi samo u Sloveniji, i to kao endem subsp. *lithopolitanicum* E. Mayer — (Mayer 1960). Kako u Jugoslaviji nije bilo raspoloživog materijala, istraživanja su vršena na biljkama koje su isključile iz sje-mena dobivenog od Alpskog instituta u Grenobleu i od Alpskog bota-ničkog vrta »Belvedere« u Beču. Prema dijagnozi Mayera (1960) karakteristike ovog primjerka mnogo više odgovaraju subsp. *lithopolita-nicum* Mayer, nego austrijskom subsp. *atratum* Vill.

3. *L. croaticum* H-ić (1928, sub. *Chrysanth.*) — *Leucanthemum atra-tum* subsp. *croaticum* H-ić 1935., Endem ilirsko-jadranskog krša. Stanište: krški, suhi pašnjaci. Rasprostranjenost u Jugoslaviji: sjeverna i južna Dalmacija. Istraženi su primjerci dviju populacija s otoka Paga i jedne s Bačić-kose u Velebitu.

4. *L. liburnicum* H-ić (1928, sub. *Chrysanth.*) — *Leucanthemum atra-tum* var. *liburnicum* (H-ić) Fiori 1925—1929: 1931. Endem liburnijsko-kvarnerskog krša. Krški travnjaci i kamenjarski pašnjaci su mu glavna staništa. Dolazi u Slovenskom primorju, Istri, Hrvatskom primorju i Gorskot kotaru. Istraživanja su vršena na donešenim biljkama s otoka Krka i iz Hrvatskog primorja sjeverno od Crikvenice.

5. *L. praecox* H-ić (1935, pro subsp. sub *L. vulgare*) *Chrysanthemum Leucanthemum* subsp. *praecox* H-ić. Nastanjuje srednje suhe livade nizinskog i višeg područja. Cvate ranije od svih ostalih ivančica istog područja, što joj je jedna od glavnih karakteristika. Rasprostranjena je gotovo po čitavoj Jugoslaviji. Primjerci ove vrste pažljivo su studirani iz nekoliko populacija (okolica Zagreba s podnožja Zagrebačke gore, okolica Osijeka uz rijeku Karašicu kraj Petrijevca i Satnice).

6. *L. vulgare* Lam. (s. str.) Ova je vrsta, kao što joj i samo ime kaže, veoma česta; dolazi na livadama, pašnjacima, rubovima šuma, putova i polja. Njena rasprostranjenost obuhvaća pretežni dio čitavog područja Jugoslavije. Istraživani materijal sakupljen je u mnogim zajednicama i s raznih nalazišta: u nešto višim predjelima okolice Zagreba, Sarajeva i nedaleko Fojnice u podnožju planine Vranice.

7. *L. leucolepis* (Briq. et Cav.) H-ić, *L. vulgare* subsp. *leucolepis* Briq. et Cav., Horvatić 1935, *Chrysanth. leuc.* subsp. *leucolepis* Hegi. Vlažne livade i pašnjaci su uglavnom područja koja ta biljka nastanjuje širom čitave Jugoslavije, izuzev Makedoniju. Citološke studije vršene su uglavnom na primjercima sakupljenim na livadama u blizini Save kod Zagreba.

V. Vlastita istraživanja

1. *L. rotundifolium* (W. R.) DC.

Broj kromosoma ove vrste ispitivan je na materijalu s planine Vranice. Proučene su bile samo mitoze somatskih stanica korijena. Na temelju nekoliko brojenja i crteža utvrđeno je $2n = 18$ kromosoma (sl. 1). Mitoza je tekla pravilno. U okviru ovog rada nije bilo moguće promatrati i mejozu, jer se biljke s Vranice nisu održale u kulturi u Botaničkom vrtu.

Broj kromosoma *L. rotundifolium* $2n = 18$ slaže se s već istraženim od Shimotomaija (1937), čiji uzorak je uzet iz Botaničkog vrta u Berlin-Dahlemu i Wcisla (Skalinská et al. 1959), čiji materijal potječe direktno iz Tatra 1300–1750 m.

2. *L. atratum* (Jacqu.) DC.

Studirane su mitoze i mejoze. Na osnovu promatranja mitoze u tretiranim (s 8-oksikinolinom) i netretiranim korijenovim vrškovima broj kromosoma uglavnom je bio 72. (sl. 2). Zbog tako velikog broja svi kromosomi nisu bili jasno vidljivi, pa se može sumnjati na eventualno prisustvo B-kromosoma. Mitoza je općenito tekla normalno, dok su u toku mejoze uočene neke nepravilnosti. Broj kromosoma u mejozi u većini slučajeva iznosio je 36 (sl. 3), a katkada se moglo nabrojiti i 37 ili 38. Nađeno je također nekoliko matičnih stanica polena s 54 kromosomskih tvorevina. Ti su slučajevi bili vrlo rijetki, iako se moglo očekivati i mnogo više s razloga što se *L. atratum* pokazao kao visoki poliploid. U nekoliko slučajeva primijećeni su kromosomi u II mejotskoj diobi više-manje rastreseni po čitavoj stanici. Činilo se kao da nije došlo do stvaranja stanične membrane nakon prve mejotske diobe. Da bi se utvrdilo postoje li neke posljedice od ovih anomalija, detaljno su proučene daljnje faze do stvaranja mikrospora. Primijećeno je da uz mnoge pravilne (simetrične) polenske tetrade postoji veliki broj nepravilnih (asimetričnih). Ove posljedne sadržavaju npr. samo tri normalno velike jezgre, dok je četvrta piknotična ili je uopće nema. Također su nađene polenske

Sl. 1. *L. rotundifolium* ($2n = 18$). Mitotski kromosomi u stanici korijenovog vrška.

Fig. 1. *L. rotundifolium* ($2n = 18$). Mitotic chromosomes in root tip cell.

Sl. 2. *L. atratum* subsp. *lithopolitanicum* ($2n = 72$). Mitotski kromosomi u stanici korijenovog vrška.

Fig. 2. *L. atratum* subsp. *lithopolitanicum* ($2n = 72$). Mitotic chromosomes in root tip cell.

Sl. 3. *L. atratum* subsp. *lithopolitanicum* ($n = 36$). Mejotski kromosomi u matičnoj stanici polena.

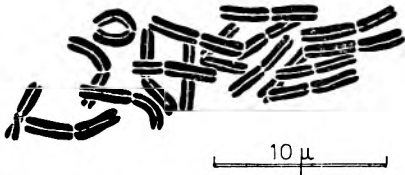
Fig. 3. *L. atratum* subsp. *lithopolitanicum* ($n = 36$). Meiotic chromosomes in pollen mother cell.

Sl. 4. *L. croaticum* ($2n = 54$). Mitotski kromosomi u stanici korijenovog vrška.

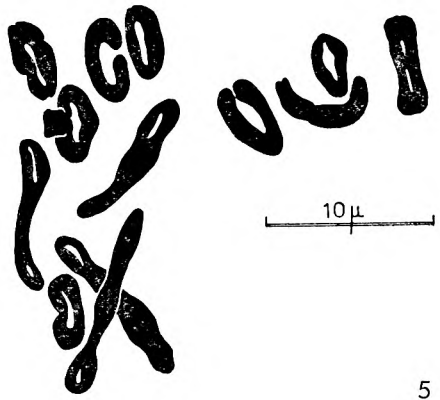
Fig. 4. *L. croaticum* ($2n = 54$) Mitotic chromosomes in root tip cell.

Sl. 5. *L. croaticum* ($n = 27$). Mejotski kromosomi u matičnoj stanici polena.

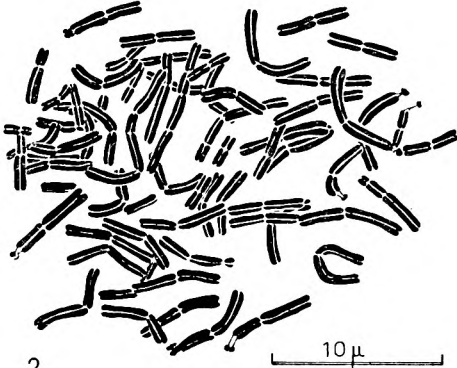
Fig. 5. *L. croaticum* ($n = 27$). Meiotic chromosomes in pollen mother cell.



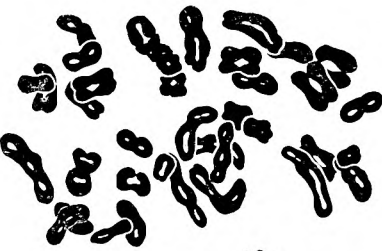
1



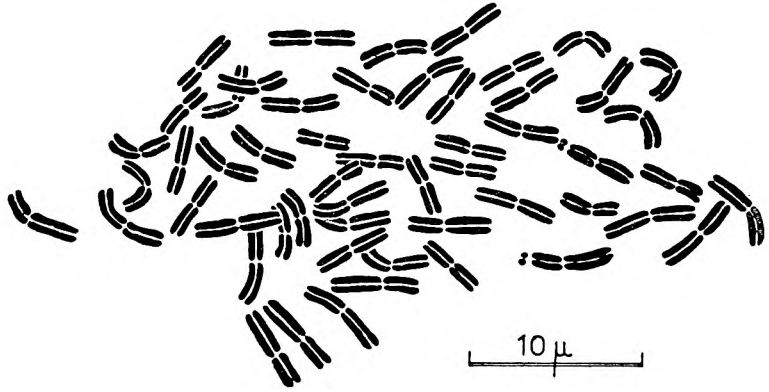
5



2



3



4

»tetrade« samo s dvije jezgre i konačno nekoliko »tetrađa« koje su imale samo jednu normalno veliku jezgru dok su preostale tri bile degenerirane. Pored normalnih polenovih zrnaca utvrđen je i znatan broj abnormalnih.

3. *L. croaticum* H-ić

U okviru ovog rada istražena je mitoza i mejoza. Broj kromosoma u mitozu iznosi je 54 (sl. 4). Mitoza se odvijala pravilno. U mejozi matičnih stanica polena uočeno je 27 (sl. 5) kromosomskih tvorevina neobično velikih dimenzija u odnosu na mitotske kromosome. S tog razloga detaljno su proučeni gotovo svi stadiji mejoze. Željelo se ispitati da li tako veliki kromosomi stalno persistiraju, te da li postoje neke anomalije. Utvrđeno je da se kromosomi uglavnom javljaju u istoj formi. Vrlo rijetki su izuzetni slučajevi, gdje su matične stanice sadržavale dvostruko više kromosoma ($n = 54$) od normalnog ($n = 27$). U takvim su slučajevima kromosomi bili i dvostruko manjih dimenzija. U takvim matičnim stanicama redovito su bili prisutni bivalenti, koji su karakteristični samo za I mejotsku diobu, tako da II mejotska dioba nije mogla doći u pitanje. Uz polenske tetrade s 4 jezgre redovito su dolazile i »tetrade« s 3 jezgre.

4. *L. liburnicum* H-ić

Na temelju više brojenja i crtanja kromosoma u mejotskoj diobi matičnih stanica polena utvrđen je $n = 54$ (sl. 6). U toku mejoze nisu uočene neke veće nepravilnosti. Među normalnim polenskim tetradama nađene su i »tetrade« s 3 i 5 jezgara. Interesantno je primijetiti da su matične stanice polena, polenske tetrade, polenova zrnca te ostale stanice nesrazmjerno malene kod ovako visoke poliploidije. Osobito je ta pojava došla do izražaja kod studije mitotskih kromosoma. Zbog malenih dimenzija stanica u odnosu na ogromnu kromosomsku masu bilo je veoma teško dobiti povoljan stadij gdje bi se kromosomi mogli jasno razabrati i tačno izbrojiti. Na najboljem crtežu koji je dobiven (sl. 7) $2n \approx 108$, međutim kromosomi nisu dovoljno jasno razdvojeni, da bi se mogli sa sigurnošću izbrojiti. Obzirom na poteškoće, s kojima se suočavamo kod citološkog studija ovakvog poliploida, ne može se ništa reći o eventualnoj prisutnosti B-kromosoma.

Sl. 6. *L. liburnicum* ($n = 54$). Mejotski kromosomi u matičnoj stanici polena.

Fig. 6. *L. liburnicum* ($n = 54$). Meiotic chromosomes in pollen mother cell.

Sl. 7. *L. liburnicum* ($2n = 108$). Mitotski kromosomi u stanici korijenovog vrška.

Fig. 7. *L. liburnicum* ($2n = 108$). Mitotic chromosomes in root tip cell.

Sl. 8. *L. praecox* ($n = 9$). Mejotski kromosomi u matičnoj stanici polena.

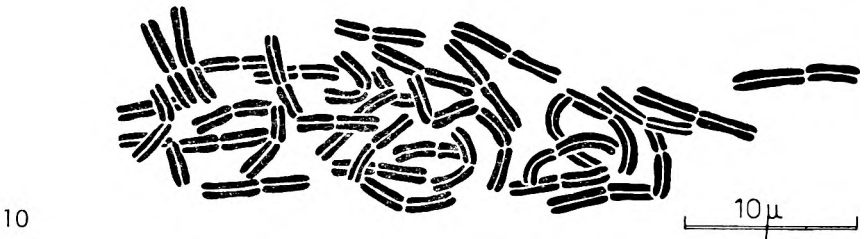
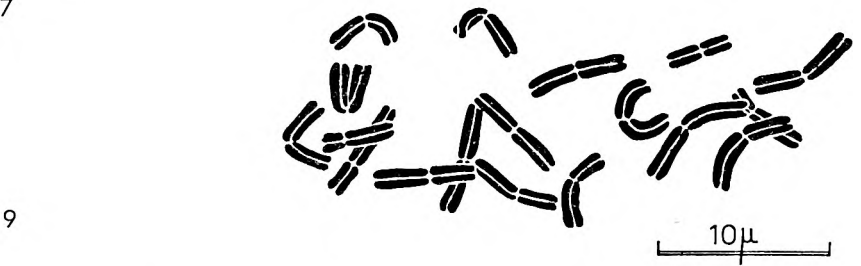
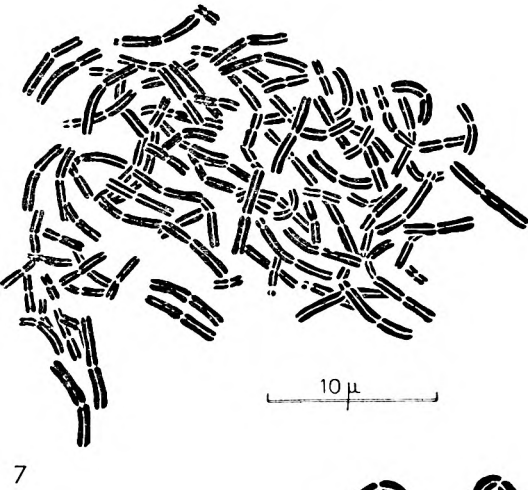
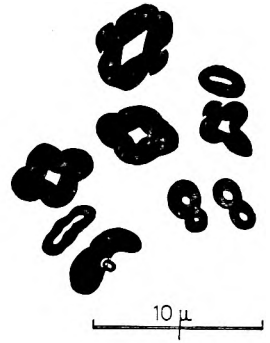
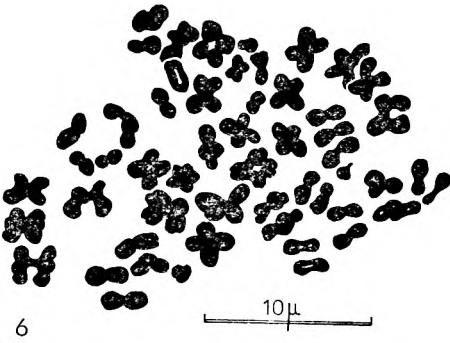
Fig. 8. *L. praecox* ($n = 9$). Meiotic chromosomes in pollen mother cell.

Sl. 9. *L. praecox* ($2n = 18$). Mitotski kromosomi u stanici korijenovog vrška.

Fig. 9. *L. praecox* ($2n = 18$). Mitotic chromosomes in root tip cell.

Sl. 10. *L. vulgare* ($2n = 36$). Mitotski kromosomi u stanici korijenovog vrška.

Fig. 10. *L. vulgare* ($2n = 36$). Mitotic chromosomes in root tip cell.



5. *L. praecox* H-ić

Za vrstu *L. praecox* Duckert i Favarger (1956) i Favarger (1959) su pretpostavili da bi mogla imati diploidan broj kromosoma ($2n = 18$, odnosno $n = 9$).

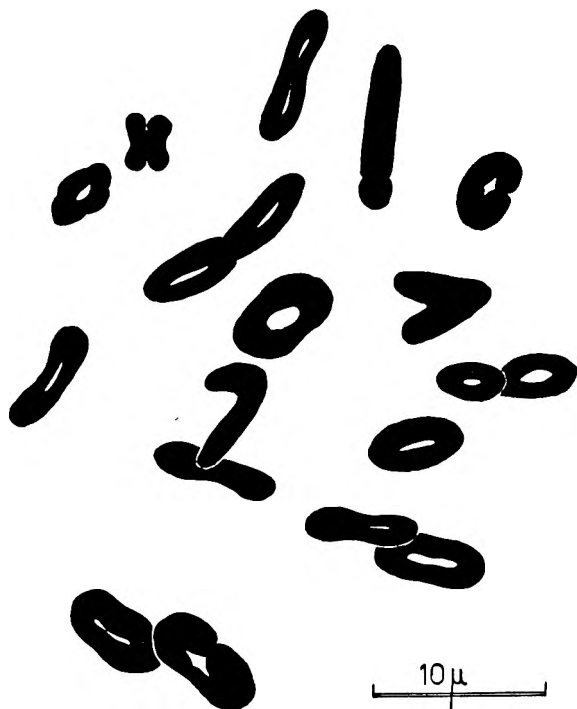
U okviru ovog rada prostudirane su detaljno mitozna i mejoza. Ni u toku jedne ni druge diobe nisu se mogle primijetiti anomalije, osim što su u mitozni uočeni kromosomski mostovi. U dijakinezi mejotske diobe (sl. 8) kao u drugoj mejotskoj diobi matičnih stanica polena nesumnjivo je bilo vidljivo uvijek 9 kromosoma. Isto ih je tako u mitozni uvijek bilo 18 (sl. 9).

6. *L. vulgare* Lam. (s. str.)

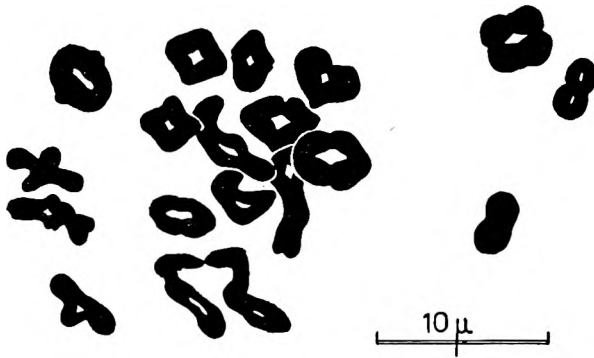
Studirane su mitozna i mejoza. Obje diobe tekle su normalno. Diploidni broj iznosio je $2n = 36$ (sl. 10), a haploidni $n = 18$ (sl. 11). Mejotski kromosomi u odnosu na kromosome u mitozni vrlo su veliki.

7. *L. leucolepis* (Briqu. et Cav.) H-ić

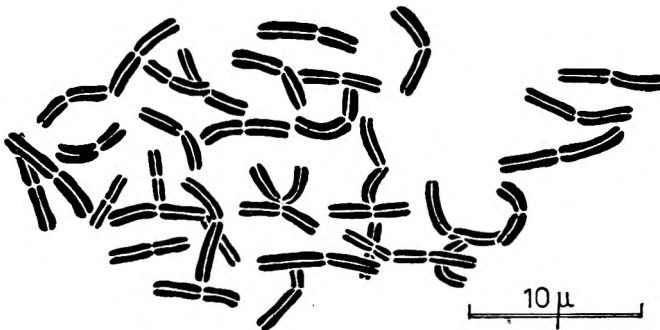
Na temelju ispitivanja primjeraka s više različitih nalazišta nađeno je redovito u mejozi matičnih stanica polena 18 kromosoma (sl. 12) i u mitozni somatskih stanica $2n = 36$ (sl. 13). Mitozna i mejoza redovito su tekle normalno.



Sl. 11. *L. vulgare* ($n = 18$). Mejotski kromosomi u matičnoj stanici polena.
Fig. 11. *L. vulgare* ($n = 18$). Meiotic chromosomes in pollen mother cell.



Sl. 12. *L. leucolepis* ($n = 18$). Mejotski kromosomi u matičnoj stanici polena.
 Fig. 12. *L. leucolepis* ($n = 18$). Meiotic chromosomes in pollen mother cell.



Sl. 13. *L. leucolepis* ($2n = 36$). Mitotski kromosomi u stanici korijenovog vrška.
 Fig. 13. *L. leucolepis* ($2n = 36$). Mitotic chromosomes in root tip cell.

VI. Diskusija

Nema sumnje da su vrste roda *Leucanthemum* s $n = 9$ ($2n = 18$) najstarije. One su se najvjerojatnije razvile mnogo prije glacijacije, a do danas su se sačuvale samo u dvije regije: subalpinskoj i panonskoj. U subalpinskoj su se regiji održale na vapnenačkoj podlozi planinskog pojasa gdje su bile zaštićene od glacijacije, a kasnije i od navale šuma (Duckert i Favarger 1956). Na takvim mjestima uspijeva diploidna forma var. *alpicola* koju su opisali Duckert i Favarger (1956).

Na istom takvom staništu na planini Vranici u klekovini bora uspijeva vrsta *L. rotundifolium* ($2n = 18$), kojoj se također može pripisati reliktno porijeklo.

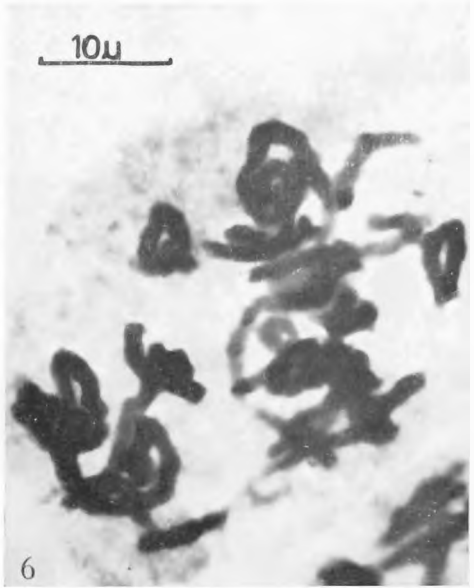
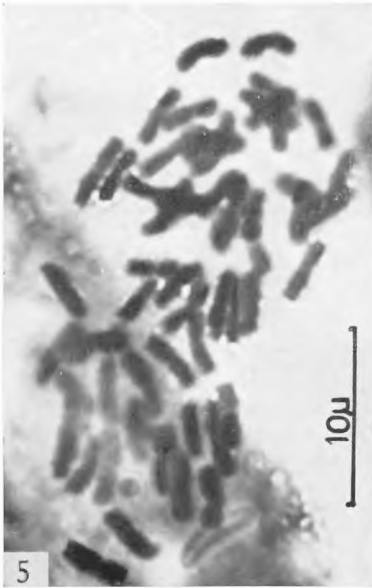
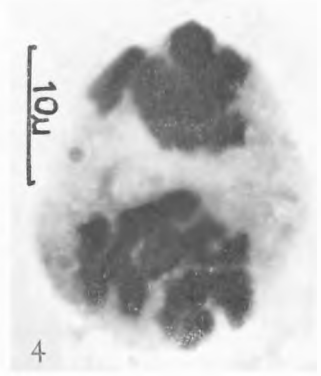
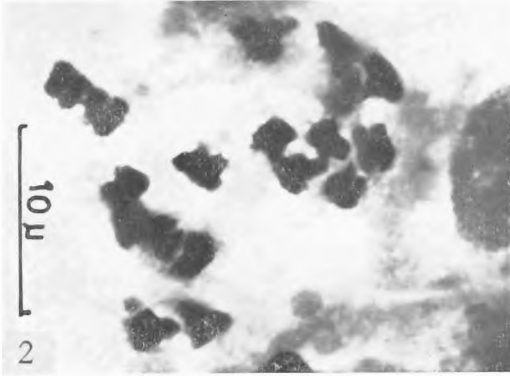
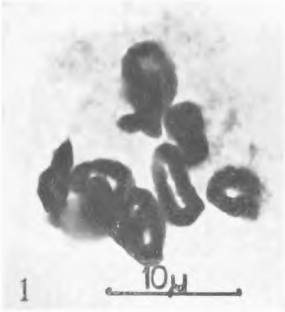
Druga jugoslavenska diploidna vrsta *L. praecox* dolazi u panonskoj regiji. To je područje bilo vrlo malo uništeno glacijacijom. Konstatcija da je ta vrsta diploidna vrlo je interesantna s razloga što su već Duckert i Favarger (1956) kod opisa diploidne svojte var. *alpicola* također pretpostavili da bi *L. praecox* morao biti diploidan. Tu pretpostavku izvodili su iz činjenice što *L. praecox* cvate vrlo rano i što se morfološki jasno izdvaja od svih ostalih vrsta ovog roda (Horvatić 1935).

Pretpostavi li se da diploidne forme potječu prije ledenog doba i da su to najstarije forme ovog roda, onda su u svakom slučaju tetraploidne mlade od njih. Po shvaćanju Favargera (1959) tetraploidne forme su se mogle razviti samo autopoliploidijom ili alopoliploidijom iz već postojećih diploida. Tetraploidi *L. vulgare* i *L. leucolepis* vjerojatno potječu iz postglacijalnog doba. U prilog ovome ide činjenica što postoji mnogo više tetraploidnih vrsta nego diploidnih. Tetraploidi nastajuju većinom livade košanice, dakle grupacije na koje utječe čovjek, a ove su svakako mlade.

Za ostale visoko poliploidne forme: heksaploidnu, oktoploidnu, dodekaploidnu i dr. postoje dvije hipoteze o mogućnosti njihova porijekla. Prva je da su one stari poliploidi (paleoploidi). Ovoj hipotezi ide u prilog što postoji mnogo svojta ovog roda čiji se areali rasprostranjenja nalaze u starim planinskim lancima: Jure, Tatra, Balkanskih planina i dr. te dolaze samo u prirodnim populacijama (Favarger 1959). Druga mogućnost, koju navode Favarger (1959) i Skalinska (1964), je da su visoko poliploidne forme mlade od tetraploidnih. U svakom slučaju su te morale nastati ili autopoliploidijom ili alopoliploidijom od već postojećih.

Prije nego što se pokuša objasniti porijeklo pojedinih poliploidnih formi nužno je potrebno osvrnuti se na uočene anomalije, koje su se javljale jedino kod ovih. U toku karioloških studija poliploidnih svojta konstantno su bile nazočne nepravilnosti u mejozi matičnih stanica polena, tj. u toku mikrosporogeneze. Teško je za sada zauzeti stanovište o stalnom i pravom uzroku tih anomalija. Nepravilni tok mejotske diobe govori u prilog postojanja autopoliploida. Također postoji mogućnost da dolazi osim toga i do poremećaja mehanizma diobenog vretena kao i do poremećaja citodiareze. Istom uzroku treba pripisati i nepravilno stvaranje polenskih tetrada s jezgrama nejednake veličine, a također i »trade« s nejednakim brojem jezgara. Međutim se sve uočene anomalije ne mogu pripisati samo visokom stupnju poliploidije, jer su slične anomalije uočili Duckert i Favarger (1956) kod studija diploida subsp. *alpicola*, a hibridogeno porijeklo fertilne diploidne forme je gotovo nemoguće. U rješavanju ovih problema vjerojatno bi bio od značaja i detaljni studij megasporogeneze. Takve studije vršene su već na nekim primjercima ovog roda (Harling 1951, Martin i Smith 1955).

Oktoploidna forma dobivena kao *L. atratum* iz botaničkih vrtova Belvedere-Wien i Grenoble prema dijagnozi Mayera (1960) ima mnogo više karakteristika, koje bi odgovarale subsp. *lithopolitanicum* Mayer,



Tumač table — Explanation of Plate

Table 1—6. Mikrofotografije mejotskih i mitotskih kromosoma roda *Leucanthemum* — 1. *L. praecox* ($n = 9$), 2. *L. praecox* ($n = 9$), 3. *L. praecox* ($2n = 18$), 4. *L. leucolepis* ($n = 18$), 5. *L. croaticum* ($2n = 54$), 6. *L. croaticum* ($n = 27$).

Table 1—6. Photomicrographs of meiotic and mitotic chromosomes of *Leucanthemum* — 1. *L. praecox* ($n = 9$), 2. *L. praecox* ($n = 9$), 3. *L. praecox* ($2n = 18$), 4. *L. leucolepis* ($n = 18$), 5. *L. croaticum* ($2n = 54$), 6. *L. croaticum* ($n = 27$).

nego subsp. *atratum* Vill. Porijeklo tog oktoploida može se tumačiti na oba već spomenuta načina. Prema staništu moglo bi se subsp. *lithopolitanicum* označiti kao paleoploid. Međutim, vjerojatnije je da je taj takson mlađeg porijekla, tim više ako se uzmu u obzir postojeće anomalije. Oktoploidni subsp. *lithopolitanicum* mogao je nastati autopoliploidijom ili alopoliploidijom od srednjoevropske vrste *L. atratum*, koja je diploidna (Shimotomai 1937) i tetraploidna (Dowrick 1952).

Uz već spomenute anomalije koje su uočene kod gotovo svih poliploidnih svojti ovog roda, kod ovog taksona primijećene su još neke. Vrlo često su susretane matične stanice polena s povećanim brojem kromosoma. Osim što se u I mejotskoj diobi pojavljuju manja odstupanja od broja 36 (37 i 38 mejotskih kromosoma), nađeno je s druge strane nekoliko matičnih stanica s 54. U prvom slučaju moglo bi se na prvi pogled pretpostaviti da se možda radi o jednom aneuploidu (Darlington 1937), međutim činjenica da se mnogobrojni kromosomi pojavljuju samo u generativnim stanicama i da je nađeno nekoliko stanica s punim brojem 54, isključuju tu mogućnost. Doduše, takvi su slučajevi poznati, ali su više svojstveni niskoploidnim vrstama (Müntzing i Nygren 1955, Darlington 1956). Kod poliploidnih vrsta prekobrojni kromosomi mogu predstavljati pojedine nesparene kromosome. Javljanje matičnih stanica s $n = 54$ uz normalne s $n = 36$ moglo bi se povezati s činjenicom što je subsp. *lithopolitanicum* visok poliploid i što je vjerojatno hibridogenog porijekla. Udvostručenje kromosoma u mejozi često se susreće kod poliploida (Darlington 1937).

Progresivni endemi *L. croaticum* ($2n = 54$) i *L. liburnicum* ($2n = 108$) su najvjerojatnije mlađeg porijekla, oni su tako reći još uvijek u razvoju. Lako je moguće da se *L. liburnicum* razvio od *L. croaticum* autopoliploidijom. Ovo je tumačenje proizvoljno i ono će se morati još objasniti i poduprijeti detaljnom studijom mejoze kod jedne i druge vrste. Kod vrste *L. croaticum* uočeno je samo nekoliko matičnih stanica polena s povećanim brojem kromosoma. Također je bio nađen slučaj da se čitava garnitura udvostručila. Možda matične stanice s povećanim brojem kromosoma nisu tako rijetke, kako se dobio dojam u toku dosadašnjih istraživanja. Nestabilan broj kromosoma u ovom slučaju vodi nedvojbeno porijeklo od nepravilne mejoze generativnih stanica koje su građene od $6n$ odnosno haploidno $3n$ (Darlington 1956).

VII. Z a k l j u č a k

Nakon izvršenog citotaksonomskog studija vrsta roda *Leucanthemum* Adans. em Briqu. et Cav. s područja Jugoslavije može se zaključiti da postoji znatna kariološka diferencijacija, koja je u skladu s ekološkom i geografskom distribucijom. Unutar ovog roda utvrđeno je nekoliko stupnjeva poliploidije.

Diploidi $n = 9$, $2n = 18$

L. praecox H-ić i *L. rotundifolium* (W. R.) DC. potječu iz predglacijalne epohe. Međusobno su oštro odijeljeni svojim arealima i staništima.

Tetraploidi $n = 18$, $2n = 36$

L. vulgare Lam. (s. str.) i *L. leucolepis* (Briquet et Cav.) H-ić; jedan od drugoga razlikuju se osim po vanjskoj građi, dobi cvatnje, pripadnosti fitocenološkim zajednicama još i po različitoj građi i veličini kromosoma, što jasno dolazi do izražaja u mejozi.

Heksaploid $n = 27$, $2n = 54$

L. croaticum H-ić je endemična vrsta još u razvoju.

Oktoploid $n = 36$, $2n = 72$

Oktoploid sličan *L. atratum* subsp. *lithopolitanicum* Mayer je najvjerojatnije još u razvitku. S izvjesnim nepravilnostima u mejozi može se reći da je broj kromosoma u većini slučajeva bio konstantan. Taj se takson vjerojatno razvio od srednjoevropske vrste *L. atratum*, koja se pokazala kao diploid (Shimotomai 1937) i kao tetraploid (Dowrick 1952).

Dodekaploid $n = 54$, $2n = 108$

L. liburnicum H-ić je endemična biljka u razvoju. Moguće je nastala autopoliploidijom heksaploida *L. croaticum*.

Zahvale

Najljepše zahvaljujem prof. dru Z. Devidéu na podršci i savjetima pri citološkom istraživanju. Isto tako zahvaljujem prof. dru S. Horvatiću na pomoći pri određivanju sistematske pripadnosti svojta roda *Leucanthemum*.

Dr S. Ungar, upraviteljici Botaničkog vrta u Zagrebu, zahvaljujem na susretljivosti i pomoći.

VIII. Literatura

- Baksay, L., 1956: Cytotaxonomical Studies on the Flora Hungary. Ann. Hist. Nat. Hung. 7, 227—228.
- Baksay, L., 1957: The Cytotaxonomical of the Species *Chrysanthemum Leucanthemum maximum* Ram., *Centaurea montana* L., *Serratula lycopholia* (Vill.) Kern. and *Bupleurum falcatum* L. Ranging in Europe. Ann. Hist. Nat. Hung. 8, 155—168.
- Beck, G., 1890—1893: Flora von Nieder-Österreich. Verlag von Carl Gerold's Sohn. Wien 2, 1201.
- Briquet, J. et Cavillier, F., 1916: Flore des Alpes maritimes. Georg. Lyon. VI/1.
- Böcher, T. and Larsen, K., 1957: Cytotaxonomical Studies in the *Chrysanthemum Leucanthemum* Complex. Watstonia, 4, 11—16.
- Cooper, D. C. and Mahony, K. L., 1935: Cytotaxonomical Observation on certain *Compositae*. Amer. J. Bot. 22, 843—848.
- Darlington, C. D., 1937: Recent Advances in Cytology. George Allen and Unwin, London.
- Darlington, C. D., 1956: Chromosome Botany. George Allen and Unwin, London.
- Darlington, C. D. and La Cour, L. F., 1963: Methoden der Chromosomenuntersuchung. Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart.
- Dowrick, G. J., 1952: The Chromosomes of *Chrysanthemum*. I The Species. Heredity 6, 365—375.

- Dowrick, G. J., 1953: The Chromosomes of *Chrysanthemum*. II Garden Species. Heredity 7, 59—72.
- Duckert, M. M. et Favarger, C., 1956: Sur l'existence dans le Jura d'une forme diploïde de *Chrysanthemum Leucanthemum* L., Bull. Soc. bot. suisse. 66, 134—146.
- Favarger, C., 1959: Distribution en Suisse des races Chromosomiques de *Chrysanthemum Leucanthemum* L. Bull. Soc. bot. suisse. 69, 26—46.
- Fiori, A., 1925—1929: Nuova flora analitica d'Italia 2, 621 Firenze.
- Gadella, W. J. and Kliphuis, E., 1963: Chromosome Numbers of Flowering Plants in the Netherlands. Acta Bot. Netherland. 12, 193—236.
- Giroux, M., 1933: Note sur la position systématique du *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) Vis., suivie de quelques remarques sur les caractères carpologiques des *Tanacetum*. Bull. Soc. Afr. Nord. 24, 54—62.
- Harling, G., 1951: Embryologic Studies in the *Compositae*. Acta Horti. Berg. 16, 1—56, 73—120.
- Hayek, A., 1931: Podromus florum peninsulae Balcanicae. Berlin-Dahlem II, 645.
- Hegi, G., 1928: Illustrierte Flora von Mittel-Europa. Hansen Verlag München. VI/2, 590—622.
- Heywood, V. H., 1958: A Check-list of the Portuguese *Compositae Chrysantheminae*. Agron. Lusit. 20, 205—215.
- Horvatić, S., 1928: Oblici sekcije *Leucanthemum* iz roda *Chrysanthemum* u flori Jugoslavije. Acta Bot. Univ. Zagreb. 3, 61—140.
- Horvatić, S., 1935: Neuer Beitrag zur Kenntnis der *Leucanthemum* Formen in der Flora Jugoslaviens. Acta bot. Univ. Zagreb. 10, 62—100.
- Horvatić, S., 1954: Bilinar. 414—415.
- Horvatić, S., 1963: Genus *Leucanthemum* in Flora Jugoslaviae. Acta Bot. Croat. 22, 203—218.
- Knaben, G., 1961: Cyto-Ecologic Problem in Norwegian Flora Groups, Distribution and Significance of Polyploidy. Hereditas, 47, 553—568.
- Martin, R. W. and Smith, 1955: Megagametophyte Development in *Chrysanthemum Leucanthemum* L. Bot. Gaz. 116, 243—252.
- Mayer, E., 1960: *Chrysanthemum atratum* Jacq. subsp. *lithopolitanicum* E. Mayer subsp. nov., eine neue endemische Sippe der südöstlichsten Kalkalpen. Acta Bot. Croat., 19, 69—77.
- Mulligan, A., 1958: Chromosome Races in the *Chrysanthemum leucanthemum* Complex. Rhodora, 60, 122—125.
- Müntzing, A. and Nygren, A., 1955: A New Diploid Variety of *Poa alpina* with two Accessory Chromosomes at Meiosis. Hereditas, 41, 405—422.
- Ostergren, G. and Hennen, W. K., 1962: Squash Technique for Chromosome Morphological Studies. Hereditas, 48, 705—712.
- Polya, L., 1950: Magyarországi növény fajok kromoszómaszámai. Ann. Biol. Univ. Debrec., 1, 46—58.
- Skalinska, M., 1963: Cytological Studies in the Flora of Tatra Mts. Acta Biol. Crac. Ser. Bot. 6, 203—233.
- Skalinska, M., 1964: Additions to Chromosome Numbers of Polish Angiosperms. Acta Bot. Polon. 33, 45—77.
- Skalinska, M. et al., 1959: Further Studies in Chromosome Numbers of Polish Angiosperms. (Dicotyledons). Acta Bot. Pol. 28, 487—529.
- Skalinska, M., Piotrowicz, M., Sokolowska-Kulczyńska, A., et al., 1961: Further Additions to Chromosome Numbers of Polish Angiosperms. Acta Bot. Polon. 30, 463—489.
- Shimotomai, N., 1937: Chromosomenzahlen bei einiger Arten von *Chrysanthemum*. Ztschr. Vererb. 74, 30—33.
- Tahara, M., 1915: Cytological Studies on *Chrysanthemum*. Bot. Magaz. 29, 48—50.
- Tahara, R., 1921: Studien an einigen Kompositen. Jour. Coll. Sci. 43, 33—45.
- Tanaka, R., 1960: On the Speciation and Karyotopes in Diploid and Tetraploid Species of *Chrysanthemum*. V. *Chrysanthemum yoshinagatum* $2n = 36$. Cytologia, 25, 43—58.

SUMMARY

CYTOTAXONOMICAL INVESTIGATIONS OF SPECIES OF THE GENUS LEUCANTHEMUM Adans. em. Briqu. et Cav. FROM YUGOSLAVIA

With 13 Textfigures and 1 Plate

Dražena Mirković

(Botanical Institute of the University Zagreb)

Received September 30th 1965.

Cytological investigations of the species of the genus *Leucanthemum* Adans. em. Briqu. et Cav. from Yugoslavia allow the conclusion that there is a considerable caryological differentiation which is well in accordance with their ecological and geographical distribution. In this genus some degrees of polyploidy were established.

Diploids $n = 9$, $2n = 18$

L. praecox H-ić and *L. rotundifolium* (W. R.) DC. originate from preglacial epoch being clearly separated by their areals and habitats. *L. praecox* grows exclusively in medium dry valley meadows. *L. rotundifolium* is an endemic species growing only within strictly limited regions. In Yugoslavia it grows only on the mountain Vranica.

Tetraploids $n = 18$, $2n = 36$

There are two species: *L. vulgare* Lam. (s. str.) and *L. leucolepis* (Briqu. et Cav.) H-ić. They differ from each other in their morphology, flowering time in different communities as well as in the morphology and size of chromosomes (which is especially clearly visible in meiosis).

Hexaploid $n = 27$, $2n = 54$

L. croaticum H-ić is a progressive endemic species in Yugoslavia.

Octoploid $n = 36$, $2n = 72$

The investigated *L. atratum*, corresponding by description more to the subsp. *lithopolitanicum* E. Mayer than to the typical subsp. *atratum*, is considered to originate probably from the diploid or tetraploid middle-European species *L. atratum*.

Dodecaploid $n = 54$, $2n = 108$

L. liburnicum H-ić is considered to originate probably by autopolyploidy of the hexaploid *L. croaticum*.