

UDC 581.17:582.579.2 = 862
Izvorni znanstveni rad

KARIOLOŠKA ANALIZA NEKIH POPULACIJA
VRSTA *IRIS PALLIDA*, *I. ILLYRICA* I
I. PSEUDOPALLIDA (IRIDACEAE)

With Summary in English

BOŽENA MITIĆ

(Botanički zavod Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu)

Primljeno 30. 10. 1990.

Izvršena je kariološka analiza nekih populacija taksona *Iris pallida* Lam., *I. illyrica* Tomm. i *I. pseudopallida* Trinajstić. U svim slučajevima dobiven je mitotski broj kromosoma $2n = 24$. Ustanovljena je morfološka varijabilnost kariotipova između istraživanih vrsta, kao i između različitih populacija vrste *I. illyrica*.

Uvod

Prema Trinajstiću (1976) srođne vrste *I. pallida* Lam., *I. illyrica* Tomm. i *I. pseudopallida* Trinajstić, zajedno s vrstom *I. cengialti* Ambrosi, čine kompleks obuhvaćen serijom *Pallidae* (sect. *Iris*, series *Pallidæ*). Po tom mišljenju u primorskom dijelu Hrvatske dolazile bi *I. pseudopallida* — južnije od Mosora i *I. illyrica* — sjevernije od Mosora. U kontinuiranom slijedu u Sloveniji i Italiji nastavlja se *I. cengialti*, dok se za *I. pallida* smatra da dolazi samo u hortikulti (Trinajstić 1976, 1983). Pitanje geneze i međusobne srodnosti ovih taksona nije još sasvim razjašnjeno. Literaturni podaci ukazuju na varijabilnosti morfološko-anatomskih oznaka i kariotipova, koje u pojedinim vrsta idu do nivoa populacija (Mitra 1956, Lausi 1964, Trinajstić 1976). Dalji problem predstavlja različito tretiranje taksonomskog statusa pojedinih svojti. Tako npr. samoniklu južnodalmatinsku peruniku, kojoj Trinajstić (1976) daje rang vrste (*I. pseudopallida*), mnogi autori

poistovjećuju s *I. pallida* ili je smatraju njezinim varijetetom — *I. pallida* Lam. var. *dalmatica* Pamp. (Hayek 1933, Domac 1979, Webb et Chater 1980, Köhlein 1981, Hećimović 1984, Schulze 1988, Hećimović M. et S. 1989), ili je navode pod imenom *I. illyrica* (Radić 1974).

U ovom radu izvršena je citomorfološka analiza nekih populacija serije *Pallidae* s područja Hrvatske, kao prilog spoznaji o njenim intra-specijskim i interspecijskim odnosima.

Dosadašnjim citomorfološkim istraživanjima populacija iz ove serije (Simonet 1934, Darlington et Wylie 1955, Mitra 1956, Lausi 1964, Mitić 1989) u svim slučajevima dobiven je mitotski broj kromosoma $2n=24$, a primijećeno je i variranje morfologije kromosoma na nivou populacija pojedinih vrsta.

Materijal i metode

Klonovi pojedinih vrsta upotrijebljeni za kariološku analizu somatiskih kromosoma potječeći s ovih lokaliteta:

<i>Iris pallida</i>	— Zagreb (privatni vrt u Dubravi)
	— Zagreb (park Zrinjevac)
<i>I. illyrica</i>	— okolica Rijeke (iznad Grobničkog polja)
	— Donja Klada (podnože Velebita)
<i>I. pseudopallida</i>	— Biokovo (Kotišina, iznad Makarske)
	— Korčula (Pupnatska luka)

Za svaku populaciju analizirano je po pet biljaka. Mitoze su promatrane u korjenovim vršcima, koji su prethodno tretirani u vodenoj otopini p-diklorbenzena u trajanju od dva do tri sata, na temperaturi $+4^{\circ}\text{C}$, a zatim fiksirani u acetoalkoholu (100% etilni alkohol : glacijalna octena kiselina = 3 : 1). Preparati su rađeni metodom tještenja i bojeni acetokarminom, te su podvrgnuti dehidrataciji uranjanjem stakalca u smjesu butanola i glacijalne octene kiseline (1 : 1), a zatim u čisti butanol, kako bi se dobili trajni citološki preparati. Najbolji preparati i najveći broj mitoza dobiveni su ako su korjenčići uzimani između 11 i 14 sati.

Za svaku populaciju analizirano je po deset metafaznih snimaka, na temelju kojih su obrađene morfometrijske karakteristike kromosoma (Rafinski et Passakas 1976, Sauer et Leep 1979). Izračunate su:

- srednje vrijednosti apsolutnih duljina kromosoma
- srednje vrijednosti relativnih duljina kromosoma (% od $2n$, bez satelita)
- srednje vrijednosti duljina dužih krakova
- srednje vrijednosti duljina kraćih krakova
- indeks krakova (omjer prosječne duljine dužeg kraka prema prosječnoj duljini kraćeg kraka).

Za svaki parametar izračunata je aritmetička sredina (\bar{x}), standardna devijacija (s) i standardna greška aritmetičke sredine ($S\bar{x}$). Prema indeksu krakova kromosomi su svrstani u određene tipove (Sauer et Leep 1979). Crtani su samo najuspjeliji stadiji, a na temelju njihove obrade načinjeni su kariotipovi (Sl. 1—3) i idiogrami (Sl. 4—6). Idiogrami su načinjeni prema veličini kromosoma, u opadajućem nizu (Mitra 1956,

Tab. 1. Rezultati mjerjenja kromosoma

Tab. 1. Results of chromosome measurements

KARIOLOŠKA ANALIZA POPULACIJA IRIS VRSTA

Kromosomi (Chromosomes)		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>I. pallida</i> Dubrava	RD	13.4 0.431	9.3 0.228	9.1 0.321	8.9 0.103	9.1 0.033	8.9 0.112	8.4 0.145	7.5 0.258	7.1 0.213	6.7 0.131	6.3 0.458	5.4 0.225
	TK	M 0.136	SM ^s 0.072	SM 0.101	ST 0.033	SM ^s 0.078	SM ^s 0.046	SM 0.046	ST 0.082	ST 0.067	ST 0.041	ST 0.142	ST 0.071
<i>I. pallida</i> Zrinjevac	RD	13.9 0.253	9.4 0.328	9.1 0.404	9.0 0.266	9.0 0.247	8.5 0.071	8.0 0.156	7.4 0.192	7.1 0.162	6.7 0.323	6.6 0.093	5.7 0.081
	TK	M 0.080	SM ^s 0.104	SM 0.128	ST 0.084	SM ^s 0.078	SM ^s 0.022	SM 0.049	ST 0.061	ST 0.051	ST 0.102	ST 0.029	ST 0.026
<i>I. illyrica</i> Rijeka	RD	14.9 0.112	10.5 0.231	9.5 0.314	9.4 0.156	9.4 0.198	8.5 0.288	7.9 0.099	7.5 0.131	6.8 0.167	6.7 0.425	5.9 0.089	5.8 0.122
	TK	M 0.035	SM ^s 0.073	SM 0.099	ST ^s 0.049	ST ^s 0.063	SM 0.091	SM 0.031	ST 0.041	ST 0.053	ST 0.134	ST 0.028	ST 0.039
<i>I. illyrica</i> Donja Klada	RD	13.6 0.087	9.4 0.283	8.9 0.213	9.1 0.167	8.9 0.199	8.3 0.171	7.9 0.093	7.7 0.122	7.7 0.124	6.7 0.158	6.7 0.221	6.0 0.191
	TK	M 0.028	SM ^s 0.089	ST ^s 0.067	SM 0.053	SM 0.063	SM 0.054	SM 0.029	ST ^s 0.039	ST ^s 0.074	ST ^s 0.049	ST ^s 0.069	ST ^s 0.060
<i>I. pseudopallida</i> Biokovo	RD	12.7 0.131	9.7 0.223	9.2 0.245	9.1 0.154	8.4 0.333	8.4 0.320	8.1 0.098	7.6 0.285	7.7 0.155	7.3 0.187	6.3 0.122	5.4 0.430
	TK	M 0.041	SM ^s 0.071	SM ^s 0.077	SM 0.049	SM 0.105	SM 0.100	SM 0.031	SM 0.090	SM 0.049	SM 0.059	SM 0.039	SM 0.136
<i>I. pseudopallida</i> Korčula	RD	12.5 0.440	9.8 0.099	8.8 0.138	9.2 0.211	8.2 0.044	8.4 0.231	8.3 0.178	8.1 0.149	7.9 0.150	7.0 0.037	6.4 0.192	5.2 0.255
	TK	M 0.139	SM ^s 0.031	SM ^s 0.044	SM ^s 0.067	SM ^s 0.014	ST ^s 0.073	ST ^s 0.056	ST ^s 0.047	ST ^s 0.012	ST ^s 0.061	ST ^s 0.081	ST ^s 0.081

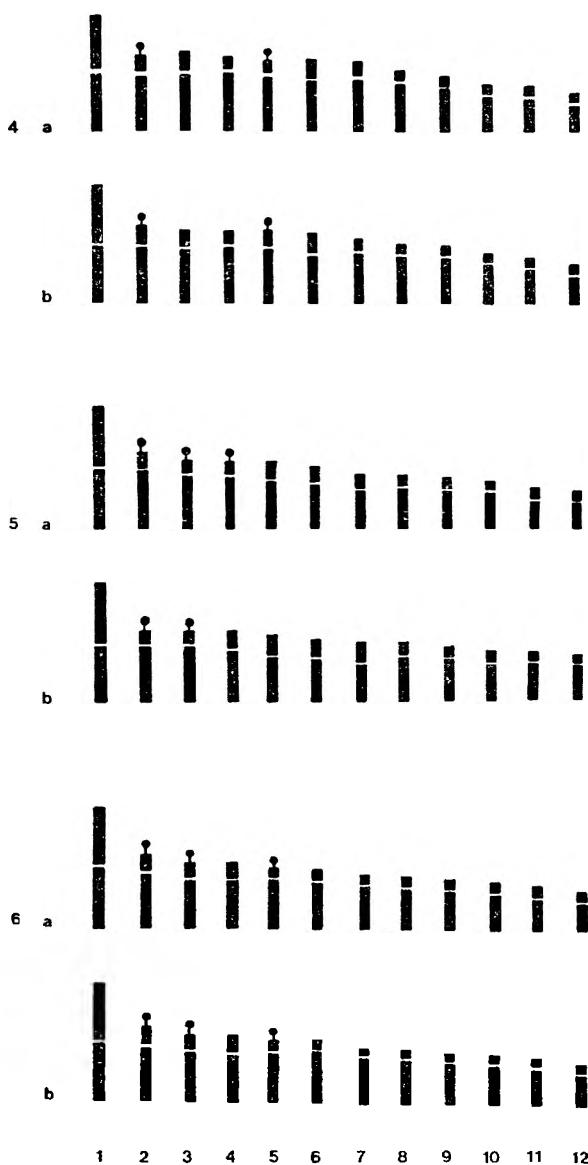
RD — relativna duljina (relative length)
 TK — tip kromosoma (type of chromosomes)
 s — kromosom sa satelitom (chromosome with satellite)



Sl. 1—3. Kariotipovi somatskih kromosoma:

Figs. 1—3. Karyotypes of somatic chromosomes:

1. *Iris pallida*: a) Zagreb (vrt), b) Zagreb (Zrinjevac);
2. *I. illyrica*: a) okolica Rijeke, b) Donja Klada;
3. *I. pseudopallida*: a) Biokovo, b) Korčula



Sl. 4—6. Idiogrami somatskih kromosoma:

Figs. 4—6. Idiograms of somatic chromosomes:

4. *Iris pallida*: a) Zagreb (vrt), b) Zagreb (Zrinjevac);

5. *I. illyrica*: a) okolica Rijeke, b) Donja Klada;

6. *I. pseudopallida*: a) Biokovo, b) Korčula

Lausi 1964). U tabeli (tab. 1) su prikazane vrijednosti relativnih duljina i tipovi kromosoma (M-metacentričan, SM—submetacentričan, ST—suptelocentričan kromosom).

Rezultati

Za sve istraživane populacije utvrđen je mitotski broj kromosoma $2n=24$, te varijabilnost morfologije kromosoma kod populacija različitih vrsta, ali i kod populacija iste vrste (*I. illyrica*).

Objje populacije vrste *I. pallida* iz uzgoja pokazale su velike sličnosti u izgledu kariotipova (sl. 1a, b). Karakteriziraju ih prvi metacentrični parovi kromosoma, drugi, treći, peti i šesti supmetacentrični parovi, te četvrti i sedmi do dvanaesti suptelocentrični parovi. Drugi i peti parovi supmetacentričnih kromosoma nose satelite (sl. 4a, b).

U populaciji vrste *I. illyrica* iz okolice Rijeke utvrđen je jedan par metacentričnih kromosoma (prvi par), tri para submetacentričnih (drugi, peti i šesti par) i devet pari suptelocentričnih kromosoma (treći, četvrti, šesti do dvanaesti). Sateliti se nalaze na drugom paru submetacentričnih i na trećem i četvrtom paru suptelocentričnih kromosoma (sl. 2a, 5a). Klonovi populacija ove vrste iz Donje Klade karakterizirani su jednim parom metacentričnih kromosoma, s pet pari submetacentričnih (drugi, četvrti do sedmi par) i šest pari suptelocentričnih kromosoma (treći, osmi do dvanaesti par). Drugi i treći par kromosoma nose satelite (sl. 2b, 5b).

Za obje istraživane populacije vrste *I. pseudopallida* ustanovljen je po jedan par metacentričnih kromosoma (prvi par). Kod populacije s Biokova submetacentrični su drugi, treći, četvrti, peti, sedmi i osmi par, a šesti, te deveti do dvanaesti su suptelocentrični. U kariotipu populacije s Korčule peti par je suptelocentričan. Sateliti se kod obje populacije nalaze na drugom, trećem i petom paru kromosoma (sl. 3a, b; 6a, b).

Diskusija i zaključak

Kariološkom analizom različitih populacija, pripadnika serije *Pallidae*, ustanovljen je za sve populacije mitotski broj kromosoma $2n=24$, što potvrđuje prijašnja istraživanja kariotipova svojti te serije (Simonet 1934, Mitrá 1956, Lausi 1964, Mitić 1989). Sve kariotipove karakteriziraju relativno veliki kromosomi (Tab. 1), od kojih je prvi par uvijek metacentričan, a javljaju se i dva do tri para satelitskih kromosoma. Kod *I. pallida* sateliti su na drugom i petom paru, kod *I. illyrica* na drugom i trećem, odnosno na drugom, trećem i četvrtom paru kromosoma, dok se kod *I. pseudopallida* nalaze na drugom, trećem i petom paru kromosoma. Uočena je morfološka sličnost između pojedinih kromosomskih parova različitih vrsta, kao što su šesti par kod *I. pallida* i *I. illyrica* iz Donje Klade, te šesti par kod *I. pseudopallida* i *I. illyrica* iz okolice Rijeke.

Komparacijom idiograma dobivenih ovom analizom s onima dobivenim u prijašnjim istraživanjima vrsta serije *Pallidae* (Mitrá 1956, Lausi 1964) uočava se izrazita sličnost u njihovom izgledu između pojedinih populacija. Idiogram vrste *I. illyrica* iz okolice Rijeke sličan je idiogramu iste vrste iz okolice Trsta (Mitrá 1956). Četvrti satelitski parovi kod ove dvije populacije morfološki su slični četvrtom satelitskom paru kod *I. cengialti* (Mitrá 1956). Idiogram vrste *I. illyrica* iz Donje Klade

sličan je idiogramu te vrste iz okolice Trsta, što ga je dobio Lausi (1964). *I. pseudopallida* s Biokova i iz Korčule ima idiograme slične onom koji je Mitra (1956) utvrdio za populaciju pod imenom *I. pallida* iz Omble (okolica Dubrovnika). Obje populacije vrste *I. pallida* iz kulture (Zagreb) imaju slične idiograme kao i uzorci pod imenom *I. pallida* iz zbirke Heinig (Mitra 1956).

Osim sličnosti kariotipova koja povezuje populacije pojedinih vrsta utvrđena je njihova morfometrijska varijabilnost kod populacija vrste *I. illyrica*, kod koje se javljaju kariotipovi s dva i tri para satelitskih kromosoma, te s različitim odnosom submetacentričnih i suptelocentričnih kromosoma. Takve su varijabilnosti i inače česte kod različitih predstavnika roda *Iris* (Mitra 1956, Ricci 1970—1971, Ricci et Collante 1974, Sauer et Leep 1979), a jedan od uzroka može biti sklonost velikih kromosoma strukturnim mutacijama (Sauer et Leep, 1979).

Kod istraživanih vrsta može se uočiti veći broj simetričnih kromosoma (metacentričnih i submetacentričnih): kod *I. pallida* pet pari, kod *I. illyrica* četiri, odnosno šest pari i kod *I. pseudopallida* šest, odnosno sedam pari. Budući da se odnos simetričnih i asimetričnih kromosoma smatra odrazom veće ili manje specijacije, s time da je veći broj asimetričnih kromosoma naprednija oznaka (Simonet 1934, Mitra 1956), može se zaključiti da je proces specijacije unutar serije *Pallidae* još u toku.

Ovakvi rezultati upućuju na genomofološki plasticitet vrsta serije *Pallidae*, pa se na dodirnim područjima njihovih areala mogu očekivati i križanci.

Kako bi se izbjegle greške u zaključivanju o taksonomskom statusu pojedinih svojstava, a koje su često upravo pri upotrebi kariotipa (Moore 1968), nameće se potreba dalnjih istraživanja većeg broja populacija, primjenom različitih taksonomskih metoda.

L iteratura

- Darlington, C. D., A. P. Wylie, 1955: Chromosome atlas of flowering plants. George Allen & Unwin Ltd., London.
- Domac, R., 1979: Mala flora Hrvatske i susjednih područja. Šk. knjiga, Zagreb.
- Hayek, A., 1933: Prodromus florae peninsulae Balcanicae 3. Berlin.
- Hećimović, S., 1984: Vegetation der Inseln Bobara und Mrkan. Acta Bot. Croat. 43, 109—118.
- Hećimović, M., S. Hećimović, 1989: Flora otoka Dakse. Acta Bot. Croat. 48, 129—139.
- Köhlein, F., 1981: *Iris*. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart.
- Lausi, D., 1964: Contribution to the karyology of *Iris illyrica* Tommas. Ist. Bot. Trieste 18, 1—9.
- Mitić, B., 1989: Cito-taksonomska istraživanja vrste *I. illyrica* Tomm. (Iridaceae). Biosistematička 15(1), 1—5.
- Mitra, J., 1956: Karyotype analysis of bearded *Iris*. Bot. Gaz. 117, 265—293.
- Moore, D. M., 1968: The karyotype in taxonomy. — U: Heywood, V. H. (ed.): Modern methods in plant taxonomy. Academic Press, London — New York.
- Radić, J., 1974: Prilog poznавању flore Biokova. Acta Bot. Croat. 33, 219—229.
- Rafinski, J. N., T. Passakas, 1976: Chromosomal differentiation within *Crocus vernus* agg. Pl. Syst. Evol. 125, 1—8.

- Ricci, I., 1970—1971: *Iris sisyrinchium* L.: analisi citotassonomiche. Ann. Bot. (Roma) 30, 187—206.
- Ricci, I., M. Z. Colasante, 1974: *Iris graminea* L.: analisi cariologice. Giorn. Bot. Ital. 108, 75—80.
- Sauer, W., H. J. Leep, 1979: Karyologische Untersuchungen an anatolischen und südosteuropäischen Zwergiris-Sippen. *I. attica*, *I. mellita* und *I. reichenbachii*. Pl. Syst. Evol. 131, 81—106.
- Schulze, W., 1988: Wild—Iris für den Garten. Fortschritt Erfurt, Jena.
- Simonet, M., 1934: Nouvelles recherches cytologiques et génétiques chez *Iris*. Ann. Sci. Nat. Bot. 10(16), 231—383.
- Trinajstić, I., 1976: Beitrag zur Taxonomie des *Iris pallida* Komplexes. Biosystematika 2(1), 67—78.
- Trinajstić, I., 1983: Visioniјev »Stirpium Dalmaticarum specimen« — preteča djela »Flora Dalmatica«. Posebna izdanja Muzeja grada Šibenika 10, Šibenik.
- Webb, D. A., A. O. Chater, 1980: *Iris* L. — U: Tutin, T. G., W. H. Heywood (eds.): Flora Europaea 5. Univ. Press, Cambridge.

S U M M A R Y

KARYOLOGICAL ANALYSIS OF SOME POPULATIONS OF THE SPECIES *IRIS PALLIDA*, *I. ILLYRICA* AND *I. PSEUDOPALLIDA* (IRIDACEAE)

Božena Mitic

(Department of Botany, Faculty of Science, University of Zagreb)

The karyotypes of some populations of the species *Iris pallida* Lam., *I. illyrica* Tomm. and *I. pseudopallida* Trinajstić (series *Pallidae*) were investigated. A studies of somatic chromosome morphology was made using root-tip squash technique and aceto-carmine stain, after pretreatment with p-dichlorbenzene. For all populations investigated mitotical number of chromosomes $2n=24$ has been established, which corresponds to previous studies of species from the series *Pallidae* (Simonet 1934, Mitra 1956, Lausi 1964, Mitic 1989). Morphometrical analysis has shown variations of karyotypes, which in *I. illyrica* species go down to population level. The differences among karyotypic appearances of the species under study were established, especially regarding the position of chromosomes with satelites within karyotypes. Also, the similarity of karyotypes in populations studied now with karyotypes of previously investigated populations (Mitra 1956, Lausi 1964) has been established.

Mr. Božena Mitic
Botanički zavod
Prirodoslovno-matematički fakultet
Marulićev trg 20/II
Zagreb, Hrvatska (Croatia)