

Materiały pomocnicze do wykładu

Liczby chromosomów i poliploidyzacja w ewolucji roślin

dr hab. Grzegorz Góralski

w ramach kursu:
Postępy w Biologii Komórki

rok akademicki: 2020/21

Informacje ogólne

Badania nad liczbami chromosomów

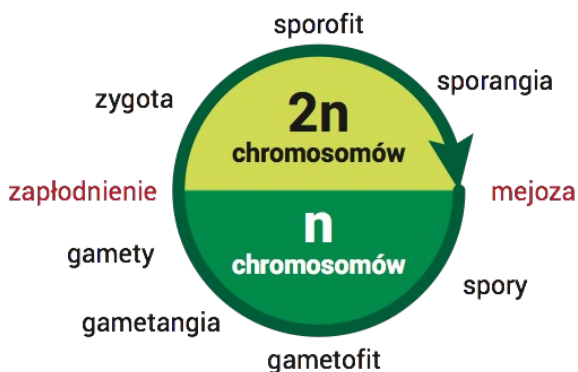
Liczby chromosomów są podstawową informacją dotyczącą materiału genetycznego organizmów. Są też zwykle najłatwiejszą do zbadania cechą dotyczącą chromosomów, nie oznacza to jednak, że zawsze łatwo jest je policzyć. Wiedza na temat liczb chromosomów, zwłaszcza w połączeniu ze znajomością ich morfologii, cech molekularnych itp. ma duże znaczenie dla badania organizmów:

- może być traktowana jako kolejna cecha wykorzystywana w systematyce
- pozwala zidentyfikować formy mieszańcowe
- dostarcza informacji na temat ewolucji taksonów
- a także ich migracji, np. *Aster alpinus* znany jest ze stanowisk w Alpach i Tatrach. W Alpach występuje forma diploidalna (ewolucyjnie starsza) w Tatrach forma tetraploidalna (młodsza).
- itd.

Zawartość DNA i liczby chromosomów u roślin

- Zawartość DNA u roślin:
 - Najniższa: *Genlisea aurea* (*Lentibulariaceae*) – roślina drapieżna) - 0.065 pg / 63.6 Mb, $2n = 52$ (*Arabidopsis thaliana*: 0.16 pg / 156.5 Mb, $2n=10$)
 - Najwyższa: *Paris japonica* (*Melanthiaceae*) – 152.24 pg / 148.88 Gb (> 90 metrów!), $2n=40$
- Liczby chromosomów:
 - Najniższa: $2n=4$ *Haplopappus gracilis* (*Asteraceae*)
 - Najwyższa: $2n > 1000$ (do 1440) *Ophioglossum reticulatum* (*Ophioglossaceae*)

Cykl życiowy roślin a liczby chromosomów

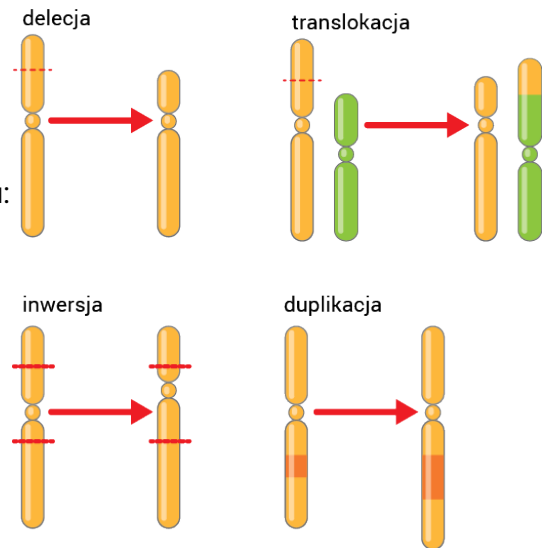


Zmiany w materiale genetycznym roślin

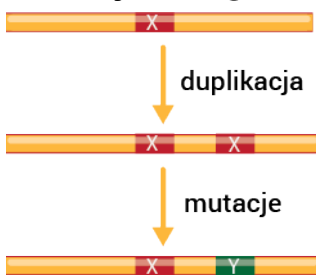
Podstawowe typy mutacji:

- mutacje na poziomie sekwencji DNA <- nie będziemy omawiać
- zmiany na poziomie struktury chromosomów (aberracje strukturalne)
- zmiany liczb chromosomów

- delecja (deficjencja) - utrata fragmentu chromosomu: może łączyć się z utratą informacji genetycznej
- duplikacja - podwojenie fragmentu chromosomu: może powodować powielenie informacji genetycznej
- inwersja - odwrócenie fragmentu chromosomu
- translokacja - przeniesienie fragmentu chromosomu w obrębie jednego chromosomu lub między chromosomami

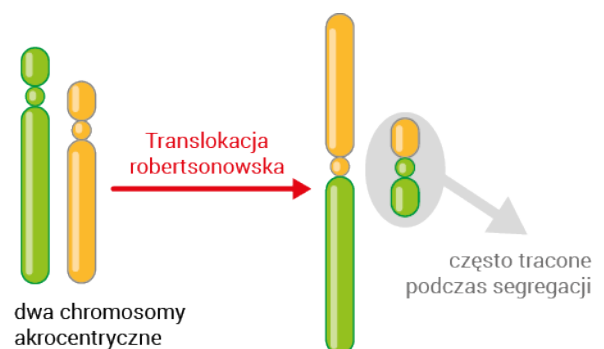


Duplikacja jako źródło nowych genów

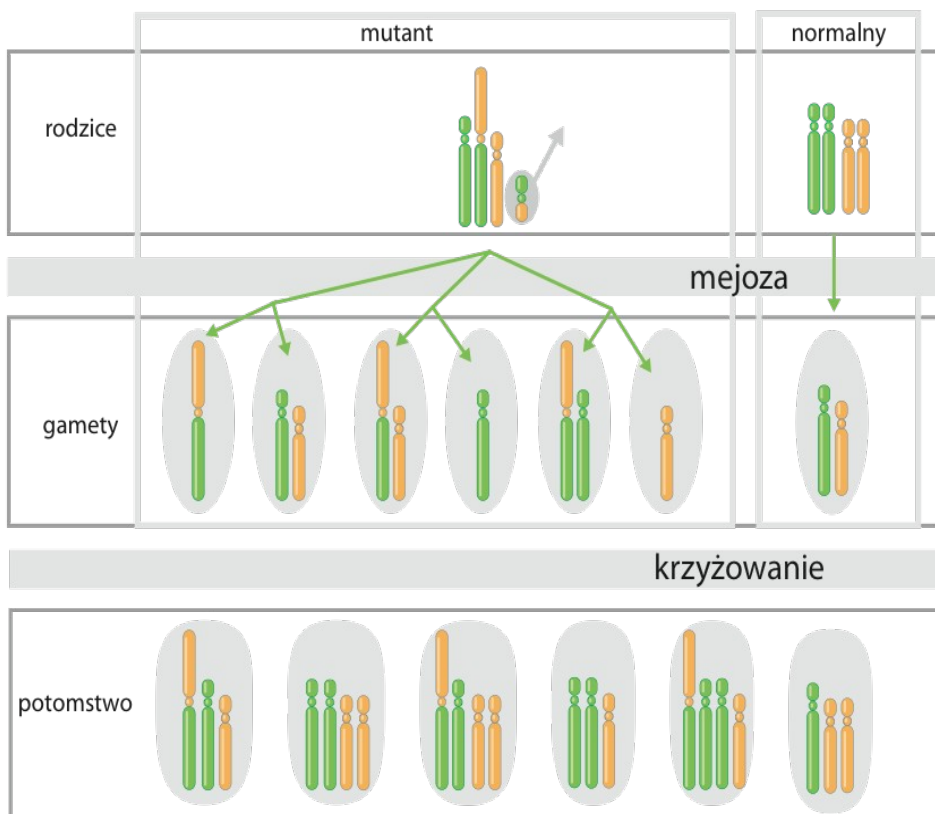


Translokacje robertsonowskie

Mutacje (translokacje) robertsonowskie prowadzą do zmian w liczbie chromosomów, ale niekoniecznie muszą łączyć się ze zmianą ilości informacji genetycznej



Segregacja chromosomów u mutantów



Podstawowe terminy i symbole

- x - pojedynczy zestaw chromosomów (genom), organizm: monoploid
- n - liczba chromosomów występująca w gamecie (także w sporach, gametoficie)
- $2n$ - liczba chromosomów występująca w zygotcie (sporoficie)

U organizmów diploidalnych: $n = x$, $2n = 2x$

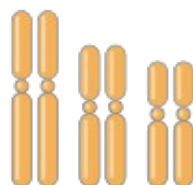
x - podstawowa liczba chromosomów
(zespół chromosomów, genom)
monoploid



organizm diploidalny

gdzie: gameta, spora, gametofit
symbole: $n = x$
organizm: haploid (monoploid)

zygota, sporofit
 $2n = 2x$
diploid



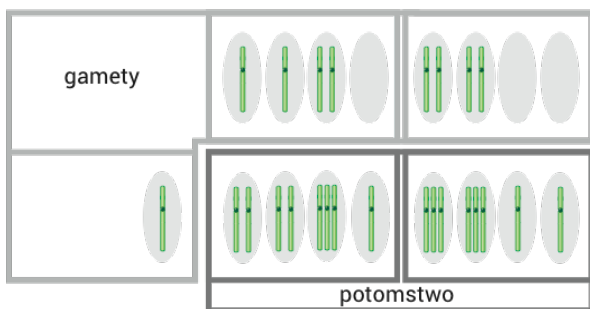
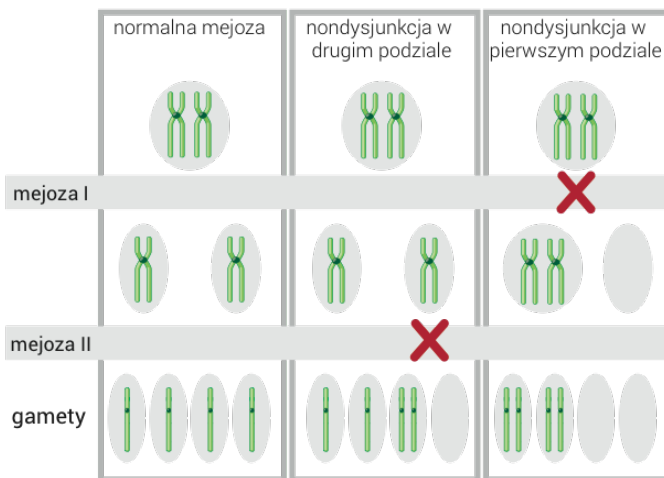
Zmiany liczb chromosomów

- **Aneuploidalność** - utrata lub uzyskanie dodatkowego chromosomu lub większej ich liczby, ale nie o cały genom, np. $2n = 24 \rightarrow 26$
- **Euploidalność**:
 - Poliploidalność (poliploidyzacja, whole-genome duplication: WGD) - zwiększenie liczby chromosomów o jeden lub więcej kompletnych genomów, np. $2n = 24 \rightarrow 48$
 - Haploidalność (haploidyzacja) - zmniejszenie o połowę liczb chromosomów, np. $2n = 24 \rightarrow 12$

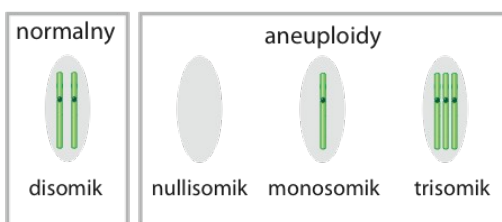
Aneuploidalność

Powstawanie aneuploidów

Nondysjunkcja



Typy aneuploidów



Poliploidalność

Poliploidalność w świecie zwierząt i roślin

Uważa się że mogły zajść przynajmniej dwa przypadki zwiększenia liczby genomów u przodków kręgowców. U ptaków i ssaków znane są nieliczne przypadki poliploidów, u ryb, gadów, płazów i bezkręgowców jest to zjawisko znacznie częstsze w sumie znanych jest ok. 200 przypadków. Spotyka się także triploidalne pstrągi, które są efektem krzyżówek międzygatunkowych. Są one bezpłodne ale większe niż diploidalne pstrągi cieszą się więc sympatią wędkarzy. U roślin, zwłaszcza okrytonasiennych jest to zjawisko dużo częstsze

Diploidy i tetraploidy

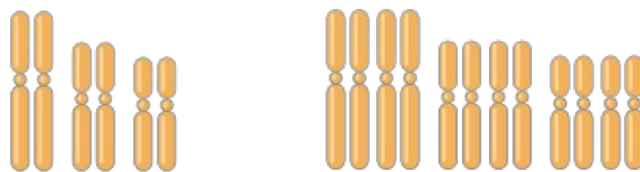
organizm diploidalny

gdzie:	gameta, spora, gametofit	zygota, sporofit
symbole:	$n = x$	$2n = 2x$
terminy:	haploid[alny], (monoploid[alny])	diploid[alny]



organizm tetraploidalny

gdzie:	gameta, spora, gametofit	zygota, sporofit
symbole:	$n = 2x$	$2n = 4x$
terminy:	haploid[alny], (diploid[alny])	tetraploid[alny]



Poziomy ploidalności

Grecki prefiks liczbowy + "ploidalność" ("ploid"):

- 1x – monoploidalność (monoploid)
- 2x – diploidalność (diploid)
- 3x – triploidalność (triploid)
- 4x – tetraploidalność (tetraploid)
- 5x – pentaploidalność (pentaploid)
- 6x – heksaploidalność (heksaploid)
- etc....

Typy poliploidów

Podstawowe typy poliploidów to:

- **Autopoliploidy** - więcej niż dwa takie same genomy: AAAA
- **Allpoliploidy** - więcej niż dwa ale różne genomy: AABB
- **Autoallopoliploidy** - pośrednie: AABB³B

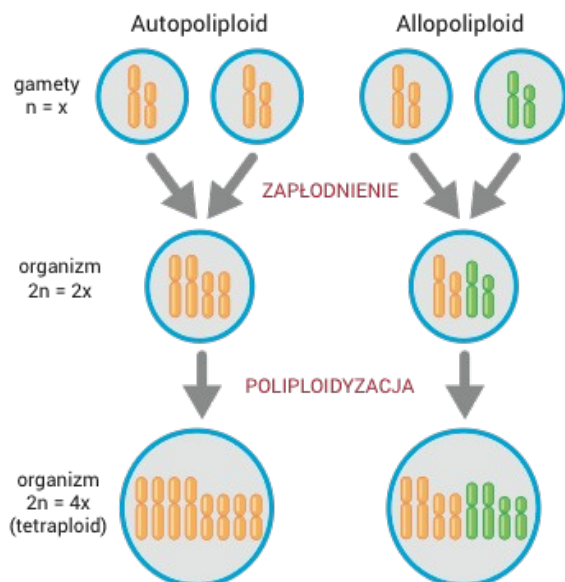
Pod względem czasu powstania można też wyróżnić:

- **Neopoliploidy** - poliploidy powstały stosunkowo niedawno, zwykle istnieją diploidalni przodkowie
- **Paleopoliploidy** - poliploidy, które przeszły poliploidyzację bardzo dawno temu. Poliploidalność może być słabo widoczna. Mogły ulec wtórnej diploidyzacji
- **Mezopoliploidy** - formy pośrednie

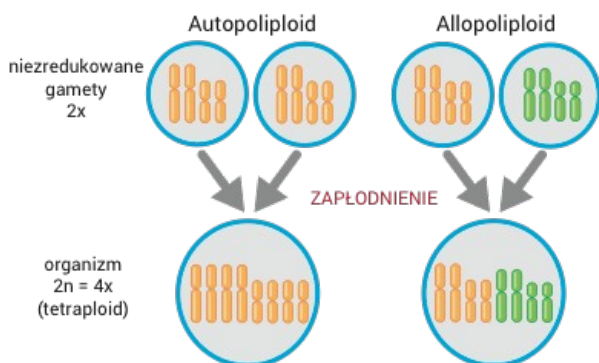
Pochodzenie poliploidów

Niektóre możliwości powstawania poliploidów (tetraploidów):

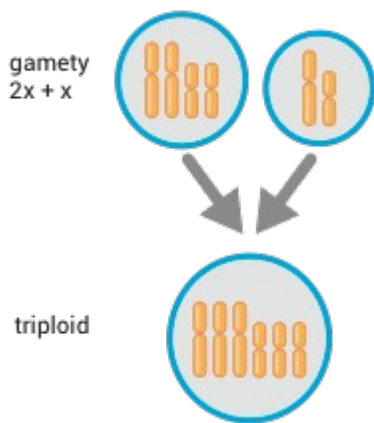
- Poliploidyzacja po zapłodnieniu



- Fuzja niezredukowanych gamet



Powstanie triploidów

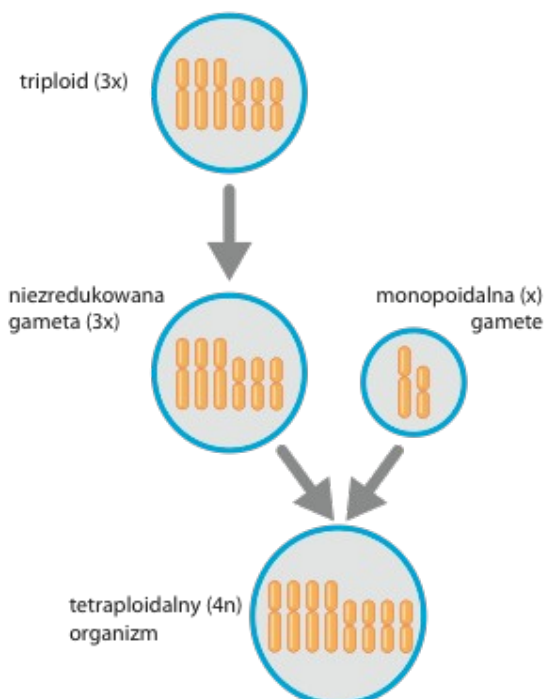


Problemy związane z nieparzystą liczbą chromosomów

- Problemy podczas mejozy:
 - Nie można sparować wszystkich chromosomów
 - Nie można podzielić chromosomów po równo do gamet
- Konsekwencje:
 - Bezpłodność lub zredukowana płodność
 - Brak nasion
- Jak się rozmnażają?
 - rozmnażanie wegetatywne

Podwojenie liczby genomów (poliploidyzacja) powoduje, że liczba chromosomów znów jest parzysta ($3x \rightarrow 6x$) w związku z czym płodność może zostać przywrócona.

Powstanie tetraploidów z triploidów



Haploidy

Haploidy (n) są zwykle znacznie mniej żywotne niż diploidy. Są otrzymywane głównie w laboratoriach z:

- męskich gametofitów (mikrospory/młode ziarna pyłku): **androgeneza**
- żeńskich gametofitów (komórki woreczka zalążkowego): **gynogeneza**

Zwykle preferowana jest androgeneza ponieważ łatwiej otrzymać dużą liczbę ziaren pyłku.

Diploidyżacja

Można przypuszczać, że poliploidy powinny mieć więcej DNA niż ich diploidalni przodkowie. Okazuje się, że o ile jest to prawda dla nowo utworzonych poliplidów, niekoniecznie sprawdza się w przypadku starszych. Wykazano, że ilość DNA (wartość C) przypadająca na genom (całość DNA/ploidarność) jest generalnie tym niższa i wyższy stopień ploidalności. Po poliploidyżacji dochodzi do zmniejszania ilości materiału genetycznego. Może on wynikać z utraty chromosomów a także fragmentów DNA. W efekcie może dochodzić to tzw. wtórnej diploidyżacji - potomkowie poliplidów mogą przypominać diploidy.

Zmiany następujące po poliploidyżacji

Po poliploidyżacji zachodzą kolejne zmiany materiału genetycznego:

- Zmiany genetyczne:
 - nierówny crossing-over
 - rekombinacje
 - aneuploidyżacja
 - konwersja genów
 - mutacje chromosomowe
 - mutacje punktowe
 - aktywacja transpozonów
- Zmiany epigenetyczne:
 - metylacja DNA
 - modyfikacje histonów
 - interferencja RNA (wyciszanie genów przez RNA)
 - kompensacja dawki

Reranzacje genomów

Badania pokazały, że po poliploidyżacji może dochodzić do bardzo dużych rearanzacji genomów. Na przykład wykazano międzygenomowe translokacje:

- u allotetraploida *Nicotiana tabacum*: 9
- u allotetraploida *Avena maroccana*: 5
- u alloheksaploida *Avena sativa L.*: 18

U niektórych innych mieszańcowych gatunków natomiast nie obserwuje się takich zmian, np:

- *Nicotiana rusticum* x *N. arentsii*
- *Tragopogon mirus* x *T. miscellus*
- *Brassica juncea*
- *Gossypium*

U *Brassica napus* (allotetraploid) wykazano szereg rearanzacji. Stworzono także ponownie sztucznie ten gatunek, okazało się, że w ciągu zaledwie pięciu pokoleń znaleziono istotne zmiany genomowe, także po

siedmiu generacjach otrzymano linie różniące się czasem kwitnienia.

Przypadek *Utricularia gibba* (Pływacz karłowaty)

Utricularia gibba (Pływacz karłowaty) jest niewielką rośliną drapieżną, żywiącą się jednokomórkowcami. Stała się bardziej znana kiedy zbadano jej genom. Okazało się, że u jej przodków doszło do przynajmniej trzech rund poliploidyzacji (nie licząc tych wspólnych dla dwuliściennych). Należałoby się więc teoretycznie spodziewać po 16 kopii każdego genu. Okazało się jednak, że w większości genów doszło do usunięcia nadmiarowych kopii, co więcej, genom tej rośliny zawiera wyjątkowo mało niekodującego DNA (3% - u większości pozostałych roślin ok. 60%, u człowieka ok. 98%) *Utricularia gibba* : 82 Mb, $2n = 28$ *Arabidopsis thaliana*: 156.5 Mb, $2n=10$

Poliploidy w ewolucji

Udział poliploidów

Wg. klasycznych metod szacuje się, że poliploidy stanowią u okrytonasiennych ok. 30–80% Różne metody dają różne wyniki

Metody szacowania udziału poliploidów

Najczęściej stosowane metody:

- Metoda wartości granicznej (ang. *threshold*) - gatunki o liczbie chromosomów wyższej niż określona, są uważane za poliploidy.
 - $n \geq 11$ (Goldblatt)
 - $n \geq 14$ (Grant)
- Metody wykorzystujące wartości x , np:
 - gatunek jest uważany za poliploidalny jeśli liczba somatyczna chromosomów jest $\geq 3.5 \cdot$ najniższa haploidalna liczba chromosomów w rodzaju (Wood)
 - porównuje się bezpośrednio znane wartości x do liczb $2n$ poszczególnych gatunków. Jeśli wartości x w rodzaju wynoszą 6 i 7 a dany gatunek ma $2n=28$ to gatunek jest uważany za tetraploidalny ($4 \cdot 7 = 28$ dla $x = 7$)

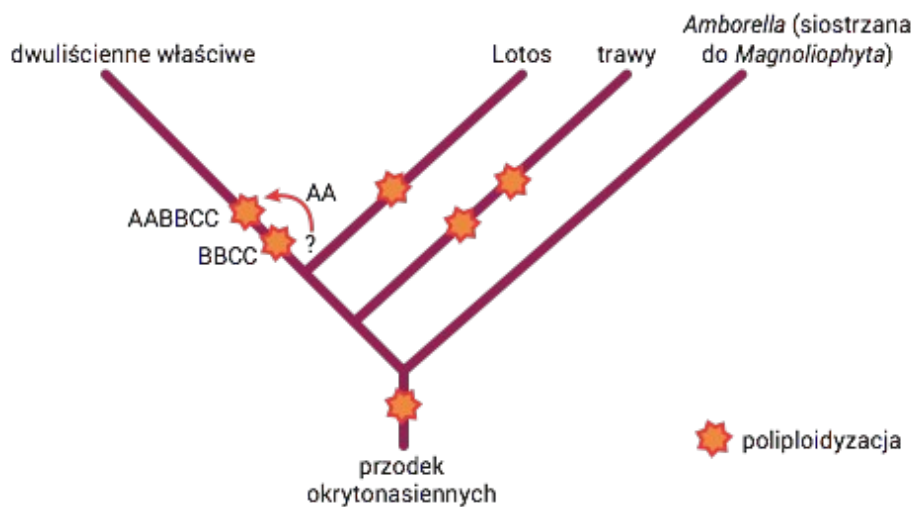
Niektóre problemy związane z szacowaniem udziału poliploidów we florze

Jak wspomniano powyżej, podczas ewolucji poliploidy mogą tracić DNA i chromosomy Po pewnym czasie mogą być trudne do odróżnienia pod względem liczby chromosomów i ilości DNA od diploidów (wtórna diploidyzacja) Dane molekularne potwierdzają, że nawet rośliny o małych genomach (np. *Arabidopsis thaliana* czy *Utricularia gibba*) mogły przejść kilkakrotnie epizody poliploidyzacji w swojej historii

Dane molekularne wskazują, że w zasadzie wszystkie okrytonasienne przeszły w swojej historii epizody poliploidyzacji. Niektórzy autorzy w związku z tym uważają, że zamiast pytać "jaka część okrytonasiennych to poliploidy?" należałoby raczej postawić pytanie: "jaką liczbę poliploidyzacji przeszła dana linia ewolucyjna?" Tak więc badania na podstawie liczb chromosomów pozwalają raczej opisać frekwencje niedawnych poliploidów niż rzeczywisty, całkowity udział roślin, które kiedykolwiek przeszły epizod poliploidyzacji.

Znane przypadki poliploidyzacji w ewolucji okrytonasiennych

Na poniższej ilustracji pokazano kilka znanych przypadków poliploidyzacji w historii roślin okrytonasiennych, połączonych czasem z łączeniem różnych genomów.



Okazuje się, że wśród wielu przodków dzisiaj żyjących okrytonasiennych znajduje się ślady paleopoliploidyzacji, która wydarzyła się ok. 65 milionów lat temu, czyli w czasie kiedy nastąpiło masowe wymieranie kończące kredę, obejmujące także ok. 60% gatunków roślin. Stąd przypuszczenie, że poliploidyzacja mogła pomóc niektórym gatunkom w przetrwaniu i zaadoptowaniu się do nowych warunków.

Udział poliploidów we florze Polski (okrytonasienne)

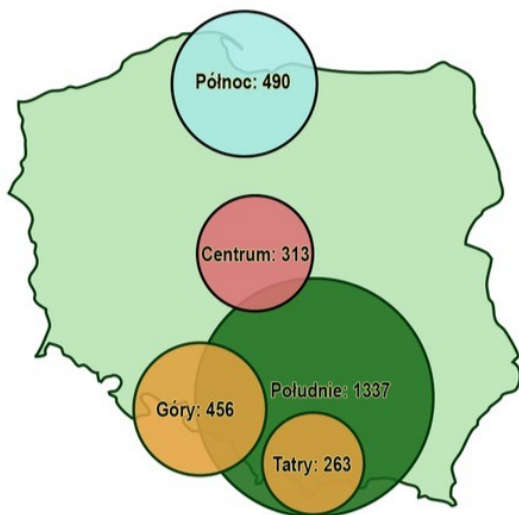
Badania liczb chromosomów we florze Polski

Chromosome Numbers Database - plants

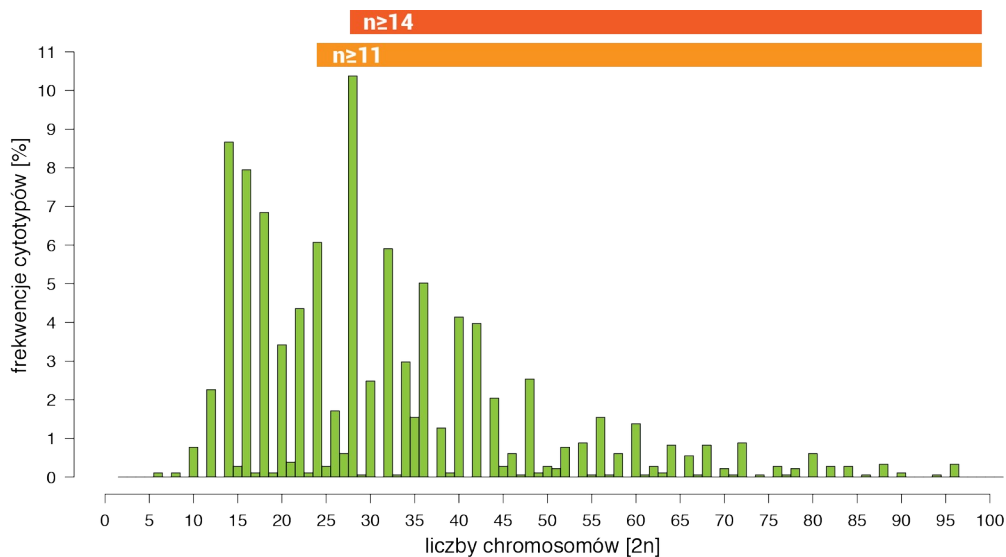
Chromosome Numbers Database - plants to baza danych dostępna w internecie utworzona w Zakładzie Cytologii i Embriologii Roślin IB UJ
 adres: <http://chromosomes.binoz.uj.edu.pl>

Zawiera dane dla zbadanych na terenie Polski liczb chromosomowych. Obecnie są to dane dla 2427 taksonów.

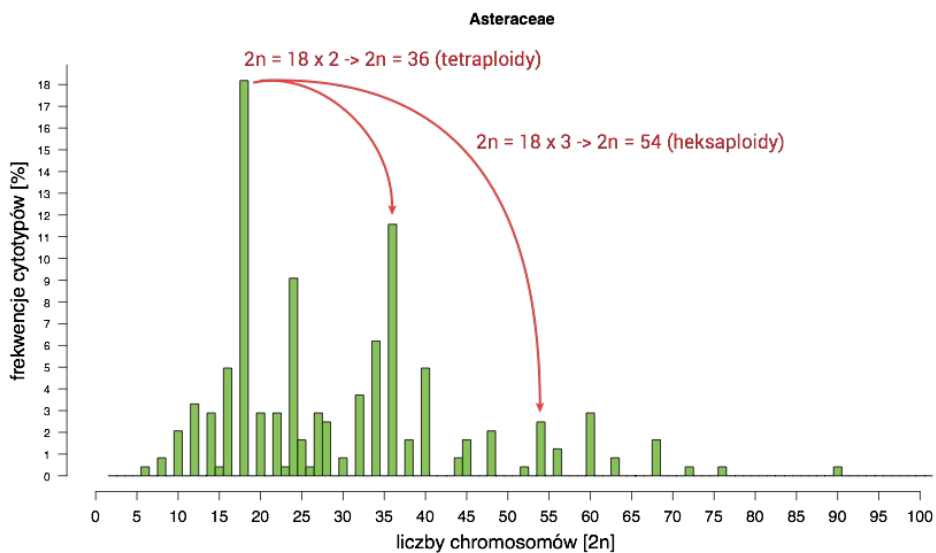
Stopień zbadania liczb chromosomów w różnych rejonach Polski



Liczby chromosomów u polskich *Angiospermae*



Liczby chromosomów u polskich *Angiospermae* a poliploidyzacja

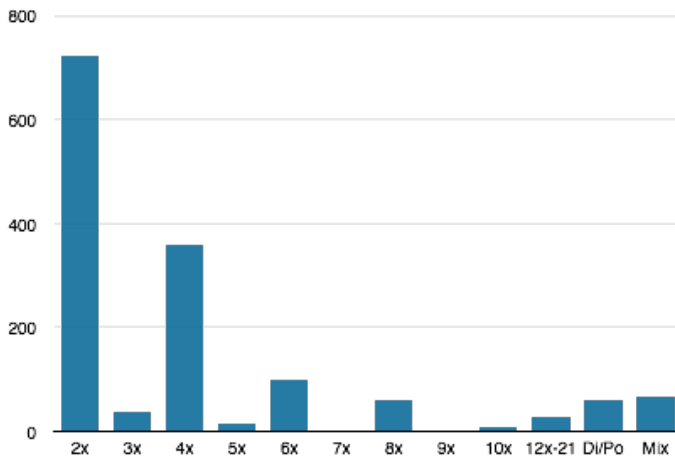


Udział poliploidów we florze Polski

Udział poliploidów u polskich *Angiospermae* szacowany różnymi metodami:

- metoda liczb podstawowych (x): ~46%
- metoda Goldbalt'a ($n \geq 11$): ~65%
- metoda Granta ($n \geq 14$): ~51%
- metoda Wooda ($3,5x$): ~43%

Udział różnych stopni ploidalności:



Korzyści płynące z poliplodyzacji

Do najważniejszych problemów związanych z problematyką poliplodyzacji należy pytanie czy poliploidy mają ewolucyjną przewagę nad diploidami. Niektóre przewagi poliploidów przedstawiane w literaturze:

- maskowanie niekorzystnych cech recesywnych
- redukcja efektu depresji inbredowej (problemy wynikające z krzyżowania spokrewnionych organizmów)
- utrwalona heterozygotyczność
- zwiększona ekspresja genów
- zmiany w fenotypie, np.: większe komórki, organy

Przykłady problemów badawczych związanych z liczbami chromosomów i poliploidyzacją

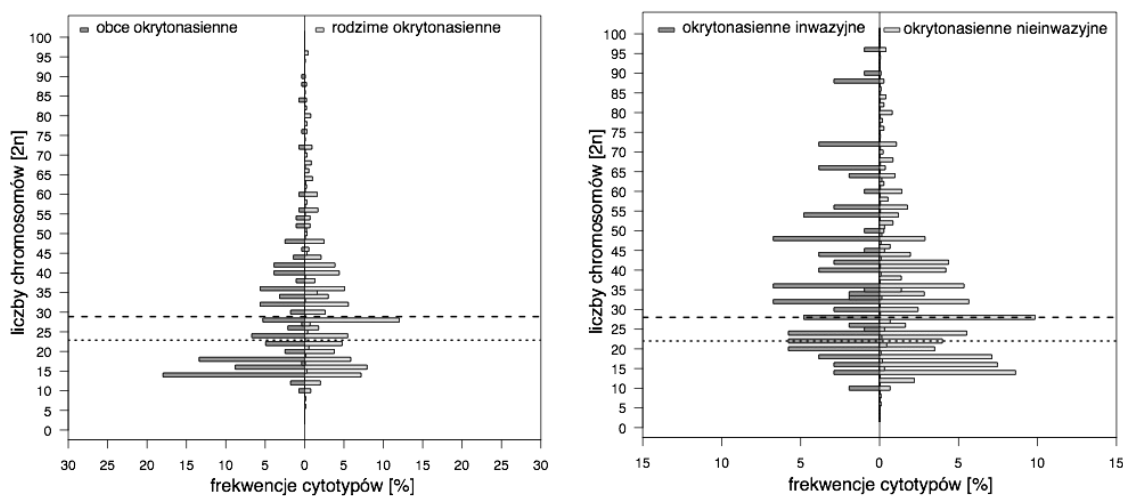
Liczby chromosomów a szerokość geograficzna

Hipoteza: wraz z oddalaniem się od równika, wzrasta liczba chromosomów u roślin. Gromadzone z czasem dane w bazach dostępnych także w internecie umożliwiają coraz szersze badania. M. in. Badania nad florą Włoch, Słowacji i Polski potwierdziły tę zależność Im dalej na północ, tym średnia liczba chromosomów jest większa: Włochy < Słowacja < Polska

Liczby chromosomów u obcych i rodzimych oraz inwazyjnych i nieinwazyjnych

Badania nad polską florą pokazały, że:

- Lokalne gatunki miały generalnie większe liczby chromosomów i udział poliploidów niż obce
- Gatunki inwazyjne miały generalnie większe liczby chromosomów i udział poliploidów niż nieinwazyjne



Wnioski: o ile przybysze mają zwykle mniej liczne chromosomy, to ich inwazyjności może sprzyjać poliploidyzacja, choć nie jest jasne, czy poliploidyzacja zaszła na terenach gdzie są inwazyjne, czy w siedliskach skąd pochodzą.

Badania w toku: porównanie liczb chromosomów roślin inwazyjnych i ich odpowiedników w oryginalnym miejscu występowania.

Liczby chromosomów i poliploidy a formy życiowe

Badania nad formami życiowymi u polskich *Asteraceae*, *Poaceae* i *Rosaceae* pokazały, że:

- *Asteraceae* i *Rosaceae* (obie rodziny należą do dwuliściennych) różnią się od siebie bardziej, niż każda z nich od *Poaceae* (jednoliścienne).
- Udział poliploidów: *Rosaceae* > *Poaceae* > *Asteraceae*
- Formy wieloletnie (byliny, drzewa, krzewy) mają więcej chromosomów i większy udział poliploidów niż jednoroczne i dwuletnie (liczby chromosomów: byliny > drzewa, krzewy > jedno-dwuroczne)
- Większy udział poliploidów u wieloletnich bylin niż u jedno- i dwuletnich roślin można tłumaczyć m. in. związkiem ze zjawiskiem hybrydyzacji - krzyżówki mogą być niepłodne, poliploidyzacja może przywrócić płodność u długo żyjących roślin bardziej prawdopodobne jest zajście poliploidyzacji, byliny mogą przez długi czas rozmnażać się wegetatywnie.
- Możliwe, że więcej jest roślin obcych u jedno- i dwuletnich a obce (zob. powyżej) mają częściej niższe liczby chromosomów - do zbadania.
- U drzew pewną przeszkodą w akceptacji poliploidyzacji może być wpływ tego zjawiska na wielkość komórek - u poliploidów elementy przewodzące o większych rozmiarach mogą mieć problemy z prawidłowym przewodzeniem. Drzewa są raczej stabilne genetycznie. Problem jeszcze nie jest zbadany wystarczająco.

Krzyżówki międzygatunkowe

Bariery

Najważniejsze bariery utrudniające krzyżówki międzygatunkowe:

- Prezygotyczne (działające przed zapłodnieniem):
 - potencjalni rodzice żyją w różnych środowiskach
 - potencjalni rodzice są płodni w innym czasie (inny czas kwitnienia)
 - potencjalni rodzice mają inne zapylacze (np. inne gatunki owadów)
 - pyłek z innego gatunku nie kiełkuje lub łagiewka pyłkowa rośnie wolniej niż z pyłku tego samego gatunku
 - gamety z różnych gatunków nie łączą się ze sobą
- Postzygotyczne (po utworzeniu zygoty):
 - zygota powstaje ale nie przeżywa
 - krzyżówki mają obniżoną żywotność
 - krzyżówki mają obniżoną płodność lub są bezpłodne

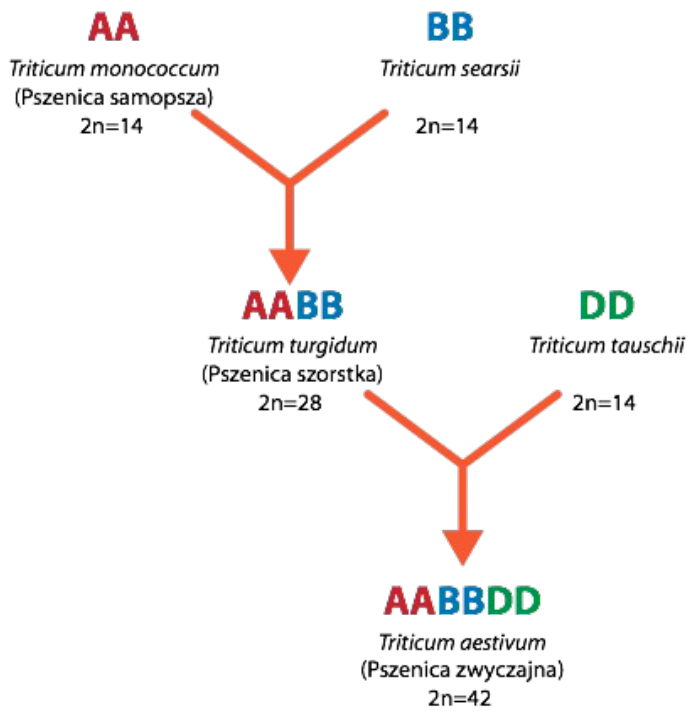
Krzyżówki międzygatunkowe, które odnoszą sukces

Jeżeli krzyżówka powstanie i przeżyje wtedy:

- Krzyżówka może być bardziej żywotna niż gatunki rodzicielskie, wtedy hybryda może je wyprzeć
- Krzyżówki mogą kolonizować nowe środowiska/nisze
- Poliploidyzacja może przywrócić płodność → allopolyploidy
- Krzyżówki mogą utworzyć nowy gatunek i nową linię ewolucyjną
- Krzyżówki mogą być użyteczne w rolnictwie/ogrodnictwie

Przykłady

Pszenica zwyczajna (*Triticum aestivum* L.)



Trójkąt *Brassica*

