

Liczby chromosomów i poliploidyzacja w ewolucji roślin

dr hab. Grzegorz Góralski

Informacje ogólne

Badania nad liczbami chromosomów

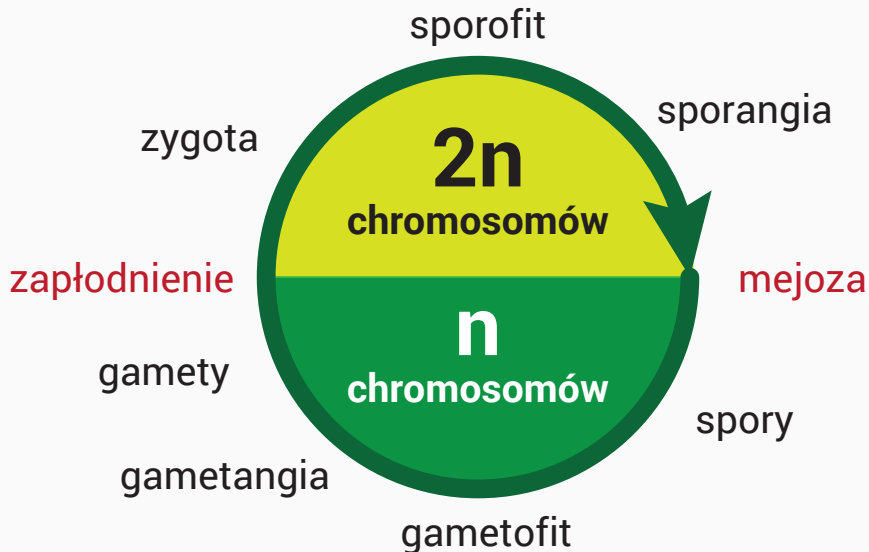
- Liczby chromosomów są podstawową informacją dotyczącą materiału genetycznego organizmów.
- Są też zwykle najłatwiejszą do zbadania cechą dotyczącą chromosomów, nie oznacza to jednak, że zawsze łatwo jest je policzyć.

- 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 mięsożerna) - 0.065 pg / 63.6 Mb, $2n=52$ (dla porównania: *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

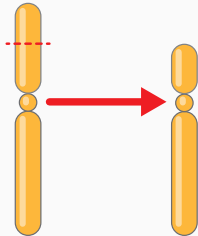
Podstawowe typy mutacji:

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

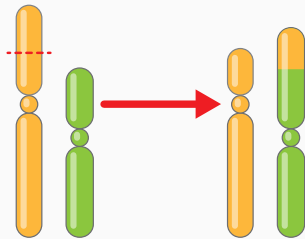
Zmiany struktury chromosomów

- 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

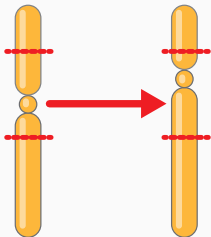
delecja



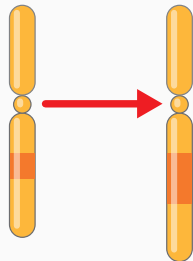
translokacja



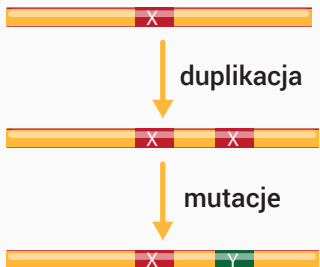
inwersja



duplikacja

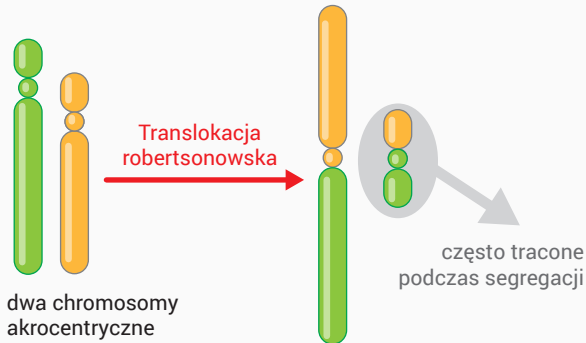


Duplikacja jako źródło nowych genów

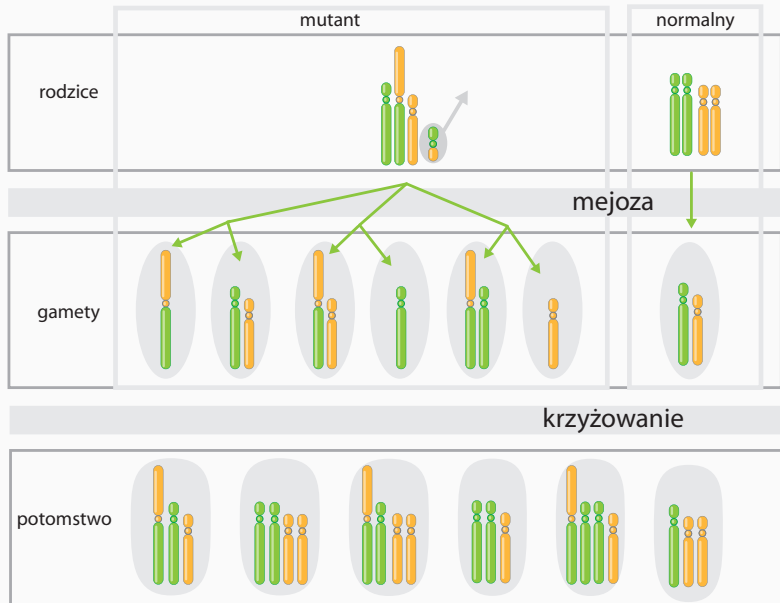


Translokacje robertsonowskie

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 zygocie (sporoficie)
- U organizmów diploidalnych: $n = x$, $2n = 2x$

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



organizm diploidalny

gdzie:

gameta, spora, gametofit

zygota, sporofit

symbole:

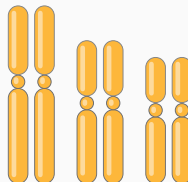
n = x

2n = 2x

organizm:

haploid (monoploid)

diploid



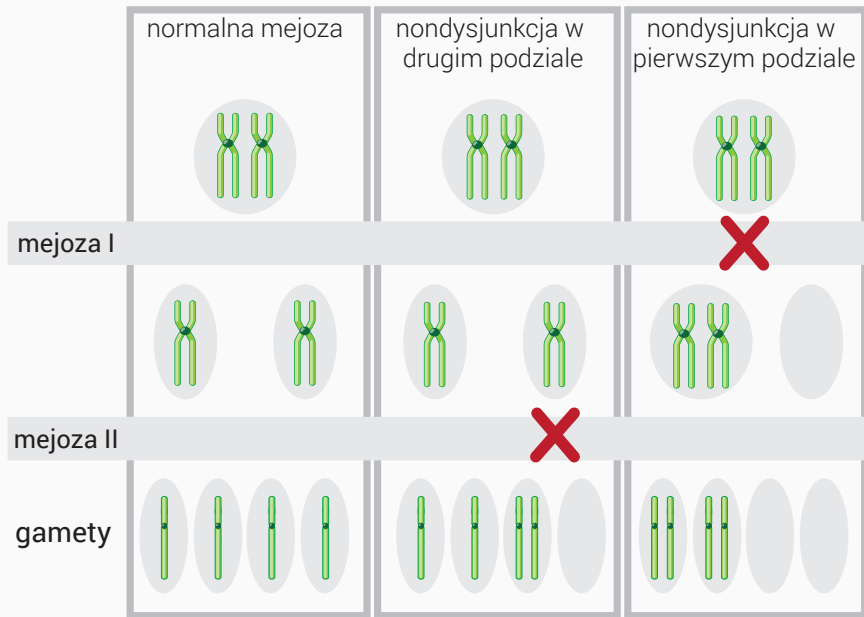
Zmiany liczb chromosomów

- 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 (haploidyizacja) - zmniejszenie o połowę liczb chromosomów, np. $2n = 24 \rightarrow 12$

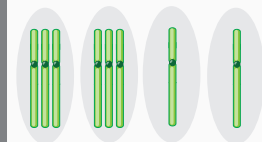
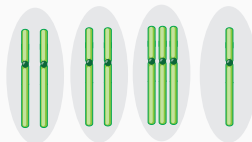
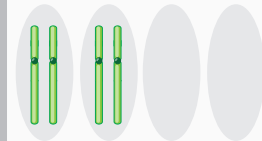
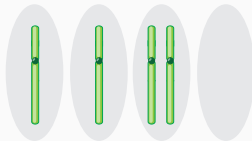
Aneuploidalność

Powstawanie aneuploidów - nondysjunkcja

- Aneuploidy powstają w wyniku **nondysjunkcji**, czyli nieprawidłowego rozdzielenia się chromosomów homologicznych podczas podziału komórki.
- Nieprawidłowości podczas I lub II podziału meiotycznego, prowadzą do powstania gamet z nieprawidłową liczbą chromosomów.
- Jeśli z takich gamet powstanie potomstwo, to będzie posiadało w komórkach nieprawidłową liczbę chromosomów (mniej lub więcej chromosomów danej pary).



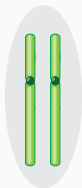
gamety



potomstwo

Typy aneuploidów

normalny



disomik

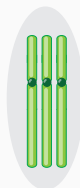
aneuploidy



nullisomik



monosomik



trisomik

Poliploidalność

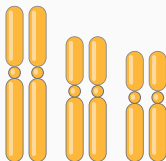
Poliploidalność w świecie zwierząt i roślin

- 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

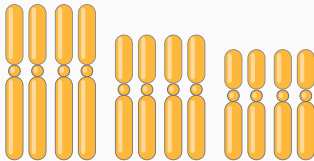
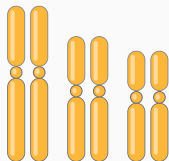
organizm diploidalny

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”):

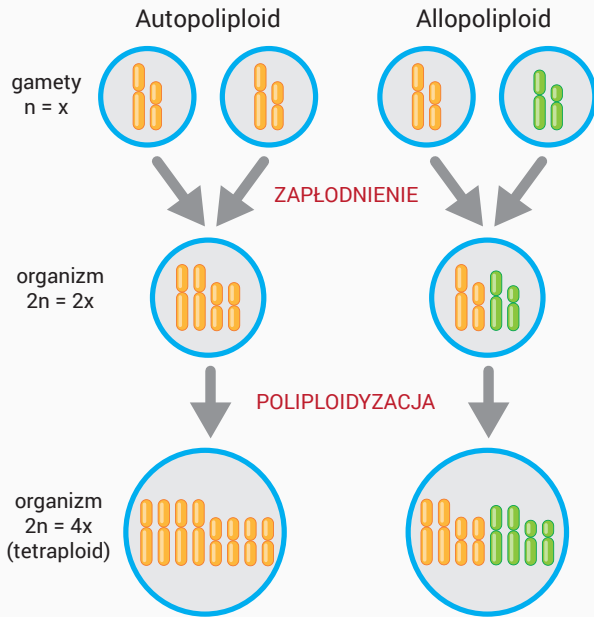
- 1x – monoploidalność (monoploid)
- 2x – diploidalność (diploid)
- 3x – triploidalność (triploid)
- 4x – tetraploidalność (tetraploid)
- 5x – pentaploidalność (pentaploid)
- 6x – heksaploidalność (heksaploid)
- etc....

Typy poliploidów

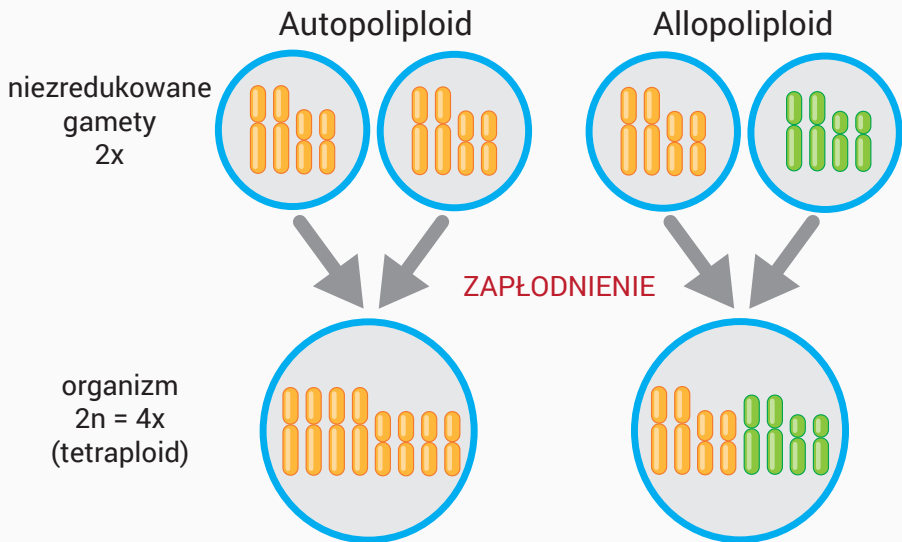
- Podstawowe typy poliploidów to:
 - **Autopoliploidy** - więcej niż dwa takie same genomy: AAAA
 - **Allpoliploidy** - więcej niż dwa ale różne genomy: AABB
 - **Autoallopoliploidy** - pośrednie: AABBBB
- Pod względem czasu powstania można też wyróżnić:
 - **Neopoliploidy** - poliploidy powstały stosunkowo 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

Niektóre możliwości powstawania poliploidów (tetraploidów):

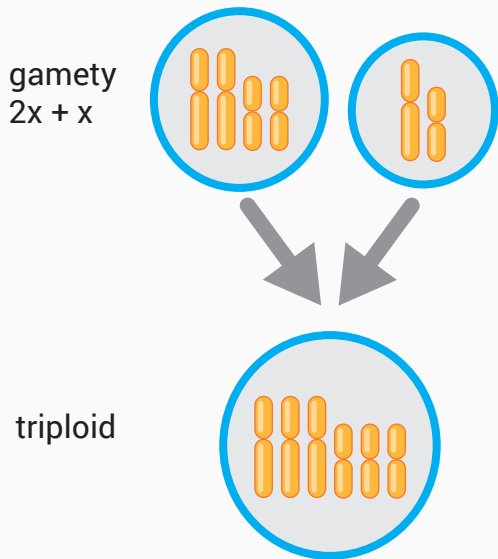
- Poliploidyzacja po zapłodnieniu



- Fuzja niezredukowanych gamet



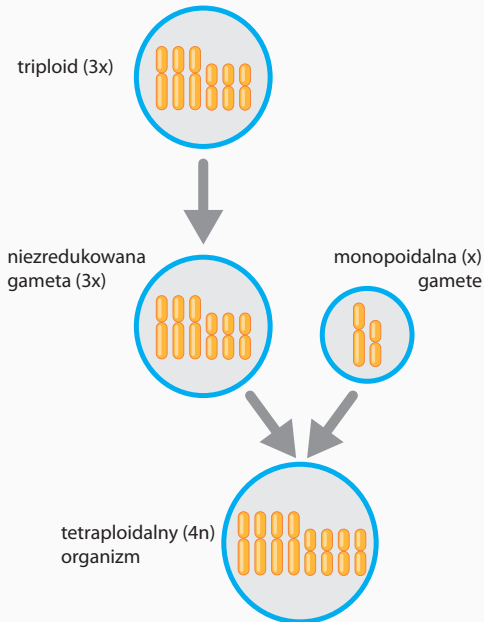
Powstanie triploidów



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 (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.

- Można przypuszczać, że poliploidy powinny mieć więcej DNA niż ich diploidalni przodkowie.
- Okazuje się, że o ile jest to prawda dla nowo utworzonych poliploidów, 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 poliploidyzacji dochodzi do zmniejszania ilości materiału genetycznego.
- Może on wynikać z utraty chromosomów a także fragmentów DNA.
- W efekcie może dochodzić to tzw. wtórnej diploidyzacji - potomkowie poliploidów mogą przypominać diploidy.

Zmiany następujące po poliploidyzacji

Po poliploidyzacji zachodzą kolejne zmiany materiału genetycznego:

- Zmiany genetyczne:
 - nierówny crossing-over
 - rekombinacje
 - aneuploidyzacja
 - 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 poliploidyzacji 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 rearanżacji 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. 82%)
- Utricularia gibba* : 82 Mb, $2n = 28$
Arabidopsis thaliana: 156.5 Mb, $2n=10$

Poliploidy w ewolucji

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 $x = 7$)

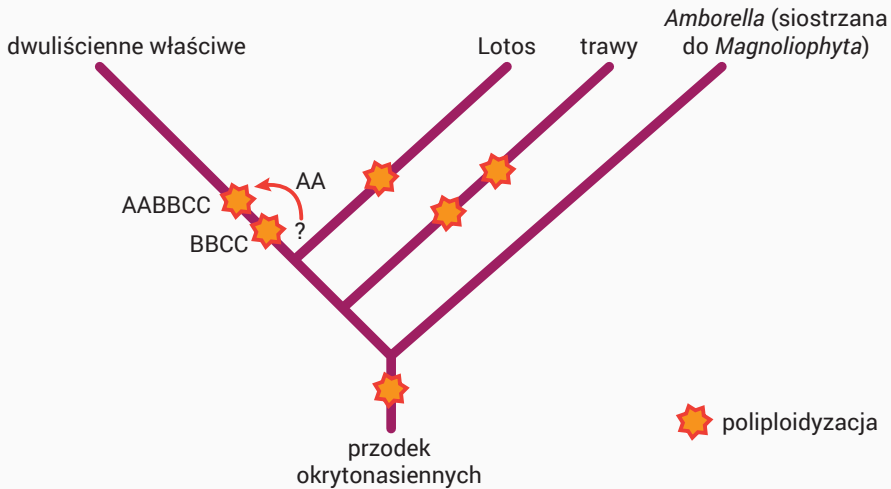
Niektóre problemy związane z szacowaniem udziału poliploidów we florze

- Jak wspomniano powyżej, podczas ewolucji ploiploidy 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.

- Ponadto 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)

Udział poliploidów we florze Polski (okrytonasienne)

Badania liczb chromosomów we florze Polski

Chromosome Numbers Database - plants

- Chromosome Numbers Database - plants to baza danych, która była utworzona w Zakładzie Cytologii i Embriologii Roślin IB UJ <http://chromosomes.binoz.uj.edu.pl> i dostępna w internecie.
- Obecnie nie działa z braku finansowania
- Zawierała dane dla zbadanych na terenie Polski liczb chromosomowych. Obecnie są to dane dla 2427 taksonów.
- Na podstawie tych danych przeprowadziliśmy szereg analiz.

Main page Logged: anonym | Logout Help

Search Browse Bookmarks Settings

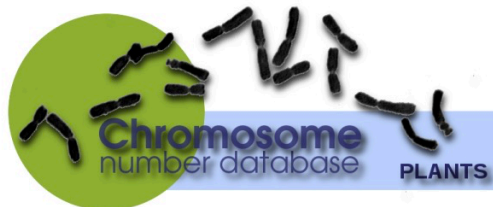
Class

Family

Genus

Species

Search



Found: 1945 taxon(s)

Taxon ^	2n ±	
Acer campestre L.	26	
Acer ginnala MAXIM.	26	
Acer negundo L.	26	
Acer platanoides L.	26	
Acer pseudoplatanus L.	52	
Acer saccharinum L.	52	
Achillea collina BECKER	=>	
Achillea collina BECKER ex RCHB.	36	
Achillea crithmifolia WALDST. et KIT.	36	
Achillea millefolium L.	45, 54, 63	
Achillea millefolium L. var/ssp millefolium	=>	
Achillea millefolium L. var/ssp pannonica (SCHEELE) HAYEK	=>	
Achillea millefolium L. var/ssp sudetica	54	
Achillea millefolium L. s. l.	=>	
Achillea millefolium L. s. s.	=>	
Achillea nobilis L.	18	
Achillea pannonica SCHEELE	72	

Display list of all taxa in database



>> Systematic position

Achillea millefolium L.

= *Achillea millefolium* L. s. s.

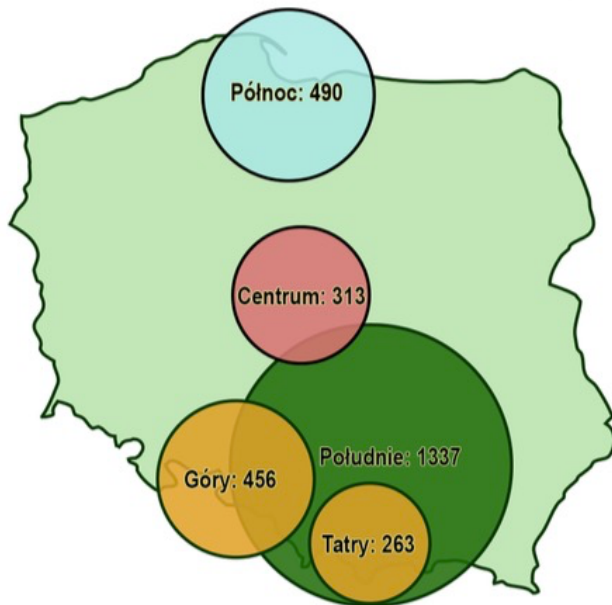
= *Achillea millefolium* L. s. l.

= *Achillea millefolium* L. ssp. *millefolium*

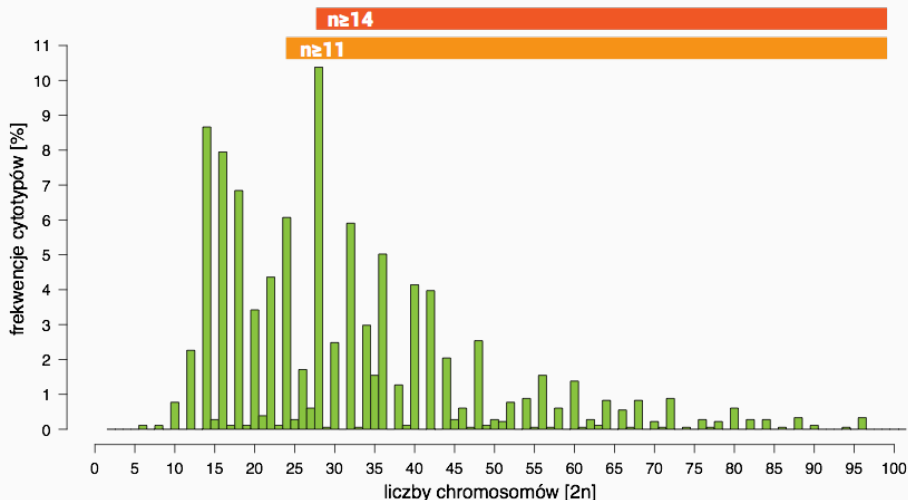
Chromosomes data

2n	Origin	Author	Reference	Notes
54	1 hab. in S. Poland	J. Dąbrowska	Dąbrowska J. 1971. Korelacja między liczbą chloroplastów w komórkach szparkowych a poziomem poliploidalności czternastu taksonów <i>Achillea</i> L. <i>Herba Pol.</i> 17, 200-208.	
54	1 hab. in Bieszczady Mts	M. Mizianty	Mizianty M. and Frey L. 1973. Chromosome number of some vascular plants in the Western Bieszczady Mts (south-eastern Poland). <i>Fragm. Flor. Geobot.</i> 19, 265-270.	
45, 54, 63	various hab. in S. Poland	M. Oświecimska and M. Gawłowska	Oświecimska M. and Gawłowska M. 1967. Pomocnicze metody oznaczania taksonów zbiorowego gatunku <i>Achillea millefolium</i> L. s.l. Cz. I. Korelacja między płodnością, wielkością ziarn pyłku i chemizmem rośliny. <i>Herba Pol.</i> 13, 3-11.	

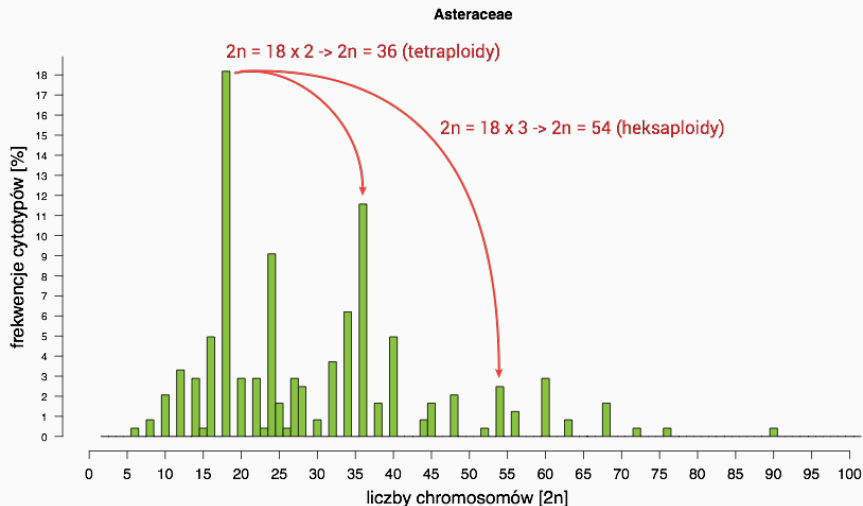
Stopień zbadania liczb chromosomów w rejonach Polski



Liczby chromosomów u polskich *Angiospermae*



L. chromosomów u polskich *Angiospermae* a poliploidyzacja

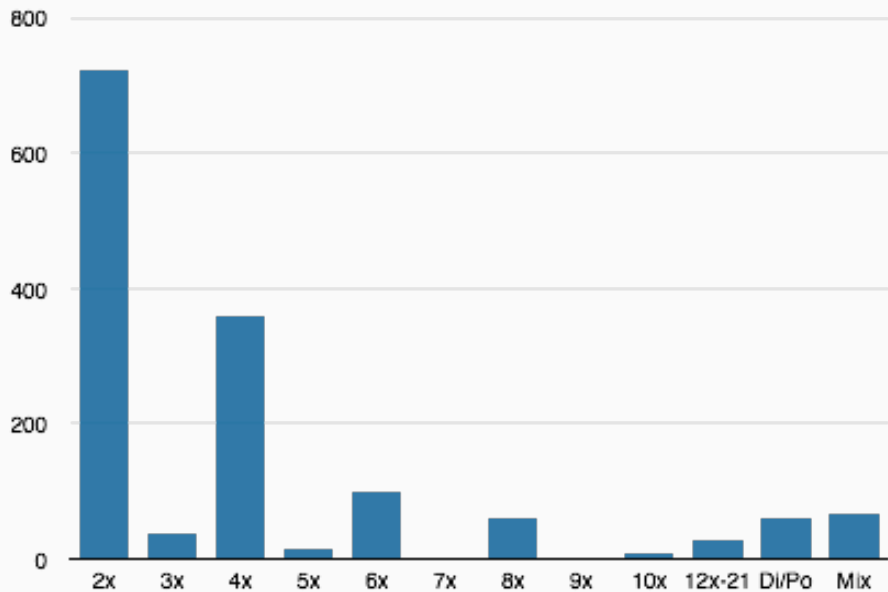


Udział poliploidów we florze Polski

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 poliploidyzacji

Do najważniejszych problemów związanych z problematyką poliploidyzacji 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

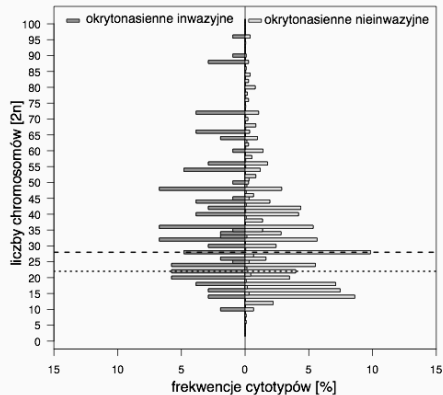
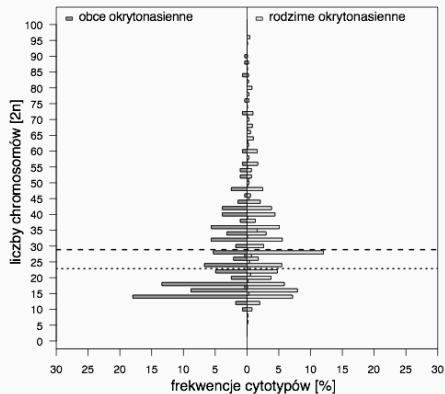
Liczby chromosomów a szerokość geograficzna

- 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.

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 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

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

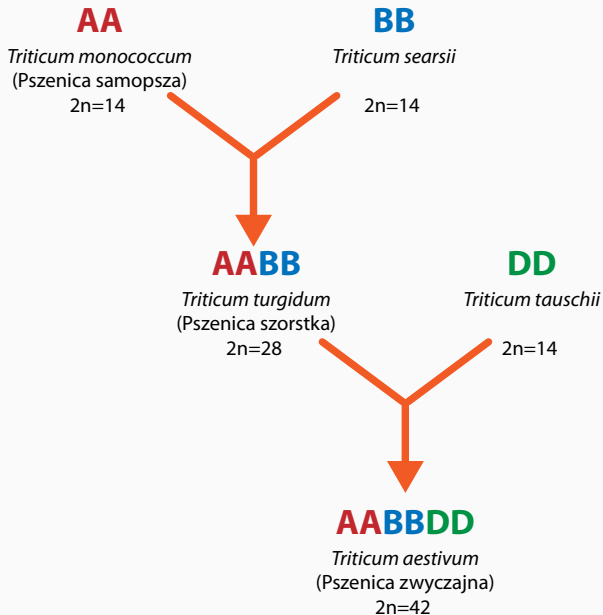
Krzyżówki międzygatunkowe, które odnoszą sukces

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 krzyżówek międzygatunkowych

Pszenica zwyczajna (*Triticum aestivum* L.)



Trójkąt *Brassica*

