UP FAMNIT

Žlahtnjenje in biotehnologija rastlin

5. LABORATORIJSKE VAJE

# PLOIDNOST (ajda)

Petra Gabrovšek

petra.gabrovsek@upr.si

2026/27

***OSNOVNI POJMI***

**Alopoliploid** – rastlina, katere genom vsebuje dve kopiji celotnega seta kromosomov dveh ali več bližnje sorodnih vrst, kot posledica križanja.

**Aneuploid** – rastlina s spremenjenim številom le posameznih kromosomov.

**Avtopoliploid** – rastlina, ki ima večkratnik lastnega osnovnega seta kromosomov.

**Diploid** - rastlina z dvema osnovnima setoma kromosomov.

**Evploid** – rastlina, pri kateri je prišlo do spremembe v številu kromosomov za celoten set.

**Haploid** – samostojna rastlina z gametnim (haploidnim, *n*) številom kromosomov.

**Monoploid** – organizem z osnovnim številom oziroma osnovnim setom kromosomov.

**Ploidnost** - se nanaša na število kopij osnovnega seta kromosomov v jedru celice.

**Poliploid** - organizem, ki vsebuje dva ali več osnovnih setov kromosomov; število setov označuje raven ploidnosti.

**(POLI)PLOIDNOST**

- Ploidnost se nanaša na število kopij kromosomov v jedru celice.
- Poliploidnost – organizem z 2 ali več osnovnih setov kromosomov.
- Poliploidnost ima pri razvoju rastlinskih vrst pomembno vlogo.
- Razlogi se skrivajo v tem, da je za posamezne vrste značilen optimalen nivo ploidnosti – pri katerem izkazujejo najboljše lastnosti.
- Možnosti aplikacije poliploidov v kmetijstvu.
- Kako in zakaj sploh prihaja do sprememb v številu kromosomov?

Kromosomi v koreninskem vršičku diploidne in tetraploidne žižole (*Zizyphus jujuba* Mill. cv. 'Zhanhua'):

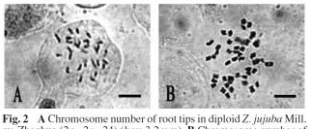



**Fig. 2** **A** Chromosome number of root tips in diploid *Z. jujuba* Mill. cv. Zhanhua ($2n=2x=24$) (*bar*: 3.2 μm). **B** Chromosome number of root tips in tetraploid *Z. jujuba* Mill. cv. Zhanhua ($2n=4x=48$) (*bar*: 3.2 μm)

(Foto: Gu in sod., 2005)

**CELIČNI CIKEL:**

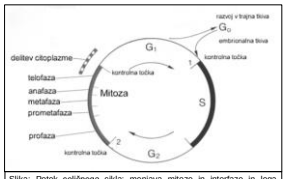
**I**NTERFAZA

**P**ROFAZA

**M**ETAFAZA

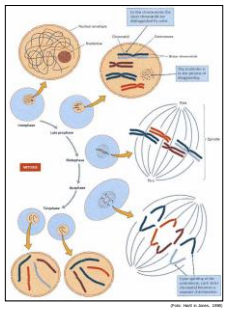
**A**NAFAZA

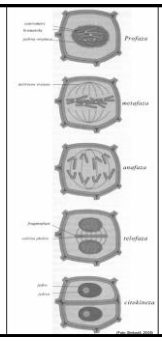
**T**ELOFAZA




Slika: Potek celičnega cikla, menjava mitoze in interfaze in lega kontrolnih točk. Interfaza je razdeljena na tri podobdobja: $G_1$, S in $G_2$ (Foto: Sinkovič, 2008).

**MITOZA:**






**MEJOZA:**

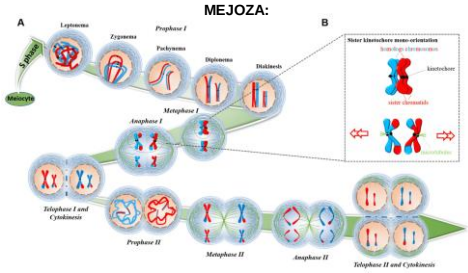
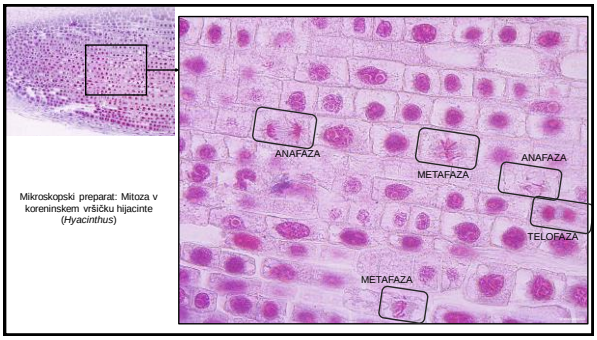



**Figure 1.** Overview of meiosis. (**A**) Chromosome segregation at different meiotic stages. At leptonema, chromosome axes are formed, and recombination is initiated. At zygotema, the synaptonemal complex is polymerized, where synapsis occurs and recombination proceeds. At pachynema, synapsis is completed, and recombination further progresses. At diplonema, the synaptonemal complexes are disassembled. Homologous chromosomes are connected by chiasmata. At diakinesis, chromosome condensation occurs, and nuclear envelope breakdown (NEBD) happens. At metaphase I, bivalents are aligned on the metaphase plate. At anaphase I, homologous chromosomes are separated by the release of cohesin. Pericentromeric cohesion is specifically protected. At telophase I and cytokinesis, two nuclei form and chromosomes briefly decondense. In mammalophytes, cytokinesis occurs before meiosis II starts; in dicotyledons, cytokinesis happens only at telophase II. At metaphase II, sister chromatids are aligned on two metaphase plates. At anaphase II, sister chromatids separate following centromeric cohesion release. At telophase II, four nuclei are formed. At cytokinesis, haploid spores are released. (**B**). The panel shows the mono-orientation of sister kinetochores during meiosis I. Sister kinetochores are fused and function as a single unit. Homologous chromosomes are connected by chiasmata. Sister chromatid cohesion is released during anaphase I. Homologous chromosomes with different lengths are shown. Each homologous chromosome has two chromosomes (blue and red) which distinguish the different parental origins. The spindle pole is depicted as a black sphere. The kinetochore is depicted as a black rod. The kinetochore assembles a trilaminar structure called the kinetochore, accumulating synaptonemal complex is shown in green in prophase I stage, and the spindle is shown in green in other stages. Progression through different meiotic stages is denoted by a green arrow.

(Foto: Zhou in sod., 2023)




Mikroskopski preparat: Mitoza v koreninskem vršičku hijacinte (*Hyacinthus*)

## SPREMEMBE V ŠTEVILU KROMOSOMOV

delimo na 2 osnovna tipa:

1. **EVPLOID** – sprememba v številu kromosomov za celoten set.
2. **ANEVPLOID** – spremenjeno število le posameznih kromosomov.



Osnovno število kromosomov oz. osnovni set kromosomov je označen s črko **»x«** in predstavlja **popoln set nehomolognih kromosomov v genomu.**

**Monoploid** je organizem z osnovnim št. kromosomov oz. osnovnim setom kromosomov.

Izraz **haploidno število »n«** označuje število kromosomov v gametah. Gre za polovično število kromosomov, prisotnih v somatskih celicah.

Oznaka za somatsko število kromosomov je vedno »2n«, za število kromosomov v spolnih gametah »n«.

**Poliploidi** so organizmi, ki imajo več kot dva osnovna seta kromosomov (2x).

**Primer: *Annona* spp. (fam. Annonaceae)**



(Foto: P. Depannemaeker, c. 1885)

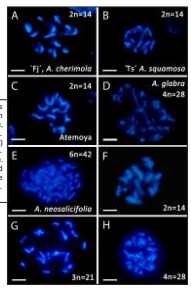
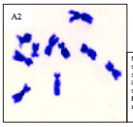



FIGURE 2 | Somatic chromosomes revealed using DAPI staining in *Annona* spp. (A) Diploid *A. cherimola*, cv. 'Fino de Jete', "Fj", (B) Diploid *A. squamosa*, Thai seedless "Ts", (C) Diploid *Atemoya*. (D) Tetraploid *A. glabra*. (E) Hexaploid *A. neosalicifolia*. (F,H) Diploid hybrid (F), triploid hybrid (G) and tetraploid hybrid (H) from the interspecific cross *A. cherimola* x *A. squamosa*. Scale bars, 10 mm.

(Vir: Martin in sod., 2019)

**Primer: KORUZA**

**Koruza - pravi diploid**:
- osnovno število kromosomov (x) je enako haploidnemu številu kromosomov (n)
  x = n = 10; 2n =20




Metaphasic nuclei obtained from supersweet corn (*Zea mays* L. var. saccharata) root tips and microscopic images of stomata guard cells of V2-V3-stage seedlings, showing: **A2, true haploids represented by plants with x=10 chromosomes.**
(Sekiya in sod., 2020)

**Primer: PŠENICA**

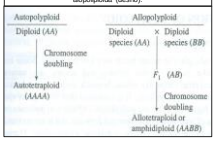
**Pšenica - heksaploid**:
- *je poliploid pri katerem se monoploidno in haploidno št. razlikujeta.*
- somatsko število kromosomov (2n) je 42, haploidno število kromosomov (n) je 21, monoploidno število (x) je 7 ali x=7, n=21, 2n=42 oziroma n=3x in 2n=6x

**POLIPLOIDI**

**Avtopoliploidi**
- imajo večkratnik lastnega osnovnega seta kromosomov.

**Alopoliploidi**
- genom vsebuje 2 kopiji celotnega seta kromosomov dveh ali več bližnje sorodnih vrst, kot posledica križanja;
- so lahko: tetraploidi, heksaploidi ali oktaploidi.

Shematski prikaz nastanka avtopoliploida (levo) in alopoliploida (desno):




**POVEČANJE ŠTEVILA SETOV KROMOSOMOV**

**Spontano**
- najpogosteje zaradi združitve nereduciranih gamet.

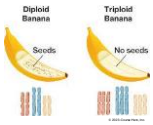
**Rastlinske tkivne kulture**
- adventivna regeneracija na gojišču z dodanimi rastnimi regulatorji.
- npr.: pri predstavnikih rodu *Cucurbita* z dodatkom fuzarične kisline v gojišče [Košmrlj in sod., 2015]

**Antimitotska sredstva**
- inhibirajo delovanje mikrotubulov.
- najpogosteje uporabljen je KOLHICIN iz jesenskega podleska, ki prepreči segregacijo kromosomov med celično delitvijo.
- druga antimitotska sredstva: orizalin, amiprofos metil, ipd.
- so toksične spojine.

## APLIKACIJA EVPLOIDOV V KMETIJSTVU

**a) MONOPLOIDI:** recesivne lastnosti se v diploidnem organizmu izrazijo le v primeru, da je homozigoten za omenjene lastnosti, medtem ko se pri monoploidih vedno izrazijo, zato se v postopkih žlahtnjenja rastlin uporabljajo za iskanje recesivnih genov z agronomskimi vrednostmi.

**b) AVTOTRIPLOIDI:** primer avtotriploida so banane (x=11, 2n=33). Zaradi lihega števila setov so triploidne banane sterilne in zato ne vsebujejo semen.




## APLIKACIJA EVPLOIDOV V KMETIJSTVU

**c) AVTOTETRAPLOIDI:** lucerna, arašidi, krompir, kava, narcise, tulipani, hiacinte, dalije, … (večji cvetovi, listi, organi).

**d) ALOPOLIPLOIDI:** izkazujejo lastnosti starševskih vrst:
- bombaž je naraven alopoliploid;
- izzvan alopoliploid je tritikala, križanec med pšenico (2n=42) in ržjo (2n=14), diploidno število kromosomov je tako 2n=8x (21+7)=56;
- pšenica (*Triticum aestivum*) je prav tako naraven alopoliploid;
- alopoliploidi iz rodu ***Brassica*** itd.

*Brassica rapa (sin. Brassica campestris)- repa*
*Brassica nigra – črna gorčica*
*Brassica oleracea – zelje, brokoli, cvetača, b. ohrovt*
*Brassica juncea – gorjušica*
*Brassica napus – oljna ogrščica*
*Brassica carinata – etiopska gorjušica*

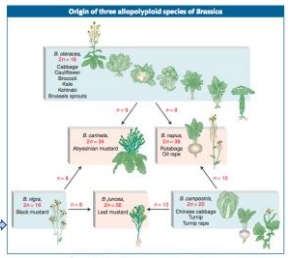



Figure 17-8 Allopolyploidy is important in the production of new species. In the example shown, three diploid species of *Brassica* (light green boxes) were crossed in different combinations to produce their allopolyploids (tan boxes). Some of the agricultural derivatives of some of the species are shown within the boxes.

## MOŽNE OBLIKE PARJENJA KROMOSOMOV

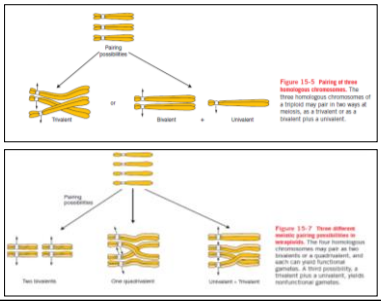



Figure 15-5 Pairing of three homologous chromosomes. The three homologous chromosomes of a triploid may pair in two ways at meiosis, as a trivalent or as a bivalent plus a univalent.




Figure 15-7 Three different meiotic pairing possibilities in tetraploids. The four homologous chromosomes may pair as two bivalents or a quadrivalent, and each can yield functional gametes. A third possibility, a trivalent plus a univalent, yields nonfunctional gametes.

Možne oblike parjenja kromosomov pri a) triploidu in b) avtotetraploidu.
=> v kolikor se med spolno delitvijo homologni kromosomi parijo v bivalente in kvadrivalente, nastanejo **fertilne gamete**, medtem ko se homologni kromosomi, združeni v trivalente in univalente pri delitvi ne razporedijo pravilno in so zato nastale **gamete sterilne**.

## METODE DOLOČANJA PLOIDNOSTI V RASTLINAH

- Štetje kromosomov v metafaznih jedrih
- Indirektne metode:
  - štetje kroloplastov v celicah zapiralkah
  - merjenje velikosti celic zapiralk
  - uporaba pretočne citometrije

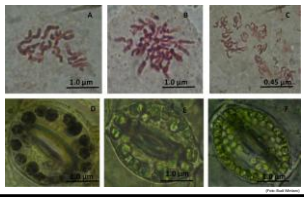



Fig. 2. Comparison between number of **chromosomes** and **chloroplasts** in different ploidy levels. (A) Haploid cell with 20 chromosomes, (B) diploid cell with 30 chromosomes, (C) triploid cell with 49 chromosomes, (D) haploid cell with 19 chloroplasts, (E) diploid cell with 30 chloroplasts, (F) triploid cell with 52 chloroplasts.

**PRAKTIČNI DEL VAJE**

**MITOZA**

mikroskopski preparat:

As116d Mitosis, *l.s.* from *Vicia faba* (bean) root tips showing all mitotic stages

skica:

**PRAKTIČNI DEL VAJE**

**MEJOZA**

mikroskopski preparat:

As117f Meiosis, *t.s.* of *Lilium* anthers showing different stages of meiotic division

skica:

**PRAKTIČNI DEL VAJE**

**Opazovanje LISTNIH REŽ**

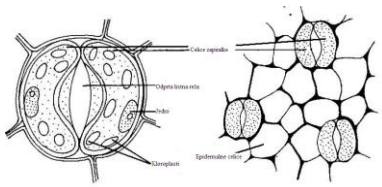
**pri mikroskopskem preparatu:**

As4102d ⊛ *Sedum*, epidermis with stomata *w.m.*

skica:

**PRAKTIČNI DEL VAJE**

**Opazovanje listnih rež**
**in**
**štetje kloroplastov**
**pri diploidni in tetraploidni ajdi**




**PRAKTIČNI DEL VAJE**

**Opazovanje listnih rež**
**in**
**štetje kloroplastov**
**pri diploidni in tetraploidni ajdi ter ajdi iz Semenarne LJ**

1. Na predmetno steklo kanite dve kapljici lugola.
2. S skalpelom nežno podrgnite po povrhnjici spodnje strani lista in povrhnjico prenesite na predmetno stekelce.
   *(alternativa – s salotejpom.)*
3. Preštejte kloroplaste v celicah zapiralkh pri diploidni in tetraploidni ajdi ter ajdi iz Semenarne LJ ter izmerite njihovo velikost.
4. Izmenjajte si rezultate in izračunajte povprečno število kloroplastov.

| Diploidna ajda (2n) | Tetraploidna ajda (4n) | Ajda Semenarna Ljubljana (?n) |
|---|---|---|
| Povprečno število kloroplastov: _____ | Povprečno število kloroplastov: _____ | Povprečno število kloroplastov: _____ |
| Povprečna dolžina listnih rež: _____ | Povprečna dolžina listnih rež: _____ | Povprečna dolžina listnih rež: _____ |

Literatura:


Acquaah G. 2007. Principles of plant genetics and breeding. Malden, Blackwell publishing, 555 str.

Hartl D., Jones. W.E. 1998. Genetics: principles and analysis. 4. izdaja. Jones and Bartlett Publishers. 840 str.

Košmrlj, K., Kladnik, A., Bohanec B. 2015. Adventitious regeneration in styrian oil pumpkin in relation to the endoreduplication pattern and induced tetraploidy on fusaric acid-supplemented media. Journal of Plant Growth Regulation, 75, 587-594. DOI 10.1007/s10725-014-9961-5

Martin C, Viruel MA, Lora J and Hormaza JI. 2019. Polyploidy in Fruit Tree Crops of the Genus Annona (Annonaceae). Front. Plant Sci. 10:99. doi: 10.3389/fpls.2019.00099.

Seikya A., Pestana J.K., Silva M.G.B., Krause M.D., Silva C.R.M., Ferreira J.M. 2020. Haploid induction in tropical supersweet corn and ploidy determination at the seedling stage. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 55:e00968. DOI: https://doi. org/10.1590/S1678-3921.pab2020.v55.00968.

Sinkovič, T. 2008. Mitoza in celični cikel pri višjih rastlinah. Acta agriculturae Slovenica, 91, 2, 465-477.

Zhou, K.-D.; Zhang, C.-X.; Niu, F.-R.; Bai, H.-C.;Wu, D.-D.; Deng, J.-C.; Qian, H.-Y.; Jiang, Y.-L.; Ma,W. 2023. Exploring Plant Meiosis: Insights from the Kinetochore Perspective. Curr. Issues Mol. Biol., 45, 7974–7995. https://doi.org/10.3390/cimb45100504