

Utjecaj poliploidije na fenotip i stresni odgovor vrsta roda Arabidopsis

Kučkovečki, Lucija

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:713035>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-15**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Lucija Kučkovečki

**Utjecaj poliploidije na fenotip i stresni
odgovor vrsta roda *Arabidopsis***

Završni rad

Zagreb, 2023.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Lucija Kučkovečki

**The effect of polyploidy on the phenotype and
stress response of *Arabidopsis* species**

Bachelor thesis

Zagreb, 2023.

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu studijskog programa Molekularna biologija na Zavodu za molekularnu biologiju Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Nenada Malenice.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Završni rad

Utjecaj poliploidije na fenotip i stresni odgovor vrsta roda

Arabidopsis

Lucija Kučkovečki

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Poliploidiju označava posjedovanje više od dva cjelovita seta kromosoma. Poliploidi se mogu svrstati u autopoliploide i alopoliploide, a nastaju uslijed multiplikacije cijelog genoma. Neopoliploidi i prirodni poliploidi vrsta roda *Arabidopsis*, a posebno poliploidi *Arabidopsis thaliana*, pokazali su se kao izvrsni modelni organizmi za istraživanje utjecaja poliploidije na fiziologiju stanice, ali i biljke u cjelini. Poliploidi imaju veće stanice i organe, koji ponekad imaju i promijenjenu morfologiju. Iako su stanice poliploida veće, njihov ukupni broj nije uvijek jednak broju stanica u diploida zbog poteškoća u staničnoj diobi koje uzrokuje više setova kromosoma. Stanice poliploida imaju promijenjenu debljinu i sastav stanične stijenke, ali također pokazuju promijenjenu ekspresiju gena u odnosu na diploide što im je omogućilo bolju prilagodbu na abiotički stres i druge okolišne uvjete. Utjecaj poliploidije na morfologiju i prilagodbu na stresne uvjete našao je svoju primjenu u uzgoju biljaka jer poliploidizacija povećava ukupni prinos i biomasu usjeva.

Ključne riječi: autopoliploid, alopoliploid, stanična dioba, transkriptom, suša
(28 stranica, 3 slike, 83 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: izv. prof. dr. sc. Nenad Malenica

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Bachelor thesis

The effect of polyploidy on the phenotype and stress response of *Arabidopsis* species

Lucija Kučkovečki

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Polyploidy is described by having more than two complete sets of chromosomes. Polyploids can be classified as autopolyploids or allopolyploids, and they arise as a result of the multiplication of the entire genome. Neopolyploids and natural polyploids of *Arabidopsis* species, and especially *Arabidopsis thaliana* polyploids, have proven to be an excellent model for researching the influence of polyploidy on cell physiology and the plant as a whole. Polyploids have larger cells and organs, which sometimes also have changed morphology. Although polyploid cells are larger, their number is not always the same as in diploids due to difficulties in cell division caused by multiple sets of chromosomes. Polyploid cells have altered cell wall thickness and composition, but they also exhibit altered gene expression compared to diploids, which leads to better adaptation of polyploid plants to abiotic stress and other environmental conditions. The influence of polyploidy on morphology and stress tolerance has found its application in plant breeding because polyploidization increases the total yield and biomass of crops.

Keywords: autopolyploid, allopolyploid, cell division, transcriptome, drought
(28 pages, 3 figures, 83 references, original in: croatian)
Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: izv. prof. dr. sc. Nenad Malenica

SADRŽAJ:

1. Uvod.....	1
2. Aloploidija i autopoliploidija roda <i>Arabidopsis</i>	2
3. Utjecaj poliploidije na fenotip biljke i fiziologiju stanice.....	3
3.1. Veličina i morfologija stanica.....	3
3.2. Veličina i morfologija biljnih organa.....	5
3.3. Sastav stanične stijenke.....	10
3.4. Stanična dioba.....	11
4. Utjecaj poliploidije na transkriptom.....	14
5. Utjecaj poliploidije na proteom.....	17
6. Utjecaj poliploidije na stresni odgovor.....	18
7. Zaključak.....	21
8. Literatura.....	22
9. Životopis.....	28

1. Uvod

Poliploidija je pojava pri kojoj stanica nekog organizma sadrži tri ili više cjelovita seta kromosoma. Poliploidija se javlja uslijed multiplikacije cijelog genoma (eng. *whole-genome multiplication*, WGM) koja svaku stanicu biljke čini poliploidnom ili uslijed endoreduplikacije koja pojedinačne stanice čini poliploidnim. Endoreduplikacija je proces multiplikacije genskog materijala koji ne uključuje staničnu diobu i čiji je rezultat poliploidna stanica. Poliploidne stanice autopoliploida i alopoliploida nastale uslijed WGM nisu ekvivalentne onima nastalim uslijed endoreduplikacije iako dijele neka slična svojstva (Comai, 2005), stoga ću se u nastavku osvrnuti samo na prirodne ili novoformirane poliploide nastale uslijed WGM.

Većina poliploidnih vrsta prema nastanku mogu se svrstati u autopoliploide ili alopoliploide. Autopoliploidi nastaju križanjem unutar ili između populacija iste vrste zbog čega sadrže više setova kromosoma te vrste dok su alopoliploidi rezultat hibridizacije dvije različite vrste pa sadrže udvostručene setove kromosoma koji pripadaju različitim evolucijskim linijama (Ramsey i Schemske, 1998, 2002; Soltis i Soltis, 2009). Alopoliploidi mogu nastati spajanjem nereduciranih gameta dviju vrsta ili hibridizacijom dviju vrsta nakon koje je uslijedio WGM (Comai i sur., 2003). Ponekad je granicu između pojma autopoliploid i alopoliploid teže odrediti jer što su genomi roditeljskih vrsta alopoliploida sličniji teže je definirati je li neka vrsta autopoliploid ili alopoliploid (Comai, 2005).

Poliploidija se u prirodi pojavljuje kod više eukariotskih skupina pa tako i kod biljaka (Ramsey & Schemske, 1998) među kojima je zabilježena kod više od 70% ukupnih vrsta kritosjemenjača i njihovih predaka uključujući i vrste roda *Arabidopsis* (Masterson, 1994). Poliploidne vrste roda *Arabidopsis*, već uspostavljene i novoformirane (neopoliploidi), pokazale su se kao izvrsni modelni organizmi za istraživanje uspostavljanja i evolucije poliploida, ali i njihovih fizioloških i molekularnih mehanizama.

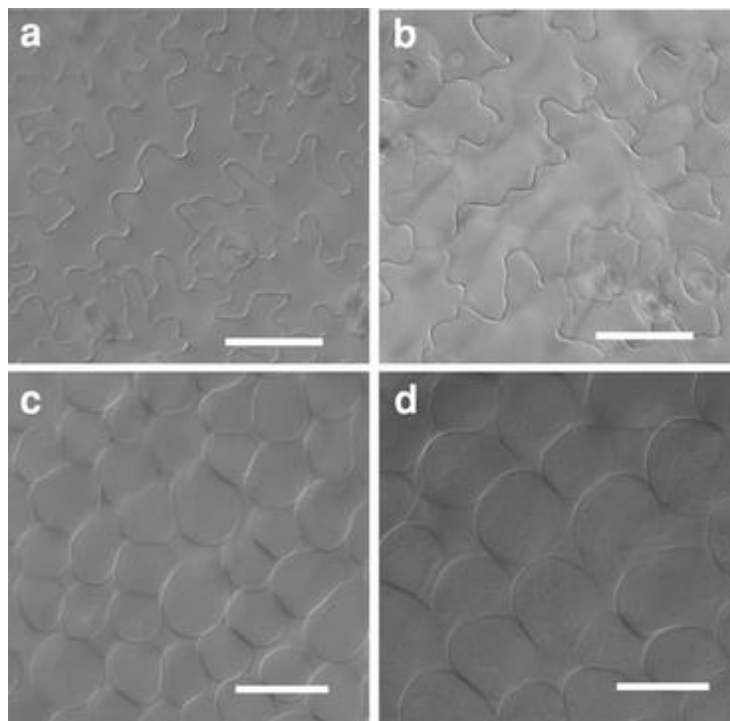
2. Aloploidija i autoploidija roda *Arabidopsis*

Autoploidni i aloploidni se često pojavljuju u prirodnim populacijama pa se tako u prirodi može naći više poliploidnih vrsta roda *Arabidopsis*. Rod *Arabidopsis* obuhvaća autotetraploide nastale udvostručenjem cijelog genoma (eng. *whole-genome doubling*, WGD). *A. thaliana* u prirodi se pojavljuje uglavnom kao diploid iako su zabilježene i autotetraploidne biljke. Za razliku od *A. thaliana*, *A. lyrata* i *A. arenosa*, u prirodi se pojavljuju i kao diploidi i kao autotetraploidi (Bomblies i Weigel, 2007; Henry i sur., 2005). Hibridizacija je uobičajena prirodna pojava i smatra se da se javlja u barem 25% biljnih vrsta (Chen, 2010; Mallet, 2005). U prirodi su također zabilježene i alotetraploidne vrste među kojima su najistraženije *A. suecica* čiji je alotetraploid nastao jednim hibridizacijskim događajem između diploida vrsta *A. thaliana* ($2n = 2x = 10$) i *A. arenosa* ($2n = 4x = 32$) (Bomblies i Madlung, 2014) prije 12000 do 300000 godina (Jakobsson i sur., 2006) te *A. kamchatica* čiji je alotetraploid nastao hibridizacijom diploida vrsta *A. halleri* i *A. lyrata* (Shimizu-Inatsugi i sur., 2009). Broj kromosoma svih navedenih poliploida iznosi $2n = 4x = 32$, osim alotetraploida *A. suecica* čiji broj kromosoma iznosi $2n = 4x = 26$, pri čemu se oznaka $2n$ odnosi na somatski broj kromosoma dok se oznaka x odnosi na broj kromosoma u jednom setu (Bomblies i Madlung, 2014; Ramsey i Schemske, 2002). *A. thaliana* je kao prva sekvencirana biljna vrsta bila od velikog značaja u istraživanjima jer je upravo sekvenciranjem njenog genoma utvrđeno da je rod *Arabidopsis* pretrpio barem dva zasebna poliploidizacijska događaja (Blanc i sur., 2003; Bomblies i Madlung, 2014). Alotetraploid *A. suecica* može se naći u prirodi, ali se može i dobiti križanjem u laboratoriju što ga čini izvrsnom vrstom za proučavanje *de novo* aloploidije. Osim tetraploida koji su najčešći poliploidi (Comai, 2005), za istraživanja se koriste i poliploidi višeg stupnja poput heksaploida koji sadrže šest potpunih setova kromosoma ili oktaploida koji ih sadrže osam. Broj autoploidnih prirodnih ekotipova (tzv. primki) roda *Arabidopsis* dostupnih za istraživanja je ograničen pa se metoda induciranja autoploida kolhicinom pokazala kao vrlo koristan alat (Corneillie i sur., 2019; Robinson i sur., 2018; Tsukaya, 2013).

3. Utjecaj poliploidije na fenotip biljke i fiziologiju stanice

3.1. Veličina i morfologija stanica

Poznavanje utjecaja poliploidije na veličinu stanice uvelike je korisno za uzgoj ekonomski korisnih biljaka s obzirom da poliploidne jedinice često razvijaju veće organe zbog porasta veličine stanice u odnosu na diploidne jedinice istih vrsta (Ramanna i Jacobsen, 2003). Opaženo je da se biljne stanice u određenim slučajevima mogu povećati i do 1000 puta (Sugimoto-Shirasu i Roberts, 2003). I kod vrsta roda *Arabidopsis* primijećeno je da poliploidija utječe na veličinu biljnih stanica, ali su mehanizmi kojima se to događa i dalje nepoznati i predmet su istraživanja. U nastavku ću se osvrnuti na istraživanja u kojima su zapažene promjene u veličini stanice ovisne o stupnju poliploidije kod vrste *A. thaliana*. Li i suradnici (2012) zapazili su da su kod autotetraploida adaksijalne epidermalne stanice lista 71% veće, dok su palisadne stanice lista 24% veće od diploidnih (Slika 1). Također su zapazili da su kod autotetraploida epidermalne stanice kotiledona 67% veće, a epidermalne stanice korijena 32% veće od stanica diploida (Li i sur., 2012). Pločaste epidermalne stanice lapova su kod autotetraploida induciranih kolhicinom 1,76 puta veće od stanica diploida. Iste stanice su kod oktaploida induciranih kolhicinom 1,71 puta veće od stanica tetraploida (Robinson i sur., 2018). Porastom stupnja poliploidije raste i veličina puči pri čemu je najveća razlika u veličini puči zamijećena pri usporedbi diploida i tetraploida pri čemu su autotetraploidi inducirani kolhicinom imali puči veće i do 20% (Del Pozo i Ramirez-Parra, 2014; Yu i sur., 2009). Osim kod autotetraploida razlika u veličini puči zamijećena je i kod alotetraploida pri čemu alotetraploidi imaju veće puči od triploida, a triploidi od diploida (Miller i sur., 2012).



Slika 1. Veličina stanica diploida i autotetraploida *A. thaliana*. Adaksijalne epidermalne stanice lista rozete diploida (**a**) i autotetraploida (**b**). Palisadne stanice lista rozete kod diploida (**c**) i autotetraploida (**d**). Duljina skale/mjerila iznosi 50 μm (a-d). Preuzeto iz Li i sur., 2012.

Nakon što je u više slučajeva opaženo da s porastom stupnja poliploidije raste i veličina stanice slijedeći korak je bio otkriti na koji način stupanj poliploidije utječe na veličinu stanice. U početku se smatralo da povećani broj setova kromosoma u stanici uzrokuje proporcionalni porast količine proteina u stanici pa time i njen volumen. Storchová i suradnici (2006) su tu izravnu ovisnost opovrgnuli na primjeru kvasca i dokazali da za porast volumena stanice nije odgovorna količina proteina u stanici. Naime, problem predstavlja što je biljna stanica sastavljena od struktura koje nisu isključivo linearne. Stanica je sastavljena od linearnih struktura poput nukleinskih kiselina i mikrotubula, zatim od planarnih membranskih struktura i naposljetku od sferičnih struktura poput vakuola i citosola. Količina genskih produkata potrebnih za izgradnju tih struktura je proporcionalna dimenzijama tih struktura. Kako bi takva biljna stanica udvostručila volumen, molekula koje čine linearne i planarne strukture potrebno je manje od dvostruke količine dok je molekula koje čine trodimenzionalne strukture potrebna dvostruka količina. To znači da ukoliko dođe do udvostručenja broja molekula koje čine sve navedene strukture udvostručenjem broja

setova kromosoma (npr. autotetraploidija), dio molekula koje čine linearne i planarne strukture bio bi suvišan (Storchová i sur., 2006). Uzimajući u obzir ta saznanja, Tsukaya (2013) je došao do sličnog zaključka, ali na primjeru *A. thaliana*. Pritom je uspoređivao veličinu diploidnih stanica mutanata koji su imali različito velike subepidermalne stanice i stanica autotetraploida. Prema dobivenim rezultatima omjer veličina autotetraploidne i diploidne stanice uvelike se razlikovao između mutanta. Neki mutanti su uglavnom pokazivali veći ili manji omjer dok su neki pokazivali omjer sličan divljem tipu. Kada bi veličina stanice bila izravno povezana sa stupnjem poliploidije omjer veličine autotetraploidne i diploidne stanice nekog mutanta trebao bi biti stalan bez obzira na to o kojem se mutantu radi. Ovime je još jednom pokazano da udvostručenje genoma pa ni veličina same jezgre nemaju izravan utjecaj na veličinu stanice nego je ona povezana sa stupnjem poliploidije kroz još nedovoljno istražene faktore (Robinson i sur., 2018; Tsukaya, 2013).

Kod poliploida je osim razlike u veličini stanice zabilježena i razlika u njihovoj morfologiji. Abaksijalne epidermalne stanice kolhicinom induciranih poliploidnih biljaka (proučeni tetraploidi, heksaploidi i oktaploidi) manje su okrugle od stanica diploidnih biljaka (Corneillie i sur., 2019). Kolhicinom inducirani heksaploidi i oktaploidi *A. thaliana* u stabljici imaju deformirane stanice kore, srčike, floema i kambija, a kao uzrok takvoj pojavi smatra se stanjena sekundarna stanična stijenka (Corneillie i sur., 2019). Također, Karcz i suradnici (2000) otkrili su razlike u mikrosporogenezi tetraploida induciranih kolhicinom pri čemu su mikrospore tetraploida veće i imaju četiri brazde dok mikrospore diploida imaju tri brazde. Nasuprot tome prema njihovim mjerenjima makrospore, ali ni sama makrosporogeneza ne razlikuju se uvelike između tetraploida i diploida (Karcz i sur., 2000).

3.2. Veličina i morfologija biljnih organa

Osim porasta veličine stanica kod poliploida je zapažen i porast u veličini i morfologiji organa. Saznanja o veličini i morfologiji organa poliploida važna su jer pronalaze praktičnu ulogu u poboljšanju proizvodnje sjemena i usjeva biljaka veće biomase (Miller i sur., 2012). Veličinu biljnog organa određuje i veličina i broj stanica koje ga čine (Narukawa i sur., 2015). Porast veličine biljnih organa ovisniji je o porastu veličine stanica od animalnih tkiva (Sugimoto-Shirasu i Roberts, 2003). Kod mnogih biljnih vrsta, efekt koji nastaje uslijed povećanog genoma, a podrazumijeva povećane stanice, a time i biljne organe, naziva se *gigas* efekt (Knight i Beaulieu, 2008). On

uključuje i one vrste koje pripadaju rodu *Arabidopsis*. U nastavku ću se osvrnuti na dosad zapažene razlike u morfologiji i veličini prirodnih autopoliploida i alopoliploida i novoformiranih poliploida u odnosu na pripadne diploide vrste *A. thaliana*.

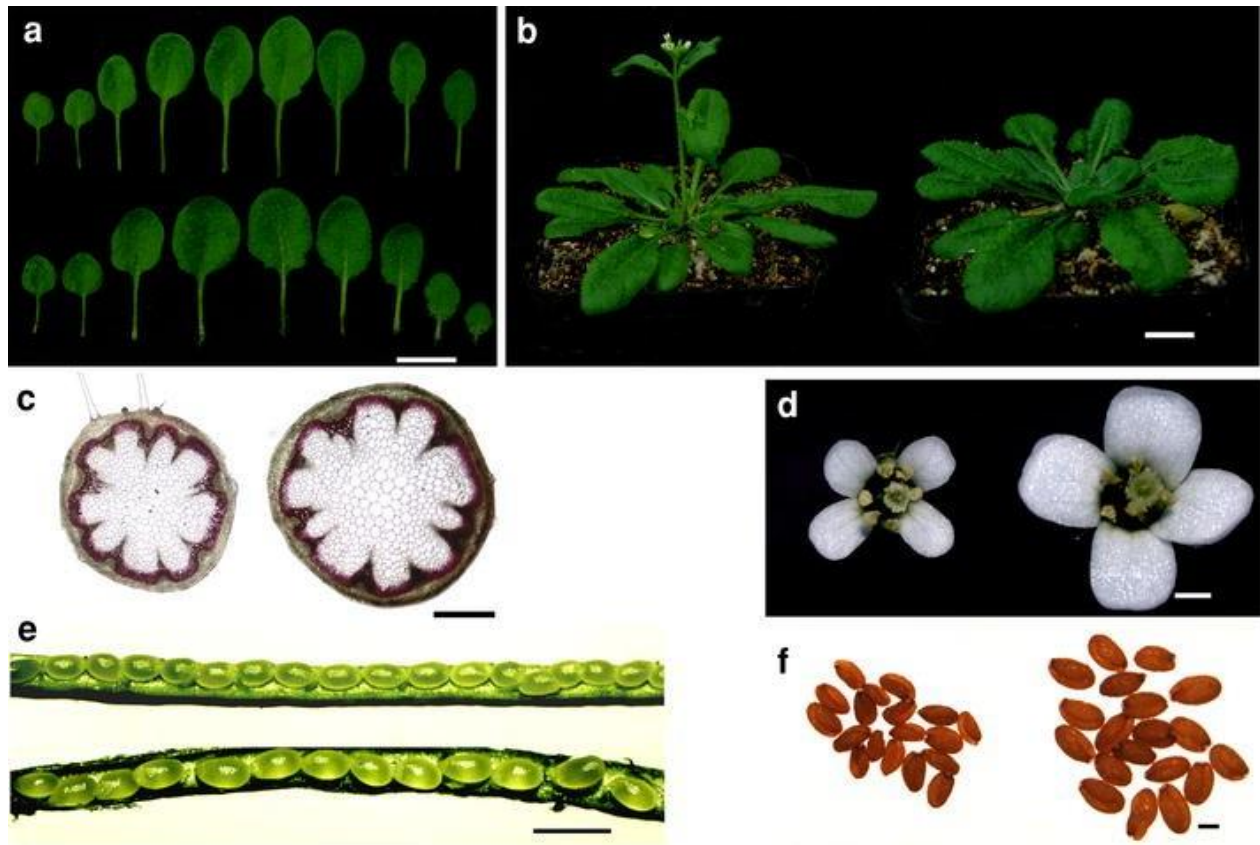
Kod svih vrsta poliploida *A. thaliana* zapaženi su veći vegetativni i generativni organi od diploida (Chen, 2010; Karcz i sur., 2000; Yu i sur., 2009). Kod prirodnih i novoformiranih autotetraploida te alotetraploida zamijećeni su veći cvjetovi u usporedbi s cvjetovima diploida (Slika 2d; Del Pozo i Ramirez-Parra, 2014; Miller i sur., 2012; Robinson i sur., 2018) dok je kod novoformiranih autotetraploida zapaženo i više bočnih cvatova (Karcz i ostali, 2000). Neotetraploidi su imali 1,51 puta veće lapove od diploida, dok su neooktaploidi imali 1,13 puta veće lapove od neotetraploida (Robinson i sur., 2018). Također, poliploidi imaju veći korijen od diploida pri čemu je to rezultat povećanja veličine stanice, a ne broja stanica (Yu i sur., 2009). Autotetraploidi imaju 36% veće korijene i 71% veće kotiledone od diploida (Li i sur., 2012). Glavne stabljike autotetraploida su 21% deblje od onih diploida (Slika 2c; Chen, 2010; Li i sur., 2012) te su stabljike neoautotetraploida razgranatije i imaju tanji sloj voska (Karcz i sur., 2000).

Ipak, kod autotetraploidnih listova *A. thaliana* nije zabilježena velika razlika u veličini u odnosu na diploidne (Chen, 2010; Del Pozo i Ramirez-Parra, 2014), ali je zabilježena razlika u morfologiji. Listovi autotetraploida imaju 10% kraću i 20% širu lisnu plojku u usporedbi s diploidom (Slika 2a; Chen, 2010; Li i sur., 2012) te su listovi tetraploida zaobljeniji (Karcz i sur., 2000). Veličina listova nije se puno promijenila jer iako su listovi autotetraploida imali 1,5 puta veće stanice, tih je stanica bilo 1,5 puta manje. Razlika u broju stanica koje čine određeni biljni organ primijećena je i na primjeru hipokotila i lapova. Autotetraploidi razvijaju duže hipokotile od diploida zbog povećane duljine stanica u hipokotilima, ali ti isti hipokotili imaju 10% manje stanica od diploida (Narukawa i sur., 2015). Robinson i suradnici primijetili su da su i porast veličine lapova i smanjenje broja stanica koje čine lapove linearno ovisni o stupnju ploidijske kod *A. thaliana* (Robinson i sur., 2018). Ovakve suprotne ovisnosti uzrokuju umjereno povećanje lapova s porastom stupnja ploidijske. Kada poliploidija ne bi uzrokovala smanjen broj stanica lapova, došlo bi do još većeg porasta lapova ovisnog o stupnju ploidijske. Kod listova, hipokotila i lapova *A. thaliana* uočava se kompenzacijski učinak koji se naziva i *high-ploidy syndrome*. Učinak je ranije opisan kod cvjetnica i označava pojavu pri kojoj je viši stupanj poliploidije povezan s porastom u veličini stanica, ali i snižavanjem stope dioba stanica u odnosu na onu kod diploida (Tsukaya, 2008). Povećanje stanica kod poliploida uočeno je tek kada je broj stanica smanjen ispod određene razine pri čemu ta razina ovisi

o biljnoj vrsti i vrsti organa (Horiguchi i Tsukaya, 2011). U biljnim tkivima sa smanjenim brojem stanica uslijed poremećene stanične diobe, stanice će biti povećane kako bi se nadoknadio gubitak tj. kako biljni organ ne bi izgubio na veličini (Horiguchi i Tsukaya, 2011; Narukawa i sur., 2015). Ovakvi rezultati ukazuju na to da poliploidija do neke razine inhibira stanične diobe u listovima. Pošto porast veličine stanica nije u svim slučajevima povezan s porastom veličine biljnih organa zaključuje se da je utjecaj poliploidije na veličinu stanica i organa, barem kod proučenih tetraploida *A. thaliana*, tkivno specifičan (Del Pozo i Ramirez-Parra, 2014) i da postoje regulatorni mehanizmi odgovorni za takav učinak (Del Pozo i Ramirez-Parra, 2015).

Osim razlike u morfologiji samih listova, zabilježene su i razlike u morfologiji puči i trihoma (dlaka) na listovima. Kod proučenih diploida, triploida i alotetraploida zabilježen je porast u veličini puči, ali se njihov broj po jedinici površine smanjio s porastom stupnja ploidije (Del Pozo i Ramirez-Parra, 2015). Osim porasta u veličini puči zabilježen je porast u veličini i grananju trihoma. Diploidi imaju trihome s 2-4 grane (najčešće 3), tetraploidi imaju trihome s 2-5 grana, dok heksaploidi i oktaploidi imaju trihome s 3-8 grana. Zapažanje ovakvog svojstva poliploida pokazalo se jako korisno u determinaciji stupnja poliploidije (Robinson i sur., 2018; Yu i sur., 2009).

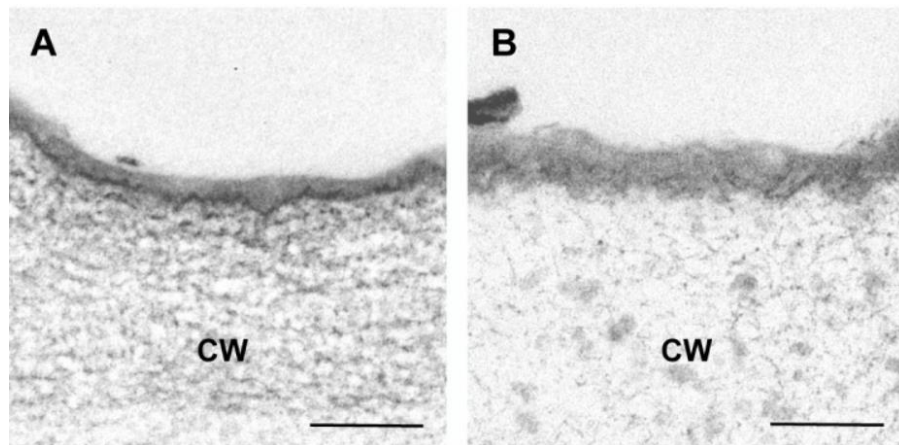
Razlike u veličini i broju sjemenki zapažene su kod svih vrsta poliploida u odnosu na sjemenke diploida. Mahuna autotetraploida sadrži manje sjemenki koje su veće i duže od onih kod diploida (Slika 2e; Corneillie i sur., 2019; Li i sur., 2012; Yu i sur., 2009). Zrele sjemenke autotetraploida su veće u odnosu na one diploida (Slika 2f; Li i sur., 2012) dok je kod aloploida zapažena i veća masa sjemenki (Miller i sur., 2012). Sjemenke neoautotetraploida su veće, izduženije, imaju više škroba u vanjskom integumentu te njihova sjemena ljuska (testa) sadrži više smeđeg pigmenta (Karcz i sur., 2000).



Slika 2. Veličina i morfologija organa autotetraploida i diploida *A. thaliana*. **a** Listovi rozete diploida (gore) i autotetraploida (dolje). **b** Biljka diploida (lijevo) i autotetraploida (desno). **c** Presjek glavne stabljike diploida (lijevo) i autotetraploida (desno). **d** Veličina cvijeta diploida (lijevo) i autotetraploida (desno). **e** Sjemenke u mahuni diploida (gore) i autotetraploida (dolje). **f** Zrele sjemenke diploida (lijevo) i autotetraploida (desno). Duljina skale/mjerila iznosi 1 cm (a, b), 500 μ m (c, f), 1 mm (d) te 5 mm (e). Preuzeto iz Li i sur., 2012.

Proučavajući kutikulu hipokotila i kotiledona autotetraploida otkrivene su razlike u odnosu na diploide. Autotetraploidni kotiledoni imaju 40% deblju kutikulu od diploida (Slika 3; Narukawa i sur., 2015). Autotetraploidi u apikalnom dijelu hipokotila nasuprot kotiledonima pokazuju povećanu propusnost kutikule u odnosu na diploide. Povećana propusnost opažena je u dijelovima biljke koji intenzivno rastu, stoga je moguće da je povećana propusnost kutikule uzrokovana strukturnim promjenama kutikule koje je izazvao pojačan rast (Narukawa i sur., 2015). Narukawa i suradnici (2015) predlažu 2 moguća modela za navedenu razliku u propusnosti kutikule. Prema njima je opravdaniji onaj model koji pretpostavlja da povećanje duljine stanica oštećuje kutikulu

koja se mora stalno obnavljati. Model pretpostavlja da je kod hipokotila diploida obnavljanje kutikule usklađeno s pojačanim rastom, dok kod autotetraploida produljenje stanica, a time i oštećenje kutikule nadilazi njeno obnavljanje zbog čega je kutikula propusnija (Narukawa i sur., 2015).



Slika 3. Struktura kutikule kod diploida (A) i autotetraploida *A. thaliana* (B). Duljina skale/mjerila iznosi 100 nm (A, B). Preuzeto iz Narukawa i sur., 2015.

Sva navedena obilježja autopoliploida *A. thaliana* i pripadnih alopoliploida ukazuju na to da s porastom stupnja poliploidije rastu biljni organi i same biljke no proučavanjem viših poliploida zaključeno je da veza između poliploidije i veličine organa nije tako jednostavna. Neoautotetraploidi imaju veće tijelo i viši su od diploida (Karcz i sur., 2000). Međutim oktaploidi su manji i od tetraploida i od diploida (Tsukaya, 2008). To što su jedinke većeg stupnja poliploidije manje od onih manjeg stupnja ukazuje da na veličinu biljke ne utječe samo stupanj poliploidije nego i neki drugi faktori te da ovisnost veličine jedinke o stupnju poliploidije nije linearna (Tsukaya, 2013). Proučavanjem alopoliploida primijećeno je da alotetraploid *A. suecica* ima tri do pet puta veće tijelo od diploida *A. thaliana* i barem dvostruko veće tijelo od diploida *A. arenosa* (Bushell i sur., 2003). Ipak kod promatranja veličine stanice i organa alopoliploida koji se mogu naći u prirodi mora se uzeti u obzir da sama hibridizacija, a ne nužno samo poliploidija utječe na povećani fenotip (Ramsey i Schemske, 2002).

3.3. Sastav stanične stijenke

Stanična stijenka je struktura koja se nalazi na površini biljnih stanica. Jedna od važnijih uloga stanične stijenke je održavanje oblika protoplasta biljnih stanica, a time i cijele biljke. Ona biljci daje čvrstoću i omogućuje joj rast u visinu, ali i sudjeluje u međustaničnoj komunikaciji i zaštiti stanice od patogena (O'Neill i York, 2003). Sastoji se od dva sloja, primarne stanične stijenke i sekundarne stanične stijenke. Primarna stanična stijenka je tanki elastični sloj koji obavija rastuće stanice i koji se sastoji od polisaharida kao što su celuloza, hemiceluloza i pektin te od strukturnih proteina. Sekundarna stanična stijenka pojavljuje se nakon što je stanica poprimila konačnu veličinu i to samo na određenim tipovima stanica kao što su stanice provodnih elemenata. Osnovne građevne jedinice sekundarne stanične stijenke su lignin i suberin (Beck, 2005). Sastav pojedinog sloja stanične stijenke razlikuje se između biljnih vrsta te između vrsta stanica (Knox, 2008).

Corneillie i suradnici (2019) istražili su utjecaj poliploidije na sastav i strukturu stanične stijenke stanica stabljike kod tetraploida, heksaploida i oktaploida *A. thaliana* induciranih kolhicinom. Heksaploidi i oktaploidi sadržavali su 18%, odnosno 32% manje suhe tvari stanične stijenke u odnosu na diploide dok kod tetraploida nije zamijećena razlika. Također je zamijećeno smanjenje količine lignina u staničnoj stijenci s povećanjem stupnja poliploidije. Tetraploidi su sadržavali 20%, heksaploidi 50%, a oktaploidi 55% manje lignina od diploida. Razlika u količini lignina kod poliploida bila je vidljiva i po tome što su stanice stabljike poliploida imale stanjenu sekundarnu staničnu stijenk. Analizom sastava lignina razlika je primijećena samo kod oktaploida dok se ostali poliploidi po uzorku lignifikacije u stabljici nisu razlikovali od diploida. Heksaploidi su sadržavali 15%, a oktaploidi 25% manje celuloze od diploida. Heksaploidi su sadržavali 22%, a oktaploidi 37% više polisaharida matriksa poput hemiceluloze i pektina od diploida. Smatra se da su polisaharidi matriksa nadoknadili nedostatak lignina. Također je izmjeren porast koncentracije pektinskih polisaharida poput homogalakturonana, ramnogalakturonana, arabinana i galaktana te porast koncentracije polisaharida hemiceluloze poput galaktoglukomanana i ksiloglukana. Osim porasta koncentracije polisaharida matriksa izmjeren je i porast koncentracije strukturnih proteina poput ekstenzina i proteina arabinogalaktana. Daljnjom analizom polisaharida matriksa uočen je porast koncentracije galaktoze, arabinose i fukoze te smanjenje koncentracije ksiloze. Ipak kod oktaploida je u više slučajeva izmjerena manja koncentracija pojedinih pektinskih i hemiceluloznih polisaharida nego kod heksaploida i tetraploida. Takav rezultat objašnjen je proučavanjem sastava stanične stijenke biljaka u različitim razvojnim stadijima pri čemu je zaključeno da oktaploidi

počinju stariti prije nego što njihove primarne stanične stijenke u potpunosti sazriju (Corneillie i sur., 2019).

Većinu biljne biomase čini upravo stanična stijenka pa je proučavanje njenog sastava i strukture važno u proizvodnji hrane, biogoriva i industriji koja koristi biljke kao gradivni ili tekstilni materijal (Carpita i McCann, 2008). To što porastom stupnja poliploidije pada sadržaj lignina u staničnoj stijenci može biti korisno za poboljšanje prinosa šećera iz biljne biomase obzirom da se lignin smatra glavnim ograničavajućim faktorom saharifikacije (Chen i Dixon, 2007; Van Acker i sur., 2013). Poboljšanju prinosa saharifikacije pridonosi i povećanje sadržaja galaktoze i arabinose te smanjenje sadržaja ksiloze koje je također zamijećeno s porastom stupnja poliploidije (Van Acker i sur., 2013).

3.4. Stanična dioba

Poliploidija predstavlja prepreku za normalno odvijanje mitoze i mejoze što je uočeno i kod prirodnih i kod novoformiranih poliploida. Uzrok tomu je što je kod poliploida sparivanje i razdvajanje kromosoma kompleksnije od onog kod diploida zbog postojanja dodatnih setova kromosoma (Comai, 2005; Ramsey i Schemske, 2002). Upravo to povećanje kompleksnosti procesa potrebnih za ispravno odvijanje stanične diobe može uzrokovati dodatak ili gubitak kromosoma iz uravnoteženog seta kromosoma očekivanog u gametama, odnosno nastanak aneuploidnih gameta (Comai, 2005). Aneuploidne gamete uglavnom nastaju zbog nemogućnosti pravilnog razdvajanja kromosoma tijekom mejoze (Ramsey i Schemske, 2002). Do 30% ranih generacija neoalopoliploida roda *Arabidopsis* pokazuje abnormalnosti u mejozi kao što su kromosomski mostovi, koji rezultiraju neuravnoteženim (nebalansiranim) gametama (Comai, 2005; Madlung i sur., 2005). Učestalost nastanka aneuploidnih gameta razlikuje se između vrsta i ovisna je o stupnju poliploidije (Comai, 2005). Wright i suradnici (2009) zabilježili su sličnu razinu somatske aneuploidije kod neoalopoliploida (0-16%) i prirodnih aloploida (0-19%) *A. suecica* (Wright i sur., 2009).

Osim razdvajanja kromosoma tijekom mejoze, poliploidija uzrokuje poteškoće i u samom sparivanju kromosoma. Tijekom metafaze I u poliploidnim stanicama postoji mogućnost sparivanja kromosoma u multivalente (npr. trivalenti, tetravalenti, pentavalenti). Razdvajanje multivalenta složenije je od razdvajanja bivalenta (Kumar i Singh, 2003) stoga pojava

multivalenata u metafazi može uzrokovati zapetljanje kromosoma i nepravilno razdvajanje kromosoma u anafazi (Bombliies i Madlung, 2014). Multivalentno sparivanje kromosoma i nastanak nebalansiranih gameta 3,5 puta je učestalije kod neoautopoliploida *A. thaliana* nego kod aloploidida – kod aloploidida prevladava bivalentno sparivanje kromosoma. Iako je multivalentno sparivanje kromosoma učestalije kod neoautotetraploida ipak u prosjeku u svakoj stanici prevladava bivalentno sparivanje (63,7%) nad multivalentnim (28,8%) (Ramsey i Schemske, 2002).

Učestalost nastajanja multivalenata tijekom metafaze I varira između vrsta i ekotipova (Bombliies & Madlung, 2014). Kod prirodnih autotetraploida *A. thaliana* ekotipa Col u majčinskoj stanici mikrospore multivalenti se pojavljuju s manjom učestalošću (52,8-71,2%) nego kod novoformiranih autotetraploida induciranih kolhicinom (79,0%) dok za bivalente vrijedi suprotno (Santos i sur., 2003). Tijekom metafaze I kod diploida *A. thaliana* ekotipa Wilna kromosomi u majčinskoj stanici mikrospore spareni su u pet bivalenata kao što je i očekivano. Za autotetraploide je očekivana velika učestalost multivalenata, posebice kvadrivalenata, zbog prisustva četiri seta homolognih kromosoma. Ipak umjesto multivalenata kromosomi su bili spareni ili u deset bivalenata (~50%) ili u asocijacije od osam ili devet kromosoma koje podrazumijevaju jedan do dva bivalenta pri čemu se smatra da su neke asocijacije detektirane zbog preklapanja bivalenata (Weiss i Maluszynska, 2001). Ovakva diploidizacija autopoliploida uočena je i kod prirodnih i kod novoformiranih poliploida raznih biljaka uključujući i rod *Arabidopsis* (Santos i sur., 2003; Soltis i sur., 2014; Weiss i Maluszynska, 2001).

Kod prirodnih autotetraploida *A. arenosa* uglavnom su uočeni bivalenti dok su kod novoformiranih autotetraploida uočeni multivalenti i zapetljanja kromosoma (Yant i sur., 2013). Otkriveno je da prirodni autotetraploidi rano u profazi, u pahitenu, stvaraju multivalente koji se većinom razrješuju u bivalente u metafazi I (Carvalho i sur., 2010; Higgins i sur., 2014; Yant i sur., 2013). Također je otkriveno da se kod prirodnih autotetraploida *A. arenosa* hijazme stvaraju s manjom učestalošću nego kod diploida (Yant i sur., 2013). Uzimajući u obzir oba otkrića smatra se da se multivalenti kod prirodnih autotetraploida razrješuju u bivalente zbog toga što između kromosoma nisu stvorene postojane veze – hijazme (Comai, 2005; Hollister i sur., 2012). Prema tome, manja učestalost stvaranja hijazmi pojednostavljuje sparivanje i razdvajanje kromosoma i time izravno pospješuje mejozu kod prirodnih autopoliploida (Bombliies i Madlung, 2014).

Naizgled bi se moglo zaključiti da se ovakva zapažanja kod poliploida *A. arenosa* ne poklapaju s onima kod *A. thaliana*. Kao i kod *A. arenosa* prirodni autotetraploidi imaju manju učestalost stvaranja hijazmi od diploida, ali naizgled je neočekivano da novoformirani autotetraploidi *A. thaliana* imaju veću učestalost stvaranja hijazmi od diploida (Pecinka i sur., 2011; Zielinski i Mittelsten, 2012). Povećanje učestalosti stvaranja hijazmi kratkoročna je posljedica poliploidije, ali se evolucijski učestalost ipak snižava ispod one koju pokazuju diploidi kako bi se smanjilo formiranje multivalenata (Bomblies i Madlung, 2014). Smatra se da je bivalentno sparivanje kromosoma adaptacija koju su autoploiploidi stekli kako bi osigurali pravilno razdvajanje kromosoma u mejozi (Santos i sur., 2003; Weiss i Maluszynska, 2001).

Osim autotetraploiploida i alotetraploiploidi *A. suecica* i *A. kamchatica* tijekom mejoze pokazuju formiranje bivalenata kao i diploidi (Comai i sur., 2003; Pecinka i sur., 2011). Aloploiploidi sadržavaju setove kromosoma obje roditeljske vrste pa je moguće sparivanje homolognih, ali i homeolognih kromosoma u bivalente. Homologni kromosomi pripadaju genomu jedne roditeljske vrste, dok homeologni kromosomi pripadaju različitim genomima (Comai i sur., 2003). Sparivanje homolognih kromosoma u bivalente sprečava rekombinaciju roditeljskih kromosoma i time održava oba roditeljska seta kromosoma potpuna (Comai, 2005). Nasuprot tomu sparivanje homeolognih kromosoma u bivalente uzrokuje nepravilno razdvajanje kromosoma pa time i nastanak nebalansiranih i nevijabilnih gameta (Comai i sur., 2003; Otto, 2007; Ramsey i Schemske, 2002). Zabilježeno je da kod *A. suecica* bivalenti uglavnom nastaju između homolognih kromosoma, ali neki nastaju i između homeolognih kromosoma (Comai i sur., 2003), dok kod *A. kamchatica* bivalenti nastaju isključivo između homolognih kromosoma (Shimizu i sur., 2005). Mehanizmi kojima aloploiploidi roda *Arabidopsis* suprimiraju homeologno sparivanje još uvijek nisu potpuno razjašnjeni, iako je moguće da posjeduju mehanizam sličan onomu zabilježenom kod pšenice u kojoj je za to zaslužan gen *pairing homeologous 1* (Greer i sur., 2012; Griffiths i sur., 2006; Jenczewski i sur., 2003).

Jedinstvene poteškoće u mejozi javljaju se kod poliploida s neparnim brojem setova homolognih kromosoma kao što su triploidi i pentaploidi. Kod triploida se tijekom metafaze I stvaraju trivalenti koji se ne mogu razdvojiti u uravnotežene gamete, ali i zbog nasumičnog razdvajanja trivalenata nastaju aneuploidne gamete (Comai, 2005). Aneuploidne gamete nastale iz autotriploida i autopentaploida se razlikuju po vijabilnosti među vrstama (Comai, 2005). Kod triploida *A. thaliana* uočena je malo smanjenje plodnosti u usporedbi s diploidima i tetraploidima (Henry i sur., 2005).

Nepravilno razdvajanje kromosoma smatra se mogućim razlogom genetičke nestabilnosti poliploida visokog stupnja kao što su autoheksaploidi i autooktaploidi roda *Arabidopsis*. Genetička nestabilnost viših autopoliploida tijekom vegetativnog i reproduktivnog razvoja onemogućuje uspostavljanje poliploidije iznad određenog stupnja iako autopoliploidi za razliku od alopoliploida teoretski imaju sposobnost da spolnim razmnožavanjem udvostruče genom pojavom svake nove generacije (Wang i sur., 2010).

Osim utjecaja poliploidije na sparivanje i razdvajanje kromosoma u pojedinačnim stanicama, poliploidija utječe i na proliferaciju stanica. Proučavajući broj stanica diploida i tetraploida *A. thaliana*, Iwamoto i suradnici (2006) zaključili su da se porastom stupnja poliploidije proporcionalno smanjuje stopa proliferacije stanica (Iwamoto i sur., 2006; Tsukaya, 2008). Kod većine organizama uočena je negativna korelacija između veličine genoma i stope stanične diobe. Kao mogući razlozi za sporiju diobu stanice kod poliploida navode se veći genom koji zahtijeva dužu replikaciju (Te Beest i sur., 2012), povećana količina energije i resursa potrebna za odvijanje stanične diobe te poremećaj u prostornoj organizaciji kromosoma i pričvršćivanju diobenog vretena za kromosome tijekom metafaze (Comai, 2005).

4. Utjecaj poliploidije na transkriptom

Poliploidija podrazumijeva povećanje broja setova kromosoma, a samim time i kopija gena u stanici. Kad bi za sve gene vrijedilo da su broj kopija gena i količina pripadnih transkripata izravno povezani, tada bi udvostručenje genoma posljedično uzrokovalo udvostručenje transkriptoma odnosno ukupnog broja transkripata u stanici (Song i sur., 2020). Song i suradnici (2020) su proučavanjem mRNA transkriptoma u listovima rozete kod diploida, prirodnih autotetraploida i novoformiranih autotetraploida *A. thaliana* opovrgnuli ovu pretpostavku. Za većinu gena svih proučavanih linija poliploida vrijedilo je da se količina transkripata nije savršeno udvostručila ili prepolovila s udvostručenjem ili prepolavljanjem broja kopija gena. Novoformirani autotetraploidi pokazivali su smanjenu ili povećanu količinu, dok su prirodni autotetraploidi pokazivali blago povećanu količinu transkripata po kopiji gena u odnosu na diploide. Razlog tomu je što je udvostručenje genoma kod nekih gena uzrokovalo utišavanje, a kod drugih pojačanje ekspresije

čak i do 88 puta u odnosu na razinu ekspresije kod diploida. Također, za do čak 31% gena uočena je kompenzacija doze – promjena ekspresije takva da kompenzira promjenu u broju kopija gena pa kao rezultat tetraploidi imaju jednak broj transkripata kao diploidi. Kompenzacija doze time raspoređuje udvostručenje broja kopija određenih gena i količine sintetiziranih transkripata zbog čega se ravnoteža genskih produkata ne može održati pomoću selekcije. Ipak za najviše gena je vrijedilo da se broj transkripata barem približno udvostručio uslijed udvostručenja broja kopija gena (Song i sur., 2020). Sličan rezultat zapažen je i kod transkriptoma lapova poliploida *A. thaliana*. Iako je s porastom stupnja poliploidije zabilježen linearni rast količine ukupnog i mRNA transkriptoma, odnos broja kopija gena i količine transkripata kod poliploida nije iznosio 1:1. Tetraploidi su imali 1,69 puta veći ukupni transkriptom i 2,1 puta veći mRNA transkriptom od diploida dok su oktaploidi imali 1,85 puta veći ukupni transkriptom i 1,6 puta veći mRNA transkriptom od tetraploida (Robinson i sur., 2018). Daljnjom analizom utvrđeno je da se porastom stupnja poliploidije razina ekspresije gena po kopiji gena ne mijenja za gene čiji su produkti odgovorni za osnovne metaboličke funkcije poput unutarstaničnog transporta, fotosinteze, katabolizma proteina te stanični ciklus (Robinson i sur., 2018; Shi i sur., 2015). Linearni porast ekspresije po kopiji gena utvrđen je za 113 gena čiji su genski produkti uglavnom odgovorni za funkcioniranje stanične stijenke dok je smanjena razina ekspresije povezana s porastom stupnja poliploidije uočena kod 33 gena čiji genski produkti imaju nepovezane uloge (Robinson i sur., 2018).

Osim analize transkriptoma pojedine vrste roda *Arabidopsis* proučeni su i transkriptomi ekotipova pojedine vrste. Uspoređujući transkriptome diploida i novoformiranih autotetraploida *A. thaliana* različitih ekotipova uočeno je da promjene u transkriptomu uslijed poliploidije ovise o ekotipu. Tetraploid ekotipa Col pokazuje promijenjenu ekspresiju nekoliko stotina gena dok tetraploid ekotipa Ler pokazuje promijenjenu ekspresiju samo desetak gena i to različitih od onih čija je ekspresija promijenjena kod ekotipa Col. Razlika u transkriptomu između ekotipova ukazuje na to da promjene u ekspresiji gena nisu izravan rezultat većeg broja kromosoma nego njihovog podrijetla. Ovakvi rezultati dobiveni su na temelju analize transkriptoma sadnica i zrelih listova rozete što je omogućilo analizu transkriptoma ovisnu o razvojnoj fazi. Zbog malog preklapanja gena čija je ekspresija promijenjena kod tetraploida u dva razvojna stadija zaključeno je da je promjena u ekspresiji gena uzrokovana poliploidijom razvojno specifična (Yu i sur., 2010). Jedan od gena čija je ekspresija bila promijenjena bio je gen *multidrug resistance mutation 1* (MRD1). Diploidi ekotipa Col i Ler te autotetraploid ekotipa Ler pokazivali su slabu osnovnu ekspresiju

MRD1 gena dok je autotetraploid ekotipa Col pokazivao 22 puta veću ekspresiju MRD1 gena u lišću te 110 puta veću ekspresiju MRD1 gena u sadnicama u odnosu na ekspresiju kod diploida ekotipa Col. Daljnjom analizom istog gena utvrđeno je da je metilacija razlog promjene u ekspresiji MRD1 gena. Potpuna ili djelomična metilacija 3'-regije MRD1 gena kod autotetraploida ekotipa Ler povezana je s niskom razinom transkripcije istog gena dok je jaka demetilacija iste regije zabilježena kod autotetraploida ekotipa Col povezana s pojačanom razinom transkripcije MRD1 gena. Iako je razina (de)metilacije povezana s ekspresijom gena u obzir treba uzeti da i druge DNA modifikacije mogu imati utjecaj na promjenu ekspresije gena MRD1 u stanici (Yu i sur., 2010).

Autopoliploidi sadrže više setova kromosoma, ali podrijetlom od iste vrste i ekotipa (Comai, 2005) pa se u usporedbi s autopoliploidima kod alopoliploida očekuje veća promjena u ekspresiji gena i samom transkriptomu u odnosu na pripadne diploide. Razlog tomu je što kod alopoliploida na promjenu ekspresije gena ne utječe samo veći broj setova kromosoma nego i hibridizacija odnosno stapanje dva različita genoma (Chen, 2010; Miller i sur., 2012; Wang i sur., 2010). Ipak razina ekspresije gena kod alopoliploida i općenito hibrida ne odgovara srednjoj vrijednosti razina ekspresije gena kod roditeljskih vrsta (eng. *mid-parent value*, MVP) (Kim i Chen, 2011). Neoalopoliploidi *A. suecica* pokazuju razinu ekspresije gena različitu od MVP vrijednosti roditeljskih vrsta *A. thaliana* i *A. arenosa* (Shi i sur., 2015; Wang i sur., 2010). Odstupanje od MVP vrijednosti zabilježeno je i kod dvije linije neovisno uspostavljenih alotetraploida *A. suecica* i to za ~5% gena od kojih je većina bila različito eksprimirana u roditeljskim vrstama. Geni čija je ekspresija bila viša kod roditeljske vrste *A. thaliana* je kod alotetraploida bila utišana (J. Wang i ostali, 2006). Wang i suradnici (2010) su također uočili utišane gene kod alopoliploida *A. suecica* u odnosu na roditeljske vrste. Kod različitih linija novoformiranih alopoliploida te kod prirodnih alopoliploida jednaki podskupovi gena su bili utišani što ukazuje na to da polploidija regulira ekspresiju na način koji je specifičan za pojedini lokus. RNA interferencijom otkriveno je da je i kod alopoliploida, a ne samo autopoliploida, za utišavanje gena zaslužna metilacija (Wang i sur., 2010). Smatra se da promjene u ekspresiji gena koje se ne podudaraju s MVP vrijednosti pridonose subfunkcionalizaciji udvostručenih gena u različitim tkivima (Adams i sur., 2003).

Kod autopoliploida i alopoliploida roda *Arabidopsis* za većinu proučenih gena dokazano je da se količina transkripata ne udvostručuje ili prepolavlja savršeno s udvostručenjem ili prepolavljanjem broja kopija gena. U skladu s takvim rezultatima, upitno je je li uslijed WGD događaja održana stehiometrijska ravnoteža između genskih produkata koji su uključeni u multiproteinske

komplekse, metaboličke puteve i signalne kaskade. Song i suradnici (2020) dokazali su da skupine gena čiji produkti imaju koordiniranu ulogu također pokazuju i slične promjene u ekspresiji uslijed promjene broja kopija gena u stanici (Song i sur., 2020). Još nije utvrđeno jedinstveno objašnjenje za ovakva opažanja iako je jedna od mogućnosti to da geni čiji produkti imaju povezane uloge imaju slična ili jednaka mjesta u DNA na koja se vežu transkripcijski faktori (Taggart i Li, 2018).

5. Utjecaj poliploidije na proteom

Posljedice koje poliploidija ima na transkriptom ne moraju se nužno preklapati s onima prepoznatim na proteomu zbog postojanja posttranskripcijske regulacije i translacijskih modifikacija (Song i sur., 2020; Taggart i Li, 2018). Važnost ovakvog saznanja ima posebnu ulogu u uspoređivanju razlika u transkriptomu i proteomu za gene čiji produkti imaju povezanu ulogu jer iako su promjene u razini ekspresije spomenutih gena koordinirane, postavlja se pitanje jesu li i promjene na razini proteoma koordinirane odnosno jesu li proteini s koordiniranim ulogama u stehiometrijskoj ravnoteži. Ipak veličina transkriptoma mogla bi biti barem približni pokazatelj veličine proteoma za spomenute gene jer transkripcija nužno prethodi translaciji i jer geni čija se ekspresija mijenja s promjenom broja kopija u stanici pokazuju usklađeniju regulaciju transkripcije i translacije od drugih gena (Gspomer i sur., 2008; Vavouri i sur., 2009).

Ng i suradnici (2012) analizirali su proteom u listovima diploida i autotetraploida *A. thaliana* i *A. arenosa* te novoformiranih alotetraploida. Praćeno je koliki udio od ~1000 proteina je pokazivalo promijenjenu razinu ovisno o poliploidiji. Između diploida i autotetraploida *A. thaliana* zabilježena je relativno mala razlika u proteomu (~6,8%; Ng i sur., 2012) te se ta razlika podudarala s prethodno zabilježenim analizama transkriptoma (Wang i sur., 2006) što ukazuje na to da udvostručenje genoma *per se* izaziva samo male promjene u ekspresiji gena i proteina. Ipak uspoređujući proteom alotetraploida i MVP, razlika u proteomu bila je veća (~8%; Ng i sur., 2012) što se može pripisati hibridizaciji koja postoji kod alotetraploida, ali ne i autotetraploida (Chen, 2010; Miller i sur., 2012; Wang i sur., 2010). Rezultati se također podudaraju s onima dobivenim analizama transkriptoma (Wang i sur., 2006). Proteini čija je razina odstupala od MVP kod alotetraploida (61-62%) odgovarala je genima čija je ekspresija bila različita kod roditeljskih vrsta s time da dotični proteini

nisu imali povezanu funkciju. Proteini čija je zabilježena razina bila veća kod autotetraploida *A. thaliana* u odnosu na diploide pripadali su skupini gena abiotičkog i biotičkog stresa dok između alotetraploida i roditeljskih vrsta uopće nije zabilježena značajna razlika u razini proteina te skupine. Ranije je pokazano da je jača ekspresija proteina koji sudjeluju u stresnom odgovoru povezana sa smanjenim rastom (Bowling i sur., 1997) pa se može zaključiti da su upravo zbog takvog proteoma biljke autotetraploida *A. thaliana* neznatno veće od diploida dok su biljke alotetraploida značajno veće od diploida (Chen, 2010). Osim toga pojačanom rastu alotetraploida pridonosi i sama hibridizacija (Ramsey i Schemske, 2002). Iako su se razine promjena u proteomu i transkriptomu uvelike poklapale, geni zahvaćeni promjenama nisu se uvelike poklapali s proteinima čija je razina zahvaćena promjenama. Takvo saznanje upućuje na to da na rezultate dobivene analizom proteoma uvelike utječu posttranslacijska regulacija, stabilnost mRNA transkripta i proteina te vrsta biljnog tkiva koje se analizira (Kim i Chen, 2011; Ng i sur., 2012; Song i sur., 2020; Taggart i Li, 2018).

6. Utjecaj poliploidije na stresni odgovor

Stresni odnosno nepovoljni uvjeti na koji biljke odgovaraju skupom staničnih i molekularnih mehanizama mogu se podijeliti u abiotičke i biotičke. Abiotički stres uključuju okolišni čimbenici poput suše, previsoke ili preniske temperature, povišeni ili smanjeni salinitet te nedostatak ili suvišak anorganskih tvari i minerala dok biotički stres kod biljaka mogu uzrokovati paraziti i patogeni poput bakterija, gljivica, nematoda i ostalih (Tossi i sur., 2022). Iako stresni odgovor kao posljedicu može imati smanjenu veličinu biljke (Bowling i sur., 1997), kod velikog broja biljnih vrsta uključujući i vrste roda *Arabidopsis* zabilježeno je da poliploidija dovodi do većeg preživljenja pri izlaganju abiotičkom i biotičkom stresu (Tossi i sur., 2022; van de Peer i sur., 2021). U nastavku ću se osvrnuti na učinak poliploidije na abiotički stresni odgovor kod vrste *A. thaliana* uslijed suše, povišenog saliniteta, visoke koncentracije bakra te nedostatka bora u tlu.

Del Pozo i suradnici (2014) su uspoređujući sastav i transkriptom autotetraploida i diploida *A. thaliana* pri uvjetima suše i solnog stresa došli do zaključka da autotetraploidi pokazuju veću toleranciju na abiotički stres od diploida. Diploidi su u odnosu na tetraploide u sušnim uvjetima brže venuli te su imali manju stopu preživljenja uslijed suše i solnog stresa (Del Pozo i Ramirez-Parra, 2014). Tolerancija na sušu većinom je bila rezultat manjeg gubitka vode uslijed snižene

transpiracije koju je izazvala veća zatvorenost puči i njihova manja gustoća na površini lista zabilježena kod autotetraploida. Manjem gubitku vode kod biljaka općenito pridonose i osmoprotektanti poput topivih šećera i slobodnog prolina koji u biljnom tkivu održavaju negativni vodni potencijal te posljedično sprečavaju dehidraciju (Hare i sur., 1998). Ipak, između diploida i tetraploida ni prije ni nakon izlaganja suši nije zamijećena značajna razlika u razini osmoprotektanata što ukazuje na to da poliploidija ne utječe na njihovu biosintezu (Del Pozo i Ramirez-Parra, 2014). Kako bi se detaljnije istražili mehanizmi kojima poliploidija izaziva veću toleranciju na sušu proučen je transkriptom. U kontrolnim uvjetima poliplodidi su za 471 gen pokazivali promijenjenu ekspresiju u odnosu na diploide dok je taj broj u sušnim uvjetima porastao na 1360 gena. U gene čija je ekspresija bila pojačana u kontrolnim uvjetima pripadali su i oni čiji genski produkti sudjeluju u sintezi reaktivnih kisikovih vrsta (eng. *reactive oxygen species*, ROS), oksidacijsko-redukcijskim procesima, hormonskom odgovoru na abscizinsku kiselinu (eng. *abscisic acid*, ABA) te odgovoru na oksidativni stres i ranjavanje (Del Pozo i Ramirez-Parra, 2014). Takvo opažanje objašnjava višu izmjerenu razinu ROS u pučima, ali i u cijelim listovima tetraploida te zatvorenije puči kod autotetraploida (Del Pozo Ramirez-Parra, 2014) jer ABA u uvjetima suše potiče zatvaranje puči (Cutler i sur., 2010; Hubbard i sur., 2010). Usljed suše ekspresija gena čiji genski produkti sudjeluju u oksidacijsko-redukcijskim procesima također je bila pojačana kod tetraploida, ali se ekspresija gena čiji genski produkti sudjeluju u hormonskom odgovoru na ABA, gibereline i modifikaciju stanične stijenke smanjila. Ovakvo zapažanje nije u skladu s očekivanjem obzirom da ROS-ovi kao sekundarni glasnici preko ABA signalnog puta mogu sudjelovati u regulaciji zatvorenosti puči (Cutler i sur., 2010; Hubbard i sur., 2010) pa time i pridonositi toleranciji na stres. Ipak analiza transkriptoma podudara se s izmjerenom razinom ROS uslijed suše koja se kod diploida povećala 5 puta, a kod tetraploida 4 puta (Del Pozo i Ramirez-Parra, 2014). Moguće je da uslijed stresnih uvjeta autotetraploidi pokazuju manju promjenu razine ROS zbog veće aktivnosti takozvanih *ROS-scavengera*, koji vrše detoksifikaciju ROS jer iako ROS sudjeluju u ABA signalnom putu, njihova prevelika razina je štetna jer u stanicama uzrokuju oksidativnu štetu (Mittler, 2002). Proučavajući gene čiju ekspresiju u stanici potiče ABA te gena čiji produkti sudjeluju u ABA signalnom putu zaključeno je da autotetraploidi pozitivno reguliraju ABA signalni put kako bi potaknuli toleranciju na sušu (Del Pozo Ramirez-Parra, 2014).

Chao i suradnici (2013) su pri kontrolnim uvjetima u listovima autotetraploida *A. thaliana* izmjerili 32% veću razinu kalija i njegovog analoga, rubidija nego kod diploida što ukazuje na to da poliploidija direktno utječe na razinu kalija u listovima. Autotetraploidi izloženi visokom salinitetu osim što imaju višu razinu kalija te nižu razinu natrija u odnosu na diploide, pokazivali su i veću stopu preživljenja od diploida (Chao i sur., 2013). Takvo zapažanje u skladu je s ranijim istraživanjima u kojima povećani omjeri kalija i natrija pojačavaju toleranciju biljaka na povišeni salinitet (Munns i Tester, 2008). Također se pretpostavlja da poliploidija biljkama može omogućiti reproduktivnu prednost u okolišima visokog saliniteta jer su proučavani autotetraploidi *A. thaliana* uslijed izlaganja visokom salinitetu proizvodili više sjemenki od diploida što u kontrolnim uvjetima nije bio slučaj (Chao i sur., 2013).

Za nesmetano funkcioniranje metabolizma pa time i rast i razvoj biljke potrebne su odgovarajuće količine mikronutrijenata poput željeza, bakra, mangana, cinka, bora i ostalih (Assunção i sur., 2022). Pokazalo se da previsoke koncentracije bakra u tlu imaju negativan učinak na rast biljke jer bakar katalizira nastanak ROS-ova pa time i oksidativni stres (Yruela, 2009). Li i suradnici (2017) su proučavanjem rasta i sastava biljaka uočili da autotetraploidi *A. thaliana* pokazuju višu toleranciju na stres uzrokovan previsokom koncentracijom bakra u odnosu na diploide (Li i sur., 2017). Osim što se rast diploida drastičnije smanjio uslijed tretmana bakrom, u korijenju i izdanku autotetraploida izmjerena je i niža razina bakra od one izmjerene u diploidnim biljkama. Tetraploidi su također pokazivali veću aktivnost antioksidativnih enzima poput superoksid dismutaze i peroksidaze (Li i sur., 2017). Veća aktivnost navedenih enzima te niža akumulacija bakra odgovorni su za smanjeno nastajanje ROS-ova (Drażkiewicz i sur., 2004) što se podudara s nižom razinom superoksidnih aniona, vodikovog peroksida i malondialdehida izmjerenom kod tetraploida. Kod autotetraploida izloženih previsokoj koncentraciji bakra uočena je promijenjena ekspresija gena čiji produkti sudjeluju u transportu bakra što podupire već zabilježenu toleranciju na stres uzrokovan previsokom koncentracijom bakra. U odnosu na diploide kod autotetraploida se znatno više pojačala ekspresija gena uključenih u ABA signalni put (Li i sur., 2017).

I uslijed suše i uslijed izlaganja povišenoj koncentraciji bakra, poliploidija pozitivno regulira ABA signalni put zbog čega se smatra da su mehanizmi uključeni u stresni odgovor na ove abiotičke uvjete unakrsno povezani (Del Pozo i Ramirez-Parra, 2014; Ye i sur., 2014).

Osim otpornosti na suvišak elemenata u tlu autotetraploidi pokazuju i otpornost na njihov nedostatak. Prekid elongacije korijena jedan je od pokazatelja čak i malog nedostatka bora u tlu (Kasajima i sur., 2010). Bor sudjeluje u biljnom rastu i reprodukciji zbog čega njegov nedostatak u tlu može imati negativan učinak na rast biljke (Cakmak i Römheld, 1997). U usporedbi s diploidima autotetraploidi izloženi nedostatku bora pokazivali su poboljšanu elongaciju stanica korijena te posljedično glavnog i bočnog korijenja (Kasajima i sur., 2010) iz čega se može zaključiti da autotetraploidi *A. thaliana* pokazuju otpornost na nedostatak bora.

7. Zaključak

Poliploidija kod biljaka uključujući i autopoliploide i alopoliploide vrsta roda *Arabidopsis* uzrokuje velike promjene kako na staničnoj tako i na razini cijele biljke. Poliploidi uglavnom imaju veće stanice i organe koji su nekim slučajevima i promijenjene morfologije. Na razini stanice se osim promjene u veličini i količini genoma zamjećuju promjene u sastavu i debljini stanične stijenke, sparivanju i razdvajanju kromosoma, transkriptomu, proteomu te akumulaciji mikronutrijenata. Na razini cijele biljke mogu se uočiti promjene u veličini, broju i morfologiji organa zbog čega se neki poliploidi roda *Arabidopsis* mogu uočiti i naizgled. Autopoliploidi i alopoliploidi se uglavnom susreću s jednakim poteškoćama i prednostima koje izaziva njihov povećani broj setova kromosoma, ali se i dalje uočavaju neke razlike do kojih dolazi zbog toga što autopoliploidi sadržavaju genom jedne evolucijske linije dok autopoliploidi sadržavaju više različitih genoma. Kako bi poliploidi postali genetički stabilni prvo moraju prevladati sterilnost i nestabilnost uzrokovanu poteškoćama u sparivanju i razdvajanju kromosoma tijekom mejoze. Ipak kada neopoliploidi postanu genetički stabilni poliploidija im omogućuje svojstva koja im pomažu u prilagodbi na okolišne čimbenike poput kompeticije s diploidima i stresne uvjete. Iz tih razloga smatra se da je upravo poliploidija imala značajan utjecaj na biljnu evoluciju te složenost i raznolikost biljnih organizama (Soltis i sur., 2014). Osim što je poliploidija korisna samim biljkama poliploidizacija se pokazala korisnom i u uzgoju biljaka jer povećava ukupni prinos i biomasu usjeva. Daljnja istraživanja trebala bi rasvijetliti još neobjašnjene fenotipske učinke poliploidije za što su se vrste roda *Arabidopsis* pokazale kao odlični modelni organizmi.

8. Literatura

- Adams, K. L., Cronn, R., Percifield, R., & Wendel, J. F. (2003). Genes duplicated by polyploidy show unequal contributions to the transcriptome and organ-specific reciprocal silencing. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *100*(8), 4649–4654. <https://doi.org/10.1073/pnas.0630618100>
- Assunção, A. G. L., Cakmak, I., Clemens, S., González-Guerrero, M., Nawrocki, A., & Thomine, S. (2022). Micronutrient homeostasis in plants for more sustainable agriculture and healthier human nutrition. *Journal of Experimental Botany*, *73*(6), 1789–1799. <https://doi.org/10.1093/jxb/erac014>
- Beck, C. B. (2005): Structure and development of the cell wall. U: Beck, C. B. An Introduction to Plant Structure and Development. Cambridge, *Cambridge University Press*, 57-80.
- Blanc, G., Hokamp, K., & Wolfe, K. H. (2003). A recent polyploidy superimposed on older large-scale duplications in the *Arabidopsis* genome. *Genome Research*, *13*(2), 137–144. <https://doi.org/10.1101/gr.751803>
- Bombliès, K., & Madlung, A. (2014). Polyploidy in the *Arabidopsis* genus. *Chromosome Research*, *22*(2), 117–134. Kluwer Academic Publishers. <https://doi.org/10.1007/s10577-014-9416-x>
- Bombliès, K., & Weigel, D. (2007). *Arabidopsis* - a model genus for speciation. *Current Opinion in Genetics and Development*, *17*(6), 500–504. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2007.09.006>
- Bowling, S. A., Clarke, J. D., Liu, Y., Klessig, D. F., & Dong, X. (1997). The cpr5 Mutant of *Arabidopsis* Expresses Both NPR1-Dependent and NPR1-Independent Resistance. *The Plant Cell*, *9*(9), 1573-1584. <https://doi.org/10.1105/tpc.9.9.1573>
- Bushell, C., Spielman, M., & Scott, R. J. (2003). The Basis of Natural and Artificial Postzygotic Hybridization Barriers in *Arabidopsis* Species. *The Plant Cell*, *15*(6), 1430–1442. <https://doi.org/10.1105/tpc.010496>
- Cakmak, I., & Römheld, V. (1997). Boron deficiency-induced impairments of cellular functions in plants. *Plant and Soil*, *193*(1-2), 71-83. <https://doi.org/10.1023/A:1004259808322>
- Carpita, N. C., & McCann, M. C. (2008). Maize and sorghum: genetic resources for bioenergy grasses. *Trends in Plant Science*, *13*(8), 415–420. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.06.002>
- Carvalho, A., Delgado, M., Barão, A., Frescatada, M., Ribeiro, E., Pikaard, C. S., Viegas, W., & Neves, N. (2010). Chromosome and DNA methylation dynamics during meiosis in the autotetraploid *Arabidopsis arenosa*. *Sexual Plant Reproduction*, *23*(1), 29–37. <https://doi.org/10.1007/s00497-009-0115-2>
- Chao, D. Y., Dilkes, B., Luo, H., Douglas, A., Yakubova, E., Lahner, B., & Salt, D. E. (2013). Polyploids exhibit higher potassium uptake and salinity tolerance in *Arabidopsis*. *Science*, *341*(6146), 658–659. <https://doi.org/10.1126/science.1240561>
- Chen, F., & Dixon, R. A. (2007). Lignin modification improves fermentable sugar yields for biofuel production. *Nature Biotechnology*, *25*(7), 759–761. <https://doi.org/10.1038/nbt1316>

- Chen, Z. J. (2010). Molecular mechanisms of polyploidy and hybrid vigor. *Trends in Plant Science* 15(2), 57–71. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.12.003>
- Comai, L. (2005). The advantages and disadvantages of being polyploid. *Nature Reviews Genetics*, 6(11), 836–846. <https://doi.org/10.1038/nrg1711>
- Comai, L., Tyagi, A. P., & Lysak, M. A. (2003). FISH analysis of meiosis in *Arabidopsis* allopolyploids. *Chromosome Research*, 11(3), 217–226. <https://doi.org/10.1023/A:1022883709060>
- Corneillie, S., De Storme, N., Van Acker, R., Fangel, J. U., De Bruyne, M., De Rycke, R., Geelen, D., Willats, W. G. T., Vanholme, B., & Boerjan, W. (2019). Polyploidy affects plant growth and alters cell wall composition. *Plant Physiology*, 179(1), 74–87. <https://doi.org/10.1104/pp.18.00967>
- Cutler, S. R., Rodriguez, P. L., Finkelstein, R. R., & Abrams, S. R. (2010). Abscisic Acid: Emergence of a Core Signaling Network. *Annual Review of Plant Biology*, 61(1), 651–679. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112122>
- Del Pozo, J. C., & Ramirez-Parra, E. (2014). Deciphering the molecular bases for drought tolerance in *Arabidopsis* autotetraploids. *Plant, Cell and Environment*, 37(12), 2722–2737. <https://doi.org/10.1111/pce.12344>
- Del Pozo, J. C., & Ramirez-Parra, E. (2015). Whole genome duplications in plants: An overview from *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany*, 66(22), 6991–7003. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv432>
- Drązkiewicz, M., Skórzyńska-Polit, E., & Krupa, Z. (2004). Copper-induced oxidative stress and antioxidant defence in *Arabidopsis thaliana*. *BioMetals*, 17(4), 379–387. <https://doi.org/10.1023/B:BIOM.0000029417.18154.22>
- Greer, E., Martín, A. C., Pendle, A., Colas, I., Jones, A. M. E., Moore, G., & Shawa, P. (2012). The Ph1 locus suppresses Cdk2-type activity during premeiosis and meiosis in wheat. *Plant Cell*, 24(1), 152–162. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.094771>
- Griffiths, S., Sharp, R., Foote, T. N., Bertin, I., Wanous, M., Reader, S., Colas, I., & Moore, G. (2006). Molecular characterization of Ph1 as a major chromosome pairing locus in polyploid wheat. *Nature*, 439(7077), 749–752. <https://doi.org/10.1038/nature04434>
- Gsponer, J., Futschik, M. E., Teichmann, S. A., & Babu, M. M. (2008). Tight regulation of unstructured proteins: From transcript synthesis to protein degradation. *Science*, 322(5906), 1365–1368. <https://doi.org/10.1126/science.1163581>
- Hare, P. D., Cress, W. A., & Van Staden, J. (1998). Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant, Cell and Environment*, 21(6), 535–553. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.1998.00309.x>
- Henry, I. M., Dilkes, B. P., Young, K., Watson, B., Wu, H., & Comai, L. (2005). Aneuploidy and genetic variation in the *Arabidopsis thaliana* triploid response. *Genetics*, 170(4), 1979–1988. <https://doi.org/10.1534/genetics.104.037788>
- Higgins, J. D., Wright, K. M., Bomblies, K., & Franklin, F. C. H. (2014). Cytological techniques to analyze meiosis in *Arabidopsis arenosa* for investigating adaptation to polyploidy. *Frontiers in Plant Science*, 4(546). <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00546>

- Hollister, J. D., Arnold, B. J., Svedin, E., Xue, K. S., Dilkes, B. P., & Bomblies, K. (2012). Genetic Adaptation Associated with Genome-Doubling in Autotetraploid *Arabidopsis arenosa*. *PLoS Genetics*, 8(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003093>
- Horiguchi, G., & Tsukaya, H. (2011). Organ size regulation in plants: Insights from compensation. *Frontiers in Plant Science*, 2(24). <https://doi.org/10.3389/fpls.2011.00024>
- Hubbard, K. E., Nishimura, N., Hitomi, K., Getzoff, E. D., & Schroeder, J. I. (2010). Early abscisic acid signal transduction mechanisms: Newly discovered components and newly emerging questions. *Genes and Development*, 24(16), 1695–1708. <https://doi.org/10.1101/gad.1953910>
- Iwamoto, A., Satoh, D., Furutani, M., Maruyama, S., Ohba, H., & Sugiyama, M. (2006). Insight into the basis of root growth in *Arabidopsis thaliana* provided by a simple mathematical model. *Journal of Plant Research*, 119(2), 85–93. <https://doi.org/10.1007/s10265-005-0247-x>
- Jakobsson, M., Hagenblad, J., Tavaré, S., Säll, T., Halldén, C., Lind-Halldén, C., & Nordborg, M. (2006). A unique recent origin of the allotetraploid species *Arabidopsis suecica*: Evidence from nuclear DNA markers. *Molecular Biology and Evolution*, 23(6), 1217–1231. <https://doi.org/10.1093/molbev/msk006>
- Jenczewski, E., Eber, F., Grimaud, A., Huet, S., Lucas, M. O., Monod, H., & Chèvre, A. M. (2003). PrBn, a major gene controlling homeologous pairing in oilseed rape (*Brassica napus*) haploids. *Genetics*, 164(2), 645–653. <https://doi.org/10.1093/genetics/164.2.645>
- Karcz, J., Weiss-Schneeweiss, H., & Maluszynska, J. (2000). Structural and embryological studies of diploid and tetraploid *Arabidopsis thaliana*. *Acta biologica Cracoviensia*, 42(2), 113-124. <https://www.researchgate.net/publication/259850519>
- Kasajima, I., Yoshizumi, T., Ichikawa, T., Matsui, M., & Fujiwara, T. (2010). Possible involvement of ploidy in tolerance to boron deficiency in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Biotechnology*, 27(5), 435–445. <https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.10.0728a>
- Kim, E. D., & Chen, Z. J. (2011). Unstable transcripts in *Arabidopsis* allotetraploids are associated with nonadditive gene expression in response to abiotic and biotic stresses. *PLoS ONE*, 6(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024251>
- Knight, C. A., & Beaulieu, J. M. (2008). Genome size scaling through phenotype space. *Annals of Botany*, 101(6), 759–766. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm321>
- Knox, J. P. (2008). Revealing the structural and functional diversity of plant cell walls. *Current Opinion in Plant Biology*, 11(3), 308–313. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2008.03.001>
- Kumar, G., & Singh, V. (2003). Meiotic Behaviour of Induced Translocation Heterozygote in Pearl Millet (*Pennisetum typhoides*). *Cytologia*, 68(3), 245–248. <https://doi.org/10.1508/cytologia.68.245>
- Li, M., Xu, G., Xia, X., Wang, M., Yin, X., Zhang, B., Zhang, X., & Cui, Y. (2017). Deciphering the physiological and molecular mechanisms for copper tolerance in autotetraploid *Arabidopsis*. *Plant Cell Reports*, 36(10), 1585–1597. <https://doi.org/10.1007/s00299-017-2176-2>
- Li, X., Yu, E., Fan, C., Zhang, C., Fu, T., & Zhou, Y. (2012). Developmental, cytological and transcriptional analysis of autotetraploid *Arabidopsis*. *Planta*, 236(2), 579–596. <https://doi.org/10.1007/s00425-012-1629-7>

- Madlung, A., Tyagi, A. P., Watson, B., Jiang, H., Kagochi, T., Doerge, R. W., Martienssen, R., & Comai, L. (2005). Genomic changes in synthetic *Arabidopsis* polyploids. *Plant Journal*, *41*(2), 221–230. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2004.02297.x>
- Mallet, J. (2005). Hybridization as an invasion of the genome. *Trends in Ecology and Evolution*, *20*(5), 229–237. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.02.010>
- Masterson, J. (1994). Stomatal Size in Fossil Plants: Evidence for Polyploidy in Majority of Angiosperms. *Science*, *264*(5157), 421–424. <https://doi.org/10.1126/science.264.5157.421>
- Miller, M., Zhang, C., & Chen, Z. J. (2012). Ploidy and hybridity effects on growth vigor and gene expression in *Arabidopsis thaliana* hybrids and their parents. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, *2*(4), 505–513. <https://doi.org/10.1534/g3.112.002162>
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, *7*(9), 405–410. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9)
- Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, *59*, 651–681. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>
- Narukawa, H., Yokoyama, R., Komaki, S., Sugimoto, K., & Nishitani, K. (2015). Stimulation of cell elongation by tetraploidy in hypocotyls of dark-grown *Arabidopsis* seedlings. *PLoS ONE*, *10*(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134547>
- Ng, D. W. K., Zhang, C., Miller, M., Shen, Z., Briggs, S. P., & Chen, Z. J. (2012). Proteomic divergence in *Arabidopsis* autopolyploids and allopolyploids and their progenitors. *Heredity*, *108*(4), 419–430. <https://doi.org/10.1038/hdy.2011.92>
- O'Neill, M. A. & York, W. S. (2003). The Plant Cell Wall. *Blackwell Scientific Publications*, Oxford.
- Otto, S. P. (2007). The Evolutionary Consequences of Polyploidy. *Cell*, *131*(3), 452–462. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.10.022>
- Pecinka, A., Fang, W., Rehmsmeier, M., Levy, A. A., & Mittelsten Scheid, O. (2011). Polyploidization increases meiotic recombination frequency in *Arabidopsis*. *BMC Biology*, *9*. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-9-24>
- Ramanna, M. S., & Jacobsen, E. (2003). Relevance of sexual polyploidization for crop improvement – A review. *Euphytica*, *133*(1), 3–8. <https://doi.org/10.1023/A:1025600824483>
- Ramsey, J., & Schemske, D. W. (1998). Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, *29*, 467–501. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.29.1.467>
- Ramsey, J., & Schemske, D. W. (2002). Neopolyploidy in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, *33*, 589–639. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.33.010802.150437>
- Robinson, D. O., Coate, J. E., Singh, A., Hong, L., Bush, M., Doyle, J. J., & Roeder, A. H. K. (2018). Ploidy and size at multiple scales in the *Arabidopsis sepala*. *Plant Cell*, *30*(10), 2308–2329. <https://doi.org/10.1105/tpc.18.00344>

- Santos, J. L., Alfaro, D., Sanchez-Moran, E., Armstrong, S. J., Franklin, F. C. H., & Jones, G. H. (2003). Partial Diploidization of Meiosis in Autotetraploid *Arabidopsis thaliana*. *Genetics*, *165*(3), 1533–1540. <https://doi.org/10.1093/genetics/165.3.1533>
- Shi, X., Zhang, C., Ko, D. K., & Jeffrey Chen, Z. (2015). Genome-wide dosage-dependent and-independent regulation contributes to gene expression and evolutionary novelty in plant polyploids. *Molecular Biology and Evolution*, *32*(9), 2351–2366. <https://doi.org/10.1093/molbev/msv116>
- Shimizu, K. K., Fuji, S., Marhold, K., Watanabe, K., & Kudoh, H. (2005). *Arabidopsis kamchatica* (Fisch. ex DC.) K. Shimizu & Kudoh and *A. kamchatica* subsp. *kawasakiana* (Makino) K. Shimizu & Kudoh, New Combinations. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica*, *56*(2), 163–172. <https://doi.org/10.5167/UZH-71825>
- Shimizu-Inatsugi, R., Lihov, J., Iwanaga, H., Kudoh, H., Marhold, K., Savolainen, O., Watanabe, K., Yakubov, V. V., & Shimizu, K. K. (2009). The allopolyploid *Arabidopsis kamchatica* originated from multiple individuals of *Arabidopsis lyrata* and *Arabidopsis halleri*. *Molecular Ecology*, *18*(19), 4024–4048. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04329.x>
- Soltis, D. E., Visger, C. J., & Soltis, P. S. (2014). The polyploidy revolution then...and now: Stebbins revisited. *American Journal of Botany*, *101*(7), 1057–1078. <https://doi.org/10.3732/ajb.1400178>
- Soltis, P. S., & Soltis, D. E. (2009). The Role of Hybridization in Plant Speciation. *Annual Review of Plant Biology*, *60*(1), 561–588. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.043008.092039>
- Song, M. J., Potter, B. I., Doyle, J. J., & Coate, J. E. (2020). Gene balance predicts transcriptional responses immediately following ploidy change in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, *32*(5), 1434–1448. <https://doi.org/10.1105/tpc.19.00832>
- Storchová, Z., Breneman, A., Cande, J., Dunn, J., Burbank, K., O’Toole, E., & Pellman, D. (2006). Genome-wide genetic analysis of polyploidy in yeast. *Nature*, *443*(7111), 541–547. <https://doi.org/10.1038/nature05178>
- Sugimoto-Shirasu, K., & Roberts, K. (2003). ‘Big it up’: endoreduplication and cell-size control in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, *6*(6), 544–553. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2003.09.009>
- Taggart, J. C., & Li, G. W. (2018). Production of Protein-Complex Components Is Stoichiometric and Lacks General Feedback Regulation in Eukaryotes. *Cell Systems*, *7*(6), 580–589. <https://doi.org/10.1016/j.cels.2018.11.003>
- Te Beest, M., Le Roux, J. J., Richardson, D. M., Brysting, A. K., Suda, J., Kubešov, M., & Pyšek, P. (2012). The more the better? The role of polyploidy in facilitating plant invasions. *Annals of Botany*, *109*(1), 19–45. <https://doi.org/10.1093/aob/mcr277>
- Tossi, V. E., Martínez Tosar, L. J., Laino, L. E., Iannicelli, J., Regalado, J. J., Escandn, A. S., Baroli, I., Causin, H. F., & Pitta-Álvarez, S. I. (2022). Impact of polyploidy on plant tolerance to abiotic and biotic stresses. *Frontiers in Plant Science*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.869423>
- Tsukaya, H. (2008). Controlling Size in Multicellular Organs: Focus on the Leaf. *PLoS Biology*, *6*(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060174>
- Tsukaya, H. (2013). Does ploidy level directly control cell size? Counterevidence from arabidopsis genetics. *PLoS ONE*, *8*(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083729>

- Van Acker, R., Vanholme, R., Storme, V., Mortimer, J. C., Dupree, P., & Boerjan, W. (2013). Lignin biosynthesis perturbations affect secondary cell wall composition and saccharification yield in *Arabidopsis thaliana*. *Biotechnology for Biofuels*, 6(1). <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-46>
- van de Peer, Y., Ashman, T. L., Soltis, P. S., & Soltis, D. E. (2021). Polyploidy: an evolutionary and ecological force in stressful times. *Plant Cell*, 33(1), 11–26. <https://doi.org/10.1093/plcell/koaa015>
- Vavouri, T., Semple, J. I., Garcia-Verdugo, R., & Lehner, B. (2009). Intrinsic Protein Disorder and Interaction Promiscuity Are Widely Associated with Dosage Sensitivity. *Cell*, 138(1), 198–208. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.04.029>
- Wang, J., Tian, L., Lee, H. S., Wei, N. E., Jiang, H., Watson, B., Madlung, A., Osborn, T. C., Doerge, R. W., Comai, L., & Chen, Z. J. (2006). Genomewide nonadditive gene regulation in *Arabidopsis* allotetraploids. *Genetics*, 172(1), 507–517. <https://doi.org/10.1534/genetics.105.047894>
- Wang, Y., Jha, A. K., Chen, R., Doonan, J. H., & Yang, M. (2010). Polyploidy-associated genomic instability in *Arabidopsis thaliana*. *Genesis*, 48(4), 254–263. <https://doi.org/10.1002/dvg.20610>
- Weiss, H., & Maluszynska, J. (2001). Chromosomal rearrangement in autotetraploid plants of *Arabidopsis thaliana*. *Hereditas*, 133(3), 255–261. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.2000.00255.x>
- Wright, K. M., Pires, J. C., & Madlung, A. (2009). Mitotic instability in resynthesized and natural polyploids of the genus *Arabidopsis* (*Brassicaceae*). *American Journal of Botany*, 96(9), 1656–1664. <https://doi.org/10.3732/ajb.0800270>
- Yant, L., Hollister, J. D., Wright, K. M., Arnold, B. J., Higgins, J. D., Franklin, F. C. H., & Bomblies, K. (2013). Meiotic Adaptation to Genome Duplication in *Arabidopsis arenosa*. *Current Biology*, 23(21), 2151–2156. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.08.059>
- Ye, N., Li, H., Zhu, G., Liu, Y., Liu, R., Xu, W., Jing, Y., Peng, X., & Zhang, J. (2014). Copper Suppresses Abscisic Acid Catabolism and Catalase Activity, and Inhibits Seed Germination of Rice. *Plant and Cell Physiology*, 55(11), 2008–2016. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcu136>
- Yruela, I. (2009). Copper in plants: Acquisition, transport and interactions. *Functional Plant Biology*, 36(5), 409–430. <https://doi.org/10.1071/FP08288>
- Yu, Z., Haage, K., Streit, V. E., Gierl, A., & Torres Ruiz, R. A. (2009). A large number of tetraploid *Arabidopsis thaliana* lines, generated by a rapid strategy, reveal high stability of neo-tetraploids during consecutive generations. *Theoretical and Applied Genetics*, 118(6), 1107–1119. <https://doi.org/10.1007/s00122-009-0966-9>
- Yu, Z., Haberer, G., Matthes, M., Rattei, T., Mayer, K. F. X., Gierl, A., & Torres-Ruiz, R. A. (2010). Impact of natural genetic variation on the transcriptome of autotetraploid *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(41), 17809–17814. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000852107>
- Zielinski, M. L., & Mittelsten Scheid, O. (2012). Meiosis in polyploid plants. In *Polyploidy and Genome Evolution*, 9783642314421, 33–55. https://doi.org/10.1007/978-3-642-31442-1_3

9. Životopis

Rođena sam u Zagrebu 20. prosinca 2001. Osnovnoškolsko obrazovanje završavam u OŠ Ante Kovačića, a srednjoškolsko obrazovanje u X. gimnaziji Ivan Supek u Zagrebu. Nakon srednjoškolskog obrazovanja upisujem preddiplomski studij Molekularna biologija na Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. U budućnosti bih se htjela usmjeriti na područja koja uključuju genetiku i evoluciju biljaka.