

"La ploidia nelle piante ornamentali"



The poster features the Confagricoltura Liguria logo (a green square with a white 'a' and a yellow wheat stalk) in the top left. The text 'incontri informativi' is centered in green. Below it, a small text block reads 'Progetto realizzato con il contributo del Programma di sviluppo rurale 2014-2020 Fondo europeo agricolo per lo sviluppo rurale: l'Europa investe nelle zone rurali' with logos for the European Union, Liguria, and the Italian Government, along with a QR code. To the right, the text 'PROGETTO DIMOSTRATIVO "BREEDNET" seminario finale' is displayed. Below this, the date and location are given: 'Martedì 25 febbraio 2025 - ore 10,00 CREA OF - Corso degli Inglesi, 508 - Sanremo (IM)'. At the bottom, the 'breednet' logo is written in a green script font over a green bar, with a cluster of purple flowers to its right. Social media icons for Facebook, Twitter, Instagram, and YouTube are in the bottom right corner.

Marina Laura e Laura De Benedetti

Scopo: migliorare la qualità ed aumentare la quantità delle produzioni, riduzione degli input colturali

Strumenti: costituzione di nuove varietà attraverso metodi che tengano in considerazione i sistemi riproduttivi ed i metodi di propagazione (moltiplicazione vegetativa) delle specie in studio

Uniformità del prodotto

Resistenza alle malattie e a stress abiotici (temperatura, salinità, idrico)

Aumento della gamma dei colori

Riduzione dei costi di produzione

Riduzione dell'impatto della produzione sugli ecosistemi

Fiore reciso:

Epoca di fioritura

Steli robusti

Fiori grandi

Pianta da vaso e da giardino:

Habitus compatto

Fogliame abbondante

Fioritura concentrata ed abbondante

Strategie riproduzione differenziate (autogame, allogame, a riproduzione vegetativa facoltativa o obbligata)

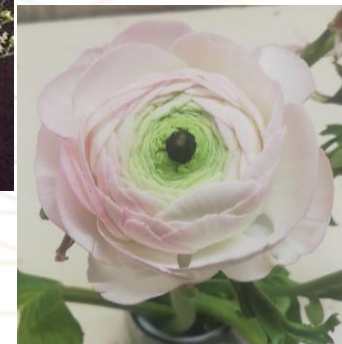
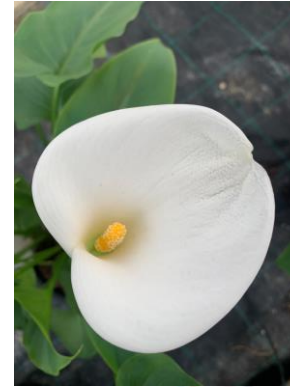
Possono manifestare eterosi, poliploidia, autoincompatibilità, sterilità

Riproduzione vegetativa ai fini produttivi per la maggior parte delle specie

Bene voluttuario e come tali si comportano nel confronto della domanda/offerta.

Il consumatore esige un prodotto perfetto, chiede nuovi prodotti e cambia rapidamente il gusto.

Reciso	Fronde	Vaso
Ranuncolo	Mimosa	Piante fiorite
Anemone	Ginestra	Piante aromatiche
Girasole	Aralia	(elicriso, lavanda, salvie)
Calla	Ruscus	Piante grasse
Calendula	Pittosporo	
Margherita	Viburno	
Crisantemo	Eucaliptus	
Papavero	Peperetta	
Rosa		
Strelitzia		
Ortensia		
Statrice		
Elicriso		



Incrocio intervarietale ed interspecifico

Poliploidia

Mutagenesi

Androgenesi e ginogenesi

Fusione di protoplasti

Induzione di variabilità somaclonale

Selezione assistita da marcatori molecolari e funzionali

Genome editing



Utilizzato per le specie fertili

Gli ibridi selezionati sono usualmente moltiplicati agamicamente

Rilevanti sono quindi in floricoltura le tecniche di propagazione *in vivo* (talea, margotta, propaggine) e di propagazione *in vitro* (propagazione vegetativa in ambiente sterile, con opportuni substrati) anche ai fini del risanamento e del mantenimento di materiali di propagazione esenti da patogeni



Utilizzato in molte specie (*Rosa, Narcissus, Iris, Crocus, Chrysanthemum, Alstroemeria, Lilium*)

Il successo degli incroci interspecifici dipende sia da fattori genetici sia da fattori ambientali

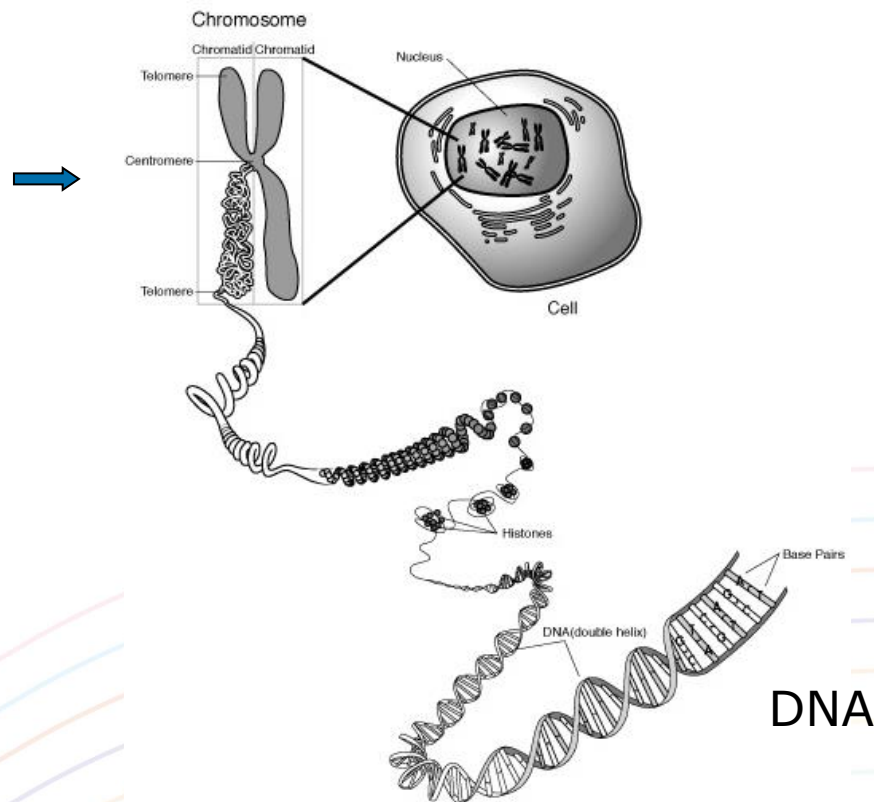
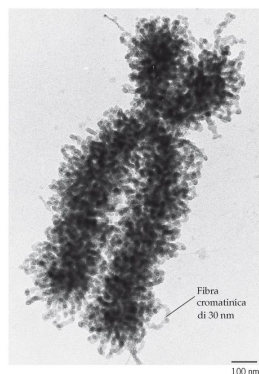
Messe a punto numerose tecniche per superare le barriere di incompatibilità

(Coltura di: - Ovari (*Lilium, Nerine, Tulipa*); - Ovuli (*Alstroemeria, Nerine, Tulipa*);
- Embrioni (*Allium, Alstroemeria, Fresa, Hippeastrum, Lilium, Tulipa, Zantedeschia*))



Ploidia

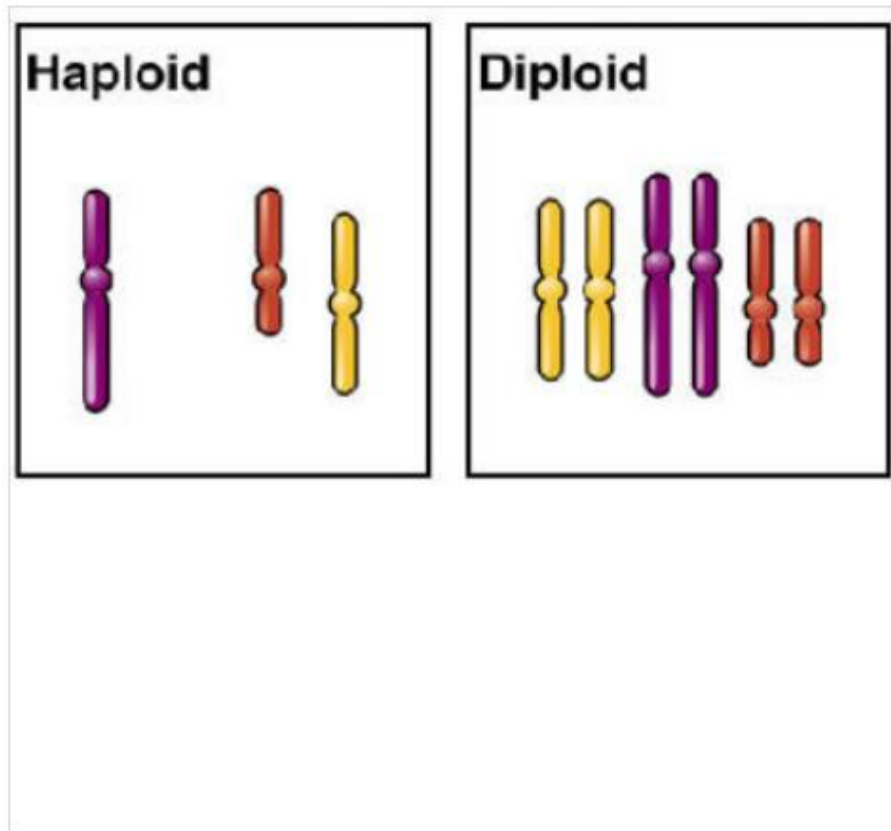
La ploidia si riferisce al numero di set completi di cromosomi presenti in una cellula.



Negli organismi diploidi ci sono due set di cromosomi (uno da ciascun genitore). Gli organismi poliploidi, invece, hanno più di due set di cromosomi.

Mitosi: divisione cellulare che mantiene inalterato il numero di cromosomi nelle cellule figlie

Meiosi: nelle cellule della linea germinale che producono i gameti maschili e femminili, riduzione dei cromosomi (quantità di DNA)

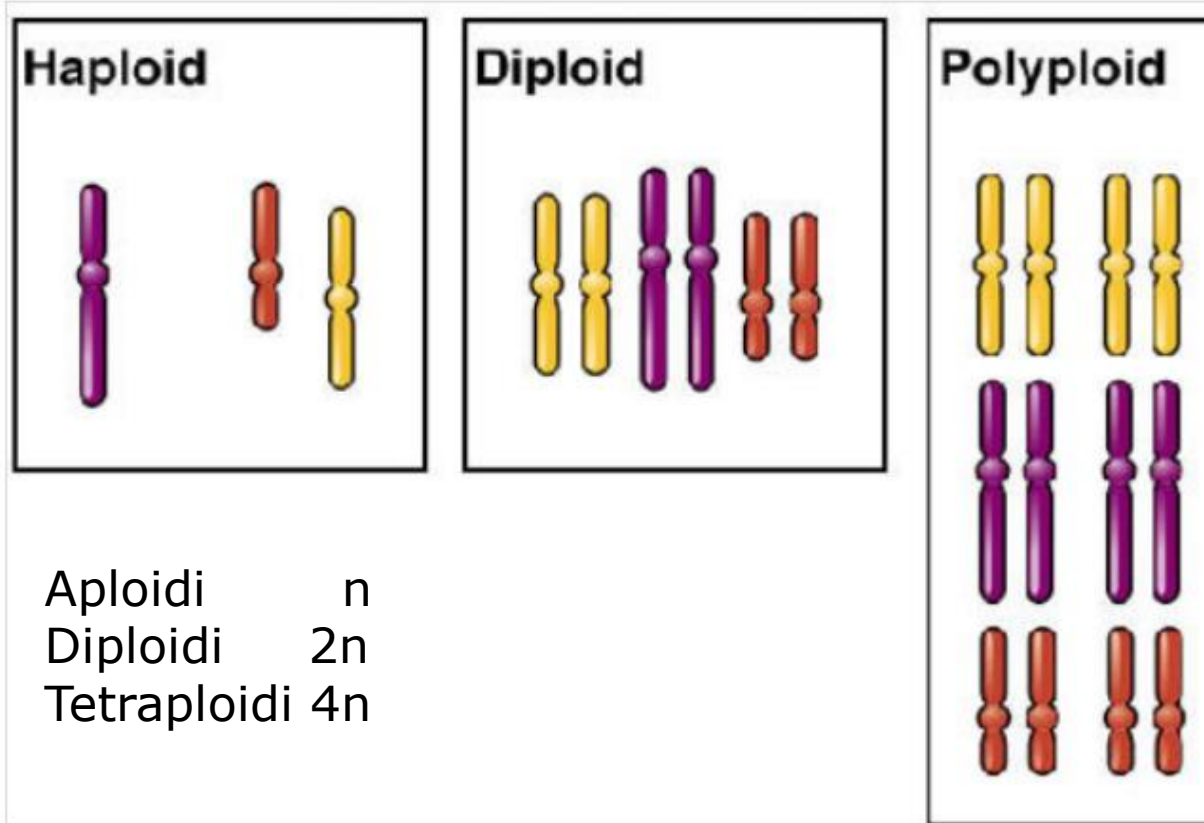


► TABELLA 5.1

Numero cromosomico in differenti organismi

Organismo	Numero cromosomico aploide
Eucarioti semplici	
Lievito di birra (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	16
Muffa del pane (<i>Neurospora crassa</i>)	7
Alga verde unicellulare (<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>)	17
Piante	
Mais (<i>Zea mays</i>)	10
Grano (<i>Triticum aestivum</i>)	21
Pomodoro (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	12
Fava (<i>Vicia faba</i>)	6
Sequoia gigante (<i>Sequoia sempervirens</i>)	11
Crucifera (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	5
Animali invertebrati	
Moscerino della frutta (<i>Drosophila melanogaster</i>)	4
Zanzara (<i>Anopheles culicifacies</i>)	3
Stella di mare (<i>Asterias forbesi</i>)	18
Nematode (<i>Caenorhabditis elegans</i>)	6
Mitilo (<i>Mytilus edulis</i>)	14
Animali vertebrati	
Uomo (<i>Homo sapiens</i>)	23
Scimpanzé (<i>Pan troglodytes</i>)	24
Gatto (<i>Felis domesticus</i>)	36
Topo (<i>Mus musculus</i>)	20
Pollo (<i>Gallus domesticus</i>)	39
Rospo (<i>Xenopus laevis</i>)	17
Pesce (<i>Esox lucius</i>)	25

Ploidia



La poliploidia nelle piante può verificarsi attraverso diversi meccanismi, principalmente legati a errori durante la divisione cellulare:

Non-disgiunzione durante la meiosi: Questo è uno dei meccanismi più comuni.

Durante la meiosi, i cromosomi omologhi non si separano correttamente, portando alla formazione di gameti con un numero doppio di cromosomi. Quando questi gameti si uniscono durante la fecondazione, si forma uno zigote poliploide.

Ibridazione tra specie diverse: L'ibridazione tra due specie diverse può portare alla formazione di un ibrido poliploide. Questo processo è noto come allopoliploidia. Gli ibridi risultanti possono avere un numero di cromosomi superiore rispetto ai genitori.

Induzione artificiale: Si può indurre la poliploidia artificialmente utilizzando sostanze chimiche come la colchicina, che interferisce con la formazione del fuso mitotico durante la divisione cellulare, impedendo la separazione dei cromosomi.

Miglioramento delle caratteristiche morfologiche e fisiologiche:

Le piante poliploidi spesso mostrano caratteristiche migliorate rispetto ai loro omologhi diploidi, come foglie più grandi, fiori più vistosi e frutti più grandi. Ad esempio, molte colture importanti come il frumento, il cotone e la fragola sono poliploidi

Importante fattore nell'evoluzione delle piante terrestri

Aumento della variabilità genetica: La poliploidia può introdurre nuove varianti genetiche che possono essere selezionate per ottenere tratti desiderabili come resistenza alle malattie, tolleranza agli stress ambientali e miglioramento della qualità dei frutti migliore adattamento a diversi ambienti e condizioni climatiche.

Aumento della produzione di metaboliti secondari: Alcuni studi hanno dimostrato che la poliploidia può aumentare la produzione di metaboliti secondari come gli oli essenziali e gli alcaloidi, che possono avere applicazioni medicinali e industriali

Sterilità: In alcuni casi, la poliploidia può portare alla sterilità (i cromosomi non si appaiono correttamente alla meiosi), che può essere vantaggiosa nel caso dei frutti senza seme e per le piante ornamentali poiché prolunga il periodo di fioritura.

Ripristino della fertilità degli ibridi interspecifici

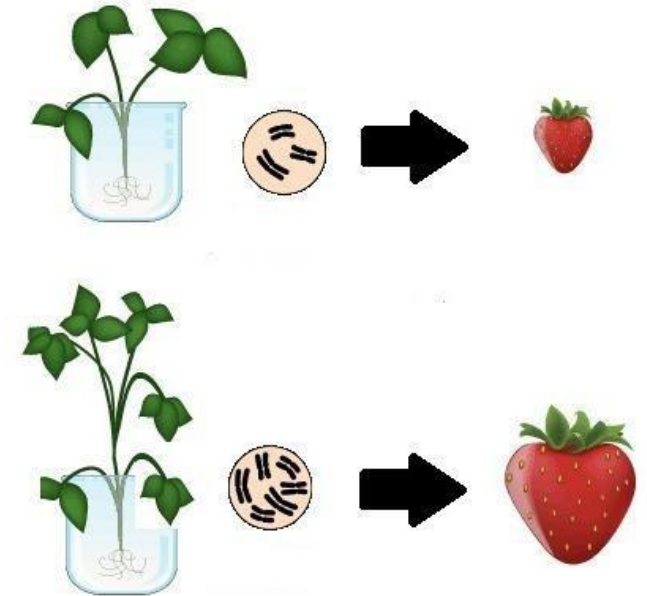
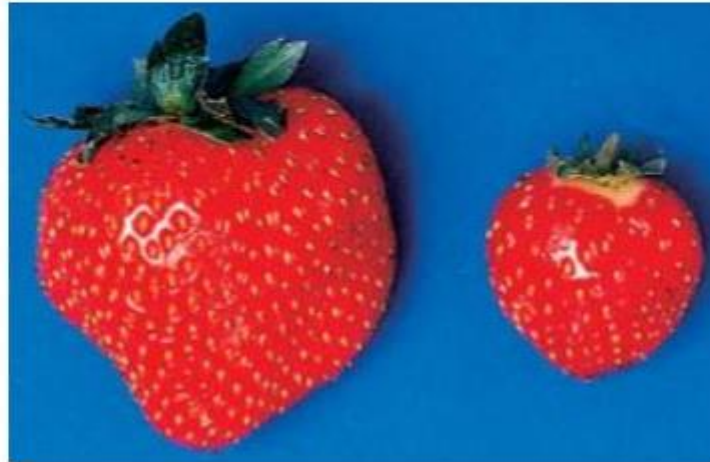
AUTOPOLIPLIIDI

Portano più genomi della stessa specie, la maggior parte dei poliploidi sperimentali sono autoploiploidi, in genere sono ottenuti per raddoppiamento del numero cromosomico somatico.

Molte specie coltivate sono autoploiploidi:

erba medica, patata, caffè autotetraploidi naturali,

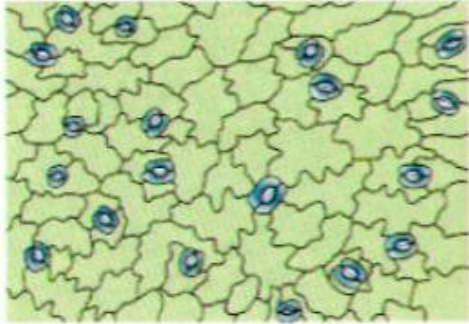
La fragola attualmente coltivata (*Fragaria x ananassa*) è un ibrido ottoploide originato da un incrocio interspecifico avvenuto, casualmente ormai tre secoli fa.



Tutte le varietà oggi coltivate nel mondo appartengono a questa specie, anche se, pur in piccole quantità, significative sono le coltivazioni di *F. vesca* (fragolina di bosco, diploide) e *F. moschata* (Profumata di Tortona, esaploide) e *F. chiloensis* (a frutto bianco, ottoploide).

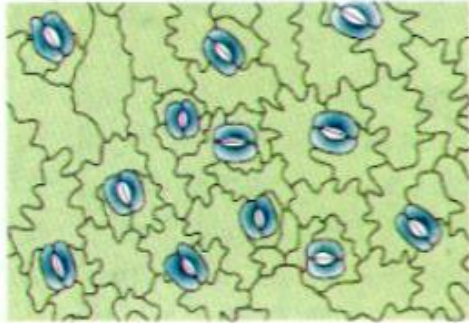
Esempi

2n



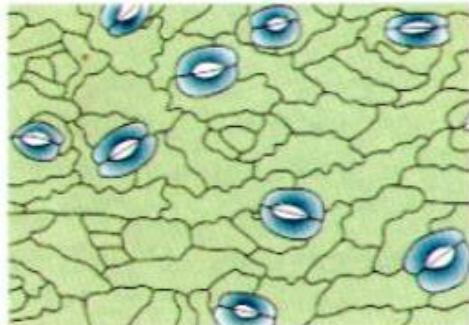
(a)

4n



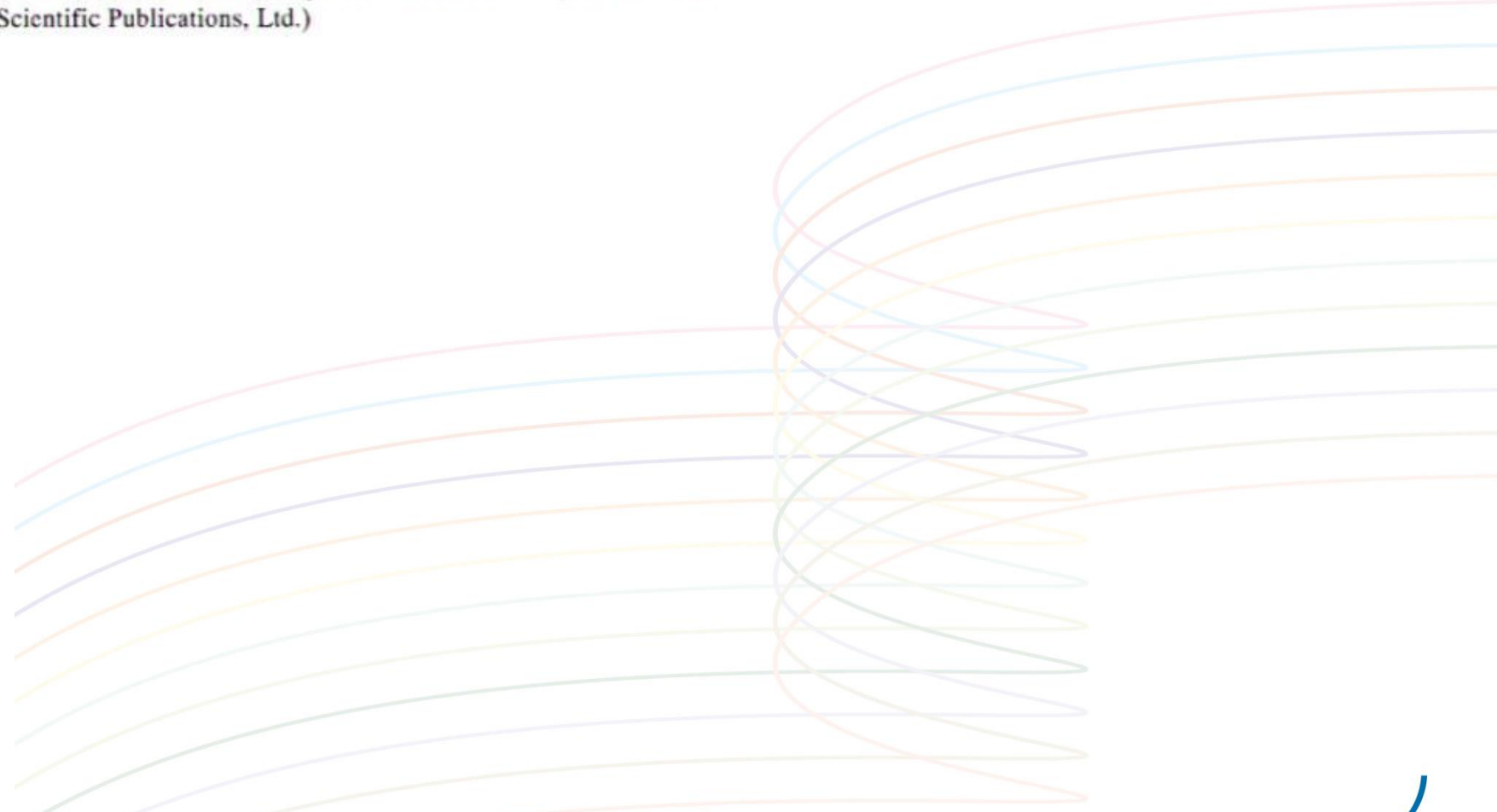
(b)

8n



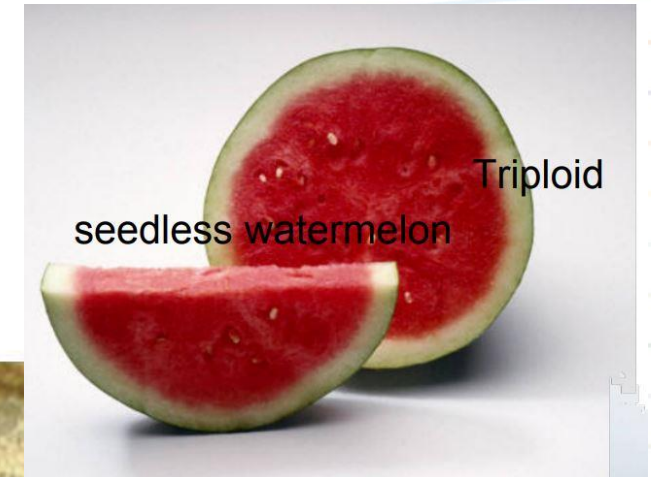
(c)

Epidermal leaf cells of tobacco plants, showing an increase in cell size, particularly evident in stoma size, with an increase in autopolyploidy. (a) Diploid, (b) tetraploid, (c) octoploid. (From W. Williams, *Genetic Principles and Plant Breeding*. Blackwell Scientific Publications, Ltd.)



La fusione di un gamete diploide con un gamete aploide produce un organismo triploide

Alcuni esempi comprendono frutti senza semi come banana ($3n=33$), uva, anguria



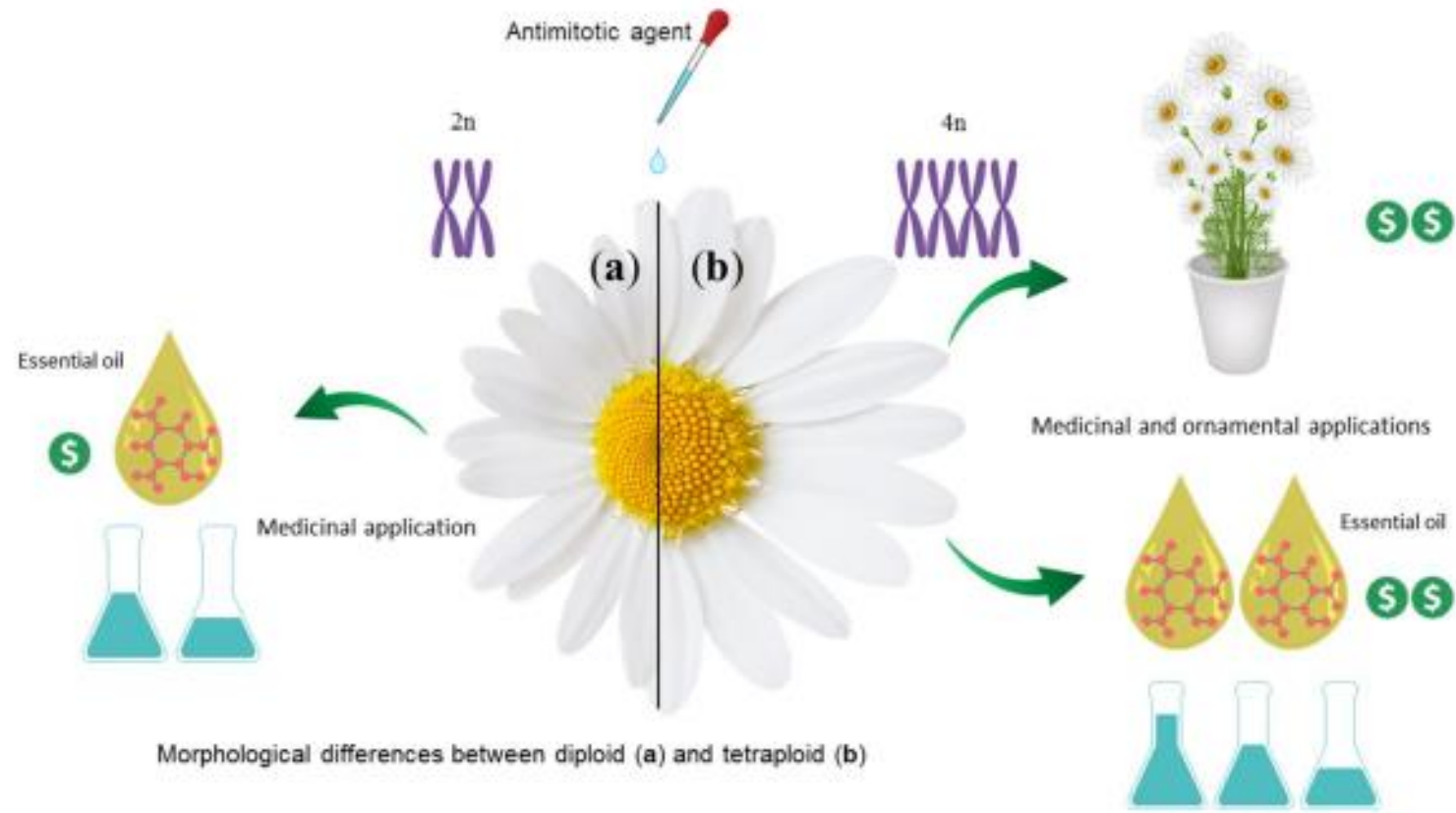


Fig. 1 The dual-purpose artificial polyploidy induction in medicinal/ornamental plants. Morphological differences in diploid (a) and tetraploid (b) plants

Niazian, M., Nalouisi, A.M. Artificial polyploidy induction for improvement of ornamental and medicinal plants. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 142, 447–469 (2020). <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01888-1>

Tulipani (*Tulipa* spp.): Cultivar triploidi e tetraploidi con fiori più grandi, steli robusti e resistenza al trasporto come fiori recisi

Gigli (*Lilium* spp.): Molte varietà di lillium sono poliploidi, con fiori più grandi, steli più robusti e ripristino fertilità degli.

Crisantemi (*Chrysanthemum* spp.): *Chrysanthemum carinatum* mostra steli robusti, foglie spesse e più grandi, fiori più grandi.

Narcisi: da cultivar diploidi a triploidi e tetraploidi , fiori piu' grandi

Anemoni (*anemone coronaria*): tetraploidi con steli piu robusti

Rose (*Rosa* spp.): Alcune varietà di rose sono poliploidi, il che può influenzare la dimensione e la robustezza dei fiori.



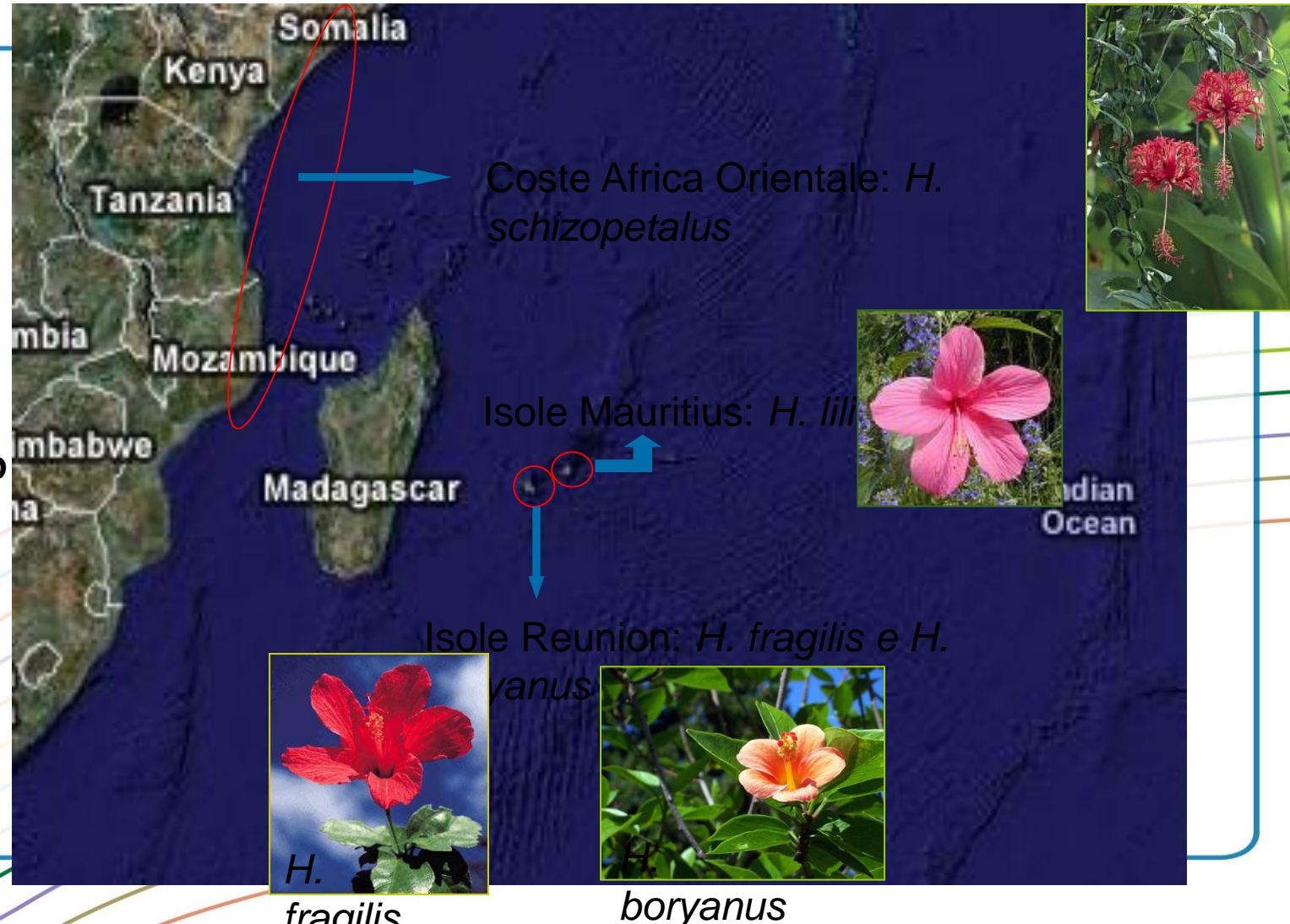
Figure 2: Phenotypes of control and polyploidy plants: A. Control flower B. Polyploidy flower C. Control seeds and D. Polyploidy seeds of *Chrysanthemum carinatum* (L).

Hibiscus x rosa sinensis

Studi condotti sull'evoluzione di *Hibiscus rosa xsinensis* (Singh e Khoshoo, 1989) ipotizzano che questa specie sia in realtà un complesso insieme di genotipi derivanti dall'ibridazione di due principali gruppi di specie.

Primo Gruppo

Isole a sud dell'Oceano Indiano e delle coste orientali dell'Africa





Secondo Gruppo

Isole dell'Oceano Pacifico

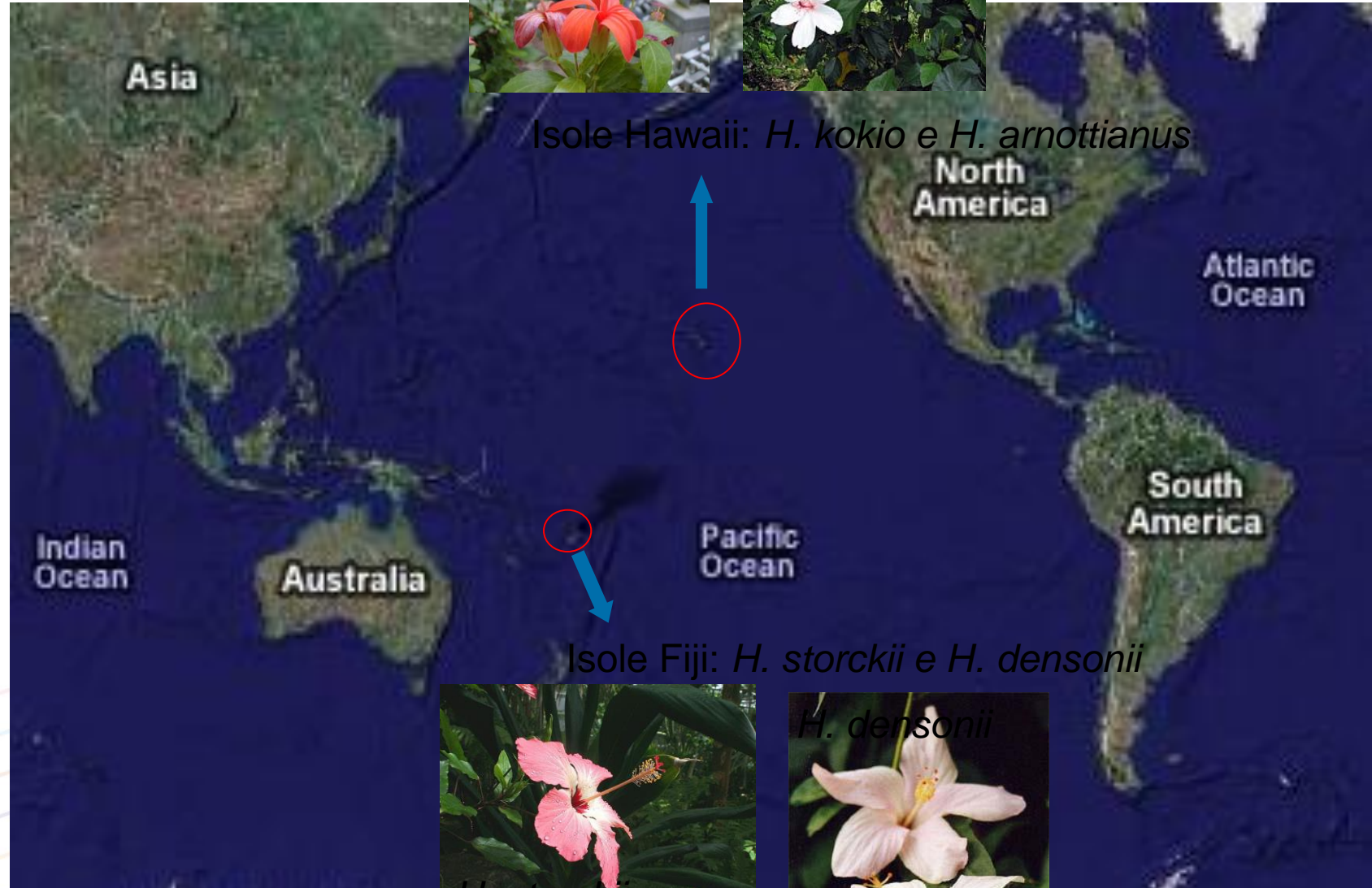
e l'analisi dell'economia agraria



H. kokio



H. arnottianus



Isole Hawaii: *H. kokio* e *H. arnottianus*

Isole Fiji: *H. storckii* e *H. densonii*



H. storckii



H. densonii

Metodi di poliploidizzazione

per creare piante con caratteristiche desiderabili per la produzione commerciale

Agenti poliploidizzanti: colchicina, orizalina
inibizione della formazione del fuso mitotico durante la divisione cellulare,
portando alla formazione di nuclei tetraploidi (4n).

Applicazioni ai semi in germinazione, localizzata in prossimità dei punti di emissione di germogli, ***in vitro***

Helicrysum: Famiglia Asteraceae, 562 specie distribuite in Africa, Europa, Asia, Australia, Piante annuali, biennali, perenni Arbustive o sub-arbustive



Collezione di elicrisi:
ref. Andrea Copetta



Azione 3-d Breednet: poliploidizzazione per l'ottenimento di individui con corredo cromosomico aumentato

Coltura *in vitro* di 3 varietà commerciali di elicriso (ibridi interspecifici)

- 001/15
- 202/19
- 004/16



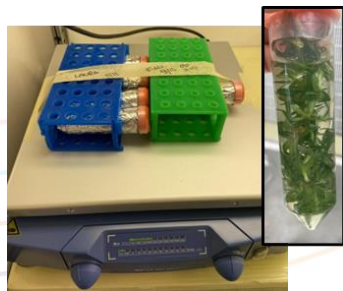
Messa in vitro di 3 varietà commerciali di elicriso (ibridi interspecifici)

Sterilizzazione con ipoclorito di sodio e Tween 20



Terreno MS (Murashige and Skoog) + kinetina 1 mg/L e IAA 0,3 mg/L

Trattamento con orizalina: terreno MS liquido con concentrazioni diverse di orizalina



24 h



Trasferimento in MS + BAP

In camera di crescita con fotoperiodo 16/8h a 20°C

Trasferimento in vivo delle piante trattate



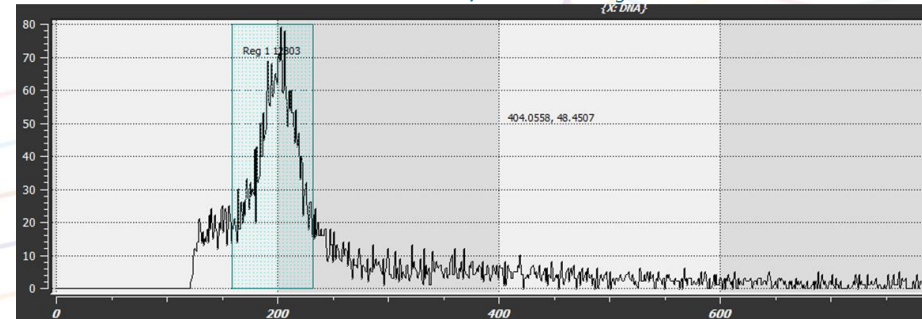
001/15 : n.37 piante dai trattamenti
A =n.8, B =n.23, C =n.6) + controlli

202/19: n.3 piante trattate: A=n.2, C=n.1)

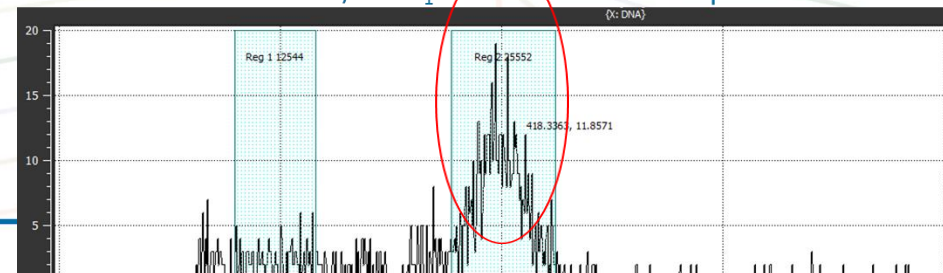
004/16: n.8 trattate: B=n. 5, C=n. 3 + controlli

Valutazione delle piante trattate

Analisi al citofluorimetro



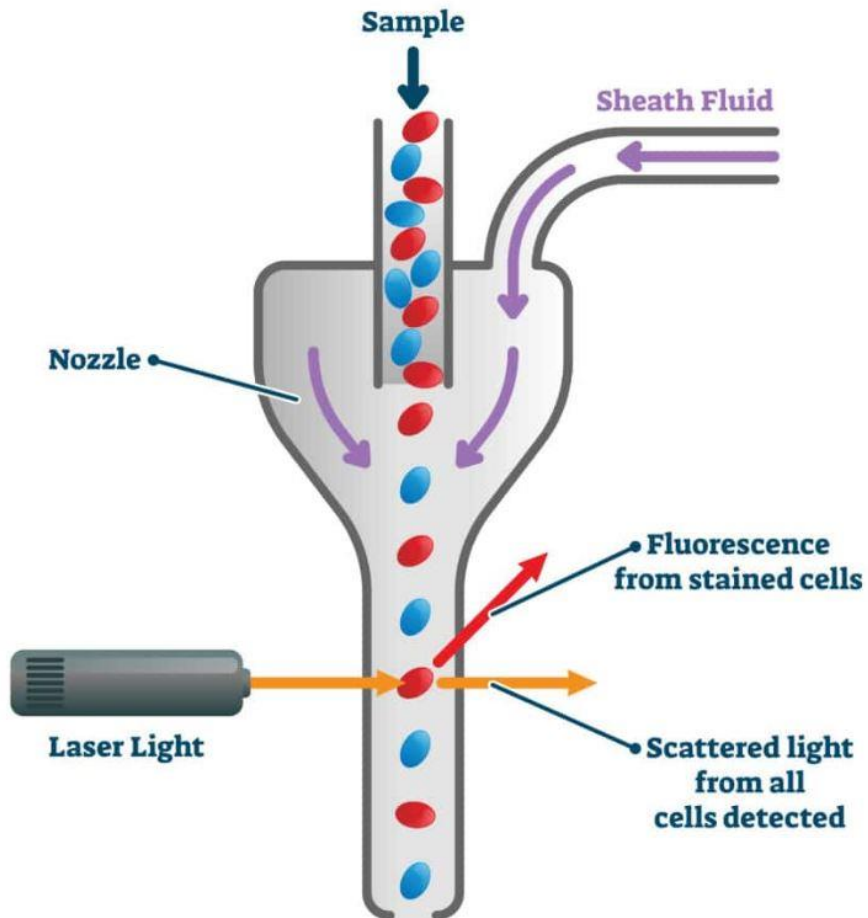
001/15 C₁: trattamento 100 μM



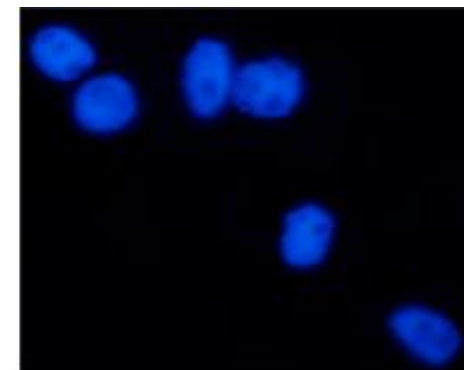


Citometria a flusso

La citometria a flusso è una tecnica che consente di analizzare alcune proprietà ottiche di singole cellule/particelle in sospensione. Se queste cellule sono marcate con marcatori fluorescenti, si parla di citofluorimetria.



Le molecole fluorescenti legate al DNA delle cellule vengono colpite dal raggio di luce emesso dal laser, si generano dei segnali che vengono raccolti da un sistema di lenti, specchi e filtri ottici, e inviati ai rispettivi sensori (fotodiodi e fotomoltiplicatori) che ne misurano l'intensità. I segnali elettrici provenienti da ogni sensore, opportunamente amplificati e digitalizzati, sono inviati ad un analizzatore di dati che provvede alla loro visualizzazione su monitor, rappresentazione grafica, e definizione statistica.

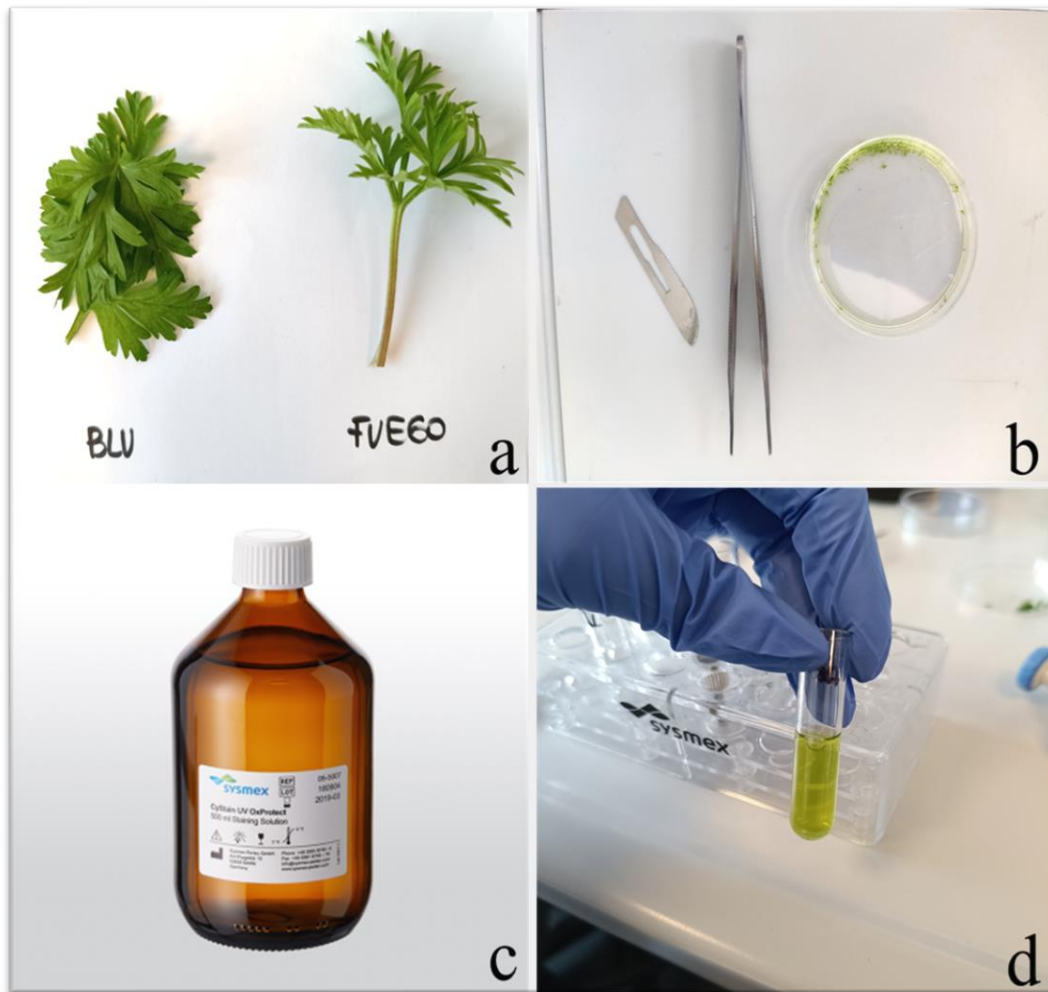


Nuclei di grano colorati con DAPI e...



Citofluorimetria

– Materiali e Metodi:

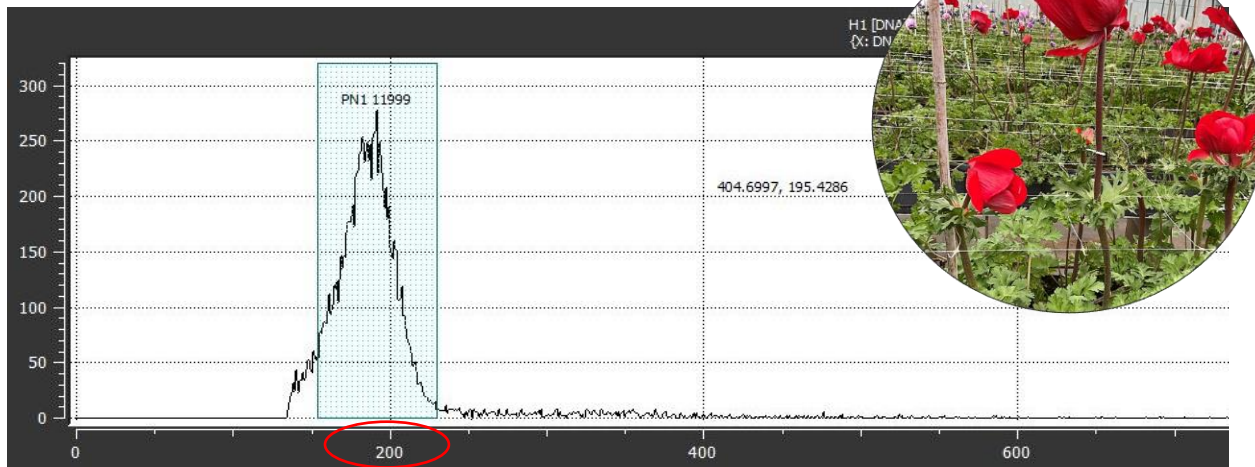


Schema riassuntivo del protocollo Sysmex Europe© di preparazione del campione: *a.* esempio di foglie di var. di anemone, *b.* sminuzzamento dei tessuti fogliari in piastra Petri, *c.* Nuclei extraction/Staining buffer- Kit OX Protect , *d.* estratto in cuvetta.

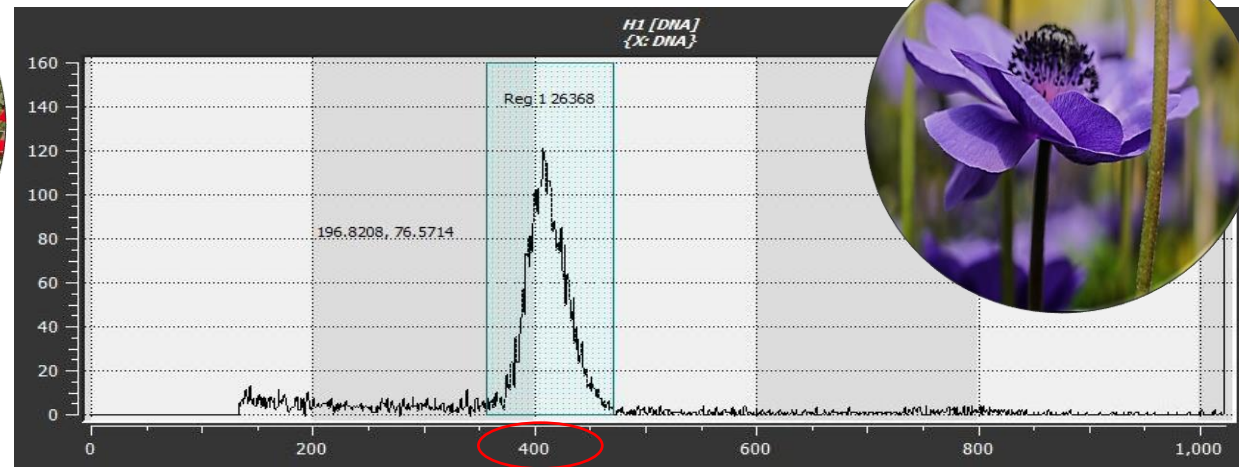


Controlli commerciali per *Anemone coronaria*

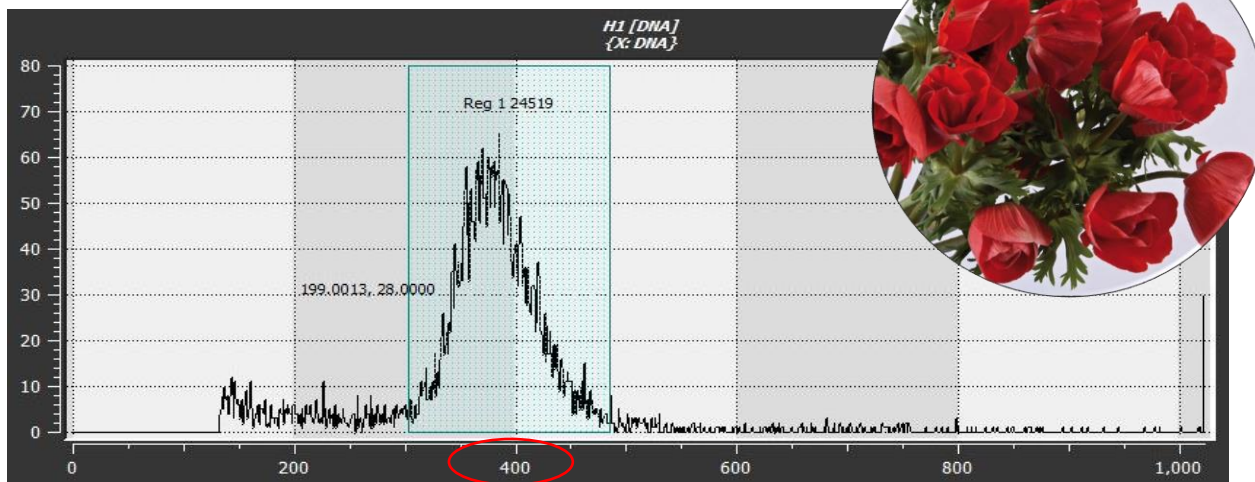
Controllo 1: *A. coronaria* var. rosso (2n)



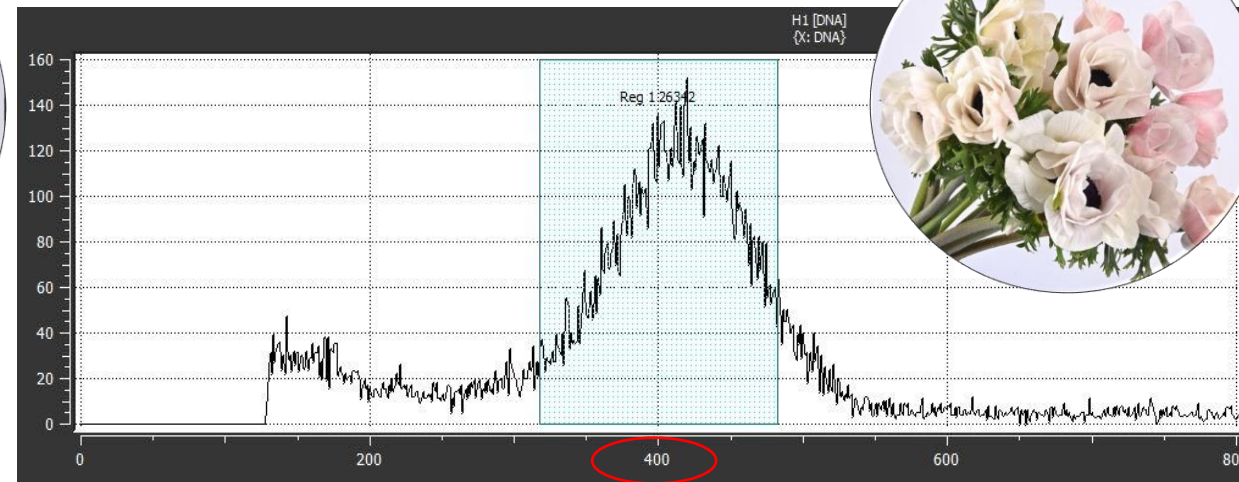
Controllo 2: *A. coronaria* var. blu (4n)

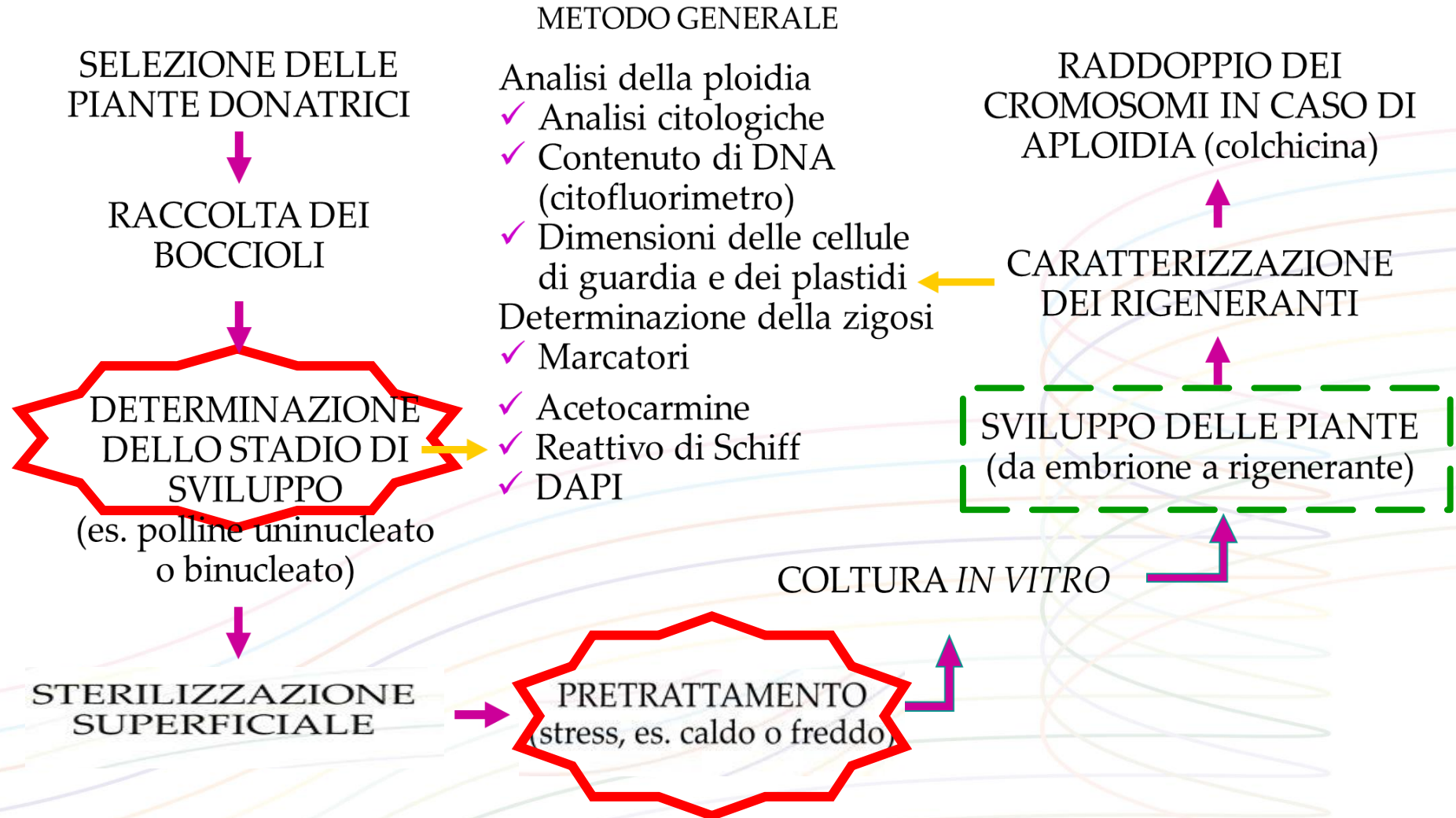


Controllo 3: *A. coronaria* var. fuego (4n)



Controllo 4: *A. coronaria* var. BCN (4n)

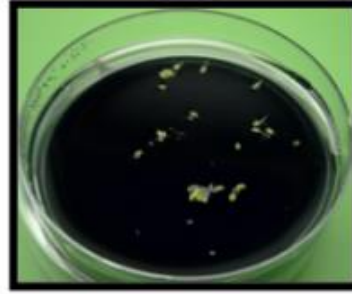






Coltura di antere di *A. coronaria*

MATERIALI & METODI: Coltura di antere



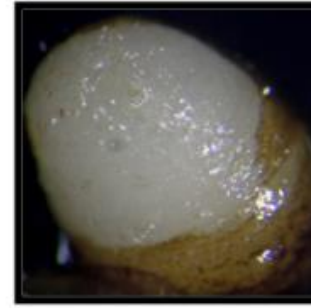
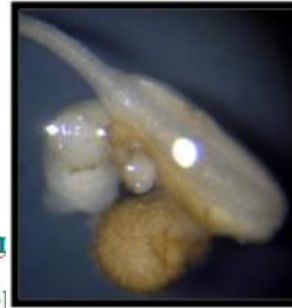
1 bocciolo (polline allo stadio mononucleato)

8 piastre Petri di 5 cm di diametro (15-35 antere/capsula)

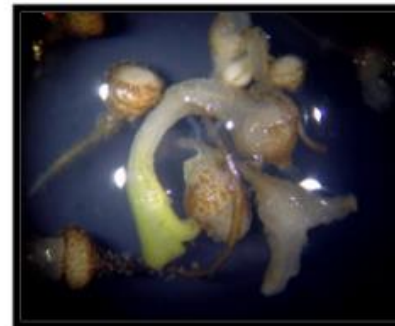
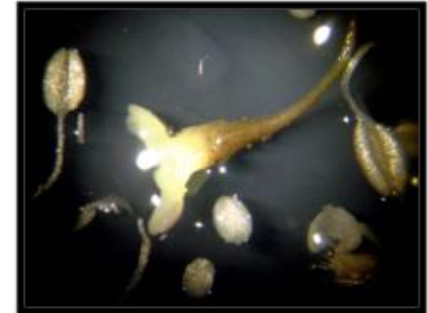
Terreno H (Nitsch & Nitsch, 1969)

Terreno (Nitsch)

RISULTATI: Coltura di antere



Embrioidi



Plantule

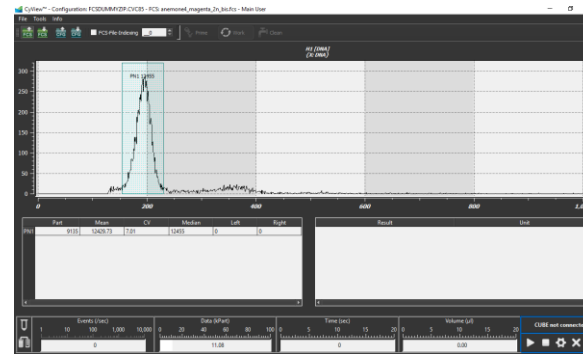


- Tramite l'utilizzo del citofluorimetro è stato possibile analizzare la ploidia di alcuni campioni di anemone a confronto con campioni a ploidia nota.

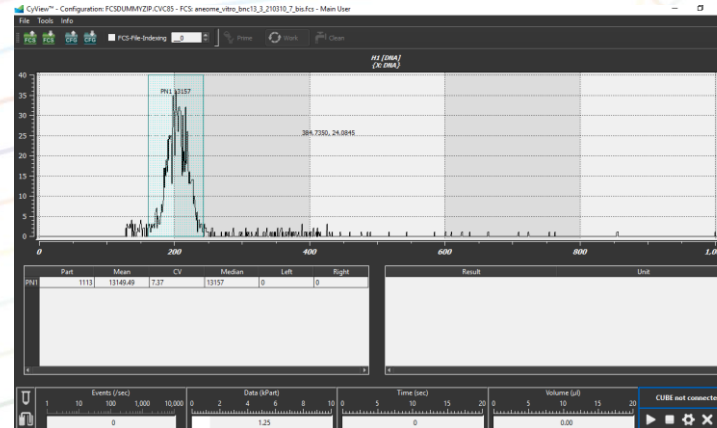
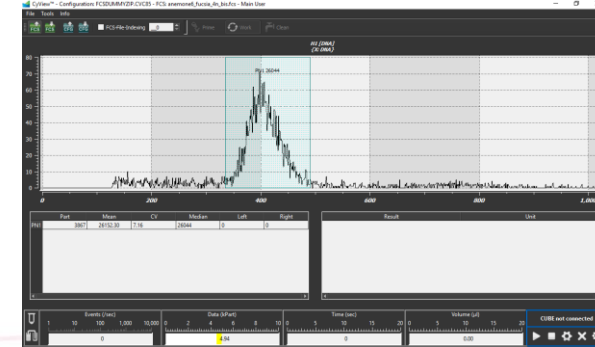
Analisi al citofluorimetro



Controllo diploide 2n



Controllo tetraploide 4n



Pianta androgenica diploide 2n derivante da BCN 13-3 210310-7

**GRAZIE PER
L'ATTENZIONE**