

Gameti non ridotti: citologia e uso nel miglioramento genetico vegetale

INTRODUZIONE

Nel mondo vegetale si riscontra spesso una situazione genomica molto particolare, la poliploida. Con essa si indica la presenza di un numero multiplo di copie, superiore a due, del corredo cromosomico somatico di un individuo. Secondo alcune stime è poliploide il 70% delle Angiosperme e il 95% delle Pteridofite. Anche alcune specie tradizionalmente considerate diploidi, come *Arabidopsis thaliana* (*Arabidopsis* Genome Initiative, 2000; Vision et al., 2000) e riso (*Oryza sativa* e *Oryza japonica*, Goff et al., 2002) si sono rivelate, in seguito al sequenziamento dell'intero genoma, paleopoliploidi che hanno subito una diploidizzazione nel corso dell'evoluzione. C'è da rimarcare, infine, che il 50% circa delle specie vegetali di interesse agrario è poliploide. In tabella 1 sono riportate alcune delle specie di interesse agronomico ed economico con corredo cromosomico poliploide.

Nelle piante possono distinguersi due diversi tipi di poliploidi: gli auto- e gli allopoliploidi. I primi sono poliploidi originatisi attraverso il raddoppiamento di uno stesso genoma o dalla combinazione di genomi geneticamente molto simili. Di conseguenza, tra i cromosomi esiste un'omologia quasi perfetta. Gli autopoliploidi possono quindi formare multivalenti in meiosi e sono caratterizzati da eredità polisomica (con possibile segregazione cromatidica). Gli allopoliploidi, invece, hanno origine dalla combinazione di genomi distinti a seguito di ibridazione interspecifica e successivo raddoppiamento del numero cromosomico, che consente di superare la sterilità degli ibridi. Per

* Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta, dell'Ambiente e delle Produzioni Animali, Università di Napoli

Cereali	<i>Triticum aestivum</i> (6x= 42); <i>T. durum</i> (4x= 28); <i>Avena sativa</i> (6x=42); <i>A. nuda</i> (6x=42)
Foraggiere	<i>Dactylis glomerata</i> (4x=28); <i>Festuca arundinacea</i> (4x=28); <i>Agropyrum repens</i> (4x=28); <i>Paspalum dilatatum</i> (4x=40)
Leguminose	<i>Medicago sativa</i> (4x=32); <i>Lupinus alba</i> (4x=40); <i>Trifolium repens</i> (4x=32); <i>Arachis hypogaea</i> (4x=40); <i>Lotus corniculatus</i> (4x=32)
Industriali	<i>Nicotiana tabacum</i> (4x=48) <i>Coffea spp.</i> (4x=44 fino a 8x); <i>Brassica napus</i> (4x=38); <i>Saccharum officinalis</i> (8x=80); <i>Gossypium hirsutum</i> (4x=52)
Piante da tubero	<i>Solanum tuberosum</i> (4x=48); <i>Ipomoea batatas</i> (6x=96); <i>Dioscorea sativa</i> (6x=60)
Arboree	<i>Prunus domestica</i> (6x=48); <i>Musa</i> (3x=33; 4x=44); <i>Citrus aurantiifolia</i> (3x=27); <i>Actinidia deliciosa</i> (4x=116); <i>Prunus cerasus</i> (4x=32)

Tab. 1 *Esempi di specie poliploidi di interesse agrario. Per ciascuna specie, in parentesi, è indicato il corredo cromosomico somatico*

ogni cromosoma, infatti, c'è un omologo e in meiosi si formano bivalenti con molta regolarità. La formazione dei bivalenti è dovuta al fatto che l'appaiamento avviene esclusivamente tra cromosomi omologhi: in questo caso si ha una normale eredità disomica. L'alloploidia è probabilmente la forma di poliploidia più diffusa in natura; si riscontra tipicamente nei frumenti coltivati e in varie specie del genere *Brassica* e *Gossypium*. I frumenti coltivati, appartenenti al genere *Triticum*, si sono evoluti da forme poliploidi originatesi in natura per mezzo di ibridazioni interspecifiche seguite da raddoppiamenti cromosomici. Le specie tetraploidi (*Triticum durum*, $2n=4x=28$) hanno avuto origine dalla combinazione di due specie diploidi, mentre quelle esaploidi (*Triticum aestivum*, $2n=6x=42$) hanno coinvolto l'incorporamento di un altro genoma diploide in quello delle forme tetraploidi.

I poliploidi possono evidenziare caratteristiche morfologiche, biochimiche, ecologiche e citologiche che non sono rinvenibili nei loro progenitori diploidi. Alcuni di questi caratteri, come ad esempio l'aumentata tolleranza alla siccità e la resistenza ai patogeni, la tendenza alla propagazione vegetativa, l'aumento della capacità fotosintetica e la maggiore dimensione degli organi vegetativi e riproduttivi, possono consentire ai poliploidi di colonizzare nuove nicchie ecologiche (Leitch e Leitch, 2008). I cambiamenti fenotipici indotti dalla poliploidizzazione, se presenti e di interesse, possono essere utili anche per il lavoro di miglioramento genetico. Il raddoppiamento cromosomico, inoltre, è utile anche perché consente di superare l'autoincompatibilità e di produrre varietà triploidi sterili (apirene). I meccanismi mediante i quali la poliploidia contribuisce alla manifestazione di nuova variabilità non sono stati ancora chiariti, ma si ritiene che i geni duplicati abbiano attenuato l'azione degli elementi di controllo e possano

perciò divergere tra loro in termini funzionali, creando così nuovi fenotipi. Questo meccanismo, tipico dei genomi poliploidi, è noto come “neofunzionalizzazione”.

I poliploidi possono essere indotti attraverso due meccanismi. Il primo è ascrivibile alla poliploidizzazione somatica causata da anomalie mitotiche che inibiscono la formazione del fuso: i due cromatidi di ciascun cromosoma sono incapaci di movimento e si forma un nucleo di restituzione avente un numero cromosomico doppio rispetto a quello atteso. Il processo può essere indotto artificialmente impiegando alcaloidi come la colchicina o erbicidi come l'orizalina (Dhooghe et al., 2011). Il secondo meccanismo è quello della poliploidizzazione sessuale, che è basato sulla formazione di gameti con corredo cromosomico non ridotto (definiti anche gameti $2n$ o gameti non ridotti). In questo caso mutazioni meiotiche alterano il normale percorso della sporogenesi e i gameti prodotti hanno un corredo cromosomico somatico. Proprio i gameti $2n$, riportati in quasi tutte le Angiosperme (Harlan e De Wet, 1975), appaiono i principali responsabili dei processi che portano alla formazione di poliploidi (Otto e Whitton, 2000; Carputo et al., 2003). I gameti $2n$ si rivelano molto importanti anche nel miglioramento genetico, in quanto combinano la possibilità di aumentare il corredo cromosomico con la ricombinazione meiotica. Essi, inoltre, consentono di trasferire diversità allelica e geni utili da specie selvatiche a varietà coltivate, di massimizzare l'eterosi e di superare barriere di incompatibilità interspecifica. In questo lavoro sono descritti i principali meccanismi meiotici (mutazioni) che portano alla formazione dei gameti $2n$ ed è discussa la loro utilizzazione nel miglioramento genetico, anche alla luce delle nuove acquisizioni nel campo della genomica funzionale e strutturale.

LA FORMAZIONE DEI GAMETI $2N$:

MUTAZIONI MEIOTICHE E MECCANISMI GENETICI

Le anomalie meiotiche più frequenti alla base della formazione di gameti $2n$ sono quelle che alterano l'appaiamento dei cromosomi omologhi, la corretta formazione dei fusi e la citocinesi o che causano l'omissione di una delle due divisioni meiotiche. È stato anche ipotizzato un meccanismo di restituzione post-meiotica avente come risultato la formazione di gameti $2n$ completamente omozigoti. Una delle mutazioni più diffuse è quella che determina un orientamento anomalo dei fusi in metafase II della meiosi (fusi paralleli, uniti e tripolari, tutte varianti della stessa mutazione genica). In presenza di questa muta-

zione, invece di una normale tetraide di quattro spore n , alla fine della meiosi si forma una diade con due microspore $2n$. Nel caso di fusi tripolari si forma una triade costituita da due spore n e una spora $2n$. La formazione di fusi paralleli è la mutazione più comune per la produzione di polline $2n$ in numerose specie, tra cui erba medica, patata, rosa, trifoglio, patata dolce, cassava. A livello di megasporogenesi, invece, tra le mutazioni più diffuse c'è l'omissione della seconda divisione meiotica; essa porta alla formazione di due megaspore $2n$: una di queste degenera, mentre l'altra produce la spora funzionale. Altre varianti meiotiche che causano la produzione di ovocellule $2n$ sono la fusione dei prodotti nucleari originati dalla seconda divisione, anafasi II irregolari, divisioni meiotiche ritardate e irregolarità nella formazione degli assi dei fusi in metafase I.

Le mutazioni meiotiche che portano alla formazione di gameti $2n$ sono generalmente equivalenti, dal punto di vista genetico, ai meccanismi di restituzione del nucleo in prima (first division restitution, FDR) o seconda (second division restitution, SDR) divisione meiotica (Peloquin et al., 2003). La mutazione fusi paralleli, per esempio, è equivalente a un meccanismo FDR, mentre l'omissione della seconda divisione meiotica è equivalente a SDR. Le conseguenze genetiche associate ai diversi meccanismi sono molto importanti. Con meccanismi di tipo FDR, tutti i loci dal centromero al primo crossing over che sono eterozigoti nel parentale sono eterozigoti anche nel gamete $2n$, e il 50% dei loci tra il primo e il secondo crossing over che è eterozigote nel parentale sono eterozigoti anche nel gamete $2n$. Se non avviene il crossing over, allora il genotipo intatto del parentale diploide sarà incorporato in ciascun gamete $2n$. Con meccanismi SDR, invece, la percentuale di eterozigosi trasmessa tramite i gameti $2n$ è notevolmente inferiore. Tutti i loci eterozigoti dal centromero al primo crossing over saranno omozigoti nei gameti $2n$; inoltre, tutti i loci tra il primo e il secondo crossing over eterozigoti nel parentale saranno eterozigoti nei gameti. Con meccanismi FDR i gameti $2n$ che si formano sono simili geneticamente e assomigliano al clone parentale dal quale derivano. Al contrario, i meccanismi SDR producono una popolazione eterogenea di gameti altamente omozigoti. Proprio la trasmissione dell'eterozigosi rappresenta uno dei maggiori vantaggi della poliploidia nel miglioramento genetico, in quanto a una maggiore eterozigosi corrisponde una maggiore eterosi per i caratteri quantitativi.

Numerose ricerche hanno dimostrato che i gameti $2n$ generalmente sono sotto un controllo genetico monogenico e recessivo: nelle specie diploidi di patata, ad esempio, i genotipi *psps* manifestano fusi paralleli in metafase II e quelli *osos* presentano omissione della seconda divisione meiotica. In alcuni casi è stata ipotizzata la necessità di geni minori per l'espressione del fenotipo mutato o un controllo quantitativo del carattere (Ramanna e Jacobsen,

2003). Una caratteristica comune a tutte le mutazioni meiotiche descritte è che esse presentano una penetranza incompleta e una espressività variabile. È stato anche osservato che le condizioni ambientali possono avere un effetto considerevole sulla frequenza di produzione di gameti $2n$, sebbene non sia stato ancora possibile determinare uno specifico fattore ambientale che ne influenzi sempre la frequenza. I risultati ottenuti a Portici alcuni anni fa in ibridi *S. phureja*-*S. tuberosum* di patata hanno evidenziato che solo i cloni con una bassa produzione di polline $2n$ (<5%) mantengono costantemente basso il livello di produzione di polline $2n$ durante l'intero periodo di fioritura (Filotico et al., 1995). Recentemente in ibridi *Brassica napus* x *B. carinata* è stato dimostrato un chiaro effetto delle basse temperature (10°C di giorno e 5°C di notte) sulla percentuale di meiociti con orientamento parallelo dei fusi in metafase II e, quindi, sulla produzione di polline $2n$ (Mason et al., 2011).

I progressi nei settori delle biotecnologie e della genomica hanno consentito di delucidare i meccanismi di formazione dei gameti $2n$ e di fornire utili strumenti ai miglioratori. Alcuni autori hanno cercato di mappare i loci responsabili della produzione di gameti $2n$ e di sviluppare marcatori molecolari per la selezione assistita. In erba medica ad esempio, confrontando il DNA di genotipi produttori e non produttori di ovocellule $2n$, Barcaccia et al. (2000) hanno identificato un marcatore molecolare di tipo ISSR associato al gene *Tne* il quale, in condizione omozigote recessiva, determina la produzione di ovocellule $2n$ e numerosi marcatori di tipo RAPD e AFLP che cosegregano con il carattere. Più recentemente in *Arabidopsis thaliana* è stato isolato e descritto per la prima volta il gene che, a seguito di mutazione recessiva, porta alla formazione di polline $2n$ (d'Erfurth et al., 2008). Il gene, denominato *Arabidopsis thaliana Parallel Spindle1* (*AtPS1*), presenta sette esoni e sei introni e codifica per una proteina di 1477 aminoacidi. In tre forme alleliche mutate, denominate *Atps1-1*, *Atps1-2*, *Atps1-3* controlla la disposizione parallela, tripolare e unita dei fusi nella meiosi II maschile, senza alcun effetto sulla meiosi femminile. Un effetto simile è stato recentemente descritto in un altro mutante, *jason*, anch'esso legato alla produzione di polline $2n$ (De Storme e Geelen, 2011).

UTILIZZAZIONE DEI GAMETI $2n$ NEL MIGLIORAMENTO GENETICO

I gameti $2n$ sono ampiamente utilizzati nel miglioramento genetico per effettuare incroci tra specie con ploidie differenti e per produrre ploidie ponte nel caso di barriere sessuali (es. post-zigotiche) che impediscono l'incrocio tra due specie appartenenti ai gene pool primario e terziario, rispettivamente. Tra

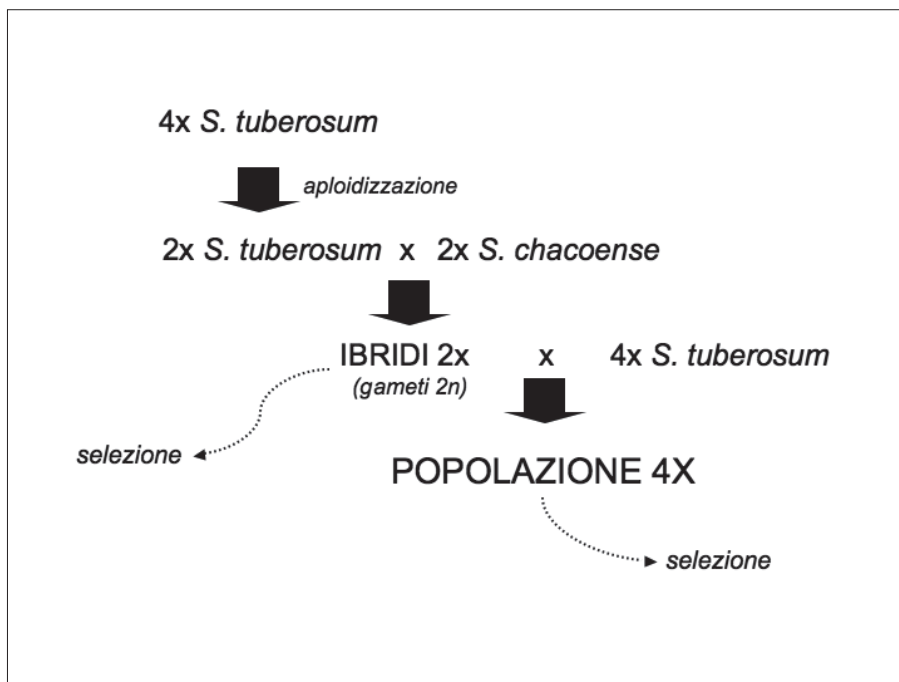


Fig. 1 Schema di miglioramento genetico della patata coltivata ($2n=4x=48$) basato sulla produzione di aploidi e sulla poliploidizzazione sessuale unilaterale

le colture nelle quali si è fatto il più ampio uso di gameti $2n$ vi sono la patata, l'erba medica, la rosa, il trifoglio, la cassava, il garofano, i cereali e il giglio. La patata è tra le specie in cui questa utilizzazione ha avuto i maggiori successi. Ciò è legato ad alcune sue caratteristiche che forniscono le basi per un utilizzo efficace dei gameti $2n$ nel miglioramento genetico. La patata coltivata *S. tuberosum*, infatti, è un tetraploide ($2n=4x=48$) da cui è semplice ottenere genotipi aploidi (sporofiti con il corredo cromosomico del gametofito, quindi con 24 cromosomi) attraverso incroci $4x \times 2x$ con *S. phureja*. Gli aploidi sono incrociati con le specie selvatiche diploidi che recano geni di interesse per il miglioramento genetico e gli ibridi ottenuti, con corredo cromosomico diploide, sono sottoposti a selezione non solo per i caratteri di interesse (es. resistenza a stress), ma anche per la produzione di gameti $2n$. In questo tipo di approccio, infatti, i gameti $2n$ consentono l'uso di tali ibridi in incroci $4x - 2x$ con le varietà tetraploidi per ritornare al livello tetraploide della patata coltivata per un successivo ciclo di selezione (fig. 1). Questo schema di miglioramento genetico è basato sulla cosiddetta poliploidizzazione sessuale

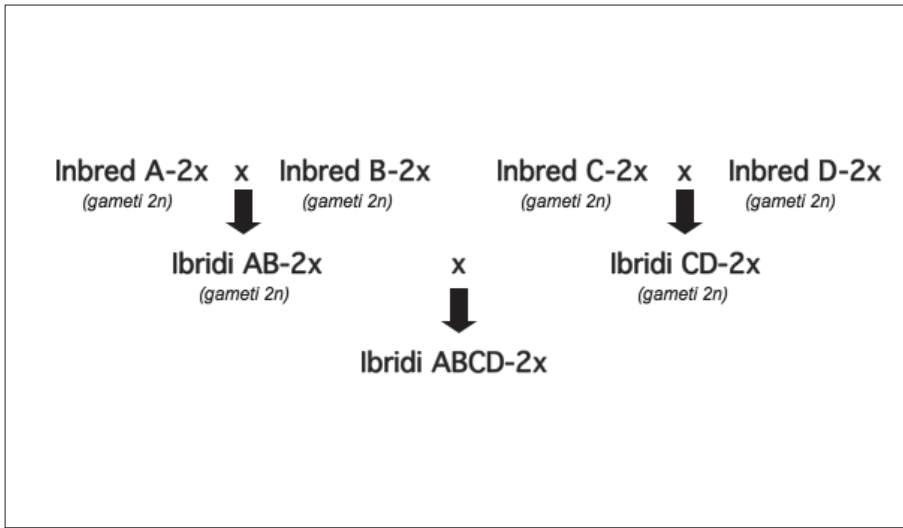


Fig. 2 Schema di miglioramento genetico dell'erba medica ($2n=4x=32$) basato sulla produzione di ibridi semplici produttori di gameti $2n$ e di ibridi doppi tramite poliploidizzazione sessuale bilaterale (da Barcaccia et al., 2003)

unilaterale in cui solo uno dei due genitori produce gameti $2n$ (quello con la ploidia più bassa). Un grosso vantaggio di questo schema è che la prima selezione si effettua a livello diploide, molto più semplice di quello tetraploide della patata coltivata. Numerosi sono anche gli esempi riportati in letteratura sull'uso della poliploidizzazione sessuale per trasferire caratteri di interesse. In patata, per esempio, la resistenza a *Erwinia carotovora* di *S. tarijense* è stata trasferita a *S. tuberosum* attraverso incroci $2x \times 4x$. Un secondo tipo di poliploidizzazione sessuale, denominato bilaterale perché prevede il coinvolgimento di gameti maschili e femminili $2n$, è stato proposto in erba medica per la produzione di ibridi doppi (Barcaccia et al., 2003). Esso coinvolge l'uso di quattro linee inbred distanti geneticamente, due produttrici di ovocellule $2n$ e due di polline $2n$. Gli ibridi semplici ottenuti, selezionati per caratteri di interesse e per la produzione di gameti $2n$, sono utilizzati in schemi di poliploidizzazione sessuale bilaterale che portano alla produzione di ibridi doppi altamente eterozigoti (fig. 2). La scelta del tipo di poliploidizzazione da utilizzare dipende dai gameti $2n$ disponibili (polline $2n$ o ovocellule $2n$) e, nel caso di poliploidizzazione sessuale unilaterale, dalla fertilità del parentale con ploidia più alta. Dato l'alto livello di interazioni intra- e interlocus trasmesse dai gameti $2n$ -FDR, l'ampia diffusione di polline $2n$ e la relativa facilità di identificare mutanti che producono polline $2n$, generalmente gli schemi di

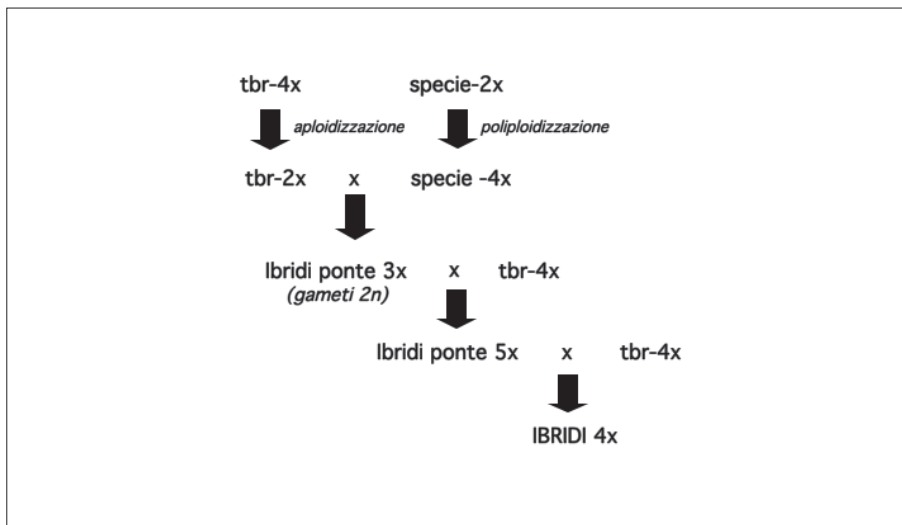


Fig. 3 Schema di miglioramento genetico della patata coltivata ($2n=4x=48$) basato sulla manipolazione dei livelli di ploidia e sulla produzione di ploidie ponte triploidi e pentaploidi

poliploidizzazione sessuale più utilizzati si basano su incroci $4x \times 2x$ -FDR. La poliploidizzazione sessuale bilaterale può essere utilizzata quando sono disponibili ibridi diploidi superiori produttori di ovocellule $2n$ e di polline $2n$. Questo metodo consente, come in precedenza descritto in erba medica, la combinazione in genotipi tetraploidi di diversi caratteri provenienti da due ibridi interspecifici diploidi. Inoltre permette la trasmissione di elevati livelli di eterozigosi nella progenie $4x$, specialmente quando gli ibridi $2x$ utilizzati hanno un background genetico molto differente.

La poliploidizzazione sessuale rappresenta probabilmente il modo più semplice per l'utilizzazione dei gameti $2n$ nel "breeding". Tuttavia, la presenza di meccanismi di isolamento può impedire l'introggressione di geni utili da alcune specie selvatiche, limitandone le possibilità di utilizzo nei programmi di miglioramento genetico. Per superare tali barriere sono possibili approcci basati sulla produzione di ploidie ponte F_1 triploidi (fig. 3). Ancora una volta la patata può fornire un buon modello di riferimento. In patata ogni specie ha un suo valore in *endosperm balance number* (EBN), un numero intero variabile tra 1 a 4 che si riduce con la meiosi, proprio come il corredo cromosomico (Johnston et al., 1980). Gli incroci tra specie differenti sono possibili solo se i gameti da esse prodotti hanno uno stesso valore di EBN o se la specie con EBN minore produce gameti $2n$. Le ploidie ponte triploidi sono prodotte direttamente attraverso incroci $2x(1EBN) - 2x(2EBN)$, se il

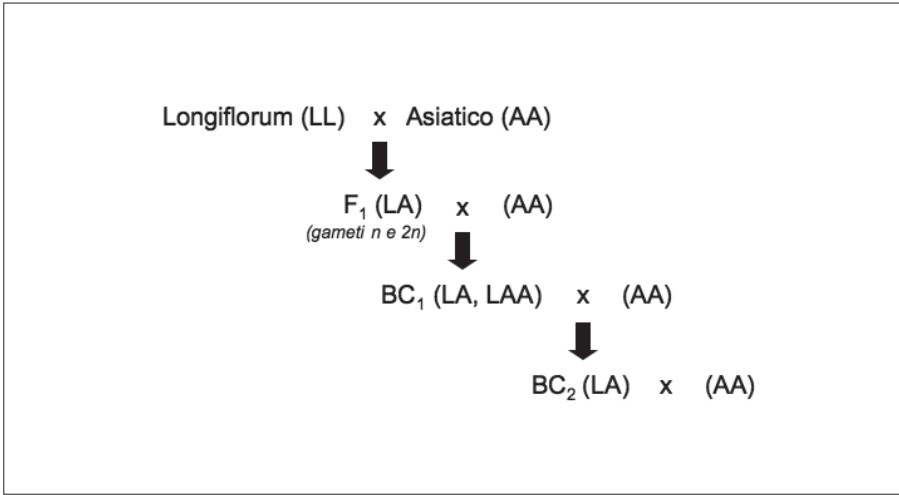


Fig. 4 Schema ipotetico di miglioramento genetico del giglio basato sulla produzione di ibridi semplici produttori di gameti $2n$ e di ibridi doppi tramite poliploidizzazione sessuale bilaterale (da Kahn et al., 2009)

parentale 1EBN produce gameti $2n$; questi ultimi, infatti, garantiscono lo stesso valore in EBN tra i gameti maschili e femminili. In questi schemi di miglioramento genetico alla produzione di ibridi ponte triploidi segue la sintesi di ibridi pentaploidi (Carputo et al., 1997). Essi sono infatti ottenuti da incroci $3x(2EBN) - 4x(4EBN)$ tra gli ibridi F_1 triploidi e varietà tetraploidi di *S. tuberosum*. Per la loro produzione è necessario che i triploidi formino gameti $2n$, gli unici gameti che garantiscono lo stesso EBN tra i parentali. Prodotti gli ibridi pentaploidi, risulta poi relativamente facile procedere con i reintroci, in quanto i pentaploidi hanno un $EBN = 4$, e quindi sono facilmente incrociabili con *S. tuberosum*, anch'esso 4EBN. Il successo di questo tipo di approccio è ampiamente documentato in letteratura.

L'uso dei gameti $2n$ è stato anche proposto in allopoliploidi (Khan et al., 2009). In *Lilium* esistono tre forme coltivate: Longiflorum, Asiatico e Orientale, con genomi molto differenti e, almeno in origine, diploidi. Gli ibridi interspecifici sono in genere sterili a causa di disturbi meiotici. Tuttavia, la possibilità di avere ibridi che producono sia polline n che polline $2n$ apre molte prospettive al miglioramento genetico. Infatti, a livello diploide si può fare la selezione di genotipi superiori che sono poi impiegati, grazie ai gameti $2n$, per produrre poliploidi sessuali. Come riportato in figura 4, gli ibridi diploidi Longiflorum-Asiatico producono entrambe le tipologie gametiche e, usati in reintroci con il parentale Asiatico, possono produrre BC_1 ricom-

binanti sia diploidi sia allotriploidi. Le BC_1 triploidi, a loro volta usate in reincroci $3x - 2x$, possono generare BC_2 diploidi ricombinanti. Le progenie diploidi prodotte dai reincroci, selezionate per l'assenza di caratteri indesiderati, sono utilizzabili in schemi di poliploidizzazione sessuale per sfruttare i vantaggi associati ai gameti $2n$.

CONCLUSIONI

La diffusione delle specie poliploidi da una parte e la presenza di gameti $2n$ in numerosi taxa dall'altra porta alla logica conclusione che i gameti $2n$ sono strumenti molto importanti per il miglioramento genetico. Ma ci sono numerose altre considerazioni a supporto di tale ipotesi. Infatti, i genotipi produttori di questi gameti non ridotti possono essere identificati in modi relativamente semplici e veloci; una facile analisi al microscopio ottico dei granuli pollinici, infatti, consente di identificare i genotipi produttori di polline $2n$ e di stimarne la frequenza di formazione. È noto che costi ridotti ed efficienza sono alla base di qualsiasi scelta del miglioramento genetico. I gameti $2n$, inoltre, hanno spesso una base genetica semplice e quindi la capacità di produrre tali gameti è ereditata abbastanza facilmente dalle progenie. C'è poi da sottolineare che le conoscenze generate in *Arabidopsis* sui meccanismi molecolari correlati con la formazione di gameti $2n$ e sui geni coinvolti aprono nuove e stimolanti prospettive per il miglioramento genetico vegetale. Strategie di silenziamento genico basate, ad esempio, su RNAi (interferenza dell'RNA) o indotto da virus (VIGS) potrebbero portare all'induzione di gameti $2n$ anche in genotipi che non li producono. Il sequenziamento dei genomi vegetali, infine, può consentire l'identificazione di omologhi di *AtPS1* anche in specie di interesse agrario (Aiese-Cigliano et al., 2011).

RIASSUNTO

I gameti con corredo cromosomico non ridotto (gameti $2n$) sono molto diffusi tra le angiosperme e sono ritenuti i principali responsabili della formazione di poliploidi nel regno vegetale. Essi sono il risultato di mutazioni (in genere monogeniche e recessive) che alterano il normale percorso della meiosi e rappresentano importanti strumenti per il miglioramento genetico vegetale, consentendo il trasferimento di geni e di diversità allelica tra specie differenti. In questo lavoro, dopo avere descritto alcune delle principali mutazioni che portano alla formazione di gameti $2n$ e le conseguenze genetiche a esse associate, sono presentate alcune strategie di poliploidizzazione sessuale utilizzate per il

miglioramento genetico di importanti specie di interesse agrario. Le nuove prospettive di impiego dei gameti $2n$, infine, sono discusse alla luce dei progressi nei settori delle biotecnologie e della genomica vegetale.

ABSTRACT

Gametes with a somatic chromosome number ($2n$ gametes) are widespread within angiosperms and are considered the main responsible for polyploid plant formation. They are often the result of recessive mutations affecting the meiotic route. They also represent essential ingredients for plant breeding, allowing the transfer of noteworthy genes as well as allelic diversity between different species. In this paper we first describe the main cytological anomalies leading to $2n$ gamete formation and point out their genetic consequences. We also outline possible breeding strategies based on sexual polyploidization crossing schemes involving $2n$ gametes. Finally, in light of the scientific progresses in the field of molecular biology and biotechnology, we discuss the new exciting perspectives on the use of $2n$ gametes.

BIBLIOGRAFIA

- AIESE-CIGLIANO R., SANSEVERINO W., CREMONA G., CONSIGLIO F.M., CONICELLA C. (2011): *Evolution of Parallel Spindles Like genes in plants and highlight of unique domain architecture*, «BMC Evolutionary Biology», 11, pp. 78-91.
- BARCACCIA G., ALBERTINI E., ROSELLINI D., TAVOLETTI S., VERONESI F. (2000): *Inheritance and mapping of $2n$ -egg production in diploid alfalfa*, «Genome», 2000, 43, pp. 528-537.
- BARCACCIA G., TAVOLETTI S., MARIANI A., VERONESI F. (2003): *Occurrence, inheritance and use of reproductive mutants in alfalfa improvement*, «Euphytica», 1, pp. 37-56.
- CARPUTO D., BARONE A., CARDI T., SEBASTIANO A., FRUSCIANTE L., PELOQUIN S.J. (1997): *Endosperm balance number manipulation for direct in vivo germplasm introgression to potato from a sexually isolated relative (Solanum commersonii Dun.)*, «Proceedings of the National Academy of Sciences of USA», 94, pp. 12013-12017.
- CARPUTO D., BASILE B., CARDI T., FRUSCIANTE L. (2000): *Erwinia resistance in backcross progenies of Solanum tuberosum x S. tarijense and S. tuberosum (+) S. commersonii hybrids*, «Potato Research», 43, pp. 135-142.
- CARPUTO D., FRUSCIANTE L., PELOQUIN S.J. (2003): *The role of $2n$ gametes and endosperm balance number in the origin and evolution of polyploids in the tuber-bearing Solanums*, «Genetics», 163, pp. 287-294.
- D'ERFURTH I., JOLIVET S., FROGER N., CATRICE O., NOVATCHKOVA M., SIMON M., JENCZEWSKI E., MERCIER R. (2008): *Mutations in AtPS1 (Arabidopsis thaliana Parallel Spindle 1) lead to the production of diploid pollen grains*, «Plos Genetics», 4, pp. 1-9.
- DE STORME N., GEELEN D. (2011): *The Arabidopsis mutant jason produces unreduced first division restitution male gametes through a parallel/fused spindle mechanism in meiosis II*, «Plant Physiology», 155, pp. 1403-1415.

- DHOOGHE E., VAN LAERE K., EECKHAUT T., LEUS L., VAN HUYLENBROECK J. (2011): *Mitotic chromosome doubling of plant tissues in vitro*, «Plant Cell, Tissue and Organ Culture», 3, pp. 359-373.
- FILOTICO F., CARPUTO D., BARONE A. (1995): *2n pollen production in Solanum phureja-S. tuberosum hybrids*, «Journal of Genetics & Breeding», 49, pp. 255-260.
- GOFF ET AL. (2002): *A Draft Sequence of the Rice Genome (Oryza sativa L. ssp. japonica)*, «Science», 296, pp. 92-100.
- HARLAN J.R., DE WET J.M.J. (1975): *On Ö. Winge and a prayer. The origins of polyploidy*, «Botanical Reviews», 41, pp. 361-390.
- JOHNSTON S.A., DEN NIJS T.P.M., PELOQUIN S.J., HANNEMANN R.E. JR (1980): *The significance of genic balance to endosperm development in interspecific crosses*, «Theoretical and Applied Genetics», 57, pp. 5-9.
- KHAN N., ZHOU S., RAMANNA M.S., ARENS P., HERRERA J., VISSER R.G.F., VAN TUYL J.M. (2009): *Potential for analytic breeding in allopolyploids: an illustration from Longiflorum x Asiatic hybrid lilies (Lilium)*, «Euphytica», 166, pp. 399-409.
- LEITCH A.R., LEITCH I.J. (2008): *Genomic plasticity and the diversity of polyploid plants*, «Science», 320, pp. 481-483.
- MASON A.S., NELSON M.N., YAN G., COWLING W.A. (2011): *Production of viable male unreduced gametes in Brassica interspecific hybrids is genotype specific and stimulated by cold temperatures*, «BMC Plant Biology», 11, pp. 103-116.
- OTTO S.P., WHITTON J. (2000): *Polyploid incidence and evolution*, «Annual Review of Genetics», 34, pp. 401-437.
- RAMANNA M.S., JACOBSEN E. (2003): *Relevance of sexual polyploidization for crop improvement – A review*, «Euphytica», 133, pp. 3-8.
- VISION T.J., BROWN D.G., AND TANKSLEY S.D. (2000): *The origins of genomic duplications in Arabidopsis*, «Science», 290, pp. 2114-2117.