

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Matěj Kotz

Polyploidie se zvláštním zřetelem k paleopolyploidii a způsobům její detekce
Polyploidy with specific view to paleopolyploidy and its detection

Bakalářská práce

Školitel: doc. RNDr. Jiří Král, CSc

Konzultanti: Mgr. Martin Forman, Mgr. Karel Janko, PhD.

Praha, 2017

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 21.08.2017



Matěj Kotz

Poděkování:

Chtěl bych poděkovat svému vedoucímu práce doc. RNDr. Jiřímu Královi, CSc a konzultantům mé práce Mgr. Martinovi Formanovi, Mgr. Karlovi Jankovi, PhD. za jejich cenné rady, ochotu a věnovaný čas při psaní této práce. Poděkovat bych také chtěl Tim Johnson za kontrolu anglické verze abstraktu. Dále bych chtěl poděkovat své rodině a přátelům za projevenou podporu.

Abstrakt

Polyplodie je významným fenoménem v evoluci eukaryotických organismů. Je předmětem zájmu biologů již několik desetiletí a byla studována z větší části u rostlin, u kterých se nejčastěji vyskytuje. Tato práce řeší její výskyt u organismů, zvláštní důraz je zde kladen na evolučně staré polyplodie a výskyt polyplodie u živočišných taxonů. Jsou probírány typy polyplodie a překážky, které musí polyplodní organismus překonat, aby byl stabilizován jeho genom. To zahrnuje i zajištění správné segregace chromozomů v meiotickém dělení. Zvláštním případem polyplodie je paleopolyplodie, tedy evolučně stará událost polyplodizace, po které dochází k procesu diploidizace. Tento proces se vyznačuje mimo jiné velkým počtem strukturních změn na chromozomech a ztrátou množství sekvencí DNA a postupným přechodem genomu do cytologicky diploidního stavu. Kvůli těmto změnám je obtížné paleopolyplodii detekovat. Hlavní část práce je věnována právě této problematice, jsou probírány jednotlivé přístupy, které mohou vést k detekci paleopolyplodní události.

Klíčová slova: polyplodie, živočich, rostlina, meióza, paleopolyplodie, detekce

Abstract

Polyploidy is a significant phenomenon in the evolution of eucaryotic organisms. It has been a subject of interest of biologists for decades and it has been studied particularly largely in plants, where it most often occurs. This thesis handles occurrence of polyploidy in organisms and a special emphasis is laid on old polyploidization events occurrence of polyploidy in animal taxa. Furthermore, the types of polyploidy and obstacles are discussed here, that a polyploid organism has to tackle to stabilize its genome. That also includes the need to ensure the correct chromosome segregation in a meiotic division. A special case of polyploidy is paleopolyploidy (sometimes referred to as „ancient polyploidy“ in English), which is an evolutionary old polyploidization event, that is followed by the process of diploidization. This process is characterized besides others by a large number of structural changes in chromosomes and a loss of some DNA sequences and a gradual transition of the polyploid genome to the cytologically diploid state. Because of these changes, it is difficult to detect a paleopolyploidy and the main part of this thesis is dedicated to this problem, in which the main approaches that might lead to its detection are discussed.

Key words: polyploidy, animal, plant, meiosis, paleopolyploidy, detection

Obsah

1. Úvod.....	1
2. Polyploidie.....	2
3. Výskyt polyploidie	2
3.1. Výskyt polyploidie u rostlin	2
3.2. Výskyt polyploidie u hub	3
3.3. Výskyt polyploidie u živočichů.....	3
4. Reprodukce u polyploidních živočichů	5
4.1. Partenogeneze.....	5
4.2. Polyploidie a sexuální reprodukce.....	6
5. Meióza u polyploidů.....	7
6. Význam polyploidie v evoluci.....	9
6.1. Evoluce genovou duplikací	11
7. Somatická polyploidie a patologie	12
8. Diploidizace a paleopolyploidie	13
8.1. Paleopolyploidie versus neopolyploidie.....	13
9. Možnosti detekce paleopolyploidie	14
9.1. Cytogenetické přístupy	14
9.1.1. Velikost genomu a počet chromozomů	14
9.1.2. Fluorescenční in situ hybridizace (FISH).....	17
9.2. Ostatní přístupy	18
9.2.1. Molekulární hodiny	19
9.2.2. Mapovací techniky a sekvenace DNA.....	21
9.2.3. Fylogenetická analýza	18
10. Závěr.....	23
11. Seznam použité literatury	25

Seznam zkratek :

DNA	deoxyribonukleová kyselina
Ph1 lokus	lokus zodpovědný za párování homologických chromozomů
CDK	cyklin-dependentní kináza
BiSSE model	model binárního stavu speciace a extinkce
Hox gen	homeobox (homeotický) gen
Fox klastr	forkheadbox klastr
RNA	ribonukleová kyselina
PI	polyploidní index
FISH	fluorescenční in situ hybridizace
ZOO-FISH	varianta FISH
GISH	genomová in situ hybridizace
rDNA	ribozomální DNA kódující rRNA
18S, 5.8S, 26S rDNA	rDNA kódující 18S, 5.8S, 26S rRNA – součásti ribozomálních podjednotek
MUL tree	„multilabeled“ fylogenetický strom – nemá český překlad
K _s	synonymní substituce v synonymní pozici kodonu
K _n	nesynonymní substituce v nesynonymní pozici kodonu
mya	před milony let
RFLP	polymorfismus délky restrikčních fragmentů
NGS sekvenování	sekvenování nové generace
cDNA	komplementární DNA
EST	„expressed sequence tag“ – krátká sekvence cDNA, nemá český překlad
PCR	polymerázová řetězová reakce

1. Úvod

Polyploidizace, jev, při kterém je v genomu počet chromozomových sad vyšší než dvě, je jedna z nejdramatičtějších modifikací genomu. Dnes je již obecně známým a přijímaným faktem, že sehrála důležitou roli v evoluci některých velkých skupin, jako jsou například semenné rostliny či obratlovci. Polyploidie má široké spektrum následků pro samotnou buňku i celý organismus. Polyploidní buňky jsou například díky vyššímu obsahu DNA v jádře větší. Polyploidní organismy se mohou vyznačovat rozdílnými ekologickými nároky či snášenlivostí k určitým vnějším podnětům a také větší velikostí a rychlejším růstem. Některých z těchto atributů se využívá i v hospodářství a šlechtitelství. Velká řada hospodářsky významných rostlin je polyploidní a velké snahy o využití polyploidů jsou dnes vyvíjeny například v akvakultuře, jelikož jsou příslibem vyšších a rychlejších výnosů u hospodářsky využívaných druhů ryb či mlžů. Oproti diploidnímu stavu přináší polyploidie také některé problémy, a to například v buněčném dělení, kdy v důsledku většího počtu homologických nebo strukturně podobných (homeologických) chromozomů musí docházet k modifikacím v jejich párování, polyploidní linie mohou mít často problémy s fertilitou.

Cílem této práce je shrnout současné poznatky o výskytu a evolučním významu polyploidie, s větším důrazem kladeným na živočišné taxony. V práci jsou dále probírány překážky vedoucí k ustanovení polyploidie a souvislost s reprodukčními strategiemi. Hlavním cílem práce je shrnout informace o paleopolyploidii, mechanismech vedoucích k její existenci a ukázat hlavní přístupy, které se dají využít k její detekci.

2. Polyploidie

Podle počtu chromozomových sad klasifikujeme polyploidii na orthoploidii a anorthoploidii (při sudém resp. lichém počtu sad). Anorthoploidní cytotypy (např. v případě triploidie, pentaploidie) jsou méně stabilní, jelikož v meioze produkují ve větší míře nebalancované gamety. Je také důležité, zda se jedná o polyploidii celého organismu nebo jen somatických tkání. Možností vzniku polyploidie je několik. Jednou je vznik neredukovaných gamet v průběhu meiozy a následně po oplození vznik polyploidní zygoty (Leitch 2008). Polyploidní organismy také mohou vznikat vzdálenou hybridizací (např. interspecifickou). Tyto dva mechanismy jsou nejčastější, mimo to může diploidní buňka fúzovat s jinou buňkou, chybou v buněčném dělení může vzniknout buňka tetraploidní jednojaderná nebo buňka s dvěma diploidními jádry, další z možností je dále probíraná endoreplikace (Storchova a Pellman, 2004). Podle způsobu vzniku se dají rozlišit dva základní typy polyploidní události. V případě alopolyploidie organismus vzniká výše zmíněnou vzdálenou hybridizací, u autopolyploidie polyploid vzniká duplikací jedné nebo více chromozomových sad téhož druhu (popř. organismu).

3. Výskyt polyploidie

3.1. Výskyt polyploidie u rostlin

Polyploidie je jev velmi častý v evoluci genomu krytosemenných rostlin. Tato skutečnost byla předmětem zájmu botaniků již od počátku 20.století, jak dokládá například studie karyotypu rodu *Oenothera* - pupalka (Lutz, 1907). Odhaduje se, že 2 až 4% specií u krytosemenných rostlin proběhlo právě polyploidizací genomu (Otto, Whitton, 2000). Co se samotného zastoupení polyploidních taxonů týče, pohybují se odhady mezi 30 až 80% (Masterson, 1994). Některé recentní studie se dokonce přiklání k tomu, že na počátku vývoje linie semenných rostlin došlo ke dvěma kolům celogenomové duplikace, podobně jako u Ohnovy 2R hypotézy v případě obratlovců (Jiao et al., 2011). Polyploidie je obecně u rostlin důležitý evoluční proces a sehrála roli v evoluci řady kulturních plodin jako je například ječmen, oves, tabák či kávovník (Feldman, Levy 2005). Nelze přesně říci, zda je v evoluci významnější auto- či alopolyploidie, ale jak naznačuje Soltis et al. (2007), počet rostlinných autopolyploidů by mohl být podhodnocen kvůli jejich větší morfologické podobnosti s parentálním druhem.

Kromě semenných rostlin se polyploidie vyskytuje i u mechorostů, a to převážně u mechů, u játrovek a hlevíků jen výjimečně (Villarreal a Renner, 2013; Wyatt et al., 1988). Je také velmi častá u kaprad'orostů (Wagner a Wagner, 1980).

3.2. Výskyt polyploidie u hub

Co se týče hub, je s podivem, že tato velká skupina nebyla co do výskytu polyploidie příliš studována. Ačkoliv je dobře známo, že se polyploidie uplatnila v evoluci kvasinek (Kellis et al., 2004), studií, věnujícím se ostatním skupinám, je poměrně málo. Přesto jsou případy přirozeně se vyskytujících polyploidů u hub známé a její výskyt je předpokládán v mnoha různých vývojových větvích hub (Albertin a Marullo, 2012).

3.3. Výskyt polyploidie u živočichů

Oproti rostlinám se vyskytuje polyploidie u živočichů podstatně méně. Příčinou vyšší prevalence u rostlin může být častý výskyt nepohlavního rozmnožování či hermafroditismu. U převážně pohlavně se rozmnožujících živočichů, je polyploidie méně častá, protože narušuje proces determinace pohlaví (Muller 1925). Muller ve své práci vycházel ze situace u octomilky (*Drosophila*), u které je pohlaví determinováno poměrem gonozomů X vůči počtu sad autozomů. Vycházel ze studií, které ukazovaly, že právě kvůli narušení tohoto poměru se triploidní populace nemůže ustanovit v důsledku neplodnosti triploidů s jedním nebo dvěma chromozomy X (Bridges 1921). Tetraploidi, pokud by nějakí vznikli, by byli podle Mullera ve zjevné reprodukční nevýhodě, jelikož při křížení s častěji se vyskytujícími diploidy by ve většině případů dali vzniknout sterilním triploidním hybridům. Jak se však časem ukázalo, typ determinace pohlaví závisící na poměru gonozomů k autozomům není u gonochoristických živočichů dominantní (Manolakou et al., 2006).

Jedním z problémů komplikujících Mullerovu teorii je, že u dvoudomých rostlin s určením pohlaví XY, by se měli polyploidi vyskytovat stejně vzácně jako u gonochoristických živočichů, což sám Muller ve své práci zmiňuje. Jak se však později ukázalo, u dvoudomých rostlin je polyploidie poměrně častá a je zde i častý výskyt polyploidních řad (Westergaard, 1958). Ze studie sexuální determinace dvoudomých rostlin (Matsunaga a Kawano, 2001) ale vyplývá, že rostliny jsou obecně k aneuploidiím gonozomů poměrně snášenlivé a v některých případech mohou při inaktivaci genů determinujících samčí pohlaví vzniknout linie hermafroditů, kteří jsou schopní samooplození (Donnison et al., 1996). Ačkoliv se

hermafroditismus a samooplození vyskytuje i u řady živočichů, není u gonochoristů s pohlavními chromozomy. Sexuální determinace dvoudomých rostlin se tedy vyznačuje určitými specifickými rysy, které usnadňují navození polyploidie.

Mullerovu hypotézu dále rozvádí Orr (1990). Orr tvrdí, že hlavním problémem pro výskyt polyploidie u živočichů je degenerace alozomu, jako je například chromozom Y u XX/XY systému určení pohlaví. Chromozom Y je u řady živočichů silně degenerován, což znamená, že ztratil většinu funkčních genů a je na něm tedy minimum transkribovaných oblastí. Takové organismy si tedy musely vyvinout určitý systém kompenzace genové dávky chromozomu X popř. Z u heterogametického pohlaví. Těchto systémů je několik, u *Drosophila* je to hypertranskripce X u samčího pohlaví, u savců lyonizace – heterochromatinizace jednoho z chromozomů X u samic (Lyon, 1999). Indukcí polyploidizace však může dojít k případu, kdy v určitém genotypu nebude odpovídající míra transkripce gonozomu vůči počtu autozomálních sad. Jedinci s takovým genotypem by byli neživotaschopní a tudíž by se polyploidie nemohla u takových živočichů fixovat.

Pro tuto teorii hraje i fakt, že u dvoudomých rostlin jsou heterochromozomy Y mnohem méně degenerované než u většiny živočichů a zachovávají si tedy větší míru transkripce (Charlesworth 2002). Podobné vysvětlení různé frekvence polyploidie mezi jednotlivými taxony, konkrétně u obratlovců nabízí Ohno (1970), který ve své knize píše, že u obojživelníků a ryb jsou pohlavní chromozomy stále ještě v počátečním stavu diferenciaci, mají mnoho společných genových lokusů podobně jako autozomy. Jejich duplikace by tedy neměla být tak problematická. U řady obojživelníků se polyploidie skutečně vyskytuje (Otto a Whitton, 2000). U paprskoploutvých ryb jsou také dobře zdokumentované případy. Kromě navrhované 3R hypotézy pro skupinu Teleostei byly doloženy případy polyploidie u několika dalších skupin. Dobře známý je tento fakt u jeseterů, mezi kterými existují tři skupiny s výrazně odlišnými počty chromozomů – první skupina 112-146, druhá 250-270 a třetí s 360-370. Tyto vznikly následnou polyploidizací (Vasil'ev, 2009). Poznatky o výskytu polyploidie u obojživelníků a ryb tedy taktéž zapadají do Orrovy teorie o tom, proč se polyploidie u některých živočichů vyskytuje zřídka. Další třídou obratlovců, která Orrovu teorii podporuje, jsou savci. Jak již bylo výše zmíněno, vyskytuje se u všech jejich zástupců kompenzace genové dávky – lyonizace. U savců se přitom polyploidie prakticky nevyskytuje, je znám pouze jediný druh, jehož chromozomová konstituce naznačuje polyploidní původ, a to v Jižní Americe žijící hlodavec *Tympanoctomys barrerae*. Některé studie ukazují na možný allotetraploidní původ (Gallardo et al., 2006). Situace okolo toho druhu však stále není jasná a je možné, že se jedná o diploidní organismus, v jehož vývoji došlo jen k několika parciálním duplikacím, např. určitých

chromozomů nebo jejich úseků. K tomuto scénáři se přiklání Evans et al. (2017) v recentní studii genomu tohoto druhu. Orrova teorie však stále plně nevysvětluje vzácnost výskytu polyploidie u živočichů, jelikož u některých ptáků se kompenzace genové dóze nevyskytuje, nebo alespoň ne v plné míře. Ptáci by tedy teoreticky měli být skupinou s vyšším výskytem polyploidie. Právě u ptáků však doposud není znám jediný případ polyploidního druhu (Otto, 2007).

Například autorky Otto a Whitton (2000) však tvrdí, že ve výše zmíněných případech ptáků a savců je polyploidie méně častá, protože vede k celkovému narušení embryonálního vývoje a nelze tvrdit, že by výskyt polyploidie byl otázkou kompenzace genové dávky.

Jak zdůrazňuje Mable (2004), není zcela přesné na celou tuto problematiku nahlížet, jako na řídký výskyt polyploidie u živočichů, ale spíše jako na vzácný výskyt u některých živočišných taxonů. Kromě výše zmíněných případů u obratlovců se také polyploidie vyskytuje u několika desítek druhů hmyzu (Otto a Whitton, 2000). Vzhledem k celkové rozmanitosti hmyzu je však míra zaznamenané polyploidie velmi nízká (Lokki a Saura, 1980). Vyskytuje se také u měkkýšů (Hallinan a Lindberg, 2011; Neiman et al., 2013) Pravděpodobný je i její výskyt u pavouků (Král et al., 2013). Další případů jejího výskytu u živočichů je však více.

Mullerova teorie je nejstarším pokusem o vysvětlení vzácnosti polyploidie u živočichů v porovnání s rostlinami. Nebylo by v žádném případě spravedlivé či přesné tvrdit, že poznatky Mullera či Orra nejsou správné, ale spíše, že s novými objevy na poli živočišné cytogenetiky a určitými konkrétními příklady se celá situace komplikuje. Význam polyploidie ve vývoji živočišných taxonů v současnosti stále nelze obecně shrnout, není však zanedbatelný.

4. Reprodukce u polyploidních živočichů

4.1. Partenogeneze

Jedním z častých jevů doprovázející polyploidii bývá asexuální reprodukce. U většiny polyploidního hmyzu byla zaznamenána pokročilá forma thelytokie, a to thelytokie apomiktická, při které je vyloučena meioza (Lokki a Saura 1980, cit. dle Soumalainen 1950). Takový způsob rozmnožování se elegantně vyhýbá řadě problémů spojených s determinací pohlaví a pohlavními chromozomy u polyploidů obecně. Otto a Whitton se ve své studii (2000) věnovaly výskytu polyploidie u živočišných skupin, z celkového počtu v této studii započítaných živočichů se přibližně dvě třetiny rozmnožují partenogeneticky. Zajímavé ovšem je, že se tyto druhy vyskytují přednostně u některých skupin, převládají hlavně u hmyzu a plazů. Většina takových polyploidů je linií druhu diploidního. Polyploide u plazů je omezena na čeled'

ještěrkovití, ve všech případech se jedná o triploidní ještěrky rozmnožující se thelytokní partenogenezí (Bogart, 1980). Přejechy na partenogenetickou reprodukci po polyploidizaci jsou pozorovatelné například i u některých nosatců (Stenberg et al., 2003).

S velmi zajímavým fenoménem se lze setkat také u některých ryb. Konkrétně u ryb rodu *Cobitis* lze pozorovat že hybridizace mezi některými druhy spustí přechod na klonální reprodukci, zpětným křížením se sexuální populací vznikne triploidní linie těchto ryb. Tento jev je dokonce možné pozorovat v laboratoři se synteticky vytvořenými hybridy (Janko et al., 2012).

4.2. Polyploidie a sexuální reprodukce

Na rozdíl od polyploidních případů u plazů, u nichž se všechny známé druhy rozmnožují partenogenezí, je o něco větší variabilita rozmnožovacích systémů u polyploidů z řad obojživelníků. Ve studii vedené Bogartem (1980) je zaznamenáno 15 případů polyploidních obojživelníků s klasickým gonochorismem. Všechny přitom spadají do řádu žáby. Mezi těmito případy lze nalézt obecně známé rody žab jako *Xenopus*, *Bufo*, *Hyla* či *Ceratophrys*. Zvláštním případem je hybridní komplex u skokana zeleného – *Pelophylax esculentus* (dříve *Rana esculenta*) v jehož vývoji dochází k odvržení jednoho z mateřských genomů v germinální linii. Tento hybridní druh je za normálních okolností diploidní (s jednou sadou chromozomů od každého mateřského druhu), ale v některých populacích se vyskytují triploidní jedinci, tvořící jak haploidní, tak diploidní gamety, které napomáhají udržení triploidních jedinců v populaci (Christiansen, 2009). Posledním doloženým typem rozmnožování u polyploidních obojživelníků je gynogeneze, tedy typ rozmnožování na pomezí sexuálního a asexuálního procesu, při kterém se jedinec vyvíjí z neoplozeného vajíčka (jako při thelytokii), ale k zahájení vývoje je potřeba stimul od spermatické buňky, která se však nepodílí svou genetickou výbavou na dalším vývoji jedince. Tento případ je znám u polyploidních druhů axolotlů rodu *Ambystoma* (Bogart, 1980).

Neméně zajímavé případy se vyskytují i u ryb. U polyploidních populací karase stříbřitého dochází k situaci, kdy se zvířata mohou rozmnožovat buď pomocí gynogeneze nebo klasickou sexuální reprodukcí (Gui a Zhou, 2010).

5. Meióza u polyploidů

Zvýšený počet homologních chromozomů popřípadě výskyt homeologních chromozomů si žádá odlišnou organizaci jaderného dělení (Comai, 2005). Pro polyploidní speciaci je zásadní přesný rozchod chromozomů do dceřinných buněk. Proces vedoucí k tvorbě chromozomově balancovaných gamet se nazývá cytologická diploidizace a liší se výrazně v případě autopolyploidů a alopolyploidů (Cifuentes et al., 2010). V případě autopolyploidů nejsou jednotlivé chromozomy více diferencovány než běžný pár homologů u diploida a mají tudíž potenciál párovat s jakýmkoliv z ostatních homologů (Lloyd a Bomblies, 2016). Chromozomy mají obecně tendenci u autopolyploidů párovat v multivalentech (Cifuentes et al., 2010 ; Wu et al., 2014) To, jak chromozomy párují v buněčném dělení, je důležité i pro další vývoj genomu jak na příkladu autotetraploidů uvádí Ohno (1970). Čtyři homologní chromozomy musí párovat po dvojicích aby mezi nimi mohlo dojít k diverzifikaci. Pokud by párovaly jako kvadrivalent, docházelo by v meioze k jejich náhodnému rozdělení, což by jejich diverzifikaci narušilo a vedlo by ke sterilitě. U neoautopolyploidů jsou multivalenty poměrně časté a často vedou k produkci aneuploidních gamet (Ramsey a Schemske, 2002). Zajímavé je, že u přirozeně se vyskytujících polyploidů je někdy pozorována vyšší míra bivalentního párování než u jejich uměle vytvořených protějšků a to i přesto, že je zachováno nepreferenční párování (Wu et al., 2014). Přechod autopolyploidů k dizomickému stavu potvrzují i jiné studie (Parisod et al., 2010). U uměle vytvořených autopolyploidů byla cytologická diploidizace pozorována v průběhu několika málo generací (Santos et al., 2003).

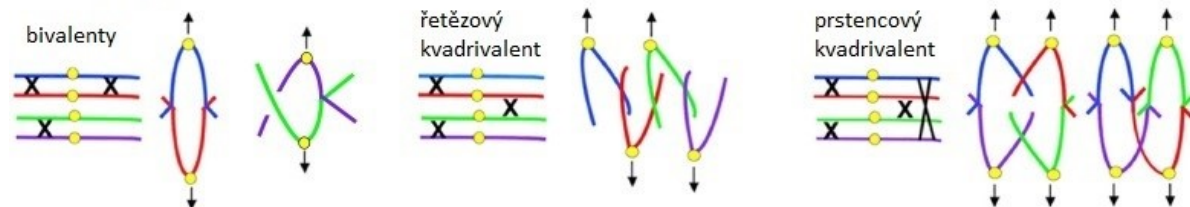
V případě autotetraploida se dá obecně říci, že pokud mají chromozomy správně segregovat, musí být každý jednotlivý chromozom připojen v meióze minimálně k jednomu, ne však více než dvěma dalším chromozomům (viz. obr.1) (Bomblies et al., 2016). Tvorbu multivalentů pak omezí snížení míry crossing-overů, které se často vyskytuje po indukci polyploidie (Lloyd a Bomblies, 2016). Za nižším výskytem crossing-overů u autopolyploidů by mohla být silnější interference chiasmat, tedy že by se interference šířila do větší vzdálenosti. V případě, že je tato vzdálenost rovna či větší než délka celého chromozomu, bude chromozom párovat právě s jedním homologem. Tuto hypotézu podporuje pozorování meiózy některých polyploidních skupin (Bomblies et al., 2016). Molekulární podstata cytologické diploidizace však stále není uspokojivě vysvětlena žádnou studií.

Le Comber et al. (2010) předpokládá, že cytologickou diploidizací by mohla částečně zapříčinit funkční divergence genů a to hlavně subfunkcionalizace, tedy rozdělení funkcí jednotlivých kopií zduplikovaného genu. V případě většího počtu takových genů vyskytujících

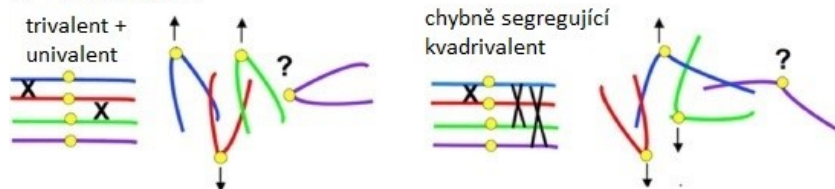
se po celém genomu by mohlo docházet k podpoře dizomické dědičnosti. Tyto závěry Le Comber opírá o počítačové simulace vývoje polyploidního genomu v průběhu 10 000 generací.

Konfigurace chiasmat u auto-tetraploida

A Efektivní



B Neefektivní



Obrázek 1 – chiasmatické konfigurace, které jsou ve 3 případech (A) efektivní tím, že zvyšují pravděpodobnost správného rozchodu chromozomů, zatímco v případech B dojde k nesprávnému rozdělení kvůli špatnému párování chromozomů (Bomblies et al., 2016)

U alopolyplodů je situace jiná díky existenci homeologů v důsledku hybridního původu. Každý chromozom bude v tomto případě podle očekávání párovat ochotněji se svým homologem nežli homeologem (Comai et al., 2003). Nejlépe prozkoumaným organismem je v tomto ohledu pšenice, u které napomáhá párování homologů lokus Ph1 (pairing homologous) (Riley a Chapman 1958 cit dle. Griffiths et al., 2006). Za jeho párovací funkci jsou pravděpodobně zodpovědné geny kódující enzymy s kinázovou aktivitou, hlavně „CDK like genes“ (Griffiths et al., 2006) přičemž příbuzné geny jsou zodpovědné za homologní párování například u myši (Viera et al., 2009). Ph1 je v tomto ohledu jediný lokus charakterizovaný na molekulární úrovni, molekulární mechanismy zodpovědné za párování a segregaci hom(e)ologických chromozomů u alopolyplodů si žádají další výzkum (Cifuentes et al., 2010).

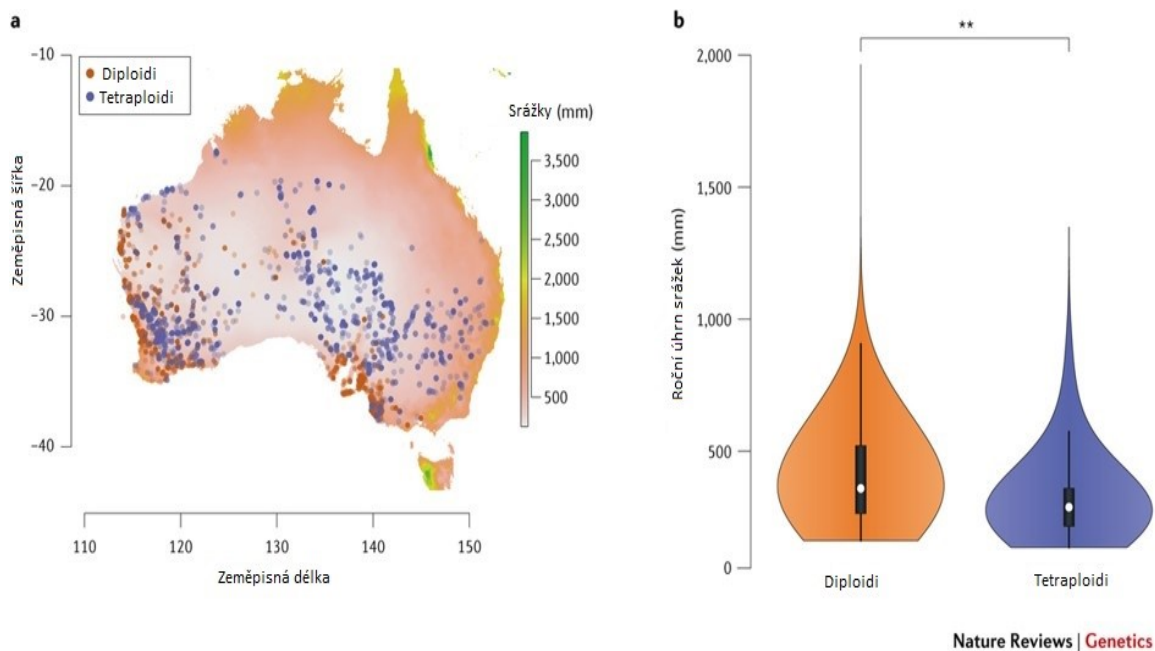
6. Význam polyploidie v evoluci

Jak ukazuje ve své studii Mayrose et al. (2011), je ve většině případů polyploidizace chápána jako evoluční „dead-end“, jelikož nově vznikající polyploidi vykazují nižší míru diversifikace. Ačkoliv byla sledovaná míra speciace podobná nehledě na stupeň ploidie, vyznačovali se polyploidi vyšší mírou extinkce. Jak Mayrose poznamenává, toto zjištění by mohlo na první pohled odporovat vysokému výskytu paleopolyploidie (evolučně starý případ polyploidie, při kterém organismus prošel procesem diploidizace) u krytosemenných rostlin, na kterých byla studie provedena. Očekávaný počet paleopolyploidizací by však v případě, že by míra diversifikace polyploidů byla stejná jako u diploidů, byl ještě vyšší. K podobným závěrům dospěl i Liu et al. (2012) ve studii vlivu apomixie (asexuální způsob klonální reprodukce, při kterém je vyloučena meióza) na evoluční dynamiku kaprad'orostů. Apomixie se u řady kaprad'orostů vyskytuje společně s polyploidii. Ačkoliv tedy ve velké části případů nejsou polyploidní linie dlouhodobě evolučně úspěšné, mohou být krátkodobě úspěšné v některých specifických ekologických podmínkách (Liu et al., 2012) a rozšířený genomový potenciál může být výhodou u těch linií, které přetrvávají (Mayrose et al., 2011). Míra diversifikace je ve dvou výše zmíněných studiích odhadována pomocí pravděpodobnostního modelu BiSSE, který se obecně používá k odhadu diversifikace v závislosti na jednom konkrétním faktoru (Maddison et al., 2007).

Polyploidizace může mít různé výhody pro nově vznikající organismus. Jako jedny z těch očividnějších se dají uvést heteroze a genová redundance (Comai, 2005) Případ, kdy najednou dojde k znásobení celého genomu dává organismu možnost v duplikovaných genech hromadit mutace a postupně tak může docházet k diferenciaci jejich funkce (Ohno, 1970).

Základním předpokladem fungování polyploidie jakožto speciálního procesu je vytvoření reprodukční bariéry mezi původním druhem a nově vznikajícím druhem polyploidním. Polyploidi mají po svém vzniku poměrně často sníženou fertilitu a životaschopnost (Ramsey a Schemske, 1998; 2002) což může být výraznou překážkou k ustanovení jejich populace. Zároveň se však mezi polyploidy a jejich diploidními předky vytváří jak pre-, tak postzygotické izolační mechanismy a polyploidie může být nástrojem sympatrické speciace (Mayr, 1942). Příklad takové reprodukční izolace ukazují například Husband a Sabara (2004) ve studii na di- a tetraploidních populacích rodu *Chamerion* (vrbovka). Z prezygotických procesů hrála v tomto případě významnou roli 1) geografická izolace, jelikož diploidní populace se vyskytovaly ve vyšších nadmořských výškách a 2) preference opylovačů navštěvovat po sobě rostliny se stejným stupněm ploidie. Tyto procesy

byly pozorovány i v jiných studiích podobného zaměření (Segraves a Thompson, 1999; Thompson a Merg, 2008) Jednou ze sledovaných postzygotických bariér byla selekce proti



Obrázek 2 – Rozšíření diploidních a tetraploidních druhů australských žab rodu *Neobatrachus*. Tento rod obsahuje celkově 10 druhů, ze kterých je 6 diploidních a 4 tetraploidní. V části **a** je vidět rozšíření těchto druhů na mapě Austrálie, kde je pozorovatelný sklon tetraploidních druhů k obsazování sušších stanovišť. Tento trend je pak dobře patrný v části **b** zobrazující rozšíření z části **a** vztahované k ročnímu úhrnu srážek. Bílá tečka značí medián, černé pruhy mezikvartilové rozpětí. (**Mann–Whitney test P-hodnota<0.01) (Van de Peer et al., 2017)

triploidům. Součet vlivu všech izolačních mechanismů ukazoval na vysokou reprodukční míru izolace (99,7%) mezi diploidy a tetraploidy. Na tomto konkrétním příkladu se dá demonstrovat, že polyploidizace může vést k posunu ekologických nároků organismu a postupné speciaci. K těmto závěrům docházejí i jiné recentní studie (Ramsey, 2011). Polyploidní druhy často mohou obsazovat ekologické niky v limitujících, například sušších prostředích (viz. obr. 2) (Van de Peer et al., 2017).

Co se ekologických nároků týče, může být polyploidie také limitující z hlediska nároků na živiny, a to hlavně na fosfor, který je podstatnou součástí nukleových kyselin (Šmarda et al., 2013). Šmarda v této studii potvrzuje, že na půdách bohatých na fosfor se polyploidním rostlinám a obecně rostlinám s větším genomem dařilo lépe. Doložené případy této limitace se neomezují jen na rostliny jak dokládá Neiman et al. (2013) ve studii na sladkovodních plžích *Potamopyrgus antipodarum*. Tento druh se rozmnožuje asexuálně a vyskytují se u něj jak tri-, tak tetraploidní linie. V prostředí chudém na fosfor měli tetraploidy ve srovnání s triploidy několikanásobně sníženou míru růstu. V jiné své studii ze stejného roku Neiman et al. (2013)

předpokládá, že v prostředí limitovaném na fosfor by polyploidie, často doprovázející asexualitu mohla své nositele znevýhodňovat oproti sexuálně se rozmnožujícím diploidům.

6.1. Evoluce genovou duplikací

Jednou z teorií je, že ve vývoji obratlovců sehrála důležitou roli duplikace genomu, tato teorie se také označuje jako 2R hypotéza (Ohno 1970). Dva různé geny vzniklé duplikací se označují jako paralogní či paralogy. V dnešní literatuře se také můžeme setkat s pojmem ohnolog, který označuje dva příbuzné geny vzniklé genomovou duplikací. Jak název napovídá, byl tento termín zaveden na počest Susumo Ohna. Ohno předpokládal, že na začátku vývoje obratlovců došlo ke dvěma kompletním genomovým duplikacím a že obratlovci včetně člověka jsou tím pádem příkladem paleopolyploidie. K další genomové duplikaci navíc došlo zřejmě na počátku vývoje kostnatých ryb - Teleostei, což je někdy označováno jako 3R hypotéza (Meyer a van de Peer, 2005).

V průběhu dalších let bylo provedeno několik studií, které Ohnovu teorii podpořily. Jednou z nich je například studie *hox* genů u obratlovců. *Hox* geny u člověka či myši jsou lokalizovány ve čtyřech genových klastrech, přičemž jejich orientace v rámci nich je velmi podobná. Tyto klastry pocházejí pravděpodobně z jednoho původního primordiálního klastru, v rámci něhož docházelo k lokálním genovým duplikacím a později došlo k duplikacím celého klastru. Ze skutečnosti, že jde o celé klastry a ne samotné geny, je zřejmé, že šlo o duplikaci většího rozsahu a je nasnadě, že by mohlo jít o duplikaci genomovou (Kappen et al., 1989). Metodami komparativní genomiky byly zjištěny duplikace i v případě jiných klastrů, například klastru *Fox* (Wotton a Shimeld, 2006)

Vzhledem k tomu, že podle 2R hypotézy došlo k duplikacím genomu při vývoji obratlovců, dá se předpokládat, že u živočichů, u nichž se neuplatnila v evoluci polyploidizace by se genové klastry měly vyskytovat pouze v jedné kopii oproti kopiím čtyřem u obratlovců. Toto pravidlo se označuje jako „one-to-four rule“ (Meyer a Schartl, 1999). Není však uplatnitelné všeobecně, jelikož některé z kopií genu či celé klastry mohou být v průběhu evoluce z genomu deletovány a jak je uvedeno níže, právě k takovým redukcím dochází po polyploidizaci hojně.

V souvislosti s osudem jednotlivých duplikovaných genů se často mluví o dvou základních cestách, kterými se může gen dále vyvíjet. Chromozomovými přestavbami či genovými mutacemi může dojít k procesu, který se označuje jako „non-funcionalization“.

Postupně může dojít k proměně genu na pseudogen nebo jeho úplné ztrátě, přičemž tento proces je obecně častější (Prince a Pickett, 2002). Druhou možností je funkční divergence genu. Tento proces je podstatnou součástí evoluce polyploidů, jelikož se geny po duplikaci mohou vyvíjet odlišnou rychlostí (Blanc a Wolfe, 2004) V souvislosti s funkční divergencí se většinou zmiňují dva možné osudy genu a to „neofunctionalization“ v případě získání nové, adaptivní funkce, či „subfunctionalization“ v případě částečné degenerace duplikovaných genů, kdy má každá kopie mírně odlišnou funkci odvozenou od funkce genu původního (Force et al., 1999). Tato funkce může být například i tkánově specifická (Le Comber et al., 2010).

7. Somatická polyploidie a patologie

Polyploidní buňky se mohou vyskytovat mozaikovitě i v somatických tkáních diploidních organismů. K takové polyploidizaci dochází v rámci jedné buňky endoreduplikací DNA. Tento jev má velký význam v diferenciaci buněčných linií (D'Amato 1989). Endopolyploidní genomy se přirozeně vyskytují například v jaterních buňkách. Lidské hepatocyty mohou být až oktoploidní a počet polyploidních buněk pozitivně koreluje s věkem jedince (Swartz 1956). Endopolyploidní buňky jsou známy i v orgánových soustavách členovců, například v buňkách snovacích žláz bource morušového (*Bombyx mori*), kde dochází až k 20 endomitotickým cyklům v rámci jedné buňky (Perdrix-Gillot 1979). Jako další příklad lze uvést somatické tkáně pohlavních žláz pavouků (Martin Forman, ústní sdělení). V případě, že replikované chromozomy zůstávají přiloženy u sebe, tvoří jeden velký celek, který se označuje jako polyténní chromozom. Tyto chromozomy jsou například ve slinných žlázách larev dvoukřídlých a počty jednotlivých kopií mohou přesáhnout i 16000 n (Zhimulev et al., 2004). Somatická polyploidie však může být i proces patologický a polyploidní nálezy jsou poměrně časté u řady lidských tumorů (Davoli a Lange 2011), dále také narušuje embryonální vývoj. Jako příklad lze uvést studii chromozomových abnormalit u kura domácího (Bloom, 1972) kde triploidní a tetraploidní konstituce je dříve či později v embryonálním vývoji letální. Stejně tak v případě člověka je polyploidie ve většině případů letální již v embryonálním vývoji. Tri- a tetraploidní nálezy jsou v některých studiích nacházeny až u 10% spontánních potratů (Hassold et al.1980). Polyploidie jde pomocí různých technik indukovat i uměle, například působením mitostatik (Dermer 1940) a v případě některých rostlin lze vytvořit syntetické polyploidní linie (Hufton a Panopoulou, 2009; Song et al., 1995). Takové linie lze získat uměle provedenou hybridizací i u některých živočichů.

8. Diploidizace a paleopolyploidie

Obecně se dá říci, že polyploidní genom má tendenci se navracet do diploidního stavu a proto se tento jev označuje termínem diploidizace. Během tohoto procesu dochází k velké řadě strukturních změn na chromozomech, delecím určitých úseků či aktivaci transponovatelných elementů (Ma a Gustafson, 2005; Wolfe, 2001), změnám v methylyaci DNA a RNA interferenci (Soltis a Soltis, 1999). Kvůli těmto postupným změnám může být velmi obtížné polyploidní původ prokázat a je třeba ověřit, zda opravdu došlo v minulosti k duplikaci celého genomu a nikoliv jen k duplikacím menšího rozsahu. Organismus, který prošel procesem diploidizace se označuje jako paleopolyploid. Jedná se tedy o polyploida, který se však jeví cytologicky jako diploid.

Studie provedena na alopolyloidních rostlinách rodu *Tragopogon* ukazuje, že některé lokusy jsou zachovány v duplikované podobě u všech zkoumaných jedinců, zatímco některé další homeologické lokusy jsou z genomu ztraceny, přičemž proces jejich ztráty je zřejmě stochastický. Bylo však objeveno, že dochází ve větší míře ke ztrátám lokusů jednoho rodičovského genomu oproti druhému (Tate et al., 2009). Jev, kdy je z jednoho genomu zachováno více genů než z druhého a jeden z genomů se tedy podílí větší měrou na celkovém genomu resp. transkriptomu, je u alopolyloidů poměrně častý a používají se v souvislosti s ním označení jako „souboj genomů“ či „dominance genomu“. Této problematice se věnoval například Edger et al. (2016), který pozoroval, že změny v expresi jednotlivých subgenomů jsou patrné hned v následujících generacích po hybridizaci a v genomu dochází k epigenetickým změnám, například k methylyaci některých úseků. Podobná studie faktorů majících vliv na přednostní zachování některých duplikovaných sekvencí byla provedena na huseníčku (Thomas et al., 2006) Thomas v tomto případě zjistil, že některé duplikované geny musí být pravděpodobně zachovány v obou subgenomech pro zachování genomové rovnováhy, jelikož jejich produkty interagují s produkty jiných genů a vytváří tím jakési pomyslné genomové síť. Tato hypotéza se obecně označuje jako „gene balance hypothesis“ (Birchler a Veitia, 2007).

8.1. Paleopolyploidie versus neopolyploidie

Chápání pojmů neopolyploid a paleopolyploid se v průběhu historie měnilo. V dnešní době se jako paleopolyploid chápe většinou organismus, který prošel polyploidizací v průběhu svého vývoje, ale jak je zmíněno výše, prošel procesem diploidizace a jeví se cytologicky jako diploid. Guerra (2008) však dodává, že jako paleopolyploid by měl být klasifikován

organismus, jehož nejbližší diploidní předci jsou vymřelí a naopak u neopolyploida jsou tyto linie stále žijící. Tato definice je však sama o sobě poměrně radikální, protože ve většině literatury je paleopolyploid spojován hlavně s procesem diploidizace. Jako jakýsi mezikrok některé studie uvádějí termín „mesopolyploid“ u kterého dosud existuje diploidní předek, a podobnost s ním je stále poměrně dobře patrná a detekovatelná (Ehrendofer 1980; Guerra 2008). Ve většině studií se však s tímto termínem nesetkáme.

Jak bylo zmíněno v této práci, polyploidie je většinou evoluční „dead-end“, proces diploidizace navíc komplikuje detekci polyploidii. Množství doložených paleopolyploidů není proto vysoké (Van de Peer et al., 2009). Neopolyploidi ale často poměrně rychle v přírodě tvoří stabilní populace. Bylo doloženo i několik recentních případů z posledních desetiletí. Jedním z nich je případ několika rostlin z rodu *Tragopogon* – česky kozí brada. *Tragopogon* je rod vyskytující se přirozeně v Eurasii. K introdukci třech druhů tohoto rodu do USA došlo někdy na začátku 20. století. Ve Starém světě se tyto druhy vyskytují alopatricky a ke kontaktu dochází málokdy (Soltis et al., 2004). V USA se však poměrně rychle rozšířily v rámci jedné oblasti a v místě překryvu jejich populací dochází k interspecifické hybridizaci a to mezi libovolnými dvěma druhy z těchto tří. Všechny tři hybridní formy se vyznačují velmi nízkou fertilitou. U dvou z těchto hybridních forem byly objeveny tetraploidní populace, které se vyznačovaly relativní stabilitou genomu v buněčném dělení a dobrou fertilitou (Ownbey, 1950). Vzhledem k době introdukce těchto druhů a s přihlédnutím k jejich šíření jsou tyto případy polyploidizace kolem 90 let staré.

Jak tedy dokládá tato a řada dalších studií zmíněných v této práci, polyploidie je fenomén častý, avšak neopolyploidy od paleopolyploidů rozlišuje hlavně jejich dlouhodobý evoluční úspěch, kterého řada neopolyploidů nedosáhne (Madlung, 2013).

9. Možnosti detekce paleopolyploidie

9.1. Cytogenetické přístupy

9.1.1. Velikost genomu a počet chromozomů

Když v roce 1970 vydal Susumo Ohno svou knihu *Evoluce genovou duplikací*, podporoval svou teorii genomové duplikace hlavně porovnáváním velikostí genomů různých taxonů. Po polyploidizaci však dochází k významným přestavbám genomu, a nedá se tudíž automaticky předpokládat, že by polyploidní organismus měl vyšší obsah DNA než jeho diploidní předek. Komparace velikosti genomu u jednotlivých polyploidních druhů rodu

Nicotiana ukázala, že ve čtyřech případech došlo ke zmenšení genomu a v pěti k jeho zvětšení (Leitch et al., 2008).

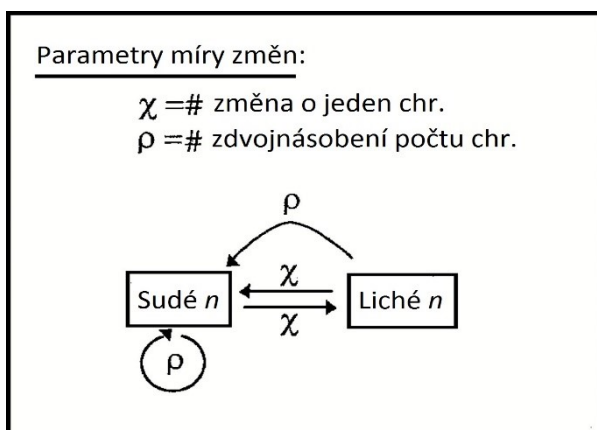
Možností odvodit stupeň ploidie od počtu chromozomů se zabýval již Stebbins (1938). Svou studii prováděl na různých skupinách rostlin, u kterých stanovoval základní chromozomové číslo v rámci každé skupiny a snažil se u každé kvantifikovat relativní četnost polyploidie ve vývoji taxonu. Jeho metodikou většinou bylo stanovit určitou hranici/počet chromozomů od kterého je druh klasifikován jako polyploidní. Obecným problémem takového přístupu je, že opomíjí změny v počtu chromozomů v průběhu evoluce, které nastaly následkem jiných procesů než polyploidie (Glick a Mayrose, 2014).

V modernějších studiích se k odhadu evoluce počtu chromozomů v rámci zkoumaného taxonu používá metoda maximální parsimonie (např. Hansen et al., 2006; Baldwin et al., 2002). Tato metoda se snaží hledat co nejjednodušší evoluční scénář v rámci fylogeneze daného taxonu. Tento přístup má však několik nedostatků. Evolučních scénářů pro daný příklad může být např. několik, může tedy dojít k podhodnocení výskytu některých událostí, například právě polyploidie (Mayrose et al., 2010).

Ke změně počtu chromozomů může kromě polyploidie dojít mnoha různými procesy. V genomu může dojít k nondisjunkcím v buněčném dělení, dále také k fúzím či rozpadu chromozomů. Právě poslední zmíněný případ může způsobit nahlý nárůst počtu chromozomů. Pokud dojde k rozpadu celé chromozomové sady, vznikne diploid s dvojnásobným počtem chromozomů, tento proces se nazývá agmatoploidie (Guerra, 2016). Opačný proces, při kterém dochází k fúzi se nazývá symploidie. Tyto dva procesy znesnadňují diagnostiku stupně ploidie daného genomu, jelikož je potřeba rozpoznat rozdíl mezi nárůstem C-hodnoty a nárůstem počtu chromozomů. C-hodnotou se běžně chápe množství DNA obsažené v haploidní sadě v pikogramech. Tato hodnota však nebere v úvahu stupeň ploidie organismu, proto je lepší vymezit termín jako množství DNA obsažené v nezreplikovaném jádře. Počet chromozomů „ n “ je pak jednoduše označení počtu chromozomů v haploidní sadě. Při agmatoploidii dojde ke zvýšení hodnoty n na dvojnásobek avšak hodnota C zůstane stejná. Vzhledem k povaze tohoto procesu k němu dochází hlavně u organismů s holokinetickými chromozomy, jelikož u nich většinou nedochází po rozpadu chromozomů k problémům s jejich segregací. To je způsobeno tím, že kinetochor holokinetických chromozomů je rozptýlen téměř po celé jejich délce, takže se po rozpadu chromozomu mohou na vzniklé fragmenty stále napojit mikrotubuly dělicího vřeténka. Příkladem zde mohou být některé čeledi motýlů, u nichž se i druhy jednoho rodumohou značně lišit v počtu chromozomů (Lukhtanov, 2014). Příkladem budiž čeleď

Lycaenidae zahrnující rod *Agrodiaetus*, ve kterém se haploidní počet chromozomů pohybuje od $n=10$ do $n=134$. Na první pohled by se mohlo zdát, že u tohoto rodu docházelo k polyploidizaci. Diverzita v počtu chromozomů je však dána pouze fúzemi a rozpady chromozomů (Kandul et al., 2007).

S metodou pro výpočet incidence polyploidie v taxonu na základě sudosti či lichosti haploidního počtu chromozomů n přišly autorky Otto a Whitton (2000). Vychází přitom z předpokladu, že rozložení sudých a lichých hodnot by mělo být přibližně stejné. Pokud ve zkoumaném taxonu výrazně převažují u druhů sudé počty chromozomů, lze usuzovat na častější polyploidii, jelikož polyploidie zdvojnásobením počtu chromozomů vytvoří sudý počet i v případě předchozího lichého počtu. Ve své metodě uvažují tři základní stavy kterými může dojít ke změně počtu chromozomů (vzestupná dysploidie, sestupná dysploidie, polyploidie) a z jejich míry vypočítávají tzv. „polyploidní index“ (viz. obr.3).



Obrázek 3 – model znázorňující přechod mezi sudým a lichým n . Polyploidní index (PI) se vypočítá následujícím způsobem: $PI = \frac{\rho}{\rho + \chi}$, což se dá dále upravit na: $PI = \frac{\# \text{ sudé} - \# \text{ liché}}{\# \text{ sudé}}$ (Otto a Whitton, 2000)

Dysploidie je změna počtu chromozomů o jeden, způsobená jejich rozpadem či fúzí. Polyploidní index může být využit k výpočtu míry speciací, které se v daném taxonu udály díky polyploidii. Jak samy autorky poznamenávají, je tato metoda vhodná pouze pro velké taxonomické skupiny a delší časové rámce, jelikož u blízké příbuzných skupin nemusí být rozdíly v počtu chromozomů pro tyto výpočty relevantní. Tuto metodu dále rozvíjí Mayrose a Otto (2010), kdy navrhují celkem šest pravděpodobnostních modelů založených na Markovových řetězcích pro studium vývoje počtu chromozomů v rámci fylogenetických linií. Každý model předpokládá jinou hypotézu vývoje. Tato metoda má výhodu oproti předchozí v tom, že je možno s její pomocí testovat hypotézy možného vývoje a pro každou přiřadit určitou míru spolehlivosti a dá se uplatnit i v taxonech o relativně malém počtu druhů. Pro práci s těmito modely byl vyvinut volně dostupný software ChromEvol (Glick a Mayrose, 2014).

Podobnou pravděpodobností metodu založenou na Markovových řetězcích vytvořili Hallinan a Lindberg (2011). Rozdílem oproti Mayrosově metodě je použití „birth-death“ procesu, tedy speciálního případu Markovova řetězce, ve kterém se uvažují pouze dva možné přechody mezi jednotlivými stavy. Halliman s Lindbergem použili tuto metodu proto, že dysploidie, tedy ztráta či získání samotného chromozomu je nejčastěji následkem nondisjunkce a tudíž oba procesy nastávají se stejnou pravděpodobností. Druhým přechodem v tomto schématu je tedy logicky duplikace genomu. S touto metodou pracovali na analýze kmene měkkýšů, pro kterou měli určený počet chromozomů pro 997 druhů. Na základě této analýzy identifikovali 3 možné paleopolyploidní události.

9.1.2. Fluorescenční in situ hybridizace (FISH)

Podstatou této metody je denaturace DNA chromozomů na preparátu za přidání fluorescenčně značených sond, které jsou k určité části zkoumané DNA komplementární. Za reasociačních podmínek dojde k hybridizaci vyšetřované DNA a sondy, výsledkem je hybridizační fluorescenční signál, pozorovatelný ve fluorescenčním mikroskopu. Metoda FISH má velké množství modifikací. Jednou z těchto metod používaných při analýze polyploidů je ZOO-FISH, nazývaná také „cross-species chromosome painting“. Při použití tohoto typu FISH se využívají celochromozomové sondy ze dvou rodičovských druhů/karyotypů, které se nechají hybridizovat na preparátu předpokládaného polyploida a umožní tak identifikaci úseků pocházejících od určitého druhu. ZOO-FISH je tedy určitou variací GISH – genomové in situ hybridizace. Problémem této metody je, že DNA knihovny a tudíž chromozomové sondy nejsou komerčně dostupné pro všechny druhy. Příkladem řešení tohoto úskalí je analýza změn počtu chromozomů u ovčích embryí pomocí ZOO-FISH s chromozomy tura domácího. Jelikož jsou si tyto dva druhy geneticky blízké, daly se pomocí hovězích chromozomů identifikovat chromozomy ovčí a tím i abnormality počtu chromozomů nalezené u embryí včetně různých polyploidních stavů (Coppola et al. 2007).

ZOO-FISH, resp. GISH jsou tedy metodami vhodnými pro studium hybridních karyotypů, jelikož umožňují použití rodičovských chromozomů či genomů jako sond pro jejich vizualizaci v karyotypu jejich hybridního potomka. ZOO-FISH byla použita například k identifikaci chromozomů v hybridním komplexu skokanů rodu *Pelophylax* (Zalesna et al., 2011). Vzhledem k tomu, že alopolyploidie je procesem souvisejícím se vzdálenou hybridizací, je hlavním přínosem ZOO-FISH pro problematiku polyploidie studium karyotypu

alopolyploidů. Takové studie byly prováděny například u *Oryza* (Wang et al., 2009) a *Nicotiana* (Chase et al., 2003).

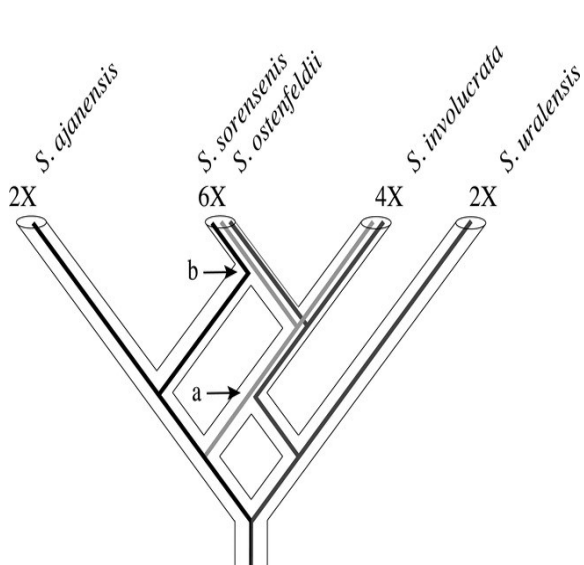
Další příklad využití FISH při studiu polyploidů ukazuje analýza provedena na čtyřech diploidních a jednom tetraploidním druhu (*J. thurifera*) jalovce (rod *Juniperus*) (Vallès et al., 2015). Chromozomy byly v této studii barveny chromomycinem A₃ pro detekci GC bohatých úseků a pomocí FISH byly detekovány sekvence pro 18S, 5.8S a 26S rDNA. V případě tetraploidního druhu nebyly detekovány duplikované úseky pro rDNA a GC bohaté regiony, ve kterých se rDNA lokusy nachází. V podobné studii provedené na jiných druzích tohoto rodu (Nagano et al., 2007) zahrnující taktéž jeden polyploidní druh - *J. chinensis* var. *procumbens*, byly u tohoto druhu duplikované rDNA úseky detekovány. Tato skutečnost i s přihlédnutím ke stáří *J. thurifera* ukazuje na možný paleopolyploidní původ tohoto druhu (Vallès et al., 2015).

9.2. Ostatní přístupy

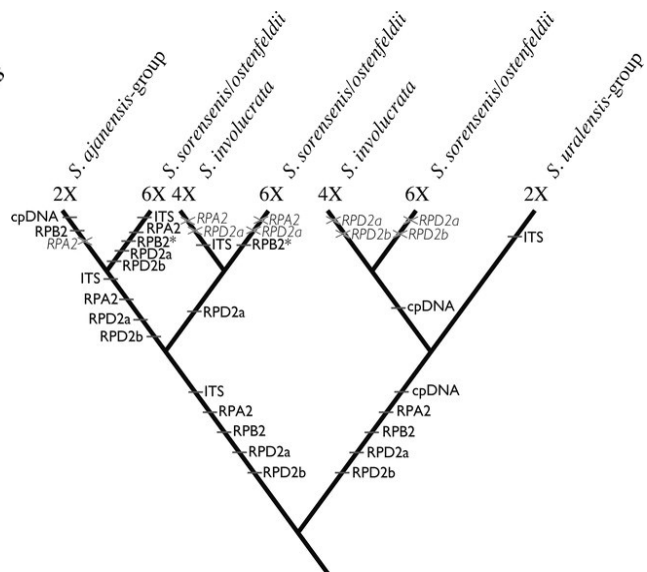
9.2.1. Fylogenetická analýza

Pro detekci polyploidie je důležité znát evoluční historii zkoumaného taxonu a proto se v souvislosti s detekcí polyploidie využívá fylogenetické analýzy. Výsledkem takové analýzy je fylogenetický strom znázorňující nejpravděpodobnější scénář vývoje daného taxonu. K analýze jsou používány geny či sekvence DNA, které byly naklonovány a osekvenovány (Triplett et al., 2012). Problémem fylogenetických stromů je, že v nich nemohou být znázorněny události jako laterální přenos genů či hybridizace, ať už diploidní či polyploidní (alopolyploidie) (Linder a Rieseberg, 2004). V případě duplikace genu nebo celého genomu může nastat případ, kdy v důsledku přítomnosti duplikované kopie dvě (nebo více) větví tohoto stromu mohou být označeny stejně. V takovém genetickém stromu může být tímto označením například název taxonu (druhu). Takový strom se označuje jako „multilabeled tree“ – MUL tree (Czabarka et al., 2013). Ze stromu se pak dá získat fylogenetická síť. Zatímco v klasickém fylogenetickém stromu vychází každá větev jen z jedné rodičovské větve, znázorňují se ve fylogenetické síti i hybridní vztahy a jedna větev tak může vycházet ze dvou rodičovských. Tímto se dají vyznačit události jako alopolyploidie či laterální přenos DNA. Touto metodou se tedy dá rekonstruovat evoluční historie daného taxonu resp. genu (genomu) (Huber et al., 2006). Variace v analyzované sekvenci nemusí automaticky znamenat polyploidii, ale může se jednat o alelickou variaci, duplikaci menšího rozsahu či právě laterální přenos genů (Popp et al., 2005).

Proto se v těchto analýzách užívá souboru stromů pro různé geny/sekvence DNA a hledá se mezi nimi korelace tak, aby výsledná síť odpovídala co možná nejpřesněji skutečnému vývoji taxonu. Příkladem může být studie na polyploidním komplexu silenek (Popp et al., 2005).



Obrázek 4 – fylogenetická síť znázorňující vztahy mezi dvěma diploidními druhy *Silene ajanensis* a *Silene uralensis*. Z analýzy genů jsou patrné dvě hybridizační/polyploidizační události a a b (Popp et al., 2005)



Obrázek 5 – fylogenetický MUL strom odvozený z dílčích genových stromů, podrobených analýze. Tmavě vyznačené sekvence indikují podporu pro dané znázornění větve, šedé ji naopak kontraindikují (Popp et al., 2005)

V této studii byla provedena analýza dvou plastidových a pěti jaderných DNA sekvencí. Z jednotlivých genových stromů byla pak vyhotovena fylogenetická síť, znázorňující nejpravděpodobnější vývoj v daném kladu a odvozen konsenzuální MUL strom (viz. obr. 4,5).

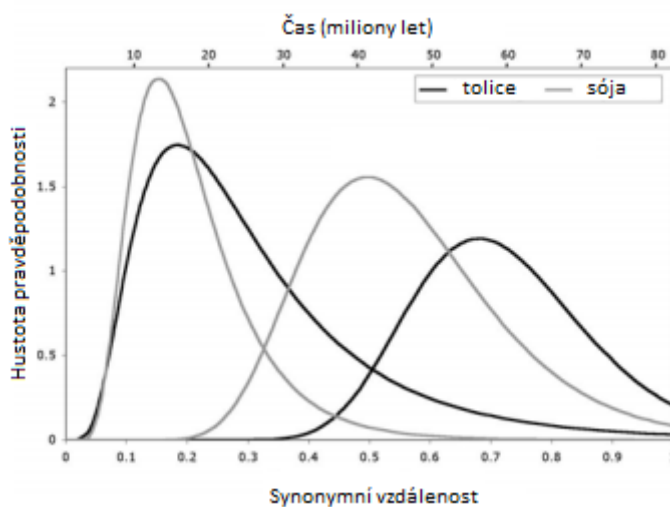
Řada recentních studií se soustřeďuje na vytváření algoritmů pro práci se sadami genových stromů tak, aby se z nich dala vytvořit jedna fylogenetická síť či strom a tím určit nejpravděpodobnější vývojový scénář (viz. Lott et al., 2009; Marcussen et al., 2012; Jones et al., 2012; Triplett et al., 2012).

9.2.2. Molekulární hodiny

Jelikož je polyploidizace událost, při které dochází k duplikaci celého genomu, jednou z metod nabízejících se pro její detekci jsou molekulární hodiny. V průběhu času dochází v sekvenci nukleotidů v DNA k mutacím. Tato metoda vychází z předpokladu, že mutační rychlost v sekvenci DNA je za určitou dobu zhruba konstantní a tudíž duplikované úseky vznikly ve stejnou dobu a měly by vykazovat i stejnou míru substitučních mutací. To je zároveň

i úskalí této metody, jelikož se odhady mutační rychlosti mohou v jednotlivých studiích lišit (Doyle a Egan 2010), ba co víc, liší se u jednotlivých organismů.

Při použití tohoto přístupu se zkoumá počet vzniklých substitucí v nukleotidové sekvenci. Ty se obecně dělí na synonymní (K_s) a nesynonymní (K_n) podle toho, zda ve výsledku mění kódovanou aminokyselinu či nikoliv. Pro účely studií odhadujících stáří a divergenci daných sekvencí se používají hlavně substituce synonymní a to kvůli jejich selekční neutralitě (Blanc a Wolfe, 2004; Cui et al., 2006) Využití této metody v praxi lze doložit například na studii Schlueter et al. (2004), ve které byly studovány synonymní a nesynonymní vzdálenosti (tedy počet substitucí nukleotidů v synonymních/nesynonymních pozicích) u 1392 potenciálně duplikovaných genů v rámci 8 rostlinných druhů, mezi něž byly zahrnuty i dva blízké příbuzné druhy bobovitých rostlin – sója a tollice, které zde budou rozebrány jako příklad. U každého z těchto dvou druhů byly nalezeny dvě duplikace většího rozsahu, přičemž první z nich by mohla znamenat společnou polyploidizaci před divergencí obou druhů (viz. obr. 6). Této



Obrázek 6 – diagram ln-normálního rozdělení synonymních vzdáleností (rozdíl mezi dvěma porovnávanými sekvencemi) ve studovaných genových clusterech jednotlivých druhů. Pokud jsou starší události v případě obou druhů, tedy 44 mya a 58 mya důsledkem jedné polyploidizace před rozdělením obou druhů, vykazuje tollice 1,3x odlišnou míru K_s (synonymní substituce v synonymní pozici kodonu) než soja (Schlueter et al., 2004).

konkrétní události se dále věnuje Pfeil et al. (2005) ve studii 39 genových rodin u sóji a jejich předpokládaných orthologů u tollice, u kterých se pomocí fylogenetické analýzy genových stromů a studií synonymních substitucí snaží odhadnout zda k duplikacím došlo před a nebo až po divergenci obou druhů. Z celkového počtu 39 genových rodin bylo 11 ve prospěch jedné události před divergencí oproti 2 ve prospěch samostatných událostí po divergenci. Zbytek byl nejednoznačný ve prospěch kterékoliv z hypotéz nebo nepodporoval ani jednu z nich. Tato studie ukazuje, že ačkoliv výsledky ze samotného studia synonymních substitucí a informace z fylogenetické analýzy mohou být samy o sobě zavádějící a nepřesné, mohou být v kombinaci

silným indikátorem pro přijetí hypotézy o původu polyploidní události. Kombinací těchto metod byly identifikovány i dvě ancestrální duplikace ve vývoji semenných rostlin – jedna před divergencí krytosemenných a nahosemenných a druhá v linii krytosemenných právě po této divergenci (Jiao et al., 2011).

Problémem přístupů vycházejících z molekulárních hodin je proces diploidizace, a s ním spojená ztráta genů, která polyploidizaci provází. Absence synonymních substitucí při komparativní analýze dvou homologů nemusí znamenat absenci polyploidie ve vývoji dané linie (Leebens-Mack et al., 2006) Problémy také nastávají v případě, kdy polyploidní linie určitého organismu byla založena několikrát nezávisle na sobě a polyploidii není možné s jistotou datovat. Dalším problémem jsou linie, ve kterých jsou nejbližší příbuzní diploidní linie polyploida vyhynulí a datování polyploidní události může být tím pádem výrazně nadhodnoceno (Doyle a Egan, 2010)

9.2.3. Mapovací techniky a sekvenace DNA

Genetické mapování je soubor technik používaných k určení pozice či orientace sekvencí/genů na chromozomech a k určení vzájemné polohy s ostatními sekvencemi/geny. U zkoumaného genomu se hledají právě duplikované sekvence vzniklé polyploidii. Z jejich množství a z orientace jednotlivých úseků DNA se pak dá usoudit, zda k polyploidizaci došlo či nikoliv. Paleopolyploidii lze doložit například u kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*, a to porovnáním jejich sekvencí se sekvencí jejich nejbližších příbuzných. K polyploidizaci došlo v tomto případě zjevně po odštěpení linie *Kluyveromyces* od společné linie s rodem *Saccharomyces*, celý proces byl provázen ztrátou velkého množství duplikované DNA. Polyploidizace je však patrná ze zachovaného množství duplikovaných sekvencí a jejich orientace na chromozomech (Kellis et al., 2004).

Tímto přístupem byly také potvrzeny domněnky o výskytu polyploidie v evoluci huseníčku - *Arabidopsis* (Wolfe, 2001).

Dříve byla poměrně hojně využívána technika RFLP mapování, která se dnes kvůli dostupnějším moderním sekvenačním metodám využívá méně. RFLP – česky „polymorfismus délky restrikčních fragmentů“ funguje na principu štěpení DNA restrikčními endonukleázami ve specifickém místě s následným porovnáváním délky štěpením vzniklých fragmentů. Tuto techniku použila Reinisch et al. (1994) k mapování genomu tetraploidního hybridu bavlníku,

kteří odhalilo homeologické vazebné skupiny v 35,6% genomu. Vztahy mezi těmito vazebnými skupinami ukazují na relativně nedávnou polyploidizaci, která nastala po hybridizaci *Gossypium hirsutum* X *Gossypium barbadense* před cca 1,1- 1,9 miliony let. Asociace mezi dvěma vazebnými skupinami obsahujícími zduplikované úseky však byla v několika případech pozorována i v rámci těchto subgenomů. Tyto případy proto nasvědčují dřívější, paleopolyploidní události ve vývoji bavlníku, zvláště z toho důvodu, že nejednalo o ojedinělou duplikaci, ale 5 různých případů (Reinisch et al., 1994). Díky RFLP mapě byly detekovány také některé duplikované úseky v genomu dalšího rostlinného paleopolyploida – sóji (Shoemaker et al., 2006). Mapovací techniky však samy o sobě nemusí přinést dostačující důkazy o paleopolyploidním původu, proto se často kombinují s jinými zde zmíněnými detekčními přístupy.

Modernější mapovací přístup využívá detekci paleopolyploidie sekvenováním. Ačkoliv se podařilo získat pádné důkazy pro výskyt polyploidie v evoluci mapováním genomu na základě sekvenování (např. výše zmíněná *Saccharomyces* či *Arabidopsis*), naráží tento přístup na problém, že kompletní sekvenování genomu je náročná a nákladná záležitost a je provedeno pouze u některých modelových či jinak významných druhů. Díky metodám NGS („next generation sequencing“) jsou však již dnes poměrně dostupné částečně sekvenované genomy, jako jsou například „ESTs“ (expressed sequence tag) data. Jedná se o fragmenty cDNA získané pomocí reverzní transkripce mRNA studovaného organismu, které se pak ukládají do cDNA bank a dále sekvenují. Tyto fragmenty jsou poměrně krátké a mohou se v nich vyskytovat chyby, ale pomocí některých bioinformatických algoritmů z nich lze poskládat delší úseky, vypovídající nezanedbatelnou měrou o daném genomu (Blanc a Wolfe, 2004). Genomy druhů, u kterých je nashromážděn dostatečný počet EST dat, mohou být podrobeny komparativní analýze homologních sekvencí, například využitím výše zmíněných molekulárních hodin.

Data získaná sekvenováním se také dají využít k fylogenetické analýze genů, jak ukazuje studie 12 jaderných a 1 plastidové sekvence ječmene – *Hordeum*, kdy byly lokusy osekvenovány metodou 454 sekvenování a poté podrobeny analyzovány evoluční vztahy mezi některými diploidními a alopolyploidními druhy tohoto rodu (Brassac a Blattner, 2015). Autoři poznamenávají, že tato studie dokazuje, že lze využít PCR v kombinaci s NGS metodami k určení fylogeneze u některých taxonů, aniž by bylo potřeba generovat/sekvenovat velké množství nadbytečných dat.

Na základě přímého sekvenování genomu byl doložen první případ paleopolyploidie v rámci oddělení Ecdysozoa. Tyto výsledky byly získány sekvenováním genomu 3 ze 4

existujících druhů ostrorepů a následně provedením fylogenetické analýzy jejich *Hox* genů (Kenny et al., 2016).

10. Závěr

Polyploidie je předmětem zájmu biologů již přes 100 let. Dnes je známo, že sehrála významnou roli v evoluci mnoha velkých a diverzifikovaných skupin. Genová redundance spojená s polyploidií dává organismu potenciál k rozvoji nových adaptací a není tedy náhodou, že se polyploidie vyskytuje na bázi evolučně velmi úspěšných linií jako jsou semenné rostliny, obratlovci či hlavonožci v rámci měkkýšů.

Polyploidie má na organismus velmi komplexní dopad a organismy se musí vypořádat s řadou jejích následků. Vzhledem k vyššímu výskytu v rámci různých skupin lze říci, že některé skupiny její dopady snášejí lépe a důvody, proč tomu tak je, stále nelze uspokojivě shrnout a žádají si hlubší výzkum. U polyploidních organismů dochází často ke změnám v rozmnožovacích strategiích a nezdědka lze pozorovat souvislost polyploidie s klonální reprodukcí. K tomu dochází také z toho důvodu, že kvůli zmnožení počtu chromozomů musí dojít k zabezpečení správné segregace chromozomů v buněčném dělení, což může být problém v případě meiotického dělení. Pro komplexní pochopení následků polyploidie na organismus je tedy podstatné studium meiózy a cytologické diploidizace. Adaptivní potenciál polyploidie je patrný i na úrovni jednotlivých buněk v případě endopolyploidie, která má význam v diferenciaci buněčných linií jinak diploidního organismu a klinický význam má její souvislost s nádorovým bujením. Následky polyploidie však zdaleka nejsou pouze cytologické a genetické. Polyploidi mají často oproti blízkce příbuzným diploidům odlišné ekologické nároky které je mohou jak zvýhodňovat, tak znevýhodňovat v určitých prostředích.

Evolučně mladé neopolyploidní linie lze běžně nalézt u řady organismů a dají se často i vytvořit v laboratoři. Detekce v případě neopolyploidů nebývá problematická, jelikož jsou duplikované úseky ve velké míře zachovány. Problematické jsou v tomto ohledu linie paleopolyploidní. Ačkoliv se o polyploidním původu řady skupin organismů dnes již nepochybuje, u velké části dalších je potřeba získat více důkazů pro případné potvrzení či vyvrácení tohoto scénáře. Znamky polyploidie v průběhu času mizí s procesem diploidizace, a je to právě kryptická povaha paleopolyploidních genomů, která polyploidní původ maskuje a znesnadňuje jeho detekci. Ačkoliv v delším časovém měřítku dochází k významným přestavbám duplikovaného genomu, jsou díky vývoji citlivých a moderních detekčních metod získávány nové důkazy pro polyploidní původ řady taxonů. Přesvědčivé důkazy mohou často přinést i teoretické přístupy

založené na statistické kvantifikaci pravděpodobnosti evoluce počtu chromozomů ve studované linii. Podle míry zachované syntenie a konzervace sekvencí DNA jsou pak do určité míry použitelné mapovací přístupy či FISH. Velký potenciál pro detekci paleopolyploidie přináší moderní sekvenační (NGS) metody, díky kterým lze za zlomek dřívější ceny i času získat velké množství dat. Tato data jsou pak dále využitelná pro vyhotovení komplexních fylogenetických analýz využitím genových stromů.

I po desítkách let výzkumu zůstává kolem polyploidie a jejího významu řada nezodpovězených otázek a další výzkum je nutný pro pochopení molekulární podstaty diploidizace a evolučního významu polyploidie. Nové poznatky také slibují přínos pro hospodářské využití polyploidních organismů či medicínu.

11. Seznam použité literatury

- Albertin, W., Marullo, P., 2012. Polyploidy in fungi: evolution after whole-genome duplication. *Proc Biol Sci* 279, 2497–2509. doi:10.1098/rspb.2012.0434
- Baldwin, B.G., Wessa, B.L., Panero, J.L., 2002. Nuclear rDNA Evidence for Major Lineages of Hellenioid Heliantheae (Compositae). *Systematic Botany* 27, 161–198. doi:10.1043/0363-6445-27.1.161
- Barker, M.S., Husband, B.C., Pires, J.C., 2016. Spreading Winge and flying high: The evolutionary importance of polyploidy after a century of study. *Am. J. Bot.* 103, 1139–1145. doi:10.3732/ajb.1600272
- Birchler, J.A., Veitia, R.A., 2007. The Gene Balance Hypothesis: From Classical Genetics to Modern Genomics. *Plant Cell* 19, 395–402. doi:10.1105/tpc.106.049338
- Blanc, G., Wolfe, K.H., 2004a. Functional Divergence of Duplicated Genes Formed by Polyploidy during Arabidopsis Evolution. *The Plant Cell Online* 16, 1679–1691. doi:10.1105/tpc.021410
- Blanc, G., Wolfe, K.H., 2004b. Widespread Paleopolyploidy in Model Plant Species Inferred from Age Distributions of Duplicate Genes. *Plant Cell* 16, 1667–1678. doi:10.1105/tpc.021345
- Bloom, S.E., 1972. Chromosome abnormalities in chicken (*Gallus domesticus*) embryos: Types, frequencies and phenotypic effects. *Chromosoma* 37, 309–326. doi:10.1007/BF00319873
- Bogart, J.P., 1980. Evolutionary Implications of Polyploidy in Amphibians and Reptiles, in: Lewis, W.H. (Ed.), *Polyploidy, Basic Life Sciences*. Springer US, str. 341–378. doi:10.1007/978-1-4613-3069-1_18
- Bomblies, K., Jones, G., Franklin, C., Zickler, D., Kleckner, N., 2016. The challenge of evolving stable polyploidy: could an increase in “crossover interference distance” play a central role? *Chromosoma* 125, 287–300. doi:10.1007/s00412-015-0571-4
- Brassac, J., Blattner, F.R., 2015. Species-Level Phylogeny and Polyploid Relationships in *Hordeum* (Poaceae) Inferred by Next-Generation Sequencing and In Silico Cloning of Multiple Nuclear Loci. *Syst Biol* 64, 792–808. doi:10.1093/sysbio/syv035
- Bridges, C. B. (1921). Genetical and cytological proof of non-disjunction of the fourth chromosome of *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 7(7), 186-192.

- Charlesworth, D., 2002. Plant sex determination and sex chromosomes. *Heredity* 88, 94–101. doi:10.1038/sj.hdy.6800016
- Chase, M.W., Knapp, S., Cox, A.V., Clarkson, J.J., Butsko, Y., Joseph, J., Savolainen, V., Parokonny, A.S., 2003. Molecular Systematics, GISH and the Origin of Hybrid Taxa in *Nicotiana* (Solanaceae). *Ann Bot* 92, 107–127. doi:10.1093/aob/mcg087
- Christiansen, D.G., 2009. Gamete types, sex determination and stable equilibria of all-hybrid populations of diploid and triploid edible frogs (*Pelophylax esculentus*). *BMC Evolutionary Biology* 9, 135. doi:10.1186/1471-2148-9-135
- Chung, K.-S., Hipp, A.L., Roalson, E.H., 2012. Chromosome Number Evolves Independently of Genome Size in a Clade with Nonlocalized Centromeres (carex: Cyperaceae). *Evolution* 66, 2708–2722. doi:10.1111/j.1558-5646.2012.01624.x
- Cifuentes, M., Grandont, L., Moore, G., Chèvre, A.M., Jenczewski, E., 2010. Genetic regulation of meiosis in polyploid species: new insights into an old question. *New Phytologist* 186, 29–36. doi:10.1111/j.1469-8137.2009.03084.x
- Comai, L., 2005. The advantages and disadvantages of being polyploid. *Nat Rev Genet* 6, 836–846. doi:10.1038/nrg1711
- Comai, L., Tyagi, A.P., Lysak, M.A., 2003. FISH analysis of meiosis in *Arabidopsis* allopolyploids. *Chromosome Res* 11, 217–226. doi:10.1023/A:1022883709060
- Coppola, G., Alexander, B., Berardino, D.D., John, E.S., Basrur, P.K., King, W.A., 2007. Use of cross-species in-situ hybridization (ZOO-FISH) to assess chromosome abnormalities in day-6 in-vivo- or in-vitro-produced sheep embryos. *Chromosome Res* 15, 399–408. doi:10.1007/s10577-007-1125-2
- Creasy, M.R., Crolla, J.A., Alberman, E.D., 1976. A cytogenetic study of human spontaneous abortions using banding techniques. *Hum Genet* 31, 177–196. doi:10.1007/BF00296145
- Cui, L., Wall, P.K., Leebens-Mack, J.H., Lindsay, B.G., Soltis, D.E., Doyle, J.J., Soltis, P.S., Carlson, J.E., Arumuganathan, K., Barakat, A., Albert, V.A., Ma, H., dePamphilis, C.W., 2006. Widespread genome duplications throughout the history of flowering plants. *Genome Res* 16, 738–749. doi:10.1101/gr.4825606
- Czabarka, É., Erdős, P.L., Johnson, V., Moulton, V., 2013. Generating Functions for Multi-labeled Trees. *Discrete Appl Math* 161, 107–117. doi:10.1016/j.dam.2012.08.010
- D'Amato, F. (1989). Polyploidy in cell differentiation. *Caryologia*, 42(3-4), 183-211.
- Davoli, T., Lange, T. de, 2011. The Causes and Consequences of Polyploidy in Normal Development and Cancer. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 27, 585–610. doi:10.1146/annurev-cellbio-092910-154234

- Dermen, H., 1940. Colchicine polyploidy and technique. *Bot. Rev* 6, 599–635. doi:10.1007/BF02919557
- Donnison, I.S., Siroky, J., Vyskot, B., Saedler, H., Grant, S.R., 1996. Isolation of Y Chromosome-Specific Sequences from *Silene Latifolia* and Mapping of Male Sex-Determining Genes Using Representational Difference Analysis. *Genetics* 144, 1893–1901.
- Doyle, J.J., Egan, A.N., 2010. Dating the origins of polyploidy events. *New Phytologist* 186, 73–85. doi:10.1111/j.1469-8137.2009.03118.x
- Edger, P.P., Smith, R.D., McKain, M.R., Cooley, A.M., Vallejo-Marin, M., Yuan, Y., Bewick, A.J., Ji, L., Platts, A.E., Bowman, M.J., Childs, K.L., Schmitz, R.J., Smith, G.D., Pires, J.C., Puzey, J.R., 2016. Subgenome dominance in an interspecific hybrid, synthetic allopolyploid, and a 140 year old naturally established neo-allopolyploid monkeyflower. *bioRxiv* 094797. doi:10.1101/094797
- Ehrendorfer, F., 1980. Polyploidy and Distribution, in: *Polyploidy, Basic Life Sciences*. Springer, Boston, MA, str. 45–60. doi:10.1007/978-1-4613-3069-1_3
- Enesco, H.E., Laskey, M.I., Fisman, M., 1986. Changes in Polyploidy During Aging in Human Liver. *Canadian Journal on Aging / La Revue canadienne du vieillissement* 5, 249–255. doi:10.1017/S0714980800008102
- Evans, B.J., Upham, N.S., Golding, G.B., Ojeda, R.A., Ojeda, A.A., 2017. Evolution of the Largest Mammalian Genome. *Genome Biol Evol* 9, 1711–1724. doi:10.1093/gbe/evx113
- Feldman, M., Levy, A.A., 2005. Allopolyploidy – a shaping force in the evolution of wheat genomes. *Cytogenet Genome Res* 109, 250–258. doi:10.1159/000082407
- Force, A., Lynch, M., Pickett, F.B., Amores, A., Yan, Y., Postlethwait, J., 1999. Preservation of Duplicate Genes by Complementary, Degenerative Mutations. *Genetics* 151, 1531–1545.
- Gale, M.D., Devos, K.M., 1998. Plant Comparative Genetics after 10 Years. *Science* 282, 656–659. doi:10.1126/science.282.5389.656
- Gallardo, M.H., González, C.A., Cebrián, I., 2006. Molecular cytogenetics and allotetraploidy in the red vizcacha rat, *Tympanoctomys barrerae* (Rodentia, Octodontidae). *Genomics* 88, 214–221. doi:10.1016/j.ygeno.2006.02.010
- Gates, R.R., 1924. Polyploidy. *Journal of Experimental Biology* 1, 153–182.
- Gill, N., Findley, S., Walling, J.G., Hans, C., Ma, J., Doyle, J., Stacey, G., Jackson, S.A., 2009. Molecular and Chromosomal Evidence for Allopolyploidy in Soybean. *Plant Physiology* 151, 1167–1174. doi:10.1104/str.109.137935

- Glick, L., Mayrose, I., 2014. ChromEvol: Assessing the Pattern of Chromosome Number Evolution and the Inference of Polyploidy along a Phylogeny. *Mol Biol Evol* 31, 1914–1922. doi:10.1093/molbev/msu122
- 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, 749–752. doi:10.1038/nature04434
- Guerra, M., 2016. Agmatoploidy and symploidy: a critical review. *Genet Mol Biol* 39, 492–496. doi:10.1590/1678-4685-GMB-2016-0103
- Guerra, M., 2008. Chromosome numbers in plant cytotaxonomy: concepts and implications. *CGR* 120, 339–350. doi:10.1159/000121083
- Gui, J., Zhou, L., 2010. Genetic basis and breeding application of clonal diversity and dual reproduction modes in polyploid *Carassius auratus gibelio*. *Sci. China Life Sci.* 53, 409–415. doi:10.1007/s11427-010-0092-6
- Hallinan, N.M., Lindberg, D.R., 2011. Comparative Analysis of Chromosome Counts Infers Three Paleopolyploidies in the Mollusca. *Genome Biol Evol* 3, 1150–1163. doi:10.1093/gbe/evr087
- Hansen, A.K., Gilbert, L.E., Simpson, B.B., Downie, S.R., Cervi, A.C., Jansen, R.K., 2006. Phylogenetic Relationships and Chromosome Number Evolution in *Passiflora*. *Systematic Botany* 31, 138–150. doi:10.1600/036364406775971769
- Hassold, T., Chen, N., Funkhouser, J., Jooss, T., Manuel, B., Matsuura, J., Matsuyama, A., Wilson, C., Yamane, J.A., Jacobs, P.A., 1980. A cytogenetic study of 1000 spontaneous abortions. *Annals of Human Genetics* 44, 151–164. doi:10.1111/j.1469-1809.1980.tb00955.x
- Holt, C.M., 1917. Multiple complexes in the alimentary tract of *Culex pipiens*. *Journal of Morphology* 29, 607–627. doi:10.1002/jmor.1050290208
- Huber, K.T., Oxelman, B., Lott, M., Moulton, V., 2006. Reconstructing the Evolutionary History of Polyploids from Multilabeled Trees. *Mol Biol Evol* 23, 1784–1791. doi:10.1093/molbev/msl045
- Hufton, A.L., Panopoulou, G., 2009. Polyploidy and genome restructuring: a variety of outcomes. *Current Opinion in Genetics & Development* 19, 600–606. doi:10.1016/j.gde.2009.10.005
- Husband, B.C., Sabara, H.A., 2004. Reproductive isolation between autotetraploids and their diploid progenitors in fireweed, *Chamerion angustifolium* (Onagraceae). *New Phytologist* 161, 703–713. doi:10.1046/j.1469-8137.2004.00998.x
- Janko, K., Kotusz, J., De Gelas, K., Šlechtová, V., Opoldusová, Z., Drozd, P., ... & Baláž, M. (2012). Dynamic formation of asexual diploid and polyploid lineages: multilocus analysis of *Cobitis* reveals the mechanisms maintaining the diversity of clones. *PLoS One*, 7(9), e45384.

- Jarne, P., Charlesworth, D., 1993. The Evolution of the Selfing Rate in Functionally Hermaphrodite Plants and Animals. *Annual Review of Ecology and Systematics* 24, 441–466. doi:10.1146/annurev.es.24.110193.002301
- Jiao, Y., Wickett, N.J., Ayyampalayam, S., Chanderbali, A.S., Landherr, L., Ralph, P.E., Tomsho, L.P., Hu, Y., Liang, H., Soltis, P.S., Soltis, D.E., Clifton, S.W., Schlarbaum, S.E., Schuster, S.C., Ma, H., Leebens-Mack, J., dePamphilis, C.W., 2011. Ancestral polyploidy in seed plants and angiosperms. *Nature* 473, 97–100. doi:10.1038/nature09916
- Jones, G., Sagitov, S., Oxelman, B., 2012. Statistical Inference of Allopolyploid Species Networks in the Presence of Incomplete Lineage Sorting. arXiv:1208.3606 [q-bio, stat].
- Jr, W.H.W., Wagner, F.S., 1980. Polyploidy in Pteridophytes, in: Lewis, W.H. (Ed.), *Polyploidy, Basic Life Sciences*. Springer US, str. 199–214. doi:10.1007/978-1-4613-3069-1_11
- Kandul, N.P., Lukhtanov, V.A., Pierce, N.E., 2007. Karyotypic Diversity and Speciation in *Agrodiaetus* Butterflies. *Evolution* 61, 546–559. doi:10.1111/j.1558-5646.2007.00046.x
- Kappen, C., Schughart, K., Ruddle, F.H., 1989. Two steps in the evolution of Antennapedia-class vertebrate homeobox genes. *PNAS* 86, 5459–5463.
- Kellis, Birren, Lander, 2004. Proof and evolutionary analysis of ancient genome duplication in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Nature* 428, 617–624.
- Kenny, N.J., Chan, K.W., Nong, W., Qu, Z., Maeso, I., Yip, H.Y., Chan, T.F., Kwan, H.S., Holland, P.W.H., Chu, K.H., Hui, J.H.L., 2016. Ancestral whole-genome duplication in the marine chelicerate horseshoe crabs. *Heredity (Edinb)* 116, 190–199. doi:10.1038/hdy.2015.89
- Král, J., Kořínková, T., Krkavcová, L., Musilová, J., Forman, M., Herrera, I.M.Á., Haddad, C.R., Vítková, M., Henriques, S., Vargas, J.G.P., Hedin, M., 2013. Evolution of karyotype, sex chromosomes, and meiosis in mygalomorph spiders (Araneae: Mygalomorphae). *Biol J Linn Soc* 109, 377–408. doi:10.1111/bij.12056
- Kuta, E., L, P., 1997. Polyploidy in mosses. *Acta Biologica Cracoviensia. Series Botanica*.
- Lagercrantz, U., Lydiate, D.J., 1996a. Comparative Genome Mapping in Brassica. *Genetics* 144, 1903–1910.
- Lagercrantz, U., Lydiate, D.J., 1996b. Comparative Genome Mapping in Brassica. *Genetics* 144, 1903–1910.
- Le Comber, S.C., Ainouche, M.L., Kovarik, A., Leitch, A.R., 2010. Making a functional diploid: from polysomic to disomic inheritance. *New Phytologist* 186, 113–122. doi:10.1111/j.1469-8137.2009.03117.x
- Leebens-Mack, J.H., Wall, K., Duarte, J., Zheng, Z., Oppenheimer, D., Depamphilis, C., 2006. A Genomics Approach to the Study of Ancient Polyploidy and Floral Developmental Genetics,

- in: Research, B.-A. in B. (Ed.), *Developmental Genetics of the Flower*. Academic Press, str. 527–549. doi:10.1016/S0065-2296(06)44014-3
- Leitch, A.R., Leitch, I.J., 2008. Genomic Plasticity and the Diversity of Polyploid Plants. *Science* 320, 481–483. doi:10.1126/science.1153585
- Leitch, I.J., Hanson, L., Lim, K.Y., Kovarik, A., Chase, M.W., Clarkson, J.J., Leitch, A.R., 2008. The Ups and Downs of Genome Size Evolution in Polyploid Species of *Nicotiana* (Solanaceae). *Ann Bot* 101, 805–814. doi:10.1093/aob/mcm326
- Linder, C.R., Rieseberg, L.H., 2004. Reconstructing patterns of reticulate evolution in plants. *Am. J. Bot.* 91, 1700–1708. doi:10.3732/ajb.91.10.1700
- Liu, H.-M., Dyer, R.J., Guo, Z.-Y., Meng, Z., Li, J.-H., Schneider, H., 2012. The Evolutionary Dynamics of Apomixis in Ferns: A Case Study from Polystichoid Ferns [WWW Document]. *Journal of Botany*. doi:10.1155/2012/510478
- Lloyd, A., Bomblies, K., 2016. Meiosis in autopolyploid and allopolyploid *Arabidopsis*. *Current Opinion in Plant Biology*, SI: 30: Genome studies and molecular genetics 30, 116–122. doi:10.1016/j.pbi.2016.02.004
- Lokki, J., Saura, A., 1980. Polyploidy in Insect Evolution, in: Lewis, W.H. (Ed.), *Polyploidy, Basic Life Sciences*. Springer US, str. 277–312. doi:10.1007/978-1-4613-3069-1_16
- Lott, M., Spillner, A., Huber, K.T., Petri, A., Oxelman, B., Moulton, V., 2009. Inferring polyploid phylogenies from multiply-labeled gene trees. *BMC Evolutionary Biology* 9, 216. doi:10.1186/1471-2148-9-216
- Lukhtanov, V.A., 2014. Chromosome number evolution in skippers (Lepidoptera, Hesperiiidae). *Comp Cytogenet* 8, 275–291. doi:10.3897/CompCytogen.v8i4.8789
- Lundin, L.G., 1993. Evolution of the Vertebrate Genome as Reflected in Paralogous Chromosomal Regions in Man and the House Mouse. *Genomics* 16, 1–19. doi:10.1006/geno.1993.1133
- Lutz, A.M., 1907. A Preliminary Note on the Chromosomes of *Cenothera Lamarckiana* and One of its Mutants, *O. Gigas*. *Science* 26, 151–152.
- Lyon, M.F., 1999. X-chromosome inactivation. *Current Biology* 9, R235–R237. doi:10.1016/S0960-9822(99)80151-1
- Ma, X.-F., Gustafson, J.P., 2005. Genome evolution of allopolyploids: a process of cytological and genetic diploidization. *CGR* 109, 236–249. doi:10.1159/000082406
- Mable, B.K., 2004. “Why polyploidy is rarer in animals than in plants”: myths and mechanisms. *Biological Journal of the Linnean Society* 82, 453–466. doi:10.1111/j.1095-8312.2004.00332.x
- Maddison, W.P., Midford, P.E., Otto, S.P., Oakley, T., 2007. Estimating a Binary Character’s Effect on Speciation and Extinction. *Syst Biol* 56, 701–710. doi:10.1080/10635150701607033

- Madlung, A., 2013. Polyploidy and its effect on evolutionary success: old questions revisited with new tools. *Heredity* 110, 99–104. doi:10.1038/hdy.2012.79
- Manolakou, P., Lavranos, G., Angelopoulou, R., 2006. Molecular patterns of sex determination in the animal kingdom: a comparative study of the biology of reproduction. *Reproductive Biology and Endocrinology* 4, 59. doi:10.1186/1477-7827-4-59
- Marcussen, T., Jakobsen, K.S., Danihelka, J., Ballard, H.E., Blaxland, K., Brysting, A.K., Oxelman, B., 2012. Inferring Species Networks from Gene Trees in High-Polyploid North American and Hawaiian Violets (*Viola*, Violaceae). *Syst Biol* 61, 107–126. doi:10.1093/sysbio/syr096
- Masterson, 1994. Stomatal size in fossil plants: Evidence for polyploidy in. *Science* 264, 421.
- Matsunaga, S., Kawano, S., 2001. Sex Determination by Sex Chromosomes in Dioecious Plants. *Plant Biology* 3, 481–488. doi:10.1055/s-2001-17735
- Mayr, E., 1942. *Systematics and the Origin of Species, from the Viewpoint of a Zoologist*. Harvard University Press.
- Mayrose, I., Barker, M.S., Otto, S.P., 2010. Probabilistic Models of Chromosome Number Evolution and the Inference of Polyploidy. *Systematic Biology* 59, 132–144.
- Mayrose, I., Zhan, S.H., Rothfels, C.J., Magnuson-Ford, K., Barker, M.S., Rieseberg, L.H., Otto, S.P., 2011. Recently Formed Polyploid Plants Diversify at Lower Rates. *Science* 333, 1257–1257. doi:10.1126/science.1207205
- McLysaght, A., Hokamp, K., Wolfe, K.H., 2002. Extensive genomic duplication during early chordate evolution. *Nat Genet* 31, 200–204. doi:10.1038/ng884
- Messing, J., 2009. The Polyploid Origin of Maize, in: Bennetzen, J.L., Hake, S. (Eds.), *Handbook of Maize*. Springer New York, str. 221–238. doi:10.1007/978-0-387-77863-1_11
- Meyer, A., Schartl, M., 1999. Gene and genome duplications in vertebrates: the one-to-four (-to-eight in fish) rule and the evolution of novel gene functions. *Current Opinion in Cell Biology* 11, 699–704. doi:10.1016/S0955-0674(99)00039-3
- Meyer, A., Van de Peer, Y., 2005. From 2R to 3R: evidence for a fish-specific genome duplication (FSGD). *Bioessays* 27, 937–945. doi:10.1002/bies.20293
- Muller, H.J., 1925. Why Polyploidy is Rarer in Animals Than in Plants. *The American Naturalist* 59, 346–353.
- Müntzing, A., 1936. The Evolutionary Significance of Autopolyploidy. *Hereditas* 21, 363–378. doi:10.1111/j.1601-5223.1936.tb03204.x
- Nagano, K., Matoba, H., Yonemura, K., Matsuda, Y., Murata, T., & Hoshi, Y. (2007). Karyotype analysis of three *Juniperus* species using fluorescence in situ hybridization (FISH) with two ribosomal RNA genes. *Cytologia*, 72(1), 37-42.

- Neiman, M., Kay, A.D., Krist, A.C., 2013. Can resource costs of polyploidy provide an advantage to sex? *Heredity* 110, 152–159. doi:10.1038/hdy.2012.78
- Neiman, Maurine, Kay, A.D., Krist, A.C., 2013. Sensitivity to Phosphorus Limitation Increases with Ploidy Level in a New Zealand Snail. *Evolution* 67, 1511–1517. doi:10.1111/evo.12026
- Ohno S. (1970) *Evoluce genovou duplikací*. (Academia, Praha)
- Orr, H.A., 1990. “Why Polyploidy is Rarer in Animals Than in Plants” Revisited. *The American Naturalist* 136, 759–770.
- Otto, S.P., Whitton, J., 2000. Polyploid Incidence and Evolution. *Annual Review of Genetics* 34, 401–437. doi:10.1146/annurev.genet.34.1.401
- Otto, S. P. (2007). The evolutionary consequences of polyploidy. *Cell*, 131(3), 452-462.
- Ownbey, M., 1950. Natural Hybridization and Amphiploidy in the Genus *Tragopogon*. *American Journal of Botany* 37, 487–499. doi:10.2307/2438023
- Parisod, C., Holderegger, R., Brochmann, C., 2010. Evolutionary consequences of autopolyploidy. *New Phytologist* 186, 5–17. doi:10.1111/j.1469-8137.2009.03142.x
- Parkinson, J., Blaxter, M., 2009. Expressed Sequence Tags: An Overview, in: Parkinson, J. (Ed.), *Expressed Sequence Tags (ESTs), Methods in Molecular Biology*. Humana Press, str. 1–12. doi:10.1007/978-1-60327-136-3_1
- Perdrix-Gillot, S., 1979. DNA synthesis and endomitoses in the giant nuclei of the silk gland of *Bombyx mori*. *Biochimie* 61, 171–204. doi:10.1016/S0300-9084(79)80066-8
- Pfeil, B.E., Schlueter, J.A., Shoemaker, R.C., Doyle, J.J., Page, R., 2005. Placing Paleopolyploidy in Relation to Taxon Divergence: A Phylogenetic Analysis in Legumes Using 39 Gene Families. *Syst Biol* 54, 441–454. doi:10.1080/10635150590945359
- Popp, M., Erixon, P., Eggens, F., Oxelman, B., Ranker, T.A., 2005. Origin and Evolution of a Circumpolar Polyploid Species Complex in *Silene* (Caryophyllaceae) Inferred from Low Copy Nuclear RNA Polymerase Introns, rDNA, and Chloroplast DNA. *Systematic Botany* 30, 302–313. doi:10.1600/0363644054223648
- Prince, V.E., Pickett, F.B., 2002. Splitting pairs: the diverging fates of duplicated genes. *Nat Rev Genet* 3, 827–837. doi:10.1038/nrg928
- Ramsey, J., 2011. Polyploidy and ecological adaptation in wild yarrow. *PNAS* 108, 7096–7101. doi:10.1073/pnas.1016631108
- Ramsey, J., Schemske, and D.W., 1998. Pathways, Mechanisms, and Rates of Polyploid Formation in Flowering Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29, 467–501. doi: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. doi:10.1146/annurev.ecolsys.33.010802.150437
- Reinisch, A.J., Dong, J.M., Brubaker, C.L., Stelly, D.M., Wendel, J.F., Paterson, A.H., 1994. A detailed RFLP map of cotton, *Gossypium hirsutum* x *Gossypium barbadense*: chromosome organization and evolution in a disomic polyploid genome. *Genetics* 138, 829–847.
- 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, 1533–1540.
- Schlueter, J.A., Dixon, P., Granger, C., Grant, D., Clark, L., Doyle, J.J., Shoemaker, R.C., 2004. Mining EST databases to resolve evolutionary events in major crop species. *Genome* 47, 868–876. doi:10.1139/g04-047
- Scholes, D., Suarez, A., Smith, A., Johnston, S., Paige, K., 2014. Organ-specific patterns of endopolyploidy in the giant ant *Dinoponera australis*. *Journal of Hymenoptera Research* 37, 113–126. doi:10.3897/jhr.37.6824
- Segraves, K.A., Thompson, J.N., 1999. Plant Polyploidy and Pollination: Floral Traits and Insect Visits to Diploid and Tetraploid *Heuchera grossulariifolia*. *Evolution* 53, 1114–1127. doi:10.2307/2640816
- Shoemaker, R.C., Schlueter, J., Doyle, J.J., 2006. Paleopolyploidy and gene duplication in soybean and other legumes. *Current Opinion in Plant Biology, Genome studies and molecular genetics: Part 1: Model legumes / edited by Nevin D Young and Randy C Shoemaker; Part 2: Maize genomics / edited by Susan R Wessler. Plant biotechnology / edited by John Salmeron and Luis R Herrera-Estrella* 9, 104–109. doi:10.1016/j.pbi.2006.01.007
- Šmarda, P., Hejzman, M., Březinová, A., Horová, L., Steigerová, H., Zedek, F., Bureš, P., Hejzmanová, P., Schellberg, J., 2013. Effect of phosphorus availability on the selection of species with different ploidy levels and genome sizes in a long-term grassland fertilization experiment. *New Phytol* 200, 911–921. doi:10.1111/nph.12399
- Soltis, D.E., Soltis, P.S., 1999. Polyploidy: recurrent formation and genome evolution. *Trends in Ecology & Evolution* 14, 348–352. doi:10.1016/S0169-5347(99)01638-9
- Soltis, D.E., Soltis, P.S., Pires, J.C., Kovarik, A., Tate, J.A., Mavrodiev, E., 2004. Recent and recurrent polyploidy in *Tragopogon* (Asteraceae): cytogenetic, genomic and genetic comparisons. *Biological Journal of the Linnean Society* 82, 485–501. doi:10.1111/j.1095-8312.2004.00335.x

- Soltis, D.E., Soltis, P.S., Schemske, D.W., Hancock, J.F., Thompson, J.N., Husband, B.C., Judd, W.S., 2007. Autopolyploidy in angiosperms: have we grossly underestimated the number of species? *Taxon* 56, 13–30.
- Song, K., Lu, P. I. N. G., Tang, K., & Osborn, T. C. (1995). Rapid genome change in synthetic polyploids of Brassica and its implications for polyploid evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(17), 7719-7723.
- Stebbins, G.L., 1938. Cytological Characteristics Associated with the Different Growth Habits in the Dicotyledons. *American Journal of Botany* 25, 189–198. doi:10.2307/2436589
- Stenberg, P., Lundmark, M., Knutelski, S., Saura, A., 2003. Evolution of Clonality and Polyploidy in a Weevil System. *Mol Biol Evol* 20, 1626–1632. doi:10.1093/molbev/msg180
- Storchova, Z., Pellman, D., 2004. From polyploidy to aneuploidy, genome instability and cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol* 5, 45–54. doi:10.1038/nrm1276
- Swartz, F.J., 1956. The development in the human liver of multiple desoxyribose nucleic acid (DNA) classes and their relationship to the age of the individual. *Chromosoma* 8, 53–72. doi:10.1007/BF01259493
- Tate, J.A., Joshi, P., Soltis, K.A., Soltis, P.S., Soltis, D.E., 2009. On the road to diploidization? Homeolog loss in independently formed populations of the allopolyploid *Tragopogon miscellus* (Asteraceae). *BMC Plant Biology* 9, 80. doi:10.1186/1471-2229-9-80
- Thomas, B.C., Pedersen, B., Freeling, M., 2006. Following tetraploidy in an Arabidopsis ancestor, genes were removed preferentially from one homeolog leaving clusters enriched in dose-sensitive genes. *Genome Res.* 16, 934–946. doi:10.1101/gr.4708406
- Thompson, J.N., Merg, K.F., 2008. Evolution of Polyploidy and The Diversification of Plant-Pollinator Interactions. *Ecology* 89, 2197–2206.
- Triplett, J.K., Wang, Y., Zhong, J., Kellogg, E.A., 2012. Five Nuclear Loci Resolve the Polyploid History of Switchgrass (*Panicum virgatum* L.) and Relatives. *PLOS ONE* 7, e38702. doi:10.1371/journal.pone.0038702
- Vallès, J., Garnatje, T., Robin, O., & Siljak-Yakovlev, S. (2015). Molecular cytogenetic studies in western Mediterranean *Juniperus* (Cupressaceae): a constant model of GC-rich chromosomal regions and rDNA loci with evidences for paleopolyploidy. *Tree Genetics & Genomes*, 11(3), 43.
- Van de Peer, Y., Maere, S., Meyer, A., 2009. The evolutionary significance of ancient genome duplications. *Nat Rev Genet* 10, 725–732. doi:10.1038/nrg2600
- Van de Peer, Y., Mizrachi, E., Marchal, K., 2017. The evolutionary significance of polyploidy. *Nat Rev Genet* 18, 411–424. doi:10.1038/nrg.2017.26

- Vasil'ev, V.P., 2009. Mechanisms of Polyploid Evolution in Fish: Polyploidy in Sturgeons, in: *Biology, Conservation and Sustainable Development of Sturgeons, Fish & Fisheries Series*. Springer, Dordrecht, str. 97–117. doi:10.1007/978-1-4020-8437-9_6
- Viera, A., Rufas, J.S., Martínez, I., Barbero, J.L., Ortega, S., Suja, J.A., 2009. CDK2 is required for proper homologous pairing, recombination and sex-body formation during male mouse meiosis. *J Cell Sci* 122, 2149–2159. doi:10.1242/jcs.046706
- Villarreal, J.C., Renner, S.S., 2013. Correlates of monoicy and dioicy in hornworts, the apparent sister group to vascular plants. *BMC Evolutionary Biology* 13, 239. doi:10.1186/1471-2148-13-239
- Wagner, W.H., Wagner, F.S., 1980. Polyploidy in Pteridophytes, in: Lewis, W.H. (Ed.), *Polyploidy: Biological Relevance*. Springer US, Boston, MA, str. 199–214. doi:10.1007/978-1-4613-3069-1_11
- Wang, B., Ding, Z., Liu, W., Pan, J., Li, C., Ge, S., Zhang, D., 2009. Polyploid evolution in *Oryza officinalis* complex of the genus *Oryza*. *BMC Evolutionary Biology* 9, 250. doi:10.1186/1471-2148-9-250
- Westergaard, M. (1958). The mechanism of sex determination in dioecious flowering plants. *Advances in genetics*, 9, 217-281.
- Wolfe, K.H., 2001. Yesterday's polyploids and the mystery of diploidization. *NAT. REV. GENET* 2, 333–341. doi:10.1038/35072009
- Wotton, K.R., Shimeld, S.M., 2006. Comparative genomics of vertebrate Fox cluster loci. *BMC Genomics* 7, 271. doi:10.1186/1471-2164-7-271
- Wu, C., Sun, S., Nimmakayala, P., Santos, F.A., Meksem, K., Springman, R., Ding, K., Lightfoot, D.A., Zhang, H.-B., 2004. A BAC- and BIBAC-Based Physical Map of the Soybean Genome. *Genome Res.* 14, 319–326. doi:10.1101/gr.1405004
- Wu, J. H., Datson, P. M., Manako, K. I., & Murray, B. G. (2014). Meiotic chromosome pairing behaviour of natural tetraploids and induced autotetraploids of *Actinidia chinensis*. *Theoretical and applied genetics*, 127(3), 549-557.
- Wyatt, R., Odrzykoski, I.J., Stoneburner, A., Bass, H.W., Galau, G.A., 1988. Allopolyploidy in bryophytes: Multiple origins of *Plagiomnium medium*. *PNAS* 85, 5601–5604.
- Zalešna, A., Choleva, L., Ogielska, M., Rábová, M., Marec, F., Ráb, P., 2011. Evidence for Integrity of Parental Genomes in the Diploid Hybridogenetic Water Frog *Pelophylax esculentus* by Genomic in situ Hybridization. *CGR* 134, 206–212. doi:10.1159/000327716
- Zhang, J., 2003. Evolution by gene duplication: an update. *Trends in Ecology & Evolution* 18, 292–298. doi:10.1016/S0169-5347(03)00033-8

Zhimulev, I.F., Belyaeva, E.S., Semeshin, V.F., Koryakov, D.E., Demakov, S.A., Demakova, O.V., Pokholkova, G.V., Andreyeva, E.N., 2004. Polytene Chromosomes: 70 Years of Genetic Research. *International Review of Cytology* 241, 203–275. doi:10.1016/S0074-7696(04)41004-3