

Záznam o průběhu obhajoby

Mgr. Michal Sochor

Botanika

Studijní obor:

Katedra botaniky, PřF UP v Olomouci

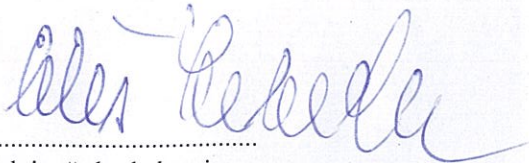
Školící pracoviště:

prof. Ing. Aleš Lebeda, DrSc.

Předseda komise:

1. Zahájení obhajoby
2. Představení členů komise.
3. Představení doktrandy a jejího kodexu školitelů.
4. Představení rozkladu a její doktrandy.
5. Převzetí odpovědnosti za posudek a odpovědi disertanta.
6. Diskuse.
7. Nejvyšší část - rozhodnutí obhajoby a hlasování.
8. Krátké vyhlášení výsledku obhajoby.
9. Ukončení obhajoby.

V Olomouci dne :


podpis předsedy komise

Odpovědi na dotazy oponentů k doktorské disertační práci Mgr. M. Sochora

Oponent doc. RNDr. Jan Kirschner, CSc., Botanický ústav AV ČR

- 1.) U diplosporického systému rodu *Taraxacum* jsou rodičovské taxony hybridogenů obvykle neznámé, nebo jen ojediněle se na ně dá usuzovat. Plastom navíc vykazuje jen minimální variabilitu. Jakou metodu by autor zvolil pro rekonstrukci evolučních vztahů u pampelišek?

Odpověď: Kromě moderních „celogenomových“ metod (např. GBS, WGS), které ale nemusí poskytnout vždy zcela přímočarou odpověď, bych osobně sázel na hledání informativní variability v jaderných single-copy genech, popř. rDNA (vč. ITS, ETS, IGS apod.). Ty jsou stále jednodušší sekvencovatelné i u allopolyploidů díky zpřístupnění NGS metod. Základem ale vždy bude dobrý sampling diploidních taxonů, což u pampelišek není zcela triviální úkol.

- 2.) Spoléhá se autor při studiu ostružiníků na taxonomickou charakterizaci materiálu jinými experty (či spíše expertem) nebo je schopen si alespoň do určité míry utvořit i vlastní obrázek? To by mohlo být důležité při vhodném samplingu v územích s nejasnou taxonomií a populační strukturou, jako je právě Zakavkazí.

Odpověď: V případě polyploidů střední a západní Evropy naprosto důvěřuji expertům (primárně B. Trávníček, ale i G. Király, H.E. Weber, D. Earl...). V případě mediteránních diploidů a polyploidů Kavkazu se primárně spoléhám na sebe.

Oponent doc. Mgr. Patrik Mráz, Ph.D., Katedra botaniky PřF UK

Otázky a poznámky ke kapitole č. 2:

- 1.) V kapitole č. 2 sa vôbec neudáva ako bola zisťovaná ploidná úroveň analyzovaných rastlín. Vzhľadom na to, že je to článok o polyploidii, odskek venovaný práve stanoveniu ploidie by tu rozhodne mal byť. Nejaké zmienky sú síce tu a tam v diskusii a v popise Tabuľky č. 1, ale celkovo je to nejasné.

Odpověď: V dodatkové tabulce 1 je tato problematika shrnuta do samostatného sloupce, ale vzhľadom k úspoře místa se do textu již nevešla (ani jsme nepovažovali za vhodné text dále komplikovat dalšími metodami). Obecně u ostružiníků neexistuje vnitrodruhová cytotypová variabilita, čili pokud jsme ploidii u některých jedinců stanovovali, bylo to jen pro ověření, případně u druhů, u kterých ploidie nebyla známá.

- 2.) Bol zisťovaný spôsob reprodukcie v populáciách analyzovaných rastlín?

Odpověď: Reprodukce byla zjišťována jen u určitých vybraných rostlin, většinou v rámci jiných výzkumných aktivit.

- 3.) V kapitole Materiál a metodika sa nič nepíše na základe akého presne definovaného kritéria a za akých predpokladov zisťoval autor očakávaný podiel ITS kópii dvoch rodičovských druhov. To sa čitateľ veľmi stručne dozvie až v diskusii (!) na str. 26 dole. Podobne tak v Tabuľke 1 nie sú uvedené ploidie analyzovaných rastlín, čitateľ tak len veľmi ťažko môže sledovať argumenty uvedené v článku. V súvislosti s interpretáciou výsledkov, ktoré sa snažia vysvetliť rozdiel medzi očakávaným a pozorovaným počtom ITS kópií domnelých rodičovských druhov by ma zaujímalo, či u analyzovaných jedincov bol zistený presný ploidný stupeň. Ak tomu tak bolo, mohol by autor vysvetliť, prečo očakáva pomer rodičovských kópií u pentaploida práve 6:4 (v prospech apomikta), ak pentaploid môže vzniknúť aj krížením neredukovaného tetraploidného vaku a haploidného peľu a v tom prípade by bol pomer 4:1? Podobne tak pôvod tetraploidných hybridogénnych rastlín. Prečo autor uvažuje o možnosti len $2n + 2n$? Nemôže to byť aj $3n + 1n$? Je dosť možné, že autorove predpoklady, ako vznikajú tieto hybridy sú úplne správne a podložené pozorovaniami, tie by však mali byť podrobne zdôvodnené v metodike, tak aby to čitateľ mohol pochopiť.

*Odpověď: Ploidní stupně jsou uvedeny v dodatkové tabulce 1, vč. informace, zda byl měřený konkrétní jedinec, nebo je to literární údaj. Jinde v diskuzi je pak dále vysvětleno, že pentaploidi ze ser. Subthyrsoidei vznikli pravděpodobně hybridizací *R. caesius* x triploidní ser. Discolores (první, tetraploidní taxon zřejmě nikdy netvoří neredukované gamety, zatímco druhý nikdy netvoří redukované gamety, proto poměr 2:3). Tetraploidní studované taxony jsou opět výsledkem křížení *R. caesius* a jiného tetraploidního taxonu – v případě sect. Corylifolii, nebo *R. subsect. Rubus* (většinou tetraploidní) a *R. idaeus* (diploidní, vždy jako pylový rodič) – ser.*

Nessenses. Vysvětlení $3n+1n$ je tedy v některých případech teoreticky možné, ale mnohem méně pravděpodobné, jelikož tetraploidní nikdy netvoří triploidní gamety.

- 4.) Ako by autor experimentálne testoval prípadnú homogenizáciu ITS kópií? Uvažuje autor nad možnosťou, že hybridogénne taxóny nemusia byť nevyhnutne F1 hybridy s očakávanými pomermi genómov rodičovských druhov, ale že tu mohlo dochádzať k spätnému kríženiu?

Odpoveď: U tetraploidních Corylifolii opravdu ke zpětnému křížení docházet mohlo, to se nedá vyloučit (zvláště u R. dollnesis, který byl proto z testu vyřazen). Cílem naší analýzy však bylo zjistit, do jaké míry jsou ITS sekvence schopny identifikovat všechny rodičovské taxony, spíše než přesně kvantifikovat homogenizaci rDNA. Samozřejmě nejlepší způsob kvantifikace by byl prostřednictvím kontrolovaného křížení sexuála a apomikta a analýza jednotlivých kopií v F1, F2... až např. F6 generací, nejlépe např. pomocí qPCR nebo jiných kvantitativních metod.

- 5.) Obrázky 4a-4e by podľa názvu mali reprezentovať rozšírenie haplotypov v podrode *Rubus* v Európe. Z kontextu je však zrejmé, že sa jedná o rozšírenie mikrodrohov z diela Atlas Flora Europaea (AFE) a nie o rozšírenie haplotypov (viď 4f – zberové miesta). Autori totiž drvivú väčšinu populácií uvedených v AFE vôbec nenavštívili a teda ani nemohli haplotypovo analyzovať. Popis obrázku preto považujem za zavádzajúci.

Odpoveď: Název zavádějící není, neboť všechny mikrospecie v rodu jsou monoklonální a tudíž haplotypově uniformní. Jedná se tedy o prostou generalizaci informace.

- 6.) Mohol by autor schematicky zobrazit jednosmernú hybridizáciu v podrode *Rubus* (viď diskusia na str. 33)? Je to v rámci jednotlivých skupín? Alebo medzi ploidiami resp. spôsobmi rozmnožovania?

Odpoveď: Jde o to, že v rámci určitých skupin (každá je výsledkem křížení dvou konkrétních rodičovských taxonů) slouží jeden z rodičů vždy jako samčí rodič a druhý jako samičí. Např. $3x$ Discolores $\times$ $(4x)$ R. caesius $\Rightarrow 5x$ Subthyrsoidei; $(2x)$ R. canescens $\times$? $\Rightarrow 3x$ Discolores, ale $(2x)$ R. ulmifolius $\times$? $\Rightarrow 4x$ Discolores; nebo ? $\times$ $(2x)$ R. sanctus $\Rightarrow 4x$ Discolores (pouze výjimečně obráceně)

Otázky a poznámky ke kapitole č. 3:

- 1.) Ciele rukopisu sú definované veľmi vágne, bez žiadnych a priori postulovaných hypotéz a očakávaní, pričom pre fylogeografické práce to určite možné je. Ako by mal vyzeráť pattern v diploidných populáciách na území, kde sa vyskytujú dlhodobo, resp. ktoré boli recentne kolonizované? Ako by mala vyzeráť genetická štruktúra polyploidných populácií? Budú sa líšiť od seba polyploidné sexuálne sa rozmnožujúce populácie od polyploidných apomiktických?

Odpoveď: Tyto otázky jsou zodpovězeny na různých místech manuskriptu, a to jen velmi stručně vzhledem k délkovým limitům téměř všech časopisů. Pattern v diploidních populacích považuji za jedno ze známých „paradigmat“ fylogeografie, a tedy za něco, co není nutné vysvětlovat. Struktura polyploidních populací je za jakýchkoliv okolností monoklonální, nevyžaduje tedy další komentář. Polyploidní sexuální populace v manuskriptu nerozebíráme, což by možná stálo za zdůraznění.

- 2.) Namiesto štandardnej populačnej úrovne, kde očakávame tok génov medzi jedincami tejto populácie, autor používa úroveň regiónov. Z textu nie je zrejmy dôvod a ani kritérium rozdelenia do regiónov (s výnimkou polyploidov). Z textu nie je zrejme ako sa dané regióny líšia veľkosťou a či tento faktor môže ovplyvniť genetickú štruktúru študovaných „populácií“.

Odpoveď: Vysvětlení bylo vloženo do další verze manuskriptu. Největším problémem samplingu R. ulmifolius je, že v každém regionu svého areálu má zcela jiný charakter rozšíření – od všudypřítomného ruderálního plevelu, přes častý, avšak jen lokálně rozšířený druh přibřežních křovin, až po relativně vzácný druh velmi rozptýleného výskytu. Sampling byl proto zvolen tak, aby postihl gradienty alelických frekvencí. Velikost „populace“ v tomto případě samozřejmě genetickou strukturu ovlivnit může, stejně jako v kterékoliv klasické populačně genetické studii.

- 3.) Veľkosť analyzovanej vzorky je, vzhľadom na geografické rozšírenie a vzhľadom na to, že sa jedná o fylogeografickú prácu, pomerne skromná (116 jedinov) a navyše veľmi fragmentovaná (mnohé regióny neboli do zberov zahrnuté). Mohol by autor zobrazit celkové rozšírenie diploidných taxónov v Európe (vrátane Kaukazu a Turecka) a celkové rozšírenie polyploidov a kontrastovať to s intenzitou zberu tu zahrnutých vzoriek?

Odpoveď: Celkové rozšíření R. ulmifolius agg. dobře vystihuje ENM na obrázku 6. Rozšíření polyploidů je obtížně vymežitelné vzhledem k nízké prozkoumanosti řady území zejména jižní a východní Evropy a západní

Asie. Náš sampling viceméně rovnoměrně pokrývá velkou část jak areálu *R. ulmifolius* agg., tak i centra diverzity polyploidů podle současného stavu poznání. Počet vzorků byl limitován použitou metodou na principu NGS, která sice generuje velké množství dat, což nese řadu výhod, ale v současné době je nevhodnější na spíše menší soubory vzorků.

- 4.) Z textu nie je zřejmé, z akých databáz boli získané dáta o rozšírení potrebných na modelovanie ekologickej niky, a či niekto kontroloval správnosť určenia.

Odpoveď: Jednalo se o různé veřejně přístupné databáze sdružené do projektu Virtual Herbaria (herbář vídeňské univerzity, Kew aj.) a zápisky z herbářových revizí H. E. Webera. Správnost určení nebylo možné zkontrolovat, ale ani nebyl důvod o ní pochybovat.

- 5.) Tabuľka č. 1. Z nadpisu nie je zrejme akého markeru sa týka. Z kontextu sa zrejme jedná o SSRs. Hodnotené populácie boli cytotypovo čisté? Jedná sa o diploidy alebo polyploidy? Opäť len z kontextu usudzujem, že sa asi jedná o diploidy.

Odpoveď: Ano, pochopitelně se jedná jen o *R. ulmifolius* agg., tedy jen diploidní jedince, a SSR data – bylo doplněno.

- 6.) Nie je jasná ani analýza dát v Metodike na str. 40. Opäť len z kontextu usudzujem, že sa jedná o SSRs.

Odpoveď: Ano, jedná se o SSR, jak se uvedeno na začátku odstavce.

- 7.) Až z výsledkov sa čitateľ dozvie, že 148 mikrosatelitových alel bolo určených najmä („mostly“) na základe jednonukleotidových polymorfizmov, pretože dĺžkový polymorfizmus vraj bol veľmi nekonzistentný a predstavoval väčšinou homoplázie. V časti Metodika toto malo byť podrobne rozobrané a vysvetlené ako nekonzistentné to bolo. Patrí to jednoznačne do metodiky. Tiež nerozumiem, či tie alely boli určené len na základe nukleotidových polymorfizmov alebo aj na základe dĺžky (viď najmä). Bol to teda hybrid nukleotidov a dĺžky? Koľko alel bolo determinovaných na základe SNPs a koľko na základe dĺžky? Mali SSRs alely, ktoré mali rovnakú dĺžku aj variabilitu v nukleotidoch? Nakoniec tie SSRs, resp. SNPs?, boli kodované ako prítomné a neprítomné alely? Bola do úvahy braná aj ploidia a dávka alel? O tomto sa čitateľ z Metodiky nedozvie nič ...

Odpoveď: Podle nás je to spíše výsledek analýzy, ale bohužel nebyl prostor se hlouběji rozepisovat. Počet SSR repetit nekorespondoval s SNP patternem. Ve výjimečných případech (těch bylo 8, jak je možné zjistit podle alelických sítí na dodatkovém obr. 3) byl vzat v potaz i délkový polymorfismus za účelem zvýšení rozlišení dat (v těchto případech šlo tedy o „hybrida“). Dávka alel byla brána do úvahy zejména při identifikaci „alelických contigů“ během hrubého zpracování NGS dat.

- 8.) Polyploidné (vrátane apomiktických) a diploidné populácie boli hodnotené spolu v rámci programu Structure? Ak áno, ako boli nadefinované východiskové predpoklady? Mohol by autor ukázať grafy pre DeltaK a graf pravdepodobnosti K pre K=4 a K=8? Je zvláštne, že ako najlepšie vyšlo hodnotenie skupín, ktoré stoja dosť ďaleko od seba (4 vs 8).

Odpoveď: Ne, polyploidy a diploidy nebylo možné, resp. smysluplné, analyzovat ve Structure najednou, touto metodou byli analyzováni jen diploidi.

- 9.) Na základe, čoho bol zostavený PCoA plot (aký marker) a patria sem všetky a analyzované jedince, alebo len diploidné? Ak len diploidné, boli nejaké hodnotené polyploidné jedince a ak, tak ako?

Odpoveď: Podobně jako Structure, ani PCoA nevyústilo v interpretovatelný výsledek při současné analýze di- a polyploidů. Polyploidi byli hodnoceni pomocí sdílených alel (Tabulka 2).

- 10.) Začiatok diskusie sa začína diskutovaním o homoplázií SSRs markerov s tým, že dáta poukazujú na veľkú homopláziu. Problém tohoto vyhlásenia spočíva v tom, že čitateľ si to nemá ako overiť, nie je tu uvedené nič bližšie.

Odpoveď: Ověřit to jde přes sekvence uložené v Genbanku, což, uznávám, není moc přímočará možnost.

- 11.) Koniec odseku na str. 40. Nerozumiem poslednej vete Despite.

Odpoveď: Pokud je myšlen konec prvního odstavce diskuze, jde zde o to, že v současné době prakticky neexistuje software pro analýzu allopolyploidních dat.

- 12.) Aký je areál rozšírenia *Rubus ulmifolius*? Z obrázku 6A na strane 47 je zrejme, že na modelovanie niky nebolo použitých veľa bodov a že pozorované výskyty v niektorých oblastiach spadajú aj do oblastí so všeobecne nie príliš vhodnou klímou (napr. V od Kaspického mora). Naopak v Európe model ukazuje množstvo vhodných biotopov, kde sa však druh nevyskytuje. Je táto priestorová štruktúra a model odrazom

skutočnosti, alebo je daná nedostatkom dát? Ak *Rubus ulmifolius* má skutočne takto fragmentovaný výskyt a nerastie v mnohých oblastiach s vhodnou klimatickou níkou, čím si to autor vysvetľuje?

Odpoveď: Jak je zmíněno v diskuzi, obr. 6A velmi věrně vystihuje skutečný areál rozšíření tohoto komplexu (alespoň tak, jak jej známe). Dokonce i v oblastech, kde druh přirozeně neroste a má tam vhodné klima (V Německa, ČR, Dánsko, J Švédsko), se dá poměrně snadno pěstovat a může i zplaňovat. Problémem může být občasné vymrzávání, spekulativní by mohlo být i vysvětlení pomocí konkurenčního vytěsnění polyploidními potomky. V Zakaspické oblasti se jistě vyskytuje, avšak zřejmě jen lokálně; dostupná data jsou bohužel sporá.

- 13.) Autori na strane 50 v Diskusii tvrdia, že ich molekulárne dáta silno podporujú tzv. metapopulačnú hypotézu, ktorá by mohla vysvetľovať obraz tzv. geografickej partenogenézy. Metapopulačná hypotéza je založená na predpoklade, že počas kolonizácie nových habitatov bude u sexuálnych populácií dochádzať vplyvom inbreedingu k znižovaniu fitness, čo by sa malo odraziť v ich menšej kolonizačnej schopnosti v porovnaní s asexuálnymi populáciami. Mohol by uchádzač vysvetliť ako molekulárne dáta podporujú túto hypotézu? Znížená pozorovaná heterozygotita a naopak zvýšená úroveň inbreedingu v regióne severného Francúzska a v Anglicku nemusí nutne znamenať zníženie hladiny životaschopnosti týchto populácií. Ako by autor testoval túto hypotézu?

Odpoveď: Ačkoliv tato kauzalita není stoprocentní, jedna ze základních populačně genetických zkratk říká, že snížená genetická diverzita vede ke snížené životaschopnosti a konkurenceschopnosti populací. Test této hypotézy by pochopitelně vyžadoval samostatnou studii, proto jsme se snažili náš závěr prezentovat pouze jako novou hypotézu, na kterou je vhodné se v budoucnu zaměřit, ne jako neotřesitelnou pravdu (jak to bohužel čtenáři chápou). Test by se měl asi zaměřit na srovnání fyziologických kapacit di- a polyploidů, transplantační experimenty, popř. srovnání pokryvnosti v různých společenstvech...?

- 14.) Je niečo známe o kompetičnej schopnosti pohlavne a nepohlavne sa rozmnožujúcich ostružín (prípadne diploidov a polyploidov) a o ich klonálnom raste / stratégii?

Odpoveď: Není mi známa jediná studie na toto téma. Gazda et al. (2007) studovali tzv. R. „hirtus“ z hlediska růstových schopností a zjistili, že tyto nekorrespondují s genetickou podobností zjištěnou přes RAPD (a jsou tak dány hlavně prostředím). Reprodukce však nebyla známa.

- 15.) Autori ďalej tvrdia, že apomiktické ostružiny môžu byť zvýhodnené v osídľovaní nových lokalít aj vďaka tzv. uniparentálnemu rozmnožovaniu – na produkciu potomstva nepotrebnú iného partnera. Ostružiny sú však pseudogamné, na produkciu životaschopných semien je nutné opelenie centrálného jadra zárodočného mieška, aby sa vyvinul endosperm. Vie autor povedať, do akej miery sú apomiktické ostružiny samo- resp. cudzoopelivé? Boli v tomto smere robené nejaké pozorovania / pokusy?

Odpoveď: Obecně, diploidní ostružiníky jsou cizosprašné a self-inkompatibilita se narušuje polyploidii. Apomikti tak jsou schopni samoopylení. Navíc pro tvorbu endospermu jsou schopni využít i zcela jiný cytotyp nebo taxon, dokonce byl pozorován i jakýsi pseudoheterozní efekt, tj. čím (cytologicky) odlišnější donor pylu, tím lepší klíčivost (apomiktických) semen. Navíc nejde jen o dostupnost pylu, ale také o genetické jevy malých populací (bottleneck, inbreeding, drift), které na polyploidní apomikty nemají praktický dopad.

- 16.) Autori tvrdia, že zrejme väčšina polyploidných apomiktov vznikla recentne v Holocéne a nemá viac ako niekoľko tisíc rokov, ale že malý fragment z apomiktov môže byť starší. Bolo by možné pokúsiť sa o orientačné datovanie diploidných línií za použitia ITS a následne odhadnúť vek polyploidných hybridogénnych línií?

Odpoveď: Bohužel, kalibrace molekulárních dat je u ostružiníků neredná. Tento nápad jsem opustil záhy po diskuzi s paleobotaniky a archeobotaniky – pro determinaci jsou využitelné v podstatě jen makrozbytky, které však spadají většinou jen do středověkých profilů.

Otázky a poznámky ke kapitole č. 4:

- 1.) Aj napriek tomu, že článok už bol publikovaný v Botanical Journal of the Linnean Society, množstvo rastlín, spolu 52 dospelých rastlín a ca 180 semien, ktoré boli analyzované prietokovou cytometriou sa mi zdá – vzhľadom na jednoduchosť a rýchlosť metódy (uvedené množstvo vzoriek by sa dalo spracovať odhadom za 3-4 dni), za pomerne skromné. Mohol by autor vysvetliť prečo boli analýzy prevedené na pomerne malom počte vzoriek? Predpokladá sa, že ostružiny nevykazujú žiadnu variabilitu na vnútroduhovej úrovni? Je tá skupina na Kaukaze taká vzácna? Nebolo možné priniesť viac materiálu z logistických príčin? Sú nejaké technické problémy pri FCM analýzach (napr. vyžaduje sa len čerstvý materiál)?

Odpověď: Největší komplikace byly opravdu logistické. Materiál bych sbíral pouze během tří treků bez jakékoliv technické podpory, přičemž během prvních dvou byl sampling spíše nesystematický. Ploidie byla měřena výhradně z čerstvého materiálu (suchý je obtížný na měření), což také mírně ztížilo sběr a transport materiálu. Semena se nepodařilo získat ze všech sbíraných rostlin (např. nebyla zralá), jindy byla až z 95 % abortovaná (což velmi prodlužuje samotnou laboratorní práci). Práce byla od samého začátku koncipována jako „first insight“ hlavně s cílem přitáhnout pozornosti různých botaniků k této neprozkoumané skupině a na toto je, dle mého, dataset poměrně informativní.

- 2.) Na strane 58 sa uvádza, že nielen pre polyploidné taxóny sa uvádzajú morfotypy, ale to isté platí aj pre diploidné. Mohol by to autor nejako rozviesť? Patria diploidné morfotypy ešte nominálnemu druhu, alebo by to mali byť iné taxóny? Ak nie, akej formálnej vnútrodruhovej taxonomickej jednotke tie morfotypy odpovedajú (napr. poddruh, variata, forma)?

Odpověď: Vzhledem k tomu, že jsem navštívil pouze dvě oblasti s výskytem R. moschus, nerad bych dělal unáhlené závěry. Ačkoliv jsem nezaznamenal mezi dvěma zmíněnými morfotypy významnější přechody, může se opravdu jednat pouze o extrémní projevy plasticity jediného druhu, což by podporovalo i sdílení cp haplotypů. Každopádně bych ještě rád navštívil další oblasti Malého Kavkazu, zejména mezi Borjomi a Batumi, a prostudoval tento druh hlouběji.

Oponent Mgr. Tomáš Urfus, Ph.D., Katedra botaniky PŘF UK

- 1.) Na několika místech se v práci vyskytly spekulace ohledně migrací a refugií během posledního glaciálu. V případě *R. ulmifolius* agg. jistě není o čem diskutovat, ale u polyploidních taxonů by mě zajímal autorův názor na rozšíření během glaciálu i mimo tradiční refugia, tj. alespoň Západní Karpaty a perialpínské oblasti. Vždyť o existenci plnohodnotných refugií temperátního lesa např. v Z. Karpatech přinesla důkazy řada palynologických prací a některé novější fylogeografie.

Odpověď: Je to složitá otázka. Předně většina polyploidů poslední glaciál, dle mého názoru, nepřežila. Ti přeživší opravdu mohli být ukryti někde mimo mediterán a perialpínské oblasti nebo Karpaty by mohly být žhavými kandidáty (soudě podle distribuce Suber haplotypu nebo některých domněle starých druhů). Mnohem zásadnějším obdobím pro polyploidy však byl zřejmě holocén, neboť většina druhů je spíše světlomilných a anthropogenní aktivity jim prospívají. S rozvojem lesa se tak mohla řada druhů stáhnout (nebo i vymizet) nebo migrovat a plně rozšířit se mohly až s neolitickou revolucí.

- 2.) Třetí publikace využívá data o ploidní úrovni a z uvedených poměrů vyplývá, že se u kolchidských druhů vyskytuje nezanedbatelná variabilita ve velikosti genomu. Zkusil autor (i přes nekompletní data), zda mají jednotlivé poměry nějaké interpretovatelné "pattern" (např. vztáhnutím k fylogenezi)? Jaké jsou dle autora nejvýznamnější nezodpovězené otázky soudobé batologie a jakým způsobem by je řešil?

Odpověď: Variabilitu v monoploidní velikosti genomu pozoruji (avšak nesystematicky) od začátku svých cytometrických aktivit. Pattern je zřejmý: ser. Glandulosi (vč. R. moschus) a také maliník mají malý genom kolem 0.32 pg, naopak ser. Discolores, zejména pak R. ulmifolius a R. sanctus, mají genom největší – někdy i lehce přesahující 0.4 pg. Hybridi (např. ser. Radula) a jiné taxony mají velikost v tomto intervalu. Podle morfologie se dá často velikost genomu odhadnout – žláznaté typy spíše menší, plstnaté typy spíše větší.

Kromě taxonomicko-systematického studia v „zanedbaných“ oblastech (Kavkaz, Balkán, ale i východ USA), považuji za nejpálčivější problematiku reprodukce. Embryologicky byla pozorována automixe, možný je i vývoj endospermu z jediného centrálního jádra. Za hlubší studium rozhodně stojí environmentální regulace apomixe nebo možný vznik apomikta ze dvou diploidních sexuálů.