

Oponentský posudok na dizertačnú prácu Mgr. Marie Doležáلكovej „Dřívě evolučně zatraceni, nyní tvůrci reprodukční strategie: původ a reprodukce samčí linie vodních skokanů *Pelophylax esculentus*“

Gynogenetické a hybridogenetické komplexy vertebrát boli spravidla charakterizované ako unisexuálne (čisto samičie) a asexuálne. Predstava o týchto organizmoch ako čisto samičích a rozmnožujúcich sa výlučne bez genetickej rekombinácie však vo svetle súčasných poznatkov úplne neplatí. Aj tzv. asexuálne organizmy môžu mať príležitostný sex, aj tzv. unisexuálne organizmy môžu mať populácie oboch pohlaví. Marie Doležáلكová sa vo svojej dizertačnej práci venuje práve tej skupine hybridogenetických vertebrát, ktorá nespĺňa podmienku striktnej asexuality a unisexuality. Navyše, pomerne novátorsky, upriamuje pozornosť na evolučný význam samčích, a nie samičích hybridogenetických línií.

Dizertácia je koncipovaná ako súbor jedného publikovaného článku a dvoch rukopisov predložených na publikovanie, doplnená je o všeobecný úvod, metodické postupy, ciele práce a súhrn výsledkov. Autorka v nej zisťovala pôvod a reprodukčné stratégie v populáciách vodných skokanov povodia Odry, zložených z hybridných samcov a rodičovského druhu *P. ridibundus*. Skombinovala pri výskume molekulárno-cytogenetický a populačno-genetický prístup s laboratórnymi krížiacimi experimentami. Zistila pritom, že väčšina hybridných samcov tvorí klonálne *lessonae* spermie, no časť samcov tvorí dva typy spermií nesúcich jeden alebo druhý rodičovský genóm. Navrhla tiež alternatívnu hypotézu k premeiotickej eliminácii jedného z rodičovských genómov, ktorá je podporená cytogenetickými dátami z priebehu spermiogenézy. Taxonomické zloženie a typ klonálnych gamét pekne korešponujú s geneticou diferenciaciou jednotlivých genómov a umožňujú predpovedať reprodukčné vzory v skúmaných populáciách.

K prvej práci publikovanej v časopise BMC Genetics sa nebudem bližšie vyjadrovať. Prináša dôležité zistenia o priebehu hybridogenetickej spermiogenézy, je zrozumiteľne napísaná a kvalitná. Menšie pripomienky mám k úvodným častiam dizertácie a ku dvom ďalším rukopisom. Niektoré z otázok presahujú výsledky práce a majú skôr navodiť diskusiu o zaujímavých biologických problémoch, ktoré skúmanie zdanlivo obyčajných skokanov prináša.

Otázky do diskusie

Aký je evolučný význam faktu, že genóm je jednu generáciu zmrazený ako klonálny a následne sa dostáva opäť do sexuálneho druhu? Môže podliehať počas jednej generácie nejakým významným evolučným zmenám?

Autorka zistila, že klonálny *lessonae* genóm diploidných samcov *P. esculentus* z R-E populácií je geneticky diferencovaný od sexuálneho *lessonae* genómu. Na severnej Morave sú však známe aj triploidné hybridné samce (LLR) klonálne tvoriace diploidné *lessonae* spermie. Dá sa predikovať vzťah a prípadný spoločný pôvod klonálnych *lessonae* genómov diploidných (LR) a triploidných (LLR) samcov?

Klonálny *lessonae* genóm hybridných samcov má podľa mikrosatelitových dát pôvod v jednej hybridizačnej udalosti a tvorí jeden hemiklon. Samce klonálne tvoriace *lessonae* spermie však sú známe aj z niektorých oblastí Nemecka a Poľska. Dá sa predpokladať, že aj samce z týchto populácií budú patriť ku moravskému hemiklonu (ODERL1) alebo bude pôvod týchto hybridogenetických samcov nezávislý a viacnásobný?

Autorka na základe krížiacich experimentov usudzuje, že klonálny *lessonae* genóm je zviazaný s faktorom určujúcim samčie pohlavie. Vieme niečo viac o chromozomálnom určení pohlavia u skokanov? Boli spoľahlivo identifikované pohlavné chromozómy u tejto skupiny žiab?

V R-E populáciach v povodí Odry môže časť hybridných samcov produkovať *ridibundus* spermie a krížiť sa so samicami *P. ridibundus* za vzniku novej generácie *P. ridibundus* samíc. Tento typ párenia medzi hybridmi a rodičovským druhom teoreticky ovplyvňuje dynamiku skúmaných populácií. Dá sa predpokladať aká je frekvencia tohto párenia? Aké testy a prístupy by sa dali použiť na toto zistenie?

Rukopis predložený do časopisu Evolution

Úvod sa mi zdá príliš dlhý a nekohézny.

Autorka testuje hybridný pôvod *P. esculentus* pomocou Bayesovských analýz. Osobne sa mi zdá tento test zbytočný. Skôr by som použil Bayesovské analýzy na zistenie diferenciácie rodičovských genómov, ako ďalšiu metódu k PCA a UPGMA.

Opis výsledkov STRUCTURE na strane 65 je mierne zmätočný. Autorka v ňom píše o najpravdepodobnejšom počte $K = 2$, a hneď na to o troch klastroch. Bez obrázku 2a by som si nebol istý, aký počet klastrov je najpravdepodobnejší.

Na strane 66 je uvedené "Contrary to the previous pattern, *ridibundus*-specific MLGs ...". Nevidím však žiadnu diskrepanciu výsledkov programov POPULATIONS a PCA. Nižšie sa píše o celkovo ôsmich MLGs, no správne má byť zrejme deväť MLGs v *lessonae* genóme.

V diskusii na strane 69 autorka píše o "low allelic frequencies ...". Jednak stačí uvádzať frekvencie alel na tri desatinné miesta, jednak frekvencie približne 0,8 nie sú nízke.

V súhrne na strane 72 pomenúva autorka spôsob reprodukcie ako "unisexuality in reverse". Je toto pomenovanie skutočne potrebné?

Rukopis predložený do časopisu eLife

Aj úvod k tomuto rukopisu sa mi zdá dlhý a nekohézny.

V metodike nie je vysvetlené na čo boli použité alozýmy, naopak časť o analýze mikrosatelitov by mohla byť podrobnejšia.

Mortalita embryí nesúcich *ridibundus* mtDNA bola nižšia ako embryí nesúcich *lessonae* mitogenóm. V metodike nie je uvedené ako boli rozdiely testované.

Dizertačná práca Mgr. Marie Doležálkovej je významným prínosom pre biológiu hybridogenetických vodných skokanov a pre evolučný význam asexuality. Na základ kvalít práce, splnenia cieľov a erudovanosti autorky, navrhujem prijatie dizertačnej práce na obhajobu a udelenie vedeckej hodnosti *philosophiae doctor*.

V Bratislave, 17.1.2017

Mgr. Peter Mikulíček, PhD.