



BIOLOGICKÉ CENTRUM AV ČR, v.v.i.

Entomologický ústav

adresa: Branišovská 1160/31, 370 05 České Budějovice
telefon: +420 387 775 211
fax: +420 385 310 354

IČ: 60077344 | DIČ: CZ60077344
č. účtu: 6063942/0800, Česká spořitelna Č. Budějovice
www.entu.cas.cz | e-mail: entu@entu.cas.cz

OPONENTSKÝ POSUDEK

na doktorskou dizertační práci Mgr. Alexandra Sembera

Cytogenetika vybraných skupin paprskoploutvých ryb (Actinopterygii): Evolučně- ekologické aspekty spjaté s dynamikou repetitivních sekvencí a s výskytem polyploidie

Disertační práce A. Sembera se zabývá molekulárně-cytogenetikou karyotypů ryb, jakožto nejrozmanitější skupiny obratlovců, s cílem přispět k poznání procesů diferenciaci a evoluce jejich genomů a následně i k zodpovězení komplexnějších evolučně-ekologických otázek.

Díky rozsáhlému literárnímu přehledu (téměř 50 stran) je práce skutečně hutným spisem. Autor v něm souhrnně zpracoval dosavadní poznatky o struktuře karyotypů ryb, jejich zvláštnostech a roli chromosomálních přestaveb a polyploidie v evoluci genomů ryb včetně použitých metod a jejich principů. Na závěr této části spisu uvedl i kapitolu shrnující základní charakteristiky použitých modelových skupin ryb včetně dosavadních cytogenetických poznatků. Celá tato pasáž je napsána naprosto profesionálním způsobem, zahrnuje obrovský počet literárních pramenů a určitě by si zasloužila další využití formou souhrnného článku pro specializovaný časopis. Tato pasáž je též dokladem jak autorových neobvykle rozsáhlých znalostí studované problematiky, tak i hloubky s jakou pronikl do metod molekulární cytogenetiky. K této pasáži nemám žádnou připomínku, snad jen že při tak velkém počtu citovaných prací (viz 40 stran citací v Seznamu literatury, což hrubým odhadem představuje přes 800 citovaných prací) se autor nevyhnul drobným nepřesnostem v citování. Zjištěné nedostatky uvádím pro potřeby autora v příloze mého posudku.

Hlavní součástí disertačního spisu jsou čtyři původní publikace v renomovaných vědeckých periodických a jedna metodická kapitola v anglicky psané knize. Alexandr Sember je prvním autorem práce vyšlé v roce 2015 v *BMC Evolutionary Biology* zabývající se srovnávací karyotypovou analýzou 19 druhů mřenek čeledi Nemacheilidae a spoluautorem ostatních prací; jeho podíl je upřesněn u každé publikace zvlášť. Výsledky těchto prací jsou přehledně shrnuty a detailně diskutovány v následné kapitole. Protože publikace prošly (v případě práce Bohlen *et al.* v současnosti prochází) náročným recenzním řízením, nepřísluší mi je podrobovat další kritické analýze, omezím se na doplňkové dotazy. Nicméně jako milovník chromosomů si nemohu odpuštít konstatování, že výsledky v těchto publikacích jsou doprovázeny mimořádně zdařilou obrazovou dokumentací, jež musí potěšit oko každého cytogenetika.

K výsledkům disertační práce mám následující dotazy.

(1) K publikaci Sember *et al.* (2015): u mřenky *Schistula fasciolata* jste identifikovali mnohočetné pohlavní chromosomy (XY_1Y_2) a dle závěrů v diskuzi se přikláníte k názoru, že Y_1 a Y_2 vznikly rozpadem chromosomu Y. Máte pro toto tvrzení jiné podpůrné indicie než jen zvýšení počtu chromosomů samců na $2n = 51$? Není mi též jasná formulace v Souhrnné diskuzi na str. 193, citují: „na vzniku Y_1 a Y_2 se mohl podílet centrický rozpad proto-X chromozómu“.

(2) K publikaci Symonová *et al.* (2013b): v práci je formulována hypotéza, že retrotranspozón *Rex1* by mohl být zodpovědný za zmnožení klastrů 45S rDNA po genomu endemického druhu síha *Coregonus fontanae*. Domníváte se na základě kolokalizace *Rex1* s 45S rDNA jednoho akrocentrika u *C. albula* a zmnožených signálů ITS2 sondy u endemického druhu, že mobilizovaný *Rex1* je lokalizován právě v ITS oblasti? Jakou molekulárně-cytogenetickou metodou by to šlo ověřit?

(3) K publikaci Symonová *et al.* (2013a): uvádíte, že dle výsledků GISH a CGH jsou druhově-specifické repetice akumulovány zejména na mikrochromosomech a malých makrochromosomech. S tímto závěrem souhlasím, avšak není mi jasné, jak lze rozlišit mikrochromosom od malého makrochromosomu. Liší se chováním nebo morfologicky?

(4) K publikaci Symonová *et al.* (2015): z textu této metodické kapitoly v knize vyplývá, že GISH byla úspěšně použita k identifikaci druhově-specifických chromosomů u allopolyploidních druhů ryb. Lze tedy tuto metodu použít pro rozlišení autopolyploidního a allopolyploidního původu genomů ryb? A pokud ano, jaké lze očekávat výsledky v tom či onom případě?

(5) K publikaci Bohlen *et al.* (*in rev.*): na základě chromosomálních a fylogenetických dat u tří studovaných sympatrických druhů sekavek, diploidní *Leptobotia guilinensis* a tetraploidních '*Botia*' *zebra* a *Sinibotia pulchra*, lze předpokládat, že '*Botia*' je autopolyploid společného předka *Sinibotia* a '*Botia*'. V Souhrnné diskusi navrhuje to ověřit metodami GISH a CGH, tyto metody však nemusejí být informativní vzhledem k dlouhé době divergence, jak uvádíte. Jaké jsou alternativní možnosti ověření této hypotézy?

(6) V Souhrnné diskusi na str. 204 se mi nezdá tvrzení s odkazem na publikované údaje, že v některých případech 45S rDNA přímo nahrazuje funkci telomery. Jakákoliv repetitivní DNA by sice mohla kompenzovat ztráty vzniklé při neúplné replikaci konců molekuly DNA, ale těžko by ochránila konec chromosomu před nukleázami či fúzí tak, jako proteiny telometrické čepičky. Máte nějaké vysvětlení k tomuto převzatému tvrzení?

Závěr

Mgr. Alexandr Sember si osvojil celou škálu pokročilých metod molekulární cytogenetiky a tyto metody úspěšně využil při studiu karyotypů ryb. Jeho disertační práce významným způsobem přispívá k poznání struktury a evoluce karyotypů několika skupin paprskoploutvých ryb a k pochopení značné diverzifikace a speciace ryb. Kromě originálních výsledků, publikovaných v renomovaných vědeckých časopisech, přináší i řadu metodických postupů, modifikovaných pro výzkum chromosomů této druhově bohaté skupiny obratlovců. Předložená práce nepochybně splňuje požadavky kladené na disertační práce a s velkým potěšením ji

doporučuji ji k obhajobě v doktorském studijním programu Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie.



František Marec

V Českých Budějovicích, 8. června 2016

Formální připomínky k odkazům na literární prameny:

- str. 17 – Martins & Cabral-de-Mello 2010 chybí v Seznamu literatury
- str. 19 – místo Ene et al. 2003 má být zřejmě Ene 2003
- str. 19 – místo Martins et al. 2004 má být zřejmě Martins & Wasko 2004
- str. 20 – Blanco et al. 2011 chybí v Seznamu literatury
- str. 21 – Martins et al. 2014 chybí v Seznamu literatury
- str. 23 – místo Jankun et al. 2004 má být zřejmě Jankun 2004
- str. 28 a 30 – místo Jeffreys 1985 má být zřejmě Jeffreys et al. 1985
- str. 39 – Le Rouzic & Capy 2006 chybí v Seznamu literatury
- str. 40 – Bouneau et al. 2003 chybí v Seznamu literatury
- str. 44 – Page et al. 1996 a Lee et al. 1993 chybí v Seznamu literatury
- str. 46 – místo Rieseberg et al. 2001 má být zřejmě Rieseberg 2001 a
- str. 46 – Lande 1985 chybí v Seznamu literatury
- str. 48 – místo Vozdová et al. 2011 má být zřejmě Vozdová et al. 2014
- str. 49 – Ráb & Phillips 2001 a Lajus 2007 chybí v Seznamu literatury
- str. 49 – místo Kavalco 2005 má být zřejmě Kavalco et al. 2005
- str. 53 – Leitch & Bennett 2004 chybí v Seznamu literatury
- str. 54 – Ludwig et al. 2001 a Glasauer & Neuhaus 2014 chybí v Seznamu literatury
- str. 54 – místo Crow et al. 2006 má být zřejmě Crow & Wagner 2006
- str. 56 – místo Eschmeyer 2016 má být zřejmě Eschmeyer et al. 2016
- str. 192 – Boron et al. 2009 chybí v Seznamu literatury
- str. 193 – místo Almeida-Toledo et al. 2001 má být zřejmě Almeida-Toledo & Foresti 2001
- str. 199 – Roa & Guerra 2012 chybí v Seznamu literatury
- str. 201 a 207 – Rábová et al. 2004 chybí v Seznamu literatury
- str. 201 – místo Drouin 1999 má být zřejmě Drouin 2000
- str. 204 – Sola et al. 2007 chybí v Seznamu literatury
- str. 205 – Zhang et al. 2015 chybí v Seznamu literatury
- str. 211 – práce Alföldi et al. (2011) je v Seznamu literatury, ale není citována v textu
- str. 212 – práce Barbosa et al. vyšla v roce 2015, nikoliv 2014
- str. 215 – práce Camacho et al. 2008 je v Seznamu literatury, ale není citována v textu
- str. 216 – práce Cioffi et al. 2013 je v Seznamu literatury, ale není citována v textu
- str. 218 – práce Kobayashi et al. vyšla v roce 2013, nikoliv 2012
- str. 221 – práce Gao et al. 2012 je v Seznamu literatury, ale není citována v textu
- str. 238 – práce Pendás et al. 1993b je v Seznamu literatury, ale není citována v textu