

Oponentský posudek

na disertační práci Mgr. Alexandra Sembera

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

Předložená disertační práce je rozsáhlou studií zaměřenou na cytogenetiku paprskoploutvých ryb, které jsou druhově nejpočetnější skupinou obratlovců. Evoluční úspěch paprskoploutvých souvisí s polyploidizacemi genomu, které vedly ke značné plasticitě chromozomové sady a jejímu rozrůznění. Řada skupin ryb má přesto relativně stabilní stavbu karyotypu. A. Sember analyzoval tyto specifické aspekty cytogenetiky ryb na modelových skupinách, přičemž se zaměřil především na evoluci repetitivních sekvencí. Skupiny, které si vybral, se vyznačují spíše bazální pozicí ve fylogenetickém stromu paprskoploutvých, což může být významné pro poznání ranné fáze karyotypové evoluce těchto ryb. Problematika polyploidie i evoluce repetitivních sekvencí patří mezi aktuální a široce studovaná témata cytogenetiky. Autor si vytýčil následující cíle: 1) zmapovat karyotypovou evoluci mřenek (čeleď Nemacheilidae) s důrazem na evoluci repetitivních sekvencí (tato skupina ryb je cytogeneticky velmi málo prozkoumána), 2) prostudovat dynamiku repetitivních sekvencí v procesu sympatrické speciace u síhů, 3) posoudit možnosti použití metod GISH (genomic in situ hybridization) a CGH (comparative genomic hybridization) v cytogenetice ryb a optimalizovat je pro tuto skupinu, 4) pomocí GISH a CGH analyzovat polyploidní genom mezidruhových hybridů jeseterů a 5) popsat karyotyp potencionálního hybridu mezi sekavkami s různým stupněm ploidie.

Dizertace má 251 stran a je standardně členěna (úvod, cíle, přehled literatury, výsledky, diskuse, závěr a seznam literatury). Je doplněna seznamem zkratk jakož i českou a anglickou verzí abstraktu a autoreferátu. Práce je přehledná, pečlivě zpracovaná, obsahuje pouze drobnější formální nedostatky (ojedinělé překlepy, občasné formulační nepřesnosti).

Přehled literatury je velmi rozsáhlý (má více než 60 stran), fundovaně zpracovaný a nabitý zajímavými poznatky. Úroveň zpracování této části svědčí o hlubokých znalostech a nadšení pro cytogenetiku, a to nejen rybí, což je možno dokumentovat také značným počtem citací uvedených v seznamu literatury (jejich počet se blíží osmi stům). Přehled literatury je uveden základními informacemi o rybních karyotypech a specifických rysech cytogenetické analýzy ryb. Následuje část o repetitivních sekvencích, zvlášť je pojednáno o satelitní DNA,

telomerické DNA, rDNA a transponovatelných elementech. Samostatná kapitola je věnována chromozomovým přestavbám, jejich účasti v karyotypové evoluci ryb a modelům chromozomové speciace. Podle mého názoru mohla být tato část zkrácena nebo i vypuštěna, nejedná se o hlavní téma práce. Následuje zajímavě zpracovaná kapitola o polyploidii, která obsahuje základní údaje o této genomové mutaci, evoluci genomu po polyploidizaci, výskytu polyploidie u živočichů a ryb a dále informace o mechanismech asexuální reprodukce a o cytogenetických metodách analýzy polyploidních genomů. Kapitola o asexuální reprodukci mohla být opět vypuštěna. Aplikace metod GISH a CGH jsou probrány poněkud „ze široka“, pasáže věnované jejich použití při detekci pohlavních chromozomů se netýkají polyploidie. V závěrečné části přehledu jsou stručně charakterizovány skupiny ryb, na které se autor zaměřil, jakož i úroveň poznání jejich karyotypů.

Vzhledem k délce přehledu mám k této části více poznámek:

str. 27, první odst.: mechanismus fibre FISH by měl být specifikován přesněji

str. 31, první odst.: shelterinové komplexy nejsou jedinými proteiny telomer, navíc se nevyskytují u všech eukaryot; pokud máme na mysli DNA v telomerách měli bychom používat termín telomerická DNA nikoliv telomera

str. 34, poslední odst.: sekundární konstrikce jsou patrné i u nukleolárních organizátorů, které nebyly aktivní v předchozí interfázi

str. 35, poslední odst.: pokud sousedí tandemově uspořádané repetice genů pro 45S rRNA a 5S rRNA, jedná se o dva sousedící lokusy, nikoliv o jediný lokus

str. 44, druhý odst.: je nutno specifikovat přesněji mechanismus tandemové fúze

str. 50, poslední odst.: velmi častým způsobem vzniku polyploidů (zejména allopolyploidů) jsou neredukované gamety

str. 51, druhý odst.: nesouhlasím s tvrzením, že allopolyploidizace vede obvykle k asexuálnímu rozmnožování

str. 51, třetí odst.: častější výskyt allopolyploidů může souviset s pravidelnějším párováním chromozomů v průběhu meiotického dělení u tohoto typu polyploidie

Následuje metodická část, jedná se v podstatě o výčet použitých metod. Autor věnoval ve své práci značnou pozornost postupům GISH a CGH, které úspěšně optimalizoval pro vybrané skupiny ryb. Jádrem dizertační práce tvoří výsledková část. Autor do ní zařadil tři původní publikované články, další prošel recenzním řízením. Tyto články byly uveřejněny (předloženy) v impaktovaných časopisech s vysokou úrovní (BMC Evolutionary Biology, Cytogenetic and Genome Research, Plos One). U jednoho publikovaného článku je A. Sember hlavním autorem. Ve všech případech se jednalo o týmovou práci, všechny články

byly vypracovány ve spoluautorství s našimi a zahraničními pracovníky. Články jistě vzbudí zaslouženou pozornost ve formě citací. Tvůrčí podíl A. Sembera je značný, je specifikován ve výsledcích a je patrný také z doprovodného komentáře k výsledkům a navazující souhrnné diskuse. Součástí výsledkové části je i kapitola v knize o použití technik GISH a CGH v cytogenetice ryb, A. Sember je spoluautorem. Vzhledem k tomu, že všechny publikace prošly náročným recenzním řízením, není ponechán přílišný prostor dalším oponentům. Přesto bych měl k této části několik poznámek. V práci Sember et al. (2015) je popsán systém XY_1Y_2 u mřenky *Schistura fasciolata*. Podle autorů mohl tento systém vzniknout rozpadem chromozomu Y (v komentáři k výsledkům je chybně uvedeno chromozomu X), neuvádějí ale, proč preferují právě tento způsob vzniku. Součet velikostí chromozomů Y_1 a Y_2 ukazuje, že by původní chromozom Y musel mít značnou velikost. Podle mého názoru je pravděpodobnější, že systém XY_1Y_2 vznikl přestavbou mezi původním chromozomem Y a autozomovým párem. Vznik systému XY_1Y_2 by mohl být objasněn na základě způsobu párování pohlavních chromozomů v meióze heterogametického pohlaví. U druhu *Mesonoemacheilus guenterii* byl samec heterozygotem pro dlouhé heterochromatinické rameno, samice homozygotem pro krátké heterochromatinické. Tento polymorfismus vázaný na pohlaví může souviset s přítomností systému pohlavních chromozomů XY v karyotypu, bylo by ale zapotřebí analyzovat více jedinců obou pohlaví. Výsledky získané v práci Symonová et al. (2013) naznačují, že v šíření hlavního klastru rDNA v genomu síha *Coregonus fontanae* hrály důležitou úlohu transpozony. Jaké další mechanismy se mohly podílet na šíření tohoto klastru u *C. fontanae*? V další práci Symonové et al. z téhož roku se uvádí, že by diferenciální akumulace různých typů sekvencí na mikrochromozomech a makrochromozomech jeseterů mohla mít vztah ke snadnému vzniku mezidruhových hybridů, a to i mezi druhy, které se liší stupněm ploidie. Mají autoři nějakou pracovní hypotézu jak by mohla taková genomová dynamika usnadňovat vznik mezidruhových hybridů? Souhrnná diskuse k článkům zařazeným do dizertace opět dokládá detailní znalost problematiky. K této části mám jen dva dotazy:

str. 195, druhý odst.: mohl by autor vysvětlit, co míní výrazem „asociované organismy“ ?

str. 204, první odst.: je nutno upřesnit jaké dva procesy centrických fúzí má autor na mysli

Závěrem bych rád konstatoval, že cíle dizertační práce byly splněny. Dizertační práce a publikační aktivita Mgr. Alexandra Sembera jednoznačně dokládají jeho zapálení pro věc, pracovitost a schopnost samostatně řešit komplexní vědecké úkoly. A. Sember dovede zpracovat velké množství faktů, osvojit si a adaptovat náročné metodiky, jakož i kriticky

interpretovat dosažené výsledky. Jeho spis zcela odpovídá nárokům na dizertační práci.
Doporučuji tedy přijetí dizertační práce pro obhajobu a v případě úspěšné obhajoby udělení titulu Ph.D.

V Praze 2.6.2016

RNDr. Jiří Král, Dr.