

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Prokop Košátko

Neopohlavní chromosomy a jejich evoluční význam

Neo-sex chromosomes and their evolutionary significance

Bakalářská práce

Školitel: doc. RNDr. Jiří Král, Dr.

Praha 2017

Prohlášení:

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

V Praze, 21. 4. 2017

Podpis:

Poděkování:

Na tomto místě bych chtěl velice poděkovat svému školiteli doc. RNDr. Jiřímu Královi, Dr., za inspirativní vedení, ochotu při konzultacích a vstřícný přístup během celé práce.

Dále děkuji doc. RNDr. Lukáši Kratochvílovi, PhD. za konzultaci a poskytnutí prací z oblasti neopohlavních chromosomů.

Profesoru Malcomu Ferguson-Smithovi z university v Cambridge děkuji za e-mailovou konzultaci.

Obsah

Abstrakt	2
Abstract	3
1. Úvod	4
2. Pohlavní chromosomy	5
2.1 Určení pohlaví pomocí pohlavních chromosomů	5
2.2 Typy chromosomového určení pohlaví	5
2.3 Vznik pohlavních chromosomů	6
3. Neopohlavní chromosomy	9
3.1 Charakteristika neopohlavních chromosomů	9
3.2 Vznik neopohlavních chromosomů	10
3.3 Evoluční význam neopohlavních chromosomů	10
4. Neopohlavní chromosomy octomilek	11
4.1 Charakteristika a evoluce skupiny	11
4.2 Charakteristika karyotypu octomilek	12
4.3 Systémy neopohlavních chromosomů octomilek	12
5. Neopohlavní chromosomy muntžaků	17
5.1 Charakteristika a evoluce skupiny	17
5.2 Charakteristika karyotypu muntžaků	18
5.3 Neopohlavní chromosomy muntžaků	18
6. Neopohlavní chromosomy ptakořitných	21
6.1 Charakteristika a evoluce skupiny	21
6.2 Charakteristika karyotypu ptakořitných	21
6.3 Neopohlavní chromosomy ptakopyska podivného	22
6.4 Neopohlavní chromosomy ježur	25
7. Závěr	26
8. Seznam literatury	28

Abstrakt

Neopohlavní chromosomy vznikají přestavbami mezi původními gonosomy a autosomy. Především mladé neopohlavní chromosomy představují pro studium evoluce pohlavních chromosomů zajímavý objekt, protože procesy vedoucí ke vzniku diferencovaných pohlavních chromosomů zde proběhly poměrně nedávno nebo stále probíhají. Jedná se zejména o procesy suprese rekombinací a degenerace alosomu. Nejdůležitější chromosomové přestavby zodpovědné za vznik neopohlavních chromosomů jsou Robertsonovy translokace a reciproké translokace. Významným důsledkem vzniku neopohlavních chromosomů jsou následné speciační události. Neopohlavní chromosomy vznikly u mnoha skupin živočichů, např. dvoukřídlých rodu *Drosophila*. Příkladem je *Drosophila albomicans*, která je nositelem nejmladšího známého systému gonosomů, starého zhruba sto tisíc let. Poznatky z výzkumu neopohlavních chromosomů octomilek potvrzují, že v degeneraci alosomu se nejdříve více uplatňuje Mullerova rohatka a selekce na pozadí, později hlavně evoluční svezení se a deleční mutace. Mezi obratlovci mají mladé a rychle se vyvíjející systémy neopohlavních chromosomů například muntžáci. U některých muntžaků zaujímají systémy neopohlavních chromosomů značnou část genomu. Neopohlavní chromosomy ptakořitných zahrnují velké množství gonosomů. Systém gonosomů ptakopyska je pozoruhodný. Je sice typu *Drosophila*, ale mohl vzniknout evolučním přesmykem z typu *Abraxas*.

Abstract

Neo-sex chromosomes arise due to rearrangements between ancestral gonosomes and autosomes. Neo-sex chromosomes are valuable systems for the study of sex chromosome evolution. It is possible to use them for analysis of processes driving the formation of differentiated sex chromosomes, especially suppression of recombinations and alosome degeneration. The most important rearrangements forming neo-sex chromosomes are Robertsonian and reciprocal translocations. Speciation events are important consequences of birth of neo-sex chromosomes. The presented study is focused on the evolution of neo-sex chromosomes in drosophilids, muntjacs, and monotremes. Neo-sex chromosomes emerged in many *Drosophila* species. The genome of *D. albomicans* carries the youngest known neo-sex chromosome system, which arised only one hundred thousand years ago. Information from research into *Drosophila* neo-sex chromosomes underlines the importance of Muller's ratchet and background selection at the beginning of sex chromosome differentiation and hitchhiking and deleterious mutations at the end of this process. Genomes of muntjac carry young and fast evolving neo-sex chromosomes. In several muntjac species, neo-sex chromosomes form a considerable part of the genome. The neo-sex chromosome systems of monotremes consist of many gonosomes. Monotremes show a male heterogamety (the so-called *Drosophila* type of sex chromosome determination). Platypus sex determination could arise by evolutionary shift from *Abaraxas* determination (female heterogamety).

Klíčová slova: *Drosophila*, chromosomové přestavby, karyotyp, *Muntiacus*, neopohlavní chromosomy, *Ornithorhynchus anatinus*, pohlavní chromosomy, *Tachyglossus aculeatus*

Key words: chromosomal rearrangements, *Drosophila*, karyotype, *Muntiacus*, neo-sex chromosomes, *Ornithorhynchus anatinus*, sex chromosomes, *Tachyglossus aculeatus*

1. Úvod

Neopohlavní chromosomy jsou pohlavní chromosomy (gonosomy), které vznikají chromosomovými přestavbami mezi autosomy a stávajícími gonosomy (Pokorná et al. 2015). Vzhledem k tomu, že se často jedná o relativně nedávne evoluční události, představují vynikající objekt pro studium vývoje pohlavních chromosomů, protože zde stále probíhají nebo nedávno proběhly procesy vedoucí ke vzniku pohlavních chromosomů, popřípadě ranná evoluce pohlavních chromosomů. Jedná se např. o proces degenerace nebo genovou expresi v prostředí chromatinu pohlavních chromosomů (Pala et al. 2012). Přítomnost neopohlavních chromosomů v genomu určitého organismu ukazuje na plasticitu jeho genomu (Pala et al. 2012). Přestavby mezi pohlavními chromosomy a autosomy souvisí často se speciací, tedy vznikem nových druhů (Nguyen et al. 2013). V případě těchto přestaveb dochází ke vzniku nových druhů výrazně častěji, než při přestavbách týkajících se pouze autosomů (Nguyen et al. 2013). Vznik neopohlavního chromosomu je téměř vždy následován speciální událostí (Kitano & Peichel 2012). Hlavními mechanismy této reprodukční izolace jsou rychlejší evoluce chromosomu X, akumulace genů s opačným účinkem v závislosti na pohlaví, meiotický drive měnící poměr pohlaví, suprese transkripce pohlavních chromosomů během ranné spermatogeneze a přesun genů mezi chromosomem X (nebo Z) a autosomy (Moyle et al. 2010). Pohlavní chromosomy také obsahují geny, které mají roli v pohlavním chování a tím také přispívají k udržování reprodukční izolace. První část práce pojednává nejdříve obecně o pohlavních chromosomech, dále o neopohlavních chromosomech jako o jejich zvláštní kategorii. Pokusil jsem se popsat způsoby vzniku a diferenciace neopohlavních chromosomů a jejich úlohu v evoluci. Tyto chromosomy se uplatňují hlavně ve speciaci. Vznik neopohlavních chromosomů představuje mimořádně výkonný speciální mechanismus. Druhá část práce je zaměřena na vznik, evoluci a význam neopohlavních chromosomů u tří vybraných skupin živočichů, a to u čeledi octomilkovitých (Drosophilidae), u jeleního rodu *Muntiacus* a u řádu ptakořitných (Monotremata). Octomilky jsou dlouhodobě modelovými organismy pro genetický výzkum. Co se týče neopohlavních chromosomů, představují zajímavé objekty především proto, že několik druhů octomilek je nositelem nejmladších známých neopohlavních chromosomů. Mezi muntžaky najdeme nejmladší neopohlavní chromosomy mezi savci. Systém neopohlavních chromosomů ptakořitných je pozoruhodný vysokým počtem chromosomů, které ho tvoří, což je přinejmenším mezi savci neobvyklé. Evoluční původ gonosomů ptakořitných je zatím nejasný.

2. Pohlavní chromosomy

2.1 Určení pohlaví pomocí pohlavních chromosomů

Determinace pohlaví pomocí chromosomů vznikala během evoluce opakovaně a nezávisle (Charlesworth 1996). Pohlavní chromosomy, nazývané také gonosomy, jsou chromosomy, na nichž se nachází oblast nebo oblasti determinujících pohlaví (SDR, sex determinig region) (Pokorná et al. 2015). Gonosomy jsou poměrně hojné u živočichů, u rostlin jsou vzácnější (Rice 1996). Vznikají z páru autosomů, na kterých vznikne nebo na které je přenesen gen nebo skupina genů determinující pohlaví (Rice 1996). Pohlavní chromosomy mohou vzniknout u organismů s odděleným pohlavím i u hermafroditů (Bachtrog 2013). V přítomnosti pohlavních chromosomů je pohlaví obvykle určeno v okamžiku oplození, a to specifickou kombinací genů, kterou tyto chromosomy nesou. Pohlavní chromosomy mohou být morfologicky identické, tedy homomorfní nebo morfologicky odlišné, tedy heteromorfní. Jeden typ pohlavních chromosomů je přítomen jen u jednoho, druhý u obou pohlaví. Gonosom, který je obsažen pouze v karyotypu jednoho pohlaví se nazývá alosom a dotyčné pohlaví se označuje jako pohlaví heterogametické. Opačné pohlaví je potom pohlavím homogametickým.

2.2 Typy chromosomového určení pohlaví

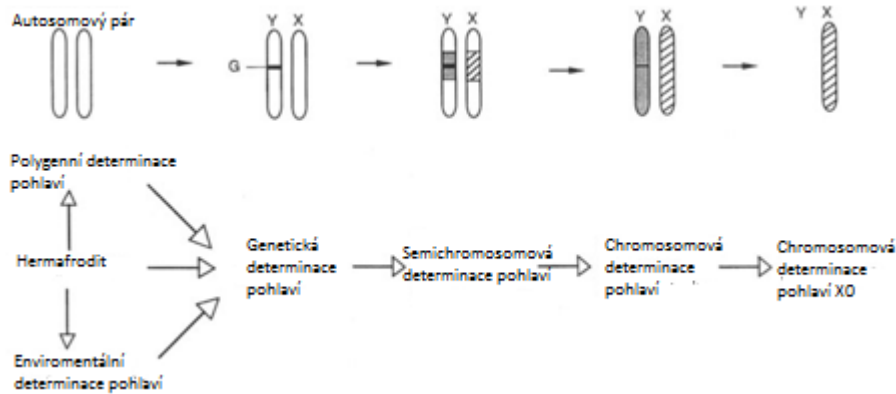
Rozeznáváme několik základních typů určení pohlaví pomocí pohlavních chromosomů. Nejdůležitějšími jsou typy *Drosophila*, *Abraxas* a UV (Bachtrog et al. 2011). Organismy s určením pohlaví typu *Drosophila* mají pohlavní chromosom X a pohlavní chromosom Y, tedy systém ♂XY/♀XX. Samice nesou pár pohlavních chromosomů X, jsou proto homogametickým pohlavím, samci sestavu XY, jsou tím pádem pohlavím heterogametickým (Bachtrog et al. 2011). Chromosom Y tedy představuje alosom. V rámci živočichů je takto pohlaví určeno u vrtejšů (Acanthocephala) (Špakulová & Casanova 2004), hlístic (Nematoda) (Špakulová & Casanova 2004), u většiny skupin hmyzu (Insecta) (Blackmon & Demuth 2015), většiny skupin pavoukoců (Arachnida), ostnokožců (Echinodermata), u některých skupin ryb (Osteichthyes) (Brykov 2014), dále u mnoha žab (Anura) (Wallace et al. 1999), u některých scinkovitých (Scincidae) a leguánovitých (Iguanidae) jakož i u všech savců (Mammalia) (Brykov 2014). Zvláštní kategorií typu *Drosophila* je systém ♂X0/♀XX, kdy došlo ke ztrátě alosomu. Jedinci heterogametického pohlaví nesou v tomto případě pouze jeden chromosom X. Takto je pohlaví určeno například u některých skupin řádu rovnokřídlých (Orthoptera) (Palacois-Gimenez et al. 2015). U rostlin najdeme tento typ určení pohlaví u některých cévnatých rostlin (Tracheophyta), například u čeledi

hvozdíkovitých (Caryophyllaceae) (Hobza et al. 2015). Organismy s určením pohlaví typu *Abraxas* mají pohlavní chromosom Z a pohlavní chromosom W. Samice nesou sestavu pohlavních chromosomů ZW, jsou tedy pohlavím heterogametickým, samci sestavu ZZ, jsou tedy pohlavím homogametickým. Chromosom W tedy představuje alosom. Z živočichů mají tento typ určení pohlaví motolice čeledi Schistosomatidae (Grossman et al. 1981), někteří korýši (Crustacea), všichni motýli (Lepidoptera) a chrostíci (Trichoptera) (Sahara et al. 2012), některé ryby (Osteichthyes) (Brykov 2014), většina ocasatých obojživelníků (Caudata), řada šupinatých plazů (Squamata) a ptáci (Aves) (Wang & Lan 1999). U rostlin je tento typ naopak velice vzácný, pohlaví je jím určeno například u řečíku pistáciového (*Pistacia vera*) (Kafkas et al. 2015). Určení pohlaví typu UV se vyskytuje u mechorostů (Bryophyta) (McDaniel et al. 2013) a některých řas (Luthringer et al. 2015), u nichž ve fázi haploidního gametofytu existují samostatní samčí a samičí jedinci produkující gamety (Immler & Otto 2015). Genom samčího gametofytu zahrnuje chromosom V, genom samičího gametofytu chromosom U (Immler & Otto 2015).

2.3 Vznik pohlavních chromosomů

Gonosomy se vyvíjejí z autosomů, které získaly SDR (Bachtrog et al. 2011). V průběhu evoluce dochází v okolí SDR k hromadění dalších genů spjatých s pohlavím (Rice 1996) (obr. 1). Tyto geny buď všechny determinují pohlaví nebo některé determinují pohlaví a jiné mají specifickou funkci v daném pohlaví (Charlesworth & Crow 1978). Pohlavní chromosomy nejsou bezprostředně po vzniku rozlišitelné na základě morfologie. Mnoho pohlavních chromosomů nelze krátce po vzniku odlišit ani studiem jejich genů (Traut et al. 1999). Klíčovým procesem pro diferenciaci pohlavních chromosomů je akumulace alel s odlišným účinkem v závislosti na pohlaví v okolí SDR (Bachtrog 2013), přičemž se na jednom chromosomu nacházejí alely výhodné pro samčí pohlaví a na druhém pro samičí. Aby mohly vzniknout pohlavní chromosomy, musí být tato situace zafixována supresí rekombinací v okolí SDR, jejímž důsledkem je postupná degenerace nerekombinujících oblastí alosomu (Charlesworth et al. 2005) (obr. 1). Suprese rekombinací může být zajištěna např. chromosomovými přestavbami, pozičním efektem heterochromatinu nebo mutacemi ve specifických genech (Ayling & Griffin 2003). V rámci chromosomových přestaveb mohou být v supresi rekombinací velmi účinné inverse, různé typy chromosomových fúzí, rozštěpení chromosomů a translokace částí chromosomů (Pokorná et al. 2015). Tyto procesy vedou k lokální supresi rekombinací mezi párovým gonosomem a alosomem (Bachtrog 2013). U hetrogametického pohlaví má tato suprese za následek nezávislou akumulaci mutací a rozrůznění

alosome a párového gonosomu (Bachtrog 2013). Suprese rekombinací je nezbytná pro následnou degeneraci alosomu (Charlesworth et al. 2005).



Obr. 1: Schéma vzniku chromosomové determinace pohlaví a evoluce alosomu (chromosomu Y) u živočichů. Determinace pohlaví pomocí pohlavních chromosomů představuje pouze jednu z možností determinace pohlaví. Prvním stupněm ve vývoji této determinace je přítomnost jedné dominantní alely determinující pohlaví (gender-determining allele) - ve schématu je označena písmenem G. Tak vzniká genetická determinace pohlaví. Pokročilejší stav představuje akumulace nerekombinujících segmentů v okolí původní alely, ve schématu jsou vyznačeny stínováním. Na chromosomu přítomném u obou pohlaví (zde chromosom X) dochází v heterogametickém pohlaví ke kompenzaci dávky genů, a to v oblasti, která odpovídá nerekombinující oblasti na alosomu - ve schématu je tato oblast vyznačena šrafováním. Tento přechodný stav se nazývá semi-chromosomová determinace pohlaví. Logickým výsledkem expanze nerekombinující oblasti a oblasti kompenzace dávky je skutečná chromosomová determinace pohlaví. Extrémním případem umlčování genů na alosomu je exkluze celého alosomu. K tomuto poslednímu kroku dochází jen zřídka. Upraveno podle Rice 1996.

Jak bylo naznačeno výše, při vzniku nových morfologicky diferencovaných pohlavních chromosomů hraje významnou roli pohlavně specifická a pohlavně antagonistická selekce. Pohlavně antagonistická selekce je zásadní pro supresi rekombinací vznikajících pohlavních chromosomů. Zásadní je vazba genů selektovaných na pozadí s geny determinujícími pohlaví (Bachtrog 2013). Na tuto skutečnost ukazují maskulinizace chromosomu Y a demaskulinizace chromosomu X, ke kterým dochází velmi rychle po vzniku gonosomů. Po inhibici crossing-overu dochází k rozrůžňování obou pohlavních chromosomů. Na chromosomu X, případně Z, dochází k hromadění genů výhodných pro homogametické pohlaví. Předpokládá se, že geny na chromosomu X se vyvíjejí rychleji než autosomové geny. Tato situace se nazývá efekt rychlejšího X (faster X-effect) (Ellegren 2011). Jeho předpokládanou příčinou je skutečnost, že na X (Z) chromosomu v heterogametickém pohlaví probíhá silná selekce ve prospěch výhodných recesivních mutací. Alosom podléhá degeneraci (Charlesworth et al. 2005), přičemž ztrácí většinu původních genů (Bachtrog 2013). Někdy dochází postupně ke ztrátě celého alosomu

(Rice 1996; Bachtrog 2013) (obr. 1). Na degeneraci alosomu se podílejí různé mechanismy: Mullerova rohatka, selekce na pozadí (background selection), evoluční svezení se (hitchhiking) a kumulace repetitivní DNA, včetně transponovatelných elementů. Mullerova rohatka je proces, při kterém dochází ke ztrátám funkčních alel genů na alosomu. Tento proces se uplatňuje jen v případě, že nedochází k rekombinacím mezi alosomem a párovým pohlavním chromosomem a zpětným mutacím na alosomu (Muller 1964; Felsenstein 1974). Mechanismus Mullerovy rohatky se uplatňuje v mnoha evolučních procesech, například při vymírání druhů bez pohlavního rozmnožování (Loewe & Cutter 2008), při degeneraci nerekombinující DNA, jak je tomu například v lidských mitochondriích (Loewe 2006) nebo na alosomu (Engelstädter 2008). Mullerova rohatka působí v populacích s malým počtem jedinců, přičemž nedochází k rekombinacím mezi alosomem a párovým pohlavním chromosomem. V důsledku genetického driftu dochází k nevratným ztrátám chromosomů s nejnižším počtem delečních mutací (Ellegren 2011). Protože nedochází k rekombinacím a zpětným mutacím, ztráta těchto chromosomů představuje nevratný krok Mullerovy rohatky a nese s sebou fixaci deleční mutace v celé populaci (Charlesworth & Charlesworth 1997). Podmínkou fungování modelu je úplná vazba genů na alosomu a nízká selekční výhodnost daných lokusů. Účinnost Mullerovy rohatky se liší v závislosti na aktuálních podmínkách. Tento mechanismus, společně se selekcí na pozadí, vykazuje nejvyšší účinnost na počátku degenerace, v době kdy alosom ještě obsahuje mnoho aktivních genů. Když se po několika nevratných krocích rohatky obsah genů sníží, účinnost Mullerovy rohatky rychle klesá (Bachtrog 2008). I na počátku degenerace Y chromosomu působí rohatka v různých případech s různou účinností. Účinnost rohatky je regulována zejména efektivní velikostí populace, frekvencí delečních mutací, dopadem dané deleční mutace na fitness jejího nositele a počtem aktivních genů (Gordo & Charlesworth 2000; Charlesworth & Charlesworth 2000). Při selekci na pozadí (background selection) probíhá negativní selekce vůči deleční alele a současně s ní dochází ke ztrátám výhodných alel, které jsou s ní ve vazbě (Ellegren 2011). Jedná se tedy o svého druhu soupeření výhodných a nevýhodných alel, při čemž výhodná alela se může v populaci udržet jen když je její příspěvek k fitness větší než snížení fitness s fixací nevýhodné alely, která leží v její blízkosti (B. Charlesworth & Charlesworth 2000). V některých případech může docházet pouze ke snížení frekvence těchto alel ve vazbě. Výsledkem je snižování genetické diverzity dané populace nebo druhu (Ellegren 2011). Selektce na pozadí snižuje efektivní velikost populace Y chromosomů, protože se ztrácí deleční alely se silným účinkem, což urychluje fixaci

delečních mutací se slabým účinkem (Charlesworth 1996). Evoluční svezení se neboli genetický draft je proces, při kterém dochází k fixaci nevýhodných alel, které jsou v těsné vazbě se selekčně výhodnými geny (Rice 1987). Proces evolučního svezení se působí nejefektivněji za stavu, kdy se na alosomu nachází střední množství aktivních genů (Bachtrog 2008). S úbytkem aktivních genů na alosomu tedy evoluční svezení se přebírá hlavní roli v degeneraci alosomu na úkor Mullerovy rohatky a selekce na pozadí (Bachtrog 2008). Může tedy působit současně se dvěma výše popsanými procesy i samostatně (Rice 1987). Kumulace repetitivní DNA nastává v důsledku suprese rekombinací a dále stav suprese upevňuje (Hobza et al. 2015). Zúčastněnými sekvencemi jsou různé typy tandemových repetice, jako transponovatelné elementy a tandemové repetice (satelity a mikrosatelity). Kromě repetice se může podobným způsobem uplatňovat také organelová DNA. Kumulace transponovatelných elementů na vznikajících alosomech má pravděpodobně důležitou roli v umlčení genetického obsahu těchto chromosomů (Steinemann & Steinemann 1997). Hlavní roli v degeneraci chromosomu Y mají transponovatelné elementy na počátku tohoto procesu (Steinemann & Steinemann 1997). Velmi specifickým příkladem působení transponovatelných elementů při vzniku pohlavních chromosomů je situace, kdy se součástí transponovatelného elementu stává samotný gen determinující pohlaví. Tehdy může docházet k migraci genu determinujícího pohlaví mezi různými chromosomy, což bylo popsáno například u mouchy *Megaselia scalaris* (Traut & Willhoeft 1990). Výsledkem výše popsaných procesů je strukturní diferenciací pohlavních chromosomů. K výrazným změnám dochází především na alosomu, kde se hromadí heterochromatin a repetitivní DNA (Bull 1983).

3. Neopohlavní chromosomy

3.1 Charakteristika neopohlavních chromosomů

Neopohlavní chromosomy jsou takové pohlavní chromosomy, které vznikají chromosomovými přestavbami mezi již existujícími gonosomy a autosomy (Pokorná 2015). Neopohlavní chromosomy byly poprvé popsány McClungem v roce 1905, a to u některých zástupců sarančat (Caelifera) (Castillo et al. 2011). Jsou to většinou mladé pohlavní chromosomy, které se nachází v procesu diferenciací. Tyto gonosomy tedy představují vynikající objekt pro výzkum evoluce pohlavních chromosomů, protože u nich většinou ještě nedošlo k úplné degeneraci alosomů a dosud se zcela nerozvinula kompenzace dávky (Pala et al. 2011).

3.2 Vznik neopohlavních chromosomů

Neopohlavní chromosomy se nejčastěji formují translokacemi Robertsonova typu nebo reciprokými translokacemi. Při vzniku neopohlavních chromosomů Robertsonovou translokací dojde nejdříve k fúzi mezi autosomem a gonosomem (Castillo et al. 2011). Homolog zfúzovaného autosomu se stává dalším neopohlavním chromosomem. Zfúzovaný autosom a jeho homolog si v počáteční fázi zachovají vzájemnou homologii (Castillo et al. 2011). Postupně dochází v rámci autosomu k degeneraci, jejímž důsledkem je ztráta uvedené homologie. Robertsonova translokace má často za následek vznik takzvaných chromosomových ras se sníženým počtem chromosomů (Garagna et al. 2014), přičemž se zvyšuje zastoupení metacentrických chromosomů. Výrazným příkladem je západoevropský poddruh myši domácí (*Mus musculus domesticus*), u něhož často vznikají metacentrické chromosomy a to právě mechanismem Robertsonovy translokace (Nachman & Searle 1995). Proto myš domácí představuje jeden z významných druhů pro zkoumání chromosomové speciace (Gimenez et al. 2016). U některých populací klesl díky Robertsonovým translokacím počet chromosomů ze čtyřiceti, což je standardní stav popsáný u laboratorních myší (Long 1908), až na dvaadvacet (Garagna et al. 2014). Karyotyp jedince s dvaadvaceti chromosomy obsahuje devět párů metacentrických chromosomů a dva páry chromosomů telocentrických. Poznatky získané studiem Robertsonových translokací u *M. m. domesticus* nasvědčují, že zde funguje jakýsi dominový efekt. To znamená, že když dojde k jedné fúzi, spojují se další telocentrické chromosomy navzájem ochotněji (Garagna et al. 2014). Jestli je zde skutečně příčinná souvislost není zatím jasné. Jedno z navržených vysvětlení považuje za příčinu retrovirovou sekvenci, která se šíří po chromosomech a zvyšuje frekvenci Robertsonových translokací (Sage et al. 1993). Produkty Robertsonovy translokace jsou evolučně velmi stabilní. Další mechanismus, který může vést ke vzniku neopohlavních chromosomů představuje reciproká translokace. Příkladem je situace u některých bylin čeledi hvozdíkovitých (Caryophyllaceae). U druhu *Silene diclinis* došlo k reciproké translokaci mezi původním chromosomem Y a autosomem za vzniku neopohlavního chromosomu (Howell et al. 2009).

3.3 Evoluční význam neopohlavních chromosomů

Chromosomové přestavby napomáhají speciaci (Kirkpatrick & Barton 2006). Přestavby zahrnující pohlavní chromosomy v tomto směru nejsou výjimkou. To je zdaleka nejvýznamější důsledek vzniku a existence neopohlavních chromosomů. Přestavby zahrnující gonosomy vedou téměř vždy k vytvoření reprodukční bariéry (Kitano & Peichel 2012). Neopohlavní chromosomy mohou

zvyšovat počet pohlavních chromosomů v karyotypu. V tomto případě představují zvláštní typ mnohočetných pohlavních chromosomů (multiple sex chromosomes) (Pokorná 2015). Jednou z možností vzniku mnohočetných pohlavních chromosomů je rozštěpení stávajícího pohlavního chromosomu (Toder et al. 1997). Další typ mnohočetných pohlavních chromosomů představuje situace, kdy je v karyotypu přítomno několik lokusů, které fungují v determinaci pohlaví a které se nacházejí na několika různých chromosomových párech. Determinace pohlaví je pak zajištěna epistatickými interakcemi mezi těmito lokusy (Volf & Schartl 2001). Epistáze je schopnost určitého genu potlačit účinek jiného genu (Bateson 1909 et Cordell 2002). Takové mnohočetné pohlavní chromosomy najdeme například u některých ryb z čeledi živorodkovitých (Poeciliidae) (Volf & Schartl 2001). Při vzniku neopohlavních chromosomů může celkový počet chromosomů v karyotypu i klesat, a to v důsledku fúzí mezi chromosomy. Neopohlavní chromosomy však počet chromosomů v karyotypu vždy měnit nemusí. S gonosomem totiž nemusí fúzovat celý autosom, ale jen jeho část, čímž se počet chromosomů nesníží ani nedojde ke vzniku nadpočetných chromosomů (Pokorná 2015). Na fixaci přestaveb generovaných Robertsonovou translokací se může podílet meiotický drive a evoluční svezení se (Garagna et al. 2014). Meiotický drive, neboli meiotický tah, je mechanismus, kdy se některá z genetických variant, například neopohlavní chromosom, šíří na úkor druhé varianty. To se často děje i na úkor jejich nositele. (Lindholm et al. 2016). Fixaci Robertsonovy translokace ovlivňují i ekologické a biogeografické faktory. To se týká hlavně dalšího procesu, kterým se mohou fixovat tyto přestavby, a sice genetický drift. Ten funguje nejlépe při malé velikosti populace (Nachman & Searle 1995), proto se rychlost fixace těchto přestaveb s redukcí populace zvyšuje (Garagna et al., 2014). Typickým příkladem jsou populace z ostrovů nebo horských údolí, jako třeba chromosomové rasy myši domácí z Madeiry (Britton-Davidian et al. 2000) nebo z alpských údolí (Piálek et al. 2001).

4. Neopohlavní chromosomy octomilek

4.1 Charakteristika a evoluce skupiny

Octomilka (*Drosophila*) je rod dvoukřídlého hmyzu z čeledi octomilkovitých (Drosophilidae). V části věnované této skupině se pokusím popsat vznik a diferenciaci neopohlavních chromosomů u vybraných druhů octomilek. Poukážu na specifika neopohlavních chromosomů u tohoto modelového hmyzího rodu. Zkusím také ukázat význam těchto chromosomů pro evoluci octomilek. Octomilky představují velmi významné modelové organismy, mimo jiné i pro genetický

výzkum. Jako modelové organismy mají tři důležité výhody. Za prvé, fylogenetické vztahy mezi hlavními taxony octomilek jsou poměrně dobře známy. Za druhé, u mnoha octomilek byly chromosomy důkladně prozkoumány. Třetím důvodem je vysoká konzervovanost genového obsahu chromosomových ramen. V oblasti chromosomové biologie jsou octomilky důležité také proto, že v genomech některých z nich najdeme jedny z nejmladších neopohlavních chromosomů.

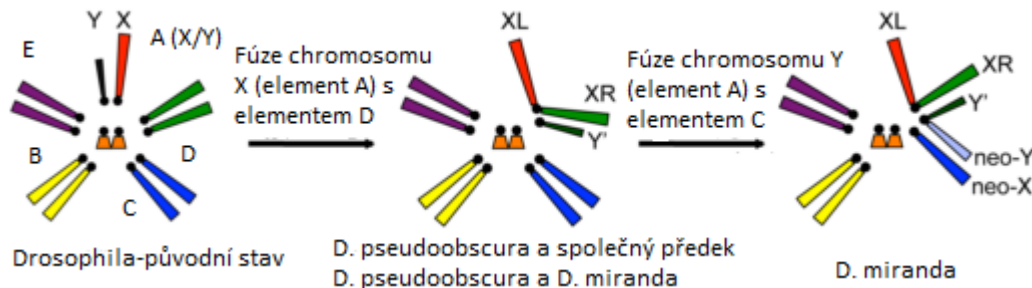
4.2 Charakteristika karyotypu octomilek

Původní sestavu pohlavních chromosomů u dvoukřídlých představuje šest párů chromosomů (Vicoso & Bachtrog 2015). Pět z těchto párů tvoří velké, takzvané rod chromosomy, šestý pár se skládá z malých, takzvaných dot chromosomů (White 1949). Chromosomy těchto párů se nazývají Mullerovy elementy A až F, přičemž původní pohlavní chromosomy jsou elementy F (White 1949). Chromosomy F byly pravděpodobně pohlavními chromosomy přes dvě stě milionů let (Vicoso & Bachtrog 2015). Pohlavní chromosomy octomilek náleží k typu *Drosophila*, kdy samec představuje pohlaví heterogametické a samice homogametické. Ancestrální chromosomové určení pohlaví octomilek je ♂XY/♀XX. Z evolučního hlediska je důležitým faktem, že u samčího chromosomu Y nedochází během meiózy k rekombinacím (Zhou & Bachtrog 2012). Evolučně původní je u rodu *Drosophila* stav, kdy jsou pohlavní chromosomy totožné s elementem A. V rámci brachycer se jedná o odvozený stav, protože u mnoha skupin je nositelem determinace pohlaví element F. U některých druhů octomilek došlo k fúzi dalších chromosomových elementů s pohlavními chromosomy a vznikly tak neopohlavní chromosomy (Flores et al. 2008; Vicoso & Bachtrog 2015). V následující kapitole bude pojednáno o vzniku a evoluci neopohlavních chromosomů u několika druhů octomilek.

4.3 Systémy neopohlavních chromosomů octomilek

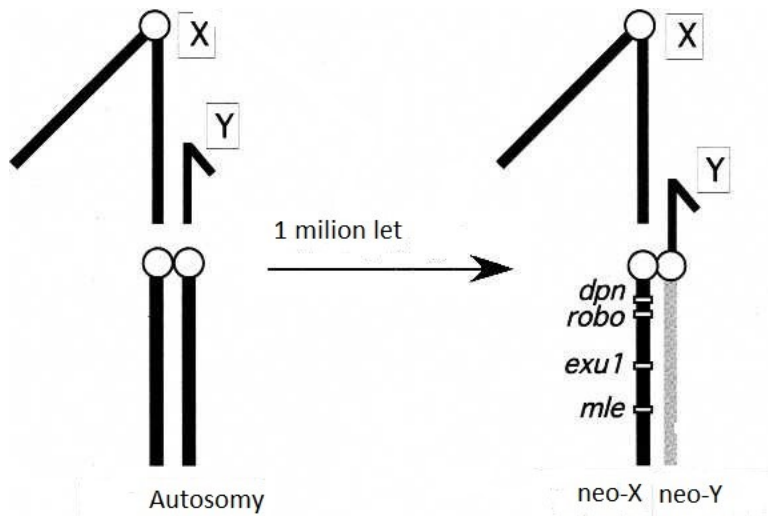
Evolučně mladý systém neopohlavních chromosomů najdeme například u *D. miranda*, který je starý zhruba jeden milion let, kdy se tento druh oddělil od nejbližšího příbuzného druhu *D. pseudoobscura* (Zhou et al. 2013). Vznik systémů neopohlavních chromosomů těchto dvou druhů ukazuje schéma na obrázku 2. U *D. miranda* najdeme systém neopohlavních chromosomů ♂neo-X₁X₂Y/♀neo-X₁X₁X₂X₂ (Brown & Bachtrog 2014), který vznikl ze systému XY, (obr. 2) (Lott et al. 2014). Neopohlavní chromosomy obou druhů zahrnují Mullerovy elementy A a D (Zhou et al. 2013). Element A je starý asi 60 milionů let a sdílený všemi druhy octomilek (Vicoso & Bachtrog 2015). Jak je uvedeno výše, jedná se o původní pohlavní chromosomy octomilek. K fúzi elementu D s původními gonosomy došlo zhruba před 15 miliony let

u společného předka *D. miranda* a *D. pseudoobscura*. (Vicoso & Bachtrog 2015). Fúze elementu C s chromosomem Y je apomorfií *D. miranda* (Kaiser & Bachtrog 2014).



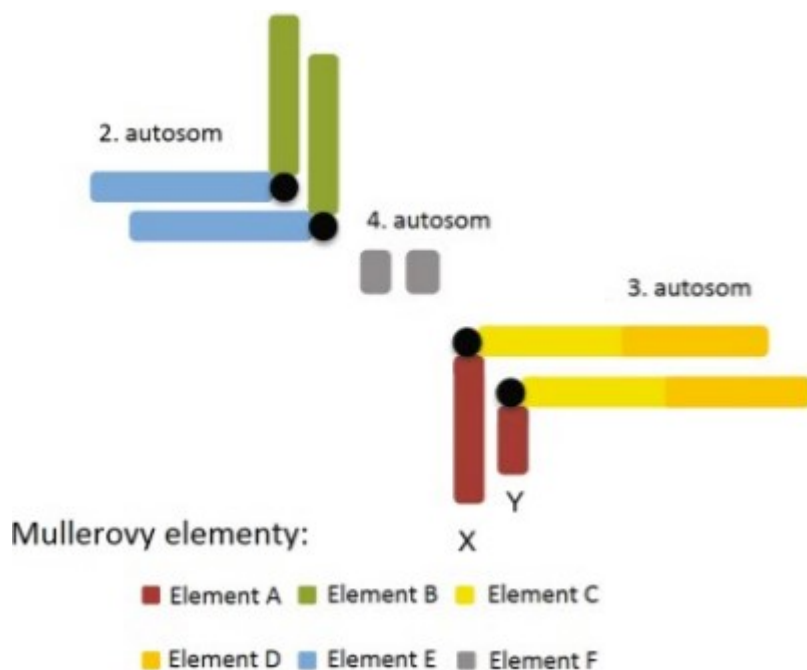
Obr. 2: Vývoj karyotypu u *D. miranda* a *D. pseudoobscura*. Zkratka XL označuje část chromosomu X tvořenou původním chromosomem X, zkratka XR označuje rameno, které vzniklo z autosomu D. Písmena vedle chromosomových párů označují jednotlivé Mullerovy elementy. Upraveno podle Lott et al. 2014.

Na neo-X chromosomech druhu *D. miranda* došlo ke ztrátě, případně k umlčení některých funkčních genů (Kaiser & Bachtrog 2014). Můžeme pozorovat silný trend k demaskulinizaci, tedy ztrátě genů se specifickou expresí u samců (Sturgill et al. 2008). Příčiny těchto evolučních změn jsou poměrně málo prozkoumány (Kervestin & Jacobson 2012). Výzkumy prováděné na druhu *D. miranda* ukazují, že ke ztrátám genů se specifickou expresí u samců a k umlčování specifických samčích transkriptů dochází po vzniku neopohlavních chromosomů X velice rychle (Kaiser & Bachtrog 2014). Na neo-Y chromosomu došlo ke ztrátě většiny genů, ty zbývající mají většinou specifické funkce ve varlatech. Zhruba 40 % genů tohoto gonosomu je nefunkčních, protože v nich došlo k posunovým mutacím, objevily se stop kodony nebo došlo k úplné ztrátě těchto genů (Bachtrog, 2008). Neo-Y chromosom *D. miranda* je zvětšen v důsledku fúze mezi původním gonosomem a elementem C (Flores et al. 2008), což ilustrují obrázky 2 a 3. Na neo-Y chromosomu také dochází k rychlé akumulaci repetitivní DNA, tento chromosom má heterochromatinický charakter, skládá se tedy většinou z transkripčně neaktivního chromatinu (Zhou & Bachtrog 2012).



Obr. 3: Vznik systému neopohlavních chromosomů $X_1X_2Y_1$ u octomilky *D. miranda*. Schéma ukazuje pohlavní chromosomy samce. Zkratky uvedené vedle neo-X chromosomu označují regiony důležité pro pochopení vzniku tohoto systému (Bachtrog 2005).

U druhu *D. albomicans* se systémem neo-XY došlo k fúzi vedoucí ke vzniku neopohlavních chromosomů před pouhými sto tisíci lety. Jedná se o nejmladší známý systém neopohlavních chromosomů u organismů obecně (Zhou et al. 2012). Obrázek 4 ukazuje tento systém a to s vyznačením Mullerových elementů, které se na jeho vzniku podílely. Neopohlavní chromosomy tohoto druhu obsahují ještě poměrně mnoho genů, aktivních je jich zhruba pět tisíc (Charlesworth & Charlesworth 2000). Toto vysoké množství aktivních genů je dáno nejen nedávným vznikem systému neopohlavních chromosomů, ale také jejich velikostí. Neopohlavní chromosomy *D. albomicans* představují téměř 40 % jejího genomu (Zhou et al. 2012). Ke vzniku tohoto systému došlo fúzí třetího autosomového páru s ancestrálním párem gonosomů (Zhou et al. 2012). Třetí pár autosomů je navíc sám produktem fúze dvou autozomových párů, takzvaných Mullerových elementů C a D (Zhou et al. 2012).



Obr. 4: Karyotyp *D. albomicans*. Neopohlavní chromosomy vznikly fúzí původních gonosomů a třetího páru autosomů. Třetí pár autosomů je sám produktem fúze dvou párů Mullerových elementů, stejně jako druhý pár autosomů. Upraveno podle Zhou et al. 2012.

Evolučně velmi mladý systém neopohlavních chromosomů *D. albomicans* umožňuje poznat počátky vývoje neo-Y chromosomu. Je patrná především degenerace kódujících oblastí neo-Y chromosomu, a to hromaděním delečních mutací v důsledku inhibice jeho rekombinací (Zhou et al. 2012). Potvrzuje se zde skutečnost, že v časných stádiích degenerace Y chromosomu se uplatňuje zejména Mullerova rohatka a selekce na pozadí, zatímco v pozdějších stádiích má hlavní roli evoluční svezení se a deleční mutace (Bachtrog 2008). Dalším druhem octomilky, který je nositelem mladého systému neopohlavních chromosomů je *D. americana*. V rámci tohoto druhu najdeme výrazný genetický polymorfismus týkající se pohlavních chromosomů. V některých populacích se vyskytuje jako polymorfismus fúze ancestrálního chromosomu X a autosomu čtvrtého chromosomového páru. Druhý autosom čtvrtého páru, který tuto fúzi neprodělal, se chová jako další chromosom Y. U jedinců s fúzí se tedy vyskytuje systém neopohlavních chromosomů ♂XY₁Y₂/♀XX. U jedinců, kteří fúzi nemají, je původní systém ♂XY/♀XX (McCallister & Evans 2006). Neopohlavní chromosomy tohoto druhu vznikly před zhruba půl milionem let (Flores et al. 2008) (McCallister & Charlesworth 1999). Došlo zde k fúzi elementu B, tedy chromosomu čtvrtého autosomového páru, s chromosomem X v oblasti centromery. Tímto spojením vznikl neo-X chromosom. Z druhého chromosomu čtvrtého autosomového páru vznikl neo-Y chromosom.

Blízce příbuzným druhem je *D. virilis*, jehož karyotyp tyto přestavby postrádá (McCallister & Charlesworth 1999). U druhu *D. robusta* se systémem pohlavních chromosomů ♂neo-XY₁Y₂/♀neo-XX (Flores et al. 2006) došlo k fúzi jednoho elementu D s centromerickou oblastí chromosomu X, druhý element D se spojil s chromosomem Y (Carson & Stalker 1947). Komplex příbuzných druhů *D. paramelanica*, *D. euronotus*, *D. nigromelanica* a *D. melanica* vykazuje stejnou přestavbu. Molekulární data naznačují, že vznikla nezávisle na octomilkách skupiny *robusta* (Flores et al. 2008). Sesterským taxonem této skupiny je patrně *D. micromelanica*, v jejímž genomu se tato fúze ještě nenachází (Stalker 1966). Jiný druh octomilky, významný z hlediska výzkumu neopohlavních chromosomů, představuje *D. busckii*. Zde došlo k fúzi původních pohlavních chromosomů XY s takzvanými dot chromosomy (Zhou & Bachtrog, 2015). Neopohlavní chromosomy jsou zde více heterochromatinické než u živočichů, jejichž pohlavní chromosomy vznikly fúzí pohlavních chromosomů s normálními euchromatickými autosomy (Zhou & Bachtrog 2015). Tento systém gonosomů je starý pravděpodobně 850 000 let (Zhou & Bachtrog 2015). Hodnota vychází z předpokládané mutační rychlosti $5 \cdot 10^{-9}$ per bp (Schrider et al. 2013) a generační doby této octomilky, u níž se během jednoho roku vystřídá deset generací (Zhou & Bachtrog 2015). Evoluce neo-X chromosomů *D. busckii* se vyznačuje několika dalšími specifickými rysy. Jak jsem již uvedl, tyto neopohlavní chromosomy obsahují značné množství heterochromatinu. Jeho podíl byl vysoký už v autosomech, které se na vzniku těchto neopohlavních chromosomů podílely (Zhou & Bachtrog 2015). Pár dot chromosomů, které se účastnily vzniku neopohlavních chromosomů tohoto druhu, je z evolučního hlediska značně neobvyklý. Tyto chromosomy byly patrně pohlavními chromosomy u předka vyšších dvoukřídlých (Zhou & Bachtrog, 2015). U předka čeledi *Drosophilidae* došlo k reverzi a chromosomy tohoto páru se přeměnily na autosomy (Vicoso & Bachtrog, 2015). Přestože jsou neopohlavní chromosomy *D. busckii* z evolučního hlediska mladé, 58,2 % genů na chromosomu Y je nefunkčních (Zhou & Bachtrog 2015). To je vyšší počet než u příbuzné *D. miranda*, jejíž pohlavní chromosomy jsou poměrně dobře známy a kde podíl předpokládaných nefunkčních genů dosahuje 34,2 % (Zhou & Bachtrog 2012). Systém neopohlavních chromosomů u *D. busckii* je při tom mladší než systém který nacházíme u *D. miranda* (Zhou & Bachtrog 2015). Heterochromatinizace je u *D. miranda*, stejně jako u *D. busckii* výraznější na chromosomu Y (Zhou & Bachtrog 2015). Systém neopohlavních chromosomů *D. busckii* je příkladem systému, který je v počáteční fázi své diferenciace (Zhou & Bachtrog 2015). Podíl předpokládaných nefunkčních genů na neo-Y u *D.*

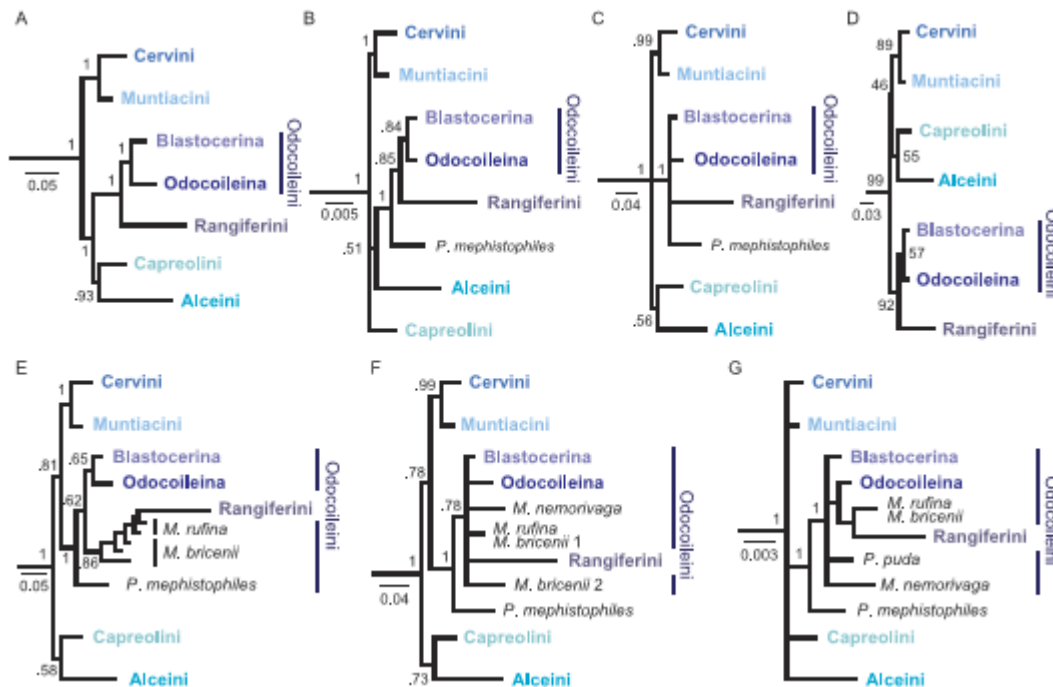
busckii je však, jak už jsem uvedl, vyšší než na starším neo-Y chromosomu *D. miranda* (Zhou & Bachtrog 2012). Neo-Y chromosom *D. busckii* je výrazně menší než neo-Y chromosom *D. miranda*, takže by se u něj měl méně projevovat Hill-Robertsonův efekt (Bachtrog, 2008). Hill-Robertsonův efekt nebo také Hill-Robertsonova interference je děj, při kterém se selektované mutace navzájem ovlivňují (Bachtrog, 2008). Vzhledem k menší míře tohoto efektu by mělo být procento nefunkčních genů u *D. busckii* nižší. Tomu odpovídá skutečnost, že na neo-Y chromosomu *D. busckii* dosud nedošlo k delecí žádného genu kódujícího protein (Zhou & Bachtrog 2015). Příčina paradoxně vysokého podílu nefunkčních genů na neo-Y chromosomu tohoto druhu není tedy zatím zcela objasněna.

5. Neopohlavní chromosomy muntžaků

5.1 Charakteristika a evoluce skupiny

Muntžakové jsou malí jelenovití z indomalajské zoogeografické oblasti (Mattioli 2011). Rod *Muntiacus* zahrnuje dvanáct v současné době žijících druhů (Mattioli 2011). Tento počet rozhodně není definitivní. Muntžakové jsou totiž z hlediska molekulární fylogenetiky stále poměrně málo prozkoumání (Heckeberg et al. 2016). V relativně nedávné minulosti došlo k objevům nových druhů muntžaků přímo v terénu, jako například muntžaka obrovského (*M. vuquanegensis*) v roce 1994 (Schaller & Vrba 1994) nebo muntžaka listového (*M. putaoensis*) v roce 1999 (Datta et al. 2003). Mezi jelenovitými obecně se jednotlivé druhy svými karyotypy velmi liší. Nejméně chromosomů bylo zjištěno u muntžaka indického (*M. vaginalis*), kde je u samic 6 a u samců 7 chromosomů (Wuster & Benirschke 1970). Nevíce chromosomů naopak obsahuje karyotyp srnců rodu *Capreolus*, u srnce obecného (*C. capreolus*) (Herzog 1988) a srnce sibiřského (*C. pygargus*) (Sokolov et al. 1978) je to $2n = 70$ chromosomů u obou pohlaví. V rámci muntžaků bylo nejvíce chromosomů indentifikováno u muntžaka malého (*M. reevesi*) s diploidním počtem $2n = 46$ u obou pohlaví (Wuster & Benirschke 1970). Za původní stav u jelenovitých je považován karyotyp s vysokým počtem chromosomů, pravděpodobně $2n = 70$. U muntžaků byly významným trendem vývoje karyotypu tandemové fúze, které počet chromosomů stále snižovaly (Lin et al. 1991). Muntžáci jsou pravděpodobně sesterskou skupinou starosvětských jelenů (Cervinae) (Pitra et al. 2004). To ukazuje většina navržených fylogenetických stromů jelenovitých, jak ukazuje obrázek 5. Alternativní hypotéza je považuje

za sesterskou skupinu větve tvořené starosvětskými jeleny (Cervinae) a novosvětskými jeleny (Odocoileinae) (Azanza 1993), tento názor má však dnes méně zastánců.



Obř. 5: Fylogeneze jelenovitých (Cervidae) není stále jasná, jak ukazuje těchto sedm možných fylogenetických stromů. Vznikly na základě analýzy mitochondriálního genomu. Muntžáci však v každém z těchto stromů představují skupinu, která se odštěpila poměrně záhy. Upraveno podle Heckeberg et al. 2016.

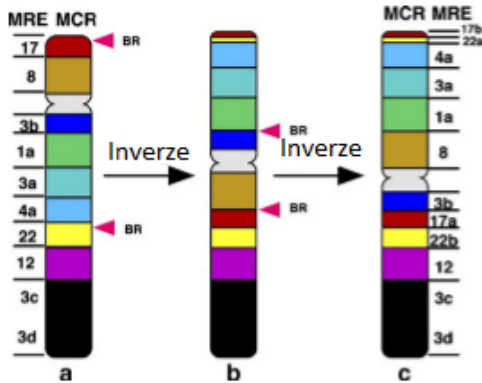
5.2 Charakteristika karyotypu muntžáků

V rámci rodu *Muntiacus* najdeme karyotypy od $2n = 6$ nebo 7 (6 u samice a 7 u samce) u muntžaka indického až po $2n = 46$ (u obou pohlaví) u muntžaka čínského (Yang et al. 1993). Jak je uvedeno výše, v rámci jelenovitých mají muntžakové méně chromosomů. Muntžakové se vyznačují vysokou rychlostí vývoje karyotypů a genů. Extrémní rychlost vývoje genů byla nalezena u muntžaka indického (*M. vaginalis*). Tento druh má nejméně chromosomů mezi savci (Zhou et al. 2006). Neopohlavní chromosomy muntžáků představují mezi amnioty výjimku, co se týče vysoké rychlosti jejich evoluce (Huang et al. 2006).

5.3 Neopohlavní chromosomy muntžáků

Příkladem muntžaka s neopohlavními chromosomy je muntžak tmavý (*M. crinifrons*) s karyotypem $2n = 9\text{♂}/8\text{♀}$ (Zhou et al. 2008; Ma & Shi 1988). U tohoto druhu se jedná o systém pohlavních chromosomů $X_1X_2Y_1Y_2Y_3$ u samce a $X_1X_1X_2X_2$ u samice (Huang et al. 2006; Ma & Shi 1988). Genetický materiál tvořící tento systém představuje zhruba

polovinu celého genomu, což nemá v rámci dosud geneticky prozkoumaných eutherií obdoby (Huang et al. 2006; Ma & Shi 1988). Během samčí meiózy tvoří pohlavní chromosomy chromosomový pentavalent (Zhou et al. 2008; Ma & Shi 1988). Tyto pohlavní chromosomy vznikly u předka muntžaka tmavého následujícím způsobem: X_1 z $X+4$ (element vzniklý fúzí původního chromosomu X a čtvrtého autosomu), X_2 z autosomu prvního páru, Y_2 odpovídá $1p+4$ (elementu vzniklému fúzí čtvrtého autosomu a krátkého ramene prvního autosomu) a chromosom Y_3 vznikl z $1q$ (chromosom vzniklý odštěpením krátkého ramene prvního autosomu) (Yang et al. 1995; Yang et al. 1997). Tento systém pohlavních chromosomů je spolu s celým karyotypem muntžaka tmavého starý maximálně půl milionu let (Wang & Lan 1999). Vznik tohoto karyotypu je jeden z nejrychlejších mezi všemi obratlovci (Wang & Lan, 1999). Gonosomy Y_2 a Y_3 lze označit za neo-Y chromosomy (Huang et al. 2006). Před vznikem chromosomu Y_2 prodělal čtvrtý chromosomový pár dvě změny. Za prvé, jedna jeho kopie se prostřednictvím centrické fúze spojila s původním chromosomem X za vzniku chromosomu neo- X_1 (Huang et al. 2006). Za druhé, krátké rameno (p) chromosomu 1 ($1p$) se u samců oddělilo od chromosomu 1 a spojilo se s druhou kopií chromosomu 4, čímž vznikl Y_2 chromosom tvořený $1p+4$. V tomto novém Y chromosomu došlo ke dvěma pericentrickým inverzím, při čemž druhá poběhla v oblasti invertované první inverzí (obr 6.). Geny v této inverzi se neúčastní rekombinace (Zhou et al. 2008). Geny z nerekombinující oblasti tohoto chromosomu Y se již liší od odpovídajících genů jiných druhů muntžaků (Huang et al. 2006). Obrázek 6 ukazuje vznik neopohlavního chromosomu Y_2 . Skládá se ze dvanácti segmentů, které jsou homologické sedmi různým chromosomům muntžaka malého nebo jejich částem. Stav ve schématu označený písmenem „a“ ukazuje následek fúze chromosomu 4 a krátkého raménka chromosomu 1. Krátké raménko chromosomu 1 vytvořilo kratší raménko nového chromosomu Y (v obrázku 6 nad centromerou, která je označena bílou barvou). V karyotypu muntžaka malého tomuto krátkému chromosomu odpovídají chromosomy 8 a 17, jak je uvedeno ve schématu (Huang et al. 2006). Další znázorněná přestavba představuje pericentrickou inverzi chromosomu, který vznikl fúzí $1p+4$. Další pericentrická inverze vytvořila současný chromosom Y_2 . Zatímco neopohlavní chromosom tvořený chromosomem X a chromosomem čtvrtého páru je znám u více druhů mutžaků, fúze $1p+4$ byla zjištěna jen u muntžaka tmavého (Yang et al. 1997).



Obr. 6: Neopohlavní chromosom neo-Y₂, který vznikl fúzí chromosomu 4 a krátkého raménka chromosomu 1 u samce muntžaka tmavého (*M. crinifrons*). Zkratka MCR znamená *Muntiacus crinifrons*, tedy muntžak tmavý a zkratka MRE znamená *Muntiacus reevesi*, tedy muntžak malý. Místa zlomů (breakpoints, BR) jsou vyznačena šipkami. Pruhy vyznačené rozdílnými barvami představují odlišné evolučně konzervované segmenty. Sloupec vedle chromosomu muntžaka tmavého ukazuje odpovídající chromosomy nebo chromosomové segmenty u muntžaka malého. Upraveno podle Huang et al. 2006.

Muntžak indický (*M. vaginalis*) je, jak jsem již uvedl, nositelem karyotypu s nejmenším počtem chromosomů mezi savci (Zhou et al. 2006). Tento karyotyp vznikl řadou fúzí telocentrických chromosomů (Tsipouri et al. 2008). V rámci jelenovitých je to tedy výrazně odvozený druh. Zvláště pozoruhodná je rychlost, s jakou k těmto fúzím došlo. Nejblíže příbuzným druhem je muntžak čínský, jehož karyotyp obsahuje u obou pohlaví čtyřicet šest chromosomů (Tsipouri et al. 2008). Podařilo se identifikovat sedm míst, kde ke zmíněným fúzím docházelo. Tato místa vykazují sekvenční podobnost s telomerickými oblastmi muntžaka čínského. Hypotézu o vzniku karyotypu muntžaka indického přímo z karyotypu muntžaka čínského podporuje analýza satelitních sekvencí (Li & Lin 2012). Tyto chromosomové přestavby zahrnovaly i pohlavní chromosomy, proto je muntžak indický dalším nositelem neopohlavních chromosomů (Li & Lin 2012). Jde o systém ♂neo-XY₁Y₂/♀neo-XX (Li & Lin 2012). Neopohlavní chromosom X tohoto druhu vznikl fúzí původního chromosomu X a jednoho chromosomu ze třetího autosomového páru (X+3). Chromosom třetího páru, který fúzi neprodělal, funguje v karyotypu jako druhý chromosom Y. Chromosomy třetího autosomového páru jsou samy produktem chromosomových přestaveb, proto jsou označovány jako neo-3 chromosomy. Přestavby, kterými vznikly, proběhly ještě u předka současného muntžaka indického. Tento předek se pravděpodobně podobal současnému srnčíku čínskému (*Hydropotes inermis*). Y chromosom samce muntžaka indického získal během evoluce nové satelitní sekvence, označované jako satelit V, z původního chromosomu X a to

nerovnoměrným crossing-overem. Tento proces proběhl také u předka muntžaka indického, podobného současnému srnčíku čínskému (Li & Lin 2012).

6. Neopohlavní chromosomy ptakořitných

6.1 Charakteristika a evoluce skupiny

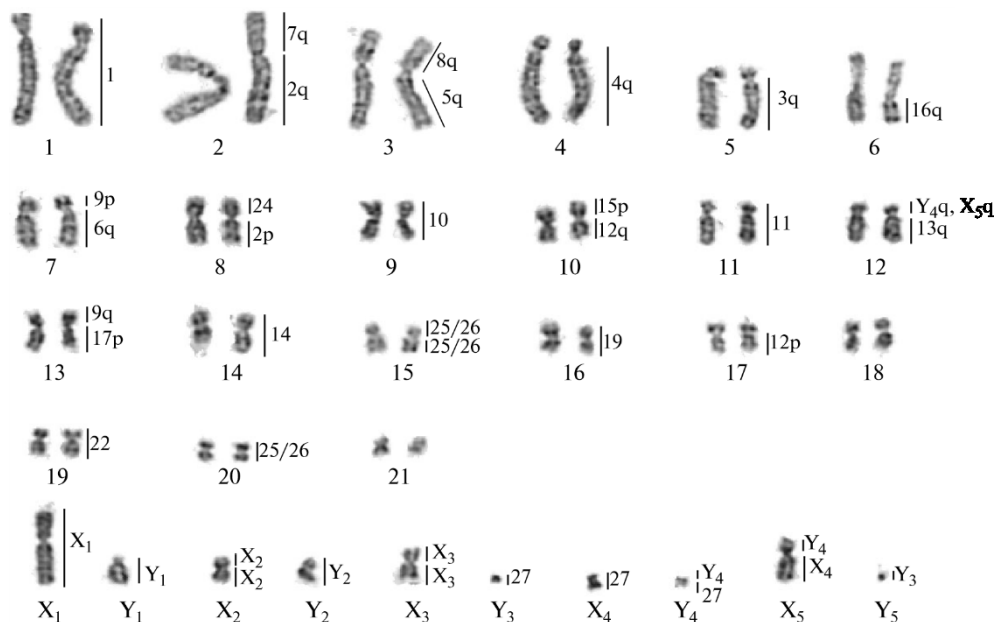
Ptakořitní jsou jediný recentní řád savců podtřídy vejcorodí. Skládají se ze dvou čeledí. Je to monotypická čeleď ptakopyskovití (Ornithorhynchidae) a čeleď ježurovití (Tachyglossidae) se čtyřmi druhy. K oddělení linií ptakopyska a ježur došlo v časném oligocénu, zhruba před třiceti miliony let (Deakin et al. 2012). Oddělení celé linie ptakořitných od ostatních savců proběhlo pravděpodobně před 210 miliony let (Rens et al. 2004). V rámci savců jsou ptakořitní sesterskou skupinou všech ostatních savců (Theria) (Rheede et al. 2004). Protože ptakořitní představují dosti starou skupinu savců, mohlo by studium jejich karyotypu zodpovědět řadu otázek týkajících se evoluce určení pohlaví, genomického imprintingu a kompenzace dávky u savců (Rens et al. 2004).

6.2 Charakteristika karyotypu ptakořitných

Karyotyp ptakořitných vykazuje několik společných znaků. Tito savci mají poměrně vysoké diploidní počty chromosomů. Jejich karyotyp se skládá z pěti velkých párů autosomů a mnoha malých chromosomů (Deakin et al. 2012). Z morfologického hlediska se jedná o chromosomy metacentrické, submetacentrické a subtelocentrické. Genom ptakopyska podivného vykazuje jak mnoho savčích znaků, tak řadu znaků plazích (Warren et al. 2008). Velikost genomu ptakořitných se pohybuje spíše v rozsahu typickém pro plazy než pro savce. Genom ptakopyska obsahuje 1,92 gigabází DNA. Z hlediska molekulární biologie je pro genom ptakořitných charakteristický vyšší obsah GC párů, který činí 45,5%. Typická hodnota u eutherií je 41%. V případě ptakopyska je na chromosomech 6, 11, 12, 15, X₂, X₄ a Y₄ zastoupení GC párů poněkud vyšší, než na ostatních chromosomech. U ježury je obsah těchto párů vyšší na chromosomech 3, 6 a X₅, na chromosomech 1, 2 a 4 je naopak nižší. Vyšší obsah lze vysvětlit přítomností nukleolárních organizátorů na těchto chromozomech (Deakin et al. 2012). Důležitým znakem centromer chromosomů ptakořitných je absence satelitní DNA (Alkan et al. 2011). Gonosomy ptakořitných jsou neopohlavní chromosomy. Během evoluce ptakořitných došlo k mnoha přestavbám mezi pohlavními chromosomy a autosomy. Jednalo se především o štěpení chromosomů v centromere a o fúze (Deakin et al. 2012).

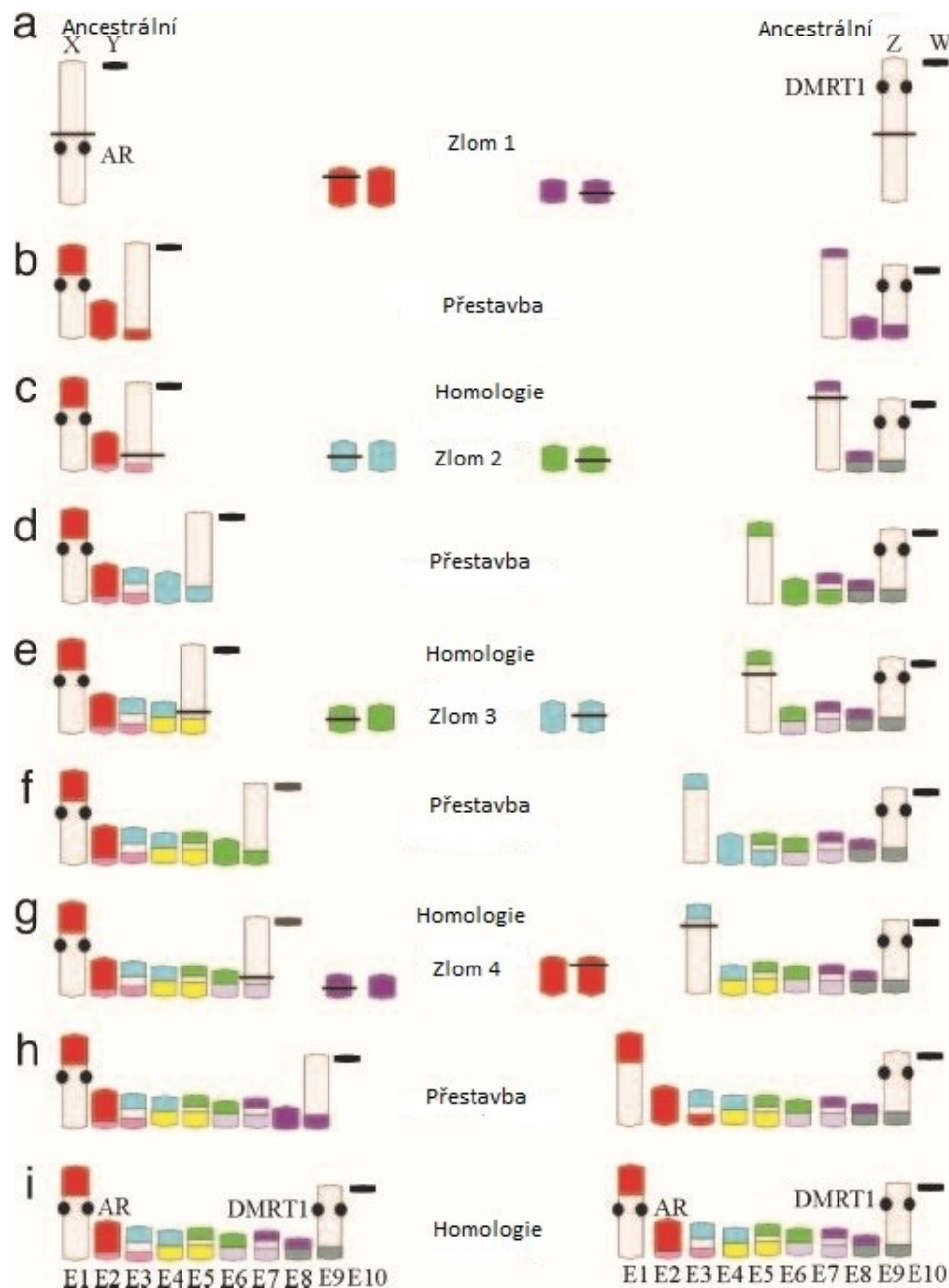
6.3 Neopohlavní chromosomy ptakopyska podivného

U obou pohlaví ptakopyska se karyotyp skládá ze čtyřiceti dvou autosomů a deseti gonosomů (viz. obr. 7). U samce je to pět chromosomů X a pět chromosomů Y, samičí karyotyp obsahuje pět chromosomů X, každý ve dvou kopiích. Autosomy jsou organizovány v jednadvaceti párech. Samičí gonosomy tvoří v meióze pět párů, samčí gonosomy páry netvoří a jsou během meiózy spojeny krátkými homologickými úseky a vytváří tak meiotický řetězec (Rens et al. 2004). Oblasti, kterými se samčí gonosomy během meiózy spojují se nachází na koncích chromosomů. Tyto oblasti jsou na chromosomech Y kratší než na chromosomech X. U chromosomů Y jsou oblasti, kterými tyto chromosomy párují, heterochromatinické, na rozdíl od stejných oblastí na chromosomech X. To nasvědčuje tomu, že chromosomy Y zaznamenaly během evoluce ptakopyska určitou degeneraci. X_1 je největší chromosom ptakopyska, nejmenší je chromosom X_5 . Autosomy jsou označeny čísly podle velikosti, gonosomy podle pořadí v meiotickém řetězci (Deakin et al. 2012). Většina genů na chromosomech X ptakopyska nevykazuje homologii s geny z lidských chromosomů X (Warren et al. 2008). Je pravděpodobné, že X chromosomy ptakopyska se vyvinuly přímo z plazích gonosomů, podobných chromosomům Z recentních ptáků (Warren et al. 2008). Molekulární mechanismus determinace vývoje samčích pohlavních znaků ptakopyska není dosud znám (Rens et al. 2004).



Obr. 7: Karyotyp ptakopyska podivného (*Ornithorhynchus anatinus*). Číslo napravo od každého chromosomu označuje chromosom ježury australské (*Tachyglossus aculeatus*) nebo jeho část, které jsou s daným chromosomem ptakopyska homologické. Upraveno podle Fergusson et al. 2010.

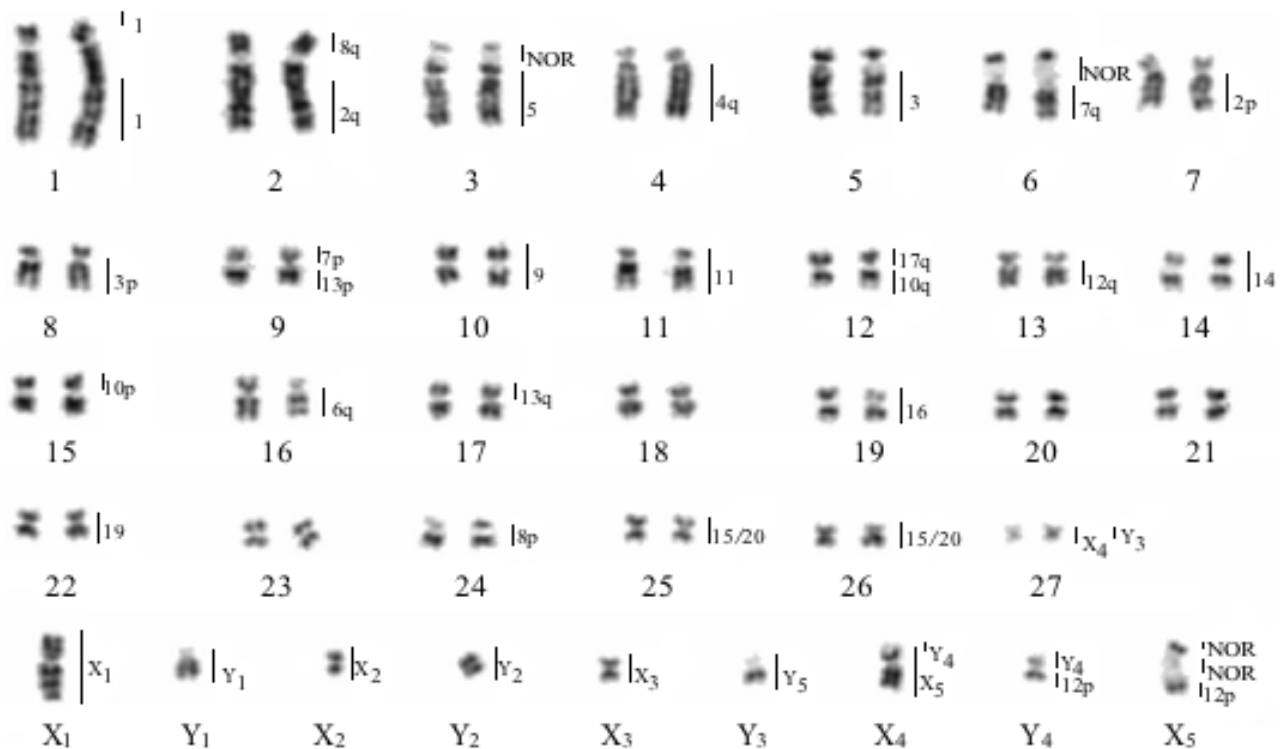
Vznik zvláštního systému pohlavních chromosomů u ptakopyska je vysvětlován dvěma teoriemi. Ukazuje je obrázek 8. Původním párem byl podle první teorie pár označovaný v ptakopysčím genomu jako X_1Y_1 . Na počátku pravděpodobně došlo k reciproké translokaci původním chromosomem X a autosomem (Rens et al. 2004). Po této translokaci vznikl v meióze samce řetězec o čtyřech chromosomech. Dále došlo k translokaci mezi jedním z těchto prvních neopohlavních chromosomů a dalším autosomem. Tato událost se ještě dvakrát zopakovala a vznikl tak systém neopohlavních chromosomů $X_1X_2X_3X_4X_5Y_1Y_2Y_3Y_4Y_5$. Ve prospěch této teorie hovoří přítomnost genu pro androgenní receptor na chromosomu X_1 (Rens et al. 2004). Podle druhé teorie vznikl systém ptakopyska také prostřednictvím čtyř reciprokových translokací mezi autosomy a gonosomy, ovšem za původní pár gonosomů je pokládán pár označovaný X_5Y_5 , protože na chromosomu X_5 byla prokázána přítomnost genu DMRT1 (Rens et al. 2004). Tento gen se nachází také na ptačím chromosomu Z a je pravděpodobně klíčový v determinaci pohlaví ptáků (Rens et al. 2004). Vzhledem k lokalizaci genu DMRT1 u ptakopyska je dnes za pravděpodobnější pokládána druhá teorie (Rens et al. 2004). Pokud by systém pohlavních chromosomů ptakopyska opravdu měl svůj původ v typu *Abraxas* ($\text{♀ZW}/\text{♂ZZ}$), muselo by během evoluce pohlavních chromosomů ptakopyska dojít k přepnutí determinace pohlaví ze samičí heterogamie na samčí. Toto přepnutí může proběhnout prostřednictvím homologní nebo nehomologní transice (Kirkpatrick & Van Doorn 2010). K homologní transici může dojít, když se na párovém pohlavním chromosomu nachází recesivní alela genu determinujícího pohlaví a na autosomu alela dominantní. Když se z dominantní alely stane alela recesivní a naopak, mění se systém XY na systém ZW nebo opačně. Nehomologní transice spočívá ve vzniku nového páru pohlavních chromosomů z některého z autosomových párů. Současně ze starých gonosomů vzniká autosomový pár (Kirkpatrick & Van Doorn 2010). Kdyby tedy systém neopohlavních chromosomů ptakopyska vznikl ze systému typu *Abraxas*, muselo by během jeho evoluce dojít k homologní transici.



Obr. 8.: Evoluce pohlavních chromosomů u ptakopyska podivného (*Ornithorhynchus anatinus*). Systém vznikl z páru diferencovaných gonosomů. Jeden z nich se opakovaně účastní přestaveb s autosomy. Existují dvě hypotézy o ancestrálním systému a o přestavbách vedoucích ke vzniku výsledného systému. V levém sloupci je zobrazena evoluce u heterogametického pohlaví z ancestrálního páru gonosomů typu *Drosophila*, vpravo evoluce u heterogametického pohlaví z ancestrálního páru gonosomů typu *Abraxas*. Symboly E1-E10 označují jednotlivé pohlavní chromosomy. Zkratka DMRT1 označuje gen, který pravděpodobně determinuje pohlaví na ptačím chromosomu Z. Zkratka AR znamená gen pro androgenní receptor. Černé body na chromosomech vyznačují polohu těchto genů. Homologie je vztažena na vždy na dva uvedené páry, které se podle jedné a druhé teorie vzniku účastnily konkrétní přestavby. Horizontální linie značí zlom chromosomu. Upraveno podle Rens et al. 2004.

6.4 Neopohlavní chromosomy ježur

V případě ježury australské (*Tachyglossus aculeatus*), která je nejprozkoumanějším druhem čeledi Tachyglossidae, se karyotyp samce ($2n=63$) skládá z padesáti čtyř autosomů a devíti gonosomů, v případě samice ($2n = 64$) z padesáti čtyř autosomů a deseti gonosomů, jak je patrné z obrázku 9 (Ferguson-Smith & Rens 2010). Chromosom Y_5 u samců předků tohoto druhu existoval, u současné ježury je přítomen pouze jako segment, který vytváří společně s původním chromosomem Y_3 současný chromosom Y_3 . Dvacet sedm autosomových párů ježury australské je označeno podle jejich velikosti. Devět samčích gonosomů tvoří během meiózy také řetězec jako v případě ptakopyska (Ferguson-Smith & Rens 2010). Gonosomy ježury jsou většinou homologické s gonosomy ptakopyska, nemusí se ale vždy jednat o chromosomy se stejným indexem (Ferguson-Smith & Rens 2010). Příkladem je jezuří gonosom Y_3 , který je částečně homologický s ptakopysčím gonosomem Y_5 . Tato skutečnost je patrná z obrázků 8 a 9.



Obr. 9: Karyotyp ježury australské (*Tachyglossus aculeatus*). Číslo napravo od každého chromosomu označuje chromosom ptakopyska podivného (*Ornithorhynchus anatinus*) nebo jeho část, které jsou s daným chromosomem ježury homologické. Zkratka NOR označuje nukleolární organizátor (nucleolar organizing region). Upraveno podle Ferguson et al. 2010.

7. Závěr

Neopohlavní chromosomy jsou gonosomy, které vznikají chromosomovými přestavbami mezi stávajícími pohlavními chromosomy a autosomy nebo jejich segmenty. Součástí neopohlavních chromosomů jsou tedy vždy původní gonosomy nebo alespoň jejich části. Pro porozumění evoluci neopohlavních chromosomů je proto nutné znát stavbu původních pohlavních chromosomů, která souvisí s mechanismy jejich vzniku. Pohlavní chromosomy vznikají z autosomů, na kterých se objeví gen nebo geny determinující pohlaví. V okolí tohoto genu nebo této oblasti se postupně hromadí geny s odlišnou expresí v závislosti na pohlaví. U jednoho pohlaví jsou výhodné, u druhého nikoliv. Proto je prospěšné zamezit rekombinacím mezi klastrem výhodným pro samce a klastrem výhodným pro samici. Takzvaný alosom je přítomen jen u jednoho (heterogametického) pohlaví a to pouze v jedné kopii. Další gonosom je v heterogametickém pohlaví přítomen v jedné a v homogametickém pohlaví ve dvou kopiích. Po supresi rekombinací mezi alosomem a druhým pohlavním chromosomem probíhá diferenciace těchto chromosomů, která zahrnuje degeneraci alosomu. Ten degeneruje působením několika procesů, konkrétně Mullerovy rohatky, selekce na pozadí, evolučního svezení se a kumulace repetitivní DNA včetně transponovatelných elementů. Na párovém pohlavním chromosomu dochází u heterogametického pohlaví současně ke kompenzaci dávky. Neopohlavní chromosomy vznikají často Robertsonovými translokacemi. Úspěšnost fixace Robertsonových přestaveb ovlivňuje na genetické úrovni meiotický drive a evoluční svezení se, na ekologické úrovni zejména velikost populace. V malé populaci se přestavby fixují rychleji. Při Robertsonových translokacích se většinou mění struktura centromery, takže návrat k původnímu stavu není pravděpodobný. Nejvýznamnější evoluční roli hrají neopohlavní chromosomy ve speciaci. Když zahrnují chromosomové přestavby pohlavní chromosomy, je vznik reprodukční bariéry výrazně pravděpodobnější, než když se přestavby týkají pouze autosomů. Velmi významným modelem pro studium neopohlavních chromosomů jsou octomilky (*Drosophilidae*). Tito představitelé dvoukřídlých jsou nenáročné laboratorní organismy, jejichž karyotypy obsahují často velmi mladé neopohlavní chromosomy. Přestavby zde modelují původní karyotyp, který tvoří šest párů chromosomů, označovaných jako Mullerovy elementy. Tento karyotyp je pravděpodobně původním karyotypem všech dvoukřídlých. Mullerovy elementy A představují ancestrální pohlavní chromosomy octomilek, mezi nimiž a autosomovými páry docházelo k mnoha přestavbám. Prostřednictvím chromosomových

přestaveb vznikl u octomilek i vůbec nejmladší známý systém neopohlavních chromosomů, a to u druhu *D. albomicans*. Rychlost evoluce neopohlavních chromosomů se u jednotlivých druhů octomilek liší. Typickým příkladem jsou neopohlavní chromosomy *D. busckii*, které jsou degenerovanější než starší neopohlavní chromosomy příbuzného druhu *D. miranda*. U savců byly neopohlavní chromosomy nalezeny například u jelenovitých savců rodu muntžak. Tito savci vykazují velkou rychlost vývoje karyotypů. Dalším neobvyklým rysem karyotypů muntžaků je výrazný podíl gonosomů na celkovém karyotypu. Nejvyšší podíl je u muntžaka tmavého, a to nejen mezi muntžaky, ale i mezi placentálními savci. U muntžaka indického byly nalezeny nejmladší savčí neopohlavní chromosomy. Další skupinou významnou pro pochopení evoluce neopohlavních chromosomů jsou ptakořitní savci. Studium jejich karyotypu může být navíc přínosné pro poznání dávné evoluční historie savců. Pro karyotypy ptakořitných je společná přítomnost pěti párů velkých autosomů a mnoha drobných chromosomů. Neopohlavní chromosomy zde vznikly mnoha přestavbami, hlavně reciprokými translokacemi. U samce ptakopyska je těchto pohlavních chromosomů deset, u samce ježury australské devět. Za vznikem tohoto systému gonosomů pravděpodobně stojí série čtyř reciprokých translokací. Původní pár pohlavních chromosomů zatím nebyl jednoznačně stanoven. Za nejpravděpodobnější se dnes považuje pár X_5Y_5 ptakopyska, protože na chromosomu X_5 leží gen DMRT1, který je přítomen i na chromosomu Z ptáků, a který je důležitý v determinaci pohlaví. V tomto případě mohla chromosomová determinace pohlaví ptakopyska vzniknout z typu *Abraxas*.

8. Seznam literatury

Alkan, C., Cardone, M. F., Catacchio, C. R., Antonacci, F., Brien, S. J. O., Ryder, O. A., Purgato, S., Zoli, M., Valle, C. D., Eichler, E. E., Ventura, M. (2011): Genome-wide characterization of centromeric satellites from multiple mammalian genomes. *Genome Research* 21(1), 137–145.

Ayling, L., & Griffin, D. K. (2003). The evolution of sex chromosomes. *Cytogenetic and Genome Research* 140(2002), 125–140.

Azanza, B. (1993). Systematics and evolution of the genus *Procervulus* (Cervidae, Artiodactyla, Mammalia) of the lower miocene of Europe. *Comptes Rendus Del Academie Des Sciences Serie II*. 316(5), 717–723.

Bachtrog, D. (2008). The Temporal Dynamics of Processes Underlying Y Chromosome Degeneration. *Genetics*. 179(3), 1513-1525.

Bachtrog, D. (2013). Y-chromosome evolution: emerging insights into processes of Y-chromosome degeneration. *Nature Reviews Genetics* 14(2), 113–124.

Bachtrog, D., Kirkpatrick, M., Mank, J. E., Mcdaniel, S. F., Pires, J. C., Rice, W. R., & Valenzuela, N. (2011). Are all sex chromosomes created equal? *Trends in Genetics* 27(9), 350–357.

Blackmon, H., & Demuth, J. (2015). Genomic origins of insect sex chromosomes. *Current Opinion in Insect Science* 7, 45–50.

Britton-Davidian, J., Catalan, J., Ramalhinho, M. D., Ganem, G., Auffray, J. C., Capela, R., Biscoito, M., Searle, J. B., Mathias, M. D. (2000). Environmental genetics-rapid chromosomal evolution in island mice. *Nature* 403(6766), 158.

Brown, J., & Bachtrog, D. (2014). The chromatin landscape of *Drosophila*: comparisons between species, sexes, and chromosomes. *Genome research* 24(7), 1125–1137.

Brykov, V. A. (2014). Mechanisms of sex determination in fish: evolutionary and practical aspects. *Russian Journal of Marine Biology* 40(6), 407–417.

Bull, J. J. (1983): Evolution of sex determining mechanisms. Benjami/Cummings, Menlo Park, C A, USA.

Carson, H. L., Stalker, H. D. (1947). Society for the study of evolution. *Evolution* 1(3), 113–133.

Castillo E. R., Marti D. A., Bidau C. (2011). Sex and neo-sex chromosomes in Orthoptera: a review. *Journal of Orthopteran Research*, 19(2), 213–231.

- Datta, A., Pansa, J., Madhusudan, M. D., & Mishra, C. (2003). Discovery of the leaf deer *Muntiacus putaoensis* in Arunachal Pradesh: an addition to the large mammals of India. *Current Science* 84(3), 454–458.
- Deakin, J. E., Graves, J. A. M., Rens, W. (2012). The Evolution of marsupial and monotreme chromosomes. *Cytogenetic and Genome Research*, 137(2–4), 113–129.
- Ellegren, H. (2011). Sex-chromosome evolution: recent progress and the influence of male and female heterogamety. *Nature Reviews genetics* 12(3), 157–166.
- Engelstädter, J. (2008). Muller’s ratchet and the degeneration of Y chromosomes: a simulation study. *Genetics* 180(2), 957–967.
- Felsenstein, J. (1974). The evolutionary advantage of recombination. *Genetics*, 78(2), 737–756.
- Ferguson-Smith, M. A., & Rens, W. (2010). The unique sex chromosome system in *Platypus* and *Echidna* 1. *Russian Journal of Genetics* 46(10), 1160–1164.
- Flores, S. V., Evans, A. L., Mcallister, B. F. (2008). Independent origins of new sex-linked chromosomes in the *melanica* and *robusta* species groups of *Drosophila*. *EMC Evolutionary Biology* 17, 1–17.
- Fontana, F., & Rubini, M. (1990). Chromosomal evolution in Cervidae. *Biosystems* 24(2), 157–174.
- Garagna, S., Page, J., Fernandez-Donoso, R., Zuccotti, M., Searle, J. B. (2014). The Robertsonian phenomenon in the house mouse: mutation, meiosis and speciation. *Chromosoma* 123(6), 529–544.
- Gimenez, M. D., Panithanarak, T., Hauffe, H. C., & Searle, J. B. (2016). Empirical demonstration of hybrid chromosomal races in house mice. *Evolution* 70(7), 1651–1658.
- Gordo, I., Charlesworth, B. (2000). On the speed of Muller’s ratchet. *Genetics*, 156(4), 2137–2140.
- Grossman, A. I., Short, R. B., & Cain, G. D. (1981). Karyotype evolution and sex-chromosome Differentiation in schistosomes (Trematoda, Schistosomatidae). *Chromosoma*, 84(3), 413–430.
- Heckeberg, N. S., Erpenbeck, D., Wörheide, G., Rössner, G. E. (2016). Systematic relationships of five newly sequenced cervid species. *PEERJ*, 4.
- Herzog, S. (1988). The Karyotype of the european roe deer (*Capreolus capreolus*). *Zeitschrift für Sauegtierkunde-International Journal of Mammalian Biology*, 53(2), 102–107.
- Hobza, R., Kubat, Z., Cegan, R., Jesionek, W., Vyskot, B., Kejnovsky, E. (2015). Impact of repetitive DNA on sex chromosome evolution in plants. *Chromosome Research*, 23(3, SI), 561–570.

- Howell, E. C., Armstrong, S. J., Filatov, D. A. (2009). Evolution of neo-sex chromosomes in *Silene diclinis*. *Genetics*, 182(4), 1109–1115.
- Huang, L., Chi, J., Wang, J., Nie, W., Su, W., Yang, F. (2006). High-density comparative BAC mapping in the black muntjac (*Muntiacus crinifrons*): Molecular cytogenetic dissection of the origin of MCR 1p + 4 in the X₁X₂Y₁Y₂Y₃ sex chromosome system. *Genomics*, 87(5), 608–615.
- Charlesworth, B. (1996). The evolution of chromosomal sex determination and dosage compensation. *Current Biology*, 6(2), 149–162.
- Charlesworth, B., Crow, J. F. (1978). Model for evolution of Y chromosomes and dosage compensation. *Genetics*, 75(11), 5618–5622.
- Charlesworth, B., Charlesworth, D. (1997). Rapid fixation of deleterious alleles can be caused by Muller's ratchet. *Genetical Research*, 70(1), 63–73.
- Charlesworth, B., Charlesworth, D. (2000). The degeneration of Y chromosomes. *Physiological Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 355(1403), 1563–1572.
- Charlesworth, D., Charlesworth, B., Marais, G. (2005). Steps in the evolution of heteromorphic sex chromosomes. *Heredity*, 95, 118–128.
- Immler, S., Otto, S. P. (2015). The evolution of sex chromosomes in organisms with separate haploid sexes. *Evolution*, 69(3), 694–708.
- Kafkas, S., Khodaeiaminjan, M., Güney, M., Kafkas, E. (2015). Identification of sex linked SNP markers using RAD sequencing suggest ZW/ZZ sex determination in *Pistacia vera* L. *BMC Genomics*, 16, 98.
- Kaiser, V. B., Bachtrog, D. (2014). De novo transcriptome assembly reveals sex-specific selection acting on evolving neo-sex chromosomes in *Drosophila miranda*. *BMC Genomics*, 15, 1–9.
- Kervestin, S., & Jacobson, A. (2012). NMD: a multifaceted response to premature translational termination. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 13(11), 700–712.
- Kirkpatrick, M., Barton, N. (2006). Chromosome inversions, local adaptation and speciation. *Genetics*, 434(5), 419–434.
- Kirkpatrick, M., Van Doorn, G. S. (2010). Transitions between male and female heterogamety caused by sex-antagonistic selection. *Genetics*, 186(2).
- Kitano, J., & Peichel, C. L. (2012). Turnover of sex chromosomes and speciation in fishes. *Environmental Biology of Fishes*, 94(3, SI), 549–558.

- Li, Y., Lin, C. (2012). Cervid satellite DNA and karyotypic evolution of indian muntjac. *Genes and Genomics*, 34(1), 7–11.
- Lin, C. C., Sasi, R., Fan, Y. S., Chen, Z. Q. (1991). New evidence for tandem chromosome fusions in the karyotypic evolution of asian muntjacs. *Chromosoma*, 101(1), 19–24.
- Lindholm, A. K., Dyer, K. A., Firman, R. C., Fishman, L., Forstmeier, W., Holman, L., Johansson, H., Knief, U., Kokko, H., Larracuente, A. M., Manser, A., Petrosyan, V. G., Pomiankowski, A., Presgraves, D. C., Safronova, L. D., Sutter, A., Unckless, Vespoor, R. L., Wedell, N. (2016). The ecology and evolutionary dynamics of meiotic drive. *Trends in Ecology & Evolution*, 31(4), 315–326.
- Loewe, L. (2006). Quantifying the genomic decay paradox due to Muller’s ratchet in human mitochondrial DNA. *Genetical Research*, 87(2), 133–159.
- Loewe, L., Cutter, A. D. (2008). On the potential for extinction by Muller’s Ratchet in *Caenorhabditis elegans*. *BMC Evolutionary Biology*, 8(125).
- Long, J. A. (1908). Some maturation stages of mouse egg. *Science*, 27, 443–444.
- Lott, S. E., Villalta, J. E., Zhou, Q., Bachtrog, D., Eisen, M. B. (2014). Sex-specific embryonic gene expression in species with newly evolved sex chromosomes. *Plos Genetics*, 10(2).
- Luthringer, R., Lipinska, A. P., Roze, D., Cormier, A., Macaisne, N., Peters, A. F., Cock, J. M., Coelho, S. M. (2015). The pseudoautosomal regions of the U/V sex chromosomes of the brown alga *ectocarpus* exhibit unusual features. *Molecular Biology and Evolution*, 32(11), 2973–2985.
- Marti, D. A., Palacois-Gimenez, O. M., Cabral-de-Mello, D. C. (2015). Neo-sex chromosomes of *Ronderosia bergi*: insight into the evolution of sex chromosomes in grasshoppers. *Chromosoma*, 124(3), 353–365.
- Ma, K., Shi, L. (1988). Studies on the synaptonemal complexes in spermatocytes of Chinese muntjac, black muntjac and Indian muntjac. *Chin. J. Genet.*, 15: 283–292. – převzatá citace
- Mattilo, S., Wilson, D. E., Mittermeier, R. A. (2011). *Handbook of the Mammals of the World- Volume 2*. Lynx Edicions.
- Mcallister, B. F., Evans, A. L. (2006). Increased nucleotide diversity with transient Y linkage in *Drosophila americana*. *Plos One*, 1(2).
- Mcallister, B. F., Charlesworth, B. (1999). Reduced sequence variability on the neo-Y chromosome of *Drosophila americana americana*. *Genetics*, 153(1), 221–233.
- McDaniel, S. F., Neubig, K. M., Payton, A. C., Quatrano, R. S., Cove, D. J. (2013). Recent gene-capture on the UV sex chromosomes of the moss *Ceratodon purpureus*. *Evolution*, 67(10), 2811–2822.

Moyle, L. C., Muir, C. D., Han, M. V., Hahn, M. W. (2010). The contribution of gene movement to the the rules of speciation. *Evolution*, 64(6), 1541–1557.

Muller, H. J. (1964). The relation of recombination to mutational advace. *Mutation Research*, 1(1), 2–9.

Nachman, M. W., Searle, J. B. (1995). Why is the house mouse karyotype so variable? *Trends in Evolution & Ecology*, 10(11), 397–402.

Nguyen, P., Sykorova, M., Sichova, J., Kuta, V., Dalikova, M., Arnost, V., Frydrychova, R., Neven, L.G., Sahara, K, Marec, F. (2013). Neo-sex chromosomes and adaptive potential in tortricid pests. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(17), 6931–6936.

Pala, I., Naurin, S., Stervander, M., Hasselquist, D., Bensch, S., Hansson, B. (2011). Evidence of a neo-sex chromosome in birds. *Heredity*, 108(3), 264–272.

Pala, I., Naurin, S., Stervander, M., Hasselquist, D., Bensch, S., Hansson, B. (2012). Evidence of a neo-sex chromosome in birds. *Heredity*, 108(3), 264–272.

Piálek, J., Hauffe, H. C., Rodríguez-Clark, M., Searle, J. M. (2001). Rociation and speciation in house mice from the Alps: *Molecular Ecology*, 10(3), 613–625.

Pitra, C., Fickel, J., Meijaard, E., Groves, P. C. (2004). Evolution and phylogeny of old world deer. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 33(3), 880–895.

Pokorná, J. M., Altmanová, M., Kratochvíl, L. (2015). Multiple sex chromosomes in the light of female meiotic drive in amniote vertebrates. *Chromosome research*, 23(2), 383–384.

Rens, W., Grutzner, F., O'Brien, P. C. M., Fairclough, H., Graves, J. A. M., Ferguson-Smith, M. A. (2004). Resolution and evolution of the duck-billed platypus karyotype with an X₁X₂X₃X₄X₅Y₁Y₂Y₃Y₄Y₅ male sex chromosome constitution. *Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America*, 101(46), 16257–16261.

Rheede, T. V., Bastiaans, T., Boone, D., Hedges, S. B., Jong, W. W. D., Madsen, O. (2004). The platypus is in its place: nuclear genes and indels confirm the sister group relation of monotremes and therians. *Molecular Biology and Evolution*, 23(3), 587–597.

Rice, W. R. (1987). Genetic hitchhiking and the evolution of reduced genetic activity of the Y sex chromosome. *Genetics*, (116), 161–167.

Rice, W. R. (1996). Evolution of the Y sex in animals: Y chromosomes evolve through the degeneration of autosomes. *Bio Science*, 46(5), 331–343.

Sahara, K., Yoshido, A., Traut, W. (2012). Sex chromosome evolution in moths and butterflies. *Chromosome Research*, 20(1), 83–94.

- Schaller, G. B., Vrba, E. S. (1994). Description of the giant muntjac (*Megamuntiacus vuquangensis*) in Laos. *Journal of Mammalogy*, 77(3), 675–683.
- Schrider, D. R., Houle, D., Lynch, M., Hahn, M. W. (2013). Rates and genomic consequences of spontaneous mutational events in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 194(4), 937+.
- Sokolov, V. E., Orlov, V. N., Chudinovskaya, G. A., Danilkin, A. A. (1978). Chromosomal differences between two roe deer subspecies (*Capreollus capreollus* L. and *Capreollus capreolus pygargus* Pall.). *Zoologicheskii Zhurnal*, 57: 1109-1112. – převzatá citace
- Stalker, H. D. (1966). The phylogenetic relationships of the species in the *Drosophila melanica* group. *Genetics*, 53(2), 327–342.
- Steinemann, M., Steinemann, S. (1997). The enigma of Y chromosome degeneration: TRAM, a novel retrotransposon is preferentially located on the neo-Y chromosome of *Drosophila miranda*. *Genetics*, 145(2), 261–266.
- Sturgill, D., Zhang, Y., Parisi M., Oliver, B. (2008). Demasculinization of X chromosomes in the *Drosophila* genus. *Nature*, 450(7167), 238–241.
- Špakulová, M., Casanova, J. C. (2004). Current knowledge on B chromosomes in natural populations of helminth parasites: a review. *Cytogenetic and Genome research*, 106(2–4), 222–229.
- Toder, R., Neill, R. J. W. O., Wienberg, J., Brien, P. C. M. O., Voullaire, L., Marshall-Graves, J. A. (1997). Comparative chromosome painting between two marsupials: origins of an XX/X₁Y₁Y₂ sex chromosome system. *Mammalian Genome*, 422(6), 418–422.
- Traut, W., Sahara, K., Otto, T. D., Marec, F. (1999). Molecular differentiation of sex chromosomes probed by comparative genomic hybridization. *Chromosoma*, 108(3), 173–180.
- Traut, W., Willhoeft, U. (1990). A jumping sex determining factor in the fly *Megaselia scalaris*. *Chromosoma*, 99(6), 407–412.
- Tsipouri, V., Schueler, M. G., Hu, S., Dutra, A., Park, E., Riethman, H., Green, E. D. (2008). Comparative sequence analyses reveal sites of ancestral chromosomal fusions in the Indian muntjac genome. *Genome Biology*, 9(10).
- Vicoso, B., Bachtrog, D. (2015). Numerous transitions of sex chromosomes in Diptera. *Plos Biology*, 13(4), 1–22.
- Volff, J., Schartl, M. (2001). Variability of genetic sex determination in poeciliid fishes. *Genetica*, 111(1–3), 101–110.
- Wallace, H., Badawy, G. M. I., Wallace, B. M. N. (1999). Amphibian sex determination and sex reversal. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 55(6–7), 901–909.

- Wang, W., Lan, H. (1999). Rapid and parallel chromosomal number reductions in muntjac deer inferred from mitochondrial DNA phylogeny. *Molecular Biology and Evolution*, 17(9), 1326–1333.
- Warren, C. W. (2008). Genome analysis of the platypus reveals unique signatures of evolution. *Nature*, 453(7192).
- White, M. J. D. (1949). Cytological evidence on the phylogeny and classification of the Diptera. *Evolution*, 3(3), 252–261.
- Wuster, D. H., Benirschke, K. (1970). Indian muntjac (*Muntiacus muntjak*) - a deer with a low diploid chromosome number. *Science*, 168(3937), 1364+.
- Yang, F., O'Brien, P. C. M., Wienberg, J., Ferguson-Smith, M. A. (1997). Evolution of the black muntjac (*Muntiacus crinifrons*) karyotype revealed by comparative chromosome painting. *Cytogenetics and cell genetics*, 76(3–4), 159–163.
- Zhou, Q., Bachtrog, D. (2015). Ancestral chromatin configuration constrains chromatin evolution on differentiating sex chromosomes in *Drosophila*. *Plos Genetics*, 11(6).
- Zhou, Q., D.Bachtrog. (2012). Sex-specific adaptation drives early. *Science*, 337(7), 341–346.
- Zhou, Q., Ellison, C. E., Kaiser, V. B., Alekseyenko, A. A., Gorchakov, A. A., Bachtrog, D. (2013). The epigenome of evolving *Drosophila* neo-sex chromosomes: dosage compensation and heterochromatin formation. *Plos Biology*, 11(11).
- Zhou, Q., Huang, L., Zhang, J., Zhao, X. (2006). Comparative genomic analysis links karyotypic evolution with genomic evolution in the indian muntjac (*Muntiacus muntjak vaginalis*). *Chromosoma*, 115(6), 427–436.
- Zhou, Q., Wang, J., Huang, L., Nie, W., Wang, J. (2008). Neo-sex chromosomes in the black muntjac recapitulate incipient evolution of mammalian sex chromosomes. *Genome Biology*, 9(6).
- Zhou, Q., Zhu, H., Huang, Q., Zhao, L., Zhang, G., Roy, S. W., Vicoso, B., Xuan, Z., Ruan, J., Zhang, Y, Zhao, R., Ye, Ch, Zhang, X, Wang, J., Wang, W., Bachtrog, D. (2012). Deciphering neo-sex and B chromosome evolution by the draft genome of *Drosophila albomicans*. *BMC Genomics*, 13.