

**Univerzita Karlova**

**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



**Mariana Benešová**

Studium repetitivních oblastí genomů u obojživelníků pomocí  
cytogenetického a genomického mapování

Study of repetitive elements in amphibian genomes using cytogenetic and  
genomic mapping

**Bakalářská práce**

Školitel: Ing. Martin Knytl, Ph.D.

Praha, 2024

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 24.4.2024

Podpis: Mariana Benešová

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala svému školiteli Ing. Martinu Knytlovi, Ph.D. za vedení práce a trpělivost. Dále bych ráda poděkovala Nicola Reinaldo Fornaini, M.Sc. a Mgr. Barboře Bergelové, kteří mě motivovali a předali mi cenné teoretické rady. Na závěr bych chtěla poděkovat své rodině, kteří mě podporovali při celé době studia, přátelům a blízkým za silnou psychickou podporu.

## **Abstrakt**

Repetitivní sekvence DNA představují významnou část genomů mnoha eukaryotických organismů. U obojživelníků, kteří se vyznačují velkými genomy, bývají repetitivní sekvence zastoupeny ve velkém množství. Obojživelníci mohou ve svém genomu obsahovat různé druhy repetitivních sekvencí, jako například tandemové repetice ve formě satelitní DNA, ribozomální DNA, histonu H3, mikrosatelitní DNA či transponovatelných elementů jako jsou DNA transpozony a retrotranspozony, které mohou být u různých druhů rozdílné v zastoupení, počtu a variabilitě těchto sekvencí. Studium repetitivních sekvencí je důležité pro pochopení evoluce a evolučních procesů, které obojživelníky provázejí. Repetitivní sekvence hrají důležitou roli v mnoha genetických a epigenetických procesech, jako je strukturování chromozomů, regulace genové exprese a genomová stabilita. Repetitivní sekvence jsou zdrojem genetické variability, která je důležitá pro evoluční procesy.

**Klíčová slova:** repetitivní sekvence, obojživelníci, žáby, mloci, červoři, tandemové repetice, rozptýlené repetice

## **Abstract**

Repetitive DNA sequences represent a significant part of the genomes of many eukaryotic organisms. In amphibians, which are characterized by large and variable genomes, repetitive sequences are abundantly present. Amphibians may contain various types of repetitive sequences in their genomes, such as tandem repeats in the form of satellite DNA, ribosomal DNA, histone H3, microsatellite DNA, and transposable elements such as DNA transposons and retrotransposons, which may vary in abundance, number and variability of these sequences among species. The study of repetitive sequences is important for understanding ongoing evolution and the evolutionary processes. Repetitive sequences play important roles in many genetic and epigenetic processes such as chromosomal structuring, regulation of gene expression and genomic stability. Repetitive sequences are a source of genetic variation that is important for evolutionary processes.

**Keywords:** repetitive sequences, amphibians, frogs, newts, worms, tandem repeats, dispersed repeats

## Seznam zkratek

AT páry	páry bází adeninu a thyminu	adenin and thymine base pairs
bp	pár bází	base pair
cDNA	komplementární DNA	complementary DNA
CGH	komparativní genomová hybridizace	comparative genom hybridization
CG páry	páry bází cytosinu a guaninu	cytosine and guanine base pair
DNA	deoxyribonukleová kyselina	deoxyribonucleic acid
FISH	fluorescenční <i>in situ</i> hybridizace	fluorescence <i>in situ</i> hybridization
GISH	genomová <i>in situ</i> hybridizace	genomic <i>in situ</i> hybridization
LINE	dlouhé rozptýlené jaderné repetice	long interspersed nuclear elements
LTR	dlouhé terminální repetice	long terminal repeats
MINE	miniaturní transpozony s inverzními repeticemi	miniature inverted-repeat transposable elements
NOR	organizátor jadérka	nucleolus organizer regions
NTS	nekódovaný úsek	non transcribed spacer
ORF	otevřený čtecí rámec	open reading frame
p raménko	krátké raménko	short petiole arm
PCR	polymerázová řetězová reakce	polymerase chain reaction
q raménko	dlouhé raménko	queue arm
rDNA	ribozomální deoxyribonukleová kyselina	ribosomal deoxyribonucleic acid
pre-mRNA	primární transkript	primary transcript
rDNA	ribozomální deoxyribonukleová kyselina	ribosomal deoxyribonucleic acid
RNA	ribonukleová kyselina	ribonucleic acid
rRNA	ribozomální ribonukleová kyselina	ribosomal ribonucleic acid
satDNA	satelitní deoxyribonukleová kyselina	satellite deoxyribonucleic acid
SINE	krátké rozptýlené jaderné	short interspersed nuclear elements

	lementy	
snRNA	malá jaderná ribonukleová kyselina	small nuclear ribonucleic acid
STR	krátké tandemové repetice	short tandem repeats
TE's	tranzponovatelné elementy	transposable elements
TLE	Tc1-podobné elementy	Tc1- like elements
tRNA	transferová RNA	transfer RNA
UTR	nepřekládané oblasti	untranslated regions

## Obsah

1. Úvod .....	1
2. Cytogenetické a genomické mapování.....	2
2.1. Fluorescenční <i>in situ</i> hybridizace .....	2
2.2. Genomová <i>in situ</i> hybridizace.....	2
2.3. Komparativní genomová hybridizace .....	3
2.4. Southern Blotting.....	3
2.5. Silver staining (AgAS) .....	3
3. Repetitivní sekvence .....	3
4. Ploidní úrovně vybraných skupin obojživelníků .....	8
5. Repetitivní sekvence žáby .....	10
5.1. Tandemové repetice žáby .....	10
5.1.1. Satelitní Repetitivní DNA.....	13
5.2. Rozptýlené repetice žáby .....	16
5.2.1. DNA transpozony (hAT a mariner) .....	16
5.2.2. Retrotranspozony .....	16
6. Repetitivní sekvence mloci .....	18
6.1. Tandemové repetice mloci.....	18
6.1.2. Satelitní DNA .....	19
6.2. Rozptýlené repetice mloci .....	22
6.2.1. DNA transpozony .....	22
6.2.2. Retrotranspozony .....	23
7. Repetitivní sekvence červoři.....	23
7.2. Rozptýlené repetice červoři.....	23
7.2.1. DNA transpozony .....	23
7.2.2. Retrotranspozony .....	23
8. Diverzita a evoluce repetitivních sekvencí u vybraných skupin .....	24
9. Reference.....	27



## 1. Úvod

Díky pokrokům v posledních letech, kterým došlo v oblasti molekulární biologie a genetiky, se naše pochopení genomové architektury a jejího vlivu na biologickou diverzitu a evoluci značně rozšířilo. Repetitivní sekvence, byly dříve vnímány jako odpadní, nefunkční DNA. Považovalo se za možné, že repetitivní DNA je zbytková nebo degenerovaná součást z předchozích evolučních stádií (Tymowska, 1980). V současné době jsou repetitivní sekvence považovány za důležité, protože se podílejí na mnoha genetických a epigenetických procesech u organismů (shrnuto: Brahmachari' et al., 1995).

Obojživelníci jsou skupina obratlovců s velkou variabilitou ve velikosti a složení genomu. Řády žab, mloků a červorů mezi sebou vykazují rozdíly v zastoupení a množství různých druhů repetitivní DNA (Baldari & Amaldi, 1977). Některé studie naznačují, že repetitivní sekvence hrají důležitou roli v adaptacích na různé životní prostředí (Fjiwara et al., 2006)

Je zajímavé, že i úzce spjaté druhy v některých případech vykazují vysokou míru variability v distribuci a lokalizaci repetitivních sekvencí DNA. U obojživelníků představují repetitivní sekvence důležitou oblast pro studium evolučních procesů. Například porovnání počtu repetitivních sekvencí různých druhů žab z rodu *Xenopus* s různou úrovní ploidie nám může poskytnout lepší pochopení evolučního procesu alopolyploidizace, která je u tohoto rodu běžná (Knytl et al., 2017, 2023).

Cílem této bakalářské práce je prozkoumat repetitivní sekvence u vybraných druhů obojživelníků. Práce je zaměřená na identifikaci specifických typů repetitivních sekvencí a jejich lokalizaci v rámci vybraných genomů obojživelníků. Věnuje se cytogenetickému a genomickému mapování těchto sekvencí a rozdílům v jejich distribuci a lokalizaci. To umožňuje popsat rozdíly, jak mezi jednotlivými řády, tak mezi úzce spjatými druhy.

## 2. Cytogenetické a genomické mapování

Cytogenetické mapování se využívá k mapování celých chromozomů (Gvoždík et al., 2023; Fornaini et al., 2024), částí chromozomů a repetitivních oblastí (Fornaini et al., 2023), a specifických genů na chromozomech (Knytl et al., 2019). Umožňuje identifikovat umístění genů a repetitivních sekvencí na chromozomech a studovat jejich vzájemné uspořádání a distribuci. Cytogenetické mapování repetitivní DNA je užitečným nástrojem v komparativní analýze a při objasňování organizace genomu několika skupin eukaryot (Koo et al., 2010). Mapování repetitivních sekvencí může být prováděno pomocí několika různých metod, které umožňují přesnou lokalizaci specifických DNA sekvencí na chromozomech a studium jejich distribuce a organizace (Fornaini et al., 2023; Knytl et al., 2023; Dias et al., 2024). Mezi používané techniky patří FISH (fluorescence *in situ* hybridization = fluorescenční *in situ* hybridizace) a Southern Blotting.

Genomické mapování umožňuje analyzovat a lokalizovat geny a DNA sekvence v rámci kompletního genomu organismu (Sinzelle et al., 2005; Sun et al., 2011). V oblasti repetitivních sekvencí se využívá sekvenční mapování, které obnáší sekvenování celého genomu daného organismu a následné porovnání s referenčním genomem (= kompletní, detailně osekvenovaná DNA daného organismu, která slouží jako vzor pro porovnávání a analýzu genomů dalších jedinců) (Schatz et al., 2010).

### 2.1. Fluorescenční *in situ* hybridizace

FISH je technika, která zahrnuje hybridizaci označené DNA (Pardue et al., 1969) nebo RNA (Gall et al., 1969) sondy přímo na vzorek na sklíčku, což se nazývá *in situ*. Proces zahrnuje denaturaci DNA, čímž se rozpojí vlákna DNA dvoušroubovice, a následnou renaturaci, během které se označená sonda váže na specifický úsek DNA (Gall et al., 1969; Pardue et al., 1969). FISH umožňuje přesně lokalizovat specifické DNA sekvence na chromozomech pomocí fluorescenčně značených sond a může být použita k mapování repetitivních sekvencí (Fornaini et al., 2023) a detekci chromozomálních abnormalit (Sloter et al., 2000).

### 2.2. Genomová *in situ* hybridizace

GISH (genomic *in situ* hybridization = genomová *in situ* hybridizace), neboli celogenomová *in situ* hybridizace, je metoda, při níž se celý genom označí a využívá se jako sonda. Tato označená sonda se aplikuje na genom studovaného jedince, což umožňuje

například identifikaci mezidruhových hybridů, chromozomální divergenci a identifikaci evolučních změn (Le et al., 1989; Knytl et al., 2013; Gvoždík et al., 2023).

### 2.3. Komparativní genomová hybridizace

CGH (comparative genomic hybridization = komparativní genomová hybridizace) umožňuje detekovat změny v počtu kopií chromozomální DNA mezi dvěma různými vzorky (sondami) a identifikovat např. genetické změny spojené s chorobami (Du Manoir et al., 1993). Tuto metodou lze také odhalit hybridizační procesy a identifikovat rodičovské druhy (Spangenberg et al., 2020).

### 2.4. Southern Blotting

Southern Blotting technika se používá k detekci specifických DNA sekvencí na základě hybridizace s komplementárními sondami. Může být použita k analýze opakujících se sekvencí v genomu (Guzmán et al., 2022). Tyto metody poskytují důležité informace o organizaci chromozomů a genetických změnách spojených s fylogenetickými a evolučními procesy.

### 2.5. Silver staining (AgAS)

Metoda stříbrného barvení je v cytogenetice důležitou technikou, která se využívá při analýze a pro zjištění lokalizace NORs (nucleolus organizer regions = oblast organizátoru jadérka). Umožňuje vizualizaci aktivních NORs, specifických oblastí chromozomů, které jsou zodpovědné za tvorbu ribozomální RNA. Silver staining se dělá za použití stříbrných iontů, které na chromozomech selektivně barví NORs. Na mikroskopických preparátech jsou tyto obarvené oblasti viditelné jako černé skvrny na chromozomech (Lourenço et al., 1998; Knytl et al., 2013). Tato metoda umožňuje odhalit variabilitu v počtu NORs a jejich lokalizaci na chromozomech (Schmid, 1978), které se mohou lišit mezi různými druhy, populacemi a jedinci daného druhu (Venu et al., 2014).

## 3. Repetitivní sekvence

Repetitivní DNA se skládá z motivů, které se stokrát až tisíckrát opakují v genomu organismu. Z repetitivních sekvencí se skládá významná část jaderné DNA ve valné většině eukaryotických organismů a často tvoří i více než polovinu celkového obsahu DNA v buněčném jádru (Britten & Ko, 1968; shrnuto: López-Flores & Garrido-Ramos, 2012). Repetitivní sekvence dělíme na tandemové repetice, do kterých patří satelitní DNA (satDNAs), a rozptýlené repetice

nebo-li TE's (transposable elements = transponovatelné elementy) (shrnutí: Mehrotra & Goyal, 2014).

### **Tandemové repetice**

Ribozomální DNA (rDNA) je součástí genomu, která obsahuje geny pro ribozomální RNA (rRNA). Tyto geny jsou ve formě tandemových repetic, kdy jednotlivé repetice zahrnují gen pro pre-rRNA a později rRNA molekuly (Cortadas & Pavon, 1982). Nukleární organizační oblast (NOR) obsahuje tři tandemově uspořádané ribozomální geny (18S, 5.8S, 28S) (Cortadas & Pavon, 1982; shrnutí: Rebordinos et al., 2013; Knytl et al., 2023). Gen pro 18S rRNA je součástí malé podjednotky a 28S, 5.8S a 5S rRNA jsou součástí velké podjednotky. Gen pro 5S rRNA není obsažen v NOR (Knytl et al., 2017). Typ 5S ribozomální DNA se skládá z transkripční jednotky o délce přibližně 120 nukleotidů, která je oddělena od následující jednotky nekódovaným prostředním úsekem (NTS). Kódovací sekvence a NTS společně tvoří jednotku, která se ve genomech může vyskytovat ve stovkách až tisících tandemově uspořádaných kopiích (shrnutí: Rebordinos et al., 2013).

Repetice, které nejsou součástí rDNA jsou opakující se úseky DNA, které tvoří tandemové opakování, ale nenacházejí se v rDNA oblastech. Tyto opakující se úseky mohou být součástí genů nebo nekódujících oblastí genomu, které mají schopnost vytvářet strukturální variabilitu v genomu a mohou hrát roli v různých procesech, jako je regulace exprese genů, chromozomální organizace a evoluční adaptace (Dawid & Botchan, 1977; Agarwal et al., 1992). Malé jaderné RNA (snRNA) jsou klíčovou součástí spliceozomu, komplexu proteinů, který zajišťuje splicing pre-mRNA. Spliceozom sestává z pěti opakujících se jednotek RNA, mezi něž patří U1, U2, U4, U5 a U6 snRNA (Valadkhan, 2005). Histony tvoří součást nukleozomu, což jsou základní stavební bloky chromatinu. Tyto histony se vyskytují v rodinách pěti hlavních genů v tandemovém opakování, které zahrnují H1/H5, H2A, H2B, H3 a H4 (Fornaini et al., 2023).

### **Satelitní DNA**

Satelitní DNA se skládá z velkých tandemových opakujících se jednotek nekódujících krátkých sekvencí, které mohou zvětšovat genom. Tyto sekvence se mohou lišit v umístění na chromozomech, délce repetitivní jednotky, množství a sekvenci nukleotidů. Satelitní DNA je lokalizována především v heterochromatických oblastech chromozomů okolo centromer. Je důležitá pro tvorbu kinetochoru (shrnutí: Garrido-Ramos, 2017) a v udržování struktury

chromozomů během buněčného dělení (Wevrick & Willard, 1989). Pericentromerické satelitní repetice jsou důležité pro stabilitu interakcí s DNA vážícími proteiny (shrnutí: Plohl et al., 2007), udržení architektury heterochromatinu, podporu formování kinetochoru, udržení koheze sesterských chromatid a pomáhají chromozomální segregaci během mitózy a meiózy. Satelitní DNA v pericentromerických oblastech také hraje roli ve formování heterochromatinu a v udržování identity centromer, což je důležitý funkční aspekt centromer/kinetochorového komplexu (shrnutí: Garrido-Ramos, 2017). Evoluční mechanismy konzervované evoluce udržují homogenitu opakování a divergenci sekvencí v rámci rodin satelitní DNA (shrnutí: Plohl et al., 2007).

Monomerní jednotky satelitní DNA jsou uspořádány v tandemu a tvoří rozsáhlé řady, které jsou umístěny převážně v centromerických, pericentromerických a subcentromerických oblastech na chromozomu. Lze je také nalézt v intersticiálním prostoru genomu (Charlesworth, 1994; shrnutí: Plohl et al., 2007, 2012).

Alfa-satelitní DNA se vyskytuje v centromerických oblastech chromozomů a je tvořen opakujícími se jednotkami o délce přibližně 171 bp. Alfa-satelitní DNA je často specifická pro určitý chromozom (Rudd et al., 2006).

Mikrosatelitní DNA, známá také jako krátké tandemové opakování (STR) nebo jednoduchá sekvence opakování, jsou oblasti DNA skládající se z krátkých sekvencí nukleotidů opakovaných za sebou. Tyto opakování mohou mít délku od 1 do 6 bázových párů a často jsou vysoce polymorfní, což znamená, že projevují variaci v počtu opakování mezi jedinci v populaci. Dle typů opakujícího se motivu je dělíme na di-nukleotidová opakování, která se skládají ze dvou nukleotidů opakovaných za sebou. Příklady zahrnují opakování (CA)<sup>n</sup>, (GT)<sup>n</sup>, (TG)<sup>n</sup> a (AC)<sup>n</sup> (Zattera et al., 2020; Roco et al., 2021). Tri-nukleotidová opakování se skládají ze tří nukleotidů opakovaných za sebou. Příklady zahrnují opakování (CAG)<sup>n</sup>, (GAA)<sup>n</sup>, (AGC)<sup>n</sup> a (TGC)<sup>n</sup>. Tetra-nukleotidová opakování se skládají ze čtyř nukleotidů opakovaných za sebou. Příklady zahrnují opakování (AATG)<sup>n</sup>, (CCTG)<sup>n</sup>, (AGAT)<sup>n</sup> a (TAAA)<sup>n</sup>. Penta-nukleotidová opakování se skládají z pěti nukleotidů opakovaných za sebou. Příklady zahrnují opakování (AAAGC)<sup>n</sup>, (CTTGA)<sup>n</sup>, (TTTTG)<sup>n</sup> a (GAGTG)<sup>n</sup> (Johnson, 2003). Hexa-nukleotidová opakování se skládají ze šesti nukleotidů opakovaných za sebou. Příklady zahrnují opakování (AAGGTT)<sup>n</sup>, (CCGCAA)<sup>n</sup>, (AGATCT)<sup>n</sup> a (TGCGCA)<sup>n</sup> (Zattera et al., 2019).

## **Transponovatelné elementy**

Transponovatelné elementy (TE's) mají vliv na architekturu genomu, jsou schopny interagovat a obsadit velkou část eukaryotického genomu (Haley & Mueller, 2022). TE's přispívají k rozmanitosti velikosti a struktury genomu obratlovců. Existuje lineární korelace mezi velikostí genomu a obsahem TE's u eukaryotických organismů (shrnutí: Kidwell, 2002). Jsou schopny se v rámci genomu hostitele mobilizovat. Při tomto procesu jsou schopny vytvářet nové kopie samy sebe (shrnutí: Oliver & Greene, 2009). Jsou zapojeny do evoluce karyotypu, protože tyto transponovatelné sekvence mohou vyvolat chromozomální přestavby, včetně delecí, duplikací, inverzí a translokací (Sun et al., 2011). Sekvence TE's jsou rozděleny do dvou velkých rodin, nazývaných první a druhá třída elementů. Jednotlivé třídy se liší prostřední molekulou, která je při procesu transpozice využívána (Sun et al., 2011; Sun & Mueller, 2014).

### **Retrotranspozony**

První třída TE (retrotranspozony) se přemísťuje pomocí mechanismu nazývaného „copy and paste“ (= kopírování a vkládání), při kterém využívá RNA jako prostředníka a vytváří novou kopii sama sebe, která se následně vkládá do nového místa v genomu (Sun et al., 2011). Retrotranspozony první třídy zahrnují retrotranspozony s dlouhými opakováními (LTR = long terminal repeats), dlouhé terminální jaderné elementy (LINE = long interspersed nuclear elements), které jsou charakterizovány přítomností minimálně jednoho otevřeného čtecího rámce (ORF = open reading frame), tzv. Pol-like, který kóduje reverzní transkriptázu a endonukleázu (Moura Gama et al., 2022) a krátké rozptýlené jaderné elementy (SINE = short interspersed nuclear elements) (Sinzelle et al., 2005).

LTR Retrotranspozony jsou typem mobilních elementů, které jsou schopny vložit kopie samy sebe v rámci genomu. Na obou koncích retrotranspozonu se nachází dlouhé terminální repetitivní sekvence, které fungují jako promotorové a terminální sekvence pro transkripci a translační procesy retrotranspozonů. Dále obsahují gag oblast, Pol region a env region (Sun et al., 2011).

Dle navrhovaného klasifikačního systému (Wicker et al., 2007) jsou LINE elementy rozděleny do pěti hlavních skupin, které zahrnují R2, L1, RTE, I a Jockey. V současné době bylo

identifikováno několik dalších skupin, jak uvádí databáze Repbase (= databáze opakujících se DNA sekvencí, která obsahuje informace o repetitivních sekvencích/elementech v genomu různých organismů (Bao et al., 2015)), která popisuje celkem 31 kladů LINE elementů. Tyto elementy spolu s Penelope a SINE tvoří ne-LTR retrotranspozony (shrnutí: Kojima et al., 2019). Klady jsou dále organizovány do osmi hlavních skupin, které zahrnují skupinu CRE pro klad CRE, skupinu R2 obsahující kladů NeSL, R4, R2 a Hero, skupinu Dualen pro klad RandI/Dualen, skupinu L1 s kladů L1 (Nascimento et al., 2015), Proto1 a Tx1, skupinu RTEs kladů Proto2, RTE, RTEX a RTETP, skupinu I zahrnující kladů I, Nimb, Ingi, Vingi, Tad1, Loa, R1, Outcast a Jockey, skupinu CR1 s podskupinami CR1, L2, L2A, L2B, Kiri, Rex1, Crack a Daphne a skupinu Ambal pro klad Ambal (Moura Gama et al., 2022).

Penelope a DIRS (dictyostelium intermediate repeat sequence) (Wang et al., 2021). Rodiny retrotranspozonů Rex (retroelement of *Xiphophorus*) 1, Rex2, Rex3 a Rex6 jsou non-LTR, a byly poprvé izolovány z ryb rodu *Xiphophorus*. Prvek Rex1 obsahuje geny pro reverzní transkriptázu a apurickou či apimiridinickou endonukleázu. Na 3' konci nekódující oblasti několika prvků Rex1 navazují tandemově opakované oligonukleotidy, jejichž délka (5–7 nt) a sekvence jsou variabilní (Nascimento et al., 2015).

Rex1, původně identifikovány u ryb, jsou retrotranspozony bez dlouhých terminálních repetit. Jsou charakterizovány kódováním reverzní transkriptázy a endonukleázy. Rodina Rex1 zahrnuje několik sekvencí, jako jsou Rex2, Rex3 a Rex6, které vykazují různý stupeň úspěchu v integraci do genomů různých druhů organismů (Nascimento et al., 2015).

## **DNA transpozony**

Druhá třída transponovatelných elementů se nazývá DNA transpozony. Ty se v genomu přemísťují pomocí mechanismu "cut and paste" (=vyříznutí a vložení). V tomto procesu využívají DNA jako prostředníka a přemísťují se na nové místo v genomu, aniž by došlo k zvýšení jejich počtu kopií (Sun et al., 2011; Sun & Mueller, 2014). Transpozony druhé třídy lze rozdělit do tří hlavních podtříd. Transpozony DNA typu cut and paste, transpozony DNA typu rolling circle (Helitrony) a transpozony DNA, které se syntetizují samy (Polintons/Mavericks) (Sun et al., 2011; Wang et al., 2021).

Tc1-like elementy patří do skupiny Tc1-mariner superrodiny transponovatelných elementů, které využívají mechanismu „cut and paste“ s účastí DNA intermediátu k přemístění

v genomu. Jsou charakterizovány přítomností neaktivních fosilních fragmentů DNA a kompletních prvků s otevřeným čtecím rámcem (ORF), které jsou přerušeny bodovými mutacemi nebo vnitřními delecemi. Jsou potenciálně mobilizovatelné prostřednictvím exprese příslušného transponázového enzymu. V některých případech byly nalezeny prvky s ORF transponázy, která pravděpodobně může kódovat funkční transponázu. Přítomnost neaktivních a fosilních transpozonů je způsobena procesem nazývaným vertikální inaktivace. Tc1-like elementy jsou šířené především vertikální transmisí, ale je možný horizontální přenos mezi genomy různých druhů. Velikosti těchto elementů se pohybují od 1500 do 4700 bp. Invertované terminální repetice mohou dosahovat délky od 24 do 756 bp a vnitřní nepřeložené terminální oblasti (UTRs) na 5V a 3V straně mohou mít délku od 100 do 2200 bp. Kódující oblasti transponázy mohou obsahovat introny (Sinzelle et al., 2005).

#### 4. Ploidní úrovně vybraných skupin obojživelníků

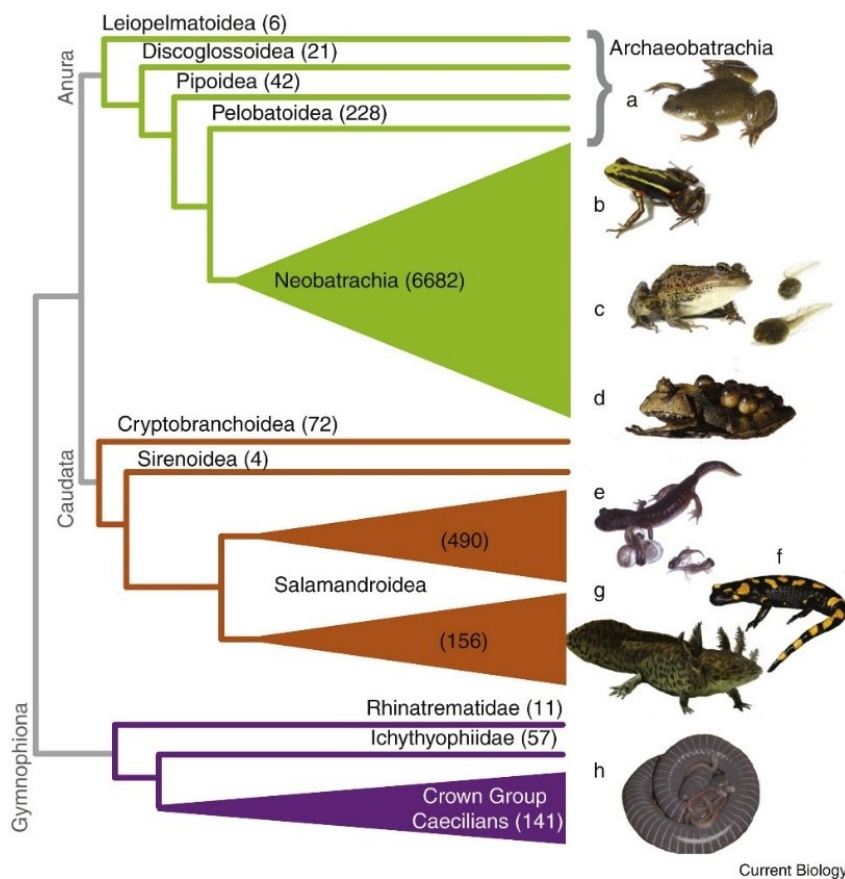
Polyploidizace, nebo-li znásobení počtu chromozomových sad, je významným evolučním jevem (shrnuto: Wolfe, 2001). K polyploidizaci dochází duplikací genomu v rámci jednoho druhu, tzv. autopolyploidizace, nebo v souvislosti s hybridizací mezi dvěma nebo více odlišnými druhy, tzv. alopolyploidizace (Schiavinato et al., 2021).

Diploidie ( $2n$ ) je charakterizována přítomností dvěma sadami chromozomů. Mezi významný modelový organismus, s diploidním genomem patří *Xenopus tropicalis*. Dalšími diploidními druhy jsou například *Bufo balearicus*, *B. siculus*, *B. shaartusiensis*, *B. siculus*, *B. turanensis*, *B. variabilis* (Guignard et al., 2012), *Pipa carvalhoi* (Zattera et al., 2019), *Hyla chrysoscelis* (Ralin et al., 1979). Triploidie ( $3n$ ) jsou u žab méně běžné. Jedinci jsou charakterizováni třemi sadami chromozomů. Příkladem triploidního organismu jsou zelené ropuchy *B. baturae* (Guignard et al., 2012). Tetraploidie ( $4n$ ) je běžná u žab rodu *Xenopus*. Mezi žáby s tetraploidním genomem z rodu *Xenopus* patří například *X. laevis* (Tymowska, 1991), *X. calcaratus* (Knytl et al., 2023), *X. muelleri*, *X. pygmaeus*, *X. allofraseri* (Tymowska, 1991; Evans et al., 2015). Mezi další zástupce tetraploidních žab patří *Bufo pewzowi*, *B. oblongus* (Guignard et al., 2012), *H. versicolor* (Ralin et al., 1979). Oktaploidie ( $8n$ ) je běžná u žab *X. vestitus* (Tymowska, 1977). Dodekaploidie ( $12n$ ) je u rodu *X. ruwenzoriensis* (Tymowska, 1980).



Mloci s diploidním počtem chromozomů (Sessions, 2008) jsou např. *Triturus vulgaris meridionalis* (De Lucchini' et al., 1993), *T. italicus*, *T. alpestris apuanus*, *T. cristatus carnifex*, *T. marmoratus* (Barsacchi-Pilone et al., 1986), *Cynops pyrrhogaster* a *Andrias japonicus* (Fujiwara et al., 2006). Triploidní počet chromozomů má druh *T. cristatus* (Borkin et al., 1996).

Červovití jsou hadovitou skupinou obojživelníků bez končetin, s redukovanými očima a kroužkovitým tělem. Jejich velikost genomu se pohybuje od 2,8 Gb do 13,7 Gb (Gregory, T.R., 2018; Liedtke et al., 2018; Wang et al., 2021; Animal Genome Size Database <http://www.genomesize.com>). Mají diploidní genom jako např. *Ichthyophis bannanicus* (Wang et al., 2021).



Obrázek č. 1: Fylogenetický strom obojživelníků. (a) *Xenopus leavis* (Pipidae), (b) *Epipedobates tricolor* (Dendrobatidae), (c) *Rana aurora* (Ranidae), (d) samice žáby *Hemiphractus johnsoni* (Hemiphractidae), (e) samice *Ensatina eschscholtzii* (Plethodontidae), (f) *Salamandra salamandra* (Salamandridae), (g) *Ambystoma andersonii* (Ambystomidae), (h) *Siphonops annulatus* (Siphonopidae). Převzato z: (Wake & Koo, 2018).

## 5. Repetitivní sekvence žáby

### 5.1. Tandemové repetice žáby

#### **NOR (organizátor jadérka)**

Dle metody AgAS se repetitivní sekvence NORs u *Bufo bufo* nacházejí v subtelomerických a telomerických oblastech dlouhého ramene chromozomového páru 6, v telomerické oblasti u *B. viridis* a v terminální oblasti dlouhého ramene chromozomového páru 11 (Schmid, 1978). U druhu *Pipa carvalhoi* byl lokalizován NOR v subterminálních oblastech chromozomového páru 9 za pomoci sondy 28S rDNA metodou FISH (Zattera et al., 2019). Dle metody Ag-staining byly identifikovány NOR u *B. valliceps* a *arenaum*, které se vyskytují v jedné kopii na chromozomovém páru 6. U *Pyxicephalus adspersus* se NOR vyskytuje ve 2-3 kopiích na chromozomovém páru 6. *Rana esculenta* a *R. macrodon* mají lokalizován NOR na chromozomu 6 v 1 kopii. *Rana temporaria* má NOR lokalizován v subterminální oblasti na chromozomovém páru 9 (Schmid & Batistoni, 1987). *Pelobates fuscus* má NOR v jedné kopii na chromozomovém páru 6. NOR jsou lokalizovány v intersticiálních nebo subterminálních regiorech chromozomů. Přesné umístění NOR je konzistentní mezi druhy patřícími do stejných nebo příbuzných druhových skupin, což naznačuje evoluční konzervovanost těchto oblastí (Schmid, 1982). *Hyla arborea* má NOR lokalizován v subterminálních oblastech chromozomu 8. U *Triturus vulgaris* jsou lokalizovány na krátkých ramenech chromozomu 11 (Schmid & Batistoni, 1987). U druhů *Leptodactylus macrosternum*, *L. fuscus* a *L. cf. Podicipinus* jsou NOR lokalizovány na 8. chromozomovém páru. *Leptodactylus pentadactylus* má NOR na chromozomovém páru 4 (Da Silva et al., 2021). Pomocí metod AgAS a *in situ* hybridizace byly geny pro 18S a 28S rRNA lokalizovány na chromozomech 10 a 11 u diploidního druhu *Hyla chrysoscelis*. U tetraploidního druhu *H. versicolor* byly geny lokalizovány krom chromozomu 10 a 11 i na chromozomech 5 a 9 (Wiley et al., 1989).

NOR se nachází v intersticiálních nebo subterminálních regiorech chromozomů u různých druhů žab, a jejich velikost může být značně variabilní v důsledku duplikací nebo triplikací. Většina studovaných druhů má v karyotypu pouze jeden pár NOR. U některých druhů jsou pozorovány rozdíly ve velikosti homologických NOR, což bylo způsobeno tandemovými duplikacemi nebo triplikacemi jedné z NOR. Tyto duplikace nebo triplikace se nikdy nevyskytují

ve formě homozygotů, ale vždy v kombinaci s normálně strukturovanou NOR na homologním chromozomu (Schmid, 1982; Schmid & Batistoni, 1987).

Existují dvě třídy genů 5S RNA u *Xenopus*, které vykazují rozdílnou expresi během vývoje. Jedna třída genů kóduje pro somatický typ 5S RNA a je exprimována jak v oocytech, tak v somatických buňkách. Druhá třída kóduje pro oocytový typ 5S RNA a je exprimována pouze v oocytech. U *X. laevis* se odhaduje přítomnost přibližně 20 000 kopií genů oocytového typu 5S RNA a 400 kopií genů somatického typu na haploidní genom (Harper et al., 1983). Průměrná délka opakující se jednotky oocytového typu 5S RNA je kolem 700 párů bazí (Carroll & Brown, 1976). U *X. borealis* jsou tyto počty nižší, přičemž se odhaduje přibližně 9 000 kopií genů oocytového typu a 700 kopií genů somatického typu na haploidní genom. Oba typy genů jsou uspořádány v dlouhých kontinuálních úsecích DNA, které se skládají z tandemově opakujících se jednotek 5S RNA. Tyto oblasti jsou od sebe odděleny nekódující úseky DNA (Harper et al., 1983).

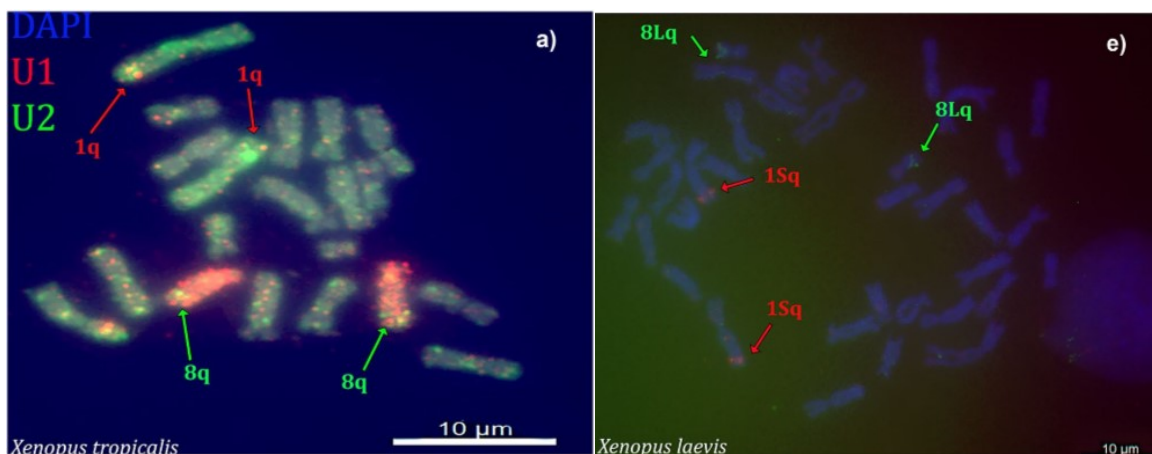
Geny pro 5S rRNA u *X. laevis* byly, pomocí metody *in situ* hybridizace s použitím cRNA, lokalizovány v telomerických oblastech většiny chromozomů (Pardue et al., 1973). Somatický typ 5S rRNA byl lokalizován na chromozomu 6L a oocytový typ genů 5S byly lokalizovány pomocí *in situ* hybridizace v subtelomerických oblastech většiny chromozomů (Harper et al., 1983). U *X. borealis* se somatický typ 5S rRNA nachází na distálním konci dlouhého ramene chromozomu 9. Tato oblast také obsahuje některé geny pro oocytový typ 5S RNA (Harper et al., 1983), zbylé jsou rozptýleny v telomerických oblastech většiny chromozomů (Schmid & Steinlein, 2015). U *X. muelleri* se 5S rDNA sekvence nacházejí v telomerických regionech dlouhých ramen chromozomu 6L (shrnutí: Schmid & Steinlein, 2015). Pomocí metody FISH byly lokalizovány geny pro 5S u *X. tropicalis* v subtelomerických oblastech chromozomů 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 a 9, u *X. mellotropicalis* na chromozomech 4a, 5b a 8b (Knytl et al., 2017) a u *X. calcaratus* na chromozomech 2b, 4a, 5a, 6a a 8b (Knytl et al., 2023).

Repetitivní sekvence 18S a 28S rDNA u *Craugastor fitzingeri* se nacházejí na telomerách všech 22 chromozomů. U *C. ranoides* a *C. taurus* jsou sekvence pro 18S a 28S rDNA lokalizovány v paracentromerických oblastech dlouhých ramen chromozomového páru 2. U *Strabomantis biporcatus* se 18S a 28S rDNA sekvence nacházejí v telomerických oblastech dlouhých ramen chromozomů číslo 4 (Schmid et al., 2017). Sekvence 28S rDNA se u

*X. tropicalis* nachází v oblasti NOR na telomerách chromozomů 6, 7, a 8. U *X. mellotropicalis* se geny pro 28S rDNA nalézají v oblasti NOR na telomerách chromozomů 6 a 7 (Knytl et al., 2017).

### Tandemové repetice U1 a U2

Pomocí metody FISH bylo zjištěno, že se u *X. tropicalis* geny pro U1 snDNA nachází na distální části dlouhého ramene chromozomu 1 a U2 snDNA na distální části dlouhého ramene chromozomu 8. V genomu diploida *X. tropicalis* se nachází přibližně 20 kopií U1 snDNA na chromozomu 1 a 40 kopií U2 na chromozomu 8. U allotetraploidního druhu *X. calcaratus* se geny U1 a U2 snDNA nachází na distálních částech ramen q (= dlouhé raménko metafazického chromozomu) chromozomů 1a, 1b a 8a, 8b. Chromozomy 1a a 1b druhu *X. calcaratus* jsou vzájemně homeologní a jsou ortologní s chromozomem 1 diploidního druhu *X. tropicalis*. Locus U2 snRNA je na obou homeologických chromozomech *X. calcaratus* (chromozomy 8a a 8b) a nachází se v homologním úseku ortologního genu U2 u *X. tropicalis*. U allotetraploidních druhů *X. pygmaeus*, *X. allofraseri* se U1 snDNA nachází na q ramenech chromozomů 1L a U2 snDNA na chromozomu 8S. U *X. laevis* je U1 lokalizováno na q rameni chromozomu 1S a U2 na q rameni chromozomu 8L. V genomu *X. laevis* bylo identifikováno 11 kopií U1 snDNA na chromozomu 1L a 35 kopií na chromozomu 1S. U sekvence U2 je to 40 kopií na chromozomu 8L a 12 kopií na chromozomu 8S (Fornaini et al., 2023).



**Obrázek č. 2:** Metafázické chromozomy *Xenopus tropicalis* (a) a *Xenopus laevis* (e) po dvoubarevné fluorescenční *in situ* hybridizaci se sondami U1 (červená) a U2 (zelená) snDNA. Převzato: (Fornaini et al., 2023)

U *Leptodactylus macrosternum* se U2 snDNA nachází na chromozomu 4 v proximální oblasti dlouhého ramene. *L. pentadactylus* má U2 snDNA lokalizovanu na chromozomu 8, a to

v subterminální oblasti krátkého ramene. U *L. fuscus* se U2 snDNA nachází na chromozomu 6, v pericentromerické oblasti. *L. podicipinus* je U2 snDNA je umístěna na chromozomu 5, v subterminální oblasti dlouhého ramene. Tyto lokality byly určeny pomocí metody FISH. U2 snDNA sekvence mají specifické a odlišné lokalizace v různých druzích. To může poukazovat na rozdílnost v chromozomální evoluci a diverzifikaci rodu *Leptodactylus* (Gazoni et al., 2021).

### Tandemové repetice H3

Pomocí metody FISH byly loci pro H3 mapovány u druhů *X. tropicalis*, *X. calcaratus* a *X. muelleri* nacházejí se v telomerických a pericentromerických oblastech všech chromozomů. U *X. pygmaeus*, *X. allofraseri* a *X. laevis* se nacházejí v telomerických a pericentromerických oblastech přibližně poloviny chromozomů. U *X. tropicalis* se sekvence H3 nachází na chromozomech 3 (11 shod: 1 shoda= 1 výskyt tandemu v genomu), 6 (11 shod) a 9 (27 shod). Na chromozomech 5, 8 a 10 byly detekovány pouze částečné shody se sekvencemi H3. U *X. laevis* byla sekvence H3 nalezena na chromozomech 3S (12 shod), 5L (6 shod), 5S (3 shod), 6L (2 shod), 6S (1 shod), 9\_10L (15 shod) a 9\_10S (5 shod) (Zattera et al., 2020; Fornaini et al., 2023). Na chromozomech 1L a 8L u *X. laevis* byla nalezena shoda menší než 50 % (Fornaini et al., 2023). U druhu *Pipa carvalhoi* byly pomocí metody FISH detekovány loci pro H3 v pericentromerické oblasti na chromozomech párů 3, 6, 8 a 9. Gen pro H3 se nachází na stejných chromozomech u *P. carvalhoi* a i u *X. tropicalis*, to podporuje hypotézu o evoluční konzervovanosti H3 genů v rámci čeledi *Pipidae* (Zattera et al., 2020). U druhu *Leptodactylus fuscus* a *Leptodactylus gracilis* byly hybridizační signály detekovány na chromozomovém páru 6. U *L. latrans* a *L. chaquensis* byly signály detekovány na chromozomovém páru 6 a 10. *L. petersii* a *L. podicipinus* byly geny pro H3 přítomny na chromozomovém páru 6 a 10. U *L. brevipes* byly signály pro H3 lokalizovány na chromozomovém páru 6 a 9. V rámci rodu *Leptodactylus* existuje konzervativní vzorec distribuce genu H3 na chromozomovém páru 6, variace v lokalizaci mezi různými druhy naznačuje evoluční diverzifikaci (Da Silva et al., 2021).

#### 5.1.1. Satelitní Repetitivní DNA

Satelitní repetitivní sekvence rodiny BamHI-800 patří mezi tandemové repetice. Monomery mají délku 807 párů bazí a jsou A-T bohaté (57,4 %). Tato rodina se nachází u pravých ropuch čeledi *Bufo* *bufo*. Dle metody fluorescenční *in situ* hybridizace byly sekvence BAmHI-800 lokalizovány u *Bufo bufo* v centromerické oblasti a krátkém rameni

chromozomového páru 11, v pericentromických oblastech všech velkých chromozomových párů, na q rameni 6 chromozomového páru a na q rameni chromozomového páru 7 blízko centromery. U *B. spinosus* jsou sekvence lokalizovány na stejných chromozomech, až na absenci BamHI-800 na chromozomovém páru 7. U *Bufo viridis* je BamHI-800 lokalizováno v pericentromerické oblasti na chromozomovém páru 3 a na dlouhém rameni blízko centromery na chromozomu 6 (Guzmán et al., 2022).

### **Mikrosatelitní repetice**

Mikrosatelitní motivy (GA)<sup>15</sup> se u *Xenopus tropicalis* a *X. laevis* nacházejí v subterminálních oblastech všech chromozomů. Motiv (CA)<sup>15</sup> jsou u *X. tropicalis* lokalizovány v terminálních oblastech většiny chromozomů a v pericentrické oblasti chromozomů 1, 3, a 4. U *X. laevis* se tyto motivy vyskytují v centromerických až pericentromerických oblastech všech chromozomů. Repetitivní sekvence (CAG)<sup>10</sup> jsou přítomny v pericentrických oblastech dlouhých ramen chromozomového páru 7 u *X. tropicalis*. (CAG)<sup>10</sup> se u druhu *X. laevis* nachází v subterminálních až intersticiálních regionech většiny chromozomů. (GATA)<sup>8</sup> je u *X. laevis* lokalizován v subterminálních regionech zejména na chromozomu 3, oproti *X. laevis*, kde se motiv (GATA)<sup>8</sup> nachází intersticiálně na dlouhých ramenech chromozomového páru 4 (Roco et al., 2021).

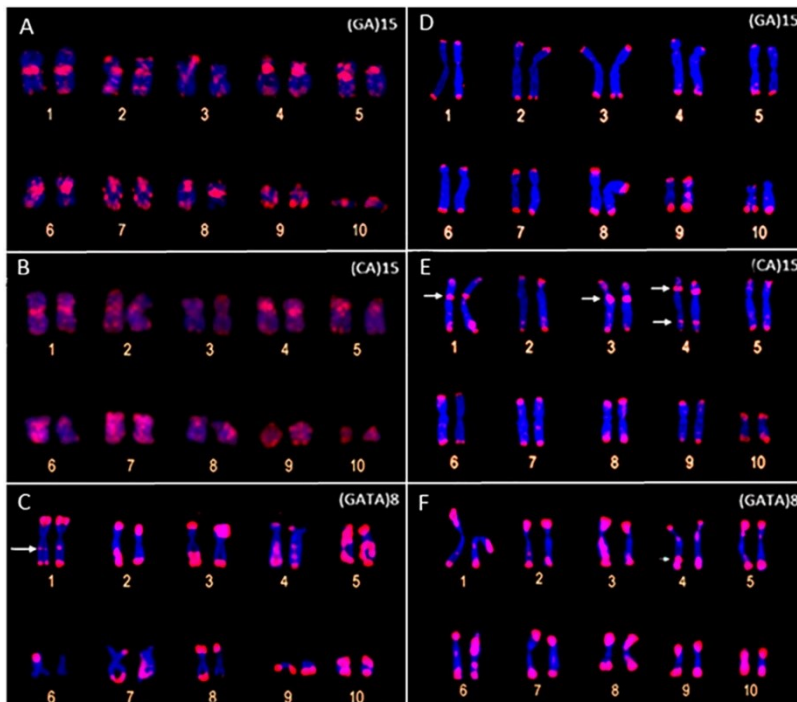
Mikrosatelitní sekvence u *Pipa carvalhoi* jsou v centromerických oblastech homologních párů 1, 2, 3, 5, 6, 7 a 8 a v subterminálních oblastech párů 2 a 9 lokalizovány repetitivní sekvence (GA)<sup>15</sup>. V karyotypu *X. tropicalis* byly signály sondy (GA)<sup>15</sup> nalezeny v subterminálních oblastech všech chromozomů (Zattera et al., 2020).

Repetitivní motivy (CA)<sup>15</sup> u *P. carvalhoi* jsou lokalizovány v centromerických oblastech chromozomů 1, 2 a 4, stejně jako v terminálních oblastech telocentrického chromozomu 9, a v menším množství na chromozomech 5, 6, 7 a 8. Naopak u *X. tropicalis* byly signály těchto opakování zjištěny v terminálních oblastech většiny chromozomů, spolu s pericentromerickými signály v chromozomech párů 1, 3 a 4 (Roco et al., 2021) a některými intersticiálními signály v dlouhých ramenech chromozomu 4 (Zattera et al., 2020).

Pravidelný trend preferenčního nahromadění mikrosatelitních motivů (CAG)<sup>10</sup>, (CGC)<sup>10</sup> a (GATA)<sup>8</sup> ve subterminálních/terminálních oblastech všech chromozomů byl pozorován u

obou druhů, *P. carvalhoi* a *X. tropicalis*. Zvláště sonda  $(CAG)^{10}$  detekovala hybridizační signály v pericentromerické oblasti dlouhých ramen páru 2 a v centromerické oblasti páru 6 u *P. carvalhoi*, zatímco u *X. tropicalis* byly signály identifikovány především v pericentromerické oblasti dlouhých ramen páru 7 (Zattera et al., 2020).

U *Xenopus tropicalis* byly signály detekovány pouze v terminálních oblastech všech chromozomů. Sonda  $(GATA)^8$  rovněž odhalila intersticiální signál v dlouhých ramenech páru 1 u *P. carvalhoi* a v dlouhých ramenech páru 4 u *X. tropicalis* (Zattera et al., 2020).



**Obrázek č. 3:** Metafázické chromozomy *Pipa carvalhoi* (A-C) a *Xenopus tropicalis* (D-F) po fluorescenční *in situ* hybridizaci se sondami pro mikrosatelitní repetitivní motivy  $(GA)^{15}$  (A,D),  $(CA)^{15}$  (B,E) a  $(GATA)^8$  (C,F). Šipky označují menší hybridizační signály v nonterminálních oblastech chromozomů. Převzato: (Zattera et al., 2020)

U *P. carvalhoi* byly pomocí sondy motivu  $(CCG)^{10}$  identifikovány centromerické signály u homologů párů 1 a 4, spolu s výraznými signály v pericentromerické oblasti páru 8. Naopak sondou  $(GACA)^4$  a  $(GAA)^{10}$  hybridizační signály byly detekovány pouze na chromozomech *Pipa carvalhoi*. Sonda  $(GAA)^{10}$  identifikovala signály ve subterminálních oblastech chromozomových párů 4 a 9, v pericentromerické oblasti homologů páru 5 a intersticiálně v dlouhých ramenech páru 7. Sonda  $(GACA)^4$  ukázala akumulaci této opakující se sekvence v pericentromerické oblasti dlouhých ramen páru 6 a také opakující se blok v intersticiální oblasti homologů páru 8 (Zattera et al., 2020).

## 5.2. Rozptýlené repetice žáby

### 5.2.1. DNA transpozony (hAT a mariner)

Mezi šest hlavních superrodin DNA transpozonů čeledi *Xenopus* patří hAT, Kolobok, Harbinger, Piggybac a Mariner (Suda et al., 2022).

Transpozony Tc1-podobné elementy (TLE = Tc1-like elements) jsou podskupinou superrodiny Tc1 mariner transponovatelných elementů. Mezi TLE v genomu *X. tropicalis* patří např. Eagle, Froggy, Jumpy, Maya, Xeminos, XtTXr a XtTXz. Tyto druhy DNA transpozonů byly určeny pomocí PCR a následného sekvenování amplikonu a bioinformatické analýzy (Sinzelle et al., 2005).

Miniaturizované invertovaně opakující se transponovatelné elementy (MITEs) patří do druhé třídy transponovatelných elementů. Jsou charakterizovány terminálními invertovaně opakujícími se repeticemi, krátkými přímými repeticemi vzniklými duplikací cílového místa během transpozice, vysokým počtem kopií (až  $10^4$ ) a vysokou podobností sekvencí mezi kopiemi. Neobsahují gen kódující transponázovou aktivitu nezbytnou pro vlastní transpozici. Předpokládá se, že MITEs jsou mobilizovány s transponázou kódovanou autonomním DNA transpozonem, který musí být přítomen v genomu (Hikosaka et al., 2015).

### 5.2.2. Retrotranspozony

#### **RanaCR1 retrotranspozony**

Retrotranspozony RanaCR1 je ne-LTR retroelement, který byl identifikován v intronu-1 genu pro sérový albumin v genomu podřádu *Neobatrachia*. Je na 5' konci zkrácen a obsahuje CA mikrosatelit ve své 3' UTR oblasti. V 3' UTR oblasti je nízká diverzita nukleotidů oproti CTR a SAI-1, což naznačuje funkční roli této oblasti v genomu vodních žab. Podobně jako v případě většiny transponovatelných elementů (TE's) je RanaCR1 zkrácený o 50 bází, což pravděpodobně vyplývá z nedokončené RNA reverzní transkripce, kdy se reverzní transkriptáza odděluje od své RNA matrice před dokončením syntézy cDNA. Variabilita délky TE's může být způsobena i delecemi, které nastaly po události transpozice a rozšiřují se za hranice 5 a 3 konce retroelementu. Tyto delece jsou pravděpodobně spojené s výběrem v kontextu genomické nestability způsobené vložením, ačkoli, vzhledem k tomu, že



retroelementy jsou místy rekombinace, mohou být delece způsobeny také nerovnoměrnou homologní rekombinací (Plötner et al., 2009).

### **Rex1 retrotranspozony**

Rodina retrotranspozonů Rex1 je rozšířena mezi obojživelníky. Tento typ transponovatelných elementů byl zaznamenán jak u bazálních linií Anura (*Pipidae* a *Dicroglossidae*), tak u odvozeného rodu *Neobatrachia* (*Physalaemus*) (Nascimento et al., 2015). Retrotranspozon Rex1 je charakterizován kódováním reverzní transkriptázy a endonukleázy, ačkoliv ta je často ztracena. Rex1 byl pomocí FISH lokalizován v pericentromerické heterochromatinové oblasti krátkého ramene chromozomu 3 karyotypu *Physalaemus ephippifer*. Rodina Rex1 zahrnuje několik sekvencí, jako jsou Rex2, Rex3 a Rex6, které vykazují různý stupeň úspěchu v integraci do genomu u různých druhů obojživelníků (Nascimento et al., 2015).

### **LINE elementy**

LINE (long interspersed nucleotide elements = dlouhé rozptýlené jaderné repetice) elementy patří mezi non-LTR retrotranspozony (shrnuto: Kojima et al., 2019). U Pipidae jsou zařazeny do tří skupin: CR1, RTE a L1. Klad Rex1, L2 a CR1 patří do skupiny CR1. RTE skupina, reprezentovaná kladem RTE u Pipidae, je přítomna u zvířat, hub, rostlin a řas. Rex1 je přítomen u *Physalaemus ephippifer* a *P. albonotatus*. Nepřítomnost Rex1 u *X. tropicalis* by mohla být vysvětlena jeho přítomností u společného předka Pipidae a následnou úplnou ztrátou během evoluce u *X. tropicalis* (Moura Gama et al., 2022).

U rodu *X. tropicalis* byl identifikován vysoký počet rodin L1 aTx1, které spadají do skupiny L1. Pomocí sekenování bylo u Pipidae nalezeno několik kopií elementů L1 a Tx1. Prvky označené jako L1-53\_XT až L1-56\_XT z *X. tropicalis* jsou preferenčně vkládány do různých genů malých RNA U2, například do prvků označených jako Keno. Kopie Tx1\_XT jsou vloženy na stejné místo v kopiích DNA transpozonu piggyBac-N1\_XT. Z několika mála kopií Tx1 z *P. carvalhoi* jsou kopie pipa1505315 a pipa445583 umístěny blízko sekvencí U2 spliceosomální RNA. Homologní prvky z tohoto kladu si zachovaly stejný genomický vzor vložení u těchto fylogeneticky příbuzných druhů (Nascimento et al., 2015; Moura Gama et al., 2022).

SINE (short interspersed nucleotide elements = krátké rozptýlené jaderné repetice) jsou to krátké retrotranspozony, které vyžadují LINEs pro svou replikaci. SINEs jsou obvykle kratší než LINEs a nemají vlastní enzymy pro transpozici, u *Xenopus* jsou rozptýleny po genomu (Sinzelle et al., 2005).

## 6. Repetitivní sekvence mloci

### 6.1. Tandemové repetice mloci

#### **NOR (organizátor jadérka)**

5S rDNA dělíme na dvě hlavní skupiny. První skupinu se sekvencemi A a B, druhou se sekvencemi typu C a D. Typ A obsahuje 11 bp v NTS blízko 3' konce, narozdíl od typu B, který jej neobsahuje. Typ C se liší nukleotidy v oblasti NTS. Skupina s typem D se liší od ostatních typů nukleotidovými substitucemi jak v NTS, tak v kódující oblasti. U druhu *Andrias japonicus* se nacházejí sekvence typu A, B a C, které jsou pomocí metody FISH lokalizovány v subterminálních regionech jednoho středně velkého akrocentrického chromozomového páru. Druh *A. davidianus* má 5S rDNA typu B, C a D. V genomu *Cryptobranchus alleganiensis* se nacházejí typy B a C. Typy 5S rDNA se mohly vyvinout pod různými selektivními tlaky, což může mít vliv na jejich funkční role v rámci genomu. Některé typy 5S rDNA mohly být pod menším selektivním tlakem, což vedlo k větší sekvenční diverzitě a potenciálně k rozdílným transkripčním vlastnostem (Fujiwara et al., 2006).

V diploidním genomu *Andrias japonicus* je sekvence 5S rDNA opakována přibližně  $3,7 \times 10^4$ . Počet kopií 5S rDNA je přibližně  $1,0 \times 10^5$  v genomu *Andrias davidianus* a přibližně  $4,0 \times 10^4$  v genomu *Cryptobranchus alleganiensis*, které jsou také diploidní. 5S rDNA je lokalizována metodou FISH v subterminální oblasti jednoho středně velkého akrocentrického chromozomového páru u *Andrias japonicus* (Fujiwara et al., 2006).

U diploidního druhu *Triturus marmoratus* se geny pro 5S rRNA nacházejí na dlouhém rameni chromozomu 10. U *T. cristatus carnifex* jsou lokalizovány na podobném místě také na chromozomu 10. Lokalizace byla zjištěna pomocí metody *in situ* hybridizace (Pilone et al., 1974).

Lokusy pro 18S a 28S rDNA se u *T. vulgaris meridionalis* nachází na chromozomu 11 v oblasti NOR (De Lucchini' et al., 1993). Mnoho jedinců téhož druhu mělo geny pro 18S a 28S

rRNA lokalizovány i mimo NOR. Další místa, kde byly geny pomocí *in situ* hybridizace lokalizovány se nacházejí v telomerických a centromerických oblastech (Nardi et al., 1977). U *T. marmoratus* se 18S a 28S rDNA sekvence nachází v subterminální části dlouhého ramene chromozomu 10. NOR u *T. helveticus* je lokalizován v subterminální oblasti na dlouhém rameni chromozomu 12. Lokalizace byla určena pomocí metody FISH (De Lucchini' et al., 1993).

U druhu *A. jeffersonianum* se velikost a lokalizace NOR liší, jak v rámci jedné populace, tak i mezi populacemi. Všechny cytotypy mají lokalizován NOR alespoň na jednom z homologních párů chromozomu 5 převážně v telomerické části. Cytotyp B měly NORs lokalizovány v telomerické části homologních chromozomů 5 a 8 na obou chromatidách. Cytotyp C v subtelomerické části chromozomu 4 a na homologních chromozomech 5 v telomerické části, D má jeden NOR lokalizován na chromozomu 5 v telomerické oblasti, NOR se u cytotypu E nachází na chromozomu 4 a 7 ve dvou kopiích na telomerách, F má NOR lokalizován po jedné kopii na homologních chromozomech 5 a chromozomu 6. U cytotypu G se nachází NOR v jedné kopii na chromozomu 1 a 5 v telomerické části. Cytotyp H má NORs lokalizovány na chromozomu 4 ve dvou kopiích a na homologních chromozomech 5 v telomerických oblastech. I má NOR lokalizován na homologních chromozomech 5, kdy na jednom z chromozomů je NOR lokalizován jak v oblasti telomer, tak v oblasti centromery. Počet NOR na jednu diploidní buňku je od jednoho do čtyř (Bi et al., 2009).

### 6.1.2. Satelitní DNA

Satelitní DNA (satDNA) je hojně zastoupena v genomu mloků (Sessions, 2008) a může tvořit významnou část chromozomů (Barsacchi-Pilone et al., 1986). Mezi důležité funkce satelitního DNA patří stabilizace chromozomálních struktur, účast na segregaci chromozomů během buněčného dělení (Wevrick & Willard, 1989) a regulace exprese genů v okolí centromer. Satelitní sekvence mohou také sloužit jako marker pro cytogenetické analýzy a studium struktury a evoluce chromozomů (Sessions, 2008). Repetitivní satDNA, která je lokalizována v centromerických oblastech, má klíčovou roli při zachování stability chromozomů během buněčného dělení (Wevrick & Willard, 1989). Kromě toho mohou být satelitní sekvence přítomny i v jiných chromozomálních oblastech a mohou mít různé délky a složení (Barsacchi-Pilone et al., 1986).

Hy/Pol III rodina se skládá z krátkých, tandemově se opakujících sekvencí. Tyto sekvence jsou organizovány do klastrů podél chromozomové osy a jsou rozptýleny po celém genomu evropských mloků rodu *Hydromantes* z čeledi *Plethodontid Salamanders*. Repetitivní sekvence je složena z prvku podobného SINE retrotranspozonu s tRNA strukturou, který je ohraničen dvěma krátkými přímými repeticemi. Celá repetice je ohraničena dvěma dalšími přímými repeticemi. Jednotlivé repetitivní monomery mají délku přibližně 200 bp. Analytická data naznačují, že dva prvky, pravděpodobně odvozeny od transkriptů polymerázy III, byly vloženy jeden do druhého. Během evoluce byla rodina Hy/Pol III amplifikována tandemovou duplikací na úrovni DNA (Batistoni et al., 1995).

A-T bohatá satelitní DNA mloka skvrnitého (*Triturus vulgaris meridionalis*) se nazývá Sat G, představuje asi 2 % genomu a až ze 65 % ji tvoří A-T páry. Skládá se z vysoce repetitivní sekvence (rodina HindIII), jejíž monomery byly klonovány. Repetitivní jednotky jsou dlouhé asi 330 bp a klonovaná jednotka (pTvml) je dlouhá 310 bp. Sat G DNA se nachází na satelitních vrcholech chromozomů (na těžké straně gradientů hustoty aktinomycinu D/CsCl). Je lokalizována pomocí metody *in situ* hybridizace uvnitř pericentrických C-pásů většiny chromozomů *Triturus vulgaris meridionalis*. Sat G DNA se nachází v pericentrických C-pásech na obou stranách centromer na chromozomech 1, 2, 4, 5, 6 a 8, a pouze v jedné pericentrické C-páse na chromozomech 3 a 7 (krátké rameno) a 9 (dlouhé rameno). Klastry Sat G DNA se také nacházejí na několika terminálních a subterminálních místech chromozomů (jak pro homologní druhy *Triturus vulgaris meridionalis*, tak pro heterologní druhy *T. italicus*, *T. alpestris apuanus*, *T. cristatus carnifex*, *t. marmoratus*). Sat G DNA je evolučně konzervována, klastrovaná a vysoce repetitivní sekvence napříč rodem *Triturus* (Barsacchi-Pilone et al., 1986).

Sekvence CYP-ST-HIND1 druhu *Cynops pyrrhogaster* se nachází téměř ve všech pericentrických C-pozitivních heterochromatinových blocích poblíž centromer. Není na heterochromatinových blocích na chromozomu 1, dlouhých ramenech chromozomů 2, 5 a 6, ani na jednom z dvou heterochromatinových bloků na krátkých ramenech chromozomů 4, 7, 9 a 11, ani na krátkých a dlouhých ramenech chromozomu 12. To může naznačovat, že heterochromatin v těchto oblastech obsahuje jiný druh repetitivních sekvencí DNA. CYP-ST-HIND1 má délku 319 párů bází a jeho obsah G+C je 33,5 %. Sekvence CPY-ST-HIND1 má vysokou homologii s 310bp satDNA elementem evropského mloka *Triturus vulgaris*, který je

součástí pericentrické C-pozitivní oblasti heterochromatinu. Tyto dva fragmenty mají 81 % (238/292 bp) nukleotidovou identitu v ekvivalentní oblasti (Murakami et al., 2007).

Sekvence CYP-ST-BAMA1, izolovaná z 0,4-kb pásky BamHI, byl lokalizován do všech centromerických oblastí a je proto klasifikován jako centromer-specifická satelitní DNA. CYP-ST-BAMA1 byla 388 párů bází dlouhá a obsah G+C byl 45,9 %. Sekvence CYP-ST-BAMA1 druhu *Cynops pyrrhogaster* nemá žádnou významnou homologii s žádnými sekvencemi (Murakami et al., 2007).

### **Rodiny pTvm8 a pTvm13**

V genomu *Triturus vulgaris meridionalis* se nachází rodiny pTvm8 a pTvm13, které spadají do satelitních DNA. Byly identifikovány a odděleny pomocí restriktivního enzymu BamHI. Restriktivní enzymy BamHI umožňují rozpoznat a rozštěpit DNA na specifických místech. Sekvence rodiny pTvm8 se skládá z hlavního monomeru o délce 398 pb. Monomery jsou v tandemových repeticích rozptýleny po celých chromozomech v genomu různých druhů rodu *Triturus* a jsou konzervovány v rámci dalších druhů čeledi *Salamandriidae*. V pTvm8 sekvenci jsou čtyři invertované repetice (Vignali et al., 1991).

Rodina pTvm13 je velice konzervována v rámci čeledi *Salamandridae* a čeledi *Triturus*. Tato rodina se skládá ze základního repetitivního monomeru, který je přibližně 419 bp dlouhý. A-T páry tvoří přibližně 45 %. Neobsahuje žádné zvláštní interní opakování ani inverzní repetice. Zatímco pTvm8 vykazuje tandemové uspořádání, pTvm13 má jinou, méně pravidelnou organizační strukturu. První část této sekvence (nukleotidy 273-286 pTvm13) má určitou homologii s pTvm8 (nukleotidy 382-394) a s předpokládaným malým transpozonom (Newt 1) nalezeným v genomu *Triturus vulgaris meridionalis* (nukleotidy 447-457). Druhá část sekvence (nukleotidy 281-298) je velmi podobná rozptýlenému satelitu 2 *Notophthalmus viridescens* (nukleotidy 81-97 konsenzuální sekvence Nv2) a odpovídající rodině TcS2 *T. carnifex* a rodině BgIII *Triturus vulgaris meridionalis* (Vignali et al., 1991).

### **Sekvence typu TkS1 a TkS2**

Dalším typem satelitních DNA sekvencí jsou sekvence typu TkS1 a TkS2 z DNA *Triturus cristatus karelinii*. Sekvence TkS1, s repetitivní jednotkou o velikosti 32-33 bázových párů (Baldwin & Macgregor, 1985; Litvinchuk, 2004), a TkS2, s repetitivním monomerem o 68 bázových párech. TkS1 satelitní sekvence se vyskytuje i v jiných druzích a poddruzích

*Salamandriae*, jako například v *Triturus cristatus cristatus*, *Triturus* (Baldwin & Macgregor, 1985; Litvinchuk, 2004), avšak výrazně méně početně (Baldwin & Macgregor, 1985). Z toho vyplývá, že je velmi konzervovaná napříč druhy *Salamandriae* (Varley et al., 1990). Sekvence TkS1 neexistuje pouze ve formě dlouhých klastrů, ale také jako krátké tandemové repetice nebo jednotlivé kopie (Litvinchuk, 2004). Sekvence je lokalizována hlavně v centromerických oblastech, ale také je přítomna v různých regionech chromozomů (Varley et al., 1990).

Zajímavostí je vztah sekvence TkS1 s jinou známou repetitivní sekvencí Tvm8, objevenou u *Triturus vulgaris meridionalis*. Výsledky analýzy DNA pomocí restričních enzymů ukázaly, že pásy DNA 32/33, 64 a 96 bp, identifikované po trávení enzymu HaeIII a AluI, reprezentují monomery, dimery a trimery TkS1. Sekvence Tvm8, objevená po trávení BamHI, s délkou kolem 400 bp, se pravděpodobně podílí na formování složitějších struktur v genomu *Triturus* a může interagovat s TkS1 v rámci chromozomové architektury (Varley et al., 1990; Vignali et al., 1991).

Typy mikrosatelitní DNA u salamandrů mohou zahrnovat opakování jednotlivých nukleotidů (mononukleotidové mikrosatelity) nebo kombinace různých nukleotidů (například di-, tri-, tetra- a pentanukleotidové mikrosatelity) (Johnson, 2003).

## 6.2. Rozptýlené repetice mloci

Genomy salamandrů patří mezi největší genomy ve skupině obratlovců. Jedním z klíčových prvků, které přispívají k této neobvyklé velikosti genomu, jsou transponovatelné elementy (TEs), zvláště dlouhé terminální opakované (LTR) retrotranspozony (Sun et al., 2011).

### 6.2.1. DNA transpozony

TIR transpozony (terminal inverted repeats = terminální invertované repetice) obsahuje opakující se motivy na koncových úsecích, známé jako opakování koncových úseků (TIR). Tento typ transpononu může být klasifikován do různých rodin, jako jsou hAT, CACTA, Tc1/Mariner. Nejhojnějšími superrodinami DNA transpozonů jsou TIR/hat s podílem 0,57- 1,15 % genomu. Dalšími superrodinami DNA transpozonů jsou TIR/CACTA (0,52-0,56 % genomu) a TIR/Tc1-Mariner (0,49-0,59 % genomu) (Wang et al., 2021).

## 6.2.2. Retrotranspozony

TE's jsou významné při formování obrovských genomů mloků. U druhu *Aneides flavipunctatus* představují rozptýlené repetice až 47,52 % čtecích sekvencí. Nejhojnějšími transponovatelnými elementy u mloků jsou Ty3/gypsy, které tvoří 7-20 % datové sady (Sun et al., 2011). Tři další typy transponovatelných elementů se také vyskytují mezi nejhojnějšími napříč druhy: LINE/L2 ne-LTR retrotranspozony (1,7-8,8 % genomu), DIRS retrotranspozony (2,0-5,7 % genomu) a LTR/ERV1 endogenní retroviry (0,5-11,3 % genomu) (Sun et al., 2011; Sun & Mueller, 2014).

Pomocí sekvenování bylo zjištěno, že LTR retrotranspozony jsou rozptýleny po celém genomu *A. flavipunctatus*. Jsou integrovány v různých oblastech, včetně intronů, intergenových regionů a méně zastoupeny mohou být v exonových oblastech genů, kde mohou potenciálně ovlivňovat genovou expresi (Sun et al., 2011).

## 7. Repetitivní sekvence červoři

Repetitivní sekvence (jak známé transponovatelné elementy, tak i repetitivní sekvence, které nebyly přesně klasifikovány) tvoří 77,6 % genomu *Ichthyophis bannanicus* (Wang et al., 2021).

### 7.2. Rozptýlené repetice červoři

#### 7.2.1. DNA transpozony

DNA transpozony, známé také jako třída II transpozony, představují relativně malý podíl repetitivních sekvencí v genomu čolka *Ichthyophis bannanicus* (2,63- 4.36%). To je výrazně méně než zastoupení retrotranspozonů, které genomu *I. bannanicus* dominují. Mezi nejvýznamnější superrodiny DNA transpozonů patří TIR/hAT, TIR/CACTA a TIR/Tc1-Mariner, jejichž zastoupení se pohybuje v rozmezí od 0.49% do 1.15% (Wang et al., 2021).

#### 7.2.2. Retrotranspozony

Nejčastějšími skupinami transponovatelných elementů jsou DIRS/DIRS a LINE/Jockey, které dohromady tvoří kolem 50 % genomu. Nejhojnější superrodinou retrotranspozonů genomu *I. bannanicus* je DIRS/DIRS (25,88-30,20 % genomu), následovaná LINE/Jockey (16,92-20,59 % genomu), LINE/L1 (3,05- 3,23 %), LTR/ERV (1,62- 1,82%) LINE/RTE (1,5-1,6 % genomu)

a LTR/Gypsy (1,1-1,35 % genomu). TE první třídy jsou hojnější než TE druhé třídy (DNA transpozony), které tvoří 2,63 až 4,36 % genomu (Wang et al., 2021).

Zastoupení rozptýlených repetitivních sekvencí v genomu *Ichthyophis bannanicus* je odlišné od genomů jiných řádů z třídy Amphibia, jako jsou salamandři, kde dominují LTR/Gypsy retrotranspozony (Sun et al., 2011; Sun & Mueller, 2014).

## 8. Diverzita a evoluce repetitivních sekvencí u vybraných skupin

### Evoluce u Afrických drápatek *Xenopus*

U alopolyloidních genomů, jako například *X. calcaratus*, jsou repetitivní sekvence důležitým faktorem ovlivňujícím evoluční dynamiku chromozomálních struktur, přispívají k chromozomálním změnám, které mohou ovlivnit segregaci chromozomů během meiotického dělení. To může vést ke genetické diverzifikaci a novým evolučním trajektoriím (Knytl et al., 2023).

### NOR

U diploidního genomu, jako například *X. tropicalis* je obvykle jen jeden pár NOR. Očekávalo se, že při procesu allopolyploidizace, kdy se z diploidního genomu evolucí stal tetraploidní, se zdvojnásobí i počet repetitivních sekvencí u allotetraploidních druhů. U tetraploidního druhu *X. calcaratus* byl pomocí FISH s 28S rDNA sondou identifikován pouze jeden pár NOR, který byl umístěn na chromozomu 7a-subgenomu na q raménku (Knytl et al., 2023). Předpokládá se, že druhý NOR na chromozomu 7b byl ztracen po allopolyploidizaci (Knytl et al., 2017). *Xenopus mellotropicalis* má NOR umístěn také na chromozomu 7aq (Tymowska, 1991) s předpokladem, že druhý NOR na 7b byl ztracen (Knytl et al., 2017). U allotetraploidního *X. laevis* byla pomocí metody FISH identifikována jedna oblast NOR na chromozomu 3L na p raménku. Homologní NOR na 3S byl nejspíš ztracen po procesu allopolyploidizace (Roco et al., 2021).

### Geny pro 5S rRNA

Rozdílná lokalizace genů pro úzce příbuzné druhy *X. calcaratus* a *X. mellotropicalis* naznačují nezávislý vývoj allopolyploidních druhů (Knytl et al., 2023). *X. calcaratus* nese lokusy pro 5S na více chromozomech (2b, 4a, 5a, 6a a 8b) (Knytl et al., 2023) ve srovnání s *X. mellotropicalis*, u kterého jsou lokusy 5S na chromozomech 4a, 5b a 8b (Knytl et al., 2017).



### **Evoluce H3**

Evoluce repetitivních sekvencí je ovlivněna polyploidizací. U *X. tropicalis* (diploidní genom) byly sekvence H3 lokalizovány na všech chromozomech, stejně jako u allotetraploidních druhů *X. calcaratus* a *X. muelleri*. To naznačuje duplikaci sekvencí H3 v důsledku polyploidizace u těchto allotetraploidních druhů drápatek. U allotetraploidních *X. pygmaeus*, *X. allofraseri* a *X. laevis* jsou sekvence H3 pouze na přibližně polovině chromozomů. I když polyploidizace vede obvykle ke zvýšení počtu repetitivních sekvencí, specifický počet těchto sekvencí může být ovlivněn dalšími evolučními procesy, jako například delecemi. Polyploidizace automaticky nezaručuje zdvojení repetitivních sekvencí (Fornaini et al., 2023).

### **Sekvence U1 a U2**

Počet lokusů pro snRNA u allotetraploidů nekoresponduje s očekáváním, že všechny tetraploidní druhy budou mít dvojnásobný počet kopií snRNA než diploidní *X. tropicalis*. Je tedy zřejmé, že v průběhu evoluce polyploidních druhů *Xenopus* došlo v určitých lokusech k redukci počtu některých kopií snRNA. U allotetraploidů *X. calcaratus* a *X. laevis* se sekvence snRNA nachází u obou homeologních chromozomech, které se shodují s homeologními chromozomy diploidního *X. tropicalis*. U allotetraploidů *X. pygmaeus* a *X. allofraseri* jsou lokusy pro snRDNA přítomny pouze na jednom páru homeologních chromozomů (Fornaini et al., 2023).

### **Mikrosatelitní repetitivní sekvence u *Pipa carvalhoi* a *X. tropicalis***

Srovnání počtu a lokalizace mikrosatelitních repetitivních sekvencí (CA)<sub>15</sub> mezi druhy *X. tropicalis* a *P. carvalhoi* podporuje hypotézu, že repetitivní sekvence mají význam v evoluci. U *P. carvalhoi* jsou mikrosatelitní repetitivní sekvence přítomny hlavně v centromerických oblastech (Roco et al., 2021), *X. tropicalis* má stejné sekvence přítomny hlavně v terminálních oblastech. Odlišná distribuce mikrosatelitních repetitivních sekvencí může odrážet různé evoluční dráhy a různé mechanismy chromozomálních přestaveb (Zattera et al., 2020; Roco et al., 2021).

### **DNA transpozony**

Aktivita transpozonů byla významná v obdobích kolem hybridizace. Diploidní *X. tropicalis* měl nedávnou aktivitu DNA transpozonů, zatímco u allotetraploidních druhů byla

aktivita transpozonů především kolem doby hybridizace diploidních předků, to naznačuje možné rozdíly v dynamice a regulaci těchto elementů mezi různými ploidiemi a evoluční historií (Suda et al., 2022).

### **Evoluce NOR u rosníček**

Polyploidizace vede ke změnám v genomu, které se projevují větším množstvím kopií a rozdílnou lokalizací genů pro 18S a 28S rRNA u tetraploidního druhu *H. versicolor*. Rozdíl v lokalizaci mezi diploidním druhem *H. chrysoscelis* a tetraploidním *H. versicolor* je pravděpodobně výsledkem genomové duplikace a následnou diverzifikací. Zajímavostí je, že žádné místo genu rRNA nebylo sdíleno všemi populacemi, to naznačuje vysokou genetickou diverzitu. *Hyla versicolor* vykazuje méně forem genů než *H. chrysoscelis*, což může odrážet různé evoluční tlaky, které působily na tyto druhy (Wiley et al., 1989).

### **Ribozomální RNA u čolků**

Geny pro 18S a 28S rRNA se nacházejí na různých chromozomech u různých druhů čolků (Nardi et al., 1977; De Lucchini, et al., 1993). To naznačuje, že během evoluce došlo k přemístění genů pro 18S a 28S rRNA. Geny pro 5S rRNA se u čolků rodu *Triturus* nacházejí v jedné nebo několika málo oblastech na chromozomu (Pilone et al., 1974). To se liší od *X. laevis*, kde jsou geny pro 5S rRNA rozptýleny v telomerických oblastech mnoha chromozomů (Pardue et al., 1973).

### **rDNA u *Ambystoma jeffersonianum***

V izolovaných populacích u druhu *A. Jeffersonianum* jsou pozorovány různé cytotypy rDNA. Liší se v počtu a lokalizaci mezi cytotypy i v rámci jednotlivých cytotypů, to naznačuje vysokou variabilitu a dynamiku formování chromozomálních genomů. Tento jev je způsoben významně nerovnoměrným nebo nereciproky výměnami mezi sesterskými chromatidami. Předpokladem je, že u mlouků je homozygotnost NOR vzácná (Bi et al., 2009).

## 9. Reference

\*... sekundární zdroj citací

- Agarwal ML, Aldrich J, Agarwal A, Cullis CA. The flax ribosomal RNA-encoding genes are arranged in tandem at a single locus interspersed by 'non-rDNA' sequences. *Gene*. 1992 Oct 21;120(2):151-6. doi: 10.1016/0378-1119(92)90088-7. PMID: 1398131.
- Baldari CT, Amaldi F. Length and interspersion of repetitive and non repetitive DNA sequences in four amphibian species with different genome sizes. *Chromosoma*. 1977 Jun 23;61(4):359-68. doi: 10.1007/BF00288619. PMID: 407058.
- Baldwin L, Macgregor HC. Centromeric satellite DNA in the newt *Triturus cristatus karelinii* and related species: its distribution and transcription on lampbrush chromosomes. *Chromosoma*. 1985;92(2):100-7. doi: 10.1007/BF00328461. PMID: 2988877.
- Bao, W., Kojima, K. K., & Kohany, O. (2015). Repbase Update, a database of repetitive elements in eukaryotic genomes. *Mobile DNA*, 6(1). <https://doi.org/10.1186/s13100-015-0041-9>
- Barsacchi-Pilone G, Batistoni R, Andronico F, Vitelli L, Nardi I. Heterochromatic DNA in *Triturus* (Amphibia, Urodela). I. A satellite DNA component of the pericentric C-bands. *Chromosoma*. 1986;93(5):435-46. doi: 10.1007/BF00285826. PMID: 3013516.
- Batistoni R, Pesole G, Marracci S, Nardi I. A tandemly repeated DNA family originated from SINE-related elements in the European plethodontid salamanders (Amphibia, Urodela). *J Mol Evol*. 1995 Jun;40(6):608-15. doi: 10.1007/BF00160508. PMID: 7643411.
- Borkin, L. J., Litvinchuk, S. N., & Rosanov, J. M. (1996). Spontaneous triploidy in the crested newt, *Triturus cristatus* (Salamandridae). *Russ. J. Herpetol*, 3(2), 152-156.
- \*Brahmachari SK, Meera G, Sarkar PS, Balagurumoorthy P, Tripathi J, Raghavan S, Shaligram U, Pataskar S. Simple repetitive sequences in the genome: structure and functional significance. *Electrophoresis*. 1995 Sep;16(9):1705-14. doi: 10.1002/elps.11501601283. PMID: 8582360.
- Britten RJ, Kohne DE. Repeated sequences in DNA. Hundreds of thousands of copies of DNA sequences have been incorporated into the genomes of higher organisms. *Science*. 1968 Aug 9;161(3841):529-40. doi: 10.1126/science.161.3841.529. PMID: 4874239.
- Carroll D, Brown DD. Repeating units of *Xenopus laevis* oocyte-type 5S DNA are heterogeneous in length. *Cell*. 1976 Apr;7(4):467-75. doi: 10.1016/0092-8674(76)90198-7. PMID: 986247.
- Cortadas J, Pavon MC. The organization of ribosomal genes in vertebrates. *EMBO J*. 1982;1(9):1075-80. doi: 10.1002/j.1460-2075.1982.tb01299.x. PMID: 6329726; PMCID: PMC553165.

- da Silva DS, da Silva Filho HF, Cioffi MB, de Oliveira EHC, Gomes AJB. Comparative Cytogenetics in Four Leptodactylus Species (Amphibia, Anura, Leptodactylidae): Evidence of Inner Chromosomal Diversification in Highly Conserved Karyotypes. *Cytogenet Genome Res.* 2021;161(1-2):52-62. doi: 10.1159/000515831. Epub 2021 Apr 22. PMID: 33887732.
- Dawid IB, Botchan P. Sequences homologous to ribosomal insertions occur in the Drosophila genome outside the nucleolus organizer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1977 Oct;74(10):4233-7. doi: 10.1073/pnas.74.10.4233. PMID: 412186; PMCID: PMC431913.
- Dias S, Souza RC, Vasconcelos EV, Vasconcelos S, da Silva Oliveira AR, do Vale Martins L, de Oliveira Bustamante F, da Costa VA, Souza G, da Costa AF, Benko-Iseppon AM, Knytl M, Brasileiro-Vidal AC. Cytomolecular diversity among Vigna Savi (Leguminosae) subgenera. *Protoplasma.* 2024 Mar 11. doi: 10.1007/s00709-024-01944-z. Epub ahead of print. PMID: 38467939.
- du Manoir S, Speicher MR, Joos S, Schröck E, Popp S, Döhner H, Kovacs G, Robert-Nicoud M, Lichter P, Cremer T. Detection of complete and partial chromosome gains and losses by comparative genomic in situ hybridization. *Hum Genet.* 1993 Feb;90(6):590-610. doi: 10.1007/BF00202476. PMID: 8444465.
- Evans BJ, Carter TF, Greenbaum E, Gvoždík V, Kelley DB, McLaughlin PJ, Pauwels OS, Portik DM, Stanley EL, Tinsley RC, Tobias ML, Blackburn DC. Genetics, Morphology, Advertisement Calls, and Historical Records Distinguish Six New Polyploid Species of African Clawed Frog (*Xenopus*, Pipidae) from West and Central Africa. *PLoS One.* 2015 Dec 16;10(12):e0142823. doi: 10.1371/journal.pone.0142823. PMID: 26672747; PMCID: PMC4682732.
- Fujiwara, M., Kanazawa, M., Fajiwara, A., Yamaurai, S., Tamamotoi, H., Honmai, T., Matsui, M., Kohnoi, S.-I., & Kubotai, S. (2006). Molecular cytogenetic characterization of 5S ribosomal DNA families in giant salamanders (Amphibia, Urodela). <http://hdl.handle.net/2433/216829>
- Fornaini NR, Bergelová B, Gvoždík V, Černohorská H, Krylov V, Kubičková S, Fokam EB, Badjedjea G, Evans BJ, Knytl M. Consequences of polyploidy and divergence as revealed by cytogenetic mapping of tandem repeats in African clawed frogs (*Xenopus*, Pipidae). *Eur J Wildl Res.* 2023;69(4):81. doi: 10.1007/s10344-023-01709-8. Epub 2023 Jul 21. PMID: 37483536; PMCID: PMC10361878.
- Fornaini NR, Černohorská H, do Vale Martins L, Knytl M. Cytogenetic Analysis of the Fish Genus *Carassius* Indicates Divergence, Fission, and Segmental Duplication as Drivers of Tandem Repeat and Microchromosome Evolution. *Genome Biol Evol.* 2024 Mar 2;16(3):evae028. doi: 10.1093/gbe/evae028. PMID: 38340334; PMCID: PMC11079324.
- Gall JG, Pardue ML. Formation and detection of RNA-DNA hybrid molecules in cytological preparations. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1969 Jun;63(2):378-83. doi: 10.1073/pnas.63.2.378. PMID: 4895535; PMCID: PMC223575.

- \*Garrido-Ramos MA. Satellite DNA: An Evolving Topic. *Genes* (Basel). 2017 Sep 18;8(9):230. doi: 10.3390/genes8090230. PMID: 28926993; PMCID: PMC5615363.
- Gazoni T, Dorigon NS, da Silva MJ, Cholak LR, Haddad CFB, Parise-Maltempo PP. Chromosome Mapping of U2 snDNA in Species of *Leptodactylus* (Anura, Leptodactylidae). *Cytogenet Genome Res.* 2021;161(1-2):63-69. doi: 10.1159/000515047. Epub 2021 Apr 6. PMID: 33823507.
- Guignard, M., Büchi, L., Gétaz, M., Betto-Colliard, C., & Stöck, M. (2012). Genome size rather than content might affect call properties in toads of three ploidy levels (Anura: Bufonidae: *Bufo viridis* subgroup), *Biological Journal of the Linnean Society*, Volume 105, Issue 3, March 2012, Pages 584–590, <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2011.01837.x>
- Guzmán K, Roco ÁS, Stöck M, Ruiz-García A, García-Muñoz E, Bullejos M. Identification and characterization of a new family of long satellite DNA, specific of true toads (Anura, Amphibia, Bufonidae). *Sci Rep.* 2022 Aug 17;12(1):13960. doi: 10.1038/s41598-022-18051-9. PMID: 35978080; PMCID: PMC9385698.
- Gvoždík V, Knytl M, Ange-Ghislain Zassi-Boulou, R Fornaini N, Bergelová B, Tetraploidy in the Boettger's dwarf clawed frog (Pipidae: *Hymenochirus boettgeri*) from the Congo indicates non-conspecificity with the captive population, *Zoological Journal of the Linnean Society*, Volume 200, Issue 4, April 2024, Pages 1034–1047, <https://doi.org/10.1093/zoolinnea/zlad119>
- Haley AL, Mueller RL. Transposable Element Diversity Remains High in Gigantic Genomes. *J Mol Evol.* 2022 Oct;90(5):332-341. doi: 10.1007/s00239-022-10063-3. Epub 2022 Jun 25. PMID: 35751655.
- Harper ME, Price J, Korn LJ. Chromosomal mapping of *Xenopus* 5S genes: somatic-type versus oocyte-type. *Nucleic Acids Res.* 1983 Apr 25;11(8):2313-23. doi: 10.1093/nar/11.8.2313. PMID: 6687939; PMCID: PMC325886.
- Julian, S. E., King, T. L., & Savage, W. K. (2003). Isolation and characterization of novel tetranucleotide microsatellite DNA markers for the spotted salamander, *Ambystoma maculatum*. *Molecular Ecology Notes*, 3(1), 7-9. <https://doi.org/10.1046/j.1471-8286.2003.00333.x>
- Ke Bi, James P. Bogart, Jinzhong Fu, A populational survey of 45S rDNA polymorphism in the Jefferson salamander *Ambystoma jeffersonianum* revealed by fluorescence *in situ* hybridization (FISH), *Current Zoology*, Volume 55, Issue 2, 1 April 2009, Pages 145–149, <https://doi.org/10.1093/czoolo/55.2.145>
- \*Kidwell MG. Transposable elements and the evolution of genome size in eukaryotes. *Genetica.* 2002 May;115(1):49-63. doi: 10.1023/a:1016072014259. PMID: 12188048.
- Knytl M, Fornaini NR, Bergelová B, Gvoždík V, Černohorská H, Kubičková S, Fokam EB, Evans BJ, Krylov V. Divergent subgenome evolution in the allotetraploid frog *Xenopus calcaratus*. *Gene.* 2023 Jan 30;851:146974. doi: 10.1016/j.gene.2022.146974. Epub 2022 Oct 27. PMID: 36309242.

- Knytl M, Kalous L, Ráb P. Karyotype and chromosome banding of endangered crucian carp, *Carassius carassius* (Linnaeus, 1758) (Teleostei, Cyprinidae). *Comp Cytogenet.* 2013 Aug 23;7(3):205-15. doi: 10.3897/CompCytogen.v7i3.5411. PMID: 24260701; PMCID: PMC3833740.
- Knytl M, Kalous L, Symonová R, Rylková K, Ráb P. Chromosome studies of European cyprinid fishes: cross-species painting reveals natural allotetraploid origin of a *Carassius* female with 206 chromosomes. *Cytogenet Genome Res.* 2013;139(4):276-83. doi: 10.1159/000350689. Epub 2013 May 4. PMID: 23652770.
- Knytl M, Smolík O, Kubíčková S, Tlapáková T, Evans BJ, Krylov V. Chromosome divergence during evolution of the tetraploid clawed frogs, *Xenopus mello tropicalis* and *Xenopus epitropicalis* as revealed by Zoo-FISH. *PLoS One.* 2017 May 18;12(5):e0177087. doi: 10.1371/journal.pone.0177087. PMID: 28545147; PMCID: PMC5436656.
- Knytl M, Tlapakova T, Vankova T, Krylov V. Silurana Chromosomal Evolution: A New Piece to the Puzzle. *Cytogenet Genome Res.* 2018;156(4):223-228. doi: 10.1159/000494708. Epub 2018 Dec 11. PMID: 30537723.
- \*Kojima KK. Structural and sequence diversity of eukaryotic transposable elements. *Genes Genet Syst.* 2020 Jan 30;94(6):233-252. doi: 10.1266/ggs.18-00024. Epub 2018 Nov 9. PMID: 30416149.
- Koo DH, Nam YW, Choi D, Bang JW, de Jong H, Hur Y. Molecular cytogenetic mapping of *Cucumis sativus* and *C. melo* using highly repetitive DNA sequences. *Chromosome Res.* 2010 Apr;18(3):325-36. doi: 10.1007/s10577-010-9116-0. Epub 2010 Mar 3. PMID: 20198418.
- Le, H.T., Armstrong, K.C. & Miki, B. Detection of rye DNA in wheat-rye hybrids and wheat translocation stocks using total genomic DNA as a probe. *Plant Mol Biol Rep* 7, 150–158 (1989). <https://doi.org/10.1007/BF02669631>
- Lucchini SD, Nardi I, Barsacchi G, Batistoni R, Andronico F. Molecular cytogenetics of the ribosomal (18S + 28S and 5S) DNA loci in primitive and advanced urodele amphibians. *Genome.* 1993 Aug;36(4):762-73. doi: 10.1139/g93-101. PMID: 18470022.
- Liedtke HC, Gower DJ, Wilkinson M, Gomez-Mestre I. Macroevolutionary shift in the size of amphibian genomes and the role of life history and climate. *Nat Ecol Evol.* 2018 Nov;2(11):1792-1799. doi: 10.1038/s41559-018-0674-4. Epub 2018 Sep 24. PMID: 30250158.
- Litvinchuk SN, Lashina OS, Kazakov VI. Raspredelenie satellitnoï DNK TkS1 v genome khvostatykh amfibiï semeïstva Salamandridae [Distribution of satellite DNA TkS1 in genomes of salamanders (Salamandridae)]. *Tsitologiya.* 2004;46(7):634-9. Russian. PMID: 15473374.
- \*López-Flores I, Garrido-Ramos MA. The repetitive DNA content of eukaryotic genomes. *Genome Dyn.* 2012;7:1-28. doi: 10.1159/000337118. Epub 2012 Jun 25. PMID: 22759811.

- Lourenço LB, Recco-Pimentel SM, Cardoso AJ. Polymorphism of the nucleolus organizer regions (NORs) in *Physalaemus petersi* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) detected by silver staining and fluorescence in situ hybridization. *Chromosome Res.* 1998 Dec;6(8):621-8. doi: 10.1023/a:1009253410553. PMID: 10099875.
- \*Mehrotra S, Goyal V. Repetitive sequences in plant nuclear DNA: types, distribution, evolution and function. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2014 Aug;12(4):164-71. doi: 10.1016/j.gpb.2014.07.003. Epub 2014 Aug 15. PMID: 25132181; PMCID: PMC4411372.
- Moura Gama J, Ludwig A, Gazolla CB, Guizelini D, Recco-Pimentel SM, Bruschi DP. A genomic survey of LINE elements in Pipidae aquatic frogs shed light on Rex-elements evolution in these genomes. *Mol Phylogenet Evol.* 2022 Mar;168:107393. doi: 10.1016/j.ympev.2022.107393. Epub 2022 Jan 17. PMID: 35051593.
- Murakami T, Maki N, Nishida-Umehara C, Matsuda Y, Agata K. Establishment of high-resolution FISH mapping system and its application for molecular cytogenetic characterization of chromosomes in newt, *Cynops pyrrhogaster* (Urodela, Amphibia). *Chromosome Res.* 2007;15(4):471-84. doi: 10.1007/s10577-007-1139-9. Epub 2007 May 30. PMID: 17525830.
- Nardi I, Barsacchi-Pilone G, Batistoni R, Andronico F. Chromosome location of the ribosomal RNA genes in *Triturus vulgaris meridionalis* (Amphibia, Urodela). II. Intraspecific variability in number and position of the chromosome loci for 18S + 28S ribosomal RNA. *Chromosoma.* 1977 Nov 3;64(1):67-84. doi: 10.1007/BF00292889. PMID: 598264.
- Nascimento J, Baldo D, Lourenço LB. First insights on the retroelement Rex1 in the cytogenetics of frogs. *Mol Cytogenet.* 2015 Nov 5;8:86. doi: 10.1186/s13039-015-0189-5. PMID: 26550032; PMCID: PMC4635592.
- \*Oliver KR, Greene WK. Transposable elements: powerful facilitators of evolution. *Bioessays.* 2009 Jul;31(7):703-14. doi: 10.1002/bies.200800219. PMID: 19415638.
- Orgel LE, Crick FH. Selfish DNA: the ultimate parasite. *Nature.* 1980 Apr 17;284(5757):604-7. doi: 10.1038/284604a0. PMID: 7366731.
- Pardue ML, Gall JG. Molecular hybridization of radioactive DNA to the DNA of cytological preparations. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1969 Oct;64(2):600-4. doi: 10.1073/pnas.64.2.600. PMID: 5261036; PMCID: PMC223386.
- Pardue ML, Brown DD, Birnstiel ML. Location of the genes for 5S ribosomal RNA in *Xenopus laevis*. *Chromosoma.* 1973;42(2):191-203. doi: 10.1007/BF00320940. PMID: 4726606.
- Pilone GB, Nardi I, Batistoni R, Andronico F, Beccari E. Chromosome location of the genes for 28S, 18S and 5S ribosomal RNA in *Triturus marmoratus* (Amphibia Urodela). *Chromosoma.* 1974;49(2):135-53. doi: 10.1007/BF00348886. PMID: 4614960.
- \*Plohl M, Luchetti A, Mestrovic N, Mantovani B. Satellite DNAs between selfishness and functionality: structure, genomics and evolution of tandem repeats in centromeric

- (hetero)chromatin. *Gene*. 2008 Feb 15;409(1-2):72-82. doi: 10.1016/j.gene.2007.11.013. Epub 2007 Dec 4. PMID: 18182173.
- \*Plohl M, Meštrović N, Mravinac B. Satellite DNA evolution. *Genome Dyn*. 2012;7:126-52. doi: 10.1159/000337122. Epub 2012 Jun 25. PMID: 22759817.
- Plötner J, Köhler F, Uzzell T, Beerli P, Schreiber R, Guex GD, Hotz H. Evolution of serum albumin intron-1 is shaped by a 5' truncated non-long terminal repeat retrotransposon in western Palearctic water frogs (Neobatrachia). *Mol Phylogenet Evol*. 2009 Dec;53(3):784-91. doi: 10.1016/j.ympev.2009.07.037. Epub 2009 Aug 6. PMID: 19665056; PMCID: PMC2792884.
- Ralin DB, Selander RK. EVOLUTIONARY GENETICS OF DIPLOID-TETRAPLOID SPECIES OF TREEFROGS OF THE GENUS *HYLA*. *Evolution*. 1979 Jun;33(2):595-608. doi: 10.1111/j.1558-5646.1979.tb04713.x. PMID: 28563941.
- \*Rebordinos L, Cross I, Merlo A. High evolutionary dynamism in 5S rDNA of fish: state of the art. *Cytogenet Genome Res*. 2013;141(2-3):103-13. doi: 10.1159/000354871. Epub 2013 Sep 24. PMID: 24080995.
- Roco ÁS, Liehr T, Ruiz-García A, Guzmán K, Bullejos M. Comparative Distribution of Repetitive Sequences in the Karyotypes of *Xenopus tropicalis* and *Xenopus laevis* (Anura, Pipidae). *Genes (Basel)*. 2021 Apr 21;12(5):617. doi: 10.3390/genes12050617. PMID: 33919402; PMCID: PMC8143290.
- Rudd MK, Wray GA, Willard HF. The evolutionary dynamics of alpha-satellite. *Genome Res*. 2006 Jan;16(1):88-96. doi: 10.1101/gr.3810906. Epub 2005 Dec 12. PMID: 16344556; PMCID: PMC1356132.
- Schatz MC, Delcher AL, Salzberg SL. Assembly of large genomes using second-generation sequencing. *Genome Res*. 2010 Sep;20(9):1165-73. doi: 10.1101/gr.101360.109. Epub 2010 May 27. PMID: 20508146; PMCID: PMC2928494.
- Schiavinato M, Bodrug-Schepers A, Dohm JC, Himmelbauer H. Subgenome evolution in allotetraploid plants. *Plant J*. 2021 May;106(3):672-688. doi: 10.1111/tpj.15190. Epub 2021 Mar 24. PMID: 33547826; PMCID: PMC8251528.
- Schmid, M. (1978) Chromosome Banding in Amphibia. I. Constitutive Heterochromatin and Nucleolus Organizer Regions in *Bufo* and *Hyla*. *Chromosoma*, 66, 361-368. <https://doi.org/10.1007/BF00328536>
- Schmid, M. Chromosome banding in Amphibia. *Chromosoma* 87, 327–344 (1982). <https://doi.org/10.1007/BF00327634>
- Schmid M, Vitelli L, Batistoni R. Chromosome banding in amphibia. XI. Constitutive heterochromatin, nucleolus organizers, 18S + 28S and 5S ribosomal RNA genes in Ascaphidae, Pipidae, Discoglossidae and Pelobatidae. *Chromosoma*. 1987;95(4):271-84. doi: 10.1007/BF00294784. PMID: 3622081.



- \*Schmid M, Steinlein C. Chromosome Banding in Amphibia. XXXII. The Genus *Xenopus* (Anura, Pipidae). *Cytogenet Genome Res.* 2015;145(3-4):201-17. doi: 10.1159/000433481. Epub 2015 Jun 25. PMID: 26112092.
- Schmid M, Steinlein C, Feichtinger W, Nanda I. Chromosome Banding in Amphibia. XXXV. Highly Mobile Nucleolus Organizing Regions in *Craugastor fitzingeri* (Anura, Craugastoridae). *Cytogenet Genome Res.* 2017;152(4):180-193. doi: 10.1159/000481554. Epub 2017 Oct 24. PMID: 29059674.
- Sessions SK. Evolutionary cytogenetics in salamanders. *Chromosome Res.* 2008;16(1):183-201. doi: 10.1007/s10577-007-1205-3. PMID: 18293112.
- Sinzelle L, Pollet N, Bigot Y, Mazabraud A. Characterization of multiple lineages of Tc1-like elements within the genome of the amphibian *Xenopus tropicalis*. *Gene.* 2005 Apr 11;349:187-96. doi: 10.1016/j.gene.2004.12.023. PMID: 15777729.
- Sloter ED, Lowe X, Moore II DH, Nath J, Wyrobek AJ. Multicolor FISH analysis of chromosomal breaks, duplications, deletions, and numerical abnormalities in the sperm of healthy men. *Am J Hum Genet.* 2000 Oct;67(4):862-72. doi: 10.1086/303088. Epub 2000 Aug 28. PMID: 10961911; PMCID: PMC1287891.
- Spangenberg V, Arakelyan M, Cioffi MB, Liehr T, Al-Rikabi A, Martynova E, Danielyan F, Stepanyan I, Galoyan E, Kolomiets O. Cytogenetic mechanisms of unisexuality in rock lizards. *Sci Rep.* 2020 May 26;10(1):8697. doi: 10.1038/s41598-020-65686-7. PMID: 32457493; PMCID: PMC7250862.
- Suda K, Hayashi SR, Tamura K, Takamatsu N, Ito M. Activation of DNA Transposons and Evolution of piRNA Genes Through Interspecific Hybridization in *Xenopus* Frogs. *Front Genet.* 2022 Jan 31;13:766424. doi: 10.3389/fgene.2022.766424. PMID: 35173768; PMCID: PMC8841583.
- Sun C, Mueller RL. Hellbender genome sequences shed light on genomic expansion at the base of crown salamanders. *Genome Biol Evol.* 2014 Jul;6(7):1818-29. doi: 10.1093/gbe/evu143. PMID: 25115007; PMCID: PMC4122941.
- Sun C, Shepard DB, Chong RA, López Arriaza J, Hall K, Castoe TA, Feschotte C, Pollock DD, Mueller RL. LTR retrotransposons contribute to genomic gigantism in plethodontid salamanders. *Genome Biol Evol.* 2012;4(2):168-83. doi: 10.1093/gbe/evr139. Epub 2011 Dec 26. PMID: 22200636; PMCID: PMC3318908.
- Charlesworth B, Sniegowski P, Stephan W. The evolutionary dynamics of repetitive DNA in eukaryotes. *Nature.* 1994 Sep 15;371(6494):215-20. doi: 10.1038/371215a0. PMID: 8078581.
- Tymowska, J. (1991). Polyploidy and Cytogenetic Variation in Frogs of the Genus *Xenopus*. In *Amphibian Cytogenetics and Evolution* (pp. 259–297). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-297880-7.50016-0>

- Tymowska J, Fischberg M, Tinsley RC. The karyotype of the tetraploid species *Xenopus vestitus* Laurent (Anura: pipidae). *Cytogenet Cell Genet.* 1977;19(6):344-54. doi: 10.1159/000130828. PMID: 611004.
- Tymowska J, Fischberg M. The karyotype of the hexaploid species *Xenopus ruwenzoriensis* Fischberg and Kobel (Anura: Pipidae). *Cytogenet Cell Genet.* 1980;27(1):39-44. doi: 10.1159/000131462. PMID: 7389418.
- Varley JM, Macgregor HC, Barnett L. Characterisation of a short, highly repeated and centromerically localised DNA sequence in crested and marbled newts of the genus *Triturus*. *Chromosoma.* 1990 Dec;100(1):15-31. doi: 10.1007/BF00337599. PMID: 2101348.
- Venu, G. (2014). Studies on Silver staining of chromosomes of caecilians (Amphibia:Gymnophiona) of Western Ghats of India. *International Journal of Advanced Research* 2(3): 63–72. <https://www.researchgate.net/publication/261509150>
- Vignali R, Rijli FM, Batistoni R, Fratta D, Cremisi F, Barsacchi G. Two dispersed highly repeated DNA families of *Triturus vulgaris meridionalis* (Amphibia, Urodela) are widely conserved among Salamandridae. *Chromosoma.* 1991 Feb;100(2):87-96. doi: 10.1007/BF00418241. PMID: 2009819.
- Wake DB, Koo MS. Amphibians. *Curr Biol.* 2018 Nov 5;28(21):R1237-R1241. doi: 10.1016/j.cub.2018.09.028. PMID: 30399342.
- Wang J, Itgen MW, Wang H, Gong Y, Jiang J, Li J, Sun C, Sessions SK, Mueller RL. Gigantic Genomes Provide Empirical Tests of Transposable Element Dynamics Models. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2021 Feb;19(1):123-139. doi: 10.1016/j.gpb.2020.11.005. Epub 2021 Mar 4. PMID: 33677107; PMCID: PMC8498967.
- Wang J, Itgen MW, Wang H, Gong Y, Jiang J, Li J, Sun C, Sessions SK, Mueller RL. Gigantic Genomes Provide Empirical Tests of Transposable Element Dynamics Models. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2021 Feb;19(1):123-139. doi: 10.1016/j.gpb.2020.11.005. Epub 2021 Mar 4. PMID: 33677107; PMCID: PMC8498967.
- Wevrick R, Willard HF. Long-range organization of tandem arrays of alpha satellite DNA at the centromeres of human chromosomes: high-frequency array-length polymorphism and meiotic stability. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989 Dec;86(23):9394-8. doi: 10.1073/pnas.86.23.9394. PMID: 2594775; PMCID: PMC298502.
- Wicker T, Sabot F, Hua-Van A, Bennetzen JL, Capy P, Chalhoub B, Flavell A, Leroy P, Morgante M, Panaud O, Paux E, SanMiguel P, Schulman AH. A unified classification system for eukaryotic transposable elements. *Nat Rev Genet.* 2007 Dec;8(12):973-82. doi: 10.1038/nrg2165. PMID: 17984973.
- Wiley, J.E., Little, M.L., Romano, M.A. *et al.* Polymorphism in the location of the 18S and 28S rRNA genes on the chromosomes of the diploid-tetraploid treefrogs *Hyla chrysoscelis* and *H. versicolor*. *Chromosoma* 97, 481–487 (1989). <https://doi.org/10.1007/BF00295033>

\*Wolfe KH. Yesterday's polyploids and the mystery of diploidization. *Nat Rev Genet.* 2001 May;2(5):333-41. doi: 10.1038/35072009. PMID: 11331899.

Zattera ML, Gazolla CB, Soares AA, Gazoni T, Pollet N, Recco-Pimentel SM, Bruschi DP. Evolutionary Dynamics of the Repetitive DNA in the Karyotypes of *Pipa carvalhoi* and *Xenopus tropicalis* (Anura, Pipidae). *Front Genet.* 2020 Jul 21;11:637. doi: 10.3389/fgene.2020.00637. PMID: 32793276; PMCID: PMC7385237.

Zattera ML, Lima L, Duarte I, de Sousa DY, Araújo OGDS, Gazoni T, Mott T, Recco-Pimentel SM, Bruschi DP. Chromosome spreading of the (TTAGGG)<sub>n</sub> repeats in the *Pipa carvalhoi* Miranda-Ribeiro, 1937 (Pipidae, Anura) karyotype. *Comp Cytogenet.* 2019 Oct 14;13(3):297-309. doi: 10.3897/CompCytogen.v13i3.35524. PMID: 31649799; PMCID: PMC6803351.

**Další použité zdroje:**

Gregory T.R. Animal genome size database. 2019. <http://www.genomesize.com> Accessed 12 Feb 2018. (cit. 20.03.2024)