

Oponentský posudek

Diplomová práce Bc. Martiny Koubové představuje srovnávací karyotypovou analýzu devíti druhů gekonů rodu *Paroedura* z Madagaskaru. Popisy karyotypů obou pohlaví na základě chromozomových preparátů barvených Giemsou jsou doplněny o C-pruhování a detekci polohy telomerické sekvence pomocí FISH. Kombinace těchto metod umožnila detekovat změny karyotypů a uvažovat o konkrétních chromozomových přestavbách. Autorka navíc mohla využít již dříve publikovanou rekonstrukci fylogenetických vztahů v rámci studovaného rodu a tak vytvořila ucelený pohled na možnou karyotypovou evoluci rodu *Paroedura*.

Samotná diplomová práce má rozsah 68 stran a je členěna standardním způsobem.

V **úvodu** autorka shrnuje poměrně vyčerpávajícím způsobem dosavadní údaje o variabilitě počtu a morfologii chromozomů, determinaci pohlaví, poloze telomerických sekvencí a předpokládaného vztahu mezi chromozomovými přestavbami a speciací v rámci skupiny Gekkota. Celkovou diverzitu v počtu chromozomů a systémech chromozomového určení pohlaví a předpokládanou karyotypovou evoluci ilustruje Obrázkem 1 s fylogenetickou analýzou dat o dosud známých diploidních počtech chromozomů u gekonů. Toto grafické znázornění umožní každému čtenáři velmi rychlý přehled o současných znalostech základních charakteristik karyotypů jednotlivých analyzovaných druhů. Z textu nicméně není zcela jasné, jestli se jedná o převzatou analýzu z autorčiny bakalářské práce (Koubová 2011) a nebo o zcela novou analýzu. Počet karyotypovaných druhů v analýze mi na první pohled přijde stejný jako v bakalářské práci, ale některé uvedené citace v obrázku jsou mladší než vlastní bakalářská práce (dotaz: jsou doplněny některé další karyotypované druhy a změnila se případně nějak výrazně topologie fylogenetického stromu?).

Cíle práce jsou definované velmi stručně. U karyotypové analýzy rodu v rámci kterého byly v době zadání diplomové práce známe karyotypy pouhých dvou druhů to je ale pochopitelné. Naproti tomu **materiál a metodika** jsou psané dostatečně detailně a umožňují přesně sledovat použité postupy. V rámci této části mi není jasné pouze několik detailů.

1. je znám původ chovaných populací a případně počet generací v zajetí? (dotaz: nemohlo dojít k fixaci některých chromozomových změn v chovných podmínkách?)
2. Při zpracování obrazového materiálu byl využit program IKAROS. Já osobně tento systém nepoužívám. Nejsem si proto jist, zda při analýze je možno získat jednotlivé údaje o p a q ramenech chromozomů a tím i relativní délka chromozomů. Není zde uvedeno, zda bylo provedeno alespoň základní statistické vyhodnocení jednotlivých měření analyzovaných metafází.

Výsledky zahrnují popisy karyotypů analyzovaných druhů. Jsou zde uvedeny základní charakteristiky standardního karyotypu a výsledky C-pruhování a hybridizace s telomerickou sondou u obou pohlaví. Vzhledem k tomu, že diplomová práce většinou není oproti finálním publikacím omezena svým rozsahem, očekával bych v této části podrobnější informace o variabilitě sledovaných charakteristik např. velikosti chromozomů, centromerických indexů nebo kvantifikaci velikostí bloků konstitutivního heterochromatinu (pokud analýza pomocí programu IKAROS umožňuje tyto charakteristiky sledovat – opakuji můj předešlý dotaz: jsou tyto informace k dispozici?). Výsledky jsou doplněné bohatou kvalitní obrazovou dokumentací. Zde bych asi doporučil snad jen drobnou úpravu v názvech obrázků – uvedení jména druhu na začátek textu by mohlo zrychlit orientaci. Dále větší ořez obrázků FISH s telomerickou sondou by ušetřil prostor pro vlastní text. V této části mám dotaz týkající se Tabulky 1 (na kterou jsem v textu nenašel odkaz). Je zde uveden počet hodnocených metafází. Není jasné uvedeno, zda se toto číslo vztahuje ke všem třem použitým metodám. Byly použity pro všechny metody stejné metafáze a je to vůbec možné?

V **diskusi** se autorka snaží získané charakteristiky karyotypů vztáhnout k fylogenetickým vztahům v rámci rodu *Paroedura* a nastínit tak hlavní trendy a mechanismy karyotypové evoluce tohoto rodu. Hned v první větě mě nicméně autorka zaskočila tvrzením o jejím vytvoření fylogenetické analýzy – v metodice a výsledcích totiž o podobné analýze není žádná zmínka. Dotaz: o jakou analýzu se vlastně jedná? Vstupní data pro analýzu jsou pouze počty chromozomů, morfologické údaje, sekvence jednoho či více genů nebo kombinace všeho? Zdánlivou komplikací pro prezentovanou práci (a její případné publikování) se na první pohled může zdát publikování obdobné karyotypové analýzy rodu *Paroedura*, z větší části na stejných druzích, v letošním roce (Aprea *et al.* 2013). Obě práce ale využívají částečně různé metody a tak se spíše vzájemně doplňují. Drobné rozdíly v charakteristikách karyotypů některých druhů mohou být vysvětleny rozdílným způsobem měření chromozomů (zde opět musím zmínit, že by se v diplomové práci hodila tabulka s konkrétními měřeními chromozomů a znalost lokality, ze které chování jedinci pocházejí). Na tomto místě bych se také rád zeptal diplomatky zda může vysvětlit rozdělení chromozomů na morfologické typy dle Levana *et al.* (1964). V čem se liší akrocentrické a telocentrické chromozomy? V současné chvíli díky oběma studiím na rodu *Paroedura* máme k dispozici řadu detailních informací o karyotypech těchto gekonů. Ty nicméně stále ještě umožňují různé alternativní hypotézy. Např. nemohl by přeci jen být původnější karyotyp rodu *Paroedura* s $2n=38$ a akrocentrickými chromozomy? Absence pohlavních chromozomů u druhu *P. gracilis* by přece spíše také nasvědčovala na původní stav u tohoto druhu.

Na **závěr** autorka shrnuje velmi zkráceně své výsledky a navrhuje další směry studia k pochopení karyotypové evoluce rodu *Paroedura*. Mimo jiné také navrhuje otestovat homologii pohlavních chromozomů. Otázka: jakou metodu by navrhovala použít? A jak by mohla detekovat pohlavní chromozomy mimo použitého C-pruhování?

Já bych na závěr svého posudku rád shrnul, že autorka dosáhla vytyčených cílů a svými výsledky dokázala, že si osvojila základní metody cytogenetické analýzy. Zároveň ukázala, že je schopná velmi dobře na základě použité a správně citované literatury (pouze s výjimkou citace Kawai *et al.* 2009, kterou jsem v **seznamu literatury** nenašel) vytvořit přehled o řešené tématice. Zde si nicméně musím posteskout. Text sice obsahuje akceptovatelné množství překlepů, ale délka některých souvětí (zejména v úvodní části) vyžaduje maximální čtenářovu koncentraci. Doufám, že během vlastní obhajoby diplomové práce autorka dokáže, že je schopná kvalitní prezentace svých výsledků. V této fázi doporučuji práci k úspěšné obhajobě.

RNDr. František Štáhlavský, Ph.D.
Katedra zoologie PřF UK
Praha 2, Viničná 7