

Abstrakt

Řád *Cetartiodactyla* je v současnosti jedna z největších skupin savců na zemi, která zahrnuje 10 čeledí suchozemských a 12 čeledí vodních savců. Charakteristickým znakem všech dnešních sudokopytníků je osa končetin procházející mezi 3. a 4. prstem. Řád *Cetartiodactyla* je z cytogenetického hlediska heterogenní skupinou organismů, ve které se vyskytují čeledi s pomalou karyotypovou evolucí (*Cetacea* a *Hippopotamidae*) a čeledi (např. *Bovidae*), jejichž zástupci mají značně odlišné karyotypy ($2n = 30 - 60$). Pro upřesnění evolučních vztahů přispívá velkou měrou komparativní genomika založená na analýze chromozomů, mapování genů a DNA sekvenování. Jednou ze základních a hojně využívaných metod je ZOO-FISH, jejímž principem je mezidruhovú cross-hybridizace specifických sond určitého druhu na chromozomy jiného druhu. Na základě znalostí evolučních chromozomových přestaveb můžeme sledovat speciaci druhů.

Jedním z cílů práce byla komparativní cytogenetika u vybraných savců z řádu *Cetartiodactyla*. K tomuto účelu byly použity celochromozomové a BAC FISH sondy, které byly připravovány z DNA prasete a krávy. Chromozomální DNA byla získávána průtokovou cytometrií chromozomů nebo laserovou mikrodisekcí. Metodou ZOO-FISH byl u hrošíka liberijského poprvé stanoven komparativní karyotyp, který je téměř shodný s karyotypem hrocha. Určena byla také bližší struktura chromozomu X hrošíka, jež je velice podobná struktuře chromozomu X žirafy.

V rámci čeledi *Bovidae* existuje značná variabilita v diploidním počtu chromozomů ($2n = 30 - 60$), nicméně počet autozomálních ramen zůstává téměř nezměněn a genomy jednotlivých druhů jsou vysoce homologní. Předpokládá se, že ancestrální karyotyp, konzervovaný v genomu krávy nebo kozy, měl celkem 58 akrocentrických autozomů, akrocentrický X a malý submetacentrický chromozom Y. Veliká variabilita v počtu chromozomů a karyotypová různorodost v čeledi *Bovidae* je velice výhodným prvkem při studiu meiotického dělení a rekombinační interference.

Dalším cílem této práce bylo porovnávání frekvence a distribuce rekombinací mezi různými druhy z čeledi *Bovidae*. Bylo sledováno, zda vlivem centrických fúzí a procesem domestikace dochází ke změnám rekombinace u zkoumaných druhů. S využitím imunofluorescenční detekce meiotických proteinů (MLH1, SCP3) a FISH jsme sledovali v pachytenních spermatocytech frekvenci a distribuci crossing-overů na meiotických chromozomech. Vyšetřeno bylo celkem 112 jedinců 28 různých druhů z čeledi *Bovidae*.

U všech vyšetřovaných zvířat byla nalezena významná individuální i mezidruhová variabilita v délce synaptonemálních komplexů a v počtu rekombinací na buňku. Zároveň byl prokázán úbytek počtu a změna distribuce rekombinací na metacentrických chromozomech ovce oproti jejich orthologům u krávy a kozy. Tyto rozdíly jsou pravděpodobně způsobeny metacentrickým stavem chromozomů a centromerickou interferencí působící přes centromeru.

Abstract

The order *Cetartiodactyla* is currently one of the largest groups of mammals on Earth that includes 10 families of terrestrial and 12 families of aquatic mammals. The main hallmark of all today's ungulates is the limb axis passing between the third and fourth finger. The order *Cetartiodactyla* is a cytogenetically heterogeneous group of organisms, comprising families with slow karyotype evolution (*Cetacea* and *Hippopotamidae*) and families (e.g. *Bovidae*) whose representatives have distinct karyotypes ($2n = 30$ to 60). Comparative genomics, based on the analysis of chromosomes, gene mapping and DNA sequencing, greatly contributes to the clarification of evolutionary relationships between animals. One of the basic and abundantly used methods is ZOO-FISH, which is based on cross-hybridization of specific probes from one species on chromosomes of another species. Based on the knowledge of evolutionary chromosomal rearrangements, the process of organism speciation can be traced.

One of the aims of this study were comparative cytogenetics of selected mammals from the order *Cetartiodactyla*. For this purpose, whole chromosome and BAC FISH probes, prepared from pig and cow DNA, were used. Chromosomal DNA was obtained by flow cytometry of chromosomes or by laser microdissection. Using ZOO-FISH, comparative karyotype between pygmy hippo and common hippo was established for the first time. These karyotypes are almost identical. Detailed structure of the pygmy hippo X chromosome was defined and is very similar to the structure of the giraffe X chromosome. Within the family *Bovidae*, there is a considerable variability in the diploid number of chromosomes ($2n = 30$ to 60), but the number of autosomal arms remains almost constant and genomes of various species are highly homologous. It is believed that the ancestral karyotype, preserved in the genome of cows and goats, had a total of 58 acrocentric autosomes, an acrocentric X and a small submetacentric Y chromosome. The great variability in chromosome number and karyotype diversity in *Bovidae* is a very convenient feature for the study of meiotic division and recombination interference.

Another aim of this study was the comparison of recombination frequencies and their distribution between different species of *Bovidae*. We investigated if centric fusions and the process of domestication cause changes in recombination rates in the researched species. With the use of immunofluorescence detection of meiotic proteins (MLH1, SCP3) and subsequent FISH, we analysed the frequency and distribution of crossing-overs on

meiotic chromosomes in pachytene spermatocytes. A total of 112 individuals from 28 different *Bovidae* species were examined. In all investigated animals, significant individual and interspecies variability was found in the length of synaptonemal complexes and the number of recombination events per cell. A decrease in the number and a change in the distribution of crossing-overs on sheep metacentric chromosomes was demonstrated compared to their orthologues in cows and goats. These differences are probably caused by the metacentric state of chromosomes and by centromeric interference acting over the centromere.