

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Ekologická a evoluční biologie



Jana Břečková

Využití cytogenetických metod v taxonomii polyneopterního hmyzu

Utilization of cytogenetic methods in taxonomy of Polyneoptera insects

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: RNDR. František Šťáhlavský

Praha, 2021

Poděkování

Ráda bych poděkovala svému školiteli RNDr. Františku Šťáhlavskému, Ph.D. za pomoc při psaní bakalářské práce, za jeho trpělivost a ochotu poradit kdykoli jsem byla v koncích. Dále bych chtěla poděkovat kamarádům za podporu při psaní práce a v průběhu celého studia. Hlavní poděkování patří mé rodině, která mě s velkou trpělivostí podporovala.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci vypracovala 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, 13. 8. 2021

Podpis:

Abstrakt

Bakalářská práce se zabývá otázkou využití cytogenetických metod v taxonomii polyneopterního hmyzu. Pro odpověď na tuto otázku je třeba analyzovat dosud dostupná data o mezidruhové a vnitrodruhové variabilitě karyotypů u jednotlivých skupin. Na začátku práce jsou popsány cytogenetické metody využití u polyneopterního hmyzu. Pomocí nich jsou získávány informace o diploidním počtu chromozomů, morfologii chromozomu a systému pohlavního určení. Hlavní část práce se zaměřuje na popis variability karyotypů a na možnost využít tyto informace pro taxonomické účely u jednotlivých skupin.

Klíčová slova: polyneopterní hmyz, cytogenetické metody, karyotypy, taxonomie, chromozomy, pohlavní určení

Abstract

This bachelor thesis focuses on a use of cytogenetic methods in the taxonomy of Polyneoptera insects. To answer this question, it is necessary to analyse all available data on inter- and intraspecific variability of karyotypes in individual insect groups. In the introduction of this thesis, cytogenetic methods used in polyneopterous insects are described. These methods are used to collect information on diploid number of chromosomes, chromosome morphology and sex-determination system. The main part of the thesis focuses on a description of karyotype variability and on a possibility to use this information for taxonomic purposes in individual insect groups.

Key words: Polyneoptera insects, cytogenetic methods, karyotypes, taxonomy, chromosomes, sex-determination

Obsah

Úvod.....	1
1. Cytogenetické metody použité u polyneopterního hmyzu	2
2. Karyotypová variabilita polyneopterního hmyzu.....	5
2.1. Strašilkovci (Mantophasmatodea)	6
2.2. Drobnělky (Zoraptera).....	6
2.3. Cvrčkovci (Grylloblattodea).....	7
2.4. Snovatky (Embioptera)	7
2.5. Pošvatky (Plecoptera).....	8
2.6. Strašilky (Phasmatodea)	8
2.7. Kudlanky (Mantodea)	9
2.8. Rovnokřídli (Orthoptera)	10
Kobylky (Ensifera).....	10
Sarančata (Caelifera).....	13
2.9. Švábi (Blattodea).....	18
Švábi	18
Termiti (Isoptera).....	20
2.10. Škvoři (Dermaptera)	21
Závěr.....	22
Seznam literatury	24

Úvod

Cytogenetika se zabývá studiem karyotypů, které mohou být druhově velmi specifické. Díky fluorescenční *in situ* hybridizaci (FISH) se dají identifikovat specifické rozdíly v počtu a pozici sledovaných markerů, a to i u druhů, které mají na první pohled stejný diploidní počet chromozomů, chromozomy nelišící se ve velikosti a morfologii. Toho by se dalo využít v taxonomii zejména kryptických druhů, u kterých je v současné době nutností, kromě čistě morfologické charakteristiky, využívat k delimitaci druhů také rozdíly na úrovni DNA.

S ohledem na komplexnost otázky definice druhů je potřeba využívat co nejširší spektrum různých technik, které dohromady mohou přesněji vymezit druhově specifické rozdíly. K takovým přístupům by díky rozdílům v karyotypech mohly patřit cytogenetické metody. Různé cytogenetické charakteristiky vykazují různé stupně variability, které se navíc mohou lišit nejen mezi jednotlivými charakteristikami, ale také mezi jednotlivými evolučními liniemi. Bakalářská práce si z tohoto důvodu klade za cíl porovnat variabilitu cytogenetických charakteristik u různých linií polyneopterního hmyzu s důrazem na možné využití v taxonomii.

1. Cytogenetické metody použité u polyneopterního hmyzu

Počet chromozomů a jejich struktura, včetně informací o jejich velikosti a morfologii, jsou důležitými aspekty, které mohou vést k odlišování druhů. Karyotypová analýza je užitečnou pomůckou při systematice a evoluční analýze. Například chromozomové přestavby vedoucí k reprodukčním bariérám hrají důležitou roli v izolaci některých druhů (Bianchi a Meliadò 1998). V rámci cytogenetických analýz polyneopterního hmyzu se používají různé metody, které umožňují získat různé cytogenetické charakteristiky (Buleu et al. 2019).

Giemsa

Barvení Giemsou Romanovski (Obr. 1A) je standartní metodou vizualizace chromozomů u většiny cytogenetických analýz (Buleu et al. 2019). Výsledkem jsou rovnoměrně obarvené chromozomy, které jsou tak snadněji pozorovatelné a porovnatelné. U této metody můžeme dobře sledovat počty chromozomů a jejich morfologii (Sumner 1972). V rámci podobných chromozomů se nicméně jen těžko stanovuje jejich přesná homologie, a proto bývá toto barvení doplněno dalšími metodami pro zjištění přesnějších informací o karyotypu.

C proužkování

Diferenciální barvení pomocí C-proužkování (Obr. 1B) je metoda sloužící k lokalizaci konstitutivního heterochromatinu (C-chromatin) a tím k zobrazení oblastí centromer a přestaveb chromozomů (Buleu et al. 2019; Warchałowska-Śliwa, Heller, a Maryańska-Nadachowska 2005). K tomu se používá hydroxid barnatý spolu s Giemsou (Sumner 1972).

Stříbření (AgNOR)

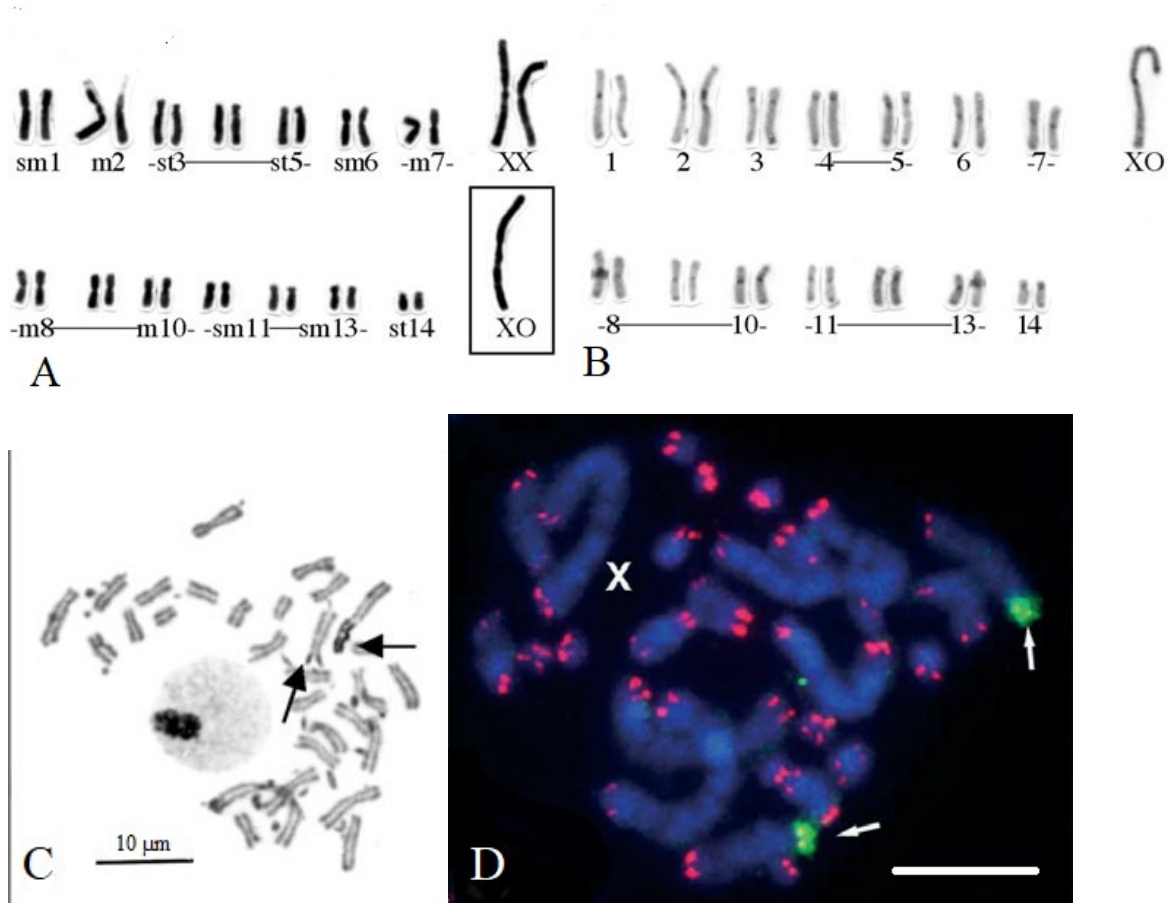
Stříbření (Obr. 1C) je metoda diferenciálního barvení za použití dusičnanu stříbrného (Howell a Black 1980). Ten odhaluje transkripčně aktivní organizátory jádérka (NOR – Nucleolus organizer region), které obsahují shluky tandemově se opakující rDNA navázané na nehistonové proteiny (Vitturi et al. 2008).

DAPI

DAPI neboli 4'-6'-diamidin-fenylyndol je fluorescenční barvivo využívající se pro barvení úseků DNA bohatých na AT páry bází (Warchałowska-Śliwa et al. 2013).

CMA₃

CMA₃ neboli chromomycin A₃ je fluorescenční barvivo využívající se pro barvení úseků DNA bohatých na GC páry bází (Warchałowska-Śliwa et al. 2013).



Obrázek 1: Ukázka některých typů barvení použitých u polyneopterního hmyzu. **A)** barvení Giemsou (Orthoptera: *Gryllus rubens*), a-akrocentický, m-metacentrický, sm-submetacentrický, st-subtelocentrické (Yoshimura 2005); **B)** C-proužkování (Orthoptera: *Gryllus rubens*) (Yoshimura 2005); **C)** stříbření (Orthoptera: *Gryllus rubens*), šipky ukazují na NOR (Yoshimura 2005); **D)** FISH s použitím 18S rDNA sondy (zelená) a telomerické DNA sondy (červená), X pohlavní chromozom (Orthoptera: *Saga campbelli campbelli*) (Warchałowska-Śliwa et al. 2009). Měřítko 10 µm.

FISH

Fluorescenční *in situ* hybridizace je zobrazovací metoda, u které se dají aplikovat komerčně připravené lokus specifické, centromerické nebo celochromozomové sondy (Jarošová et al. 2012). Chromozomy a sondy jsou obarveny odlišným fluorochromem, aby docházelo k signalizaci v jiné části světelného spektra. Za použití filtrů ve fluorescenčním

mikroskopu jsou viditelné různé struktury chromozomu. Sondy pro FISH jsou nukleotidové sekvence, které slouží k navázání na komplementární úseky DNA.

U polyneopterního hmyzu se při cytogenetických analýzách nejčastěji využívají sondy telomerické a ribozomální. Příprava sond se provádí cykly PCR a značí se různými barvivy. Pro značení rDNA sond se používá například fluorescein-12-dUTP, biotin-11-dUTP a u telomerických sond například tamra-dUTP nebo digoxigenin-11-dUTP. Telomerické se využívají (TTAGG)_n a (CCTAA)_n a ribozomální například fragmenty genů 5S rDNA, 18S rDNA (Warchałowska-Śliwa et al. 2013) a 28S rDNA (Buleu et al. 2019) (Obr. 1D). Dále se používají sondy pro geny U1 snDNA a U2 snDNA a pro histony H3 a H4. (Warchałowska-Śliwa et al. 2009)

2. Karyotypová variabilita polyneopterního hmyzu

Polyneopterní hmyz je jednou z hlavních linií okřídleného hmyzu, který zahrnuje přibližně 40000 druhů v 10 řádech. Do této skupiny patří řády: strašilkovci (Mantophasmatodea), drobnělky (Zoraptera), cvrčkovci (Grylloblattodea), snovatky (Embioptera), pošvatky (Plecoptera), strašilky (Phasmatodea), kudlanky (Mantodea), rovnokřídli (Orthoptera), švábi společně s termity (Blattodea) a škvoři (Dermaptera) (Wipfler et al. 2019).

Řád	Celkový počet druhů	Cytogeneticky prozkoumané druhy
Strašilkovci	20	1
Drobnělky	40	1
Cvrčkovci	35	2
Snovatky	400	8
Pošvatky	3497	16
Strašilky	2500	124
Kudlanky	2500	105
Rovnokřídli	26000	321
Švábi	7558	229
Škvoři	1784	52

Tabulka 1: Celkové počty popsaných druhů a počty druhů, které jsou cytogeneticky prozkoumané. (Polyneoptera Karyotype Database: <https://evobir.shinyapps.io/PolyneopteraDB/> (Sylvester et al. 2020, Jankásek, Kotyková Varadínová, a Šťáhlavský 2021; White a Webb 1976))

2.1. Strašilkovci (Mantophasmatodea)

Strašilkovci (Mantophasmatodea) jsou nejnověji objevenou skupinou polyneopterního hmyzu popsanou až v roce 2002 na základě dvou jedinců pocházejících z Tanzanie a Namibie (Roth, Molina, a Predel 2014). Bohužel se cytogenetikou této skupiny zabývá pouze jedna publikace. V současné době je popsán karyotyp jen u jediného druhu *Karoophasma biedouwense* (Lachowska-Cierlik et al. 2015). Při cytogenetické analýze bylo uplatněno barvení pomocí Giemsky, C-proužkování a fluorescenční barvení za použití DAPI pro úseky s páry bází AT DNA a pro úseky GC DNA za použití CMA₃. FISH byla provedena s využitím 18S rDNA sondy a telomerové sondy (TTAGG)_n. Zjištěný počet chromozomů byl 2n=13. Chromozomy jsou z hlediska centromer metacentrické nebo submetacentrické. C-proužkování ukázalo zřetelné bloky heterochromatinu u všech chromozomů, které byly všechny podobné velikosti a nacházeli se výhradně v pericentromerické oblasti. C-heterochromatin se obarvil DAPI i CMA₃ ve stejné míře, z čehož vyplývá, že obsahuje stejné množství párů bází AT a GC. Použitím FISH se sondou 18S rDNA byl odhalen největší shluk rDNA v největším bivalentu a malé, ale zřetelně viditelné signály na třech bivalentech a na chromozomu X. Umístění této 18S rDNA bylo lokalizováno jak v terminální, tak v interstacionální oblasti raménka. I přesto, že neměl výsledný obraz z FISH za použití telomerové sondy (TTAGG)_n příliš dobré rozlišení, tak je jasně patrné označení terminální oblasti, vykazující přítomnost této sekvence. Přestože máme k dispozici u druhu *K. biedouwense* poměrně detailní informace o jeho karyotypu nemůžeme v této chvíli posoudit možnou variabilitu těchto znaků u tohoto řádu, a tudíž by bylo potřeba vypracovat více studií karyotypu této skupiny, abychom tyto informace mohli potenciálně využít při rozlišení druhů v rámci Mantophasmatodea.

2.2. Drobnělky (Zoraptera)

Z řádu drobnělky je popsáno pouze 34 druhů (Rafael, Godoi, a Engel 2008). Popis karyotypu známe pouze u jednoho druhu *Zorotypus hubbardi* (Kuznetsova, Nokkala, a Shcherbakov 2002). Bylo použito barvení Feugeln-Giemsa, C-proužkování a barvení fluorochromem CMA₃. Počet chromozomů je 2n=38 (36+neo-XY) a kromě 3 největších chromozomových páru se chromozomy rovnoměrně zmenšují. Tyto data jsou nyní taxonomicky nevyužitelná, neboť nejsou dostupné další studie k jejich porovnání.

2.3. Cvrčkovci (Grylloblattodea)

Tento řád obsahuje jen asi tucet popsaných druhů, které jsou bohužel cytogeneticky téměř neprostudované. Jediná zmínka (White a Webb 1976) popisuje diploidní počet chromozomů a pohlavní chromozomy u samce druhu *Galloisiana nipponensis*. Bylo zaznamenáno $2n=30$ a XY chromozomový pár, kde chromozom X je velký metacentrický chromozom s nestejnými raménky a Y malý akrocentrický nebo subakrocentrický chromozom. Dále obsahuje jeden pár velkých autosomů, které mají jedno raménko trojnásobné než druhé a třináct párů malých a pravděpodobně akrocentrických autosomů. A u druhu *Grylloblatta campodeiformis*, který má zvláštní bivalent XY, ve kterém jsou dva metacentrické chromozomy spojené jedním ramenem. Pro využití v taxonomii by muselo existovat více prací zabývajících se touto skupinou.

2.4. Snovatky (Embioptera)

U řádu Embioptera je popsáno asi 400 druhů (Miller et al. 2012). Stejně jako u Mantophasmatodea a Grylloblattodea existuje jen málo prací zabývajících se cytogenetickou analýzou této skupiny. Karyotyp je popsán pouze u osmi druhů. Chromozomy jsou metacentrické a u různých druhů je různý diploidní počet chromozomů. Druhy *Oligotoma japonica* a *Haploembia soleri* mají $2n=19$, *Oligotoma saundersi*, *Haploembia palaui*, *Embia tyrrhenica*, *Embia ramburi* a *Cleomia guareschii* mají $2n=21$ a druh *Embia nuragica* má $2n=23$ (White a Webb 1976). Zejména rozdíly uvedené v rámci rodu *Embia* naznačují, že by i základní údaj o počtu chromozomů mohl být využitelný v taxonomii této skupiny. Zdá se, že všechny druhy mají samčí chromozomové určení XO. U některých druhů jsou všechny chromozomy metacentrické a u jiných je jeden pár autozomů malý a akrocentrický. Tyto odlišnosti by mohli přispět při delimitaci druhů. Chromozom X je metacentrický a velký. To platí u všech zatím analyzovaných (White a Webb 1976).

2.5. Pošvatky (Plecoptera)

Tento řád je rozdělen na dva podřády Arctoperlaria a Antarctoperlaria. v 16 čeledích (Stewart 2009). Arctoperlaria se dále dělí na skupiny Euholognatha a Sysrellognatha. Do Euholognatha patří čeledi: Capniida, Leuctridae, Nemouridae, Notonemouridae, Taeniopterygidae a Scopuridae. Systellognatha zahrnuje čeledi Chloroperlidae, Peltoperlidae, Perlidae, Perlodidae, Pteronarcyidae a Styloperlidae. V podřádu Antarctoperlaria jsou čeledi Austroperlidae, Diamphinoidea, Eusteniidae a Griptopterygidae.

Cytogeneticky prostudováno je pouze 16 druhů (Sylvester et al. 2020). Například u rodu *Perlodes* z čeledi Perlodidae byl popsán odlišný počet chromozomů u 3 druhů (Matthey 1946). U druhu *P. microcephala* $2n=27$, *Perlodes jurassica* $2n=31$ a *P. intricata* $2n=33$. Tato rozdílnost by mohla sloužit při rozlišování jednotlivých druhů, avšak je potřeba doplnit detailnější informace o morfologii chromozomů a systému sexuálního určení.

2.6. Strašilky (Phasmatodea)

Klasifikace Phasmatodea není úplně vyřešena, nyní nicméně se rozděluje na dva podřády Euphasmatodea a Timematodea. Euphasmatodea zahrnuje čtyři nadčeledi: Aschiphasmatoidea, Bacilloidea, Phyllioidea, Pseudophasmatoidea a tři čeledi: Diapheromeridae, Lonchodidae a Phasmatidae (Brock, Büscher a Baker 2021). Do podřádu Timematodea se řadí jediná čeleď Timematidae. Karyotyp je popsán u 124 druhů (Sylvester et al. 2020).

Možnost využití cytogenetických dat pro taxonomii je potenciálně u komplexu druhů *Leptynia attenuata* z čeledi Diapheromeridae. U tohoto komplexu byl zkoumán karyotyp u 4 druhů s použitím barvení Giemso (Bianchi a Meliadó 1998). Druh *Leptynia attenuata* má $2n=36$, XY/XX, *L. Montana* $2n=38$, X0/XX, *L. caprai* $2n=40$, X0/XX a *Leptynia* sp. také $2n=40$, X0/XX. Chromozom X u druhu *L. anttenuat* je největší z celé sady a je metacentrický, zatímco chromozom Y je menší a submetacentrický. U druhu *L. montana* je chromozom X druhý největší o je submetacentrický. Druhy *L. caprai* a *Leptynia* sp. mají chromozom X subtelomerický a také největší z celé sady. *L. caprai* má páry L₁₋₅ subtelomerické, M₁₂ metacentrický, M₁₃ submetacentrický, M_{6-11,14} subtelocentrické, S_{16,19} metacentrické a S_{15,17,18,20} subtelomerické. *Leptynia* sp. má páry L_{2,3} metacentrické, L_{1,4,5} subtelocentrické, M_{9,14} metacentrické, M_{6-8,10-13} subtelocentrické, S₁₆₋₁₈ metacentrické a S_{15,19,20} subtelomerické.

Přes stejný počet chromozomů u těchto dvou druhů jsou zde odlišnosti v morfologii chromozomů. Data ukazují, že toto jsou vznikající odlišné druhy vlivem vzniku reprodukčních bariér.

2.7. Kudlanky (Mantodea)

Do řádu Mantodea patří jeden podřád Eumantodea, který se dále dělí na dva infrařády: Schizomantodea, Spinomantodea a jednu nadčeleď Chaeteessoidea (Otte et al. 2021). Karyotyp je popsán u 105 druhů (Sylvester et al. 2020).

U rodu *Liturgusa*, který patří do čeledi Liturgusidae z infrařádu Schizomantodea, je popsán karyotyp u 4 druhů (Hughes-Schrader 1950, 1953). Bylo použito barvení Feulgen (modifikace Stowell) (Stowell 1945). Každý druh má jiný počet chromozomů: *Liturgusa maya* $2n=17$, *L. actiosa* $2n=23$, *L. cursor* $2n=33$ a *Liturgusa sp. n.* $2n=21$. U všech je systém pohlavního určení X0/XX. Rozdíly zjištěné v rámci rodu *Liturgusa*, přesto že se jedná pouze o základní údaj, naznačují možné využití v taxonomii této skupiny.

2.8. Rovnokřídli (Orthoptera)

Řád Orthoptera se dělí na dva podřády Ensifera a Caelifera. Cytogeneticky je prostudováno celkem asi 321 druhů (Sylvester et al. 2020).

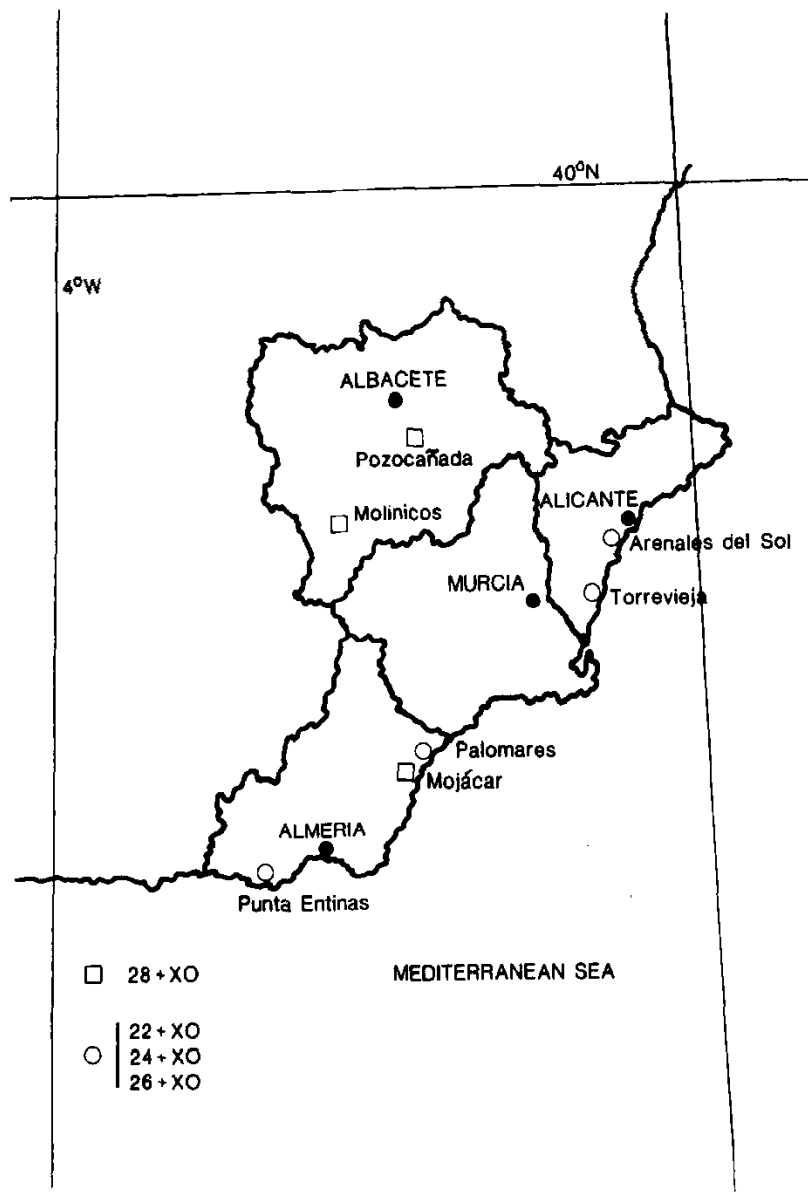
Kobylky (Ensifera)

Podřád Ensifera obsahuje dva infrařády Gryllidea, Tettigoniidea a dvě samostatné nadčeledi Rhabdophoroidea a Schizodactyloidea. Do infrařádu Gryllidea patří dvě nadčeledi Grylloidea (cvrčci) a Gryllotalpoide (krtonožky). Tettigoniidea zahrnuje tři nadčeledi: Hagloidea, Stenopelmatoidea, Tettigoniioidea (Cigliano et al. 2021). Ensifera je nejstarší skupinou Orthoptera, která má více než 12000 popsanych druhů z 2000 rodů (Zhou et al. 2017).

Čeď Tettigoniidae patřící do nadčeledi Tettigoniioidea má popsany počet, morfologii chromozomů a systém pohlavního určení u více než 50 druhů z 22 rodů v palearktické oblasti (Warchałowska-Śliwa et al. 2005). Karyotyp většiny druhů obsahuje $2n=31$ akrocentrických chromozomů a pohlavní určení je XO/XX, přičemž se předpokládá, že je tento karyotyp původní (Warchałowska-Śliwa et al. 2005). To platí například u druhů řazených do rodů *Anterastes*, *Bucephaloptera*, *Decticus*, *Eupholidoptera*, *Parapholidoptera*, *Platycleis* a *Metrioptera*. Nicméně i zde existují výjimky. U poddruhu *Psorodonotus illyricus macedonicus* byl zjištěn počet chromozomů vyšší, $2n=33$, což je nejspíše následkem složité chromozomové přestavby.

Podčeď Bradyporinae, náležící do čeledi Tettigoniidae, obsahuje více než 160 popsanych druhů (Warchałowska-Śliwa et al. 2013), které náležejí do tří tribů: Bradyporini, Ephippigerini a Zichyini. Karyotypově má tato čeď velkou variabilitu v počtu chromozomů pohybující se od $2n=22$ s neo-XY až po $2n=31$ s pohlavním určením XO. Velkou karyotypovou variabilitu a potenciál využití cytogenetických technik v taxonomii v rámci podčeledi Bradyporinae lze dobře doložit u skupiny druhů *Steropleurus martorelli*, patřících do tribu Ephippigerini. V rámci této skupiny bylo analyzováno sedm populací (Obr. 2) (Fernández-Piqueras a Rodríguez-Campos 1983) a v rámci tohoto materiálu byly nalezeny čtyři chromozomové rasy s počty chromozomů od $2n=23$ po $2n=29$. Rasu I. s karyotypem $2n=28$, XO/XX mají 3 populace, které se liší vzory C-proužkování a každá z nich je polymorfická v množství a rozložení C-chromatinu. U jedné jsou C-pruhy přítomny na všech chromozomech M, u druhé chybí na chromozomu M₇ a u třetí populace je přítomen pouze na chromozomech M₄ a M₅. Podle těchto informací se předpokládá, že tyto tři populace náležejí do

S. martorelli var. *angulata*. U jedné populace byla nalezena rasa II. s $2n=28$, X0/XX, tato populace je polymorfní pro telomericky nadpočetné segmenty na chromozomech M₄ a M₅. Rasu III. s $2n=24$, X0/XX má jedna populace, která má dva velké chromozomové páry. L₁ je stejný jako u populace s rasou II., ale L₂ je nový telocentrický pár, který má interstacionální C-pruhy. M páry jsou polymorfní pro proměnlivé telomerické C-pruhy. Dvě populace, které mají rasu IV. s $2n=22$, X0/XX se liší v přítomnosti C-chromatinu v telomerických oblastech. U první populace se nalézají na chromozomech M₄ a M₅, zatímco u druhé pouze na chromozomu M₄.



Obrázek 2: Výskyt různých chromozomových ras skupiny druhů *Steropleurus martorelli* (Orthoptera) na jihovýchodě Pyrenejského poloostrova (Fernández-Piqueras a Rodríguez-Campos 1983).

U podčeledi Pseudophyllinae z čeledi Tettigoniidae byl popsán karyotyp 2 druhů z rodu *Leptotettix* z Brazílie (Ferreira a Mesa 2010). Pohlavní určení bylo u obou druhů X0/XX a počet chromozomů byl u druhu *Leptotettix crassicerci* $2n=31$ a *L. humaita* $2n=35$. Toho by se dalo potenciálně využít k rozlišení druhů. Nicméně je pro lepší pochopení mezidruhových rozdílů nutnost získat informace od většího spektra druhů a detailnější informace o morfologii chromozomů.

Rod *Saga*, náležící do tribu Sagini z čeledi Tettigoniidae, obsahuje 13 druhů (Warchałowska-Śliwa et al. 2009), které se vyznačují velkou karyotypovou variabilitou. Dva poddruhy *Saga campbelli*: *S. c. campbelli* a *S. c. gracilis*, které mají podobný karyotyp $2n=27$ a druh *S. rammei* má $2n=23$. Tyto druhy mají pohlavní určení X0/XX. K vyhodnocení aktivity rDNA klastrů byla použita metoda FISH s použitím tří různých sond a metoda stříbření, díky nimž byla zjištěna jejich variabilita v rámci rodu *Saga*. Druh *S. campbelli* má rDNA klastry na M_3 a druh *S. rammei* na chromozomu $S_{8/9}$. U druhu *S. campbelli* se NORy nacházejí v paracentromerické oblasti akrocentrického chromozomu M_3 a v subtelomerické oblasti S_9 , zatímco u druhu *S. rammei* byl NOR objeven, avšak nelokalizován. Síla signálů se lišila také mezi homologními rameny. Je pravděpodobně potenciál ve využití těchto rozdílů v rozložení rDNA a/nebo NOR k odlišení druhů u rodu *Saga*. Budoucí karyotypové analýzy by měly být prováděny na více populacích a jedincích, abychom získali komplexnější přehled o karyotypové evoluci této skupiny a byli schopni tato data využít pro odhalování fylogenetických vztahů.

Karyotypy *Gryllus* sp. a *Gryllus rubens* z čeledi Gryllidae z nadčeledi Grylloidea byly studovány pomocí konvenčního barvení Giemsa, C-proužkováním a stříbřením. Počet chromozomů byl stejný $2n=28+X0/XX$ a chromozom X byl velký a metacentrický. NOR byly nalezeny u obou druhů v krátkých ramenech, ale lišili se ve velikosti. C-proužkování odhalilo centromerické pásy ve všech chromozomech druhu, které byly u *Gryllus* sp. větší než u *G. rubens* (Yoshimura 2005).

Sarančata (Caelifera)

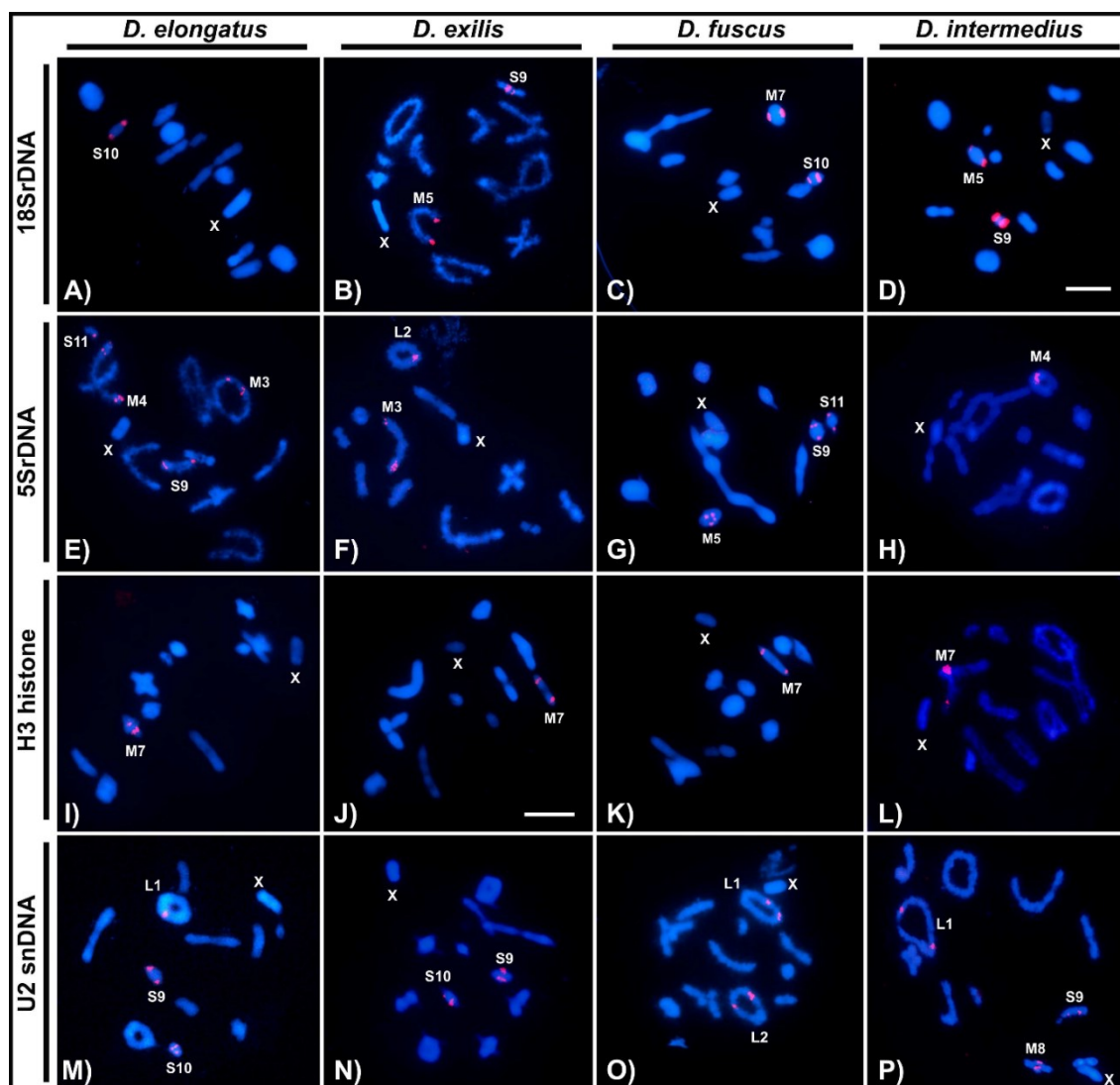
Podřád Caelifera zahrnuje dva infrařády Acrididea a Tridactylidea. Acrididea obsahuje nadčeled Tetrigoidea a skupinu nadčeledí Acridomorpha. Do infrařádu Tridactylidea patří nadčeled Tridactyloidea (Cigliano *et al.* 2021). Počty chromozomů jsou v rozmezí $2n=12-32$, nicméně nejčastějším počtem je $2n=24$ (Sylvester *et al.* 2020).

Čeled Pamphagidae je poměrně malou skupinou z nadčeledi Arcidoidea patřící do skupiny nadčeledí Acridomorpha, která obsahuje 96 rodů a přibližně 561 druhů a poddruhů. (Buleu *et al.* 2019). Z čeledi Pamphagidae byl popsán karyotyp deseti druhů z podčeledí Pamphaginae a Thrinchinae za použití barvení Giemsou, C-proužkování a FISH s použitím telomerické a rDNA sond (Buleu *et al.* 2019). Tyto druhy mají $2n=18+X0$. I přes tento konzervativní karyotyp jsou zde rozdíly ve velikosti a umístění, v oblastech C-heterochromatinu a klastrech rDNA. C-proužkování odhalilo tři různé lokalizace C-bloků, pericentromerické, interstacionární a telomerické. Velikost pericentromerických C-bloků se liší v rámci chromozomů u karyotypů těchto druhů. Většina chromozomů má malé C-bloky, ale u některých byly pozorovány také středně velké. Například druh *Acinipe hesperica lepineyi* má středně velké C-bloky na všech chromozomech, zatímco třeba druh *Paracinipe alticola* pouze na chromozomech L₄, M₅, S₈ a S₉ a druh *P. crassicornis* na L₁₋₄, M_{5a} M₆. Intersticiální C-pruhy se nacházejí u pěti druhů: *P. alticola*, *P. crassicornis*, *P. dolichocera*, *P. theryi* a *A. hesperica lepineyi* jsou malé nebo střední velikosti a jsou lokalizovány v proximální části autozomů. U *P. alticola* jsou středně velké C-pruhy v párech chromozomů L₁, L₂, L₄ a M₆. V L₄ páru jsou detekovány pouze v jednom z homologů a v M₆ je tento blok rozptýlený. A například u druhu *P. crassicornis* je malý interstacionální blok pouze v L₂ a u druhu *P. dolichocera* v M₅ a S₈. Telomerické C-bloky byly odhaleny u všech studovaných druhů, obvykle ve středních nebo malých chromozomech. Na středně velkých autozomech byly nalezeny u druhů *P. alticola* (M₅, M₇), *P. crassicornis* (M₆), *P. theryi* (M₆, M₇) a *P. dolichocera*. Klastry rDNA byly lokalizovány na dvou (*P. crassicornis*, *P. tarudantica*, *P. parvulus*), třech (*P. alticola*, *P. theryi*, *A. hesperica lepineyi*, *Euryparyphes rungsi*), nebo na čtyřech (*P. dolichocera*, *E. rungsi*, *T. cisti*) autozomálních bivalentech a na chromozomu X (*P. dolichocera*). Nachází se pouze v pericentromerických a interstacionálních oblastech chromozomů. Studie z Arménie (Bugrov *et al.* 2016) zjistila neobvyklé sady pohlavních chromozomů. Druhy *Asiotmethis turrinus*, *Paranocaracris rubripes* a *Nocaracris cyanipes* mají $2n=18$, 16 AA+ neo-X+neo-Y. Chromozom neo-X vznikl centromerickou fúzí akrocentrického chromozomu X a velkého akrocentrického autozomu. Změna X0 na neo-XY

představuje zásadní přestavbu karyotypu, která vede k rychlé izolaci a vzniku nových druhů, z toho důvodu je tento znak dobře využitelný v taxonomii. Karyotyp druhu *Paranothrotres opacus* je $2n=14+X_1X_2Y$, tento systém pohlavního určení je výsledkem přeskupení chromozomu zahrnující translokaci neo-Y a velkého autozomu. Tento typ určení pohlaví by mohl být novým krokem evoluce pohlavních chromozomů. Pouze druh *Eremopeza festiva* má standartní systém určování pohlaví a to $2n=18+X_0/XX$. Nicméně bylo zjištěno, že všechny tyto chromozomy mají druhé krátké rameno s C-pozitivní oblastí. Metoda FISH s použitím telomerické sondy (TTAGG)_n a DNA sondy pro gen 18S rDNA, pomohla odhalit další detaily uspořádání chromozomů. Bylo zjištěno, že se u těchto druhů opakují úseky 18S rDNA na dvou, třech a nebo čtyřech párech autozomů a na chromozomu X. Výjimkou je druh *Eremopeza festiva*, u kterého byla zjištěna přítomnost úseků 18S rDNA na koncích všech autozomů a na chromozomu X. U většiny druhů byly telomerické repetice primárně na koncích ramen chromozomů, avšak bylo zjištěno, že translokace chromozomu X a autozomu u jednoho druhu: *P. parvulus* z čeledi zahrnovala ztrátu malé oblasti, která obsahovala telomerické repetice. Studie z Íránu (Buleu et al. 2020) popisuje karyotyp šesti druhů, opět z podčeledí Pamphaginae a Thrinchinae. Druhy *Saxetania paramonovi*, *Eramopeza bicoloripes* a *E. saussurei* mají $2n=18+X_0$. U druhů *Tropidauchen sp.* a *T. escalerae* je $2n=16+neo-X_1 neo-X_2 neo-Y$ a u druhu *Paranothores citimus* $2n=14+neo-X_1 neo-X_2 neo-Y$. Protože mají některé druhy z čeledi Pamphagidea standartní sadu chromozomů, musíme pro vysvětlení speciace brát v úvahu rozdíly v lokalizaci cytogenetických markerů. Tato skupina je velmi vhodná ke studování evoluce pohlavních chromozomů.

Z podčeledi Melanoplinae patřící do čeledi Acrididae byl popsán karyotyp u skupiny druhů *Dichroplus elongatus* (Castillo et al. 2017). Bylo použito barvení pomocí stříbření, C-proužkování a barvení fluorescenčními barvivou DAPI a CMA₃. Také byly použity rDNA sondy pro 5S rDNA (Obr. 3) a 18S rDNA (Obr. 3), telomerické sondy (TTAGG)₅ a (CCTAA)₅, sonda pro gen histonu H3 (Obr. 3) a pro gen U2 snDNA (Obr. 3). Sondy pro 18S rDNA a H3 byly označeny pomocí biotinu-14-dATP, zatímco ostatní sondy za pomoci digoxigeninu-11-dUTP a byla provedena FISH. Výsledkem byl nový popis karyotypu u 2 druhů *D. intermedius* a *D. exilis*. Oba druhy mají $2n=23$ a systém pohlavního určení X_0/XX . Druh *D. intermedius* má 20 telocentrických chromozomů, dva metacentrické a dva submetacentrické. Submetacentrické jsou páry M₈ a S₉, zatímco u druhu *D. exilis* byly tyto páry telocentrické. U druhu *D. elongatus* je $2n=23$, X_0/XX a u druhu *D. fuscus* $2n=22-23$, X_0/XX . C-pruhování odhalilo C-pozitivní bloky u *D. intermedius* v centromerické oblasti celé

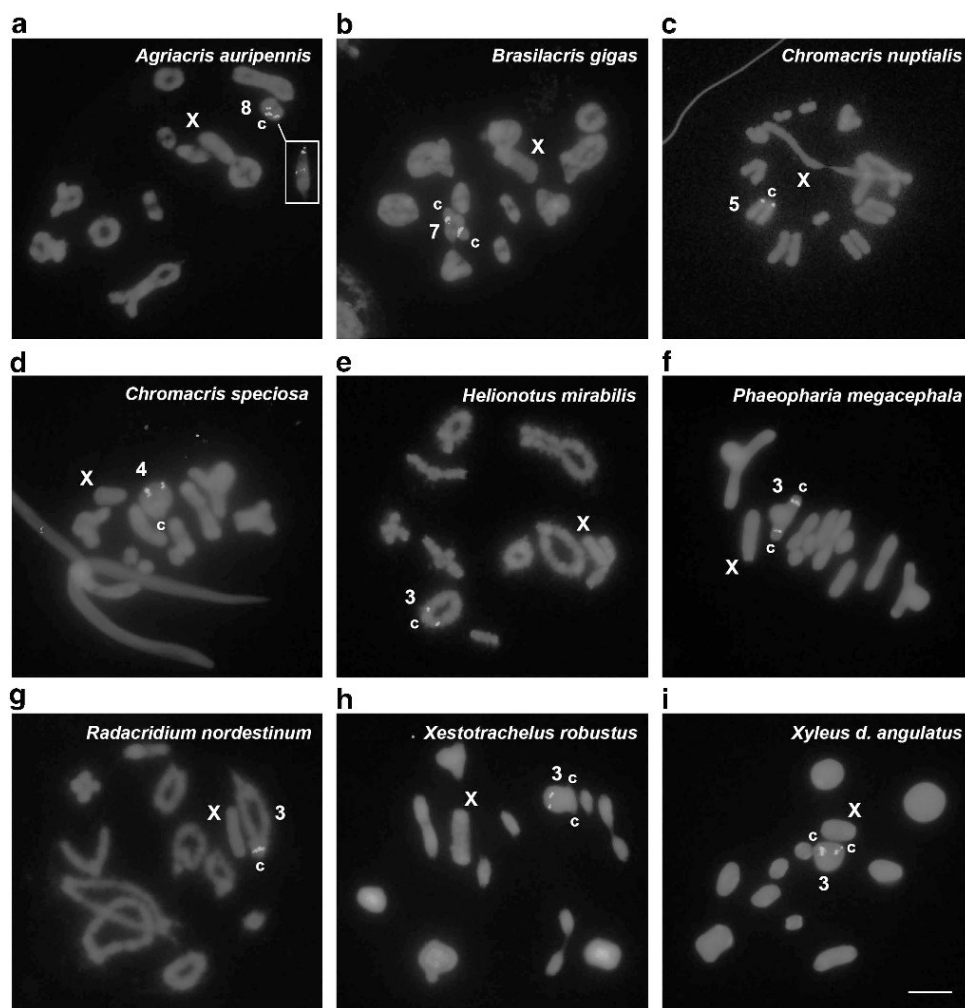
sady s nápadnými pericentromerickými bloky v párech L₁ a S₉, kdežto u *D. exilis* byly také v celé sadě, ale všechny v pericentromerické oblasti. Fluorescentní barvení pomocí DAPI a CMA₃ odhalilo signály u *D. intermedius* v pericentromerických oblastech párů M₆, M₈ a S₉. U *D. exilis* byly přítomny v centromerické a distální oblasti páru M₅, v distální oblasti párů M₇, M₈, S₉, S₁₁ a v pericentromerické oblasti chromozomového páru M₆. U *D. elongatus* (Rosetti, Rebagliati, a Remis 2010) byly objeveny signály DAPI a CMA₃ ve většině autozomů, v terminálních oblastech a v některých na centromerické i telomerické pozici. Pohlavní chromozom X vykazoval signály v proximálním a distálním pásmu. *D. fustus* má C-positivní bloky v centromerické oblasti celé chromozomové sady a u párů M₅-M₈, S₉-S₁₁ a u chromozomu X také v telomerické oblasti. A signály DAPI a CMA₃ v centromerických oblastech, terminální byly jasnější v párech M₅, M₆, S₉ a S₁₁. V chromozomu X byly v pericentromerické a distální oblasti. Sekvence 18S rDNA byly nalezeny pouze v pericentromerických oblastech na různých chromozomech jednoho nebo dvou párů, zatímco 5s rDNA byl pozorován také v interstacionálním klastru v *D. elongatus*. Množství klastrů 5S rDNA bylo různé u všech druhů a pohybovalo se od 2 do 8. Klastr H3 histonu byl pouze v interstacionální pozici v páru M₇, ne však daleko od centromery. U2 snDNA byl pouze na největším autozomálním páru. A telomerické sondy odhalily signály pouze v terminální oblasti. V taxonomii lze díky morfologii, velikosti, přítomnosti či nepřítomnosti a poloze těchto znaků mezi sebou rozeznávat karyotypy těchto velice příbuzných druhů.



Obrázek 3: FISH s 18S, 5S rDNA, H3 histonovou a U2 snDNA sondami u skupiny druhů *Dichroplus elongatus* (Orthoptera). (A-D) 18S rDNA, (E-H) 5S rDNA, (I-L) H3 histonový gen a (M-P) U2snDNA, měřítko 10 μ m. (Castillo et al. 2017)

Protože chromozomové studie odhalily vysoký karyotypový konzervatismus s $2n=23\text{♂}/24\text{♀}$ akrocentrických chromozomů a systém sexuálního určení $X0\text{♂}/XX\text{♀}$, byly zkoumány klastry U1 snDNA pomocí metody FISH (Anjos et al. 2015). Ty byly zkoumány u 63 druhů z čeledí Proscopiida (4 druhy), Ommexechidae (2druhy), Pyrgomorphidae (2druhy), Romaleidae (11 druhů) a Arcidiidae (44 druhů z 10 podčeledí) ze Španělska. K odhalení genomové organizace U1 snDNA byla nejprve provedena analýza dvou druhů, které vykazují velmi odlišné vzory na chromozomální úrovni: *Eyprepocnemis plorans*, se shluky U1 v sedmi chromozomových párech a *Locusta migratoria*, u které jsou ukázány pouze v jednom chromozomovém páru a byla vytvořena celogenomová knihovna sekvenování druhu *E. plorans*. Ve výsledku bylo detekováno 168 shluků U1 snDNA s průměrem umístění 2,4 na haploidní genom. Většina byla nalezena na autozomech, pouze 5 bylo na chromozomu X a

jen 1 na chromozomu neo-Y. Velká část byla lokalizovaná proximálně od centromery (60 míst, 35,7 %), méně interstacionálně (39, 23,2 %), centromericky (35, 20,9 %), subdistálně (20, 11,9 %) nebo distálně (14, 8,3 %). Přestože většina druhů měla shluky U1 snDNA pouze na jednom autozomálním páru, byly u dvou druhů pozorovány na všech párech chromozomů. K tomu bylo u několika druhů nalezeno na jednom, nebo dvou chromozomových párech dva nebo více shluků na stejném chromozomu. Například u čeledi Romaleidae vykazovalo 7 z 11 analyzovaných druhů jeden shluk U1 snDNA L₃, který byl umístěn proximálně u 6 druhů a subdistálně u 1. Ale u druhu *Agriacris auripennis* byly vykážány dva klastry (proximální a centromerický) na osmém autozomálním páru. U druhů *Chromacris* byl objeven na jednom páru, a to proximálně na pátém autozomu u *C. nuptialis* a subdistálně na čtvrtém autozomu *Chromacris speciosa*. Poslední druh *Brasilacris gigas* měl jeden interstacionární shluk na sedmém největším páru autozomů (Obr. 4). Tyto výsledky nám poskytují podrobnější znalosti o organizaci karyotypu u této skupiny, které mohou sloužit pro využití v taxonomii.



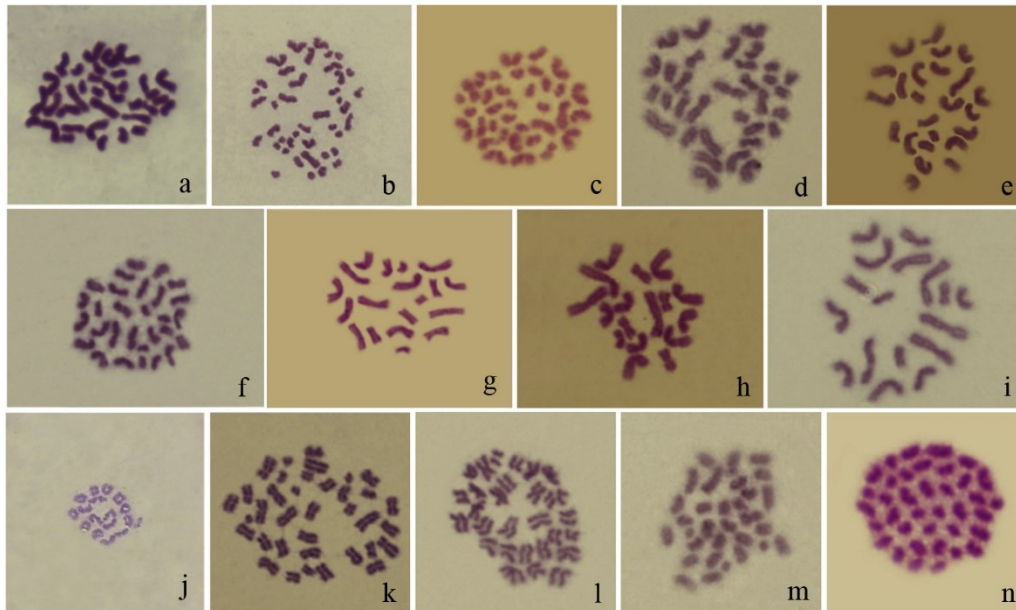
Obrázek 4: Umístění U1 snDNA na chromozomech u devíti druhů z čeledi Romaleidae (Orthoptera). Metafáze I (a, b, d, f, h, i), metafáze II. (c) a diploten (e, g), měřítko 5 μ m. (Anjos et al. 2015)

2.9. Švábi (Blattodea)

Blattodea je druhým největším řádem ze skupiny polyneopterního hmyzu. Dělí se na tři nadčeledi: Corydioidea, Blaberoidea a Blattoidea (Beccaloni a Eggleton 2013). V tomto řádu jsou dvě skupiny: švábi a termiti (pouze podčeď Termitoidea), kteří bývali dříve rozděleni do dvou řádů. Je popsáno okolo 7600 druhů, z toho 4600 švábů a 3000 termitů. Karyotyp je popsán u 229 druhů ze 104 rodů (Jankásek et al. 2021).

Švábi

Z této skupiny je největší rozpětí v počtu chromozomů u čeledi Blaberidae z nadčeledi Blaberoidea $2n=23-79$ (Jankásek et al. 2021), například podčeď Blaberinae má rozpětí počtu chromozomů $2n^{\text{♂}}=31-73$, podčeď Oxyhaloinae $2n^{\text{♀}}=24-76$ a podčeď Zetoborinae $2n^{\text{♀}}=30-66$. V podčeledi Blaberidae se nacházejí největší rozdíly v počtu chromozomů u rodu *Blaberus*, kde je $2n=37/39/73$. U několika dalších čeledí jsou také relativně vysoká rozpětí například u čeledi Corydiidae je $2n^{\text{♂}}=22-63$, Blattidae $2n^{\text{♂}}=27-47$ a Blattellidae $2n^{\text{♂}}=23-49$. Oproti tomu u čeledi Pseudophyllodromiidae ($2n^{\text{♀}}=16-32$), Ectobiidae ($2n^{\text{♂}}=21$) a Lamproblatiidae ($2n^{\text{♂}}=17$) se zdá být počet chromozomů relativně malý, ale zatím máme přehled o karyotypu u malého množství druhů vzhledem k jejich diverzitě. A u čeledí Anaplectidae, Nocticolidae, Nyctiboridae a Tryonicida nemáme informace o karyotypech vůbec. Čeď Cryprocercidae má popsán karyotyp u 33 druhů. U rodu *Cryptocercus* se počet chromozomů pohybuje od $2n=15$ až po $2n=47$. Na základě divergentního počtu chromozomů (Obr. 5) a genetické divergenci bylo identifikováno 8 nových druhů (Che et al. 2016): *Cryptocercus shangmengensis* sp. nov., *C. zagunaoensis* sp. nov., *C. pingwuensis* sp. nov., *C. habaensis* sp. nov., *C. wuxiensis* sp. nov., *C. shennongjiaensis* sp. nov., *C. nigngshanensis* sp. nov. a *C. neixiangensis* sp. nov.). Za použití kombinace popsané morfologie a počtu chromozomů bylo identifikováno pět nových druhů (Wang et al. 2019): *C. tazigouensis* sp. nov. ($2n=35$), *C. kagongensis* sp. nov. ($2n=45$), *C. hongshiensis* sp. nov. ($2n=33$), *C. maluogouensis* sp. nov. ($2n=43$) a *C. sanchaensis* sp. nov. ($2n=35$). Rozdíly v počtu chromozomů mohou být použitelné v taxonomii.

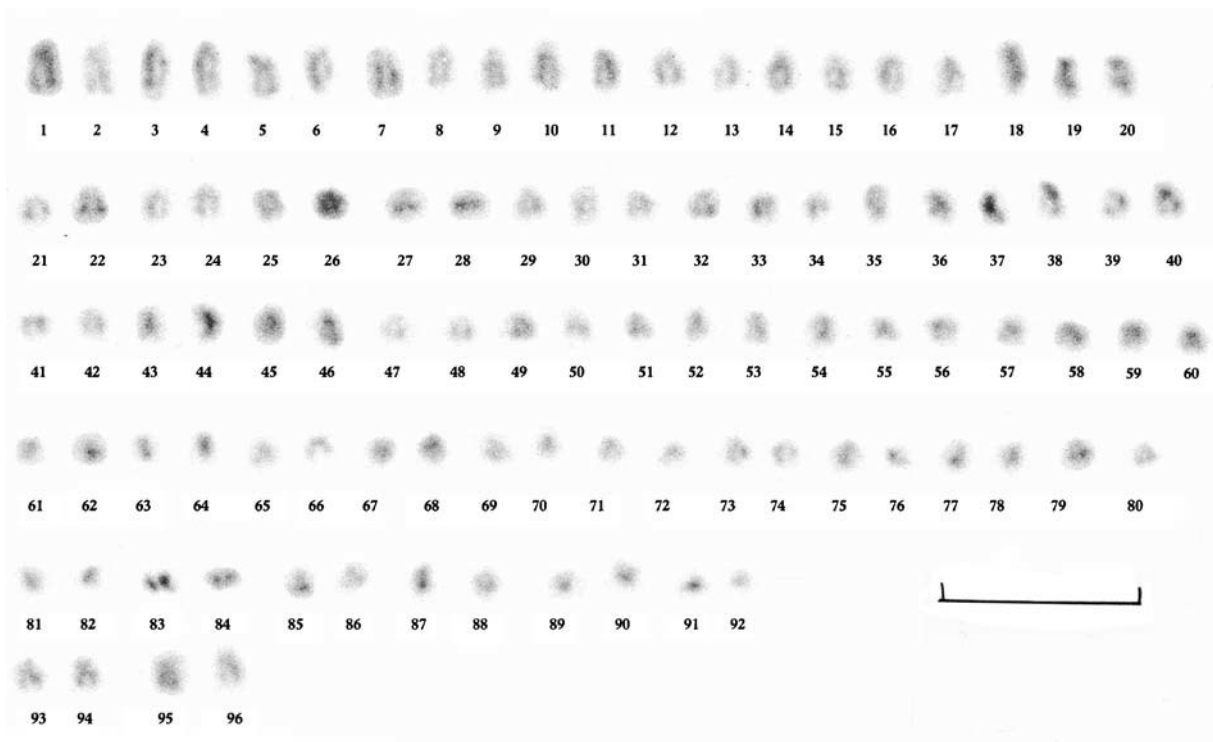


Obrázek 5: Chromozomy druhů *Cryptocercus* (Blattodea) obarvené Giemsou. a) *C. primarius*, b) *C. matilei*, c) *C. shangmengensis* sp. nov., d) *C. convexus*, e) *C. zagunaosis*, f) *C. pingwuensis* sp. nov., g) *C. habaensis* sp. nov., h) *C. relictus*, i) *C. relictus*, j) *C. hirtus*, k) *C. wuxiensis* sp. nov., l) *C. shennongjiaensis* sp. nov., m) *C. ningshanensis* sp. nov., n) *C. neixiangensis* sp. nov. (Che et al. 2016)

Termiti (Isoptera)

Termiti spadají do několika čeledí: Archotermopsidae, Kalotermitidae, Mastotermitidae, Rhinotermitidae, Stolotermitidae a Termitidae (Jankásek et al. 2021; Krishna et al. 2013). U termitů je velké rozpětí v počtu chromozomů $2n=22-96$. Nejvyšší počet chromozomů z termitů, ale i z Blattodea má druh *Mastotermes darwiniensis* (Obr. 6) (Bergamaschi et al. 2007).

U rodu *Cryptotermes* z čeled Kalotermitidae byl pomocí Giemsky a C-pruhování pozorován počet chromozomů (Luykx 1990). Ten byl v rozpětí od $2n=30$ (*Cryptotermes domesticus* a *C. primus*) do $2n=44$ (*C. cynocephalus*). Nejčastěji bylo nalezeno $2n=42$ a to u druhů *C. papulosu*, *C. queenslandis* a *C. riverine*. Chromozomy byly buďto akrocentrické nebo telocentrické. Rozdíly v počtu chromozomů by mohli sloužit při delimitaci druhů, nicméně by bylo třeba mít více informací o morfologii chromozomů. Druh *Neotermes insularis* byl odebrán ze dvou oblastí. U populací byl zjištěn rozdíl v počtu chromozomů $2n=52/60$. Na základě tohoto rozdílu je možné, že se jedná o dva odlišné druhy.



Obrázek 6: Giemsou obarvený karyotyp druhu *Mastotermes darwiniensis* (Blattodea), $2n=93-96$. Měřítko $10\ \mu\text{m}$. (Bergamaschi et al. 2007)

2.10. Škvoři (Dermaptera)

Řád Dermaptera obsahuje 1784 popsáných druhů, 182 rodů a 11 čeledí (Jarvis, Haas, a Whiting 2005). Karotyp je znám pouze u 52 druhů (Sylvester et al. 2020). Počet chromozomů se pohybuje v rozmezí $2n=8$ až po $2n=60$. Karyotypy Dermaptera jsou charakteristické mnohonásobnými pohlavními chromozomy. Byly pozorovány různé typy pohlavních chromozomů: X0, XX, X_1X_2Y , $X_1X_2X_3Y$, $X_1X_2X_3X_4Y$ a XY_1Y_2 (Hoshihara, Sakai, a Imanishi 1988).

U rodu *Labidura* z čeledi Labiduridae byl popsán karyotyp několika druhů (Giles a Webb, 1972). Karyotyp druhu *Labidura riparia* byl popsán u jedinců ze Španělska ($2n=12$) a z Indie ($2n=14$). Materiál z Baham byl určen jako *Labidura bidens* (synonymní s *L. riparia*) měl stejný karyotyp jako populace ze Španělska a *Labidura* sp. z Japonska stejný jako populace z Indie. *L. truncata* má $2n=10$. Tyto znaky se ukazují jako mnohem spolehlivější metodou při determinaci druhů než vnější morfologie.

Závěr

Ve své práci jsem se věnovala zhodnocení karyotypové variability a možného využití cytogenetických metod u polyneopterního hmyzu v jejich taxonomii. Níže jsou shrnuté zjištěné údaje o karyotypech jednotlivých řádů, které se dají využít v taxonomii.

Strašilkovci: Bohužel je popsán karyotyp pouze jednoho druhu *Karoophasma biedouwense* s $2n=13$. Je popsána také morfologie pomosí metody FISH. U tohoto řádu zatím není možné použít cytogenetické metody v taxonomii.

Drobnělky: Popis karyotypu je také znám pouze u jediného druhu: *Zorotypus hubbard*. Je znám počet $2n=38$, pohlavní chromozomy (neo-XY) a velikosti chromozomů. Tyto data jsou však nyní taxonomicky nevyužitelná, neboť není další studie k jejich porovnání

Cvrčkovci: Jediná zmínka popisuje diploidní počet chromozomů a pohlavní chromozomy u samce druhu *Galloisiana nipponensis*. Bylo zaznamenáno $2n=30$. A druhu *Grylloblatta campodeiformis* se zvláštním bivalentem XY. Pro využitelnost v taxonomii by muselo existovat více prací zabývajících popisem karyotypů druhů z tohoto řádu.

Snovatky: U tohoto řádu je karyotyp popsán pouze u osmi druhů. Chromozomy jsou metacentrické a u různých druhů je různý diploidní počet chromozomů. Druhy *Oligotoma japonica* a *Haploembia soleri* mají $2n=19$, *Oligotoma saundersi*, *Haploembia palaui*, *Embia tyrrhenica*, *Embia ramburi* a *Cleomia guareschii* mají $2n=21$ a druh *Embia nuragica* má $2n=23$. Rozdíly popsané u rodu *Embia* naznačují, že by i základní údaj o počtu chromozomů mohl být využitelný v taxonomii této skupiny.

Pošvatky: Cytogeneticky je u tohoto řádu prostudováno 16 druhů. U rodu *Perlodes* z čeledi Perlolidae byl popsán odlišný počet chromozomů u druhů *P. microcephala* $2n=27$, *Perlodes jurassica* $2n=31$ a *P. intricata* $2n=33$. Tato rozdílnost by mohla sloužit při rozlišování jednotlivých druhů, avšak je potřeba doplnit detailnější informace o morfologii chromozomů a systému sexuálního určení.

Strašilky: Možnost využití cytogenetických dat pro taxonomii je potenciálně u komplexu druhů *Leptynia attenuata*. U tohoto komplexu byl zkoumán karyotyp 4 druhů: *Leptinia attenuata* $2n=36$, XY/XX, *L. Montana* $2n=38$, X0/XX, *L. caprai* $2n=40$, X0/XX a *Leptinia* sp. $2n=40$, X0/XX. Také se liší jejich pohlavní chromozomy.

Kudlanky: Tento řád má popsáný karyotyp u 105 druhů

U rodu *Liturgusa* je popsán počet chromozomů u 4 druhů: *Liturgusa maya* $2n=17$, *L. actuosa* $2n=23$, *L. cursor* $2n=33$ a *Liturgusa sp. n.* $2n=21$. U všech je systém pohlavního určení X0/XX. Rozdíly zjištěné v rámci rodu *Liturgusa*, přesto že se jedná pouze o základní údaj, naznačují možné využití v taxonomii této skupiny.

Rovnokřídli: Velkou karyotypovou variabilitu a potenciál využití cytogenetických technik v taxonomii lze dobře doložit u skupiny druhů *Steropleurus martorelli*. Byly zde nalezeny čtyři chromozomové rasy s počty chromozomů od $2n=23$ po $2n=29$ a popsány rozdíly v rozložení C-chromatinu. U rodu *Saga* je pravděpodobná možnost využití rozdílnosti v rozložení rDNA a/nebo NOR k odlišení druhů. Také je v taxonomii využitelný vznik neo-XY z X0, který představuje zásadní přestavbu karyotypu, která vede k rychlé izolaci a vzniku nových druhů. U skupiny druhů *Dichroplus. elongatus* byla popsána rozdílná morfologie, velikost a přítomnost/nepřítomnost C-chromatinu, signálů DAPI a CMA₃, sekvence genů 5S rDNA a 18S rDNA, histonu H3, U2 snDNA a signály telomerické sondy. Díky těmto znakům lze mezi sebou rozeznávat karyotypy těchto velice příbuzných rodů. U druhů *Chromacris* byl objeven shluk U1 snDNA na odlišných místech. Tyto výsledky nám poskytují podrobnější znalosti o organizaci karyotypu, které mohou sloužit pro využití v taxonomii.

Švábi: Rozdíly v počtu chromozomů mohou být použitelné v taxonomii u rodu *Cryptocercus*. Počet chromozomů pohybuje od $2n=15$ až po $2n=47$. Na základě divergentního počtu chromozomů a genetické divergenci, nebo morfologie bylo identifikováno 13 nových druhů. Rozdíly v počtu chromozomů ($2n=30-44$) u rodu *Cryptotermes* by mohli sloužit při delimitaci druhů, nicméně by bylo třeba mít více informací o morfologii chromozomů. U druhu *Neotermes insularis* byl zjištěn rozdíl v počtu chromozomů $2n=52/60$. Na základě tohoto rozdílu je možné, že se jedná o dva odlišné druhy.

Škvoři: Karyotypy tohoto řádu jsou charakteristické mnohonásobnými pohlavními chromozomy. Na základě rozdílů počtu chromozomů u rodu *Labidura* se ukázalo, že jsou tyto znaky spolehlivější metodou při determinaci druhů než vnější morfologie.

Možnosti využití cytogenetických metod v taxonomii polyneopterního hmyzu je různorodé. Hlavním problémem je nedostatek informací v rámci rodů, ale i celé skupiny polyneopterního hmyzu.

Seznam literatury

*sekundární citace

- Anjos, A., F. J. Ruiz-Ruano, J. P. M. Camacho, V. Loreto, J. Cabrero, M. J. de Souza, a D. C. Cabral-de-Mello. 2015. U1 SnDNA Clusters in Grasshoppers: Chromosomal Dynamics and Genomic Organization. *Heredity* 114(2):207–19. doi: 10.1038/hdy.2014.87.
- Beccaloni, G. a Eggleton, P. 2013. Order Blattodea. In: Zhang, Z.-Q. (Ed.) *Animal Biodiversity: An Outline of Higher-Level Classification and Survey of Taxonomic Richness* (Addenda 2013). *Zootaxa* 3703(1):46. doi: 10.11646/zootaxa.3703.1.10.
- Beccaloni, G. W. 2014. *Cockroach Species File Online*. <http://Cockroach.SpeciesFile.org>.
- Bergamaschi, S., Dawes-Gromadzki, T. Z., Scali, V., Marini, M., Mantovani, B. 2007. Karyology, Mitochondrial DNA and the Phylogeny of Australian Termites. *Chromosome Research* 15(6):735–53. doi: 10.1007/s10577-007-1158-6.
- Bianchi, A. P., a Meliadó, P. 1998. Analysis of the Karyotypes of Four Species of the *Leptynia Attenuata* Complex (Insecta Phasmatodea). *Caryologia* 51(3–4):207–19. doi: 10.1080/00087114.1998.10797413.
- Brock, P.D., Büscher, T. & Baker, E. 2021 *Phasmida Species File Online*. <http://Phasmida.SpeciesFile.org>.
- Bugrov, A. G., Jetybayev, I. Y., Karagyan, G. H. a Rubtsov, N. 2016. Sex Chromosome Diversity in Armenian Toad Grasshoppers (Orthoptera, Acridoidea, Pamphagidae). *Comparative Cytogenetics* 10(1):45–59. doi: 10.3897/CompCytogen.v10i1.6407.
- Buleu, O. G., Jetybayev, I. Y., Dragan, P. Ch., a Bugrov, A. G. 2019. Comparative Analysis of C-Heterochromatin, Ribosomal and Telomeric DNA Markers in Chromosomes of Pamphagidae Grasshoppers from Morocco. *Comparative Cytogenetics* 13(1):61–74. doi: 10.3897/CompCytogen.v13i1.32039.
- Buleu, O., Jetybayev I., Mofidi-Neyestanak, M., a Bugrov, A. 2020. Karyotypes Diversity in Some Iranian Pamphagidae Grasshoppers (Orthoptera, Acridoidea, Pamphagidae): New Insights on the Evolution of the Neo-XY Sex Chromosomes. *Comparative Cytogenetics* 14(4):549–66. doi: 10.3897/compcytogen.v14.i4.53688.
- Castillo, E. R. D., Taffarel, A., Maronna, M. M., Cigliano, M. M., Palacios-Gimenez, O. M., Cabral-de-Mello, D. C., a Martí, D. A.. 2017. Phylogeny and Chromosomal Diversification in the *Dichroplus Elongatus* Species Group (Orthoptera, Melanoplinae). Ed. R. Castiglia. *PLOS ONE* 12(2):e0172352. doi: 10.1371/journal.pone.0172352.
- Cigliano, M.M., H. Braun, D.C. Eades & D. Otte. 2021 *Orthoptera Species File*. <http://Orthoptera.SpeciesFile.org>

- Fernández-Piqueras, J., a Rodríguez-Campos, A. 2004. Hypotheses about Speciation by Chromosomal Rearrangements in the *Steropleurus Martorelli* Complex (Tettigonioidae, Orthoptera). 6.
- Ferreira, A., a Mesa, A. 2010. Cytogenetics Studies in Brazilian Species of Pseudophyllinae (Orthoptera: Tettigoniidae): $2n(\♂)=35$ and $Fn=35$ the Probable Basic and Ancestral Karyotype of the Family Tettigoniidae. *Neotropical Entomology* 39(4):590–94. doi: 10.1590/S1519-566X2010000400019.
- Giles E.T. a Weeb, G.C. 1972. The systematice and karyotype of *Labidura truncata* Kirby, 1903 (Dermaptera:Labiduridae).
- Hoshiha, H., Sakai, S., a Hoshiha, E. 1984. Karyotype and C-Banding Analysis of the Common Seaside Earwig, *Anisolabis Maritima* (Bonelli) (Anisolabididae, Dermaptera): Anisolabididae, Dermaptera. *Proceedings of the Japan Academy, Series B* 60(7):235–37. doi: 10.2183/pjab.60.235.
- Hoshiha, H., Sakai, S., a Imanishi, M. 1988. Chromosome Studies on the Two Chelisochid Earwigs with Special Reference to the 46 Dermapteran Species. *Proceedings of the Japan Academy, Series B* 64(10):303–6. doi: 10.2183/pjab.64.303.
- Howell, W. M., a Black, D. A. 1980. Controlled Silver-Staining of Nucleolus Organizer Regions with a Protective Colloidal Developer: A 1-Step Method. *Experientia* 36(8):1014–15. doi: 10.1007/BF01953855.
- Hughes-Schrader, S. 1950. The Chromosomes of Mantids (Orthoptera: Manteidae) in Relation to Taxonomy. *Chromosoma* 4(1):1–55. doi: 10.1007/BF00325766.
- Hughes-Schrader, S. 1953. The Nuclear Content of Desoxyribonucleic Acid and Interspecific Relationships in the Mantid Genus *Liturgousa* (Orthoptera: Mantoidea). *Chromosoma* 5(1):544–54. doi: 10.1007/BF01271501.
- Che, Y., Wang, D., Shi, Y., Du, X., Zhao, Y., Lo, N., a Wang, Z. 2016. A Global Molecular Phylogeny and Timescale of Evolution for *Cryptocercus* Woodroaches. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 98:201–9. doi: 10.1016/j.ympev.2016.02.005.
- Jankásek M., Kotyková Varadínová, Z. & Šťáhlavský, F. 2021. Blattodea Karyotype Database. *European Journal of Entomology* 118: 192-199.
- Jarošová, M., Holzerová, M., Nedomová, R., Mičková, P., Hluší, A., a Indrák, K. 2012. Cytogenetika a molekulární cytogenetika v diagnostice a stanovení prognózy myeloproliferativních neoplázií. 7.
- Jarvis, K. J., Haas F., a Whiting, M. F. 2005. Phylogeny of Earwigs (Insecta: Dermaptera) Based on Molecular and Morphological Evidence: Reconsidering the Classification of Dermaptera: Phylogeny of Dermaptera. *Systematic Entomology* 30(3):442–53. doi: 10.1111/j.1365-3113.2004.00276.x.
- Krishna, K., Grimaldi, D. A., Krishna, V., a Engel, M. S. 2013. Treatise on the Isoptera of the World: VOLUME 1 INTRODUCTION. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 377(7):1–200. doi: 10.1206/377.1.

- Kuznetsova, V. G., Nokkala, S., a Shcherbakov, D. E. 2002. Karyotype, Reproductive Organs, and Pattern of Gametogenesis in *Zorotypus Hubbardi* Caudell (Insecta: Zoraptera, Zorotypidae), with Discussion on Relationships of the Order. *Canadian Journal of Zoology* 80(6):1047–54. doi: 10.1139/z02-074.
- Lachowska-Cierlik, D., Maryanska-Nadachowska, A., Kuznetsova, V., a Picker. M. 2015. First Chromosomal Study of Mantophasmatodea: Karyotype of *Karoophasma Biedouwense* (Austrophasmatidae). *European Journal of Entomology* 112(4):599–605. doi: 10.14411/eje.2015.093.
- Luykx, P. 1990. A Cytogenetic Survey of 25 Species of Lower Termites from Australia. *Genome* 33(1):80–88. doi: 10.1139/g90-013.
- Matthey, R. 1946. Communications préliminaires sur les chromosomes des Plécoptères: IV. Formules chromosomiques des Perlodidæ et évolution générale des hétérochromosomes. *Experientia* 2(12):497–98. doi: 10.1007/BF02137575.
- Miller, K. B., Hayashi, Ch., Whiting M. F., Svenson, G. J., a Edgerly J. S. 2012. The Phylogeny and Classification of Embioptera (Insecta). *Systematic Entomology* 37(3):550–70. doi: 10.1111/j.1365-3113.2012.00628.x.
- Otte, D., Spearman L., a Martin, B.D. 2021 Stiewe. *Mantodea Species File Online*. <http://Mantodea.SpeciesFile.org>.
- Rafael, J. A., Godoi F., a Engel, M. 2008. A New Species of *Zorotypus* from Eastern Amazonia, Brazil (Zoraptera: Zorotypidae). *Transactions of the Kansas Academy of Science* 111(3 & amp; 4):193–202. doi: 10.1660/0022-8443-111.3.193.
- Rosetti, N., Rebagliati, P., a Remis, M. I.. 2010. Supernumerary Chromosome Variants in *Dichroplus Elongatus* (Acrididae): Fluorescent Banding and Cline Variation Pattern. *Journal of Orthoptera Research* 19(2):261–65.
- Roth, S., Molina, J., a Predel, R. 2014. Biodiversity, Ecology, and Behavior of the Recently Discovered Insect Order Mantophasmatodea. *Frontiers in Zoology* 11(1):70. doi: 10.1186/s12983-014-0070-0.
- Stewart, K. W. 2009. Plecoptera in *Encyclopedia of Insects*. Elsevier. S. 810–13
- Stowell, R. E. 1945. Feulgen Reaction for Thymonucleic Acid. *Stain Technology* 20(2):45–58. doi: 10.3109/10520294509107130.
- Sumner, A. T. 1972. A Simple Technique for Demonstrating Centromeric Heterochromatin. *Experimental Cell Research* 75(1):304–6. doi: 10.1016/0014-4827(72)90558-7.
- Sylvester, T., Hjelman, C.E., Hanrahan, S. J., Lenhart, P. A., Johnston, J. S., a Blackmon, H. 2020. Lineage-Specific Patterns of Chromosome Evolution Are the Rule Not the Exception in Polyneoptera Insects. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 287(1935):20201388. doi: 10.1098/rspb.2020.1388.

- Ünal, M. (2016) Pamphagidae (Orthoptera: Acridoidea) from the Palaearctic Region: taxonomy, classification, keys to genera and a review of the tribe Nocarodeini I. Bolívar. *Zootaxa* 4206(1): 1–223. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4206.1.1>
- Vitturi, R., Lannino, A., Mansueto, C., Mansueto, V., a Colomba, M. 2008. Silver-Negative NORs in Pamphagus Ortolaniae (Orthoptera: Pamphagidae). *European Journal of Entomology* 105(1):35–39. doi: 10.14411/eje.2008.004.
- Wang, L., Liao, S., Liu, M., Deng, W., He, J., Wang, Z., a Che, Y. 2019. Chromosome Number Diversity in Asian *Cryptocercus* (Blattodea, Cryptocercidae) and Implications for Karyotype Evolution and Geographic Distribution on the Western Sichuan Plateau. *Systematics and Biodiversity* 17(6):594–608. doi: 10.1080/14772000.2019.1659878.
- Warchałowska-Śliwa, E., Klaus-Gerhard Heller a Maryńska-Nadachowska, A. 2005. Cytogenetic Variability of European Tettigoniinae (Orthoptera, Tettigoniidae): Karyotypes, C- and Ag-NOR-Banding. *Folia Biologica* 53(3):161–71. doi: 10.3409/173491605775142800.
- Warchałowska-Śliwa, E., Grzywacz, B., Maryńska-Nadachowska, A., Karamysheva, T. V., Rubtsov, N. B., a Chobanov, D. P.. 2009. Chromosomal Differentiation among Bisexual European Species of Saga (Orthoptera: Tettigoniidae: Saginae) Detected by Both Classical and Molecular Methods. *European Journal of Entomology* 106(1):1–9. doi: 10.14411/eje.2009.001.
- Warchałowska-Śliwa, E., Grzywacz, B., Maryńska-Nadachowska, A., Karamysheva, T. V., Chobanov, D. P., a Klaus-Gerhard Heller. 2013. Cytogenetic Variability among Bradyporinae Species (Orthoptera: Tettigoniidae). *European Journal of Entomology* 110(1):1–12. doi: 10.14411/eje.2013.001.
- White, M. J. D., a Webb, G. C. 1976. Blattodea, Mantodea, Isoptera, Grylloblattodea, Phasmatodea, Dermaptera, and Embioptera. Berlin: Gebr. Borntraeger.
- Wipfler, B., Letsch, H., Frandsen, P. B., Kapli, P., Mayer, Ch., Bartel, D., Buckley, T. R., Donath, A., Edgerly-Rooks, J. S., Fujita, M., Liu, S., Machida, R., Mashimo Y., Misof B., Niehuis, O., Peters, R. S., Petersen, M., Podsiadlowski, L., Schütte, K., Shimizu, S., Uchifune, T., Wilbrandt, J., Yan, E., Zhou, X., a Simon, S.. 2019. Evolutionary History of Polyneoptera and Its Implications for Our Understanding of Early Winged Insects. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 116(8):3024–29. doi: 10.1073/pnas.1817794116.
- Yoshimura, A. 2005. Karyotypes of Two American Field Crickets: *Gryllus Rubens* and *Gryllus Sp.* (Orthoptera: Gryllidae). *Entomological Science* 8(3):219–22. doi: 10.1111/j.1479-8298.2005.00118.x.
- Zhou, Z., Zhao, L., Liu, N., Guo, H., Guan, B., Di, J., a Shi, F. 2017. Towards a Higher-Level Ensifera Phylogeny Inferred from Mitogenome Sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 108:22–33. doi: 10.1016/j.ympev.2017.01.014.