

## **Oponentský posudek doktorské práce Mgr. Davida Sadílka**

### **„Cytogenetická charakteristika štěnic rodu *Cimex* (Heteroptera: Cimicidae)“**

Dizertační práce D. Sadílka byla vypracována v angličtině. Je rozčleněna na úvod, metodickou část, výsledky a závěry a doplněna seznamem citací, přílohami a autoreferátem. Jádrem dizertace je sedm článků publikovaných v impaktovaných časopisech. S výjimkou jednoho je D. Sadílek ve všech případech hlavním autorem. Z dizertace i článků je patrný hluboký zájem autora o problematiku.

Formálně je dizertace zaměřena na cytogenetiku štěnic rodu *Cimex*, její záběr je však mnohem širší. Hlavním přínosem je prozkoumání cytogenetiky a velikostí genomu u dvou příbuzných čeledí ploštic, štěnicovitých (Cimicidae) a lovčicovitých (Nabidae). Ploštice se vyznačují řadou specifických cytogenetických znaků. Jejich genomy jsou tvořeny holocentrickými chromozomy, samci jsou achiasmatictí a jejich pohlavní chromozomy vykazují invertovanou meiózu. U štěnic se navíc vyskytují velmi komplikované systémy chromozomového určení pohlaví. Většina údajů o cytogenetice ploštic je založena na roztlakových preparátech. D. Sadílek modifikoval pro tuto skupinu jako jeden z prvních spreading, testoval také vhodné tkáně pro cytogenetickou analýzu. Jeho studie o velikostech genomu je možno hodnotit jako průkopnické, touto problematikou se zabývá u ploštic jen několik prací. Modifikoval techniku měření velikostí genomu, vybral vhodné tkáně a standardy. U štěnice domácí (a v menší míře i u několika dalších štěnic) našel cytotypy, lišící se počtem nadpočetných chromozomů. Na základě údajů o těchto chromozomech a analýzy velikostí genomu prokázal definitivně, že se jedná o pohlavní chromozomy X. Jeden z cytotypů štěnice domácí se vyznačoval dokonce dvaceti chromozomy X. Výsledky D. Sadílka naznačují, že se na vzniku těchto chromozomů podílely fragmentace, u štěnice domácí také delece a duplikace. D. Sadílek dále zmapoval evoluci karyotypu a velikosti genomu u lovčic. Jeho výsledky podporují domněnku o velmi neobvyklém – polyploidním původu rodu *Himacerus*. Specifickým umístěním se vyznačovaly nukleolární organizátory lovčic, které většinou ležely pouze na pohlavních chromozomech. Chromozomová evoluce lovčic zahrnovala změny autozomů a změny polohy nukleolárních organizátorů jakož i duplikace organizátorů. Vzhledem k tomu, že se nukleolární organizátory vyskytují i na pohlavních chromozomech štěnic, mohlo by se jednat o společný znak štěnic a lovčic. Do dizertace je zařazena také práce o ultrastruktuře střeva štěnic. Jedná se o tkáň potenciálně využitelnou jako zdroj dělicích se buněk, její detailní prozkoumání je tedy žádoucí i z hlediska cytogenetiky. Na problematiku holocentrických chromozomů u ploštic volně

navazuje článek o cytogenetice štírů *Androctonus*, kteří se vyznačují také holocentrickou stavbou chromozomů. Na rozdíl od analyzovaných ploštic a také většiny již prostudovaných štírů s holocentrickými chromozomy se jedná o rod se značně konzervativním karyotypem. Jakkoliv je tato práce velmi zdařilá, musím konstatovat, že příliš nezapadá do tématu dizertace.

Vzhledem k velkému množství výsledků mám i připomínky a dotazy:

1. Jakým způsobem byly identifikovány pohlavní chromozomy v mitotických figurách štěnic a dále jak byl identifikován Y chromozom v mitotických figurách a v meióze.
2. Spreading a hot plate spreading nejsou synonyma. Hot plate spreading je jen jedním z typů spreadingu, další je např. dropping (Metody, str. 5)
3. Nezaměňovat pojmy spermatogeneze a spermiogeneze (konečná fáze spermatogeneze, maturace spermatid) (Metody, s. 7, 1. odstavec)
4. Údaje ve výsledcích, str. 15, 1. odstavec se týkají skutečně vnitrodruhové variability?
5. V člancích se občas hovoří o mitotických a meiotických jádrech. Chtěl bych podotknout, že v jádrech se odehrává jen profáze a telofáze, jinak se chromozomové figury v mitóze a meióze nacházejí v cytoplasmě (viz např. Sadílek et al. 2013, s. 737, 4. odstavec, předposlední řádek, metafáze II je zde prezentována jako jaderná figura)
6. Crossing-over není možno mikroskopicky detegovat (pouze chiazmata, která vznikají v místech kde došlo ke crossing-overu) (Sadílek et al. 2015, s.71, výsledky, 2. odstavec)
7. Při měření chromozomů byla stanovována relativní chromozomová délka, nikoliv relativní délka diploidní sady (relative diploid set length, DSL) (např. Sadílek et al. 2015, s. 71, karyotype analysis, 1. odstavec)
8. Podle mého názoru vytvářejí pohlavní chromozomy u samce *Cimex* v metafázi II spíše asociaci než pseudotrivalent (Sadílek et al. 2016, s. 741, poslední odstavec)
9. Homologické chromozomy nepárují v metafázi II (Sadílek et al. 2016, s. 742, první odstavec)
10. V obr. 3D, E (Sadílek et al. 2016) by bylo lepší uvést haploidní, nikoliv diploidní počet chromozomů
11. V práci Sadílek et al. (2019, s. 753, 1. odstavec) se předpokládá, že chromozomové figury s vyšším stupněm ploidie než  $2n$  jsou polyploidní. Oktoploidní buňky z gonoduktu detegované při měření velikosti genomu byly ale s největší pravděpodobností endopolyploidní a ty se nedělí. Rád bych podotkl, že na preparátech může docházet ke splyvání figur, což může imitovat polyploidii.

12. Translokace jsou balancovaná chromozomová přestavba, nedochází při ní ke zvýšení obsahu DNA (Sadílek et al. 2019, s. 754, Low nuclear DNA content)
13. Analýza obsahu DNA u různých jedinců štěnice domácí naznačuje, že se kromě fragmentací chromozomu X uplatňovaly i delece a duplikace. Rád bych požádal autora, aby se vyjádřil k mechanismům, kterými mohly tyto delece a duplikace vznikat. Je zde více možností.

Závěrem bych rád konstatoval, že autor předloženou prací a publikační aktivitou jednoznačně dokládá schopnost samostatné vědecké práce, řešit komplexní úlohy a témata. Prokazuje, že dovede zpracovat velké množství faktů, zvládnout a modifikovat náročné metodiky a profesionálně diskutovat získané výsledky. Předložená studie tedy splňuje požadavky na doktorskou dizertační práci a proto ji doporučuji k obhajobě.

V Praze 12.5.2021

Doc. RNDr. Jiří Král, Dr.