

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

KATEDRA ZOOLOGIE



**MOLEKULARNÍ IDENTIFIKACE DRUHOVÉ DIVERSITY RODU *AGRILUS*  
(COLEOPTERA: BUPRESTIDAE)**

Diplomová práce

Vypracovala: Bc. Ivana Kelnarová

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Zoologie

Forma studia: prezenční

Školitel: Prof. Ing. Ladislav Bocák, Ph. D.

Olomouc 2017

## **PROHLÁŠENÍ**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně pod vedením vedoucího Prof. Ing. Ladislava Bocáka Ph. D. a použila jsem pouze uvedené bibliografické zdroje.

V Olomouci dne 28. 7. 2017

.....

## **PODĚKOVÁNÍ**

Ráda bych tímto poděkovala Prof. Ing. Ladislavu Bocákovi, Ph.D za odborné konzultace k této práci. Taktéž musí poděkovat Mgr. Renatě Bílkové za pomoc při práci v laboratoři. Za podporu velmi děkuji svému příteli, rodině a kamarádům.

## **BIBLIOGRAFICKÁ IDENTIFIKACE**

**Jméno a příjmení autora:** Bc. Ivana Kelnarová

**Název práce:** Molekulární identifikace druhové diversity rodu *Agrilus* (Coleoptera: Buprestidae)

**Typ práce:** Diplomová práce

**Pracoviště:** Katedra zoologie, Přírodovědecká fakulta, Olomouc

**Vedoucí práce:** Prof. Ing. Ladislav Bocák Ph. D.

**Rok obhajoby práce:** 2017

### **ABSTRAKT:**

Tato studie se zabývá klasifikací rodu *Agrilus* (Coleoptera: Buprestidae), nejpočetnější, značně morfologicky uniformní skupiny hmyzu, která obsahuje více než 3000 druhů. Mnohé z těchto druhů jsou významnými škůdci, kteří se za příhodných podmínek stávají v některých oblastech invazivními. Značná morfologická podobnost jednotlivých druhů znesnadňuje jejich jednoznačnou identifikaci, která je pro rychlé zachycení výskytu neznámého škůdce nezbytná. Určit neznámý druh rodu *Agrilus*, zvláště pokud je nepůvodní, je bez rozsáhlé srovnávací sbírky téměř nemožné a specialistů zabývajících se rodem *Agrilus* je velmi málo. Tato práce nabízí možnost identifikace neznámých vzorků pomocí databáze molekulárních markerů zahrnující téměř 100 druhů rodu *Agrilus*, jež je dostupná v databázi GenBank a použitelná pro molekulárně založenou identifikaci nových vzorků. V této studii byly použity dva přístupy: byly vytvořeny fylogenetické stromy na základě molekulárních markerů s použitím metody maximum likelihood a dále byly srovnány genetické párové vzdálenosti. Analýza 'barcode' fragmentu neumožňuje identifikace, pokud daný druh již není zachycen v databázi. V případě analýzy více fragmentů, je možné po nenalezení odpovídajícího jedince pomocí fylogenetické hypotézy o příbuznosti druhů nalézt nejpříbuznější sesterskou linii s jistým geografickým původem a odhadnout tak původ neznámého vzorku. V databázi jsou rovněž zachyceny nepůvodní druhy zavlečené do Severní Ameriky z Evropy a Asie.

**Klíčová slova:** *Agrilus*, invazivní druhy, databáze DNA markerů, barcode, cox1 mtDNA, rrrL mtDNA, RAxML

Počet stran: 51

Počet stran příloh: 31

Jazyk: český

## **BIBLIOGRAPHIC IDENTIFICATION**

**First name and surname of the author:** Bc. Ivana Kelnarová

**Name of the thesis:** Molecular identification of specific diversity in *Agrilus* (Coleoptera: Buprestidae)

**Type of thesis:** Diploma thesis

**Workplace:** Department of Zoology, Faculty of Science, Olomouc

**Supervisor:** Prof. Ing. Ladislav Bocák Ph. D.

**Year of defense:** 2017

### **ABSTRACT:**

This work tests the methods for DNA-based identification of the largest, morphologically uniform insect lineage. The genus *Agrilus* (Coleoptera: Buprestidae), which includes more than 3000 morphologically identified species, contains economically important pests, which become invasive in some areas with suitable conditions. The unambiguous identification, which is necessary for quick interception and disposal, is complicated by high morphological similarity of individual species. The identification of the unknown species of *Agrilus* is impossible without an extensive reference collection and expertize knowledge and additionally, there are few trained entomologists available. This study demonstrates the effectiveness of various methods for identification of unknown samples. I used a newly produced molecular marker database, which represents about 100 species of the genus *Agrilus* from the Northern Hemisphere and the data available in GenBank database. The tree-based and distance based methods were used for identification of species limits and estimation of a cryptic genetic diversity. In this study, phylogenetic hypotheses were also constructed based using molecular markers and maximum likelihood optimality criterion. If the closely similar sequence is absent in the database, to data can identify the most closely related sister species of population, inable estimation of the geographic origin based on the phylogenetic hypothesis.

Key words: *Agrilus*, Invasive species, DNA markers database, barcode, cox1 mtDNA, rnl mtDNA, RAxML

Number of pages: 51

Number of appendices: 31

Language: Czech

## Obsah

|       |  |    |
|-------|--|----|
| 1     | ÚVOD .....   | 7  |
| 2     | INVAZIVNÍ DRUHY .....  | 9  |
| 2.1   | Vymezení pojmu 'invazivní druh' .....  | 9  |
| 2.2   | Zavlečení nepůvodního druhu, jeho invazivita a vliv na původní flóru a faunu ..... | 9  |
| 2.3   | Invazivní druhy řádu Coleoptera.....   | 10 |
| 2.3.1 | Rod <i>Agrilus</i> a invazivita jeho druhů .....                                   | 12 |
| 2.4   | Opatření proti šíření invazivních druhů .....                                      | 16 |
| 3     | CÍLE PRÁCE.....  | 18 |
| 4     | METODIKA .....   | 19 |
| 4.1   | Materiál .....   | 19 |
| 4.2   | Laboratorní protokoly .....  | 19 |
| 4.2.1 | Izolace DNA .....  | 19 |
| 4.2.2 | PCR amplifikace DNA.....   | 20 |
| 4.2.3 | Elektroforéza a čištění PCR produktu.....  | 21 |
| 4.2.4 | Sekvenační reakce.....   | 22 |
| 4.2.5 | Čištění produktu sekvenační reakce.....  | 22 |
| 4.2.6 | Sekvenování .....  | 23 |
| 4.3   | Analýza DNA sekvencí a fylogenetická analýza.....                                  | 23 |
| 4.4   | Delimitace druhů.....  | 23 |
| 4.4.1 | Species identifier.....  | 24 |
| 4.4.2 | bPTP.....  | 24 |
| 4.5   | Analýza statické podpory pro zjištěné fylogenetické vztahy.....                    | 24 |
| 4.6   | Vyhodnocení geografického původu fylogeneticky příbuzných druhů.....               | 24 |
| 5     | VÝSLEDKY .....   | 25 |
| 5.1   | Fylogenetické vztahy .....   | 26 |
| 5.2   | Molekulární delimitace druhů.....  | 29 |
| 5.3   | Použité zkratky.....   | 30 |
| 6     | DISKUZE A ZÁVĚR .....  | 37 |
| 6.1   | Srovnání morfologicky a molekulárně určených druhů.....                            | 38 |
| 7     | SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....  | 42 |
| 8     | SEZNAM PŘÍLOH.....   | 51 |

## 1 ÚVOD

Krasci rodu *Agrilus* Curtis, 1825 (Coleoptera: Elateriformia: *Buprestidae*) představují svým počtem cca 3000 druhů nejpočetnější rod živočichů v celé živočišné říši. Jejich rozšíření je kosmopolitní a největší diversita je v oblastech s vysokou rozmanitostí potenciálních hostitelských rostlin, především v subtropických částech holoarktické oblasti (Bellamy 2010). Všechny druhy této skupiny jsou fytofágní a jejich diversita je pravděpodobně výsledkem četných přesunů z jedné hostitelské rostliny na druhou. Příkladem druhu, jehož diversifikace je ovlivněna přesuny mezi hostitelskými rostlinami je polyfágní střeoevropský druh *Agrilus viridis* (Bernhard *et al.* 2005). Analýza molekulárních dat tohoto druhu získaného z odlišných živných rostlin naznačuje, že by se ve skutečnosti mohlo jednat o více specializovaných populací, poddruhů nebo druhů, a nikoliv pouze o jediný takto široce polyfágní druh (Bernhard *et al.* 2005, Pentinsaari *et al.* 2014).

Larvy rodu *Agrilus* se živí rostlinnými pletivy a daří se jim především pod kůrou rozmanitých druhů stromů a keřů (Jendek 1994). Větší počty jedinců se vyvíjejí na jednotlivých rostlinách zejména v případě, že jsou stresovány suchem (Dunn *et al.* 1986). Vyšší intenzita napadení je pozorována na stromech poškozených odstraněním pruhu kůry na obvodu kmene a na samostatně stojících stromech a to i v případech celkově nízké populační hustoty výskytu škůdce v dané oblasti. Tyto poznatky je nutno zohlednit při monitoringu výskytu potenciálně ekonomicky významných druhů rodu *Agrilus*, jejich regulaci a zabránění vzniku velkých škod na hostitelských rostlinách a tím i finančním ztrátám (McCullough *et al.* 2009). Úhyny stromů jsou zapříčiněny zejména žírem larev, který vyvolává podkorní nekrózu, přerušuje transport vody a živin a tím dochází k následnému úhynu napadeného stromu (Vansteenkiste *et al.* 2004). Bionomická charakteristika způsobuje, že mnoho druhů je významnými škůdci (Akers & Nielsen 1986, Haack *et al.* 1983, Gordon *et al.* 1997). V některých případech, zejména jsou-li *Agrilus* introdukovány do nové oblasti bez výskytu přirozených nepřátel a také pokud jsou hostitelské rostliny stresovány, se některé druhy stávají významnými škůdci a jsou hodnoceny jako invazivní druhy (Dunn *et al.* 1986, Jones *et al.* 1993, Gibbs & Greig 1997). Problémem může být určení zavlečeného, potenciálně škodlivého druhu. Jedním z efektivních a ekonomicky výhodných řešení problému určování invazivních druhů je identifikace pomocí databáze DNA markerů (Hendrich *et al.* 2015). Současně je nutné v maximální možné míře znát živné rostliny jednotlivých druhů, jejich životní strategie, spektrum přirozených nepřátel a koevolučních přizpůsobení hostitelských rostlin v původní oblasti výskytu (Douglas *et al.* 2009).

Následující část této práce shrnuje současné poznatky o využití všech biologických informací při řešení problematiky invazivních druhů.



## 2 INVAZIVNÍ DRUHY

### 2.1 Vymezení pojmu 'invazivní druh'

Invazivní druh je z biogeografického pohledu takový druh, který je v oblasti svého nálezu nepůvodní a jehož zavlečení může zapříčinit ekonomické ztráty nebo poškození životního prostředí, negativní vliv na lidské zdraví, či vitalitu jiných živočichů a rostlin. O invazi hovoříme až poté, kdy se introdukovaný druh v nové oblasti samovolně šíří (ISAC 2006).

Pojem 'invazivní druh' nemá jasný ekologický význam, ale je odvozen ze subjektivního pohledu člověka a jeho ekonomických zájmů. Existují totiž druhy, které jsou v oblasti svého výskytu nepůvodní, četné a přesto nebývají pokládány za invazivní. Příkladem mohou být včely *Apis mellifera*, které jsou významným zdrojem medu a vosku. Bývají považovány za neškodné, přestože některé divoké populace způsobují problémy stavěním hnízd na lidských obydlích a jsou potenciální hrozbou v důsledku alergické reakce na včelí bodnutí. Hybrid evropské a africké včely vyskytující se v latinské Americe, který napadá a pronásleduje člověka je však považován za druh nepůvodní a invazivní (ISAC 2006, Kenta *et al.* 2007). Jiným příkladem jsou termity. Škodlivý účinek na lidská obydlí je značný, ale za invazivní druh je považován pouze druh *Coptotermes formosanus*, který se ze své původní oblasti jižní Číny, Tajvanu a Japonska rozšířil do oblasti jižní Afriky, Srí Lanky, Havaje a kontinentální USA (ISAC 2006). Druh může být invazivní v jedné části země v jiné části nikoliv. Vše záleží opět na měřítku škodlivosti stanoveném člověkem.

### 2.2 Zavlečení nepůvodního druhu, jeho invazivita a vliv na původní flóru a faunu

Na celém světě se setkáváme s fenoménem výskytu nepůvodních druhů. Například v Evropě se jedná o cca 11 tisíc exotických druhů rostlin a živočichů, z nichž ekonomický a ekologický vliv má asi 15 % (DAISIE – [www.europe-aliens.org](http://www.europe-aliens.org)). Podobně bylo zavlečeno do USA kolem 50 tisíc nepůvodních druhů rostlin a živočichů (USCB 2001). Dostupné přehledy invazivních druhů předpokládají v České republice na počátku tohoto milénia přibližně 600 nepůvodních druhů, z nichž více než 100 je považováno za invazivní. Více než polovinu této skupiny tvoří zástupci hmyzu (Šefrová a Laštůvka 2005). Zavlečení bývá nejčastěji spojováno s činností člověka. Introdukce je poté buď úmyslná, například v podobě biologické regulace nebo neúmyslná.

Nezamýšlené důsledky introdukcí jsou poměrně časté. Nosatec *Rhinocyllus conicus* z čeledi *Curculionidae*, byl vysazen jako biologický regulátor proti bodláku *Carduus nutans*, který se invazivně rozšířil do Severní Ameriky. Tento nosatec však začal napadat i původní druhy bodláků a některé populace významně zdecimoval (Louda *et al.* 1997, Rose *et al.* 2005). Obdobný efekt na populaci amerických bodláků mělo vysazení nosatce *Larinus planus* (Louda & O'Brien 2002). Dalším příkladem vlivu na původní ekosystém je zavlečení komára *Aedes albopictus*, který je kompetitorem původních druhů komárů. Jeho hlavní škodlivost ale spočívá v napadání člověka a přenosu onemocnění západonilské horečky (Keller *et al.* 2011).

Příkladem neúmyslného zavlečení může být přenos xylofágní hmyzu transportem obalových materiálů při přepravě zboží, rozšíření prostřednictvím cizokrajných rostlin či půdy. Další významný způsob přenosu představuje uplívání živočichů na trupu lodí, převoz semen rostlin na pneumatikách nebo v zásilkách dováženého ovoce a zeleniny (Bray *et al.* 2011, Pimentel *et al.* 2005, Keller *et al.* 2010). K bezděčným šířením, která jsou ovlivněna lidskou činností, lze zařadit také samotnou disperzi živočichů podél liniových staveb, jako jsou železnice, silniční komunikace a plavební kanály (Sullivan *et al.* 2003). Organismy se však šíří i bez přímého vlivu člověka a mohou se v novém prostředí stát potenciálními invazivními druhy (Parmesan 2006).

### 2.3 Invazivní druhy řádu Coleoptera

Skupinou s velkým disperzním potenciálem jsou brouci. Jejich expanzivita je dána velkou odolností k abiotickým vlivům a výhodnou stavbou těla, která umožňuje přežití i v extrémních podmínkách. Dalším faktorem ovlivňujícím výskyt brouků je jejich schopnost letu a tím i možnosti rychlé disperze na velké vzdálenosti (Rankin & Burchsted 1992). Jejich přizpůsobivost prostředí a značná variabilita v tělesných konstrukcích jim umožňuje osídlit nejrůznější stanoviště, čímž významně ovlivňují fungování většiny ekosystémů. Můžeme se setkat s druhy dravými, herbivorními i všežravými. Ekonomicky významné skupiny tvoří zejména druhy xylofágní v lesnictví a druhy herbivorní škodící na polních plodinách. Právě pro tyto skupiny je charakteristická rychlá schopnost šíření v nových oblastech, kde mohou poté způsobovat značné škody (Kenis *et al.* 2009).

Významným invazivním fytofágním broukem je mandelinka *Leptinotarsa decemlineata*. Je považována za významného škůdce lilkovitých a především bramborové nati již od 2. poloviny 19. století. Byla popsána ve vzorku ze Skalistých hor v roce 1824 Thomasem Sayem a její původní výskyt je předpokládán v oblasti Nového Mexika

(Casagrande 1987). Dnešní areál výskytu zahrnuje 16 milionů km<sup>2</sup> v Severní Americe, Evropě a Asii. Je však možné, že se v budoucnu může introdukovat i do dalších oblastí světa (Weber 2003). Tato mandelinka se v 50. letech 20. století začala šířit do Československa. První nález pochází z roku 1945 v Chebu. Poté se rozšířila po celém území (Slabý a kol. 1950). V 50. letech začala být rezistentní k DDT (Quinton 1955). Dnes je při přemnožení nejčastěji hubena chemickými přípravky či pomocí biologické ochrany např. preparáty s entomofágní houbou *Beauveria bassiana* nebo bakterií *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* (Furlong & Groden 2001).

Jako další příklad invazivního brouka lze uvést slunéčko *Harmonia axiridis*. Tento aphidofágní brouk z čeledi *Coccinellidae* je charakteristický svým velmi žravým způsobem života. Původní oblast výskytu je odhadována ve východní Asii, zejména v Japonsku, Koreji, Číně, východním Rusku, Mongolsku a Kazachstánu (Dobzhansky 1933). Slunéčko bylo aplikováno jako bioagens v boji proti rostlinným škůdcům nejprve v USA v roce 1916 (Gordon 1985). V roce 1964 bylo poprvé vypuštěno v Evropě na Ukrajině jako ochrana proti mšicím na ovocných stromech. Následovaly i další země - Bělorusko, Francie, Portugalsko, Řecko, Španělsko atd. Vysazení nevedlo v žádné ze zemí ke vzniku stabilních populací. K ustálení a invazivnímu šíření evropské populace došlo až po zkřížení populace dovezené do Nizozemí a Belgie s populací invazních jedinců zavlečených ze Severní Ameriky. Tato populace se poté rozšířila po celé Evropě. Například do Velké Británie nebylo slunéčko nikdy vysazeno, dostali se sem invazivní jedinci nejspíše přes kanál La Manche, kteří se poté rozšířili po celém území (Brown *et al.* 2008). Do České republiky byla podobně jako do jiných evropských zemí introdukována populace k hubení hospodářských škůdců, která se neadaptovala na naše podmínky. Invazivní slunéčko zde bylo odhaleno až v roce 2007 výzkumným týmem Přírodovědecké fakulty Jihočeské univerzity, který se později dopátral i k jedincům z roku 2006 (Nedvěd 2014). Invazivnost *Harmonie* by mohla být obecně považována za prospěšnou z hlediska efektivnosti jako bioagens, avšak velmi problematická je z hlediska konkurence původním příbuzným druhům, jako je ve střední Evropě například *Coccinella septempunctata*, a tím i výrazným populačním poklesům tohoto původního druhu. Proto je tento druh považován za invazivní a škodlivý (Roy *et al.* 2012).

Příkladem dřevokazného invazivního druhu je *Anoplophora glabripennis* z čeledi *Cerambycidae*, který byl ze svého původního areálu v Asii zavlečen nejprve do Severní Ameriky, kde byl v roce 1996 objeven v Brooklynu ve státě New York. Způsobuje značné škody na porostech různých dřevin (Haack *et al.* 1997). Ve svém původním areálu napadal zejména vrby a topoly, v Severní Americe však napadá převážně javory (Li & Wu 1993,

Haack *et al.* 1997). Po zjištění několika dalších nálezů v Severní Americe, byl jeho výskyt potvrzen také v evropských zemích – v Anglii, Rakousku, Belgii, Německu, Francii, Itálii a Švýcarsku (EPPO 2013).

Dalším příkladem dřevokazného invazivního brouka pocházejícího z Asie je polyfágní tesařík *Trichoferus campestris*. Tento druh je rozšířen v mnoha zemích. Jeden z posledních nálezů byl zjištěn v Itálii. Způsobuje značné škody na nejrůznějších druzích hostitelských stromů jako je jedle, bříza, dub, buk, hrušeň atd. (Pennacchio *et al.* 2016).

Mandelinka *Diabrotica virgifera* je invazivním škůdcem napadající kukuřici *Zea mays*. Její původní areál výskytu sahá do oblasti Severní Ameriky (Levine & Oloumi-Sadeghi 1991). V Evropě se poprvé objevila v roce 1992 v Srbsku a postupně se rozšířila po evropském kontinentu (Kiss *et al.* 2005, Miller *et al.* 2005). V roce 2002 byla zjištěna v Česku v okrese Hodonín, poté se šířila i dál směrem k Uherkému Hradišti a Břeclavi (EPPO 2004). Tato mandelinka je velmi zdatným letcem. Je schopna se šířit rychlostí 40 km za rok. Za příhodných podmínek však dokáže urazit až 300 km. V šíření napomáhá také doprava (Kiss *et al.* 2005). Larvy způsobují významné poškození kořenového systému hostitelských rostlin, které pak v důsledku nedostatečné vláhy usychají, případně se poryvem větru vyvracejí z půdy (Levine & Oloumi-Sadeghi 1991).

Je tedy možné konstatovat, že ekonomicky významné druhy řádu Coleoptera jsou potenciálně významné invazivní druhy a současný rozvoj mezinárodní dopravy a obchodu vytváří předpoklady pro budoucí gradace exotických druhů v mnoha oblastech.

### **2.3.1 Rod *Agrilus* a invazivita jeho druhů**

*Agrilus planipennis* je učebnicovým příkladem zavlečení krasce do nové oblasti světa, ve které se stal velmi vážným problémem. Jeho šíření je podporováno zvýšenou citlivostí jasanů v Severní Americe k napadení a absencí přirozených nepřátel (Haack *et al.* 2002, Liu *et al.* 2003). V původní oblasti výskytu tohoto druhu – ve východní Asii, není jeho působení natolik ničivé. Důvodem je koevoluční přizpůsobení stromů vůči tomuto hmyzímu škůdci. (Baranchikov *et al.* 2008, Rebek *et al.* 2008). Do Severní Ameriky se nejpravděpodobněji dostal z oblasti Tianjin City, čínské provincie Hebei (Bray *et al.* 2011). V Evropě byl poprvé objeven v letech 2002–2004 v evropské části Ruska. Jeho první identifikace mimo původní areál byla hlášena v roce 2007. Po deseti letech od prvního nálezu v Moskvě je situace obdobně kritická jako v Severní Americe. Není pochyb o tom, že *Agrilus planipennis* má potenciál, aby se šířil dále do Evropy a likvidoval zdejší jasany (Orlova-Bienkowskaja 2013).

Tento předpoklad podporuje fakt, že je tento druh invazivního škůdce zdatný letec – např. 20 % testovaných oplozených samic dokázalo uletět vzdálenost více než 10 km za jediný den (Taylor *et al.* 2010). Jeho expanze může být navíc podpořena přesunem v rámci dopravy zboží. Tuto teorii potvrzuje nález jedince druhu *A. planipennis* v ruském městě Michurinsk poblíž železniční stanice, přičemž v žádném z okolních měst nebyl výskyt *Agrila* zaznamenán (Orlova-Bienkowskaja 2013). Nicméně, nároky na podnebí a prostředí druhu *A. planipennis* jsou zatím neznámé a je tedy otázkou, zdali mu klima evropských zemí bude vyhovovat. S ohledem na výskyt brouka v Severní Americe však lze předpokládat, že se nejvíce rozšíří do severní, střední a východní Evropy (Baranchikov *et al.* 2008). Jasany jsou nedílnou součástí evropských ekosystémů a jejich ztráta by s velkou pravděpodobností ovlivnila výskyt a přežívání mnoha druhů živočichů, a to zejména bezobratlých, jako se tomu stalo ve fauně severní Ameriky (Gandhi & Herms 2009, Koenig *et al.* 2012). Navíc finanční zátěž pro USA ročně představuje až 30 miliónů USD a podobné škody by bylo možné předpokládat i v Evropě (Kovacs *et al.* 2011). Pro řešení tohoto problému by se mohly stát základem studie prováděné v posledních letech v USA. Situace především v oblasti Velkých jezer je natolik kritická, že na řešení intenzivně pracuje komerční sféra i akademické výzkumné instituce. Škůdce lze například hubit pomocí parazitoidů, houbovými entomofágy, pomocí lákání na umělé samice nebo insekticidy (Castrillo *et al.* 2008, Duan *et al.* 2014, Pulsifer *et al.* 2013)

*Agrilus planipennis* není jediným invazivním druhem rodu *Agrilus*. Dalším příkladem šíření mezi kontinenty je *Agrilus sulcicollis*, jež se do Severní Ameriky dostal z Evropy. Byl odhalen v roce 2008 ze vzorku pocházejícího z Ontaria z roku 2006. Další pátrání odhalilo několik samic a samců ve studentské sbírce z roku 1995 (Jendek & Grebennikov 2009). Živnými rostlinami tohoto druhu v Evropě jsou převážně duby rodu *Quercus*, dále *Fagus sylvatica*, *Carpinus betulus* a *Castanea* (Bily 2002). V Kanadě byl zjištěn výskyt na dubu *Quercus rubra* a na jilmu *Fraxinus* sp. (Jendek & Grebennikov 2009).

Jako další příklad invazivního brouka rodu *Agrilus* si lze zmínit druh *Agrilus auroguttatus*. Tento dřevokazný škůdce napadá zejména duby rodu *Quercus*, konkrétně druhy *Q. agrifolia*, *Q. kelloggii* a *Q. chrysolepis* (Coleman *et al.* 2012). Jeho původní oblast výskytu se nachází v lesích jihovýchodní Arizony, kde není jeho výskyt díky toleranci autochtonních hostitelských druhů natolik devastující. Tento druh se rozšířil na západ do oblasti San Diego, kde jeho působením došlo ke zničení více než 80 000 stromů. Zacházení s napadenými kusy dřeva podléhá přísným karanténním opatřením, zajišťujícím snížení velikosti populací a nemožnost šíření do dalších oblastí. Jednou z možností je například obalení dřeva plastovou fólií (Lopez & Hoddle 2014). Zajímavostí týkající se tohoto druhu, je

jeho značná podobnost s druhem *Agrilus coxalis*. Tyto dva druhy byly dokonce původně považovány za druh jediný. Podrobnější morfologické studie a molekulární data však tyto dva druhy rozdělily. Tato skutečnost jen utvrzuje na značnou morfologickou uniformitu, a tudíž i značně obtížnou identifikaci druhů rodu *Agrilus* (Hespenheide *et al.* 2011).

V oblasti Severní Ameriky je známo několik dalších případů rozšíření některých druhů rodu *Agrilus* z jiných původních oblastí. Stejně jako již zmíněné příklady, všechny mají společné jmenovatele. Živné rostliny v oblasti původního výskytu brouků bývají tomuto škůdci dobře koevolučně přizpůsobeny. V nové oblasti však nikoliv. V důsledku toho se škůdce velmi rychle šíří, napadá další a další stromy a stává se invazivním. Jedná se o druhy *Agrilus anxius* – škůdce bříz, *Agrilus prionurus*, jež napadá rostliny rodu *Sapindus* – mýdelník. Jeho působení je problematické zejména v Texasu, kde byl introdukován z oblasti Mexika. Za zmínku také stojí druh *Agrilus bilineatus*, jež parazituje na dubech (Nielsen *et al.* 2014, Billings *et al.* 2014, Cote & Allen 1980).

V České republice se vyskytuje 35 druhů brouků rodu *Agrilus* (Bily 2002). Nejvýznamnější škodlivým druhem je *Agrilus biguttatus*, jehož areál výskytu zahrnuje téměř celou Evropu. Hospodářsky významné poškození lesních porostů bylo zaznamenáno v roce 2000. Hostitelskými rostlinami jsou různé druhy dubů a dále druhy *Fagus sylvatica* a *Castanea sativa*. U nás není ochraně věnovaná zvýšená pozornost. Přirozenými nepřátely jsou zejména hmyzožraví ptáci a někteří blanokřídlí parazitoidi, například lumčící Braconidae (Knížek 2011). Ekonomicky významné druhy rodu *Agrilus*, jejich rozšíření a živné rostliny shrnuje tabulka 1.

**Tabulka 1.** Přehled ekonomicky významných druhů rodu *Agrilus*, jejich rozšíření a živné rostliny.

| Druh                   | Původní výskyt  | Nové rozšíření   | Živná rostlina   |
|------------------------|---|--|--|
| <i>A. planipennis</i>  | Čína, Severní Korea, Jižní Korea, Japonsko, Taiwan, Mongolsko a východní Rusko<br><br>(Jendek 1994, Haack <i>et al.</i> 2002) | Kanada, USA a Rusko<br><br>(Jendek 1994, Haack <i>et al.</i> 2002, Volkovich 2007, Orlova-Bienkowskaja 2013)           | <i>Fraxinus</i> sp.  |
| <i>A. sulcicollis</i>  | téměř celá Evropa<br><br>(Bellamy 2008)   | Kanada<br><br>(Jendek & Grebennikov 2009)  | <i>Quercus</i> sp.<br><br><i>Fagus sylvatica</i> ,<br><i>Carpinus betulus</i> ,<br><i>Castanea</i> sp. |
| <i>A. auroguttatus</i> | Arizona – USA<br><br>(Lopez & Hoddle 2014)  | Kalifornie – USA<br><br>(Lopez & Hoddle 2014)  | <i>Quercus</i> sp.   |
| <i>A. anxius</i>       | severní USA<br><br>(Brown 1940)   | jižní a západní USA<br><br>(Brown 1940)  | <i>Betula</i> sp.  |
| <i>A. prionurus</i>    | Mexiko<br><br>(Billings <i>et al.</i> 2014)   | Texas – USA<br><br>(Billings <i>et al.</i> 2014)   | <i>Sapindus</i> sp.  |
| <i>A. bilineatus</i>   | severní USA<br><br>(Cote & Allen 1980; Haack & Benjamin 1982)   | východní a centrální USA, jihovýchodní Kanada<br><br>(Cote & Allen 1980; Haack & Benjamin 1982)                        | <i>Quercus</i> sp.   |
| <i>A. biguttatus</i>   | celá střední Evropa, jih severní Afriky<br><br>(Davis <i>et al.</i> 2005)   | rozšiřování areálu v Británii, Nizozemí a Dánsku<br><br>(Hackett 1995, Pedersen & Jorum 2009, Moraal & Akkerhuis 2011) | <i>Quercus</i> sp.<br><br><i>Fagus silvatica</i> ,<br><i>Castanea sativa</i>                           |

## 2.4 Opatření proti šíření invazivních druhů

V důsledku nepříznivého vlivu nepůvodních invazivních druhů na stabilitu ekosystému, musejí jednotlivé státy vynakládat značné finanční prostředky na jeho ochranu, případně obnovu. V Číně se v roce 2000 ekonomické důsledky vlivu nepůvodních invazivních druhů vyšplhaly do celkové výše cca 2,4 miliard USD (Xu *et al.* 2006). V Evropě se rovněž setkáváme s následky šíření invazivních nepůvodních druhů. Boj proti těmto nechtěným škůdcům stojí celou evropskou unii nejméně 12,5 miliard eur ročně (Kettunen *et al.* 2009). V některých případech introdukce dochází k pozitivním ekonomickým důsledkům, ale negativní důsledky vysoce převažují. Aukema *et al.* (2011) zkoumali ekonomický dopad výskytu nepůvodních druhů hmyzu v kontinentální části USA. Nejproblémovější skupinou se stala trofická skupina dřevokazných brouků, jež ročně působí finanční ztrátu ve výši cca 3,5 miliardy USD (USCB 2001, Aukema *et al.* 2011).

K minimalizaci škod a zahájení účinné obrany proti invazivním druhům je potřeba rychlá taxonomická identifikace škůdce. To vyžaduje dostatečné taxonomické znalosti, zejména o morfologii, biologii a životních strategiích daného škůdce (Douglas *et al.* 2009). Náhlé objevení neznámého exotického druhu např. v přístavním městě může být pro taxonoma skutečnou výzvou. Základem je rozlišit, zdali se jedná o doposud nepopsaný původní druh nebo o druh introdukovaný. V případě druhé situace je potřeba rychlé spolupráce odborníků (Douglas *et al.* 2009). Ukázkový příklad takovéto mezinárodní spolupráce se odehrál v roce 2002, kdy byli nalezení jedinci považováni za nepůvodní asijské druhy, zasláni E. Jendekovi (Slovak Academy of Sciences, Bratislava), specialistovi na rod *Agrilus*, který jej určil jako škůdce jasanů – *Agrilus planipennis* (Haack *et al.* 2002). Bezproblémový transport jednotlivých vzorků k identifikaci mezi státy znesnadňují vlastní zákony a úmluvy jednotlivých zemí a nadnárodních společenstev, například Úmluva o biologické rozmanitosti. Jejich hlavním úkolem je zabránit ilegálnímu transportu živočichů a rostlin, což zároveň znemožňuje posílat jakékoliv vzorky legální cestou. To může v konečném důsledku ovlivnit intenzitu vpádu škůdce, jež může mít negativní ekonomické důsledky (Prathapan 2006). Identifikaci lze uspišit pomocí různých databází. Globální databáze invazivních druhů (GISD - [www.iucngisd.org](http://www.iucngisd.org)) byla vytvořena skupinou specialistů zabývajících se invazivními druhy. Jejím účelem je zvýšení povědomí o invazivních druzích a prevence dopadu vlivu invazivních druhů. Soustředí se zejména na druhy s výrazným vlivem na přirozenou biologickou rozmanitost a zahrnuje všechny taxonomické skupiny. V Evropě funguje od roku 2004 s obdobnou myšlenkou databáze NOBANIS, tj. evropská síť pro studium invazivních nepůvodních druhů (NOBANIS - [www.nobanis.org](http://www.nobanis.org)).



I přes mezinárodní spolupráci a zapojení specialistů, může být identifikace některých invazivních druhů velmi složitá. Konkrétně identifikace jedinců rodu *Agrilus* je velmi komplikovaná z důvodu značné morfologické uniformity a neobyčejně velkému počtu blízké příbuzných druhů (Nelson & Hespenheide 1998). Pouze trénovaný entomolog dokáže identifikovat běžné lokální druhy rodu *Agrilus*, ale bez rozsáhlé srovnávací sbírky je nemožné odhalit invazivní druhy z jiných oblastí.

Jednou z možností rychlé, přesné a relativně levné identifikace invazivního druhu je fylogenetická analýza pomocí DNA markerů. Tato metoda je rovněž vhodná u různě poškozených jedinců získaných např. pracovníky v zemědělství či lesnictví (Hendrich *et al.* 2015). Navíc v případě rodu *Agrilus* se jeví jako přesnější a rychlejší metoda určení neznámého druhu v nové geografické oblasti ve srovnání s podstatně náročnější morfologickou identifikací. Jednou z nejpoužívanějších metod je DNA barcoding. Jedná se o velmi efektivní nástroj pro odhalení biologické diversity (Hebert & Gregory 2005). Molekulární identifikace bývá založena na genetické vzdálenosti a běžně je využívána 3 % párová vzdálenost (Hebert *et al.* 2003).

Pro identifikaci pravděpodobných druhů lze dále využít metody založené na tvaru fylogenetického stromu – GMYC = General Mixed Yule Coalescent model (Pons 2006) nebo PTP = Poisson Tree Probability model (Zhang *et al.* 2013). Výsledky analýz nemusí být nutně identické. V posledních letech byly publikovány různě úspěšné práce zabývající se rychlou identifikací alfa-taxonomické diversity v různých živočišných liniích (Fujisawa & Barraclough 2013, Baselga *et al.* 2013b). Nicméně, úroveň přesnosti, s jakou lze druh určit, je možné srovnat s úrovní určení druhu nespécializovaným morfologickým entomologem a lze předpokládat, že ještě lepšího výsledku lze dosáhnout, pokud je neznámý vzorek studován v rozsáhlé kolekci vzorků. Výhodou je také, že molekulární markery umožňují odhalení geografického původu neznámého vzorku, např. v intraspecifické variabilitě vzorků z různých oblastí nebo v případech, kdy má linie fylogenetickou strukturu na úrovni populací a lze zde očekávat příbuznou populaci. Taková identifikace může sloužit i jako vodítko při cíleném hledání vhodného přirozeného nepřitele, jež je k dané populaci koevolučně přizpůsoben a bude tak efektivní pro eliminaci škůdce (Lopez *et al.* 2014).

### 3 CÍLE PRÁCE

Hlavním cílem této studie je vytvoření rozsáhlé databáze fragmentů mitochondriální DNA, které mohou být použity pro identifikaci neznámých vzorků *Agrilus* na severní polokouli.

Na základě těchto dat bude:

1. zkonstruován fylogenetický strom pro rod *Agrilus* zahrnující morfologicky delimitované druhy z holoarktické a orientální oblasti
2. porovnána delimitace na základě DNA markerů a morfologie
3. vyhodnocena úroveň statistické podpory pro zjištěné fylogenetické vztahy na různých úrovních příbuznosti
4. vyhodnocen geografický původ fylogeneticky příbuzných druhů

## 4 METODIKA

### 4.1 Materiál

Studovaný materiál obsahoval 475 vzorků reprezentujících 97 druhů rodu *Agrilus* pocházejících z Evropy, kontinentální Asie a Severní Ameriky. Vzorky, jež byly použity pro fylogenetickou analýzu, zahrnovaly soubor dat použitý v předchozí bakalářské práci – vzorky EJ0001 až EJ0161. Dále nově sekvenované vzorky pro diplomovou práci EJ0201 – EJ0296 a A00661 – A00671, pro tři fragmenty genů *cox1-5'*(Barcode), *cox1-3'*(COI) a *rrnL* (16S). Mimo to byly pro fylogenetické analýzy poskytnuty vzorky sekvencí ze spolupracující laboratoře – vzorky CNC0013 – CNC8503, VVGC072 a VVGC089, pro něž byly k dispozici pouze sekvence fragmentu *cox1-5'*(Barcode). Ze vzorků CNC0013 – CNC8503 bylo vybráno 96 vzorků, reprezentující zástupce každého druhu v počtu minimálně jeden vzorek na druh. Ty byly označeny jako EJ0201 – EJ0296 a pro tyto vzorky byla prováděna analýza *cox1-3'* a *rrnL* fragmentů genů. Na sběru se podílelo několik sběratelů, nejvíce pak E. Jendek, V. Grebennikov, M. Smirnov a Cl. Chantal. Sběr probíhal v letech 1991, 2005–2014. Vzorky byly získány napříč severní polokoulí. Na determinaci na základě morfologie se podíleli E. Jendek a V. Grebennikov (oba pracovníci Canadian Food Agency, Ottawa). Přehled vzorků se nachází v tabulce 2.

### 4.2 Laboratorní protokoly

Laboratorní práci zahrnovala izolace DNA z vybraných vzorků EJ0201 – EJ0296. PCR amplifikace byla prováděna pro dva fragmenty mitochondriálních genů – *cox1-3'* a *rrnL*.

#### 4.2.1 Izolace DNA

Z jednotlivých vzorků adultních fází brouků získaných ze sbírky byla odejmuta jedna z končetin 3. páru spolu s částí svaloviny z metathoraxu. Pomocí sterilní pipety došlo k vložení svaloviny do jednotlivých označených mikrozkušavek. K izolaci byl využit DNeasy Blood & Tissue kit (Qiagen, Inc.).

Obsah mikrozkušavek, který nebylo potřeba vysušovat ani z něj odstraňovat ethanol, byl doplněn o 180  $\mu$ l ATK pufru a 20  $\mu$ l proteinázy K a zhomogenizován pomocí sterilní plastové tyčinky. Mikrozkušavky s obsahem svaloviny byly na 30 minut vloženy do termobloku o teplotě 56  $^{\circ}$ C/600 rpm. Po inkubaci bylo do vzorku přidáno 200  $\mu$ l AL pufru a následovalo krátké zvortexování. Dále bylo do každé zkušavky přidáno 200  $\mu$ l 96% UV

ethanolu a opět bylo potřeba obsah zvortexovat. Došlo k vytvoření bílých sraženin. Důsledným propipetováním bylo zajištěno důkladné promíchání. V dalším kroku se ke směsi v mikrozkušnicích napipetovalo 500 µl AW1 pufru a poté následovala centrifugace při 8000 rpm/ 1 min. Následoval podobný krok. Ke směsi bylo napipetováno 500 µl AW2 pufru a následovala centrifugace při 14000 rpm/ 3 min. Poté pokračovala centrifugace “na sucho” při 14000 rpm/ 1 min. Kolonky byly přeneseny na novou sadu mikrozkušnic se zámkem, k obsahu bylo připipetováno 50 µl nuclease-free H<sub>2</sub>O, následovala inkubace po dobu 1 minuty při pokojové teplotě a nakonec poslední centrifugace při 8000 rpm/ 1 min. Výsledkem procesu se stala 1. eluce. Její koncentrace byla změřena spektrofotometrem Nanodrop ND-1000. Vzorky s vyšší koncentrací DNA než 10,0 µg/ml bylo potřeba zředit na 1–10 µg/ml.

#### 4.2.2 PCR amplifikace DNA

Polymerázová řetězová reakce byla odlišná pro jednotlivé primery použité při reakci. Pro každý fragment genu byl využit jiný primer. Jejich přehled lze nalézt v tabulce 3.

**Tabulka 3.** Přehled použitých primerů

| Fragment genu  | Název primeru | Sekvence                                     |
|----------------|---------------|--|
| <i>rrnL</i>    | 16Sa          | 5' - CGC CTG TTT AAC AAA AAC AT -3'          |
|                | ND1A          | 5' - GGT CCC TTA CGA ATT TGA ATA TAT CCT -3' |
| <i>cox1-3'</i> | SPat          | 5' - GCA CTA WTC TGC CAT ATT AGA -3'         |
|                | SJerry        | 5' - CAA CAT YTA TTY TGA TTY TTT GG -3'      |

PCR pro primery SPat a SJerry (Invitrogen) obsahovala (uvedeno pro jeden vzorek):

5 µl 10x buffru

2 µl 50mM MgCl<sub>2</sub>

1 µl 10µM primeru SPat

1 µl 10µM primeru SJerry

1,25 µl 2mn dNTPs

0,2 µl Tag polymerázy Invitrogen

36,55 µl H<sub>2</sub>O

3 µl DNA templátu

PCR pro primery 16Sa a ND1A (Bioline) obsahovala (uvedeno pro jeden vzorek):

5  $\mu$ l 10x buffru

2  $\mu$ l 50mM MgCl<sub>2</sub>

1  $\mu$ l 10 $\mu$ M primeru 16Sa

1  $\mu$ l 10 $\mu$ M primeru ND1A

1,25  $\mu$ l 2mn dNTPs

0,2  $\mu$ l Tag polymerázy Bioline

33,50  $\mu$ l H<sub>2</sub>O

6  $\mu$ l DNA templátu

Dané množství DNA a vody bylo napipetováno do stripů. Samotná směs pro polymerázovou řetězovou reakci byla vytvořena na ledu. Nejprve se do vaničky na ledu přidala voda, poté postupně všechny komponenty. Posledním článkem byla polymeráza. Výsledná směs byla přidána do každého stripu s DNA. V případě PCR s polymerázou Invitrogen došlo k přidání mastermixu o objemu 47  $\mu$ l a amplifikace po zvortexování a stočení probíhala v Thermo Cycleru 9700 (Applied Biosystems) v programu long 45. PCR s polymerázou Bioline probíhala v Thermo Cycleru 2720 (Applied Biosystems) v programu 16snd1A. Efektivita PCR byla zhodnocena pomocí elektroforézy.

### **4.2.3 Elektroforéza a čištění PCR produktu**

Chemikálie potřebné při elektroforéze:

0,45 g Agarosa normal

45 ml 0,5x TAE pufr

2  $\mu$ l Gel Red

1  $\mu$ l nanášecí pufr

4  $\mu$ l templát z PCR

4  $\mu$ l HIND–III ladder

Nejprve bylo potřeba si pro celou reakci vytvořit základ – agarózový gel. Ten byl připraven smícháním a uvařením 0,45 g agarosy normal a 45 ml 0,5x TAE pufru v mikrovlnné troubě. Tato směs se nechala vychladnout na cca 50 °C a poté do ní byly přidány 2  $\mu$ l barviva Gel Red. Mezitím bylo potřeba sestavit vaničku. Směs s barvivem se vliła do vaničky, do které se nasadily hřebínky, a nechala se vychladnout v ledničce.

Po ztuhnutí se opatrným tahem vytáhly hřebínky, jež v gelu vytvořily jamky. Gel se vložil do elektroforetické vany a zalil TAE pufrem. Do jamek byly napipetovány jednotlivé templáty z PCR s 1  $\mu$ l nanášecího pufu. Pro potvrzení reakce byl do jedné z jamek nanesen HIND-III ladder. Elektroforetická reakce probíhala při 100 V po dobu 15 minut. Výsledek reakce byl pozorován v transaminačním boxu pomocí UV záření. Před další prací bylo potřeba PCR produkt vyčistit pomocí destiček MILLIPORE.

#### **4.2.4 Sekvenační reakce**

Chemikálie potřebné k sekvenační reakci: (uvedeno pro jeden vzorek)

1  $\mu$ l Big Dye

2  $\mu$ l 1,6 $\mu$ M primeru

1  $\mu$ l sekvenčního pufu

5  $\mu$ l H<sub>2</sub>O

1  $\mu$ l DNA (vyčištěný PCR produkt)

Samotnému smíchání směsi chemikálií předcházelo nachystání korýtky, nestříhané vyklávané destičky a její popsání, stočení a protřepání primerů a pufu. Směs byla vytvořena v korýtku přidáním vody, poté primeru, pufu a nakonec barviva Big Dye, které musí být ve tmě a na ledu. Mastermix se do jednotlivých jamek nestříhané destičky napipetoval dle rozpisu. Totéž následovalo s jednotlivými vzorky DNA. Pro primery 16Sa a sPat byl využit Peltier Thermal Cycler PTC-200, pro primery ND1A a SJerry byl využit TGRADIENT Biometra Thermo Cycler. Program pro sekvenační proces se nazýval cycleabi 10  $\mu$ l.

#### **4.2.5 Čištění produktu sekvenační reakce**

Chemikálie potřebné pro čištění sekvenačního produktu: (uvedeno pro jeden vzorek)

49,5  $\mu$ l UV ETOH

1  $\mu$ l 3M NaAc

9,5  $\mu$ l nuclease-free H<sub>2</sub>O

Do každého vzorku byla napipetována směs vytvořená pro čištění sekvenačního produktu. Následně byly vzorky, překryté zchlazenou mléčnou matrací, centrifugovány po dobu 30 min při 2500 g a 15 °C. Obsah destičky byl vyklepán a překryt 3 savými papírkami.

Opět následovala cetrifugace, tentokrát při 700 g po dobu 1 min. V dalším kroku se do každé jamky napipetovalo 60  $\mu$ l 80% UV alkoholu a destička se zcentrifugovala při 2500 g, 10 min, 15 °C. Tyto kroky se několikrát zopakovaly, až do dostatečného vyčištění. Poté byla destička vysušena v koncentrátoru po dobu 15 min.

#### **4.2.6 Sekvenování**

Vzorky s vyčištěným sekvenačním produktem byly doplněny o 12  $\mu$ l formamidu. Sekvenování probíhalo na sekvenátoru ABI 3130 (Applied Biosystems)

#### **4.3 Analýza DNA sekvencí a fylogenetická analýza**

K analýze získaných dat ze sekvenátoru byl použit program Sequencher verze 5.2.4 (Gene Code, Inc). Sekvence byly upraveny tak, aby pokrývaly homologické úseky sekvenovaných fragmentů. Bylo potřeba odstranit část začátků a konců sekvence, protože spolehlivost čtení je v těchto částech výrazně nižší. Dále bylo potřeba sekvence zkontrolovat, ověřit jejich soulad ve čteních z obou směrů. Výsledné sekvence byly exportovány ve formátu FASTA. V programu ClustalX (Higgins & Sharp 1989) byly tyto sekvence zkontrolovány na základě seřazení homologických úseků pod sebe. Pomocí programu Geneious verze 7.1.7. byly jednotlivé geny zalignovány metodou MAFFT za použití algoritmu G-INS-i. Jedná se o rychlou metodu mnohonásobného tvoření aligmentů (Kato & Standley 2013). Poté byl vytvořen formát FASTA, který byl využit v následné fylogenetické analýze – RAxML na severu CIPRES (Miller *et al.* 2010). Tato analýza konstrukce fylogenetického stromu používá metodu maximum likelihood a bootstrapping (Stamatakis 2014). Analýza byla provedena pro každý fragment genu zvlášť, poté došlo ke zkontrolování výsledků jednotlivých analýz a následné konkatenci fragmentů genů. Soubor s fragmenty genů byl zkonkaténován v pořadí *rrnL*, *cox1-3'* a *cox1-5'*. Poté byla opět provedena analýza RAxML. Výsledné stromy byly upraveny do požadované velikosti v programu FigTree v1.4.2 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

#### **4.4 Delimitace druhů**

Určení druhů na základě genetické vzdálenosti a tvaru fylogramu bylo prováděno v programu Species Identifier 1.8 (Meier *et al.* 2006) a na serveru bPTP (Zhang *et al.* 2013).

#### **4.4.1 Species identifier**

Genetická vzdálenost mezi předem morfologicky identifikovanými druhy byla vypočtena jako nekorigovaná a jako hranice pro zjištění potenciálního druhu byly použity hodnoty 2 % a 3 % (Hebert *et al.* 2003)

#### **4.4.2 bPTP**

Poisson Tree Probability model pracuje s větvemi fylogramu, jejichž délka reprezentuje daný počet mutací (Miyamoto & Goodman 1986). Pro tento způsob delimitace byl použit internetový server na stránce <http://species.h-its.org/>.

#### **4.5 Analýza statické podpory pro zjištěné fylogenetické vztahy**

Pro analýzu byly určeny podpory pro jednotlivé úrovně příbuznosti a v programu R byl sestaven graf densit pro jednotlivé úrovně.

#### **4.6 Vyhodnocení geografického původu fylogeneticky příbuzných druhů**

Pro vzorky byly k dispozici geografické informace (Tab. 2). Geografický původ je uveden ve fylogenetických stromech u všech terminálních větví. Geografický původ celých kládů byl odhadnut pro skupiny pocházející ze stejné oblasti. Formální výpočet nebyl prováděn vzhledem k nízké stabilitě hlubokých štěpení ve fylogenetickém stromu. Pro upravení fylogenetického stromu, podbarvení kládů, přidání svorek byl využit program Adobe Photoshop CS6 ([www.adobe.com/cz/Photoshop](http://www.adobe.com/cz/Photoshop))



## 5 VÝSLEDKY

V této práci bylo celkem použito 779 sekvencí zahrnujících 166 sekvencí fragmentu genu *rrnL* o délce 883 párů bází, dále 169 sekvencí fragmentu genu *coxI-3'* o délce 782 párů bází a 444 sekvencí fragmentu genu *coxI-5'*, jejichž délka byla 660 párů bází. Fragmenty genů byly zkonkaténovány v pořadí *rrnL*, *coxI-3'* a *coxI-5'*. Délka alignovaných sekvencí všech tří fragmentů činila 2325 bp.

K fylogenetickým analýzám byly použity sekvence vzorků sekvenovaných v laboratoři molekulární systematiky v Olomouci – 96 sekvencí pro fragment genu *rrnL*, 95 sekvencí pro *coxI-3'* a 104 sekvencí pro *coxI-5'*. K souboru dat bylo přidáno dalších nově sekvenovaných 33 sekvencí zahrnující fragmenty genů *rrnL*, *coxI-3'* a *coxI-5'* (barcode). Přehled jednotlivých fragmentů genů je zobrazen v Tab. 4. Dále byl k analýze poskytnut soubor sekvencí *coxI-5'* (barcode) a vzorky tkání k těmto vzorkům ze spolupracující laboratoře (Canadian Food Agency, Ottawa). Pro sekvenování dalších vzorků bylo zvoleno 96 jedinců, kteří zastupovali vždy alespoň jednoho jedince pro každý dostupný druh nebo odlišnou populaci. Úspěšně osekvenováno bylo 59 sekvencí fragmentu genu *rrnL* a 63 sekvencí fragmentu genu *coxI-3'*. Z téže externí laboratoře byly do souboru dat doplněny fragmenty genu *coxI-5'* v počtu 339 sekvencí, z nichž byly vyřazeny sekvence 10 vzorků pro nízkou kvalitu sekvenování. Tato data byla použita k sestavení datových souborů pro následné fylogenetické analýzy.

Fylogenetické analýzy byly prováděny pro následující dva datové soubory. První analýza obsahovala celý datový soubor se zastoupením všech 779 sekvencí zahrnující převážně fragmenty genu *coxI-5'*, nicméně alespoň jeden jedinec z druhu byl zastoupen i dalšími fragmenty genu. Průměrný počet fragmentů pro jednotlivý terminál byl 1,64 (viz tabulka 4). Z fylogenetického stromu na Obr. 1 se všemi třemi fragmenty genů byli na základě zastoupení, co největšího počtu fragmentů genů, případně dle odlišnosti živných rostlin (*A. viridis*) nebo různých oblastí sběru (*A. asiaticus*) vybráni jedinci z každého kládu tak, aby bylo dosaženo většího zastoupení fragmentů na každý terminál v následující analýze. Tento datový soubor zahrnoval 150 terminálních větví druhu *Agrilus* a 5 terminálních větví jedinců outgroup. Každý z terminálů byl reprezentován v průměru 2,16 fragmenty (viz Tab. 4).

Soubor dat s molekulárními markery je uložen v nukleotidové databázi GenBank. Číselné označení jednotlivých GenBank vzorků je zaznamenáno v Tab. 4. Sekvence *coxI-5'* (barcode), jež byly poskytnuty ze spolupracující laboratoře, budou umístěny do databáze BOLD.

## 5.1 **Fylogenetické vztahy**

Analýzou maximum likelihood MAFFT alignmentu byl vyprodukován strom, uvedený na Obr. 1. Fylogenetický strom vyprodukovaný na základě vybraných 155 terminálů je zobrazen na Obr. 2. *Agrilus* vytvořil monofylum v obou analýzách s 60% a 54% BS. Při srovnání obou vyprodukovaných fylogenetických stromů se ukázalo, že i přes nízkou podporu velkých druhových skupin, jsou topologie podobné a jednotlivé druhové skupiny, zahrnující více jak 10 druhů, jsou přítomny v obou topologiích. Podpora pro příbuzenské vztahy uvnitř druhových skupin byla výrazně vyšší než pro hluboké štěpení mezi většími liniemi (Obr. 1–2).

Druhové skupiny, jež jsou známy z dostupné literatury, byly v analýzách potvrzeny pouze v některých případech. Pokud jde o nízkou podporu a hustotu vzorků, skupiny musí být vnímány jako potenciální jednotky, pro jejichž lepší podporu je zapotřebí větší množství dat. Základní podporované druhové skupiny jsou označeny v Obr. 2, některé linie zůstaly bez pojmenování vzhledem k nejisté podpoře a nízkému počtu zastoupených druhů.

Rozsáhlé klády reprezentující druhové skupiny *A. angustulus*, *A. betuleti*, *A. sinuatus*, *A. albogularis* a *A. viridis* a tři menší druhové skupiny, *A. cyanescens*, *A. convexicollis* a *A. roscidus*, jež zahrnují v jednom případě tři a v druhém případě dva druhy, byly potvrzeny v obou analýzách. Jejich vzájemné příbuzenské vztahy byly pouze slabě podporované. Podpora vzájemných příbuzenských vztahů těchto kládů byla velmi nízká (<20% BS), ale jejich vnitřní vztahy byly podobné a většina skupin dosahovala velmi vysokých podpor 90–100% BS. Celkem 13 druhů představovalo klády nezařazené do žádné z definovaných druhových skupin (Obr. 1–2)

Druhové skupiny *A. convexicollis* a *A. cyanescens* měly sesterské postavení (84–94% BS) a zahrnovaly v obou případech pouze dva morfologicky delimitované druhy. V kontrastu s morfologicky založenou identifikací byly nalezeny čtyři geneticky odlišné linie *A. cyanescens*. Druh *A. asahinai* byl terminální linií vloženou mezi linie *A. cyanescens* (Obr. 1–2). Většina vzorků byla získána z holoarktické oblasti, v některých případech byly vzorky ze stejné oblasti geneticky vzdálené. Skupina *A. convexicollis* byla zastoupena pouze vzorky z Evropy oproti výskytu skupiny *A. cyanescens* v oblastech Evropy, východní Asie a Kanady.

Druhová skupina *A. viridis* obsahovala 116 terminálů v analýze celého datového souboru a 39 terminálů ve výběrové analýze (viz Obr. 1–2). Tento klád zahrnoval 19 morfologicky určených druhů, z nichž jsou některé v literatuře považovány za součást skupiny *A. albogularis* (*A. croaticus*, *A. uhagoni*, *A. cinctus*, *A. macroderus* a *A. integerrimus*). První ze tří zmíněných tvořili samostatný klád se 100% bootstrapovou

podporou v obou fylogenetických analýzách, druhy *A. macroderus* a *A. integerrimus* byly včleněny mezi linie skupiny *A. viridis*. Další vloženou druhovou skupinou do skupiny *A. viridis* byla skupina *A. hyperici* (*A. hyperici*, *A. elegans* a *A. solieri*). Linie druhů *A. elegans*, *A. solieri* tvořila sesterskou skupinu části skupiny *A. albogularis*. Druh *A. hyperici* se vyskytoval v bazální linii skupiny *A. viridis*. Vzorky získané ze Španělska a Francie tvořily samostatnou linii geneticky vzdálenou od vzorků ze Slovenska (viz Obr. 1). Samotná intraspecifická topologie druhu *A. viridis* a jeho poddruhu *A. viridis viridis* se v několika případech rozpadla. Klád byl podpořen střední mírou podpory. V této skupině byl rovněž problematickým druhem *A. politus*, uvnitř jehož kládu se nacházely druhy *A. burkei* a *A. pseudocoryli*. Většina druhů skupiny *A. viridis* byla získána z oblasti Evropy, pouze druhy *A. burkei*, *A. politus* a *A. pseudocoryli* pocházely ze Severní Ameriky, stejně jako některé linie druhů *A. cuprescens* a *A. ribesi*. Druh *A. salicivola* pocházel z oblasti východní Asie. Z Asie byly také dva malé klády v bazálních liniích tohoto celého velkého kládu zahrnující druhy *A. egenus*, *A. semicadacus*, *A. asiaticus* a dva neznámé druhy pocházely z oblasti jižní a východní Asie (Obr. 1).

Další velký klád reprezentující 16 druhů v literatuře patřících do skupiny *A. angustulus* byl podpořen 77–86% BS. V kontrastu s docela vysokou podporou tohoto monofyla byla vnitřní topologie většiny interspecifických vztahů kládu velmi nízkou podporovanou (Obr. 1–2). Tento klád byl tvořen 97 liniemi v analýze celého datového souboru a 24 liniemi ve výběrové analýze. Většina druhů pocházela z Evropy, některé druhy z východní Asie a Kanady. Druhy *A. euonymi* a *A. tempestivus* pocházející z Ruska a morfologicky neidentifikovaný druh z Číny se v obou analýzách objevovaly jako sesterská skupina *A. angustulus*. Podpora tohoto kládu však byla nízká (29–30% BS). Při porovnání morfologicky a molekulárně určených druhů došlo v tomto kládu pouze k jedinému konfliktu. Druh *A. adelphinus* se v obou analýzách ukázal jako geneticky neodlišitelný od druhu *A. ribbei* (Obr. 1–2).

Následující klád zahrnující 21 druhů rozdělených do tří menších kládů, mezi nimi druhové skupiny *A. albogularis* a *A. betuleri*, byl podpořen pouze velmi slabě v obou analýzách (2–3% BS). Jeho struktura se v jednotlivých analýzách mírně lišila. V analýze zahrnující výběr 155 sekvencí (Obr. 2) se navíc k tomuto kládu přidružil nepojmenovaný druh z Indonésie, který se v případě analýzy celého datového souboru (Obr. 1) vyčlenil jako samostatná linie mimo tento klád. Dále v analýze celého datového souboru (Obr. 1) došlo ke sloučení dvou větších kládů, ale tato topologie byla rovněž slabě podporovaná. Nicméně, vnitřní topologie těchto dvou kládů byla v obou analýzách podpořena velmi vysokou podporou 70–100% BS (Obr. 1–2). Klád zahrnující druhy *A. lacroixi*, *A. yamawakii* a *A.*

*rivalieri* byl v obou analýzách podpořen pouze velmi nízkou podporou 8–12% BS. Při srovnání morfologicky a molekulárně zjištěných druhů došlo v kládu zahrnující druhy *A. albogularis*, *A. perisi* a *A. sinensis* k oddělení jednotlivých morfologicky delimitovaných poddruhů druhu *A. albogularis*. Nominotypický poddruh *A. albogularis albogularis* vykazoval bližší příbuznost ke druhu *A. ecarinatus* než k vlastnímu druhu *A. albogularis* a poddruhu *A. albogularis artemisiae*, jež byl blíže příbuzný druhu *A. perisi* a společně tvořili samostatný klád. V kládu zahrnujícím převážně druhovou skupinu *A. betuleti* došlo ke konfliktu morfologických a molekulárních dat v několika liniích. Druh *A. arcuatus* byl pro analýzu získán v počtu sedmi morfologicky delimitovaných vzorků. Naprostá většina vzorků vytvořila v analýze celkého datového souboru (Obr. 1) oddělenou linii se 100% bootstrapovou podporou. Jeden ze vzorků druhu *A. arcuatus* vytvořil samostatnou linii s druhy *A. masculinus* a *A. crateagi*. Druh *A. masculinus* rovněž vytvořil samostatnou větev se 100% bootstrapovou podporou v celém datovém souboru (Obr. 1). Bazální linie tohoto kládu pocházely z oblasti jižní a východní Asie, odvozenější linie pak z oblasti Evropy a Kanady (Obr. 2).

Poslední velký klád měl v analýze celého datového souboru 118 terminálů (viz Obr. 1) a v analýze souboru vybraných linií obsahoval 35 linií (viz Obr. 2) zahrnujících 29 druhů rodu *Agrius*. Podpora tohoto kládu byla v obou analýzách nízká, stejně jako v některých vnitřních sesesterských topologiích. Molekulární delimitace druhů byla podpořena v obou analýzách ve většině případů vysokou bootstrapovou podporou (viz Obr. 1–2). Velmi silnou podporu (97–100% BS) měl v obou analýzách klád zahrnující skupinu druhů *A. roscidus* (Obr. 1–2). V kontrastu s touto podporou, se druh *A. roscidus* rozpadl na několik linií obsahující v některých případech i další druhy druhové skupiny *A. roscidus* (viz obr 1–2). Druhy *A. anxius* a *A. pensus* pocházející z Kanady vytvořily jednu společnou linii s podporou 99–100% BS v obou analýzách. Bazální linie druhové skupiny *A. roscidus* pocházela pouze z Evropy. Původ dalších druhů byl zjištěn ve většině případů z Asie, v odvozenějších liniích se vyskytovaly druhy pocházející z Evropy a Kanady (Obr. 2). Nejasnou topologii druhu *A. viscivorus* lze pozorovat v analýze velkého datového souboru (Obr. 1). Tento druh byl pro laboratorní účely získán v počtu dvou kusů. Každý ze vzorků však zaujal místo v naprosto jiném kládu. V jednom případě v kládu zahrnující skupinu druhů *A. viridis*, ve druhém v kládu druhové skupiny *A. roscidus*.

Morfologické rozruznění některých druhů na poddruhy nebylo molekulárně potvrzeno. Například druh *A. sulcicollis* byl v analýze se svým nominotypickým poddruhem *A. sulcicollis sulcicollis* téměř geneticky neodlišen.

Na základě zjištěných fylogenetických vztahů byl v programu R sestaven graf densit jednotlivých úrovní, který hodnotil jejich bootstrapovou podporu. Nejvyšší úrovně podpory dosáhly linie na 1. úrovni příbuznosti, další úrovně měly klesající tendenci a nejnižší bootstrapové podpory dosáhly linie pod úrovní 5. (viz Obr. 3).

## 5.2 Molekulární delimitace druhů

Z celkového počtu 468 vzorků použitých pro fylogenetické analýzy bylo morfologicky identifikováno 427 vzorků. Z toho 9 jedinců tvořilo outgroup, jež zahrnovala druhy *Nalanda fulgidicollis*, *Nalanda ohbayashii primoriensis*, *Trachys minuta minuta*, *Coraebus elatus* a *Coraebus* sp. Tato morfologická identifikace byla prováděna před izolací DNA.

Studovaná skupina tvořila 86 morfologicky určených druhů rodu *Agrilus*, z nichž většina pocházela z Evropy – 40 druhů, 31 druhů z jižní a východní Asie a 20 ze Severní Ameriky. V jednotlivých počtech druhů z těchto tří oblastí světa je zohledněn výskyt jednoho druhu ve více oblastech, např. druh *A. cyanescens* byl získán z asijské oblasti Ruska, z Kanady a ze Slovenska. Pro 2 vzorky nebyly k dispozici informace ani o původu, ani o výskytu na živné rostlině. V analýze se nacházelo 30 jedinců, kteří nebyli morfologicky určeni a byli označeni jako *Agrilus* sp. Z pozice v jednotlivých kládech fylogenetického stromu lze usuzovat na jejich fylogenetické zařazení do systému, případně jejich blízkou příbuznost k určitému morfologicky identifikovanému taxonu. Pomocí fylogenetické analýzy bylo určeno 15 jedinců a nově klasifikováno v morfologicky určených druzích. Určení těchto druhů bylo provedeno na základě vysokých podpor vzniklých topologií, které se pohybovaly od 92 do 100% BS. Prvním molekulárně delimitovaným vzorkem byl řecký vzorek A00668, který měl téměř totožný molekulární záznam jako morfologicky určený poddruh *A. cuprescens cuprescens* ze Slovenska. Nicméně ve výsledku fylogenetické analýzy byla tato linie součástí linie druhu *A. ribesi* a je možné, že se jedná pravděpodobněji o poddruh *A. ribesi* než poddruh druhu *A. cuprescens*. Dalším molekulárně určeným vzorkem se stal vzorek A00669, jež byl určen jako *A. sulcicollis*. Vzorky CNC7623 a CNC7624 byly geneticky identifikovány jako druh *A. ribbei*. V linii druhu *A. angustulus* byly jako tento druh potvrzeny vzorky A00670 a CNC4666. V linii druhu *A. alutaceicollis* bylo potvrzeno předběžné určení vzorku EJ0242, jež byl původně nazván *A. cum alutaceicollis*. Dále byl v této linii nově určen vzorek CNC7612. Vzorek CNC7302 byl odhadnut jako velmi blízce příbuzný druhu *A. masculinus*. Vzorky CNC0417, CNC7310 a CNC7311 byly ve fylogenetických analýzách součástí terminální linie druhu *A. osburni*. V komplikované skupině druhů *A. roscidus* byly vzorky A00664 a CNC0366 velmi blízce příbuzní morfologicky určeným vzorkům druhu *A.*

*roscidus*. Nicméně je potřeba brát na zřetel, že morfologická a molekulární data v této skupině příliš neshodují a samotný druh *A. roscidus* tvoří několik geneticky rozrůzněných linií. Posledním molekulárně delimitovaným vzorkem je vzorek CNC7309, který byl určen jako *A. anxius*. Tyto molekulárně delimitované druhy jsou uvedeny na Obr. 1 a 2, ve kterých jsou odlišeny hranatou závorkou. Dalších 11 neznámých druhů (15 vzorků), jež nebylo možné molekulárně delimitovat, zůstalo označeno jako *Agrilus* sp. a dále ve výsledcích odlišeno pomocí písmen abecedy. V analýze se tedy nacházelo celkem 97 druhů.

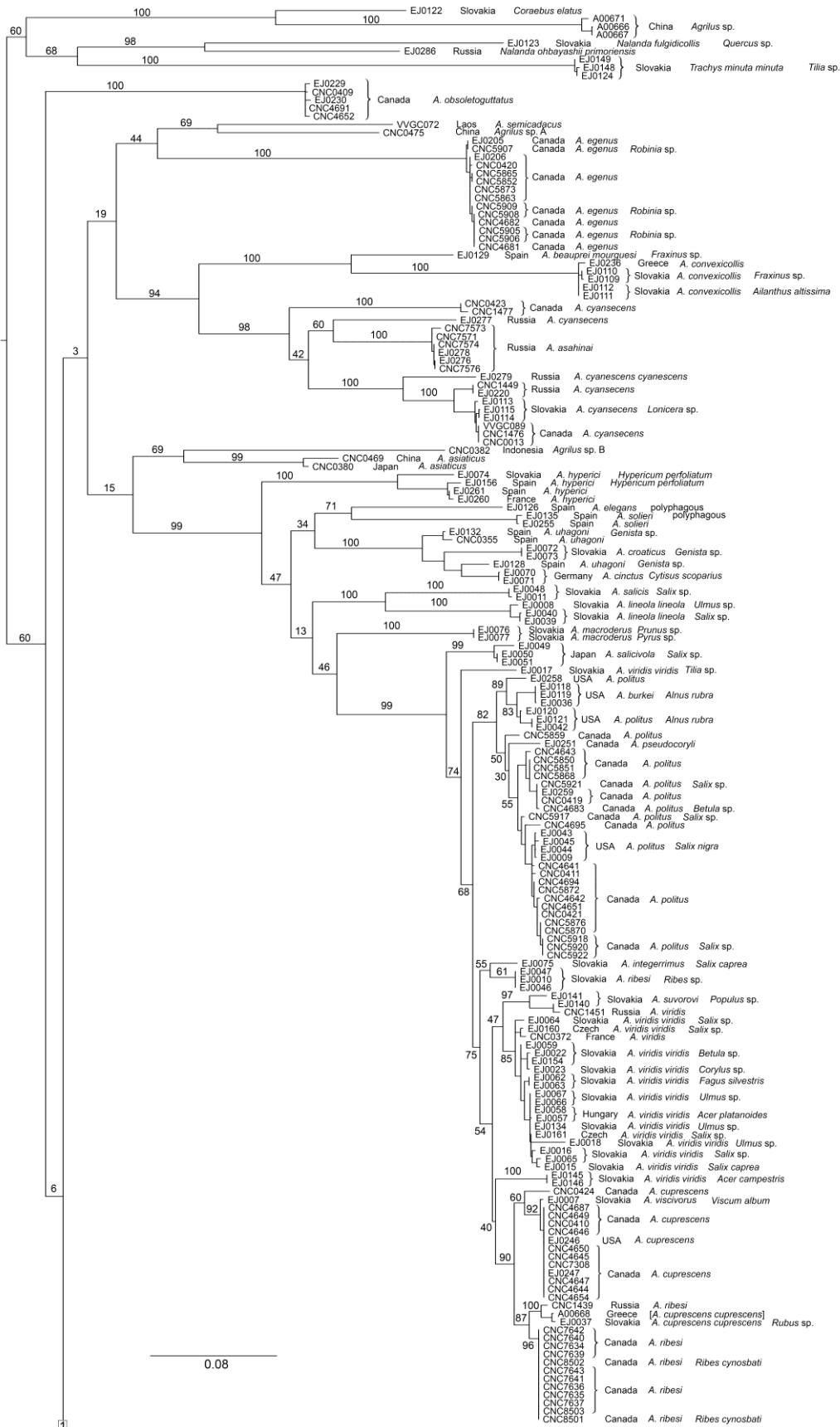
Zjištěných 97 druhů bylo podrobena molekulární delimitaci pomocí programů Species identifier a bPTP. Počet delimitovaných druhů se pohyboval od 65 do 171 druhů v závislosti na použitém fragmentu genu a metodě delimitace. Počty morfologicky zjištěných a molekulárně delimitovaných druhů jsou uvedeny v Tab. 5. Výsledkem delimitace fragmentu genu *rrnL* za pomoci bPTP byl získán počet 79 druhů, při použití 2% práhu byl v programu Species identifier získán počet 76 druhů, při použití 3% prahové vzdálenosti 65 druhů. Morfologický předpoklad druhů z fragmentu *rrnL* byl 69 druhů. Výsledkem delimitace fragmentu *cox1-3'* pomocí bPTP byl získán počet 85 druhů, při použití 2% práhu byl v programu Species Identifier získán počet 78 druhů a při 3% práhu 84 druhů. Morfologicky delimitovaných druhů bylo 75. V případě fragmentu *cox1-5'* bylo programem bPTP odhaleno 171 druhů. Species Identifier odhadl při 2% vzdálenosti 115 druhů a při 3% vzdálenosti 104 druhů. Morfologicky bylo delimitováno 95 druhů. Výsledky molekulární delimitace jsou zobrazeny v Tab. 6.

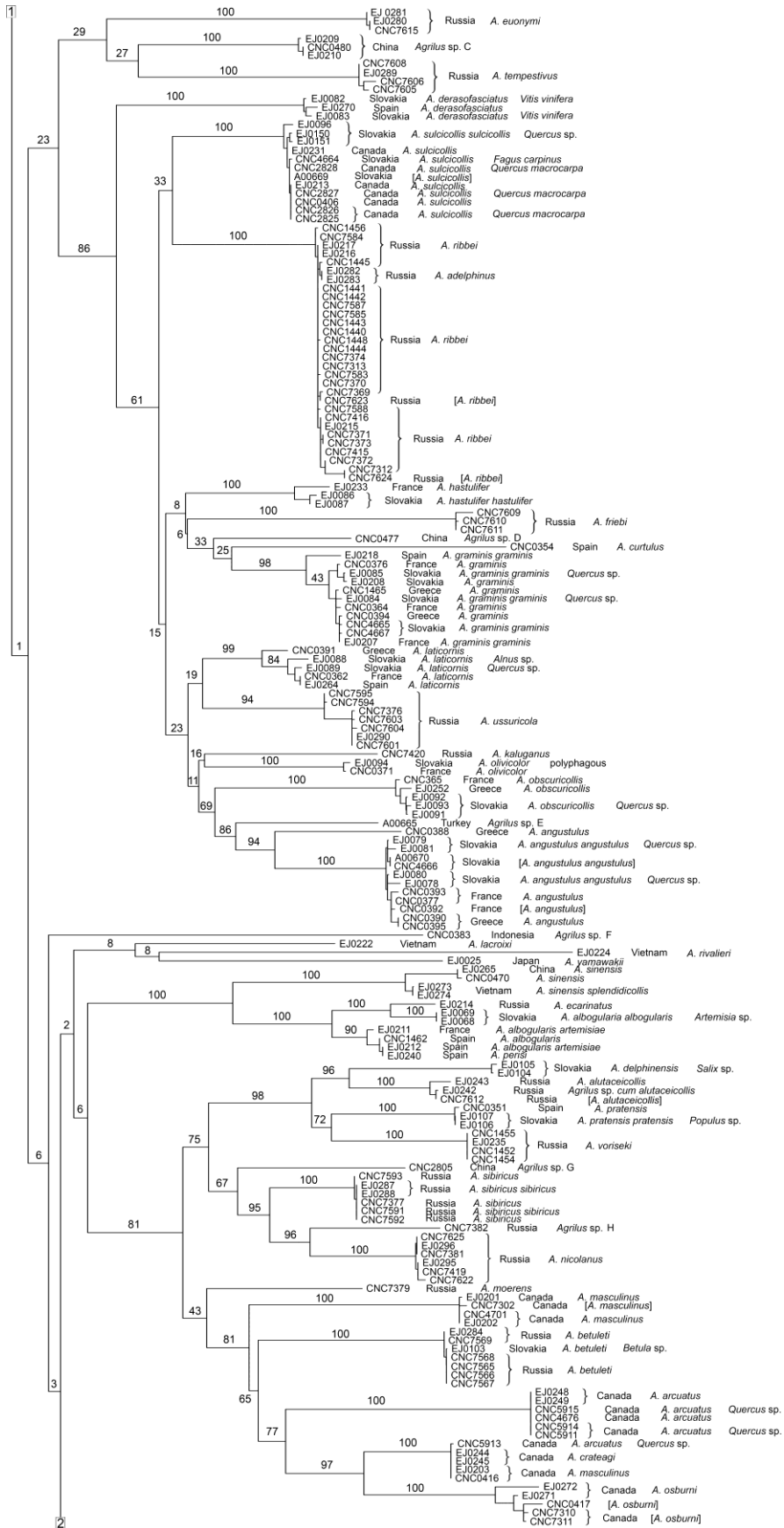
### 5.3 Použité zkratky

BS – hodnota podpory v bootstrapping analýze, Maximum likelihood analýza

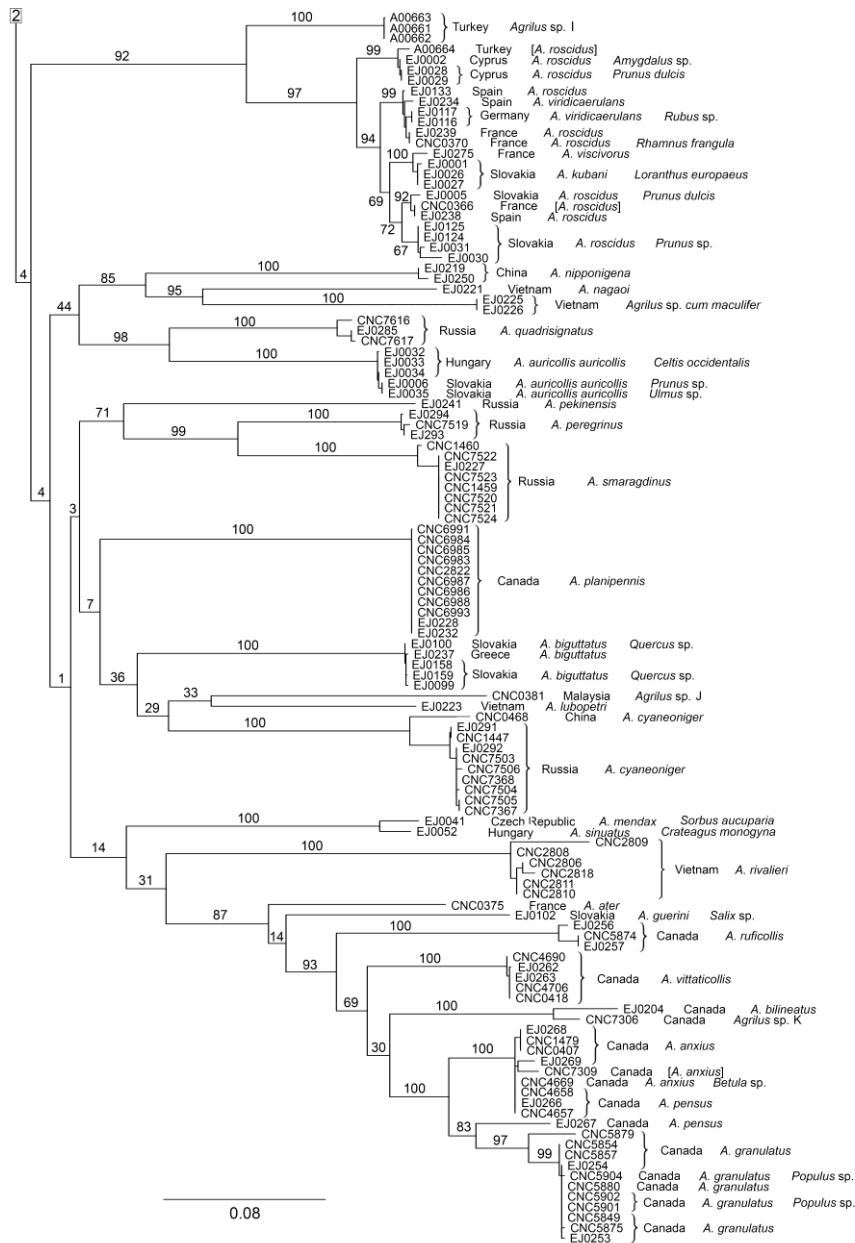
**Tabulka 5.** Počty morfologicky delimitovaných druhů pro datové soubory reprezentující jednotlivé fragmenty genů a pro všechny fragmenty genů dohromady.

| <b>Fragment genu</b>    | <b>Morfologicky určeno</b> | <b>Genetická vzdálenost 2 %</b> | <b>Genetická vzdálenost 3 %</b> | <b>bPTP</b> |
|-------------------------|----------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------------|
| <i>rrnL</i>             | 69                         | 76                              | 65                              | 79          |
| <i>cox1-3'</i>          | 75                         | 84                              | 78                              | 85          |
| <i>cox1-5'</i>          | 95                         | 115                             | 104                             | 171         |
| kompletní datový soubor | 97                         | -                               | -                               | -           |

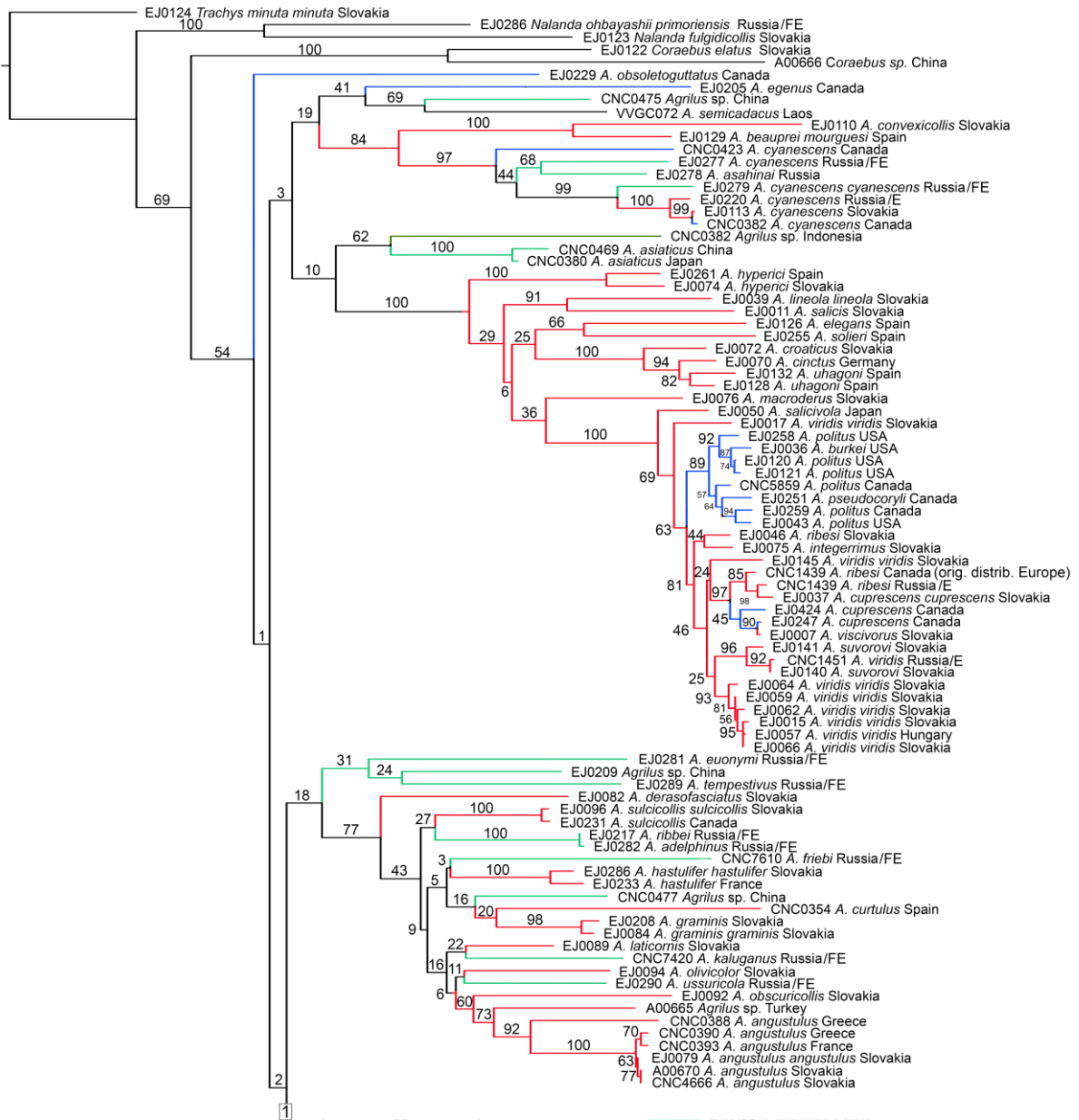


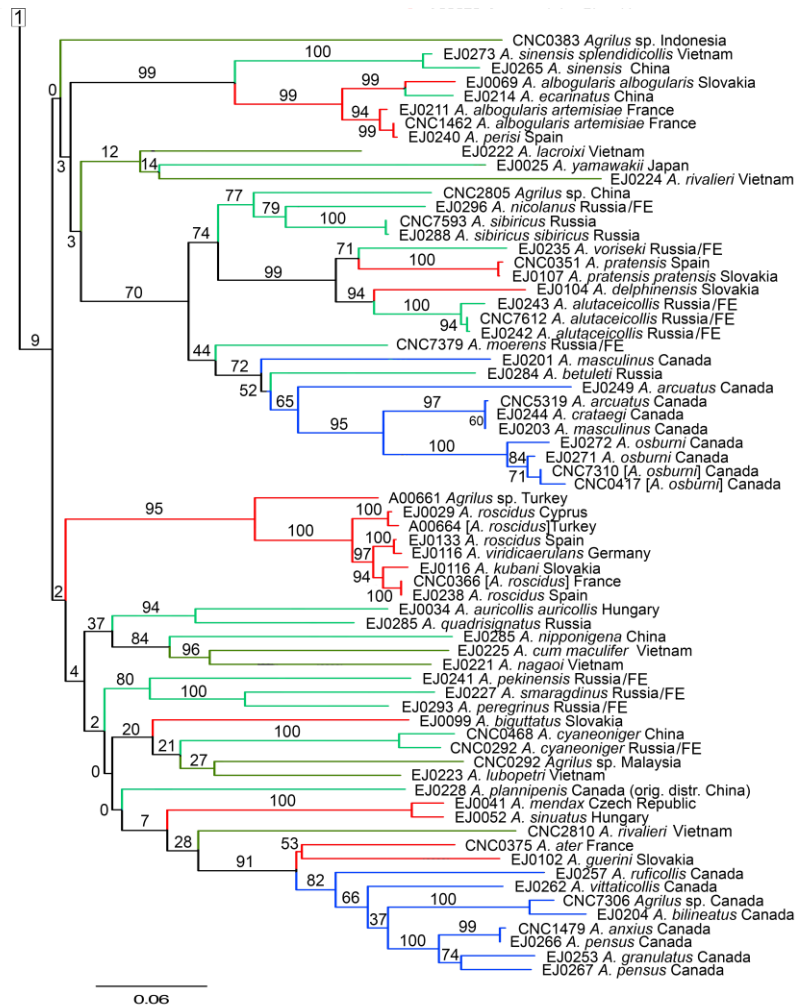




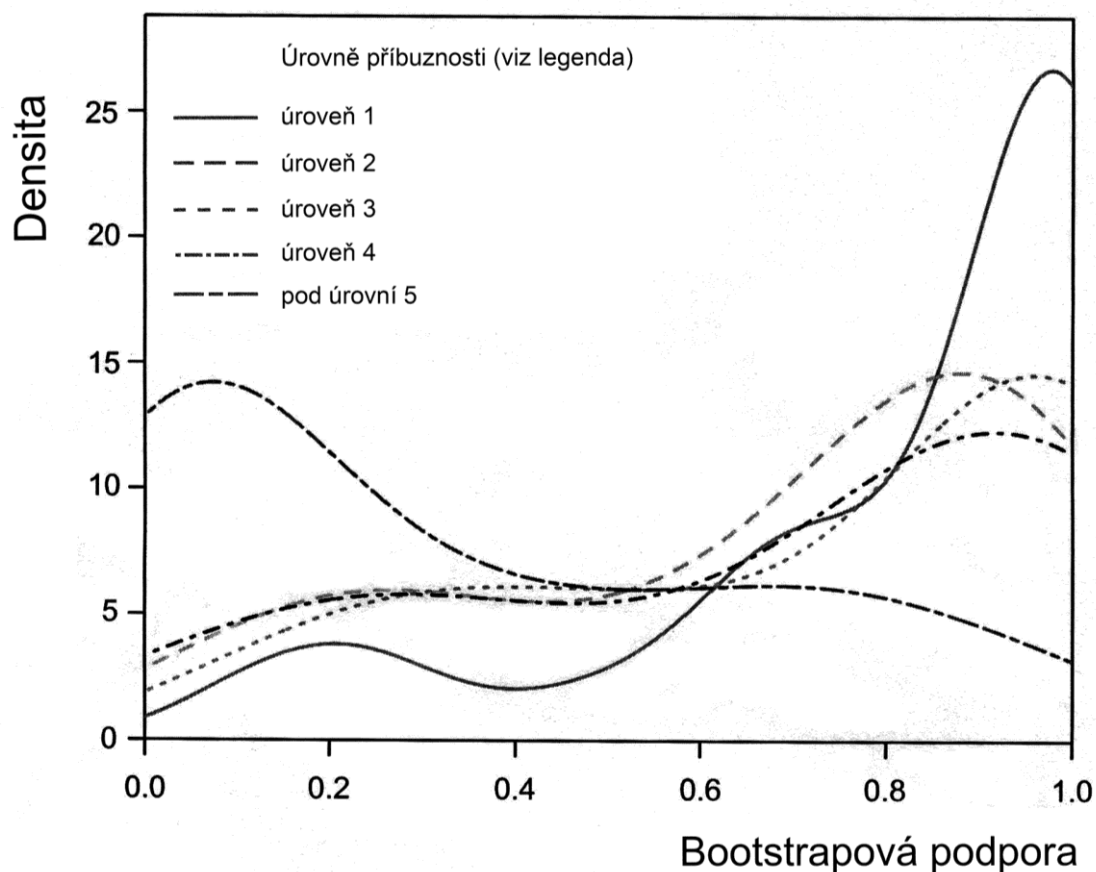


**Obrázek 1.** Fylogenetická hypotéza o příbuznosti studovaných druhů rodu *Agrilus* založená na kompletní datové matici. Pro terminály jsou uvedeny názvy druhů, případně hostitelské rostliny a oblasti sběru. Procentní číselné údaje při jednotlivých větvích označují bootstrapové podpory.





**Obrázek 2.** Fylogenetická hypotéza o příbuznosti studovaných druhů rodu *Agrilus* založená na výběru terminálů reprezentujících jednotlivé druhy nebo geneticky diversifikované populace. Pro terminály jsou uvedeny názvy druhů, případně hostitelské rostliny a oblasti sběru. Procentní číselné údaje při jednotlivých větvích označují bootstrapové podpory. Jednotlivé terminály jsou barevně odlišeny na základě geografického původu. V případě vzorků z Ruska je znázorněn jejich evropský (E), nebo východoasijský (FE) původ.



**Obrázek 3.** – Densita bootstrapových podpor pro jednotlivé úrovně příbuznosti. Úrovně: 1 – sesterské druhy, 2 – dvojice druhů a jejich sesterský druh nebo dvojice druhů, 3 – klád úrovně dva a jeho sesterský klád obsahující maximálně 4 terminály, 4 – klád úrovně tři a jeho sesterský klád obsahující maximálně 8 terminálů. Ostatní hlubší úrovně byly hodnoceny jako jedna kategorie.

## 6 DISKUZE A ZÁVĚR

Taxonomické zpracování rodu *Agrilus* představuje výzvu, která se v živočišné říši vyskytuje jen zřídka. Kromě značné alfa-taxonomické diversity, jsou všichni jedinci rodu *Agrilus* morfologicky velmi uniformní a jejich diagnostika se omezuje na posouzení tvaru štítu, očí, tykadel nebo krovek. Ačkoliv má zbarvení někdy diagnostickou hodnotu, často dochází k výskytu barevných forem i uvnitř druhů (Bily 1989).

V této práci byla vytvořena rozsáhlá databáze fragmentů mitochondriální DNA, která obsahuje více jak 770 sekvencí, reprezentujících mitochondriální fragmenty 460 jedinců rodu *Agrilus*. Zpracováno bylo 86 morfologicky delimitovaných druhů a 11 druhů, jež nebyly morfologicky určeny. Tato databáze tedy zachycuje cca 3 % z více než 3000 druhů rodu *Agrilus* (Bellamy 2010, Jendek & Polakova 2014). Ve srovnání s hustotou sekvenování celého řádu Coleoptera, tj. 2,3 % světové diversity, se jedná o mírně nadprůměrnou hodnotu (Bocak *et al.* 2014). Na každý sekvenovaný druh v průměru připadá 4,73 vzorků. Tento počet vzorků na druh zaručuje přesnější molekulární identifikaci, jež je nezbytná pro genetickou delimitaci druhů a zachycení vnitrodruhové variability (Hebert *et al.* 2003). Je totiž málo pravděpodobné, že by mohlo dojít k nesprávným molekulárním závěrům na základě hodnocení pouze jednoho vzorku jednoho druhu.

Monofylie druhu *Agrilus* byla podpořena pouze středními bootstrapovými hodnotami 60 % a 54 %, což je dáno zejména značnou genetickou diversitou vzorků pocházejících z celé oblasti severní polokoule a zvolenými fragmenty, které jsou vysoce variabilní a v případě třetí pozice v proteiny kódujících sekvencích dochází k značnému stupni saturace. Tyto fragmenty byly zvoleny především s ohledem na možnosti delimitace druhových skupin a druhů a tato studie není zaměřena fylogeneticky. Výsledky jednotlivých analýz se z hlediska topologie druhových skupin a druhů lišily mírně, a to pouze v některých liniích, jejich bootstrapové podpory byly přibližně stejné. Tyto drobné rozdíly jsou dány odlišným charakterem datových souborů. Z důvodu morfologické uniformity nebyly dosud definovány formální názvy podrodů a pro snadnou orientaci v několika tisících popsáných druhů vyskytujících se po celém světě byly navrženy druhové skupiny (Jendek & Polakova 2014). Tyto druhové skupiny byly podpořeny pouze částí případů a bylo nutné ponechat cca 15 druhů mimo definované druhové skupiny.

Základním cílem této studie je sestavení databáze sekvencí pro identifikaci druhů molekulárními metodami, především identifikaci neznámých vzorků rodu *Agrilus* mimo oblast původního rozšíření. Invazivní druhy je obtížné v takto uniformní skupině určit bez

srovnávacích sbírek a molekulární identifikace je ekonomicky nejvýhodnějším řešením (Hespenheide *et al.* 2011). Tento datový soubor může být následně rozšiřován, aby mohl sloužit k rutinní molekulární identifikaci. Problém invazivních druhů je možné demonstrovat na velmi vysokých škodách způsobených čínským druhem *A. planipennis* v Severní Americe (Haack *et al.* 2002, Liu *et al.* 2003). Všechny druhy rodu *Agrilus* jsou totiž díky své schopnosti dobrého přežívání v napadeném dřevě (Lopez & Hoddle 2014), dobré schopnosti letu na velké vzdálenosti (Taylor *et al.* 2010) a schopnosti etablovat invazivní populace mimo původní oblasti výskytu (McCullough *et al.* 2009, Dunn *et al.* 1986) významnými škůdci (Akers & Nielsen 1986, Haack *et al.* 1983, Gordon *et al.* 1997). Titi brouci jsou schopni úspěšně napadat nové živné rostliny nebo hostitelské rostliny mimo oblast původního výskytu a osídlit nová území, a tak se stávají potenciální hrozbou, kterou je potřeba rychle identifikovat a podniknout příslušné kroky k odvrácení ekonomických škod (Aukema *et al.* 2011).

Počet druhů sekvenovaných v této studii sice tvoří 3 % z celkového počtu přibližně 3000 druhů (Bellamy 2010). Ze zjištěných výsledků však lze usuzovat, že počet dosud popsáných druhů rodu *Agrilus* je nižší než skutečná diversita této skupiny a některé druhy je možno identifikovat molekulárně avšak nikoliv morfologicky, např. jednotlivé linie *A. viridis* nebo *A. roscidus*. Ačkoliv je možné, že pozorovaná genetická diversita může být v některých případech výsledkem introgrese, minimálně část pozorované diversity je vázána na rozdílné živné rostliny a znamená přinejmenším částečnou reprodukční izolaci daných populací. Příkladem mohou být populace druhu *A. viridis* a poddruhu *A. lineola lineola*.

## 6.1 Srovnání morfologicky a molekulárně určených druhů

Při srovnání morfologicky a molekulárně delimitovaných druhů bylo zjištěno několik konfliktních fylogenetických kládů založených na molekulárních datech, která morfologickou identifikaci nepodpořila. Například druh *A. viridis* je podle obou fylogenetických analýz považován za velmi nesourodý a zdá se, že jeho nejednotnost by mohla mít příčinu v značném polymorfismu populací v závislosti na výskytu na jednotlivých živných rostlinách (viz Obr. 1). Některé jeho populace jsou dokonce tak vzdáleny, že by se mohlo jednat o samostatné druhy (Bernhard *et al.* 2005, Pentinsaari *et al.* 2014). Stejně jako druh *A. viridis*, se druh *A. politus* ve skupině *A. viridis* jeví jako polyfág. Zajímavé je, že druhy *A. politus*, jejichž živnou rostlinou byl *Alnus rubra*, stejně jako v případě *A. burkei*, jsou druhu *A. burkei* mnohem příbuznější než ostatním jedincům svého druhu získaným z jiných živných rostlin –

např. ze *Salix nigra*, *Salix* sp. a *Betula* sp. Jiná situace nastala v případě druhu *A. hyperici*, kde lze uvažovat rozruznění jeho linií na základě geografického původu.

Druhy *A. adelphinus* a *A. ribbei*, jež byly v morfologické identifikaci považovány za samostané druhy se v molekulární analýze objevily ve společné linii. Je tak velmi pravděpodobné, že se jedná o druhy totožné. Díky molekulární delimitaci mohla být vyvrácena nejistota, s kterou byl určen vzorek CNC0392 druhu *A. angustulus*, jež byl původně uvažován jako druh *A. sulcicollis*. Tato záměna byla pravděpodobně způsobena značnou morfologickou podobností. Velkou samici druhu *A. angustulus* lze jen stěží odlišit od malé samice druhu *A. sulcicollis* (Jendek & Grebennikov 2009).

Druh *A. perisi* byl jako samostatný navržen v minulosti (Cobos 1986), ale v některých pracích byl uveden jako poddruh druhu *A. albogularis* (Arnáiz-Ruiz & Bercedo-Páramo 2002). Zde se jeho taxonomické postavení jako součást *A. albogularis* potvrdilo a molekulární data ukazují, že by se mohlo jednat o synonymum a nikoliv poddruh. Rozdělení druhu *A. albogularis* na dvě linie nejspíš naznačuje vznik dvou samostatných druhů (viz Obr. 1). Přičemž linie morfologicky determinovaných vzorků *A. albogularis albogularis* je geneticky bližší druhu *A. ecarinatus* než druhé linii *A. albogularis* a jeho poddruhů.

Konflikt morfologických a molekulárních dat v druhové skupině *A. betuleti* si lze vysvětlit špatnou morfologickou identifikací. Druh *A. masculinus*, který v obou analýzách vytvořil samostatnou linii s vysokou bootstrapovou podporou 100 %, byl v analýze celé datové matice (Obr. 1) v případě dvou vzorků přidružen ke druhům *A. crateagi* a *A. arcuatus*. Druh *A. arcuatus* také vytvářel samostatnou silně podpořenou linii (viz Obr. 1). Vzniklá větev zahrnující druhy *A. masculinus*, *A. crateagi* a *A. arcuatus* je tak pravděpodobně linií druhu *A. crateagi*. Podobná situace nastala v kládu obsahujícím druhy *A. anxius* a *A. pensus*. Tyto dva morfologicky delimitované druhy nevytvořily v molekulární analýze odlišné linie, nicméně, jeden ze vzorků druhu *A. pensus* vytvořil samostatnou větev, sesterskou ke druhu *A. granulatus*. Zdá se, že se opět jedná o špatnou morfologickou identifikaci většiny jedinců určených jako druh *A. pensus*. Tato fakta ukazují na obtížnost morfologické identifikace ve skupině s vysokým počtem druhů a morfologickou uniformitou (Hespenheide *et al.* 2011).

Monofylum druhu *A. roscidus* nebylo podpořeno v žádné z analýz. V případě tohoto druhu lze uvažovat dvě situace. První z možností je výsledek introgrese, při které byla do genomu jednoho druhu nebo populace zanesena genetická informace druhu druhého. Pro přesnější molekulární zařazení by tak bylo potřeba získat genetické informace z jaderného genomu, kde se introgrese neprojeví. Druhou možností je rozlišení jednotlivých linií na základě přechodu jednotlivých populací na jinou živnou rostlinu. Data o výskytu

jednotlivých vzorků na živných rostlinách nebyla získána pro tuto práci v plném rozsahu. Nicméně, částečně zjištěná data tuto teorii podporují. Součástí skupiny druhů *A. roscidus* byl druh *A. viscivorus*. Je možné, že se jedná původně o druh *A. roscidus*, který se vyskytoval na živné rostlině parazitované jmelím – *Viscum album*, jež je uváděnou živnou rostlinou morfologicky určeného druhu *A. viscivorus* (Bily 1991). Druh *A. viscivorus* tak mohl speciovat a geneticky se odlišit od původních populací. V analýze však byly zpracovány dva vzorky zastupující druh *A. viscivorus*. Vzorek pocházející ze Slovenska nevytvořil stejnou linii se vzorkem z Francie, dokonce se vyskytovali v úplně jiné druhové skupině. Je velmi pravděpodobné, že slovenský jedinec, který zaujmul místo v druhové skupině *A. viridis* byl pouze špatně morfologicky delimitován a jedná se o druh *A. cuprescens*.

V této práci bylo delimitováno několik formálně neurčených druhů. Toto určení bylo provedeno přímým vyhodnocením fylogenetické hypotézy na fylogenetickém stromě sestrojeném na základě analýzy RAxML (Obr. 1-2). Dále byla provedena delimitace za pomoci specializovaných programů Species Identifier a bPTP. Algoritmus delimitace druhů byl navržen jako identifikační nástroj, který by měl být primárně založen na morfologii (Hebert & Gregory 2005, Meier *et al.* 2006) nebo jako nástroj pro identifikaci neznámých vzorků v případech, kdy je diversita vzorků vysoká a taxonomická identifikace neefektivní a neekonomická (Vogler & Monaghan 2006, Hendrich *et al.* 2015). Pro práci v programu Species Identifier bylo nutné stanovit práh odlišnosti jednotlivých vzorků daného druhu. Pro tyto analýzy bývá běžně používán 3% práh (Hebert & Gregory 2005). V této diplomové práci byl použit 2 a 3% práh odlišnosti. Nejkomplikovanější situace nastala při hodnocení druhových skupin *A. viridis* a *A. roscidus*. pro jejichž hodnocení bude zapotřebí další detailní studie, která vyvrátí, že by se při odlišení jednotlivých linií mohlo jednat o mitochondriální introgresi (Hendrich *et al.* 2015). Ačkoliv v některých studiích byla prokázána i velmi malá genetická divergence i v případě velmi dobře morfologicky odlišitelných druhů (Baselga *et al.* 2013b, Bocek & Bocak 2016), aplikace vyšších prahových hodnot vedla i v případě *Agrilus* k velkému nadhodnocení počtu delimitovaných druhů na základě genetické vzdálenosti (Tab. 6). Vysvětlením v tomto případě může být značná velikost areálů a s tím související neutrální vznik genetické diversity, jak bylo dříve demonstrováno např. v práci Baselga *et al.* (2013a) nebo Li *et al.* (2015).

Tato práce sice zahrnuje pouze 3 % druhů z velmi rozsáhlé skupiny rodu *Agrilus*, ale tvoří základní kostru pro projekt, ve kterém by byla shromážděna celá databáze vzorků rodu *Agrilus*. Identifikace blízkých příbuzenských vztahů je poměrně spolehlivá (Obr. 1-2). Předpokládám, že neidentifikované vzorky, které by nebylo možno určit na druhovou úroveň,



by vzhledem k rozsahu databáze měly být zařazeny do druhové skupiny, eventuálně do kládu obsahující zástupce z určité geografické oblasti. Na základě takových informací lze usuzovat, o jaký druh by se mohlo přibližně jednat, jestli vzorek reprezentuje s vysokou pravděpodobností invazivní druh (Obr. 2).

## 7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Akers, R. C. & Nielsen, D. G. (1986). Influence of post-felling treatment of birch logs on emergence success of bronze birch borer, *Agrilus anxius*, adults (Coleoptera: Buprestidae). *Journal of Entomological Science*, 21, 63–67.
- Arnáiz-Ruiz, L. & Bercedo-Páramo, P. (2002). On the new status of *Agrilus perisi* Cobos, 1986 (Coleoptera: Buprestidae). *Zootaxa*, 84, 1–8.
- Aukema, J. E., Leung, B., Kovacs, K., Chivers, C. *et al.* (2011). Economic impacts of non-native forest insects in the continental United States. *PLoS One*, 6, e24587.
- Baranchikov, Y., Mozolevskaya, E., Yurchenko, G. & Kenis, M. (2008). Occurrence of the emerald ash borer, *Agrilus planipennis* in Russia and its potential impact on European forestry. *EPPO bulletin*, 38, 233–238.
- Baselga, A., Fujisawa, T., Crampton-Platt, A., Bergsten, J. *et al.* (2013a). Whole-community DNA barcoding reveals a spatio-temporal continuum of biodiversity at species and genetic levels. *Nature Communications*, 4, 1892.
- Baselga, A., Gómez-Rodríguez, C., Novoa, F. & Vogler, A. P. (2013b). Rare failures of DNA bar codes to separate morphologically distinct species in a biodiversity survey of Iberian leaf beetles. *PLoS One*, 8(9), e74854.
- Bellamy, C. L. (2008). *World catalogue and bibliography of the jewel beetles (Coleoptera: Buprestidae), Volume 4, Agrilinae: Agrilina through Trachyini*. Pensoft Series Faunistica, Pensoft Publishers, Sofia-Moscow, 79, 1932–2684 pp.
- Bellamy, C. L. (2010). New synonymy and combination in Buprestidae (Coleoptera). *The Pan-Pacific Entomologist*, 86, 95–99.
- Bernhard, D., Fritsch, G., Glockner, P. & Wurst, C. (2005) Molecular insights into speciation in the *Agrilus viridis*-complex and the genus *Trachys* (Coleoptera: Buprestidae). *European Journal of Entomology*, 102, 599–605.
- Billings, R. F., Grosman, D. M. & Pase III, H. A. (2014). Soapberry borer, *Agrilus prionurus* (Coleoptera: Buprestidae): an exotic pest threatens western soapberry in Texas. *Southeastern Naturalist*, 13, 105–116.
- Bily, S. (1989). *Krascoviti (Buprestidae)*. Academia Praha, 120 pp.
- Bily, S. (1991). Two new species of *Agrilus roscidus* species-group from Central Europe (Coleoptera: Buprestidae). *Acta Entomologica Bohemoslovaca*, 88, 371–375.

- Bily, S. (2002). *Summary of the bionomy of the Buprestid beetles of Central Europe (Coleoptera: Buprestidae)*. National Museum, Department of Entomology, Praha, 103 pp.
- Bocak, L., Barton, C., Crampton–Platt, A., Chesters, D. *et al.* (2014). Building the Coleoptera tree–of–life for > 8000 species: composition of public DNA data and fit with Linnaean classification. *Systematic Entomology*, 39, 97–110.
- Bocek, M. & Bocak, L. (2016). Species limits in polymorphic mimetic Eniclases net-winged beetles from New Guinean mountains (Coleoptera: Lycidae). *ZooKeys*, 593, 15–35.
- Bray, A. M., Bauer, L. S., Poland, T. M., Haack, R. A. *et al.* (2011). Genetic analysis of emerald ash borer (*Agrilus planipennis* Fairmaire) populations in Asia and North America. *Biological Invasions*, 13, 2869–2887.
- Brown, A. W. A. (1940). A note on the gross estimate of forest insect damage in Canada. *The Forestry Chronicle*, 16, 249–254.
- Brown, P. M. J., Adriaens, T., Bathon, H., Cuppen, J. *et al.* (2008). *Harmonia axyridis* in Europe: spread and distribution of a non-native coccinellid. *BioControl*, 53, 5–21.
- Casagrande, R. A. (2014). The Colorado potato beetle: 125 years of mismanagement. *Bulletin of the Entomological Society of America*, 33, 142–150.
- Castrillo, L. A., Griggs, M. H. & Vandenberg, J. D. (2008). Quantitative detection of *Beauveria bassiana* GHA (Ascomycota: Hypocreales), a potential microbial control agent of the emerald ash borer, by use of real-time PCR. *Biological Control*, 45, 163–169.
- Cobos A. (1986). *Fauna Iberica de Coleopteros Buprestidae*. Consejo Superior de Investigaciones Cientificas, Madrid, 364 pp.
- Coleman, T. W., Graves, A. D., Hoddle, M., Heath, Z. *et al.* (2012). Forest stand composition and impacts associated with *Agrilus auroguttatus* Schaeffer (Coleoptera: Buprestidae) and *Agrilus coxalis* Waterhouse in oak woodlands. *Forest Ecology and Management*, 276, 104–117.
- Cote III, W. A. & Allen, D. C. (1980). Biology of two-lined chestnut borer, *Agrilus bilineatus*, in Pennsylvania and New York. *Annals of the Entomological Society of America*, 73, 409–413.
- DAISIE. Delivering Alien Invasive Species Gateway. *European Commission*.  
<http://www.europe-aliens.org/> [accessed on July 12, 2017]

- Davis, E. E., French, S. & Venette, R. C. (2005). Mini risk-assessment: metallic beetle: *Agrilus biguttatus* Fabricius (Coleoptera: Buprestidae). *US Department of Agriculture, Forest Service*, 21, 1–21
- Dobzhansky, T. (1933). Geographical variation in lady-beetles. *The American Naturalist*, 67, 97–126.
- Douglas, H., Dang, P. T., Gill, B. D., Huber, J. *et al.* (2009). The importance of taxonomy in responses to invasive alien species. *Biodiversity*, 10, 92–99.
- Duan, J. J., Watt, T. J. & Larson, K. (2014). Biology, life history, and laboratory rearing of *Spathius galinae* (Hymenoptera: Braconidae), a larval parasitoid of the invasive emerald ash borer (Coleoptera: Buprestidae). *Journal of Economic Entomology*, 107, 939–946.
- Dunn, J. P., Kimmerer, T. W. & Nordin, G. L. (1986). Attraction of the twolined chestnut borer, *Agrilus bilineatus* (Weber) (Coleoptera: Buprestidae), and associated borers to volatiles of stressed white oak. *The Canadian Entomologist*, 118, 503–509.
- EPPO (2004). European and Mediterranean Plant Protection Organization. Report of the 8th Meeting of the EPPO ad hoc Panel on *Diabrotica virgifera virgifera* held jointly with the 10th International IWGO Workshop on *Diabrotica virgifera virgifera*, [https://www.eppo.int/quarantine/special\\_topics/Diabrotica\\_virgifera/Diab\\_04.pdf](https://www.eppo.int/quarantine/special_topics/Diabrotica_virgifera/Diab_04.pdf) [accessed on July 1, 2017]
- EPPO (2013). European and Mediterranean Plant Protection Organization. *Anoplophora glabripennis*: procedures for official control. *EPPO Bulletin*, 43, 510–517
- Fujisawa, T. & Barraclough, T. G. (2013). Delimiting species using single-locus data and the Generalized Mixed Yule Coalescent approach: a revised method and evaluation on simulated data sets. *Systematic Biology*, 62, 707–724.
- Furlong, M. J. & Groden, E. (2001). Evaluation of synergistic interactions between the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) pathogen *Beauveria bassiana* and the insecticides, imidacloprid, and cyromazine. *Journal of Economic Entomology*, 94, 344–356.
- Gandhi, K. J. & Herms, D. A. (2010). North American arthropods at risk due to widespread *Fraxinus* mortality caused by the alien emerald ash borer. *Biological Invasions*, 12, 1839–1846.
- Gibbs, J. N. & Greig, B. J. W. (1997). Biotic and abiotic factors affecting the dying back of pedunculate oak *Quercus robur* L. *Forestry Commission Research Agency*, 70, 399–406.

- GISD. Global invasive species database. <http://www.iucngisd.org/gisd/> [accessed on July 6, 2017]
- Gordon, R. D. (1985). The Coleoptera (Coccinellidae) of America north of Mexico. *Journal of the New York Entomological Society*, 93, 912.
- Gordon, S. C., Woodford, J. A. T. & Birch, A. N. E. (1997). Arthropod pests of *Rubus* in Europe: pest status, current and future control strategies. *Journal of Horticultural Science*, 72, 831–862.
- Haack, R. A. & Benjamin, D. M. (1982). The biology and ecology of the twolined chestnut borer, *Agrilus bilineatus* (Coleoptera: Buprestidae), on oaks, *Quercus* spp., in Wisconsin. *The Canadian Entomologist*, 114, 385–396.
- Haack, R. A., Benjamin, D. M. & Haack, K. D. (1983). Buprestidae, Cerambycidae, and Scolytidae associated with successive stages of *Agrilus bilineatus* (Coleoptera: Buprestidae) infestation of oaks in Wisconsin. *Great Lakes Entomologist*, 16, 47–55.
- Haack, R. A., Law, K. R., Mastro, V. C., Ossenburgen, H. S. & Raimo, B. J. (1997). New York's battle with the Asian long-horned beetle. *Journal of Forestry*, 95, 11–15.
- Haack, R. A., Jendek, E., Houping, L., Marchant, K. R. *et al.* (2002). The emerald ash borer: a new exotic pest in North America. *Michigan Entomological Society*, 47, 1–5
- Hackett, D. (1995). The jewel beetle *Agrilus pannonicus* in the London area. *London Naturalist*, 74, 161–164.
- Hebert, P. D., Cywinska, A., Ball, S. L. & DeWaard, J. R. (2003) Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B, Biological Sciences*, 270, 313–321.
- Hebert, P. D. & Gregory, T. R. (2005). The promise of DNA barcoding for taxonomy. *Systematic biology*, 54, 852–859.
- Hendrich, L., Moriniere, J., Haszprunar, G., Hebert, P. D. *et al.* (2015). A comprehensive DNA barcode database for Central European beetles with a focus on Germany: adding more than 3500 identified species to BOLD. *Molecular Ecology Resources*, 15, 795–818.
- Hespenheide, H. A., Westcott, R. L. & Bellamy, C. L. (2011). *Agrilus* Curtis (Coleoptera: Buprestidae) of the Baja California peninsula, México. *Zootaxa*, 2805, 36–56.
- Higgins, D. G. & Sharp, P. M. (1988). CLUSTAL: a package for performing multiple sequence alignment on a microcomputer. *Gene*, 73, 237–244.
- ISAC (2006). Invasive Species Advisory Committee. Invasive Species Definition Clarification and Guidance White Paper. *Definitions Subcommittee of the Invasive*

- Species Advisory Committee*, 1–11. <https://www.invasivespeciesinfo.gov/docs/council/isacdef.pdf> [accessed on June 25, 2017]
- Jendek, E. (1994). Studies in the east Palaearctic species of the genus *Agrilus* Dahl, 1823 (Coleoptera: Buprestidae) Part 1. *Entomological Problems*, 25, 9–24.
- Jendek, E. & Grebennikov, V. V. (2009). *Agrilus sulcicollis* (Coleoptera: Buprestidae), a new alien species in North America. *The Canadian Entomologist*, 141, 236–245.
- Jendek, E. & Polakova, J. (2014). *Host Plants of World Agrilus (Coleoptera, Buprestidae): A Critical Review*. Springer International Publishing, Ottawa, 706 pp.
- Jones, E. A., Reed, D. D., Mroz, G. D., Liechty, H. O. & Cattelino, P. J. (1993). Climate stress as a precursor to forest decline: paper birch in northern Michigan, 1985–1990. *Canadian Journal of Forest Research*, 23, 229–233.
- Katoh, K. & Standley, D. M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*, 30, 772–780.
- Keller, R. P., Drake, J. M., Drew, M. B. & Lodge, D. M. (2011). Linking environmental conditions and ship movements to estimate invasive species transport across the global shipping network. *Diversity and Distributions*, 17, 93–102.
- Keller, R. P., Geist, J., Jeschke, J. M. & Kühn, I. (2011). Invasive species in Europe: ecology, status, and policy. *Environmental Sciences Europe*, 23, 23.
- Kenis, M., Auger-Rozenberg, M. A., Roques, A., Timms, L. *et al.* (2009). Ecological effects of invasive alien insects. *Biological Invasions*, 11, 21–45.
- Kenta, T., Inari, N., Nagamitsu, T., Goka, K. & Hiura, T. (2007). Commercialized European bumblebee can cause pollination disturbance: an experiment on seven native plant species in Japan. *Biological Conservation*, 134, 298–309.
- Kettunen, M., Genovesi, P., Gollasch, S. *et al.* (2009). *Technical support to EU strategy on invasive alien species (IAS)*. Institut for European Environmental Policy (IEEP), Brussels, 44 pp.
- Kiss, J., Edwards, C. R., Berger, H. K., Cate, P. *et al.* (2005): Monitoring of western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte) in Europe 1992–2003. pp. 29–39. In: Vidal, S., Kuhlmann, U. & Edwards, C. R. (eds.). *Western corn rootworm: ecology and management*. Cabi Publishing, Wallingford, 320 pp.
- Knížek, M. (2011). Polník dvojtečný *Agrilus biguttatus* (Fabricius, 1777) a ostatní krasci rodu *Agrilus* na dubech. *Lesnická práce*, 11/2011, příloha

- Koenig, W. D., Liebhold, A. M., Bonter, D. N., Hochachka, W. M. & Dickinson, J. L. (2013). Effects of the emerald ash borer invasion on four species of birds. *Biological Invasions*, 15, 2095–2103.
- Levine, E. & Oloumi-Sadeghi, H. (1991). Management of diabroticite rootworms in corn. *Annual Review of Entomology*, 36, 229–255.
- Li, F. & Wu, T. (1993). *Species distribution and host plants of the longhorned beetles injuring poplars*. Integrated pest management of poplar longicorn beetles. Chinese Forestry Publishing House, Beijing. 123 pp.
- Li, Y., Gunter, N., Pang, H. & Bocak, L. (2015). DNA-based species delimitation separates highly divergent populations within morphologically coherent clades of poorly dispersing beetles. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 175, 59–72.
- Liu, H., Bauer, L. S., Gao, R., Zhao, T. *et al.* (2004). Exploratory survey of the emerald ash Borer, *Agrilus planipennis* (Coleoptera: Buprestidae), and its natural enemies in China. *Great Lakes Entomologist*, 36, 191–204.
- Lopez, V. M. & Hoddle, M. S. (2013). The Goldspotted Oak Borer (*Agrilus auroguttatus*) Schaeffer (Coleoptera: Buprestidae). *Center for Invasive Species Research*. [http://cisr.ucr.edu/goldspotted\\_oak\\_borer.html](http://cisr.ucr.edu/goldspotted_oak_borer.html) [accessed on June 20, 2017]
- Lopez, V. M., Rugman-Jones, P. F., Coleman, T. W., Hoddle, M. S. & Stouthamer, R. (2014). Population genetics of goldspotted oak borer, *Agrilus auroguttatus* Schaeffer (Coleoptera: Buprestidae): investigating the origin of an invasive pest of native oaks in California. *Biological Invasions*, 16, 2393–2402.
- Louda, S. M. & O'brien, C. W. (2002). Unexpected ecological effects of distributing the exotic weevil, *Larinus planus* (F.), for the biological control of Canada thistle. *Conservation Biology*, 16, 717–727.
- Louda, S. M., Kendall, D., Connor, J. & Simberloff, D. (1997). Ecological effects of an insect introduced for the biological control of weeds. *Science*, 277, 1088–1090.
- McCullough, D. G., Poland, T. M., Anulewicz, A. C. & Cappaert, D. (2009). Emerald ash borer (Coleoptera: Buprestidae) attraction to stressed or baited ash trees. *Environmental Entomology*, 38, 1668–1679.
- Meier, R., Shiyang, K., Vaidya, G. & Ng, P. K. (2006). DNA barcoding and taxonomy in Diptera: a tale of high intraspecific variability and low identification success. *Systematic Biology*, 55, 715–728.
- Miller, N., Estoup, A., Toepfer, S., Bourguet, D. *et al.* (2005). Multiple transatlantic introductions of the western corn rootworm. *Science*, 310, 992–992.

- Miller, M.A., Pfeiffer, W. & Schwartz, T. (2010) Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees in Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE), 1–8. <https://www.phylo.org/> [accessed on June 2, 2017]
- Miyamoto, M.M. & Goodman, M. (1986) Biomolecular systematics of eutherian mammals – phylogenetic patterns and classification. *Systematic Zoology*, 35, 230–240.
- Moraal, L. G. & Akkerhuis, G. A. J. (2011). Changing patterns in insect pests on trees in The Netherlands since 1946 in relation to human induced habitat changes and climate factors – An analysis of historical data. *Forest ecology and management*, 261, 50–61.
- Nedvěd, O. (2014). *Slunéčko východní (Harmonia axyridis) – pomocník v biologické ochraně nebo ohrožení biodiverzity?* Jihočeská univerzita, České Budějovice, 67 pp.
- Nelson, G. H. & Hespenheide, H. A. (1998). A re-evaluation of some *Agrilus* Curtis species (Coleoptera: Buprestidae). *The Coleopterists Bulletin*, 52, 31–34.
- Nielsen, D. G., Muilenburg, V. L. & Herms, D. A. (2011). Interspecific variation in resistance of Asian, European, and North American birches (*Betula* spp.) to bronze birch borer (Coleoptera: Buprestidae). *Environmental entomology*, 40, 648–653.
- NOBANIS (2017). European Network on Invasive Alien Species. [www.nobanis.org](http://www.nobanis.org) [accessed on July 2, 2017]
- Orlova-Bienkowskaja, M. J. (2014). Ashes in Europe are in danger: the invasive range of *Agrilus planipennis* in European Russia is expanding. *Biological Invasions*, 16, 1345–1349.
- Parmesan, C. (2006). Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, 37, 637–669.
- Pedersen, H. & Jørum, P. (2009). The jewel beetle *Agrilus bituttatus* (Fabricius, 1777) found in Denmark (Coleoptera, Buprestidae). *Entomologiske Meddelelser*, 77, 19–26.
- Pennacchio, F., Marianelli, L., Binazzi, F., Francardi, V. *et al.* (2016). First interception of *Trichoferus campestris* (Faldermann, 1835) (Coleoptera cerambycidae cerambycinae) in Italy. *Redia*, 99, 59–62
- Pentinsaari, M., Mutanen, M. & Kaila, L. (2014). Cryptic diversity and signs of mitochondrial introgression in the *Agrilus viridis* species complex (Coleoptera: Buprestidae). *European Journal of Entomology*, 111, 475–486
- Pimentel, D., Zuniga, R. & Morrison, D. (2005). Update on the environmental and economic costs associated with alien-invasive species in the United States. *Ecological Economics*, 52, 273–288.



- Pons, J., Barraclough, T. G., Gomez-Zurita, J., Cardoso, A. *et al.* (2006). Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Systematic Biology*, 55, 595–609.
- Prathapan, K. D., Dharma Rajan, P., Narendran, T. C., Viraktamath, C. A. *et al.* (2006). Biological Diversity Act, 2002: Shadow of permit-raj over research. *Current Science*, 91, 1006–1007.
- Pulsifer, D. P., Lakhtakia, A., Narkhede, M. S., Domingue, M. J. *et al.* (2013). Fabrication of polymeric visual decoys for the male emerald ash borer (*Agrilus planipennis*). *Journal of Bionic Engineering*, 10, 129–138.
- Quinton, R. J. (1955). DDT-resistant Colorado potato beetles. *Proceedings of the North Central Entomological Society of America*, 9, 94–95.
- Rankin, M. A. & Burchsted, J. C. A. (1992). The cost of migration in insects. *Annual Review of Entomology*, 37, 533–559.
- Rebek, E. J., Herms, D. A. & Smitley, D. R. (2008). Interspecific variation in resistance to emerald ash borer (Coleoptera: Buprestidae) among North American and Asian ash (*Fraxinus* spp.). *Environmental Entomology*, 37, 242–246.
- Rose, K. E., Louda, S. M. & Rees, M. (2005). Demographic and evolutionary impacts of native and invasive insect herbivores on *Cirsium canescens*. *Ecology*, 86, 453–465.
- Roy, H. E., Adriaens, T., Isaac, N. J., Kenis, M. *et al.* (2012). Invasive alien predator causes rapid declines of native European ladybirds. *Diversity and Distributions*, 18, 717–725.
- Slabý, V., Šedivý, J., Neubauer, Š., Bumerl, M. *et al.* (1950). K výzkumu mandelinky bramborové. *Ochrana rostlin*, 23, 230–234.
- Stamatakis, A. (2014). RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, 30, 1312–1313.
- Sullivan, W. P., Christie, G. C., Cornelius, F. C., Fodale, M. F. *et al.* (2003). The sea lamprey in Lake Erie: a case history. *Journal of Great Lakes Research*, 29, 615–636.
- Šefrová, H. & Laštůvka, Z. (2005). Catalogue of alien animal species in the Czech Republic. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 53, 151–170.
- Taylor, R. A. J., Bauer, L. S., Poland, T. M. & Windell, K. N. (2010). Flight performance of *Agrilus planipennis* (Coleoptera: Buprestidae) on a flight mill and in free flight. *Journal of Insect Behavior*, 23, 128–148.
- USBC (2001). Statistical Abstract of the United States. *Bureau of the Census, U.S. Government Printing Office*.

<https://www.census.gov/library/publications/2002/compendia/statab/121ed.html>  
[accessed on June 25, 2017]

- Vansteenkiste, D., Tirry, L., Van Acker, J. & Stevens, M. (2004). Predispositions and symptoms of *Agrilus* borer attack in declining oak trees. *Annals of Forest Science*, 61, 815–823.
- Vogler, A. P. & Monaghan, M. T. (2007). Recent advances in DNA taxonomy. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 45, 1–10.
- Weber, D. (2003). Colorado beetle: pest on the move. *Pesticide outlook*, 14, 256–259.
- Xu, H., Ding, H., Li, M., Qiang, S. *et al.* (2006). The distribution and economic losses of alien species invasion to China. *Biological Invasions*, 8, 1495–1500.
- Zhang, J.J., Kapli, P., Pavlidis, P. & Stamatakis, A. (2013) A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements. *Bioinformatics*, 29, 2869–2876.

## 8 SEZNAM PŘÍLOH

**Tabulka 2.** Seznam materiálu a jeho geografický původ

**Tabulka 4.** Přehled fragmentů genů použitých ve fylogenetických analýzách. Šedě jsou podbarveny části matice, které byly vybrány pro výběrovou fylogenetickou analýzu 155 sekvencí.

**Tabulka 6.** Výsledky delimitačních metod

**Tabulka 2.** Seznam materiálu a jeho geografický původ

| Vzorek  | Druh                       | Lokalita   |
|---------|----------------------------|--|
| A00661  | <i>Agrilus</i> sp.         | Turecko, Mersin, cesta mezi Demircili a Imamli   |
| A00662  | <i>Agrilus</i> sp.         | Turecko, Mersin, cesta mezi Demircili a Imamli   |
| A00663  | <i>Agrilus</i> sp.         | Turecko, Mersin, cesta mezi Demircili a Imamli   |
| A00664  | <i>Agrilus</i> sp.         | Turecko, Siirt, cesta ze Siirtu do Eruhu, 25 km ze Siirtu  |
| A00665  | <i>Agrilus</i> sp.         | Turecko, Isparta, Dedegöl Daglari, cesta z Yakaköy do Yenişarbademli, 37°42'11" s. š. 031°21'10" v. d. |
| A00666  | <i>Coraebus</i> sp.        | Čína, Jiangxi, XiangZhou, 26°35'55" s. š. 114°16'02" v. d.   |
| A00667  | <i>Coraebus</i> sp.        | Čína, Jiangxi, XiangZhou, 26°35'55" s. š. 114°16'02" v. d.   |
| A00668  | <i>Agrilus</i> sp.         | Řecko, Thessalia, Amaranto, pohoří Pindos, 30 km východně od Kalambaka                                 |
| A00669  | <i>Agrilus</i> sp.         | Slovensko, Filakovo  |
| A00670  | <i>Agrilus</i> sp.         | Slovensko, Filakovo  |
| A00671  | <i>Coraebus</i> sp.        | Čína, Jiangxi, Jinggang Shan, Xipping, 26°33'59" s. š. 114°12'40" v. d.                                |
| CNC0013 | <i>A. cyanescens</i>       | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°24'58" s. š. 075°42'14" z. d.  |
| CNC0351 | <i>A. pratensis</i>        | Španělsko, Vegas del Condado, 42°36'00" s. š. 005°34'12" z. d.   |
| CNC0354 | <i>A. curtulus</i>         | Španělsko, Vegas del Condado, 42°36'00" s. š. 005°34'12" z. d.   |
| CNC0355 | <i>A. uhagoni</i>          | Španělsko, Castro del Condado, 42°36'00" s. š. 005°34'12" z. d.  |
| CNC0362 | <i>A. laticornis</i>       | Francie, Sarre, 47°10'12" s. š. 002°54'00" v. d.   |
| CNC0364 | <i>A. graminis</i>         | Francie, Sarre, 47°10'12" s. š. 002°54'00" v. d.   |
| CNC0365 | <i>A. obscuricollis</i>    | Francie, Sarre, 47°10'12" s. š. 002°54'00" v. d.   |
| CNC0366 | <i>Agrilus</i> sp.         | Francie, Hoddego, 47°00'00" s. š. 002°00'00" v. d.   |
| CNC0370 | <i>A. roscidus</i>         | Francie, Cestas, 44°44'42" s. š. 000°41'24" z. d.  |
| CNC0371 | <i>A. olivicolor</i>       | Francie, Sarre, 47°10'12" s. š. 002°54'00" v. d.   |
| CNC0372 | <i>A. viridis</i>          | Francie, Sarre, 47°10'12" s. š. 002°54'00" v. d.   |
| CNC0375 | <i>A. ater</i>             | Francie, Sulauze, 47°00'00" s. š. 002°00'00" v. d.   |
| CNC0376 | <i>A. graminis</i>         | Francie, Malaucene, 43°55'05" s. š. 007°07'48" v. d.   |
| CNC0377 | <i>A. angustulus</i>       | Francie, Mont Ventoux, 47°00'00" s. š., 002°00'00" v. d.   |
| CNC0380 | <i>A. asiaticus</i>        | Japonsko, Kinki, Osaka – Amami, 34°42'00" s. š., 135°24'00" v. d.                                      |
| CNC0381 | <i>Agrilus</i> sp.         | Malajsie, Johor, 20 km z Kota Tinggi, 01°48'00" s. š., 103°51'36" v. d.                                |
| CNC0382 | <i>Agrilus</i> sp.         | Indonésie, Sumatra – Barat, jezero Maninjau, východní pobřeží, 00°18'00" j. š. 100°13'59" v. d.        |
| CNC0383 | <i>Agrilus</i> sp.         | Indonésie, Sumatra – Kersik Tua, Gn. Kerinci, 01°35'46" j. š. 103°37'12" v. d.                         |
| CNC0388 | <i>A. angustulus</i>       | Řecko, Kefalovriso, 40°01'12" s. š. 020°34'12" v. d.   |
| CNC0390 | <i>A. angustulus</i>       | Řecko, Vlahava, 39°46'01" s. š. 021°39'54" v. d.   |
| CNC0391 | <i>A. laticornis</i>       | Řecko, Vlahava, 39°46'01" s. š. 021°39'54" v. d.   |
| CNC0392 | <i>A. sulcicollis</i>      | Francie, Mont Ventoux, 49°08'02" s. š. 006°13'59" v. d.  |
| CNC0393 | <i>A. angustulus</i>       | Francie, Mont Ventoux, 49°08'02" s. š. 006°13'59" v. d.  |
| CNC0394 | <i>A. graminis</i>         | Řecko, Leptokaria, 41°04'12" s. š. 025°54'00" v. d.  |
| CNC0395 | <i>A. angustulus</i>       | Řecko, Leptokaria, 41°04'12" s. š. 025°54'00" v. d.  |
| CNC0406 | <i>A. sulcicollis</i>      | Kanada, Ontario, Pinery Prov. Park, 43°15'22" s. š. 081°50'10" z. d.                                   |
| CNC0407 | <i>A. anxius</i>           | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°19'26" s. š., 075°48'07" z. d.   |
| CNC0409 | <i>A. obsoletoguttatus</i> | Kanada, Quebec, Eardley – malý kopec, 45°33'58" s. š. 075°05'49" z. d.                                 |
| CNC0410 | <i>A. cuprescens</i>       | Kanada, Ontario, Ottawa – Kanata, 45°18'50" s. š. 075°56'02" z. d.                                     |
| CNC0411 | <i>A. politus</i>          | Kanada, Ontario, Ottawa – Kanata, 45°18'50" s. š. 075°56'02" z. d.                                     |
| CNC0416 | <i>A. masculinus</i>       | Kanada, Ontario, Brampton – Claireville Conservation Area 45°45'25" s. š. 079°39'54" z. d.             |
| CNC0417 | <i>Agrilus</i> sp.         | -  |
| CNC0418 | <i>A. vittaticollis</i>    | Kanada, Ontario, Brampton – Claireville Conservation Area 45°45'25" s. š. 079°39'54" z. d.             |

|         |                       |  |
|---------|-----------------------|--|
| CNC0419 | <i>A. politus</i>     | Kanada, Ontario, Campbellville, 5 km JZ, 43°28'12" s. š. 079°55'44" z. d.                |
| CNC0420 | <i>A. egenus</i>      | Kanada, Quebec, Gatineau – Parc Riverain, 45°22'59" s. š. 075°49'08" z. d.               |
| CNC0421 | <i>A. politus</i>     | Kanada, Quebec, Pontiac-Luskville, Gatineau Park, 45°32'10" s. š., 076°01'52" z. d.      |
| CNC0423 | <i>A. cyanesces</i>   | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°22'12" s. š. 075°40'12" z. d.                                |
| CNC0424 | <i>A. cupresces</i>   | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°22'12" s. š. 075°40'12" z. d.                                |
| CNC0468 | <i>A. cyaneoniger</i> | Čína, Hubei, Dabieshan, 31°06'36" s. š. 115°48'00" v. d.                                 |
| CNC0469 | <i>A. asiaticus</i>   | Čína, Hubei, Dabieshan, 31°06'36" s. š. 115°48'00" v. d.                                 |
| CNC0470 | <i>A. sinensis</i>    | –  |
| CNC0474 | <i>Agrilus</i> sp.    | Čína, Hubei, Dabieshan, 31°06'36" s. š. 115°48'00" v. d.                                 |
| CNC0475 | <i>Agrilus</i> sp.    | Čína, Hubei, Dabieshan, 31°06'36" s. š. 115°48'00" v. d.                                 |
| CNC0477 | <i>Agrilus</i> sp.    | Čína, Hubei, Dabieshan, 31°06'36" s. š. 115°48'00" v. d.                                 |
| CNC0480 | <i>Agrilus</i> sp.    | Čína, Hubei, Dabieshan, 31°06'36" s. š. 115°48'00" v. d.                                 |
| CNC1439 | <i>A. ribesi</i>      | Rusko, Ivanovo, 57°00'00" s. š. 041°00'00" v. d.   |
| CNC1440 | <i>A. ribbei</i>      | Rusko, Primorsky Krai, Lazo, 43°19'48" s. š. 133°51'36" v. d.                            |
| CNC1441 | <i>A. ribbei</i>      | Rusko, Primorsky Krai, Lazo, 43°19'48" s. š. 133°51'36" v. d.                            |
| CNC1442 | <i>A. ribbei</i>      | Rusko, Primorsky Krai, Lazo, 43°19'48" s. š. 133°51'36" v. d.                            |
| CNC1443 | <i>A. ribbei</i>      | Rusko, Primorsky Krai, Lazo, 43°19'48" s. š. 133°51'36" v. d.                            |
| CNC1444 | <i>A. ribbei</i>      | Rusko, Primorsky Krai, Lazo, 43°19'48" s. š. 133°51'36" v. d.                            |
| CNC1445 | <i>A. ribbei</i>      | Rusko, Primorsky Krai, Lazo, 43°19'48" s. š. 133°51'36" v. d.                            |
| CNC1447 | <i>A. cyaneoniger</i> | Rusko, Primorsky Krai, Lazo, 43°19'48" s. š. 133°51'36" v. d.                            |
| CNC1448 | <i>A. ribbei</i>      | Rusko, Primorsky Krai, Lazo distr., 10 km JZ Sokoltchi, 43°20'00" s. š. 133°52'00" v. d. |
| CNC1449 | <i>A. cyanesces</i>   | Rusko, Ivanovo, 59°59'00" s. š. 041°01'00" v. d.   |
| CNC1451 | <i>A. viridis</i>     | Rusko, Ivanovo, 57°00'00" s. š. 041°00'00" v. d.   |
| CNC1452 | <i>A. voriseki</i>    | Rusko, Primorsky Krai, Lazo, 43°19'48" s. š. 133°51'36" v. d.                            |
| CNC1454 | <i>A. voriseki</i>    | Rusko, Primorsky Krai, Lazo, 43°19'48" s. š. 133°51'36" v. d.                            |
| CNC1455 | <i>A. voriseki</i>    | Rusko, Primorsky Krai, Lazo, 43°19'48" s. š. 133°51'36" v. d.                            |
| CNC1456 | <i>A. ribbei</i>      | Rusko, Primorsky Krai, Lazo distr., 10 km JZ Sokoltchi, 43°20'00" s. š. 133°52'00" v. d. |
| CNC1459 | <i>A. smaragdinus</i> | Rusko, Primorsky Krai, Lazo distr., 10 km JZ Sokoltchi, 43°20'00" s. š. 133°52'00" v. d. |
| CNC1460 | <i>A. smaragdinus</i> | Rusko, Primorsky Krai, Lazo distr., 10 km JZ Sokoltchi, 43°20'00" s. š. 133°52'00" v. d. |
| CNC1462 | <i>A. albogularis</i> | Španělsko, Vegas del Condado, 42°36'00" s. š. 005°34'12" z. d.                           |
| CNC1464 | <i>A. graminis</i>    | –  |
| CNC1465 | <i>A. graminis</i>    | Řecko, Thessaly, Vlahava, 39°46'01" s. š. 021°39'54" v. d.                               |
| CNC1474 | <i>A. adelphinus</i>  | –  |
| CNC1476 | <i>A. cyanesces</i>   | Kanada, Ontario, Ottawa-Kanata, 45°18'50" s. š. 075°56'02" z. d.                         |
| CNC1477 | <i>A. cyanesces</i>   | Kanada, Ontario, Brampton, 45°45'25" s. š. 079°39'00" z. d.                              |
| CNC1479 | <i>A. anxius</i>      | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°22'12" s. š. 075°40'12" z. d.                                |
| CNC1481 | <i>Agrilus</i> sp.    | Čína, Hubei, Dabieshan, 31°06'00" s. š. 115°00'00" v. d.                                 |
| CNC1482 | <i>Agrilus</i> sp.    | Čína, Hubei, Dabieshan, 31°06'00" s. š. 115°00'00" v. d.                                 |
| CNC2805 | <i>Agrilus</i> sp.    | Čína, Yunnan, Jizu Shan, 25°58'48" s. š. 100°21'00" v. d.                                |
| CNC2806 | <i>A. rivalieri</i>   | Vietnam, Tam-Dao NP, Tam-Dao env., 21°27'38" s. š. 105°38'28" v. d.                      |
| CNC2808 | <i>A. rivalieri</i>   | Vietnam, Tam-Dao NP, Tam-Dao env., 21°27'38" s. š. 38'28" v. d.                          |
| CNC2809 | <i>A. rivalieri</i>   | Vietnam, Tam-Dao NP, Tam-Dao env., 21°27'38" s. š. 38'28" v. d.                          |
| CNC2810 | <i>A. rivalieri</i>   | Vietnam, Tam-Dao NP, Tam-Dao env., 21°27'38" s. š. 105°38'28" v. d.                      |
| CNC2811 | <i>A. rivalieri</i>   | Vietnam, Tam-Dao NP, Tam-Dao env., 21°27'38" s. š. 105°38'28" v. d.                      |
| CNC2818 | <i>A. rivalieri</i>   | Vietnam, Tam-Dao NP, Tam-Dao env., 21°27'38" s. š. 105°38'28" v. d.                      |
| CNC2822 | <i>A. planipennis</i> | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°24'00" s. š. 075°43'48" z. d.                                |
| CNC2825 | <i>A. sulcicollis</i> | Kanada, Ontario, Trenton, 44°56'24" s. š. 077°57'36" z. d.                               |
| CNC2826 | <i>A. sulcicollis</i> | Kanada, Ontario, Trenton, 44°56'24" s. š. 077°57'36" z. d.                               |
| CNC2827 | <i>A. sulcicollis</i> | Kanada, Ontario, Trenton, 44°56'24" s. š. 077°57'36" z. d.                               |

|         |                            |  |
|---------|----------------------------|--|
| CNC2828 | <i>A. sulcicollis</i>      | Kanada, Ontario, Trenton, 44°56'24" s. š. 077°57'36" z. d.                         |
| CNC4641 | <i>A. politus</i>          | Kanada, Quebec, St.-Pierre, 45°05'24" s. š. 073°51'36" z. d.                       |
| CNC4642 | <i>A. politus</i>          | Kanada, Quebec, St.-Pierre, 45°05'24" s. š. 073°51'36" z. d.                       |
| CNC4643 | <i>A. politus</i>          | Kanada, Quebec, Chambly, 45°36'36" s. š. 073°39'00" z. d.                          |
| CNC4644 | <i>A. cuprescens</i>       | Kanada, Quebec, Verchères, 45°34'12" s. š. 073°19'48" z. d.                        |
| CNC4645 | <i>A. cuprescens</i>       | Kanada, Quebec, Verchères, 45°34'12" s. š. 073°19'48" z. d.                        |
| CNC4646 | <i>A. cuprescens</i>       | Kanada, Quebec, Verchères, 45°34'12" s. š. 073°19'48" z. d.                        |
| CNC4647 | <i>A. cuprescens</i>       | Kanada, Quebec, Verchères, 45°34'12" s. š. 073°19'48" z. d.                        |
| CNC4649 | <i>A. cuprescens</i>       | Kanada, Quebec, Verchères, 45°34'12" s. š. 073°19'48" z. d.                        |
| CNC4650 | <i>A. cuprescens</i>       | Kanada, Quebec, Verchères, 45°34'12" s. š. 073°19'48" z. d.                        |
| CNC4651 | <i>A. politus</i>          | Kanada, Quebec, Verchères, 45°34'12" s. š. 073°19'48" z. d.                        |
| CNC4652 | <i>A. obsoletoguttatus</i> | Kanada, Quebec, Verchères, 45°49'00" s. š. 073°20'00" z. d.                        |
| CNC4654 | <i>A. cuprescens</i>       | Kanada, Quebec, Verchères, 45°34'12" s. š. 073°19'48" z. d.                        |
| CNC4655 | <i>Agrius</i> sp.          | Vietnam, Tam Dao, 21°27'36" s. š. 105°39'00" v. d.                                 |
| CNC4657 | <i>A. pensus</i>           | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°23'24" s. š. 075°42'00" z. d.                          |
| CNC4658 | <i>A. pensus</i>           | Kanada, Ontario, Ottawa, Fletcher Wildlife Gard., 45°23'13" s. š. 075°42'11" z. d. |
| CNC4664 | <i>A. sulcicollis</i>      | Slovensko, Bratislava, Malé Karpaty, 48°13'08" s. š. 017°06'25" v. d.              |
| CNC4665 | <i>A. graminis</i>         | Slovensko, Bratislava, 48°13'12" s. š. 017°06'36" v. d.                            |
| CNC4666 | <i>Agrius</i> sp.          | Slovensko, Bratislava, 48°13'12" s. š. 017°06'36" v. d.                            |
| CNC4667 | <i>A. graminis</i>         | Slovensko, Bratislava, 48°13'12" s. š. 017°06'36" v. d.                            |
| CNC4669 | <i>A. anxius</i>           | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°22'12" s. š. 075°40'12" z. d.                          |
| CNC4676 | <i>A. arcuatus</i>         | Kanada, Ontario, Trenton, 44°09'36" s. š. 077°35'24" z. d.                         |
| CNC4681 | <i>A. egeus</i>            | Kanada, Quebec, Gatineau Park, 45°22'48" s. š. 075°49'12" z. d.                    |
| CNC4682 | <i>A. egeus</i>            | Kanada, Quebec, Gatineau Park, 45°22'48" s. š. 075°49'12" z. d.                    |
| CNC4683 | <i>A. politus</i>          | Kanada, Quebec, Gatineau Park, 45°22'48" s. š. 075°49'12" z. d.                    |
| CNC4687 | <i>A. cuprescens</i>       | Kanada, Quebec, Ottawa, 45°22'48" s. š. 075°49'12" z. d.                           |
| CNC4690 | <i>A. vittaticollis</i>    | Kanada, Quebec, Gatineau Park, 45°22'48" s. š. 075°49'12" z. d.                    |
| CNC4691 | <i>A. obsoletoguttatus</i> | Kanada, Quebec, SW Quebec, 45°33'59" s. š. 076°05'45" z. d.                        |
| CNC4694 | <i>A. politus</i>          | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°18'36" s. š. 076°55'48" z. d.                          |
| CNC4695 | <i>A. politus</i>          | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°18'36" s. š. 076°55'48" z. d.                          |
| CNC4701 | <i>A. masculinus</i>       | Kanada, Ontario, 43°45'00" s. š. 079°39'36" z. d.                                  |
| CNC4706 | <i>A. vittaticollis</i>    | Kanada, Ontario, 43°45'00" s. š. 079°39'36" z. d.                                  |
| CNC5849 | <i>A. granulatus</i>       | Kanada, Quebec, Montreal, 45°59'06" s. š. 073°09'22" z. d.                         |
| CNC5850 | <i>A. politus</i>          | Kanada, Quebec, Montreal, 45°05'49" s. š. 073°52'08" z. d.                         |
| CNC5851 | <i>A. politus</i>          | Kanada, Quebec, Montreal, 45°41'53" s. š. 073°21'04" z. d.                         |
| CNC5852 | <i>A. egeus</i>            | Kanada, Quebec, Montreal, 45°32'35" s. š. 073°30'36" z. d.                         |
| CNC5854 | <i>A. granulatus</i>       | Kanada, Quebec, Montreal, 45°05'49" s. š. 073°52'08" z. d.                         |
| CNC5857 | <i>A. granulatus</i>       | Kanada, Quebec, Montreal, 45°05'49" s. š. 073°52'08" z. d.                         |
| CNC5859 | <i>A. politus</i>          | Kanada, Quebec, Montreal, 45°40'05" s. š. 073°21'04" z. d.                         |
| CNC5863 | <i>A. egeus</i>            | Kanada, Quebec, Montreal, 45°32'31" s. š. 073°30'36" z. d.                         |
| CNC5865 | <i>A. egeus</i>            | Kanada, Quebec, Montreal, 45°32'31" s. š. 073°30'36" z. d.                         |
| CNC5868 | <i>A. politus</i>          | Kanada, Quebec, Montreal, 45°05'49" s. š. 073°52'08" z. d.                         |
| CNC5870 | <i>A. politus</i>          | Kanada, Quebec, Montreal, 45°05'31" s. š. 073°51'14" z. d.                         |
| CNC5872 | <i>A. politus</i>          | Kanada, Quebec, Montreal, 45°40'05" s. š. 073°21'04" z. d.                         |
| CNC5873 | <i>A. egeus</i>            | Kanada, Quebec, Montreal, 45°32'31" s. š. 073°30'36" z. d.                         |
| CNC5874 | <i>A. ruficollis</i>       | Kanada, Quebec, Montreal vic., 45°41'03" s. š. 073°20'25" z. d.                    |
| CNC5875 | <i>A. granulatus</i>       | Kanada, Quebec, Montreal, 45°41'28" s. š. 073°20'28" z. d.                         |
| CNC5876 | <i>A. politus</i>          | Kanada, Quebec, Montreal, 45°05'31" s. š. 073°51'14" z. d.                         |
| CNC5879 | <i>A. granulatus</i>       | Kanada, Quebec, Montreal, 45°59'06" s. š. 073°09'18" z. d.                         |

|         |                       |  |
|---------|-----------------------|--|
| CNC5880 | <i>A. granulatus</i>  | Kanada, Quebec, Montreal, 45°41'02" s. š. 073°20'24" z. d.             |
| CNC5901 | <i>A. granulatus</i>  | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°22'05" s. š. 075°41'28" z. d.              |
| CNC5902 | <i>A. granulatus</i>  | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°22'05" s. š. 075°41'28" z. d.              |
| CNC5904 | <i>A. granulatus</i>  | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°22'05" s. š. 075°41'28" z. d.              |
| CNC5905 | <i>A. egenus</i>      | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°22'05" s. š. 075°41'28" z. d.              |
| CNC5906 | <i>A. egenus</i>      | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°22'05" s. š. 075°41'28" z. d.              |
| CNC5907 | <i>A. egenus</i>      | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°22'05" s. š. 075°41'28" z. d.              |
| CNC5908 | <i>A. egenus</i>      | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°22'05" s. š. 075°41'28" z. d.              |
| CNC5909 | <i>A. egenus</i>      | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°22'05" s. š. 075°41'28" z. d.              |
| CNC5911 | <i>A. arcuatus</i>    | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°22'05" s. š. 075°41'28" z. d.              |
| CNC5913 | <i>A. arcuatus</i>    | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°22'05" s. š. 075°41'28" z. d.              |
| CNC5914 | <i>A. arcuatus</i>    | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°22'05" s. š. 075°41'28" z. d.              |
| CNC5915 | <i>A. arcuatus</i>    | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°22'05" s. š. 075°41'28" z. d.              |
| CNC5917 | <i>A. politus</i>     | Kanada, Quebec, Luskville, 45°32'20" s. š. 076°00'36" z. d.            |
| CNC5918 | <i>A. politus</i>     | Kanada, Quebec, Luskville, 45°32'20" s. š. 076°00'36" z. d.            |
| CNC5920 | <i>A. politus</i>     | Kanada, Quebec, Luskville, 45°32'20" s. š. 076°00'36" z. d.            |
| CNC5921 | <i>A. politus</i>     | Kanada, Quebec, Luskville, 45°32'20" s. š. 076°00'36" z. d.            |
| CNC5922 | <i>A. politus</i>     | Kanada, Quebec, Luskville, 45°32'20" s. š. 076°00'36" z. d.            |
| CNC6983 | <i>A. planipennis</i> | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°23'10" s. š. 075°43'05" z. d.              |
| CNC6984 | <i>A. planipennis</i> | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°23'10" s. š. 075°43'05" z. d.              |
| CNC6985 | <i>A. planipennis</i> | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°23'10" s. š. 075°43'05" z. d.              |
| CNC6986 | <i>A. planipennis</i> | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°23'10" s. š. 075°43'05" z. d.              |
| CNC6987 | <i>A. planipennis</i> | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°23'10" s. š. 075°43'05" z. d.              |
| CNC6988 | <i>A. planipennis</i> | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°23'10" s. š. 075°43'05" z. d.              |
| CNC6991 | <i>A. planipennis</i> | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°23'10" s. š. 075°43'05" z. d.              |
| CNC6993 | <i>A. planipennis</i> | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°23'10" s. š. 075°43'05" z. d.              |
| CNC7302 | <i>Agrilus</i> sp.    | Kanada, Quebec, Montreal, 45°03'58" s. š. 073°04'52" z. d.             |
| CNC7306 | <i>Agrilus</i> sp.    | Kanada, Quebec, Ottawa, 45°23'20" s. š. 075°42'40" z. d.               |
| CNC7308 | <i>A. cuprescens</i>  | Kanada, Quebec, Montreal, 45°01'05" s. š. 073°04'26" z. d.             |
| CNC7309 | <i>Agrilus</i> sp.    | Kanada, Quebec, Montreal, 45°40'01" s. š. 073°19'16" z. d.             |
| CNC7310 | <i>Agrilus</i> sp.    | Kanada, Quebec, Montreal, 45°41'17" s. š. 073°20'38" z. d.             |
| CNC7311 | <i>Agrilus</i> sp.    | Kanada, Quebec, Montreal, 45°05'20" s. š. 073°52'34" z. d.             |
| CNC7312 | <i>A. ribbei</i>      | Rusko, Primorsky Krai, Preobrazhenie, 42°53'24" s. š. 133°51'00" v. d. |
| CNC7313 | <i>A. ribbei</i>      | Rusko, Primorsky Krai, Preobrazhenie, 42°53'24" s. š. 133°51'00" v. d. |
| CNC7367 | <i>A. cyaneoniger</i> | Rusko, Primorsky Krai, Artem, 43°19'12" s. š. 132°10'48" v. d.         |
| CNC7368 | <i>A. cyaneoniger</i> | Rusko, Primorsky Krai, Artem, 43°19'12" s. š. 132°10'48" v. d.         |
| CNC7369 | <i>A. ribbei</i>      | Rusko, Primorsky Krai, Artem, 43°19'12" s. š. 132°10'48" v. d.         |
| CNC7370 | <i>A. ribbei</i>      | Rusko, Primorsky Krai, Artem, 43°19'12" s. š. 132°10'48" v. d.         |
| CNC7371 | <i>A. ribbei</i>      | Rusko, Primorsky Krai, Artem, 43°19'12" s. š. 132°10'48" v. d.         |
| CNC7372 | <i>A. ribbei</i>      | Rusko, Primorsky Krai, Artem, 43°19'12" s. š. 132°10'48" v. d.         |
| CNC7373 | <i>A. ribbei</i>      | Rusko, Primorsky Krai, Artem, 43°19'12" s. š. 132°10'48" v. d.         |
| CNC7374 | <i>A. ribbei</i>      | Rusko, Primorsky Krai, Artem, 43°19'12" s. š. 132°10'48" v. d.         |
| CNC7376 | <i>A. ussuricola</i>  | Rusko, Primorsky Krai, Artem, 43°19'12" s. š. 132°10'48" v. d.         |
| CNC7377 | <i>A. sibiricus</i>   | Rusko, Primorsky Krai, Artem, 43°19'12" s. š. 132°10'48" v. d.         |
| CNC7379 | <i>A. moerens</i>     | Rusko, Primorsky Krai, Artem, 43°19'12" s. š. 132°10'48" v. d.         |
| CNC7381 | <i>A. nicolanus</i>   | Rusko, Primorsky Krai, Artem, 43°19'12" s. š. 132°10'48" v. d.         |
| CNC7382 | <i>Agrilus</i> sp.    | Rusko, Primorsky Krai, Artem, 43°19'12" s. š. 132°10'48" v. d.         |
| CNC7414 | <i>A. asahinai</i>    | Rusko, Primorsky Krai, Benevskoye, 43°10'12" s. š. 133°45'36" v. d.    |
| CNC7415 | <i>A. ribbei</i>      | Rusko, Primorsky Krai, Benevskoye, 43°10'12" s. š. 133°45'36" v. d.    |





|         |                                 |  |
|---------|---------------------------------|--|
| CNC7634 | <i>A. ribesi</i>                | Kanada, Quebec, Pontiac, 45°33'58" s. š., 076°05'42" z. d.                                 |
| CNC7635 | <i>A. ribesi</i>                | Kanada, Quebec, Pontiac, 45°33'58" s. š., 076°05'42" z. d.                                 |
| CNC7636 | <i>A. ribesi</i>                | Kanada, Quebec, Pontiac, 45°33'58" s. š., 076°05'42" z. d.                                 |
| CNC7637 | <i>A. ribesi</i>                | Kanada, Quebec, Pontiac, 45°33'58" s. š., 076°05'42" z. d.                                 |
| CNC7639 | <i>A. ribesi</i>                | Kanada, Quebec, Pontiac, 45°33'58" s. š., 076°05'42" z. d.                                 |
| CNC7640 | <i>A. ribesi</i>                | Kanada, Quebec, Eardley, 45°33'00" s. š. 076°05'24" z. d.,                                 |
| CNC7641 | <i>A. ribesi</i>                | Kanada, Quebec, Eardley, 45°33'00" s. š. 076°05'24" z. d.,                                 |
| CNC7642 | <i>A. ribesi</i>                | Kanada, Quebec, Pontiac, 45°33'00" s. š. 076°05'24" z. d.                                  |
| CNC7643 | <i>A. ribesi</i>                | Kanada, Quebec, Pontiac, 45°33'00" s. š. 076°05'24" z. d.                                  |
| CNC8501 | <i>A. ribesi</i>                | Kanada, Quebec, Eardley, 45°34'01" s. š. 076°05'42" z. d.                                  |
| CNC8502 | <i>A. ribesi</i>                | Kanada, Quebec, Eardley, 45°34'01" s. š. 076°05'42" z. d.                                  |
| CNC8503 | <i>A. ribesi</i>                | Kanada, Quebec, Eardley, 45°34'01" s. š. 076°05'42" z. d.                                  |
| EJ0001  | <i>A. kubani</i>                | Slovensko, Svätý Jur, 48°15'00" s. š. 017°11'30" v. d.                                     |
| EJ0002  | <i>A. roscidus</i>              | Cyprus, Pachyammos, 35°10'00" s. š. 032°34'00" v. d.                                       |
| EJ0005  | <i>A. roscidus</i>              | Slovensko, Malacky env., 48°26'00" s. š. 017°01'00" v. d.                                  |
| EJ0006  | <i>A. auricollis auricollis</i> | Slovensko, Bratislava-Karlova Ves, 48°08'00" s. š. 017°03'00" v. d.                        |
| EJ0007  | <i>A. viscivorus</i>            | Slovensko, Bratislava-Patronka, 48°10'00" s. š. 017°04'00" v. d.                           |
| EJ0008  | <i>A. lineola lineola</i>       | Slovensko, Lozorno env. (západ), 48°19'50" s. š. 017°01'40" v. d.                          |
| EJ0009  | <i>A. politus</i>               | USA, Missouri, 2,5mi SV od Missouri City, 39°10'00" s. š. 094°32'00" z. d.                 |
| EJ0010  | <i>A. ribesi</i>                | Slovensko, Devínska Kobyla, 48°11'00" s. š. 016°59'00" v. d.                               |
| EJ0011  | <i>A. lineola lineola</i>       | Slovensko, Malacky env. (sever), 48°27'15" s. š. 017°01'40" v. d.                          |
| EJ0015  | <i>A. viridis viridis</i>       | Slovensko, Liptovská Teplička-Pracháreň, 48°57'30" s. š. 020°04'00" v. d.                  |
| EJ0016  | <i>A. viridis viridis</i>       | Slovensko, Malacky env. (sever), 48°27'15" s. š. 017°01'40" v. d.                          |
| EJ0017  | <i>A. viridis viridis</i>       | Slovensko, Bratislava-Kamzík, 48°10'33" s. š. 017°05'35" v. d.                             |
| EJ0018  | <i>A. viridis viridis</i>       | Slovensko, Bratislava-Karlova Ves, 48°08'00" s. š. 017°03'00" v. d.                        |
| EJ0022  | <i>A. viridis viridis</i>       | Slovensko, Rohožník, 48°27'00" s. š. 017°10'00" v. d.                                      |
| EJ0023  | <i>A. viridis viridis</i>       | Slovensko, Devínska Kobyla, 48°11'00" s. š. 016°59'00" v. d.                               |
| EJ0025  | <i>A. yamawakii</i>             | Japonsko, Kinugawa, Shioya, Tochigi Pref., 36°49'00" s. š., 139°43'00" v. d.               |
| EJ0026  | <i>A. kubani</i>                | Slovensko, Svätý Jur, 48°15'00" s. š. 017°11'30" v. d.                                     |
| EJ0027  | <i>A. kubani</i>                | Slovensko, Svätý Jur, 48°15'00" s. š. 017°11'30" v. d.                                     |
| EJ0028  | <i>A. roscidus</i>              | Kypr, Germasogeia dam., 34°44'00" s. š. 033°05'00" v. d.                                   |
| EJ0029  | <i>A. roscidus</i>              | Kypr, Germasogeia dam., 34°44'00" s. š. 033°05'00" v. d.                                   |
| EJ0030  | <i>A. roscidus</i>              | Slovensko, Bratislava-Vlčie Hrdlo, 48°07'00" s. š. 017°10'00" v. d.                        |
| EJ0031  | <i>A. roscidus</i>              | Slovensko, Bratislava-Vlčie Hrdlo, 48°07'00" s. š. 017°10'00" v. d.                        |
| EJ0032  | <i>A. auricollis auricollis</i> | Maďarsko, Gödöllő, SV Budapest, 47°36'00" s. š. 017°25'00" v. d.                           |
| EJ0033  | <i>A. auricollis auricollis</i> | Maďarsko, Gödöllő, SV Budapest, 47°36'00" s. š. 017°25'00" v. d.                           |
| EJ0034  | <i>A. auricollis auricollis</i> | Maďarsko, Gödöllő, SV Budapest, 47°36'00" s. š. 017°25'00" v. d.                           |
| EJ0035  | <i>A. auricollis auricollis</i> | Slovensko, Bratislava-Karlova Ves, 48°08'00" s. š. 017°03'00" v. d.                        |
| EJ0036  | <i>A. burkei</i>                | USA, Oregon, Marion Co, 2 mi V Mehama, Hwy 22 V ze Salem, 44°35'00" s. š. 122°35'00" z. d. |
| EJ0037  | <i>A. cuprescens cuprescens</i> | Slovensko, Malacky env. (sever), 48°27'15" s. š. 017°01'40" v. d.                          |
| EJ0039  | <i>A. lineola lineola</i>       | Slovensko, Lozorno env. (západ), 48°19'50" s. š. 017°01'40" v. d.                          |
| EJ0040  | <i>A. lineola lineola</i>       | Slovensko, Lozorno env. (západ), 48°19'50" s. š. 017°01'40" v. d.                          |
| EJ0041  | <i>A. mendax</i>                | Česká Republika, Štáhlavy u Plzně, 49°41'00" s. š. 013°31'00" v. d.                        |
| EJ0042  | <i>A. politus</i>               | USA, Oregon, Linn. Co, Cascade Range, Lost Lake, 44°32'00" s. š. 122°30'00" z. d.          |
| EJ0043  | <i>A. politus</i>               | USA, Missouri, 2,5mi SV od Missouri City, 39°10'00" s. š., 094°32'00" z. d.                |
| EJ0044  | <i>A. politus</i>               | USA, Missouri, 2,5mi SV od Missouri City, 39°10'00" s. š., 094°32'00" z. d.                |
| EJ0045  | <i>A. politus</i>               | USA, Missouri, 2,5mi SV od Missouri City, 39°10'00" s. š., 094°32'00" z. d.                |
| EJ0046  | <i>A. ribesi</i>                | Slovensko, Devínska Kobyla, 48°11'00" s. š. 016°59'00" v. d.                               |
| EJ0047  | <i>A. ribesi</i>                | Slovensko, Devínska Kobyla, 48°11'00" s. š. 016°59'00" v. d.                               |

|        |                                   |   |
|--------|-----------------------------------|---|
| EJ0048 | <i>A. lineola lineola</i>         | Slovensko, Malacky env. (sever), 48°27'15" s. š. 017°01'40" v. d.                 |
| EJ0049 | <i>A. salicivola</i>              | Japonsko, Kanto, Mt. Hanazono, 36°52'00" s. š. 140°37'00" v. d.                   |
| EJ0050 | <i>A. salicivola</i>              | Japonsko, Kanto, Mt. Hanazono, 36°52'00" s. š. 140°37'00" v. d.                   |
| EJ0051 | <i>A. salicivola</i>              | Japonsko, Kanto, Mt. Hanazono, 36°52'00" s. š. 140°37'00" v. d.                   |
| EJ0052 | <i>A. sinuatus</i>                | Maďarsko, Budapeť, 47°29'00" s. š. 019°02'00" v. d.                               |
| EJ0057 | <i>A. viridis viridis</i>         | Maďarsko, Budapeť, 47°29'00" s. š. 019°02'00" v. d.                               |
| EJ0058 | <i>A. viridis viridis</i>         | Maďarsko, Budapeť, 47°29'00" s. š. 019°02'00" v. d.                               |
| EJ0059 | <i>A. viridis viridis</i>         | Slovensko, Rohozník, 48°27'00" s. š. 017°10'00" v. d.                             |
| EJ0062 | <i>A. viridis viridis</i>         | Slovensko, cca 8 km z Lúky, 48°40'40" s. š., 017°55'30" v. d.                     |
| EJ0063 | <i>A. viridis viridis</i>         | Slovensko, cca 8 km z Lúky, 48°40'40" s. š., 017°55'30" v. d.                     |
| EJ0064 | <i>A. viridis viridis</i>         | Slovensko, Malacky env. (sever), 48°27'15" s. š. 017°01'40" v. d.                 |
| EJ0065 | <i>A. viridis viridis</i>         | Slovensko, Malacky env. (sever), 48°27'15" s. š. 017°01'40" v. d.                 |
| EJ0066 | <i>A. viridis viridis</i>         | Slovensko, Bratislava-Rusovce, 48°03'00" s. š. 017°08'00" v. d.                   |
| EJ0067 | <i>A. viridis viridis</i>         | Slovensko, Bratislava-Rusovce, 48°03'00" s. š. 017°08'00" v. d.                   |
| EJ0068 | <i>A. albogularis albogularis</i> | Slovensko, Devínska Kobyla-Waitov lom, 48°11'40" s. š. 016°58'45" v. d.           |
| EJ0069 | <i>A. albogularis albogularis</i> | Slovensko, Devínska Kobyla-Waitov lom, 48°11'40" s. š. 016°58'45" v. d.           |
| EJ0070 | <i>A. cinctus</i>                 | Německo, Rheinland-Pfalz, Albersweiler, 49°13'00" s. š. 008°01'00" v. d.          |
| EJ0071 | <i>A. cinctus</i>                 | Německo, Rheinland-Pfalz, Albersweiler, 49°13'00" s. š. 008°01'00" v. d.          |
| EJ0072 | <i>A. croaticus</i>               | Slovensko, Svätý Jur – Zuby, 48°15'00" s. š. 017°11'30" v. d.                     |
| EJ0073 | <i>A. croaticus</i>               | Slovensko, Svätý Jur – Zuby, 48°15'00" s. š. 017°11'30" v. d.                     |
| EJ0074 | <i>A. hyperici</i>                | Slovensko, Svätý Jur – Zuby, 48°15'00" s. š. 017°11'30" v. d.                     |
| EJ0075 | <i>A. integerrimus</i>            | Slovensko, Svarínska – Studňová dolina, 48°15'00" s. š. 017°11'30" v. d.          |
| EJ0076 | <i>A. macroderus</i>              | Slovensko, 15 km SV Piešťany, Lúka env., 48°40'00" s. š. 017°54'00" v. d.         |
| EJ0077 | <i>A. macroderus</i>              | Slovensko, cca 5 km S Plášťovce, 48°10'00" s. š. 018°58'00" v. d.                 |
| EJ0078 | <i>A. angustulus angustulus</i>   | Slovensko, Bratislava-Patrónka, 48°10'30" s. š. 017°05'00" v. d.                  |
| EJ0079 | <i>A. angustulus angustulus</i>   | Slovensko, Bratislava-Patrónka, 48°10'30" s. š. 017°05'00" v. d.                  |
| EJ0080 | <i>A. angustulus angustulus</i>   | Slovensko, Bratislava-Karlova ves, 48°09'30" s. š. 017°02'00" v. d.               |
| EJ0081 | <i>A. angustulus angustulus</i>   | Slovensko, Bratislava-Karlova ves, 48°09'30" s. š. 017°02'00" v. d.               |
| EJ0082 | <i>A. derasofasciatus</i>         | Slovensko, Devín, Devínska Kobyla, 48°11'00" s. š. 017°00'00" v. d.               |
| EJ0083 | <i>A. derasofasciatus</i>         | Slovensko, Devín, Devínska Kobyla, 48°11'00" s. š. 017°00'00" v. d.               |
| EJ0084 | <i>A. graminis graminis</i>       | Slovensko, Svätý Jur, 48°15'00" s. š. 017°11'30" v. d.                            |
| EJ0085 | <i>A. graminis graminis</i>       | Slovensko, Svätý Jur, 48°15'00" s. š. 017°11'30" v. d.                            |
| EJ0086 | <i>A. hastulifer hastulifer</i>   | Slovensko, Svätý Jur, 48°15'00" s. š. 017°11'30" v. d.                            |
| EJ0087 | <i>A. hastulifer hastulifer</i>   | Slovensko, Svätý Jur, 48°15'00" s. š. 017°11'30" v. d.                            |
| EJ0088 | <i>A. laticornis</i>              | Slovensko, Malacky env. (sever), 48°27'15" s. š. 017°01'40" v. d.                 |
| EJ0089 | <i>A. laticornis</i>              | Slovensko, cca 5 km S Plášťovce, 48°10'00" s. š. 018°58'00" v. d.                 |
| EJ0091 | <i>A. obscuricollis</i>           | Slovensko, Bratislava-Patrónka, 48°10'30" s. š. 017°05'00" v. d.                  |
| EJ0092 | <i>A. obscuricollis</i>           | Slovensko, Svätý Jur, 48°15'00" s. š. 017°11'30" v. d.                            |
| EJ0093 | <i>A. obscuricollis</i>           | Slovensko, Svätý Jur, 48°15'00" s. š. 017°11'30" v. d.                            |
| EJ0094 | <i>A. olivicolor</i>              | Slovensko, Bratislava-Rusovce, 48°03'00" s. š. 017°09'20" v. d.                   |
| EJ0096 | <i>A. sulcicollis sulcicollis</i> | Slovensko, Bratislava-Patrónka, 48°10'30" s. š. 017°05'00" v. d.                  |
| EJ0099 | <i>A. biguttatus</i>              | Slovensko, Kováčovské Kopce, Kamenica n. Hronom, 47°50'00" s. š. 018°46'00" v. d. |
| EJ0100 | <i>A. biguttatus</i>              | Slovensko, Kováčovské Kopce, Kamenica n. Hronom, 47°50'00" s. š. 018°46'00" v. d. |
| EJ0102 | <i>A. guerini</i>                 | Slovensko, Malacky env., 48°25'00" s. š. 017°02'30" v. d.                         |
| EJ0103 | <i>A. betuleti</i>                | Slovensko, S Velke Levere, 48°31'49" s. š. 017°00'33" v. d.                       |
| EJ0104 | <i>A. delphinensis</i>            | Slovensko, Malacky env., 48°25'00" s. š. 017°02'30" v. d.                         |
| EJ0105 | <i>A. delphinensis</i>            | Slovensko, Malacky env., 48°25'00" s. š. 017°02'30" v. d.                         |
| EJ0106 | <i>A. pratensis pratensis</i>     | Slovensko, Bratislava-Rusovce, 48°03'00" s. š. 017°09'00" v. d.                   |
| EJ0107 | <i>A. pratensis pratensis</i>     | Slovensko, Bratislava-Rusovce, 48°03'00" s. š. 017°09'00" v. d.                   |

|         |                                   |   |
|---------|-----------------------------------|---|
| EJ0109  | <i>A. convexicollis</i>           | Slovensko, Suchohrad env., 48°24'15" s. š. 016°53'40" v. d.                                 |
| EJ0110  | <i>A. convexicollis</i>           | Slovensko, Devínska Kobyla, 48°11'00" s. š. 017°00'00" v. d.                                |
| EJ0111  | <i>A. convexicollis</i>           | Slovensko, Slovensko or., Nový Salaš, 48°37'00" s. š. 021°28'00" v. d.                      |
| EJ0112  | <i>A. convexicollis</i>           | Slovensko, Slovensko or., Nový Salaš, 48°37'00" s. š. 021°28'00" v. d.                      |
| EJ0113  | <i>A. cyanescens</i>              | Slovensko, Nízke Tatry Mts, Jánska – Stanišovská dolina, 49°00'25" s. š. 019°41'00" v. d.   |
| EJ0114  | <i>A. cyanescens</i>              | Slovensko, Devínska N.Ves, 48°12'00" s. š. 016°59'00" v. d.                                 |
| EJ0115  | <i>A. cyanescens</i>              | Slovensko, Devínska N.Ves, 48°12'00" s. š. 016°59'00" v. d.                                 |
| EJ0116  | <i>A. viridicaerulans</i>         | Německo, Kaub (Hessen, Nollig), 50°05'17" s. š. 007°47'44" v. d.                            |
| EJ0117  | <i>A. viridicaerulans</i>         | Německo, Kaub (Hessen, Nollig), 50°05'17" s. š. 007°47'44" v. d.                            |
| EJ0118  | <i>A. burkei</i>                  | USA, Oregon, Marion Co, 2 mi V Mehama, Hwy 22 V ze Salemu, 44°35'00" s. š. 122°35'00" z. d. |
| EJ0119  | <i>A. burkei</i>                  | USA, Oregon, Marion Co, 2 mi V Mehama, Hwy 22 V ze Salemu, 44°35'00" s. š. 122°35'00" z. d. |
| EJ0120  | <i>A. politus</i>                 | USA, Oregon, Linn. Co, Cascade Range, Lost Lake, 44°32'00" s. š. 122°30'00" z. d.           |
| EJ0121  | <i>A. politus</i>                 | USA, Oregon, Linn. Co, Cascade Range, Lost Lake, 44°32'00" s. š. 122°30'00" z. d.           |
| EJ0122  | <i>Coraeus elatus</i>             | Slovensko, cca 8 km z Lúky, přes SZ hradu Tematín, 48°40'40" s. š. 017°55'30" v. d.         |
| EJ0123  | <i>Nalanda fulgidicollis</i>      | Slovensko, Svätý Jur – Zuby, 48°15'00" s. š. 017°11'30" v. d.                               |
| EJ0124  | <i>Trachys minuta minuta</i>      | Slovensko, Bratislava-Devín, lom, 48°09'46" s. š. 017°00'13" v. d.                          |
| EJ0124s | <i>A. roscidus</i>                | Slovensko, Bratislava-Vlčie Hrdlo, 48°15'00" s. š. 017°11'30" v. d.                         |
| EJ0125  | <i>A. roscidus</i>                | Slovensko, Bratislava-Vlčie Hrdlo, 48°07'00" s. š. 017°10'00" v. d.                         |
| EJ0126  | <i>A. elegans</i>                 | Španělsko, Hispania, Camila, Chiclana, Cadiz., 36°24'00" s. š. 006°06'00" v. d.             |
| EJ0128  | <i>A. uhagoini</i>                | Španělsko, Camila, Chiclana, Cádiz, 36°24'00" s. š. 006°06'00" v. d.                        |
| EJ0129  | <i>A. beauprei mourguesi</i>      | Španělsko, Hispania, Alcalá de los Gazules, Cadiz., 36°28'00" s. š. 005°43'00" v. d.        |
| EJ0132  | <i>A. uhagoini</i>                | Španělsko, Camila, Chiclana, Cádiz, 36°24'00" s. š. 006°06'00" v. d.                        |
| EJ0133  | <i>A. roscidus</i>                | Španělsko, Alcalá de los Gazules, Cádiz., 36°28'00" s. š., 005°43'00" v. d.                 |
| EJ0134  | <i>A. viridis viridis</i>         | Slovensko, Bratislava-Rusovce, 48°03'00" s. š. 017°08'00" v. d.                             |
| EJ0135  | <i>A. solieri</i>                 | Španělsko, Hispania, El Colorado, Conil, Cádiz., 36°20'00" s. š. 006°02'00" z. d.           |
| EJ0140  | <i>A. suvorovi</i>                | Slovensko, Bratislava-Vlčie Hrdlo, 48°07'00" s. š. 017°10'00" v. d.                         |
| EJ0141  | <i>A. suvorovi</i>                | Slovensko, Bratislava-Vlčie Hrdlo, 48°07'00" s. š. 017°10'00" v. d.                         |
| EJ0145  | <i>A. viridis viridis</i>         | Slovensko, Bratislava-Čunovo, 48°02'00" s. š. 017°12'00" v. d.                              |
| EJ0146  | <i>A. viridis viridis</i>         | Slovensko, Bratislava-Čunovo, 48°02'00" s. š. 017°12'00" v. d.                              |
| EJ0148  | <i>Trachys minuta minuta</i>      | Slovensko, Bratislava-Devín, lom, 48°09'46" s. š. 017°00'13" v. d.                          |
| EJ0149  | <i>Trachys minuta minuta</i>      | Slovensko, Bratislava-Devín, lom, 48°09'46" s. š. 017°00'13" v. d.                          |
| EJ0150  | <i>A. sulcicollis sulcicollis</i> | Slovensko, Bratislava-Patrónka, 48°10'30" s. š. 017°05'00" v. d.                            |
| EJ0151  | <i>A. sulcicollis sulcicollis</i> | Slovensko, Bratislava-Patrónka, 48°10'30" s. š. 017°05'00" v. d.                            |
| EJ0154  | <i>A. viridis viridis</i>         | Slovensko, Rohožník, 48°26'30" s. š. 017°11'00" v. d.                                       |
| EJ0156  | <i>A. hyperici</i>                | Španělsko, Hispania, Paterna, Cadiz., 36°31'00" s. š. 005°52'00" s. š.                      |
| EJ0158  | <i>A. biguttatus</i>              | Slovensko, Kováčovské Kopce, Kamenica n. Hronom, 47°50'00" s. š. 018°46'00" v. d.           |
| EJ0159  | <i>A. biguttatus</i>              | Slovensko, Kováčovské Kopce, Kamenica n. Hronom, 47°50'00" s. š. 018°46'00" v. d.           |
| EJ0160  | <i>A. viridis viridis</i>         | Česká Republika, Náklo, 49°41'00" s. š. 017°09'00" v. d.                                    |
| EJ0161  | <i>A. viridis viridis</i>         | Česká Republika, Náklo, 49°41'00" s. š. 017°09'00" v. d.                                    |
| EJ0201  | <i>A. masculinus</i>              | Kanada, Quebec, Montreal vic., 45°41'27" s. š. 073°20'27" z. d.                             |
| EJ0202  | <i>A. masculinus</i>              | Kanada, Ontario, Brampton – Claireville Conservation Area, 45°45'25" s. š. 079°39'54" z. d. |
| EJ0203  | <i>A. masculinus</i>              | Kanada, Ontario, Brampton – Claireville Conservation Area, 45°45'25" s. š. 079°39'54" z. d. |
| EJ0204  | <i>A. bilineatus</i>              | Kanada, Quebec, Montreal vic., 45°41'51" s. š. 073°20'46" z. d.                             |
| EJ0205  | <i>A. egenus</i>                  | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°22'05" s. š. 073°41'28" z. d.                                   |
| EJ0206  | <i>A. egenus</i>                  | Kanada, Quebec, Montreal vic. 45°32'34" s. š. 073°30'36" z. d.                              |
| EJ0207  | <i>A. gramimis graminis</i>       | Francie, Malaucene, 44°10'19" s. š. 005°08'09" v. d.  |
| EJ0208  | <i>A. graminis</i>                | Slovensko, Bratislava, Malé Karpaty, 48°13'08" s. š. 017°06'25" v. d.                       |
| EJ0209  | <i>Agrius sp.</i>                 | Čína, Hubei, Dabieshan, 31°06'01" s. š. 115°47'18" v. d.                                    |

|        |                                  |  |
|--------|----------------------------------|--|
| EJ0210 | <i>Agrilus</i> sp.               | Čína, Hubei, Dabieshan, 31°06'01" s. š. 115°47'18" v. d.                                 |
| EJ0211 | <i>A. albogularis artemisiae</i> | Francie, Sulauze, 47°00'00" s. š. 002°00'00" v. d.                                       |
| EJ0212 | <i>A. albogularis artemisiae</i> | Španělsko, Vegas del Condado, 42°36'00" s. š. 005°34'12" z. d.                           |
| EJ0213 | <i>A. sulcicollis</i>            | Kanada, Ontario, Trenton, 44°09'22" s. š. 077°35'06" z. d.                               |
| EJ0214 | <i>A. ecarinatus</i>             | Rusko, Primorsky Krai, Anisimovka, 43°10'12" s. š. 132°31'12" v. d.                      |
| EJ0215 | <i>A. ribbei</i>                 | Rusko, Primorsky Krai, Lazo, 43°12'00" s. š. 133°31'12" v. d.                            |
| EJ0216 | <i>A. ribbei</i>                 | Rusko, Primorsky Krai, Lazo, 43°12'00" s. š. 133°31'12" v. d.                            |
| EJ0217 | <i>A. ribbei</i>                 | Rusko, Primorsky Krai, Anisimovka, 43°10'12" s. š. 132°31'12" v. d.                      |
| EJ0218 | <i>A. graminis graminis</i>      | Španělsko, Camila Chiclana, 36°21'00" s. š. 005°43'12" z. d.                             |
| EJ0219 | <i>A. nipponigena</i>            | Čína, Hubei, Dabieshan, 31°06'01" s. š. 115°47'18" v. d.                                 |
| EJ0220 | <i>A. cyanescens</i>             | Rusko, Ivanovo oblast, 56°59'00" s. š. 041°01'00" v. d.                                  |
| EJ0221 | <i>A. nagaai</i>                 | Vietnam, Cao Bang, Phia-Oac Mts. Phia-Den env., 22°34'01" s. š. 105°52'14" v. d.         |
| EJ0222 | <i>A. lacroixi</i>               | Vietnam, Tam-Dao NP, Tam-Dao env., 21°27'38" s. š. 105°38'28" v. d.                      |
| EJ0223 | <i>A. lubopetri</i>              | Vietnam, Tam-Dao NP, Tam-Dao env., 21°27'38" s. š. 105°38'28" v. d.                      |
| EJ0224 | <i>A. rivalieri</i>              | Vietnam, Tam-Dao NP, Tam-Dao env., 21°27'38" s. š. 105°38'28" v. d.                      |
| EJ0225 | <i>A. sp. cum maculifer</i>      | Vietnam, Vinh Phuc, Meinh, 21°23'04" s. š. 105°42'44" v. d.                              |
| EJ0226 | <i>A. sp. cum maculifer</i>      | Vietnam, Vinh Phuc, Meinh, 21°23'04" s. š. 105°42'44" v. d.                              |
| EJ0227 | <i>A. smaragdinus</i>            | Rusko, Primorsky Krai, Lazo distr., 10 km JZ Sokoltchi, 43°20'00" s. š. 133°52'00" v. d. |
| EJ0228 | <i>A. planipennis</i>            | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°23'10" s. š. 075°43'05" z. d.                                |
| EJ0229 | <i>A. obsoletoguttatus</i>       | Kanada, Quebec, Verchères, 45°40'49" s. š. 073°20'53" z. d.                              |
| EJ0230 | <i>A. obsoletoguttatus</i>       | Kanada, JZ Quebec, 45°33'59" s. š. 076°05'45" z. d.                                      |
| EJ0231 | <i>A. sulcicollis</i>            | Kanada, Ontario, Trenton, 44°09'22" s. š. 077°35'06" z. d.                               |
| EJ0232 | <i>A. planipennis</i>            | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°23'10" s. š. 075°43'05" z. d.                                |
| EJ0233 | <i>A. hastulifer</i>             | Francie, Jardins du Barry, 43°36'22" s. š. 001°44'00" v. d.                              |
| EJ0234 | <i>A. viridicaeruleans</i>       | Španělsko, Camila Chiclana, 36°21'00" s. š. 005°43'12" z. d.                             |
| EJ0235 | <i>A. voriseki</i>               | Rusko, Primorsky Krai, Lazo, 43°12'00" s. š. 133°31'12" v. d.                            |
| EJ0236 | <i>A. convexicollis</i>          | Řecko, Kafalovriso, 40°01'12" s. š. 020°34'12" v. d.                                     |
| EJ0237 | <i>A. biguttatus</i>             | Řecko, Kafalovriso, 40°01'12" s. š. 020°34'12" v. d.                                     |
| EJ0238 | <i>A. roscidus</i>               | Španělsko, Vegas del Condado, 42°36'00" s. š. 005°34'12" z. d.                           |
| EJ0239 | <i>A. roscidus</i>               | Francie, Baltage Bourdaine, 47°00'00" s. š. 002°00'00" v. d.                             |
| EJ0240 | <i>A. perisi</i>                 | Španělsko, Soto de Cerrato, 41°56'53" s. š. 004°25'01" v. d.                             |
| EJ0241 | <i>A. pekinensis</i>             | Rusko, Primorsky Krai, Artem, 43°19'12" s. š. 132°10'48" v. d.                           |
| EJ0242 | <i>A. sp. cum alutaceicollis</i> | Rusko, Primorsky Krai, Anisimovka, 43°10'12" s. š. 132°47'24" v. d.                      |
| EJ0243 | <i>A. alutaceicollis</i>         | Rusko, Primorsky Krai, Artem, 43°19'12" s. š. 132°10'48" v. d.                           |
| EJ0244 | <i>A. crataegi</i>               | Kanada, Quebec, Montreal vic., 45°05'30" s. š. 073°51'13" z. d.                          |
| EJ0245 | <i>A. crataegi</i>               | Kanada, Ontario, Clairville Cons. Ar., 43°45'26" s. š. 079°45'26" z. d.                  |
| EJ0246 | <i>A. cuprescens</i>             | USA, Oregon, Union Co., 45°12'58" s. š. 117°51'50" z. d.                                 |
| EJ0247 | <i>A. cuprescens</i>             | Kanada, Ontario, Ottawa, Fletcher Wildlife Gard., 45°23'13" s. š. 075°42'11" z. d.       |
| EJ0248 | <i>A. arcuatus</i>               | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°22'05" s. š. 075°41'28" z. d.                                |
| EJ0249 | <i>A. arcuatus</i>               | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°22'05" s. š. 075°41'28" z. d.                                |
| EJ0250 | <i>A. nipponigena</i>            | Čína, Hubei, Dabieshan, 31°06'01" s. š. 115°47'18" v. d.                                 |
| EJ0251 | <i>A. pseudocoryli</i>           | Kanada, Quebec, Gatineau NP, 45°29'20" s. š. 075°52'09" z. d.                            |
| EJ0252 | <i>A. obscuricollis</i>          | Řecko, Kafalovriso, 40°01'12" s. š. 020°34'12" v. d.                                     |
| EJ0253 | <i>A. granulatus</i>             | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°22'05" s. š. 075°41'28" z. d.                                |
| EJ0254 | <i>A. granulatus</i>             | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°22'05" s. š. 075°41'28" z. d.                                |
| EJ0255 | <i>A. solieri</i>                | Španělsko, Camila Chiclana, 36°21'00" s. š. 005°43'12" z. d.                             |
| EJ0256 | <i>A. ruficollis</i>             | Kanada, Quebec, Montreal vic., 45°41'03" s. š. 073°20'25" z. d.                          |
| EJ0257 | <i>A. ruficollis</i>             | Kanada, Quebec, Verchères, 45°59'14" s. š. 073°09'25" z. d.                              |
| EJ0258 | <i>A. politus</i>                | USA, California, Lake Co. McLaughlin Natural Reserve Upper Hunter Creek                  |

|         |                                    |   |
|---------|------------------------------------|---|
| EJ0259  | <i>A. politus</i>                  | Kanada, Quebec, Luskville, Gateneau Park, 45°32'20" s. š. 076°00'36" z. d.        |
| EJ0260  | <i>A. hyperici</i>                 | Francie, Sulauze, 47°00'00" s. š. 002°00'00" v. d.                                |
| EJ0261  | <i>A. hyperici</i>                 | Španělsko, Vegas del Condado, 42°36'00" s. š. 005°34'12" z. d.                    |
| EJ0262  | <i>A. vittaticollis</i>            | Kanada, Quebec, Gatineau N.P., Mt. King, 45°29'17" s. š. 075°51'47" z. d.         |
| EJ0263  | <i>A. vittaticollis</i>            | Kanada, Ontario, Clairville Cons. Ar., 43°45'26" s. š. 079°39'53" z. d.           |
| EJ0264  | <i>A. laticornis</i>               | Španělsko, Santa Maria del Condado, 42°36'00" s. š. 005°34'12" z. d.              |
| EJ0265  | <i>A. sinensis</i>                 | Čína, Hubei, Dabieshan, 31°06'01" s. š. 115°47'18" v. d.                          |
| EJ0266  | <i>A. pensus</i>                   | Kanada, Ontario, Ottawa, Fletcher Wildlife Gard. 45°23'13" s. š. 075°42'11" z. d. |
| EJ0267  | <i>A. pensus</i>                   | Kanada, Quebec, St-Pierre, 45°05'44" s. š. 073°51'51" z. d.                       |
| EJ0268  | <i>A. anxius</i>                   | Kanada, Ontario, Pine Grove Park, 44°23'00" s. š. 078°24'00" z. d.                |
| EJ0269  | <i>A. anxius</i>                   | Kanada, Ontario, Ottawa, 44°23'00" s. š. 078°24'00" z. d.                         |
| EJ0270  | <i>A. derasofasciatus</i>          | Španělsko, Vegas del Condado, 42°36'00" s. š. 005°34'12" z.                       |
| EJ0271  | <i>A. osburni</i>                  | Kanada, Ontario, Trenton, 44°09'14" s. š. 077°35'08" z. d.                        |
| EJ0272  | <i>A. osburni</i>                  | Kanada, Ontario, Trenton, 44°09'14" s. š. 077°35'08" z. d.                        |
| EJ0273  | <i>A. sinensis splendidicollis</i> | Vietnam, Cuc Phuong N. Park, 20°21'10" s. š. 105°35'00" v. d.                     |
| EJ0274  | <i>A. sinensis splendidicollis</i> | Vietnam, Cuc Phuong N. Park, 20°21'10" s. š. 105°35'00" v. d.                     |
| EJ0275  | <i>A. viscivorus</i>               | Francie, Sauvevetere de Comminge, 43°01'59" s. š. 000°40'59" v. d.                |
| EJ0276  | <i>A. asahinai</i>                 | Rusko, Primorsky Krai, Benevskoye, 43°10'12" s. š. 133°47'24" v. d.               |
| EJ0277  | <i>A. cyanescens</i>               | Rusko, Primorsky Krai, Anisimovka, 43°10'12" s. š. 133°45'36" v. d.               |
| EJ0278  | <i>A. asahinai</i>                 | Rusko, Primorsky Krai, Anisimovka, 43°10'12" s. š. 133°45'36" v. d.               |
| EJ0279  | <i>A. cyanescens cyanescens</i>    | Rusko, Primorsky Krai, Anisimovka, 43°10'12" s. š. 133°45'36" v. d.               |
| EJ0280  | <i>A. euonymi</i>                  | Rusko, Primorsky Krai, Benevskoye, 43°10'12" s. š. 133°45'36" v. d.               |
| EJ0281  | <i>A. euonymi</i>                  | Rusko, Primorsky Krai, Anisimovka, 43°10'12" s. š. 133°47'24" v. d.               |
| EJ0282  | <i>A. adelphinus</i>               | Rusko, Primorsky Krai, Anisimovka, 43°10'12" s. š. 133°47'24" v. d.               |
| EJ0283  | <i>A. adelphinus</i>               | Rusko, Primorsky Krai, Anisimovka, 43°10'12" s. š. 133°47'24" v. d.               |
| EJ0284  | <i>A. betuleti</i>                 | Rusko, Primorsky Krai, Anisimovka, 43°10'12" s. š. 133°47'24" v. d.               |
| EJ0285  | <i>A. quadrisignatus</i>           | Rusko, Primorsky Krai, Anisimovka, 43°10'12" s. š. 133°47'24" v. d.               |
| EJ0286  | <i>Nalanda o. primoriensis</i>     | Rusko, Primorsky Krai, Anisimovka, 43°10'12" s. š. 133°47'24" v. d.               |
| EJ0287  | <i>A. sibiricus sibiricus</i>      | Rusko, Primorsky Krai, Anisimovka, 43°10'12" s. š. 133°47'24" v. d.               |
| EJ0288  | <i>A. sibiricus sibiricus</i>      | Rusko, Primorsky Krai, Anisimovka, 43°10'12" s. š. 133°47'24" v. d.               |
| EJ0289  | <i>A. tempestivus</i>              | Rusko, Primorsky Krai, Anisimovka, 43°10'12" s. š. 133°47'24" v. d.               |
| EJ0290  | <i>A. ussuricola</i>               | Rusko, Primorsky Krai, Anisimovka, 43°10'12" s. š. 133°47'24" v. d.               |
| EJ0291  | <i>A. cyaneoniger</i>              | Rusko, Primorsky Krai, Benevskoye, 43°10'12" s. š. 133°47'24" v. d.               |
| EJ0292  | <i>A. cyaneoniger</i>              | Rusko, Primorsky Krai, Anisimovka, 43°10'12" s. š. 133°47'24" v. d.               |
| EJ0293  | <i>A. peregrinus</i>               | Rusko, Primorsky Krai, Anisimovka, 43°10'12" s. š. 133°47'24" v. d.               |
| EJ0294  | <i>A. peregrinus</i>               | Rusko, Primorsky Krai, Anisimovka, 43°10'12" s. š. 133°47'24" v. d.               |
| EJ0295  | <i>A. nicolanus</i>                | Rusko, Primorsky Krai, Benevskoye, 43°10'12" s. š. 133°47'24" v. d.               |
| EJ0296  | <i>A. nicolanus</i>                | Rusko, Primorsky Krai, Artem, 43°19'12" s. š. 132°10'48" v. d.                    |
| VVGC072 | <i>A. semicadacus</i>              | Laos, Houaphan, Ban Saluei Phou Pane Mt, 20°12'45" s. š., 104°00'00" v. d.        |
| VVGC089 | <i>A. cyanescens</i>               | Kanada, Ontario, Ottawa, 45°24'00" s. š. 075°43'00" v. d.                         |

**Tabulka 4.** Přehled fragmentů genů použitých ve fylogenetických analýzách. Šedě jsou podbarveny části matice, které byly vybrány pro výběrovou fylogenetickou analýzu 155 sekvencí.

| Vzorek #                 | Druh                                    | GenBank # | <i>rrnL</i> | <i>cox1-3'</i> | <i>cox1-5'</i> |
|--------------------------|---|-----------|-------------|----------------|----------------|
| <b>Mimoskupina</b>       |   |           |             |                |                |
| A00666                   | <i>Coraebus</i> sp.                     | MF286055  |             | MF286159       | MF286337       |
| A00667                   | <i>Coraebus</i> sp.                     | MF286056  |             | MF286160       | MF286338       |
| A00671                   | <i>Coraebus</i> sp.                     | MF286057  |             | MF286164       | MF286342       |
| EJ0122                   | <i>Coraebus elatus</i>                  | MF285986  |             | MF286144       | MF286309       |
| EJ0123                   | <i>Nalanda fulgidicollis</i>            | MF285985  |             | MF286145       | MF286310       |
| EJ0124                   | <i>Trachys minuta minuta</i>            | MF285987  |             | MF286146       | MF286311       |
| EJ0148                   | <i>Trachys minuta minuta</i>            | –         |             | –              | MF286322       |
| EJ0149                   | <i>Trachys minuta minuta</i>            | –         |             | MF286150       | MF286323       |
| EJ0286                   | <i>Nalanda ohbayashii primorensis</i> . | MF286054  |             | MF286218       | –              |
| <b>Studovaná skupina</b> |   |           |             |                |                |
| A00661                   | <i>Agrilus</i> sp.                      | MF285988  |             | MF286154       | MF286332       |
| A00662                   | <i>Agrilus</i> sp.                      | MF285989  |             | MF286155       | MF286333       |
| A00663                   | <i>Agrilus</i> sp.                      | MF285990  |             | MF286156       | MF286334       |
| A00664                   | <i>Agrilus</i> sp.                      | MF285991  |             | MF286157       | MF286335       |
| A00665                   | <i>Agrilus</i> sp.                      | MF286031  |             | MF286158       | MF286336       |
| A00668                   | <i>Agrilus</i> sp.                      | MF286051  |             | MF286161       | MF286339       |
| A00669                   | <i>Agrilus</i> sp.                      | MF286033  |             | MF286162       | MF286340       |
| A00670                   | <i>Agrilus</i> sp.                      | MF286032  |             | MF286163       | MF286341       |
| CNC0013                  | <i>A. cyanescens</i>                    | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0351                  | <i>A. pratensis</i>                     | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0354                  | <i>A. curtulus</i>                      | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0355                  | <i>A. uhagoni</i>                       | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0362                  | <i>A. laticornis</i>                    | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0364                  | <i>A. graminis</i>                      | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0365                  | <i>A. obscuricollis</i>                 | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0366                  | <i>Agrilus</i> sp.                      | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0370                  | <i>A. roscidus</i>                      | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0371                  | <i>A. olivicolor</i>                    | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0372                  | <i>A. viridis</i>                       | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0375                  | <i>A. ater</i>                          | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0376                  | <i>A. graminis</i>                      | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0377                  | <i>A. angustulus</i>                    | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0380                  | <i>A. asiaticus</i>                     | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0381                  | <i>Agrilus</i> sp.                      | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0382                  | <i>Agrilus</i> sp.                      | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0383                  | <i>Agrilus</i> sp.                      | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0388                  | <i>A. angustulus</i>                    | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0390                  | <i>A. angustulus</i>                    | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0391                  | <i>A. laticornis</i>                    | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0392                  | <i>A. sulcicollis</i>                   | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0393                  | <i>A. angustulus</i>                    | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0394                  | <i>A. graminis</i>                      | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0395                  | <i>A. angustulus</i>                    | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0406                  | <i>A. sulcicollis</i>                   | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0407                  | <i>A. anxius</i>                        | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0409                  | <i>A. obsoletoguttatus</i>              | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0410                  | <i>A. cuprescens</i>                    | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0411                  | <i>A. politus</i>                       | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0416                  | <i>A. masculinus</i>                    | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0417                  | <i>Agrilus</i> sp.                      | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0418                  | <i>A. vittaticollis</i>                 | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0419                  | <i>A. politus</i>                       | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0420                  | <i>A. egenus</i>                        | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0421                  | <i>A. politus</i>                       | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0423                  | <i>A. cyanescens</i>                    | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0424                  | <i>A. cuprescens</i>                    | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0468                  | <i>A. cyaneoniger</i>                   | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0469                  | <i>A. asiaticus</i>                     | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0470                  | <i>A. sinensis</i>                      | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0475                  | <i>Agrilus</i> sp.                      | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0477                  | <i>Agrilus</i> sp.                      | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC0480                  | <i>Agrilus</i> sp.                      | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC1439                  | <i>A. ribesi</i>                        | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC1440                  | <i>A. ribbei</i>                        | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC1441                  | <i>A. ribbei</i>                        | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC1442                  | <i>A. ribbei</i>                        | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC1443                  | <i>A. ribbei</i>                        | –         |             | –              | XY123456       |
| CNC1444                  | <i>A. ribbei</i>                        | –         |             | –              | XY123456       |

| Vzorek # | Druh                       | GenBank #   |                |                |
|----------|----------------------------|-------------|----------------|----------------|
|          |                            | <i>rrnL</i> | <i>coxI-3'</i> | <i>coxI-5'</i> |
| CNC1445  | <i>A. ribbei</i>           | -           | -              | XY123456       |
| CNC1447  | <i>A. cyaneoniger</i>      | -           | -              | XY123456       |
| CNC1448  | <i>A. ribbei</i>           | -           | -              | XY123456       |
| CNC1449  | <i>A. cyanescens</i>       | -           | -              | XY123456       |
| CNC1451  | <i>A. viridis</i>          | -           | -              | XY123456       |
| CNC1452  | <i>A. voriseki</i>         | -           | -              | XY123456       |
| CNC1454  | <i>A. voriseki</i>         | -           | -              | XY123456       |
| CNC1455  | <i>A. voriseki</i>         | -           | -              | XY123456       |
| CNC1456  | <i>A. ribbei</i>           | -           | -              | XY123456       |
| CNC1459  | <i>A. smaragdinus</i>      | -           | -              | XY123456       |
| CNC1460  | <i>A. smaragdinus</i>      | -           | -              | XY123456       |
| CNC1462  | <i>A. albogularis</i>      | -           | -              | XY123456       |
| CNC1465  | <i>A. graminis</i>         | -           | -              | XY123456       |
| CNC1476  | <i>A. cyanescens</i>       | -           | -              | XY123456       |
| CNC1477  | <i>A. cyanescens</i>       | -           | -              | XY123456       |
| CNC1479  | <i>A. anxius</i>           | -           | -              | XY123456       |
| CNC2805  | <i>Agrilus</i> sp.         | -           | -              | XY123456       |
| CNC2806  | <i>A. rivalieri</i>        | -           | -              | XY123456       |
| CNC2808  | <i>A. rivalieri</i>        | -           | -              | XY123456       |
| CNC2809  | <i>A. rivalieri</i>        | -           | -              | XY123456       |
| CNC2810  | <i>A. rivalieri</i>        | -           | -              | XY123456       |
| CNC2811  | <i>A. rivalieri</i>        | -           | -              | XY123456       |
| CNC2818  | <i>A. rivalieri</i>        | -           | -              | XY123456       |
| CNC2822  | <i>A. planipennis</i>      | -           | -              | XY123456       |
| CNC2825  | <i>A. sulcicollis</i>      | -           | -              | XY123456       |
| CNC2826  | <i>A. sulcicollis</i>      | -           | -              | XY123456       |
| CNC2827  | <i>A. sulcicollis</i>      | -           | -              | XY123456       |
| CNC2828  | <i>A. sulcicollis</i>      | -           | -              | XY123456       |
| CNC4641  | <i>A. politus</i>          | -           | -              | XY123456       |
| CNC4642  | <i>A. politus</i>          | -           | -              | XY123456       |
| CNC4643  | <i>A. politus</i>          | -           | -              | XY123456       |
| CNC4644  | <i>A. cuprescens</i>       | -           | -              | XY123456       |
| CNC4645  | <i>A. cuprescens</i>       | -           | -              | XY123456       |
| CNC4646  | <i>A. cuprescens</i>       | -           | -              | XY123456       |
| CNC4647  | <i>A. cuprescens</i>       | -           | -              | XY123456       |
| CNC4649  | <i>A. cuprescens</i>       | -           | -              | XY123456       |
| CNC4650  | <i>A. cuprescens</i>       | -           | -              | XY123456       |
| CNC4651  | <i>A. politus</i>          | -           | -              | XY123456       |
| CNC4652  | <i>A. obsoletoguttatus</i> | -           | -              | XY123456       |
| CNC4654  | <i>A. cuprescens</i>       | -           | -              | XY123456       |
| CNC4657  | <i>A. pensus</i>           | -           | -              | XY123456       |
| CNC4658  | <i>A. pensus</i>           | -           | -              | XY123456       |
| CNC4664  | <i>A. sulcicollis</i>      | -           | -              | XY123456       |
| CNC4665  | <i>A. graminis</i>         | -           | -              | XY123456       |
| CNC4666  | <i>Agrilus</i> sp.         | -           | -              | XY123456       |
| CNC4667  | <i>A. graminis</i>         | -           | -              | XY123456       |
| CNC4669  | <i>A. anxius</i>           | -           | -              | XY123456       |
| CNC4676  | <i>A. arcuatus</i>         | -           | -              | XY123456       |
| CNC4681  | <i>A. egenus</i>           | -           | -              | XY123456       |
| CNC4682  | <i>A. egenus</i>           | -           | -              | XY123456       |
| CNC4683  | <i>A. politus</i>          | -           | -              | XY123456       |
| CNC4687  | <i>A. cuprescens</i>       | -           | -              | XY123456       |
| CNC4690  | <i>A. vittaticollis</i>    | -           | -              | XY123456       |
| CNC4691  | <i>A. obsoletoguttatus</i> | -           | -              | XY123456       |
| CNC4694  | <i>A. politus</i>          | -           | -              | XY123456       |
| CNC4695  | <i>A. politus</i>          | -           | -              | XY123456       |
| CNC4701  | <i>A. masculinus</i>       | -           | -              | XY123456       |
| CNC4706  | <i>A. vittaticollis</i>    | -           | -              | XY123456       |
| CNC5849  | <i>A. granulatus</i>       | -           | -              | XY123456       |
| CNC5850  | <i>A. politus</i>          | -           | -              | XY123456       |
| CNC5851  | <i>A. politus</i>          | -           | -              | XY123456       |
| CNC5852  | <i>A. egenus</i>           | -           | -              | XY123456       |
| CNC5854  | <i>A. granulatus</i>       | -           | -              | XY123456       |
| CNC5857  | <i>A. granulatus</i>       | -           | -              | XY123456       |
| CNC5859  | <i>A. politus</i>          | -           | -              | XY123456       |
| CNC5863  | <i>A. egenus</i>           | -           | -              | XY123456       |
| CNC5865  | <i>A. egenus</i>           | -           | -              | XY123456       |
| CNC5868  | <i>A. politus</i>          | -           | -              | XY123456       |
| CNC5870  | <i>A. politus</i>          | -           | -              | XY123456       |
| CNC5872  | <i>A. politus</i>          | -           | -              | XY123456       |
| CNC5873  | <i>A. egenus</i>           | -           | -              | XY123456       |
| CNC5874  | <i>A. ruficollis</i>       | -           | -              | XY123456       |
| CNC5875  | <i>A. granulatus</i>       | -           | -              | XY123456       |
| CNC5876  | <i>A. politus</i>          | -           | -              | XY123456       |

| Vzorek # | Druh                  | GenBank #<br><i>rrnL</i> | <i>coxI-3'</i> | <i>coxI-5'</i> |
|----------|-----------------------|--------------------------|----------------|----------------|
| CNC5879  | <i>A. granulatus</i>  | –                        | –              | XY123456       |
| CNC5880  | <i>A. granulatus</i>  | –                        | –              | XY123456       |
| CNC5901  | <i>A. granulatus</i>  | –                        | –              | XY123456       |
| CNC5902  | <i>A. granulatus</i>  | –                        | –              | XY123456       |
| CNC5904  | <i>A. granulatus</i>  | –                        | –              | XY123456       |
| CNC5905  | <i>A. egenus</i>      | –                        | –              | XY123456       |
| CNC5906  | <i>A. egenus</i>      | –                        | –              | XY123456       |
| CNC5907  | <i>A. egenus</i>      | –                        | –              | XY123456       |
| CNC5908  | <i>A. egenus</i>      | –                        | –              | XY123456       |
| CNC5909  | <i>A. egenus</i>      | –                        | –              | XY123456       |
| CNC5911  | <i>A. arcuatus</i>    | –                        | –              | XY123456       |
| CNC5913  | <i>A. arcuatus</i>    | –                        | –              | XY123456       |
| CNC5914  | <i>A. arcuatus</i>    | –                        | –              | XY123456       |
| CNC5915  | <i>A. arcuatus</i>    | –                        | –              | XY123456       |
| CNC5917  | <i>A. politus</i>     | –                        | –              | XY123456       |
| CNC5918  | <i>A. politus</i>     | –                        | –              | XY123456       |
| CNC5920  | <i>A. politus</i>     | –                        | –              | XY123456       |
| CNC5921  | <i>A. politus</i>     | –                        | –              | XY123456       |
| CNC5922  | <i>A. politus</i>     | –                        | –              | XY123456       |
| CNC6983  | <i>A. planipennis</i> | –                        | –              | XY123456       |
| CNC6984  | <i>A. planipennis</i> | –                        | –              | XY123456       |
| CNC6985  | <i>A. planipennis</i> | –                        | –              | XY123456       |
| CNC6986  | <i>A. planipennis</i> | –                        | –              | XY123456       |
| CNC6987  | <i>A. planipennis</i> | –                        | –              | XY123456       |
| CNC6988  | <i>A. planipennis</i> | –                        | –              | XY123456       |
| CNC6991  | <i>A. planipennis</i> | –                        | –              | XY123456       |
| CNC6993  | <i>A. planipennis</i> | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7302  | <i>Agrilus</i> sp.    | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7306  | <i>Agrilus</i> sp.    | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7308  | <i>A. cuprescens</i>  | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7309  | <i>Agrilus</i> sp.    | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7310  | <i>Agrilus</i> sp.    | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7311  | <i>Agrilus</i> sp.    | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7312  | <i>A. ribbei</i>      | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7313  | <i>A. ribbei</i>      | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7367  | <i>A. cyaneoniger</i> | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7368  | <i>A. cyaneoniger</i> | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7369  | <i>A. ribbei</i>      | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7370  | <i>A. ribbei</i>      | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7371  | <i>A. ribbei</i>      | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7372  | <i>A. ribbei</i>      | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7373  | <i>A. ribbei</i>      | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7374  | <i>A. ribbei</i>      | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7376  | <i>A. ussuricola</i>  | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7377  | <i>A. sibiricus</i>   | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7379  | <i>A. moerens</i>     | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7381  | <i>A. nicolanus</i>   | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7382  | <i>Agrilus</i> sp.    | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7415  | <i>A. ribbei</i>      | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7416  | <i>A. ribbei</i>      | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7419  | <i>A. nicolanus</i>   | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7420  | <i>A. kaluganus</i>   | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7503  | <i>A. cyaneoniger</i> | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7504  | <i>A. cyaneoniger</i> | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7505  | <i>A. cyaneoniger</i> | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7506  | <i>A. cyaneoniger</i> | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7519  | <i>A. peregrinus</i>  | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7520  | <i>A. smaragdinus</i> | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7521  | <i>A. smaragdinus</i> | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7522  | <i>A. smaragdinus</i> | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7523  | <i>A. smaragdinus</i> | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7524  | <i>A. smaragdinus</i> | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7565  | <i>A. betuleti</i>    | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7566  | <i>A. betuleti</i>    | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7567  | <i>A. betuleti</i>    | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7568  | <i>A. betuleti</i>    | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7569  | <i>A. betuleti</i>    | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7571  | <i>A. asahinai</i>    | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7573  | <i>A. asahinai</i>    | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7574  | <i>A. asahinai</i>    | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7576  | <i>A. asahinai</i>    | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7583  | <i>A. ribbei</i>      | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7584  | <i>A. ribbei</i>      | –                        | –              | XY123456       |
| CNC7585  | <i>A. ribbei</i>      | –                        | –              | XY123456       |



| Vzorek # | Druh                            | GenBank #   |                |                |
|----------|---------------------------------|-------------|----------------|----------------|
|          |                                 | <i>rrnL</i> | <i>coxI-3'</i> | <i>coxI-5'</i> |
| CNC7587  | <i>A. ribbei</i>                | –           | –              | XY123456       |
| CNC7588  | <i>A. ribbei</i>                | –           | –              | XY123456       |
| CNC7591  | <i>A. sibiricus sibiricus</i>   | –           | –              | XY123456       |
| CNC7592  | <i>A. sibiricus</i>             | –           | –              | XY123456       |
| CNC7593  | <i>A. sibiricus</i>             | –           | –              | XY123456       |
| CNC7594  | <i>A. ussuricola</i>            | –           | –              | XY123456       |
| CNC7595  | <i>A. ussuricola</i>            | –           | –              | XY123456       |
| CNC7601  | <i>A. ussuricola</i>            | –           | –              | XY123456       |
| CNC7603  | <i>A. ussuricola</i>            | –           | –              | XY123456       |
| CNC7604  | <i>A. ussuricola</i>            | –           | –              | XY123456       |
| CNC7605  | <i>A. tempestivus</i>           | –           | –              | XY123456       |
| CNC7606  | <i>A. tempestivus</i>           | –           | –              | XY123456       |
| CNC7608  | <i>A. tempestivus</i>           | –           | –              | XY123456       |
| CNC7609  | <i>A. friebi</i>                | –           | –              | XY123456       |
| CNC7610  | <i>A. friebi</i>                | –           | –              | XY123456       |
| CNC7611  | <i>A. friebi</i>                | –           | –              | XY123456       |
| CNC7612  | <i>Agrilus</i> sp.              | –           | –              | XY123456       |
| CNC7615  | <i>A. euonymi</i>               | –           | –              | XY123456       |
| CNC7616  | <i>A. quadrisignatus</i>        | –           | –              | XY123456       |
| CNC7617  | <i>A. quadrisignatus</i>        | –           | –              | XY123456       |
| CNC7622  | <i>A. nicolanus</i>             | –           | –              | XY123456       |
| CNC7623  | <i>Agrilus</i> sp.              | –           | –              | XY123456       |
| CNC7624  | <i>Agrilus</i> sp.              | –           | –              | XY123456       |
| CNC7625  | <i>A. nicolanus</i>             | –           | –              | XY123456       |
| CNC7634  | <i>A. ribesi</i>                | –           | –              | XY123456       |
| CNC7635  | <i>A. ribesi</i>                | –           | –              | XY123456       |
| CNC7636  | <i>A. ribesi</i>                | –           | –              | XY123456       |
| CNC7637  | <i>A. ribesi</i>                | –           | –              | XY123456       |
| CNC7639  | <i>A. ribesi</i>                | –           | –              | XY123456       |
| CNC7640  | <i>A. ribesi</i>                | –           | –              | XY123456       |
| CNC7641  | <i>A. ribesi</i>                | –           | –              | XY123456       |
| CNC7642  | <i>A. ribesi</i>                | –           | –              | XY123456       |
| CNC7643  | <i>A. ribesi</i>                | –           | –              | XY123456       |
| CNC8501  | <i>A. ribesi</i>                | –           | –              | XY123456       |
| CNC8502  | <i>A. ribesi</i>                | –           | –              | XY123456       |
| CNC8503  | <i>A. ribesi</i>                | –           | –              | XY123456       |
| EJ0001   | <i>A. kubani</i>                | –           | MF286058       | MF286228       |
| EJ0002   | <i>A. roscidus</i>              | –           | MF286059       | –              |
| EJ0005   | <i>A. roscidus</i>              | MF285892    | MF286060       | MF286229       |
| EJ0006   | <i>A. auricollis auricollis</i> | MF285951    | MF286061       | –              |
| EJ0007   | <i>A. viscivorus</i>            | –           | MF286062       | MF286230       |
| EJ0008   | <i>A. lineolalineola</i>        | –           | MF286063       | –              |
| EJ0009   | <i>A. politus</i>               | –           | MF286064       | MF286231       |
| EJ0010   | <i>A. ribesi</i>                | –           | MF286065       | –              |
| EJ0011   | <i>A. salicis</i>               | –           | MF286066       | MF286232       |
| EJ0015   | <i>A. viridis viridis</i>       | MF285909    | MF286067       | MF286233       |
| EJ0016   | <i>A. viridis viridis</i>       | MF285920    | MF286068       | MF286234       |
| EJ0017   | <i>A. viridis viridis</i>       | MF285922    | –              | MF286235       |
| EJ0018   | <i>A. viridis viridis</i>       | MF285910    | MF286069       | MF286236       |
| EJ0022   | <i>A. viridis viridis</i>       | MF285916    | MF286070       | MF286237       |
| EJ0023   | <i>A. viridis viridis</i>       | –           | –              | MF286238       |
| EJ0025   | <i>A. yamawakii</i>             | MF285908    | MF286071       | MF286239       |
| EJ0026   | <i>A. kubani</i>                | MF285893    | MF286072       | MF286240       |
| EJ0027   | <i>A. kubani</i>                | MF285894    | MF286073       | MF286241       |
| EJ0028   | <i>A. roscidus</i>              | –           | MF286074       | –              |
| EJ0029   | <i>A. roscidus</i>              | MF285900    | MF286075       | –              |
| EJ0030   | <i>A. roscidus</i>              | MF285898    | MF286076       | –              |
| EJ0031   | <i>A. roscidus</i>              | –           | MF286077       | –              |
| EJ0032   | <i>A. auricollis auricollis</i> | MF285954    | MF286078       | MF286242       |
| EJ0033   | <i>A. auricollis auricollis</i> | MF285955    | MF286079       | MF286243       |
| EJ0034   | <i>A. auricollis auricollis</i> | MF285953    | MF286080       | MF286244       |
| EJ0035   | <i>A. auricollis auricollis</i> | MF285952    | MF286081       | –              |
| EJ0036   | <i>A. burkei</i>                | MF285934    | MF286082       | MF286245       |
| EJ0037   | <i>A. cuprescens cuprescens</i> | MF285921    | MF286083       | MF286246       |
| EJ0039   | <i>A. lineolalineola</i>        | MF285937    | MF286084       | –              |
| EJ0040   | <i>A. lineolalineola</i>        | MF285938    | MF286085       | –              |
| EJ0041   | <i>A. mendax</i>                | MF285950    | MF286086       | MF286247       |
| EJ0042   | <i>A. politus</i>               | MF285923    | MF286087       | MF286248       |
| EJ0043   | <i>A. politus</i>               | MF285925    | MF286088       | MF286249       |
| EJ0044   | <i>A. politus</i>               | MF285927    | MF286089       | MF286250       |
| EJ0045   | <i>A. politus</i>               | MF285926    | MF286090       | MF286251       |
| EJ0046   | <i>A. ribesi</i>                | MF285929    | MF286091       | –              |
| EJ0047   | <i>A. ribesi</i>                | MF285930    | –              | –              |
| EJ0048   | <i>A. salicis</i>               | MF285939    | –              | MF286252       |

| Vzorek # | Druh                              | GenBank #<br><i>rrnL</i> | <i>coxI-3'</i> | <i>coxI-5'</i> |
|----------|-----------------------------------|--------------------------|----------------|----------------|
| EJ0049   | <i>A. salicivola</i>              | –                        | –              | MF286253       |
| EJ0050   | <i>A. salicivola</i>              | MF285932                 | MF286092       | MF286254       |
| EJ0051   | <i>A. salicivola</i>              | MF285933                 | MF286093       | MF286255       |
| EJ0052   | <i>A. sinuatus</i>                | –                        | MF286094       | –              |
| EJ0057   | <i>A. viridis viridis</i>         | MF285911                 | –              | MF286256       |
| EJ0058   | <i>A. viridis viridis</i>         | MF285912                 | –              | –              |
| EJ0059   | <i>A. viridis viridis</i>         | MF285917                 | –              | –              |
| EJ0062   | <i>A. viridis viridis</i>         | MF285918                 | –              | MF286257       |
| EJ0063   | <i>A. viridis viridis</i>         | –                        | –              | MF286258       |
| EJ0064   | <i>A. viridis viridis</i>         | MF285919                 | MF286095       | MF286259       |
| EJ0065   | <i>A. viridis viridis</i>         | MF285915                 | MF286096       | MF286260       |
| EJ0066   | <i>A. viridis viridis</i>         | MF285913                 | MF286097       | MF286261       |
| EJ0067   | <i>A. viridis viridis</i>         | MF285914                 | –              | MF286262       |
| EJ0068   | <i>A. albogularis albogularis</i> | MF285902                 | MF286098       | MF286263       |
| EJ0069   | <i>A. albogularis albogularis</i> | MF285903                 | MF286099       | MF286264       |
| EJ0070   | <i>A. cinctus</i>                 | MF285942                 | MF286100       | MF286265       |
| EJ0071   | <i>A. cinctus</i>                 | MF285943                 | MF286101       | MF286266       |
| EJ0072   | <i>A. croaticus</i>               | MF285946                 | MF286102       | MF286267       |
| EJ0073   | <i>A. croaticus</i>               | MF285947                 | MF286103       | MF286268       |
| EJ0074   | <i>A. hyperici</i>                | MF285949                 | MF286104       | MF286269       |
| EJ0075   | <i>A. integerrimus</i>            | MF285931                 | MF286105       | MF286270       |
| EJ0076   | <i>A. macroderus</i>              | MF285940                 | MF286106       | MF286271       |
| EJ0077   | <i>A. macroderus</i>              | MF285941                 | MF286107       | MF286272       |
| EJ0078   | <i>A. angustulus angustulus</i>   | MF285961                 | –              | MF286273       |
| EJ0079   | <i>A. angustulus angustulus</i>   | MF285963                 | MF286108       | MF286274       |
| EJ0080   | <i>A. angustulus angustulus</i>   | MF285962                 | MF286109       | MF286275       |
| EJ0081   | <i>A. angustulus angustulus</i>   | MF285976                 | MF286110       | MF286276       |
| EJ0082   | <i>A. derasofasciatus</i>         | MF285977                 | MF286111       | MF286277       |
| EJ0083   | <i>A. derasofasciatus</i>         | MF285978                 | MF286112       | MF286278       |
| EJ0084   | <i>A. graminis graminis</i>       | MF285964                 | MF286113       | MF286279       |
| EJ0085   | <i>A. graminis graminis</i>       | MF285965                 | MF286114       | MF286280       |
| EJ0086   | <i>A. hastulifer hastulifer</i>   | MF285966                 | MF286115       | MF286281       |
| EJ0087   | <i>A. hastulifer hastulifer</i>   | –                        | MF286116       | MF286282       |
| EJ0088   | <i>A. laticornis</i>              | MF285967                 | MF286117       | –              |
| EJ0089   | <i>A. laticornis</i>              | MF285968                 | MF286118       | MF286283       |
| EJ0091   | <i>A. obscuricollis</i>           | MF285973                 | MF286119       | MF286284       |
| EJ0092   | <i>A. obscuricollis</i>           | MF285974                 | MF286120       | MF286285       |
| EJ0093   | <i>A. obscuricollis</i>           | MF285975                 | MF286121       | MF286286       |
| EJ0094   | <i>A. olivicolor</i>              | MF285972                 | MF286122       | MF286287       |
| EJ0096   | <i>A. sulcicollis sulcicollis</i> | MF285969                 | –              | MF286288       |
| EJ0099   | <i>A. biguttatus</i>              | MF285956                 | MF286123       | MF286289       |
| EJ0100   | <i>A. biguttatus</i>              | MF285957                 | MF286124       | MF286290       |
| EJ0102   | <i>A. guerini</i>                 | MF285960                 | MF286125       | MF286291       |
| EJ0103   | <i>A. betuleti</i>                | MF285907                 | MF286126       | –              |
| EJ0104   | <i>A. delphinensis</i>            | MF285904                 | MF286127       | MF286292       |
| EJ0105   | <i>A. delphinensis</i>            | MF285905                 | MF286128       | MF286293       |
| EJ0106   | <i>A. pratensis pratensis</i>     | –                        | MF286129       | MF286294       |
| EJ0107   | <i>A. pratensis pratensis</i>     | MF285906                 | MF286130       | MF286295       |
| EJ0109   | <i>A. convexicollis</i>           | MF285979                 | MF286131       | MF286296       |
| EJ0110   | <i>A. convexicollis</i>           | MF285980                 | MF286132       | MF286297       |
| EJ0111   | <i>A. convexicollis</i>           | MF285981                 | MF286133       | MF286298       |
| EJ0112   | <i>A. convexicollis</i>           | –                        | MF286134       | MF286299       |
| EJ0113   | <i>A. cyanescens</i>              | MF285983                 | MF286135       | MF286300       |
| EJ0114   | <i>A. cyanescens</i>              | –                        | MF286136       | MF286301       |
| EJ0115   | <i>A. cyanescens</i>              | MF285984                 | MF286137       | MF286302       |
| EJ0116   | <i>A. viridicaerulans</i>         | MF285895                 | MF286138       | MF286303       |
| EJ0117   | <i>A. viridicaerulans</i>         | MF285896                 | MF286139       | MF286304       |
| EJ0118   | <i>A. burkei</i>                  | MF285935                 | MF286140       | MF286305       |
| EJ0119   | <i>A. burkei</i>                  | MF285936                 | MF286141       | MF286306       |
| EJ0120   | <i>A. politus</i>                 | MF285928                 | MF286142       | MF286307       |
| EJ0121   | <i>A. politus</i>                 | MF285924                 | MF286143       | MF286308       |
| EJ0124s  | <i>A. roscidus</i>                | MF285901                 | –              | –              |
| EJ0125   | <i>A. roscidus</i>                | MF285899                 | –              | –              |
| EJ0126   | <i>A. elegans</i>                 | –                        | –              | MF286312       |
| EJ0128   | <i>A. uhagani</i>                 | MF285945                 | MF286147       | MF286313       |
| EJ0129   | <i>A. beauprei mourguesi</i>      | MF285982                 | MF286148       | –              |
| EJ0132   | <i>A. uhagani</i>                 | MF285944                 | –              | MF286314       |
| EJ0133   | <i>A. roscidus</i>                | MF285897                 | –              | MF286315       |
| EJ0134   | <i>A. viridis viridis</i>         | –                        | –              | MF286316       |
| EJ0135   | <i>A. solieri</i>                 | MF285948                 | –              | MF286317       |
| EJ0140   | <i>A. suvorovi</i>                | –                        | MF286149       | MF286318       |
| EJ0141   | <i>A. suvorovi</i>                | –                        | –              | MF286319       |
| EJ0145   | <i>A. viridis viridis</i>         | –                        | –              | MF286320       |
| EJ0146   | <i>A. viridis viridis</i>         | –                        | –              | MF286321       |

| Vzorek # | Druh  | GenBank # | <i>rrnL</i> | <i>coxI-3'</i> | <i>coxI-5'</i> |
|----------|---|-----------|-------------|----------------|----------------|
| EJ0150   | <i>A. sulcicollis sulcicollis</i>           | MF285971  | –           | –              | MF286324       |
| EJ0151   | <i>A. sulcicollis sulcicollis</i>           | MF285970  | –           | –              | MF286325       |
| EJ0154   | <i>A. viridis viridis</i>                   | –         | –           | –              | MF286326       |
| EJ0156   | <i>A. hyperici</i>                          | –         | –           | MF286151       | MF286327       |
| EJ0158   | <i>A. biguttatus</i>                        | MF285959  | –           | MF286152       | MF286328       |
| EJ0159   | <i>A. biguttatus</i>                        | MF285958  | –           | MF286153       | MF286329       |
| EJ0160   | <i>A. viridis viridis</i>                   | –         | –           | –              | MF286330       |
| EJ0161   | <i>A. viridis viridis</i>                   | –         | –           | –              | MF286331       |
| EJ0201   | <i>A. masculinus</i>                        | MF285998  | –           | MF286165       | XY123456       |
| EJ0202   | <i>A. masculinus</i>                        | –         | –           | –              | XY123456       |
| EJ0203   | <i>A. masculinus</i>                        | –         | –           | –              | XY123456       |
| EJ0204   | <i>A. bilineatus</i>                        | MF286021  | –           | MF286166       | XY123456       |
| EJ0205   | <i>A. egenus</i>                            | –         | –           | MF286167       | XY123456       |
| EJ0206   | <i>A. egenus</i>                            | –         | –           | MF286168       | XY123456       |
| EJ0207   | <i>A. graminis graminis</i>                 | –         | –           | MF286169       | XY123456       |
| EJ0208   | <i>A. graminis</i>                          | MF286041  | –           | MF286170       | XY123456       |
| EJ0209   | <i>Agrius</i> sp.                           | –         | –           | –              | XY123456       |
| EJ0210   | <i>Agrius</i> sp.                           | –         | –           | –              | XY123456       |
| EJ0211   | <i>A. albogularis artemisiae</i>            | MF285994  | –           | MF286171       | XY123456       |
| EJ0212   | <i>A. albogularis artemisiae</i>            | –         | –           | –              | XY123456       |
| EJ0213   | <i>A. sulcicollis</i>                       | MF286035  | –           | –              | XY123456       |
| EJ0214   | <i>A. ecarinatus</i>                        | MF285995  | –           | –              | XY123456       |
| EJ0215   | <i>A. ribbei</i>                            | MF286036  | –           | –              | XY123456       |
| EJ0216   | <i>A. ribbei</i>                            | MF286037  | –           | –              | XY123456       |
| EJ0217   | <i>A. ribbei</i>                            | MF286038  | –           | MF286172       | XY123456       |
| EJ0218   | <i>A. graminis graminis</i>                 | –         | –           | –              | XY123456       |
| EJ0219   | <i>A. nipponigena</i>                       | –         | –           | –              | XY123456       |
| EJ0220   | <i>A. cyanescens</i>                        | MF286047  | –           | MF286173       | XY123456       |
| EJ0221   | <i>A. nagoi</i>                             | MF286028  | –           | MF286174       | XY123456       |
| EJ0222   | <i>A. lacroixi</i>                          | MF286046  | –           | MF286175       | XY123456       |
| EJ0223   | <i>A. lubopetri</i>                         | MF286018  | –           | MF286176       | XY123456       |
| EJ0224   | <i>A. rivalieri</i>                         | MF286053  | –           | –              | –              |
| EJ0225   | <i>Agrius</i> sp. <i>cum maculifer</i>      | MF286029  | –           | MF286177       | XY123456       |
| EJ0226   | <i>Agrius</i> sp. <i>cum maculifer</i>      | MF286030  | –           | MF286178       | XY123456       |
| EJ0227   | <i>A. smaragdinus</i>                       | MF286009  | –           | MF286179       | XY123456       |
| EJ0228   | <i>A. planipennis</i>                       | MF286013  | –           | MF286180       | XY123456       |
| EJ0229   | <i>A. obsoletoguttatus</i>                  | MF286026  | –           | MF286181       | XY123456       |
| EJ0230   | <i>A. obsoletoguttatus</i>                  | MF286027  | –           | MF286182       | XY123456       |
| EJ0231   | <i>A. sulcicollis</i>                       | MF286034  | –           | MF286183       | XY123456       |
| EJ0232   | <i>A. planipennis</i>                       | MF286014  | –           | –              | XY123456       |
| EJ0233   | <i>A. hastulifer</i>                        | MF286043  | –           | MF286184       | XY123456       |
| EJ0234   | <i>A. viridicaerulans</i>                   | –         | –           | –              | XY123456       |
| EJ0235   | <i>A. voriseki</i>                          | –         | –           | MF286185       | XY123456       |
| EJ0236   | <i>A. convexicollis</i>                     | –         | –           | –              | XY123456       |
| EJ0237   | <i>A. biguttatus</i>                        | MF286016  | –           | MF286186       | XY123456       |
| EJ0238   | <i>A. roscidus</i>                          | MF285992  | –           | MF286187       | XY123456       |
| EJ0239   | <i>A. roscidus</i>                          | MF285993  | –           | –              | XY123456       |
| EJ0240   | <i>A. perisi</i>                            | –         | –           | –              | XY123456       |
| EJ0241   | <i>A. pekinensis</i>                        | MF286012  | –           | MF286188       | XY123456       |
| EJ0242   | <i>Agrius</i> sp. <i>cum alutaceicollis</i> | MF286003  | –           | MF286189       | XY123456       |
| EJ0243   | <i>A. alutaceicollis</i>                    | MF286004  | –           | MF286190       | XY123456       |
| EJ0244   | <i>A. crataegi</i>                          | MF285999  | –           | MF286191       | XY123456       |
| EJ0245   | <i>A. crataegi</i>                          | –         | –           | –              | XY123456       |
| EJ0246   | <i>A. cuprescens</i>                        | –         | –           | –              | XY123456       |
| EJ0247   | <i>A. cuprescens</i>                        | –         | –           | –              | XY123456       |
| EJ0248   | <i>A. arcuatus</i>                          | MF286001  | –           | MF286192       | XY123456       |
| EJ0249   | <i>A. arcuatus</i>                          | MF286002  | –           | MF286193       | XY123456       |
| EJ0250   | <i>A. nipponigena</i>                       | MF286017  | –           | MF286194       | XY123456       |
| EJ0251   | <i>A. pseudocoryli</i>                      | –         | –           | –              | XY123456       |
| EJ0252   | <i>A. obscuricollis</i>                     | –         | –           | –              | XY123456       |
| EJ0253   | <i>A. granulatus</i>                        | MF286022  | –           | MF286195       | XY123456       |
| EJ0254   | <i>A. granulatus</i>                        | MF286023  | –           | MF286196       | XY123456       |
| EJ0255   | <i>A. solieri</i>                           | MF286052  | –           | MF286197       | XY123456       |
| EJ0256   | <i>A. ruficollis</i>                        | –         | –           | MF286198       | XY123456       |
| EJ0257   | <i>A. ruficollis</i>                        | MF286025  | –           | MF286199       | XY123456       |
| EJ0258   | <i>A. politus</i>                           | –         | –           | –              | XY123456       |
| EJ0259   | <i>A. politus</i>                           | –         | –           | MF286200       | XY123456       |
| EJ0261   | <i>A. hyperici</i>                          | –         | –           | MF286201       | XY123456       |
| EJ0262   | <i>A. vittaticollis</i>                     | MF286024  | –           | MF286202       | XY123456       |
| EJ0263   | <i>A. vittaticollis</i>                     | –         | –           | –              | XY123456       |
| EJ0264   | <i>A. laticornis</i>                        | –         | –           | –              | XY123456       |
| EJ0265   | <i>A. sinensis</i>                          | –         | –           | –              | XY123456       |
| EJ0266   | <i>A. pensus</i>                            | –         | –           | MF286203       | XY123456       |
| EJ0267   | <i>A. pensus</i>                            | –         | –           | –              | XY123456       |

| Vzorek # | Druh                               | GenBank #<br><i>rrnL</i> | <i>coxI-3'</i> | <i>coxI-5'</i> |
|----------|------------------------------------|--------------------------|----------------|----------------|
| EJ0268   | <i>A. anxius</i>                   | –                        | –              | XY123456       |
| EJ0269   | <i>A. anxius</i>                   | –                        | –              | XY123456       |
| EJ0270   | <i>A. derasofasciatus</i>          | MF286044                 | MF286204       | XY123456       |
| EJ0271   | <i>A. osburni</i>                  | –                        | –              | XY123456       |
| EJ0272   | <i>A. osburni</i>                  | –                        | MF286205       | XY123456       |
| EJ0273   | <i>A. sinensis splendidicollis</i> | MF285996                 | MF286206       | XY123456       |
| EJ0274   | <i>A. sinensis splendidicollis</i> | MF285997                 | MF286207       | XY123456       |
| EJ0275   | <i>A. viscivorus</i>               | –                        | –              | XY123456       |
| EJ0276   | <i>A. asahinai</i>                 | –                        | MF286208       | XY123456       |
| EJ0277   | <i>A. cyanescens</i>               | –                        | MF286209       | XY123456       |
| EJ0278   | <i>A. asahinai</i>                 | –                        | MF286210       | XY123456       |
| EJ0279   | <i>A. cyanescens cyanescens</i>    | MF286048                 | MF286211       | XY123456       |
| EJ0280   | <i>A. euonymi</i>                  | MF286049                 | MF286212       | XY123456       |
| EJ0281   | <i>A. euonymi</i>                  | MF286050                 | MF286213       | XY123456       |
| EJ0282   | <i>A. adelphinus</i>               | MF286039                 | MF286214       | XY123456       |
| EJ0283   | <i>A. adelphinus</i>               | MF286040                 | MF286215       | XY123456       |
| EJ0284   | <i>A. betuleti</i>                 | MF286000                 | MF286216       | XY123456       |
| EJ0285   | <i>A. quadrisignatus</i>           | MF286015                 | MF286217       | XY123456       |
| EJ0287   | <i>A. sibiricus sibiricus</i>      | MF286005                 | –              | XY123456       |
| EJ0288   | <i>A. sibiricus sibiricus</i>      | MF286006                 | MF286219       | XY123456       |
| EJ0289   | <i>A. tempestivus</i>              | MF286045                 | MF286220       | XY123456       |
| EJ0290   | <i>A. ussuricola</i>               | MF286042                 | MF286221       | XY123456       |
| EJ0291   | <i>A. cyaneoniger</i>              | MF286019                 | MF286222       | XY123456       |
| EJ0292   | <i>A. cyaneoniger</i>              | MF286020                 | MF286223       | XY123456       |
| EJ0293   | <i>A. peregrinus</i>               | MF286010                 | MF286224       | XY123456       |
| EJ0294   | <i>A. peregrinus</i>               | MF286011                 | MF286225       | –              |
| EJ0295   | <i>A. nicolanus</i>                | MF286007                 | MF286226       | XY123456       |
| EJ0296   | <i>A. nicolanus</i>                | MF286008                 | MF286227       | XY123456       |
| VVGC072  | <i>A. semicadacus</i>              | –                        | –              | XY123456       |
| VVGC089  | <i>A. cyanescens</i>               | –                        | –              | XY123456       |

#### Vysvětlivky

–... fragment se nepodařilo amplifikovat  
MFxxxxxx, XY123456... amplifikovaný fragment

Tabulka 6: Výsledky delimitačních metod

| Vzorek                      |         |                                   | DNA delimitace pomocí |    |          |     |         |    |            |          |         |
|-----------------------------|---------|-----------------------------------|-----------------------|----|----------|-----|---------|----|------------|----------|---------|
|                             |         |                                   | Genetické vzdálenosti |    |          |     |         |    | Modelu PTP |          |         |
| #1                          | #2      | Druh                              | rrnl                  |    | cox1-Bar |     | cox1-3' |    | rrnl       | cox1-Bar | cox1-3' |
|                             |         |                                   | 3%                    | 2% | 3%       | 2%  | 3%      | 2% |            |          |         |
| Počet předpokládaných druhů |         |                                   | 65                    | 76 | 104      | 115 | 78      | 84 | 79         | 171      | 85      |
| EJ0282                      | CNC7621 | <i>A. adelphinus</i>              | A                     | A  | A        | A   | A       | A  | A          | A1       | A       |
| EJ0283                      | CNC7620 | <i>A. adelphinus</i>              | A                     | A  | A        | A   | A       | A  | A          | A1       | A       |
| EJ0211                      | CNC0373 | <i>A. albogularis artemisiae</i>  | B                     | B  | B        | B   | B       | B  | B          | B1       | B       |
| EJ0212                      | CNC0357 | <i>A. albogularis artemisiae</i>  | -                     | -  | B        | B   | -       | -  | -          | B2       | -       |
|                             | CNC1462 | <i>A. albogularis</i>             | -                     | -  | B        | B   | -       | -  | -          | B2       | -       |
| EJ0068                      |         | <i>A. albogularis albogularis</i> | C                     | C  | C        | C   | C       | C  | B          | C        | C       |
| EJ0069                      |         | <i>A. albogularis albogularis</i> | C                     | C  | C        | C   | C       | C  | B          | C        | C       |
| EJ0243                      | CNC7378 | <i>A. alutaceicollis</i>          | D                     | D  | D        | D   | D       | D  | D          | D        | D       |
|                             | CNC0377 | <i>A. angustulus</i>              | -                     | -  | E1       | E1  | -       | -  | -          | E1       | -       |
|                             | CNC0388 | <i>A. angustulus</i>              | -                     | -  | E2       | E2  | -       | -  | -          | E2       | -       |
|                             | CNC0390 | <i>A. angustulus</i>              | -                     | -  | E1       | E1  | -       | -  | -          | E1       | -       |
|                             | CNC0392 | <i>A. angustulus</i>              | -                     | -  | E1       | E1  | -       | -  | -          | E1       | -       |
|                             | CNC0393 | <i>A. angustulus</i>              | -                     | -  | E1       | E1  | -       | -  | -          | E1       | -       |
|                             | CNC0395 | <i>A. angustulus</i>              | -                     | -  | E1       | E1  | -       | -  | -          | E1       | -       |
| EJ0078                      |         | <i>A. angustulus angustulus</i>   | E                     | E  | E1       | E1  | -       | -  | E          | E1       | -       |
| EJ0079                      |         | <i>A. angustulus angustulus</i>   | E                     | E  | E1       | E1  | E       | E  | E          | E1       | E       |
| EJ0080                      |         | <i>A. angustulus angustulus</i>   | E                     | E  | E1       | E1  | E       | E  | E          | E1       | E       |
| EJ0081                      |         | <i>A. angustulus angustulus</i>   | E                     | E  | E1       | E1  | E       | E  | E          | E1       | E       |
| EJ0268                      | CNC4684 | <i>A. anxius</i>                  | -                     | -  | F        | F   | -       | -  | -          | F        | -       |
| EJ0269                      | CNC4670 | <i>A. anxius</i>                  | -                     | -  | F        | F   | -       | -  | -          | F        | -       |
|                             | CNC0407 | <i>A. anxius</i>                  | -                     | -  | F        | F   | -       | -  | -          | F        | -       |
|                             | CNC1479 | <i>A. anxius</i>                  | -                     | -  | F        | F   | -       | -  | -          | F        | -       |
|                             | CNC4669 | <i>A. anxius</i>                  | -                     | -  | F        | F   | -       | -  | -          | F        | -       |
| EJ0248                      | CNC5916 | <i>A. arcuatus</i>                | G                     | G  | G        | G   | G       | G  | G1         | G        | G       |
| EJ0249                      | CNC5912 | <i>A. arcuatus</i>                | G                     | G  | G        | G   | G       | G  | G2         | G        | G       |
|                             | CNC4676 | <i>A. arcuatus</i>                | -                     | -  | G        | G   | -       | -  | -          | G3       | -       |
|                             | CNC5911 | <i>A. arcuatus</i>                | -                     | -  | G        | G   | -       | -  | -          | G4       | -       |
|                             | CNC5913 | <i>A. arcuatus</i>                | -                     | -  | AB       | AB  | -       | -  | -          | AB       | -       |
|                             | CNC5914 | <i>A. arcuatus</i>                | -                     | -  | G        | G   | -       | -  | -          | G5       | -       |
|                             | CNC5915 | <i>A. arcuatus</i>                | -                     | -  | G        | G   | -       | -  | -          | G        | -       |
| EJ0278                      | CNC7575 | <i>A. asahinai</i>                | -                     | -  | H        | H   | H       | H  | -          | H        | H1      |
|                             | CNC7571 | <i>A. asahinai</i>                | -                     | -  | H        | H   | -       | -  | -          | H        | -       |
|                             | CNC7573 | <i>A. asahinai</i>                | -                     | -  | H        | H   | -       | -  | -          | H        | -       |

| Vzorek |         |                                 | Genetické vzdálenosti |      |         |         |         |         | Modelu PTP |         |    |
|--------|---------|---------------------------------|-----------------------|------|---------|---------|---------|---------|------------|---------|----|
| #1     | #2      | Druh                            | rrnl                  | rrnl | cox1-3' | cox1-3' | cox1-3' | cox1-3' | rrnl       | cox1-3' |    |
|        |         |                                 | 3%                    | 2%   | 3%      | 2%      | 3%      | 2%      |            |         |    |
|        | CNC7574 | <i>A. asahinai</i>              | -                     | -    | H       | H       | -       | -       | -          | H       | -  |
|        | CNC7576 | <i>A. asahinai</i>              | -                     | -    | H       | H       | -       | -       | -          | H       | -  |
| EJ0276 | CNC7417 | <i>A. asahinai</i>              | -                     | -    | H       | H       | H       | H       | -          | H       | H2 |
|        | CNC0380 | <i>A. asiaticus</i>             | -                     | -    | I       | I1      | -       | -       | -          | I       | -  |
|        | CNC0469 | <i>A. asiaticus</i>             | -                     | -    | I       | I2      | -       | -       | -          | CA      | -  |
|        | CNC0375 | <i>A. ater</i>                  | -                     | -    | J       | J       | -       | -       | -          | J       | -  |
| EJ0006 |         | <i>A. auricollis auricollis</i> | K                     | K    | -       | -       | K       | K       | K1         | -       | K  |
| EJ0032 |         | <i>A. auricollis auricollis</i> | K                     | K    | K       | K       | K       | K       | K2         | K       | K  |
| EJ0033 |         | <i>A. auricollis auricollis</i> | K                     | K    | K       | K       | K       | K       | K3         | K       |    |
| EJ0034 |         | <i>A. auricollis auricollis</i> | K                     | K    | K       | K       | K       | K       | K1         | K       | K  |
| EJ0035 |         | <i>A. auricollis auricollis</i> | K                     | K    | -       | -       | K       | K       | K1         | -       | K  |
| EJ0129 |         | <i>A. beauprei mourguesi</i>    | L                     | L    | -       | -       | S       | S       | S          | -       | L  |
| EJ0103 |         | <i>A. betuleti</i>              | M                     | M1   | -       | -       | M       | M       | M          | -       | M1 |
| EJ0284 | CNC7570 | <i>A. betuleti</i>              | M                     | M2   | M       | M       | M       | M       | M          | M       | M2 |
|        | CNC7565 | <i>A. betuleti</i>              | -                     | -    | M       | M       | -       | -       | -          | M       | -  |
|        | CNC7566 | <i>A. betuleti</i>              | -                     | -    | M       | M       | -       | -       | -          | M       | -  |
|        | CNC7567 | <i>A. betuleti</i>              | -                     | -    | M       | M       | -       | -       | -          | M       | -  |
|        | CNC7568 | <i>A. betuleti</i>              | -                     | -    | M       | M       | -       | -       | -          | M       | -  |
|        | CNC7569 | <i>A. betuleti</i>              | -                     | -    | M       | M       | -       | -       | -          | M       | -  |
| EJ0099 |         | <i>A. biguttatus</i>            | N                     | N    | N       | N       | N       | N       | N          | N1      | N  |
| EJ0100 |         | <i>A. biguttatus</i>            | N                     | N    | N       | N       | N       | N       | N          | N1      | N  |
| EJ0158 |         | <i>A. biguttatus</i>            | N                     | N    | N       | N       | N       | N       | N          | N2      | N  |
| EJ0159 |         | <i>A. biguttatus</i>            | N                     | N    | N       | N       | N       | N       | N          | N2      | N  |
| EJ0237 | CNC0385 | <i>A. biguttatus</i>            | N                     | N    | N       | N       | N       | N       | N          | N2      | N  |
| EJ0204 | CNC5858 | <i>A. bilineatus</i>            | O                     | O    | O       | O       | O       | O       | O          | O       | O  |
| EJ0036 |         | <i>A. burkei</i>                | P                     | P1   | P       | P       | P       | P       | P          | P       | P1 |
| EJ0118 |         | <i>A. burkei</i>                | P                     | P1   | P       | P       | P       | P       | P          | P       | P1 |
| EJ0119 |         | <i>A. burkei</i>                | P                     | P1   | P       | P       | P       | P       | P          | P       | P1 |
| EJ0070 |         | <i>A. cinctus</i>               | Z                     | Z1   | Z1      | Z1      | Z1      | Z1      | Z1         | Z1      | Z3 |
| EJ0071 |         | <i>A. cinctus</i>               | Z                     | Z1   | Z1      | Z1      | Z1      | Z1      | Z1         | Z1      | Z4 |
| EJ0109 |         | <i>A. convexicollis</i>         | AA                    | AA   | AA      | AA      | AA      | AA      | AA         | AA      | AA |
| EJ0110 |         | <i>A. convexicollis</i>         | AA                    | AA   | AA      | AA      | AA      | AA      | AA         | AA      | AA |
| EJ0111 |         | <i>A. convexicollis</i>         | AA                    | AA   | AA      | AA      | AA      | AA      | AA         | AA      | AA |
| EJ0112 |         | <i>A. convexicollis</i>         | -                     | -    | AA      | AA      | AA      | AA      | -          | AA      | AA |
| EJ0236 | CNC0386 | <i>A. convexicollis</i>         | -                     | -    | AA      | AA      | -       | -       | -          | AA      | -  |

| Vzorek |         |                                 | Genetické vzdálenosti |      |                  |                  |         |         | Modelu PTP |                  |         |
|--------|---------|---------------------------------|-----------------------|------|------------------|------------------|---------|---------|------------|------------------|---------|
| #1     | #2      | Druh                            | rrnL                  | rrnL | cox1- <u>Bar</u> | cox1- <u>Bar</u> | cox1-3' | cox1-3' | rrnL       | cox1- <u>Bar</u> | cox1-3' |
|        |         |                                 | 3%                    | 2%   | 3%               | 2%               | 3%      | 2%      |            |                  |         |
| EJ0244 | CNC5867 | <i>A. crataegi</i>              | AB                    | AB   | AB               | AB               | AB      | AB      | AB         | AB               | AB      |
| EJ0245 | CNC4702 | <i>A. crataegi</i>              | -                     | -    | AB               | AB               | -       | -       | -          | AU               | -       |
| EJ0072 |         | <i>A. croaticus</i>             | Z                     | Z2   | Z2               | Z2               | Z2      | Z2      | Z2         | Z2               | Z5      |
| EJ0073 |         | <i>A. croaticus</i>             | Z                     | Z2   | Z2               | Z2               | Z2      | Z2      | Z2         | Z2               | Z6      |
| EJ0246 | CNC1463 | <i>A. cuprescens</i>            | -                     | -    | X                | X2               | -       | -       | -          | X2               | -       |
| EJ0247 | CNC4659 | <i>A. cuprescens</i>            | -                     | -    | X                | X2               | -       | -       | -          | X2               | -       |
|        | CNC0410 | <i>A. cuprescens</i>            | -                     | -    | X                | X2               | -       | -       | -          | X2               | -       |
|        | CNC0424 | <i>A. cuprescens</i>            | -                     | -    | X                | X3               | -       | -       | -          | X3               | -       |
|        | CNC4644 | <i>A. cuprescens</i>            | -                     | -    | X                | X2               | -       | -       | -          | X2               | -       |
|        | CNC4645 | <i>A. cuprescens</i>            | -                     | -    | X                | X2               | -       | -       | -          | X2               | -       |
|        | CNC4646 | <i>A. cuprescens</i>            | -                     | -    | X                | X2               | -       | -       | -          | X2               | -       |
|        | CNC4647 | <i>A. cuprescens</i>            | -                     | -    | X                | X2               | -       | -       | -          | X2               | -       |
|        | CNC4649 | <i>A. cuprescens</i>            | -                     | -    | X                | X2               | -       | -       | -          | X2               | -       |
|        | CNC4650 | <i>A. cuprescens</i>            | -                     | -    | X                | X2               | -       | -       | -          | X2               | -       |
|        | CNC4654 | <i>A. cuprescens</i>            | -                     | -    | X                | X2               | -       | -       | -          | X2               | -       |
|        | CNC4687 | <i>A. cuprescens</i>            | -                     | -    | X                | X2               | -       | -       | -          | X2               | -       |
|        | CNC7308 | <i>A. cuprescens</i>            | -                     | -    | X                | X2               | -       | -       | -          | X2               | -       |
| EJ0037 |         | <i>A. cuprescens cuprescens</i> | P                     | P1   | X                | X1               | X1      | X1      | X1         | X1               | X1      |
|        | CNC0354 | <i>A. curtulus</i>              | -                     | -    | AC               | AC               | -       | -       | -          | AC               | -       |
| EJ0291 | CNC7412 | <i>A. cyaneoniger</i>           | AD                    | AD   | AD1              | AD1              | AD      | AD      | AD3        | AD1              | AD      |
| EJ0292 | CNC7507 | <i>A. cyaneoniger</i>           | AD                    | AD   | AD1              | AD1              | AD      | AD      | AD4        | AD1              | AD      |
|        | CNC0468 | <i>A. cyaneoniger</i>           | -                     | -    | AD2              | AD2              | -       | -       | -          | AD2              | -       |
|        | CNC1447 | <i>A. cyaneoniger</i>           | -                     | -    | AD1              | AD1              | -       | -       | -          | AD1              | -       |
|        | CNC7367 | <i>A. cyaneoniger</i>           | -                     | -    | AD1              | AD1              | -       | -       | -          | AD1              | -       |
|        | CNC7368 | <i>A. cyaneoniger</i>           | -                     | -    | AD1              | AD1              | -       | -       | -          | AD1              | -       |
|        | CNC7503 | <i>A. cyaneoniger</i>           | -                     | -    | AD1              | AD1              | -       | -       | -          | AD1              | -       |
|        | CNC7504 | <i>A. cyaneoniger</i>           | -                     | -    | AD1              | AD1              | -       | -       | -          | AD1              | -       |
|        | CNC7505 | <i>A. cyaneoniger</i>           | -                     | -    | AD1              | AD1              | -       | -       | -          | AD1              | -       |
|        | CNC7506 | <i>A. cyaneoniger</i>           | -                     | -    | AD1              | AD1              | -       | -       | -          | AD1              | -       |
| EJ0113 |         | <i>A. cyanescens</i>            | AE1                   | AE1  | AE1              | AE1              | AE1     | AE1     | AE1        | AE1              | AE1     |
| EJ0114 |         | <i>A. cyanescens</i>            | -                     | -    | AE1              | AE1              | AE1     | AE1     | -          | AE1              | AE1     |
| EJ0115 |         | <i>A. cyanescens</i>            | AE1                   | AE1  | AE1              | AE1              | AE1     | AE1     | AE1        | AE1              | AE1     |
| EJ0220 | CNC1450 | <i>A. cyanescens</i>            | AE2                   | AE2  | AE2              | AE2              | AE2     | AE2     | AE2        | AE2              | AE1     |
|        | CNC0013 | <i>A. cyanescens</i>            | -                     | -    | AE1              | AE1              | -       | -       | -          | AE1              | -       |
|        | CNC0423 | <i>A. cyanescens</i>            | -                     | -    | AE3              | AE3              | -       | -       | -          | AE3              | -       |

| Vzorek |         |                                 | Genetické vzdálenosti |      |                  |                  |         |         | Modelu PTP |                  |         |
|--------|---------|---------------------------------|-----------------------|------|------------------|------------------|---------|---------|------------|------------------|---------|
| #1     | #2      | Druh                            | rrnl                  | rrnl | cox1- <u>Bar</u> | cox1- <u>Bar</u> | cox1-3' | cox1-3' | rrnl       | cox1- <u>Bar</u> | cox1-3' |
|        |         |                                 | 3%                    | 2%   | 3%               | 2%               | 3%      | 2%      |            |                  |         |
|        | CNC1449 | <i>A. cyanescens</i>            | -                     | -    | AE2              | AE2              | -       | -       | -          | AE4              | -       |
|        | CNC1476 | <i>A. cyanescens</i>            | -                     | -    | AE1              | AE1              | -       | -       | -          | AE1              | -       |
|        | CNC1477 | <i>A. cyanescens</i>            | -                     | -    | AE3              | AE3              | -       | -       | -          | AE3              | -       |
|        | VVGC089 | <i>A. cyanescens</i>            | -                     | -    | AE1              | AE1              | -       | -       | -          | AE1              | -       |
| EJ0277 | CNC7572 | <i>A. cyanescens</i>            | -                     | AF   | AF               | AF               | AF      | -       | AF         | AF               | -       |
| EJ0279 | CNC7577 | <i>A. cyanescens cyanescens</i> | AG                    | AG   | AG               | AG               | AG      | AG      | AG         | AG               | AG      |
| EJ0104 |         | <i>A. delphinensis</i>          | AH                    | AH   | AH               | AH               | AH      | AH      | AH         | AH               | AH      |
| EJ0105 |         | <i>A. delphinensis</i>          | AH                    | AH   | AH               | AH               | AH      | AH      | AH         | AH               | AH      |
| EJ0082 |         | <i>A. derasofasciatus</i>       | AI1                   | AI1  | AI               | AI               | AI      | AI      | AI         | AI               | AI      |
| EJ0083 |         | <i>A. derasofasciatus</i>       | AI1                   | AI1  | AI               | AI               | AI      | AI      | AI         | AI               | AI      |
| EJ0270 | CNC0360 | <i>A. derasofasciatus</i>       | AI2                   | AI2  | AI               | AI               | AI      | AI      | AI         | AI               | AI      |
| EJ0214 | CNC7619 | <i>A. ecarinatus</i>            | AJ                    | AJ   | AJ               | AJ               | -       | -       | B          | AJ               | -       |
| EJ0205 | CNC5910 | <i>A. egenus</i>                | -                     | -    | AK               | AK               | AK      | AK      | AK         | AK               | AK      |
| EJ0206 | CNC5878 | <i>A. egenus</i>                | -                     | -    | AK               | AK               | AK      | AK      | -          | AK               | AK      |
|        | CNC0420 | <i>A. egenus</i>                | -                     | -    | AK               | AK               | -       | -       | -          | AK               | -       |
|        | CNC4681 | <i>A. egenus</i>                | -                     | -    | AK               | AK               | -       | -       | -          | AK               | -       |
|        | CNC4682 | <i>A. egenus</i>                | -                     | -    | AK               | AK               | -       | -       | -          | AK               | -       |
|        | CNC5852 | <i>A. egenus</i>                | -                     | -    | AK               | AK               | -       | -       | -          | AK               | -       |
|        | CNC5863 | <i>A. egenus</i>                | -                     | -    | AK               | AK               | -       | -       | -          | AK               | -       |
|        | CNC5865 | <i>A. egenus</i>                | -                     | -    | AK               | AK               | -       | -       | -          | AK               | -       |
|        | CNC5873 | <i>A. egenus</i>                | -                     | -    | AK               | AK               | -       | -       | -          | AK               | -       |
|        | CNC5905 | <i>A. egenus</i>                | -                     | -    | AK               | AK               | -       | -       | -          | AK               | -       |
|        | CNC5906 | <i>A. egenus</i>                | -                     | -    | AK               | AK               | -       | -       | -          | AK               | -       |
|        | CNC5907 | <i>A. egenus</i>                | -                     | -    | AK               | AK               | -       | -       | -          | AK               | -       |
|        | CNC5908 | <i>A. egenus</i>                | -                     | -    | AK               | AK               | -       | -       | -          | AK               | -       |
|        | CNC5909 | <i>A. egenus</i>                | -                     | -    | AK               | AK               | -       | -       | -          | AK               | -       |
| EJ0126 |         | <i>A. elegans</i>               | -                     | -    | AL               | AL               | -       | -       | -          | AL               | -       |
| EJ0280 | CNC7418 | <i>A. euonymi</i>               | AM                    | AM   | AM               | AM               | AM      | AM      | AM         | AM               | AM      |
| EJ0281 | CNC7614 | <i>A. euonymi</i>               | AM                    | AM   | AM               | AM               | AM      | AM      | AM         | AM               | AM      |
|        | CNC7615 | <i>A. euonymi</i>               | -                     | -    | AM               | AM               | -       | -       | -          | AM               | -       |
|        | CNC7609 | <i>A. friebi</i>                | -                     | -    | AN               | AN               | -       | -       | -          | AN               | -       |
|        | CNC7610 | <i>A. friebi</i>                | -                     | -    | AN               | AN               | -       | -       | -          | AN               | -       |
|        | CNC7611 | <i>A. friebi</i>                | -                     | -    | AN               | AN               | -       | -       | -          | AN               | -       |
| EJ0208 | CNC4668 | <i>A. graminis</i>              | AO1                   | AO1  | AO               | AO               | AO      | AO      | AO         | AO               | AO      |
|        | CNC0364 | <i>A. graminis</i>              | -                     | -    | AO               | AO               | -       | -       | -          | AO               | -       |



| Vzorek |         |                                 | Genetické vzdálenosti |      |                  |                  |         |         | Modelu PTP |                  |         |
|--------|---------|---------------------------------|-----------------------|------|------------------|------------------|---------|---------|------------|------------------|---------|
| #1     | #2      | Druh                            | rrnl                  | rrnl | cox1- <u>Bar</u> | cox1- <u>Bar</u> | cox1-3' | cox1-3' | rrnl       | cox1- <u>Bar</u> | cox1-3' |
|        |         |                                 | 3%                    | 2%   | 3%               | 2%               | 3%      | 2%      |            |                  |         |
|        | CNC0376 | <i>A. graminis</i>              | -                     | -    | AO               | AO               | -       | -       | -          | AO               | -       |
|        | CNC0394 | <i>A. graminis</i>              | -                     | -    | AO               | AO               | -       | -       | -          | AO               | -       |
|        | CNC1465 | <i>A. graminis</i>              | -                     | -    | AO               | AO               | -       | -       | -          | AO               | -       |
|        | CNC4665 | <i>A. graminis</i>              | -                     | -    | AO               | AO               | -       | -       | -          | AO               | -       |
|        | CNC4667 | <i>A. graminis</i>              | -                     | -    | AO               | AO               | -       | -       | -          | AO               | -       |
| EJ0084 |         | <i>A. graminis graminis</i>     | AO2                   | AO2  | AO               | AO               | AO      | AO      | AO         | AO               | AO      |
| EJ0085 |         | <i>A. graminis graminis</i>     | AO2                   | AO2  | AO               | AO               | AO      | AO      | AO         | AO               | AO      |
| EJ0207 | CNC0363 | <i>A. graminis graminis</i>     | -                     | -    | AO               | AO               | AO      | AO      | AO         | AO               | AO      |
| EJ0218 | CNC0361 | <i>A. graminis graminis</i>     | -                     | -    | AO3              | AO3              | -       | -       | -          | AO3              | -       |
| EJ0254 | CNC5895 | <i>A. granulatus</i>            | AP                    | AP1  | AP1              | AP1              | AP      | AP      | AP         | AP1              | AP14    |
|        | CNC5849 | <i>A. granulatus</i>            | -                     | -    | AP1              | AP1              | -       | -       | -          | AP1              | -       |
|        | CNC5854 | <i>A. granulatus</i>            | -                     | -    | AP1              | AP1              | -       | -       | -          | AP1              | -       |
|        | CNC5857 | <i>A. granulatus</i>            | -                     | -    | AP1              | AP1              | -       | -       | -          | AP1              | -       |
|        | CNC5875 | <i>A. granulatus</i>            | -                     | -    | AP1              | AP1              | -       | -       | -          | AP1              | -       |
|        | CNC5879 | <i>A. granulatus</i>            | -                     | -    | AP2              | AP2              | -       | -       | -          | AP2              | -       |
|        | CNC5880 | <i>A. granulatus</i>            | -                     | -    | AP1              | AP1              | -       | -       | -          | AP1              | -       |
|        | CNC5901 | <i>A. granulatus</i>            | -                     | -    | AP1              | AP1              | -       | -       | -          | AP1              | -       |
|        | CNC5902 | <i>A. granulatus</i>            | -                     | -    | AP1              | AP1              | -       | -       | -          | AP1              | -       |
|        | CNC5904 | <i>A. granulatus</i>            | -                     | -    | AP1              | AP1              | -       | -       | -          | AP1              | -       |
| EJ0102 |         | <i>A. guerini</i>               | AQ                    | AQ   | AQ               | AQ               | AQ      | AQ      | AQ         | AQ               | AQ      |
| EJ0233 | CNC0378 | <i>A. hastulifer</i>            | AR1                   | AR1  | AR1              | AR1              | AR1     | AR1     | AR1        | AR1              | AR1     |
| EJ0086 |         | <i>A. hastulifer hastulifer</i> | AR2                   | AR2  | AR2              | AR2              | AR2     | AR2     | AR2        | AR2              | AR2     |
| EJ0087 |         | <i>A. hastulifer hastulifer</i> | -                     | -    | AR2              | AR2              | AR2     | AR2     | -          | AR2              | AR2     |
| EJ0074 |         | <i>A. hyperici</i>              | AS1                   | AS1  | AS1              | AS1              | AS1     | AS1     | AS1        | AS1              | AS1     |
| EJ0156 |         | <i>A. hyperici</i>              | -                     | -    | AS2              | AS2              | AS2     | AS2     | -          | AS2              | AS2     |
| EJ0260 | CNC0374 | <i>A. hyperici</i>              | -                     | -    | AS2              | AS2              | -       | -       | -          | AS2              | -       |
| EJ0261 | CNC0358 | <i>A. hyperici</i>              | -                     | -    | AS2              | AS2              | AS2     | AS2     | -          | AS2              | AS2     |
| EJ0075 |         | <i>A. integerrimus</i>          | P                     | P1   | P                | Q                | R       | R       | R          | R                | R       |
|        | CNC7420 | <i>A. kaluganus</i>             | -                     | -    | AT               | AT               | -       | -       | -          | AT               | -       |
| EJ0001 |         | <i>A. kubani</i>                | -                     | -    | AU1              | AU1              | AU1     | AU1     | -          | AU1              | AU1     |
| EJ0026 |         | <i>A. kubani</i>                | AU                    | AU1  | AU1              | AU1              | AU1     | AU1     | AU         | AU1              | AU1     |
| EJ0027 |         | <i>A. kubani</i>                | AU                    | AU1  | AU1              | AU1              | AU1     | AU1     | AU         | AU1              | AU1     |
| EJ0222 | CNC2820 | <i>A. lacroixi</i>              | AV                    | AV   | AV               | AV               | AV      | AV      | AV         | AV               | AV      |
| EJ0088 |         | <i>A. laticornis</i>            | AW                    | AW   | -                | -                | AW      | AW1     | AW         | -                | AW      |
| EJ0089 |         | <i>A. laticornis</i>            | AW                    | AW   | AW2              | AW2              | AW      | AW2     | AW         | AW2              | AW      |

| Vzorek |         |                            | Genetické vzdálenosti |      |         |         |         |         | Modelu PTP |         |
|--------|---------|----------------------------|-----------------------|------|---------|---------|---------|---------|------------|---------|
| #1     | #2      | Druh                       | rrnl                  | rrnl | cox1-3' | cox1-3' | cox1-3' | cox1-3' | rrnl       | cox1-3' |
|        |         |                            | 3%                    | 2%   | 3%      | 2%      | 3%      | 2%      |            |         |
| EJ0264 | CNC1461 | <i>A. laticornis</i>       | -                     | -    | AW2     | AW2     | -       | -       | -          | AW2     |
|        | CNC0362 | <i>A. laticornis</i>       | -                     | -    | AW2     | AW2     | -       | -       | -          | AW2     |
|        | CNC0391 | <i>A. laticornis</i>       | -                     | -    | AW3     | AW3     | -       | -       | -          | AW3     |
| EJ0008 |         | <i>A. lineola lineola</i>  | -                     | -    | -       | -       | AX      | AX      | -          | -       |
| EJ0039 |         | <i>A. lineola lineola</i>  | AX                    | AX   | -       | -       | AX      | AX      | AX         | -       |
| EJ0040 |         | <i>A. lineola lineola</i>  | AX                    | AX   | -       | -       | AX      | AX      | AX         | -       |
| EJ0223 | CNC4661 | <i>A. lubopetri</i>        | AY                    | AY   | AY      | AY      | AY      | AY      | AY         | AY      |
| EJ0076 |         | <i>A. macroderus</i>       | AZ                    | AZ   | AZ      | AZ      | AZ      | AZ      | AZ         | AZ      |
| EJ0077 |         | <i>A. macroderus</i>       | AZ                    | AZ   | AZ      | AZ      | AZ      | AZ      | AZ         | AZ      |
| EJ0201 | CNC5869 | <i>A. masculinus</i>       | BA                    | BA   | BA      | BA      | BA      | BA      | BA         | BA      |
| EJ0202 | CNC0415 | <i>A. masculinus</i>       | -                     | -    | BA      | BA      | -       | -       | -          | BA      |
| EJ0203 | CNC1478 | <i>A. masculinus</i>       | -                     | -    | AB      | AB      | -       | -       | -          | AB      |
|        | CNC0416 | <i>A. masculinus</i>       | -                     | -    | AB      | AB      | -       | -       | -          | AB      |
|        | CNC4701 | <i>A. masculinus</i>       | -                     | -    | BA      | BA      | -       | -       | -          | BA      |
| EJ0041 |         | <i>A. mendax</i>           | BB                    | BB   | BB      | BB      | BB      | BB      | BB         | BB      |
|        | CNC7379 | <i>A. moerens</i>          | -                     | -    | BC      | BC      | -       | -       | -          | BC      |
| EJ0221 | CNC2812 | <i>A. nagaoui</i>          | BD                    | BD   | BD      | BD      | BD      | BD      | BD         | BD      |
| EJ0295 | CNC7421 | <i>A. nicolanus</i>        | BE                    | BE   | BE      | BE      | BE      | BE      | BE         | BE1     |
| EJ0296 | CNC7380 | <i>A. nicolanus</i>        | BE                    | BE   | BE      | BE      | BE      | BE      | BE         | BE2     |
|        | CNC7381 | <i>A. nicolanus</i>        | -                     | -    | BE      | BE      | -       | -       | -          | BE3     |
|        | CNC7419 | <i>A. nicolanus</i>        | -                     | -    | BE      | BE      | -       | -       | -          | BE4     |
|        | CNC7622 | <i>A. nicolanus</i>        | -                     | -    | BE      | BE      | -       | -       | -          | BE1     |
|        | CNC7625 | <i>A. nicolanus</i>        | -                     | -    | BE      | BE      | -       | -       | -          | BE3     |
| EJ0219 | CNC0478 | <i>A. nipponigena</i>      | -                     | -    | BF      | BF      | -       | -       | -          | BF      |
| EJ0250 | CNC0471 | <i>A. nipponigena</i>      | BF                    | BF   | BF      | BF      | BF      | BF      | BF         | BF      |
| EJ0091 |         | <i>A. obscuricollis</i>    | BG                    | BG   | BG      | BG      | BG      | BG      | BG         | BG      |
| EJ0092 |         | <i>A. obscuricollis</i>    | BG                    | BG   | BG      | BG      | BG      | BG      | BG         | BG      |
| EJ0093 |         | <i>A. obscuricollis</i>    | BG                    | BG   | BG      | BG      | BG      | BG      | BG         | BG      |
| EJ0252 | CNC0387 | <i>A. obscuricollis</i>    | -                     | -    | BG      | BG      | -       | -       | -          | BG      |
|        | CNC0365 | <i>A. obscuricollis</i>    | -                     | -    | BG      | BG      | -       | -       | -          | BG      |
| EJ0229 | CNC4648 | <i>A. obsoletoguttatus</i> | Y                     | Y    | Y       | X2      | Y       | Y       | Y          | Y       |
| EJ0230 | CNC4692 | <i>A. obsoletoguttatus</i> | Y                     | Y    | Y       | X2      | Y       | Y       | Y          | Y       |
|        | CNC0409 | <i>A. obsoletoguttatus</i> | -                     | -    | Y       | X2      | -       | -       | -          | Y       |
|        | CNC4652 | <i>A. obsoletoguttatus</i> | -                     | -    | Y       | X2      | -       | -       | -          | Y       |
|        | CNC4691 | <i>A. obsoletoguttatus</i> | -                     | -    | Y       | X2      | -       | -       | -          | Y       |

| Vzorek |         |                       | Genetické vzdálenosti |      |         |         |         |         | Modelu PTP |         |
|--------|---------|-----------------------|-----------------------|------|---------|---------|---------|---------|------------|---------|
| #1     | #2      | Druh                  | rrnl                  | rrnl | cox1-3' | cox1-3' | cox1-3' | cox1-3' | rrnl       | cox1-3' |
|        |         |                       | 3%                    | 2%   | 3%      | 2%      | 3%      | 2%      |            |         |
| EJ0094 |         | <i>A. olivicolor</i>  | BH                    | BH   | BH      | BH      | BH      | BH      | BH         | BH      |
|        | CNC0371 | <i>A. olivicolor</i>  | -                     | -    | BH      | BH      | -       | -       | -          | BH2     |
| EJ0271 | CNC4704 | <i>A. osburni</i>     | -                     | -    | BI1     | BI1     | -       | -       | -          | BI1     |
| EJ0272 | CNC4703 | <i>A. osburni</i>     | -                     | -    | BI2     | BI2     | BI2     | BI2     | -          | BI2     |
| EJ0241 | CNC7375 | <i>A. pekinensis</i>  | BJ                    | BJ   | BJ      | BJ      | BJ      | BJ      | BJ         | BJ      |
| EJ0266 | CNC4656 | <i>A. pensus</i>      | -                     | -    | F       | F       | F       | F       | -          | F       |
| EJ0267 | CNC4640 | <i>A. pensus</i>      | -                     | -    | BK      | BK      | -       | -       | -          | BK      |
|        | CNC4657 | <i>A. pensus</i>      | -                     | -    | F       | F       | -       | -       | -          | F       |
|        | CNC4658 | <i>A. pensus</i>      | -                     | -    | F       | F       | -       | -       | -          | F       |
| EJ0293 | CNC7627 | <i>A. peregrinus</i>  | BL                    | BL   | BL      | BL      | BL      | BL      | BL         | BL      |
| EJ0294 | CNC7626 | <i>A. peregrinus</i>  | BL                    | BL   | -       | -       | BL      | BL      | BL         | -       |
|        | CNC7519 | <i>A. peregrinus</i>  | -                     | -    | BL      | BL      | -       | -       | -          | BL      |
| EJ0240 | CNC0359 | <i>A. perisi</i>      | -                     | -    | B       | B       | -       | -       | -          | B2      |
|        | CNC2822 | <i>A. planipennis</i> | -                     | -    | BM      | BM      | -       | -       | -          | BM3     |
|        | CNC6983 | <i>A. planipennis</i> | -                     | -    | BM      | BM      | -       | -       | -          | BM1     |
|        | CNC6984 | <i>A. planipennis</i> | -                     | -    | BM      | BM      | -       | -       | -          | BM4     |
|        | CNC6985 | <i>A. planipennis</i> | -                     | -    | BM      | BM      | -       | -       | -          | BM5     |
|        | CNC6986 | <i>A. planipennis</i> | -                     | -    | BM      | BM      | -       | -       | -          | BM6     |
|        | CNC6987 | <i>A. planipennis</i> | -                     | -    | BM      | BM      | -       | -       | -          | BM7     |
|        | CNC6988 | <i>A. planipennis</i> | -                     | -    | BM      | BM      | -       | -       | -          | BM8     |
|        | CNC6991 | <i>A. planipennis</i> | -                     | -    | BM      | BM      | -       | -       | -          | BM4     |
|        | CNC6993 | <i>A. planipennis</i> | -                     | -    | BM      | BM      | -       | -       | -          | BM9     |
| EJ0228 | CNC6990 | <i>A. planipennis</i> | BM                    | BM   | BM      | BM      | BM      | BM      | BM1        | BM1     |
| EJ0232 | CNC6989 | <i>A. planipennis</i> | BM                    | BM   | BM      | BM      | -       | -       | BM2        | BM2     |
| EJ0009 |         | <i>A. politus</i>     | -                     | -    | P       | Q       | Q       | Q       | -          | Q       |
| EJ0042 |         | <i>A. politus</i>     | P                     | P1   | P       | P       | P       | P       | P          | P       |
| EJ0043 |         | <i>A. politus</i>     | P                     | P1   | P       | Q       | Q       | Q       | Q          | Q       |
| EJ0044 |         | <i>A. politus</i>     | P                     | P1   | P       | Q       | Q       | Q       | Q          | Q       |
| EJ0045 |         | <i>A. politus</i>     | P                     | P1   | P       | Q       | Q       | Q       | Q          | Q       |
| EJ0120 |         | <i>A. politus</i>     | P                     | P1   | P       | P       | P       | P       | P          | P       |
| EJ0121 |         | <i>A. politus</i>     | P                     | P1   | P       | P       | P       | P       | P          | P       |
| EJ0258 | CNC0369 | <i>A. politus</i>     | -                     | -    | P       | Q3      | -       | -       | -          | P       |
| EJ0259 | CNC5919 | <i>A. politus</i>     | -                     | -    | P       | Q       | Q       | Q2      | -          | Q2      |
|        | CNC0411 | <i>A. politus</i>     | -                     | -    | P       | Q       | -       | -       | -          | Q1      |
|        | CNC0419 | <i>A. politus</i>     | -                     | -    | P       | Q       | -       | -       | -          | Q2      |

| Vzorek |         |                               | Genetické vzdálenosti |      |                  |                  |         |         | Modelu PTP |                  |         |
|--------|---------|-------------------------------|-----------------------|------|------------------|------------------|---------|---------|------------|------------------|---------|
| #1     | #2      | Druh                          | rrnl                  | rrnl | cox1- <u>Bar</u> | cox1- <u>Bar</u> | cox1-3' | cox1-3' | rrnl       | cox1- <u>Bar</u> | cox1-3' |
|        |         |                               | 3%                    | 2%   | 3%               | 2%               | 3%      | 2%      |            |                  |         |
|        |         | CNC0421 <i>A. politus</i>     | -                     | -    | P                | Q                | -       | -       | -          | Q1               | -       |
|        |         | CNC4641 <i>A. politus</i>     | -                     | -    | P                | Q                | -       | -       | -          | Q1               | -       |
|        |         | CNC4642 <i>A. politus</i>     | -                     | -    | P                | Q                | -       | -       | -          | Q1               | -       |
|        |         | CNC4643 <i>A. politus</i>     | -                     | -    | P                | Q                | -       | -       | -          | Q2               | -       |
|        |         | CNC4651 <i>A. politus</i>     | -                     | -    | P                | Q                | -       | -       | -          | Q1               | -       |
|        |         | CNC4683 <i>A. politus</i>     | -                     | -    | P                | Q                | -       | -       | -          | Q2               | -       |
|        |         | CNC4694 <i>A. politus</i>     | -                     | -    | P                | Q                | -       | -       | -          | Q1               | -       |
|        |         | CNC4695 <i>A. politus</i>     | -                     | -    | P                | Q                | -       | -       | -          | Q5               | -       |
|        |         | CNC5850 <i>A. politus</i>     | -                     | -    | P                | Q                | -       | -       | -          | Q2               | -       |
|        |         | CNC5851 <i>A. politus</i>     | -                     | -    | P                | Q                | -       | -       | -          | Q2               | -       |
|        |         | CNC5859 <i>A. politus</i>     | -                     | -    | P                | Q                | -       | -       | -          | P                | -       |
|        |         | CNC5917 <i>A. politus</i>     | -                     | -    | P                | Q                | -       | -       | -          | Q4               | -       |
|        |         | CNC5918 <i>A. politus</i>     | -                     | -    | P                | Q                | -       | -       | -          | Q1               | -       |
|        |         | CNC5920 <i>A. politus</i>     | -                     | -    | P                | Q                | -       | -       | -          | Q1               | -       |
|        |         | CNC5921 <i>A. politus</i>     | -                     | -    | P                | Q                | -       | -       | -          | Q2               | -       |
|        |         | CNC5922 <i>A. politus</i>     | -                     | -    | P                | Q                | -       | -       | -          | Q1               | -       |
|        |         | CNC5868 <i>A. politus</i>     | -                     | -    | P                | Q                | -       | -       | -          | Q2               | -       |
|        |         | CNC5870 <i>A. politus</i>     | -                     | -    | P                | Q                | -       | -       | -          | Q1               | -       |
|        |         | CNC5872 <i>A. politus</i>     | -                     | -    | P                | Q                | -       | -       | -          | Q1               | -       |
|        |         | CNC5876 <i>A. politus</i>     | -                     | -    | P                | Q                | -       | -       | -          | Q1               | -       |
|        |         | CNC0351 <i>A. pratensis</i>   | -                     | -    | BN               | BN               | -       | -       | -          | BN               | -       |
| EJ0106 |         | <i>A. pratensis pratensis</i> | -                     | -    | BN               | BN               | BN      | BN      | -          | BN               | BN      |
| EJ0107 |         | <i>A. pratensis pratensis</i> | BN                    | BN   | BN               | BN               | BN      | BN      | -          | BN               | BN      |
| EJ0251 | CNC5889 | <i>A. pseudocoryli</i>        | -                     | -    | P                | T                | -       | -       | -          | T                | -       |
| EJ0285 | CNC7618 | <i>A. quadrisignatus</i>      | BO                    | BO   | BO               | BO               | BO      | BO      | BO         | BO               | BO      |
|        | CNC7616 | <i>A. quadrisignatus</i>      | -                     | -    | BO               | BO               | -       | -       | -          | BO               | -       |
|        | CNC7617 | <i>A. quadrisignatus</i>      | -                     | -    | BO               | BO               | -       | -       | -          | BO               | -       |
| EJ0215 | CNC1446 | <i>A. ribbei</i>              | A                     | A    | A                | A                | -       | -       | A          | A1               | -       |
| EJ0216 | CNC1457 | <i>A. ribbei</i>              | A                     | A    | A                | A                | -       | -       | A          | A2               | -       |
| EJ0217 | CNC7586 | <i>A. ribbei</i>              | A                     | A    | A                | A                | A       | A       | A          | A3               | A       |
|        | CNC1440 | <i>A. ribbei</i>              | -                     | -    | A                | A                | -       | -       | -          | A4               | -       |
|        | CNC1441 | <i>A. ribbei</i>              | -                     | -    | A                | A                | -       | -       | -          | A5               | -       |
|        | CNC1442 | <i>A. ribbei</i>              | -                     | -    | A                | A                | -       | -       | -          | A6               | -       |
|        | CNC1443 | <i>A. ribbei</i>              | -                     | -    | A                | A                | -       | -       | -          | A7               | -       |
|        | CNC1444 | <i>A. ribbei</i>              | -                     | -    | A                | A                | -       | -       | -          | A8               | -       |

| Vzorek |         |                     | Genetické vzdálenosti |      |                  |                  |         |         | Modelu PTP |                  |         |
|--------|---------|---------------------|-----------------------|------|------------------|------------------|---------|---------|------------|------------------|---------|
| #1     | #2      | Druh                | rrnl                  | rrnl | cox1- <u>Bar</u> | cox1- <u>Bar</u> | cox1-3' | cox1-3' | rrnl       | cox1- <u>Bar</u> | cox1-3' |
|        |         |                     | 3%                    | 2%   | 3%               | 2%               | 3%      | 2%      |            |                  |         |
|        | CNC1445 | <i>A. ribbei</i>    | -                     | -    | A                | A                | -       | -       | -          | A1               | -       |
|        | CNC1448 | <i>A. ribbei</i>    | -                     | -    | A                | A                | -       | -       | -          | A9               | -       |
|        | CNC1456 | <i>A. ribbei</i>    | -                     | -    | A                | A                | -       | -       | -          | A10              | -       |
|        | CNC7312 | <i>A. ribbei</i>    | -                     | -    | U                | AN               | -       | -       | -          | A1               | -       |
|        | CNC7313 | <i>A. ribbei</i>    | -                     | -    | U                | AN               | -       | -       | -          | A1               | -       |
|        | CNC7369 | <i>A. ribbei</i>    | -                     | -    | U                | AN               | -       | -       | -          | A11              | -       |
|        | CNC7370 | <i>A. ribbei</i>    | -                     | -    | U                | AN               | -       | -       | -          | A1               | -       |
|        | CNC7371 | <i>A. ribbei</i>    | -                     | -    | U                | AN               | -       | -       | -          | A1               | -       |
|        | CNC7372 | <i>A. ribbei</i>    | -                     | -    | U                | AN               | -       | -       | -          | A1               | -       |
|        | CNC7373 | <i>A. ribbei</i>    | -                     | -    | U                | AN               | -       | -       | -          | A1               | -       |
|        | CNC7374 | <i>A. ribbei</i>    | -                     | -    | U                | AN               | -       | -       | -          | A12              | -       |
|        | CNC7415 | <i>A. ribbei</i>    | -                     | -    | U                | AN               | -       | -       | -          | A1               | -       |
|        | CNC7416 | <i>A. ribbei</i>    | -                     | -    | U                | AN               | -       | -       | -          | A1               | -       |
|        | CNC7583 | <i>A. ribbei</i>    | -                     | -    | U                | AN               | -       | -       | -          | A11              | -       |
|        | CNC7584 | <i>A. ribbei</i>    | -                     | -    | U                | AN               | -       | -       | -          | A10              | -       |
|        | CNC7585 | <i>A. ribbei</i>    | -                     | -    | U                | AN               | -       | -       | -          | A13              | -       |
|        | CNC7587 | <i>A. ribbei</i>    | -                     | -    | U                | AN               | -       | -       | -          | A14              | -       |
|        | CNC7588 | <i>A. ribbei</i>    | -                     | -    | U                | AN               | -       | -       | -          | A9               | -       |
| EJ0010 |         | <i>A. ribesi</i>    | -                     | -    | -                | -                | S       | S       | -          | -                | P1      |
| EJ0046 |         | <i>A. ribesi</i>    | P                     | P1   | -                | -                | S       | S       | R          | -                | P1      |
| EJ0047 |         | <i>A. ribesi</i>    | P                     | P1   | -                | -                | -       | -       | R          | -                | -       |
|        | CNC1439 | <i>A. ribesi</i>    | -                     | -    | X                | X1               | -       | -       | -          | X1               | -       |
|        | CNC7634 | <i>A. ribesi</i>    | -                     | -    | X                | X1               | -       | -       | -          | X4               | -       |
|        | CNC7635 | <i>A. ribesi</i>    | -                     | -    | X                | X1               | -       | -       | -          | X5               | -       |
|        | CNC7636 | <i>A. ribesi</i>    | -                     | -    | X                | X1               | -       | -       | -          | X5               | -       |
|        | CNC7637 | <i>A. ribesi</i>    | -                     | -    | X                | X1               | -       | -       | -          | X6               | -       |
|        | CNC7639 | <i>A. ribesi</i>    | -                     | -    | X                | X1               | -       | -       | -          | X7               | -       |
|        | CNC7640 | <i>A. ribesi</i>    | -                     | -    | X                | X1               | -       | -       | -          | X8               | -       |
|        | CNC7641 | <i>A. ribesi</i>    | -                     | -    | X                | X1               | -       | -       | -          | X9               | -       |
|        | CNC7642 | <i>A. ribesi</i>    | -                     | -    | X                | X1               | -       | -       | -          | X10              | -       |
|        | CNC7643 | <i>A. ribesi</i>    | -                     | -    | X                | X1               | -       | -       | -          | X11              | -       |
|        | CNC8501 | <i>A. ribesi</i>    | -                     | -    | X                | X1               | -       | -       | -          | X11              | -       |
|        | CNC8502 | <i>A. ribesi</i>    | -                     | -    | X                | X1               | -       | -       | -          | X12              | -       |
|        | CNC8503 | <i>A. ribesi</i>    | -                     | -    | X                | X1               | -       | -       | -          | X13              | -       |
| EJ0224 | CNC2819 | <i>A. rivalieri</i> | BP                    | BP1  | -                | -                | -       | -       | BP         | -                | -       |

| Vzorek  |         |                               | Genetické vzdálenosti |      |                  |                  |         |         | Modelu PTP |                  |         |
|---------|---------|-------------------------------|-----------------------|------|------------------|------------------|---------|---------|------------|------------------|---------|
| #1      | #2      | Druh                          | rrnl                  | rrnl | cox1- <u>Bar</u> | cox1- <u>Bar</u> | cox1-3' | cox1-3' | rrnl       | cox1- <u>Bar</u> | cox1-3' |
|         |         |                               | 3%                    | 2%   | 3%               | 2%               | 3%      | 2%      |            |                  |         |
|         | CNC2806 | <i>A. rivalieri</i>           | -                     | -    | BP1              | BP1              | -       | -       | -          | BP1              | -       |
|         | CNC2808 | <i>A. rivalieri</i>           | -                     | -    | BP1              | BP1              | -       | -       | -          | BP1              | -       |
|         | CNC2809 | <i>A. rivalieri</i>           | -                     | -    | BP2              | BP2              | -       | -       | -          | BP2              | -       |
|         | CNC2810 | <i>A. rivalieri</i>           | -                     | -    | BP1              | BP1              | -       | -       | -          | BP1              | -       |
|         | CNC2811 | <i>A. rivalieri</i>           | -                     | -    | BP1              | BP1              | -       | -       | -          | BP1              | -       |
|         | CNC2818 | <i>A. rivalieri</i>           | -                     | -    | BP1              | BP1              | -       | -       | -          | BP3              | -       |
| EJ0002  |         | <i>A. roscidus</i>            | -                     | -    | -                | -                | AU5     | AU5     | -          | -                | AU6     |
| EJ0005  |         | <i>A. roscidus</i>            | AU                    | AU1  | AU1              | AU3              | AU1     | AU3     | AU         | AU10             | AU1     |
| EJ0028  |         | <i>A. roscidus</i>            | -                     | -    | -                | -                | AU5     | AU5     | -          | -                | AU6     |
| EJ0029  |         | <i>A. roscidus</i>            | AU                    | AU5  | -                | -                | AU5     | AU5     | AU         | -                | AU1     |
| EJ0030  |         | <i>A. roscidus</i>            | AU                    | AU1  | -                | -                | AU1     | AU3     | AU         | -                | AU1     |
| EJ0031  |         | <i>A. roscidus</i>            | -                     | -    | -                | -                | AU1     | AU3     | -          | -                | AU1     |
| EJ0124s |         | <i>A. roscidus</i>            | AU                    | AU4  | -                | -                | -       | -       | AU         | -                | -       |
| EJ0125  |         | <i>A. roscidus</i>            | AU                    | AU4  | -                | -                | -       | -       | AU         | -                | -       |
| EJ0133  |         | <i>A. roscidus</i>            | AU                    | AU4  | AU1              | AU2              | -       | -       | AU         | AU12             | -       |
| EJ0238  | CNC0353 | <i>A. roscidus</i>            | AU                    | AU4  | AU1              | AU3              | AU1     | AU3     | AU         | AU11             | AU1     |
| EJ0239  | CNC0379 | <i>A. roscidus</i>            | AU                    | AU4  | AU1              | AU2              | -       | -       | AU         | AU13             | -       |
|         | CNC0370 | <i>A. roscidus</i>            | -                     | -    | AU1              | AU2              | -       | -       | -          | AU14             | -       |
| EJ0256  | CNC5855 | <i>A. ruficollis</i>          | -                     | -    | BV               | BV               | BV      | BV      | -          | BV               | BV      |
| EJ0257  | CNC4653 | <i>A. ruficollis</i>          | BV                    | BV   | BV               | BV               | BV      | BV      | BV         | BV               | BV      |
|         | CNC5874 | <i>A. ruficollis</i>          | -                     | -    | BV               | BV               | -       | -       | -          | BV               | -       |
| EJ0011  |         | <i>A. salicis</i>             | -                     | -    | BW               | BW               | BW      | BW      | -          | BW               | BW      |
| EJ0048  |         | <i>A. salicis</i>             | AX                    | BW   | BW               | BW               | -       | -       | BW         | BW               | -       |
| EJ0049  |         | <i>A. salicivola</i>          | -                     | -    | U                | U                | -       | -       | -          | U                | -       |
| EJ0050  |         | <i>A. salicivola</i>          | P                     | U    | U                | U                | U       | U       | U          | U                | U1      |
| EJ0051  |         | <i>A. salicivola</i>          | P                     | U    | U                | U                | U       | U       | U          | U                | U2      |
|         | VVGC072 | <i>A. semicadacus</i>         | -                     | -    | BX               | BX               | -       | -       | -          | BX               | -       |
|         | CNC7377 | <i>A. sibiricus</i>           | -                     | -    | BY               | BY               | -       | -       | -          | BY               | -       |
|         | CNC7592 | <i>A. sibiricus</i>           | -                     | -    | BY               | BY               | -       | -       | -          | BY               | -       |
|         | CNC7593 | <i>A. sibiricus</i>           | -                     | -    | BY               | BY               | -       | -       | -          | BY               | -       |
| EJ0287  | CNC7589 | <i>A. sibiricus sibiricus</i> | BY                    | BY   | BY               | BY               | -       | -       | BY1        | BY               | -       |
| EJ0288  | CNC7590 | <i>A. sibiricus sibiricus</i> | BY                    | BY   | BY               | BY               | BY      | BY      | BY2        | BY               | BY      |
|         | CNC7591 | <i>A. sibiricus sibiricus</i> | -                     | -    | BY               | BY               | -       | -       | -          | BY               | -       |
| EJ0265  | CNC1480 | <i>A. sinensis</i>            | -                     | -    | BZ               | BZ               | -       | -       | -          | BZ               | -       |
|         | CNC0470 | <i>A. sinensis</i>            | -                     | -    | BZ               | BZ               | -       | -       | -          | BZ               | -       |

| Vzorek |         |                                    | Genetické vzdálenosti |      |                  |                  |         |         | Modelu PTP |                  |         |
|--------|---------|------------------------------------|-----------------------|------|------------------|------------------|---------|---------|------------|------------------|---------|
| #1     | #2      | Druh                               | rrnl                  | rrnl | cox1- <u>Bar</u> | cox1- <u>Bar</u> | cox1-3' | cox1-3' | rrnl       | cox1- <u>Bar</u> | cox1-3' |
|        |         |                                    | 3%                    | 2%   | 3%               | 2%               | 3%      | 2%      |            |                  |         |
| EJ0273 | CNC4662 | <i>A. sinensis splendidicollis</i> | CA                    | CA   | CA               | CA               | CA      | CA      | CA         | CA               | CA      |
| EJ0274 | CNC4663 | <i>A. sinensis splendidicollis</i> | CA                    | CA   | CA               | CA               | CA      | CA      | CA         | CA               | CA      |
| EJ0052 |         | <i>A. sinuatus</i>                 | -                     | -    | -                | -                | CB      | CB      | -          | -                | CB      |
| EJ0227 | CNC1458 | <i>A. smaragdinus</i>              | CC                    | CC   | CC               | CC               | CC      | CC      | CC         | CC               | CC      |
|        | CNC1459 | <i>A. smaragdinus</i>              | -                     | -    | CC               | CC               | -       | -       | -          | CC               | -       |
|        | CNC1460 | <i>A. smaragdinus</i>              | -                     | -    | CC               | CC               | -       | -       | -          | CC               | -       |
|        | CNC7520 | <i>A. smaragdinus</i>              | -                     | -    | CC               | CC               | -       | -       | -          | CC               | -       |
|        | CNC7521 | <i>A. smaragdinus</i>              | -                     | -    | CC               | CC               | -       | -       | -          | CC               | -       |
|        | CNC7522 | <i>A. smaragdinus</i>              | -                     | -    | CC               | CC               | -       | -       | -          | CC               | -       |
|        | CNC7523 | <i>A. smaragdinus</i>              | -                     | -    | CC               | CC               | -       | -       | -          | CC               | -       |
|        | CNC7524 | <i>A. smaragdinus</i>              | -                     | -    | CC               | CC               | -       | -       | -          | CC               | -       |
| EJ0135 |         | <i>A. solieri</i>                  | CD                    | CD   | CD               | CD               | -       | -       | CD         | CD               | -       |
| EJ0255 | CNC0349 | <i>A. solieri</i>                  | CD                    | CD   | CD               | CD               | CD      | CD      | CD         | CD               | CD      |
| EJ0213 | CNC2824 | <i>A. sulcicollis</i>              | CE                    | CE1  | CE               | CE               | -       | -       | CE         | CE               | -       |
| EJ0231 | CNC2823 | <i>A. sulcicollis</i>              | CE                    | CE1  | CE               | CE               | CE      | CE      | CE         | CE               | CE      |
|        | CNC0406 | <i>A. sulcicollis</i>              | -                     | -    | CE               | CE               | -       | -       | -          | CE               | -       |
|        | CNC2825 | <i>A. sulcicollis</i>              | -                     | -    | CE               | CE               | -       | -       | -          | CE               | -       |
|        | CNC2826 | <i>A. sulcicollis</i>              | -                     | -    | CE               | CE               | -       | -       | -          | CE               | -       |
|        | CNC2827 | <i>A. sulcicollis</i>              | -                     | -    | CE               | CE               | -       | -       | -          | CE               | -       |
|        | CNC2828 | <i>A. sulcicollis</i>              | -                     | -    | CE               | CE               | -       | -       | -          | CE               | -       |
|        | CNC4664 | <i>A. sulcicollis</i>              | -                     | -    | CE               | CE               | -       | -       | -          | CE               | -       |
| EJ0096 |         | <i>A. sulcicollis sulcicollis</i>  | -                     | CE   | CE2              | CE               | CE      | -       | -          | CE               | CE      |
| EJ0150 |         | <i>A. sulcicollis sulcicollis</i>  | CE                    | CE1  | CE               | CE               | -       | -       | CE         | CE               | -       |
| EJ0151 |         | <i>A. sulcicollis sulcicollis</i>  | CE                    | CE1  | CE               | CE               | -       | -       | CE         | CE               | -       |
| EJ0140 |         | <i>A. suvorovi</i>                 | -                     | -    | V1               | W1               | W       | W       | -          | W                | W       |
| EJ0141 |         | <i>A. suvorovi</i>                 | -                     | -    | V1               | W2               | -       | -       | -          | W                | -       |
| EJ0289 | CNC7607 | <i>A. tempestivus</i>              | CF                    | CF   | CF               | CF               | CF      | CF      | CF         | CF1              | CF      |
|        | CNC7605 | <i>A. tempestivus</i>              | -                     | -    | CF               | CF               | -       | -       | -          | CF2              | -       |
|        | CNC7606 | <i>A. tempestivus</i>              | -                     | -    | CF               | CF               | -       | -       | -          | CF2              | -       |
|        | CNC7608 | <i>A. tempestivus</i>              | -                     | -    | CF               | CF               | -       | -       | -          | CF3              | -       |
| EJ0128 |         | <i>A. uhagoni</i>                  | CG                    | CG1  | CG1              | CG1              | CG      | CG      | CG1        | CG1              | CG      |
| EJ0132 |         | <i>A. uhagoni</i>                  | CG                    | CG2  | CG2              | CG2              | -       | -       | CG2        | CG2              | -       |
|        | CNC0355 | <i>A. uhagoni</i>                  | -                     | -    | CG2              | CG2              | -       | -       | -          | CG2              | -       |
| EJ0290 | CNC7602 | <i>A. ussuricola</i>               | CH                    | CH   | CH               | CH               | CH      | CH      | CH         | CH               | CH      |
|        | CNC7376 | <i>A. ussuricola</i>               | -                     | -    | CH               | CH               | -       | -       | -          | CH               | -       |

| Vzorek |         |                           | Genetické vzdálenosti |      |         |         |         |         | Modelu PTP |         |     |
|--------|---------|---------------------------|-----------------------|------|---------|---------|---------|---------|------------|---------|-----|
| #1     | #2      | Druh                      | rrnl                  | rrnl | cox1-3' | cox1-3' | cox1-3' | cox1-3' | rrnl       | cox1-3' |     |
|        |         |                           | 3%                    | 2%   | 3%      | 2%      | 3%      | 2%      |            |         |     |
|        | CNC7594 | <i>A. ussuricola</i>      | -                     | -    | CH      | CH      | -       | -       | -          | CH      | -   |
|        | CNC7595 | <i>A. ussuricola</i>      | -                     | -    | CH      | CH      | -       | -       | -          | CH      | -   |
|        | CNC7601 | <i>A. ussuricola</i>      | -                     | -    | CH      | CH      | -       | -       | -          | CH      | -   |
|        | CNC7603 | <i>A. ussuricola</i>      | -                     | -    | CH      | CH      | -       | -       | -          | CH      | -   |
|        | CNC7604 | <i>A. ussuricola</i>      | -                     | -    | CH      | CH      | -       | -       | -          | CH      | -   |
| EJ0116 |         | <i>A. viridicaerulans</i> | AU                    | AU1  | AU1     | AU2     | AU1     | AU2     | AU         | AU7     | AU1 |
| EJ0117 |         | <i>A. viridicaerulans</i> | AU                    | AU1  | AU1     | AU2     | AU1     | AU2     | AU         | AU8     | AU1 |
| EJ0234 | CNC0350 | <i>A. viridicaerulans</i> | -                     | -    | AU1     | AU2     | -       | -       | -          | AU9     | -   |
|        | CNC0372 | <i>A. viridis</i>         | -                     | -    | V1      | V1      | -       | -       | -          | V1      | -   |
|        | CNC1451 | <i>A. viridis</i>         | -                     | -    | V1      | W1      | -       | -       | -          | W       | -   |
| EJ0015 |         | <i>A. viridis viridis</i> | P                     | P1   | V1      | V1      | S       | V1      | V1         | V1      | P1  |
| EJ0016 |         | <i>A. viridis viridis</i> | P                     | P1   | V1      | V1      | S       | V1      | V1         | V1      | P1  |
| EJ0017 |         | <i>A. viridis viridis</i> | P                     | P1   | V2      | V2      | -       | -       | V2         | V2      | -   |
| EJ0018 |         | <i>A. viridis viridis</i> | P                     | P2   | V1      | V1      | V       | V3      | V1         | V1      | P2  |
| EJ0022 |         | <i>A. viridis viridis</i> | P                     | P1   | V1      | V1      | S       | V1      | V1         | V1      | P1  |
| EJ0023 |         | <i>A. viridis viridis</i> | -                     | -    | V1      | V1      | -       | -       | -          | V1      | -   |
| EJ0057 |         | <i>A. viridis viridis</i> | P                     | P1   | V1      | V1      | -       | -       | V1         | V1      | -   |
| EJ0058 |         | <i>A. viridis viridis</i> | P                     | P1   | -       | -       | -       | -       | V1         | -       | -   |
| EJ0059 |         | <i>A. viridis viridis</i> | P                     | P1   | -       | -       | -       | -       | V1         | -       | -   |
| EJ0062 |         | <i>A. viridis viridis</i> | P                     | P1   | V1      | V1      | -       | -       | V1         | V1      | -   |
| EJ0063 |         | <i>A. viridis viridis</i> | -                     | -    | V1      | V1      | -       | -       | -          | V1      | -   |
| EJ0064 |         | <i>A. viridis viridis</i> | P                     | P1   | V1      | V1      | S       | V       | V1         | V1      | P1  |
| EJ0065 |         | <i>A. viridis viridis</i> | P                     | P1   | V1      | V1      | S       | V       | V1         | V1      | P1  |
| EJ0066 |         | <i>A. viridis viridis</i> | P                     | P1   | V1      | V1      | -       | -       | V1         | V1      | -   |
| EJ0067 |         | <i>A. viridis viridis</i> | P                     | P1   | V1      | V1      | -       | -       | V1         | V1      | -   |
| EJ0134 |         | <i>A. viridis viridis</i> | -                     | -    | V1      | V1      | -       | -       | -          | V1      | -   |
| EJ0145 |         | <i>A. viridis viridis</i> | -                     | -    | V4      | V4      | -       | -       | -          | V4      | -   |
| EJ0146 |         | <i>A. viridis viridis</i> | -                     | -    | V4      | V4      | -       | -       | -          | V4      | -   |
| EJ0154 |         | <i>A. viridis viridis</i> | -                     | -    | V1      | V1      | -       | -       | -          | V1      | -   |
| EJ0160 |         | <i>A. viridis viridis</i> | -                     | -    | V1      | V1      | -       | -       | -          | V1      | -   |
| EJ0161 |         | <i>A. viridis viridis</i> | -                     | -    | V1      | V1      | -       | -       | -          | V1      | -   |
| EJ0007 |         | <i>A. viscivorus</i>      | -                     | -    | X       | X2      | X2      | X2      | -          | X2      | X2  |
| EJ0275 | CNC0368 | <i>A. viscivorus</i>      | -                     | -    | AU1     | AU1     | -       | -       | -          | AU1     | -   |
| EJ0262 | CNC0408 | <i>A. vittaticollis</i>   | CI                    | CI   | CI      | CI      | CI      | CI      | CI         | CI      | CI  |
| EJ0263 | CNC4705 | <i>A. vittaticollis</i>   | -                     | -    | CI      | CI      | -       | -       | -          | CI      | -   |



| Vzorek |         |                         | Genetické vzdálenosti |      |         |         |         |         | Modelu PTP |         |     |
|--------|---------|-------------------------|-----------------------|------|---------|---------|---------|---------|------------|---------|-----|
| #1     | #2      | Druh                    | rrnl                  | rrnl | cox1-3' | cox1-3' | cox1-3' | cox1-3' | rrnl       | cox1-3' |     |
|        |         |                         | 3%                    | 2%   | 3%      | 2%      | 3%      | 2%      |            |         |     |
|        | CNC0418 | <i>A. vittaticollis</i> | -                     | -    | CI      | CI      | -       | -       | -          | CI      | -   |
|        | CNC4690 | <i>A. vittaticollis</i> | -                     | -    | CI      | CI      | -       | -       | -          | CI      | -   |
|        | CNC4706 | <i>A. vittaticollis</i> | -                     | -    | CI      | CI      | -       | -       | -          | CI      | -   |
| EJ0235 | CNC1453 | <i>A. voriseki</i>      | -                     | -    | CJ      | CJ      | CJ      | CJ      | -          | CJ1     | CJ  |
|        | CNC1452 | <i>A. voriseki</i>      | -                     | -    | CJ      | CJ      | -       | -       | -          | CJ2     | -   |
|        | CNC1454 | <i>A. voriseki</i>      | -                     | -    | CJ      | CJ      | -       | -       | -          | CJ1     | -   |
|        | CNC1455 | <i>A. voriseki</i>      | -                     | -    | CJ      | CJ      | -       | -       | -          | CJ1     | -   |
| EJ0025 |         | <i>A. yamawakii</i>     | CK                    | CK   | CK      | CK      | CK      | CK      | CK         | CK      | CK  |
| A00661 |         | <i>Agrilus</i> sp.      | CL                    | CL   | CL      | CL      | CL      | CL      | CL1        | CL      | CL1 |
| A00662 |         | <i>Agrilus</i> sp.      | CL                    | CL   | CL      | CL      | CL      | CL      | CL2        | CL      | CL2 |
| A00663 |         | <i>Agrilus</i> sp.      | CL                    | CL   | CL      | CL      | CL      | CL      | CL3        | CL      | CL3 |
| A00664 |         | <i>Agrilus</i> sp.      | AU                    | AU5  | AU5     | AU5     | AU5     | AU5     | AU         | AU16    | AU6 |
| A00665 |         | <i>Agrilus</i> sp.      | CM                    | CM   | CM      | CM      | CM      | CM      | CM         | CM      | CM  |
| A00668 |         | <i>Agrilus</i> sp.      | P                     | X1   | X       | X1      | X1      | X1      | X1         | X1      | X1  |
| A00669 |         | <i>Agrilus</i> sp.      | CE                    | CE   | CE      | CE      | CE      | CE      | CE         | CE      | CE  |
| A00670 |         | <i>Agrilus</i> sp.      | E                     | E3   | E       | E       | E       | E       | E          | E       | E   |
| EJ0209 | CNC0476 | <i>Agrilus</i> sp.      | -                     | -    | CN      | CN      | -       | -       | -          | CN      | -   |
| EJ0210 | CNC0473 | <i>Agrilus</i> sp.      | -                     | -    | CN      | CN      | -       | -       | -          | CN      | -   |
|        | CNC0366 | <i>Agrilus</i> sp.      | -                     | -    | AU1     | AU3     | -       | -       | -          | AU15    | -   |
|        | CNC0381 | <i>Agrilus</i> sp.      | -                     | -    | CO      | CO      | -       | -       | -          | CO      | -   |
|        | CNC0382 | <i>Agrilus</i> sp.      | -                     | -    | CP      | CP      | -       | -       | -          | CP      | -   |
|        | CNC0383 | <i>Agrilus</i> sp.      | -                     | -    | CQ      | CQ      | -       | -       | -          | CQ      | -   |
|        | CNC0417 | <i>Agrilus</i> sp.      | -                     | -    | BII     | BII     | -       | -       | -          | BII     | -   |
|        | CNC0475 | <i>Agrilus</i> sp.      | -                     | -    | CR      | CR      | -       | -       | -          | CR      | -   |
|        | CNC0477 | <i>Agrilus</i> sp.      | -                     | -    | CS      | CS      | -       | -       | -          | CS      | -   |
|        | CNC0480 | <i>Agrilus</i> sp.      | -                     | -    | CN      | CN      | -       | -       | -          | CN      | -   |
|        | CNC2805 | <i>Agrilus</i> sp.      | -                     | -    | CT      | CT      | -       | -       | -          | CT      | -   |
|        | CNC4666 | <i>Agrilus</i> sp.      | -                     | -    | E       | E       | -       | -       | -          | E       | -   |
|        | CNC7302 | <i>Agrilus</i> sp.      | -                     | -    | BA      | BA      | -       | -       | -          | BA      | -   |
|        | CNC7306 | <i>Agrilus</i> sp.      | -                     | -    | CU      | CU      | -       | -       | -          | CU      | -   |
|        | CNC7309 | <i>Agrilus</i> sp.      | -                     | -    | F       | F       | -       | -       | -          | F       | -   |
|        | CNC7310 | <i>Agrilus</i> sp.      | -                     | -    | BII     | BII     | -       | -       | -          | BII     | -   |
|        | CNC7311 | <i>Agrilus</i> sp.      | -                     | -    | BII     | BII     | -       | -       | -          | BII     | -   |
|        | CNC7382 | <i>Agrilus</i> sp.      | -                     | -    | CV      | CV      | -       | -       | -          | CV      | -   |
|        | CNC7612 | <i>Agrilus</i> sp.      | -                     | -    | D       | D2      | -       | -       | -          | D2      | -   |

