

Univerzita Palackého v Olomouci

Bakalářská práce

Olomouc 2019

Kristýna Adámková

Univerzita Palackého v Olomouci
Přírodovědecká fakulta
Katedra buněčné biologie a genetiky



**Hodnocení biodiverzity čeledi Lycidae
na základě molekulárních dat**

Bakalářská práce

Kristýna Adámková

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Molekulární a buněčná biologie

Forma studia: Prezenční

Olomouc 2019

Vedoucí práce: prof. Ing. Ladislav Bocák, Ph.D.

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně pod vedením vedoucího prof. Ing. Ladislava Bocáka, Ph.D., a uvedla veškeré bibliografické zdroje, ze kterých jsem čerpala.

V Olomouci dne

Souhrn

Studovala jsem biodiverzitu čeledi Lycidae (Coleoptera), konkrétně trichaliních rodů subtribu Metriorrhynchina, v tropické australsko-orientální oblasti. Pro experimentální část práce byla použita datová matice nově sekvenovaných fragmentů mitochondriálního markeru *cox1*, ke které byly dodány mitochondriální markery *rrnL*, *nad5* a jaderné fragmenty LSU rRNA a SSU rRNA. Z takto konkatenovaného datového souboru byl metodou maximum likelihood vytvořen fylogenetický strom, jehož výsledky byly interpretovány s ohledem na morfologickou diverzitu. Delimitační metoda bPTP byla použita pro srovnání počtu druhů v analýze a formálně pojmenovaných druhů v rámci taxonomických studií. Výsledky prokazují druhovou radiaci trichaliních rodů hlavně v oblasti Moluk (rod *Flabellotrichalus*) a Nové Guinei (rody *Eniclases* a *Microtrichalus*). Nově získaná sekvence fragmentu genu *cox1* pro rod *Schizotrichalus* z Moluk vyřešila fylogenetickou pozici této skupiny. Fylogeneze navíc odráží tektonickou historii oblasti a potvrzuje dřívější propojení severní části Austrálie a Nové Guinei jako oblasti, které jsou centrem radiace terminální linie subtribu Metriorrhynchina, což je v souladu s předešlými studiemi.

Summary

Here, I studied the diversity of the elateroid family net-winged beetles (Coleoptera: Lycidae), namely the group of the trichaline genera, from the tropical part of the Australian and Oriental regions and from the transitional area between them, called the Wallacea. The laboratory experiments were conducted to produce the new sequences of *cox1* mitochondrial DNA fragment. Newly produced data were merged with earlier published *rrnL* and *nad5* mtDNA fragments and nuclear *LSU* rRNA a *SSU* rRNA fragments. The concatenated dataset was analysed using the maximum likelihood criterion and I obtained the robustly supported phylogenetic hypothesis on the relationships among main lineages of trichaline beetles. I used the bPTP delineation method for the estimation of diversity and compared the number of identified species with the formally described diversity in the region. The results suggest rapid diversification in the area of New Guinea (*Eniclases* and *Microtrichalus*) and the Moluccas (*Flabellotrighalus*). The newly produced data solved the phylogenetic position of the genus *Schizotrighalus* from the Moluccas. The phylogeny reflects the tectonic history of the region. I have found high similarity between faunas of Northern Australia and New Guinea which had been connected during Quaternary Glacial Maxima. These regions are the cradle of the diversity of Metriorrhynchine beetles as has been earlier suggested by the studies dealing with the relatives of the trichaline genera.

Poděkování

Děkuji vedoucímu mé bakalářské práce prof. Ing. Ladislavu Bocákovi, Ph.D., za věnovaný čas při konzultacích a za odborné rady. Stejně tak patří mé poděkování všem v laboratoři molekulární systematiky PřF UPOL a mým blízkým, kteří mi za každé situace pomohli.

Obsah

1 Úvod.....	1
2 Cíle práce	2
3 Literární přehled	3
3.1 Role molekulárních metod v současné systematické biologii	3
3.2 Modelová skupina.....	5
3.3 Zoogeografická analýza.....	7
3.3.1 Studovaná oblast.....	7
3.3.2 Tektonická historie oblasti.....	8
3.3.3 Hmyz v oblasti mezi Asií a Austrálií.....	10
3.3.4 Wallaceova linie	10
3.3.5 Huxleyho linie.....	12
3.3.6 Weberova linie	12
3.3.7 Lydekkerova linie	14
3.4 Oblast vzniku a šíření trichalinií rodů.....	15
3.5 Delimitační metody.....	15
4 Materiál a metody	17
4.1 Biologický materiál.....	17
4.2 Použité chemikálie, soupravy a roztoky	17
4.2.1 Použité chemikálie.....	17
4.2.2 Použité soupravy.....	18
4.2.3 Použité roztoky a jejich příprava	18
4.3 Seznam použitých přístrojů a zařízení	18
4.4 Použité experimentální a vyhodnocovací postupy.....	19
4.4.1 Izolace DNA	19
4.4.2 Amplifikace DNA metodou PCR	20
4.4.3 Hodnocení PCR produktu.....	21
4.4.4 Purifikace PCR produktu	21
4.4.5 Sekvenační reakce.....	22
4.4.6 Purifikace sekvenačního produktu.....	23
4.4.7 Příprava vzorků pro sekvenaci.....	23
4.5 Zpracování sekvenačních dat a sestavení datové matice	23
4.6 Finalizace datového souboru a fylogenetická analýza.....	24

4.7 Identifikace druhové diverzity	25
5 Výsledky	26
5.1 Nově sekvenovaná data	26
5.2 Alignování finální matice pro rekonstrukci fylogeneze	26
5.3 Topologie výsledného fylogenetického stromu	26
5. 4 Geografická data	27
5.5 Identifikace počtu druhů	27
6 Diskuze	32
6.1 Fylogeneze trichaliních rodů	32
6.2 Diverzita trichaliních rodů	32
6.3 Identifikace ancestrálního území a určení hypotetických směrů disperze a kolonizace	37
6.4 Srovnání výsledků morfologické a DNA analýzy s algoritmickou DNA delimitační metodou	37
7 Závěr	39
8 Literatura.....	40

Seznam obrázků

Obrázek 1: Fylogenetický strom čeledi Lycidae, jejich 7 podčeledí s významnými triby a znázornění zařazení studované skupiny trichaliních rodů v subtribu Metriorrhynchina.

Obrázek 2: Studovaná oblast zájmu a významné zoogeografické linie. Wallaceova linie, její modifikace Huxleyho linie, Weberova linie a Lydekkerova linie.

Obrázek 3: Fylogram trichaliních rodů s použitou kolapsovanou outgroup vytvořený pomocí programů IQ-TREE 1.6.6 a FigTree 1.4.3.

Seznam tabulek

Tabulka 1: Průměrný úhrn srážek zaznamenaných v městech ostrovů Bornea, západní Jávy, východní Jávy a Timoru.

Tabulka 2: Seznam primerů použitých pro amplifikaci mtDNA fragmentu genu *cox1*.

Tabulka 3: Teplotní a časový program amplifikace mtDNA fragmentu genu *cox1*.

Tabulka 4: Teplotní a časový program sekvenační reakce.

Tabulka 5: Přehled vlastností všech sekvencí použitých ve fylogenetické analýze spolu s použitými modely navrženými programem ModelFinder.

Tabulka 6: Seznam trichaliních rodů s počty dosud formálně popsáných druhů (první hodnota) a počet druhů zařazených do datové matice (druhá hodnota) v oblastech sběru vzorků: Sun-Sundy a Indo-Barma, Phi-Filipíny, Sul-Sulawesi, Mol-Moluky, Kei-ostrovy Kei, Wetar a Timor, NG-Nová Guinea, Sol-Šalamounovy ostrovy, Aus-Austrálie. Vzorky ze Šalamounových ostrovů jsou ve výsledcích a následující diskuzi zahrnuty k Nové Guinei.

Tabulka 7: Seznam trichaliních rodů s počty dosud formálně popsáných druhů (první hodnota) a počet druhů sekvenované datové matice podle Bocka a Bocaka (2019), (druhá hodnota) v oblastech sběru vzorků: Sun-Sundy a Indo-Barma, Phi-Filipíny, Sul-Sulawesi, Mol-Moluky, Kei-ostrovy Kei, Wetar a Timor, NG-Nová Guinea, Sol-Šalamounovy ostrovy, Aus-Austrálie.

1 Úvod

Dnešní biologická diverzita je výsledkem dlouhých evolučních procesů, které započaly kambrickou explozí před 570 miliony lety. Poslední nepřerušené období nárůstu diverzity se datuje od dopadu asteroidu a následného masového vymírání na přelomu křídy a paleocénu (Alvarez, 1980). Současné intenzivní a nevratné tlaky člověka na původní ekosystémy významně ohrožují biodiverzitu i možnost jejího poznání. Je nutné poznat její geografické rozložení, mechanismus vzniku a reakce na nestabilní enviromentální podmínky a identifikovat centra fylogenetické diverzity, tj. území s výskytem maximálního počtu zástupců vzdáleně příbuzných linií, a určit oblasti, jejichž ochranou bude podstatná část diverzity uchována při ekonomicky odůvodnitelných nákladech (Myers a kol., 2000; Sodhi, 2004).

Hrozby vyhubení některých druhů a s tím související vzrůstající krize biologické rozmanitosti odůvodňují intenzivní taxonomický a fylogenetický výzkum v místech s předpokládanou vysokou diverzitou, v tzv. "biodiversity hotspots" (Myers a kol., 2000; Barnosky a kol., 2011). Studium diverzity je v současnosti ovlivněno aplikací nových metodologických postupů v tradiční systematické biologii. Od prosté popisné systematiky se přesouváme ke komplexnímu hodnocení procesů vzniku biodiverzity a studiu výsledných ekosystémů včetně interakcí mezi jednotlivými prvky. Právě rostoucí napětí mezi tradiční morfologicky založenou taxonomií a fylogenetickým, především molekulárním systémem, vytváří impulzy pro rozvoj molekulární fylogenetiky a zvýšení jejího přínosu pro systematickou biologii, robustní delimitaci vyšších taxonů a pro sofistikovanější odhady počtu druhů v jednotlivých oblastech. Dřívější metody opírající se pouze o morfologické znaky je proto vhodné doplnit o paralelně aplikovanou analýzu založenou na větším rozsahu informací, tzv. integrativní taxonomií (Wheeler, 2004; Goldstein a DeSalle, 2011; Kusus a kol., 2018).

2 Cíle práce

Cílem této práce je sestavení fylogeneze a poznání diverzity jedné z mnoha tropických velmi diverzifikovaných skupin brouků (Coleoptera) v přechodné australsko-orientální oblasti.

Na základě mitochondriálních a ribozomálních sekvencí bude sestaven fylogenetický strom, který umožní robustně definovat příbuzenské vztahy mezi jednotlivými skupinami. Data získaná sekvenováním použiji k porovnání dostupného vzorku s počty dosud popsáných druhů z celé oblasti. Metody fylogenetické analýzy mitochondriálních dat mohou podhodnotit, nebo naopak nadhodnotit počty algoritmicky definovaných druhů, ovšem celkově tyto metody poskytují v zásadě realistický odhad biologické diverzity (Hebert a kol., 2003b). S ohledem na budoucnost je cílem této práce také formulovat hypotézu o kolonizační kapacitě této skupiny, protože kolonizace nových oblastí je jedním ze základních procesů, které se podílejí na evoluci diverzity. Ancestrální území bude identifikováno na základě fylogenetické analýzy a druhy budou delimitovány s využitím metody založené na hodnocení délky větví fylogramu.

3 Literární přehled

3.1 Role molekulárních metod v současné systematické biologii

Nedostatečně popsána biodiverzita v tropických oblastech je hlavním důvodem pro sbírání molekulárních dat, která jsou univerzální napříč různými skupinami organismů a stejným způsobem definují diverzitu v biologicky a morfologicky velmi odlišných skupinách. Tímto je možné odstranit alespoň částečné omezení vyplývající z nedostatku systematických biologů a omezených zdrojů pro studium biodiverzity (de Carvalho a kol., 2007).

Hebert a kol. (2003a) navrhli pro studium diverzity živočichů využití cca 600 párů bází (bp) mitochondriálního fragmentu cytochrom oxidázy podjednotky 1 a tato metoda byla nazvána "barcoding". Autoři doložili, že k dostatečně spolehlivé identifikaci druhu jako operační taxonomické jednotky (OTU) postačuje získání několika sekvencí barcodu. Jedná se o informaci analogickou čárovému kódu, který lze využít po identifikaci geografické a interspecifické variability. Slouží jako identifikační kód pro přiřazení druhů k morfologicky definovaným OTU. Přitom se ukázalo, že podstatné je pro efektivní aplikaci této metody zachycení variability barcodu napříč geografickým prostorem a s dostatečným pokrytím jednotlivých populací (Bergsten a kol., 2012). Technologický pokrok v molekulárních metodách umožňuje ekonomické získání rozsáhlých molekulárních dat k popisu diverzity a tím identifikaci rozporů mezi morfologickým a molekulárním signálem a následné řešení těchto rozporů při definování jednotlivých OTU (Wheeler, 2004). Vhodným genem pro barcoding je mimo cytochrom c oxidázy 1 v podstatě jakýkoliv molekulární marker s dostatečnou interspecifickou variabilitou. U některých vzorků, kde sekvenování fragmentu genu *cox1* nepřineslo dostatečné výsledky, je aplikována analýza malých úseků jaderných genů pro zvýšení robustnosti fylogenetické hypotézy (Hajibabaei a kol., 2007). Sekvenční analýzou i jediného jedince je možné zařazení exempláře k druhu, samozřejmě větší počet sekvenovaných jedinců umožňuje poznání vnitrodruhové variability a větší jistotu při delimitaci (Monaghan a kol. 2005, Bergsten a kol. 2012).

Tento přístup je alternativou pro tradiční, morfologicky založené popsání diverzity v dané oblasti a rozlišení druhů klasifikací jedinců, kteří mají podobné či stejné morfologické znaky. Zvláště v případě tzv. "sibling species" je využití jiných než morfologických znaků bezpodmínečně nutné. Příkladem může být sekvenování mitochondriální DNA a popsání velkého množství druhů předtím málo známého rodu

nelétajících nosatců (Coleoptera: Curculionidae; Riedel a kol., 2013). Při velkém množství druhů v jedné oblasti nebylo možné použít morfologickou identifikaci druhů a mimořádná tropická biodiverzita tak byla popsána jen díky aplikaci molekulárních metod, které jsou pro identifikaci sibling species spolehlivější a efektivnější (Riedel, 2010, 2013; Zhang a kol., 2019).

Výhodou sekvenování mitochondriálních genomů je relativně vysoká mutační rychlost spolu s nízkou frekvencí rekombinací. Takové vlastnosti jsou na mitochondriálních genomech předávány další generaci potomků. Můžeme předpokládat, že využití barcoding analýzy dle Heberta a kol. (2003b) poskytne ucelené poznatky o biologické evoluci hyperdiverzifikovaných skupin tropického hmyzu, což se ukazuje jako klíčové nejen pro základní klasifikaci druhů, ale také pro oblast evoluční biologie, zoogeografie a ekologie (Wilson, 2003; Savolainen a kol., 2005; Zhang a kol., 2019). Cílem barcodingu není pouze identifikace druhů, ale podle získaných výsledků je možné volit vhodné skupiny organismů pro budoucí podrobnější evoluční analýzy. Motýli, ryby, ptáci a další větší skupiny organismů sloužili pro první analýzy s využitím barcodingu (Hajibabaei a kol., 2007). Dnes je tato metoda intenzivně využívána v podstatě ve všech skupinách organismů. Například Smith a kol. (2005) využili barcoding analýzu pro rychlý popis biodiverzity mravenců na Madagaskaru a ukázali tak omezenou disperzi pravděpodobných druhů substituovaných operačními taxonomickými jednotkami (OTU). Dále prokázali dlouhodobou izolaci studovaných linií.

Barcode of Life Data System (BOLD) je volně dostupná on-line platforma, která slouží pro analýzu a shromažďování dat s cílem vytvořit referenční databázi získanou při tzv. barcodingu a podpořit tak využití metody pro taxonomické určení druhů na základě krátkých genetických markerů DNA. Identifikace neznámých vzorků probíhá porovnáním jejich sekvence s referenční sekvencí uloženou v databázi (Ratnasingham a Hebert, 2007).

K datu 17. března 2019 bylo v databázi uvedeno 3270 osekvenovaných vzorků čeledi Lycidae, z toho bylo 1025 vzorků podrobena sekvenční barcoding analýze. Ze sekvenovaných vzorků v databázi je patrné kosmopolitní rozšíření studované čeledi Lycidae. Ze všech 38 zemí s místem sběru vzorků představuje Indonésie oblast, která čítá největší druhovou diverzitu. Za zmínku také stojí, že nejrozsáhlejší depozitář

s celkově 1160 vzorky uvádí bold.org právě deponitář Univerzity Palackého v Olomouci (podle boldsystems.org).

3.2 Modelová skupina

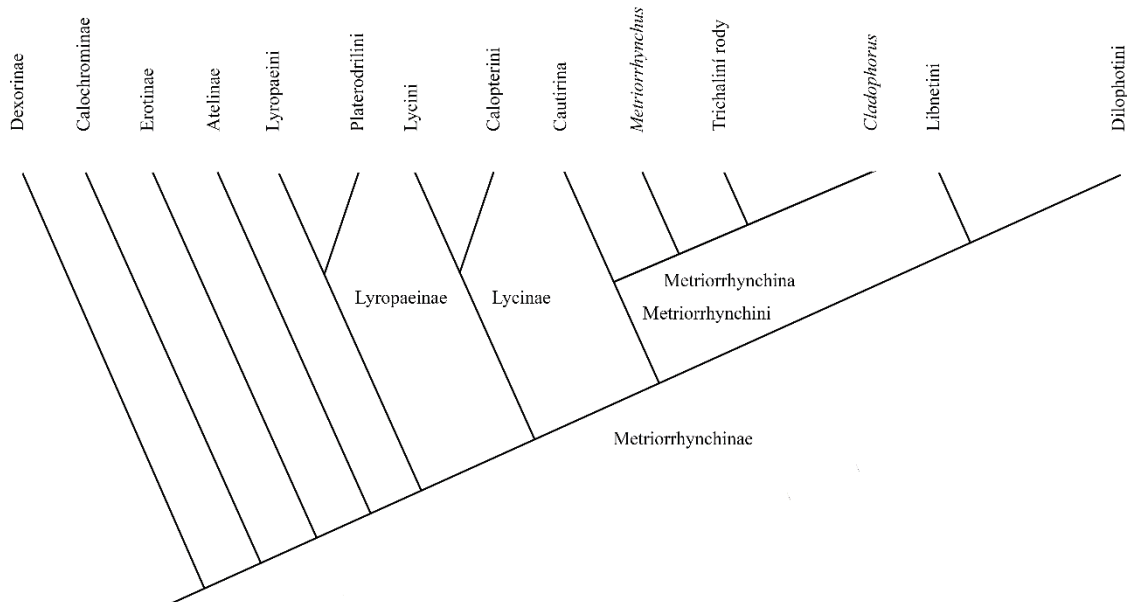
Jako modelovou skupinu v této studii používám čeleď Lycidae (Insecta, Coleoptera). Lycidae, česky nazývaní dlouhoústcovití nebo zářivkovití, jsou skupinou elateroidních brouků. Anglicky jsou pojmenovány jako "net-winged beetles", ve volném překladu síťokřídlí brouci (Beutel a kol., 2007).

Tato čeleď náleží do řádu brouci (Coleoptera) a brouci jsou nejvíce druhově rozmanitou skupinou živočichů. Jejich studiem můžeme objasnit evoluci rozsáhlých ekosystémů (Hendrich a kol., 2015). Na základě dřívějších studií popisující biodiverzitu čeledi Lycidae byla získána molekulárně fylogenetická data, podle nichž je tato čeleď složena ze sedmi základních recipročně monofyletických linií, které obdržely statut podčeledí (Dexorinae, Calochrominae, Erotinae, Ateliinae, Lyropaeinae, Lycinae a Metriorrhynchinae) viz Obrázek 1. Trichaliní rody jsou součástí jediné terminální linie, tj. subtribu Metriorrhynchina, a zahrnují rody *Diatrichalus* Kleine, 1926, *Eniclases* Waterhouse, 1879, *Flabellotrichalus* Pic, 1921, *Lobatang* Bocak, 1998, *Microtrichalus* Pic, 1921, *Schizotrichalus* Kleine, 1926 a *Trichalus* Waterhouse, 1877 (Bocek a Bocak, 2017).

Použitím molekulárních nebo morfologických dat, případně jejich kombinací, bylo v této linii dosud popsáno více než 240 druhů (Bocak, 1998, 2002; Bocek, 2017; Bocek a Bocak, 2017, 2019) a právě kombinace těchto dvou metod v této studii poslouží pro revizi fylogeneze a klasifikaci skupiny. Vhodným morfologickým znakem jsou zejména samčí genitálie, jejichž tvarová diverzita hraje velkou roli v sexuální selekci (Simmons, 2013).

Tzv. trichaliní rody byly v této práci použity jako modelová skupina pro studium biodiverzity. Jedná se o jasně definovanou monofyletickou skupinu, jež je terminální linií subtribu Metriorrhynchina, který je bohatý rodově i druhově (Obrázek 1). Tato linie je velmi diverzifikovaná, dosud byla popsána pouze její část a bylo definováno přes 1200 druhů Metriorrhynchina, z toho více než 200 druhů v trichaliních rodech. Největší druhová diverzita je známá v Austrálii, na Nové Guinei a skupina dále zasahuje také do Wallacei, především do oblasti Moluk. Menší počet druhů je popsán ze Sulawesi (ostrov byl dříve známý pod názvem Celebes), z Filipín a také

kontinentální oblasti Velkých Sund (Sumatra, Jáva, Borneo). Pouze malý počet nedávno kolonizujících druhů je reportován z Indo-Barmy (Kleine, 1933; Bocak, 2002; Bocek a Bocak, 2019).



Obrázek 1: Fylogenetický strom čeledi Lycidae, jejich 7 podčeledí s významnými triby a znázornění zařazení studované skupiny trichaliních rodů v subtribu Metriorrhynchina.

Lycidae jsou dlouhodobě známí jako chemicky se chránící skupina, protože jako součást své antipredační strategie vylučují hemolymfu, která obsahuje zapáchající látky hořké chuti (Brown a Moore, 1980). Výrazným rysem této čeledi je její aposematické zbarvení, díky kterému dávají predátorovi najevo, že jsou nejedlí. Charakteristickými barvami použitými při tvorbě aposematického signálu na krovkách je černá a žlutá barva (Bocak a Bocakova, 2008). Jejich tělo není plně sklerotizováno, proto je pro ně typický výskyt ve vlhkých oblastech, kde není nezbytně nutné bránit se ztrátám vody. Právě kvůli nekompletní sklerotizaci jsou Lycidae velmi špatnými letci a mají jen omezené disperzní schopnosti, díky čemuž mohou být sympatricky vyskytující se populace různých rodů pod stálým selekčním tlakem k vytváření rozsáhlých Mülleriánských mimetických komplexů (Müller, 1879; Kapan, 2001; Bocak a Yagi, 2008; Masek a kol., 2018).

Dosavadní taxonomické studie jsou nedostatečné, a proto je nutné volit nové přístupy pro studie, které zpřehlední zařazení trichaliních rodů ve fylogenetickém

systemu. Každý sekvenovaný vzorek je přínosem pro konstrukci fylogeneze, proto i tato práce znásobuje dosud získané informace o čeledi Lycidae v tektonicky velmi dynamicky se měnící oblasti Indonésie. Konečným cílem studia fylogeneze organismů je sestavení stromu života na druhové úrovni. Dosažení tohoto cíle zatím zůstává vzdáleno, ale kumulace dat, podobně jak je prezentováno v této studii, je jednoznačně jediným způsobem, jak takového cíle dosáhnout.

3.3 Zoogeografická analýza

3.3.1 Studovaná oblast

Oblasti vlhkého tropického lesa jihovýchodní Asie, Wallacei, severní oblasti Austrálie a Nová Guinea poskytují vzorky pro další fylogenetické analýzy, jejichž cílem je charakterizovat rozmanitou faunu čeledi Lycidae (Coleoptera). Získané poznatky mohou identifikovat centra diverzity a zdůvodnit jejich ochranu. Balke a kol. (2016) označují oblast mezi Austrálií a Asií jako místo s největší biodiverzitou na planetě. Unikátnost oblasti je definována mimo jiné výskytem endemických druhů. Endemické druhy jsou svým výskytem charakteristické pouze pro daný region. Výskytem endemické fauny jsou od sebe odděleny zoogeografické oblasti, ale při kontaktu dvou různých faun dochází ke vzniku přechodného pásma. Na tomto území dochází k promísení fauny Austrálie a Asie. Tato společenstva vytvořila samostatná biogeografická uskupení různých biotů v oblasti. Právě poznání původu druhů v těchto společenstvech je významnější pro výzkum než prostý popis druhového spektra společenstev. Typickým příkladem takových oblastí jsou jednotlivé ostrovy nebo souostroví jako Nová Guinea, Filipíny, Moluky, Malé Sundy, Nový Zéland nebo skupiny ostrovů v Tichém oceánu jako Mikronésie a Polynésie (Mayr, 1944; Pimm a kol., 1995; Myers a kol., 2000).

Hranice oblastí s vysokou biodiverzitou (tj. tzv. hotspots) jsou tvořeny oblastmi, kde vzniká určitá geografická, případně ekologická bariéra zabraňující šíření druhů. K takovým bariérám patří významné hlubokomořské příkopy, které vymezují zoogeografické linie, např. Wallaceova linie, Weberova linie, Lydeckerova linie a jejich modifikace (Mayr 1944). Hlavními oblastmi s vysokou biodiverzitou jsou tropy s nepřerušovanou existencí vysoce produktivních ekosystémů. Tyto oblasti jsou často méně ekonomicky rozvinuté. Proto lokální finanční zdroje pro výzkum jsou velmi

omezené a hrozí, že podstatná část diverzity bude zničena ještě před jejím objevením (Myers a kol., 2000).

Dynamikou kolonizace a její variabilitou v průběhu dlouhých období se zabývá biogeografie, potažmo zoogeografie a speciálně fylogeografie. Tyto obory využívají poznatky ekologie, paleoklimatologie a tektoniky a kombinují je s aplikací molekulárně orientované fylogenetiky. Význam zoogeografie opět narůstá s rozvojem experimentálních a biostatistických metod, snadnou dostupností genetických dat a jejich možným využitím v taxonomii a fylogenetice. Dochází také k nárůstu počtu získaných vzorků, na které lze tyto metody aplikovat, robustnost je zvýšena počtem použitých molekulárních markerů a robustnost analýz roste s aplikací pokročilých analytických postupů (Mayr, 1944; Salinas a kol., 2019).

3.3.2 Tektonická historie oblasti

Dle Halla (2009, 2012) je Nová Guinea, Šalomounovy ostrovy, Sulawesi, Filipíny a Velké a Malé Sundy, tedy oblast výskytu zde studované fauny, geologicky i geograficky složitou kontaktní zónou zahrnující Australskou, Euroasijskou a Pacifickou desku a kontaktní zónu mezi nimi představovanou systémem ostrovů. Aktivní tektonickou oblast na hranicích těchto tří tektonických desek, kde se rozkládá Indonésie, tvoří více než 18 000 ostrovů rozestých v délce více než 5 000 km. Je zde známo kolem 95 aktivních sopek s dlouhou historií velkých explozí, z nichž nejvýznamnější za poslední 2 miliony let byla exploze vulkánu Toba na Sumatře a v posledních dvou stoletích exploze vulkánů Krakatoa v Sundském průlivu a Tambora na ostrově Sumbawa (Wirakusumah a Rachmat, 2017; Abdurrachman a kol., 2018). Kontinentální šelf tvoří podstatnou část západní Indonésie, tuto většinou tektonicky klidnou oblast tvoří Jávské moře a níže položené území Sund a Bornea spolu s plytkým mořským dnem spojujícím tyto oblasti. Východní okraj čtvrtohorního Sundského šelfu splývá s významnou zoogeografickou linií definovanou Wallacem a později po něm pojmenovanou (Mayr, 1944). Ostrovy Sumatra a Borneo patří k tektonicky nejstarším částem Indonésie a dle Halla (2009) tato kontinentální oblast zahrnuje i Malajský poloostrov. Kontinentální původ západní Indonésie je nezpochybnitelný a tomu odpovídá i fauna, která plynule navazuje na indo-barmskou oblast. Rozsah pevniny v této oblasti závisí na výšce hladiny světového oceánu a velikost souše se zvětšila během spodních čtvrtohor v pleistocénu, kdy hladina moří byla běžně o 100 m nižší než

v současnosti (Mayr, 1944, Voris, 2000). Během křídy se formovaly okrajové části západní Indonésie, části Bornea, východní Jávy a západní části ostrova Sulawesi.

Oblasti mezi Borneem a Novou Guineou jsou mnohem mladšího původu. Příkladem může být ostrov Sulawesi, který obsahuje několik fragmentů odštěpených jak z australské, tak z asijské tektonické desky. Tato oblast je označena jako mikro-hotspot s klesající diverzitou v západní části ostrova, jejíž původ je odlišný od zbytku (Dvorak a Bocak, 2007; Tanzler a kol., 2016). Východní část je složena z více částí spojených oceánskými pánvemi.

Oblast východní Indonésie vznikla seskupením oceánských vyzvednutých fragmentů a malých odštěpených částí původního kontinentu Gondwana, po srážce s jihovýchodním okrajem Euroasijské desky, před zhruba 30 miliony lety (Balke a kol., 2017). Hranici Euroasijské desky tvoří na západním konci Sundský příkop, kde navazuje Indická deska. Obecně je tzv. orientální oblast mezi Asií a Austrálií z dlouhodobého hlediska proměnlivá a označujeme ji jako nestabilní vlivem protichůdných tektonických pochodů zahrnujících pohyby Australské a Euroasijské desky (Hall, 2012; Toussaint a kol., 2015). Část pevniny byla pravděpodobně vynořena během poslední části čtvrtohor v pleistocénu, kdy docházelo ke zlomům a následné zvedání částí zemských desek vedlo u jiných bloků k zanoření pod vodní hladinu. Takové aktivní formování orientální oblasti vystřídalo období relativního klidu. Tomuto období předcházelo v období miocénu, třetihor, vytvoření vnějšího a vnitřního pásu ostrovů vlivem silného formování zemských vrstev. Prvotním útvarem vzniklým těmito událostmi byly ostrovy Sumba, Timor, Timor laut, Kei, Buru a další, které tvoří vnější ostrovní oblouk a z geologického hlediska se příliš neliší. Po vzniku tohoto ohybu následovalo formování vnitřního ostrovního oblouku, dnes známého jako ostrovy Lombok, Sumbawa, Alor, Wetar nebo Banda. Právě vynoření vnitřních ostrovů se datuje do pozdního období třetihor. Přestože oblast jižně od rovníku vypadá celistvě, z tektonického hlediska je tato oblast pravým opakem jednotnosti a její kenozoická subdukce okrajových fragmentů původního kontinentu Gondwany, před zhruba 60 miliony lety, je hlavním důvodem dnešního členění (Mayr, 1944; Hall, 2012; Tanzler a kol., 2016).

3.3.3 Hmyz v oblasti mezi Asií a Austrálií

Šíření hmyzí fauny je důsledkem diverzifikace způsobené rychlou radiací hmyzích linií tzv. *in situ* speciací (Percy, 2009). Sclater (1858) pozorováním geografické distribuce ptáků navrhl rozdělení Indonésie na západní ostrovy, příslušící Indii, a východní oblast s výrazně vyšší afinitou k Austrálii. Protože výsledky byly založeny pouze na ornitologickém výzkumu, Wallace (1860), rozšiřující dřívější Sclaterovy výzkumy formuloval stejné, ale mnohem lépe podpořené rozdělení indonéské fauny. Příkladem indikační skupiny může být distribuce vačnatců v Austrálii a Wallacei. Rody vačnatců *Cuscus* a *Belideus* byly nalezeny na Moluckých a Sulaweských ostrovech, zatímco jejich výskyt nebyl zaznamenán na sousední Jávě a Borneu. Stejný příklad představuje rozšíření papoušků, kterých je v Austrálii ve srovnání s Asií obrovské množství. Přestože v práci Sclatera (1858) uváděné druhy ptáků a Wallacem (1860) popisovaní vačnatci mají vysokou vypovídací schopnost, je vhodné doplnění o další skupiny. Zde uváděný hmyz, ale i rostliny jsou ekologicky odlišné skupiny organismů, jejich distribuce vykazuje více nebo méně podobné vzorce, ale mnohdy rozdílné způsoby šíření, opoždění kolonizace a podobně. Tato kontrastní struktura fauny či flóry poukazuje na variabilní efektivitu bariér mezi ostrovy bránící migraci druhů. Van Welzen a kol. (2011) popisují rozdělení orientální oblasti Indonésie na tři skupiny, pro něž je charakteristická různá míra osídlení australskými a asijskými druhy. Centrální část je oblast Wallacei, od níž jsou na západ a na východ rozprostřeny další dvě oblasti, australská a orientální.

3.3.4 Wallaceova linie

Tato linie představuje nejstarší zoogeografický koncept rozdělující oblastní faunu, která byla stanovena na základě odlišnosti zkoumaných míst a byla označena jako Wallaceova linie. Historie zoogeografie jako biologického oboru v podstatě začíná právě nejstaršími pracemi Wallace (1860), který se této oblasti intenzivně věnoval. Hluboký Makassarský průliv zde hraje roli geografické bariéry separující australskou faunu na Sulawesi na východě a asijskou faunu na západě, tedy ostrov Borneo s dominantní kontinentální asijskou faunou. V oblasti souostroví Malých a Velkých Sund prochází Wallaceova linie Lombockou úžinou mezi stejnojmenným ostrovem a ostrovem Bali, kde vzdálenost dostačující izolaci druhů činí pouze několik desítek kilometrů. Průliv mezi ostrovy ovšem nikdy nebyl vysušen jako mezi ostatními ostrovy

(Tanzler a kol., 2016). Na severu je Wallaceova linie vedena mezi Filipínami a menším Sanghirským souostrovím na jih od Filipín. Tato linie je vymezena na základě zoogeografické hranice mezi oceánskými ostrovy napojenými biologicky na Austrálii a alternativně kontinentální Asii (Mayr, 1944).

Podle tektonických modelů je sice předpokládáno dřívější spojení ostrovů Bornea, jihozápadní části Sulawesi, Jávy a Bali s kontinentální Asií v jeden celek, ale asijská část Sulawesi byla pravděpodobně ponořena v oceánu po oddělení od kontinentu a nepřinesla na východ od Makassarské úžiny asijskou faunu.

Na severu Wallace (1860) nepřiradil faunu Filipín ani ke kontinentální asijské nebo australské, ale vyčlenil ji jako samostatnou diverzifikovanou oblast s vysokým stupněm endemismu. Přestože některé oblasti napříč celou Indonésií mají společnou tektonickou historii, v průběhu let došlo k oddělení jejich fauny. Stejně jako vzdálenost Afriky a Jižní Ameriky, oddělené Atlantickým oceánem, představuje v současnosti v podstatě nepřekročitelnou bariéru pro téměř všechny druhy živočichů, tak stejné způsoby izolace jsou mezi východní a západní částí Indonésie, kde je izolace druhů i při relativně malých vzdálenostech velmi významná v případě skupin s malým kolonizačním potenciálem. Ovšem i v této oblasti platí, že může dojít k občasné migraci druhů. Pouze velmi málo druhů se vyskytuje v celé oblasti a prostorově definovaný tok genů na jednotlivých ostrovech udržuje koherenci druhu složeného z populací oddělených mořskými úžinami. Naprostá většina druhů po kolonizaci oddělené pevniny vytváří samostatné druhy a jejich rozšíření podporuje delimitaci významných zoogeografických bariér (Wallace, 1860; Mayr, 1944).

Zajímavostí může být druhové osídlení Moluk. V tomto případě nejsou velké pevninské vzdálenosti mezi ostrovy, ale přesto je druhové zastoupení různé na jednotlivých ostrovech, s nízkým počtem druhů společných pro více ostrovů. Izolace druhů odkazuje na geografickou izolační funkci hlubokomořských příkopů okolo ostrovů, které se formovaly při tektonické interakci australského kontinentu a Filipínské desky. Tyto bariéry významně přispěly k diverzifikaci lokální fauny. U ostrovů, které mají podobnou faunu, předpokládáme, že došlo k jejich geografickému oddělení se zpožděním. Příkladem jsou ostrovy západní Indonésie - Sumatra, Jáva a Borneo, které jsou odděleny pouze mělkým mořem v době vysokých hladin světového oceánu a spojeny v glaciálech (Voris, 2000). Důležitým faktorem pro hodnocení biodiverzity je klimatická charakteristika oblasti (viz Tabulka 1). Přestože Jáva spadá na západní stranu

Wallaceovy linie, počet izolovaných druhů je nižší než na ostrovech Borneo a Sumatra. Příčinou byla aktivní sopečná činnost a sezónně velmi suché ostrovní klima (Wallace, 1860; www.worldclimate.com).

Tabulka 1: Průměrný úhrn srážek zaznamenaných v městech ostrovů Bornea, západní Jávy, východní Jávy a Timoru.

Ostrov	Město	Průměrný úhrn srážek za rok [mm]
Borneo	Balikpapan	2766,3
Jáva	Jakarta	1623,6
	Surabaya	1551,9
Timor	Kupang	1366,8

3.3.5 Huxleyho linie

Wallaceova linie na západě ohraničuje oblast Wallacei, kde došlo k rozšíření i tzv. trichaliniích rodů. Ostrovní oblast Wallacei zahrnuje souostroví Malých Sund, Sulawesi, Moluk a na severu Filipín (Van Welzen a kol., 2011). T. H. Huxley před 160 lety navrhl úpravu Wallaceovy linie. Severní část linie posunul na západ, konkrétně mezi ostrov Palawan a ostrovní Filipíny. Wallace původně definovaný oceánský ostrov Palawan připojil k asijské biogeografické oblasti, přestože jednotné přiřazení je z důvodu rozmanitosti nalezených druhů poměrně problematické. Podle zoogeografických dat je vhodnější druhy ostrova Palawan definovat jako asijské a filipínské. Některé analýzy ukazují nízkou divergenci mezi druhy. Fylogeografické analýzy podporují různé vymezení Huxleyho linie (de Bruyn a kol., 2004; Esselstyn a kol., 2010).

3.3.6 Weberova linie

Proti vymezení Wallaceovy linie byly postaveny studie fauny na ostrově Sulawesi (Celebes), jež formuloval nejen Weber (1902), z nichž je patrné, že oblastní fauna ostrova Sulawesi obsahuje více než 75 % druhů, které jsou původní pro západní, kontinentální oblast Indonésie. Další oblastí výzkumu bylo souostroví Malých Sund, u jejichž druhů bylo také zjištěno převládání původních indo-malajských prvků jak pro létavé, tak i pro nelétavé skupiny živočichů. Při zaměření na jednotlivé ostrovy

Sundského souostroví po zkoumání opodstatněnosti Wallaceovy linie byly jednotlivé úžiny mezi ostrovy označené jako izolační bariéry, ale u Lombocké úžiny byla potvrzena hlavní role separační linie. Na základě svých dat Weber definoval novou, podstatně východněji položenou linii.

Dnes nechápeme zoogeografické linie staticky, ale přesto má Weberova linie určitý význam při popisu distribuce druhů a odděluje australskou faunu na východě od fauny s nižším počtem australských druhů na západě. Jedním z důvodů významného úbytku druhů je nedostatečné spojení s kontinentem a špatné klimatické podmínky, které začínají od východní části Jávského ostrova a pokračují na roztroušeném pásu rozlohou malých ostrovů s nízkou nadmořskou výškou. První informace tohoto druhu podal již Müller (1846) a poslední molekulární studie toto plně podporují (Bacon a kol., 2013; Toussaint a kol., 2015, 2017). Zejména suché klima je výraznou bariérou pro druhy žijící ve vlhkém tropickém prostředí. Dalším faktorem přispívajícím k nízké diverzitě na Malých Sundách je jejich nedávný vznik (Hall, 2002). Na základě těchto poznatků byla střední linie oddělující dominantně orientální a dominantně australské oblasti nazvána Weberovou linií. Linie byla navržena podle procentuálního zastoupení australských a orientálních druhů. Na západ od Weberovy linie je více než 50 % druhů indo-malajských a na východě je více než 50 % druhů patřící Austrálii, potažmo Nové Guinei. Tato linka protíná oblast Wallacei. Samozřejmě, takové rozdělení je velmi zjednodušující a jednotlivé skupiny se z hlediska rozšíření mohou podstatně lišit. Severní část Weberovy linie je vymezena mezi souostrovím Talaud (Sulawesi) a Molukami. Uznávané vymezení linie je jednoznačně blíž kontinentální Austrálii. Důvodem je dřívější spojení Bornea, Jávy a Sumatry datované do posledního období čtvrtohor. Spojení v jednu suchozemskou oblast tak umožňovalo rychlé změny v distribuci druhů na jihovýchod z asijského kontinentu. Neopomenutelným důvodem je také rozdíl v diverzitě mateřských oblastí. Bohatá asijská fauna kolonizovala prostředí snadněji než podstatně chudší fauna Austrálie. Asijská fauna tak efektivně využila možnosti rozšíření na blízké souostroví Malých Sund. Weberova linie není linií v pravém slova smyslu a po jejím překročení nedochází k výrazné změně druhového a rodového zastoupení (Mayr, 1944; Voris, 2000; Hall, 2009).

3.3.7 Lydekkerova linie

Lydekkerova linie je západní hranicí kontinentálního šelfu Austrálie. Odděluje australskou kontinentální faunu, včetně Nové Guinei, která je spojena s Austrálií pouze velmi mělkým kontinentálním mořem s malými kontinentálními ostrovy, jako jsou Aru, Nomor a Misool. Tato linie je významná pro rozšíření kontinentálních druhů, které nejsou schopny se šířit přes otevřené moře (Mayr, 1944). Clouse a Giribet (2007) označují dle získaných zoogeografických dat tuto linii za zásadní pro definici podoblastí představovaných kontinentální Novou Guineí a Moluckým souostrovím, které je oceánského původu a nikdy nebylo spojeno pevninou ani s asijským, ani australským kontinentem. Indonéská fauna s charakterem kontinentální Asie se na východě pouze velmi vzácně rozšiřuje až přes Lydekkerovu linii. Takové druhy jsou velmi pohyblivé a velké vzdálenosti otevřeného moře pro ně nejsou zásadní překážkou pro kolonizaci. Lydekkerova linie je proto považována za velmi významnou hranici mnoha autory. Zoogeografické linie jsou znázorněny na Obrázku 2.



Obrázek 2: Studovaná oblast zájmu a významné zoogeografické linie. Wallaceova linie, její modifikace Huxleyho linie, Weberova linie a Lydekkerova linie.

3.4 Oblast vzniku a šíření trichaliných rodů

Trichaliní rody, součást subtribu Metriorrhynchina, se vyskytují v Austrálii, Nové Guinei, oblasti Wallacei a v Indo-Barmě. Jako ancestrální území Bocek a Bocak (2019) označili Novou Guineu s postupnou kolonizací kontinentální Asie, Wallacei a Austrálie. Na severozápad od Nové Guinei došlo k rozšíření na ostrovní Moluky a Filipíny. Na jihu došlo k migraci druhů přes ostrovní pás Malých a Velkých Sund až do Indo-Barmy. V centru orientální oblasti nedošlo k rozšíření přes Wallaceovu linii. Samotný postup divergence druhů je v areálu opodstatněn tektonickou historií oblasti (Voris, 2000; Balke a kol., 2009; Bocek a Bocak, 2019).

3.5 Delimitační metody

Pomocí delimitačních metod je možné doplnit výsledky získané při popisu druhů založených na morfologii a barcoding analýze mitochondriálních fragmentů a zvýšit tak rozsah informací, což je podstatou integrativní taxonomie (Goldstein a DeSalle, 2011; Miller a kol., 2016).

Aby bylo možné robustně definovat druh nejen delimitačními metodami, je nezbytné provést podrobný odběr vzorků ve zkoumané oblasti. Jedná se stále o operační taxonomickou jednotku (OTU), podle které se určuje druh na základě zvolených parametrů (Sun a kol., 2012; Zhang a kol., 2013; Li a kol., 2015).

Delimitace byla provedena se sestavenou maticí vzorků a s použitím fylogenetického stromu bez outgroup s definovanými parametry, které jsou nastaveny pro delimitační server s programem bPTP (Bayesian implementation of the Poisson Tree Processes). Hodnocení proběhlo za 100 000 MCMC generací s cílem odvodit vymežující parametry. PTP model rozlišuje druhy podle vztahů daných molekulární fylogenezí (Zhang a kol., 2013).

PTP metody využívají počet vzniklých mutací v dané sekvenci, jež jsou na fylogenetickém stromě znázorněny délkou terminálu. Počty mutací mezi druhy jsou pravděpodobně vyšší než v rámci druhu. Protože se jedná o teoretické modely, délka terminálu odráží očekávaný počet mutací.

Bayesiánská analýza využívá Monte Carlo Markovy řetězce (MCMC). Fylogenetický strom datové matice sekvenovaných vzorků je sestaven podle maximální pravděpodobnosti, která byla vytvořena bez a priori předpokladů a snaží se vytvořit optimální fylogenetický strom z dostupných dat a modifikací výchozího modelu. Tento

algoritmus je vhodný pro analýzu velkého datového souboru (Zhang a kol., 2013; Toussaint a kol., 2016). Metodou maximum likelihood (ML) stanovíme nejpravděpodobnější postavení jednotlivých terminálů vůči sobě, náhodným vyřazením znaků z původního datového souboru určíme statistickou podporu pro jednotlivé topologie. Každý terminál je ukotven ve fylogenetickém stromu s nejvyšší možnou pravděpodobností s ohledem na budoucí evoluční štěpení a tak, aby se zachoval původní rozsah souboru.

4 Materiál a metody

4.1 Biologický materiál

Materiál mi byl poskytnutý laboratoří molekulární systematiky PřF UPOL, prof. L. Bocákem a dalšími, kteří biologický materiál sbírali při výpravě v srpnu a září roku 2017. Nasbíraný biologický materiál reprezentuje lokální faunu čeledi Lycidae v Indonésii, sbíranou v oblasti Západní Papuy. Pro analýzu bylo vybráno 96 vzorků, které byly do doby izolace DNA uloženy v 96% ethanolu a konzervovány při -20 °C. Z nasbíraných vzorků označených A3486–A3581 byla z thoraxů izolována DNA, jež byla následně použita pro amplifikaci fragmentu mitochondriálního genu pro cytochrom oxidázu 1 (dále jako *cox1*).

Původ jednotlivých vzorků je rozmanitý, 4 vzorky pochází z Bomberay, 3 vzorky z města Ransiki, 15 vzorků z Asimi, 85 km západně od města Manokwari, 11 vzorků z oblasti Ayawasi, 26 vzorků z oblasti Kebar, z toho 7 vzorků 88 km západně a 19 vzorků 117 km západně od města Manokwari, 10 vzorků z oblasti Senopi, 12 vzorků 32 km severovýchodně od oblasti Fak Fak, 1 vzorek z oblasti Sisrang, 25 km severozápadně od města Ransiki, 12 vzorků 14 km severně od oblasti Fak Fak a 2 vzorky z oblasti Konja.

Mnou sekvenovaná data byla sloučena se sekvencemi již dříve publikovanými v různých studiích laboratoře molekulární systematiky (Sklenarova a kol., 2013, 2014, Bocek a Bocak 2016, 2019). Společně s nimi jsem pak vytvořila rozsáhlou datovou matici sestavenou z celkem tří mitochondriálních (*rrnL*, *cox1* a *nad5*) a dvou jaderných fragmentů genů (*SSU* rRNA a *LSU* rRNA), která obsahovala více než 600 terminálů (viz Příloha 1). Pro určení pozice a příbuznosti mnou sekvenovaných vzorků (A3486–A3581) mezi vzorky ostatními byla použita fylogeneticky blízká outgroup Cautirina a Metriorrhynchina.

4.2 Použité chemikálie, soupravy a roztoky

4.2.1 Použité chemikálie

Agaróza (Invitrogen, kat. č. 15510–027)

dNTPs Mix 2 mmol·l⁻¹ (Thermo Scientific, kat. č. R0242)

Ethanol 96% p.a. (Penta, kat. č. 603-002-00-5)

GelRed™ Nucleic Acid Gel Stain (Biotium, kat. č. 41003)

Glycerin bezvodý p.a. (Lach-Ner, kat. č. 30270)

Hi-Di™ Formamide (Applied Biosystems, kat. č. 4311320C)
Chlorid hořečnatý 50 mmol·l⁻¹ (Invitrogen, kat. č. 10966-034)
Nuclease-Free Water (Ambion, kat. č. AM9932)
Octan sodný bezvodý (AppliChem, kat. č. 127-09-3)
PCR Buffer 10x (Invitrogen kat. č. 10966-034)
Platinum® *Taq* DNA Polymeráza (Invitrogen, kat. č. 10966-034)
Primery 10 μmol·l⁻¹ (generi biotech)
Proteinase K 20 mg·ml⁻¹ (Promega, kat. č. V3021)
Standard molekulové hmotnosti Lambda DNA/HindIII ready to use Marker (Thermo Fisher Scientific, kat. č. SM0103)
Tris ultrapure (AppliChem, kat. č. 77-86-1)
UV ethanol 99,8% (Lach-Ner, kat. č. 20025-U99)

4.2.2 Použité soupravy

ABI PRISM® Big Dye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems™)
Wizard® SV 96 Genomic DNA Purification System (Promega, kat. č. A2371)

4.2.3 Použité roztoky a jejich příprava

50x TAE (pH 8,5): 242 g Tris baze rozpustit v 800 ml dH₂O, přidat 100 ml 0,5 mol·l⁻¹ EDTA (pH 8) a 57,1 ml ledové kyseliny octové, objem doplnit na 1000 ml.

TE pufr: 1 ml 1 mol·l⁻¹ Tris (pH 8) smíchat s 0,2 ml 0,5 mol·l⁻¹ EDTA, doplnit na objem 100 ml dH₂O.

0,5 mol·l⁻¹ EDTA (pH 8): 9,3 g Na₂EDTA·2H₂O rozpustit v 50 ml dH₂O, upravit pH NaOH na pH 8, doplnit na objem 100 ml, roztok sterilizovat autoklávováním.

Nanášecí pufr: 10 mg bromfenolové modři smíchat s 3 ml bezvodého glycerinu, doplnit objem na 10ml dH₂O.

4.3 Seznam použitých přístrojů a zařízení

Analytické váhy ACBplus - 150 (aeAdam)
Analyzátor genetický ABI, 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems™)
Centrifuga 5810 R (eppendorf)
Centrifuga EPP 5424 (eppendorf)
Koncentrátor 5301 (eppendorf)

Minicentrifuga (Labnet)
Miska pro autoforézu Mupid-exU (ADVANCE)
Spektrofotometr Nano Drop ND-1000 (NanoDrop)
Stereomikroskop Olympus SZX16 (Olympus)
Systém Bio Imaging IN genius (Syngene)
Termoblok Thermomixer comfort (eppendorf)
Termocykler GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems™)
Termocykler GeneAmp PCR System 2720 (Applied Biosystems™)
Termocykler TGradient (Biometra)
Vakuová pumpa FB70155 (Fisherbrand)
Výrobník vločkového ledu F 125 Compact (Icematic)

4.4 Použité experimentální a vyhodnocovací postupy

4.4.1 Izolace DNA

Z dodaného materiálu byla izolována svalovina hrudi (*meso-* a *metathoraxu*) bez křídel, jež jsou napojeny na středohrud' a zadohrud', stejně byly odděleny 4 poslední články zadečku (*abdomenu*) a torzo těla s hlavou, prothoraxem, křídly, krovkami a posledními články zadečku obsahujícími kopulační orgány byly uchovány pro budoucí morfologické zpracování v dokladové sbírce. Hrudní svalovina byla disekována za pomoci stereomikroskopu, pinzet a entomologických špendlíků, po homogenizaci a vysušení byl pak lyzát pomocí kitu Wizard® SV 96 Genomic DNA Purification System (Promega) připravován pro amplifikaci DNA.

Hrudní svalovina byla zbavena zbytků 96% ethanolu vysušením vakuovým koncentrátorem po dobu 15 minut. Homogenizace vzorků byla provedena v každé zkumavce zvlášť s pomocí 20 µl proteinasy K, 50 µl 0,5 mol·l⁻¹ EDTA (pH 8) buffer a 200 µl Nuclei Lysis Solution, které jsou součástí master mix kitu, homogenizační sterilní tyčinkou. Buněčná lýze probíhala v termobloku při 55 °C po dobu 60 minut. Nelyzované části byly odstraněny krátkou centrifugací. Supernatant byl od peletu odstraněn přepipetováním do nové mikrozkuavky, která byla opět zahřata v termobloku a poté bylo přidáno 250 µl SV Lysis bufferu. Obsah mikrozkuavky byl promíchán automatickou pipetou. Jednotlivé lyzáty byly nasazeny na kolony, ze kterých byl pod vakuem odstraněn veškerý roztok. Poté byl přidán promývací roztok a následně

odstraněn vakuem. Celkově byl postup promývání opakován třikrát a následně byla kolona vysušena v koncentrátoru při 37 °C po dobu 10 minut.

Ke koloně bylo přidáno 100 μl nuklease free H_2O , kultivace trvala 2 minuty při pokojové teplotě a poté byl první eluát DNA přenesen vakuem na mikrozkušavku, která byla zatavena. U druhé eluce se postupovalo stejně, pouze objem nuclease free H_2O byl snížen na 50 μl . V druhém eluátu byla změřena koncentrace a kvalita izolované DNA spektrofotometrem Nano Drop ND-1000 (NanoDrop), která byla pro další práci naředěna na požadovanou koncentraci do 10 $\text{ng}\cdot\mu\text{l}^{-1}$ do pracovní destičky.

4.4.2 Amplifikace DNA metodou PCR

Amplifikace vzorků probíhala v termocykleru s programem Long 45 za účelem amplifikace mitochondriálního genomu, respektive jeho fragmentu, konkrétně části genů *cox1*, *tRNA-Leu* a *cox2* o celkové délce ~ 1100 bp (dále v textu však bude uváděno zjednodušeně pouze označení *cox1*). Geny jsou zodpovědné za syntézu první a druhé podjednotky cytochromu c oxidázy. Nejdříve proběhla příprava master mixu na ledu pro amplifikaci daného fragmentu.

Roztok pro PCR amplifikaci cílového fragmentu mtDNA pro jeden vzorek obsahoval:

5 μl	Buffer PCR 10x
2 μl	MgCl_2 50 $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$
1 μl	f primer 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$
1 μl	r primer 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$
1,25 μl	dNTPs 2 $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$
0,2 μl	Platinum [®] <i>Taq</i> DNA polymeráza 5U $\cdot\mu\text{l}^{-1}$
36,55 μl	Nuclease free H_2O
3 μl	Izolovaná DNA o koncentraci do 10 $\text{ng}\cdot\mu\text{l}^{-1}$

Amplifikace mtDNA fragmentu genu *cox1* proběhla s použitím primerů uvedených v Tabulce 2 a v termocykleru s teplotním programem uvedeným v Tabulce 3.

Tabulka 2. Seznam primerů použitých pro amplifikaci mtDNA fragmentu genu *cox1*.

Primer	Směr	Autor	Délka primeru	Sekvence (5'-3')
Jerry N	F	Bocák a kol.	23-mer	CAAYTATTYTGATTYTTYGG
Marcy N	R	Bocák a kol.	24-mer	TTCRTAWGTTTCARTATCATTGRTG

Tabulka 3. Teplotní a časový program amplifikace mtDNA fragmentu genu *cox1*.

Jednotlivé fáze reakce PCR	Čas [min]	Teplota [°C]	Počet cyklů
Počáteční denaturace DNA	1	94	1
Denaturace DNA	1	94	
Annealing	1	45	40
Extenze	2	72	
Finální extenze	10	72	1

4.4.3 Hodnocení PCR produktu

Hodnocení správné amplifikace DNA proběhlo pomocí horizontální gelové elektroforézy. 0,45 g agarózy bylo rozvařeno v 45 ml 0,5x TAE (tris Acid Edta) pufru. 1% agarózový gel byl po samovolném zchládnutí na zhruba 60 °C obarven 2,5 µl netoxického barviva GelRedTM a následně nalit do elektroforetické vaničky s hřebínky. Po ztuhnutí gelu byly hřebínky vyjmuty, gel byl přelit 0,5x TAE pufrém a do jamek byly napipetovány vzorky, které byly protřepány (vířivá třepačka) a krátce stočeny na centrifuze s nanášecím pufrém v poměru 3:1. První jamka obsahovala 3 µl standardu relativní molekulové hmotnosti DNA Ladder. Elektroforetická separace PCR produktu probíhala 12 minut při 100 V, poté byl gel vyjmut z vaničky a umístěn na sklo UV transiluminátoru s CCD kamerou, pomocí níž byly vizualizovány separované produkty PCR amplifikace a následně zpracovány přes program GeneSnap Version 7.02 (Syngene).

4.4.4 Purifikace PCR produktu

Destička s PCR produkty byla nejdříve stočena na centrifuze a poté byl její obsah doplněn do 100 µl TE pufrém, obsah byl promíchán a následně přenesen na destičku MultiScreen[®] PCR_{µ96} Plate (Millipore). Destička byla umístěna pod vakuovou pumpu (FB 70155, Fisherbrand) a filtrována zhruba 7–15 minut tak, aby jamky destičky byly bez roztoku, poté byla destička filtrována ještě 1 minutu na sucho. Promytí jamek destičky Millipore byla provedena 78 µl nuklease free H₂O

v každé jamce. Nuklease free H₂O byla přefiltrována 7–15 minut do sucha a 1 minutu filtrována na sucho. Destička byla poté osušena, nikoliv otřena ubrousky.

Rozpuštění PCR produktu bylo provedeno aplikací 20 µl nuklease free H₂O do každé jamky a následným třepáním destičky s přelepenou folií na třepáče při 1100 rpm po dobu 10 minut za pokojové teploty. Rozpuštěný PCR produkt byl odpipetován do stříhací destičky a uchován pod lepicí folií pro měření na spektrofotometru Nano Drop ND-1000 (NanoDrop). Výsledná koncentrace purifikace PCR produktu pro sekvenační reakci je potřebná v rozmezí 25–60 ng·µl⁻¹.

4.4.5 Sekvenační reakce

Sekvenační reakce byla provedena za použití ABI PRISM[®] BigDye[®] Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kitu se stejnými primery, které jsou uvedené v Tabulce 2.

Množství chemikálií sekvenační reakce pro jeden vzorek:

1 µl	BigDye
1 µl	sekvenační pufr
2 µl	primery 1,6 µmol·l ⁻¹
5 µl	nuclease free H ₂ O
1 µl	DNA o koncentraci 25–60 ng·µl ⁻¹

Teplotní a časový program sekvenační reakce je uveden v Tabulce 4. Sekvenační reakce proběhla s programem Cycle ABI. Koncentrace DNA vzorku, jež byla nižší než 25 ng·µl⁻¹, byla napipetována v objemu 4 µl a objem vody doplněn do 6 µl.

Tabulka 4. Teplotní a časový program sekvenační reakce.

Jednotlivé fáze reakce PCR	Čas [s]	Teplota [°C]	Počet cyklů
Počáteční denaturace DNA	60	96	1
Denaturace DNA	10	96	25
Annealing	5	50	
Extenze	240	60	

4.4.6 Purifikace sekvenačního produktu

Čištění sekvenačního produktu probíhá v ABI destičce, do které se pipetuje:

47,5 µl	UV ethanolu (99,8%)
1 µl	NaAc 3 mol·l ⁻¹
11,5 µl	nuklease free H ₂ O

Po protřepání sekvenačního produktu byla ABI destička přikryta mléčnou matrací a ponechána na ledu. Po 15 minutách byl sekvenační produkt umístěn do centrifugy s teplotou 15 °C a centrifugován při 2500 g po dobu 30 min. Obsah destičky byl vyklepnut a překryt papírky, se kterými byla destička opět centrifugována při 700 g po dobu 1 min. Další centrifugace byla provedena po napipetování 60 µl 80% UV ethanolu, 10 min při 2500 g a při stejné teplotě 15 °C. Obsah destičky byl opět vyklepnut a postup byl opakován. Posledním krokem bylo vyklepnutí ABI destičky a centrifugace s papírky při stejném nastavení 700 g po dobu 1 min. Destička byla dále vysušena v koncentrátoru po dobu 15 min. Koncentrátor (eppendorf) byl při práci zatemněn. Nakonec byla destička překryta šedou matricí, zabalena a uchována zamražením pro další postup práce.

4.4.7 Příprava vzorků pro sekvenaci

12 µl formamidu bylo napipetováno do každé jamky destičky, destička byla překryta šedou matricí a následně po krátkou dobu stočena. Destička byla umístěna na třepačku při 400 rpm, 15–30 min dle délky sekvence a při teplotě 24 °C. Vzorky byly denaturovány v termocycleru (Biometra) při teplotě 95 °C po dobu 3 minut a poté 2 minuty zchlazeny na ledu, takto připravené vzorky byly krátce stočeny. Pomocí genetického analyzátoru ABI, 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems™) byla získána data pro další editaci.

4.5 Zpracování sekvenačních dat a sestavení datové matice

Dalšími kroky v analytické části této studie byly editace vyprodukovaných dat, jejich alignování a příprava dat do správných formátů pro fylogenetickou analýzu. Dané kroky byly postupně zpracovávány pomocí programů Sequencher 4.9 (Gene Codes Corp.), ClustalX 1.8, Geneious 7.1.9, MAFFT (G-INS-i algoritmus), FASconCAT 1.0, IQ-TREE 1.6.6 a FigTree 1.4.3. Chybné čtení sekvenovaných vzorků bylo opraveno

v programu Sequencher 4.9, špatně osekvenované vzorky byly z budoucích analýz vyloučeny úplně. Z editovaných vzorků byl v programu ClustalX 1.8 (Thompson a kol., 1997) vytvořen první mnohočetný alignment, bez možnosti přímých oprav. Konečný (trans) alignment byl vytvořen v programu Geneious 7.1.9 (Kearse a kol., 2012). Jednotlivé sekvence byly vyčištěny a zkontrolovány na přítomnost editačních chyb (stop kodony uprostřed kódujících úseků, delece, inserce apod.), případně byly ručně opraveny a byla k nim přiřazena další skupina dříve sekvenovaných vzorků získaných laboratoří molekulární systematiky PřF UPOL s již předem určenou outgroup Cautirina + Metriorrhynchina. Pro sestavení kompletní datové matice k finální analýze byly použity následující jaderné a mitochondriální fragmenty genů: SSU rRNA (~1800 bází) a D2 smyčka LSU rRNA (~680 bází) pro jadernou RNA; *rrnL* + *tRNA-Leu* + *nad1* (~800 bází), *cox1* + *tRNA-Leu* + *cox2* (~1100 bází) a ~1210 bází genu *nad5* a sousední *tRNA-Phe*, *tRNA-Glu*, *tRNA-Ser* pro mitochondriální DNA (pro snazší orientaci dále jen jako *rrnL*, *cox1* a *nad5*). Soupis veškerých vzorků v analyzované matici je přiložen v Příloze 1.

4.6 Finalizace datového souboru a fylogenetická analýza

Sekvence fragmentu genu *cox1* získané v experimentální části této práce byly přiřazeny ke zmíněným sekvencím a následně byly všechny sekvence hromadně rozstříhány na jednotlivé kódující fragmenty *rrnL*, *nad1*, *cox1*, *cox2*, *nad5* a fragmenty nekódující (tRNA navazující na *nad5*, tRNA-Leu, *rrnL* tRNA). Po alignování v programu MAFFT (algoritmus G-INS-i; Katoh a Standley 2013) inkorporovaném v programu Geneious byly výsledné alignmenty jednotlivých fragmentů poskládány za sebe pomocí programu FASconCAT 1.0 (Kück a Meusemann, 2010), a vytvořily tak obsáhlou finální konkatenovanou datovou matici. Jako prostředek k výpočtu fylogenetické hypotézy byl použit program IQ-TREE 1.6.6 (Nguyen a kol., 2015) a s použitím metody UFboot (Ultrafast bootstrap) byly na jednotlivých větvích vypočteny bootstrapové podpory. Konkrétní modely evoluce sekvencí použitých genových fragmentů byly vypočteny pomocí programu ModelFinder (Kalyaanamoorthy a kol., 2017) a jsou uvedeny v Tabulce 5. Jako program pro konečnou grafickou vizualizaci výsledného fylogenetického stromu byl použit FigTree 1.4.3 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>) a pro dodatečnou úpravu fylogenetického stromu byly použity grafické editory.

Tabulka 5: Přehled vlastností všech sekvencí použitých ve fylogenetické analýze spolu s použitými modely navrženými programem ModelFinder.

Sekvenovaný fragment	Počet alignovaných sekvencí	Délka alignmentu	Počet unikátních znaků	Počet znaků informativních pro parsimonii	Počet konstantních znaků	Použité modely
<i>nad5</i>	266	1278	890	741	459	TVM+F+I+G4
<i>cox1</i>	559	1111	787	557	476	GTR+F+I+G4
<i>rrnL</i>	273	809	421	291	469	GTR+F+I+G4
SSU rRNA	64	1419	121	34	1368	TNe+I+G4
LSU rRNA	63	676	111	13	647	K3P+I

4.7 Identifikace druhové diverzity

Na základě příbuznosti vzorků vytvářejících monofyletické skupiny na úrovni druhu byla hodnocena jejich morfologická podobnost. Pokud skupina geneticky příbuzných jedinců sdílela podobnou morfologii, byla hodnocena jako druh. Vzhledem k charakteru studie není možné hodnocení reprodukční izolace a předpokládá se, že morfologicky a geneticky odlišné populace reprezentují samostatné biologické druhy (Mayr, 1942; Mallet, 1995).

5 Výsledky

5.1 Nově sekvenovaná data

Amplifikace fragmentu *cox1* mtDNA se zdařila u všech 96 vzorků (A03486–A03581), které byly nově sekvenovány pro účely této analýzy. Průměrná délka jednotlivých sekvencí dosahovala 1100 bází. Při alignování nově sekvenovaných vzorků dosahovala celková délka alignmentu pro fragment *cox1* 1111 bází. Výsledný alignment pro nově sekvenovaný úsek se skládá z 782 homologických pozic pro *cox1*, 60 pozic pro *cox1* tRNA-Leu a 269 pozic pro *cox2*. Obsah indelů byl velmi nízký vzhledem k tomu, že se jedná o proteiny kódující geny.

5.2 Alignování finální matice pro rekonstrukci fylogeneze

Celkový počet terminálů na fylogenetickém stromě čítá 602 jedinců, kteří byli jednotlivě sekvenováni pro následující fragmenty: 64 vzorků pro *SSU* rRNA, 63 vzorků pro D2 smyčku *LSU* rRNA, 296 vzorků pro *rrnL*, 591 vzorků pro *cox1* a 289 vzorků pro *nad5*; detailní informace o vlastnostech sekvencí použitých v analýze jsou uvedeny v Tabulce 5. Alignovaná 5-genová matice obsahuje celkem 5293 homologických pozic, a to konkrétně pro jednotlivé fragmenty: 1419 pozic pro *SSU* rRNA, 676 pozic pro D2 smyčku *LSU* rRNA, 809 pozic pro *rrnL*, 1111 pozic pro *cox1* a 1278 pozic pro *nad5*. Použitá outgroup čítala 135 vzorků ze subtribů *Cautirina* (4 vzorky; rod *Cautires*) a *Metriorrhynchina* (131 vzorků; rody *Leptotrichalus*, *Metriorrhynchus*, *Porrostoma*, *Wakarumbia* a dosud formálně nepopsané linie).

5.3 Topologie výsledného fylogenetického stromu

Vybraný datový soubor byl analyzován metodou maximální pravděpodobnosti (maximum likelihood, ML), což znamenalo získání nejpravděpodobnějšího fylogenetického stromu pro daná data a předem vypočtené modely evoluce sekvencí DNA. Zároveň byla vypočítána i bootstrapová podpora (BS) pro jednotlivé větve stromu, přičemž hodnoty nepřesahující 70 % není možno považovat za statisticky významné a jejich pozice na stromu bývá nejistá. Subtribus *Metriorrhynchina* je na výsledném stromu robustně podpořen (BS 100 %), ale skupina trichaliních rodů je pouze nevýrazně podpořena (BS 68 %). Nejhlubší bazální štěpení v trichaliním kládu získalo podporu pouze 69 % a rod *Diatrichalus* je sesterskou skupinou všech dalších

rodů. Jednotlivé rody jsou podpořeny jako monofyletické skupiny, s výjimkou rodu *Trichalus*, který je parafylum sestávající ze dvou větších samostatných linií. Ostatní rody jsou dobře podpořeny (BS 100 % pro rody *Diatrichalus*, *Lobatang*, *Schizotrichalus*, *Eniclases*, BS 88 % pro *Flabellotrichalus* a 98 % pro *Microtrichalus*).

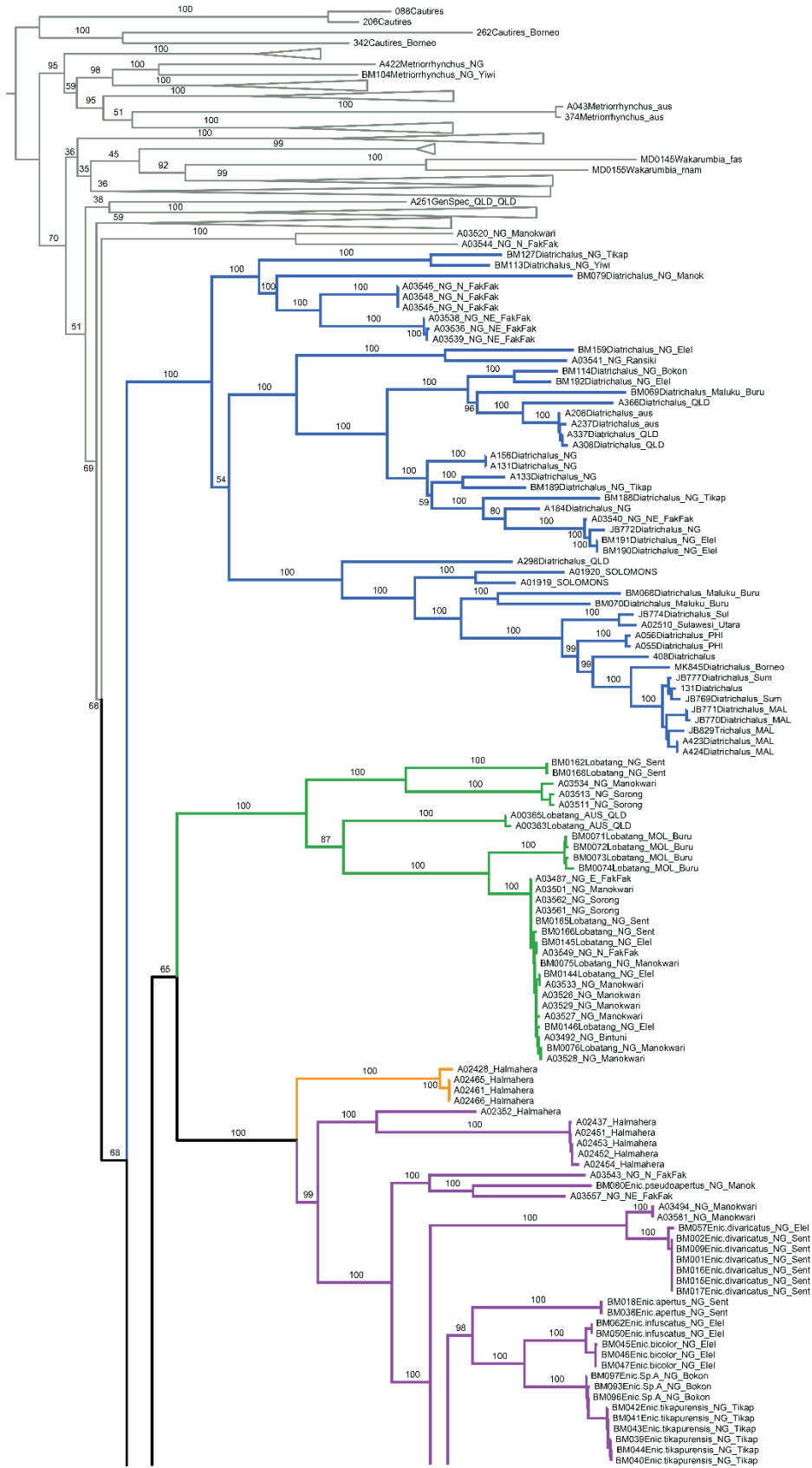
Naopak mělká štěpení definující jednotlivé linie uvnitř rodů studované skupiny jsou podpořena vesměs velmi robustně s BS přesahující 90 %. Interní štěpení mezi některými blízkými liniemi v rodu *Microtrichalus* dosahují nízkých podpor (BS 54–100 %) obvykle proto, že omezený počet fragmentů nedokáže velmi blízké sekvence spolehlivě a robustně odlišit. Podobná situace se vyskytuje v rodu *Flabellotrichalus* (BS 46–100 %), konkrétně u linií pocházejících z Halmahery. Fylogenetický strom vyprodukovaný touto analýzou s kolapsovanou outgroup je znázorněn na Obrázku 3. V příloze 3 je doložen fylogenetický strom s plným rozsahem outgroup.

5.4 Geografická data

Pro všechny sekvenované vzorky byla zaznamenaná data o geografickém původu jednotlivých vzorků a byl pokrytý celý areál výskytu této skupiny. Nový datový soubor obsahuje 18 vzorků z Moluk, 98 z Nové Guinee, 16 z Austrálie a 19 ze Sulawesi, Filipín a orientální oblasti.

5.5 Identifikace počtu druhů

Na základě fylogenetické analýzy byl hodnocen druhový status nově sekvenovaných vzorků. Po zhodnocení morfologie a fylogenetického stromu bylo identifikováno 151 druhů. Následně byla použita metoda bPTP a ta identifikovala 175 potenciálních druhů (viz Příloha 2).

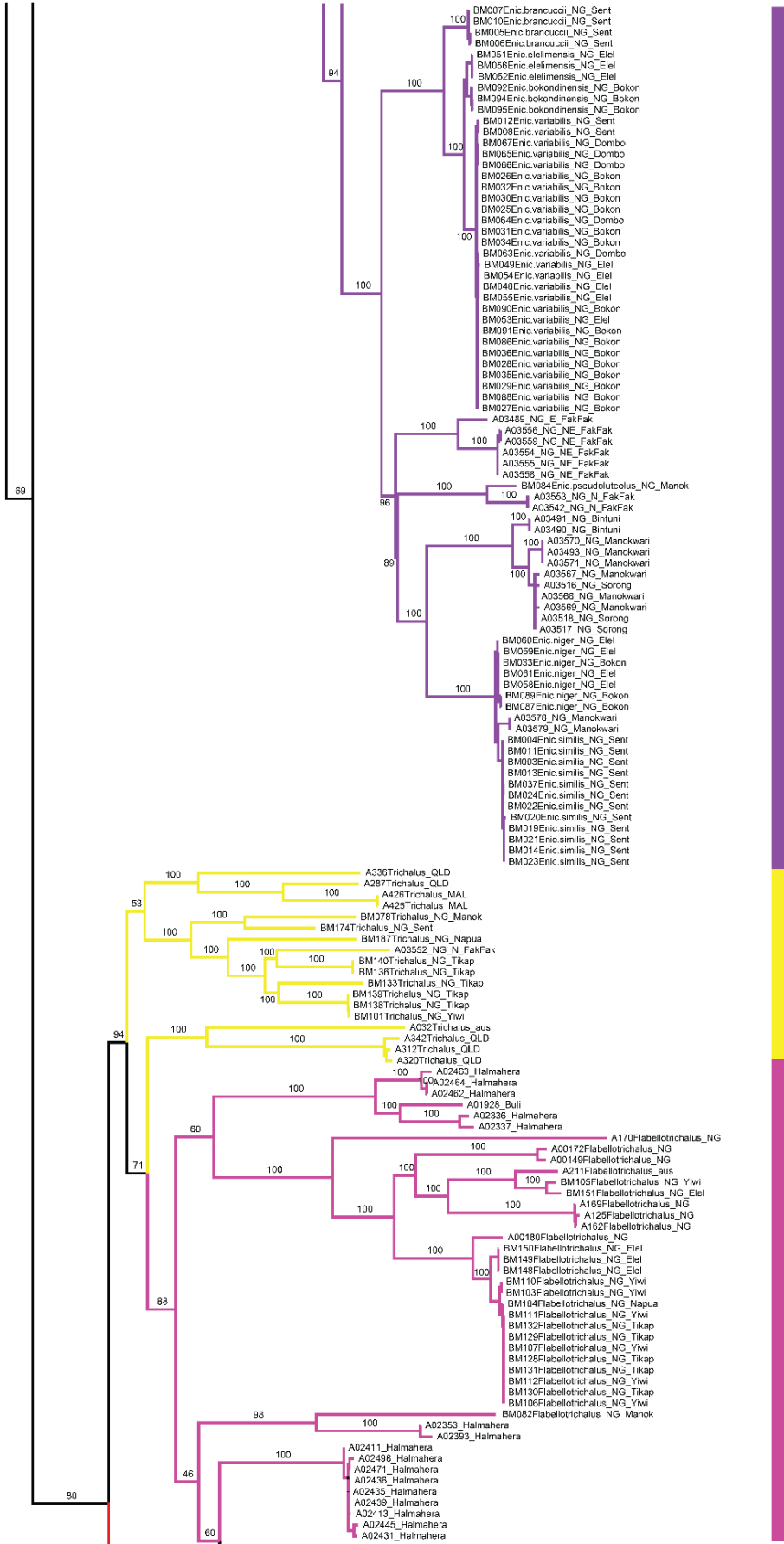


Outgroup

Diatrichalus

Lobatang

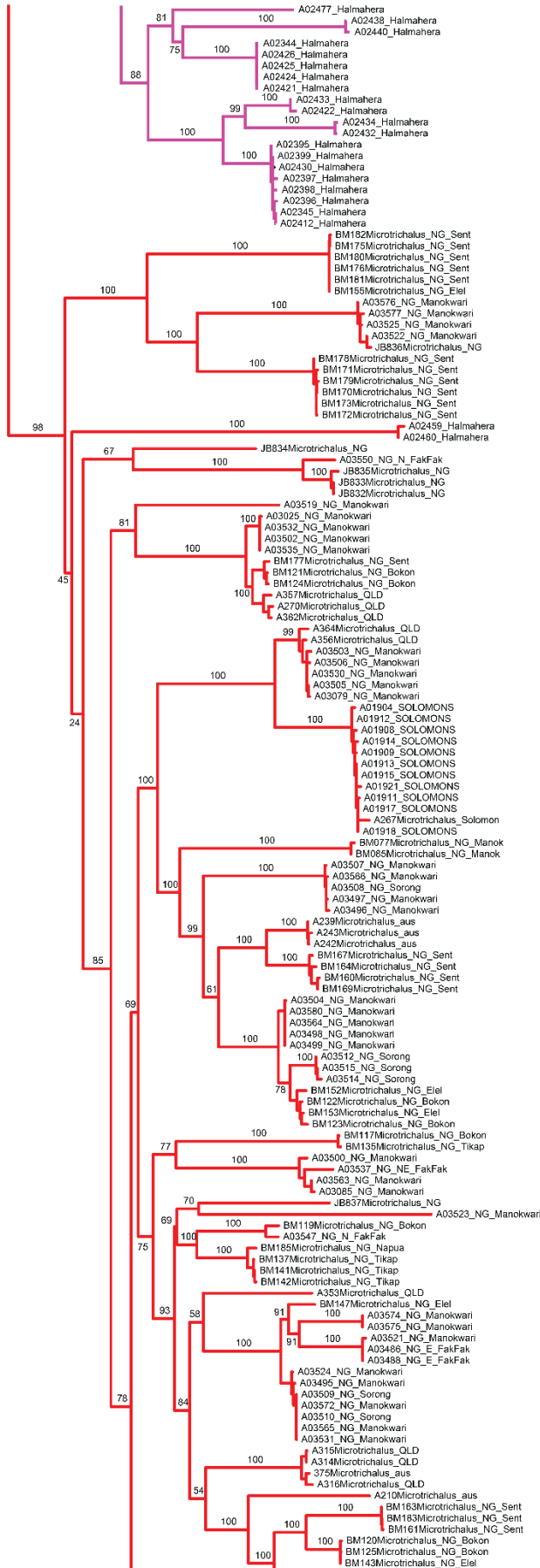
Schizotrichalus



Eniclases

Trichalus

Flabellotrichalus



Microtrichalus



Obrázek 3: Fylogram trichalinih rodů s použitou kolapsovanou outgroup vytvořený pomocí programů IQ-TREE 1.6.6 a FigTree 1.4.3.

6 Diskuze

6.1 Fylogeneze trichaliních rodů

Současná fylogenetická analýza poskytla aktualizovanou topologii kládu trichaliních rodů. Tato skupina je velmi pravděpodobně monofyletická, ačkoliv se nepodařilo toto doložit vysokými hodnotami bootstrapové podpory. Pravděpodobnou příčinou nízké podpory je poměrně vysoká odlišnost sekvencí rodu *Diatrichalus*. Tento rod je sesterskou linií ostatních trichaliních rodů a již předchozí publikace se potýkaly s podporou jeho postavení i monofyletičnosti (Bocek a Bocak, 2017). Monofylie ostatních rodů je poměrně dobře podpořená. Pouze rod *Trichalus* tvoří parafylum. Podobně nízká podpora pro tuto linii byla zjištěna v předchozích pracích (Bocak, 2002; Bocek a Bocak, 2017, 2019). Zůstává tedy možností, že se jedná o pozůstatek rané diverzifikace kládu *Trichalus* + *Microtrichalus*. Vzhledem k tomu, že *Microtrichalus* je velmi dobře definován jak morfologicky, tak molekulárně, je tento rod nadále akceptován v klasifikaci a nejsou všechny linie shrnuty do redefinovaného rodu *Trichalus*. Poprvé byl sekvenován rod *Schizotrichalus* a v souladu s morfologickými daty i molekulární analýza tento rod přiřazuje jako sesterskou skupinu k rodu *Eniclases*.

6.2 Diverzita trichaliních rodů

Tato studie kombinuje dříve publikovaná data se sekvencemi získanými pro nově dostupné taxony (Sklenarova, 2013, 2014; Bocek a Bocak, 2016, 2019). Takto byl sestaven dosud největší datový soubor pro studium fylogeneze modelové skupiny, tj. kládu, který obsahuje tzv. trichaliní rody (Bocek a Bocak 2019). Dříve publikovaný soubor obsahoval 125 druhů ve srovnání s více než 150 druhy v současném datovém souboru. Podstatný rozdíl mezi těmito soubory je doplnění o faunu Moluk a západní Nové Guinei. Dříve sekvenované soubory nezahrnovaly žádné vzorky z Moluk, až na 7 jedinců z ostrova Buru, konkrétně 4 jedinci tvořící jeden druh rodu *Lobatang* a 3 jedinci tvořící samostatné druhy rodu *Diatrichalus*. Vzorky doplněné v mé analýze pochází z největšího ostrova Moluk, konkrétně Halmahery. Tato oblast se ukazuje jako kritická a docházelo zde k rané diverzifikaci skupiny. Další 96 vzorků je doplněno z poloostrova Bird's Head na západě Nové Guinei.

Soubor vykazuje poměrně vysoký stupeň kompletnosti, jednotlivé sekvenované fragmenty jsou kompletní v rozpětí 10–98 %. Bez 2 % je soubor kompletní pro fragment *cox1*, skoro polovina souboru sekvenovaných jedinců (49 %) obsahuje

sekvenovaný fragment *rrnL* a o 1 % méně fragmentu *nad5*. V 11 % je soubor kompletní pro fragment *SSU* rRNA a počet jedinců, kteří obsahují D2 smyčku fragmentu *LSU* rRNA, je 10 %. Pomalu se vyvíjející nukleární geny *SSU* a *LSU* rRNA poskytují informace pro hluboká štěpení a dosažené pokrytí je dostatečné pro robustní fylogenetickou analýzu, jak ukázaly modelové studie uvažující vliv nekompletních dat na výsledek molekulární analýzy (Wiens, 2003).

Fauna trichaliních rodů je obecně málo známá i přes dřívější geograficky omezené studie. Dřívější analýzy lokální fauny v oblasti jihovýchodní Asie odhadují pro rod *Diatrichalus* 50 druhů, *Eniclases* 36 druhů, *Flabellotrichalus* 17 druhů, *Lobatang* 6 druhů, *Microtrichalus* 42 druhů, *Schizotrichalus* 1 druh a rod *Trichalus* čítá 65 druhů (Kleine, 1933; Bocak, 2000, 2001). Počty dosud formálně popsanych druhů byly získány z katalogu druhů subtribu Metriorrhynchina (Masek a kol., 2018). V současné analýze je zastoupeno přes 150 druhů, tedy počet téměř srovnatelný s počtem formálně popsanych druhů. Vzhledem k tomu, že mnohé oblasti jsou pouze omezeně prostudovány, je velmi pravděpodobné, že počty skutečně existujících druhů jsou podstatně vyšší a že velká část druhů zařazených do analýzy by mohla být dosud nepojmenována. Toto odpovídá i výsledkům dřívějších analýz věnovaných rodu *Eniclases* (Bocek a Bocak, 2016).

Sekvenování velkého počtu taxonů napříč celou oblastí výskytu skupiny umožňuje upřesnění areálu jednotlivých druhů a poznání lokální diverzity i přesto, že data pravděpodobně nejsou kompletní. Ve srovnání s morfologickými metodami je takto možné poměrně rychle vyhodnotit diverzitu jednotlivých skupin.

Rod *Diatrichalus* je velmi široce rozšířen a dřívější analýza zjistila nejvyšší počet druhů na Nové Guinei (37 druhů). Datový soubor publikovaný před nynější analýzou zahrnoval 14 druhů z Nové Guinei a nyní o 3 druhy více. Tento rod nebyl dříve známý z Austrálie (Calder, 1998) a v současném datovém souboru jsou zastoupeny 3 australské druhy, stejně tak jako v posledním publikovaném souboru (Bocek a Bocak, 2019). Podobně málo diverzifikovaná dosud popsaná fauna Moluk čítá 3 druhy, na Filipínách 5 druhů, na Sulawesi 1 druh a na Velkých Sundách 1 druh.

Areál rodu *Eniclases* má mnohem omezenější geografické rozšíření. Pouze 1 druh byl historicky hlášen z Moluk a 35 druhů pochází z Nové Guinei. V aktuálním souboru jsou zjištěny 2 druhy z Moluk, pravděpodobně oba dosud nepopsané. Fauna Nové Guinei nyní čítá 23 druhů.

Podobně v rodu *Flabellotrichalus* bylo dříve známých pouze formálně popsaných 17 druhů a v současném souboru bylo zaznamenáno 20 druhů (Obrázek 3). *Flabellotrichalus* je podle literatury nejvíce diverzifikován na Nové Guinei, konkrétně 11 druhů a v současném souboru je 9 druhů. Na rozdíl od předchozích studií jsem zaznamenala významný nárůst počtu druhů identifikovaných na Molukách (10 druhů oproti 4 formálně popsaným). V kontrastu se 3 druhy uváděnými z Austrálie je pouze jeden zastoupen v aktuálním souboru.

Rod *Lobatang* je zaznamenán pouze v 1 druhu na ostrovních Molukách, což odpovídá i dříve publikovaným záznamům. Sulawesi a Filipíny mají formálně popsaný každý 1 druh, které ale nebyly v současné analýze, 3 druhy na Nové Guinei odpovídají počtu dosud formálně popsaných druhů.

Microtrichalus je zároveň jeden z druhově nejbohatších a nejrozšířenějších rodů a vyskytuje se v 7 oblastech. Jeho zatím formálně popsaná druhová diverzita obsahuje 12 druhů na Sundách, 5 druhů na Filipínách, 1 druh na Sulawesi, 4 druhy na Molukách, 18 druhů na Nové Guinei, 1 druh v Austrálii a 3 druhy byly hlášeny z ostrova Kei, Wetar a Timor. Druhové zastoupení v aktuálním souboru, obsahuje vzorky z oblasti Sund (7 druhů), Filipín (2 druhy) a Moluk (1 druh). Ostrovy Kei, Wetar a Timor nemají druhového zástupce v analýze. K navýšení počtu druhů došlo na Sulawesi (2 druhy), Nové Guinei (39 druhů) a Austrálii (7 druhů). Z tohoto výčtu je zřejmé, že mnoho druhů v aktuálně analyzovaném souboru dosud nebylo formálně popsáno.

Rod *Schizotrichalus* čítá jediný druh s endemickým výskytem na Nové Guinei a jedním nově zaznamenaným druhem na Molukách.

U početného rodu *Trichalus* je geograficky zařazeno a dosud popsáno 5 druhů na Sundách, 1 druh na Molukách, 2 druhy z ostrova Kei, Wetar a Timor, 20 druhů na Nové Guinei a 28 druhů v Austrálii. Nový datový soubor obsahoval vzorky druhů pouze ze Sund (1 druh), Nové Guinei (7 druhů) a Austrálie (4 druhy). Vzhledem k problematické delimitaci tohoto rodu je nutné vyřešení taxonomie předtím, než bude možné podrobně studovat jeho zoogeografii. Ukazuje se, že problémem v tomto případě je získání vzorků australské fauny, která dosud obsahuje největší zastoupení tohoto rodu.

Experimentální část této práce sekvenováním mtDNA odhalila odlišné počty druhů jmenovaných trichaliniích rodů od dat získaných poslední analýzou a to nově: 30 druhů rodu *Diatrichalus*, 25 druhů *Eniclases*, 20 druhů *Flabellotrichalus*, 5 druhů

Lobatang, 58 druhů *Microtrichalus*, u rodu *Trichalus* 12 druhů a 1 druh rodu *Schizotrichalus*. Analýza přinesla upřesnění informací o diverzitě a geografickém rozšíření rodů, jak je uvedeno v Tabulce 6.

Tabulka 6: Seznam trichaliních rodů s počty dosud formálně popsáných druhů (první hodnota) a počet druhů zařazených do datové matice (druhá hodnota) v oblastech sběru vzorků: Sun-Sundy a Indo-Barma, Phi-Filipíny, Sul-Sulawesi, Mol-Moluky, Kei-ostrovy Kei, Wetar a Timor, NG-Nová Guinea, Sol-Šalamounovy ostrovy, Aus-Austrálie. Vzorky ze Šalamounových ostrovů jsou ve výsledcích a následující diskuzi zahrnuty k Nové Guinei.

Rod	Všechny oblasti	Sun	Phi	Sul	Mol	Kei	NG	Sol	Aus
<i>Diatrachelus</i>	50 30	1 4	5 2	1 1	3 3	0 0	34 15	3 2	3 3
<i>Eniclases</i>	36 25	0 0	0 0	0 0	1 2	0 0	35 23	0 0	0 0
<i>Flabellotrachelus</i>	17 20	0 0	0 0	0 0	4 10	0 0	8 9	2 0	3 1
<i>Lobatang</i>	6 5	0 0	1 0	1 0	1 1	0 0	3 3	0 0	0 1
<i>Microtrachelus</i>	42 58	12 7	5 2	1 2	4 1	3 0	15 38	3 1	1 7
<i>Schizotrachelus</i>	1 1	0 0	0 0	0 0	0 1	0 0	1 0	0 0	0 0
<i>Trichalus</i>	65 12	5 1	0 0	0 0	1 0	2 0	18 7	2 0	28 4
Druhy popsané sekvenované	217 151	18 12	11 4	3 3	14 18	5 0	114 95	10 3	35 16

Nejvyšší nárůst diverzity se mi podařilo prokázat pro rody *Flabellotrachelus* a *Eniclases*. U těchto rodů došlo k velkému nárůstu počtu druhů oproti datům, která byla publikovaná v práci Bocka a Bocaka (2019) viz Tabulka 7. Navýšení počtu druhů je možno připsat k objevům druhů, jež dosud nebyly taxonomicky popsány, protože se jedná o navýšení nad rámec počtu druhů uváděných z daných oblastí v literatuře (Kleine, 1933; Masek a kol. 2018).

Tabulka 7: Seznam trichaliních rodů s počty dosud formálně popsaných druhů (první hodnota) a počet druhů sekvenované datové matice podle Bocka a Bocaka (2019), (druhá hodnota) v oblastech sběru vzorků: Sun-Sundy a Indo-Barma, Phi-Filipíny, Sul-Sulawesi, Mol-Moluky, Kei-ostrovy Kei, Wetar a Timor, NG-Nová Guinea, Sol-Šalamounovy ostrovy, Aus-Austrálie.

Rod	Všechny oblasti	Sun	Phi	Sul	Mol	Kei	NG	Sol	Aus
<i>Diatrichalus</i>	50 27	1 4	5 2	1 1	3 3	0 0	34 14	3 0	3 3
<i>Eniclases</i>	36 14	0 0	0 0	0 0	1 0	0 0	35 14	0 0	0 0
<i>Flabellotrichalus</i>	17 10	0 0	0 0	0 0	4 0	0 0	8 9	2 0	3 1
<i>Lobatang</i>	6 5	0 0	1 0	1 0	1 4	0 0	3 3	0 0	0 1
<i>Microtrichalus</i>	42 54	12 14	5 3	1 2	4 0	3 0	15 27	3 1	1 7
<i>Schizotrichalus</i>	1 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	1 0	0 0	0 0
<i>Trichalus</i>	65 15	5 1	0 0	0 0	1 0	2 0	18 10	2 0	28 4
Druhy popsané sekvenované	217 125	18 19	11 5	3 3	14 7	5 0	114 77	10 1	35 16

Protože cílem práce není formálně popsat jednotlivé nově sekvenované druhy, není možné v mnoha případech určit identitu zde sekvenovaných druhů a je možné poskytnout pouze celkový obraz o diverzitě skupiny v jednotlivých oblastech a rodech.

Analýza datového souboru této studie a následné morfologické pozorování odhalily přítomnost rodu *Schizotrichalus* v molekulární matici a je tak poprvé známá sekvence fragmentu mitochondriálního genu *cox1* pro daný rod, který byl dříve znám pouze z Nové Guiney a nyní byl zjištěn také na Molukách. Právě nové vzorky z Moluk přinesly informace o vysoké diverzitě ve sledovaných rodech. Rod *Flabellotrichalus* obsahuje minimálně 6 nových druhů. Geografický původ 10 z 12 druhů identifikovaných sekvenační analýzou je Halmahera, severní část Moluckého ostrova. Další oblastí, která zaznamenala nárůst diverzity, je Nová Guinea, konkrétně v rodech *Eniclases* a *Microtrichalus*. Nová datová matice obsahuje 151 druhů trichaliních rodů oproti předešlé analýze čítající 125 druhů z dosud 217 popsaných druhů. Z fylogenetické analýzy rodu *Trichalus* je patrné, že na základě molekulárních dat a zjištěné nízké bootstrapové podpory (BS 53 %) větví fylogramu dochází k roztržení rodu na dvě parafyletické linie a monofylii tohoto rodu je nutno v budoucnu potvrdit, nebo definitivně vyvrátit.

6.3 Identifikace ancestrálního území a určení hypotetických směrů disperze a kolonizace

Geograficky nejvíce druhů trichaliních rodů je lokalizováno na Nové Guinei (114 druhů), 10 druhů na Šalamounových ostrovech, které jsou v analýze přiřazeny k Nové Guinei, 35 druhů v Austrálii, 18 a 14 druhů na Sundách a Molukách, 11 a 3 druhy na Filipínách a Sulawesi a 5 druhů bylo dosud popsáno z ostrova Kei, Wetar a Timor. Podstatná část hlubokých štěpení je předpokládána v oblasti Nové Guinei.

Právě Nová Guinea je považována za ancestrální území disperze trichaliních rodů (Bocek a Bocak, 2019). K předpokladu přispívá největší biodiverzita, potvrzená v současné práci (Obrázek 3), i topologie fylogenetického stromu. Na území Nové Guinei bylo nasbíráno, následně molekulárně sekvenováno a fylogeneticky zařazeno všech 7 rodů (trichaliní rody) z terminální linie subtribu Metriorrhynchina. Všechny zmíněné rody jsou na Nové Guinei zastoupeny v relativně vysokém počtu druhů, především pokud jde o rod *Microtrichalus*. Rozšíření rodu *Schizotrichalus* bylo z dřívějších analýz známo pouze na území Nové Guinei. V rámci této práce byly sekvenovány vzorky z Moluk, konkrétně Halmahery, jejichž sekvence mtDNA byly přiřazeny jako zástupci rodu *Schizotrichalus*, což podporuje hypotézu, že Moluky a Nová Guinea byly v minulosti významně propojeny a sdílejí do současnosti velmi vysokou fylogenetickou diverzitu, která je mnohem vyšší, než bylo původně předpokládáno. V současnosti je totiž na Molukách zaznamenán výskyt všech rodů této skupiny podobně jako na Nové Guinei. Tyto druhy jsou někdy v terminální pozici, ale část z nich je hluboko zakořeněných ve fylogenetickém stromu. Severní Moluky byly pravděpodobně součástí západního cípu Nové Guinei a ke vzniku druhu rodu *Schizotrichalus* došlo před rozdělením tohoto území. Území západně od této oblasti se již vyznačuje snižující se diverzitou, jak na úrovni druhů, tak na úrovni rodů.

6.4 Srovnání výsledků morfologické a DNA analýzy s algoritmickou DNA delimitační metodou

Porovnání počtu druhů odhadnutých na základě příbuznosti a morfologie se významně liší od počtu druhů identifikovaných algoritmickou delimitací s použitím metody bPTP (Bayesian implementation of the Poisson Tree Processes). V obou případech se jedná o odhady, které pracují buď s morfologickou informací,

nebo na základě zvolených algoritmů. Ukazuje se, že metoda bPTP má tendenci nadhodnotit počet druhů. Metoda bPTP (ML) určila 175 druhů, což je o 24 druhů (16 %) více než původní fylogenetická analýza korigovaná morfologickým srovnáním (151 druhů). Druhové přiřazení vzorků podle bPTP (ML) je uvedeno v Příloze 2. Rozdíl v počtu zjištěných druhů nijak nezpochybňuje užitečnost jednotlivých metod. Tyto metody umožňují identifikovat problematicky delimitované druhy. Pro srovnání lokalit je přitom podstatné, že odchylka metody je konzistentní na všech lokalitách a analýza umožňuje minimálně relativní srovnání.

7 Závěr

Poznání biodiverzity, která souhrnně reflektuje fylogenetiku, tektonickou historii oblasti a její klimatické podmínky, je základní vědeckou disciplínou dnešního bádání v zoogeografii i ochraně přírody. Studium fylogenetické biodiverzity subtribu Metriorrhynchina, konkrétně jeho terminální linie tzv. trichaliních rodů, bylo předmětem této práce. Právě oblast výskytu studované modelové skupiny je místem s vysokou biodiverzitou, které tropické oblasti představují, a jsou vhodné pro studium evoluční radiace zde žijících organismů a jejich rozdělení na taxony.

Je složité hodnotit druhy pouze jednou metodou, vhodné je použití více metod založených na různých kritériích (Mallet, 1995). Proto byla pro fylogenetickou analýzu a delimitační metody použita morfologická analýza v kombinaci s molekulární, kde můžeme zhodnotit, jak různá primární molekulární data poskytují informaci vzhledem k fenotypu. Přesto se molekulární analýza, zejména barcoding a fylogenetická analýza, na základě vícero molekulárních markerů dostává do popředí před studium morfologie. Morfologická analýza je základní taxonomickou metodou často aplikovanou pro svou rychlost a laboratorní nenáročnost, ale sledované znaky často neposkytují informace o taxonomické příbuznosti vzniklé působením stejných evolučních tlaků. Pro identifikaci paralelní morfologické evoluce je tedy nutné použít i další nezávislý zdroj dat, v tomto případě DNA sekvence.

Ve sledované přechodné australsko-orientální oblasti byla fylogenetickou analýzou vyhodnocena biodiverzita subtribu Metriorrhynchina, konkrétně terminální linie trichaliních rodů: *Diatrichalus*, *Eniclases*, *Flabellotrichalus*, *Lobatang*, *Microtrichalus*, *Schizotrichalus* a *Trichalus*. Rozšíření jednotlivých druhů na pozadí tektonické historie studované oblasti určuje jako ancestrální území severní okraj australské pevninské desky, specificky Novou Guineu a biologicky propojené další ostrovy a identifikuje dominantní směry disperze a kolonizace.

8 Literatura

Abdurachman M., Widiyantoro S., Priadi B., Ismail T. (2018): Geochemistry and Structure of Krakatoa Volcano in the Sunda Strait, Indonesia. *Geosciences* 8: 111.

Alvarez L. W., Alvarez W., Asaro F., Michel H. V. (1980): Extraterrestrial Cause for the Cretaceous-Tertiary Extinction. *Science* 208: 1095–1108.

Austerlitz F., David O., Schaeffer B., Bleakley K., Olteanu M., Leblois R., Veuille M., Laredo C. (2009): DNA barcode analysis: a comparison of phylogenetic and statistical classification methods. *BMC Bioinformatics* 10: S10.

Bacon C. D., Michonneau F., Henderson A. J., McKenna M. J., Milroy A. M., Simmons M. P. (2013): Geographic and taxonomic disparities in species diversity: dispersal and diversification rates across Wallace's Line. *Evolution* 67: 2058–2071.

Balke M., Ribera I., Hendrich L., Miller M. A., Sagata K., Posman A., Vogler A. P., Meier R. (2009): New Guinea highland origin of a widespread arthropod supertramp. *Proceeding of the Royal Society Biological Sciences B* 276: 2359–2367.

Barnosky A. D., Matzke N., Tomiya S., Wogan G. O. U., Swartz B., Quental T. B., Marshall C., McGuire J. L., Lindsey E. L., Maguire K. C., Mersey b., Ferrer E. A. (2011): Has the Earth's sixth mass extinction already arrived? *Nature* 471: 51–57.

Bergsten J., Bilton D. T., Fujisawa T., Elliott M., Monaghan M. T., Balke M., Hendrich L., Geijer J., Herrmann J., Foster G. N., Ribera I., Nilsson A. N., Barraclough T. G., Vogler A. P. (2012): The Effect of Geographical Scale of Sampling on DNA Barcoding. *Systematic Biology* 61: 851–869.

Beutel R. G., Bocak L., Bocakova M. (2007): Are Polyphaga (Coleoptera) really a basal neopteran lineage - a reply to Kazantsev. *Acta Zoologica* 88: 153–158.

Bocak L. (1998): A revision of the genus *Microtrichalus* from the Philippines (Coleoptera: Lycidae). *European Journal of Entomology* 95: 417–428.

Bocak L. (2000): A revision of genus *Diatrichalus* Kleine from the Philippines (Coleoptera: Lycidae). *Raffles Bulletin of Zoology* 48: 11–16.

Bocak L. (2001): A revision of the genus *Diatrichalus* Kleine from New Guinea (Coleoptera: Lycidae). *Stuttgarter Bei-träge für Naturkunde* 622: 1–32.

Bocak L. (2002): Generic revision and phylogenetic analysis of the *Metriorrhynchinae* (Coleoptera: Lycidae). *European Journal of Entomology* 99: 315–351.

Bocak L., Bocakova M. (2008): Phylogeny and classification of the family Lycidae (Insecta: Coleoptera). *Annales Zoologici* 58: 695–720.

Bocak L., Yagi T. (2010): Evolution of mimicry patterns in *Metriorrhynchus* (Coleoptera: Lycidae): the history of dispersal and speciation in South East Asia. *Evolution* 64: 39–52.

Bocek M., Bocak L. (2016): Species limits in polymorphic mimetic *Eniclases* net-winged beetles from New Guinean mountains (Coleoptera, Lycidae). *ZooKeys* 593:15–35.

Bocek M. (2017): New species of *Diatrichalus* (Coleoptera: Lycidae) from New Guinea and the Moluccas. *Zootaxa* 4247: 577–584.

Bocek M., Bocak L. (2017): The comparison of molecular and morphology-based phylogenies of trichaline net-winged beetles (Coleoptera: Lycidae: *Metriorrhynchini*) with description of a new subgenus. *PeerJ* 5: e3963.

Bocek M., Bocak L. (2019): The origins and dispersal history of the trichaline net-winged beetles in Southeast Asia, Wallacea, New Guinea and Australia. *Zoological Journal of the Linnean Society* 20: 1–16.

BOLDSYSTEMS. [online] [navštíveno 17.3.2019] Dostupné z http://boldsystems.org/index.php/Taxbrowser_Taxonpage?searchMenu=taxonomy&query=lycidae&taxon=lycidae

Clouse R. M., Giribet G. (2007): Across Lydekker's Line – first report of mite harvestmen (Opiliones: Cyphophthalmi: Stylocellidae) from New Guinea. *Invertebrate Systematics* 21: 207–227.

de Bruyn M., Wilson J. A., Mather P. B. (2004): Huxley's line demarcates extensive genetic divergence between eastern and western forms of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 30: 251–257.

de Carvalho M. R., Bockmann F. A., Amorim D. S., Brandao C. R. F., de Vivo M., de Figueiredo J. L., Britski H. A., de Pinna M. C. C., Menezes N. A., Marques F. P. L., Papavero N., Cancellato E. M., Crisci J. V., McEachran J. D., Schelly R. C., Lundberg J. G., Gill A. C., Britz R., Wheeler Q. D., Stiassny M. L. J., Parenti L. R., Page L. M., Wheeler W. C., Faivovich J., Vari R. P., Grande L., Humphries C. J., DeSalle R., Ebach M. C., Nelson G. J. (2007): Taxonomic impediment or impediment to taxonomy? A commentary on systematics and the cybertaxonomic-automation paradigm. *Evolutionary Biology* 34: 140–143.

Dvorak M., Bocak L. (2007): *Sulabanus* gen. nov., a new genus of Lycidae (Coleoptera) from Sulawesi. *Zootaxa* 1611: 1–24.

Esselstyn J. A., Oliveros C. H., Moyle R. G., Peterson A. T., McGuire J. A., Brown R. M. (2010): Integrating phylogenetic and taxonomic evidence illuminates complex biogeographic patterns along Huxley's modification of Wallace's Line. *Journal of Biogeography* 37: 2054–2066.

Goldstein P. Z., DeSalle R. (2011): Integrating DNA barcode data and taxonomic practice: Determination, discovery, and description. *Bioessays* 33: 135–147.

Hajibabaei M., Singer G. A. C., Hebert P. D. N., Hickey D. A. (2007): DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *Trends in Genetics* 23: 167–172.

Hall R. (2002): Cenozoic geological and plate tectonic evolution of SE Asia and the SW Pacific: computer-based reconstructions, model and animations. *Journal of Asian Earth Sciences* 20: 353–431.

Hall R. (2009): Indonesia, Geology. In: Gillespie R. G. & Clague D. A. (eds.): *Encyclopedia of Islands*, pp. 454–460, University of California Press, California.

Hall R. (2012): Late Jurassic-Cenozoic reconstructions of the Indonesian region and the Indian Ocean. *Tectonophysics* 570: 1–41.

Hebert P. D. N., Cywinska A., Ball S. L., DeWaard J. R. (2003a): Biological identifications through DNA barcodes. *Proceeding of the Royal Society Biological Sciences B* 270: 313–321.

Hebert P. D. N., Ratnasingham S., deWaard J. R. (2003b): Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceeding of the Royal Society Biological Sciences B* 270: S96–S99.

Hendrich L., Moriniere J., Haszprunar G., Hebert P. D. N., Hausmann A., Kohler F., Balke M. (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.

Kalyaanamoorthy S., Minh B. Q., Wong T. K. F., von Haeseler A., Jermini L. S. (2017): ModelFinder: Fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature Methods* 14: 587–589.

Kapan D. (2001): Three-butterfly system provides a field test of mullerian mimicry. *Nature* 409: 338–340.

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.

Kearse M., Moir R., Wilson A., Stones-Havas S., Cheung M., Sturrock S., Buxton S., Cooper A., Markowitz S., Duran C., Thierer T., Ashton B., Mentjies P., Drummond A. (2012): Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28: 1647–1649.

Kleine R. (1933): *Coleopterorum Catalogus auspiciis et auxilio W. Junk editus S. Schenkling. Pars 128: Lycidae.* W. Junk, Berlin.

Kück P., Meusemann K. (2010): FASconCAT: Convenient handling of data matrices. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 56: 1115–1118.

Kusy D., Sklenarova K., Bocak L. (2018): The effectiveness of DNA-based delimitation in *Synchonnus* net-winged beetles (Coleoptera: Lycidae) assessed, and description of 11 new species. *Austral Entomology* 57: 25–39.

Li Y., Gunter N., Pang H., Bocak L. 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.

Mallet J. (1995): A species definition for the modern synthesis. *Trends in Ecology & Evolution* 10: 294–299.

Masek M., Motyka M., Kusy D., Bocek M., Li Y., Bocak L. (2018): Molecular Phylogeny, Diversity and Zoogeography of Net-Winged Beetles (Coleoptera: Lycidae). *Insects* 9: 154.

Mayr E. (1942): *Systematics and the Origin of Species.* Columbia University Press, New York.

Miller S. E., Hausmann A., Hallwachs W., Janzen D. H. (2016): Advancing taxonomy and bioinventories with DNA barcodes. *Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Sciences B* 371: 20150339.

Monaghan M. T., Balke M., Gregory T. R., Vogler A. P. (2005): DNA-based species delineation in tropical beetles using mitochondrial and nuclear markers. *Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Sciences B* 360: 1925–1933.

Müller F. (1879): "Ituna and Thyridia; a remarkable case of mimicry in butterflies. (R. Meldola translation)". *Proclamations of the Entomological Society of London 1879*: 20–29.

Myers N., Mittermeier R. A., Mittermeier C. G., da Fonseca G. A. B., Kent J. (2000): Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853–858.

Nguyen L.-T., Schmidt H. A., von Haeseler A., Minh B. Q. (2015): IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum likelihood phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 32: 268–274.

Percy D. M. (2009): Insect Radiations. In: Gillespie R. G. & Clague D. A. (eds.): *Encyclopedia of Islands*, pp. 460–466, University of California Press, California.

Pimm S. L., Russell G. J., Gittleman J. L., Brooks T. M. (1995): The Future of Biodiversity. *Science* 269: 347–350.

Ratnasingham S., Hebert P. D. N. (2007): BOLD: The Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). *Molecular Ecology Notes* 7: 355–364.

Riedel A., Daawia D., Balke M. (2010): Deep *cox1* divergence and hyperdiversity of *Trigonopterus* weevils in a New Guinea mountain range (Coleoptera, Curculionidae). *Zoologica Scripta* 39: 63–74.

Riedel A., Sagata K., Surbakti S., Tanzler R., Balke M. (2013): One hundred and one new species of *Trigonopterus* weevils from New Guinea. *ZooKeys* 280: 1–150.

Salinas J. M. O., Castillo-Ceron J. M., Manriquez-Moran N., Goyenechea I., Casagrande M. D. (2019): Endemism of lizards in the Chihuahuan Desert province: An approach based on endemism analysis. *Journal of Arid Environments* 163: 9–17.

Savolainen V., Cowan R. S., Vogler A. P., Roderick G. K., Lane R. (2005): Towards writing the encyclopaedia of life: an introduction to DNA barcoding. *Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Sciences B* 360: 1805–1811.

Sclater P. L. (1858): On the general Geographical Distribution of the Members of the Class Aves. *Zoological Journal of the Linnean Society* 2: 130–136.

Simmons L. W. (2014): Sexual selection and genital evolution. *Austral Entomology* 53: 1–17.

Sklenarova K., Chesters D., Bocak L. (2013): Phylogeography of Poorly Dispersing Net-Winged Beetles: A Role of Drifting India in the Origin of Afrotropical and Oriental Fauna. *PLoS ONE* 8: e67957.

Sklenarova K., Kubecek V., Bocak L. (2014): Subtribal classification of Metriorrhynchini (Insecta: Coleoptera: Lycidae): an integrative approach using molecular phylogeny and morphology of adults and larvae. *Arthropod Systematics & Phylogeny* 72: 37–54.

Smith M. A., Fisher B. L., Hebert P. D. N. (2005): DNA barcoding for effective biodiversity assessment of a hyperdiverse arthropod group: the ants of Madagascar. *Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Sciences B* 360: 1825–1834.

Sun Y. J., Cai Y. P., Huse S. M., Knight R., Farmerie W. G., Wang X. Y., Mai V. (2012): A large-scale benchmark study of existing algorithms for taxonomy-independent microbial community analysis. *Briefings in Bioinformatics* 13: 107–121.

Tanzler R., Van Dam M. H., Toussaint E. F. A., Suhardjono Y. R., Balke M., Riedel A. (2016) Macroevolution of hyperdiverse flightless beetles reflects the complex geological history of the Sunda Arc. *Scientific Reports* 6: 18793.

Thompson J. D., Gibson T. J., Plewniak F., Jeanmougin F., Higgins D. (1997): The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* 25: 4876–4882.

Toussaint E. F. A., Hendrich L., Hajek J., Michat M. C., Panjaitan R., Short A. E. Z., Balke M. (2017): Evolution of Pacific Rim diving beetles sheds light on Amphi-Pacific biogeography. *Ecography* 40: 500–510.

Toussaint E. F. A., Moriniere J., Lam A., Turlin B., Balke M. (2016): Bayesian Poisson tree processes and multispecies coalescent models shed new light on the diversification of Nawab butterflies in the Solomon Islands (Nymphalidae, Charaxinae, Polyura). *Zoological Journal of the Linnean Society* 178: 241–256.

Toussaint E. F. A., Tanzler R., Rahmadi C., Balke M., Riedel A. (2015): Biogeography of Australasian flightless weevils (Curculionidae, Celeuthetini) suggests permeability of Lydekker's and Wallace's Lines. *Zoologica Scripta* 44: 632–644.

Van Welzen P. C., Parnell J. A. N., Slik J. W. F. (2011): Wallace's Line and plant distributions: two or three phytogeographical areas and where to group Java? *Biological Journal of the Linnean Society* 103: 531–545.

Voris H. K. (2000): Maps of Pleistocene sea levels in Southeast Asia: shorelines, river systems and time durations. *Journal of Biogeography* 27: 1153–1167.

Wallace A. R. (1860): On the zoological geography of the Malay archipelago. *Journal of the Linnean Society* 16: 172–184.

Wheeler Q. D. (2004): Taxonomic triage and the poverty of phylogeny. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series Biological Sciences B* 359: 571–583.

Wiens J. J. (2003): Missing data, incomplete taxa, and phylogenetic accuracy. *Systematic Biology* 52: 528–538.

Wilson E. O. (2003): The encyclopedia of life. *Trends in Ecology & Evolution* 18: 77–80.

Wirakusumah A. D., Rachmat H. (2017): Impact of the 1815 Tambora Eruption to global climate change. *2nd Transdisciplinary Research on Environmental Problems in Southeast Asia* 71: 012007.

Worldwide climat [online] [navštíveno 24. 3. 19] dostupné z: <http://www.worldclimate.com>

Zhang J., Kapli P., Pavlidis P., Stamatakis A. (2013): A General Species Delimitation Method with Applications to Phylogenetic Placements. *Bioinformatics* 29: 2869–2876.

Zhang S. K., Shu J. P., Wang Y. D., Liu Y. N., Peng H., Zhang W., Wang H. J. (2019): The complete mitochondrial genomes of two sibling species of camellia weevils (Coleoptera: Curculionidae) and patterns of Curculionini speciation. *Scientific Reports* 9: 3412.

9 Přílohy

Příloha 1: Seznam materiálu pro sestavení datové matice.

Číslo vzorku	Lokalita	Označení na stromě
009	Indonesia, Sumatra, Danau Ranau	009Metriorrhynchus_MAL
011	Indonesia, SAulawesi, Tenggara, Sabbang	011Metriorrhynchus_Sul
017	Indonesia, Sulawesi, Tenggara, Pendolo	017Metriorrhynchus_Sul
088	Malaysia, Pahang, Tanah Rata	088Cautires
131	Indonesia, West Sumatra, Mt. Merapi	131Diatrichalus
199	Indonesia, West Sulawesi, 25 km E Mamasa	199Microtrichalus_Sul
206	Indonesia, Sumatra, Jambi, Gn. Tujuh	206Cautires
262	Indonesia, Borneo, Tenggara, Muara Teweh	262Cautires_Borneo
342	Indonesia, Borneo, Selatan, Loksado	342Cautires_Borneo
373	Australia, Queensland, Mt. Molloy	373Microtrichalus_aus
374	Australia, Queensland, Mt. Molloy	374Metriorrhynchus_aus
375	Australia, Queensland, Mt. Molloy	375Microtrichalus_aus
376	Australia, Queensland, Mt. Molloy	376Microtrichalus_aus
408	Philippines, Mimaropa, Palawan	408Diatrichalus
412	Philippines, Mimaropa, Palawan	412Microtrichalus_PHI
419	Philippines, Mimaropa, Palawan	419Leptotrichalus_Pal
A032	Australia, Queensland, Lamington	A032Trichalus_aus
A035	Australia, Queensland, Lamington	A035Porrostoma_QLD
A037	Australia, Queensland, Lamington	A037Porrostoma_aus
A040	Australia, Queensland, Lamington	A040Porrostoma_aus
A043	Australia, Queensland, Lamington	A043Metriorrhynchus_aus
A044	Australia, Queensland, Lamington	A044Porrostoma_QLD
A049	Malaysia, Johor, Kota Tinggi	A049Metriorrhynchus_MAL
A055	Philippines, Sibuyan Isl., San Fernando	A055Diatrichalus_PHI
A056	Philippines, Sibuyan Isl., San Fernando	A056Diatrichalus_PHI
A068	Philippines, Mindanao, Bagongsilang	A068Microtrichalus_PHI
A069	Philippines, Mindanao, Bagongsilang	A069Microtrichalus_PHI
A073	Philippines, Mindanao, Bagongsilang	A073Microtrichalus_PHI
A125	Papua-NG, New Guinea, Crater Mt., Haia, Supa	A125Flabellotrichalus_NG
A131	Papua-NG, New Guinea, Goroka, Mt.Gahavisuka	A131Diatrichalus_NG
A133	Papua-NG, New Guinea, Goroka, Mt.Gahavisuka	A133Diatrichalus_NG
A139	Papua-NG, New Guinea, Goroka, Mt.Gahavisuka	A139Microtrichalus_NG
A149	Papua-NG, New Guinea, Pt. Moresby, Berogoro	A0149FlabellotrichalusNG
A156	Papua-NG, New Guinea, Goroka, Mt.Gahavisuka	A156Diatrichalus_NG
A162	Papua-NG, New Guinea, Crater Mt., Haia, Supa	A162Flabellotrichalus_NG
A169	Papua-NG, New Guinea, Crater Mt., Haia, Supa	A169Flabellotrichalus_NG
A170	Papua-NG, New Guinea, Crater Mt., Haia, Supa	A170Flabellotrichalus_NG
A172	Papua-NG, New Guinea, Crater Mt., Haia, Supa	A00172FlabellotrichalusNG
A180	Papua-NG, New Guinea, Pindiu, Mongi-gorge	A00180FlabellotrichalusNG
A184	Papua-NG, New Guinea, Mindik	A184Diatrichalus_NG
A1904	SOLOMON Isls, Guadalcanal, 09°29.8'S 159°59.5'E, 190 m	A01904_SOLOMONS
A1905	SOLOMON Isls, Guadalcanal, 09°29.8'S 159°59.5'E, 190 m	A1905
A1906	SOLOMON Isls, Guadalcanal, 09°29.8'S 159°59.5'E, 190 m	A1906
A1907	SOLOMON Isls, Guadalcanal, 09°29.8'S 159°59.5'E, 190 m	A1907
A1908	SOLOMON Isls, Guadalcanal, 09°29.8'S 159°59.5'E, 190 m	A01908_SOLOMONS
A1909	SOLOMON Isls, Guadalcanal, 09°29.8'S 159°59.5'E, 190 m	A01909_SOLOMONS
A1911	SOLOMON Isls, Guadalcanal, 09°29.8'S 159°59.5'E, 190 m	A01911_SOLOMONS
A1912	SOLOMON Isls, Guadalcanal, 09°29.8'S 159°59.5'E, 190 m	A01912_SOLOMONS
A1913	SOLOMON Isls, Guadalcanal, 09°29.8'S 159°59.5'E, 190 m	A01913_SOLOMONS
A1914	SOLOMON Isls, Guadalcanal, 09°29.8'S 159°59.5'E, 190 m	A01914_SOLOMONS
A1915	SOLOMON Isls, Guadalcanal, 09°29.8'S 159°59.5'E, 190 m	A01915_SOLOMONS
A1917	SOLOMON Isls, Guadalcanal, 09°28 0'S 159°58.4'E, 280 m	A01917_SOLOMONS
A1918	SOLOMON Isls, Guadalcanal, 09°28 0'S 159°58.4'E, 280 m	A01918_SOLOMONS
A1919	SOLOMON Isls, Guadalcanal, 09°28 0'S 159°58.4'E, 280 m	A01919_SOLOMONS
A1920	SOLOMON Isls, Guadalcanal, 09°28 0'S 159°58.4'E, 280 m	A01920_SOLOMONS
A1921	SOLOMON Isls, Guadalcanal, 09°28 0'S 159°58.4'E, 280 m	A01921_SOLOMONS
A1922	Indonesia, Halmahera, 127-141m, N00°27.200' E127°53.148'	A01922_Halmahera
A1923	Indonesia,Halmahera, 127-141m, N00°27.200' E127°53.148'	A01923_Halmahera
A1925	Indonesia, Halmahera, N00°19.000' E127°46.900', 281- 458m	A01925_Halmahera
A1927	Indonesia, Buli, N01°01.500' E128°17.600', 201- 565m	A01927_Buli
A1928	Indonesia, Buli, N01°01.500' E128°17.600', 201- 565m	A01928_Buli

Pokračování Přílohy 1: Seznam materiálu pro sestavení datové matice.

Číslo vzorku	Lokalita	Označení na stromě
A1929	Indonesia, Buli, N01°01.500' E128°17.600', 201- 565m	A01929_Buli
A192	Australia, Queensland, Duintrea	A192Microtrichalus_aus
A1930	Indonesia, Sidangoli, 123-174m, N00°56.100' E127°34.200'	A1930
A1938	Indonesia,S.Sulawesi, S02°55.100' E119°40.250', 1800-2000m	A01938_Bittuang
A1942	Indonesia,S.Sulawesi, S05°23.545' E119°55.517',1750-1850m	A01942_Gn_Lompobattang
A1944	Indonesia,S.Sulawesi, S02°49.660' E119°48.400',1958-2173m	A01944_Tanah_Toraja
A194	Australia, Queensland, Duintrea	A194Microtrichalus_aus
A195	Australia, Queensland, Duintrea	A195Microtrichalus_aus
A206	Australia, Queensland, Chilverton	A206Microtrichalus_aus
A208	Australia, Queensland, Chilverton	A208Diatrichalus_aus
A210	Australia, Queensland, Chilverton	A210Microtrichalus_aus
A211	Australia, Queensland, Chilverton	A211Flabellotrichalus_aus
A212	Australia, Queensland, Chilverton	A212Microtrichalus_aus
A214	Australia, Queensland, Chilverton	A214Microtrichalus_aus
A217	Australia, Queensland, Lamington	A217Metriorrhynchus_QLD
A2181	Indonesia, Maluku, E Buru Is., ILATH env., Remaja Mt., 200 m	A2181
A2182	Indonesia, Maluku, E Buru Is., ILATH env., Remaja Mt., 200 m	A2182
A229	Australia, Queensland, Chilverton	A229Microtrichalus_aus
A232	Australia, Queensland, Chilverton	A232Microtrichalus_aus
A2336	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02336_Halmahera
A2337	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02337_Halmahera
A2344	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02344_Halmahera
A2345	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02345_Halmahera
A2352	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02352_Halmahera
A2353	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02353_Halmahera
A2359	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02359_Halmahera
A235	Australia, Queensland, Chilverton	A235Microtrichalus_aus
A2360	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02360_Halmahera
A2361	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02361_Halmahera
A2367	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02367_Halmahera
A2368	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02368_Halmahera
A2372	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02372_Halmahera
A2376	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02376_Halmahera
A237	Australia, Queensland, Chilverton	A237Diatrichalus_aus
A2381	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02381_Halmahera
A2383	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02383_Halmahera
A2385	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02385_Halmahera
A2388	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02388_Halmahera
A238	Australia, Queensland, Chilverton	A238Microtrichalus_aus
A2391	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02391_Halmahera
A2392	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02392_Halmahera
A2393	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02393_Halmahera
A2395	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02395_Halmahera
A2396	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02396_Halmahera
A2397	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02397_Halmahera
A2398	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02398_Halmahera
A2399	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02399_Halmahera
A239	Australia, Queensland, Chilverton	A239Microtrichalus_aus
A2400	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02400_Halmahera
A2401	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02401_Halmahera
A2402	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02402_Halmahera
A2403	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02403_Halmahera
A2404	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02404_Halmahera
A2405	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02405_Halmahera
A2411	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02411_Halmahera
A2412	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02412_Halmahera
A2413	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02413_Halmahera
A241	Australia, Queensland, Chilverton	A241Microtrichalus_aus
A2421	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02421_Halmahera
A2422	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02422_Halmahera
A2424	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02424_Halmahera
A2425	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02425_Halmahera
A2426	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02426_Halmahera
A2427	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02427_Halmahera

Pokračování Přílohy 1: Seznam materiálu pro sestavení datové matice.

Číslo vzorku	Lokalita	Označení na stromě
A2428	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02428_Halmahera
A2429	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02429_Halmahera
A242	Australia, Queensland, Chilverton	A242Microtrichalus_aus
A2430	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02430_Halmahera
A2431	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02431_Halmahera
A2432	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02432_Halmahera
A2433	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02433_Halmahera
A2434	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02434_Halmahera
A2435	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02435_Halmahera
A2436	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02436_Halmahera
A2437	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02437_Halmahera
A2438	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02438_Halmahera
A2439	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02439_Halmahera
A243	Australia, Queensland, Chilverton	A243Microtrichalus_aus
A2440	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02440_Halmahera
A2441	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02441_Halmahera
A2442	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02442_Halmahera
A2443	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02443_Halmahera
A2444	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02444_Halmahera
A2445	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02445_Halmahera
A2446	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A2446
A2447	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02447_Halmahera
A2448	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02448_Halmahera
A2449	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02449_Halmahera
A2450	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02450_Halmahera
A2451	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02451_Halmahera
A2452	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02452_Halmahera
A2453	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02453_Halmahera
A2454	Indonesia,Halmahera, 190 m, 0°19.58'N, 127°49.68'E	A02454_Halmahera
A2455	Indonesia,Halmahera, 460 m, 1°4.54'N, 127°26.85'E	A02455_Halmahera
A2457	Indonesia,Halmahera, 460 m, 1°4.54'N, 127°26.85'E	A2457
A2458	Indonesia,Halmahera, 460 m, 1°4.54'N, 127°26.85'E	A02458_Halmahera
A2459	Indonesia,Halmahera, 460 m, 1°4.54'N, 127°26.85'E	A02459_Halmahera
A2460	Indonesia,Halmahera, 460 m, 1°4.54'N, 127°26.85'E	A02460_Halmahera
A2461	Indonesia,Halmahera, 460 m, 1°4.54'N, 127°26.85'E	A02461_Halmahera
A2462	Indonesia,Halmahera, 460 m, 1°4.54'N, 127°26.85'E	A02462_Halmahera
A2463	Indonesia,Halmahera, 460 m, 1°4.54'N, 127°26.85'E	A02463_Halmahera
A2464	Indonesia,Halmahera, 460 m, 1°4.54'N, 127°26.85'E	A02464_Halmahera
A2465	Indonesia,Halmahera, 460 m, 1°4.54'N, 127°26.85'E	A02465_Halmahera
A2466	Indonesia,Halmahera, 460 m, 1°4.54'N, 127°26.85'E	A02466_Halmahera
A2467	Indonesia,Halmahera, 460 m, 1°4.54'N, 127°26.85'E	A02467_Halmahera
A2468	Indonesia,Halmahera, 460 m, 1°4.54'N, 127°26.85'E	A02468_Halmahera
A2469	Indonesia,Halmahera, 460 m, 1°4.54'N, 127°26.85'E	A02469_Halmahera
A2471	Indonesia,Halmahera, 200m, 1°2.51'N, 128°16.48'E	A02471_Halmahera
A2472	Indonesia,Halmahera, 200m, 1°2.51'N, 128°16.48'E	A02472_Halmahera
A2475	Indonesia,Halmahera, 200m, 1°2.51'N, 128°16.48'E	A02475_Halmahera
A2477	Indonesia,Halmahera, 460 m, 1°4.54'N, 127°26.85'E	A02477_Halmahera
A2483	Indonesia,Halmahera, 460 m, 1°4.54'N, 127°26.85'E	A2483
A2484	Indonesia,Halmahera, 460 m, 1°4.54'N, 127°26.85'E	A2484
A2486	Indonesia,Halmahera, 460 m, 1°4.54'N, 127°26.85'E	A02486_Halmahera
A2487	Indonesia,Halmahera, 460 m, 1°4.54'N, 127°26.85'E	A02487_Halmahera
A2488	Indonesia,Halmahera, 460 m, 1°4.54'N, 127°26.85'E	A02488_Halmahera
A2489	Indonesia,Halmahera, 460 m, 1°4.54'N, 127°26.85'E	A02489_Halmahera
A2490	Indonesia,Halmahera, 460 m, 1°4.54'N, 127°26.85'E	A02490_Halmahera
A2491	Indonesia,Halmahera, 460 m, 1°4.54'N, 127°26.85'E	A02491_Halmahera
A2492	Indonesia,Halmahera, 460 m, 1°4.54'N, 127°26.85'E	A02492_Halmahera
A2493	Indonesia,Halmahera, 460 m, 1°4.54'N, 127°26.85'E	A02493_Halmahera
A2498	Indonesia,Halmahera, 220 m, 1°35.90'N, 127°55.46'E	A02498_Halmahera
A2499	Indonesia,Halmahera, 220 m, 1°35.90'N, 127°55.46'E	A02499_Halmahera
A2507	Indonesia,Halmahera, 130 m, 1°43.20'N, 127°58.78'E	A02507_Halmahera
A2508	Indonesia,Halmahera, 130 m, 1°43.20'N, 127°58.78'E	A02508_Halmahera
A2509	Indonesia,Halmahera, 130 m, 1°43.20'N, 127°58.78'E	A02509_Halmahera
A2510	Indonesia, Sulawesi 1500 m, 0°45.71'N, 124°25.41'E	A02510_Sulawesi_Utara
A2519	Indonesia, Sulawesi 1500 m, 0°45.71'N, 124°25.41'E	A02519_Sulawesi_Utara

Pokračování Přílohy 1: Seznam materiálu pro sestavení datové matice.

Číslo vzorku	Lokalita	Označení na stromě
A251	Australia, Queensland, Lamington	A251GenSpec_QLD
A2522	Indonesia, Sulawesi 1500 m, 0°.45.71'N, 124°.25.41'E	A02522_Sulawesi_Utara
A2527	Indonesia, Sulawesi 1500 m, 0°.45.71'N, 124°.25.41'E	A02527_Sulawesi_Utara
A2528	Indonesia, Sulawesi 1500 m, 0°.45.71'N, 124°.25.41'E	A02528_Sulawesi_Utara
A2529	Indonesia, Sulawesi 1500 m, 0°.45.71'N, 124°.25.41'E	A02529_Sulawesi_Utara
A2530	Indonesia, Sulawesi 1500 m, 0°.45.71'N, 124°.25.41'E	A02530_Sulawesi_Utara
A2533	Indonesia, Sulawesi 1500 m, 0°.45.71'N, 124°.25.41'E	A02533_Sulawesi_Utara
A2534	Indonesia, Sulawesi 1500 m, 0°.45.71'N, 124°.25.41'E	A02534_Sulawesi_Utara
A2535	Indonesia, Sulawesi 1500 m, 0°.45.71'N, 124°.25.41'E	A02535_Sulawesi_Utara
A2569	Indonesia, Sulawesi, 1480 m, 0°.46.86'N, 124°.29.42'E	A02569_Sulawesi_Utara
A2570	Indonesia, Sulawesi, 1480 m, 0°.46.86'N, 124°.29.42'E	A02570_Sulawesi_Utara
A2571	Indonesia, Sulawesi, 1480 m, 0°.46.86'N, 124°.29.42'E	A02571_Sulawesi_Utara
A2572	Indonesia, Sulawesi, 1480 m, 0°.46.86'N, 124°.29.42'E	A02572_Sulawesi_Utara
A2573	Indonesia, Sulawesi, 1480 m, 0°.46.86'N, 124°.29.42'E	A02573_Sulawesi_Utara
A2632	Indonesia, Papua, Bomberay ,60 m, S2°56.28' E132°6.67'	A02632_Bomberay
A266	Australia, Queensland, Lamington	A266Metriorrhynchus_QLD
A267	Solomon Isl., Guadalcanal, Honiara Bot. Gardens	A267Microtrichalus_Sol
A270	Australia, Queensland, East Claudie River	A270Microtrichalus_QLD
A287	Australia, Queensland, Fletcher Creek	A287Trichalus_QLD
A298	Australia, Queensland, Pascoe River	A298Diatrichalus_QLD
A3025	Indonesia, Papua, Senopi 560 m, S0°47.40' E132°54.53'	A03025_NG_Manokwari
A3079	Indonesia, Papua, Senopi 560 m, S0°47.40' E132°54.53'	A03079_NG_Manokwari
A3085	Indonesia, Papua, Senopi 560 m, S0°47.40' E132°54.53'	A03085_NG_Manokwari
A308	Australia, Queensland, Polly Creek	A308Diatrichalus_QLD
A311	Australia, Queensland, Bunya Mts.	A311Metriorrhynchus_QLD
A312	Australia, Queensland, Tinaroo Waters	A312Trichalus_QLD
A314	Australia, Queensland, Pascoe River	A314Microtrichalus_QLD
A315	Australia, Queensland, Pascoe River	A315Microtrichalus_QLD
A316	Australia, Queensland, Pascoe River	A316Microtrichalus_QLD
A320	Australia, Queensland, Fletcher Creek	A320Trichalus_QLD
A336	Australia, Queensland, Polly Creek	A336Trichalus_QLD
A337	Australia, Queensland, Polly Creek	A337Diatrichalus_QLD
A342	Australia, Queensland, 25 km W of Mt. Garnet	A342Trichalus_QLD
A3486	Indonesia, Papua, Bomberay, 60 m, S2°56.28' E132°6.67'	A03486_NG_E_FakFak
A3487	Indonesia, Papua, Bomberay, 60 m, S2°56.28' E132°6.67'	A03487_NG_E_FakFak
A3488	Indonesia, Papua, Bomberay, 60 m, S2°56.28' E132°6.67'	A03488_NG_E_FakFak
A3489	Indonesia, Papua, Bomberay, 60 m, S2°56.28' E132°6.67'	A03489_NG_E_FakFak
A348	Australia, Queensland, Lamington	A348Metriorrhynchus_QLD
A3490	Indonesia, Papua, Ransiki, 80 m, S1°30.32' E 134°8.63'	A03490_NG_Bintuni
A3491	Indonesia, Papua, Ransiki, 80 m, S1°30.32' E 134°8.63'	A03491_NG_Bintuni
A3492	Indonesia, Papua, Ransiki, 80 m, S1°30.32' E 134°8.63'	A03492_NG_Bintuni
A3493	Indonesia, Papua, Asimi, 520 m, S0°48.15' E133°17.80'	A03493_NG_Manokwari
A3494	Indonesia, Papua, Asimi, 520 m, S0°48.15' E133°17.80'	A03494_NG_Manokwari
A3495	Indonesia, Papua, Asimi, 520 m, S0°48.15' E133°17.80'	A03495_NG_Manokwari
A3496	Indonesia, Papua, Asimi, 520 m, S0°48.15' E133°17.80'	A03496_NG_Manokwari
A3497	Indonesia, Papua, Asimi, 520 m, S0°48.15' E133°17.80'	A03497_NG_Manokwari
A3498	Indonesia, Papua, Asimi, 520 m, S0°48.15' E133°17.80'	A03498_NG_Manokwari
A3499	Indonesia, Papua, Asimi, 520 m, S0°48.15' E133°17.80'	A03499_NG_Manokwari
A3500	Indonesia, Papua, Asimi, 520 m, S0°48.15' E133°17.80'	A03500_NG_Manokwari
A3501	Indonesia, Papua, Asimi, 520 m, S0°48.15' E133°17.80'	A03501_NG_Manokwari
A3502	Indonesia, Papua, Asimi, 520 m, S0°48.15' E133°17.80'	A03502_NG_Manokwari
A3503	Indonesia, Papua, Asimi, 520 m, S0°48.15' E133°17.80'	A03503_NG_Manokwari
A3504	Indonesia, Papua, Asimi, 520 m, S0°48.15' E133°17.80'	A03504_NG_Manokwari
A3505	Indonesia, Papua, Asimi, 520 m, S0°48.15' E133°17.80'	A03505_NG_Manokwari
A3506	Indonesia, Papua, Asimi, 520 m, S0°48.15' E133°17.80'	A03506_NG_Manokwari
A3507	Indonesia, Papua, Asimi, 520 m, S0°48.15' E133°17.80'	A03507_NG_Manokwari
A3508	Indonesia, Papua, Ayawasi, 490 m, S01°12.58' E132°28.18'	A03508_NG_Sorong
A3509	Indonesia, Papua, Ayawasi, 490 m, S01°12.58' E132°28.18'	A03509_NG_Sorong
A3510	Indonesia, Papua, Ayawasi, 490 m, S01°12.58' E132°28.18'	A03510_NG_Sorong
A3511	Indonesia, Papua, Ayawasi, 490 m, S01°12.58' E132°28.18'	A03511_NG_Sorong
A3512	Indonesia, Papua, Ayawasi, 490 m, S01°12.58' E132°28.18'	A03512_NG_Sorong
A3513	Indonesia, Papua, Ayawasi, 490 m, S01°12.58' E132°28.18'	A03513_NG_Sorong
A3514	Indonesia, Papua, Ayawasi, 490 m, S01°12.58' E132°28.18'	A03514_NG_Sorong
A3515	Indonesia, Papua, Ayawasi, 490 m, S01°12.58' E132°28.18'	A03515_NG_Sorong

Pokračování Přílohy 1: Seznam materiálu pro sestavení datové matice.

Číslo vzorku	Lokalita	Označení na stromě
A3516	Indonesia, Papua, Ayawasi, 490 m, S01°12.58' E132°28.18'	A03516_NG_Sorong
A3517	Indonesia, Papua, Ayawasi, 490 m, S01°12.58' E132°28.18'	A03517_NG_Sorong
A3518	Indonesia, Papua, Ayawasi, 490 m, S01°12.58' E132°28.18'	A03518_NG_Sorong
A3519	Indonesia, Papua, Kebar, 850 m, S0°50.0' E133°16.48'	A03519_NG_Manokwari
A3520	Indonesia, Papua, Kebar, 850 m, S0°50.0' E133°16.48'	A03520_NG_Manokwari
A3521	Indonesia, Papua, Kebar, 850 m, S0°50.0' E133°16.48'	A03521_NG_Manokwari
A3522	Indonesia, Papua, Kebar, 850 m, S0°50.0' E133°16.48'	A03522_NG_Manokwari
A3523	Indonesia, Papua, Kebar, 850 m, S0°50.0' E133°16.48'	A03523_NG_Manokwari
A3524	Indonesia, Papua, Kebar, 850 m, S0°50.0' E133°16.48'	A03524_NG_Manokwari
A3525	Indonesia, Papua, Kebar, 850 m, S0°50.0' E133°16.48'	A03525_NG_Manokwari
A3526	Indonesia, Papua, Senopi, 560 m, S0°47.40' E132°54.53'	A03526_NG_Manokwari
A3527	Indonesia, Papua, Senopi, 560 m, S0°47.40' E132°54.53'	A03527_NG_Manokwari
A3528	Indonesia, Papua, Senopi, 560 m, S0°47.40' E132°54.53'	A03528_NG_Manokwari
A3529	Indonesia, Papua, Senopi, 560 m, S0°47.40' E132°54.53'	A03529_NG_Manokwari
A3530	Indonesia, Papua, Senopi, 560 m, S0°47.40' E132°54.53'	A03530_NG_Manokwari
A3531	Indonesia, Papua, Senopi, 560 m, S0°47.40' E132°54.53'	A03531_NG_Manokwari
A3532	Indonesia, Papua, Senopi, 560 m, S0°47.40' E132°54.53'	A03532_NG_Manokwari
A3533	Indonesia, Papua, Senopi, 560 m, S0°47.40' E132°54.53'	A03533_NG_Manokwari
A3534	Indonesia, Papua, Senopi, 560 m, S0°47.40' E132°54.53'	A03534_NG_Manokwari
A3535	Indonesia, Papua, Senopi, 560 m, S0°47.40' E132°54.53'	A03535_NG_Manokwari
A3536	Indonesia, Papua, 45 m, S2°43.55' E132°30.05'	A03536_NG_NE_FakFak
A3537	Indonesia, Papua, 45 m, S2°43.55' E132°30.05'	A03537_NG_NE_FakFak
A3538	Indonesia, Papua, 45 m, S2°43.55' E132°30.05'	A03538_NG_NE_FakFak
A3539	Indonesia, Papua, 45 m, S2°43.55' E132°30.05'	A03539_NG_NE_FakFak
A353	Australia, Queensland, East Claudie River	A353Microtrichalus_QLD
A3540	Indonesia, Papua, 45 m, S2°43.55' E132°30.05'	A03540_NG_NE_FakFak
A3541	Indonesia, Papua, Sisirang, 1840m, S1°21.26' E133°59.70'	A03541_NG_Ransiki
A3542	Indonesia, Papua, 920 m, S2°48.57' E132°18.06'	A03542_NG_N_FakFak
A3543	Indonesia, Papua, 920 m, S2°48.57' E132°18.06'	A03543_NG_N_FakFak
A3544	Indonesia, Papua, 920 m, S2°48.57' E132°18.06'	A03544_NG_N_FakFak
A3545	Indonesia, Papua, 920 m, S2°48.57' E132°18.06'	A03545_NG_N_FakFak
A3546	Indonesia, Papua, 920 m, S2°48.57' E132°18.06'	A03546_NG_N_FakFak
A3547	Indonesia, Papua, 920 m, S2°48.57' E132°18.06'	A03547_NG_N_FakFak
A3548	Indonesia, Papua, 920 m, S2°48.57' E132°18.06'	A03548_NG_N_FakFak
A3549	Indonesia, Papua, 920 m, S2°48.57' E132°18.06'	A03549_NG_N_FakFak
A3550	Indonesia, Papua, 920 m, S2°48.57' E132°18.06'	A03550_NG_N_FakFak
A3551	Indonesia, Papua, 920 m, S2°48.57' E132°18.06'	A03551_NG_N_FakFak
A3552	Indonesia, Papua, 920 m, S2°48.57' E132°18.06'	A03552_NG_N_FakFak
A3553	Indonesia, Papua, 920 m, S2°48.57' E132°18.06'	A03553_NG_N_FakFak
A3554	Indonesia, Papua, 45 m, S2°43.55' E132°30.05'	A03554_NG_NE_FakFak
A3555	Indonesia, Papua, 45 m, S2°43.55' E132°30.05'	A03555_NG_NE_FakFak
A3556	Indonesia, Papua, 45 m, S2°43.55' E132°30.05'	A03556_NG_NE_FakFak
A3557	Indonesia, Papua, 45 m, S2°43.55' E132°30.05'	A03557_NG_NE_FakFak
A3558	Indonesia, Papua, 45 m, S2°43.55' E132°30.05'	A03558_NG_NE_FakFak
A3559	Indonesia, Papua, 45 m, S2°43.55' E132°30.05'	A03559_NG_NE_FakFak
A3560	Indonesia, Papua, 45 m, S2°43.55' E132°30.05'	A03560_NG_NE_fakFak
A3561	Indonesia, Papua, Konja, 440 m, S1°4.55' E132°28.73'	A03561_NG_Sorong
A3562	Indonesia, Papua, Konja, 440 m, S1°4.55' E132°28.73'	A03562_NG_Sorong
A3563	Indonesia, Papua, Kebar, 610 m, S0°50.54' E133°0.70'	A03563_NG_Manokwari
A3564	Indonesia, Papua, Kebar, 610 m, S0°50.54' E133°0.70'	A03564_NG_Manokwari
A3565	Indonesia, Papua, Kebar, 610 m, S0°50.54' E133°0.70'	A03565_NG_Manokwari
A3566	Indonesia, Papua, Kebar, 610 m, S0°50.54' E133°0.70'	A03566_NG_Manokwari
A3567	Indonesia, Papua, Kebar, 610 m, S0°50.54' E133°0.70'	A03567_NG_Manokwari
A3568	Indonesia, Papua, Kebar, 610 m, S0°50.54' E133°0.70'	A03568_NG_Manokwari
A3569	Indonesia, Papua, Kebar, 610 m, S0°50.54' E133°0.70'	A03569_NG_Manokwari
A356	Australia, Queensland, East Claudie River	A356Microtrichalus_QLD
A3570	Indonesia, Papua, Kebar, 610 m, S0°50.54' E133°0.70'	A3570_NG_Manokwari
A3571	Indonesia, Papua, Kebar, 610 m, S0°50.54' E133°0.70'	A03571_NG_Manokwari
A3572	Indonesia, Papua, Kebar, 610 m, S0°50.54' E133°0.70'	A03572_NG_Manokwari
A3574	Indonesia, Papua, Kebar, 610 m, S0°50.54' E133°0.70'	A03574_NG_Manokwari
A3575	Indonesia, Papua, Kebar, 610 m, S0°50.54' E133°0.70'	A03575_NG_Manokwari
A3576	Indonesia, Papua, Kebar, 610 m, S0°50.54' E133°0.70'	A03576_NG_Manokwari
A3577	Indonesia, Papua, Kebar, 610 m, S0°50.54' E133°0.70'	A03577_NG_Manokwari
A3578	Indonesia, Papua, Kebar, 610 m, S0°50.54' E133°0.70'	A03578_NG_Manokwari

Pokračování Přílohy 1: Seznam materiálu pro sestavení datové matice.

Číslo vzorku	Lokalita	Označení na stromě
A3579	Indonesia, Papua, Kebar, 610 m, S0°50.54' E133°0.70'	A03579_NG_Manokwari
A357	Australia, Queensland, East Claudie River	A357Microtrichalus_QLD
A3580	Indonesia, Papua, Kebar, 610 m, S0°50.54' E133°0.70'	A03580_NG_Manokwari
A3581	Indonesia, Papua, Kebar, 610 m, S0°50.54' E133°0.70'	A03581_NG_Maanokwari
A362	Australia, Queensland, East Claudie River	A362Microtrichalus_QLD
A363	Australia, Queensland, East Claudie River	A00363LobatangAUS_QLD
A364	Australia, Queensland, East Claudie River	A364Microtrichalus_QLD
A365	Australia, Queensland, East Claudie River	A00365LobatangAUS_QLD
A366	Australia, Queensland, East Claudie River	A366Diatrichalus_QLD
A377	Laos, Houa Phan, Phou Pan	A377Microtrichalus_Laos
A381	Laos, Houa Phan, Phou Pan	A381Metr.sericans_Laos
A382	Laos, Houa Phan, Phou Pan	A382Metr.sericans_Laos
A386	Laos, Houa Phan, Phou Pan	A386Microtrichalus_Laos
A387	Laos, Houa Phan, Phou Pan	A387Microtrichalus_Laos
A397	Cambodia, Koh Kong, Tatai river	A397Microtrichalus_Camb
A399	Cambodia, Koh Kong, Tatai river	A399Microtrichalus_Camb
A402	Australia, New South Wales, Darkes Forest	A402Porrostoma_NSW
A420	Australia, Canberra Act.	A420Porrostoma_Canb
A422	Indonesia, New Guinea, Biak, Korim	A422Metriorhynchus_NG
A423	Malaysia, W.Kelantan, Ulu Lalat mt.	A423Diatrichalus_MAL
A424	Malaysia, W.Kelantan, Ulu Lalat mt.	A424Diatrichalus_MAL
A425	Malaysia, W.Kelantan, Ulu Lalat mt.	A425Trichalus_MAL
A426	Malaysia, W.Kelantan, Ulu Lalat mt.	A426Trichalus_MAL
A432	Cambodia, Koh Kong, Tatai river	A432Microtrichalus_Camb
A433	Cambodia, Koh Kong, Tatai river	A433Microtrichalus_Camb
A440	Laos, Bolikhamsai pr. Ban Nape env.	A440Microtrichalus_Laos
A441	Laos, Bolikhamsai pr. Ban Nape env.	A441Microtrichalus_Laos
A446	Indonesia, Sumatra, Gn. Merapi	A446Microtrichalus_Sum
A447	Indonesia, Sumatra, Gn. Merapi	A447Microtrichalus_Sum
A448	Indonesia, Sumatra, Gn. Merapi	A448Microtrichalus_Sum
A450	Indonesia, Java, Ijen N.P., 12 km W of Sodong	A450Leptotrichalus_Java
A451	Indonesia, Java, Ijen N.P., 12 km W of Sodong	A451Leptotrichalus_Java
A454	Indonesia, Sumatra Utara, Brastagi, Gn Sibayak	A454Microtrichalus_Sum
A455	Indonesia, Sumatra Utara, Brastagi, Gn Sibayak	A455Microtrichalus_Sum
A456	Indonesia, Sumatra Utara, Brastagi, Gn Sibayak	A456Microtrichalus_Sum
BM0001	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM001Enic.divaricatus_NG_Sent
BM0002	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM002Enic.divaricatus_NG_Sent
BM0003	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM003Enic.similis_NG_Sent
BM0004	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM004Enic.similis_NG_Sent
BM0005	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM005Enic.brancuccii_NG_Sent
BM0006	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM006Enic.brancuccii_NG_Sent
BM0007	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM007Enic.brancuccii_NG_Sent
BM0008	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM008Enic.variabilis_NG_Sent
BM0009	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM009Enic.divaricatus_NG_Sent
BM0010	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM010Enic.brancuccii_NG_Sent
BM0011	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM011Enic.similis_NG_Sent
BM0012	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM012Enic.variabilis_NG_Sent
BM0013	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM013Enic.similis_NG_Sent
BM0014	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM014Enic.similis_NG_Sent
BM0015	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM015Enic.divaricatus_NG_Sent
BM0016	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM016Enic.divaricatus_NG_Sent
BM0017	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM017Enic.divaricatus_NG_Sent
BM0018	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM018Enic.apertus_NG_Sent
BM0019	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM019Enic.similis_NG_Sent
BM0020	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM020Enic.similis_NG_Sent
BM0021	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM021Enic.similis_NG_Sent
BM0022	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM022Enic.similis_NG_Sent
BM0023	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM023Enic.similis_NG_Sent
BM0024	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM024Enic.similis_NG_Sent
BM0025	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM025Enic.variabilis_NG_Bokon
BM0026	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM026Enic.variabilis_NG_Bokon
BM0027	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM027Enic.variabilis_NG_Bokon
BM0028	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM028Enic.variabilis_NG_Bokon
BM0029	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM029Enic.variabilis_NG_Bokon

Pokračování Přílohy 1: Seznam materiálu pro sestavení datové matice.

Číslo vzorku	Lokalita	Označení na stromě
BM0030	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM030Enic.variabilis_NG_Bokon
BM0031	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM031Enic.variabilis_NG_Bokon
BM0032	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM032Enic.variabilis_NG_Bokon
BM0033	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM033Enic.niger_NG_Bokon
BM0034	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM034Enic.variabilis_NG_Bokon
BM0035	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM035Enic.variabilis_NG_Bokon
BM0036	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM036Enic.variabilis_NG_Bokon
BM0037	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM037Enic.similis_NG_Sent
BM0038	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM038Enic.apertus_NG_Sent
BM0039	Indonesia, New Guinea, Papua, Yiwika	BM039Enic.tikapurensis_NG_Tikap
BM0040	Indonesia, New Guinea, Papua, Tikapura	BM040Enic.tikapurensis_NG_Tikap
BM0041	Indonesia, New Guinea, Papua, Tikapura	BM041Enic.tikapurensis_NG_Tikap
BM0042	Indonesia, New Guinea, Papua, Tikapura	BM042Enic.tikapurensis_NG_Tikap
BM0043	Indonesia, New Guinea, Papua, Tikapura	BM043Enic.tikapurensis_NG_Tikap
BM0044	Indonesia, New Guinea, Papua, Tikapura	BM044Enic.tikapurensis_NG_Tikap
BM0045	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM045Enic.bicolor_NG_Elel
BM0046	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM046Enic.bicolor_NG_Elel
BM0047	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM047Enic.bicolor_NG_Elel
BM0048	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM048Enic.variabilis_NG_Elel
BM0049	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM049Enic.variabilis_NG_Elel
BM0050	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM050Enic.infuscatus_NG_Elel
BM0051	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM051Enic.elelimensis_NG_Elel
BM0052	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM052Enic.elelimensis_NG_Elel
BM0053	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM053Enic.variabilis_NG_Elel
BM0054	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM054Enic.variabilis_NG_Elel
BM0055	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM055Enic.variabilis_NG_Elel
BM0056	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM056Enic.elelimensis_NG_Elel
BM0057	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM057Enic.divaricatus_NG_Elel
BM0058	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM058Enic.niger_NG_Elel
BM0059	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM059Enic.niger_NG_Elel
BM0060	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM060Enic.niger_NG_Elel
BM0061	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM061Enic.niger_NG_Elel
BM0062	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM062Enic.infuscatus_NG_Elel
BM0063	Indonesia, New Guinea, Papua, Dombomi	BM063Enic.variabilis_NG_Dombo
BM0064	Indonesia, New Guinea, Papua, Dombomi	BM064Enic.variabilis_NG_Dombo
BM0065	Indonesia, New Guinea, Papua, Dombomi	BM065Enic.variabilis_NG_Dombo
BM0066	Indonesia, New Guinea, Papua, Dombomi	BM066Enic.variabilis_NG_Dombo
BM0067	Indonesia, New Guinea, Papua, Dombomi	BM067Enic.variabilis_NG_Dombo
BM0068	Indonesia, Moluccas, Buru isl., Remaja Mt.	BM068Diatrichalus_Maluku_Buru
BM0069	Indonesia, Moluccas, Buru isl., Remaja Mt.	BM069Diatrichalus_Maluku_Buru
BM0070	Indonesia, Moluccas, Buru isl., Remaja Mt.	BM070Diatrichalus_Maluku_Buru
BM0071	Indonesia, Moluccas, Buru isl., Remaja Mt.	BM0071Lobatang_MOL_Buru
BM0072	Indonesia, Moluccas, Buru isl., Remaja Mt.	BM0072Lobatang_MOL_Buru
BM0073	Indonesia, Moluccas, Buru isl., Remaja Mt.	BM0073Lobatang_MOL_Buru
BM0074	Indonesia, Moluccas, Buru isl., Remaja Mt.	BM0074Lobatang_MOL_Buru
BM0075	Indonesia, New Guinea, Manokwari	BM0075Lobatang_NG_Manokwari
BM0076	Indonesia, New Guinea, Manokwari	BM0076Lobatang_NG_Manokwari
BM0077	Indonesia, New Guinea, Manokwari	BM077Microtrichalus_NG_Manok
BM0078	Indonesia, New Guinea, Manokwari	BM078Trichalus_NG_Manok
BM0079	Indonesia, New Guinea, Manokwari	BM079Diatrichalus_NG_Manok
BM0080	Indonesia, New Guinea, Manokwari	BM080Enic.pseudoapertus_NG_Man
BM0081	Indonesia, New Guinea, Manokwari	BM081Microtrichalus_NG_Manok
BM0082	Indonesia, New Guinea, Manokwari	BM082Flabellotrachelus_NG_Manok
BM0084	Indonesia, New Guinea, Manokwari	BM084Enic.pseudoluteolus_NG_Man
BM0085	Indonesia, New Guinea, Manokwari	BM085Microtrichalus_NG_Manok
BM0086	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM086Enic.variabilis_NG_Bokon
BM0087	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM087Enic.niger_NG_Bokon
BM0088	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM088Enic.variabilis_NG_Bokon
BM0089	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM089Enic.niger_NG_Bokon
BM0090	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM090Enic.variabilis_NG_Bokon
BM0091	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM091Enic.variabilis_NG_Bokon
BM0092	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM092Enic.bokondinensis_NG_Bok
BM0093	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM093Enic.Sp. A_NG_Bokon
BM0094	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM094Enic.bokondinensis_NG_Bok

Pokračování Přílohy 1: Seznam materiálu pro sestavení datové matice.

Číslo vzorku	Lokalita	Označení na stromě
BM0095	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM095Enic.bokondinensis_NG_Bok
BM0096	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM096Enic.Sp. A_NG_Bokon
BM0097	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM097Enic.Sp. A_NG_Bokon
BM0098	Indonesia, New Guinea, Papua, Yiwika	BM098Microtrichalus_NG_Yiwi
BM0099	Indonesia, New Guinea, Papua, Yiwika	BM099Microtrichalus_NG_Yiwi
BM0100	Indonesia, New Guinea, Papua, Yiwika	BM100Microtrichalus_NG_Yiwi
BM0101	Indonesia, New Guinea, Papua, Yiwika	BM101Trichalus_NG_Yiwi
BM0102	Indonesia, New Guinea, Papua, Yiwika	BM102Microtrichalus_NG_Yiwi
BM0103	Indonesia, New Guinea, Papua, Yiwika	BM103Flabellotrichalus_NG_Yiwi
BM0104	Indonesia, New Guinea, Papua, Yiwika	BM104Metriorrhynchus_NG_Yiwi
BM0105	Indonesia, New Guinea, Papua, Yiwika	BM105Flabellotrichalus_NG_Yiwi
BM0106	Indonesia, New Guinea, Papua, Yiwika	BM106Flabellotrichalus_NG_Yiwi
BM0107	Indonesia, New Guinea, Papua, Yiwika	BM107Flabellotrichalus_NG_Yiwi
BM0108	Indonesia, New Guinea, Papua, Yiwika	BM108Microtrichalus_NG_Yiwi
BM0109	Indonesia, New Guinea, Papua, Yiwika	BM109GenSpec_NG_Yiwi
BM0110	Indonesia, New Guinea, Papua, Yiwika	BM110Flabellotrichalus_NG_Yiwi
BM0111	Indonesia, New Guinea, Papua, Yiwika	BM111Flabellotrichalus_NG_Yiwi
BM0112	Indonesia, New Guinea, Papua, Yiwika	BM112Flabellotrichalus_NG_Yiwi
BM0113	Indonesia, New Guinea, Papua, Yiwika	BM113Diatrichalus_NG_Yiwi
BM0114	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM114Diatrichalus_NG_Bokon
BM0115	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM115Microtrichalus_NG_Bokon
BM0116	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM116Microtrichalus_NG_Bokon
BM0117	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM117Microtrichalus_NG_Bokon
BM0118	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM118Microtrichalus_NG_Bokon
BM0119	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM119Microtrichalus_NG_Bokon
BM0120	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM120Microtrichalus_NG_Bokon
BM0121	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM121Microtrichalus_NG_Bokon
BM0122	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM122Microtrichalus_NG_Bokon
BM0123	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM123Microtrichalus_NG_Bokon
BM0124	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM124Microtrichalus_NG_Bokon
BM0125	Indonesia, New Guinea, Papua, Bokondini	BM125Microtrichalus_NG_Bokon
BM0126	Indonesia, New Guinea, Papua, Tikapura	BM126Microtrichalus_NG_Tikap
BM0127	Indonesia, New Guinea, Papua, Tikapura	BM127Diatrichalus_NG_Tikap
BM0128	Indonesia, New Guinea, Papua, Tikapura	BM128Flabellotrichalus_NG_Tikap
BM0129	Indonesia, New Guinea, Papua, Tikapura	BM129Flabellotrichalus_NG_Tikap
BM0130	Indonesia, New Guinea, Papua, Tikapura	BM130Flabellotrichalus_NG_Tikap
BM0131	Indonesia, New Guinea, Papua, Tikapura	BM131Flabellotrichalus_NG_Tikap
BM0132	Indonesia, New Guinea, Papua, Tikapura	BM132Flabellotrichalus_NG_Tikap
BM0133	Indonesia, New Guinea, Papua, Tikapura	BM133Trichalus_NG_Tikap
BM0134	Indonesia, New Guinea, Papua, Tikapura	BM134Microtrichalus_NG_Tikap
BM0135	Indonesia, New Guinea, Papua, Tikapura	BM135Microtrichalus_NG_Tikap
BM0136	Indonesia, New Guinea, Papua, Tikapura	BM136Trichalus_NG_Tikap
BM0137	Indonesia, New Guinea, Papua, Tikapura	BM137Microtrichalus_NG_Tikap
BM0138	Indonesia, New Guinea, Papua, Tikapura	BM138Trichalus_NG_Tikap
BM0139	Indonesia, New Guinea, Papua, Tikapura	BM139Trichalus_NG_Tikap
BM0140	Indonesia, New Guinea, Papua, Tikapura	BM140Trichalus_NG_Tikap
BM0141	Indonesia, New Guinea, Papua, Tikapura	BM141Microtrichalus_NG_Tikap
BM0142	Indonesia, New Guinea, Papua, Tikapura	BM142Microtrichalus_NG_Tikap
BM0143	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM143Microtrichalus_NG_Elel
BM0144	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM0144Lobatang_NG_Elel
BM0145	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM0145Lobatang_NG_Elel
BM0146	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM0146Lobatang_NG_Elel
BM0147	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM147Microtrichalus_NG_Elel
BM0148	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM148Flabellotrichalus_NG_Elel
BM0149	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM149Flabellotrichalus_NG_Elel
BM0150	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM150Flabellotrichalus_NG_Elel
BM0151	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM151Flabellotrichalus_NG_Elel
BM0152	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM152Microtrichalus_NG_Elel
BM0153	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM153Microtrichalus_NG_Elel
BM0154	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM154Microtrichalus_NG_Elel
BM0155	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM155Microtrichalus_NG_Elel
BM0156	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM156Microtrichalus_NG_Elel
BM0157	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM157Microtrichalus_NG_Elel
BM0158	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM158Microtrichalus_NG_Elel

Pokračování Přílohy 1: Seznam materiálu pro sestavení datové matice.

Číslo vzorku	Lokalita	Označení na stromě
BM0159	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM159Diatrichalus_NG_Elel
BM0160	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM160Microtrichalus_NG_Sent
BM0161	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM161Microtrichalus_NG_Sent
BM0162	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM0162Lobatang_NG_Sent
BM0163	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM163Microtrichalus_NG_Sent
BM0164	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM164Microtrichalus_NG_Sent
BM0165	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM0165Lobatang_NG_Sent
BM0166	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM0166Lobatang_NG_Sent
BM0167	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM167Microtrichalus_NG_Sent
BM0168	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM0168Lobatang_NG_Sent
BM0169	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM169Microtrichalus_NG_Sent
BM0170	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM170Microtrichalus_NG_Sent
BM0171	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM171Microtrichalus_NG_Sent
BM0172	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM172Microtrichalus_NG_Sent
BM0173	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM173Microtrichalus_NG_Sent
BM0174	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM174Trichalus_NG_Sent
BM0175	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM175Microtrichalus_NG_Sent
BM0176	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM176Microtrichalus_NG_Sent
BM0177	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM177Microtrichalus_NG_Sent
BM0178	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM178Microtrichalus_NG_Sent
BM0179	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM179Microtrichalus_NG_Sent
BM0180	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM180Microtrichalus_NG_Sent
BM0181	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM181Microtrichalus_NG_Sent
BM0182	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM182Microtrichalus_NG_Sent
BM0183	Indonesia, New Guinea, Papua, Sentani	BM183Microtrichalus_NG_Sent
BM0184	Indonesia, New Guinea, Papua, Napua	BM184Flabellotrichalus_NG_Napua
BM0185	New Guinea, Papua, Wamena	BM185Microtrichalus_NG_Napua
BM0186	New Guinea, Papua, Wamena	BM186Microtrichalus_NG_Napua
BM0187	Indonesia, New Guinea, Papua, Wamena	BM187Trichalus_NG_Napua
BM0188	Indonesia, New Guinea, Papua, Tikapura	BM188Diatrichalus_NG_Tikap
BM0189	Indonesia, New Guinea, Papua, Tikapura	BM189Diatrichalus_NG_Tikap
BM0190	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM190Diatrichalus_NG_Elel
BM0191	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM191Diatrichalus_NG_Elel
BM0192	Indonesia, New Guinea, Papua, Elelim	BM192Diatrichalus_NG_Elel
JB0769	Indonesia, Sumatra, Gn. Talamau	JB769Diatrichalus_Sum
JB0770	Malaysia, Pahang, 30 km NE Raub	JB770Diatrichalus_MAL
JB0771	Malaysia, Pahang, 30 km NE Raub	JB771Diatrichalus_MAL
JB0772	Indonesia, New Guinea: DMP-Wasior	JB772Diatrichalus_NG
JB0774	Indonesia, Sulawesi, Mamasa	JB774Diatrichalus_Sul
JB0777	Indonesia, Sumatra, Barat, Lake Maninjau	JB777Diatrichalus_Sum
JB0802	Phillipines, Mindanao, Mt. Kitanglad	JB802Microtrichalus_PHI
JB0819	Laos, Houa Phan, Phou Pan	JB819Microtrichalus_Laos
JB0820	Malaysia, Pahang, Kg. Kuala Boh	JB820Microtrichalus_MAL
JB0821	Laos, Phongsaly prov.	JB821Microtrichalus_Laos
JB0824	Laos, Houa Phan, Phou Pan	JB824Microtrichalus_Laos
JB0825	Indonesia, Sumatra, Brastagi, Gn. Sinabung	JB825Microtrichalus_Sum
JB0826	Malaysia, Sabah, Danum Valley	JB826Microtrichalus_MAL
JB0827	Indonesia, Sumatra, Gn. Tujuh, Kersik Dua	JB827Microtrichalus_Sum
JB0828	Indonesia, Sumatra, Barat, Gn. Merapi	JB828Microtrichalus_Sum
JB0829	Malaysia, Kelantan, Rd Kp. Raja → Gn. Muang	JB829Trichalus_MAL
JB0830	Cambodia, Koh Kong, Tatai river	JB830Microtrichalus_Camb
JB0832	New Guinea, Wasior, 300-1000 m, WONOLIWOI	JB832Microtrichalus_NG
JB0833	New Guinea, Wasior, 300-1000 m, WONOLIWOI	JB833Microtrichalus_NG
JB0834	New Guinea, DMP-Wasior, 100-200 m	JB834Microtrichalus_NG
JB0835	New Guinea, DMP-Wasior, 100-200 m	JB835Microtrichalus_NG
JB0836	New Guinea, DMP-Wasior, 100-200 m	JB836Microtrichalus_NG
JB0837	New Guinea, DMP-Wasior, 100-200 m	JB837Microtrichalus_NG
JB0838	Cambodia, Koh Kong, Tatai river	JB838Microtrichalus_Camb
JB0840	Cambodia, Koh Kong, Tatai river	JB840Microtrichalus_Camb
JB0841	Indonesia, Sumatra, Jambi Kersik, Gn. Kerinci	JB841Microtrichalus_Sum
JB0842	Indonesia, Sumatra, Jambi Kersik, Gn. Kerinci	JB842Microtrichalus_Sum
JB0843	Indonesia, Sumatra, Jambi Kersik, Gn. Kerinci	JB843Microtrichalus_Sum
JB0844	Indonesia, Sumatra, Jambi Kersik, Gn. Kerinci	JB844Microtrichalus_Sum
JB0847	Laos, Houa Phan, Phou Pan J	JB847Microtrichalus_Laos

Pokračování Přílohy 1: Seznam materiálu pro sestavení datové matice.

Číslo vzorku	Lokalita	Označení na stromě
JB0848	Indonesia, Sumatra, Gn. Merapi, Kotobaru	JB848Microtrichalus_Sum
JB0849	Indonesia, Sumatra, Gn. Merapi, Kotobaru	JB849Microtrichalus_Sum
JB0850	Indonesia, Sumatra, Gn. Merapi, Kotobaru	JB850Microtrichalus_Sum
JB0851	Indonesia, Sumatra, Utara, Brastagi, Gn. Sibayak	JB851Microtrichalus_Sum
JB0852	Indonesia, Sumatra, Utara, Brastagi, Gn. Sibayak	JB852Microtrichalus_Sum
JB0853	Indonesia, Sumatra, Utara, Brastagi, Gn. Sibayak	JB853Microtrichalus_Sum
000L23	Malaysia, Sabah, Gn.Emas, 1650 m	L23Microtrichalus_Borneo
LB0196	Malaysia, Pahang, 30km NE Raub	LB0196Microtrichalus_MAL
LB0514	Indonesia, Sumatra, Barat, Gn. Merapi	LB0514Microtrichalus_SUM
MD0002	Indonesia, Sulawesi, 120.46.55 E 2.14.03 S; 1200 m	MD002_COISultenggahnensis
MD0145	Indonesia, Sulawesi, Mamasa	MD0145Wakarumbia_fas
MD0155	Indonesia, Sulawesi, Mamasa	MD0155Wakarumbia_mam
MD0097	Indonesia, Sulawesi, Mamasa	MD097Microtrichalus_Sul
MD0098	Indonesia, Sulawesi, Sabbang	MD098Microtrichalus_Sul
MK0133	China, Yunnan, Pu'er, Caiyanghe nat res.	MK133Microtrichalus_CHN_Yunn
MK0772	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK772Leptotrichalus_Borneo_SabPo
MK0773	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK773Microtrichalus_Borneo_SabPo
MK0783	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK783Leptotrichalus_Borneo_SabPo
MK0844	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK844Leptotrichalus_Borneo_SabPo
MK0845	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK845Diatrichalus_Borneo
MK0846	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK846Microtrichalus_Borneo_SabPo
MK0847	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK847Microtrichalus_Borneo_SabPo
MK0848	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK848Microtrichalus_Borneo_SabPo
MK0851	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK851Leptotrichalus_Borneo_SabPo
MK0852	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK852Microtrichalus_Borneo_SabPo
MK0853	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK853Leptotrichalus_Borneo_SabPo
MK0854	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK854Leptotrichalus_Borneo_SabPo
MK0855	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK855Leptotrichalus_Borneo_SabPo
MK0856	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK856Leptotrichalus_Borneo_SabPo
MK0857	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK857Leptotrichalus_Borneo_SabPo
MK0858	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK858Microtrichalus_Borneo_SabPo
MK0859	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK859Microtrichalus_Borneo_SabPo
MK0860	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK860Leptotrichalus_Borneo_SabPo
MK0861	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK861Microtrichalus_Borneo_SabPo
MK0862	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK862Microtrichalus_Borneo_SabPo
MK0877	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK877Leptotrichalus_Borneo_SabPo
MK0886	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK886Leptotrichalus_Borneo_SabPo
MK0907	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK907Leptotrichalus_Borneo_SabPo
MK0908	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK908Leptotrichalus_Borneo_SabPo
MK0909	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK909Leptotrichalus_Borneo_SabPo
MK0910	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK910Leptotrichalus_Borneo_SabPo
MK0911	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK891Leptotrichalus_Borneo_SabPo
MK0912	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK912Leptotrichalus_Borneo_SabPo
MK0913	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK913Leptotrichalus_Borneo_SabPo
MK0914	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK914Microtrichalus_Borneo_SabPo
MK0923	Indonesia, Borneo, Sabah, Poring	MK923Microtrichalus_Borneo_SabPo

Příloha 2: Druhové přiřazení vzorků delimitační metodou bPTP (ML).

Číslo druhu	Označení na stromě	Podpora UFboot [%]
1	A02427_Halmahera, A02450_Halmahera	86
2	BM082Flabellotrichalus_NG_Manok	100
3	A02459_Halmahera, A02460_Halmahera	80
4	BM079Diatrichalus_NG_Manok	100
5	BM159Diatrichalus_NG_Elel	100
6	A03541_NG_Ransiki	100
7	A170Flabellotrichalus_NG	100
8	JB837Microtrichalus_NG	100
9	A03523_NG_Manokwari	100
10	A02352_Halmahera	100
11	A02437_Halmahera, A02451_Halmahera, A02453_Halmahera, A02452_Halmahera, A02454_Halmahera	100
12	A032Trichalus_aus	100
13	A342Trichalus_QLD, A312Trichalus_QLD, A320Trichalus_QLD	75
14	BM182Microtrichalus_NG_Sent, BM175Microtrichalus_NG_Sent, BM180Microtrichalus_NG_Sent, BM176Microtrichalus_NG_Sent, BM181Microtrichalus_NG_Sent, BM155Microtrichalus_NG_Elel	84
15	A298Diatrichalus_QLD	100
16	A00365Lobatang_AUS_QLD, A00363Lobatang_AUS_QLD	98
17	BM077Microtrichalus_NG_Manok, BM085Microtrichalus_NG_Manok	88
18	JB834Microtrichalus_NG	100
19	A03543_NG_N_FakFak	100
20	A336Trichalus_QLD	100
21	A02438_Halmahera, A02440_Halmahera	99
22	A02344_Halmahera, A02426_Halmahera, A02425_Halmahera, A02424_Halmahera, A02421_Halmahera	78
23	A02477_Halmahera	100
24	A02411_Halmahera, A02498_Halmahera, A02471_Halmahera, A02436_Halmahera, A02435_Halmahera, A02439_Halmahera, A02413_Halmahera, A02445_Halmahera, A02431_Halmahera	82
25	BM117Microtrichalus_NG_Bokon, BM135Microtrichalus_NG_Tikap	100
26	BM178Microtrichalus_NG_Sent, BM171Microtrichalus_NG_Sent, BM179Microtrichalus_NG_Sent, BM170Microtrichalus_NG_Sent, BM173Microtrichalus_NG_Sent, BM172Microtrichalus_NG_Sent	88
27	BM069Diatrichalus_Maluku_Buru	100
28	BM0162Lobatang_NG_Sent, BM0168Lobatang_NG_Sent	94
29	A03534_NG_Manokwari, A03513_NG_Sorong, A03511_NG_Sorong	42
30	A03519_NG_Manokwari	100
31	BM018Enic.apertus_NG_Sent, BM038Enic.apertus_NG_Sent	99
32	BM116Microtrichalus_NG_Bokon, BM118Microtrichalus_NG_Bokon	94
33	A03546_NG_N_FakFak	100
34	BM102Microtrichalus_NG_Yiwi, BM126Microtrichalus_NG_Tikap	100
35	BM068Diatrichalus_Maluku_Buru	100
36	BM070Diatrichalus_Maluku_Buru	100
37	BM187Trichalus_NG_Napua	100
38	A169Flabellotrichalus_NG, A125Flabellotrichalus_NG, A162Flabellotrichalus_NG	92
39	A00172Flabellotrichalus_NG, A00149Flabellotrichalus_NG	63
40	BM080Enic.pseudoapertus_NG_Manok	100
41	A03557_NG_NE_FakFak	100
42	BM188Diatrichalus_NG_Tikap	100
43	A03507_NG_Manokwari, A03566_NG_Manokwari, A03508_NG_Sorong, A03497_NG_Manokwari, A03496_NG_Manokwari	100
44	A210Microtrichalus_aus	100
45	A315Microtrichalus_QLD, A314Microtrichalus_QLD, 375Microtrichalus_aus, A316Microtrichalus_QLD	96
46	A03552_NG_N_FakFak	100
47	BM140Trichalus_NG_Tikap, BM136Trichalus_NG_Tikap	99
48	BM078Trichalus_NG_Manok	100
49	BM174Trichalus_NG_Sent	100
50	A03538_NG_NE_FakFak, A03536_NG_NE_FakFak, A03539_NG_NE_FakFak	89
51	A353Microtrichalus_QLD	100
52	BM158Microtrichalus_NG_Elel	100
53	BM134Microtrichalus_NG_Tikap	100

Pokračování Přílohy 2: Druhové přiřazení vzorků delimitační metodou bPTP (ML).

Číslo druhu	Označení na stromě	Podpora UFboot [%]
54	A03560_NG_NE_FakFak, BM156Microtrichalus_NG_Elel, BM154Microtrichalus_NG_Elel, BM157Microtrichalus_NG_Elel	80
55	A366Diatrichalus_QLD	100
56	A208Diatrichalus_au, A237Diatrichalus_au, A337Diatrichalus_QLD, A308Diatrichalus_QLD	100
57	A287Trichalus_QLD	100
58	A426Trichalus_MAL, A425Trichalus_MAL	92
59	A01920_SOLOMONS	100
60	A01919_SOLOMONS	100
61	BM115Microtrichalus_NG_Bokon	100
62	BM108Microtrichalus_NG_Yiwi	100
63	A02433_Halmahera, A02422_Halmahera	98
64	A02434_Halmahera, A02432_Halmahera	99
65	BM060Enic.niger_NG_Elel, BM059Enic.niger_NG_Elel, BM033Enic.niger_NG_Bokon, BM061Enic.niger_NG_Elel, BM058Enic.niger_NG_Elel, BM089Enic.niger_NG_Bokon, BM087Enic.niger_NG_Bokon, A03578_NG_Manokwari, A03579_NG_Manokwari, BM004Enic.similis_NG_Sent, BM011Enic.similis_NG_Sent, BM003Enic.similis_NG_Sent, BM013Enic.similis_NG_Sent, BM037Enic.similis_NG_Sent, BM024Enic.similis_NG_Sent, BM022Enic.similis_NG_Sent, BM020Enic.similis_NG_Sent, BM019Enic.similis_NG_Sent, BM021Enic.similis_NG_Sent, BM014Enic.similis_NG_Sent, BM023Enic.similis_NG_Sent	98
66	BM133Trichalus_NG_Tikap	100
67	BM139Trichalus_NG_Tikap, BM138Trichalus_NG_Tikap, BM101Trichalus_NG_Yiwi	93
68	A184Diatrichalus_NG	100
69	A03540_NG_NE_FakFak, JB772Diatrichalus_NG, BM191Diatrichalus_NG_Elel, BM190Diatrichalus_NG_Elel	87
70	BM0071Lobatang_MOL_Buru, BM0072Lobatang_MOL_Buru, BM0073Lobatang_MOL_Buru, BM0074Lobatang_MOL_Buru	99
71	A364Microtrichalus_QLD, A356Microtrichalus_QLD, A03503_NG_Manokwari, A03506_NG_Manokwari, A03530_NG_Manokwari, A03505_NG_Manokwari, A03079_NG_Manokwari	93
72	A01904_SOLOMONS, A01912_SOLOMONS, A01908_SOLOMONS, A01914_SOLOMONS, A01909_SOLOMONS, A01913_SOLOMONS, A01915_SOLOMONS, A01921_SOLOMONS, A01911_SOLOMONS, A01917_SOLOMONS, A267Microtrichalus_Solomon, A01918_SOLOMONS	89
73	BM127Diatrichalus_NG_Tikap	100
74	BM113Diatrichalus_NG_Yiwi	100
75	BM163Microtrichalus_NG_Sent, BM183Microtrichalus_NG_Sent, BM161Microtrichalus_NG_Sent	94
76	BM120Microtrichalus_NG_Bokon, BM125Microtrichalus_NG_Bokon, BM143Microtrichalus_NG_Elel	93
77	A212Microtrichalus_au, A235Microtrichalus_au, A232Microtrichalus_au, A214Microtrichalus_au, A192Microtrichalus_au, A194Microtrichalus_au, 373Microtrichalus_au, 376Microtrichalus_au, A195Microtrichalus_au, A206Microtrichalus_au, A229Microtrichalus_au, A238Microtrichalus_au, A241Microtrichalus_au	100
78	BM185Microtrichalus_NG_Napua, BM137Microtrichalus_NG_Tikap, BM141Microtrichalus_NG_Tikap, BM142Microtrichalus_NG_Tikap	86
79	A133Diatrichalus_NG	100
80	BM189Diatrichalus_NG_Tikap	100
81	BM062Enic.infuscatus_NG_Elel, BM050Enic.infuscatus_NG_Elel, BM045Enic.bicolor_NG_Elel, BM046Enic.bicolor_NG_Elel, BM047Enic.bicolor_NG_Elel	56
82	BM097Enic.Sp.A_NG_Bokon, BM093Enic.Sp.A_NG_Bokon, BM096Enic.Sp.A_NG_Bokon, BM042Enic.tikapurensis_NG_Tikap, BM041Enic.tikapurensis_NG_Tikap, BM043Enic.tikapurensis_NG_Tikap, BM039Enic.tikapurensis_NG_Tikap, BM044Enic.tikapurensis_NG_Tikap, BM040Enic.tikapurensis_NG_Tikap	90
83	A03522_NG_Manokwari	100
84	JB836Microtrichalus_NG	100

Pokračování Přílohy 2: Druhové přiřazení vzorků delimitační metodou bPTP (ML).

Číslo druhu	Označení na stromě	Podpora UFboot [%]
85	A03525_NG_Manokwari	100
86	A03577_NG_Manokwari	100
87	A03576_NG_Manokwari	100
88	A01928_Buli	100
89	A02336_Halmahera, A02337_Halmahera	32
90	A02463_Halmahera, A02464_Halmahera, A02462_Halmahera	78
91	A03521_NG_Manokwari, A03486_NG_E_FakFak, A03488_NG_E_FakFak	74
92	BM147Microtrichalus_NG_Elel	100
93	A03524_NG_Manokwari, A03495_NG_Manokwari, A03509_NG_Sorong, A03572_NG_Manokwari, A03510_NG_Sorong, A03565_NG_Manokwari, A03531_NG_Manokwari	100
94	A139Microtrichalus_NG	100
95	BM099Microtrichalus_NG_Yiwi, BM186Microtrichalus_NG_Napua, BM100Microtrichalus_NG_Yiwi, BM098Microtrichalus_NG_Yiwi	92
96	MK859Microtrichalus_Borneo_SabPor, MK862Microtrichalus_Borneo_SabPor, MK773Microtrichalus_Borneo_SabPor, MK914Microtrichalus_Borneo_SabPor, MK858Microtrichalus_Borneo_SabPor, MK852Microtrichalus_Borneo_SabPor, MK846Microtrichalus_Borneo_SabPor, MK848Microtrichalus_Borneo_SabPor, MK847Microtrichalus_Borneo_SabPor	92
97	JB843Microtrichalus_Sum, JB842Microtrichalus_Sum, JB841Microtrichalus_Sum, JB844Microtrichalus_Sum, JB827Microtrichalus_Sum, JB825Microtrichalus_Sum, JB853Microtrichalus_Sum, JB852Microtrichalus_Sum, JB851Microtrichalus_Sum, A456Microtrichalus_Sum, A454Microtrichalus_Sum, A455Microtrichalus_Sum	99
98	408Diatrichalus	100
99	A056Diatrichalus_PHI, A055Diatrichalus_PHI	95
100	A069Microtrichalus_PHI, A068Microtrichalus_PHI, JB802Microtrichalus_PHI	81
101	BM114Diatrichalus_NG_Bokon	100
102	BM192Diatrichalus_NG_Elel	100
103	A03494_NG_Manokwari, A03581_NG_Manokwari	92
104	BM057Enic.divaricatus_NG_Elel, BM002Enic.divaricatus_NG_Sent, BM009Enic.divaricatus_NG_Sent, BM001Enic.divaricatus_NG_Sent, BM016Enic.divaricatus_NG_Sent, BM015Enic.divaricatus_NG_Sent, BM017Enic.divaricatus_NG_Sent	94
105	A211Flabellotrichalus_aus	100
106	A239Microtrichalus_aus, A243Microtrichalus_aus, A242Microtrichalus_aus	94
107	BM167Microtrichalus_NG_Sent, BM164Microtrichalus_NG_Sent, BM160Microtrichalus_NG_Sent, BM169Microtrichalus_NG_Sent	98
108	MK845Diatrichalus_Borneo	100
109	JB777Diatrichalus_Sum, 131Diatrichalus, JB769Diatrichalus_Sum, JB771Diatrichalus_MAL, JB770Diatrichalus_MAL, JB829Trichalus_MAL, A423Diatrichalus_MAL, A424Diatrichalus_MAL	64
110	BM084Enic.pseudoluteolus_NG_Manok	100
111	A03553_NG_N_FakFak, A03542_NG_N_FakFak	92
112	A03489_NG_E_FakFak	100
113	A03556_NG_NE_FakFak, A03559_NG_NE_FakFak, A03554_NG_NE_FakFak, A03555_NG_NE_FakFak, A03558_NG_NE_FakFak	50
114	A433Microtrichalus_Camb, JB840Microtrichalus_Camb, A397Microtrichalus_Camb, JB838Microtrichalus_Camb, A399Microtrichalus_Camb, A432Microtrichalus_Camb, JB830Microtrichalus_Camb	100
115	A03550_NG_N_FakFak	100
116	JB835Microtrichalus_NG, JB833Microtrichalus_NG, JB832Microtrichalus_NG	91
117	A00180Flabellotrichalus_NG	100
118	JB820Microtrichalus_MAL	100
119	A440Microtrichalus_Laos, A441Microtrichalus_Laos, A377Microtrichalus_Laos, A386Microtrichalus_Laos, A387Microtrichalus_Laos, JB819Microtrichalus_Laos, JB824Microtrichalus_Laos, JB847Microtrichalus_Laos	82
120	JB774Diatrichalus_Sul	98
121	A02510_Sulawesi_Utara	98
122	A02395_Halmahera	76
123	A02399_Halmahera, A02430_Halmahera, A02397_Halmahera	37
124	LB0196Microtrichalus_MAL	88
125	BM007Enic.brancuccii_NG_Sent, BM010Enic.brancuccii_NG_Sent, BM005Enic.brancuccii_NG_Sent, BM006Enic.brancuccii_NG_Sent	89

Pokračování Přílohy 2: Druhové přiřazení vzorků delimitační metodou bPTP (ML).

Číslo druhu	Označení na stromě	Podpora UFboot [%]
126	BM051Enic.elelimensis_NG_Elel, BM056Enic.elelimensis_NG_Elel, BM052Enic.elelimensis_NG_Elel, BM092Enic.bokondinensis_NG_Bokon, BM094Enic.bokondinensis_NG_Bokon, BM095Enic.bokondinensis_NG_Bokon, BM012Enic.variabilis_NG_Sent, BM008Enic.variabilis_NG_Sent, BM067Enic.variabilis_NG_Dombo, BM065Enic.variabilis_NG_Dombo, BM066Enic.variabilis_NG_Dombo, BM026Enic.variabilis_NG_Bokon, BM032Enic.variabilis_NG_Bokon, BM030Enic.variabilis_NG_Bokon, BM025Enic.variabilis_NG_Bokon, BM064Enic.variabilis_NG_Dombo, BM031Enic.variabilis_NG_Bokon, BM034Enic.variabilis_NG_Bokon, BM063Enic.variabilis_NG_Dombo, BM049Enic.variabilis_NG_Elel, BM054Enic.variabilis_NG_Elel, BM048Enic.variabilis_NG_Elel, BM055Enic.variabilis_NG_Elel, BM090Enic.variabilis_NG_Bokon, BM053Enic.variabilis_NG_Elel, BM091Enic.variabilis_NG_Bokon, BM086Enic.variabilis_NG_Bokon, BM036Enic.variabilis_NG_Bokon, BM028Enic.variabilis_NG_Bokon, BM035Enic.variabilis_NG_Bokon, BM029Enic.variabilis_NG_Bokon, BM088Enic.variabilis_NG_Bokon, BM027Enic.variabilis_NG_Bokon	35
127	BM081Microtrichalus_NG_Manok	86
128	A03551_NG_N_FakFak	86
129	A02398_Halmahera	67
130	A02396_Halmahera, A02345_Halmahera, A02412_Halmahera	65
131	A02428_Halmahera	91
132	A02465_Halmahera, A02461_Halmahera, A02466_Halmahera	33
133	A03500_NG_Manokwari	76
134	A03537_NG_NE_FakFak	74
135	A03563_NG_Manokwari, A03085_NG_Manokwari	67
136	MD097Microtrichalus_Sul	67
137	MD098Microtrichalus_Sul, 199Microtrichalus_Sul	58
138	MK133Microtrichalus_CHN_Yunn	94
139	JB821Microtrichalus_Laos	94
140	A03025_NG_Manokwari, A03532_NG_Manokwari, A03502_NG_Manokwari, A03535_NG_Manokwari	66
141	A03504_NG_Manokwari, A03580_NG_Manokwari, A03564_NG_Manokwari, A03498_NG_Manokwari, A03499_NG_Manokwari	70
142	A03512_NG_Sorong, A03515_NG_Sorong, A03514_NG_Sorong	82
143	BM152Microtrichalus_NG_Elel, BM122Microtrichalus_NG_Bokon, BM153Microtrichalus_NG_Elel, BM123Microtrichalus_NG_Bokon	84
144	A03574_NG_Manokwari	51
145	A03575_NG_Manokwari	51
146	BM105Flabellotrichalus_NG_Yiwi	74
147	BM151Flabellotrichalus_NG_Elel	74
148	BM119Microtrichalus_NG_Bokon	78
149	A03547_NG_N_FakFak	78
150	A03546_NG_N_FakFak_2	67
151	A03567_NG_Manokwari, A03516_NG_Sorong, A03568_NG_Manokwari, A03569_NG_Manokwari, A03518_NG_Sorong, A03517_NG_Sorong	55
152	A02353_Halmahera	57
153	A02393_Halmahera	57
154	A03570_NG_Manokwari	47
155	A03493_NG_Manokwari, A03571_NG_Manokwari	24
156	BM150Flabellotrichalus_NG_Elel, BM149Flabellotrichalus_NG_Elel, BM148Flabellotrichalus_NG_Elel	30
157	BM110Flabellotrichalus_NG_Yiwi, BM103Flabellotrichalus_NG_Yiwi, BM184Flabellotrichalus_NG_Napua, BM111Flabellotrichalus_NG_Yiwi, BM132Flabellotrichalus_NG_Tikap, BM129Flabellotrichalus_NG_Tikap, BM107Flabellotrichalus_NG_Yiwi, BM128Flabellotrichalus_NG_Tikap, BM131Flabellotrichalus_NG_Tikap, BM112Flabellotrichalus_NG_Yiwi, BM130Flabellotrichalus_NG_Tikap, BM106Flabellotrichalus_NG_Yiwi	35
158	A446Microtrichalus_Sum, A447Microtrichalus_Sum	60
159	A073Microtrichalus_PHI	49
160	412Microtrichalus_PHI	49
161	A03548_NG_N_FakFak	33
162	A03545_NG_N_FakFak	33
163	MK861Microtrichalus_Borneo_SabPor	89

Pokračování Přílohy 2: Druhové přiřazení vzorků delimitační metodou bPTP (ML).

Číslo druhu	Označení na stromě	Podpora UFboot [%]
164	L23Microtrichalus_Borneo	83
165	JB826Microtrichalus_MAL	83
166	JB849Microtrichalus_Sum	37
167	JB848Microtrichalus_Sum, JB850Microtrichalus_Sum, JB828Microtrichalus_Sum, A448Microtrichalus_Sum, LB0514Microtrichalus_SUM	30
168	A03487_NG_E_FakFak	75
169	A03501_NG_Manokwari, A03562_NG_Sorong, A03561_NG_Sorong, BM0165Lobatang_NG_Sent, BM0166Lobatang_NG_Sent, BM0145Lobatang_NG_Elel, A03549_NG_N_FakFak, BM0075Lobatang_NG_Manokwari, BM0144Lobatang_NG_Elel, A03533_NG_Manokwari, A03526_NG_Manokwari, A03529_NG_Manokwari, A03527_NG_Manokwari, BM0146Lobatang_NG_Elel, A03492_NG_Bintuni, BM0076Lobatang_NG_Manokwari, A03528_NG_Manokwari	29
170	BM177Microtrichalus_NG_Sent, BM121Microtrichalus_NG_Bokon, BM124Microtrichalus_NG_Bokon	49
171	A357Microtrichalus_QLD, A270Microtrichalus_QLD, A362Microtrichalus_QLD	45
172	A156Diatrichalus_NG	50
173	A131Diatrichalus_NG	50
174	A03491_NG_Bintuni	49
175	A03490_NG_Bintuni	49