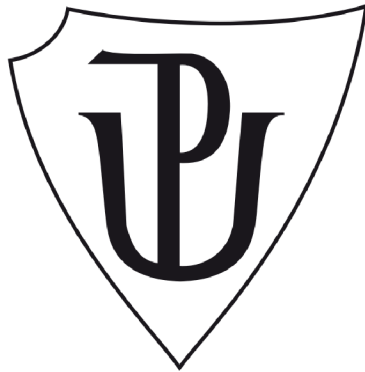


UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

KATEDRA BOTANIKY



**Fylogeneze vybraných linií rodu *Cladophorus* v
papuánské oblasti**

Bakalářská práce

Vypracoval: Jakub Mikulášek

Studijní program: Biologie pro vzdělávání

Studijní obor: Biologie major a zeměpis minor

Forma studia: prezenční

Vedoucí práce: Mgr. Michal Motyka Ph.D.

Olomouc 2024

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně pod vedením vedoucího práce Mgr. Michala Motyky Ph.D. a uvedl jsem veškeré zdroje a literaturu, ze kterých jsem čerpal.

V Olomouci dne

.....

Jakub MIKULÁŠEK

Rád bych poděkoval panu Mgr. Michalu Motykovi, Ph.D., za jeho odborné rady a vedení práce. Mé díky patří také členům výzkumného týmu za možnost konzultací, zejména Mgr. Renatě Bílkové za školení při editaci molekulární analýzy. V neposlední řadě děkuji své rodině, přátelům a mému příteli za jejich neustálou podporu a motivaci během celého studia.

BIBLIOGRAFICKÁ IDENTIFIKACE

Jméno a příjmení autora: Jakub Mikulášek

Název práce: Fylogeneze vybraných linií rodu *Cladophorus* v papuánské oblasti

Typ práce: Bakalářská práce

Pracoviště: Katedra botaniky

Vedoucí práce: Mgr. Michal Motyka, Ph.D.

Rok obhajoby práce: 2024

Abstrakt

Tato studie provádí podrobnou analýzu diverzity a evolučních trendů rodu *Cladophorus*, který zahrnuje endemické brouky z čeledi Lycidae na Nové Guineji. Skrze integraci morfologických a molekulárních dat, včetně sekvenací genů *cox1*, *tRNA-Leu* a *cox2*, jsem objasnil fylogenetické vztahy a taxonomickou klasifikaci těchto organismů. Tento interdisciplinární přístup odhalil klíčové evoluční mechanismy a poskytl hlubší vhled do evoluční dynamiky brouků v jednom z biogeograficky nejbohatších regionů. Výsledky této práce poskytují podklady pro další výzkum v evoluční biologii a napomáhají lepšímu pochopení ekologických a evolučních procesů, které formují tropické lesy. Identifikovali jsme 11 nových druhů z 31 sekvencí, přičemž jsme se zaměřili na 5 nejvýznamnějších, které se odlišují morfologií kopulačního orgánu. Navíc se tato studie zabývá tvorbou didaktických materiálů pro výuku druhých ročníků gymnázií, kde se žáci seznamují se systematikou hmyzu, jeho ekologií, etologií a evolučními procesy.

Klíčová slova: Coleoptera, Lycidae, *Cladophorus*, aposematismus, *cox1*, mtDNA, fylogeneze, taxonomie

Počet stran: 51

Počet příloh: 3

Jazyk: čeština

BIBLIOGRAPHIC IDENTIFICATION

First name and surname of the author: Jakub Mikulášek

Name of the thesis: Phylogeny of selected lineages of the genus *Cladophorus* in the Papuan region

Type of thesis: bachelor

Workplace: Department of botany

Thesis supervisor: Mgr. Michal Motyka, Ph. D.

Year of defence: 2024

Abstract

This study provides a detailed analysis of the diversity and evolutionary trends of the genus *Cladophorus*, which includes beetles endemic to the family Lycidae in New Guinea. Through the integration of morphological characters and molecular data, including *cox1*, *tRNA-Leu* and *cox2* gene sequences, we elucidated the phylogenetic relationships and taxonomic classifications of these organisms. This interdisciplinary approach revealed key evolutionary mechanisms and provided deeper insights into the evolutionary dynamics of beetles in one of the most biogeographically rich regions. The results of this work provide a foundation for further research in evolutionary biology and contribute to a better understanding of the ecological and evolutionary processes that shape tropical forests. We identified 11 new species from 31 sequences, focusing on the 5 most important ones that differ in aedeagus organ morphology. In addition, this study deals with the development of didactic materials for teaching second year high school students about insect systematics, ecology, ethology and evolutionary processes.

Keywords: Coleoptera, Lycidae, *Cladophorus*, aposematism, *cox1*, mtDNA, phylogeny, taxonomy

Number of pages: 51

Number of attachments: 3

Language: Czech

Obsah

1.	Úvod a cíl práce	8
2.	Biodiverzita.....	9
3.	Molekulární biologie	10
4.	Aposematismus	11
4.1.	Učení predátorů	11
4.2.	Využití aposematismu	13
4.3.	Mimikry	14
4.3.1.	Batesovy mimikry	14
4.3.2.	Müllerovy mimikry.....	14
5.	Charakteristika skupiny	16
5.1.1.	Morfologie larev	16
5.1.2.	Morfologie dospělců.....	16
5.1.3.	Ekologie.....	16
6.	Nová Guinea	17
6.1.	Klima	17
6.2.	Tektonika Nové Guiney	18
6.2.1.	Současná tektonika.....	18
6.2.2.	Vulkanismus.....	19
7.	Metody a materiál	21
7.1.	Materiál	21
7.2.	Metody	22
7.2.1.	Laboratorní metody.....	22
7.2.2.	Fylogenetická analýza.....	23
7.2.3.	Morfologická analýza.....	23
8.	Výsledky.....	25
8.1.	Popis linií identifikovaných jako potenciálně nepopsané druhy.....	28
9.	Diskuse.....	36
10.	Závěr	37
11.	Didaktika.....	37
11.1.	Teoretická hodina.....	38
11.2.	Laboratorní cvičení.....	38
12.	Literatura	39

Seznam obrázků

Obr. 1: Průměrná roční teplota v °C

Obr. 2: Tektonická mapa Nové Guineje. Seismicita, sopky a vektory pohybu desek

Obr. 3: Mapa lokalit sběru

Obr. 4: Fylogenetický strom rodu *Cladophorus* s outgroup

Obr. 5: Fylogenetický strom rodu *Cladophorus* s Outgroup

Obr. 6-10: Detailní fotografie brouků

Obr. 11: Srovnání kopulačních orgánů

Obr. 12: Vzdálenosti mezi lokalitami sběru polymorfního druhu

Obr. 13: Vybraní zástupci polymorfního druhu z oblasti Mt. Hagen, Rondon Ridge

Seznam tabulek

Tab. 1: Čísla vzorků s přesnou lokalitou sběru

Tab. 2: Výsledky analýzy programu ModelFinder

Tab. 3: Počet rozdílných bází mezi jednotlivými vzorky

Tab. 4: Genetická vzdálenost mezi jednotlivými vzorky [%]

1. Úvod a cíl práce

Řád Coleoptera, známý také jako brouci, představuje nejrozmanitější skupinu organismů na Zemi. S přibližně 400 000 popsány druhy (Stork, 2018) tvoří brouci více než 25 % všech známých živočišných druhů. Jejich evolučnímu úspěchu napomohla schopnost přizpůsobit se nejrůznějším ekologickým nikám a potravním strategiím. Morfologická diverzita brouků je ohromující, od drobných druhů menších než 1 mm po gigantické druhy dorůstající přes 15 cm. Jejich tělo je kryto pevnou kutikulou, která vytváří ochranný krunýř, a první pár křídel je přeměněn v pevné krovky (elytra). Brouci prošli složitým evolučním vývojem, který dal vzniknout četným adaptacím a komplexním životním strategiím. Brouci osídlili téměř všechny suchozemské biotopy od tropických deštných lesů po pouště a od nížin po vysoké nadmořské výšky. Vyskytují se také ve sladkovodních ekosystémech a několik druhů se dokonce přizpůsobilo životu v přílivové zóně moří. Potravní specializace brouků zahrnuje herbivorii, fungivorii, detritovorii, nekrovorii i predaci, přičemž některé druhy jsou významnými škůdci či přenašeči chorob, zatímco jiné hrají klíčovou roli v opylování rostlin nebo rozkladu organické hmoty (Gullan a Cranston, 2014).

Jednou z nejrozmanitějších čeledí v rámci řádu Coleoptera je čeleď Lycidae (dlouhoústcovití), která zahrnuje přes 4 000 popsáných druhů (Bocák a Bocáková, 2008). Tato čeleď patří do nadčeledi Elateroidea, série Elateriformia a podřádu Polyphaga (Bocáková et al., 2007). Dlouhoústcovití jsou známí především díky aposematickému zbarvení a účasti v mülleriánských mimikrech. Představují fascinující skupinu brouků s komplikovanou taxonomií a dosud nedostatečně prozkoumanou diverzitou, zejména v tropických oblastech.

Tato práce si klade za cíl prozkoumat diverzitu rodu *Cladophorus* z čeledi Lycidae pocházející z Nové Guineje. Vzhledem k výskytu mülleriánských mimiker v čeledi Lycidae bude kladen důraz na detailní studium morfologických znaků dospělců, které budou využity pro vymezení jednotlivých druhů. Současně bude provedena fylogenetická analýza založená na mitochondriálním genu *cox1*, která poskytne nezávislou podporu pro rozlišení druhů a odhalí evoluční vztahy mezi nimi. Výsledky této analýzy budou také použity k revizi stávající systematiky rodu *Cladophorus* a k identifikaci a popisu jeho bazálních linií. Tato práce si klade za cíl přispět k hlubšímu porozumění diverzitě a evoluci této skupiny brouků na Nové Guineji a poskytnout pevný základ pro jejich taxonomii a další výzkum.

2. Biodiverzita

Biodiverzita neboli biologická rozmanitost, je termín, který popisuje rozmanitost života na Zemi ve všech jeho formách. Zahrnuje nejen druhovou různorodost, ale také genetickou variabilitu v rámci druhů a ekologickou rozmanitost, což se týká různých ekosystémů a společenstev organismů a jejich interakcí s prostředím (DeLong, 1996; Maclaurin a Sterelny, 2008; Rawat a Agarwal, 2015).

O biodiverzitě je třeba uvažovat různými způsoby. Jedním z nich je evoluční a časové hledisko, tedy jak se druhy vyvíjely od jednoho společného předka k mnoha liniím, které jsou adaptované na podmínky, ve kterých žijí (Lovejoy, 1997). Evoluce je definována jako změna v genetické informaci (frekvenci alel) v populaci, zahrnující mechanismy vedoucí ke změnám v relativním zastoupení různých typů genů, které přetrvávají z jedné generace na druhou (Wilkins, 2001). Základními mechanismy evoluce jsou selekce, genetický drift, mutace a genový tok (Swaddle, 2010). Selekcce zvyšuje četnost alel poskytujících výhodu ve fitness, což znamená, že jedinci s těmito alelami produkují více potomků (Swaddle, 2010). Genetický drift označuje náhodné procesy během meiotického dělení ovlivňující vznik další generace jedinců, což vysvětluje genetické rozdíly mezi sourozenci (Swaddle, 2010; Šafářová, 2011). Mutace jsou změny v genetické informaci přenášené na další generaci, které mohou poskytovat výhodu v přežití a reprodukci (Šafářová, 2011). Genový tok označuje přesun genů mezi populacemi, přičemž migranti přinášejí nové alelické kombinace, což může zvýšit genetickou variabilitu a adaptivní potenciál populace (Šafářová, 2011; Edelaar, 2012). Naopak, může působit proti místní adaptaci a změnám genové frekvence způsobeným selekcí (Lenormand, 2002). Evoluční biologie nám umožňuje pochopit, jak se druhy rozrůznily a přizpůsobily svému prostředí během milionů let a popisuje fylogenetické vztahy mezi jednotlivými taxony.

Dalším způsobem, jak uvažovat o biodiverzitě, je charakteristika společenstev a jejich geografické rozložení (Lovejoy, 1997). Společenstva organismů jsou často ovlivněna klimatem, typem vegetace a dalšími ekologickými faktory, které určují, kde se jednotlivé druhy vyskytují. Například tropické deštné lesy mají největší biodiverzitu na světě. Vlhké podmínky, které jsou rovnoměrně rozloženy po celý rok, poskytují tropickým lesům stabilitu a ideální prostředí pro život mnoha různých druhů. Podle odhadů se v tropických deštných lesích nachází až 50 % všech známých druhů (Lovejoy, 1997; Mayers, 2003). Nicméně skutečný rozsah biodiverzity v těchto lesích zůstává stále neznámý, protože neustále objevujeme nové druhy. To naznačuje, že biodiverzita v těchto ekosystémech může být mnohem větší, než jsme dosud předpokládali.

Biodiverzita hraje klíčovou roli v tvorbě a ochraně půdy (Rawat a Agarwal, 2015), zachování a čištění vody, udržování hydrologických cyklů, regulaci biochemických cyklů a absorpci a odbourávání znečišťujících a odpadních látek prostřednictvím rozkladu (IUCN, 2012). Dále přispívá k regulaci přirozeného světového klimatu. Biodiverzita má také přímý vliv na náš blahobyt. Díky ní získáváme různé zemědělské suroviny, potraviny, léky a průmyslové suroviny. Například více než 60 volně žijících druhů bylo využito ke zlepšení 13 hlavních světových plodin tím, že poskytly geny pro odolnost vůči škůdcům, vyšší výnosy a lepší výživu. V tradiční i moderní medicíně se používá více než 70 000 různých druhů rostlin. Díky mikrobům máme téměř všechna antibiotika, jako je penicilin (Rawat a Agarwal, 2015). Přestože biologická rozmanitost přináší mnoho výhod, hrozby pro druhy a ekosystémy se alarmujícím

tempem zvyšují. Biodiverzita rychle klesá kvůli faktorům, jako jsou změny a ničení stanovišť způsobené změnou využití půdy, nadměrným využíváním biologických zdrojů, klimatickými změnami, znečištěním a invazními druhy. Tyto přírodní nebo člověkem způsobené faktory mají tendenci se vzájemně ovlivňovat a zesilovat. Úbytek biologické rozmanitosti a související změny životního prostředí jsou nyní rychlejší než kdykoli předtím v historii lidstva a nic nenasvědčuje tomu, že by se tento proces měl zpomalit. Pětiletý odhad celosvětového úbytku lesních porostů mezi lety 2000 a 2005 činil 3,1 %. Ve vlhkých tropech, kde je hlavní příčinou úbytku lesů těžba dřeva, bylo ztraceno 272 000 km² z celkových 11 564 000 km², což představuje 2,4 % (Rawat a Agarwal, 2015). Tyto ztráty v tropech mají zvláště závažné důsledky kvůli vysoké úrovni endemismu, což vede k vymírání druhů. Výzkum a ochrana jsou proto klíčové pro zachování celosvětové biodiverzity. „Každý organismus má přirozené právo na existenci bez ohledu na to, zda je pro člověka cenný, či nikoli. Lidstvo je součástí přírody a svět přírody má hodnotu pro lidské dědictví. Blaho všech budoucích generací je společenskou odpovědností současných generací“ (Rawat a Agarwal, 2015).

3. Molekulární biologie

Dobzhanského citát "Nic v biologii nedává smysl jinak než ve světle evoluce." ilustruje důležitost evoluční biologie pro pochopení života. Mimořádný pokrok v molekulární a vývojové biologii v posledních desetiletích poskytl pevné a konzistentní vysvětlení mnoha otázek týkajících se původu a evoluce života.

Moderní taxonomie je klíčová pro identifikaci a klasifikaci druhů, což je zásadní pro ochranu přírody a biologický výzkum (de Carvalho, 2007). Avšak v tropických oblastech je nedostatečně popsána biodiverzita. Velké množství druhů v jedné oblasti, které sdílejí podobné či dokonce stejné morfologické znaky, nelze určit pomocí tradiční morfologické systematiky. Proto se musí přistoupit k alternativním metodám, jako je sběr molekulárních dat, které jsou praktičtější a spolehlivější (Zhang et al., 2019). Jednou z těchto metod je DNA barcoding, který navrhli Hebert a jeho kolegové. Tato metoda spočívá ve využití cca 600 párů bází mitochondriálního fragmentu cytochrom oxidázy podjednotky 1 (Hebert et al., 2003). Barcoding vychází z předpokladu, že krátká standardizovaná sekvence může rozlišit jedince určitého druhu, protože genetická variabilita mezi druhy převyšuje variabilitu v rámci druhu.

U některých vzorků, kde sekvenování fragmentu *cox1* nepřineslo dostatečné výsledky, se používá analýza malých úseků jaderné DNA (Hajibabaei et al., 2007). Jak ukazují studie, barcoding má široké využití napříč biologií. Například lze provést před běžnou taxonomickou prací a tím rychle roztřídit vzorky do geneticky odlišných skupin, což je užitečné v neprozkoumaných skupinách, jak bylo prokázáno u housenek v Kostarice (Janzen et al., 2005). Dále barcoding může pomoci při výběru taxonů pro fylogenetické studie, protože identifikuje druhy a nové taxony, které jsou kandidáty pro detailní analýzu (Hajibabaei et al., 2007). Z důvodu, že mitochondriální DNA je haploidní a dědí se uniparetálně, tak byla častým cílem analýz a měla zvláště silný přínos pro studie na úrovni populací (Avice, 1994). Ačkoliv typické sekvence informací shromažďované pro barcoding nejsou dostatečné k řešení otázek na úrovni populací, mohou poskytnout první náhled na genetickou diverzitu uvnitř druhu (Hajibabaei et al., 2007).

Barcoding významně přispívá k taxonomii, fylogenetice a populační genetice. Umožňuje rychlou identifikaci druhů a označování atypických vzorků pro detailní analýzu. S růstem databází, které zpracovávají stovky tisíc vzorků ročně, barcoding rozšiřuje naše znalosti a usnadňuje genetické analýzy (Hajibabaei et al., 2007). Tím se stává nepostradatelným nástrojem v moderní biologii, podporujícím efektivní a přesné zpracování biologických dat, což je klíčové pro další pokroky ve vědeckém výzkumu a ochranu biodiverzity.

4. Aposematismus

V průběhu evoluce si kořist vyvinula mnoho sofistikovaných strategií, jak uniknout predátorovi, přičemž dvě z těchto taktik představují krajní póly ve zbarvení. Prvním z nich je kryptické zbarvení, kdy se kořist snaží co nejvíce napodobit barvy a vzory svého okolí, což jí umožňuje splynout s prostředím a zůstat tak neviditelná pro predátory (Merilaita et al., 2005). Druhým extrémem jsou aposematické signály. V tomto případě kořist využívá nápadného vzhledu, zvuku nebo jiného prostředku k tomu, aby predátorům sdělila, že je nebezpečná nebo nechutná (Tseng et al., 2014).

Mezi nejběžnější barevné výstražné signály patří kombinace černé barvy s červenou, žlutou nebo modrou. Tyto signály jsou přítomny u různých skupin živočichů, jako jsou například žáby (Saporito et al., 2007), ptáci (Dumbacher et al., 2004), brouci (Motyka et al., 2023) nebo hadi (Vergara et al., 2014). Výstražné signály nejsou omezeny pouze na barvy, mnoho živočichů ukazuje svou nebezpečnost pomocí zvuků, pachů nebo ukázky zbraní. Například chřestýši mají na konci těla tzv. chřestidlo, tvořené zrohovatělými šupinami, které při třesení ocasem vydává charakteristický zvuk (Owings et al., 2002).

V některých ekosystémech nebo situacích, kde vizuální varovné signály nejsou efektivní, například u nočních nebo jeskynních tvorů, se využívají jiné druhy aposematických signálů. Jedním z příkladů je schopnost bioluminiscence u světlušek. Zatímco dospělé světlušky využívají své světelné signály hlavně jako sexuální atraktant, u jejich larev bylo prokázáno, že bioluminiscence slouží jako aposematický signál (Underwood et al., 1997; Cock a Matthysen, 1999). Dalším zajímavým příkladem jsou členové čeledi Arctiidae, kteří vydávají ultrazvukové „kliky“. Tyto zvuky byly pozorovány v souvislosti s útoky netopýrů. Jedna z teorií byla, že tyto kliky jsou načasovány do „okna“ v echolokaci netopýrů, čímž by jim ztížily přesné určení polohy kořisti. Tato hypotéza se však ukazuje jako nepravděpodobná, protože zmíněné okno je velmi krátké, pouhých 1,5 milisekundy. Přesné načasování kliků na určitého netopýra by bylo nesmírně složité (Urbanik, 2013), a proto se vědci přiklánějí k teorii, že klikání je ve skutečnosti aposematický signál (Ratcliffe et al., 2008; Dunning et al., 1992).

4.1. Učení predátorů

Už 150 let se klade otázka, proč by kořist měla upozorňovat predátora na svou přítomnost pomocí výstražných signálů (Skelhorn et al., 2016). Myšlenku, že nápadné zbarvení u larev motýlů (Lepidoptera) se vyvinulo proto, aby upozornily predátory na obsah toxinů, pronesl poprvé Alfred Wallace (Wallace, 1889).

Aby byly aposematické signály dostatečně úspěšné v selekci skrze vlivy prostředí, musel se vyvinout vztah mezi aposematickou kořistí a predátorem, který by byl pro oba výhodný. Kořist bude díky signálům chráněna a predátor bude varován před její nebezpečností.

Základním předpokladem je, že se predátor dokáže znaky naučit a zapamatovat. Učením tedy rozumíme proces získávání a uplatňování zkušeností vedoucí ke změně chování (Rescorla, 1988). Tento proces může probíhat dvěma způsoby.

Zprvė opakovanými útoky na aposematickou kořist. Mnoho druhů nejprve "ochutná" nový druh kořisti a na základě této zkušenosti si vytvoří paměťovou stopu (Skelhorn et al., 2016; Berenbaum a Miliczky, 1984), kde se propojí signály aposematika s jeho toxicitou. Takto predátor rozpozná kořist díky aposematickým signálům (Kikuchi et al., 2021) a dojde ke snížení počtu útoků (Sillén-Tullberg, 1985). Toto učení probíhá na principu Pavlova podmiňování (Skelhorn et al., 2016), kde se propojuje podmíněný podnět s nepodmíněným (Pavlov, 1923). V případě aposematismu podmíněný podnět představuje varovný signál a vliv toxinů podnět nepodmíněný (Skelhorn et al., 2016).

Za druhé, sociální učení, které je definováno jako učení vyplývající z pozorování a interakce s chováním jiných jedinců a přispívá k osvojení si důležitých dovedností a informací o prostředí. To je klíčové pro horizontální šíření chování v populaci (Reed et al., 2010). Nejčastějším druhem sociálního učení je pozorování starších a zkušenějších jedinců a jejich napodobování (Landová et al., 2017). Většina studií se zaměřuje na získávání nových schopností, jako je používání nástrojů (Holzhaidner et al., 2010), výběr partnera a namlouvací rituály (Freeberg, 2004) či rozeznávání nebezpečí (Griffin, 2004). Landová s jejími spolupracovníky ovšem dokázali vliv sociálního učení na výběr kořisti v rámci aposematismu. Tento důkaz získali na sýkorách koňadrách (*Parus major*), kde provedli experiment. Mladou sýkoru uzavřeli do malé klece uprostřed velké klece, kam vpustili dospělou zkušenou sýkoru. Dospělé sýkoře dávali na výběr z moučných červů a aposematicky zbarvených ploštic. Mladá sýkora odpozovala, že demonstrátor si vybíral jen aposematicky nezbarvenou potravu. Jakmile pokus měla napodobit, potřebovala méně útoků než kontrolní skupina, která demonstrátora neviděla (Landová et al., 2017). Ovšem je důležité upozornit, že aby sociální učení mělo lepší výsledky, sledující musí vidět demonstrátorovo chování či reakci jeho metabolismu po požití jedovaté potravy (Visalberghi a Fragaszy, 1996). Autoři se však shodují, že procesem učení si musí každý jedinec projít i sám (Landová et al., 2017; Visalberghi a Fragaszy, 1996), sociální učení pozorováním jen tento proces urychlí.

Dalším aspektem rychlosti učení predátorů je samotná velikost skupiny aposematických živočichů. Gamberale a Tullberg ve svých experimentech s kuřaty zjistili, že pravděpodobnost útoku se snižuje se zvyšující se velikostí skupiny aposematických larev, zatímco velikost skupiny neaposematických larev neměla na počáteční pravděpodobnost útoku vliv. Toto zjištění podporuje hypotézu, že gregarita, neboli život ve skupinách, zvyšuje účinnost aposematických signálů a snižuje riziko útoku predátory. Studie ukazují, že aposematismus spolu s gregaritou může poskytovat výraznou ochranu před predátory, kteří se naučí vyhýbat se jasně zbarvené kořisti (Gamberale a Tullberg, 1998).

Predátoři mohou navzdory rizikům zaútočit na aposematicky zbarvenou kořist. Tento riskantní krok podnikají zejména tehdy, pokud trpí energetickým deficitem nebo mají nízké tukové zásoby (Barnett et al., 2007; Barnett et al., 2012). Dále je toto chování běžné, když v jejich okolí chybí dostatek alternativní potravy (Halpin et al., 2013; Kikuchi et al., 2021). V takových situacích pro predátory není výhodné vyhýbat se aposematické kořisti, protože raději

přijmou menší dávku toxinu, kterou jsou schopni strávit, než aby riskovali smrt hladu. Toto rozhodnutí je výsledkem adaptivního chování, které umožňuje predátorům přežít i v obtížných podmínkách.

4.2. Využití aposematismu

Aposematické signály neslouží pouze k odrazení predátorů. Různé druhy je také využívají ke zvýšení konkurenceschopnosti o zdroje nebo jako prostředek intradruhové komunikace. Pokud se jedná o konkurenceschopnost o zdroje, můžeme se podívat na příklad čmeláka ohnivého (*Bombus ardens*), který aktivně využívá své varovné signály k přebírání hnízd, jež již osídlily sýkory koňadry (*Parus major*). Oba tyto druhy si staví hnízda v dutinách stromů. Pokud sýkora nechá své hnízdo nehlídané během jeho přípravy pro hnízdění, může se stát, že jej obsadí čmelák. Jakmile sýkora zjistí přítomnost čmeláka prostřednictvím jeho výstražného bzučení, často hnízdo opustí. Po předchozích zkušenostech s čmeláky se sýkory naučí rozpoznat bzučení čmeláka, které pro ně představuje potenciální nebezpečí ve formě bodnutí žihadlem. Dále se předpokládá, že čmeláci se zaměřují pouze na rozestavená hnízda sýkor, protože během inkubace vajec nebo při péči o mláďata nebyly zjištěny žádné známky napadení čmelákem. To naznačuje, že čmeláci neútočí na hnízda s vejci nebo mláďaty, protože očekávají silnější obrannou reakci od sýkor (Jablonski et al., 2013). Péče o vejce a mláďata je mnohem energeticky náročnější než tvorba hnízda, takže by se čmelákům riskování při útoku na taková hnízda nemuselo vyplatit. Tento příklad ukazuje výhodnost aposematických signálů, protože čmelák může získat hnízdo bez vynaložení velkého množství energie. Výstražné signály mu umožňují zastrašit sýkory a obsadit jejich hnízda, čímž šetří energii, kterou by jinak musel vynaložit na stavbu vlastního hnízda.

Podobně se projevuje role aposematismu v sexuální komunikaci a výběru partnera. Jedním ze způsobů, jak zvýšit účinnost signálu, je stimulovat více smyslů příjemce zároveň (Partan a Marler, 1999). Tento typ multimodální komunikace se běžně používá jak v aposematismu (Poulton, 1890; Rojas et al., 2018; Ruxton et al., 2018) tak i v sexuální komunikaci (Rojas et al., 2018). Tento jev popsala Finkbiener s jejími spolupracovníky na motýlech *Heliconius erato*, kteří se vyskytují v několika morfotypech, přičemž samice preferují samce s větším červeným polem (Finkbiener et al., 2014). Dalším příkladem je prástevník jitrocelový (*Arctia plantaginis*), který má pohlavní dimorfismus. Tento druh se brání dvěma odlišnými látkami, jedna je produkována z análního traktu a slouží k odrazení bezobratlých predátorů a druhá je produkována ze žláz za hlavou, a slouží proti ptákům (Rojas et al., 2017). Důležitější je ovšem jeho vlastnost polymorfismu mezi samci ve stejné lokalitě, ti se vyskytují v bílo-černé a žluto-černé variantě (Lindstedt et al., 2011). Poslední studie ukazují rozdílnou úspěšnost v hledání partnera mezi jednotlivými morfotypy. I když žluté variantě se více vyhýbají predátoři, samice si spíše volí bílé morfy (Rojas et al., 2018).

Aposematismus snižuje predační tlak na živočichy. Tento fakt jim umožňuje více využívat hlasové projevy v době páření. Studie Santose a kolektivu dokázala, že jedovaté žáby (Dendrobatidae) si vyvinuly silnější a častější hlasové projevy než krypticky zbarvené druhy. Ty se naopak spoléhají na úkryty a pokud je predační tlak moc vysoký, sniží početnost hlasových projevů (Santos et al., 2014). Maan a Cummings navíc došli k závěru, že samice jedovatých žab si volí především sytější zbarvené samce, kteří mají vyšší postavení v hierarchii (Maan a

Cummings, 2008). Sytější samci mají dokonce vyšší hladinu toxinů (Maan a Cummings, 2012). Autoři se shodují, že aposematismus nemusí být jen přírodní selekce, ale také sexuální selekce (Maan a Cummings, 2009; Rojas et al., 2018; Santos et al., 2014; Rojas et al., 2012).

4.3. Mimikry

Mimikry byly jedním z hlavních argumentů potvrzující Darwinovu teorii přírodní selekce (Wallence, 1864; Poulton, 1898). Mimikry je fenomén, při kterém jeden organismus napodobuje vzhled, chování nebo zvuky jiného organismu nebo okolního prostředí, aby získal výhodu, obvykle v podobě ochrany před predátory nebo zvýšení své efektivity při lovu. Běžně mimikry zahrnují dva signalisty s podobnými či stejnými varovnými signály a jednoho příjemce (Holmgren a Enquist, 1999). Pravému aposematikovi se říká „model“ a napodobitelovi „mimik“ (Sherratt, 2002). Klasickým příkladem jsou Batesovy mimikry, kdy mimik není nijak nebezpečný, jen kopíruje signály modelu (Bates, 1861; Holmgren a Enquist, 1999; Sherratt, 2002). V případě Müllerových mimikry je situace komplikovanější, protože oba organismy jsou chráněny, což znamená, že oba dva jsou si navzájem modelem (Müller 1879; Holmgren a Enquist, 1999). Důležité je, že oba organismy, jak mimik, tak i model, těží z reakce příjemce, v tomto případě „neútočit“. Rozdílem je rychlost učení konkrétní formy signálu příjemcem (Kikuchi et al., 2021; Skelhorn et al., 2016).

Přestože mimikry často bývají popisovány jako koevoluce dvou druhů, tak ve skutečnosti vznikají mimetické komplexy zahrnující více navzájem podobných si druhů, kteří si nejsou příbuzní (Mallet a Gilbert, 1995; Gilbert, 2005; Schmidt, 2004). Například komplexy dlouhoústcovitých (Lycidae) zahrnující brouky čeledi Lycidae, motýli Arctiidae, parazitické Hymenoptera a mouchy, kde základem je černá barva s oranžovými prvky (Linsley et al., 1961). Takové mimetické komplexy představují složité ekosystémy, kde více druhů sdílí podobné varovné signály, což zvyšuje efektivitu ochrany proti predátorům. Tato sdílená strategie je výhodná, protože predátoři se rychleji naučí vyhýbat všem organismům s podobnými signály, čímž se snižuje tlak na jednotlivé druhy.

4.3.1. Batesovy mimikry

Batesovy mimikry, kde nechráněný živočich (mimik) napodobuje aposematické signály modelu, jsou považovány za klasický příklad přírodní selekce (Sherratt, 2002). Vztah mezi modelem a mimikem je velice úzký, na mimika je vysoký selekční tlak, a proto se musí vzhledově co nejvíce podobat modelu. Mimik se tudíž vyvíjí rychleji než model, aby se přiblížil k jeho fenotypu (Fisher, 1930; Sherratt, 2002). Tento vztah však může vést k určitým problémům. Vysoká podobnost mezi mimikem a modelem může způsobit, že se predátoři pomaleji učí vyhýbat se aposematickým signálům. Predátoři, kteří mají špatnou zkušenost s modelem, mohou tuto zkušenost přenést i na mimika, ale pokud je frekvence napodobitelů vysoká, může to oslabit účinnost aposematických signálů jako varovného mechanismu (Kikuchi et al., 2021). To vede k fenoménu, kde přítomnost mimiků může podkopávat práci modelů, protože predátoři mohou začít ignorovat varovné signály, pokud narazí na příliš mnoho nechráněných mimiků.

4.3.2. Müllerovy mimikry

Müller nejprve předpokládal, že podobnost živočichů ve stejné lokalitě je výsledkem sexuální selekce podle Darwinovy teorie. To by však znamenalo, že by se tento jev projevoval

hlavně u samců (Sherratt, 2008). Nicméně, tam kde se vyskytuje sexuální dimorfismus, mají větší tendenci být mimiky právě samice (Turner, 1978). Müller nakonec vyslovil teorii, že mimikry vznikly v důsledku predáčního tlaku (Müller, 1879). Tvrdil, že pokud dva nebo více jedovatých, nechutných či jinak nebezpečných druhů mají stejné aposematické signály, predátoři se rychleji naučí tyto signály rozpoznávat. Předpokládal, že nezkušení predátoři se musí učit rozpoznávat různé varovné signály jednotlivě a že potřebují určité množství pokusů a omylů, aby se naučili vyhýbat specifickému signálu. Navrhl, že pokud druhy kořisti sdílejí varovný signál, sdílejí i náklady na vzdělávání predátorů, čímž snižují svou úmrtnost způsobenou neznalými predátory.

Tato teorie může vysvětlovat, proč je u aposematických druhů selekcí upřednostňována podobnost vzhledu. Müllerovská mimikry, tedy blízka podoba mezi aposematickými druhy, a příbuznost ko-mimiků přitahují značný teoretický zájem. Byla zkoumána dynamika těchto systémů a možné evoluční cesty ke společnému varovnému signálu (Fisher, 1927; Turner, 1977; Balogh a Leimar, 2005). Mutualismus a tendence k monomorfismu ve výstražném signálu jsou přisuzovány klasickému Müllerovu mimikry (Turner, 1987; Sherratt, 2008), protože představují scénář „síly v počtu“, kde zvýšení hustoty kteréhokoli spolumimikovaného druhu prospívá všem (Müller, 1879). Tato teorie byla prokázána studii zpětného odchytu (mark-recapture) s aposematickými motýly, které ukázaly, že pro kořist je nevýhodné, pokud se odchyluje od společného varovného signálu (Kapan, 2001).

Navzdory obecnému očekávání monomorfismu existuje také důvod, proč očekávat určitou variabilitu varovných signálů. Původní Müllerova teorie mimikry nezohledňuje možné rozdíly v síle sekundární obrany (např. chemických látek) ko-mimiků (Ihalainen et al., 2007). To, co odděluje Müllerovskou a Batesovskou mimikry, je nejedlost/jedlost mimiků. U Batesovské mimikry získává jedlý mimik ochranu před predátory tím, že se podobá aposematickému modelu. Predátoři se naučí vyhýbat jejich signálu kvůli nechutnosti modelového druhu. U Müllerovské mimikry se ví, že v populacích mimetické kořisti existuje spektrum požitelnosti, takže některé druhy jsou nepoživatelnější než jiné (Rowland et al., 2010).

Myšlenka, že by mohly existovat přechodné formy mimikry mezi „čistou“ Müllerovskou a Batesovskou mimikry, byla poprvé navržena na počátku 20. století (Marshall, 1908), ale teoretické práce podrobněji zkoumající tuto možnost jsou novější. Bylo prokázáno, že chemicky chráněné druhy se liší úrovní obrany jak v rámci jednoho druhu (Brower et al., 1968), tak mezi druhy (Brower et al., 1963). Toto pozorování stojí v pozadí studií, které zpochybňují původní teorii Müllerovy mimikry. Pokud živočichové nejsou stejně nejedlí, mohou na to predátoři reagovat a způsobit ko-mimické vztahy, které nejsou mutualistické, ale připomínají Batesovo mimikry, odtud název kvazi-Batesovská mimikry (Speed, 1993). Avšak dosavadní empirické poznatky o kvazi-batesovské mimikry jsou nejednoznačné. Jeden experiment prokazuje dobrou podporu (Speed et al., 2000), zatímco laboratorní studie přináší smíšené výsledky. Ty zahrnují jak mutualistické vztahy (Rowland et al., 2007), tak nekonzistentní účinky různých úrovní nechutenství (Ihalainen et al., 2007). Několik autorů navrhlo, že výživový stav predátora může vysvětlit výskyt kvazi-batesovské mimeze (Kokko et al., 2003; Sherratt et al.,

2004). Skutečně existují důkazy podporující myšlenku, že predátoři činí kompromisy mezi toxicitou a výživnou hodnotou při hledání potravy (Barnett et al., 2007; Barnett et al., 2012).

5. Charakteristika skupiny

Dlouhoústcovití (Lycidae) jsou brouci s kosmopolitním výskytem, avšak největší druhovou rozmanitost nacházíme v tropických deštných lesích (dále TDL). Právě vlhké a stinné podmínky TDL jsou ideální pro vývoj a život těchto brouků. Larvy zde díky modifikovanému ústnímu ústrojí mohou sát tekutiny z tlejícího dřeva či hrabanky (Bocák a Matsuda, 2003). Dospělci jsou slabě sklerotizováni a v jiných podmínkách by jim hrozilo rychlé vysychání (Bocák a Bocáková, 2008). Jejich životní cyklus trvá jen 2-3 týdny (Motyka et al., 2017). Larvy i dospělci mají nízkou mobilitu a obvykle se zdržují v nejnižších stinných vrstvách tropického deštného lesa (Bocák et al., 2008). Všichni zástupci jsou chráněni kyselinou lycidí, která se uvolňuje s hemolymfou při manipulaci z trhlin v elytrách a intersegmentálních membránách na nohách a tykadlech (Motyka et al., 2021). Právě proto se u Lycidů objevuje aposematické zbarvení.

5.1.1. Morfologie larev

Larvy mají protáhlé tělo, které je lehce až mírně zploštělé, vřetenovitého nebo souběžného tvaru. Jsou řídkce ochlupené a na dorzální i ventrální straně slabě až silně sklerotizované. Jejich zbarvení může být černé, hnědé, žluté nebo červené, často i v kombinaci těchto barev. Hlava larev je malá, kruhová nebo obdélníková až pětiúhelníková, rozšířená v přední části (Arnett et al., 2002).

5.1.2. Morfologie dospělců

Dospělí jedinci mají velikost v rozmezí od 2 do 22 mm. Jejich tělo je protáhlé s hlavou, která může být prognátní až hypognátní, částečně zakrytou širším pronotem. Krovky (elytrae) se u čeledi Lycidae mohou buď postupně rozšiřovat od hrudi k zadečku, nebo být úzké s rovnoběžnými okraji. Často jsou vyztuženy podélnými a příčnými síťovitými žebry. Barva krovek je nejčastěji žlutá, oranžová, červená či černá. Tykadla (antennae) sestávají z jedenácti, méně často z deseti článků a mohou být nitkovitá, pilovitá nebo hřebenitá, vyrůstají z čela nebo mírně pod úrovní očí (Arnett et al., 2002). Samečci dospělců jsou téměř vždy vybaveni křídly, avšak asi u 2 % druhů se vyskytují neotenní samice, které si i v dospělosti uchovávají larvální morfologické rysy (Bocák et al., 2008). Neotenní samice mohou dosáhnout velikosti až 80 mm, což je stejná velikost jako jejich larvální stadia (Arnett et al., 2002).

5.1.3. Ekologie

Lycidi jsou polyfágní brouci, imaga se živí nektarem z květů, avšak často se stává, že dospělci vůbec potravu nepřijímají (Bocák a Matsuda, 2003).

Lycidi mají omezenou schopnost disperze kvůli několika faktorům. Jejich tělo je slabě sklerotizované, což jim znemožňuje létat na velké vzdálenosti a vystavuje je riziku vysychání. Larvy přijímají výhradně tekutou stravu, což je činí závislými na vlhkém klimatu tropických deštných lesů. Tento vlhký biotop je pro ně nezbytný kvůli jejich citlivosti na vysychání a specifickým potravním strategiím. Dalším důležitým faktorem omezujícím jejich schopnost šíření je geograficky vázané aposematické zbarvení, které omezuje jejich disperzi mimo vymezené areály (Bocák a Matsuda, 2003). Tyto vlastnosti činí Lycidy ideálními modely pro fylogeografické studie, protože jejich omezená schopnost šíření a specifické ekologické nároky

poskytují jasné a konzistentní údaje o historických biogeografických procesech (Sklenářová et al., 2013).

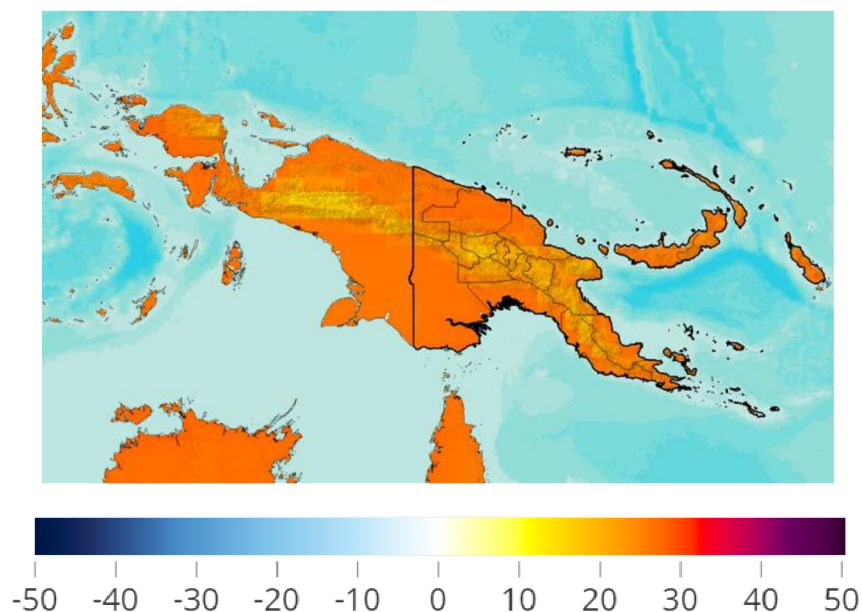
6. Nová Guinea

Nová Guinea je ostrov nacházející se v jihozápadní části Tichého oceánu, rozdělený mezi dvě země: Indonésii a Papuu-Novou Guineu. Na západní části ostrova leží indonéské provincie Papua a Západní Papua, zatímco východní část tvoří nezávislý stát Papua-Nová Guinea. Ostrov je součástí rozsáhlého souostroví Melanésie a je známý svou rozmanitou přírodou.

Rozloha ostrova Nová Guinea je přibližně 786 000 čtverečních kilometrů, což z něj činí druhý největší ostrov na světě po Grónsku. Nová Guinea je bohatá na přírodní zdroje (Gressit, 1982; str. 33-36), včetně rozsáhlých tropických deštných lesů, horských pásem a řek. Tyto geografické a klimatické podmínky podporují vysokou biodiverzitu a umožňují existenci mnoha endemických druhů rostlin a živočichů (Heads, 2001; Gressit, 1982; de Boer a Duffels, 1996).

6.1. Klima

Nová Guinea, rovníkový ostrov ležící na severním okraji australské kontinentální desky, má celoročně horké a vlhké tropické klima (Gressit, 1982; str. 9). Toto klima je charakterizováno dvěma hlavními ročními obdobími: vlhkým (prosinec až březen) a suchým (červen až září). Průměrný měsíční srážkový úhrn se pohybuje mezi 250 a 350 mm a průměrné teploty se drží mezi 26 a 28 °C (obr. 1). Vlhkost vzduchu je vysoká, mezi 70 a 90 %. Papua-Nová Guinea, která se nachází na východní části ostrova, je jednou z nejvlhčích oblastí světa s ročním úhrnem srážek často přesahujícím 2 500 mm (Climate Change Knowledge portal, 2024).



(Obr. 1: průměrná roční teplota v °C; zdroj: *Climate Change Knowledge portal*)

Nová Guinea spolu s Austrálií a Velkými Sundy tvoří bariéru, která blokuje proudění povrchových vod ze západního Pacifiku do Indického oceánu. To vede k hromadění teplých povrchových vod v západním Pacifiku severně od Papuy, které vytvářejí rozsáhlou teplou

oblast. Tato oblast je největším zdrojem tepla pro globální atmosférickou cirkulaci (Prentice a Hope, 2006). Klimatické podmínky jsou silně ovlivňovány fenoménem El Niño v jihovýchodním Pacifiku, který způsobuje sucha, zejména v sušších oblastech země.

6.2. Tektonika Nové Guiney

Na Nové Guinei se nachází velké množství endemických druhů. Studie ukazují, že výskyt endemitů odpovídá geologickým celkům, které byly dlouhodobě izolované, což odráží mimořádně složitou geotektonickou historii tohoto regionu (Heads, 2001; de Boer a Duffels, 1996). Oblasti s vysokým endemismem lze identifikovat díky omezené schopnosti disperze některých druhů, jako jsou cikády (de Boer a Duffels, 1996) či lycidi (Bocák a Matsuda, 2003).

Samotný ostrov Nová Guinea je považován za jednu z nejvíce tektonicky složitých oblastí světa a jeho geodynamický vývoj zahrnoval tvorbu a rotaci mikrodesek, praskání litosféry vedoucí k vytvoření oceánských pánví, kolizi oblouků a kontinentů, změnu polarity subdukce, kolizní orogenezi, obdukci ofiolitů a exhumaci (ultra)vysokotlakých metamorfovaných hornin (Baldwin et al., 2012; Gressit, 1982, str. 57-72; de Boer a Duffels, 1996). Ostrov představuje tektonicky aktivní severní hranici australského kontinentu a zahrnuje množství teránů, které byly připojeny ke kratonu, stabilní a staré části litosféry, během terciárního severního driftu Indo-Australské desky (Hill a Hall, 2003).

Vývoj tektoniky severního okraje australské desky byl za posledních 43 milionů let ovlivňován interakcí tří hlavních desek: západoseverozápadně se pohybující pacifické desky, severně se pohybující australské desky a menší jihovýchodně se pohybující jihovýchodní Eurasijské desky (Klootwijk et al., 1993). Na tento proces měl také vliv tlak vyvíjený Filipínskou deskou (Hall, 1996). Hranice mezi australskou a pacifickou deskou má značnou variabilitu podél směru, je vysoce dynamická a je seismicky aktivní (Baldwin et al., 2012). Akrece teránů vyvrcholila miocénně-pliocenní kolizí ostrovního oblouku a kontinentu, což vedlo k vytvoření orogénu zahrnujícího Pásmo vrás, Mobilní pásmo a připojenou Severní vulkanickou provincii (Crowhurst et al., 2004). Vysoký poměr šikmé konvergence byl z velké části absorbován vysoce aktivní a strukturálně složitou nárazníkovou zónou s rychlým vývojem mikrodesek (Moore, 1992). Pigram a Davies (1987) identifikovali v oblasti Nové Guineje více než 32 teránů, které jsou oceánské, kontinentální nebo kombinované povahy. Počet a rozsah mikrodesek, které se vytvořily, rotovaly a vyvíjely v rámci hraniční zóny mezi australskou a pacifickou deskou, jsou sporné. Věk oceánské litosféry v mikrodeskách obklopujících Novou Guineu se pohybuje od eocénu až po současnost (Baldwin et al., 2012).

6.2.1. Současná tektonika

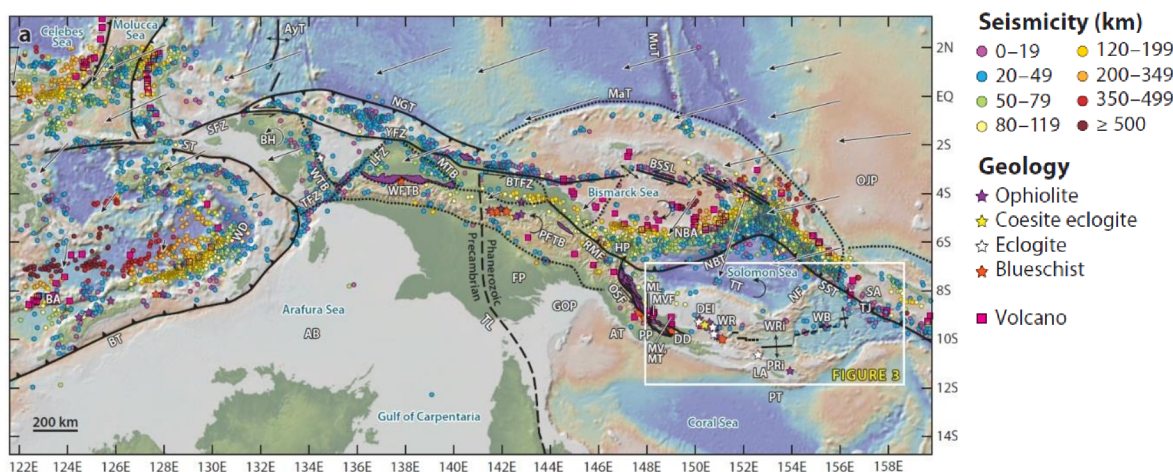
Pohyb pacifické desky oproti australské desce dosahuje rychlosti přibližně 110 mm za rok s konvergentní složkou asi 70 mm za rok v regionu Nové Guineje (Baldwin et al., 2012). Tato oblast je také velmi aktivní a seismicky dynamická (Baldwin et al., 2004) s různými geologickými jevy, jako jsou subdukční zóny s extrémními zakřiveními a riftováním (Baldwin et al., 2012). Hlavní aktivní zlomy na Nové Guineji zahrnují, od východu na západ: Owen-Stanley zlomovou zónu, zlom Ramu-Markham, zlomy ve střední části Nové Guineje a zlomy podél severního okraje ostrova, jako je zóna Yapen a Sorong.

Zóna Owen-Stanley odděluje desku Woodlark od horské oblasti Nové Guineje a spojuje se s přenosovými zlomy od šířícího centra Woodlark u riftu Moresby Seamount až k Papuánskému poloostrovu (Little et al., 2007). Původně zde probíhala obdukce Papuánského ofiolitového komplexu během kolize oblouku s kontinentem v paleogénu (Baldwin et al., 2012). Nyní tato zóna zahrnuje aktivní zlomy, které odkryly Dayman Dome a další oblasti (Little et al., 2011).

Zlom Ramu-Markham se nachází mezi obloukem Finisterre a horskou oblastí Nové Guineje (Baldwin et al., 2012). Zemětřesení a seismické rychlosti zde odhalují dobře definovanou severně skloněnou desku pod obloukem Finisterre, která pokračuje až do Nové Británie, kde zemětřesení dosahují hloubek až 600 km (Abers a Roecker, 1991). Deformace podél zlomu Ramu-Markham je větší na západě než na východě, což naznačuje šikmou kolizi Melanéskeho oblouku s Novou Guineou (Baldwin et al., 2012).

Levostranné šikmé zlomy v severní části Nové Guineje, jako je zóna Bewani-Torricelli, spojují transformační zlomy na moři se segmenty šíření mořského dna v Bismarckově moři. Tyto zlomy mají boční pohyb v důsledku šikmé kolize oblouků (Baldwin et al., 2012).

Horská oblast Nové Guineje je na jihu ohraničena tlačnou frontou vrásno-tlačných pásů, což je jižní limit kolizní orogeneze. Mamberamský pánvový blok leží na východ od zóny zlomu Lowlands, což je zóna aktivních levostranných šikmých a zpětných zlomů. Jižní hranice Mamberamského bloku odpovídá tektonickému kontaktu mezi Irianským ofiolitovým pásem a západním vrásno-tlačným pásem horské oblasti Nové Guineje. Východně od Mamberamského pánvového bloku leží blok Sepikské pánve, s hranicí vymezenou mělkou seizmicitou v zóně Mamberamo zlomu. Jižní hranice bloku Sepikské pánve je spojena s pásem středně hluboké seizmicity, která je kontinuální s tou v oblouku Nové Británie. Na základě tomografie může být středně hluboká seizmicita v těchto oblastech spojena s jižním subdukčním systémem v příkopu Nové Guineji (Baldwin et al., 2012).



(Obr. 2: Tektonická mapa Nové Guineje. Seismicita, sopky a vektory pohybu desek, zdroj: Baldwin et al., 2012)

6.2.2. Vulkanismus

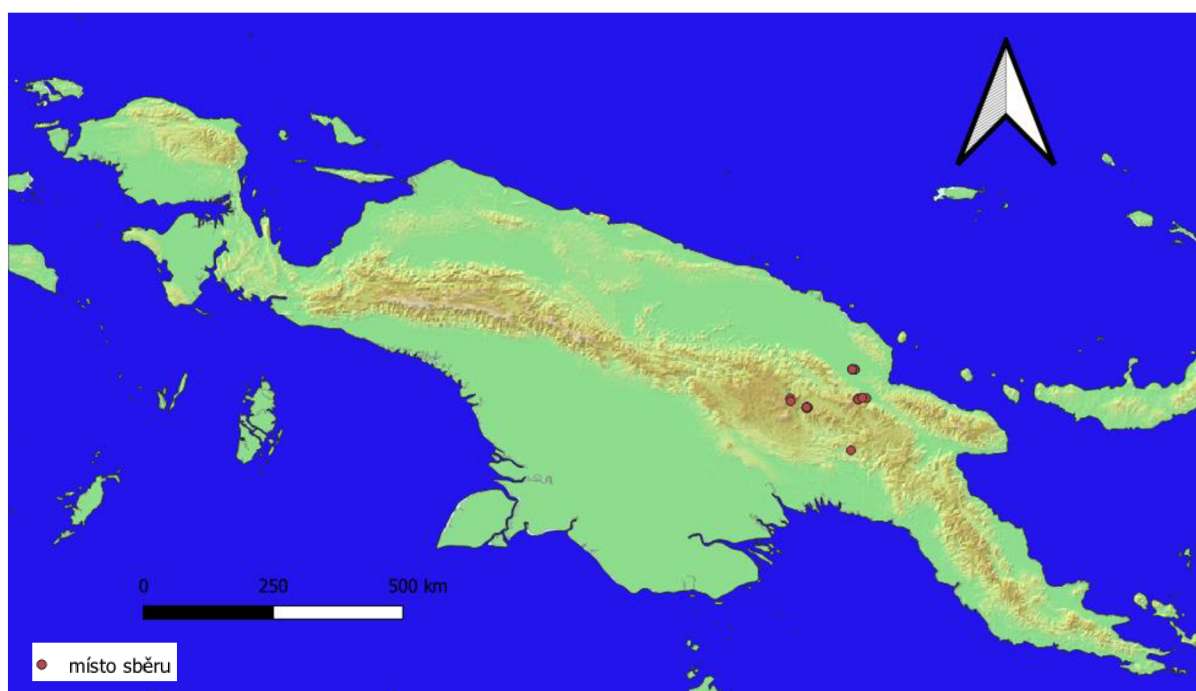
Oblouk Nové Británie je dlouho existující útvar s vulkanismem aktivním během pozdního eocénu, oligocénu a mio-pliocénu. Vznikl subdukcí pacifické desky pod australskou desku, se Šalomounským mořem v zadním oblouku. Před 3,5 miliony lety subdukce

Šalomounského moře způsobila magmatismus v Nové Británii a vznik pánve v Bismarckově moři. Vulkanismus je také aktivní ve Woodlarksém riftu a pánvi, kde mají horniny subdukční znaky. Neaktivní, ale zachovalé vulkanické útvary najdeme na ostrovech Goodenough, Dobu a Fergusson, kde jsou aktivními geotermální pole na Deidei a Lamalele. Na Papuánském poloostrově je vulkanismus sporný, připisovaný subdukci Šalomounské mořské litosféry nebo dekompresnímu tavení subdukčně modifikovaného pláště (Baldwin et al., 2012).

7. Metody a materiál

7.1. Materiál

Pro tuto práci bylo poskytnuto 31 vzorků rodu *Cladophorus*, které byly dříve nasbírány během expedic na Highlands ve východní části ostrova Papua Nová Guinea. Přehled vzorků použitých ve studii a jejich přesné lokace jsou uvedeny v tabulce 1. Materiál byl v terénu fixován pro následnou izolaci DNA a sekvenován v laboratořích CATRIN na Univerzitě Palackého v Olomouci v rámci studia diverzity fauny Nové Guineje.



(Obr. 3: Mapa lokalit sběru, vlastní zpracování)

Tab. 1: Číslo vzorků s přesnou lokalitou sběru

Číslo vzorku	Lokalita
A00124	Crater Mt.c.a., Haia, Supa, S06°40.078' E145°03.207', S06°39.609' E145°03.012', 1075-1450m, beaten, 2.X.2009
A03943	PNG, Mt. Hagen, Rondon Ridge, S05°54.250' E144°15.700', 2170-2430m, 12-IV-2018
A04149	PNG, Madang Prov., Snow Pass, 1900m, S05°44.58' E145°11.33', 24.Jun.2019, BKM lgt.
A04007	PNG, Enga prov., Anji, S05°44.422' E143°57.887', 2500m, 10-IV-2018
A03933	PNG, Mt. Hagen, Rondon Ridge, S05°54.250' E144°15.700', 2170-2430m, 12-IV-2018
A04023	PNG, Enga prov., Kumul Lodge, S05°47.561' E143°58.443', 2815m, 09-IV-2018
A03821	PNG, Sino Pass, Bundi area, S05°45.377' E145°10.818', 2015m, 16-VII-2017
A03823	PNG, Sino Pass, Bundi area, S05°45.550' E145°11.120', 2050-2080m, 16-VII-2017
A04174	PNG, Madang Prov., Snow Pass, 2250m, S05°45.51' E145°10.98', 21.Jun.2019, BKM lgt.
A03648	PNG, Brahmin, Kausi, S05°44.400' E145°19.700', 26-VII-2017, 225-360m
A04665	PNG, Madang Prov., Numba (Bundi), 800m, S05°43.90' E145°15.35', 7. Sep.2018, BKM lgt.
A04930	PNG, Madang Prov., Wanang 2, 200m, S05°13.57' E145°07.21', 6.Jul.2019, BKM lgt.
A04931	PNG, Madang Prov., Wanang 2, 200m, S05°13.57' E145°07.21', 6.Jul.2019, BKM lgt.
A04389	PNG, Madang Prov., Wanang 2, 200m, S05°13.57' E145°07.21', 6.Jul.2019, BKM lgt.
A04369	PNG, Madang Prov., Wanang 2, 200m, S05°13.57' E145°07.21', 6.Jul.2019, BKM lgt.
A04242	PNG, Madang Prov., Wanang AG, Swire, 200m, S05°13.32' E145°04.51', 7.Jul.2019, BKM lgt.
A04405	PNG, Madang Prov., Wanang 2, 200m, S05°13.57' E145°07.21', 6.Jul.2019, BKM lgt.
A04286	PNG, Madang Prov., Wanang AG, Swire, 200m, S05°13.32' E145°04.51', 7.Jul.2019, BKM lgt.
A04295	PNG, Madang Prov., Wanang AG, Swire, 200m, S05°13.32' E145°04.51', 7.Jul.2019, BKM lgt.

A03896	PNG, Mt. Hagen, Rondon Ridge, S05°54.750' E144°15.600', 2140-2200m, 13-IV-2018
A03905	PNG, Mt. Hagen, Rondon Ridge, S05°54.013' E144°15.900', 2150-2200m, 11-13-IV-2018
A03906	PNG, Mt. Hagen, Rondon Ridge, S05°54.013' E144°15.900', 2150-2200m, 11-13-IV-2018
R19_A3681	PNG, Goroka district, Mt. Gahavisuka S05°59'51.1" E145°25'58.6", 1900m, 2019
A03681	PNG, Goroka district, Mt. Gahavisuka S05°59'51.1" E145°25'58.6", 1900m, 2019
A03946	PNG, Mt. Hagen, Rondon Ridge, S05°54.250' E144°15.700', 2170-2430m, 12-IV-2018
A03886	PNG, Mt. Hagen, Rondon Ridge, S05°54.462' E144°16.542', 2430m, 14-IV-2018
A03885	PNG, Mt. Hagen, Rondon Ridge, S05°54.462' E144°16.542', 2430m, 14-IV-2018
A03900	PNG, Mt. Hagen, Rondon Ridge, S05°54.750' E144°15.600', 2140-2200m, 13-IV-2018
A03912	PNG, Mt. Hagen, Rondon Ridge, S05°54.013' E144°15.900', 2150-2200m, 11-13-IV-2018
A03891	PNG, Mt. Hagen, Rondon Ridge, S05°54.462' E144°16.542', 2430m, 14-IV-2018
A03917	PNG, Mt. Hagen, Rondon Ridge, S05°54.013' E144°15.900', 2150-2200m, 11-13-IV-2018

7.2. Metody

7.2.1. Laboratorní metody

Brouci pro tuto studii byli sbíráni v rámci projektu zaměřeného na diverzitu čeledi Lycidae na Papui Nové Guinei. Vzorky z jednotlivých lokalit byli roztrženy do takzvaných morfologických druhů (morpho-species). Tato metoda umožňuje rychlé třídění velkého množství vzorků. Z jedinců určených k izolaci DNA byl vypreparován ve sterilních podmínkách abdomen, křídla a metatorax. Pro práci se využíval jen metatorax, ostatní části byly nalepeny na štítky a přiloženy k dokladovému exempláři pro další studium morfologických znaků do sbírky školitele. Metatorax byl vysušen ve vakuovém koncentrátu. Následně byla do zkumavek přidána lyzační směs a svalovina byla homogenizační tyčinkou rozdrčena. Poté proběhla lyzace na termobloku po dobu jedné hodiny a následná centrifugace. Jednotlivé vzorky byly umístěny na kolony a ve vakuu byl odstraněn veškerý roztok. Poté následovalo čištění pomocí promývacího roztoku, který byl opět ve vakuu odstraněn. Tento postup se opakoval třikrát a kolony byly následně zahřáty v cycleru na teplotu 37 °C. U první kolony bylo přidáno 100 µl nuklease free H₂O a u druhé 50 µl. První eluce DNA byla přenesena na mikrozkuhavku a u druhé byla změřena koncentrace a kvalita izolované DNA spektrofotometrem NanoDrop Lite, která byla pro další práci naředěna na požadovanou koncentraci do 10 ng/µl do pracovní destičky.

Následovala amplifikace fragmentů *cox1*, *tRNA-Leu* a *cox2* mitochondriálního genomu (dále označováno jako *cox1*) ze vzorků v termocykleru za přítomnosti primerů Jerry-M a Marcy-N. Hodnocení správné amplifikace DNA proběhlo pomocí horizontální gelové elektroforézy. Po vyhodnocení proběhla purifikace PCR produktu, kdy se destička s PCR produkty nechaly stočit v centrifuze. Poté byl její obsah doplněn do 100 µl TE pufrém, obsah byl promíchán a následně přenesen na destičku MultiScreen® PCRµ96 Plate. Destička byla následně umístěna pod vakuovou pumpu a filtrována tak, aby v jamkách nebyl žádný roztok. Jamky destiček byly promyty nuklease free H₂O a přefiltrovány do sucha. Rozpuštění PCR produktu bylo provedeno aplikací 20 µl nuklease free H₂O do každé jamky a následným třepáním destičky po dobu 10 minut za pokojové teploty. Rozpuštěný PCR produkt byl odpipetován do stříhací destičky a uchován pod lepicí folií pro finální měření na spektrofotometru Nano Drop Lite.

Sekvenační reakce byla provedena za použití ABI PRISM® BigDye® Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kitu. Sekvenační reakce proběhla s programem Cycle ABI. Koncentrace DNA vzorku byla napipetována v objemu 4 µl a objem vody doplněn do 6 µl. Počáteční denaturace

probíhala při teplotě 96 °C v jednom cyklu. Následovalo 25 cyklů, z nichž každý zahrnoval denaturaci DNA při 96 °C, annealing při 50 °C a extenzi při 60 °C. Čištění sekvenačního produktu probíhalo v ABI destičce a výsledek se uchoval pro další práci.

7.2.2. Fylogenetická analýza

Pro práci mi byl pracovníky laboratoře dodán soubor chromatogramů sekvencí rodu *Cladophorus* a dalších skupin ve formátu ABI. Manuální kontrola a odstranění chyb v sekvencích se prováděla pomocí programu Sequencher v. 4.9. Upravené sekvence byly poté vyexportovány do formátu FASTA a alignovány v programu Geneious pomocí algoritmu MAFFT v. 7.2. (Katoh a Stanley, 2013) s AUTO nastavením. Protein kódující fragmenty (*cox1* a *cox2*) byly zkontrolovány podle kodonů kódujících aminokyseliny a detekovaly se případné stop kodony uvnitř sekvence. Nekódující *tRNA-Leu* se zkontrolovalo pohledem, jestli v něm nejsou nesrovnalosti. Takto připravený soubor byl uložen ve formátu FASTA pro následné fylogenetické analýzy.

K datům byla přidána další skupina dříve sekvenovaných vzorků (215) rodu *Cladophorus*, které byly získány laboratoří. Outgroup byla vybrána s důrazem na podčeleď Metriorrhynchinae a obsahovala 33 taxonů včetně blízko příbuzných rodů jako *Cautiromimus* či *Carathrix*. Výsledný datový soubor vznikl konkatenací jednotlivých (fragmentů) genů *cox1*, *tRNA-Leu* a *cox2*. Následně byla tato matice analyzována metodou maximum likelihood (ML) v programu IQ-TREE v1.6.6 (Nguyen et al., 2015). Model evoluce DNA byl identifikován pro každý gen pomocí ModelFinder (Kalyaanamoorthy et al., 2018) s argumentem -m MFP. Podpora jednotlivých větví byla testována různými nástroji: 10 000 ultrafast bootstrap (Hoang et al., 2018), 10 000 SH-aLRT (Guindon et al., 2010) replikací a také pomocí aBayes testu (Anisimova et al., 2011). Výsledný fylogenetický strom byl vizualizován (zobrazeny jednotlivé hodnoty podpor) v programu FigTree 1.4.4 (<https://github.com/rambaut/figtree>). Pro větší přehlednost byly zkolabovány klády, které nebyly relevantní pro cíle této práce, ale zároveň bylo ponechána informace o podpoře na bázi stromu. Finální grafická úprava byla provedena v programu Krita v. 5.2.2. (obr. 5).

7.2.3. Morfologická analýza

Pro morfologické určování druhů byli vybráni samci, protože samice mají uniformní pohlavní orgány s velmi problematickou interpretací znaků. Exempláře byly preparovány po odběru svaloviny pro izolaci DNA. Studium morfologie se zaměřilo na znaky, které vykazují mezidruhovou variabilitu: tvar tykadel, zejména relativní délka lamel, tvar pronota, zbarvení krovek, struktura žeber na krovkách a morfologie samčích kopulačních orgánů.

Štítek se samčím abdomenem byl umístěn do 50% ethanolu na půl hodiny, aby se rozpustilo rybí lepidlo. Poté se abdomen vložil do kádinky s 10% hydroxidem draselným a pomalu zahříval téměř k bodu varu, aby se urychlila reakce a odstranily se tukové a svalové tkáně. Následně se otevřel poslední abdominální sklerity a vypreparoval kopulační orgány. Tyto orgány byly uloženy do plastových trubiček s glycerinem a přiloženy k příslušným jedincům. Zbytky abdomenu byly opět přilepeny a uchovány ve sbírce pro další pozorování.

V Petriho misce s glycerinem na chladicí podložce bylo pořízeno několik snímků kopulačních orgánů, následně jednotlivých jedinců a detailu jejich štítů pomocí fotoaparátu Canon EOS M6 mark II připevněného k binokulární lupě, přičemž fotografie byly snímány v

různých hladinách ostrosti. Tyto snímky se následně spojily do jedné fotografie pomocí programu Helicon Focus 6 a exportovaly do TIFF souboru. Grafická úprava fotografií byla provedena v programu Krita v. 5.2.2, kde bylo vymazáno pozadí fotky. Tyto snímky sloužily jak pro popis, tak pro měření velikosti jednotlivých částí.

Seznam použitých zkratk:

BL: délka celého těla; PL: délka štítu; PW: šířka štítu; EL: délka krovky; EW: šířka krovky; EWh: šířka krovky v humerální části; Edist: frontální vzdálenost mezi očima; Ediam: průměr oka; A₁: délka prvního antenálního článku (scapus); A₃: délka třetího antenálního článku

8. Výsledky

Výsledná datová matice obsahovala 248 sekvencí a měla 1055 bp. Zastoupení jednotlivých partic pak ukázalo na informačně nejbohatší fragment *cox1*, pro který bylo identifikováno 248 sekvencí s maximální délkou 780 bází. Počet informativních znaků činil 362 a invariantních 357 znaků. Pro tuto partici byl identifikován model substituce TIM2. Stejný model se použil i pro *tRNA-Leu*, přičemž počet sekvencí byl 240 při maximální délce 59 bází. Informativních znaků bylo 12 a invariantních 38. Pro *cox2* se zvolil model substituce TN. Tato partice obsahovala 233 sekvencí při maximální délce 216 bází s 144 informativními a 47 invariantními znaky (tab. 2).

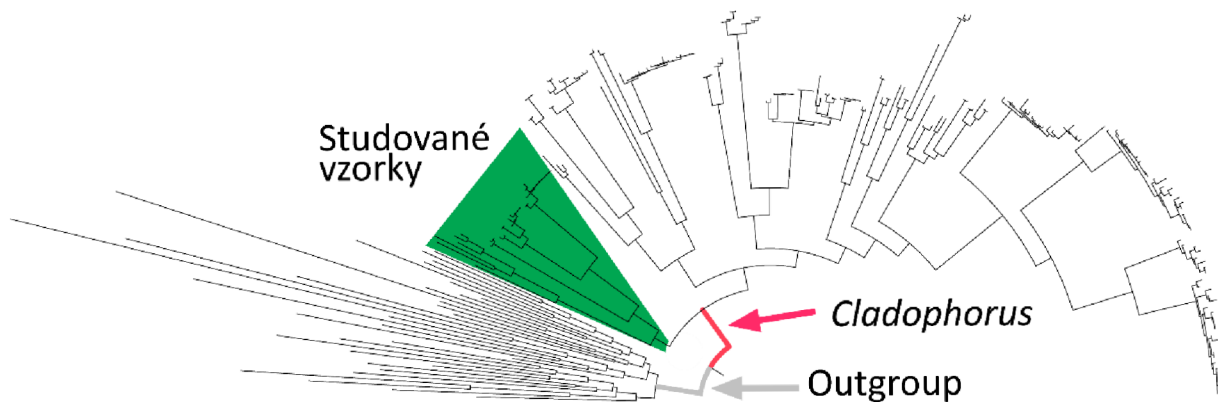
Tab. 2: Výsledky analýzy programu ModelFinder.

Model substituce DNA	Skóre	Délka stromu	Partice
TIM2+F+I+G4	45019.202	15.316	<i>cox1</i>
TIM2+F+R	1101.884	2.125	<i>tRNA</i>
TN+F+I+G4	14634.674	18.004	<i>cox2</i>

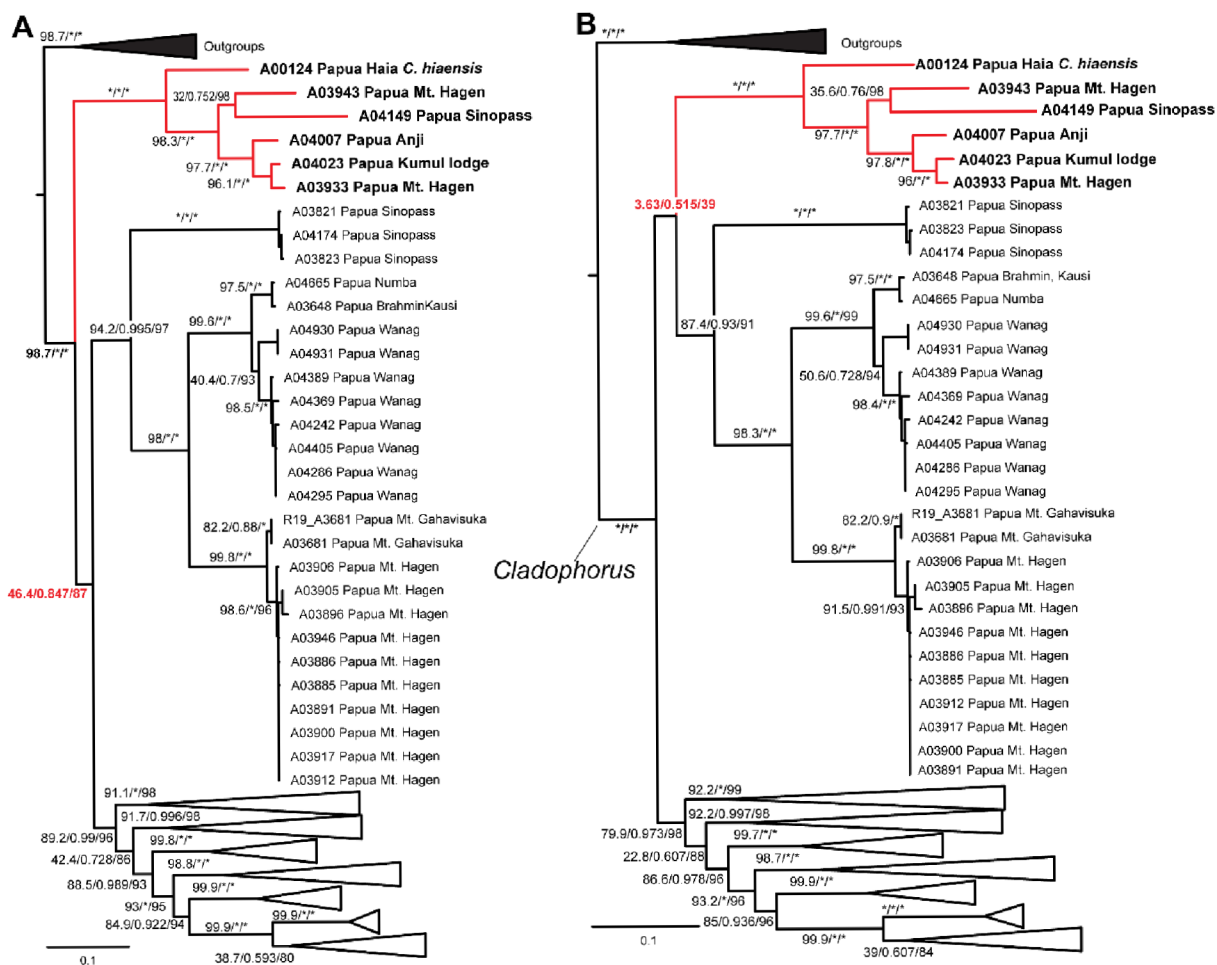
BIC skóre pro celou matici: 64130.388 (LnL: -30303.986 df:506)

Fylogenetický strom sestavený metodou maximum likelihood (ML) je zobrazen na obr. 4 a 5. Všechny analýzy ukázaly na jasnou monofiletičnost rodu *Cladophorus*, podpora (všechny podpory větví jsou v tomto pořadí SH-aLRT/aBayes/UFBoot) pro tento klád byla vždy signifikantní (98,7-100/1/100; obr. 5). Podpora jednotlivých štěpení na backbone stromu byla velmi variabilní a se pohybovala mezi 22,8-93,2/0,59-1/80-100. Většina byla signifikantně podpořena, případně se bootstrapová podpora pohybovala okolo těchto hodnot. Cílový klád (tvořený vzorky A00124, A03943, A4149, A04007, A04023 a A03933) této práce se vždy nacházel v bazální části stromu. Byly identifikovány dvě topologické pozice tohoto kládu. Pozice **A**, klád, který je v sesterském vztahu ke zbytku rodu *Cladophorus* s podporou 46,6/0,85/87. Případně v pozici **B**, kdy je sesterský klád geograficky blízkých linií s velmi nízkou podporou 3,63/0,52/39. Tento klád linií, kterým je sesterský druh *Cladophorus haiaensis* byl vždy maximálně podpořen (100/1/100) a samotná struktura kládu byla v obou případech identická. Obsahuje linie, které se vyskytují výlučně ve vyšších nadmořských výškách.

Studiem genetických vzdáleností bylo zjištěno, že tyto linie vykazují nebývale vysokou vzdálenost, kdy u většiny vzorků byla pod 90 %. Největší vzdálenost byla mezi vzorky A00124 a A0414 (84,9 %) a nejmenší vzdálenost u vzorků A04023 a A03933 (97,7 %) viz tabulka 4. Při identifikaci linií možných nových druhů byla pozornost věnována především vzorkům A03943, A4149, A04007, A04023 a A03933. Těchto pět vzorků/druhů je ve fylogenetickém stromu vyznačeno červeně.



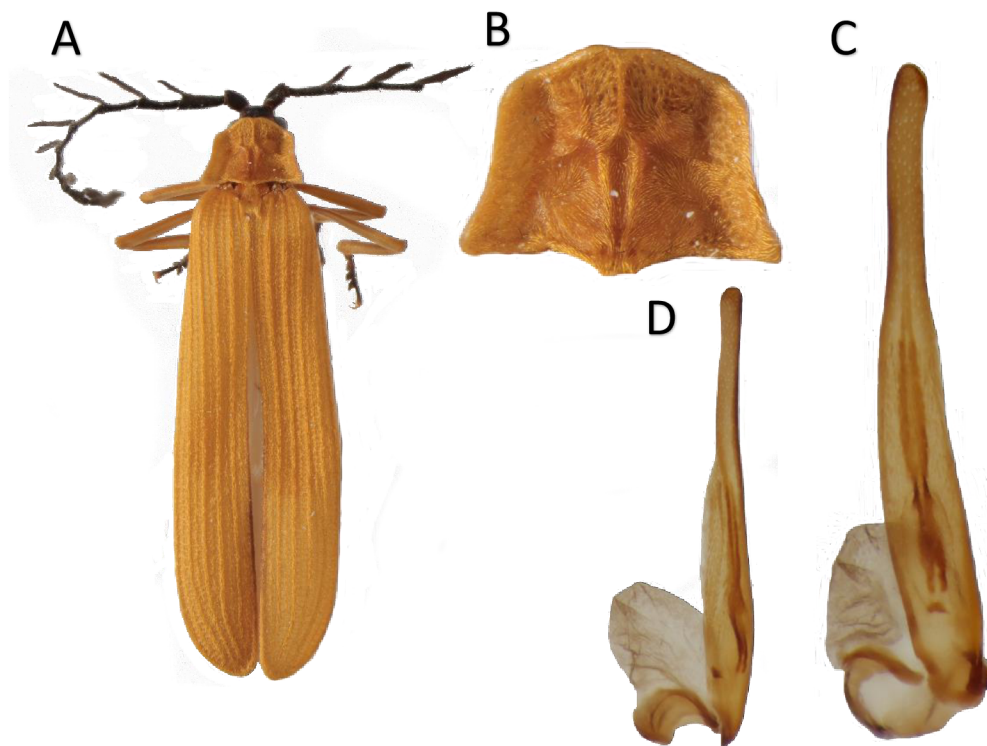
(Obr. 4: Fylogenetický strom rodu *Cladophorus* s outgroup, zeleně vyznačeny zájmové exempláře)



(Obr. 5: Fylogenetický strom rodu *Cladophorus* s Outgroup, klády nerelevantní pro cíle práce jsou zkolabovány)

8.1. Popis linií identifikovaných jako potenciálně nepopsané druhy

A03943

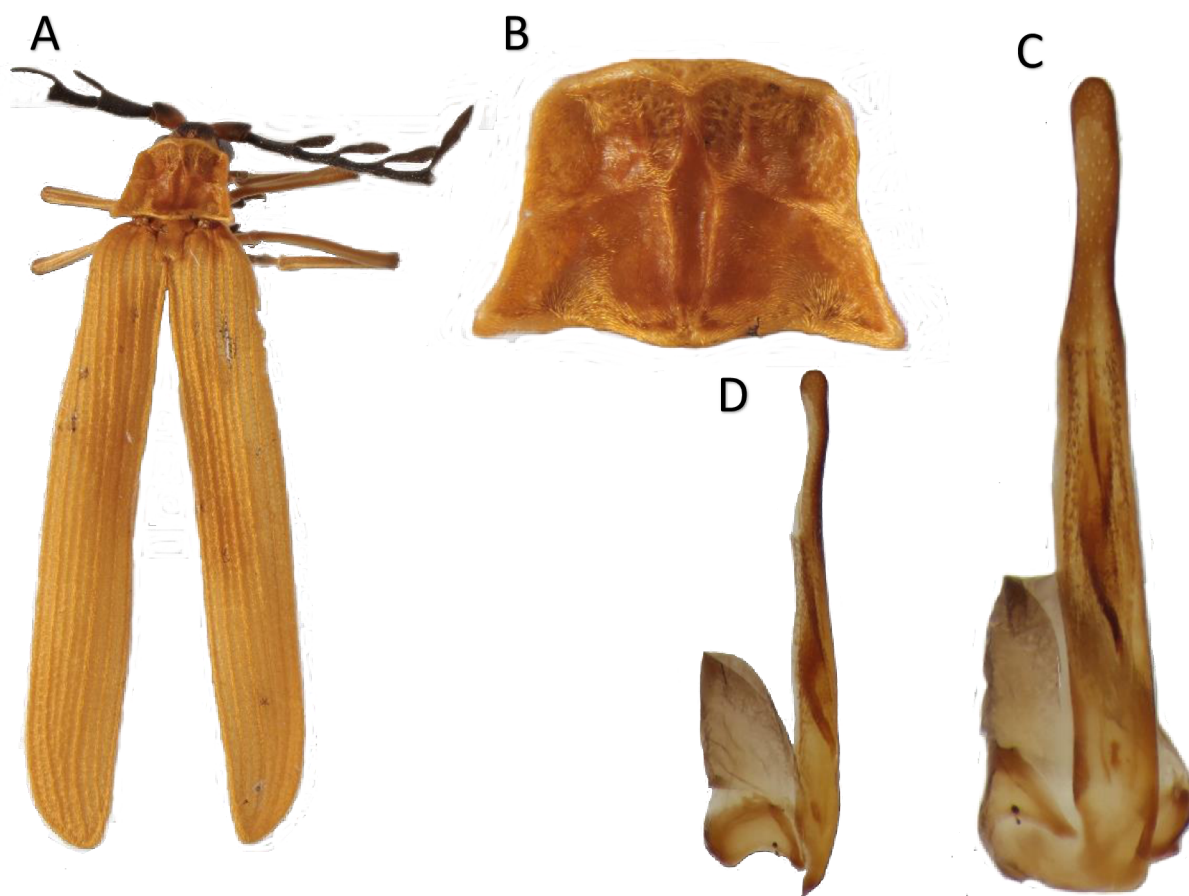


(Obr. 6: A, celý exemplář; B, detail pronota; C, kopulační orgán ze shora; D, kopulační orgán z levého boku)

Popis: Samec, tělo velké, thorax žlutý, nohy žluté, abdomen a křídla čené. Pronotum a krovky sytě žluté. Hlava malá, černě zbarvená, s polokulovitě vystouplýma očima, frontální vzdálenost mezi očima 1,9krát větší než jejich průměr. Tykadla dlouhá flabelátní, černě zbarvená, dosahující do poloviny těla. Lamela třetího článku je 0,6krát kratší než tělo článku a je napojena na apikální části článku. Scapus z vnitřní strany zaoblený a prohlý směrem od hlavy. Pronotum příčné, ve střední čáře 1,26krát širší než delší, postranní okraje vyvýšené, čelní okraj mírně vyvýšený a zaoblený, zadní rohy jsou zaoblené, střední areola výrazná, boční areoly nevýrazné. Štít je zřetelně ochlupený. Žebra na krovkách méně výrazná kryté chlupy. Krovky jsou 7krát delší než širší, zužující se v humerální části. Kopulační orgán dorzoventrálně zploštělý, 8,2krát delší než širší v nejširší části, od dvou třetin se zužuje. Báze je mírně zúžená.

Velikosti: BL= 13,2 mm; PL= 1,5 mm; PW= 1,9 mm; EL= 11,7 mm; EW= 1,6 mm; EWh= 0,85 mm; Edist= 0,95 mm; Ediam= 0,5 mm; A₁= 0,6 mm; A₃= 1 mm

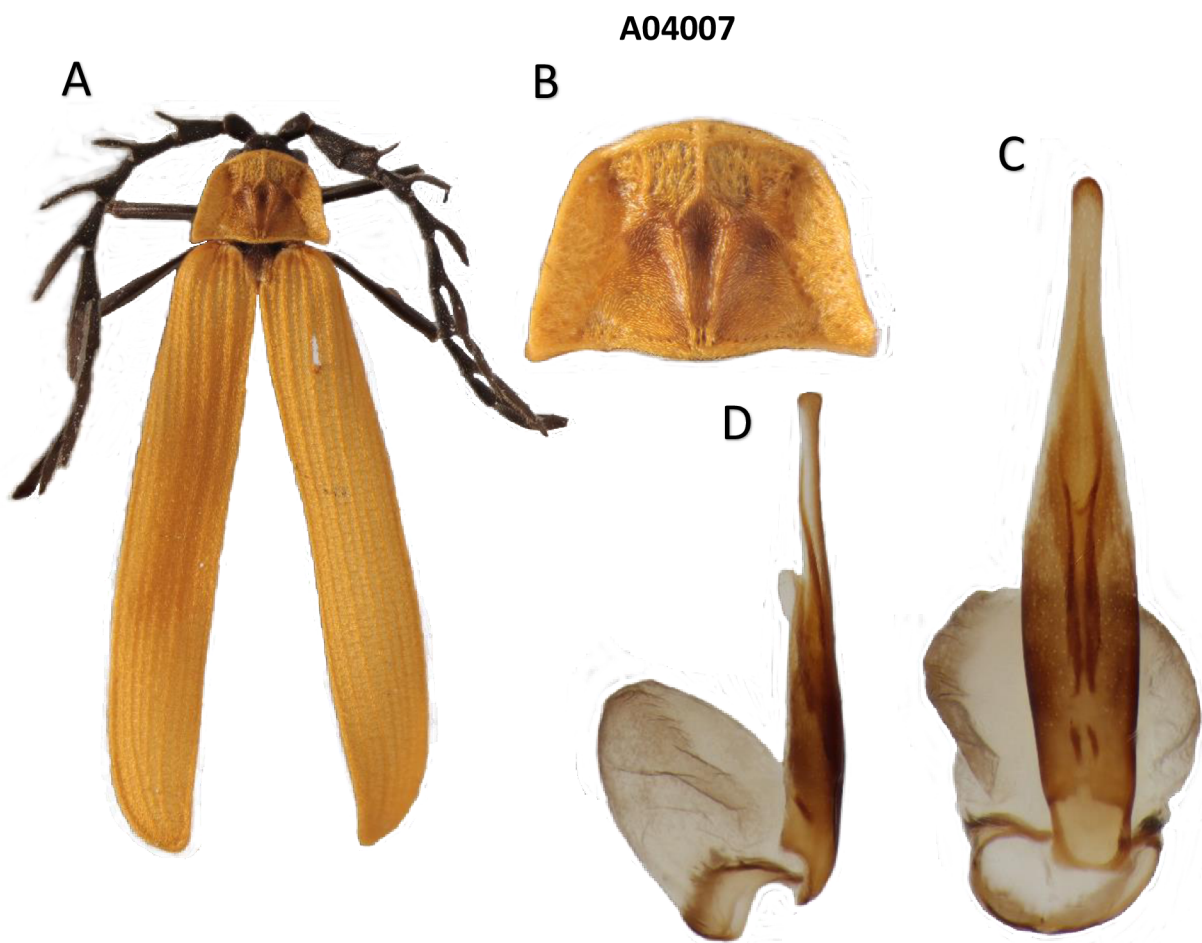
A04149



(Obr. 7: A, celý exemplář; B, detail pronota; C, kopulační orgán ze shora; D, kopulační orgán z levého boku)

Popis: Samec, tělo velké, thorax a končetiny žluté, abdomen a křídla černé, pronotum i elytry žluté. Hlava malá, žlutá postupně přechází do černé, s polokulovitě vystouplýma očima. Frontální vzdálenost mezi očima 1,9krát větší než jejich průměr. Tykadla flabelátní, černá, dosahující do poloviny těla. Lamela třetího článku je 0,5krát kratší než tělo článku a je napojena na apikální části článku, na dalších člancích se prodlužuje. Scapus hruškovitý, zužující se u hlavy, žlutě zbarvený na bázi. Pronotum je příčné, ochlupené, 1,2krát širší ve střední čáře než delší, postranní i frontální okraje vyvýšené, frontální okraj zaoblený, zadní rohy do špičky, střední aerola výrazná, boční výraznější. Žebra na krovkách méně výrazná kryté chlupy. Krovky jsou 6,5krát delší než širší v nejširší části, zužující se v humerální části. Kopulační orgán úzký, dorzoventrálně zploštělý, 9,2krát delší než širší v nejširší části, od $\frac{3}{4}$ se zužuje. Bazální část je zúžená, konec je kulovitý.

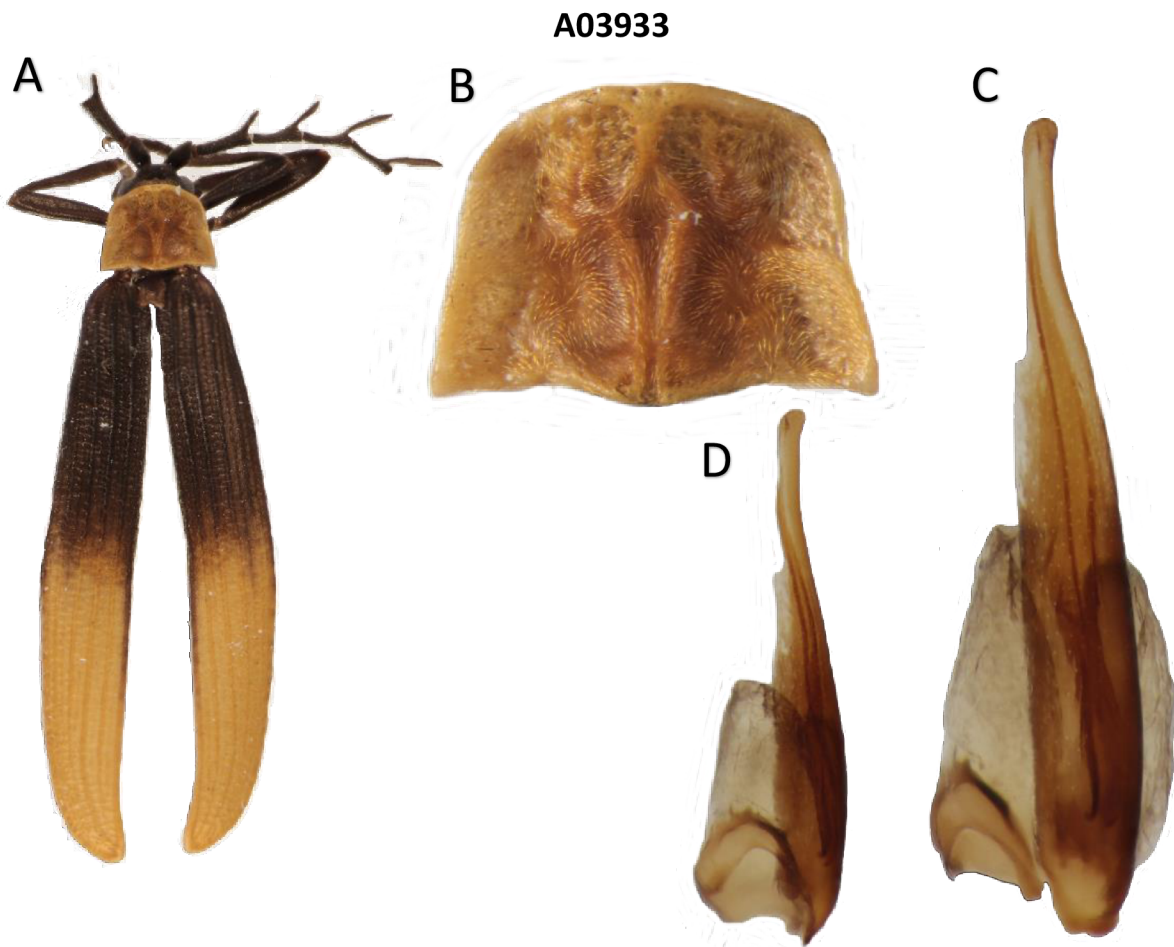
Velikost: BL= 13,9 mm; PL= 1,6 mm; PW= 1,8 mm; EL= 12,3 mm; EW= 1,7 mm; EWh= 1,1 mm; Edist= 0,95 mm; Ediam= 0,5 mm; A₁= 0,6 mm; A₃= 0,95 mm



(Obr. 8: A, celý exemplář; B, detail pronota; C, kopulační orgán ze shora; D, kopulační orgán z levého boku)

Popis: Samec, tělo velké, thorax, končetiny, abdomen a křídla černé. Pronotum i elytry žluté. Hlava malá, černě zbarvená, s polokulovitě vystouplýma očima. Frontální vzdálenost mezi očima 2,2krát větší než jejich průměr. Tykadla flabelátní, černá, dosahující do poloviny těla. Lamela třetího článku je 0,5krát kratší než tělo článku a je napojena na apikální části článku, s každým článkem se prodlužují. Scapus hruškovitý, zužující se u hlavy. Pronotum je příčné, ochlupené, 1,3krát širší ve střední čáře než delší, postranní okraje vyvýšené, frontální okraj mírně vyvýšený a zaoblený, zadní rohy zaoblené, střední aerola výrazná, boční nevýrazné. Žebra na krovkách méně výrazná kryté chlupy. Krovky jsou 5,9krát delší než širší v nejširší části, zužující se v humerální části. Kopulační orgán dorzoventrálně zploštělý, 5,9krát delší než širší v nejširší části, od poloviny se zužuje, poslední třetina nejužší. Bazální část je zúžená.

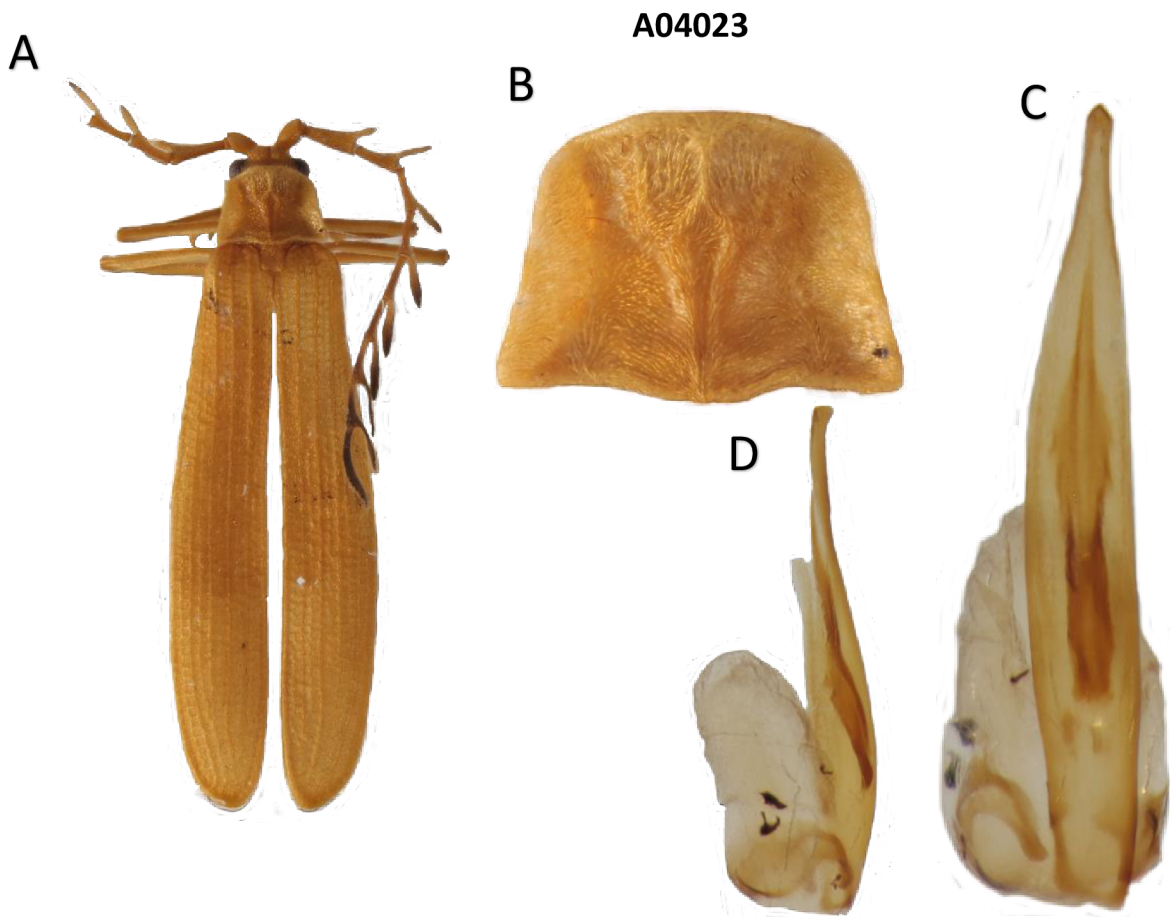
Velikosti: BL= 11 mm; PL= 1,5 mm; PW= 2 mm; EL= 9,5 mm; EW= 1,6 mm; EWh= 1 mm; Edist= 0,95 mm; Ediam= 0,5 mm; A₁= 0,6 mm; A₃= 0,9 mm



(Obr. 9: A, celý exemplář; B, detail pronota; C, kopulační orgán ze shora; D, kopulační orgán z levého boku)

Popis: Samec, tělo velké, thorax, knčetiny, abdomen a křídla černé. Pronotu žluté až hnědožluté, elytry hnědé až černé, od poloviny přechází do žluté, vnitřní hrana je do $\frac{3}{4}$ hnědá až černá. Hlava malá, černě zbarvená, s polokulovitě vystouplýma očima. Frontální vzdálenost mezi očima 2krát větší než jejich průměr. Tykadla flabelátní, černá. Lamela třetího článku je 0,5krát kratší než tělo článku a je napojena na apikální části článku, s každým dalším článkem se prodlužuje. Scapus prohlý, zužující se u hlavy. Pronotum je příčné, ochlupené, 1,2krát širší ve střední čáře než delší, postranní okraje vyvýšené, frontální okraj mírně vyvýšený a zaoblený, zadní rohy zaoblené, střední aerola výrazná, boční nevýrazné. Žebra na krovkách méně výrazná kryté chlupy. Krovky jsou 6,6krát delší než širší v nejširší části, zužující se v humerální části. Kopulační orgán, dorzoventrálně zploštělý, 7krát delší než širší v nejširší části, poslední třetina užší. Bazální část je zúžená, apikální směřující vzhůru.

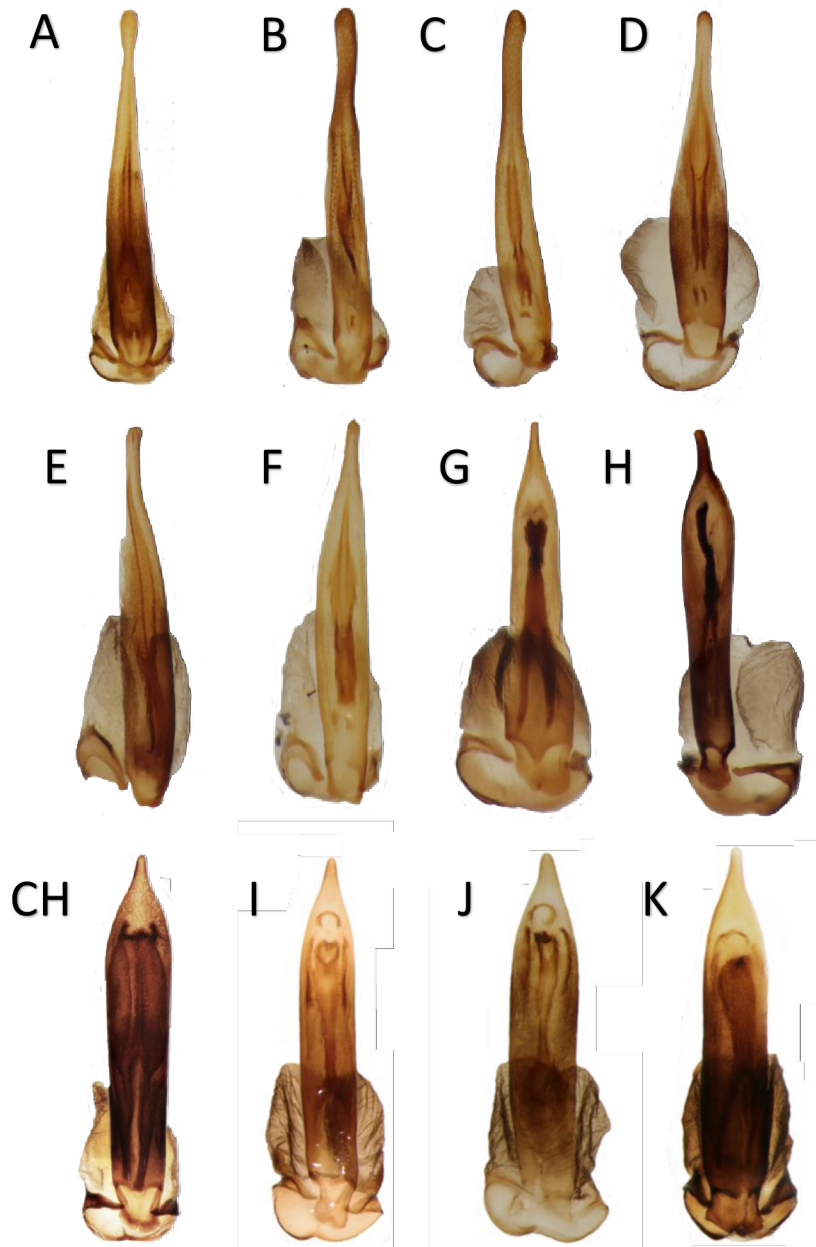
Velikosti: BL= 9 mm; PL= 1 mm; PW= 1,2 mm; EL= 8 mm; EW= 1,2 mm; EWh= 0,7 mm; Edist= 0,7 mm; Ediam= 0,35 mm; A₁= 0,4 mm; A₃= 0,7 mm



(Obr. 10: A, celý exemplář; B, detail pronota; C, kopulační orgán ze shora; D, kopulační orgán z levého boku)

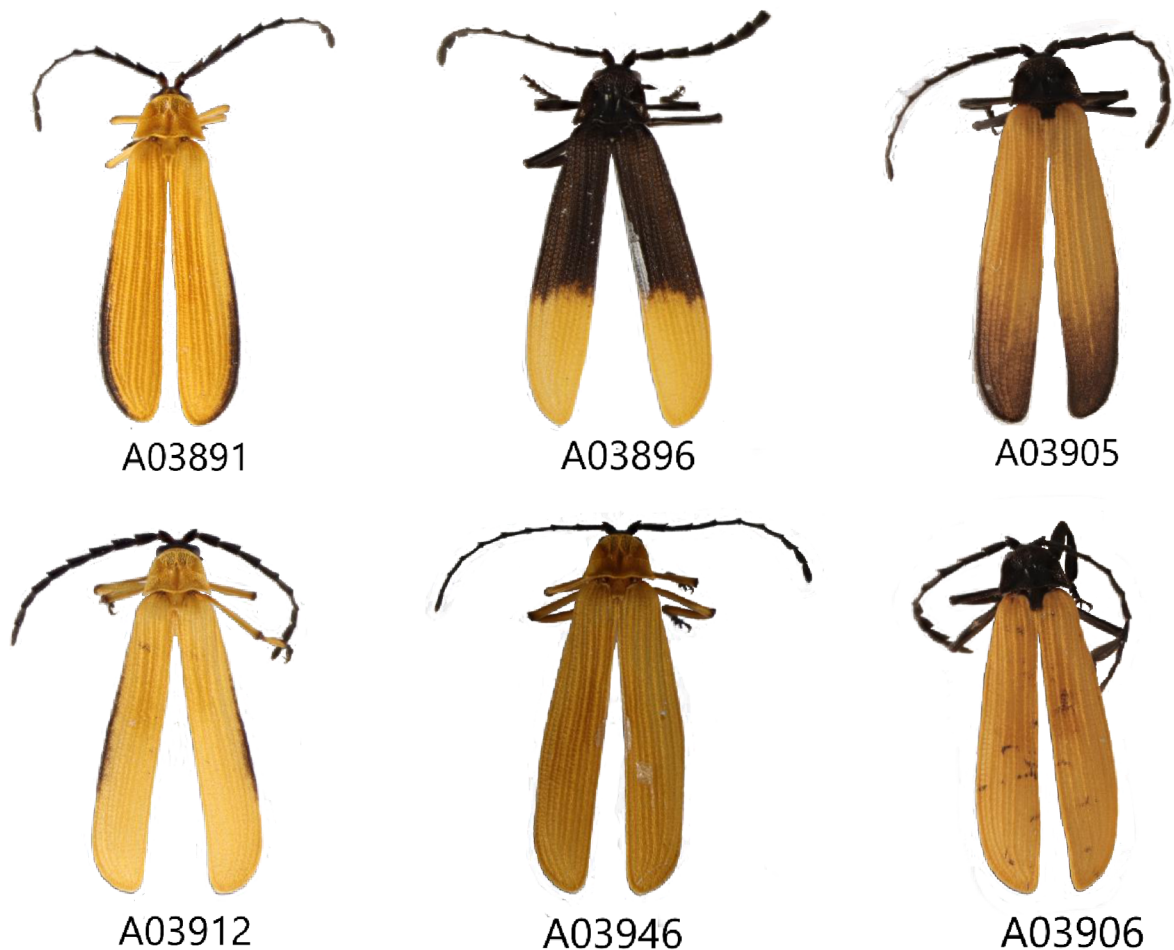
Popis: Samec, tělo velké, thorax, končetiny, abdomen a křídla žluté. Pronotum a krovky sytě žluté. Hlava malá, žlutě zbarvená, s polokulovitě vystouplými očima, frontální vzdálenost mezi očima 2krát větší než jejich průměr. Tykadla dlouhá flabelátní, žlutě zbarvená, dosahující dopoloviny těla. Lamela třetího článku je 0,5krát kratší než tělo článku a je napojena na apikální části článku. Konce lamel od pátého článku postupně tmavnou, poslední tykadlový článek je celý hnědý. Scapus z vnitřní strany zaoblený a prohlý směrem od hlavy. Pronotum příčné, ve střední čáře 1,3krát širší než delší, postranní okraje vyvýšené, čelní okraj mírně vyvýšený a zaoblený, zadní rohy jsou zaoblené, střední areola výrazná, boční areoly nevýrazné. Štít je zřetelně ochlupený. Žebra na krovkách méně výrazná, krytá chlupy. Krovky jsou 6krát delší než širší zužující se v humerální části. Kopulační orgán dorzoventrálně zploštělý, 7,3krát delší než širší v nejširší části, poslední pětina je zřetelně užší. Báze je mírně zúžená.

Velikosti: BL= 8,3 mm; PL= 1 mm; PW= 1,3 mm; EL= 7,3 mm; EW= 1,2 mm; EWh= 0,8 mm; Edist= 0,7 mm; Ediam= 0,35 mm; A₁= 0,4 mm; A₃= 0,6 mm

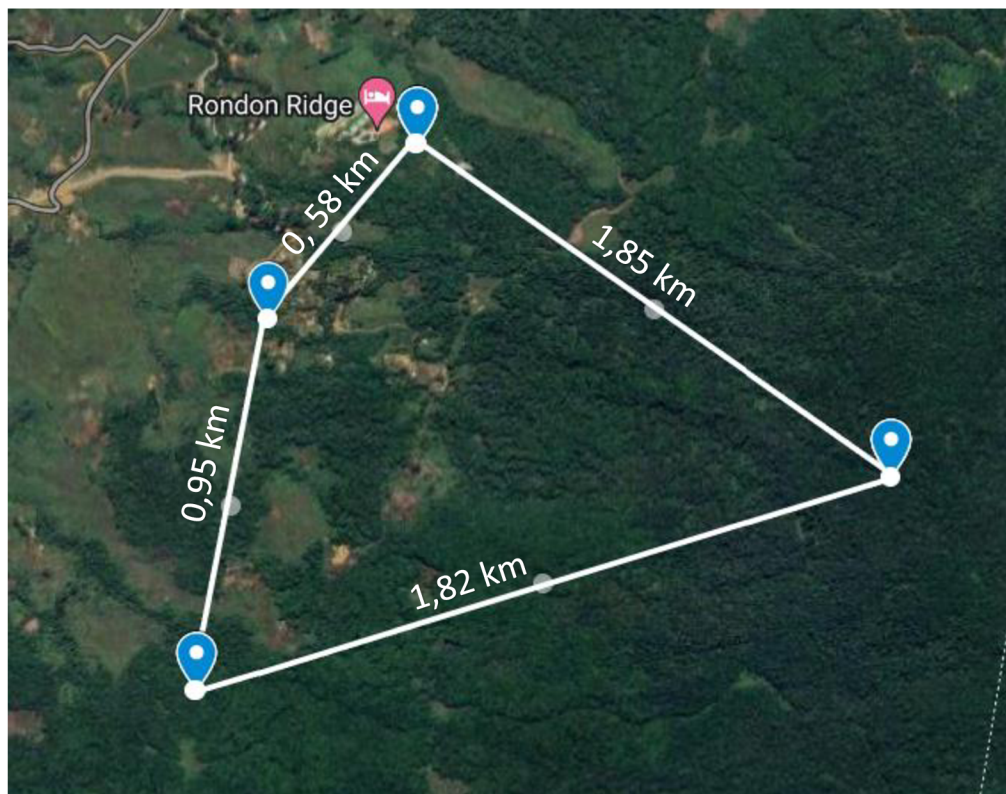


(Obr. 11: Srovnání kopulačních orgánů; A, *Cladophorus haiaensis*; B, exemplář A4149; C, exemplář A3943; D, exemplář A4007; E, exemplář A3933; F, exemplář A4023; G, exemplář A4930; H, exemplář A3681; CH, *Cladophorus bicolor*; I, *Cladophorus craterensis*; J, *Cladophorus humeralis*; K, *Cladophorus mindikensis*; exempláře A, CH – K převzaty z Kalousova a Bocák, 2017)

U vzorků A03906, A03905, A03896, A03946, A03886, A03885, A03891, A03900, A03917 a A03912 byla pozorována intraspecifická variabilita. Podle výsledků molekulárních dat vzorky náleží do jednoho druhu. Nejpodobnější jedinci se liší barvou křídel. Všechny vzorky byly získány na stejné lokalitě, přičemž největší vzdálenost činila 1,85 km (viz. obr. 12)



(Obr. 13: Vybraní zástupci polymorfního druhu z oblasti Mt. Hagen, Rondon Ridge)



(Obr. 12: Vzdálenosti mezi lokalitami sběru polymorfního druhu)

9. Diskuse

Současné znalosti o fauně brouků v Papui jsou stále omezené kvůli nízké intenzitě terénního výzkumu a dřívější nedostupnosti vnitrozemských oblastí (Kalousová a Bocák, 2017). Komplexní studie o papuánských Lycidae byla publikována již dávno Kleineem (1926), a následně bylo popsáno jen několik druhů v několika dalších studiích. Trvalo dlouhou dobu, než došlo k revidování papuánských kládů (např. Bocek a Bocák, 2016; Bocák a Bocáková, 2008). Navzdory probíhajícím studiím zůstává znalost o čeledi Lycidae stále fragmentovaná. Jejich popis je ztížený v důsledku mimetických komplexů a polymorfismu.

Fylogenetické vztahy naznačují, že podobné vzory se opakovaně vyvinuly v nesouvisejících liniích. Na základě těchto skutečností předpokládáme, že nesouvisející, vizuálně podobní a sympatricky vyskytující se lycidi jsou Müllerovými ko-mimiky. Nelycidní ko-mimici mohou být chráněni také toxickými sloučeninami a jsou považováni za Müllerovy mimiky, ačkoliv s neznámou sekundární ochranou (Motyka et al., 2021). Jiní nejsou chráněni toxickými sloučeninami a jejich podobnost lze klasifikovat jako Batesovu mimikry. Lycidi pravděpodobně slouží jako modely v místních mimicingech, protože jsou obvykle převažující počtem a jejich ko-mimici zobrazují vizuální signál, který je výjimečný pro jejich linii. Tyto zjištění činí lycidy s více než 4000 druhy jedním z největších linií zvířat s aposematicky zbarvením (Motyka et al., 2021).

Rod *Cladophorus* je endemický taxon vázaný na ostrov Nová Guinea. Vyskytuje se na celé jeho ploše. Známá diverzita rodu zahrnuje velké množství druhů viz. obr. 4. V této práci se udělala analýza 31 sekvencí získaných z jedné části ostrova, a přesto se identifikovalo 11 nových druhů (viz. Obr. 5). Tento fakt ukazuje velkou míru diverzity, která se bude nadále rozrůstat s přibývajícím studiem. Ke stejným závěrům došli i jiní autoři, kteří zkoumali další rody (např. Kalousová a Bocák, 2017; Bocák et al., 2020).

Detailním studiem morfologie kopulačního orgánu bylo zjištěno, že vzorky A00124, A03943, A4149, A04007, A04023 a A03933 se výrazně liší od kopulačního orgánu typického pro rod *Cladophorus*, viz. obr. 11. Podle metody maximum likelihood patří těchto pět vzorků spolu s dříve popsaným druhem *C. hiaensis* (Kalousová a Bocák, 2017) buď do nového sesterského rodu k rodu *Cladophorus* (obr. 5A), nebo představují štěpení uvnitř samotného rodu *Cladophorus* (obr. 5B). Tento klád se vždy nacházel v bazální části stromu. Struktura uvnitř kládu ve všech analýzách vyšla stejná. Přestože hypotéza o novém sesterském rodu má větší podporu na fylogenetickém stromu a morfologické znaky podporují jejich odlišnost, k definitivnímu potvrzení této teorie jsou zapotřebí další data a podrobnější výzkum.

Všichni zástupci z čeledi Lycidae jsou chráněni kyselinou lycidí, která se uvolňuje s hemolymfou při manipulaci z trhlin v elytrách a intersegmentálních membránách na nohách a tykadlech (Motyka et al., 2021). Díky této chemické ochraně mají tyto brouci aposematické zbarvení, které varuje predátory před jejich nepoživatelností, a podléhají také Müllerově mimikry. Tradiční model Müllerova mimikry předpokládá vznik monomorfismu vlivem selekce (Sherratt, 2008), což znamená, že by se měly vyvinout jediné, sdílené aposematické vzory bez intraspecifického polymorfismu. Nicméně, na rozdíl od tohoto teoretického modelu jsou brouci z čeledi Lycidae často polymorfní. V jedné lokalitě lze zaznamenat několik odlišných aposematických vzorů (Kalousová a Bocák, 2017; Bocek a Bocák, 2016), což svědčí o vysoké míře variability. Intraspecifická variabilita byla pozorována také u vzorků A03906, A03905, A03896, A03946, A03886, A03885, A03891, A03900, A03917 a A03912, které byly na základě

molekulární analýzy identifikovány jako zástupci jednoho druhu. Každý exemplář je jedinečný svým zbarvením, přičemž u některých jedinců, kteří si byli podobní, se variabilita projevovала pouze ve zbarvení křídel. Tento druh je vyobrazen na obrázku 13, kde je vidět, jak se jednotlivé exempláře liší ve svém aposematickém zbarvení. Všichni zástupci tohoto druhu byli nasbíráni ve stejné oblasti, konkrétně v oblasti Mt. Hagen, Rondon Ridge. Maximální vzdálenost mezi místy sběru jednotlivých vzorků činila 1,85 km (viz obr. 12). Tato skutečnost ukazuje, že i na relativně malé geografické ploše může docházet k významné intraspecifické variabilitě v aposematickém zbarvení, které morfologické analýzy mohou chybně klasifikovat jako rozdílné druhy. Ke vzniku nových barevných vzorů může podněcovat přílišný nárůst četnosti jediného vzoru (Wilson, 2013). Aby byly plně pochopeny mechanismy a ekologické faktory, které k této variabilitě přispívají, potřebujeme další a podrobnější výzkum.

Studium biodiverzity, jež komplexně zahrnuje analýzu fylogenetických vztahů, tektonickou historii dané oblasti a specifika lokálního klimatu, představuje základní a nezbytnou vědeckou disciplínu současného výzkumu v oborech zoogeografie a ochrany přírody. Toto multidisciplinární poznání umožňuje hlubší porozumění pro vzájemné vztahy mezi živými organismy a jejich prostředím, což je klíčové pro formulaci efektivních strategií ochrany biodiverzity a pro pochopení historického vývoje ekosystémů v kontextu jejich geologické minulosti a klimatických změn. V důsledku polymorfismu se nemůžeme spoléhat pouze na morfologický přístup, ale je potřeba ho kombinovat s jinými metodami (Mallet, 1995; Zhang et al., 2019), jako je molekulární analýza.

10. Závěr

Tato práce si kladla za cíl detailně prozkoumat diverzitu a evoluci druhů brouků z čeledi Lycidae, konkrétně rodu *Cladophorus* na Nové Guineji. Byla provedena komplexní analýza, která zahrnovala morfologické hodnocení, fylogenetickou analýzu založenou na mitochondriálním genu *cox1* a revizi stávající systematiky. Výsledky této studie potvrzují vysokou diverzitu a specifické evoluční vztahy mezi studovanými druhy, což naznačuje jejich adaptaci na lokální ekologické podmínky a historický vývoj této skupiny. Zjištění poukázala na kritickou roli aposematismu a mimetismu v přežití druhů, což zdůrazňuje dynamiku mezi predátory a kořistí v přírodním prostředí. Studie také ukazuje, že regionální biodiverzita a fylogenetické vztahy jsou úzce spojeny s geografickými a klimatickými charakteristikami, což má zásadní dopad na strategie pro ochranu biodiverzity.

Tato práce významně přispívá k rozšíření našeho pochopení o mechanismech evoluce a adaptace v biodiverzních hotspotech, jako je Nová Guinea. Integrace různých vědeckých metod zde ukázala svůj význam, poskytujíc kritické poznatky pro další vědecký výzkum a konzervační úsilí. Výsledky této studie jsou fundamentální nejen pro další biologický výzkum, ale také pro formulování efektivních ochrannářských opatření, která zajistí zachování unikátních ekosystémů Nové Guineje a jejich biologické rozmanitosti pro budoucí generace.

11. Didaktika

Didaktická část se zaměřuje na téma hmyz (Insecta), přičemž v rámci laboratorního cvičení je kladen důraz především na skupinu brouků (Coleoptera). Pro žáky druhého ročníku čtyřletého gymnázia je navržen podrobný plán vyučovací hodiny a následného laboratorního

cvičení. Podle rámcového vzdělávacího programu se v tomto ročníku od žáků očekává, že budou schopni charakterizovat jednotlivé skupiny živočichů z morfologického i fyziologického hlediska, zařadit je do systému, porozumět jejich evoluci, ekologii a etologii (Jeřábek et al., 2007).

11.1. Teoretická hodina

Během vyučovací hodiny se žáci seznámí se skupinou Insecta. Hodina bude zaměřena především na teoretické poznatky, které následně žáci aplikují v laboratorním cvičení. V průběhu teoretické hodiny budou žáci seznámeni s hlavními charakteristikami hmyzu jako je jejich morfologie, fyziologie, systémové zařazení, evoluční vývoj, ekologie a etologie. Důraz bude kladen na interaktivní výuku, při které budou žáci aktivně zapojeni prostřednictvím diskusí a skupinové práce. Jako doplňující materiál budou využity pracovní listy (příloha č. 2), které žáci vyplní ve spolupráci se spolužáky ve skupinách. Tyto pracovní listy budou sloužit učiteli k reflexi, zda žáci učivo dostatečně pochopili. Po skončení hodiny bude prostor pro otázky a diskusi. Plán vyučovací hodiny je rozpracován v přílohách (příloha č. 1).

11.2. Laboratorní cvičení

V následném laboratorním cvičení žáci navážou na teorii z předchozích hodin a zaměří se na skupinu Coleoptera. Praktická část bude zahrnovat pozorování různých exemplářů brouků, jejich morfologické rozlišení a identifikaci hlavních anatomických částí. Žáci budou pracovat jednotlivě a vyplňovat protokol, který obsahuje konkrétní úkoly a otázky související s pozorováním a analýzou brouků (příloha č. 3). Laboratorní cvičení je plánováno na dvě vyučovací hodiny. Cílem této výuky je přiblížit studentům téma hmyzu, propojit teoretické znalosti s praktickou zkušeností a upevnit předchozí vědomosti z anatomie hmyzu. Učitel bude přítomen, aby poskytoval odbornou podporu, odpovídal na otázky a zajistil dodržování bezpečnostních pravidel.

12. Literatura

- 1) ABERS G. A., Roecker S. W. (1991). *Deep structure of an arc-continent collision: earthquake relocation and inversion for upper mantle P and S wave velocities beneath Papua New Guinea*. J. Geophys. Res. Vol. 96 Str. 6379–6401
- 2) ANISIMOVA M., Gil M., Dufayard J-F., Dessimoz Ch., Gascuel O. (2001). *Survey of Branch Support Methods Demonstrates Accuracy, Power, and Robustness of Fast Likelihood-based Approximation Schemes*. Systematic Biology, Vol. 60 (5). Str.685–699
- 3) ARNETT R. H., Thomas M. C., Skelley P. E., Frank J. H. (2002) *American beetles. Polyphaga: Scarabaeoidea trough Curculionoidea*. Boca Raton: CRC Press. Vol. 2. str. 174-178.
- 4) AVISE J. C. (1994). *Molecular markers, natural history and evolution*. Chapman and Hall. 1 vyd. Str. 334-336
- 5) BALDWIN S. L., Fitzgerald P. G., Webb L. E. (2012) *Tectonics of the New Guinea Region*. Annu. Rev. Earth Planet. Sci. Vol. 40 str. 495–520
- 6) BALDWIN S. L., Monteleone B. D., Webb L. E., Fitzgerald P. G., Grove M., Hill E. J. (2004). *Pliocene eclogite exhumation at plate tectonic rates in eastern Papua New Guinea*. Nature Vol. 431 Str.263–67
- 7) BALOGH, A.C.V., Leimar, O. (2005). *Müllerian mimicry: an examination of fisher's theory of gradual evolutionary change*. Proc. R. Soc. Lond. B. Vol. 272 Str. 2269–2275.
- 8) BARNETT A. C, Bateson M., Rowe C. (2007) *State-dependent decision making: educated predators strategically trade off the costs and benefits of consuming aposematic prey*. Behavioral Ecology. Vol. 18 (4). str. 645-651
- 9) BARNETT A. C., Skelhorn J., Bateson M., Rowe C. (2012) *Educated predators make strategic decisions to eat defended prey according to their toxin content*. Behavioral Ecology. Vol. 23 (2). str. 418-424
- 10) BATES W. H. (1861) *Contributions to an insect fauna of the Amazon Valley. Lepidoptera: Heliconidae*. The Transactions of the Linnean Society. Vol. 23. str. 495-563
- 11) BERENBAUM M. R., Miliczky E. (1984) *Mandits and Milkweed Bugs: Efficacy of Aposematic Coloration Against Invertebrate Predators*. The University of Notre Dame: The American Midland Naturalist. Vol. 111 (1). str. 64-68.
- 12) BOCÁK L., BocakBocáková M. (2008) *Phylogeny and classification of the family Lycidae (Insecta: Coleoptera)*. Annales Zoologici. Vol. 58. str. 695–720
- 13) BOCÁK L., BocakBocáková M., Hunt T., Vogler A. P. (2008) *Multiple ancient origins of neoteny in Lycidae (Coleoptera): consequences for ecology and macroevolution*. Proceedings of the Royal Society London, B. Vol. 275. str. 2015–2023.
- 14) BOCÁK L., Matsuda K. (2003) *Review of immature stages of the family Lycidae (Insecta: Coleoptera)*. Journal of Natural History. Vol. 37. str. 1463–1507.
- 15) BOCÁK L., Motyka M., Kusy D., Bilkova R. (2020). *Biodiversity Inventory and Distribution of Metriorrhynchina Net-Winged Beetles (Coleoptera: Lycidae), with the Identification of Generic Ranges*. Insects. Vol.11 (10) str. 710
- 16) BOCÁK L., Sklenářová K., Grebennikov V. V. (2014) *Cautires apterus, a new species and the first record of wingless male Lycidae (Coleoptera) discovered in the North Pare Mountains, Tanzania*. Annales Zoologici. Vol. 64 (1). str. 1-7
- 17) BOCÁKOVÁ M., Bocák L., Hunt T., Teravainen M., Vogler A. P. (2007) *Molecular phylogenetics of Elateriformia (Coleoptera): evolution of bioluminescence and neoteny*. Cladistics. Vol. 23. str. 477–496.
- 18) BOCEK M., Bocák L. (2016) *Where are species limits in polymorphic mimetic beetles from New Guinean mountains: a case of Eniclases net-winged beetles (Lycidae: Metriorrhynchini)*. ZooKeys Vol. 593, Str. 15–35.
- 19) BROWER L.P., Brower J.v.Z., Collins C.T. (1963). *Experimental studies of mimicry 7. Relative palatability and Müllerian mimicry among neotropical butterflies of the subfamily heliconiinae*. Zool. N. Y. Zool. Soc. Vol. 48. str. 65–81
- 20) COCK R.D., Matthyssen E. (1999) *Aposematism and Bioluminescence: Experimental evidence from Glow-worm Larvae (Coleoptera: Lampyridae)*. Evolutionary Ecology. Vol. 13, str. 619–639.
- 21) CROWHURST P. V., Maas R., Hill K. C., Foster D. A., Fanning C. M. (2004) *Isotopic constraints on crustal architecture and Permo-Triassic tectonics in New Guinea: possible links with eastern Australia*. Australian Journal of Earth Sciences. Vol. 51. Str. 107–122
- 22) DALY M. C., Cooper M. A., Wilson I., Smith D. G., Hooper B. G. D. (1991). *Cenozoic plate tectonics and basin evolution in Indonesia*. Marine and Petroleum Geology. Vol 8.
- 23) De BOER A.J., Duffels J. P. (1996) *Historical biogeography of the cicadas of Wallacea, New Guinea and the West Pacific: a geotectonic explanation*. PALEO. Vol. 124. str. 153-177

- 24) 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*. Vol. 34 Str. 140–143.
- 25) DeLONG Don C. Jr. (1996) *Defining Biodiversity*. *Wildlife Society Bulletin*. Vol. 24 (4). str. 738-749
- 26) DUMBACHER J. P., Wako A., Derrickson S. R., Samuelson A., Spande T. F., Daly J. W. (2004) *Melyrid beetles (Choresine): A putative source for the batrachotoxin alkaloids found in poison-dart frogs and toxic passerine birds*. Washington DC.: PNAS. Vol. 101 (45). str. 15857-15860.
- 27) DUNNING D. C., Acharya L., Merriman C. B., Lella Dal Ferro. (1992) *Interactions between bats and arctiid moths*. *Canadian Journal of Zoology*. Vol. 70 (11), str. 2218-2223.
- 28) EDELAAR P., Bolnick D. L. (2012). *Non-random gene flow: an underappreciated force in evolution and ecology*. *Trends in Ecology and Evolution*. Vol. 27 (12). str. 659-665.
- 29) FINKBIEREN D. S., Briscoe A. D., Reed R. D. (2014) *Warning signals are seductive: Relative contributions of color and pattern to predator avoidance and mate attraction in Heliconius butterflies*. *Evolution*. Vol. 68 (12). str. 3410-3420.
- 30) FISHER R.A. (1927). *On some objections to mimicry theory; statistical and genetic*. *Trans. R. Entomol. Soc. Lond.* Vol. 75 str. 269–278.
- 31) FREEBERG M. T. (2004) *Social transmission of courtship behavior and mating preferences in brown-headed cowbirds, Molothrus ater*. *Learning and Behavior*. Vol. 32 (1). str. 122-130.
- 32) GAMBERALE G., Tullberg B. S. (1998) *Aposematism and gregariousness: the combined effect of group size and coloration on signal repellence*. *Proceeding of the royal society B*. Vol. 265. str. 889-894.
- 33) GILBERT F. (2005) *The evolution of imperfect mimicry*. *Insect evolutionary ecology*. str. 231-288
- 34) GRESSIT J. L. (1982). *Biogeography and ecology of New Guinea*. Springer Science: Business Media. B. V. Vol. 1
- 35) GRIFFIN A. S. (2004) *Social learning about predators: A review and prospectus*. *Learning and Behavior*. Vol. 32 (1). str. 131-140.
- 36) GUIDON S., Dufayard J-F., Lefort V., Anisimova M., Hordijk W., Gascuel O. (2010). *New Algorithms and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the Performance of PhyML 3.0*. *Systematic Biology*. Vol. 59 (3). Str. 307–321
- 37) GULLAN P. J., Cranston P. S. (2014). *The Insects: An Outline of Entomology*. John Wiley and Sons. 5. vyd. Str. 6. ISBN: 978-1-4443-3036-6
- 38) 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*. Vol.23 (4). Str. 167-172
- 39) HALL, R. (1996). *Reconstructing Cenozoic SE Asia*. In R. HALL, D. J. BLUNDELL (Eds.), *Tectonic Evolution Evolution of SE Asia*. Geological Society of London Special Publication. 1. vyd. Str. 153-184
- 40) HALPIN G. Ch., Skelhorn J., Rowe C. (2013) *Predators' decisions to eat defended prey depend on the size of undefended prey*. *Animal Behaviour*. Vol 85. str. 1315-1321.
- 41) HEADS M. (2001). *Birds of paradise, biogeography and ecology in New Guinea: a review*. *Journal of Biogeography*. Vol. 28 (7). str. 893-925.
- 42) HEBERT P. D. N., Cywinska A., Ball S. L., DeWaard J. R. (2003). *Biological identifications through DNA barcodes*. *Proceeding of the Royal Society Biological Sciences B*. Vol. 270. Str.313–321.
- 43) HILL K. C., Hall R. (2003). *Mesozoic–Cenozoic evolution of Australia's New Guinea Margin in a West Pacific Context*. In: *Evolution and Dynamics of the Australian Plate*. Hillis R. R., Müller R. D. eds. Geological Society of Australia Special Publication 22 and Geological Society of America Special Paper 372. Str. 259–283.
- 44) HOANG D. T., Chernomor O., von Haeseler A., Minh B. Q., Vinh L. S. (2018). *UFBoot2: Improving the ultrafast bootstrap approximation*. *Molecular Biology and Evolution*. Vol 35. Str. 518–522
- 45) HOLMGREN M. N., Enquist M. (1999) *Dynamics of mimicry Evolution*. *Biological Journal of the Linnean Society*. Vol. 66. str. 145-158.
- 46) HOLZHAIDER J. C., Hunt G. R., Gray R. D. (2010) *Social learning in New Caledonian crows*. *Learning and Behavior*. Vol. 38 (3). str. 206-219.

- 47) IHALAINEN E., Lindstrom L., Mappes J. (2007). *Investigating Müllerian mimicry: predator learning and variation in prey defences*. EUROPEAN SOCIETY FOR EVOLUTIONARY BIOLOGY. Vol. 20. str. 780–791
- 48) IUCN. (2012). *More recognition needed for Blue Carbon's role in curbing climate change*. Švýcarsko: International Union for Conservation of Nature and Natural Resources [online]. cit. 9.7.2024. dostupné z: <https://www.iucn.org/content/more-recognition-needed-blue-carbons-role-curbing-climate-change>
- 49) JABLONSKI P. G., Hyun Jun Cho, Soo Rim Song, Chang Ku Kang, Sang-im Lee. (2013) *Warning signals confer advantage to prey in competition with predators: bumblebees steal nests from insectivorous birds*. Springer: Behav Ecol Sociobiol. Vol 67. str. 1259-1267.
- 50) JANZEN D. H., Hajibabaei M., Burns J. M., Hallwachs W., Remigio E., Hebert P. D. (2005) *Wedding biodiversity inventory of a large and complex Lepidoptera fauna with DNA barcoding*. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. Vol. 360(1462) str. 1835-1845.
- 51) JEŘÁBEK J., Krčková S., Hučínová L. (2007). *Rámcový vzdělávací program pro gymnázia RVP G*. VÚP v Praze. Str. 33.
- 52) KALOUSOVA R., Bocák L. (2017). *Species delimitation of colour polymorphic Cladophorus (Coleoptera: Lycidae) from New Guinea*. Zootaxa Vol. 4320 (3). Str. 505-522
- 53) KALYAANAMOORTHY S., Minh B. Q., Wong T. K. F., von Haeseler A., Jermini L. S. (2017). *ModelFinder: Fast model selection for accurate phylogenetic estimates*. Nat. Methods. Vol. 14 Str. 587-589.
- 54) KAPAN, D.D. (2001). *Three-butterfly system provides a field test of Müllerian mimicry*. Nature. Vol. 409. Str. 338–340.
- 55) KATOH K., Standley D. M. (2013). *MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability*. Molecular Biology and Evolution. Vol. 30. Str. 772–780.
- 56) KIKUCHI D. W., Herberstein M. E., Barfield M., Holt R. D., Mappes J. (2021) *Why aren't warning signals everywhere? On the prevalence of aposematism and mimicry in communities*. Cambridge: Biological Reviews. Vol. 96. str. 2446-2460.
- 57) KLOOTWIJK CH., Giddings j., Pigram CH., (1993) *Palaeomagnetic constraints on terrane tectonics: Highlands and Sepik regions, Papua New Guinea*. Exploration Geophysics. Vol. 24. Str. 291-294
- 58) KOKKO H., Mappes J., Lindstrom L. (2003). *Alternative prey can change model-mimic dynamics between parasitism and mutualism*. Ecol. Lett. Vol. 6 str. 1068–1076.
- 59) LENORMAD T. (2002) *Gene flow and the limits to natural selection*. Trends in Ecology and Evolution. Vol. 17 (4). str. 183-189.
- 60) LINDSTEDT C., Eager H., Ihalainen E., Kahilainen A., Stevens M., Mappes J. (2011) *Direction and strength of selection by predators for the color of the aposematic wood tiger moth*. Behavioral Ecology. Vol. 22 (3). str. 580-587
- 61) LINSLEY E. G., Eisner T., Klots A. B. (1961) *Mimetic Assemblages of Sibling Species of Lycid Beetles*. Evolution. Vol. 15 (1). str. 15–29.
- 62) LITTLE T. A., Baldwin S. L., Fitzgerald P. G., Monteleone B. D. (2007). *Continental rifting and metamorphic core complex formation ahead of the Woodlark spreading ridge, D'Entrecasteaux Islands, Papua New Guinea*. Tectonics Vol. 26:TC1002
- 63) LITTLE T. A., Hacker B. R., Gordon S. M., Baldwin S. L., Fitzgerald P. G., Ellis S., Korchinski M. (2011). *Diapiric exhumation of Earth's youngest (UHP) eclogites in the gneiss domes of the D'Entrecasteaux Islands, Papua New Guinea*. Tectonophysics Vol. 510 Str. 39–68
- 64) LNDOVÁ E., Hotová Svádová K., Fusch R., Štys P., Exnerová A. (2017) *The effect of social learning on avoidance of aposematic prey in juvenile great tits (Parus major)*. Německo: Springer.
- 65) LOVEJOY T. E. (1997) (Marjorie L. Reaka-Kudla, Don E. Wilson, Edward O. Wilson eds.). *Biodiversity II: Understanding and Protecting Our Biological Resources*. Joseph Henry Press. 1. vyd.
- 66) MAAN E. M., Cummings M. E. (2008) *Female Preferences for aposematic signal components in a polymorphic poison frog*. Evolution. Vol. 62 (9). str 2334-23345.
- 67) MAAN E. M., Cummings M. E. (2009) *Sexual dimorphism and directional sexual selection on aposematic signals in a poison frog*. PNAS. Vol. 106 (45).
- 68) MAAN E. M., Cummings M. E. (2012) *Poison Frog Colors Are Honest Signals of Toxicity, Particularly for Bird Predators*. The American Naturalist. Vol. 179 (1).
- 69) MACLAURIN J., Sterelny K. (2008). *What is biodiversity?* Chicago: The University of Chicago Press. 1. vyd.
- 70) MALLET J. (1995): *A species definition for the modern synthesis*. Trends in Ecology and Evolution. Vol. 10. Str. 294–299.

- 71) MALLETT J., GILBERT L. E. Jr. (1995) *Why are there so many mimicry rings? Correlations between habitat, behavior and mimicry in Heliconius*. Biological Journal of the Linnean Society. Vol. 55 (2). str. 159-180.
- 72) MARSHALL G. A. K. (1908). *On diaposematism with reference to some limitations of the Müllerian hypothesis of mimicry*. Proc. Entomol. Soc. Lond. Vol. 1 str. 93–142.
- 73) MAYERS N. (2003). *Conservation of biodiversity: how are we doing?* Environmentalist. Vol. 23. str. 9–15.
- 74) McGinley M. (2010) *Natural selection*. The Encyclopedia of Earth. [online]. cit. 30.4.2024. dostupné z: https://editors.eol.org/eoearth/wiki/Natural_selection
- 75) MERILAITA S., Lind J. (2005) *Background-matching and disruptive coloration, and the evolution of cryptic coloration*. Proceeding of the royal society B. Vol. 272. str. 665-670.
- 76) MOORE G. W. (1992) *Explanatory Notes for the Plate-Tectonic Map of the Circum-Pacific Region*. CIRCUM-PACIFIC COUNCIL FOR ENERGY AND MINERAL RESOURCES. 1. vyd.
- 77) MOTYKA M., Kazantsev S. V., Kusy D., Perkovsky E. E., Shuhei Yamamoto, Bocák L. (2023) *Eocene aposematic patterns persist in modern European Lycidae beetles despite the absence of co-mimics*. iScience. Vol. 26.
- 78) MOTYKA M., Kusy D., Masek M., Bocek M., Yun Li, Bilkova R., Kapitán J., Takashi Yagi, BocakBocák L. (2021) *Conspicuousness, phylogenetic structure, and origins of Müllerian mimicry in 4000 lycid beetles from all zoogeographic regions*. Scientific Reports.
- 79) MOTYKA M., Masek M., Bocák L. (2017) *Congruence between morphology and molecular phylogeny: the reclassification of Calochromini (Coleoptera: Lycidae) and their dispersal history*. Zoological Journal of the Linnean Society. 2017. Vol. 180. str. 47–65.
- 80) MÜLLER F. (1879) *Ituna and Thyridis; a remarkable case of mimicry in butterflies*. The Transactions of the Entomological Society of London.
- 81) 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. Vol 32. str. 268-274.
- 82) NISHIMURA S., Suparka S. (1990). *Tectonics of East Indonesia*. Tectonophysics. Vol. 181. str. 257-266.
- 83) OWINGS D. H., Rundus A. S., Rowe M. P. (2002) *The Rattling Sound of Rattlesnakes (Crotalus viridis) as a Communicative Resource for Ground Squirrels (Spermophilus beecheyi) and Burrowing Owls (Athene cunicularia)*. Journal of Comparative Psychology. Vol. 116 (2). str. 197-205.
- 84) PARTAN S., Marler P. (1999) *Communication Goes Multimodal*. Science. Vol. 283, str. 1272-1273.
- 85) PAVLOV I.P. (1923). *New Researches on Conditioned Reflexes*. AAAS: Science. Vol. 58 (1506). str. 359-361.
- 86) PIGRAM C. J., Davies H. L. (1987). *Terranes and the accretion history of the New Guinea orogen*. BMR Journal of Australian Geology and Geophysics. Vol. 10. Str. 193–211
- 87) POULTON E. B. (1890). *The colours of animals: their meaning and use, especially considered in the case of insect*. New York: D. Appleton.
- 88) POULTON E. B. (1898). *Natural selection: the cause of mimetic resemblance and common warning colours*. The Transactions of the Linnean Society. Vol. 26. str. 558-612
- 89) PRENTICE M. L., Hope G. S. (2006). *CLIMATE OF PAPUA*. The Ecology of Papua. str. 177-195
- 90) RATCLIFFE J. M., Soutar A. R., Muma K. E., Guignon C., Fullard J. H. (2008). *Anti-bat flight activity in sound-producing versus silent moths*. Canadian Journal of Zoology. Vol. 86(6). str. 582-587.
- 91) RAWAT U.S., N. K. Agarwal. (2015) *Biodiversity: Concept, threats and conservation*. Environment Conservation Journal. Vol. 16 (3). str. 19-28
- 92) REED S. M., Evely A. C., Cundill G., Fazey I., Glass J., Laing A., Newig J., Parrish B., Prell CH., Raymond CH., Stringer L. C. (2010). *What is social learning?* Resilience Alliance Inc.: Ecology and Society. Vol. 15 (4).
- 93) RESCORLA R. A. (1988) *Behavioral Studies of Pavlovian Conditioning*. University of Pennsylvania: Department of Psychology. Vol. 11. str. 329-352.
- 94) ROJAS B., Burdfield-Steel E., De Pasqual CH., Gordon S., Hernández L., Mappes J., Nokelainen O., Rönkä K., Lindstedt C. (2018). *Multimodal Aposematic Signals and Their Emerging Role in Mate Attraction*. Frontiers in Ecology and Evolution.
- 95) ROJAS B., Burdfield-Steel E., Pakkannen H., Suisto K., Maczka M., Schulz S., Mappes J. (2017). *How to fight multiple enemies: target-specific chemical defences in an aposematic moth*. Proceeding of the royal society B. Vol. 284.

- 96) ROWLAND H. M., Mappes J., Ruxton G. D., Speed M. P. (2010). *Mimicry between unequally defended prey can be parasitic: evidence for quasi-Batesian mimicry*. Ecology Letters. Vol. 13. str. 1494–1502
- 97) ROWLAND H.M., Ihalainen E., Lindstrom L., Mappes J., Speed M. P. (2007). *Co-mimics have a mutualistic relationship despite unequal defences*. Nature-London Vol. 448 str. 64–67.
- 98) RUXTON G. D., Allen W. L., Sherratt T. N., Speed M. P. (2018). *Avoiding attack: The Evolutionary Ecology of Crypsis, Aposematism, and Mimicry*. Oxford University Press. 2. vyd.
- 99) SANTOS J. C., Baquero M., Barrio-Amoró's C., Coloma L. A., Erdtmann L. K., Lima A. P., Cannatella D. C. (2014). *Aposematism increases acoustic diversification and speciation in poison frogs*. Proceeding of the royal society B. Vol. 281.
- 100) SAPORITO R. A., Zuercher R., Roberts M., Gerow K. G., Donnelly M. A. (2007). *Experimental Evidence for Aposematism in the Dendrobatid Poison Frog *Oophaga pumilio**. Copeia. str. 1006–1011
- 101) SHERRATT N. T. (2002) *The evolution of imperfect mimicry*. Behavioral Ecology. Vol. 13 (6). str. 821–826
- 102) SHERRATT N. T. (2008) *The evolution of Müllerian mimicry*. Naturwissenschaften. Vol. 95. str. 681-695.
- 103) SHERRATT T.N., Speed M.P., Ruxton G.D. (2004). *Natural selection on unpalatable species imposed by state-dependent foraging behaviour*. J. Theor. Biol. Vol. 228. str. 217–226.
- 104) SCHMIDT J. O. (2004) *Venom and the Good Life in Tarantula Hawks (Hymenoptera: Pompilidae): How to Eat, Not Be Eaten, and Live Long*. Journal of the Kansas Entomological Society. Vol. 77 (4). str. 402–413
- 105) SCHULTZ T. D. (2001) *Tiger Beetle Defenses Revisited: Alternative Defense Strategies and Colorations of Two Neotropical Tiger Beetles, *Odontocheila Nicaraguensis* Bates and *Pseudoxyecheila Tarsalis* Bates (Carabidae: Cicindelinae)*. The Coleopterists Bulletin. Vol. 55 (2). str. 153–163.
- 106) SILLÉN-TULLBERG B. (1985). *Higher Survival of an Aposematic than of a Cryptic Form of a Distasteful Bug*. Berlin: Oecologia. Vol. 67 (3). str 411-415.
- 107) SKELHORN J., Halpin CH. G., Rowe C. (2016). *Learning about aposematic prey*. Newcastle University: Behavioral Ecology. Vol. 27(4), str. 955–964.
- 108) SKLENÁŘOVÁ K., Douglas CH., Bocák L. (2013). *Phylogeography of Poorly Dispersing Net-Winged Beetles: A Role of Drifting India in the Origin of Afrotropical and Oriental Fauna*. PloS ONE. Vol. 8 (6). str. 1–11.
- 109) SPEED M.P. (1993). *Müllerian mimicry and the psychology of predation*. Anim. Behav. Vol. 45 str. 571–580.
- 110) SPEED M.P., Alderson N.J., Hardman C., Ruxton G.D. (2000). *Testing Müllerian mimicry: an experiment with wild birds*. Proc. R. Soc. Lond. B. Vol. 267 Str. 725–731.
- 111) STORK Nigel E. (2018) *How Many Species of Insects and Other Terrestrial Arthropods Are There on Earth?* Annual Review of Entomology. Vol. 63 (1). Str. 31-45
- 112) SWADDLE P. J. (2010) *Evolution*. The Encyclopedia of Earth. [online]. cit. 30.4.2024. dostupné z: <https://editors.eol.org/eoearth/wiki/Evolution>
- 113) ŠAFÁŘOVÁ D. (2011) *Kapitoly z obecné genetiky*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci. 1. vyd.
- 114) TSENG Hui-Yun, Chung-Ping Lin Jung-Ya Hsu, Pike D. A., Wen-San Huang. (2014) *The Functional Significance of Aposematic Signals: Geographic Variation in the Responses of Widespread Lizard Predators to Colourful Invertebrate Prey*. Londýn: Plos One.. Vol. 9 (3).
- 115) TURNER J. R. G. (1978) *Why male butterflies are non-mimetic: natural selection, sexual selection, group selection, modification and sieving*. Biological Journal of the Linnean Society. Vol. 10 (4). str 385-432.
- 116) TURNER J.R.G. (1977). *Butterfly mimicry. the genetical evolution of and adaptation*. Evol. Biol. Vol. 10. str. 163–206.
- 117) TURNER, J.R.G. (1987). *The evolutionary dynamics of batesian and Müllerian mimicry: Similarities and differences*. Ecol. Entomol. Vol. 12. Str. 81–95.
- 118) UNDERWOOD T. J., Tallany D. W., Pesek J. D. (1997). *Bioluminescence in Firefly Larvae: A Test of the Aposematic Display Hypothesis (Coleoptera: Lampyridae)*. Journal of Insect Behavior. Vol. 10 (3). str. 365-370.
- 119) URBANIK A. (2013) *Super Moth: Moths Hear and Talk Back to Incoming Bat Predators*. Chicago: Eukaryon. Vol. 9.
- 120) VERGARA I., Pedraza-Escalona M., Paniagua D., Restano-Cassulini R., Zamudio F., Batista C. V. F., Possani L. D., Alagón A. (2014). *Eastern coral snake *Micrurus fulvius* venom toxicity in mice is mainly determined by neurotoxic phospholipases A2*. Journal of Proteomics. Vol. 105. str. 295–306.

- 121) VISALBERGHI E., Fragaszy D. M. (1996). *Pedagogy and Imitation in Monkeys Yes, No, or Maybe?* In. *THE HANDBOOK OF Education and Human development: New models of learning, teaching and schooling.* (David R Olson a Nancy Torrance (ed.)) Cambridge: Blackwell Publisher. 1. vyd.
- 122) WALLACE A. R. (1889). *Darwinism. An exposition of the theory of natural selection with some of its applications.* 1. vyd. Londýn: MACMILLAN AND CO.
- 123) WALLACE A.R. (1864). *On the Phenomena of Variation and Geographical Distribution as illustrated by the Papilionidae of the Malayan Region.* The Transactions of the Linnean Society. Vol. 25. str. 1-72.
- 124) WILKINS J. (2001) *Defining Evolution.* NCSE: Reports of the National Center for Science Education. Vol. 21. [online]. cit. 30.4.2024. dostupné z: <https://ncse.ngo/defining-evolution>
- 125) WILSON J. S., Jahner J. P., Williams K. A., Forister M. L. (2013). *Ecological and evolutionary processes drive the origin and maintenance of imperfect mimicry.* *PLoS ONE* Vol. 8, e61610.
- 126) 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.* Vol. 9 (3412).

Seznam příloh

Příloha č. 1: plán vyučovací hodiny na téma Insecta

Příloha č. 2: pracovní list pro výuku na téma hmyz

Příloha č. 3: protokol do laboratorních cvičení na téma Coleoptera

13. Přílohy

Příloha č. 1.: plán vyučovací hodiny na téma Insecta

Cíl hodiny

- i) Žáci porozumí základní charakteristice skupiny Insecta
- ii) Žáci budou schopni identifikovat jednotlivé skupiny Insecta a poznají základní zástupce
- iii) Žáci budou schopni vysvětlit význam Insecta v ekosystému

Pomůcky

- i) Prezentace v PowerPointu
- ii) Pracovní listy s otázkami a úkoly
- iii) Psací potřeby
- iv) Obrázky či vzorky zástupců Insecta

1. Fáze – Evokace

Cíl: Aktivovat předchozí znalosti žáků a vzbudit zájem o téma.

i) „Brainstorming“:

Učitel zapíše na tabuli slovo "hmyz" a požádá žáky, aby sdělili, co je napadne, když slyší toto slovo.

Zaznamenává odpovědi na tabuli (např. druhy Insecta, kde je viděli, co o nich vědí).

ii) Diskuze:

Učitel vede krátkou diskusi na téma: "Proč je hmyz důležitý?".

2. Fáze – Uvědomění si významu

Cíl: Prohloubit znalosti žáků o hmyzu a jejich významu v přírodě.

i) Prezentace:

Učitel přednese prezentaci o Insecta, která obsahuje informace o jejich anatomii, fyziologii, různých skupinách (např. Coleoptera, Diptera, Lepidoptera, Odonata) a jejich roli v ekosystému.

Během prezentace může učitel ukázat i krátká videa o různých zástupcích hmyzu.

3. Fáze – Reflexe

Cíl: Zhodnotit nové poznatky a jejich aplikaci v reálném životě.

i) Diskuse:

Učitel vede diskusi o tom, co se žáci dozvěděli, co je nejvíce zaujalo a jak mohou tyto znalosti využít v reálném životě.

ii) Pracovní listy:

Žáci vyplní pracovní listy, které obsahují otázky a úkoly k reflexi

iii) Závěrečné shrnutí:

Učitel shrne klíčové body hodiny a zodpoví případné dotazy žáků.

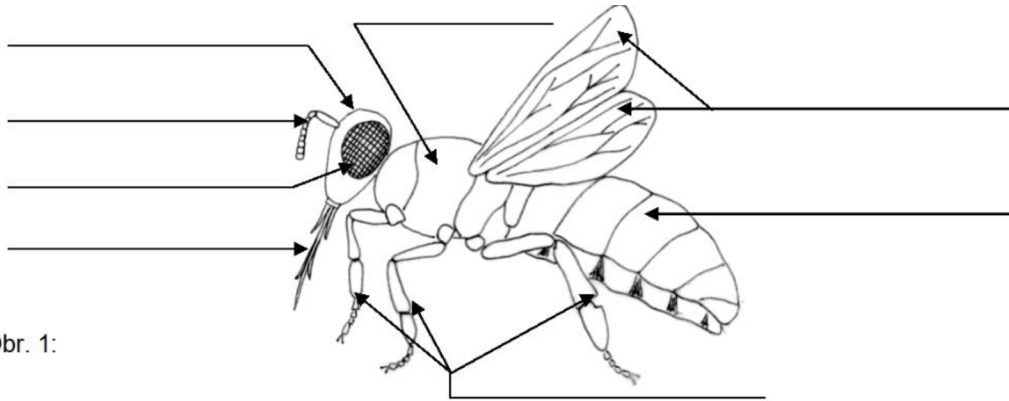
Hodnocení:

- Aktivní účast na brainstormingu a diskusích.
- Kvalita a správnost vyplněných pracovních listů.
- Schopnost identifikovat a popsat různé skupiny Insecta.

Příloha č. 2. pracovní list pro výuku na téma hmyz

Téma: Hmyz (Insecta)

- Pojmenujte části těla hmyzu podle obrázku.



Obr. 1:

(zdroj: Navrátilová Ludmila. Hmyz-obecná charakteristika. Pracovní list-zadání. [online] cit. 27.06.2024 dostupné na: <https://dum.rvp.cz/materialy/hmyz-obecna-charakteristika.html>)

- Z jakých částí se skládá hrudník hmyzu?

.....

- Jaký je rozdíl mezi hmyzem holometabolním a hemimetabolním?

.....

- Která skupina má okřídlené subimagi?

.....

- Napište 3 příklady významu hmyzu pro ekosystém s konkrétními zástupci.

.....

- Napište tři příklady významu hmyzu pro člověka a uveďte zástupce (můžou být i negativní).

.....

- Vysvětlete následující pojmy:

Elytra:

Sklerit:

Pterytorax:

Lamela:

Instar:

Neotenie:

Aposematismus:

Imago:

Nymfa:

- Ze sbírky hmyzu vyučujícího si vyberte jednoho zástupce, zařaďte jej do systému, popište a napište nějaké zajímavosti (můžete použít internetové zdroje nebo odbornou literaturu)

.....

.....

.....

.....

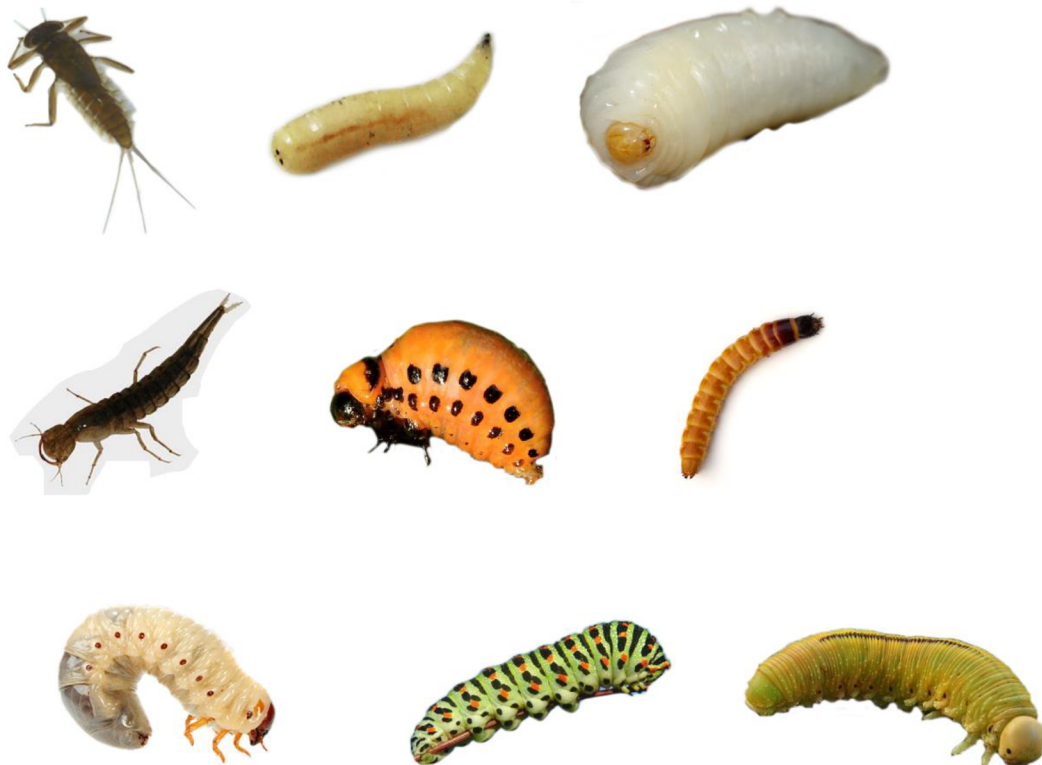
.....

.....

.....

.....

- Pojmenujte na obrázku jednotlivé typy larev



Příloha č 3: protokol do laboratorních cvičení na téma Coleoptera

Protokol č.

Téma: brouci (Coleoptera)

Pomůcky: vzorky brouků, pinzeta, špendlíky, polystyren, Petriho misky, kádinka, kahan, binokulární lupa, uzavíratelné trubičky, tvrdý papír, lepidlo, žiletka, nůžky

Chemikálie: glycerol, hydroxid draselný, destilovaná voda

Úkol: Pozorování brouků, jejich preparace a tvorba entomologické sbírky

Postu: Vzorky brouků (vybíráme samce) pozorujeme pod binokulární lupou, podle literatury určíme druh, změříme a zapíšeme velikosti jednotlivých částí těl a zakreslíme jednu krovku a štít. Připravíme si 10 % roztok smícháním 5 ml hydroxidu draselného a 45 ml destilované vody. Ze vzorku žiletkou odřízneme abdomen a vnoříme jej do připraveného roztoku. Pomalu krouživými pohyby kádinky nad kahanem přivedeme roztok k teplotě blízké bodu varu. Než roztok začne vřít, odstavíme jej od kahanu. Tento postup opakujeme, dokud se z abdomenu neodstraní svalová a tuková tkáň (cca 3 minuty). Abdomen vytáhneme pinzetou a vložíme ho do Petriho misky s destilovanou vodou. Pod binokulární lupou pomocí špendlíků rozevřeme poslední dva sklerity abdomenu a vypreparujeme kopulační orgán a přesuneme ho do Petriho misky s glycerolem. Kopulační orgán zakreslíme a následně jej nasajeme do trubičky kterou uzavřeme. Abdomen dáme na ubrousek a necháme oschnout. Zbytek brouka nalepíme na štítek z tvrdého papíru, na druhý štítek nalepíme zbytky abdomenu a následně na dva štítky napíšeme lokaci sběru a druh brouka v češtině a latině. Pomocí výškáčku na špendlík připevníme pod sebe štítek s broukem, štítek s abdomenem, trubičku s kopulačním orgánem, název brouka a lokaci. Výsledný preparát zapíchneme do polystyrenu a necháme vyschnout. Výsledky porovnáme se spolužáky a do závěru napíšeme systematické zařazení našeho konkrétního pozorovaného jedince.

Výsledky:

Druh brouka						
Šířka štítu						
Délka štítu						
Šířka krovky v nejširší části						
Délka krovky						
Vzdálenost očí						
Průměr očí						
Délka tykadla						

Nákres:

Závěr: