

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
KATEDRA ZOOLOGIE



Fylogeneze a postavení čeledi Cantharidae
(COLEOPTERA: ELATEROIDEA)

Bakalářská práce

Vypracovala: Jana Glogarová

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Systematická biologie a ekologie

Forma studia: prezenční

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

Olomouc, 2014

PROHLÁŠENÍ

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

V Olomouci, 25. 7. 2014

.....

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala Prof. Ing. Ladislavu Bocákovi, Ph.D. za vedení bakalářské práce. Velké poděkování také patří mé rodině a přátelům za podporu po dobu mého studia.

BIBLIOGRAFICKÁ IDENTIFIKACE

Jméno a příjmení autora: Jana Glogarová

Název práce: Fylogeneze a postavení čeledi Cantharidae

(COLEOPTERA: ELATEROIDEA)

Typ práce: Bakalářská práce

Pracoviště: Katedra zoologie

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

Rok obhajoby práce: 2014

ABSTRAKT

Tato práce je zaměřena na fylogenezi a klasifikaci čeledi páteříčkovití, Cantharidae, kteří jsou klasifikováni v nadčeledi Elateroidea (Coleoptera). V Cantharidae dosud bylo popsáno přibližně 5500 druhů a v práci je uveden přehled historie klasifikace a krátké shrnutí dosavadních znalostí o morfologické diverzitě skupiny. Na základě morfologie bylo definováno 5 podčeledí: Cantharinae, Silinae, Chauliognathinae, Malthininae a Dymorphocerinae a jejich monofylie byla v této práci testována s použitím molekulárních dat. Na základě sekvencí fragmentu ribozomálního jaderného genu 28S rRNA byla provedena fylogenetická analýza celkem 91 jedinců reprezentujících základní linie z celého světa. Pro vytvoření fylogenetických stromů byla použita bayesiánská metoda, neighbor-joining a maximální parsimonie. Výsledky bayesiánské analýzy byly v souladu s morfologicky založenou klasifikací čeledi: byla doložena monofylie čeledi Cantharidae, dále analýza podpořila monofylii morfologicky definovaných podčeledí a pozice sesterských skupin Cantharinae + Silinae a Chauliognathinae + Malthininae v čeledi Cantharidae. Některé analýzy neposkytly robustní topologii. Pro získání lépe podpořené hypotézy je nutné analyzovat větší počet sekvencí.

Klíčová slova: Cantharidae, molekulární fylogeneze, 28S rRNA

Počet stran: 28

Jazyk: Český

BIBLIOGRAPHIC IDENTIFICATION

First name and surname of the author: Jana Glogarová

Name of the thesis: Phylogeny and classification of the family Cantharidae

(Coleoptera: Elateroidea)

Type of thesis: Bachelor

Workplace: Department of Zoology

Thesis supervisor: Prof. Ing. Ladislav Bocák, Ph.D.

Year of defence: 2014

ABSTRACT

The thesis deals with phylogeny and classification of family Cantharidae. The historical review of the classification and the basic morphological characteristics are given. The family Cantharidae belongs to the superfamily Elateroidea (Coleoptera) and comprises 5500 formally described species. Altogether, five subfamilies, Cantharinae, Silinae, Chauliognathinae, Malthininae and Dymorphocerinae, have been classified in Cantharidae and these subfamilies were defined based exclusively on morphology. Here, a single ribosomal nuclear fragment 28S rRNA was used to infer the phylogenetic hypothesis. Three methods, neighbor-joining, bayesian inference and the optimisation of the parsimony criterion were used to infer phylogenetic trees. The results of the bayesian analysis support monophyly of the family Cantharidae, monophyly of main lineages classified as subfamilies and proved relationships between sister groups Cantharinae + Silinae and groups Malthininae + Chauliognathinae in the family Cantharidae. Further analyses provided contentious results. More data are needed to get robustly supported phylogenetic hypothesis.

Key words: Cantharidae, molecular phylogeny, 28S rRNA

Number of pages: 28

Language: Czech

OBSAH

1. Úvod.....	6
2. Historie klasifikace	7
3. Morfologie a anatomie.....	9
3.1 Morfologie dospělců.....	9
3.2 Morfologie larev	11
4. Biologie a rozšíření	12
5. Cíle práce	13
5.1. Metody a materiál	14
5.1.1. Materiál	14
5.1.2. Metody	14
5.2 Výsledky	22
6. Diskuze a závěr	23
7. Literatura	26

1. Úvod

Čeď páteříčkovití, Cantharidae, náleží do nadčeledi Elateroidea, která obsahuje široce rozšířené a velmi diverzifikované skupiny jako kovaříkovití (Elateridae), světluškovití (Lampyridae) a dlouhoústcovití (Lycidae). Tyto skupiny obsahují tisíce druhů a čeď Cantharidae je druhou nejdíverzifikovanější skupinou v nadčeledi Elateroidea s 5500 popsányými druhy (Bocak *et al.* 2014). V dnešní době je v řádu Coleoptera klasifikováno 390 000 formálně popsáných druhů zařazených do 181 čeledí. Klasifikace řádu byla dlouho postavena na morfologii dospělců a teprve v posledních 20 letech se rozvíjejí molekulární přístupy v klasifikaci této skupiny. Poslední práce analyzovala sekvence 8841 druhů ze 152 čeledí a dosud nesequenovaných 29 čeledí představuje nevelkou skupinu linií o přibližně 250 druzích. (Bocak *et al.* 2014)

Cantharidae se odlišují od ostatních čeledí brouků kombinací následujících znaků: hlava není zakryta pronotem, tykadla jsou tvořena 11 segmenty nitkovitého, pilovitého či hřebenitého tvaru; labrum, horní část ústního ústrojí, je membranózní a je často uloženo kompletně pod klypeem, čelním štítkem; tarzální formule 5-5-5; abdomen se 7 až 8 ventrity, abdominální tergity 1-8 s párovými laterálními glandulárními póry.

Biologie čeledi Cantharidae je ovlivněna omezenou sklerotizací dospělců, pro které je typické zploštělé tělo, velmi měkké krovky a končetiny a slabě sklerotizovaný abdomen, který připomíná svou stavbou larvální stadia. Vzhledem k omezené schopnosti rychlého pohybu se Cantharidae chrání před predátory obsahem jedovatých a zapáchajících látek (např. cantharidin) a demonstrují svou jedovatost aposematickým zbarvením (Poinar *et al.* 2007).

Dospělci se obvykle vyskytují na vegetaci, především na nižším bylinném patře a na keřích. Část druhů navštěvuje květy, kde se živí nektarem a pylem. Některé druhy jsou aphidofágní, eventuálně se živí i jiným drobným hmyzem. Larvy Cantharidae jsou většinou tmavé a tmavě hustě sametově ochlupené a jsou velmi pohyblivé. V temperátních oblastech se při zimních oblevách často objevují i na sněhu. Jsou karnivorní, živí se drobnými členovci (Ramsdale 2002).

2. Historie klasifikace

Čeď Cantharidae náleží do podřádu Polyphaga, série Elateriformia. Historie Cantharidae jako čeledi začíná v polovině 19. století. Cantharidae (tehdy uvádění pod synonymem Telephoridae) se řadili do skupiny Malacodermata. Tato skupina čeledí brouků byla velmi rozsáhlá a sdružovala všechny linie se slabě sklerotizovaným tělem. Jednalo se ovšem o nepřirozenou skupinu a obsahovala i čeledi dnes klasifikované v Cleroidea. LeConte (1852, 1881) pojal Cantharidae (Telephorinae) jako podčeď široké čeledi Lampyridae.

Do Elateriformia jsou řazeny nadčeďi Elateroidea (včetně Cantharoidea), Byrrhoidea, Buprestoidea, Dascilloidea a Scirtoidea. Příbuznost bazálních skupin Byrrhoidea, Dascilloidea a Buprestoidea byla potvrzena na základě molekulárních dat, když morfologická data neposkytovala dostatek přesvědčivých důkazů (Ramsdale 2002). Podobně teprve molekulární data definitivně řešila vzájemné postavení Cantharoidea a Elateroidea.

Většina morfologických analýz potvrzovala monofylii skupiny Elateroidea + Cantharoidea (=Elateroidea *sensu lato*) a Lawrence (1987) tyto skupiny spojil do jediné nadčeďi Elateroidea, v které byly klasifikovány čeledi Elateridae, Cerophytidae, Cebionidae, Eucnemidae, Throscidae, Perothopidae, Phengodidae, Telegeusidae, Cantharidae, Omethidae, Lycidae, Lampyridae, Rhagophthalminae, Omalisidae, Drilidae, Plastoceridae. Synapomorfie definující tuto skupinu zahrnovaly rozmanité modifikace larválního ústního ústrojí uzpůsobeného k přijímání tekuté potravy a mimotělnímu trávení (Lawrence & Newton 1982). Pozdější fylogenetická analýza (Beutel 1995) byla založena výhradně na studiu larev a navrhla, že Cantharidae mohou patřit do kládu s Armatopodidae a Elateridae. V této fázi studia, příbuznost čeledí ve skupině Elateroidea nebyla uspokojivě objasněna a monofylie Cantharoidea byla nejistá (Beutel 1995, Lawrence 1978). Takto se do jediné nadčeďi zařadily skupiny s měkkým, slabě sklerotizovaným tělem, dále skupiny vykazující larviformní znaky v dospělém stádiu (neotenie) a několik linií brouků využívajících bioluminiscenci jako komunikační strategii (např. Lampyridae, Phengodidae a Rhagophthalmidae). V nedávné době, Crowson (1955, 1960) předpokládal, že Cantharidae mohou být blízce příbuzní s Omethidae. Jediná morfologická analýza testující monofylii vybraných cantharoidních čeledí byla publikována Branhamem & Wenzelem (Branham & Wenzel 2003) a dosavadní výsledky morfologických studií byly shrnuty Lawrence *et al.* (2010). Tito autoři předpokládali blízkou příbuznost čeledí Telegeusidae, Omethidae a

Cantharidae a předpokládali existenci kládu všech čeledí s měkkým tělem, dříve označovaných jako Cantharoidea. Jejich hypotézy ovšem byly v rozporu s analýzami DNA (Bocakova *et al.* 2007, Kunderata & Bocák 2011, Kunderata *et al.* 2014).

Výsledky molekulárně fylogenetických analýz DNA cantharoidních a elateroidních čeledí prokázaly, že dřívější Cantharoidea je ve skutečnosti skupina nezávislých vývojových linií. Cantharoidea by tedy byly polyfyletickým taxonem a je nutné je odmítnout v moderní fylogenetické klasifikaci. Molekulární fylogeneze ukazuje na blízkou příbuznost Lampyridae, Lycidae a Cantharidae, ovšem vzájemná příbuznost linií v Elateridae byla neznámá (Bocakova *et al.* 2007). Ze získaných dat vyplývá mnohonásobný vznik znaků ovlivněných omezenou sklerotizací těla uvnitř nadčeledi Elateriformia, které se mohly vyskytnout nezávisle na sobě v několika fylogenetických liniích jako Telegeusidae, Phengodidae, Lampyridae + Cantharidae a Drilidae (Bocakova *et al.* 2007, Kunderata *et al.* 2014). Fylogenetická příbuznost linií v nadčeledi Elateroidea byla zkoumána na základě sekvencí genů 18S a 28S rRNA a *rrn1* a *cox1* mtDNA. Molekulární studie (Bocakova *et al.* 2007, Kunderata & Bocák 2011) potvrdily, že čeledi Cantharidae a Lampyridae jsou monofyletické. Současná definice Elateroidea tedy potvrzuje jako skupinu čítající elateroidní, silně sklerotizované i cantharoidní, lehce sklerotizované linie brouků (Bocakova *et al.* 2007; Sagegami-Oba *et al.* 2007b, Kunderata *et al.* 2014). Tyto liniemi byly v minulosti definovány na základě homoplazií. U těchto skupin probíhala paralelně evoluce určitých struktur, např. ztráta klikacího mechanismu (Kunderata & Bocak 2011).

Cantharoidním čeledím byla v minulosti věnována mnohem menší pozornost než jiným nadčeledím brouků. Částečným důvodem je nenápadnost tohoto hmyzu a jeho zjevná neoblíbenost mezi sběrateli vzhledem k měkkému tělu, které se při vysychání deformuje (Ramsdale 2002). Mnoho skupin cantharoidních čeledí se vyskytuje v omezených oblastech a jsou velmi vzácní, a proto je obtížné získat materiál k jejich studiu. Naproti tomu, čeleď Cantharidae byla velmi intenzivně studována na alfa-taxonomické úrovni a byly popsány tisíce druhů především z Palearktické oblasti (Miskimen 1961) V poslední době ovšem dochází k rozvoji poznání tropické fauny, které jsou prozkoumány mnohem méně než fauna Evropy, Japonska a Spojených států.

Po celou dobu moderního studia bylo nahlíženo na čeleď Cantharidae jako na monofyletický taxon, na základě několika předpokládaných synapomorfii: membranózní labrum (u dospělců), abdominální tergity s párovými repugnatoriálními žlázami (u larev a

dospělců) a hydrofobní povrch těla u larev (Brancucci 1980). Mnoho taxonomické práce vykonal W. Wittmer v druhé polovině minulého století (Yang *et al.* 2011). Determinace mnoha druhů je založena na zkoumání samčích pohlavních orgánů. Identifikace samic je problematická a obvykle jsou samice spolehlivě určené jedině tehdy, pokud se nacházejí společně se samci. Cantharidae by tedy měli být z těchto důvodů, pokud je možno, sbírání v sériích, abychom měli jistotu zastoupení obou pohlaví ve vzorku. Řešením je využití molekulárních dat pro identifikaci druhů.

První moderní fylogenetickou analýzu a vyšší klasifikace čeledi Cantharidae prezentoval Brancucci (1980). Čeleď nyní zahrnuje 5 podčeledí, Cantharinae, Silinae, Chauliognathinae, Malthininae a Dymorphocerinae. Podčeleď Cantharinae je částečně problematická skupina založená především na sdílených plesiomorfích. Podčeleď Chauliognathinae je považována za jasně definovanou skupinu uvnitř Cantharidae a je považována za sesterskou skupinu ostatních podčeledí.

Fosilní záznam hmyzu je obvykle velmi neúplný a platí toto konstatování i pro páteříčkovité. Nejstarší fosilie byly nalezeny v baltském jantaru, jehož stáří odhadujeme na přelom Eocénu/Oligocénu (Crowson 1972). Podle fosilního záznamu příbuzných čeledí musejí být Cantharidae mnohem starší skupinou, protože většina čeledí brouků je známá již z Jury. Nicméně, je vysoce pravděpodobné, že ve fosilním záznamu budou mnozí zástupci Cantharidae chybět. Důvodem je pouze lehce sklerotizovaná kutikula, která jen stěží podléhá fosilizačním procesům. Paleontologické artefakty tedy nemůžeme označovat, u této skupiny brouků, jako důvěryhodný zdroj, který by reflektoval průběh kompletní evoluční historie.

3. Morfologie a anatomie

3.1 Morfologie dospělců

Délka těla většiny druhů v čeledi Cantharidae se pohybuje mezi 1,2 až 18,0 mm (vyjímečně do 28 mm v případě exotických druhů). Tělo je měkké, protáhlé, laterálně zploštělé. Povrch těla tvoří pouze slabě sklerotizovaná kutikula. Krovky jsou sklerotizovány na rozdíl od jiných skupin brouků jen lehce, proto si zachovávají pružnost a ohebnost. Zbarvení je velmi variabilní, objevuje se u mnoha druhů kovově modrá nebo zelená barva tvořená fyzikální strukturou kutikuly, avšak častěji se můžeme setkat s odstíny černé, červené, oranžové či žluté vytvořené pigmenty. Toto zbarvení má často aposematickou funkci a

signalizuje jedovatost. Nápadné vzory jsou nejčastěji vytvářeny na pronotu nebo krovkách. Tyto dvě struktury jsou často dvojbarevné (Machado & Valianti 2006). Krovky pokrývají celé tělo až po abdomen (rod *Chauliognathus*) nebo jen část těla např. pouze mesonotum (rod *Ichthyurus*). Tělo je víceméně nenápadné, krátké, tupě zakončeno, pokryto chlupy.

Hlava není kryta pronotem, alespoň část je shora viditelná, silně prognátní (např. *Chauliognathus*, *Podabrus*), u rodu *Silis* ohnutá dolů, zřídka hypognátní (*Ichthyurus*), některé z nich jsou za očima zúžené (Podabrini). Složené oči jsou středně až zcela vystupující, často pohlavně dimorfické (menší oči náleží samičkám); ocelli chybí. Tykadla jsou protáhlá, tvořena 11 antenomerami. Nejčastěji jsou nitkovitého tvaru, zřídka pilovitého (např. *Tytthonyx*, někteří zástupci rodu *Ditemnus*), hřebenitého či vějířového typu. Epistomální šev většinou chybí (přítomen u Chauliognathini); tvar předního okraje štítu (clypeus) je tvarově rozmanitý, rovný či dopředu zaoblený. Labrum volné, membranózní, často zakončeno pod štítem. Mandibuly jsou většinou prodloužené, zakřivené, mola a prostheca chybí. Hrana mandibuly může být s jedním zubem (např. *Frostia*, většina druhů *Chauliognathus*) nebo zubatá (někteří zástupci rodu *Malthodes*). Galea, vnější sanice maxily, je pokryta chlupy. Vnitřní sanice, lacinia, je u většiny druhů vyvinuta, ovšem u některých může být redukována či chybět. Maxilární palpy se utvářejí ze 4 segmentů. Gulární švy jsou výrazně odděleny (např. Cantharini) či se spojují (např. Podabrini) nebo zřejmě chybí (Ramsdale 2002, 2010).

První článek thoraxu, pronotum, je čtvercový (např. *Rhagonycha*), transversální (např. *Silis*), vzácněji protáhlý (někteří rodu *Podabrus*). Laterální okraj pronota je nápadně vykrojen, u některých druhů zploštělý. U některých samců je okraj jemně vroubkovaný (*Discodon*, většina druhů *Polemius*) až přechází ve výčnělky (*Ditemnus*, *Silis*). Zadní okraj pronota je stejně široký nebo užší než báze krovek.

Samci některých druhů se výrazně odlišují od samic sekundárními pohlavními znaky, jako jsou modifikace antenomer. U samců jsou modifikovány v uchopovací aparát (např. *Dysmorphocerus*, *Micropodabrus*), u jiných druhů dochází ke složité modifikaci tykadel (např. *Heteromastix*, *Oontelus*, *Pseudocerocoma*, *Prosthaptus*). Dalšími typickými znaky jsou kraniální prohloubeniny (např. *Pseudopodabrus*), tvar bočního okraje pronota (např. *Asiosilis*, *Crudosilis*, *Ditemnus*, *Podosilis*, *Silis*), vrcholu krovek (např. *Paramaronius*) či koncových segmentů abdomenu (např. *Ichthyurus*, *Malthodes*) sloužících během námluv (Eberhardt 2006). Feromony hrají velkou roli v průběhu rozmnožování. U samců mnoha druhů dochází k vytvoření výběžků tykadlových článků, tedy vzniku flabelátních tykadel. Důvodem je

zvětšení povrchu tykadel, které napomáhá detekci samic na velkou vzdálenost (např. *Laemoglyptus*, *Paramalthinus*, *Tytthonyx*).

Abdomen se sedmi (samičky, někteří samci) nebo 8 (většina samců) volnými pohyblivými viditelnými ventrity; 1-8 tergítů s párovými laterálními glandulárními póry. Koncové abdominální segmenty samců jsou často různorodě modifikovány: osmý ventrit je redukován buď v podobě úzkého výstupku, nebo je ukryt hluboko uvnitř sedmého ventritu (Silinini) nebo patrně chybí. U dalších zástupců (Chauliognathini) je osmý ventrit malý, asymetrický s celistvými okraji (Ramsdale 2002, 2010).

3.2 Morfologie larev

Protáhlé tělo larev je složeno ze tří základních tělních oddílů. Hlava, tři hrudní články a 10 zadečkových článků. Kutikula je zvrásněna nepatrnými výčnělky, které se ve výsledku jeví jako charakteristický sametový povrch. Velmi často bývá také pokryta setami. Tělo je obvykle tmavě pigmentováno, někdy s párem skvrn na zadní části.

Hlava je prognátní. Epikraniální šev chybí. Stemmata jsou ve většině případů přítomna. Fronto-clypeální šev není zřetelný nebo zcela chybí. Labrum je spojeno s hlavovou kapsulí a vytváří clypeolabrum. Tykadla jsou tvořena 3 segmenty. Mandibuly jsou sprkovitého tvaru, s více či méně vyvinutým podélným kanálkem, který je obvykle široce otevřený, u rodu *Malthinus* téměř uzavřený; retinakulum, sklerotizovaná prostheta, většinou přítomna; mola chybí; okraj prostheky může být lemován setami. Maxily a labium jsou zataženy uvnitř subfaciálního záhybu. První bazální článek maxily, cardo, je malé velikosti. Druhý článek maxily, stipes, je dobře vyvinutý, obvykle s protáhlou galeou (chybí u Chauliognathini) a setózní lacinií; palpi tvořené 3- až 4- segmenty. Labium se skládá z prementa a postmenta; labiální palpy tvořeny dvěma segmenty; ligula chybí (Ramsdale 2002).

Thorakální segmenty jsou homonymní nebo se od prothoraxu k metatoraxu postupně zmenšují. Každý tergít thoraxu a abdomenu (1.-8.) je opatřen párem glandulárních pórů (u některých druhů i na 9. segmentu). Končetiny, které jsou často ochlupeny, jsou tvořeny 5 články a jsou zakončeny drápkami.

Články abdomenu se v délce postupně zkracují. Urogomfy chybí, desátý abdominální článek je ukončen pygopodem. U některých druhů se objevují sklerotizované anální háčky (např. *Malthinus*) (Ramsdale 2002).

4. Biologie a rozšíření

Cantharidae se hojně vyskytují v lesních, otevřených a osluněných stanovištích, travnatých porostech a horských loukách. V aridních oblastech se často zdržují poblíž vodních toků. Ovšem všechny jejich životní fáze jsou vázány k půdě. Většina dospělců je velmi aktivních a zdržují se na povrchu vegetace, jsou tedy často vystaveni predátorům. Z tohoto důvodu se u nich vyvinul efektivní systém chemické obrany. Dospělí jedinci i larvální stádia mají párové tergální žlázy, jejichž sekret obsahuje sloučeniny, díky kterým se stávají nepoživatelnými. Cantharidae produkují mnoho defenzivních sloučenin, u kterých předpokládáme, že si je dokáží syntetizovat ze své potravy (Dettner 1987). Dospělci mnoha druhů varují své okolí prostřednictvím aposematického zbarvení a podílí se tak na mimetických komplexech spolu s dalšími skupinami brouků (např. Elateridae, Lycidae, Lampyridae, Omethidae, Cleridae, Melandryidae, Oedemeridae, Stenotrachelidae, Pyrochroidae, Cerambycidae, Chrysomelidae) a jinými druhy hmyzu (např. Hemiptera, Diptera, Lepidoptera) (Durvaux *et al.* 2007). Kombinace aposematického zbarvení, chemické ochrany a mimikry znamená pro Cantharidae s pouze slabě sklerotizovaným tělem velice úspěšnou strategii pro přežití. Projevem prospěchu této evoluční adaptace je skutečnost, že cantharidae představují velkou část druhové diverzity Elateroidea (Machado & Araujo 2001).

Dospělci některých druhů rodů *Podabrus*, *Rhagonycha* a *Chauliognathus* jsou také známí jako hostitelé entomopatogenních hub (Zygomycota: Entomophthorales) (Wheeler 1988). Mrtvá těla infikovaných jedinců jsou často nacházena na listech, přichycena mandibulami, často s doširoka otevřenými křídly (Fender 1969).

Larvy se většinou vyvíjí v půdě, preferují ovšem stanoviště s vyšší vlhkostí. Často se také vyskytují v odumřelém listí, hrabance, pod kameny, sutí či v trouchnivějícím dřevě. Typické husté ochlupení larev a hydrofobní kutikula jsou pravděpodobně adaptacemi pro přežití na místech, kde může docházet k občasnému zatopení vodou. Většina larev si hledá potravu na povrchu, některé druhy bývají aktivní převážně v noci. Kořistí se stávají různé druhy členovců, vajíčka a larvy holometabolního hmyzu (Ramsdale 2010). Mnoho dospělců

Podabrini a Cantharini je primárně aphidofágními predátory (Fender 1973). Larvy rodu *Chauliognathus* se často se živí i dospělými jedinci brouků, např. zástupcem čeledi Chrysomelidae (Balduf 1935) a larvami svižníků. Tyto larvy jsou také chráněny aposematickým zbarvením. Některé rody (např. *Silis*) jsou fakultativní fytofágové.

Zimu páteříčkovití přežívají v larválním stádiu a některé larvy jsou známé pro svou aktivitu během zimního období i při velmi nízkých teplotách. Fáze vývoje probíhá skrze 10 instarů. První dva až tři instary některých zástupců čeledi Cantharidae nepřijímají potravu, mají redukovaná tykadla a ústní ústrojí. Kuklení se obvykle odehrává v komůrkách pod povrchem půdy (Ramsdale 2002). Většina larev je většinou chráněna látkami z repugnatoriálních žláz. Jedinci rodu *Chauliognathus* upozorňují na svoji nepoživatelnost výstražným zbarvením. V oblastech mírného podnebí přečkávají Cantharidae zimní období omezením fyziologických procesů – diapauzou. Přezimují tedy larvy, které dokončují svůj vývoj a na jaře či počátku léta se objevují dospělci.

Čeď dosáhla nejvyššího stupně diverzity v tropických oblastech Asie a Jižní Ameriky. Dokonce v oblastech s mírným podnebím reprezentují hlavní část diverzity Elateroidea. Vyšší taxony čeledi vykazují následující hlavní biogeografické uspořádání: Cantharinae (Cantharini a Podabrini) a Malthininae (Malthinini, Malthodini, Malchinini): Laurasie; Silinae (Silinini): kosmopolitní; Silinae (Tytthonyxini): tropické oblasti Amerického kontinentu; Dymorphocerinae: Gondwana; Chauliognathinae (Chauliognathini): Australasie a Nový Svět; a Chauliognathinae (Ichthyurini): převážně subtropické oblasti. (Lawrance *et al.* 2010).

5. Cíle práce

Klasifikace čeledi páteříčkovití byla založena na morfologii dospělců. V současnosti máme k dispozici i molekulární data, která představují nezávislý zdroj informací o fylogenezi skupin živočichů. V této práci je cílem získání sekvencí fragmentu 28S rRNA, který je pravidelně používán pro studium fylogeneze brouků (Bocak & Kundera 2011). Výsledky budou srovnány s dosavadní klasifikací a budou sloužit pro přípravu rozsáhlejšího studia fylogeneze této skupiny.

5.1. Metody a materiál

5.1.1. Materiál

DNA byla izolována z ~90 druhů čeledi Cantharidae, každý obvykle reprezentován jedním jedincem. Materiál byl získán školitelem a dalšími sběrateli.

DNA byla fixována 96% ethanolem. Exempláře byly uchovávány v -20 °C do doby izolace DNA. Jako outgroup bylo zařazeno 15 druhů reprezentujících 5 čeledí elateroidních brouků. Sekvence pro mimoskupinové srovnání byly již dříve publikovány (Bocakova *et al.* 2007, Kunderata & Bocak 2011). Seznam vzorků, jejich geografického původu a sekvenovaných fragmentů je uveden v tabulce 1. Seznam vzorků získaných z veřejných databází pro mimoskupinové srovnání je uveden v tabulce 3.

Tabulka 3. Outgroup

Vzorek	GenBank Accession number	Taxon
R128ART	KF294768	Eurypogon hisamatsui
R396DRIm	KF626321	Malacogaster passerinii
R336THR	KF626140	Throscidae gen. sp.
LLyPla3	DQ181139	Plateros sp.
LlyDih1	DQ181182	Dihammatus sp.
LLyLyp1	DQ181175	Lyponia quadricollis
pheCicl	DQ198755	Bicladodrilus sp.
R138THR	KF626134	Throscidae gen. sp.
R360TEL	KF626132	Telegeusidae gen. sp.
R122EUC	KF626148	Eucnemidae gen. sp.
R124EUC	KF626150	Eucnemidae gen. sp.
R023ECar	HQ333871	Dicronychus cinereus
R063EAgr	HQ333911	Drasterius gen. sp.
R021EDen	HQ333869	Selatosomus gravidus
R345EUC	KF626159	Eucnemidae gen. sp.

5.1.2. Metody

Izolace DNA

Pro izolaci DNA byla vyjmuta svalovina z metathoraxu pod binokulární lupou a přenesena do mikroskopavky s alkoholem. Jelikož se využívá se jen část tkáně, zbytek těla byl vypreparován pro studium morfologie a uložen ve sbírce dokladových exemplářů. Po

odsátí alkoholu pipetou byla svalovina vysušena ve vakuovém koncentrátoru po dobu 20 minut. Do každého vzorku bylo přidáno 180 μ l ATL pufru a 20 μ l proteinasy K. Materiál byl poté rozmělněn homogenizačními tyčinkami. Vzorky byly lyzovány v termobloku po dobu 90 minut při teplotě 56 °C a 600 rpm. Ke každému vzorku bylo přidáno 200 μ l AL pufru a vzorky byly protřepány na vortexu. Poté bylo do vzorků napipetováno 200 μ l 96% UV ethanolu a vzorky byly opět protřepány na vortexu.

Vzorky byly přepipetovány na kolonku se sběrnými mikrozkušavkami a kolonka byla stáčena na centrifuze po dobu 1 minuty při 8000 rpm. Po přenesení vzorků na novou kolonku bylo přidáno 500 μ l AW1 pufru a vzorky byly centrifugovány 1 minutu při 8000 rpm. Poté byly vzorky opět přeneseny na novou kolonku s přidáním 500 μ l AW2 a centrifugovány 3 minuty při 14 000 rpm. Vzorky byly znovu přepipetovány a bylo přidáno 200 μ l nuklease-free H₂O. Roztok byl inkubován 1 minutu při pokojové teplotě. Po přidání 100 μ l nucluse-free H₂O a inkubování po dobu 1 minuty byla získána první eluce. Vzorky byly znovu inkubovány po dobu 1 minuty a stáčeny na centrifuze při 8000 rpm po dobu 1 minuty za získání druhé eluce. Koncentrace DNA v obou elucích byla změřena na spektrofotometru Nanodrop ND-1000. Vzorky s nízkou koncentrací DNA byly zahuštěny na vakuovém koncentrátoru ve speciálních zkumavkách.

PCR amplifikace

K PCR amplifikaci genu 28S byla použita polymeráza BIOLINE a amplifikovaný úsek byl definován primery 28Sff (5'-CCGCTCTTGAAACA-3') a 28Sdd (5'-CCGCTAAGGAGTG-3').

Typická PCR reakce obsahovala:

- 5 μ l 10x NH₄ PCR pufru
- 2 μ l 50 mM MgCl₂
- 1 μ l 10 μ M primer ff
- 1 μ l 10 μ M primer dd
- 1,25 μ l 2 mM dNTPs
- 0,12 μ l Taq Bioline polymerázy
- 37,55 μ l H₂O

- 2 μ l DNA (30 ng/ μ l)

Každá jamka na destičce obsahovala objem 50 μ l roztoku. Destička byla poté vložena do termocyklieru Thermal Cycler 2720 (Applied Biosystems), kde probíhala vlastní PCR amplifikace podle programu 28skosmas.

94°C – 2 min

94°C – 30 sec

50°C – 45 sec

72°C – 10 min

72°C – 10 min

4°C – 1 h

Úspěšnost izolace DNA a velikost fragmentů DNA po PCR amplifikaci byla zkontrolována pomocí elektroforézy.

Elektroforéza

Na přípravu 1 vaničky určené k elektroforéze bylo potřeba:

- 0,45 g agarózy
- 45 ml 0,5x TAE
- 2 μ l ethidium bromidu
- 4 μ l templátu po PCR
- 1 μ l nanášecího pufru
- 4 μ l HIND-III ladderu

Potřebné množství agarózy bylo vsypáno do Erlenmayerovy baňky, do které bylo přilito 45 ml 0,5x TAE. Baňka byla poté vložena do mikrovlnné trouby. Zamícháním a následným zahříváním roztoku uvnitř baňky byl připraven gel. Po zchladnutí na 50°C byly do gelu napipetovány 2 μ l ethidium bromidu. Poté byl gel nalit do připravené vaničky s hřebeny. Po utuhnutí byly hřebeny vyjmuty, vaničky s gelem byly vloženy do elektroforetické vany a přelity 0,5x TAE. Do vzniklých jamek byly vsazeny 4 μ l produktu po PCR a 1 μ l nanášecího pufru (loading dye). Pro porovnání množství a velikosti amplifikovaných fragmentů byly do každého řádku naneseny 4 μ l HIND-III ladderu. Elektroforéza byla spuštěna po dobu

15 minut při napětí 100 V. Fluorescence molekul DNA vyvolaná UV zářením byla vyfotografována na transiluminátoru (UVP).

Cycle sequencing

PCR produkt byl purifikován na filtrech Millipore a použitý pro sekvenační reakci:

- 1 μ l Big Dye
- 2 μ l 1,6 μ M primeru
- 1-4 μ l PCR produktu
- 1 μ l sekvenační pufr

Koncentrace templátu byla upravena tak, aby v reakci bylo přítomno 10-30 ng DNA. Nejprve byla do vaničky napipetována voda, příslušný primer, sekvenační pufr a naposledy Big Dye. Pro čtení ze dvou směrů byly použity oba primery. Do obou destiček byly poté převedeny 4 μ l produktu z PCR. Po krátkém stočení na centrifuze byly destičky vloženy do termocykleru a amplifikovány s použitím programu dle manuálu výrobce.

Čištění Cycle sequencing produktu

Mix pro čištění obsahoval:

- 47,5 μ l UV ETOH
- 1 μ l 3M NaAc
- 11,5 μ l nuklease-free H₂O

Do každé jamky se sekvenačním produktem bylo napipetováno 60 μ l mixu. Destičky byly ponechány na ledu a poté centrifugovány po dobu 30 minut při 2500g a 15 °C. Po vyjmutí z centrifugy byly destičky odkryty a jejich obsah byl vyklepán. Poté do každé jamky bylo napipetováno 60 μ l 80 % UV alkoholu a destička byla opět vložena do centrifugy na 10 minut při 2500 g a 15 °C. Obsah byl znovu odstraněn a destička byla opět centrifugována. Tento postup byl poté dvakrát opakován. Cílem této metody byla úplná purifikace cycle sequencing produktu. Destička byla v posledním kroku vysušena v koncentrátoru po dobu 15 minut.

Sekvenování

Před sekvenací bylo do každé jamky bylo napipetováno 12 µl formamidu. Analýza sekvencí probíhala na sekvenátoru ABI 3130 (Applied Biosystems).

Analýza DNA sekvencí

Data ze sekvenátoru byla analyzována v programu Sequencher. V tomto programu byly sestaveny sekvence DNA, které byly editovány a zapsány jako datové soubory ve formátu FASTA. Sekvence byly poté porovnávány na základě přiložení homologických úseků pod sebe. Tento alignment byl sestaven v programu ClustalX (Higgins & Sharp 1988), který porovnával poměr identických párů bází dvou sekvencí podle výchozího nastavení programu. Výsledek byl uložen jako soubor NEXUS. Na základě těchto dat byly vytvořeny fylogenetické stromy v programu PAUP*4.0 (Swofford 2003), MrBayes (Huelsen *et al.* 2001) a TNT (Goloboff *et al.* 2008). Tyto programy umožnily konstrukci stromů podle následujících metod: metoda optimalizace kritéria parsimonie, bayesiánská analýza, neighbor-joining (Saitou & Nei 1987). K vytvoření stromu byla využita bayesiánská analýza, podle které se hledá nejpravděpodobnější strom, který je založen na stanoveném kritériu optimality. Odhaduje pravděpodobnosti z datového souboru a současně hledá maximálně pravděpodobný fylogenetický strom. Neighbor-joining se zakládá na spojování sousedních objektů na základě výpočtu genetické vzdálenosti. Metodou maximální parsimonie byly nalezeny nejkratší stromy a vytvořen konsenzuální strom.

K vyhodnocení podpory větví byla použita metoda Bootstrapping. Tato metoda náhodně vyřazuje znaky z původní matice a náhodně zkopíruje zbývající znaky takovým způsobem, aby se zachovala původní velikost souboru.

Tabulka 1. Geografický původ a označení dokladových exemplářů (lokalitní údaje jsou uvedeny ve formě uvedené na dokladovém exempláři).

Vzorek	Stát	Lokalita
VM0051	Greece	Thessalia, Amaranto Pindos Mts., 30 km E of Kalambaka, 1600 m
VM0052	Czech Republic	Moravia, Břeclav
VM0053	Czech Republic	Moravia, Moravičany
VM0054	France	Saint-Martin-Vésubie
VM0055	Czech Republic	Moravia, Břeclav
VM0056	Greece	Thessalia, Amaranto, Pindos Mts., 30 km E of Kalambaka, 1600 m
VM0057	Greece	Peloponnisos, Dirrahi - Neohori, 40 km SE Megalopolis, 1200 m
VM0058	Slovakia	Štúrovo
VM0059	France	Saint-Martin-Vésubie
VM0060	Greece	Peloponnisos, Dirrahi - Neohori, 40 km SE Megalopolis, 1200 m
VM0061	Greece	Peloponnisos, Exochori, Taygetos Mts., 40 km of Kalamata, 1700 m
VM0062	Japan	Osaka Pref., Iwakiyama, Amami
VM0063	Japan	Hyogo Pref., Komo, 20 km NW Takarazuka, 400 m
VM0064	Japan	Shiga Pref., Mikuni-dake, Kyoto Univ. Nat. Res., 560-730m
VM0065	Japan	Osaka Pref., Iwakiyama, 600 m
VM0066	Japan	Osaka Pref. Iwakiyama, Kagata, 500 m
VM0067	Japan	Iwakiyama Pref., Shiramine, Mt. Hakosan, W slope, 1200 m
VM0068	Japan	Nagano Pref., Mount Aboyama, S slope, 1500 m
VM0069	Japan	Okinawa Pref., Okinawa isl., Yona env., 50-400 m
VM0070	Japan	Nara Pref., Shakagateyama, 1500-1700 m
VM0071	Japan	Ishigawa Pref., Shiramine, Mount Hakosan, W slope, 900-1700 m
VM0072	Japan	Nara Pref., Shakagateyama, Asahi river valley, 1400 m
VM0073	Japan	Ishigawa Pref., Shakagateyama, 900-1200 m
VM0074	Japan	Osaka Pref., Iwakiyama, Kagata, 800 m
VM0075	Malaysia	Pahang, 20 km E of Ringlet
VM0076	Malaysia	Pahang, 20 km E of Ringlet, Kg. Kuala Boh
VM0077	Cameroon	South Prov., Lolodorf, 550 m
VM0078	Malaysia	Pahang, Tanah Rata, 1600 m
VM0079	Malaysia	Pahang, Johor, 30 km N Kota Tinggi, Kangkan, Dohol
VM0080	Malaysia	Pahang, Road Ipoh - Kg. Raja, 35 km E of Ipoh, 800 m
VM0081	Cameroon	South Prov., Ambam env., 620 m
VM0082	Malaysia	Pahang, Tanah Rata, 1600 m
VM0083	Cameroon	SW prov., Butu, Rumpi Hilis, 500 m
VM0084	Malaysia	Kelantan, 30 km NW of Gua Masang, Ulu Lalat Mt., 800-1000m
VM0085	Cameroon	SW Prov., Mt. Cameroon, BUEA env., 1600 m
VM0086	Malaysia	Pahang, Road Ipoh - Kg. Raja, 51 km E of Ipoh, 1100 m
VM0087	Malaysia	Kelantan, Rd Kp.Raja-Gunung Musang, 1400-1700 m
VM0088	Australia	Queensland, Springbrook National park

VM0089	Australia	Queensland, Lamington National park
VM0090	Australia	Queensland, Springbrook National park
VM0091	Australia	Queensland, Springbrook National park
VM0092	Australia	Queensland, Julatten
VM0093	Indonesia	Bali, 12 km NW of Bedungul, Buyan lake, 950 m
VM0094	Indonesia	Java, Rancabali, W slope of Gunung Patuha, 2100 m
VM0095	Indonesia	Java, Trawas, E slope of Gunung Penanggungan, 1000 m
VM0096	Indonesia	Java, Trawas, E slope of Gunung Penanggungan, 1000 m
VM0097	Indonesia	Sulawesi, 38 km SE of Pendolo village, 1200 m
VM0098	Indonesia	Java, Gunung Lawu, 8 km W of Sarangan, 1850 m
VM0099	Indonesia	Java, Gunung Lawu, 8 km W of Sarangan, 1850 m
VM0100	Indonesia	Malino, Gunung Lompobattang, Sulawesi, 1800 m
VM0101	Indonesia	Jawa Tengah, Purwokerto, Baturaden, Gunung Slamet, 1100 m
VM0102	Indonesia	Jawa Tengah, Purwokerto, Baturaden, Gunung Slamet, 1100 m
VM0103	Indonesia	Bali, 12 km NW of Bedungul, Buyan Lake, 950 m
VM0104	USA	New Jersey, Hunterdon, Wickecheoke
VM0105	Canada	Ontario, Le Mer Blue
VM0106	USA	Montana, Flathead National Forest, 10 km E Swan lake, 1300 m
VM0107	USA	Connecticut, New London, Mahegan Park
VM0108	Ethiopia	Illubabor, 12 km N Masha, 1770 m
VM0109	Zambia	NW pr., Solwezi
VM0110	Morocco	Infrane pref., Atlas Moyen, Azrou, 1400 m
VM0111	Morocco	Infrane pref., Atlas Moyen, Azrou, 1400 m
VM0112	Morocco	Marrakesh pref., 1200 m
VM0113	Ethiopia	Illubabor pr., 12 km N Masha, 1770 m
VM0114	Ethiopia	Arsi prov., Wondo Genet env. 1900 m
VM0115	RSA	Natal prov.
VM0116	Zambia	Lake Bangweulu
VM0117	Ethiopia	8 km N Agere Maryam
VM0118	Zambia	
VM0119	Philippines	Negros, Mount Canlaon, 1350 m
VM0120	Philippines	Mindanao, Mt. Apo, lake Agco, 1400 m
VM0121	Philippines	Palawan, Tanabag river, 150 m
VM0122	Philippines	Palawan, Tanabag river, 150 m
VM0123	Philippines	Mindanao, New Bataan, 1100 m
VM0124	Philippines	Mindanao, Mt. Apo, lake Agco, 1400 m
VM0125	Philippines	Mindanao, Mt. Apo, lake Agco, 1400 m
VM0126	Philippines	Mindanao, Mt. Apo, lake Agco, 1400 m
VM0127	Malaysia	Borneo, Sabah, KK-Tambunan, Gunung Emas, 1650 m
VM0128	Malaysia	Borneo, Sabah, KK-Tambunan, Gunung Emas, 1650 m
VM0129	Malaysia	Borneo, Sabah, KK-Tambunan, Gunung Emas, 1650 m
VM0130	Indonesia	Kalimantan prov., 10 km E of Loksado, 600 - 1100 m
VM0131	USA	Montana, Flathead National Forest, 10 km E Swan lake, 1300 m

VM0132	Philippines	Borneo, Sabah, KK-Tambunan, Gunung Emas, 1650 m
VM0133	Indonesia	Kalimantan prov., 10 km E of Loksado, 600 - 1100 m
VM0134	Thailand	Nan prov., Doi Phuka National Park
VM0135	China	Qinghai province, Dulansi, 3600 - 3700 m
VM0136	Laos	Hua Phan prov., Ban Saluci, 1500 m
VM0137	China	Yunnan, Habashan Mts.
VM0138	Laos	Luang Prabang prov., 60 km SW of Luang Prabang
VM0139	Laos	Luang Prabang prov., 60 km SW of Luang Prabang
VM0140	Laos	Pua Phan prov., 38 km Sam Neua
VM0141	Panama	National Park Campana
VM0142	Panama	National Park Campana
VM0143	Panama	National Park Campana
VM0144	Costa Rica	Cartago prov., Tapanti National Park, Road Rio Orosi, 1350 m
VM0145	Panama	P. Metropolitano
VM0146	Panama	
VM0147	Panama	La Fortuna
VM0148	Panama	National Park Campana
VM0149	Panama	National Park Campana
VM0150	Indonesia	Sumatra, Jambi, Kersik Tua, Gunung Kerinci, 1600 - 2200 m
VM0151	Indonesia	Sumatra, Gunung Merapi, 5 km E of Kotobaru, 1600 m
VM0152	Indonesia	Sumatra, Utura, Brastagi, Gunung Sibayak, 1600 - 2200 m
VM0153	Indonesia	Sumatra, Barat, Pasaman, Gunung Talamau, 1000 m
VM0154	Indonesia	Sumatra, Barat, 10 km S of Bukittinggi, Gunung Merapi, 1600 m
VM0155	Indonesia	Sumatra, Barat, 10 km S of Bukittinggi, Gunung Merapi, 1600 m
VM0156	China	Hainan isl., Lima Shan, 755 m
VM0157	China	Hainan isl., Lima Shan, 940 m
VM0158	China	Guandong prov., Heishiding, 190 m
VM0159	China	Hainan isl., Lima Shan, 940 m
VM0160	China	Guandong prov., Heishiding, 265 m
VM0161	China	Jiangxi prov., JिंगgangShan, XiangZhou, 380 m
VM0162	China	Jiangxi prov., JिंगgangShan, ZhuFeng, 680 m
VM0163	China	Jiangxi prov., JिंगgangShan, ZhuFeng, 680 m
VM0164	China	Guandong prov., Heishiding, 190 m
VM0165	China	Hainan, Jianfengling, 865 m
VM0166	China	Jiangxi prov., JिंगgangShan, XiangZhou, 340 m
VM0167	China	Jiangxi prov., JिंगgangShan, XiangZhou, 340 m
VM0168	China	Jiangxi prov., JिंगgangShan, XiangZhou, 340 m
VM0169	China	Guandong prov., Heishiding, 265 m
VM0170	China	Jiangxi prov., JिंगgangShan, Baiyinh, 805 m
VM0171	Indonesia	Sumatra, Payakumbuh
VM0172	Indonesia	Sumatra Barat, lake Maninjau, E coast, 800 m
VM0173	Indonesia	Sumatra Gunung Taramau, 17 km E Simpangempat, 750 m
VM0174	Turkey	Mersin prov, Uzuncaburç env., 950 m

VM0175	Turkey	Eskişehir prov., Kesenler env., road from Seyitgazi to Kirka
VM0176	Hungary	Gánt, Fejér county
VM0177	Turkey	Adana prov., 9 km S of Pozanti, near river
VM0178	Turkey	Mersin prov., Limonli env., 275 m
VM0179	Italy	Saridinia, Nuoro, Mt. Genergentu, Aritzo env.,
VM0180	Bulgaria	Rila Mts., 2200-2400 m
VM0181	Turkey	Mersin prov., 1 km before Belçinar on the road to Çiğlikara Yalasi
VM0182	Turkey	Antalya prov., Susuy Dag., Çiğlikara Yalasi, 1956 m
VM0183	Turkey	Antalya prov., Susuy Dag., Çiğlikara Yalasi, 1956 m
VM0184	Turkey	Çanakkale pr., near Troja

5.2 Výsledky

Byly analyzovány sekvence fragmentu ribozomálního genu 28S rRNA. Z 95 vzorků bylo získáno 91 sekvencí. Ze souboru vzorků byly vyřazeny vzorky VM0097, VM0125, VM0134 a VM0150; tyto vzorky se nepodařilo amplifikovat nebo byl v průběhu sekvenování získán slabý signál.

Výsledná matice obsahovala 788 znaků (ingroup), z toho 436 znaků bylo konstantních tzn. stejné u všech vzorků, 108 znaků je variabilních ale parsimonně neinformativních a 244 znaků bylo parsimonně informativních. Zastoupení bází bylo vyrovnané: A 26,08%, C 22,6%, G 29,96%, T 21,37%. Hodnota maximální genetické divergence byla stanovena 0,13136%.

Bayesiánská analýza odhaduje pravděpodobnosti z datového souboru a současně hledá maximálně pravděpodobný fylogenetický strom. V průběhu analýzy bylo vytvořeno 22 milionů generací, z nichž 10 milionu generací před dosažením stacionární fáze bylo smazáno. Z ostatních generací byl vytvořen konsenzuální strom s uvedením zpětných pravděpodobností. Získaný fylogenetický strom je zobrazen na Obr. 1. Čeleď Cantharidae tvoří monophylum a základní podčeledi jsou rovněž monofyletické.

Metoda maximální parsinomie a distanční metoda neighbor-joining potvrdily monofylii čeledi Cantharidae, avšak některé podčeledi netvořily klády a jejich zástupci reprezentovaly parafyletické nebo polyfyletické skupiny. Výsledky těchto analýz jsou shrnuty v Tabulce 2.

6. Diskuze a závěr

Použité metody poskytly srovnatelné výsledky: všechny metody podporují monofylii čeledi Cantharidae (bootstrapová podpora 99%, zpětná pravděpodobnost 100% Tab. 2).

Tabulka 2. Výsledky analýz

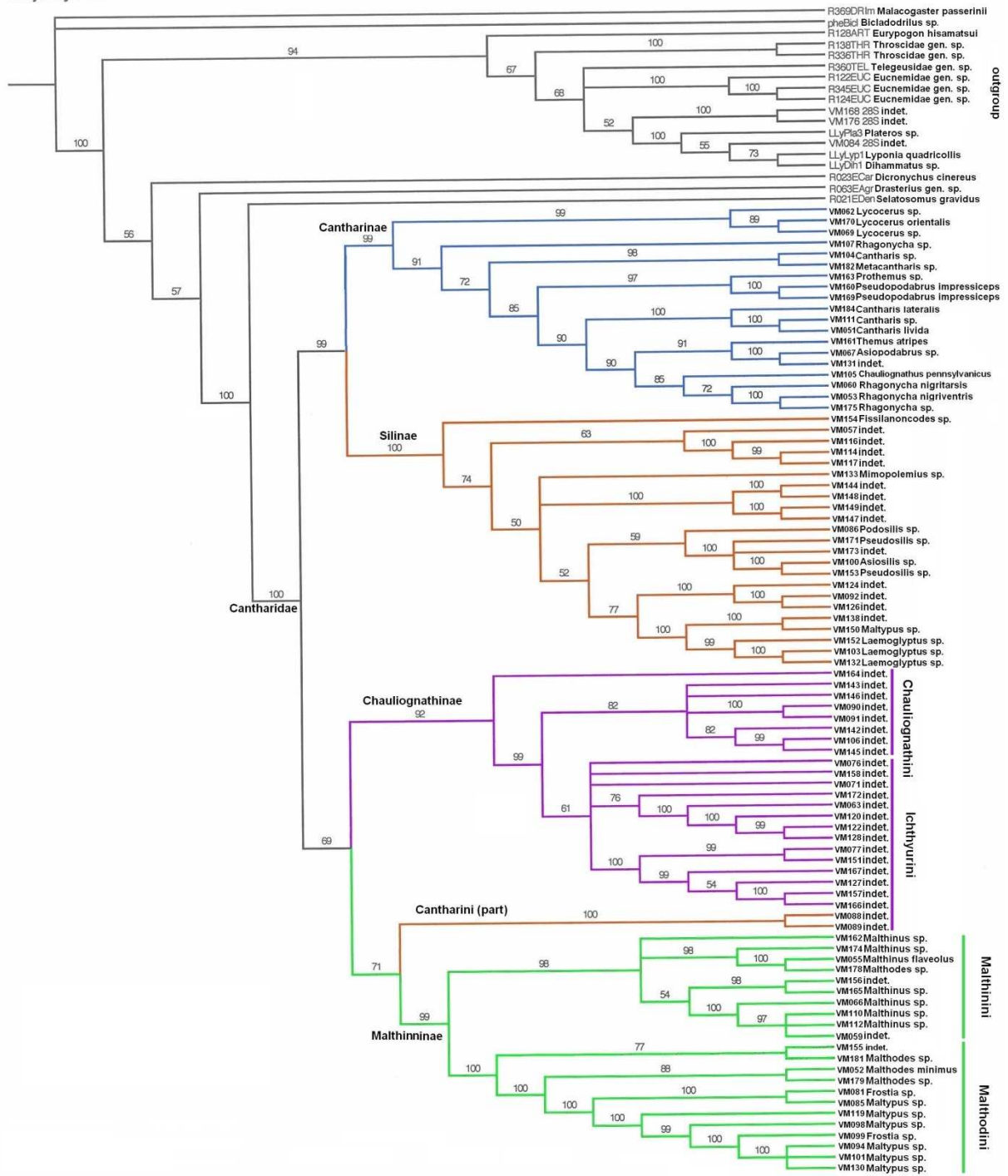
	Neighbor-joining	Parsimonie	Bayesiánská analýza
Cantharidae	M	M	M
Cantharinae	M	P	M(+2)
Silinae	M	P	M
Chauliognathinae	M	M(+1)	M
Malthininae	M	M	M

Poznámka: M = monofylie; P = parafylie; (+1) Malthodes (+2) Cantharini

Podčeledi byly velmi dobře podpořeny bayesiánskou analýzou (Obr. 1): Cantharinae 99%, Silinae 100 %, Chauliognathinae 92% a Malthininae 99%, pouze jeden vzorek Malthodes a dva vzorky Catharinae byly zjištěny mimo klád Cantharinae.

Podobná topologie byla zjištěna analýzou datového souboru s použitím metody neighbor-joining (Tab. 2). Parsimonní analýza poskytla výsledky v největším rozporu jak s identifikací vzorků založenou na morfologii tak ve srovnání s předchozími analýzami. Na většinovém stromu nebyly zjištěny podčeledi Cantharinae a Silinae jako monofyla a byly recipročně parafyletické. Počeledi Chauliognathinae a Malthininae byly sesterskými skupinami, když pouze jeden vzorek byl zjištěn v rozporu s očekávaným postavením.

Majority rule



Obrázek 1. Fylogenetická hypotéza získaná Bayesiánskou analýzou sekvencí 28S rRNA.

Analýza jediného a poměrně nevariabilního fragmentu je nedostatečná pro vyslovení robustně podpořených závěrů o molekulární fylogenezi čeledi Cantharidae. Získané topologie ovšem podporují monofylii skupiny a dvě analýzy v hrubých rysech podporují monofylii morfologicky definovaných podčeledí. Naproti tomu, příbuzenské vztahy mezi podčeleděmi se mezi jednotlivými analýzami získaly menší podporu (Obr. 1), ovšem v případě rozlišených topologií byla zjištěna příbuznost Chauliognathinae + Malthininae a Cantharinae + Silinae. Pro získání robustně podporované molekulární fylogeneze je nutné získání většího počtu sekvencí.

7. Literatura

- ARNETT, R. H.; MICHAEL, C. (eds). (2002) *American Beetles, Volume II: Polyphaga: Scarabaeoidea through Curculionoidea*. Boca Raton: CRC Press.
- BEUTEL, R. G. (1995) Phylogenetic analysis of Elateriformia (Coleoptera: Polyphaga) based on larval characters. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 33: 145-171.
- BOCAKOVA, M.; BOCAK, L., TERAVALAINEN, M., VOGLER A. P. (2007) Molecular phylogenetics of Elateriformia (Coleoptera): evolution of bioluminescence and neoteny. *Cladistics* 23: 477-496.
- BRANCUCCI, M. (1980) Morphologie comparée, évolution et systématique des Cantharidae (Insecta: Coleoptera).[Comparative morphology, evolution, and systematics of the Cantharidae (Insecta: Coleoptera)]. *Entomologia brasiliensia* 6: 215-388.
- BRANHAM, M. A.; WENZEL, J. W. (2003) The origin of photic behavior and the evolution of sexual communication in fireflies (Coleoptera: Lampyridae). *Cladistics* 19: 1-22.
- CROWSON, R. A. (1955) *The natural classification of the families of Coleoptera*. London: Nathaniel Lloyd.
- CROWSON, R. A. (1960) The phylogeny of Coleoptera. *Annual Review of Entomology* 5: 111-134.
- CROWSON, R. A. (1972) A review of the classification of Cantharoidea (Coleoptera), with the definition of two new families, Cneoglossidae and Omethidae. *Revista de la Universidad de Madrid* 21: 35-77.
- DETTNER, K. (1987) Chemosystematics and evolution of beetle chemical defenses. *Annual Review of Entomology* 32: 17-48.
- DURVAUX, C.; LAURENT, P.; DALOZE, D.; BRAEKMAN, J. C.; LUPOLI, R.; DIMARCQB, J. L., PASTEELSC, J. (2007) A new diterpene enone from the soldier beetle *Cantharis livida* (Coleoptera: Cantharidae). *Arkivoc* 10: 5-9.
- EBERHARD, W. G. (2006) Sexually reversed copulatory courtship roles and possible nuptial feeding in the soldier beetle *Ditemnus acantholabus* (Champion 1915) (Coleoptera: Cantharidae). *Journal of the Kansas Entomological Society* 79: 13-22.

- FENDER, K. M. (1969) Violent deaths of *Podabrus* (Coleoptera: Cantharidae). *The Coleopterists' Bulletin* 23: 106-107.
- FENDER, K. M. (1973) Ecological notes on *Podabrus* (Coleoptera: Cantharidae). *The Coleopterists' Bulletin* 27: 11-17.
- GOLOBOFF, P. A.; FARRIS, J. S.; NIXON, K. C. (2008) TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics* 24: 774-786.
- HIGGINS, D. G.; SHARP, P. M. (1988) CLUSTAL: a package for performing multiple sequence alignment on a microcomputer. *Gene* 73: 237-244.
- HUELSENBECK, J. P., RONQUIST, F.; NIELSEN, R.; BOLLBACK, J. P. (2001) Bayesian inference of phylogeny and its impact on evolutionary biology. *Science* 294: 2310-2314
- KAWASHIMA, I.; LAWRENCE, J. F.; MA, B. (2010) 4.14. Rhagophthalmidae Olivier, 1907 In *Handbook of Zoology. Volume 4*, pp. 135-140. Berlin: Walter de Gruyter.
- KUNDRATA, R.; BOCAK, L. (2011) The phylogeny and limits of Elateridae (Insecta, Coleoptera): is there a common tendency of click beetles to soft-bodiedness and neoteny?. *Zoologica Scripta* 40: 364-378.
- KUNDRATA, R.; KOBIELUSZOVA, L.; BOCAK, L. (2014) A review of Drilini (Coleoptera: Elateridae: Agrypninae) of the Northern Levant, with description of a new species from Syria and a key to Levantine species. *Zootaxa* 3755: 457-469.
- LAWRENCE, J. F.; NEWTON JR, A. F. (1982) Evolution and classification of beetles. *Annual Review of Ecology and Systematics* 1982: 261-290.
- LAWRENCE, J. F. (1988) Rhinorhipidae, a new beetle family from Australia, with comments on the phylogeny of the Elateriformia. *Invertebrate Systematics* 2: 1-53.
- LECONTE, J. L. (1852) Synopsis of the Lampyrides of temperate North America. *Proceedings of the Philadelphia Academy of Natural Sciences*, 5: 331-347.
- LECONTE, J. L. (1881) Synopsis of the Lampyridae of the United States. *Transactions of the American Entomological Society* 1881: 15-72.

- MACHADO, V.; ARAÚJO, A. M. (2001) The aggregation of *Chauliognathus* species (Coleoptera, Cantharidae) and its possible role for coexistence and mimicry. *Iheringia. Série Zoologia* 91: 29-32.
- MACHADO, V.; VALIATI, V. H. (2006) Analysis of the geographical variation of elytral color polymorphisms in three species of soldier beetles, *Chauliognathus* Hentz (Cantharidae) in southern Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia* 23: 1051-1058.
- MISKIMEN, G. W. (1961) A new family of beetles found in the Cantharoidea. *The Coleopterists' Bulletin* 15: 17-25.
- POINAR JR, G. O.; MARSHALL, C. J.; BUCKLEY, R. (2007) One hundred million years of chemical warfare by insects. *Journal of Chemical Ecology* 33: 1663-1669.
- RAMSDALE, A. S. (2010) Cantharidae Imhoff, 1815 In *Handbook of Zoology, Coleoptera, beetles*. Volume 2, pp. 153-162. Berlin: Walter de Gruyter.
- SAGEGAMI-OBA, R.; TAKAHASHI, N.; OBA, Y. (2007) The evolutionary process of bioluminescence and aposematism in cantharoid beetles (Coleoptera: Elateroidea) inferred by the analysis of 18S ribosomal DNA. *Gene* 400: 104-113.
- SAITOU, N.; NEI, M. (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4: 406-425.
- SWOFFORD, D. L. (2003) PAUP* Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Version 4. Washington: Sinauer
- WHEELER Jr, A. G. (1988) "Violent Deaths" of Soldier Beetles (Coleoptera: Cantharidae) Revisited: New Records of the Fungal Pathogen *Eryniopsis lampyridarum* (Zygomycetes: Entomophthoraceae). *The Coleopterists' Bulletin* 43: 233-236.
- YANG, Y.; KAZANTSEV, S. V.; YANG, X. (2011) Two remarkable new species of *Prothemus* Champion from China and Thailand, with comments on their systematic status (Coleoptera, Cantharidae). *ZooKeys* 119: 53-61.