

Univerzita Palackého v Olomouci

Přírodovědecká fakulta

Katedra zoologie



**Delimitace druhů na základě molekulárních dat v rodu  
*Synchonnus* (Coleoptera: Lycidae)**

Bakalářská práce

**Dominik Kusý**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie a ekologie

Forma studia: prezenční

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

Olomouc 2017

## **PROHLÁŠENÍ**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně pod vedením prof. Ing. Ladislava Bocáka, Ph.D. a použil jsem pouze uvedené bibliografické zdroje.

Olomouc, 25. 4. 2017

.....

## **PODĚKOVÁNÍ**

Chtěl bych poděkovat prof. Ing. Ladislavu Bocákovi, Ph.D. za konzultace během zpracování tohoto projektu. Dále můj velký dík patří všem mým kolegům z laboratoře molekulární systematiky za odborné i praktické rady při psaní této práce.

## **BIBLIOGRAFICKÁ IDENTIFIKACE**

Jméno a příjmení autora: Dominik Kusý

Název práce: Delimitace druhů na základě molekulárních dat v rodu *Synchonnus* (Coleoptera: Lycidae)

Typ práce: Bakalářská práce

Pracoviště: Katedra zoologie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci

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

Rok obhajoby práce: 2017

## **ABSTRAKT**

Je revidován Australský rod *Synchonnus* Waterhouse, 1879 z čeledi Lycidae. Rody *Achras* Waterhouse, 1879 a *Enylus* Waterhouse, 1879 jsou vzhledem k absenci diagnostických znaků navrženy jako mladší synonyma rodu *Synchonnus*, což vede k novým kombinacím v případě *Synchonnus amplus* (Kleine, 1930), comb. nov., *S. limbatum* (Waterhouse, 1877), comb. nov. a *S. segregatus* (Waterhouse, 1879), comb. nov. Rod *Synchonnus* je na Australském východním pobřeží velmi diverzifikovaný a je popsáno 11 nových druhů. Hranice druhů založené na morfologických znacích jsou porovnány s delimitací druhů odvozenou z tvaru fylogenetického stromu a genetických vzdáleností. Hranice druhů založené na delimitaci pomocí DNA dat perfektně souhlasí ve dvou kládech s delimitací podle morfologických znaků, avšak v dalším kládu rodu *Synchonnus*, který je tvořen 3 alopaticky se vyskytujícími druhy s diverzifikovanými samčími kopulačními orgány, ale vysoce podobnými *cox1* mtDNA sekvencemi, je delimitace druhů na základě DNA nemožná. Selhání delimitace druhů založené na DNA sekvencích u některých druhů rodu *Synchonnus* poukazuje na nemožnost předvídat účinnost barcoding přístupu dokonce ani v blízké příbuzných liniích a kdykoli je to možné je při delimitaci druhů nutno preferovat integrovaný taxonomický přístup. Australská fauna rodu *Synchonnus* je vysoce diverzifikovaná a fragmentace vlhkých lesních ekosystémů v posledních ~15 milionech let je předpokládaným hlavním faktorem vedoucím k pozorované alfa-taxonomické diverzitě.

Klíčová slova: Aposematismus, Austrálie, barcoding, GMYC, molekulární fylogeneze.

Počet stran: 62

Počet příloh: 15

Jazyk: český

## BIBLIOGRAPHIC IDENTIFICATION

First name and surname of the author: Dominik Kusý

Name of the thesis: Species delineation using DNA data in *Synchonnus* (Coleoptera: Lycidae)

Type of thesis: Bachelor thesis

Workplace: Department of Zoology, Faculty of Science, Palacký University Olomouc

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

Year of defence: 2017

## ABSTRACT

*Synchonnus* Waterhouse, 1879 from Australia is revised. *Achras* Waterhouse, 1879 and *Enylus* Waterhouse, 1879 are found to be junior synonyms of *Synchonnus* due to the absence of diagnostic characters and result in the new combinations of *Synchonnus amplus* (Kleine, 1930), *S. limbatum* (Waterhouse, 1877), and *S. segregatus* (Waterhouse, 1879). *Synchonnus* is reported from the Australian mesic and monsoon zones, and 11 new species are described: *S. flavonotatum* sp. nov., *S. maseki* sp. nov., *S. ailaketoae* sp. nov., *S. dubenovae* sp. nov., *S. chilvertonensis* sp. nov., *S. slipinskii* sp. nov., *S. monteithi* sp. nov., *S. eungellensis* sp. nov., *S. crypticum* sp. nov., *S. variabilis* sp. nov., and *S. campestris* sp. nov. The morphology-based species limits are compared with delimitation inferred from the shape of the phylogenetic tree and genetic distance. DNA-based species limits agree with morphological delimitation in two clades, but a deep conflict was identified in another clade of *Synchonnus* consisting of three species with allopatric distribution and diversified genitalia, but highly similar *cox1* mtDNA sequences. The failure of molecular species delimitation in some *Synchonnus* points to our inability to predict the performance of barcoding approach even in closely related lineages and calls for an integrative taxonomical approach whenever possible. The *Synchonnus* fauna of Australia is presented as highly diverse and the fragmentation of habitat in the last ~15 million years is hypothesized as the principal factor leading to observed alpha-taxonomic diversity.

Key words: Aposematism, Australia, barcoding, GMYC, molecular phylogeny.

Number of pages: 62

Number of supplements: 15

Language: Czech

## Obsah

1. Úvod.....	7
2. Cíle práce.....	15
3. Metody a materiál.....	16
3.1 Použitý materiál.....	16
3.2 Extrakce DNA, PCR amplifikace, sekvenování.....	16
3.3 Zpracování sekvencí a fylogenetická analýza.....	16
3.4 Morfologie.....	18
3.5 Použité zkratky.....	18
4. Výsledky.....	19
4.1 Molekulární fylogeneze.....	19
4.2 Datování.....	19
4.3 Vnitrodruhové a mezidruhové genetické vzdálenosti, delimitace druhů.....	19
4.4 Taxonomie.....	20
4.5 Určovací klíč Australských druhů rodu <i>Synchonnus</i> .....	32
5. Diskuze.....	35
5.1 Delimitace druhů.....	35
5.2 Diverzifikace rodu <i>Synchonnus</i> .....	36
6. Citovaná literatura.....	39
7. Seznam příloh.....	45

## 1. Úvod

Diverzita je jedním ze základních rysů organizace živé hmoty. Z hlediska velikosti studovaného biologického systému lze rozdělit diverzitu na tři úrovně: genetickou, druhovou a ekosystémovou (Heywood & Baste 1995). Genetická diverzita zahrnuje variabilitu ve struktuře DNA, především na úrovni genů, napříč jednotlivými populacemi nebo v rámci celého druhu. Na opačném pólu hodnocení diverzity je ekosystémová diverzita zahrnující rozmanitost společenstev. Tato diverzita je hodnocena na úrovni celých biotopů nebo velkých zoogeografických oblastí (Olson *et al.* 2001). Druhová diverzita je základní charakteristikou struktury lokálních společenstev a představuje rozmanitost druhů, obvykle v rámci jediné geografické oblasti nebo určité lokality (Ross 1972). Tato diverzita je studována především alfa-taxonomicky a výstupem studia jsou obvykle katalogy, seznamy druhů v oblasti administrativních jednotek nebo jednotlivých chráněných území (Goodman & Benstead 2005; ABRS 2009; Calder 1998).

Druh je základní kategorií v oblasti katalogizace a mapování biodiverzity. Delimitace druhů zásadně ovlivňuje naše závěry ohledně hodnocení biologické rozmanitosti. Neexistuje jediná definice, která by jednotně vymezila, co je druh (Queiroz 2007). Avšak navzdory neshodám nad detaily je společným rysem všech druhových konceptů předpoklad silného vnitrodruhového a absence nebo vzácný výskyt mezidruhového toku genů (Otte & Endler 1989; Hey 2001; Mayr 1942). Obvykle absenci toku genů netestujeme inbredními experimenty (Mayr 1942), ale bereme v úvahu morfologické a genetické rozdíly jako indikátory efektivní reprodukční izolace (Hebert *et al.* 2003; Pons *et al.* 2006; Fujisawa & Barraclough 2013; Zhang *et al.* 2013). Přitom často hrají značnou roli specifika jednotlivých skupin a podle toho jsou aplikovány metody identifikace diagnostických znaků poskytujících dostatečnou rozlišovací schopnost pro delimitaci druhů.

Po dlouhou dobu bylo studium diverzity odkázáno především na morfologické znaky a ostatní zdroje informací, jako jsou cytologie, anatomie, fyziologie nebo ekologie druhů, byly uvažovány spíše okrajově. Takto dřívější studie pracovaly s delimitací morfospecies, a to včetně ekologických studií v oblastech, kde nebylo možné provést formální identifikaci druhů (Hackman & Gong 2017). Pokud budeme spoléhat na DNA data pro delimitaci druhů, například při environmentálním sekvenování, při zkoumání biodiverzity společenstev v alfa-taxonomicky neprozkoumaných oblastech nebo při zpracování velkého množství vzorků (Monaghan *et al.* 2009), potřebujeme být schopni odhadnout, jak pravděpodobná je chyba v hodnocení morfologickými a molekulárními metodami delimitace druhů.

## ***Ochrana diverzity***

V historii země známe mnoho příkladů, kdy klimatická, nebo ekologické změny způsobily významné snížení diverzity v určité oblasti nebo globální diverzity na celé planetě (Erwin 1998, 2008). Změnou klimatických podmínek a v dnešní době především činností člověka dochází k zmenšování nebo fragmentaci přirozeného prostředí (Byrne *et al.* 2008). Zničení přirozeného prostředí druhu je hlavním faktorem vedoucím k vymření druhu vázaného na určité prostředí, na které je přizpůsobený nebo na kterém je existenčně závislý (Pam & Raven 2000). K zničení celé oblasti výskytu druhu dochází pouze vzácně. Nejčastěji dojde k radikálnímu snížení velikosti areálu a fragmentaci habitatu na mnoho izolovaných ostrůvků. Společně se ztrátou celých biotopů tak i fragmentace prostředí, vede k snížení velikosti populace druhu. Při rychlé změně podmínek a nedostatečné době na přizpůsobení se novým podmínkám, může být taková změna hrozbou pro druhy vázané na dané prostředí a vést až k vymření dané populace nebo celého druhu (Laurance *et al.* 2002; Sekercioglu *et al.* 2002). Důležité je proto identifikovat globálně centra s nejvyšší biodiverzitou a výskytem lokálních endemitů. Mnoho těchto míst se nachází v tropech, a i když zabírají tyto oblasti méně než 2 % zemského povrchu, žije na nich přes polovinu suchozemských druhů (Myers *et al.* 2000). V současné době především v mnoha tropických oblastech jako je Amazonie, horské pásmo východní Afriky, Borneo, Sumatra, Nová Guinea, a na jiných ostrovech jihovýchodní Asie, dochází k populační explozi a následnému rozvoji místního zemědělství a současně k prudké redukci lesních oblastí na úkor plantáží palmy olejné a kaučukovníku (Laurance 2007; Koh & Wilcove 2008). Tyto změny v mnoha oblastech s mimořádně vysokou biodiverzitou vedly až ke ztrátě 70 % přirozené vegetace (Myers *et al.* 2000). Avšak tyto centra biodiverzity bez předešlého zásahu člověka jsou domovem pro mnohé vědě neznáme druhy, které jsou především kvůli lokálnímu výskytu velice náchylné k extinkci (Xingli *et al.* 2011). Proto je důležité vědět jaký vliv má velikost a rozmístění zachovaných fragmentů na dané druhy, rozmístění lokálních populací, a lokální extinkci (Qie *et al.* 2011). Až tehdy, když je známé kompletní spektrum organismů v daném prostředí, je možné odhadnout rychlost a míru ztráty biodiverzity v biotopech ovlivňovaných člověkem.

## ***Taxonomie jako základní obor studia biodiverzity na druhové úrovni***

Taxonomie je základní biologickou disciplínou, která poskytuje ostatním biologickým oborům jména pro označení jednotlivých druhů a poskytuje rovněž hypotézu o jejich příbuznosti. Proto otázky studia diverzity a taxonomie spolu úzce souvisí a taxonomie je rovněž zaměřena na vývoj a testování metod delimitace druhů. Tato studie je zaměřena



na testování postupů delimitace druhů, a to jak na základě morfologie, tak DNA ve skupině brouků, která byla taxonomicky opomíjena.

Úkolem taxonoma je vymezit hranici mezi biologickými entitami, které dále budeme považovat za samostatné funkční jednotky (druhy) a přiřadit těmto vymezeným jednotkám platné jméno, které umožní jejich zařazení do biologického systému. Taxonom předkládá fylogenetickou hypotézu o příbuznosti takto vymezených jednotek, a tato je zachycena ve fylogenetické klasifikaci, která obsahuje výhradně monofyletické skupiny. Tyto základní znalosti o příbuznosti organismů pak slouží jako výchozí informace pro další obory, které si pokládají otázky, na které by bez robustní ověřené hypotézy o příbuznosti organismů nebylo možné odpovědět, alespoň tedy ne pravdivě.

Historická praxe delimitace druhů, založená především na morfologických znacích a malém počtu jedinců, často pro moderní studium biodiverzity představuje překážku. Odkazem deskriptivní systematiky jsou proto mnohdy druhová jména bez typových exemplářů s diagnostickými znaky, např. holotypy samičího pohlaví bez spolehlivých diagnostických znaků, a se strohým neinformativním popisem (např. Pic 1921), což ve výsledku znemožňuje přiřazení dalších jedinců k těmto vymezeným biologickým druhům. Význam těchto prací pro další studium je omezený a někdy paradoxně dosavadní taxonomická historie skupiny omezuje možnosti dalšího studia.

Dalším nevhodným přístupem k delimitaci druhů je popis nových druhů bez prozkoumání všech historicky popsanych jedinců a jejich typových exemplářů, bez kvalitních diferenciálních diagnóz a určovacích klíčů (např. Kazantsev 2015). Takové práce poskytují pouze další útržkovité informace a zanechávají v mnohých případech těžko dohledatelná a interpretovatelná jména v klasifikaci. Klasická taxonomie využívá k zařazení jedince do fylogenetického systému živočichů převážně morfologické znaky. Tento přístup je však časově náročný, pracný a biolog zabývající se delimitací musí mít dlouhodobé zkušenosti s danou skupinou, aby dosáhl relativně malé chybovosti. V některých skupinách a v některých především tropických oblastech není delimitace druhů bez použití molekulárních metod a integrovaného přístupu mnohdy možná, alespoň tedy nedosahuje požadované spolehlivosti a reprodukovatelnosti (Monaghan *et al.* 2005).

## ***Historie taxonomie v Austrálii***

Tato studie je zaměřena na faunu kontinentální Austrálie. Přestože se jedná o vyspělou zemi, dosavadní historie studia Australské fauny je poměrně krátká a většina diverzity kontinentu dosud nebyla popsána (Austin *et al.* 2004). Musgrave (1930) rozdělil historii Australské entomologie do tří období podle nejvýznamnějších entomologů dané doby: Fabricia (1770–1830), Westwooda (1831–1861) a Macleaye (1862–1929). Mackerras (1949) identifikoval čtyři období: Období prvních expedic (1770–1860) z kterých pochází první sběry hmyzu v Austrálii, získaný materiál byl poté popisován Evropskými taxonomy; Macleayanské období (1861–1890); období prvních Australských entomologů (1891–1927), z nich většina byla amatérskými sběrateli; a období profesionálních entomologů (od 1928).

Jak už bylo nastíněno v předešlém textu historický odkaz delimitace druhů není v současné biologii často použitelný a v mnoha skupinách zaostává za současnými požadavky moderní biologie. Jinak tomu není ani v případě Australské fauny (Austin *et al.* 2004; Raven & Yeates 2007). Stupeň poznání skutečné diverzity Australské fauny řádu Coleoptera je zlomkový (Yeates *et al.* 2003). Jinak tomu není ani u čeledi Lycidae (ABRS 2009). U velké části historicky popsaných druhů je jejich popis nedostačující a chybějící informace, eventuálně nedostupnost typového exempláře, znemožňují přiřazení nalezených jedinců k dříve publikovanému jménu. Předběžná studie materiálu získaného při expedici do Queenslandu ukázala, že dosavadní klasifikace australských brouků z čeledi Lycidae je velmi problematická. V některých případech byly vymezeny monotypické rody podle jediného exempláře za použití omezeného počtu morfologických znaků (Waterhouse 1879). Při studiu většího množství materiálu a použití DNA dat se ukázalo, že mnoho z dříve používaných diagnostických znaků vykazuje vysokou míru variability a pro spolehlivou delimitaci je tedy nelze použít (Kusy *et al.* 2017).

## ***Modelová skupina***

Zkoumanou skupinou je čeleď Lycidae. Jedná se o slabě sklerotizované elateroidní brouky charakteristické sníženou schopností letu a disperze na větší vzdálenosti. Nejčastějšími zástupci čeledi Lycidae v Austrálii jsou příslušníci tribu Metriorrhynchini. Jedná se Gondwanskou linii s asi 1400 popsány druhy z celého světa (Bocak 2002; Sklenarova *et al.* 2013) a 182 druhy z kontinentální Austrálie (ABRS 2009). Úroveň klasifikačního ranku této linie se měnila od podčeledi, kdy byla spojena s triby Trichalini a Cladophorini v širším pojetí Metriorrhynchinae nebo ponížena na tribus Metriorrhynchini (Sklenarova *et al.* 2014). Metriorrhynchina zahrnují morfologicky různorodé rody sdílející

kruhovitou falobázi, absenci paramer a tykadla s krátkým třetím antenomerem (Bocak 2002). Většina zástupců *Metriorrhynchina* má na štítu sedm rozlišených areol (Sklenarova *et al.* 2014), ale redukce žeber štítu je častým jevem. Modelovými rody pro tuto studii jsou *Synchonnus*, Waterhouse, 1879, *Achras* Waterhouse, 1879, a *Enylus* Waterhouse, 1879, které v současnosti patří do podtribu *Metriorrhynchina*. V rodu *Synchonnus* byly dříve popsány dva druhy a další 3 druhy v monotypických rodech *Enylus*, *Achras* a *Strophicus* Waterhouse, 1879. *Strophicus* byl již dříve synonymizován s rodem *Enylus* (Bocak 2002).

### ***Geograficky strukturovaná variabilita.***

Rovnováha mezi genetickým driftem, přírodní selekcí a tokem genů určuje genetickou strukturu populací. Náhodné procesy zahrnující genetický drift a efekt zakladatele vedou ke genetickým odlišnostem dílčích populací druhu. Zatímco přírodní výběr může zvýšit nebo snížit genetickou odlišnost, tok genů má tendenci homogenizovat genetickou strukturu populací (Peterson & Denno 1998). V přírodních populacích je tok genů omezen biologickými vlastnostmi dané skupiny živočichů nebo přírodními podmínkami bránícími jedincům v jejich šíření. Jedná se o efektivitu geografických či biologických bariér nebo o absenci vhodných podmínek k jejich úspěšnému životu a reprodukci (Mitsui *et al.* 2010; Martins & Aguiar 2016). K takové fragmentaci prostředí a vzniku geograficky strukturované variability může docházet při dobách ledových, které vedou k rozsáhlému zalednění nebo aridizaci, a tedy vzniku izolovaných refugií druhů (Pepper *et al.* 2011; Toon *et al.* 2007). To znamená, že při dostatečně dlouhé době izolace, nahromadění genetických změn a případném vzniku reprodukčně izolačních mechanismů, může při opětovné změně klimatu a opětovném kontaktu izolovaných populací dojít k zachování geneticky odlišných a definitivně nezávislých druhů (Bray & Bocak 2016). V modelu alopatrické speciace dochází při zastavení toku genů mezi dvěma populacemi k nezávislému vývoji obou populací, což může vést až ke vzniku dvou odlišných druhů (Strümpher *et al.* 2016; Mayr 1942).

### ***Lokální mimetické komplexy***

Studovaná skupina zahrnuje druhy, které jsou chemicky chráněny proti predátorům, a proto jsou aposematicky zbarveny (Eisner *et al.* 2008). Vzhledem k počtu druhů čeledi *Lycidae* (Kleine 1933), jejich omezené vagilitě (Sklenarova *et al.* 2013) a odlišnosti podmínek v jednotlivých oblastech, jsou mimetické komplexy v čeledi *Lycidae* velmi diverzifikované (Bocak & Yagi 2010; Bocek & Bocak 2016). V jedné oblasti může dojít ke vzniku několika barevných vzorů, které jsou výsledkem evoluce mimikry, protože podobně

zbarvené druhy jsou nepříbuzné, evoluce založená na aposematických vzorech probíhá bez speciace, takže jeden druh může náležet k několika mimetickým komplexům, teprve až omezení toku genů v důsledku odlišných barevných vzorů zahajuje speciální proces, který při omezené schopnosti jedinců se šířit vede k rychlému vzniku morfologických nebo genetických odlišností u lokálních populací (Li *et al.* 2015; Malohlava & Bocak 2010) a může vést až ke vzniku samostatných druhů.

### ***Role genitálií v sexuální selekci a reprodukční izolaci, specifický systém rozpoznávání partnera***

Posilujícím izolačním mechanismem, který zabraňuje toku genů a vede ke vzniku samostatných druhů je morfologická diverzifikace samčích kopulačních orgánů (Frazee & Masly 2015). Na rozdíl od předešlých prací (například Li *et al.* 2015; Bocek & Bocak 2016) je v této studii zkoumána delimitace druhů v linii s různorodými samčími genitáliemi. Genitálie hrají významnou roli při páření a rozdíly v jejich tvaru jsou obecně považovány jako důkaz reprodukční izolace (Simmons 2013; Wojcieszek & Simmons 2013). Důležitým mechanismem, který zabraňuje hybridizaci je specifické rozpoznání partnera. Morfologie kopulačních orgánů je tedy významným faktorem, dále se při kopulaci uplatňují feromony, zvuky nebo další morfologické struktury, například různé rohy (Giulio *et al.* 2014). Dalším morfologickým znakem, který může naznačovat, že dva sesterské druhy jsou od sebe reprodukčně izolované může být rozdílná velikost očí samců (Bocek & Bocak 2016), kdy je díky rozdílné denní aktivitě snižena šance jedinců se potkat a pářit a uplatňují se tím časové reprodukčně isolační mechanismy.

### ***Tempo morfologické a molekulární diverzifikace v Lycidae***

Tradičně používané diagnostické znaky zahrnují uspořádání žeber na štítu nebo počet primárních žeber krovky (Bocak 2002), tyto znaky jsou však pro vymezení jednotlivých rodů zavádějící (Sklenarova *et al.* 2014). Existence významného polymorfismus může být často pozorována ve zbarvení, pokud se jedná o aposematicky zbarvené druhy a ty se vyskytují v areálu několika mimetických komplexů. Potom na různých lokalitách jsou díky příslušnosti k mimetickým komplexům zástupci jediného druhu různě zbarvení (Bocak & Yagi 2010). Situace je z hlediska diagnostiky dále komplikována, pokud jeden druh může náležet k více mimetickým komplexům. Další variabilita zahrnuje polymorfismus v morfologických znacích například tvaru štítu, primárních a sekundárních žeber krovek, které kvůli snížené sklerotizaci těla mají zpevňující funkci a jsou vystavené silné selekci. Selektční tlak je velmi proměnlivý

a závisí na mnoha faktorech (Bai *et al.* 2011). Navíc silný selekční tlak vede k velmi rychlé modifikaci struktur a morfologická odlišnost nemusí nutně znamenat dlouhou dobu od odštěpení linií (Bray & Bocak 2016). Identifikace druhů a definice diagnostických znaků je při omezené velikosti zkoumaného materiálu velmi komplikovaná a může vést k chybnému vymezení druhů, a dokonce i rodů. Molekulární data jsou na výše popsaných procesech nezávislá a mohou sloužit k verifikaci morfologického signálu (Ebong *et al.* 2016).

Pro správnou delimitaci druhů je tedy nutné rozpoznat spektrum znaků, které mohou být použity pro robustní delimitaci, nebo naopak mohou poskytnout zavádějící informaci. Jedná se o znaky jako odlišná velikost očí, kdy se dva sesterské druhy s různou denní aktivitou a bez jednoznačné variability v mtDNA markeru výrazně liší ve velikosti očí samců (Bocek & Bocak 2016). Takto odlišné druhy mohou náležet k jiným lokálním mimetickým komplexům a vykazovat geograficky strukturovanou genetickou variabilitu. Dalším pozorovaným problémem je nekompletní genetické oddělení linií, kdy sesterské geograficky izolované druhy výrazně lišící se tvarem a velikostí kopulačních orgánů nevykazují variabilitu v mtDNA markeru (Baselga *et al.* 2013; Kusy *et al.* 2017). Což může vést ke konfliktu vymezení druhů při nezávislém použití morfologie a mtDNA markeru a nesprávnému odhadnutí biodiverzity. Molekulární metody dále umožňují identifikaci jevů jako monofylie a parafylie, kdy se často ukáže, že dříve vymezená skupina za použití pouze morfologických dat, která byla považována za monofyletickou, představuje parafylum.

### ***Řešení delimitace druhů na základě kongruence morfologických a molekulárních dat***

S rozvojem molekulárně biologických postupů a se snižováním cen za sekvenování DNA, lze rychle produkovat ohromné množství primárních molekulárních dat (Bergsten 2012), například při environmentálním sekvenování nebo inventarizaci založené na barcodingu (Gao 2015). Tyto data se stávají jedinečným nástrojem k urychlení mapování biodiverzity (Miller *et al.* 2016), avšak tyto informace musejí být součástí křížového ověření hypotézy o vymezení nového druhu, založené jak na DNA, tak na morfologických datech (Meier *et al.* 2006, Baselga *et al.* 2013; Meyer & Paulay 2005; Jorger & Schrodler 2013). Proto je nutné použití integrovaného přístupu za použití kombinace všech možných dostupných informací (Evangelista *et al.* 2013). Moderních metod delimitace druhů využívajících DNA dat s těmi morfologickými, kde hodnotíme jak vnější, tak vnitřní morfologické znaky, například strukturu žeber a tvar samčích kopulačních orgánů při zohlednění známých selekčních tlaků, které jejich evoluci ovlivňují (Wang *et al.* 2015).

### ***DNA barcoding a algoritmická delimitace druhů***

Studie založené na DNA barcodingu využívají velkého množství krátkých fragmentů DNA od mnoha jedinců a druhů a poskytují jedinečný zdroj dat pro průzkum biodiverzity (Hebert *et al.* 2003). Důležitým krokem těchto studií zkoumajících biodiverzitu za použití obrovských enviromentálních vzorků DNA je delimitovat druhové jednotky a zjistit počet jednotlivých druhů v těchto vzorcích. Dnes je toho docíleno kromě vymezení jednotlivých morfospecies hlavně využitím algoritmické delimitace druhů. Výhoda DNA barcodingu spočívá v jeho nízké ceně a relativní jednoduchosti laboratorní práce. Dále je možnost vytvoření rozsáhlých databází, ve kterých jde následně porovnávat nově získané sekvence s těmi v databázi pro které je již určeno o jaký druh se jedná.

Algoritmickou delimitaci druhů za použití DNA sekvencí lze rozdělit na delimitaci druhů odvozenou od genetických vzdáleností (barcoding přístup; Hebert *et al.* 2003; Meier *et al.* 2006) a delimitaci odvozenou z tvaru fylogenetického stromu Bayesian Poisson Tree Processes method, bPTP a PTP (Zhang *et al.* 2013) a Generalized Mixed Yule Coalescent modelu GMYC (Fujisawa & Barraclough 2013). Všechny metody a algoritmy jsou založeny na použití single-locus dat.

## 2. Cíle práce

- Zpracovat klasifikaci *Synchonnus* a příbuzných linií; tj. dříve definované rody *Synchonnus*, *Achras*, *Strophicus* a *Enylus* z Austrálie. Presentovat výsledky alfa-taxonomického studia diverzity Australské fauny
- Delimitovat druhy za použití morfologických a DNA dat, zjistit příbuznost zjištěných druhů s dříve popsány taxony.
- Zhodnotit výsledky delimitace druhů pomocí DNA v blízké příbuzných liniích a identifikovat rozdíly v delimitaci jednotlivých druhů za použití pouze morfologie nebo molekulárních dat. Srovnat úspěšnost delimitačních metod.
- Proces diverzifikace je diskutován ve světle historických klimatických událostí Austrálie.

### 3. Metody a materiál

#### 3.1 Použitý materiál

Celkově vzorek pro sekvenování obsahoval 61 jedinců z komplexu *Synchonnus*, vzorky pocházejí z většího počtu lokalit z východního pobřeží Austrálie (obr. 1, 2). Podrobný seznam lokalit a detailnější informace jsou uvedeny v Tabulka 1. Některé jedince bylo možné identifikovat jako zástupce rodů *Enylus* a *Achras* (Bocak 2002), avšak u převažujícího počtu bylo rodové zařazení nemožné, a to díky velké morfologické variabilitě rodových diagnostických znaků a nejednoznačnému historickému vymezení rodů. Proto byly do analýzy zařazeny všechny taxony mající méně než 7 areol na štítu a nezkrácené první žebro na krovkách.

#### 3.2 Extrakce DNA, PCR amplifikace, sekvenování

Zástupci studované skupiny byli v terénu vloženi do 96% ethanolu a následně uchováni při teplotě -20 °C do laboratorní izolace DNA. Pro izolaci DNA byla použita svalovina metathoraxu.

DNA byla izolována použitím kitu Wizard SV96 Purification System (Promega Inc.) Koncentrace izolované DNA byla změřena na spektrofotometru NanoDrop-1000. Fragmenty *cox1* a *cox2* mtDNA a kompletní tRNA-Leu (~1098 bp) byly amplifikovány pro všechny jedince, *rrnL* + tRNA-Leu + *nad1* (~831 bp) a *nad5* + připojené tRNAs (~1359 bp) byly amplifikovány pro jednoho zástupce z každého druhu vymezeného na základě morfologie samčích kopulačních orgánů. Více genové fragmenty jsou dále v textu označeny jako *cox1*, *rrnL* a *nad5*. Použité primery jsou uvedeny v tabulce (Tabulka 2). Úspěšnost amplifikace jednotlivých fragmentů byla zjištěna pomocí elektroforézy, v níž bylo použito barvivo GelRed™. PCR produkt byl vyčištěn použitím filtrační destičky PCRμ96™ Plates (Millipore Inc.). Na spektrofotometru NanoDrop-1000 byla změřena koncentrace syntetizované DNA. Sekvenační reakce byla provedena pomocí Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit 1. 1. Po vyčištění precipitací v 96% alkoholu a jejich promytí 70% alkoholem bylo 61 vzorků sekvenováno v automatickém sekvenátoru ABI 3130.

#### 3.3 Zpracování sekvencí a fylogenetická analýza

Sekvence byly editovány v programu Sequencher 4. 9 (Gene Codes Corp.). K 61 sekvencím *Synchonnus* komplexu byly přidány homologické sekvence následujících zástupců



Metriorrhynchini představujících outgroup: *Broxylus pendolensis* Bocak et Jass, 2004, *Leptotrichalus* sp., *Metriorrhynchus* sp., *Microtrichalus* sp., *Porrostoma rhipidium* (Macleay 1826), *Sulabanus gracilis* Dvorak & Bocak, 2007, *Trichalus* sp. a *Wakarumbia* sp. (Tabulka 1).

Délkově nevariabilní proteiny kódující mtDNA sekvence byly alinovány programem ClustalX 2.1 (Thompson *et al.* 1997) za použití výchozího nastavení. Fragmenty délkově variabilní byly alignovány programem MAFFT 7.157 (Kato *et al.* 2002).

Fylogenetická analýza byla provedena s přístupem maximální věrohodnosti pomocí programu RaxML 7.3.1 (Stamatakis 2006); GTR+I+G substituční model byl identifikován programem jModelTest2 (Darriba *et al.* 2012). Celkově byly analyzovány dva datasety: *cox1* dataset, který obsahoval všech 61 zástupců a 3 fragmentový dataset, kde byl každý druh zastoupen jedním reprezentativním vzorkem (Tabulka 1). Všechny geny a pozice kodonů pro protein kódující fragmenty byly zařazeny do partic. Bootstrapové hodnoty (BS) byly stanoveny analýzou při 1000 pseudoreplikacích a použitím rapid bootstrap algoritmu a GTRCAT modelu (Stamatakis *et al.* 2008). Získané fylogenetické stromy byly zobrazeny a editovány v programu FigTree 1.4.2 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>). Datovaný strom byl vytvořen analýzou 3 genového datasetu. *Leptotrichalus* sp. představoval outgroup. Analýza byla provedena v programu Beast 1.8.3 (Drummond *et al.* 2012), s použitím HKY+I+G modelu, který byl identifikován v programu jModeltest2 jako druhý nejlepší (analýzy za použití GTR+I+G nedosáhly konvergence; Darriba *et al.* 2012), Yuleho procesu, modelu nekorelovaných uvolněných lognormalních hodin. Dataset byl rozdělen na 3 partice: *rnrL* (nastavená rychlost substituce za linii a milion let (s/l/m) 0.0054 Papadopoulou *et al.* 2010); *nad5* (0.0167 s/l/m; Pons *et al.* 2010) a *cox1* (0.0115 a 0.0177 s/l/m, v daném pořadí; Brower 1994; Papadopoulou *et al.* 2010). Analýza byla nastavena na 15 milionů generací se vzorkováním každé 10 000. generace. První 4 miliony generací byly vyřazené as burn-in po vyhodnocení pravděpodobnostních hodnot a efektivní velikosti vzorku v programu Tracer 1.6 (Rambaut *et al.* 2014).

Byly vypočteny vnitrodruhové a mezidruhové genetické vzdálenosti napříč sekvencemi obsahujícími všechny fragmenty (např. *cox1*, tRNA-Leu a *cox2* mtDNA) použitím Kimura-2-parameter genetické (K-2-P) vzdáleností v programu MEGA 7 (Kumar *et al.* 2016), byly identifikovány clustery podobných sekvencí v programu Species Identifier 1.7.7 za použití 2% a 3% barcoding hranice (Meier *et al.* 2006). Graf rozložení četností vnitrodruhových a mezidruhových genetických vzdáleností byl zkonstruován v programu R

(R core Team 2012). R: Jazyk a prostředí pro statistické výpočty. R Nadace pro Statistické Výpočty, Vídeň, Rakousko (ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>).

Dále byly definovány entity na úrovni druhů za použití maximální věrohodnosti a Bayesiánské implementace Poisson Tree Processes (PTP) modelu pro delimitaci druhů (PTP server dostupný online na [species.h-its.org](http://species.h-its.org); Zhang *et al.* 2013). Algoritmus poskytne posteriorní pravděpodobnosti pro všechny potomky v daném kládu představujících jeden pravděpodobný druh. Dodatečně byl použit GMYC delimitační algoritmus (GMYC server na [species.h-its.org](http://species.h-its.org); Fujisawa & Barraclough 2013). Datovaný strom pro GMYC analýzu byl vyprodukovaný v programu Beast 1.8 za použití stejného nastavení jako je popsáno v předchozím textu.

### 3.4 Morfologie

Exempláře byly po odebrání metathorakální svaloviny použité pro analýzu DNA vysušeny. Morfologické popisy jsou založeny na dospělých, fotografie byly pořízeny digitálním fotoaparátem připojeným k binokulárnímu mikroskopu Olympus SZX-16 a byly složeny z více vrstev v programu Helicon Focus 6 ([www.heliconsoft.com](http://www.heliconsoft.com)). Samčí genitálie byly uvolněny v 50% alkoholu, očištěny v horkém 10% KOH a vypreparovány. Všechna měření byla provedena za použití okuláru s měřítkem. Presentovaný materiál byl následně uložen v muzeu v Queenslandu, Brisbane (QMNH); Australské Národní Kolekci Hmyzu, CSIRO, Canberra (ANIC); a v Laboratoři Molekulární Systematiky UP, Olomouc (LMBC). Typový materiál popsáný C. O. Waterhousem byl studován z fotografií pořízených mým školitelem v Muzeu Přírodní Historie v Londýně (BMNH).

### 3.5 Použité zkratky

Morfologické popisy druhů: BL délka těla, WH šířka v humeru, PL délka štítu, PW šířka štítu, Edist vzdálenost očí, Ediam průměr oka, PhL délka kopulačního orgánu. Naměřené hodnoty v popisech odpovídají holotypům.

## 4. Výsledky

### 4.1 Molekulární fylogeneze

Pro 61 jedinců z východního pobřeží Austrálie byl osekvenován *cox1-cox2* fragment dlouhý 1098 bází. Fragment se skládal z 782 parů bází (bp) dlouhého fragmentu *cox1* mtDNA, 59 bp tRNA-Leu a 257 bp *cox2* mtDNA. Bylo identifikováno 57 unikátních haplotypů *cox1* sekvencí a K-2-P genetické vzdálenosti dosáhly až na 21.9 %. Vnitrodruhové a mezidruhové genetické vzdálenosti jsou znázorněny v grafu (obr. 5 a obr. 6). Fylogenetická analýza s aplikací kritéria maximální věrohodnosti *cox1* datasetu vyprodukovala fylogenetický strom obr. 4, a monofýlie *Synchonnus* byla podpořena 81 % bootstrap hodnotou; klády na úrovni druhu dosáhly 100 % bootstrap podpory. Dodatečně byly získány *rrnL* a *nad5* fragmenty mtDNA pro 12 jedinců představující pravděpodobné druhy (amplifikace *rrnL* a *nad5* fragmentů selhala pro *S. crypticum*; Tabulka 1). Při analýze všech tří fragmentů byla získána stejná, ale silněji podpořená topologie, všechny větve obdržely 100 % bootstrap podporu. Topologie byla získána za použití analýzy maximální věrohodnosti 3 fragmentového datasetu (obr. 92).

### 4.2 Datování

Datovaný strom odvozený z 3 fragmentového datasetu (*cox1* 0.0177 s/l/my) indikuje vznik rodu *Synchonnus* před 30.02 miliony let (Ma), původ kládu C na 27.05 Ma a oddělení kládu A a B před 23.52 Ma. Bazální linie kládu A se nyní vyskytují jižně i severně od aridní zóny Burdekin a k jejich oddělení došlo před 14.6 Ma (obr. 3) Další dvě oddělení byly datovány do stejného období, ale v obou případech větvení zahrnuje alespoň jeden pár druhů vyskytujících se na obou stranách St Lawrence aridní zóny. Dále výsledky předpovídají vznik několika dalších sesterských blízkce příbuzných druhů v posledních dvou milionech let. Dva z nich, například *S. maseki* + *S. clientulum* a *S. eungellensis* + *S. montheithi*, jsou odděleny aridní zónou St Lawrence (obr. 1–2 a 4). Při nastavení rychlost substituce za linii a milion pro *cox1* na 0.0115 s/l/m byl získán datovaný strom vykazující pouze nepatrně starší oddělení jednotlivých linií.

### 4.3 Vnitrodruhové a mezidruhové genetické vzdálenosti, delimitace druhů

Dále byly identifikovány pravděpodobné druhy za použití genetických vzdáleností a fylogenetického stromu. Párové vzdálenosti napříč *cox1* mtDNA sekvencemi sloučily

při použití 3% hranice haplotypy do 10 skupin. Tyto identifikované skupiny odpovídaly u všech druhů delimitaci založené na morfologii, pouze druhy *S. crypticum*, *S. variabilis* a *S. campestris* byly sloučeny do jedné skupiny. Podobně, PTP analýza s modelem maximální věrohodnosti, Bayesiánská implementace PTP modelu a GMYC analýza rozpoznala 10 pravděpodobných druhů se stejnými limity jako metoda založená na genetických vzdálenostech. Posteriošní pravděpodobnosti (pp, bPTP analýza) pro pravděpodobné druhy dosáhly 0.86–1.0 včetně skupiny tři druhů delimitovaných na základě morfologie zmíněných výše (pp 0.89). Nejvíce podporované partice jsou uvedeny v Tabulce 4. U skupiny druhů, které byly při použití zmíněných přístupů delimitace považovány za jeden druh, byly po zhodnocení morfologických rozdílů mezi jedinci identifikovány 3 morfologicky rozpoznatelné druhy: *S. crypticum*, *S. campestris* a *S. variabilis* lišící se 0.1–2.0% mezidruhovou *cox1* K-2-P genetickou vzdáleností (Tabulka 3). Vnitrodruhová genetická vzdálenost dosáhla až k 2 % a 1.5 % v *S. crypticum* a *S. variabilis*, *S. campestris* byl zastoupen pouze jedním haplotypem. Delimitace založená na morfologii je podrobně popsána v taxonomické sekci.

#### 4.4 Taxonomie

*Synchonnus* Waterhouse, 1879

Typový druh: *Porostoma clientulum* Waterhouse, 1877, monotypií.

=*Achras* Waterhouse, 1879:61, syn. nov.

Typový druh: *Achras limbatum* Waterhouse, 1879, monotypií.

=*Enylus* Waterhouse, 1879: 72, syn. nov.

Typový druh: *Enylus segregatus* Waterhouse, 1879, monotypií.

=*Strophicus* Waterhouse, 1879: 73; Bocak, 2002: 335

Typový druh: *Strophicus nigellus* Waterhouse, 1879: 73, monotypií.

**Diferenciální diagnóza.** Tělo střední velikosti, 5–12 mm dlouhé. Hlava bez rostra, tykadla serátní u obou pohlaví, antenomery 3–11 ploché, někdy špičaté (obr. 46–85), maxilární palpy robustní, apikální palpomery ploché, sekerovitý tvar. Štít se zvlněnými až téměř rovnými okraji a špičatě vyčnívajícími zadními úhly, disk typicky s pěti areolami, někdy chybí postranní žebro, středová areola je přímo spojena s předním okrajem nebo je napojena krátkým žebrem (obr. 31–45). Krovky se silnými primárními podélnými žebry v humerální

třetině krovky, primární žebro 1 a 3 v apikální polovině slabě vyvinuté, sekundární žebra někdy chybí nebo mají v apikální části krovky nepravidelný tvar; příčná žebra na celé krovce vyvinutá slabě, buňky mírně příčné. Samčí kopulační orgány krátké a robustní až dlouhé a štíhlé, s dvěma trny, jejichž umístění je variabilní, zřídka trny chybí (obr. 59–87), terminální sklerity jako na obr. 90. Kladélko s krátkými koxity a dlouhými, štíhlými valviferami (obr. 88), samičí terminální sternum bez spikula gastrale (obr. 89).

Všichni zástupci rodu *Synchonnus* mohou být identifikováni současně za použití tvaru štítu a morfologie samčích kopulačních orgánů. Na rozdíl od jiných rodů ze skupiny Metriorrhynchina s redukovanými žebry štítu, například rody ze skupiny Trichalina (Bocak 2002; Sklenarova *et al.* 2014) nebo rod *Falsolucidota* Pic, 1921 (Bocak & Bocakova 1990), zástupci *Synchonnus* mají na krovkách vyvinuté primární žebro 1 a 3. Samčí genitálie Metriorrhynchina jsou různorodé, pro zástupce rodu *Synchonnus* jsou charakteristické relativně malé trny vnitřního vaku a absence spirálovitě stočeného sklerotizovaného duktů vnitřního vaku. Barevné vzory jsou u některých druhů vysoce variabilní, proto jsou popisy zaměřeny na celkový vzhled a spolehlivé diagnostické znaky.

**Rozšíření.** Austrálie: Queensland, Nový Jižní Wales (16 spp.; Přílohy); Nová Guinea: Severní pobřeží, Mamberabo (1 sp.), Indonésie: Papua: Japen (1 sp.) a Mysool (1 sp.).

**Rodová klasifikace.** Monofýlie rodu *Synchonnus* a jeho vztah k ostatním rodům Metriorrhynchina je dle provedené analýzy (obr. 3, 4, 92) silně podpořeno a souhlasí s fylogenetickým postavením podle Sklenarova *et al.* (2013). Molekulární fylogeneze rodu *Synchonnus* ukázala, že dřívější vymezení několika blízce příbuzných rodů bylo neodůvodněné. Vymezení *Synchonnus*, *Achras* a *Enylus* bylo založené na tvarech žeber štítu (Waterhouse 1879), které má u měkkotělých zástupců Lycidae posilující funkci a podobné struktury se vyvinuly v několika případech i u nepříbuzných taxonů navíc jsou často tyto struktury redukovány (Sklenarova *et al.* 2014). Rody ve skupině Metriorrhynchina byly redefinovány za použití morfologie samčích kopulačních orgánů (Bocak 2002), ale jako u žeber štítu, jsou samčí kopulační orgány u některých blízce příbuzných druhů variabilní (obr. 59–87). Proto je pro zhodnocení veškeré variability znaků použitých pro popis rodů vždy nutný dostatečně velký vzorek jedinců.

*Achras* byl popsán na základě úzké střední areoly štítu, absence fronto-laterálních bočních žeber, a robustního samčího kopulačního orgánu (Waterhouse 1879; Bocak 2002; obr. 31–36 a 71). Když byly identifikovány další příbuzné druhy (klád B, obr. 4, 31–36 a 65–66), byly

zjištěny druhy blízce příbuzné *A. limbatum* v kládu zahrnujícím *S. clientulum*, typový druh rodu *Synchonnus*. Koncept rodu *Enylus* byl založený na úplné absenci postranních žeber štítu (Waterhouse 1879; Bocak 2002), a přítomností střední areoly (obr. 37–40). Uspořádání žeber štítu a morfologie samčích kopulačních orgánů je tak vysoce variabilní, že nejde identifikovat žádný stabilní morfologický diagnostický znak, který by byl schopen rozlišit rody *Achras* a *Enylus* od zástupců rodu *Synchonnus*. Proto bylo za použití pravomoci prvního revidujícího autora (ICZN 1999), navrhuto, že rody *Achras* a *Enylus* jsou mladšími synonymy rodu *Synchonnus* (Kusy *et al.* 2017).

Druhy *Porrostoma limbatum* Waterhouse, 1877 (= *Achras limbatum*), *Enylus amplus* Kleine, 1930, a *Enylus segregatus* Waterhouse, 1879 jsou nově klasifikovány v rodu *Synchonnus*.

### ***Synchonnus dubenovae* sp. nov.**

**Typový materiál.** Holotyp: samec, Austrálie, Queensland: Mt. Glorious, Barracks, 27°19'S 152°45'E, 575 m (Voucher Number A00296; ANIC). Paratypy: Austrálie, Queensland: 2 samice, stejná lokalita jako holotyp (A00343–4; LMBC, QMNH).

**Diferenciální diagnóza.** *Synchonnus dubenovae* a *S. ailaketoae* sdílí robustní tvar samčího kopulačního orgánu. Kopulační orgány *S. dubenovae* jsou trochu širší v bazální třetině (obr. 61, 62) v porovnání s druhem *S. ailaketoae* (obr. 59,60). Tyto druhy se značně liší v barevných vzorech (porovnej obr. 7, 8 a 31, 32). Ostatní druhy se od nich liší mnohem štíhlejším samčím kopulačním orgánem (obr. 59–87).

**Popis.** Samec. Tělo 6.7–7.1 mm dlouhé, štíhlé, černé barvy, s výjimkou bazální části krovek, které jsou oranžové a v apikální čtvrtině černé (obr. 7). Hlava malá, oči středně velké, hemisféricky vyčnívající, průměr oka tvoří 0.57 interokulární vzdálenosti, tykadla serátní (obr. 47). Štít 1.55krát širší, než je jeho střední délka, lichoběžníkový, nejširší na bázi, přední úhel tupý, boční okraje konkávní, zadní úhly ostře vyčnívající, středová areola relativně široká (obr. 31). Krovka štíhlá, 3.28 krát delší než široká v humeru, 4 primární žebra v humerální části krovky silně zavalitá, 3 žebro zkrácené, sekundární žebra slabě vyvinuta, buňky většinou kvadratické (obr. 7). Samčí kopulační orgán robustní, krátký, v bazální třetině mírně rozšířeny, vnitřní vak s trny v bazální třetině délky samčího kopulačního orgánu (obr. 61, 62).

**Měření.** BL 6.9 mm, WH 1.80 mm, PL 0.98 mm, PW 1.52 mm, Ediam 0.32mm, Edist 0.56 mm, PhL 1.33 mm.

**Etymologie.** Specifické druhové jméno je matronym na počest N. Dubeňové.

**Rozšíření.** Queensland. Druh je znám pouze z Mt. Glorious (obr. 2).

***Synchonnus ailaketae* sp. nov.**

**Typový materiál.** Holotyp: samec, Austrálie, Queensland: Lamington N. P., 28°11'S 153°07'E, 28 Oct–9 Nov 2008, G. Monteith (A00225; ANIC). Paratypy: Austrálie, Queensland: 1 samec, 1 samice, stejná lokalita jako holotyp (A00223, A00247; QMNH).

**Diferenciální diagnóza.** Oba druhy *S. ailaketae* i *S. dubenovae* mají krátký a robustní samčí kopulační orgán, ale u *S. ailaketae* je rovnoběžný (obr. 59–62). Dodatečně, se tyto druhy liší ve zbarvení štítu (porovnej obr. 7, 8 a 31, 32). Ostatní druhy se liší ve tvaru jejich kopulačních orgánů (obr. 59–87).

**Popis.** Samec. Tělo 6.5–7.0 mm dlouhé, štíhlé, černé, štít černě zbarvený ve střední části, jeho okraje jsou oranžové, krovka černá s oranžovými okraji a apikální částí (obr. 8). Hlava malá, oči středně velké, hemisféricky vyčnívající, průměr oka tvoří 0.60 interokulární vzdálenosti, tykadla serátní (obr. 46). Štít 1.42krát širší než dlouhý ve střední délce, lichoběžníkovitý, nejširší na bázi, přední úhel tupý, boční okraje konkávní, zadní úhly ostře vyčnívající, areola relativně široká (obr. 32). Krovka se silnými vystouplými primárními žebry, 3.69krát delší než široká v humeru, 3 žebro zkrácené, sekundární žebra slabě vyvinutá, buňky většinou kvadratické (obr. 8). Samčí kopulační orgán robustní, krátký, souběžný, vnitřní vak s 2 trny v bazální části (obr. 59–60).

**Měření.** BL 6.8 mm, WH 1.56 mm, PL 1.03 mm, PW 1.47 mm, Ediam 0.36 mm, Edist 0.60 mm, PhL 1.31 mm.

**Etymologie.** Specifické druhové jméno je matronym na počest A. Keto, která poskytla podporu mému školiteli při terénním výzkumu v národním parku Springbrook.

**Rozšíření.** Queensland: Lamington (obr. 2).

***Synchonnus maseki* sp. nov.**

**Typový materiál.** Holotyp: samec, Austrálie, Queensland: Eungella N. P., Dalrymple Rd, 21°03'S 148°34'E, 700–950 m, 5. Dec 2014 (DK0116; QMNH).

**Diferenciální diagnóza.** Na rozdíl od ostatních druhů rodu *Synchonnus*, *S. maseki* má kompletně oranžově až červeně zbarvené krovky. Krátký na bázi cibulkovitě rozšířený samčí kopulační orgán (obr. 63, 64), což poukazuje na příbuznost s druhem *S. clientulum* (obr. 65–68). *Synchonnus maseki* má robustní vrchol samčího kopulačního orgánu, trny jsou umístěny apikálně, ve srovnání s ostatními rozměry hlavy jsou oči o něco větší (0.54 proti 0.49krát čelní vzdálenost očí).

**Popis.** Samec. Tělo 8.1 mm dlouhé, štíhlé, černé, krovka kompletně oranžovo-červená (obr. 9). Hlava malá, oči středně velké, hemisféricky vyčnívající, průměr oka tvoří 0.61 interokulární vzdálenosti, tykadla serátní (obr. 49). Štít 1.46krát širší než dlouhý ve střední délce, lichoběžníkovitý, nejširší na bázi, přední úhel tupý, boční okraje konkávní, zadní úhly ostře vyčnívající, areola relativně široká (obr. 33). Krovka se silnými vystouplými primárními žebry, 3.46krát delší než široká v humeru, 3 žebro zkrácené, sekundární žebra v apikální části slabě vyvinutá, v bazální části krovky silně, buňky mají variabilní tvar, většinou kvadratický (obr. 28). Samčí kopulační orgán na bázi baňatý, na vrcholu rozšířený, nejširší v jedné třetině jeho délky, vnitřní vak s 2 velkými trny ve vrcholové části (obr. 63, 64).

**Měření.** BL 8.1 mm, WH 1.96 mm, PL 1.30 mm, PW 1.90 mm, Ediam 0.39 mm, Edist 0.63 mm, PhL 1.72 mm.

**Etymologie.** Specifické druhové jméno je patronym na počest M. Maskovi, který se podílel na sběru materiálu.

**Rozšíření.** Queensland: Eungella (obr. 1).



***Synchonnus chilvertonensis* sp. nov.**

**Typový materiál.** Holotyp: samice, Austrálie, Queensland: Chilverton, 17°06'S 145°30'E (A00240; ANIC).

**Diferenciální diagnóza.** *Synchonnus chilvertonensis* a *S. flavonotatum* jsou jediné známé druhy s kompletně tmavě hnědě zbarvenou krovkou a výrazně oranžovým štítem. Buňky jsou kvůli běžné absenci sekundárních žeberek velké, u *S. flavonotatum* jsou menší (obr. 10, 11), dírkování na předních částech štítu u *S. chilvertonensis* chybí (obr. 34). Kvůli nedostupnosti samčího exempláře druhu *S. chilvertonensis* nelze porovnat samčí kopulační orgány těchto dvou druhů.

**Popis.** Samice. Tělo 7.2 mm dlouhé, štíhlé, černé, pouze štít oranžový (obr. 10). Hlava malá, tykadla serátní (obr. 10). Štít 1.69krát širší než dlouhý ve střední délce, lichoběžníkovitý, nejširší na bázi, areola relativně široká, nepřipojená k okrajům štítu, přední úhel tupý, boční okraje konkávní, zadní úhly ostře vyčnívající (obr. 34). Krovka se silnými vystouplými primárními žebry, 3.3krát delší než široká v humeru, 3 žebro zkrácené, sekundární žebra slabě vyvinutá, přerušovaná, nepravidelné buňky (obr. 10).

**Měření.** BL 7.20 mm, WH 1.88 mm, PL 0.97 mm, PW 1.64 mm.

**Etymologie.** Specifické druhové jméno odkazuje na Chilverton, typovou lokalitu druhu.

**Rozšíření.** Queensland: Chilverton (obr. 1).

***Synchonnus flavonotatum* sp. nov.**

**Typový materiál.** Holotyp: samec, Austrálie, Queensland: Chilverton, 17°06'S 145°30' (A00228; ANIC).

**Diferenciální diagnóza.** *Synchonnus flavonotatum* a *S. chilvertonensis* sdílejí podobný barevný vzor, ale zdá se, že mají dlouhou nezávislou evoluční historii (obr. 4). Tyto dva druhy

se liší ve vývoji sekundárních žebber a v přítomnosti dírkování na okrajích štítu: dírkování se vyskytuje na předních částech štítu *S. flavonotatum*.

**Popis.** Samec. Tělo 6.2 mm dlouhé, štíhlé, černé, pouze štít oranžový (obr. 11). Hlava malá, oči velké, hemisféricky vyčnívající, průměr oka tvoří 1.45 interokulární vzdálenosti, tykadla serátní (obr. 50). Štít 1.55 krát širší než dlouhý ve střední délce, lichoběžníkovitý, nejširší na bázi, přední úhel tupý, boční okraje konkávní, zadní úhly ostře vyčnívající; areola relativně široká (obr. 35). Krovka se silnými vystouplými primárními žebry, 3.39 krát delší než široká v humeru, 3 žebro zkrácené, sekundární žebra dobře vyvinutá, buňky mají variabilní tvar, většinou kvadratické (obr. 29). Samčí kopulační orgán na vrcholu štíhlý, na bázi rozšířený, vnitřní vak s trny ve střední části (obr. 69, 70).

**Měření.** BL 6.2 mm, WH 1.56 mm, PL 0.90 mm, PW 1.40 mm, Ediam 0.48 mm, Edist 0.33 mm, PhL 1.44 mm.

**Etymologie.** Specifické druhové jméno odkazuje na pestrou, oranžovou barvu štítu.

**Rozšíření.** Queensland: Chilverton (obr. 1).

### ***Synchonnus slipinskii* sp. nov.**

**Typový materiál.** Holotyp: samec, Austrálie, Queensland: Chilverton, 17°06'S 145°30'E (A00213; ANIC). Paratyp: Austrálie, Queensland: 1 samice, stejná lokalita jako holotyp (A00236).

**Diferenciální diagnóza.** *Synchonnus slipinskii* je jediným druhem u kterého je štít a humerus pestře zbarvený (obr. 12). Tento druh má trny vnitřního vaku umístěny bazálně a střední část falu je mírně zúžená (obr. 75).

**Popis.** Samec. Tělo 8.0–8.1 mm dlouhé, štíhlé, černé, štít výrazně oranžový, krovka v humeru oranžová, vrcholových osm devítin tmavě hnědých až černých (obr. 12). Hlava malá, oči středně velké, hemisféricky vyčnívající, průměr oka tvoří 0.8 interokulární vzdálenosti, tykadla serátní (obr. 53). Štít 1.66krát širší než dlouhý ve střední délce, lichoběžníkovitý,

nejširší na bázi, přední úhel tupý, boční okraje konkávní, zadní úhly ostře vyčnívající, areola široká (obr. 37). Krovka s vystouplými primárními žebry, 3.37krát delší než široká v humeru, 2 žebro silně vyvinuto, sekundární žebra také dobře vyvinutá (obr. 12), buňky většinou kvadratické. Samčí kopulační orgán středně silný, pouze ve střední části mírně zúžený, bazální část bulbózní, vrcholová část mírně rozšířená, vnitřní vak s 2 trny umístěnými na bázi (obr. 75, 76).

**Měření.** BL 8.0 mm, WH 2.06 mm, PL 1.05 mm, PW 1.75 mm, Ediam 0.40 mm, Edist 0.50 mm, PhL 1.96 mm.

**Etymologie.** Specifické druhové jméno je patronym na počest Adamu Slipinski.

**Rozšíření.** Queensland: Chilverton (obr. 1).

***Synchonnus eungellensis* sp. nov.**

**Typový materiál.** Holotyp: samice, Austrálie, Queensland: Eungella N. P., Dalrymple Rd, 700–950 m, 21°03'S 148°34'E, 5. Dec 2014 (DK0120; QMNH). Paratypy: Austrálie, Queensland: 2 samice, stejná lokalita jako holotyp (DK0133, DK0134, LMBC).

**Diferenciální diagnóza.** *Synchonnus eungellensis* je jediným druhem z masivu Eungella, který má bazální část krovky pestře zbarvenou a vrchol černý (obr. 15). Od *S. monteithi* se liší v tom, že má menší černé skvrny na vrcholu krovky. *Cox1* mtDNA sekvence sesterského druhu, *S. monteithi*, z jižního Queenslandu se liší 3.6–4.3 % a tyto druhy jsou od sebe geograficky izolovány suchou zónou St Lawrence, která představuje pro zástupce Lycidae silnou izolační bariéru.

**Popis.** Samice. Tělo 6.8–7.0 mm dlouhé, štíhlé, černé, krovka ve spodních dvou třetinách oranžová, v apikální třetině černá (obr. 15). Hlava malá, oči středně velké, hemisféricky vyčnívající, průměr oka tvoří 0.40 interokulární vzdálenosti, tykadla serátní. Štít 1.64krát širší než dlouhý ve střední délce, lichoběžníkovitý, nejširší na bázi, přední úhel tupý, boční okraje konkávní, zadní úhly ostře vyčnívající, areola široká (obr. 38). Krovka s vystouplými

primárními žebry, 3.83krát delší než široká v humeru, 2 a 4 žebro silně vyvinuto, sekundární žebra vyvinutá slabě, buňky mají variabilní tvar (obr. 15). Samec. Neznámý.

**Měření.** BL 6.8 mm, WH 1.55 mm, PL 0.90 mm, PW 1.48 mm.

**Etymologie.** Specifické druhové jméno odkazuje na Eungellu, typovou lokalitu druhu.

**Rozšíření.** Queensland: Eungella (obr. 1).

***Synchonnus monteithi* sp. nov.**

**Typový materiál.** Holotyp: samec, Austrálie, Queensland: Springbrook N. P., Numinbah, Pocket Rd, 28°12'S 153°14'E, 225 m, 21. Nov 2014 (DK0061; QMNH). Paratypy: Austrálie, Queensland: 3 samci, stejná lokalita jako holotyp; 4 samci, Bribie Island., 1.3 km NE of ENP HQ, 27°01'S 153°07'E, 10 m (A00282–3, A00291, A00322; QMNH, LMBC).

**Diferenciální diagnóza.** Druhy *S. monteithi* a *S. amplus*, mají štíhlý samčí kopulační orgán s trny umístěnými ve střední části, a s dobře sklerotizovanou trubicí vnitřního vaku (obr. 72–74). Ostatní druhy mají samčí kopulační orgán robustní nebo v některých jeho částech zúžený, trny vnitřního vaku mají umístěny na odlišných místech a trubice vnitřního vaku je nenápadná (obr. 59–87). Samčí kopulační orgán druhu *S. monteithi* je podobný tomu u *S. amplus* (obr. 72), ale jeho bazální část je robustní (obr. 73, 74).

**Popis.** Samec. Tělo štíhlé, černé, krovka oranžová pouze v humerální polovině vrchol krovky černý (obr. 13, 14). Hlava malá, oči středně velké, hemisféricky vyčnívající, průměr oka tvoří 0.61 interokulární vzdálenosti, tykadla serátní (obr. 51, 52). Štít 1.85krát širší než dlouhý ve střední délce, lichoběžníkovitý, nejširší na bázi, přední úhel tupý, boční okraje konkávní, zadní úhly ostře vyčnívající, areola široká (obr. 39, 40). Krovka 3.62krát delší než široká v humeru, primární žebra 2 a 4 vystouplé, žebro 2 nejsilněji vyvinuto, sekundární žebra téměř chybí, buňky většinou nepravidelného tvaru (obr. 13, 14). Falus dlouhý, štíhlý s párem trnů ve střední části (obr. 73, 74).

**Měření.** BL 7.7 mm, WH 1.88 mm, PL 0.88 mm, PW 1.63 mm, Ediam 0.27 mm, Edist 0.44 mm, PhL 1.83 mm.

**Etymologie.** Specifické druhové jméno je patronym na počest G. Monteith, který mi poskytnul mnoho cenných informací ohledně Queenslandských ekosystémů.

**Rozšíření.** Queensland: Springbrook, ostrov Bribie (obr. 2).

***Synchonnus campestris* sp. nov.**

**Typový materiál.** Holotyp: samec, Austrálie, Queensland: Bribie Island, 1.3 km NE of ENP HQ, 27°01'S 153°07'E, 10 m (A00284; ANIC).

**Diferenciální diagnóza.** *Synchonnus campestris*, *S. variabilis* a *S. crypticum* představují skupinu blízce příbuzných druhů s velmi variabilními barevnými vzory (obr. 19–27) a projevují vysokou podobnost v sekvencích *cox1* mtDNA fragmentu. Pouze jejich samčí genitálie poskytují spolehlivé rozlišovací znaky (obr. 78–87). *S. campestris* má v porovnání s druhem *S. variabilis* a *S. crypticum* velice robustní samčí kopulační orgán s trny vnitřního vaku umístěnými v jeho vrcholové části (obr. 80, 81).

**Popis.** Samec. Tělo 6.7 mm dlouhé, štíhlé, černé, střední část štítu černá, postranní okraje oranžové (obr. 27), krovka většinou oranžová s tmavými místy v apikální třetině (obr. 27). Hlava malá, oči středně velké, hemisféricky vyčnívající, průměr oka tvoří 0.64 interokulární vzdálenosti, tykadla serátní (obr. 58). Štít 1.91krát širší než dlouhý ve střední délce, lichoběžníkovitý, nejširší na bázi, přední úhel tupý, boční okraje konkávní, zadní úhly ostře vyčnívající, areola široká (obr. 41). Krovka s vystouplými primárními žebry, 3.33krát delší než široká v humeru, žebro 2 silně vyvinuto, primární žebra 1 a 3 jsou v apikální části krovky vyvinutá slabě, sekundární žebra slabě vyvinuta po celé jejich délce (obr. 27). Samčí kopulační orgán robustní, s trny v apikální části (obr. 80, 81).

**Měření.** BL 6.7 mm, WH 1.76 mm, PL 0.83 mm, PW 1.59 mm, Ediam 0.36 mm, Edist 0.56 mm, PhL 1.51 mm.

**Etymologie.** Specifické druhové jméno odkazuje na rozšíření druhu v nížinách.

**Rozšíření.** Queensland: ostrov Bribie (obr. 2).

***Synchonnus crypticum* sp. nov.**

**Typový materiál.** Holotyp: samec, Austrálie, Queensland: Mt. Barney N. P., Lindsay Rd. / NSW border, 28°19'S 152°42'E, 350 m, 27. Nov 2014 (DK0053; QMNH). Paratypy: Austrálie, Queensland: 4 samci, stejná lokalita jako holotyp (DK0048–49, DK0051–52); 4 samci, Main range N.P., Goombura Section, 27°59'S 152°21'E, 750 m, 28. Nov 2014 (DK0025, DK0028–30); 1 samec, Bribie Island, 1.3 km NE of ENP HQ, 27°01'S 153°07'E, 10 m (A00278, QMNH, LMBC). Ostatní zkoumaný materiál: 1 samec Bribie Island, 1.3 km NE of ENP HQ, 27°01'S 153°07'E, 10 m (A00276).

**Diferenciální diagnóza.** *Synchonnus crypticum* může být spolehlivě identifikován pouze podle tvaru samčích kopulačních orgánů. Tvar kopulačního orgánu se podobá tomu u *S. variabilis*, ale trny vnitřního vaku jsou velké a jsou umístěny v apikální části trubice samčího kopulačního orgánu a pigmentovaná trubice uvnitř vnitřního vaku chybí (obr. 82–87, 93). Tyto dva druhy se mírně liší v relativní velikosti očí, ale rozdíly jsou pro jejich identifikaci nespolehlivé (obr. 91). Byl identifikován exemplář z ostrovu Bribie, který se mírně liší ve tvaru samčího kopulačního orgánu, a tento exemplář není zahrnut v typové sérii (A00276; obr. 86, 87).

**Popis.** Samec. Tělo 6.0–7.7 mm dlouhé, štíhlé, černé, postranní okraje štítu oranžové a střední část černá (obr. 20–22), boční okraje a humerální část krovky oranžová, střední část černá (obr. 20). Hlava malá, oči středně velké, hemisféricky vyčnívající, průměr oka tvoří 0.54 interokulární vzdálenosti, tykadla serátní (obr. 55–57). Štít 1.89krát širší než dlouhý ve střední délce, lichoběžníkovitý, nejširší na bázi, přední úhel tupý, boční okraje konkávní, zadní úhly ostře vyčnívající, areola široká (obr. 42–44). Krovka s vystouplými primárními žebry, 3.22krát delší než široká v humeru, žebro 2 a 4 silně vyvinuto, 3 žebro je v apikální části krovky vyvinuto pouze slabě, sekundární žebra slabě vyvinuta, příčná žebra nepravidelná, buňky většinou kvadratické (obr. 20–23). Samčí kopulační orgán dlouhý, apikální část rozšířená s párem trnů (obr. 82–87, 93).

**Odlišnosti.** Druh je ve zbarvení štítu a krovky vysoce variabilní (obr. 20–23 a 42–44).

**Měření.** BL 7.5 mm, WH 2.00 mm, PL 1.05 mm, PW 1.97 mm, Ediam 0.34 mm, Edist 0.59 mm, PhL 2.22 mm.

**Etymologie.** Specifické druhové jméno odkazuje na vysokou morfologickou podobnost příbuzných druhů.

**Rozšíření.** Queensland: Main Range, ostrov Bribie, Mount Barney (obr. 2).

***Synchonnus variabilis* sp. nov.**

**Typový materiál.** Holotyp: samec, Austrálie, Queensland: Springbrook N.P., Numinbah, Pocket Rd., 28°12'S 153°14'E, 225 m, 21. Nov. 2014 (DK0060; QMNH). Paratypy: Austrálie, Queensland: 2 samci stejná lokalita jako holotyp (DK0055, DK0066); 1 samec, Springbrook N.P., Tallanbana Sect., 28°13'S 153°16'E, 480–950 m, 20. Nov. 2014 (DK0018); 2 samec, 1 samice, Springbrook N.P., Gwongorela Sect., 28°11'S 153°16'E, 570 m, 22. Nov 2014 (DK00158, DK00165–7, DK0171); 1 samec, 1 samice, Tamborine N.P., Palm Grove Sect., 27°56'S 153°12'E, 450 m, 23. Nov 2014 (DK0040, A00341); 3 samci, Springbrook N.P., Natural Bridge Sect., 28°13'S 153°14'E, 370 m, 21. Nov. 2014 (DK00146–8); 3 samci, 3 samice, Lamington N.P. 28°12'S 153°07'E (A0031, A0039, A00199, A00221, A00227, A00248). New South Wales: 1 samec, Washpool N.P. Washpool circuit, 29°28'S 152°20'E, 920 m, 12. Dec 2014 (DK0077, QMNH, ANIC, LMBC).

**Diferenciální diagnóza.** *Synchonnus variabilis* je charakteristický štíhlým samčím kopulačním orgánem, malými bazálně umístěnými trny vnitřního vaku, a pigmentovanou trubicí spojující trny s koncovým otvorem vnitřního vaku (obr. 78, 79, 94). Tvar samčího kopulačního orgánu je místy podobný tomu u *S. corrugatus* Pic, 1923, který se ale liší souběžnými okraji bazálních dvou pětín jeho délky (obr. 77).

**Popis.** Samec. Tělo 6.3–9.4 mm dlouhé, štíhlé, černé, střední část štítu černá, okraje a většina předních částí štítu oranžové (obr. 45), okraje krovky oranžové, středová část černá (obr. 19,

24–26). Hlava malá, oči středně velké, hemisféricky vyčnívající, průměr oka tvoří 0.72 interokulární vzdálenosti, tykadla serátní (obr. 54). Štít 1.40krát širší než dlouhý ve střední délce, lichoběžníkovitý, nejširší na bázi, přední úhel tupý, boční okraje konkávní, zadní úhly ostře vyčnívající, střední areola poměrně štíhlá (obr. 45). Krovka 3.65krát delší než široká v humeru, s vystouplými primárními žebry (obr. 30), žebro 2 a 4 silně vyvinuto, žebro 1 a 3 v apikální části krovky pouze slabě vyvinuto, sekundární žebra vyvinuta po celé délce krovky, buňky většinou čtvercového tvaru (obr. 24–26). Samčí kopulační orgán dlouhý, štíhlý, apikální část baňatá, na bázi rozšířený, s párem trnů (obr. 78, 79, 94).

**Odlišnosti.** U druhu *S. variabilis* byly identifikovány dvě barevné formy, které se liší velikostí černé části krovky (obr. 19, 24–26).

**Měření.** BL 9.2 mm, WH 2.18 mm, PL 1.23 mm, PW 1.94 mm, Ediam 0.41 mm, Edist 0.52 mm, PhL 2.53 mm.

**Etymologie.** Specifické druhové jméno poukazuje na vysokou variabilitu ve zbarvení druhu.

**Rozšíření.** Queensland: Springbrook, Tamborine, Lamington; New South Wales: Washpool (obr. 1, 2).

#### 4.5 Určovací klíč Australských druhů rodu *Synchonnus*

1. Štít je alespoň částečně pestře zbarvený (např., obr. 44–45) ..... 2
- Štít je kompletně černý nebo tmavě hnědý (např., obr. 38–40) ..... 9
  
2. Krovka je zbarvená tmavě (obr. 11–12) ..... 3
- Krovka alespoň částečně zbarvená pestře ..... 4
  
3. Sekundární žebro vyvinuto slabě, síťkování na krovkách tvoří velké buňky (porovnej obr. 10–11), na přední části štítu chybí dírkování ..... *S. chilvertonensis* **sp. nov.**
- Sekundární žebro vyvinuto, síťkování na krovkách tvoří malé buňky, na předních částech štítu je přítomno dírkování (obr. 29, 36) ..... *S. flavonotatum* **sp. nov.**



4. Humerální čtvrtina krovky pestře zbarvená, apikální  $\frac{3}{4}$  krovky tmavě hnědé až černé (obr. 15), samčí kopulační orgán relativně robustní s trny v bazální části vnitřního vaku (obr. 73–74) ..... *S. slipinskii* **sp. nov.**  
 - Pestře zbarvená část krovky vždy zasahuje alespoň částečně do apikální poloviny krovky ...  
 ..... 5
5. Samčí kopulační orgán štíhlý, 12.5–18krát delší, než je jeho šířka ve střední části ..... 6  
 - Samčí kopulační orgán robustní alespoň 7.7krát delší, než je jeho šířka ve střední části  
 ..... 7
6. Trny vnitřního vaku jsou umístěny v bazální části samčího kopulačního orgánu (obr. 78–79) ..... *S. variabilis* **sp. nov.**  
 - Trny vnitřního vaku jsou umístěny v apikální části samčího kopulačního orgánu (obr. 82–87, 93) ..... *S. crypticum* **sp. nov.** (part)
7. Samčí kopulační orgán má souběžný tvar po většinu jeho délky, trny vnitřního vaku jsou umístěny apikálně (obr. 59–60) ..... *S. ailaketae* **sp. nov.**  
 - Samčí kopulační orgán nejširší v apikální třetině až čtvrtině, štíhlý bazálně, trny vnitřního vaku v jeho střední části nebo apikálně (obr. 69, 80–81)  
 ..... 8
8. Trny vnitřního vaku jsou umístěny ve střední části délky samčího kopulačního orgánu  
 ..... *S. limbatum* Waterhouse  
 - Trny vnitřního vaku jsou umístěny v apikální části samčího kopulačního orgánu  
 ..... *S. campestris* **sp. nov.**
9. Krovka je zcela černá ..... *S. nigellus* Waterhouse  
 - Krovka alespoň místy pestře zbarvená ..... 10
10. Krovka skořicově červená (obr. 9) ..... *S. maseki* **sp. nov.**  
 - Pestře zbarvená část krovky má žlutou barvu ..... 11
11. Trny vnitřního vaku v bazální desetině samčího kopulačního orgánu ..... *S. variabilis* **sp. nov.**

- Trny vnitřního vaku umístěny ve střední až apikální části samčího kopulačního orgánu  
..... 12
12. Robustní samčí kopulační orgán 4.7krát delší než široký ve střední části. *S. dubenovae* **sp. nov.**  
- Samčí kopulační orgán štíhlý, 12.4krát delší než široký ve střední části ..... 13
13. Samčí kopulační orgán je velmi štíhlý, v bazální části téměř rovnoběžný, zúžený apikálně ve dvou pětinach jeho délky, vrchol zaoblený ..... *S. corrugatus*  
Pic  
- Samčí kopulační orgán v některých částech rozšířený, ve většině případů bez zřejmých zúžení, apex špičatý ..... 14
14. Apikální dvě pětiny až polovina samčího kopulačního orgánu rozšířené, téměř rovnoběžné  
..... *S. clientulum* Waterhouse  
- Apikální čtvrtina mírně rozšířená, samčí kopulační orgán téměř rovnoběžný, štíhlý v celé jeho délce ..... 15
15. Trny vnitřního vaku samčího kopulačního orgánu umístěny v apikální čtvrtině jeho délky ..... *S. crypticum* **sp. nov.** (part)  
-Trny vnitřního vaku samčího kopulačního orgánu umístěny v jeho střední části  
..... 16
16. Samčí kopulační orgán rovnoběžný v bazálních dvou pětinach, postupně k vrcholu se zužuje ..... *S. monteithi* **sp. nov.**  
- Samčí kopulační orgán v bazální části štíhlý, nejširší v apikální čtvrtině a mírně zúžen v apikální třetině ..... *S. amplus* Kleine  
Poznámka. *Synchonnus eungellensis* **sp. nov.** je v klíči vynechán kvůli nepřítomnosti hodnocených morfologických znaků u dostupných samičích exemplářů.

## 5. Diskuze

### 5.1 Delimitace druhů

Za použití morfologických a molekulárních dat bylo v nově nashromážděném materiálu zástupců rodu *Synchonnus* identifikováno 12 samostatných druhů (obr. 3, 4; Tabulky 4–5, taxonomická sekce). Delimitace založená na DNA datech perfektně souhlasí s morfologickým konceptem druhů v kládech A a B (obr. 3, 5; Tabulka 4). Nicméně v kládu C nebyly zjištěny v zásadě žádné rozdíly mezi *cox1* sekvencemi tří morfologicky zřetelně odlišných druhů – ne více než by se dalo předpokládat mezi rozdílnými vzorky jednoho druhu (obr. 3, 6; Tabulka 3). Vnitrodruhové K-2-P vzdálenosti jsou <2 % a nevykazují žádnou geografickou strukturu typickou pro zástupce čeledi Lycidae (Li *et al.* 2015; Bocek & Bocak 2016; Tabulka 3). Všechny delimitace založené na DNA datech identifikovaly v kládu C pouze jeden druh (Tabulka 4). V kontrastu s výsledky delimitace založené na DNA datech, samčí genitálie jasně ukazují na přítomnost tří samostatných druhů s nízkou vnitrodruhovou variabilitou a většinou alopatrickým rozšířením (*S. crypticum* a *S. variabilis*; obr. 1–2, 78–87, 93, 94). Hranice druhů založené na samčích genitáliích jsou dále podpořeny rozdílností ve velikosti očí samců, i když tento rozdíl není tak zřetelný (obr. 91). Ostatní morfologické znaky v kládu C jsou pro delimitaci nespolehlivé. Například, zbarvení těchto tří druhů, *S. variabilis*, *S. crypticum* a *S. campestris*, je ovlivněno jejich příslušností k různým lokálním mimetickým komplexům. U druhu *S. variabilis* byly identifikovány dvě odlišné barevné formy (obr. 19, 24–26), u nichž se objevují podobné vzory zbarvení jako u zástupců rodu *Eniclases* nebo *Metriorrhynchus* (Bocak & Yagi 2010; Bocek & Bocak 2016). Podobně síla a tvar žeber štítu je pro jedince reprezentující jeden druh variabilní. V kládu C si hranice druhů založené na morfologii samčích kopulačních orgánů a *cox1* mtDNA fragmentu hluboce odporují; po vyhodnocení všech okolností bylo navrženo přijmout hranice druhů založené na morfologii samčích kopulačních orgánů.

Důvody pro pozorované selhání delimitace založené na DNA datech zůstávají nejasné. Výsledky u odvozeného fylogenetického stromu jsou podobné jak za použití analýzy maximální věrohodnosti, tak i Bayesiánského přístupu nebo při použití metody nekorigovaných párových vzdáleností. Sekvence v kládu C jsou si natolik podobné, že nemohou být pro DNA delimitaci druhů použity. Všichni zástupci *Metriorrhynchini* mají uniformní biologii (Bocak & Matsuda 2003). Druhy v kládu C mají endemický výskyt a žijí na podobných stanovištích v oblasti okolo 30 000 km<sup>2</sup>. Z toho důvodu se změna v jejich

ekologických nárocích zdá jako nepravděpodobné vysvětlení pro pozorované selhání delimitace založené na mtDNA datech. Podobně, nelze počítat s introgresí jako s pravděpodobným vysvětlením, s ohledem na to, kdy dva druhy mají alopatrický výskyt a jejich výrazné a v rámci jednoho druhu nevariabilní samčí kopulační orgány jsou známkou pravděpodobné reprodukční izolace, (obr. 1–3, 93, 94). Pravděpodobným vysvětlením je, že evoluci samčích kopulačních orgánů ovlivnila rychlá sexuální selekce (Simmons 2013; Frazee & Masly 2015). Trny a spojovací trubice interního vaku, jsou přímo zapojeny v kopulaci, dá se proto předpokládat, že podstatná morfologická odlišnost interního vaku samčího kopulačního orgánu zabraňuje úspěšnému oplodnění. Preferovanou hypotézou vysvětlující nepřítomnost fylogeneticky strukturované variability v *cox1* mtDNA fragmentu u zástupců kládu C je zpožděné třídění linií.

Metody využívající k delimitaci druhů DNA dat jsou považovány za všeobecně spolehlivé a překonávají výsledky parataxonomie (Hendrich *et al.* 2010; Baselga *et al.* 2013), avšak selhání různých přístupů podobná těm pozorovaným zde, byla zjištěna již dříve. Například, Baselga *et al.* (2013) popsal situaci, kdy sesterské druhy zástupců čeledi *Chrysomelidae* byly za použití molekulárních delimitačních metod navzájem nerozlišitelné, ale při použití morfologických znaků včetně samčích genitálií je bylo možné spolehlivě rozlišit. Podobně, Bocek & Bocak (2016) identifikovali geneticky velmi podobné, alopatricky se vyskytující jedince jediného druhu *Eniclases* (Lycidae), kteří se lišili mimetickými vzory a velikostí očí, přitom měli jednotné tvary samčích genitálií. Když DNA data neposkytují pro delimitaci druhů dostatečné důkazy, mohou být v různých taxonomických jednotkách použity morfologické znaky ovlivňující páření jedinců. Nikdy nelze spolehlivě předpovědět účinnost jakékoliv delimitační metody a je tedy nutné vždy použít všech dostupných informací.

## 5.2 Diverzifikace rodu *Synchonnus*

Skupina rodu *Synchonnus* z Australského východního pobřeží je velmi diverzifikovaná (13 spp. a 3 spp., obr. 1–2, Tabulka 5; Byrne *et al.* 2008). Mimo kontinentální Austrálii byl rod *Synchonnus* zaznamenaný pouze na ostrovu Mysool, ostrově Japen (na každém z ostrovů jeden druh) a dva druhy na severním pobřeží Nové Guinee (Kusy 2017). Lze tedy předpokládat, že rod *Synchonnus* má v Austrálii dlouhou evoluční historii a nikdy se nerozšířil na západ od Lyddekerovi linie, mimo kontinentální šelf Austrálie. Lokální endemismus a malý překryv mezi horskými faunami jsou pro tento rod charakteristické. Všechny druhy se vyskytují v omezených oblastech, typicky pouze na jednom pohoří a žádný

z druhů se nevyskytuje na obou stranách od Burdekin a St Lawrence aridních zón (obr. 1). Ačkoli všichni zástupci čeledi Lycidae ze skupiny Metriorrhynchina jsou okřídlení, sdílejí špatnou schopnost se šířit (Sklenarova *et al.* 2013). Na rozdíl od zástupců častějších Australských rodů *Porostoma* a *Metriorrhynchus*, *Synchonnus* nikdy nenavštěvují květy. Dospělci jako u všech zástupců čeledi Lycidae žijí krátce. Všichni jedinci byly chyceni na listech nízkého lesního porostu (osobní sdělení, L. Bocak). Dalším faktorem ovlivňujícím jejich schopnost šíření je silná závislost larev na alespoň sezóně vlhkých lesních stanovištích (Bocak & Yagi 2003), které v aridních oblastech oddělujících oblasti výskytu jednotlivých druhů chybí. Z toho důvodu mohou být zástupci rodu *Synchonnus* jednoduše "uvěznění" v příznivých horských habitatech procesem aridizace, který způsobil fragmentaci Australské bioty (Byrne *et al.* 2008).

Datovaná fylogeneze ukazuje na vznik rodu *Synchonnus* v Austrálii ve spodním oligocénu před 30 miliony let (obr. 3). Zástupci papuánských druhů byly pro sekvenování DNA nedostupní. Avšak předešlé studie neidentifikovaly žádný přesah ve výskytu druhů mezi kontinentální Austrálií a Papuou a toho zjištění podporuje i výskyt několika endemických rodů pro každou z oblastí a naznačuje omezenou výměnu mezi těmito faunami (Sklenarova *et al.* 2014). Fylogenetická analýza ukazuje, že druhy z monzunových oblastí, *S. slipinskii*, *S. flavonotatum* a *S. chilvertonensis*, jsou hluboce zakořeněny ve fylogenetickém stromu a k oddělení od jejich společného předka s ostatními druhy došlo asi před 14.6–21.2 miliony let (obr. 3, 4). Tyto druhy jsou od mírné klimatické oblasti odděleny aridní zónou Burdekin (obr. 1). Dále byly identifikovány tři speciace v době asi před 13.0–14.3 miliony let v období ochlazení ve středním miocénu, které vedlo k aridifikaci a fragmentaci příznivých habitatů (Zachos *et al.* 2001; Byrne *et al.* 2008; Catullo & Keogh 2014). Dva sesterské druhy se oddělily v pleistocénu asi před 1.45–1.55 Ma, a jsou od sebe izolovány aridní zónou St Lawrence. Recentní původ druhů, například oddělení sesterských druhů *S. ailaketoae* + *S. dubenovae* a oddělení mezi druhy v kládu *S. variabilis* + *S. campestris* + *S. crypticum*, bylo identifikováno v rámci vlhkých oblastí zimních dešťů v jižním Queenslandu a severním Novém Jižním Walesu. Ačkoli oblasti jejich výskytu jsou docela malé, recentně oddělené druhy se převážně vyskytují alopatricky (*S. variabilis* + *S. crypticum*; *S. ailaketoae* + *S. dubenovae*; obr. 1). Podobně jako u oddělení severně a jižně od aridních zón, mohou být tyto terminální recentní speciace spojeny s fragmentací Australských vlhkých oblastí. Zástupci čeledi Lycidae jsou běžní v horských pralesích a pobřežních pohořích s vysokou vlhkostí a nevyskytují se v suchých tvrdolistých lesích. Mimo obecně nízký sklon k disperzi, který brání v jejich šíření přes aridní vyschlé oblasti, může dalším faktorem snižujícím schopnost

zvětšení jejich areálů výskytu být i evoluce lokálních aposematických vzorů (Bocak & Yagi 2010; Bocek & Bocak 2016). Lze předpokládat, že výše popsané faktory se přímo podílejí na pozorované distribuci druhů v rodu *Synchonnus*.

## 6. Citovaná literatura

- ABRS 2009. Australian Faunal Directory. Metriorrhynchini. Australian Biological Resources Study, Canberra. [Accessed 14 Nov 2016.] Available from URL: <https://biodiversity.org.au/afd/taxa/Metriorrhynchini/statistics>
- Austin AD, Yeates DK, Cassis G, Fletcher MJ, Salle JL, Lawrence JF, McQuillan PB, Mound LA, Bickel DJ, Gullan PJ, Hales DF & Taylor GS. 2004. Insects 'Down Under'- Diversity, endemism and evolution of the Australian insect fauna: examples from select orders. *Australian Journal of Entomology* **43**, 216–234.
- Baselga A, Gómez-Rodríguez C, Novoa F & Vogler AP. 2013. Rare failures of DNA barcodes to separate morphologically distinct species in a biodiversity survey of Iberian leaf beetles. *PLoS ONE* **8**, e74854.
- Bai M, McCullough E, Song K, Liu W & Yang X. 2011. Evolutionary constraints in hind wing shape in chinese dung beetles (Coleoptera: Scarabaeinae). *PLoS ONE* **6**, e21600.
- Bergsten J, Brilmyer G, Crampton-Platt A & Nilsson NA. 2012. Sympatry and colour variation disguised well-differentiated sister species: *Suphrodytes* revised with integrative taxonomy including 5 kbp of housekeeping genes (Coleoptera: Dytiscidae). *DNA Barcodes* **1**, 1–18.
- Bocek M & Bocak L. 2016. Species limits in polymorphic mimetic *Eniclases* net-winged beetles from New Guinean mountains (Coleoptera, Lycidae). *ZooKeys* **593**, 15–35.
- Bocak L & Matsuda K. 2003. Review of the immature stages of the family Lycidae (Insecta: Coleoptera). *Journal of Natural History* **37**, 1463–1507.
- Bocak L. 2002. Generic revision and phylogenetic analysis of the Metriorrhynchinae (Coleoptera: Lycidae). *European Journal of Entomology* **99**, 315–351.
- Bocak L & Yagi T. 2010. Evolution of mimicry patterns in *Metriorrhynchus* (Coleoptera: Lycidae): the history of dispersal and speciation in Southeast Asia. *Evolution* **64**, 39–52.
- Bocak L & Bocakova M. 1990. Revision of the genus *Hemiconderis* (Coleoptera, Lycidae). *Acta Entomologica Bohemoslovaca* **87**, 209–220.
- Brower AV. 1994. Rapid morphological radiation and convergence among races of the butterfly *Heliconius erato* inferred from patterns of mitochondrial DNA evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **91**, 6491–6495.
- Byrne M, Yeates DK, Joseph L, Kearney M, Bowler J, Williams MAJ, Cooper S, Donnellan SC, Keogh JS, Leys R, Melville J, Murphy DJ, Porch N & Wyrwoll KH. 2008. Birth

- of a biome: Insights into the assembly and maintenance of the Australian arid zone biota. *Molecular Ecology* **17**, 4398–4417.
- Calder AA. 1998. Coleoptera: Elateroidea. In Wells, A. (ed.) *Zoological Catalogue of Australia. Volume 29.6 Coleoptera: Elateroidea*. Melbourne: CSIRO Publishing.
- Catullo RA & Keogh JS. 2014. Aridification drove repeated episodes of diversification between Australian biomes: Evidence from a multi-locus phylogeny of Australian toadlets (Uperoleia: Myobatrachidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **79**, 106–117.
- Darriba D, Taboada GL, Doallo R & Posada D. 2012. JModelTest 2: More models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* **9**, 772–772.
- Drummond AJ, Suchard MA, Xie D & Rambaut A. 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution* **29**, 1969–1973.
- Ebong SM, Petit E, Gall PL, Chen P, Nieser N, Guilbert E, Njiokou F, Marsollier L, Guégan J, Pluot-Sigwalt D, Eyangoh S & Harry M. 2016. Molecular species delimitation and morphology of aquatic and sub-aquatic bugs (Heteroptera) in Cameroon. *PLoS ONE* **11**, e0154905.
- Eisner T, Schroeder FC, Snyder N, Grant JB, Aneshansley DJ, Utterback D, Meinwald J & Eisner M. 2008. Defensive chemistry of lycid beetles and of mimetic cerambycid beetles that feed on them. *Chemoecology* **18**, 109–119.
- Erwin DH. 1998. The end and the beginning: recoveries from mass extinctions. *Trends in Ecology and Evolution* **13**, 344–349.
- Erwin DH. 2008. Extinction as the loss of evolutionary history. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **105** (Suppl. 1), 11520–11527.
- Evangelista DA, Bourne G & Ware JL. 2013. Species richness estimates of Blattodea s.s. (Insecta: Dictyoptera) from northern Guyana vary depending upon methods of species delimitation. *Systematic Entomology* **39**, 150–158.
- Frazer SR & Masly JP. 2015. Multiple sexual selection pressures drive the rapid evolution of complex morphology in a male secondary genital structure. *Ecology and Evolution* **5**, 4437–4450.
- Fujisawa T & Barraclough TG. 2013. Delimiting species using single-locus data and the generalized mixed Yule coalescent approach: a revised method and evaluation on simulated data sets. *Systematic Biology* **62**, 707–724.
- Gao L. 2015. Applications of DNA barcoding in biodiversity inventory and assessment. *Biodiversity Science* **23**, 286–287.



- Giulio AD, Fattorini S, Moore W, Robertson J & Maurizi E. 2014. Form, function and evolutionary significance of stridulatory organs in ant nest beetles (Coleoptera: Carabidae: Paussini). *European Journal of Entomology* **5**, 692–702.
- Goodman S & Benstead J. 2005. Updated estimates of biotic diversity and endemism for Madagascar. *Oryx* **39**, 73–77.
- Hackman KO & Gong P. 2017. Biodiversity estimation of the western region of Ghana using arthropod mean morphospecies abundance. *Biodiversity and Conservation*. doi:10.1007/s10531-017-1346-4.
- Hendrich L, Pons J, Ribera I & Balke M. 2010. Mitochondrial *cox1* sequence data reliably uncover patterns of insect diversity but suffer from high lineage-idiosyncratic error rates. *PLoS ONE* **5**, e14448.
- Hebert PDN, Ratnasingham S & deWaard JR. 2003. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* **270**, S96–S99.
- Hey J. 2001. *Genes, categories, and species: The evolutionary and cognitive causes of the species problem*. Oxford: Oxford University Press.
- ICZN. 1999. *International Code of Zoological Nomenclature*. Fourth Edition. London: The International Trust for Zoological Nomenclature.
- Kazantsev SV. 2015. New species of the subgenus *Elgodexoris* (genus *Dexoris*) and a new genus of the tribe *Dexorini* (Leptolycinae) from East Africa, with notes on the status of Mimolibnetinae (Coleoptera: Lycidae). *Zoosystematica Rossica* **24**, 99–107.
- Koh LP & Wilcove DS. 2008. Is oil palm agriculture really destroying biodiversity. *Conservation Letters* **1**, 60–64.
- Kumar S, Stecher G & Tamura K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution* **33**, 1870–1874.
- Kusy D. 2017. A new species of *Synchonnus* (Coleoptera: Lycidae) from New Guinea, with an identification key to the Papuan species. *Acta Entomologica Musei Nationalis Pragae*. In Press.
- Kusy D, Sklenarova K & Bocak L. 2017. The effectiveness of DNA-based delimitation in *Synchonnus* net-winged beetles (Coleoptera: Lycidae) assessed, and description of 11 new species. *Austral Entomology*. Online first: DOI: 10.1111/aen.12266.
- Laurance WF. 2007. Forest destruction in tropical Asia. *Current Science* **93**, 1544–1550.
- Laurance WF, Lovejoy T, Vasconcelos H, Bruna EM, Didham RK, Stouffer PC, Gascon C, Bierregaard RO, Laurance SG & Sampaio E. 2002. Ecosystem decay of Amazonian

- forest fragments: a 22 year investigation. *Conservation Biology* **16**, 605–618.
- Li Y, Gunter N, Pang H & Bocak L. 2015. DNA-based species delimitation separates highly divergent populations within morphologically coherent clades of poorly dispersing beetles. *Zoological Journal of the Linnean Society* **175**, 59–72.
- Malohlava V & Bocak L. 2010. Evidence of extreme habitat stability in a Southeast Asian biodiversity hotspot based on the evolutionary analysis of neotenic net-winged beetles. *Molecular Ecology* **19**, 4800–4811.
- Martins AD & Aguiar MA. 2016. Barriers to gene flow and ring species formation. *Evolution* **71**, 442–448.
- Mayr E. 1942. *Systematics and the origin of species from the viewpoint of a zoologist*. New York: Columbia University Press.
- Meier R, Shiyang K, Vaidya G & Ng P. 2006. DNA Barcoding and taxonomy in Diptera: a tale of high intraspecific variability and low identification success. *Systematic Biology* **55**, 715–728.
- Miller SE, Hausmann A, Hallwachs W & Janzen DH. 2016. Advancing taxonomy and bioinventories with DNA barcodes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **371**, 20150339.
- Mitsui Y, Nomura N, Isagi Y, Tobe H & Setoguchi H. 2010. Ecological barriers to gene flow between riparian and forest species of *Ainsliaea* (Asteraceae). *Evolution* **65**, 335–349.
- Monaghan MT, Balke M, Gregory TR & Vogler AP. 2005. DNA-based species delineation in tropical beetles using mitochondrial and nuclear markers. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **360**, 1925–1933.
- Monaghan MT, Wild R, Elliot M, Fujisawa T, Balke M, Inward DJ, Lees DC, Ranaivosolo R, Eggleton P, Barraclough TG & Vogler AP. 2009. Accelerated species inventory on Madagascar using coalescent-based models of species delineation. *Systematic Biology* **58**, 298–311.
- Myers N, Mittermeier R, Mittermeier C, Fonseca G & Kent J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* **403**, 853–858.
- Olson DM, Dinerstein E, Wikramanayake ED, Burgess ND, Powell GVN, Underwood EC, D'Amico JA, Itoua I, Strand HE, Morrison JC, Loucks CJ, Allnutt TF, Ricketts TH, Kura Y, Lamourex JF, Wettengel WW, Hedao P & Kassem KR. 2001. Terrestrial ecoregions of the world: a new map of life on earth. *BioScience* **51**, 933–938.
- Otte D & Endler JA. 1989. *Speciation and its consequences*. Sunderland, MA: Sinauer Associates.

- Papadopoulou A, Anastasiou I & Vogler AP. 2010. Revisiting the insect mitochondrial molecular clock: the Mid-Aegean trench calibration. *Molecular Biology and Evolution* **27**, 1659–1672.
- Pepper M, Ho SY, Fujita MK & Keogh JS. 2011. The genetic legacy of aridification: Climate cycling fostered lizard diversification in Australian montane refugia and left low-lying deserts genetically depauperate. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **61**, 750–759.
- Pons J, Barraclough T, Gomez-Zurita J, Cardoso A, Duran D, Hazell S & Vogler AP. 2006. Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Systematic Biology* **55**, 595–609.
- Qie L, Lee TM, Sodhi NS & Lim SLH. 2011. Dung beetle assemblages on tropical land-bridge islands: small island effect and vulnerable species. *Journal of Biogeography* **38**, 792–804.
- Queiroz KD. 2007. Species concepts and species delimitation. *Systematic Biology* **56**, 879–886.
- Rambaut A, Suchard MA, Xie D & Drummond AJ. 2014. Tracer v1.6, available from <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>.
- Raven PH & Yeates DK. 2007. Australian biodiversity: threats for the present, opportunities for the future. *Australian Journal of Entomology* **46**, 177–187.
- Ross HH. 1972. The Origin of Species Diversity in Ecological Communities. *Taxon* **21**, 253.
- Sekercioglu CH, Ehrlich PR, Daily GC, Aygen D, Goehring D & Sandi R. 2002. Disappearance of insectivorous birds from tropical forest fragments. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **99**, 263–267.
- Simmons LW. 2013. Sexual selection and genital evolution. *Austral Entomology* **53**, 1–17.
- Sklenarova K, Chesters D & Bocak L. 2013. Phylogeography of poorly dispersing net-winged beetles: a role of drifting India in the origin of Afrotropical and Oriental fauna. *PLoS ONE* **8**, e67957.
- Sklenarova K, Kubecek V & Bocak L. 2014. Subtribal classification of Metriorrhynchini (Insecta, Coleoptera, Lycidae): an integrative approach using molecular phylogeny and morphology of adults and larvae. *Arthropod Systematics & Phylogeny* **72**, 37–54.
- Stamatakis A. 2006. RAxML-VI-HPC: Maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics* **22**, 2688–2690.
- Stamatakis A, Hoover P & Rougemont J. 2008. A rapid bootstrap algorithm for the RAxML web servers. *Systematic Biology USYB* **57**, 758–771.

- Strümpher WP, Scholtz CH, Villet MH & Sole CL. 2016. Allopatric speciation in the flightless *Phoberus capensis* (Coleoptera: Trogidae) group, with description of two new species. *Insect Systematics & Evolution* **47**, 149–179.
- Thompson J, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F & Higgins DF. 1997. The CLUSTAL\_X windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* **25**, 4876–4882.
- Toon A, Mather PB, Baker AM, Durrant KL & Hughes JM. 2007. Pleistocene refugia in an arid landscape: analysis of a widely distributed Australian passerine. *Molecular Ecology* **16**, 2525–2541.
- Waterhouse CO. 1879. *Illustrations of typical specimens of Coleoptera in the collection of the British Museum Part 1. Lycidae*. London: British Museum (Natural History).
- Wang Y, Nansen C & Zhang Y. 2015. Integrative insect taxonomy based on morphology, mitochondrial DNA, and hyperspectral reflectance profiling. *Zoological Journal of the Linnean Society* **177**, 378–394.
- Whittaker RH. 1972. Evolution and Measurement of Species Diversity. *Taxon* **21**, 213–251.
- Wojcieszek JM & Simmons LW. 2013. Divergence in genital morphology may contribute to mechanical reproductive isolation in a millipede. *Ecology and Evolution* **3**, 334–343.
- Giam X, Clements GR, Aziz SA, Chong KY & Miettinen J. 2011. Rethinking the ‘back to wilderness’ concept for Sundaland's forests. *Biological Conservation* **144**, 3149–3152.
- Yeates DK, Harvey MS & Austin AD. 2003. New estimates for terrestrial Arthropod species-richness in Australia. *Records of the South Australian Museum Monograph Series Number 7*, 231–242.
- Zachos J, Pagani H, Sloan L, Thomas E & Billups K. 2001. Trends, rhythms, and aberrations in global climate 65 Ma to present. *Science* **292**, 686–693.
- Zhang J, Kapli P, Pavlidis P & Stamatakis A. 2013. A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements. *Bioinformatics* **29**, 2869–2876.

## 7. Seznam příloh

### Tabulky

**Tabulka 1.** Sekvenovaný materiál, jeho geografický původ, výsledky sekvenace a přístupové kódy do databáze GenBank.

**Tabulka 2.** Primery použité pro PCR amplifikaci.

**Tabulka 3.** Kimura-2-parameter genetické vzdálenosti mezi *cox1* pro druhy v kládu C.

**Tabulka 4.** Identifikace pravděpodobných druhů v rodu *Synchonnus* pomocí různých přístupů a algoritmů. Konspecifické druhy jsou označeny stejnými písmeny.

**Tabulka 5.** Seznam druhů v rodu *Synchonnus*.

### Ilustrace

**Obrázky 1–2.** 1 Východní pobřeží Austrálie se zkoumanými lokalitami. 2 Zkoumané lokality v Jihovýchodním Queenslandu (Viz označená oblast v obr. 1).

**Obrázky 3–6.** 3 Fylogenetická hypotéza příbuzností v rodu *Synchonnus* získaná analýzou maximální věrohodnosti z *cox1* mtDNA datasetu. 4 Datovaný fylogenetický strom Australských zástupců rodu *Synchonnus* získaný z 3 genového datasetu. 5 Rozložení četností intraspecifických a interspecifických genetických vzdáleností zástupců rodu *Synchonnus* v kládech A a B. 6 Rozložení četností intraspecifických a interspecifických genetických vzdáleností zástupců rodu *Synchonnus* v kládu C.

**Obrázky 7–30.** 7–26 Celkový vzhled druhů v rodu *Synchonnus*. 28–30 Detail pravé krovky.

**Obrázky 31–58.** 31–45 Pronotum. 46–58 Tykadla.

**Obrázky 59–87.** Samčí kopulační orgány zástupců rodu *Synchonnus* (přední a boční pohled).

**Obrázky 88–90.** 88 Samičí kopulační orgány: *Synchonnus eungellensis* sp. nov. 89 Koncový sternit, samice: *S. eungellensis* sp. nov. 90 Koncové abdominální články, samec: *Synchonnus monteithi* sp. nov.

**Obrázek 91.** Rozložení četností relativní velikosti očí u druhů *Synchonnus variabilis* sp. nov. a *S. crypticum* sp. nov.

**Obrázek 92.** Fylogenetický strom získaný analýzou maximální věrohodnosti z 3 genového datasetu.

**Obrázek 93.** Tvar samčích kopulačních orgánů: *Synchonnus crypticum* sp. nov.

**Obrázek 94.** Tvar samčích kopulačních orgánů: *Synchonnus variabilis* sp. nov.

**Tabulka 1.** Sekvenovaný materiál, jeho geografický původ, výsledky sekvenace a přístupové kódy do databáze GenBank.

Ingroup

Taxon	Voucher*	GenBank kód. # (all mtDNA)			Stát, Národní park	Lokalita	Nadmořská výška (m)	Zeměpisná šířka	Zeměpisná délka
	UPOL+	<i>cox1</i>	<i>rrnL</i>	<i>nad5</i>					
<i>Synchonnus ailaketoae</i>	A00223	KY203008	-	-	QLD, Lamington	-	129	28°11'S	153°07'E
<i>Synchonnus ailaketoae</i>	A00225	KY203009	KY202954	KY203023	QLD, Lamington	-	129	28°11'S	153°07'E
<i>Synchonnus ailaketoae</i>	A00247	KY203010	-	-	QLD, Lamington	-	130	28°11'S	153°07'E
<i>Synchonnus campestris</i>	A00284	KY202991	KY202948	KY203019	QLD, Bribie Island	1.3 km NE ENP Hq	10	27°0.9'S	153°07'E
<i>Synchonnus clientulum</i>	DK0042	KY203014	-	-	QLD, Tamborine	Palm Grove Sect.	450	27°56'S	153°12.3'E
<i>Synchonnus clientulum</i>	DK0045	KY203015	-	-	QLD, Tamborine	Palm Grove Sect.	450	27°56'S	153°12.3'E
<i>Synchonnus clientulum</i>	DK0149	KY203017	KY202952	KY203021	QLD, Springbrook	Natural Bridge Sect.	370	28°13.9'S	153°14.6'E
<i>Synchonnus clientulum</i>	DK0142	KY203016	-	-	QLD, Springbrook	Natural Bridge Sect.	370	28°13.9'S	153°14.6'E
<i>Synchonnus crypticum</i>	A00276	KY202989	-	-	QLD, Bribie Island	1.3 km NE ENP Hq	10	27°0.9'S	153°07'E
<i>Synchonnus crypticum</i>	A00278	KY202990	-	-	QLD, Bribie Island	1.3 km NE ENP Hq	10	27°0.9'S	153°07'E
<i>Synchonnus crypticum</i>	DK0048	KY202983	-	-	QLD, Mt. Barney	Lindsay Rd./NSW border	350	28°19.8'S	152°42.1'E
<i>Synchonnus crypticum</i>	DK0052	KY202988	-	-	QLD, Mt. Barney	Lindsay Rd./NSW border	350	28°19.8'S	152°42.1'E
<i>Synchonnus crypticum</i>	DK0053	KY202969	-	-	QLD, Mt. Barney	Lindsay Rd./NSW border	350	28°19.8'S	152°42.1'E
<i>Synchonnus crypticum</i>	DK0049	KY202986	-	-	QLD, Mt. Barney	Lindsay Rd./NSW border	350	28°19.8'S	152°42.1'E
<i>Synchonnus crypticum</i>	DK0051	KY202982	-	-	QLD, Mt. Barney	Lindsay Rd./NSW border	350	28°19.8'S	152°42.1'E
<i>Synchonnus crypticum</i>	DK0030	KY202963	-	-	QLD, Main Range	Goombura Section	750	27°59.0'S	152°21.4'E
<i>Synchonnus crypticum</i>	DK0028	KY202961	-	-	QLD, Main Range	Goombura Section	750	27°59.0'S	152°21.4'E
<i>Synchonnus crypticum</i>	DK0029	KY202981	-	-	QLD, Main Range	Goombura Section	750	27°59.0'S	152°21.4'E
<i>Synchonnus crypticum</i>	DK0025	KY202984	-	-	QLD, Main Range	Goombura Section	750	27°59.0'S	152°21.4'E
<i>Synchonnus dubenovae</i>	A00296	KY203011	KY202953	KY203022	QLD, Mt. Glorious	Mt. Glorious Barracks	575	27°19'S	152°45'E
<i>Synchonnus dubenovae</i>	A00343	KY203012	-	-	QLD, Mt. Glorious	Mt. Glorious Barracks	575	27°19'S	152°45'E
<i>Synchonnus dubenovae</i>	A00344	KY203013	-	-	QLD, Mt. Glorious	Mt. Glorious Barracks	575	27°19'S	152°45'E
<i>Synchonnus eungellensis</i>	DK0134	KY203005	-	-	QLD, Eungella	Dalrymple Rd.	700-950	21°03.5'S	148°34.8'E
<i>Synchonnus eungellensis</i>	DK0120	KY203003	KY202956	KY203025	QLD, Eungella	Dalrymple Rd.	700-950	21°03.5'S	148°34.8'E
<i>Synchonnus eungellensis</i>	DK0133	KY203004	-	-	QLD, Eungella	Dalrymple Rd.	700-950	21°03.5'S	148°34.8'E
<i>Synchonnus flavonotatum</i>	A00228	KY203006	KY202949	KY203028	QLD, Chilverton	-	1 050	17°06'S	145°30'E
<i>Synchonnus chilvertonensis</i>	A00240	KY203007	KY202950	KY203027	QLD, Chilverton	-	1 050	17°06'S	145°30'E
<i>Synchonnus maseki</i>	DK0116	KY203018	KY202951	KY203020	QLD, Eungella	Dalrymple Rd.	700-950	21°03'S	148°34.8'E
<i>Synchonnus monteithi</i>	A00282	KY202995	-	-	QLD, Bribie Island	1.3 km NE ENP Hq.	10	27°0.9'S	153°07'E
<i>Synchonnus monteithi</i>	A00283	KY202996	-	-	QLD, Bribie Island	1.3 km NE ENP Hq.	10	27°0.9'S	153°07'E
<i>Synchonnus monteithi</i>	A00291	KY202997	-	-	QLD, Bribie Island	1.3 km NE ENP Hq.	10	27°0.9'S	153°07'E
<i>Synchonnus monteithi</i>	A00322	KY202998	-	-	QLD, Bribie Island	1.3 km NE ENP Hq.	10	27°0.9'S	153°07'E

<i>Synchonnus monteithi</i>	DK0061	KY203002	KY202957	KY203026	QLD, Springbrook	Numinbah, Pocket Rd.	225	28°12'S	153°14'E
<i>Synchonnus monteithi</i>	DK0056	KY203001	-	-	QLD, Springbrook	Numinbah, Pocket Rd.	225	28°12'S	153°14'E
<i>Synchonnus monteithi</i>	DK0065	KY203000	-	-	QLD, Springbrook	Numinbah, Pocket Rd.	225	28°12'S	153°14'E
<i>Synchonnus monteithi</i>	DK0062	KY202999	-	-	QLD, Springbrook	Numinbah, Pocket Rd.	225	28°12'S	153°14'E
<i>Synchonnus slipinskii</i>	A00213	KY202993	KY202955	KY203024	QLD, Chilverton	-	1 050	17°06'S	145°30'E
<i>Synchonnus slipinskii</i>	A00236	KY202994	-	-	QLD, Chilverton	-	1 050	17°06'S	145°30'E
<i>Synchonnus variabilis</i>	DK0105	KY202987	-	-	QLD, Lamington	Green Mts. O'Reilly's Sect.	850	28° 13.5'S	153°07.7'E
<i>Synchonnus variabilis</i>	A00031	KY202958	-	-	QLD, Lamington	-	-	-	-
<i>Synchonnus variabilis</i>	A00039	KY202967	-	-	QLD, Lamington	-	-	-	-
<i>Synchonnus variabilis</i>	A00221	KY202972	-	-	QLD, Lamington	-	128	28°12'S	153°07'E
<i>Synchonnus variabilis</i>	A00199	KY202959	-	-	QLD, Lamington	-	128	28°12'S	153°07'E
<i>Synchonnus variabilis</i>	A00227	KY202960	-	-	QLD, Lamington	-	130	28°11'S	153°07'E
<i>Synchonnus variabilis</i>	A00248	KY202968	-	-	QLD, Lamington	-	130	28°11.2'S	153°07'E
<i>Synchonnus variabilis</i>	DK0040	KY202962	-	-	QLD, Tamborine	Palm Grove Sect.	450	27°56'S	153°12.3'E
<i>Synchonnus variabilis</i>	A00341	KY202964	KY202947	KY203029	QLD, Tamborine	MacDonald section	515	27°55'S	153°12'E
<i>Synchonnus variabilis</i>	DK0018	KY202985	-	-	QLD, Springbrook	Tallanbana Sect.	480-950	28°13.5'S	153°16.3'E
<i>Synchonnus variabilis</i>	DK0011	KY202965	-	-	QLD, Springbrook	Tallanbana Sect.	480-950	28°13.5'S	153°16.3'E
<i>Synchonnus variabilis</i>	DK0146	KY202979	-	-	QLD, Springbrook	Natural Bridge Sect.	370	28°13.9'S	153°14.6'E
<i>Synchonnus variabilis</i>	DK0148	KY202973	-	-	QLD, Springbrook	Natural Bridge Sect.	370	28°13.9'S	153°14.6'E
<i>Synchonnus variabilis</i>	DK0147	KY202980	-	-	QLD, Springbrook	Natural Bridge Sect.	370	28°13.9'S	153°14.6'E
<i>Synchonnus variabilis</i>	DK0055	KY202970	-	-	QLD, Springbrook	Numinbah, Pocket Rd.	225	28°12'S	153°14'E
<i>Synchonnus variabilis</i>	DK0060	KY202966	-	-	QLD, Springbrook	Numinbah, Pocket Rd.	225	28°12'S	153°14'E
<i>Synchonnus variabilis</i>	DK0066	KY202977	-	-	QLD, Springbrook	Numinbah, Pocket Rd.	225	28°12'S	153°14'E
<i>Synchonnus variabilis</i>	DK0165	KY202971	-	-	QLD, Springbrook	Gwongorela Sect.	570	28°11.3'S	153°16.1'E
<i>Synchonnus variabilis</i>	DK0167	KY202978	-	-	QLD, Springbrook	Gwongorela Sect.	570	28°11.3'S	153°16.1'E
<i>Synchonnus variabilis</i>	DK0171	KY202976	-	-	QLD, Springbrook	Gwongorela Sect.	570	28°11.3'S	153°16.1'E
<i>Synchonnus variabilis</i>	DK0166	KY202975	-	-	QLD, Springbrook	Gwongorela Sect.	570	28°11.3'S	153°16.1'E
<i>Synchonnus variabilis</i>	DK0158	KY202974	-	-	QLD, Springbrook	Gwongorela Sect.	570	28°11.3'S	153°16.1'E
<i>Synchonnus variabilis</i>	DK0077	KY202992	-	-	NSW, Washpool	Washpool circuit	920	29°28.6'S	152°20.3'E

## Outgroup

Taxony	Voucher	GenBank kód # (all mtDNA)			Lokalita	Originální publikace
	UPOL+	<i>cox1</i>	<i>rrnL</i>	<i>nad5</i>		
<i>Broxylus pendolensis</i>	MD0106	KC538413	KC538792	KC538606	Sulawesi	Sklenarova et al., 2013
<i>Leptotrichalus</i> sp.	000419	KC538326	KC538712	KC538517	Palawan	Sklenarova et al., 2013
<i>Metriorrhynchus</i> sp.	000009	DQ904297	KC538628	DQ904259	Sumatra	Bocak & Yagi 2010, Sklenarova et al., 2013
<i>Microtrichalus</i> sp.	000199	KC538290	KC538674	KC538481	Sulawesi	Sklenarova et al., 2013

<i>Porrostoma rhipidium</i>	000372	DQ144678	KC538699	DQ144702	Australia	Bocak & Yagi 2010, Sklenarova <i>et al.</i> , 2013
<i>Sulabanus gracilis</i>	MD0067	KC538409	KC538787	KC538602	Sulawesi	Sklenarova <i>et al.</i> , 2013
<i>Trichalus</i> sp.	A00032	KC538339	KC538722	KC538529	Lamington	Sklenarova <i>et al.</i> , 2013
<i>Wakarumbia</i> sp.	MD0111	KC538416	KC538795	KC538609	Sulawesi	Sklenarova <i>et al.</i> , 2013

\*Vzorky s označením A– shromáždil Geoff Monteith pod projektem ANIC na průzkum diverzity brouků; vzorky s označením DK– byly shromážděny L. Bocakem, K. Sklenarovou a M. Maskem při expedici v listopadu až prosinci 2012.

Reference:

- Bocak L & Yagi T. 2010. Evolution of mimicry patterns in *Metriorrhynchus* (Coleoptera: Lycidae): the history of dispersal and speciation in southeast Asia. *Evolution* **64**, 39-52.
- Sklenarova K, Chesters D & Bocak L. 2013. Phylogeography of poorly dispersing net-winged beetles: a role of drifting India in the origin of afrotropical and oriental fauna. *PLoS ONE* **8**, e67957.



**Tabulka 2.** Primery použité pro PCR amplifikaci.

Fragment	Code	-mer	Sequence (5' >> 3')
<i>rrnL</i> mtDNA	16a	20	CGCCTGTTTAACAAAAACAT
	ND1A	27	GGTCCCTTACGAATTTGAATATATCCT
<i>cox1</i> mtDNA	JerM	23	CAACAYYTATTTTGRTTYTTTGG
	Marilyn	21	TCATAAGTTCAGTATCATTG
	Marcy	27	TARTTCRTATGWTC AATAYCAYTGRTG
<i>nad5</i> mtDNA	OF1	29	CCTACTCCTGTTTCTGCTTTAGTTCATTC
	R6	29	GAAACGAAAAATCGTATTTAATTTCTGACT

**Tabulka 3.** Kimura-2-parameter genetické vzdálenosti mezi *coxI* pro druhy v kládu C.

Voucher #	Taxon	<i>S. variabilis</i> 1	<i>variabilis</i> 2	<i>variabilis</i> 3	<i>crypticum</i> 4	<i>variabilis</i> 5	<i>crypticum</i> 6	<i>variabilis</i> 7	<i>variabilis</i> 8	<i>variabilis</i> 9	<i>variabilis</i> 10	<i>variabilis</i> 11	<i>crypticum</i> 12	<i>variabilis</i> 13	<i>variabilis</i> 14	<i>variabilis</i> 15	<i>variabilis</i> 16	<i>variabilis</i> 17
1 A00031	<i>S. variabilis</i>																	
2 A00199	<i>S. variabilis</i>	0.001																
3 A00227	<i>S. variabilis</i>	0.005	0.004															
4 DK0028	<i>S. crypticum</i>	0.004	0.003	0.003														
5 DK0040	<i>S. variabilis</i>	0.003	0.002	0.002	0.001													
6 DK0030	<i>S. crypticum</i>	0.005	0.004	0.004	0.003	0.002												
7 A00341	<i>S. variabilis</i>	0.006	0.005	0.005	0.005	0.004	0.005											
8 DK0011	<i>S. variabilis</i>	0.005	0.004	0.004	0.003	0.002	0.004	0.002										
9 DK0060	<i>S. variabilis</i>	0.006	0.005	0.005	0.005	0.004	0.005	0.004	0.002									
10 A00039	<i>S. variabilis</i>	0.007	0.006	0.006	0.005	0.005	0.006	0.005	0.003	0.003								
11 A00248	<i>S. variabilis</i>	0.007	0.006	0.006	0.005	0.005	0.006	0.005	0.003	0.003	0.002							
12 DK0053	<i>S. crypticum</i>	0.006	0.005	0.005	0.005	0.004	0.005	0.002	0.002	0.004	0.005	0.005						
13 DK0055	<i>S. variabilis</i>	0.005	0.005	0.005	0.004	0.003	0.005	0.003	0.003	0.005	0.005	0.005	0.003					
14 DK0165	<i>S. variabilis</i>	0.006	0.005	0.005	0.005	0.004	0.005	0.004	0.004	0.005	0.006	0.006	0.004	0.001				
15 A00221	<i>S. variabilis</i>	0.007	0.006	0.006	0.005	0.005	0.006	0.005	0.003	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.006			
16 DK0148	<i>S. variabilis</i>	0.009	0.008	0.008	0.007	0.006	0.006	0.006	0.005	0.005	0.004	0.004	0.006	0.007	0.008	0.007		
17 DK0158	<i>S. variabilis</i>	0.006	0.005	0.005	0.005	0.004	0.005	0.004	0.002	0.004	0.005	0.005	0.004	0.005	0.005	0.005	0.005	
18 DK0166	<i>S. variabilis</i>	0.006	0.005	0.005	0.005	0.004	0.005	0.004	0.002	0.004	0.003	0.003	0.004	0.005	0.005	0.005	0.003	0.002
19 DK0171	<i>S. variabilis</i>	0.008	0.007	0.007	0.006	0.005	0.007	0.005	0.004	0.004	0.003	0.003	0.005	0.006	0.007	0.006	0.003	0.004
20 DK0066	<i>S. variabilis</i>	0.005	0.004	0.004	0.003	0.002	0.004	0.005	0.004	0.005	0.006	0.006	0.005	0.005	0.005	0.006	0.008	0.005
21 DK0167	<i>S. variabilis</i>	0.008	0.007	0.007	0.006	0.005	0.007	0.005	0.004	0.004	0.006	0.006	0.005	0.006	0.007	0.006	0.006	0.004
22 DK0146	<i>S. variabilis</i>	0.009	0.008	0.008	0.007	0.006	0.008	0.005	0.005	0.006	0.007	0.007	0.005	0.005	0.006	0.007	0.007	0.005
23 DK0147	<i>S. variabilis</i>	0.006	0.005	0.005	0.003	0.004	0.004	0.007	0.005	0.007	0.008	0.008	0.007	0.006	0.007	0.008	0.006	0.005
24 DK0029	<i>S. crypticum</i>	0.006	0.005	0.005	0.003	0.004	0.005	0.007	0.005	0.007	0.008	0.008	0.007	0.006	0.007	0.008	0.010	0.007
25 DK0051	<i>S. crypticum</i>	0.008	0.007	0.007	0.005	0.005	0.005	0.007	0.007	0.007	0.008	0.008	0.009	0.008	0.009	0.010	0.008	0.009
26 DK0048	<i>S. crypticum</i>	0.004	0.003	0.006	0.005	0.005	0.006	0.008	0.006	0.008	0.009	0.009	0.008	0.007	0.008	0.009	0.011	0.008
27 DK0025	<i>S. crypticum</i>	0.008	0.007	0.007	0.005	0.005	0.005	0.009	0.007	0.009	0.010	0.008	0.009	0.008	0.009	0.010	0.010	0.009
28 DK0018	<i>S. variabilis</i>	0.005	0.005	0.005	0.002	0.003	0.005	0.005	0.003	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.006	0.005	0.007	0.005
29 DK0049	<i>S. crypticum</i>	0.006	0.005	0.005	0.005	0.004	0.005	0.004	0.002	0.004	0.005	0.005	0.004	0.005	0.005	0.005	0.006	0.004
30 DK0105	<i>S. variabilis</i>	0.010	0.009	0.009	0.008	0.007	0.009	0.005	0.005	0.007	0.008	0.008	0.005	0.006	0.007	0.008	0.010	0.007
31 DK0052	<i>S. crypticum</i>	0.008	0.007	0.007	0.005	0.005	0.007	0.009	0.007	0.009	0.010	0.010	0.009	0.008	0.009	0.010	0.012	0.009
32 A00276	<i>S. crypticum</i>	0.018	0.017	0.017	0.016	0.015	0.017	0.015	0.013	0.015	0.016	0.016	0.015	0.016	0.017	0.016	0.018	0.013
33 A00278	<i>S. crypticum</i>	0.018	0.017	0.017	0.016	0.015	0.017	0.015	0.013	0.015	0.016	0.016	0.015	0.016	0.017	0.016	0.018	0.013
34 A00284	<i>S. campestris</i>	0.017	0.016	0.016	0.015	0.014	0.016	0.014	0.012	0.014	0.015	0.015	0.014	0.015	0.016	0.015	0.017	0.012
35 DK0077	<i>S. variabilis</i>	0.014	0.013	0.011	0.012	0.011	0.013	0.011	0.009	0.011	0.012	0.012	0.011	0.010	0.011	0.012	0.014	0.011

Voucher #	Taxon	<i>S. variabilis</i>	<i>variabilis</i>	<i>variabilis</i>	<i>variabilis</i>	<i>variabilis</i>	<i>variabilis</i>	<i>crypticum</i>	<i>crypticum</i>	<i>crypticum</i>	<i>crypticum</i>	<i>variabilis</i>	<i>crypticum</i>	<i>variabilis</i>	<i>crypticum</i>	<i>crypticum</i>	<i>crypticum</i>	<i>campestris</i>
		18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34
19 DK0171	<i>S. variabilis</i>	0.002																
20 DK0066	<i>S. variabilis</i>	0.005	0.007															
21 DK0167	<i>S. variabilis</i>	0.004	0.004	0.007														
22 DK0146	<i>S. variabilis</i>	0.005	0.006	0.008	0.006													
23 DK0147	<i>S. variabilis</i>	0.005	0.007	0.005	0.007	0.008												
24 DK0029	<i>S. crypticum</i>	0.007	0.009	0.005	0.009	0.010	0.004											
25 DK0051	<i>S. crypticum</i>	0.009	0.009	0.007	0.011	0.012	0.004	0.005										
26 DK0048	<i>S. crypticum</i>	0.008	0.010	0.005	0.010	0.011	0.008	0.008	0.010									
27 DK0025	<i>S. crypticum</i>	0.009	0.011	0.007	0.011	0.012	0.005	0.007	0.007	0.010								
28 DK0018	<i>S. variabilis</i>	0.005	0.006	0.005	0.006	0.007	0.005	0.005	0.006	0.007	0.006							
29 DK0049	<i>S. crypticum</i>	0.004	0.005	0.005	0.005	0.006	0.007	0.007	0.009	0.008	0.009	0.005						
30 DK0105	<i>S. variabilis</i>	0.007	0.009	0.009	0.009	0.008	0.011	0.011	0.013	0.012	0.013	0.008	0.007					
31 DK0052	<i>S. crypticum</i>	0.009	0.011	0.007	0.011	0.012	0.007	0.007	0.009	0.010	0.009	0.006	0.009	0.013				
32 A00276	<i>S. crypticum</i>	0.015	0.017	0.017	0.017	0.018	0.018	0.017	0.020	0.019	0.020	0.016	0.013	0.018	0.020			
33 A00278	<i>S. crypticum</i>	0.015	0.017	0.017	0.017	0.018	0.018	0.017	0.020	0.019	0.020	0.016	0.013	0.018	0.020	0.002		
34 A00284	<i>S. campestris</i>	0.014	0.016	0.016	0.016	0.017	0.018	0.015	0.019	0.018	0.019	0.015	0.012	0.018	0.019	0.004	0.004	
35 DK0077	<i>S. variabilis</i>	0.011	0.013	0.013	0.013	0.014	0.015	0.015	0.017	0.016	0.017	0.012	0.011	0.015	0.017	0.013	0.013	0.012

Mezi sekvencemi je zobrazen počet substitucí za pozici. Analýza byla provedena za použití Kimura 2-parameter modelu 1. Analýza zahrnovala 35 nukleotidových sekvencí. Všechny pozice obsahující mezery a chybějící data byly odstraněny. Počet pozic ve finálním datasetu byl 1098. Evoluční analýzy byly provedeny v programu MEGA7 2.

#### Reference

1. Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* **16**, 111-120.
2. Kumar S, Stecher G & Tamura K. 2015. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution* **33**, 1870-1874.

**Tabulka 4.** Identifikace pravděpodobných druhů v rodu *Synchonnus* pomocí různých přístupů a algoritmů. Koncepční druhy jsou označeny stejnými písmeny. Hodnoty v závorkách označují pravděpodobnostní hodnoty pro jednotlivé druhy.

Taxony	Voucher UPOL+	Zeměpisný původ	Morfologie	Delimitace založená na DNA				
				GMYC	bPTP	MLPTP	Genetická vzdálenost 3%    2%	
Počet identifikovaných pravděpodobných druhů:			12	10	10	10	10	10
<i>S. crypticum</i>	DK0048	QLD, Mt. Barney	A	A	A (0.89)*	A (0.89)*	A	A
<i>S. crypticum</i>	DK0052	QLD, Mt. Barney	A	A	A	A	A	A
<i>S. crypticum</i>	DK0051	QLD, Mt. Barney	A	A	A	A	A	A
<i>S. crypticum</i>	DK0053	QLD, Mt. Barney	A	A	A	A	A	A
<i>S. crypticum</i>	DK0049	QLD, Mt. Barney	A	A	A	A	A	A
<i>S. crypticum</i>	DK0030	QLD, Main Range	A	A	A	A	A	A
<i>S. crypticum</i>	DK0028	QLD, Main Range	A	A	A	A	A	A
<i>S. crypticum</i>	DK0029	QLD, Main Range	A	A	A	A	A	A
<i>S. crypticum</i>	DK0025	QLD, Main Range	A	A	A	A	A	A
<i>S. crypticum</i>	A00276	QLD, Bribe Island	A	A	A	A	A	A
<i>S. crypticum</i>	A00278	QLD, Bribe Island	A	A	A	A	A	A
<i>S. variabilis</i>	A00031	QLD, Lamington	B	A	A	A	A	A
<i>S. variabilis</i>	A00199	QLD, Lamington	B	A	A	A	A	A
<i>S. variabilis</i>	A00221	QLD, Lamington	B	A	A	A	A	A
<i>S. variabilis</i>	DK0105	QLD, Lamington	B	A	A	A	A	A
<i>S. variabilis</i>	A00039	QLD, Lamington	B	A	A	A	A	A
<i>S. variabilis</i>	A00248	QLD, Lamington	B	A	A	A	A	A
<i>S. variabilis</i>	A00227	QLD, Lamington	B	A	A	A	A	A
<i>S. variabilis</i>	DK0040	QLD, Tamborine	B	A	A	A	A	A
<i>S. variabilis</i>	A00341	QLD, Tamborine	B	A	A	A	A	A
<i>S. variabilis</i>	DK0066	QLD, Springbrook	B	A	A	A	A	A
<i>S. variabilis</i>	DK0018	QLD, Springbrook	B	A	A	A	A	A
<i>S. variabilis</i>	DK0147	QLD, Springbrook	B	A	A	A	A	A
<i>S. variabilis</i>	DK0055	QLD, Springbrook	B	A	A	A	A	A
<i>S. variabilis</i>	DK0165	QLD, Springbrook	B	A	A	A	A	A
<i>S. variabilis</i>	DK0167	QLD, Springbrook	B	A	A	A	A	A
<i>S. variabilis</i>	DK0060	QLD, Springbrook	B	A	A	A	A	A
<i>S. variabilis</i>	DK0171	QLD, Springbrook	B	A	A	A	A	A
<i>S. variabilis</i>	DK0148	QLD, Springbrook	B	A	A	A	A	A
<i>S. variabilis</i>	DK0166	QLD, Springbrook	B	A	A	A	A	A
<i>S. variabilis</i>	DK0011	QLD, Springbrook	B	A	A	A	A	A
<i>S. variabilis</i>	DK0158	QLD, Springbrook	B	A	A	A	A	A
<i>S. variabilis</i>	DK0146	QLD, Springbrook	B	A	A	A	A	A
<i>S. variabilis</i>	DK0077	NSW, Washpool	B	A	A	A	A	A
<i>S. campestris</i>	A00284	QLD, Bribe Island	C	A	A	A	A	A
<i>S. chilvertonensis</i>	A00240	QLD, Chilverton	D	D	D (1.00)	D (1.00)	D	D
<i>S. flavonotatum</i>	A00228	QLD, Chilverton	E	E	E (1.00)	E (1.00)	E	E
<i>S. maseki</i>	DK0116	QLD, Eungella	F	F	F (1.00)	F (1.00)	F	F
<i>S. clientulum</i>	DK0042	QLD, Tamborine	G	G	G (0.90)	G (0.90)	G	G
<i>S. clientulum</i>	DK0045	QLD, Tamborine	G	G	G	G	G	G
<i>S. clientulum</i>	DK0149	QLD, Springbrook	G	G	G	G	G	G
<i>S. clientulum</i>	DK0142	QLD, Springbrook	G	G	G	G	G	G
<i>S. dubenovae</i>	A00296	QLD, Mt. Glorious	H	H	H (0.86)	H (0.86)	H	H
<i>S. dubenovae</i>	A00343	QLD, Mt. Glorious	H	H	H	H	H	H
<i>S. dubenovae</i>	A00344	QLD, Mt. Glorious	H	H	H	H	H	H
<i>S. ailaketoae</i>	A00223	QLD, Lamington	I	I	I (0.92)	I (0.92)	I	I
<i>S. ailaketoae</i>	A00225	QLD, Lamington	I	I	I	I	I	I
<i>S. ailaketoae</i>	A00247	QLD, Lamington	I	I	I	I	I	I
<i>S. slipinskii</i>	A00213	QLD, Chilverton	J	J	J (0.51)	J (0.51)	J	J

<i>S. slipinskii</i>	A00236	QLD, Chilverton	J	J	J	J	J	J
<i>S. eungellensis</i>	DK0134	QLD, Eungella	K	K	K (0.95)	K (0.95)	K	K
<i>S. eungellensis</i>	DK0120	QLD, Eungella	K	K	K	K	K	K
<i>S. eungellensis</i>	DK0133	QLD, Eungella	K	K	K	K	K	K
<i>S. monteithi</i>	A00282	QLD, Bribie Island	L	L	L (1.00)	L (1.00)	L	L
<i>S. monteithi</i>	A00283	QLD, Bribie Island	L	L	L	L	L	L
<i>S. monteithi</i>	A00291	QLD, Bribie Island	L	L	L	L	L	L
<i>S. monteithi</i>	A00322	QLD, Bribie Island	L	L	L	L	L	L
<i>S. monteithi</i>	DK0061	QLD, Springbrook	L	L	L	L	L	L
<i>S. monteithi</i>	DK0056	QLD, Springbrook	L	L	L	L	L	L
<i>S. monteithi</i>	DK0065	QLD, Springbrook	L	L	L	L	L	L
<i>S. monteithi</i>	DK0062	QLD, Springbrook	L	L	L	L	L	L

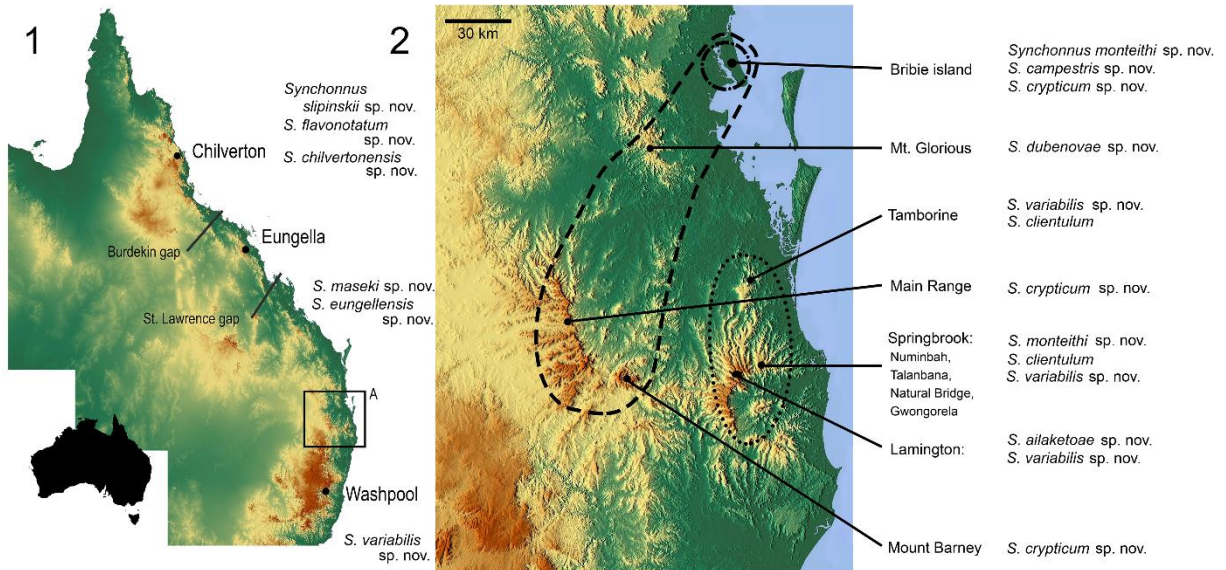
\* Pravděpodobnostní hodnoty pro cluster druhů tvořený druhy *S. crypticum*, *S. variabilis* a *S. campestris*.

**Tabulka 5.** Seznam druhů v rodu *Synchonnus*.

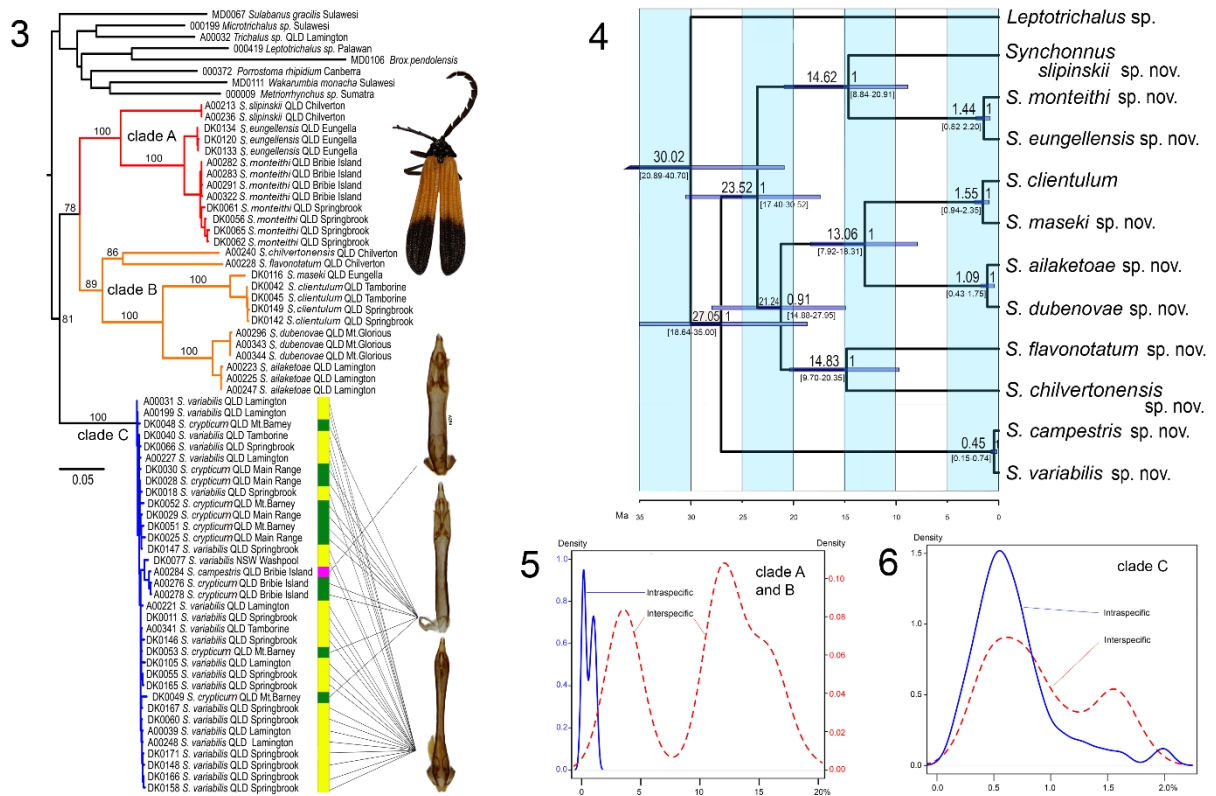
Druhy	Rozšíření
<i>S. ailaketoae</i> sp. nov.	Austrálie: Queensland
<i>S. amplus</i> (Kleine, 1930: 328) = <i>Enylus amplus</i> Kleine, 1930	Austrálie: Nový Jižní Wales
<i>S. campestris</i> sp. nov.	Austrálie: Queensland
<i>S. clientulum</i> (Waterhouse, 1977: 81) = <i>Porrostoma clientulum</i> Waterhouse 1877)	Austrálie: Queensland
<i>S. corrugatus</i> Pic, 1923	Austrálie
<i>S. crypticum</i> sp. nov.	Austrálie: Queensland
<i>S. dubenovae</i> sp. nov.	Austrálie: Queensland
<i>S. eungellensis</i> sp. nov.	Austrálie: Queensland
<i>S. flavonotatum</i> sp. nov.	Austrálie: Queensland
<i>S. chilvertonensis</i> sp. nov.	Austrálie: Queensland
<i>S. limbatum</i> (Waterhouse, 1877: 81) = <i>Achras limbatum</i> Waterhouse, 1877	Austrálie
<i>S. maseki</i> sp. nov.	Austrálie: Queensland
<i>S. monteithi</i> sp. nov.	Austrálie: Queensland
<i>S. nigellus</i> (Waterhouse, 1879) = <i>Strophicus nigellus</i> Waterhouse, 1879	Austrálie: Queensland
<i>S. slipinskii</i> sp. nov.	Austrálie: Queensland
<i>S. variabilis</i> sp. nov.	Austrálie: Queensland Nový Jižní Wales
Druhy rodu <i>Synchonnus</i> vyskytující se mimo oblast	kontinentální Austrálie:
<i>S. etheringtoni</i> (Kusy, 2017)	Indonésie: Papua
<i>S. humeralis</i> Pic, 1923: 37, hors text	Indonésie: Yapen Isl.
<i>S. segregatus</i> (Waterhouse, 1879: 72) = <i>Enylus segregatus</i> Waterhouse, 1879	Indonésie: Mysool Isl.
<i>S. testaceithorax</i> Pic, 1923: 35.	Nová Guinea

**Reference**

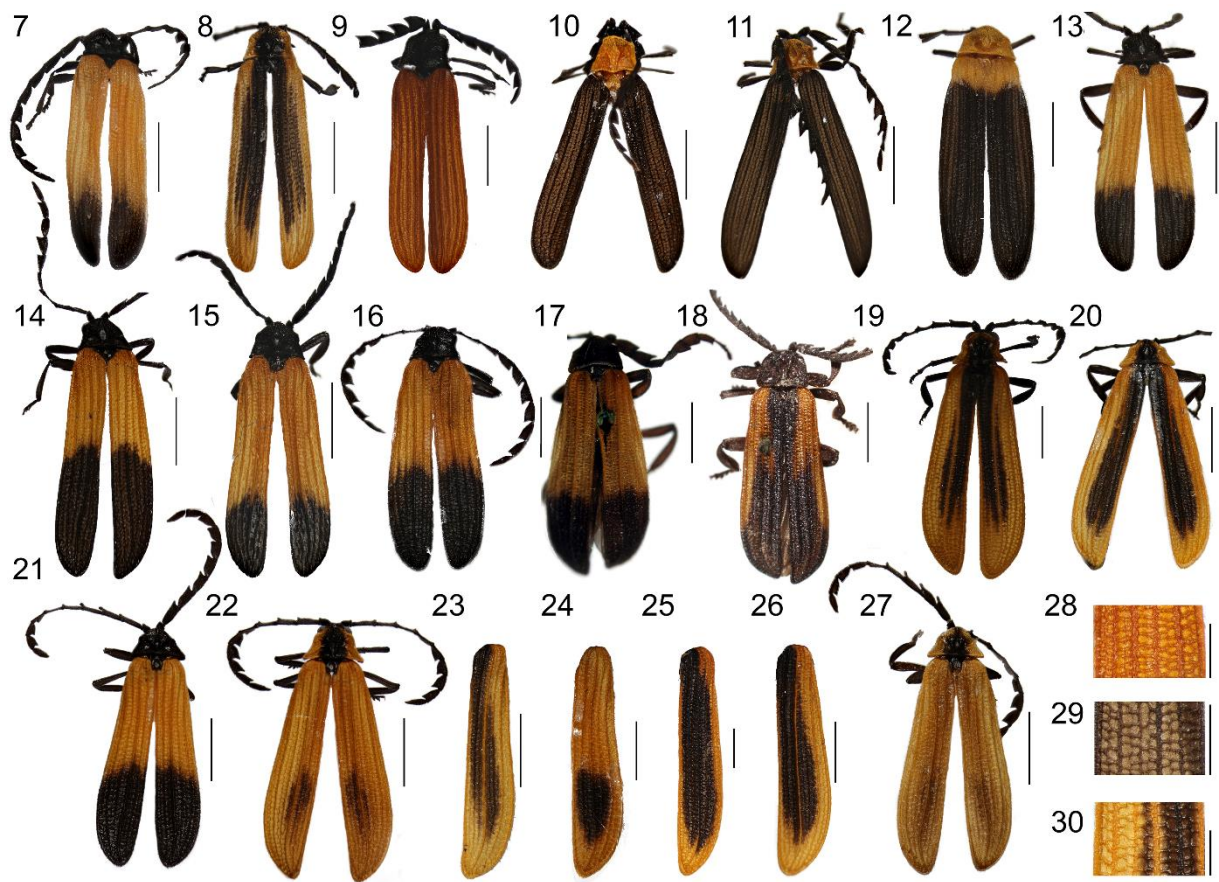
- Kleine R. 1930. Bestimmungstabelle der Trichalusverwandtschaft. *Treubia* **11**, 325–340.
- Kusy D. 2017. A new species of *Synchonnus* (Coleoptera: Lycidae) from New Guinea, with an identification key to the Papuan species. *Acta Entomologica Musei Nationalis Pragae. In Press.*
- Pic M. 1923. Contribution à l'étude des Lycides. *L'Echange* (412-413): hors –texte 35–37.
- Waterhouse CO. 1877. A monograph of the Australian species of the coleopterous family Lycidae. *Trans. Entomol. Soc. Lond.* 1877: 73–89.
- Waterhouse CO. 1879. *Illustrations of Typical Specimens of Coleoptera in the Collection of the British Museum Part 1. Lycidae.* London: British Museum (Natural History) x+83 pp.



**Obrázky 1–2.** 1 Východní pobřeží Austrálie se zkoumanými lokalitami. 2 Zkoumané lokality v Jihovýchodním Queenslandu (Viz označená oblast v obr. 1).

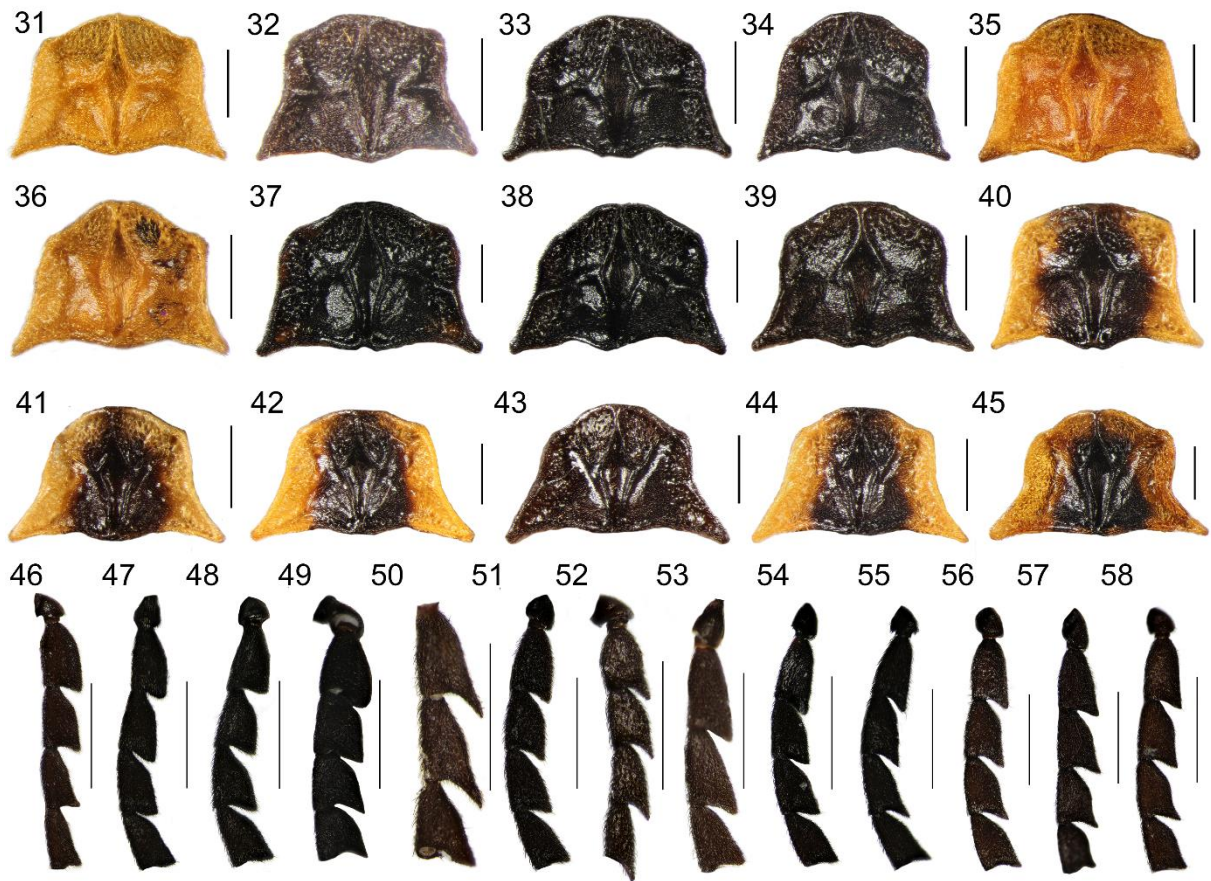


**Obrázky 3–6.** 3 Fylogenetická hypotéza příbuznosti v rodu *Synchonnus* získaná analýzou maximální věrohodnosti z *cox1* mtDNA datasetu. 4 Datovaný fylogenetický strom Australských zástupců rodu *Synchonnus* získaný z 3 genového datasetu. 5 Rozložení četností intraspecifických a interspecifických genetických vzdáleností zástupců rodu *Synchonnus* v kládech A a B. 6 Rozložení četností intraspecifických a interspecifických genetických vzdáleností zástupců rodu *Synchonnus* v kládu C.

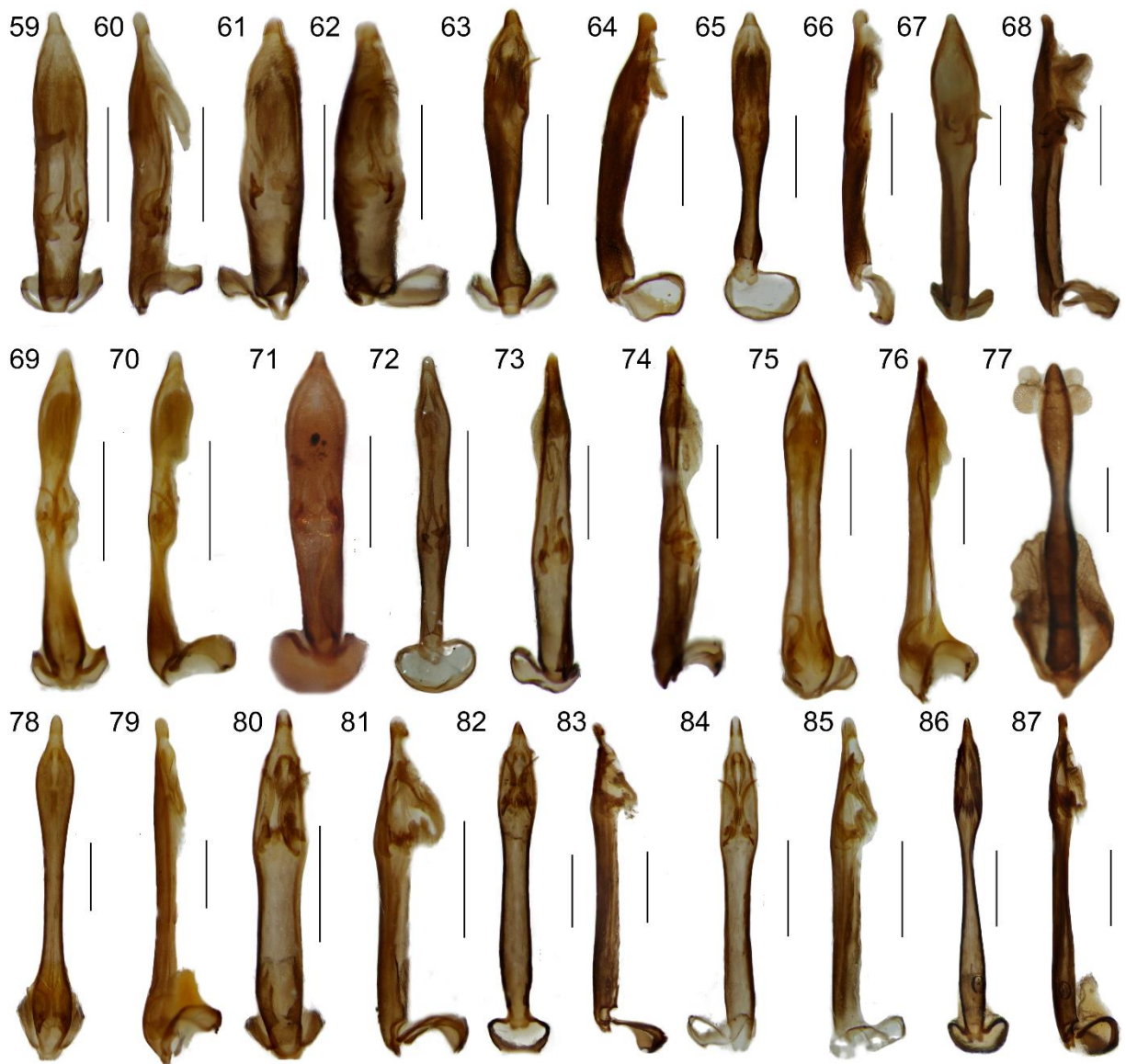


**Obrázky 7–30.** Celkový vzhled: **7** *Synchonnus dubenovae* sp. nov., **8** *S. ailaketoae* sp. nov., **9** *S. maseki* sp. nov., **10** *S. chilvertonensis* sp. nov., **11** *S. flavonotatum* sp. nov., **12** *S. slipinskii* sp. nov., **13–14** *S. monteithi* sp. nov., **15** *S. eungellensis* sp. nov., **16–17** *S. clientulum* Waterhouse, **18** *S. corrugatus*, Pic, **19** *S. variabilis* sp. nov., **20–22** *S. crypticum* sp. nov., **27** *S. campestris* sp. nov. Krovka: **23** *S. crypticum* sp. nov., **24–26** *S. variabilis* sp. nov. Detail pravé krovky: **28** *S. maseki* sp. nov., **29** *S. flavonotatum* sp. nov., **30** *S. variabilis* sp. nov. Měřítka, **7–27**: 2 mm, **28–30**: 1 mm.

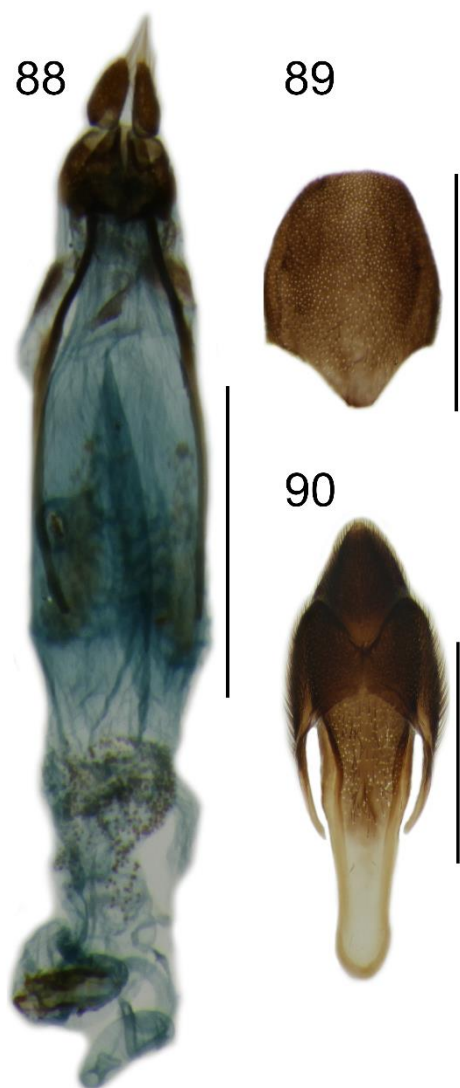




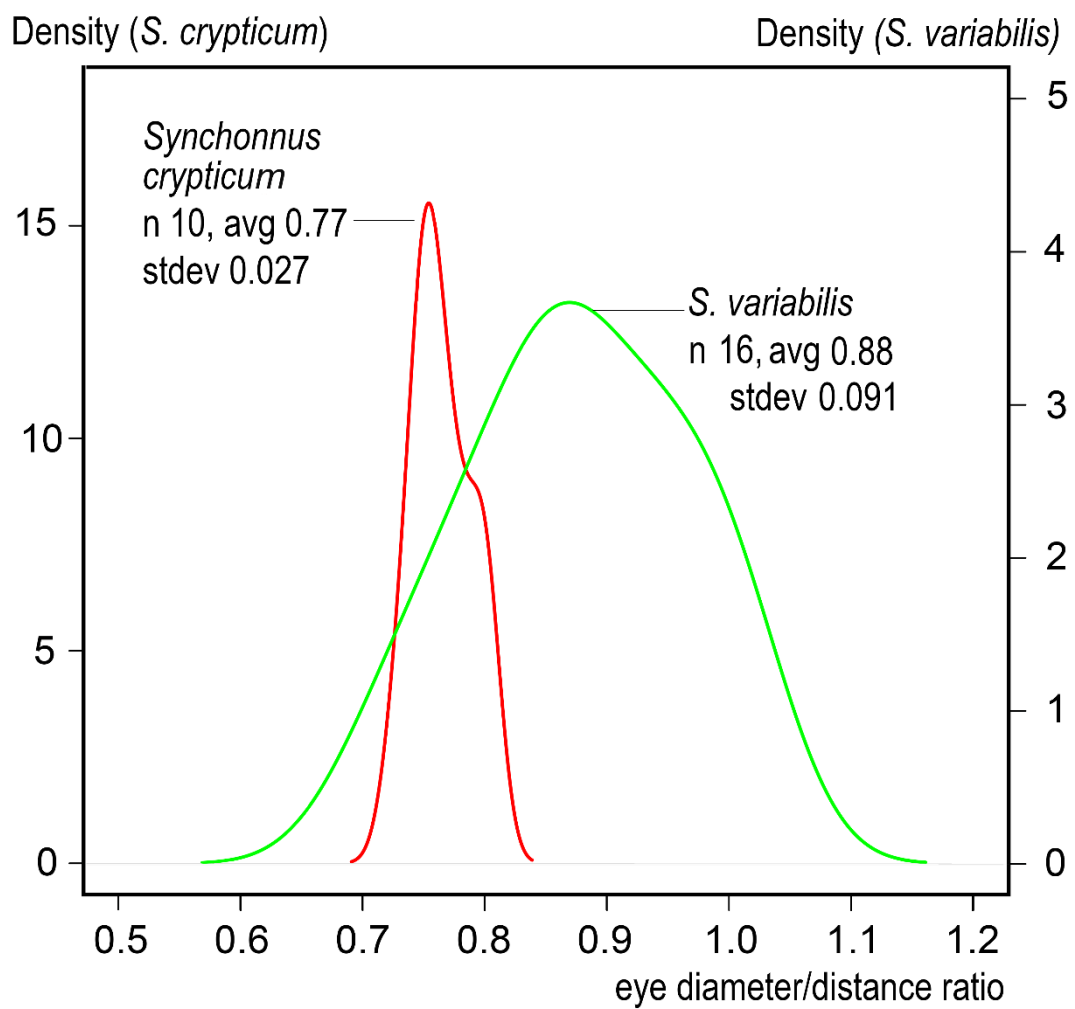
**Obrázky 31–58.** Pronotum: **31** *Synchonnus dubenovae* sp. nov., **32** *S. ailaketoae* sp. nov., **33** *S. maseki* sp. nov., **34** *S. chilvertonensis* sp. nov., **35** *S. flavonotatum* sp. nov., **36** *S. clientulum*, **37** *S. slipinskii* sp. nov., **38** *S. eungellensis* sp. nov., **39–40** *S. monteithi*, **41** *S. campestris* sp. nov., **42–44** *S. crypticum* sp. nov., **45** *S. variabilis* sp. nov. Tykadla: **46** *S. ailaketoae* sp. nov., **47** *S. dubenovae* sp. nov., **48** *S. clientulum* sp. nov., **49** *S. maseki* sp. nov., **50** *S. flavonotatum* sp. nov., **51–52** *S. monteithi* sp. nov., **53** *S. slipinskii* sp. nov., **54** *S. variabilis* sp. nov., **55–57** *S. crypticum* sp. nov., **58** *S. campestris* sp. nov. Měřítka, **31–45**: 0.5 mm, **46–58**: 1 mm.



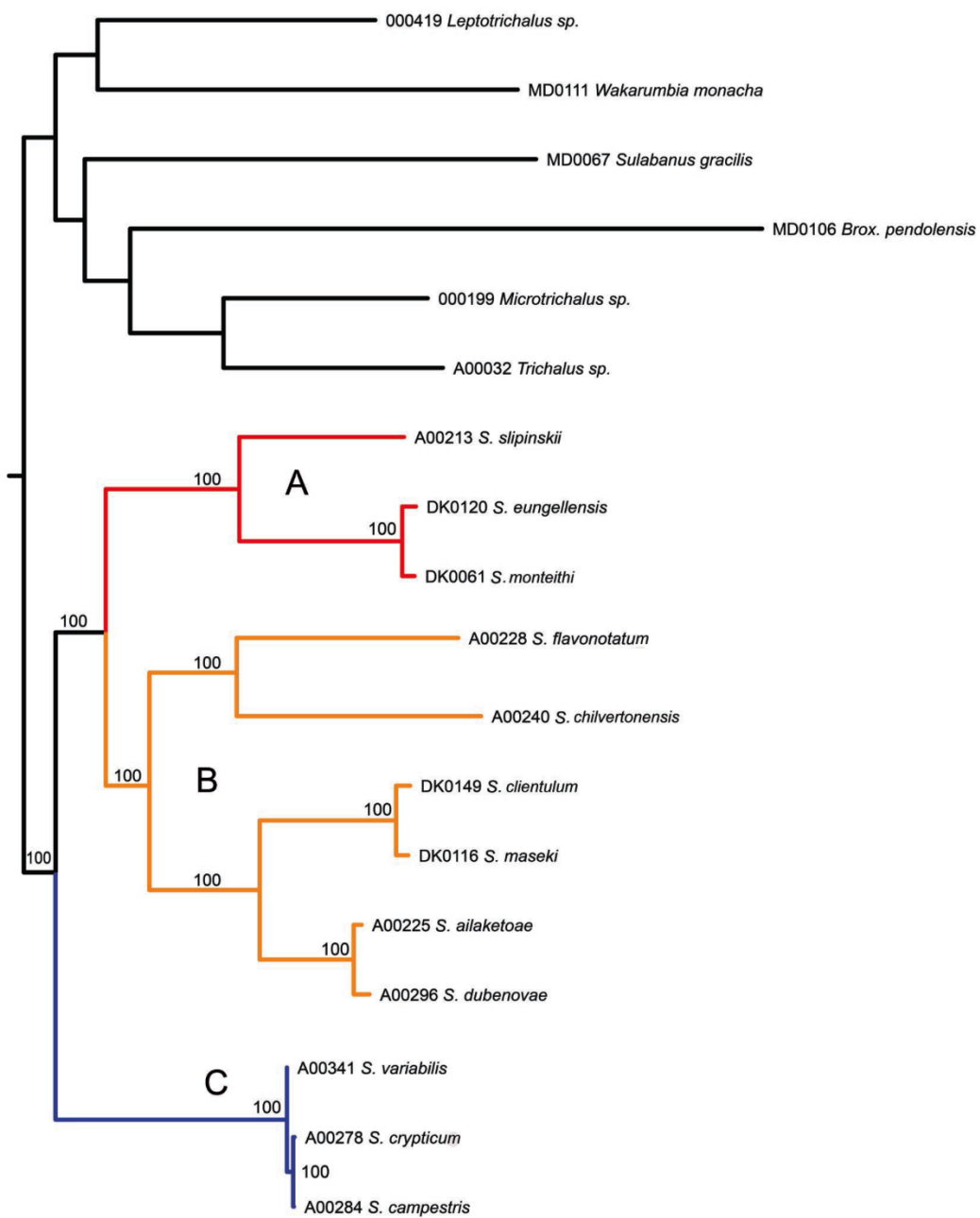
**Obrázky 59–87.** Samčí kopulační orgány (přední a boční pohled): **59–60** *Synchronnus ailaketoae* sp. nov., **61–62** *S. dubenovae* sp. nov., **63–64** *S. maseki* sp. nov., **65–68** *S. clientulum* Waterhouse, **69–70** *S. flavonotatum* sp. nov., **71** *S. limbatum*, Waterhouse, **72** *S. amplus*, Kleine, **73–74** *S. monteithi* sp. nov., **75–76** *S. slipinskii* sp. nov., **77** *S. corrugates*, Pic, **78–79** *S. variabilis* sp. nov., **80–81** *S. campestris* sp. nov., **82–87** *S. crypticum* sp. nov. Meřitko: 0.5 mm.



**Obrázky 88–90.** Samičí kopulační orgány: **88** *Synchonnus eungellensis* sp. nov. Koncový sternit, samice: **89** *S. eungellensis* sp. nov. Koncové abdominální články, samec: **90** *Synchonnus monteithi* sp. nov. Měřítko, **88**: 0,5 mm, **89–90**: 0.25 mm.



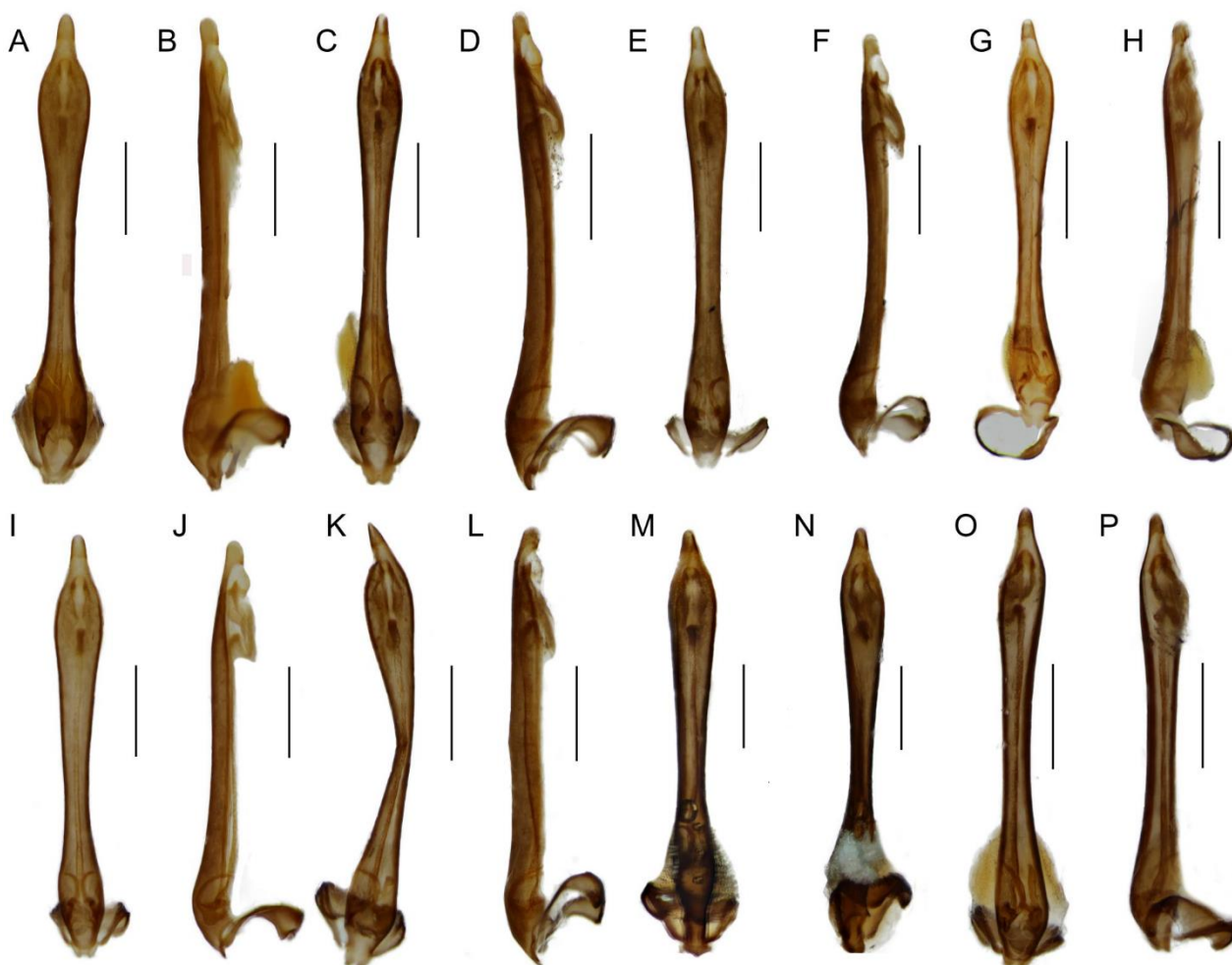
**Obrázek 91.** Rozložení četností relativní velikosti očí u druhů *Synchronnus variabilis* sp. nov. a *S. crypticum* sp. nov.



**Obrázek 92.** Fylogenetický strom získaný analýzou maximální věrohodnosti 3 genového datasetu. Čísla nad větvemi znázorňují bootstrapové podpory, klády jsou označeny jako na obr. 3 a 4.



**Obrázek 93.** Tvar samčích kopulačních orgánů: A–H *Synchonnus crypticum* sp. nov. Zeměpisný původ vzorků: A–D ostrov Bribie, E–F Main Range, G–H Mt. Barney. Měřítko 0.5 mm.



**Obrázek 94.** Tvar samčích kopulačních orgánů: A–P *Synchonnus variabilis* sp. nov. Zeměpisný původ vzorků: A–B Lamington National Park, C–D Springbrook N. P., Numinbah, E–F Springbrook N. P., Gwongorella, G–H Springbrook N. P., Tallanbana, I–J Lamington N. P., K–L Tamborine N. P., M–N Washpool N. P., O–P Springbrook N. P. Natural Bridge. Měřítko 0.5 mm.