Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta
Katedra zoologie
entomologie

Fylogeneze vybraných druhových skupin rodu *Torymus* (Hymenoptera: Torymidae)

Phylogeny of selected species groups of the genus *Torymus* (Hymenoptera: Torymidae)

Bc. Barbora Křížková

Diplomová práce
Praha, 2011
Školitel: Mgr. Petr Janšta

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 29. srpna 2011

.....
Barbora Křížková

Poděkování

Tato diplomová práce by nevznikla bez podpory, cenných rad, trpělivosti a optimismu mého školitele Petra Janšty. Jsem mu vděčná za to, že začal studovat chalcidky a poskytl tak místo studentům, kteří se zajímají o koevoluci parazitů a hostitelů.

Děkuji všem, kteří pomohli při získávání materiálu, hlavně pak Georgovi Mélikovi (Pest Diagnostic Department, Plant Protection & Soil Conservation Directorate of County Vas Tanakajd, Hungary) za druhy z Iránu. Bradfordovi Hawkinsovi (University of California Riverside, Entomology) děkuji za bleskové zaslání literárních zdrojů, jejichž je autorem.

Za pomoc s fylogenetickými analýzami patří můj dík školiteli, Janě Habermannové, Darině Koubínové, Liborovi Mořkovskému, Tomášovi Pánkovi a Daně Drožové (všichni PřF UK). Posledně jmenované také za psychickou podporu, kterou mi v průběhu psaní práce dodávala.

Děkuji své rodině za schovívavost během psaní diplomové práce a za oporu, kterou mi byla po celou dobu studia na PřF UK.

Jsem zavázána Grantové agentuře Univerzity Karlovy v Praze, která mé práci poskytla finanční podporu přiznáním grantu číslo 167110 pro roky 2010 – 2012.

OBSAH

Abstrakt 5
Abstract 6
1 Úvod 7
2 Literární přehled 9
2.1 Stavba a vývoj hálek 9
2.1.1 Obecná charakteristika 9
2.1.2 Fosilní záznam 11
2.1.3 Charakteristika nejrecentnějších společných předků hálktotvorného hmyzu a jejich nehálkotvorných příbuzných 11
2.1.4 Adaptivní význam hálek a jejich diverzita 13
2.2 Parazitoidi bejlomorek a žlabatek 15
2.2.1 Obecná charakteristika 15
2.2.2 Příklady koevoluce parazitoidů rodu *Torymus* a jejich hostitelů 17
2.3 Rod Torymus 18
3 Cíle práce 23
4 Materiál a metodika 24
4.1 Materiál 24
4.2 Molekulárně-biologické metody 24
4.3 Práce se sekvencemi a tvorba fylogenetických stromů 28
5 Výsledky 32
5.1 Výstupy analýz 32
5.2 Popis topologií 51
5.3 Vztahy k hostitelským organismům 53
6 Diskuze 57
6.1 Vhodnost použitých genů 57
6.2 Monofylie druhových skupin 58
6.3 Morfologie a další dělení rodu Torymus 59
6.4 Koncept morfospecies 59
6.5 Potravní strategie 60
6.6 Vztah k hostitelské rostlině 63
7 Závěr a shrnutí 65
8 Seznam literatury 66
9 Přílohy 71
9.1 Seznam zkratek 71
9.2 Tabulky druhů zahrnutých do analýz 72

Abstrakt

Chalcidky (Chalcidoidea) jsou nadčeledí v rámci blanokřídlého parazitického hmyzu, která cizopasí na jiných členovcích. Tato práce se zabývá fylogenezí vybraných druhových skupin rodu *Torymus* Dalman, 1820 z čeledi krásenek (Chalcidoidea: Torymidae), který napadá hlavně larvy hálkotvorných bejlomorek a žlabatek. Pomocí genů 28SD2 rDNA, COI a CytB byly zkonstruovány fylogenetické stromy, které posloužily k diskutování dříve ustanoveného třídění rodu a k vyvození nových poznatků o jeho koevoluci s hostiteli.

Druhové skupiny, které byly navrhované jako morfologicko-ekologické členění rodu, nebyly v mnoha případech potvrzeny. Morfologické znaky se zdají být v některých případech konvergentní a nejsou apomorfní pro některé zjištěné monofyletické skupiny druhů. Naopak ekologii a přirozený habitat druhů lze považovat za sdílené charakteristiky jednotlivých skupin. Bylo zjištěno, že recentní nejčastější hostitelé druhů rodu *Torymus* nemusí být jeho původními hostiteli. Došlo pravděpodobně k adaptivní radiaci druhů v rámci několika biotopů. Tato radiace mohla proběhnout díky přeskoku na hálkotvorné bejlomorky a žlabatky.

Klíčová slova: Chalcidoidea, *Torymus*, fylogeneze, parasitoid, hostitelská specifita, koevoluce

Abstract

Chalcid wasps (Chalciodiodea) is superfamily within parasitic group of the order Hymenoptera. These insects attack other arthropods. My thesis is focused on phylogeny of selected species groups of the genus *Torymus* Dalman 1820, whose range of hosts includes mainly gall-forming insect as gall wasps (Hymenoptera: Cynipidae) and gall midges (Diptera: Cecidomyiidae). Using genes 28D2 rDNA, COI and CytB, I constructed phylogenetic trees, which helped with discussing current view on classification of the genus and with inferring new findings about co-evolution with host organisms.

Previously established morphological – ecological species groups were not supported by my analyses in many cases. Morphological traits seem to be convergent for many species. They often do not support observed monophyla as apomorphies. On the other hand, ecology and natural habitat of species was common for many branches in my cladograms. It was found out, that recent hosts are not probably original hosts of the group. Adaptive radiation in different habitats is likely to be the phenomenon that stands behind present-day host range of *Torymus* species. This process could have occurred after swapping to gall midges and gall wasps.

Key words: Chalcidoidea, *Torymus*, phylogeny, parasitoid, host specifity, co-evolution

1 Úvod

Mezi nejvíce fascinující organismy jsem od dětství řadila cizopasníky (parazity). Když jsem začala studovat biologii na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy, byla jsem jimi ohromena znovu. Zjistila jsem, že existuje mnoho směrů, kterými lze k parazitům přistupovat a měla jsem možnost se rozhodnout, kterým se vydám já. Nakonec vyhrála evoluční biologie a koevoluční přizpůsobení hostitelských skupin vůči parazitickým vosičkám a naopak.

Diplomová práce se bude věnovat vosičkám z nadčeledi Chalcidoidea (Hymenoptera), čeledi Torymidae, rodu *Torymus* Dalman 1820. Jejich larvy jsou ektoparazitoidi a jako potravu přijímají larvy hálkotvorného nebo i jinak herbivorního hmyzu. Dodnes byly v hostitelském spektru rodu *Torymus* zaznamenány mery (Sternorrhyncha: Psyllomorpha), zrnokazi (Coleoptera: Bruchidae), nosatci (Coleoptera: Curculionidae), zobonosky (Coleoptera: Atellabidae), kůrovci (Coleoptera: Scolytidae), tesaříci (Coleoptera: Cerambycidae), čtyři čeledi řádu motýlů a larvy žahadlových blanokřídlých ukryté v rostlinách nebo hálkách (Hymenoptera: Aculeata: Sphecidae, Apidae, Crabronidae). Nejdůležitějšími hostiteli jsou ovšem původci rostlinných hálek, a to bejlomorky (Diptera: Cecidomyiidae), vrtule (Diptera: Tephritidae), žlabatky (Hymenoptera: Cynipidae), tmavky (Hymenoptera: Eurytomidae) a pilatky (Hymenoptera: Tenthredinidae) (Graham & Gijswijt, 1998; Noyes, 2011).

Hálky jsou novotvary a malformace na různých rostlinných orgánech včetně kořenů (Cornell, 1983). Způsobují je různé skupiny členovců a bakterií. Z členovců hálky tvoří zejména roztoči (Arthropoda: Acari) a larvy hmyzu (Arthropoda: Hexapoda). Hmyzích původců je mnoho skupin. Z řádů s proměnou nedokonalou jsou to konkrétně třásněnky (Thysanoptera), z řádu Sternorrhyncha jsou to molice (Aleyrodomorpha), mery (Psyllomorpha), červci (Coccomorpha), z řádu ploštic (Heteroptera) pak čeleď síťnatkovitých (Heteroptera: Tingidae). Hálkotvorný hmyz z řádů s proměnou dokonalou jsou vrtule (Diptera: Tephritidae), bejlomorky (Diptera: Cecidomyiidae) a zelenušky (Diptera: Chloropidae). Významné skupiny původců hálek zahrnuje řád blanokřídlých (Hymenoptera), a to z obou podřádů. V podřádu štíhlopasých (Apocrita) jsou hálkotvorné žlabatky (Cynipoidea: Cynipidae), fíkové vosičky Agaonidae (Chalcidoidea: Agaonidae) a některé další skupiny z nadčeledi Chalcidoidea. Z podřádu širopasých (Symphyta) jsou to pilatky (Tenthredinidae) a jehlatky (Xyelidae). Hálky způsobují i někteří motýli a okrajově několik

zástupců z řádu brouků. Je zjevné, že schopnost tvořit hálky se vyvinula několikrát nezávisle (Raman *et al.*, 2005).

Evoluční novinka v podobě tvorby hálek přinesla nejen svému původci užitek ve formě úkrytu, stabilního prostředí a trvalého přísunu potravy (Stone & Schönrogge, 2003), ale nabídla tyto zdroje také ostatním živočichům. V hálkách se tedy mohou vyskytovat jejich původci, parazitoidi původců, parazitoidi parazitoidů (hyperparaztiti), inkvilíni (komenzálové v hnízdech a úkrytech jiných živočichů) a parazitoidi inkvilínů (Sanver & Hawkins, 2000). Opuštěné hálky bývají obývány širokým spektrem živočichů, velmi oblíbené jsou například u skákavek (Arachnida: Salticidae).

V diplomové práci se zaměřím se na zjišťování cesty, kterou se zástupci rodu *Torymus* přizpůsobovali svým hostitelům a zda je fylogeneze tohoto rodu svázaná s fylogenezí hostitelských druhů. Hlavním cílem je tedy objasnit koevoluci parazitoidů a jejich hostitelů.

2 Literární přehled

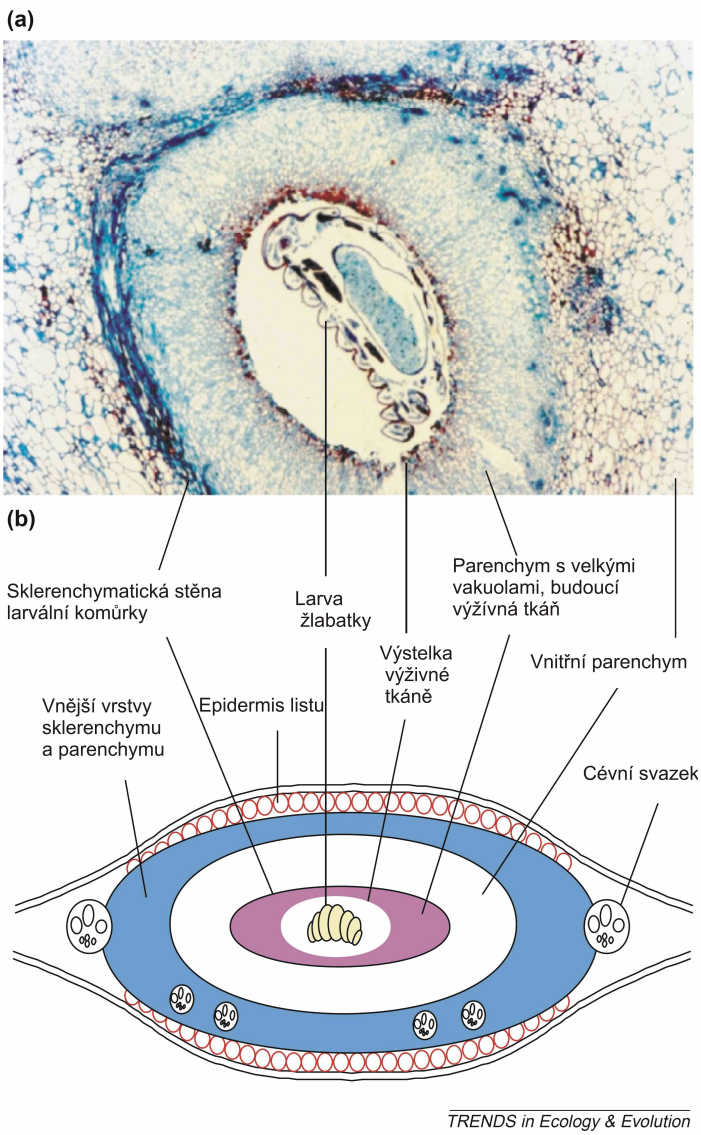
2.1 Stavba a vývoj hálek

2.1.1 Obecná charakteristika

Rostlinná hálka je často kompaktní útvar, který vzniká z pletiv na základě signálů pocházejících od jiného organismu, než je samotná rostlina. Jejímu původci (hálkotvornému organismu) hálka poskytuje potravu a ochranu před vnějším prostředím (Cornell, 1983). Z řečtiny pochází slovo kekis s významem něčeho vyrážejícího, provalujícího se. Odvozením vzniklo slovo cecidium, což znamená hálka. Cecidologie je pak věda zabývající se hálkami. Uspořádání rostlinných pletiv uvnitř hálky je na obr. 1.

Tvar, barva, povrch, umístění a velikost hálky jsou specifické pro druh nebo generaci jejího obyvatele. Hálka má proto jasně daný fenotyp. V případě původce hálky, kdy jsou jeho geny exprimovány a ovlivňují rostlinné pletivo a podobu hálky, mluvíme o tzv. rozšířeném fenotypu hálkotvorného organismu (Dawkins, 1982), podobně jako například u stavby termitiště nebo obecně u projevu parazitace na vzhledu hostitele. Konečné podoby hálky je dosaženo na úkor zásob a energie hostitele. Z toho vyplývá, že larva hálkotvorného organismu hostiteli škodí, i když jej nezahubí (Stone & Schönrogge, 2003).

Molekulární a zčásti ani chemický mechanismus indukce hálky není dosud objasněn (Stone & Schönrogge, 2003). Nicméně bylo zjištěno, že pro plný vývin hálky je nutná kontinuální interakce hmyzu s rostlinou. Pokud dojde ke smrti larvy, hálka se přestane vyvíjet a usychá. K indukci hálky dochází tak, že gravidní samice si na rostlině najde vhodné místo ke kladení. Rozhoduje se dle meristematických tkání, které jsou nediferenciované, a proto snadno chemicky ovlivnitelné a vysoce dělivé (Cornell, 1983). Pro indukci hálky je stimulem buďto samotné kladení (např. u žlabatek) nebo potravní aktivita larvy (u bejlomorek) (Raman *et al.*, 2005). Cornell (1983) se domnívá, že slinné žlázy larev hálkotvorného hmyzu mohou produkovat nejen základní rostlinné hormony, růstové faktory a aminokyseliny, ale i virové částice, které změní vývojová schémata napadených buněk. Pro tvorbu hálky bývá larvami vylučována kyselina indol-3-octová (IAA), což je jeden z auxinů, tedy rostlinných růstových a jinak regulujících hormonů (Schäller, 1969).



Obr. 1: Distribuce nutritivních a dalších pletiv uvnitř hálky způsobené žlabatkou a) *Diplolepis spinosa* Ashmead b) *Diplolepis rosacefolii* Cockerell (Stone & Schönrogge, 2003).

Rostliny se brání herbivorům hypersensitivní reakcí, oxidativními procesy a ukládáním kalózy a ligninu do místa napadení. Časné stadium herbivora může být odděleno od zbytku rostlinné tkáně nekrózou a larva následně umírá kvůli nedostatku potravy a kvůli obranným chemickým procesům v rostlinné tkáni. Ukázalo se, že rostliny z mnoha nepříbuzných čeledí mohou takto usmrtit larvy bejlomorek (Fernandes & Negreiros, 2001). Některé rostliny mají specifické R (resitance) geny, které znemožňují larvě herbivora ovlivnit růst pletiv do podoby novotvaru. Tyto geny jsou selektovány jako odpověď na geny virulence u bejlomorek (Anderson & Harris, 2006). Tato reakce je jeden z příkladů tzv. gene-for-gene odpovědi a evolučního závodu ve zbrojení (Dawkins & Krebs, 1979). Rostliny se dokáží bránit herbivorům i interakcí s jejich parazitoidy. Pod selekčním tlakem ze strany herbivorů začaly

vylučovat terpenoidy a auxiny, které atrahují jejich parazitoidy (Turlings *et al.*, 1990). Dosud ale nebylo zjištěno, zda je tento mechanismus využíván i rostlinami napadenými larvami hálkotvorného hmyzu.

I hálky se přizpůsobily predaci a vyvinula se u nich ochrana proti herbivorům. Spočívá v koncentraci třísloviny (taninů) ve vnitřní vrstvě stěny hálky. Díky jejich inhibujícímu účinku na trávení jsou na ně herbivoři citliví a vysoké koncentraci se vyhnou. V samotné komůrce, kde se vyvíjí larva, taniny nejsou vůbec (Cornell, 1983).

2.1.2 Fosilní záznam

Hálkotvorný způsob života u hmyzu byl zaznamenán už z prvohor. Jedna z nejstarších nalezených fosílií hálky je stará asi 302 milionů let a pochází z karbonu ze státu Illinois v USA (Labandeira & Phillips, 1996). To dokládá existenci hálkotvorného způsobu života v době, kdy na zemi rostly stromové kapradiny a přesličky. Každopádně největší radiací prošel cecidogenní hmyz právě v průběhu radiace krytosemenných rostlin, tedy od křídy do konce paleogénu (před 120 – 60 milióny let). V pliocénu (Larew, 1986) nebo v pleistocénu (Stone *et al.*, 2008) se ustanovily vztahy rostlina – hálka – parazitoid nebo inkvilín tak, jak je známe dnes a jak budou popsány v následujících kapitolách. Zachované fosilní cecidie jsou nejčastěji od bejlomorek a žlabatek. Jejich nejčastějšími nalezišti jsou západní Evropa a USA. Hálkotvorné mšice, červci a třásněnky žijí spíše v Austrálii a Asii a nebyly nacházeny ve fosilním záznamu (Larew, 1986).

2.1.3 Charakteristika nejrecentnějších společných předků hálktotvorného hmyzu a jejich nehálkotvorných příbuzných

V obecné rovině byly navrženy dvě možné podoby předků hálkotvorného hmyzu. Původně minující larvy přešly v hálkotvorné u motýlů a vrtulí. Larvy ploštic, třásněnek, pilatek a bejlomorek byly asi původně přisedlí herbivoři krmící se na povrchu rostliny (Price, 1987).

Evoluce schopnosti tvořit hálku prošla u blanokřídlého parazitického hmyzu (Hymenoptera: „Parasitica“) zajímavou a složitou cestou. Tito nežahaví blanokřídlí jsou primárně karnivorní a parazitičtí. Existují dva pohledy na podobu nejrecentnějšího společného předka Cynipidae a jejich sesterské čeledi Figitidae, která je zoofágní. První teorie dle Malysheva (1968) říká, že sekundárně se u „Parasitica“ objevila fytooofagie (semenožravost),

kdy se larva živí zásobními látkami semen. Z tohoto způsobu života se pak odvodila schopnost tvořit hálky. Druhá teorie evoluce hálkotvornosti u žlabatek vychází z práce amerického entomologa Alfreda Kinseyho, který tvrdil, že nejpůvodnější hálky vznikaly jako nenápadné jednokomůrkové úkryty larev ve stoncích Asteraceae (Kinsey, 1920). Rozsáhlá studie morfologických a biologických znaků všech druhů žlabatek ukázala, že semenožravost je pravděpodobnější strategií pro předka cecidogenních žlabatek (Ronquist & Liljeblad, 2001). Toto tvrzení dále rozšiřuje i popis bazálních zástupců čeledi Figitidae a jejich porovnání s bazálními zástupci čeledi Cynipidae (Ronquist & Nieves-Aldrey, 2001). Je zde uvedeno, že jejich společný předek byl parazitoid jiných blanokřídlých, pravděpodobně chalcidek, které tvořily hálky na tobolkách čeledi Papaveraceae. Zůstává tedy otázkou, zda se první hálkotvorné žlabatky živily pletivy uvnitř hálek nebo zásobními látkami semen. Uvažuje se, že první hálky byly viditelné zduřeniny na reprodukčních orgánech pravděpodobně právě Papaveraceae. Byly unilokulární a byly součástí orgánu rostliny, tudíž nešly lehce oddělit. Předpokládá se, že původní výskyt hálkotvorných žlabatek byl v Evropě, hlavně ve východním středomoří (Ronquist & Liljeblad, 2001) nebo v Asii (Stone *et al.*, 2009). Obě teorie, vztahující se k žlabatkám, se shodují na trendu, že v čase se hálky vyvíjí k větší komplexitě (Ronquist & Liljeblad, 2001).

I podle mého názoru je pravděpodobnější Malyshevova teorie vzniku indukce hálek u žlabatek. Z analýz nutritivních buněk obklopujících larvu žlabatky vyšly najevo dva proteiny, které jsou syntetizovány jen v hálce a ne v ostatních tkáních okolo ní. Pro ilustraci evoluce hálktovornosti je důležitý hlavně protein, jehož normální lokalizace je v zásobních tkáních semen, kde je zodpovědný za tvorbu lipidů (Harper *et al.*, 2004). To nasvědčuje tomu, že semenožravost byla nejspíše původním stavem a larva využívá podobných zdrojů jako v plesiomorfním habitatu. Schopnost tvořit hálku a vyvíjet se v ní tedy souvisí s expresí genů, které modifikují výstelku komůrky. Výživná tkáň v bezprostřední blízkosti larvy je nejpodobnější semenům, a proto lze říci, že hmyz nějakým způsobem vytváří nové rostlinné orgány (Harper *et al.*, 2004). Právě virová DNA by mohla být zprostředkovatelem ovlivnění vývoje rostlin. Takovýto symbiotický mechanismus získání schopnosti indukce hálek je podle Cornella (1983) nejpravděpodobnější.

Herbivorie u zástupců bejlomorek vznikla několikrát u několika tribů v rámci podčeledi Cecidomyiinae. Pokaždé se odvozovala pravděpodobně z mycetofagie. Mycetofagie je tedy plesiomorfní stav společný bazálně postaveným liniím bejlomorek a jejich nejbližším příbuzným z dalších čeledí. Fytofagie jako odvozený stav je podpořena morfologickými znaky a také výskytem parazitoidů. Parazitoidi z čeledi Scelionidae jsou společní pro

mycetofágní i fytofágní bejlomorky. Naopak parazitoidi z nadčeledi Chalcidoidea jsou jen u fytofágních bejlomorek. Kdyby fytofagie byla původním stavem, tak by chalcidky s největší pravděpodobností napadaly i mycetofágní bejlomorky, protože by v průběhu evoluce jistě následovaly své hostitele (Roskam, 1985).

Selekční tlaky, které vedly k vytvoření hálek, budou diskutovány v další podkapitole, stejně jako diverzita tvarů a počet druhů hálkotvorných organismů.

2.1.4 Adaptivní význam hálek a jejich diverzita

Hálka má jednoznačně adaptivní charakter pro hmyz, i když se dříve uvažovalo, že je to obrana rostlin proti herbivorům (Price, 1987). Larvy využívají rostlinu a její zdroje k vytvoření úkrytu. Bylo navrženo několik hypotéz o výhodnosti tohoto úkrytu (Price, 1987; Stone & Schönrogge, 2003), které se pokusím ve zkratce představit. Mikrohabitatová (mikroenviromentální) hypotéza nachází selekční tlak pro vznik hálek ve stabilitě vnitřního prostředí hálky. Nejedná se ani tak o teplotní výkyvy prostředí, které nebývají pomocí hálek vyrovnávány (Baust *et al.*, 1979). Jejich výhody jsou hlavně v udržování stabilní vlhkosti rozdílné od okolí. Proto je více hálkotvorných organismů v pouštích Střední Ameriky než v tropech a zároveň bývá větší diverzita hálek v drsnějších povětrnostních podmínkách (Fernandes & Price, 1988). Nutriční hypotéza považuje za hlavní aspekt tvorby hálky zvýšený příjem potravy (Abrahamson & McCrea, 1986) a zároveň sníženou koncentraci obranných látek rostlin (Cornell, 1983). To se zdá být velkým pozitivem pro cecidogenní hmyz. Poslední hypotézou pro vznik hálek je ubránění se nepříteli, tj. predátorovi nebo parazitoidovi (nepřátelská hypotéza) (Askew, 1961; Bailey *et al.*, 2009).

Kombinace více hypotéz je samozřejmě možná, protože ani v přírodě nefungují selekční tlaky odděleně. Nejpravděpodobnější je souhra nutričních a mikrohabitatových kvalit hálek. Nepřátelská hypotéza není obecně přijímána, protože spektrum parazitů hálkotvorného hmyzu je vyšší než u hmyzu volně žijícího (Hawkins & Gagné, 1989; Price, 1987). Později ale bude ukázáno, že parazitoidi mohou mít vliv na různorodé tvary hálek.

Diverzita hálkotvorných organismů je vysvětlována adaptivní radiací na hostitelských rostlinách právě v době radiace krytosemenných rostlin. Fylogeneze rostlin tudíž nepodmiňuje fylogenezi původců hálek. V rámci jednoho rodu je možné nalézt parazity (tedy hálkotvorné organismy) více druhů, rodů i čeledí rostlin. Studie nasvědčují tomu, že exploatování nových hostitelů vychází z ekologické podobnosti hostitelských rostlin spíše než z jejich příbuznosti.

Žlabatky a bejlomorky se tedy chovají oportunisticky a využívají zdroje ve svém přirozeném habitatu. Pro rychlou radiaci a speciaci žlabatek a bejlomorek svědčí také velká početnost a malá morfologická divergence dospělých jedinců z různých rodů. Nejvíce zástupců mají právě ty skupiny, které se adaptovaly na tvorbu hálek (Price, 2005). Tato studie považuje i rostlinné orgány za volné niky a tudíž přisuzuje sympatrickou speciaci oportunismu žlabatek a bejlomorek. Ovšem pro vysvětlení tvarové rozrůzněnosti cecidií, s jakou se můžeme setkat, nestačí jen dostatečný počet volných nik.

Diverzita hálek totiž pramení nejen z dostupnosti zdrojů, ale může to být i důsledek selekčního tlaku vyvíjeného ze strany parazitoidů a jiných predátorů. Například změnou cílového orgánu pro kladení vajíčka herbivorem by se omezil útok parazitoidů díky tomu, že parazitoid by nenašel místo pro nakladení svého vajíčka. Lokační chování parazitoidů bývá fixní a samičky prohledávají cílové orgány rostlin. Pokud by se pozice hálky změnila, tak by larva jejího původce unikla celé škále parazitoidů. Takto to bylo popsáno u žlabatek způsobující hálky na dubech (Bailey *et al.*, 2009; Cornell, 1983).

Disparita, tedy tvarová rozlišnost dubových hálek, je zapříčiněna hlavně útoky parazitoidů v průběhu jejich společné historie (tzv. „ghost of parasitism past“) a adaptacemi hálkotvorných živočichů, které byly mířeny proti těmto útokům. Cornell (1983) a Stone a Cook (1998) shrnují tyto způsoby úniku: (1) Hálka může zvětšovat svůj průměr, a to i extenzivním růstem epidermálních trichomů nebo tvorbou vzduchových bublin mezi stěnou hálky a komůrkou larvy; (2) může lignifikovat stěnu; (3) tvorba lepivého sekretu na povrchu hálky má také adaptivní význam; (4) existují i hálky s nektárii pro mravence, kteří pak hálku chrání; (5) falešné struktury bez komůrek poslouží zmatení parazitoida; (6) naopak mnoho-komůrkové hálky zajistí aspoň části svých obyvatel přežití i při případném napadení parazitoidy (Jones, 1983). Obecně, vizuálně orientující se parazitoidi působí disruptivním selekčním tlakem na vzhled hostitele (Price, 1975).

Žlabatky na dubech navíc mají často dvě generace, které tvoří rozdílně vypadající a umístěné hálky. Selekční tlak ze strany parazitoidů nabízí vysvětlení i tohoto jevu. Pokud by byly hálky obou generací stejné, nabízely by se stejným druhům parazitoidů a ti by profitovali více, než když jsou generace odlišeny. Tím se navíc snižuje kompetice mezi generacemi jednoho druhu (Askew, 1961; Askew, 1980; Price, 1975).

Ne všechny morfologické znaky dubových hálek jsou ale přizpůsobením jen vůči hmyzím parazitoidům. Některé mohou prodlužovat čas zpracování kořisti obratlovčím predátorům. Mezi tato morfologická přizpůsobení patří řidčeji rozmístěné trichomy na povrchu hálky (Stone & Cook, 1998).

Naopak u bejlomorek nebylo vypozorováno, že by se složení a početnost komunity parazitoidů nějak zásadně měnily s množstvím napadených rostlinných orgánů v rámci jednoho druhu nebo rodu rostliny. Jinak řečeno, parazitoidi napadali různě vypadající hálky na různých orgánech rostlin stejnou měrou (Hawkins & Gagné, 1989; Hawkins & Goeden, 1984). Pro cecidogenní skupinu z čeledi Cecidomyiidae může být proto shrnuto, že diverzita společenstva jejích parazitoidů není spojena s komplexitou rostlinných hostitelů a tedy s počtem volných nik (Hawkins & Gagné, 1989). Další hypotézy pro vznik různých tvarů a povrchů hálek u bejlomorek byly navrženy Waringem a Pricem (1989). Patří mezi ně genetický drift bez adaptivního aspektu a přizpůsobení se radiaci ze slunce.

2.2 Parazitoidi bejlomorek a žlabatek

2.2.1 Obecná charakteristika

V této práci se budu zabývat hlavně parazitoidy ze skupiny chalcidek (Hymenoptera: Chalcidoidea), čeledi Torymidae, rodu *Torymus* Dalman, 1820. Jejich hostitelé jsou převážně žlabatky a bejlomorky, méně vrtule a výjimečně i některé hálkotvorné chalcidky.

Parazit je definován jako organismus žijící na nebo v jiném organismu, ze kterého čerpá živiny, škodí mu a zároveň disponuje adaptacemi k maximalizaci využití zdrojů z hostitele (Price, 1975). Parazitoid se liší od parazita tou vlastností, že hostitel nakonec vždy zahyne. Co se týče blanokřídlých parazitoidů Hymenoptera: „Parasitica“, tak dospělé volně žijící samice mají efekt predátora, protože jejich cílem je více jedinců hostitelského druhu. Jimi nakladená vajíčka a později larvy jsou parazitoidi (Price, 1975).

Parazitoidi dokáží ovlivnit distribuci, disperzi, chování, socialitu, morfologii a fenologii hostitelů (Price, 1975). Pokusím se popsat některé z těchto dopadů právě na příkladu chalcidek. Některá ovlivnění byla zmíněna již v kapitole 2.1.4.

Nejdříve se zaměřím na rozdělení parazitoidů podle způsobů, jakým napadají hostitele. Rozlišují se polyfágové, monofágové, ektoparazitoidi a endoparazitoidi. Monofágové neboli specialisté jsou skupiny parazitoidů, které jsou specifické vůči svému hostiteli a dodržují pravidlo jeden na jednoho, tedy jeden druh parazita napadá jen jeden druh nebo jednu generaci hostitele. Polyfágní jsou takové druhy, které napadají více druhů hostitelů z různých rodů. Mohou být také nazýváni generalisty. Ektoparazitoidi se liší od endoparazitoidů způsobem konzumace hostitele. Jeho vnitřními tkáněmi se začíná živit endoparazitoid.

Ektoparazitoid jej naopak požírá zvenčí, čili začíná vnějšími tkáněmi. Erudovaný přístup zvolili Askew a Shaw (1986), když rozdělili parazitoidy na koinobionty a idiobionty. Koinobiont po nakladení dovolí svému hostiteli získávat potravu z vnitřní stěny hálky, i když při tom sám hostitele požírá. Tato strategie je kombinovaná s endofagií a s monofagií. Parazitoid je schopen rozlišit tkáně, které jsou nutné pro zachování základních životních funkcí hostitelské larvy a krmí se na nich až jako na posledních. Výhodou mu je to, že hostitel dál roste, a proto není omezen přísunem potravy. Idiobiont je takový parazitoid, který během kladení nebo těsně po něm paralyzuje nebo zabije svého hostitele. Často jej potom konzumuje zvenčí. Je zde tedy jasná spojitost s ektofagií a s polyfagií.

Různé způsoby života popsané výše s sebou nesou podle Askewa (1975) mnoho přizpůsobení a obecných závěrů o struktuře společenstev. Nejprve musím poukázat na velký rozdíl mezi monofagií a polyfagií. Monofagie se zdá být evolučně starší než polyfagie. Monofágové mají jen jednu generaci v roce a napadají své hostitele v rané fázi jejich vývoje. Tehdy jsou hálky malé a hálkotvorné larvy často ještě nebývají napadeny jinými druhy parazitů. Zdrojů je tím pádem dost a samičky bývají obtěžkány velkým počtem vajíček, aby mohly maximalizovat reprodukční potenciál. Poměr pohlaví bývá posunut směrem k samicím. Nevýhodou je, že larva hostitele bývá v této fázi vývoje ještě malá, proto se parazitoid přikrmuje na rostlinné tkáni, ať po nebo před konzumací hostitele. Polyfágové oproti tomu bývají polyvoltinní, generace se mohou i překrývat. V každé generaci je více samců než u monofágů, ale stále je poměr vychýlen ve prospěch samic. Čím širší je spektrum hostitelů, tím větší procento samců se rodí. To by mohlo být vysvětleno faktem, že čím pravděpodobnější je nalezení hostitele, tím menší risk podstupuje daná populace v podobě investice do samců. Potomstvo tím naopak získává na variabilitě. V polyfágních samicích se vyvíjí menší počet vajíček hlavně ze dvou důvodů. Rozmnožují se ve více generacích za rok, čímž je kompenzován nižší počet potomků v jedné generaci. Generace, které se objevují koncem sezóny, jsou konfrontovány s hálkami, které jsou již zralé, často s lignifikovanou vnější stěnou. I přes to, že kladélko je velmi ostré, roste čas kladení až na 20 minut u každé z hálek. Proto se nemůže vosičce podařit atakovat tolik hostitelů jako to dokáže časný monofág.

Polyfágní ektoparazitoidi jsou druhy starších společenstev, jsou to klimaxové druhy. To zároveň naznačuje, že jsou vývojově mladší. Zástupci rodu *Torymus* parazitující na dubových žlabatkách jsou typickými polyfágy (Askew, 1961). Selekci na polyfagii si Askew (1975) představuje tak, že z monofágních endofágních druhů se časem stávají polyfágní ektofágové. Aby mohli parazitoidi projít více generacemi za rok, což je selekčně výhodné, musí najít vhodné hostitele i později během sezóny. V tu dobu je ale většina hálek již parazitována.

Proto by bylo pro vosičku velmi nevýhodné, kdyby její potomstvo nebylo schopné dospět v jakékoliv hálce. Bylo zaznamenáno, že generalista, který komůrku v hálce napadne jako poslední, zkonzumuje všechny předchozí obyvatele a vylétne jeho dospělec. U specialistů tento jev nefunguje. Do dospělosti přežívá ten, který je do komůrky nakladen jako první.

Podobný mechanismus selekčního tlaku na polyfagii se projevuje i u druhů napadajících společenství bejlomorek na rodu *Atriplex* Linnaeus v jižní Kalifornii. Zde jsou parazitoidi z rodu *Torymus* často hyperparazitoidní a multivoltinní, takže obstojí v konkurenci s ostatními specializovanějšími druhy (Hawkins & Goeden, 1984).

2.2.2 Příklady koevoluce parazitoidů rodu *Torymus* a jejich hostitelů

Stone a Schönrogge (2003) shrnují, jakým způsobem hostitelé bojují proti napadení parazitoidy. Není to jen vnější morfologie hálky zmíněná výše, ale i změny fenologie, změny lokace hostitele jako například oddělení se od hostitelské rostliny a odpadnutí na zem, kde parazitoidi nebývají aktivní. Herbivoři také omezují zdroje přístupné parazitoidům tím, že dokud není velikost a stěna hálky dostatečně zralá, aby je ochránila, jejich larva pozdržuje svůj růst a není dostačující potravou pro dokončení vývinu jakéhokoliv parazitoida. Na to ovšem odpovídají i parazitoidi.

Nabízí se příklad ze společenství dubových žlabatek a jejich parazitoidů, kde jsou zaznamenány dvě možné strategie, které eliminují riziko nedostatku potravy při napadení časné hálky (Askew, 1961). Druhy *Torymus auratus* Müller, 1764 a *T. cyaneus* Walker, 1847 napadají hálky *Cynips divisa* Hartig, 1840. Oba druhy ji napadají záhy, ještě během prvního instaru larvy. *T. auratus* nejdříve zkonzumuje obyvatele hálky a následně se musí přiživovat na rostlinných tkáních, které sloužily jako potrava pro žlabatku. V tomto případě se zastaví vývin hálky, její stěna nedozraje a velikost se nezvětší. Díky tomu jsou larvy parazitoida zranitelné a většina jich zemře po napadení polyfágními parazitoidy v průběhu sezóny. Naopak *T. cyaneus* se nejdříve živí rostlinnou tkání stejně jako larva hostitele, kterou nechává dorůst. Zkonzumuje ji až potom, co velikost hálky dosáhne stejných proporcí jako hálka zdravé žlabatky. Tento fakt zaručí larvě *T. cyaneus* pouze třetinovou mortalitu z počtu nakladených vajíček.

Mezi nejprozkoumanější společenství patří již několikrát zmíněná komunita složená z dubů rodu *Quercus* Linnaeus a jejich hálkotvorných žlabatek podčeledi Cynipinae, které hostí parazitoidy z šesti čeledí chalcidek a další skupiny inkvilínů a parazitoidů (Askew, 1975). Duby se dělí do několika sekcí, které se morfologicky odlišují. V palearktické oblasti jsou

nejdůležitějšími sekcemi *Quercus* (hlavně *Q. robur*, *Q. petraea* a *Q. ilex*) a *Cerris* (hlavně *Q. cerris*, *Q. suber*, *Q. infectoria* a *Q. brantii*). Rody žlabatek specializujících se na duby sekce *Cerris* jsou molekulárně značně divergentní od žlabatek sekce *Quercus*, popřípadě od žlabatek s generacemi alternujícími mezi sekcemi dubů (Stone *et al.*, 2009). Jejich parazitoidi byli také zkoumáni a ukázalo se, že starší studie prosazovaly spíše polyfagii mnohých zástupců rodu *Torymus* v tomto společenství (Askew, 1961; Askew, 1965). Existuje však novější práce, která pomocí genetických markerů nachází kryptické druhy se skrytou specializací druhu *T. flavipes* a dalších druhů chalcidek (Kaartinen *et al.*, 2010). *T. flavipes* se v této studii projevil jako taxon skrývající dva kryptické druhy odlišené pomocí fenologie hostitelů. *T. flavipes* 1 se specializuje na hálky jarní, tedy pohlavní generace mnoha druhů žlabatek. *T. flavipes* 2 byl vychován jen z podzimní asexuální generace žlabatky *Neuroterus quercubaccarum* (Linnaeus, 1758). Jedná se tedy o individuální specializaci, která může být předstupněm speciace?

Bylo by zajímavé sledovat, jestli jedinci jednoho druhu nebo druhy rodu *Torymus* parazitující dubové žlabatky budou vykazovat divergenci v sekvencích podle sekce hostitelského dubu, stejně jako tomu bylo u rodů žlabatek (Stone *et al.*, 2009). Podle výsledku by se dalo usuzovat na míru specializace či polyfagie druhů parazitoidů. Navíc by výsledek pomohl s rozřešením způsobu orientace a rozpoznávání hostitelských druhů. Zatím se autoři domnívají, že orientace je převážně optická (Askew, 1961; Price, 1975), ale neví se, zda se druhy orientují podle vzhledu hostitelské hálky nebo podle vzhledu hostitelské rostliny.

2.3 Rod *Torymus*

V rámci rodu *Torymus* Dalman, 1820 bylo dosud popsáno 405 druhů, díky čemuž se rod řadí mezi nejpočetnější z čeledi Torymidae (Noyes, 2011). Většina druhů je rozšířena v holarktickém areálu, pouze několik druhů se vyskytuje v afrotropické, australské, neotropické a orientální oblasti (Grissell 1995). Z australské oblasti je udáváno pouze pět druhů, přičemž u třech z nich se uvažuje o možné introdukci z Evropy (Bouček, 1988).

Nejčastějšími hostiteli rodu *Torymus* jsou larvy hálkotvorných žlabatek, bejlomorek a vrtulí. Mezi další hostitele patří nedospělá stadia brouků z čeledí Scolytidae, Curculionidae a Cerambycidae. Některé druhy se specializují na parazitaci larev žahadlových blanokřídlých (Hymenoptera: Aculeata) ve stoncích rostlin či odumřelých hálkách. Někteří zástupci jsou fytofágní (podařilo se je vychovat ze semen krytosemenných rostlin) či dokonce zoofytofágní

(například u druhu *Torymus cyaneus* Walker, 1837, *T. aea* Walker, 1834, *T. cecidomyiae* Walker, 1844 bylo prokázáno (Askew, 1961; Grissell, 1976; Collett in litt.), že se nejprve živí na larvě hostitele a pak okolním pletivem hálky.

Dříve byl rod *Torymus* klasifikován do dvou rodů, a to *Diomorus* Walker, 1834 a *Torymus* Dalman, 1820 (Grissell, 1976; 1995). Oba dva rody jsou charakterizovány oblým výběžkem metanota zasahujícím do mesonota a odlišují se pouze přítomností (rod *Diomorus*) nebo absencí (rod *Torymus*) ostrého zubu na zadním stehně (Bouček, 1988). K vyřešení problematiky *Diomorus* vs. *Torymus* přispěl Bouček (1996), který popsal druh *Torymus pulcher* Bouček, 1996 (dnes synonymum *T. kononovae* Zerova & Seregina, 1991 – Noyes, 2011), jenž vykazuje přechodné znaky obou rodů. Na základě toho Graham a Gijswijt (1998) synonymizovali oba rody.

Graham a Gijswijt (1998) stanovili celkem 13 druhových skupin podle morfologických znaků a podle hostitelských vazeb. Toto rozdělení se vztahuje pouze k evropským druhům. Rod *Torymus* sestává z druhových skupin *austriacus* group, *baudysi* group, *bedeguaris* group, *cingulatus* group, *cupreus* group, *cyaneus* group, *erucarum* group, *flavipes* group, *hederae* group, *laetus* group, *nitidulus* group, *pulchellus* group, *varians* group a z pěti druhů jako species sola, tj. *Torymus apiomyiae* Bouček et Mihajlovic, 1986, *Torymus armatus* Boheman, 1834, *Torymus arundinis* Walker, 1833, *Torymus azureus* Boheman, 1834 a *Torymus favardi* Steffan, 1962 (Graham & Gijswijt, 1998). Podobně byly rozděleny i druhy vyskytující se v Severní Americe a to již Grissellem v roce 1976 (Grissell, 1976). Jedná se o *advenus* group, *bedeguaris* group, *fullawai* group, *tubicola* group a *varians* group. Některé druhy, které se vyskytují v obou regionech, proto spadají do dvou druhových skupin. Podrobněji viz tabulka 1 v příloze, kde je uvedeno i morfologické vymezení jednotlivých skupin.

Níže následuje výčet jednotlivých druhových skupin, resp. species sola, včetně zástupců, které do ní patří, způsobu života a rozšíření. Pokud není uvedeno jinak, tak tyto informace pocházejí z databáze Universal Chalcidoidea Database (Noyes, 2011) a monografie Graham a Gijswijt (1998).

Druhová skupina *austriacus* zahrnuje druhy *T. austriacus* Graham, 1994 a *T. imperatrix* Graham & Gijswijt, 1998. Rozšíření sahá od Evropy po střední Asii. Co se týče hostitelského spektra této skupiny, tak nejsou dostupné žádné informace.

Do druhové skupiny *baudysi* group patří *T. baudysi* Bouček, 1954. Je pravděpodobně blízce příbuzný severoamerickému druhu *T. thalassinus* Crosby, 1908 (Graham & Gijswijt, 1998), který ovšem spadá do nearktické druhové skupiny *tubicola*. Do této skupiny zařadil

ještě Zavada (2003) druh *T. tatianae* Zavada, 2003. Mezi hostitele patří chalcidky z čeledi Eurytomidae tvořící hálky na travách, ale i jiný hálkotvorný hmyz.

Největší druhovou skupinou je *bedeguaris* group, která zahrnuje většinu evropských druhů. Dělí se na čtyři podskupiny: *bedeguaris*, *chloromerus*, *juniperi* a *tipularium*. Podskupina *bedeguaris* zahrnuje druhy *T. auratus* Müller, 1764, *T. bedeguaris* Linnaeus, 1758, *T. eadyi* Graham & Gijswijt, 1998, *T. eglanteriae* Mayr, 1874, *T. geranii* Walker, 1833, *T. rubi* Schrank, 1781, *T. thymi* Ruschka, 1921. Autoři se domnívají, že může zahrnovat i druhy *T. boops* Graham, 1994 a *T. microstigma* Walker, 1833. Tato podskupina má holarktické rozšíření. Hostitelé jsou hlavně bejlomorky a žlabatky. Všechny druhy této podskupiny se vyznačují nápadně hrubou skulpturou středohrudi. Podskupina *juniperi* obsahuje druhy *T. caudatus* Boheman, 1834, *T. flavovariegatus* Gijswijt, 1990, *T. juniperi* Linnaeus, 1758, *T. nigritarsus* Walker, 1833 a *T. spilopterus* Boheman, 1834. Mimo *T. caudatus*, který je rozšířen holarkticky, jsou ostatní zástupci známí pouze z Evropy. Jejich larvy parazitují jen na bejlomorkách s výjimkou *T. spilopterus*, který byl nalezen i v hálce žlabatky. Podskupina *tipularium* je zastoupena druhy *T. amurensis* Walker, 1874, *T. basalis* Walker, 1833, *T. curticauda* Graham & Gijswijt, 1998, *T. novitzkyi* Graham, 1994, *T. salicis* Graham, 1994 a *T. tipulariarum* Zetterstedt, 1838. Jsou rozšířeni v Evropě, kromě *T. amurensis*, který se vyskytuje také v Amurské oblasti Ruska. Druhy z podskupiny *tipularium* subgroup obývají převážně oblasti mírného pásma a jsou asociovány hlavně s vrbami a jejich herbivory (Coleoptera: Cerambycidae, Hymenoptera: Tenthredinidae, Diptera: Cecidomyiidae). Druhová podskupina *chloromerus* subgroup v rámci *bedeguaris* group je druhově nejpočetnější. Zástupci v této podskupině jsou parazitoidi zejména bejlomorek, méně žlabatek. Je to převážně sběrná skupina a proto není možné ji jednoznačně morfologicky vymezit.

Další druhovou skupinou je *cingulatus* group. Jeho zástupci jsou *Torymus angelicae* Walker, 1836, *Torymus cingulatus* Nees, 1834, *Torymus filipendulae* Graham & Gijswijt, 1998, *Torymus micrurus* Bouček, 1994, *Torymus poae* Hoffmeyer, 1930, *Torymus quercinus* Boheman, 1834, *Torymus triangularis* Thomson, 1876. Rozšíření jsou převážně v Evropě kromě *T. filipendulae*, který se nachází i na východě Ruska. Mezi hostitele patří bejlomorky a žlabatky na stromech i bylinách.

Druhová skupina *cupreus* group zahrnuje *T. calcaratus* Nees, 1834, *T. cupreus* Spinola, 1808 a *T. kononovae* Zerova & Seregina, 1991. Druhy *T. cupreus* a *T. calcaratus* jsou rozšířeny po celé palearktické oblasti a vyvíjí se na larvách Sphecidae, Apidae a Cynipidae.

Do této skupiny patrně patří i severoameričtí zástupci druhové skupiny *fullawayi* group, kteří mají vyvinut nápadný zub na zadním stehně.

Morfologicky a hostitelsky rozlišená skupina druhů s názvem *cyaneus* group zahrnuje druhy *T. affinis* Fonscolombe, 1832, *T. cerri* Mayr, 1874, *T. cyaneus* Walker, 1847, *T. fastuosus* Boheman, 1834, *T. gracilior* Graham, 1994, *T. notatus* Walker, 1833. Většina druhů obývá pouze evropské státy, jen *T. affinis* je rozšířen i na východě Ruska. Mezi jejich známé hostitele se řadí pouze žlabatky na dubech. Jediný druh vyvíjející se i na žlabatkách na jiných rostlinách je *T. notatus*.

Erucarum group je skupina druhů, která zahrnuje *T. erucarum* Schrank, 1781, *T. formosus* Walker, 1833, *T. nobilis* Boheman, 1834, *T. roboris* Walker, 1833, *T. scutellaris* a *T. nemorum* Bouček, 1994. Všechny druhy mají evropské rozšíření kromě *T. formosus*, který se kromě Evropy nachází i v Sachalinské oblasti Ruska. Hostitelé jsou hlavně žlabatky na dubech, ale *T. erucarum* parazituje i hřebenule (Hymenoptera: Symphyta: Diprionidae) a obaleče (Lepidoptera: Tortricidae). Dle Grahama a Gijswijta (1998) je tato skupina specializována na žlabatky tvořící hálky na kmenech a kořenech dubů.

Druhová skupina *flavipes* group zahrnuje jen dva druhy, tj. *T. flavipes* Walker, 1833 a *T. longicalcar* Graham, 1994. Druh *T. flavipes* je rozšířen po celé palearktické oblasti. *T. longicalcar* žije jen v Evropě. Původně byla tato skupina pokládána za parazity žlabatek na dubech (Graham & Gijswijt, 1998), ale postupně bylo pozorováno daleko širší spektrum hostitelů na více druzích rostlin (bejlomorky a vrtule).

Druhová skupina *hederae* group zahrnuje druhy *T. fagi* Hoffmeyer, 1930, *T. fagineus* Graham, 1994, *T. hederae* Walker, 1833 a *T. speciosus* Boheman, 1834. Všechny tyto vosičky se vyskytují jen v Evropě a napadají pouze hálky bejlomorky *Mikiola fagi* Hartig, 1839.

Druhová skupina *laetus* group obsahuje druhy *T. arcticus* Thomson, 1876, *T. chrysocephalus* Boheman, 1834, *T. cyprianus* Graham & Gijswijt, 1998, *T. fischeri* Ruschka, 1921, *T. grahami* Bouček, 1994, *T. igniceps* Mayr, 1874, *T. laetus* Walker, 1833, *T. regalis* Walker, 1833, *T. scaposus* Thomson, 1876 a *T. ventralis* Fonscolombe, 1832. Distribuce taxonů je po celé Evropě. Druhy *T. laetus* a *T. arcticus* jsou ovšem přítomny i na Kamčatce a v Sachalinské oblasti Ruska. Jejich biologie často není známa. Z toho, co je známo, lze vyvodit, že parazitují na bejlomorkách a žlabatkách na ostřicích a na několika běžných druzích stromů a keřů jako je růže nebo buk. Jejich asociace s rostlinami je pravděpodobně původně omezena na různé druhy ostřic v chladnějším a vlhčím mírném pásmu (Graham & Gijswijt, 1998). Tomu odpovídá známé rozšíření jednotlivých druhů.

Druhová skupina *nitidulus* group zahrnuje *T. fuscicornis* Walker, 1833 a *T. nitidulus* Walker, 1833. *T. nitidulus* je rozšířen holarkticky a *T. fuscicornis* palearkticky. Jejich hostiteli jsou bejlomorky rodu *Semudobia* Kieffer, 1913 na břízách (Graham & Gijswijt, 1998).

Druhy ze skupiny *pulchellus* group jsou jen tři, a to *T. lampros* Graham, 1994, *T. microcerus* Walker, 1833 a *T. pulchellus* Thomson, 1876. Rozšířeny jsou v mírném pásmu Evropy a napadají hálky bejlomorek na vrbách.

Poslední skupinou je *varians* group, která se skládá z evropských druhů *T. aucupariae* Rodzianko, 1908, *T. druparum* Boheman, 1834 a *T. varians* Walker, 1833. Druh *T. aucupariae* se vyskytuje v holarktické oblasti, zbylé dva druhy jsou na všech kontinentech (druh *T. varians* není pouze v Jižní Americe). Druhy této skupiny jsou buď fytofágní na semenech čeledi Rosaceae (*T. varians* a *T. druparum*) nebo parazitují fytofágní larvy rodu *Megastigmus* Dalman, 1820 (Hymenoptera: Torymidae).

Druhy řazené jako species sola jsou *T. apiomyiae* (parazitoid bejlomorek na hrušních na Balkánském poloostrově), *T. armatus* (vyskytuje se v Evropě, na východě Ruska, v Japonsku a na Papui Nové Guineji a parazituje nedospělá stadia žahadlových blanokřídlých), *T. arundinis* (vyskytuje se v Evropě a na východě Ruska, jeho larvy se živí larvami bejlomorek na rákosu), *T. azureus* (je rozšířen v mírném pásmu nearktické oblasti a specializuje se na fytofágní hmyz asociovaný s různými druhy smrků) a nakonec *T. favardi* (byl zatím zjištěn jen ve Francii a Španělsku, kde napadá dubové hálky způsobené bejlomorkami a žlabatkami).

Graham a Gijswijt (1998) nepovažovali za užitečné zavádět podrody. Naopak v práci Zavady (2003) bylo použito dělení některých druhů rodu *Torymus* do pěti podrodů. Dva byly popsány jako nové, a to podrod *Actorymus* Zavada, 2003 a *Areotorymus* Zavada, 2003. Tři podrody byly vytvořeny za použití rodových názvů pro rod *Torymus*, které s ním byly dříve synonymizovány. Mezi ně patří podrod *Callimomus* Thomson, 1876, *Lioterphus* Thomson, 1876 a *Torymus* Dalman, 1820 sensu stricto.

Zavada (2003) označil *chloromerus* subgroup za nejpůvodnější a nejpodobnější druhům plesiomorfního rodu *Pseudotorymus* Masi, 1921. Podrod *Arctorymus* podle autora zahrnuje druhy z *baudysi* group a druh *Torymus tatianae* Zavada, 2001. Některé druhy nearktické skupiny *tubicola* group byly taktéž zařazeny do podrodu *Arctorymus*. Do podrodu *Areotorymus* byly přiřazeny druhy *Torymus calcaratus* Nees, 1834 a *Torymus cupreus* Spinola, 1808. Podrod *Callimomus* zahrnuje všechny druhy skupin *austriacus* group a *laetus* group. Podrod *Lioterphus* je složením shodný s *nitidulus* group. Do podrodu *Torymus* s. str. byly zařazeny všechny zbývající taxony.

3 Cíle práce

Obecně jsou zástupci rodu *Torymus* považováni za polyfágy a generalisty (Askew, 1961). Z revize evropských druhů (Graham & Gijswijt, 1998) ovšem vyplývá, že některé druhy parazitující na bejlomorkách se specializují na jeden druh hálky respektive na jeden druh rostliny. Bejlomorky totiž nemívají tolik druhů hálek na jednom rodě rostliny jako žlabatky. Pro žlabatky platí, že 80 % jejich druhů exploatuje růže a duby (Harper *et al.*, 2004). Parazitoidi žlabatek z rodu *Torymus* se specializují na niku, v které najdou hostitele často mnoha druhů a rodů (Noyes, 2011). Zde jsou tedy pravými polyfágy. V této práci se pokusím odpovědět na několik otázek.

1. Jsou druhové skupiny navržené pro evropské druhy monofyletické a je v navržené fylogenezi i nějaký morfologický trend?

2. Jaká potravní strategie byla původní pro rod *Torymus* a jakou roli hrají ve fylogenezi druhy specializující se na jiné než hálkotvorné hostitele, druhy fytofágní a druh napadající chalcidky tvořící hálky na travách?

3. Je správný předpoklad vyšší specializace rodu *Torymus* na hostitele z čeledi Cecidomyiidae? Jak případné zjištění ovlivní počet druhů v rámci rodu?

4. Je ve fylogenezi oddělena linie druhů rodu *Torymus* parazitující žlabatky od druhů parazitujících bejlomorky?

5. Jsou si navzájem příbuznější druhy nebo jedinci specializující se na prohledávání určité niky (stromy rodu *Quercus*, stromy dvou sekcí rodu *Quercus*, hálky na ostřicích apod.)?

4 Materiál a metodika

4.1 Materiál

Dospělci druhů rodu *Torymus* a zkoumaných outgroups byli postupně získáváni smykem či odchovem z nasbíraných hálek. Hálky určené pro chovy byly umístěny do chovných boxů a byly od jara do podzimu kontrolovány v týdenním intervalu. V zimních měsících byl materiál uskladněn ve venkovních prostorách k přezimování. Sebraný nebo odchovaný materiál byl většinou usmrcen rovnou 96% EtOH. Skladován byl také v 96% EtOH v plastových 1,5 ml zkumavkách při -18 °C. V příloze je tabulka 2 všech taxonů (OTU) použitých v analýzách včetně jejich přesné lokalizace a případných údajích o hostitelských druzích či rostlinách. V tabulce 3 v příloze je zaznamenáno, které geny z kterých OTU se podařilo získat pro fylogenetické analýzy.

Určování

Všichni jedinci, ze kterých byla získána DNA, byli následně skladováni v 96% EtOH. Nakonec byli umístěni do porézních plastových kolonek a alkoholovou řadou převedeni do 100% EtOH (2 x 1 hodinu v 96% EtOH, 1 x 1 hodinu ve 100% EtOH a 12 hodin ve druhé lázni se 100% EtOH). Z poslední lázně byli přesunuti do přístroje Bal-Tec CPD 030, který je vysušil metodou kritického bodu za použití tekutého CO_2. Díky tomuto typu vysoušení materiálu nebyly exoskeletální struktury deformovány a mohlo být přistoupeno k preparaci a ke kontrole taxonomické příslušnosti zkoumaných vzorků. Jedinci byli určováni dle monografie Graham & Gijswijt, 1998.

4.2 Molekulárně-biologické metody

Izolace DNA

DNA byla izolována z materiálu za použití proteinázy K (Qiagen) a 5% roztoku Chelexu (Biotechnology Grade Chelex, 100 Resin, 100-200 mesh, sodium form, Bio-Rad Laboratiries) podle návodu od D.C. Hawkse (University of California, Riverside), viz příloha 4 v elektronické příloze. Návod byl upraven v bodě 7, kdy se místo 100 °C používala teplota 98 °C. Jedinci, ze kterých byla izolována DNA, zůstali ve většině případů vcelku, bez porušených morfologických struktur.

Amplifikace DNA

Pro amplifikaci daných fragmentů genů bylo použito metody polymerázové řetězové reakce (PCR). Reakce byly prováděny v termocykléru C1000™ Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratories) v laboratoři oddělení Entomologie a v termocykléru iCycler™ Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratories) v Laboratoři pro výzkum biodiverzity.

Byly zkoumány dva mitochondriální geny a jeden jaderný gen. Gen pro mitochondriální protein cytochrom oxidáza, podjednotka 1 (COI) je používán v mnoha fylogenetických studiích různých skupin živočichů (Folmer *et al.*, 1994). Stejně tak druhý mitochondriální gen kódující cytochrom B (CytB) je často používán ve fylogenetických studiích mnoha živočichů (Simmons & Weller, 2001). Oba geny kódují části dýchacího řetězce. Předcházející dva geny byly doplněny jaderným genem pro malou podjednotku eukaryotního ribozomu komponenty 28S, regionu D2 (28SD2 rDNA). Tato část genu bývá také používána ve fylogenetických studiích (Campbell *et al.*, 1994). Použité primery byly převzaty z literatury a jsou shrnuty v tabulce 1. Výrobu všech primerů, tj. pro gen 28SD2 rDNA, CytB a COI zajistila firma KRD molecular technologies. Nastavení termocyklérů pro amplifikaci jednotlivých genů je zaznamenáno v tabulkách 2 – 4. Počet cyklů pro gen CytB byl variabilní v závislosti na kvalitě vyizolované DNA. U genu 28SD2 rDNA byla pro větší specifitu nasedání primerů pro některé vzorky zvolena teplota o 2 – 3 °C nižší. U termocykléru C1000 bylo zapnuto vyhřívání víka, u iCycleru™ nikoliv.

Název primeru (směr čtení)	**Designováno**	**Sekvence v orientaci 5' - 3'**	**Název genu a délka amplifikovaného fragmentu**
LCO1490 (F)	(Folmer *et al.*, 1994)	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG	COI – 710 bp
HCO2198 (R)	(Folmer *et al.*, 1994)	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	COI – 710 bp
CB1 (F)	(Jermiin & Crozier, 1994)	GATGATGAAATTTTGGATC	CytB – 720 bp
CB2 (R)	(Jermiin & Crozier, 1994)	ATTACACCTCCTAATTTATTAGGAAT	CytB – 720 bp
28SD2F (F)	(J. Heraty, UC Riverside in litt)	CGGGTTGCTTGAGAGTGCAGC	28SD2 rDNA – 580 bp
28SD2Ra (R)	(J. Heraty, UC Riverside in litt)	CTCCTTGGTCCGTGTTTC	28SD2 rDNA – 580 bp

Tabulka 1: Primery použité pro amplifikaci částí genů z jader a mitochondrií zástupců čeledi Torymidae

Fáze	Počet opakování	Teplota °C	Čas s
Počáteční denaturace	1x	94	180
Denaturace	30x	92	30
Nasedání		48	90
Prodlužování		72	150
Konečné prodlužování	1x	72	600
Zchlazení	1x	12	300

Tabulka 2: Nastavení termocykléru pro amplifikaci genu COI

Fáze	Počet opakování	Teplota °C	Čas s
Počáteční denaturace	1x	94	180
Denaturace	35-45x	92	30
Nasedání		48	90
Prodlužování		72	90
Konečné prodlužování	1x	72	600
Zchlazení	1x	12	300

Tabulka 3: Nastavení termocykléru pro amplifikaci genu CytB

Fáze	Počet opakování	Teplota °C	Čas s
Počáteční denaturace	1x	94	180
Denaturace	35-45x	92	15
Nasedání		52	45
Prodlužování		72	60
Konečné prodlužování	1x	72	600
Zchlazení	1x	12	300

Tabulka 4: Nastavení termocykléru pro amplifikaci genu 28SD2 rDNA

Složení reakční směsi jsou v tabulce 5. Enzymatické zajištění reakce poskytnul Combi PPP Master Mix (Top-Bio). Dodány byly specifické primery, templátová DNA a ddH_20. Množství templátové DNA bylo upraveno podle kvality vyizolované DNA. Pro vzorky číslo 182, 190, 193, 195 a 208 byly pro amplifikaci genu CytB použity chemikálie od firmy Promega, viz tabulka 6. Všechny vzorky byly míchány do výsledného objemu 25 µl.

Název látky	Objem µl
Combi PPP Master Mix	12,5
Templátová DNA	2-3
Primer F	1
Primer R	1
ddH_20	Do 25

Tabulka 5: Objemy a typy chemikálií použitých pro amplifikaci všech genů

Název látky	Objem µl
GoTaq® DNA Polymerase	0,125
Templátová DNA	2
Primer F	1,75
Primer R	1,75
PCR Nucleotide Mix	2,5
5X Green GoTaq® Reaction Buffer	5
$MgCl_2$	0,75
ddH_20	11,125

Tabulka 6: Objemy chemikálií použitých pro amplifikaci genu CytB u vzorků č. 182, 190, 193, 195 a 208

Elektroforéza

Pro ověření úspěchu PCR bylo nutné provést horizontální elektroforézu na 1% agarózovém gelu v TBE pufru. Paralelně s 2 µl PCR produktu bylo do gelu přidáno 1,6 µl standardu Gene Ruler™ 100bp DNA Ladder (Fermentas). Vizualizace DNA v UV světle byla umožněna díky přítomnosti barvícího činidla ethidiumbromidu. Elektroforéza běžela 38 – 40 minut při 100 mA a 400 V.

Purifikace amplifikované DNA

Před sekvenační reakcí bylo nutné PCR produkt zbavit přebytečných pufrů, barviv, enzymů a nukleotidů. Pro tento účel byl použit kit QIAquick PCR Purification Kit a postupováno bylo podle návodu QIAquick PCR Purification Kit Protocol. Pro získání dostatečného výnosu DNA z méně úspěšných PCR byly použity kolonky z MiniElute PCR Purification Kit (Qiagen) ovšem podle výše zmíněného návodu. DNA byla eluována do 30 µl elučního pufru.

Sekvenace DNA

Koncentrace purifikované DNA byla zjištěna pomocí přístroje NanoDrop® (Thermo Fisher Scientific – NanoDrop products). Pokud přístroj ukazoval koncentraci nad 20 $ng \cdot \mu l^{-1}$, tak byl vzorek připraven na sekvenační reakci. Sekvenace různých vzorků probíhala ve dvou různých laboratořích. Příprava na sekvenaci v Laboratoři sekvenace DNA PřF UK zahrnovala smíchání 0,32 µl specifického primeru forward nebo reverse, optimálního množství amplifikované purifikované DNA a doplnění ddH_20 do 14 µl. Optimální množství DNA bylo vypočítáno z koncentrace podle návodu na http://web.natur.cuni.cz/~seqlab/. Sekvenace v této laboratoři probíhala na čtyřkapilárním 3130 Genetic Analyzer nebo na šestnáctikapilárním 3130xl Genetic Analyzer (oba Applied Biosystems).

Druhý způsob přípravy na sekvenaci pro laboratoř Macrogen – Normal automatic sequencing spočíval v zaslání veškerého množství purifikovaného PCR produktu spolu se specifickými primery. Každý vzorek a každý primer byly v samostatné plastové zkumavce. Zde probíhala sekvenace na přístroji 3730XL DNA sequencer (Applied Biosystems).

4.3 Práce se sekvencemi a tvorba fylogenetických stromů

Vyhodnocení chromatogramů a tvorba alignmentu

Chromatogramy obou směrů čtení daného fragmentu DNA byly elektronicky obdrženy ze sekvenačních laboratoří. V programu Bioedit 7.0.9.0 (Hall, 1999) bylo provedeno převrácení reverse částí sekvencí na forward. V tomto stavu byly chromatogramy porovnávány a neshodné báze byly přepisovány podle nejlepšího signálu. Pokud chyběl jasný signál u obou směrů čtení, tak byla neznámá báze nahrazena písmenem N. Všechny sekvence byly na obou koncích zkráceny tak, aby začínaly a končily ve stejné pozici.

Celkový alignment sekvencí jednoho genu byl proveden vykopírováním reverse části do samostatného souboru. Zde pak byly sekvence kódující aminokyseliny (COI, CytB) zalignovány pomocí programu Clustal W (Thompson *et al.*, 1994), který je součástí programu BioEdit. Pomocí programu MEGA4 (Tamura *et al.*, 2007) byly tyto geny přeloženy do sekvence aminokyselin, čímž bylo ověřeno, že neobsahují stop-kodóny. Byl použit genetický kód Flatworm Mitochondrial. Sekvence byly oříznuty tak, aby alignment začínal první bází kodónu a tím byl dodržen čtecí rámec. Do alignmentu COI byly přidány sekvence z diplomové práce Petra Janšty (2006) s kódy začínajícími písmeny PJ (viz tabulka 3 v příloze). Dále byly dodány sekvence z databáze GenBank, jejichž přístupová čísla jsou rovněž uvedena v tabulce 3 v příloze. Do alignmentu části genu Cyt B byly taktéž přidány sekvence z databáze GenBank.

Alignment části genu pro malou ribozomální podjednotku byl vytvořen pomocí masky pro sekundární strukturu RNA, která byla převzata z práce (Gillespie *et al.*, 2005). V této šabloně jsou určeny navzájem párující „stemy“ a nepárující „loopy“. Dále byly do alignmentu připojeny sekvence pro 28SD2 rDNA z již zmíněné diplomové práce P. Janšty (2006).

Pokud byla jakákoliv sekvence velmi odlišná od ostatních, byl použit Basic Local Alignment Search Toll (BLAST) s nastavením blastn (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi). Byla prohledávaná databáze Nucleotide collection (nr/nt) a bylo zjištěno, kterému organismu daná sekvence může patřit. Pokud byla ukázána jiná skupina, než jsou Hymenoptera, tak byly všechny sekvence z datasetu odebrány (případ vzorku č. 182). Odebrány byly však i

sekvence, které byly na první pohled velmi odlišné od ostatních i přes to, že podle BLAST vyšly jako Hymenoptera (COI – vzorek č. 31, 28SD2 rDNA – vzorky č. 117, 130, 131, 154). Důvodem je, že databáze zatím obsahuje velmi málo druhů z čeledi Torymidae, takže ověření správnosti sekvenace DNA jsme byli nuceni dělat i pouhým optickým porovnáním s ostatními sekvencemi. Finální data byla uložena ve formátu fasta.

Spojování sekvencí pro konkatenáty bylo provedeno manuálně v textovém editoru. Následně byly opětovně otevřeny v programu BioEdit a vyexportovány v požadovaném vstupním formátu do dalších analýz. Pro analýzu metodou maximální parsimonie a pro bayesiánskou analýzu byl použit formát nexus. Pro metodu maximální věrohodnosti byly datasety uloženy ve formátu phylip 4.

Jako outgroup byly použity tři OTU ze stejné podčeledi jako rod *Torymus*. Jedná se o *Podagrion pachymerum* Walker, 1833 a dva druhy rodu *Eridontomerus* Crawford, 1907 (*Eridontomerus* sp. 1 a *Eridontomerus* sp. 2.).

Bylo připraveno 6 různých datasetů s charakteristikami uvedenými v tabulce 7. Alignmenty jsou k dispozici v elektronických přílohách ve složce Datasety.

Název	**Číslo**	**Geny v datasetu**	**Počet OTU**	**Počet bází (bp)**
COI	1	Cytochrom oxidáza I	146	904
CytB	2	Cytochrom B	104	747
COI_cytB	3	Cytochrom oxidáza + Cytochrom B	89	1420
28D2_COI	4	28SD2 rDNA + Cytochrom oxidáza I	105	1615
28D2_cytB	5	28SD2 rDNA + Cytochrom B	82	1689
28D2_COI_cytB	6	28SD2 rDNA + Cytochrom oxidáza I + Cytochrom B	71	2362

Tabulka 7 shrnující vlastnosti jednotlivých datasetů vkládaných do analýz

Sekvence části genu 28SD2 rDNA nebyly použity samostatně, protože vykazují nízkou variabilitu. Sekvence byly rozděleny na jednoznačně čitelné a na sekvence s nepřesně čitelnými úseky. V tabulce 3 v příloze je toto rozdělení patrné. Do datasetů s názvy začínajícími 28D2 byly přidány jen sekvence s jednoznačně čitelnými chromatogramy.

Fylogenetická analýza metodou Bayesovské statistiky (BA)

Tento způsob konstrukce stromů ze vstupních dat prohledává krajinu možných stromů pomocí algoritmu Markov Chain Monte Carlo (Yang & Rannala, 1997) a získává posteriorní

pravděpodobnosti pro každé větvení fylogenetického stromu. Hlavním aspektem Bayesovské statistiky je přiřazení apriori pravděpodobnosti každé možné topologii.

Všechny datasety byly analyzovány v programu MrBayes 3.1.2. (Ronquist & Huelsenbeck, 2003). Analýzy probíhaly většinou na výpočetním klastru darwin.natur.cuni.cz, který je umístěn na PřF UK, Viničná 5. Substituční model byl zvolen GTR (*nst=6*). Pro datasety 1 – 3 byl použit evoluční model *rates=invgamma*, který počítá s různými mírami rychlostí záměn nukleotidů podél sekvence a pravděpodobnostní distribucí gamma. Později byl proveden test těchto předpokladů v programu jModelTest 0.1.1 (Posada, 2008) a výsledek ukázal, že dostatečný evoluční model pro získaná data je GTR + gamma distribuce. Proto pro datasety 4 – 6 byl požit již tento jednodušší model (*lset nst=6 rates=gamma*).

Při tvorbě stromů z konkatenátů byly geny rozděleny do příslušného počtu „partitions" podle jejich počtu pomocí příkazu *charset* a posléze příkazem *lset applyto=x* stanoveny jednotlivé části vstupních souborů, pro které mají být nadefinovány zvláštní parametry. U procesů zahrnujících konkatenát s genem 28SD2 rDNA program MrBayes vždy operoval zvlášť s nukleotidy, které byly součástí „stem" a „loop" oblastí sekvencí. Toho bylo dosaženo zadáním přesných pozic zmíněných oblastí do vstupního souboru.

Analýzy byly automaticky ukončeny pomocí příkazu *stoprule=yes stopval=0.01* tehdy, když standardní odchylka obou souběžně probíhajících běhů byla nižší než 1 %. Prvních 25% stromu s neustálenou toplogií, nevhodných pro tvorbu konsenzuálního stromu, bylo odstraneno příkazem *sumt burnin=x*. Počet generací se lišil u každé analýzy, proto je jejich počet uveden u jednotlivých výsledných stromů. Další podrobnosti ohledně zdrojových souborů pro výpočty stromů jsou uvedeny v elektronických přílohách – složka MrBayes.

Fylogenetická analýza metodou maximální věrohodnosti (ML)

Maximální věrohodnost neboli maximum likelihood je metoda vybírající stromy na základě pravděpodobnosti vstupních dat v případě správnosti zvolené topologie. K této analýze je přidruženo bootstrapování (Felsenstein, 1985), které určí, v kolika případech ze 100 byl daný uzel vybrán během „bootstrap resampling technique". Pro tento typ zkoumání byl vybrán program RAxML 7.2.6. (Stamatakis, 2006). Proces běžel na výpočetním klastru darwin.natur.cuni.cz.

Výběr evolučního modelu byl konzistentní s výsledky jModelTestu. Příkazy *– m GTRGAMMA –T 4 –q geny.txt* určily evoluční model, počet vláken a procesorů, na kterých analýza poběží a rozdělení do „partitions". Pro „bootstrap resampling technique" bylo určeno 1000 replikátů. Příkazové soubory jsou součástí elektronických příloh ve složce RAxML.

Fylogenetická analýza metodou maximální parsimonie (MP)

Metoda maximální parsimonie hledá takový strom, který má nejnižší skóre (délku). Získaný fylogenetický strom je zkonstruován podle nejmenšího počtu záměn nukleotidů, které vyúsťují v rozdíly mezi sekvencemi vstupního alignmentu. K této metodě je opět přidruženo statistické bootstrapování. Analýzy proběhly v programu PAUP* 4.0b10 (Swofford, 2003).

Stromy byly heuristicky hledány náhodným přidáváním sekvencí s prověřením 1000 replikátů. Byl zvolen TBR algoritmus pro náhodné změny polohy větví (*hsearch addseq=random nreps=1000 swap=TBR*). Pro každou analýzu byly zaznamenány počty maximálně parsimonních stromů, jejich celková délka, celkový index konzistence (CI) a celkový index homoplázie (HI) díky příkazu *describetree 1-x*. Při zjišťování hodnot bootstrapu bylo analyzováno celkem 1000 pseudoreplikátů a zaznamenávány hodnoty bootstrapu ve všech uzlech (*bootstrap search=heuristic nrep=1000 keepall=yes*). V elektronických materiálech jsou přiloženy vstupní soubory – složka PAUP.

5 Výsledky

5.1 Výstupy analýz

Programem jModelTest 0.1.1 byly navrženy tyto modely pro jednotlivé parciální sekvence genů. 28D2_rDNA: Model = GTR+G, COI: Model = GTR+G, CytB: Model = GTR+G.

Negrafické výstupy fylogenetických analýz a charakteristiky datasetů naleznete v tabulce 8.

Název datasetu	Počet znaků			Consistency index (CI)	Homoplasy index (HI)
	celkový	variabilních	parsimonně informativních		
COI	904	359	308	0.3030	0.6970
cytB	747	428	359	0.2994	0.7006
COI_ cytB	1420	687	581	0.3166	0.6834
28D2_COI	1615	425	312	0.3562	0.6438
28D2_cytB	1689	528	401	0.3597	0.6403
28D2_COI_cytB	2362	794	609	0.3559	0.6441

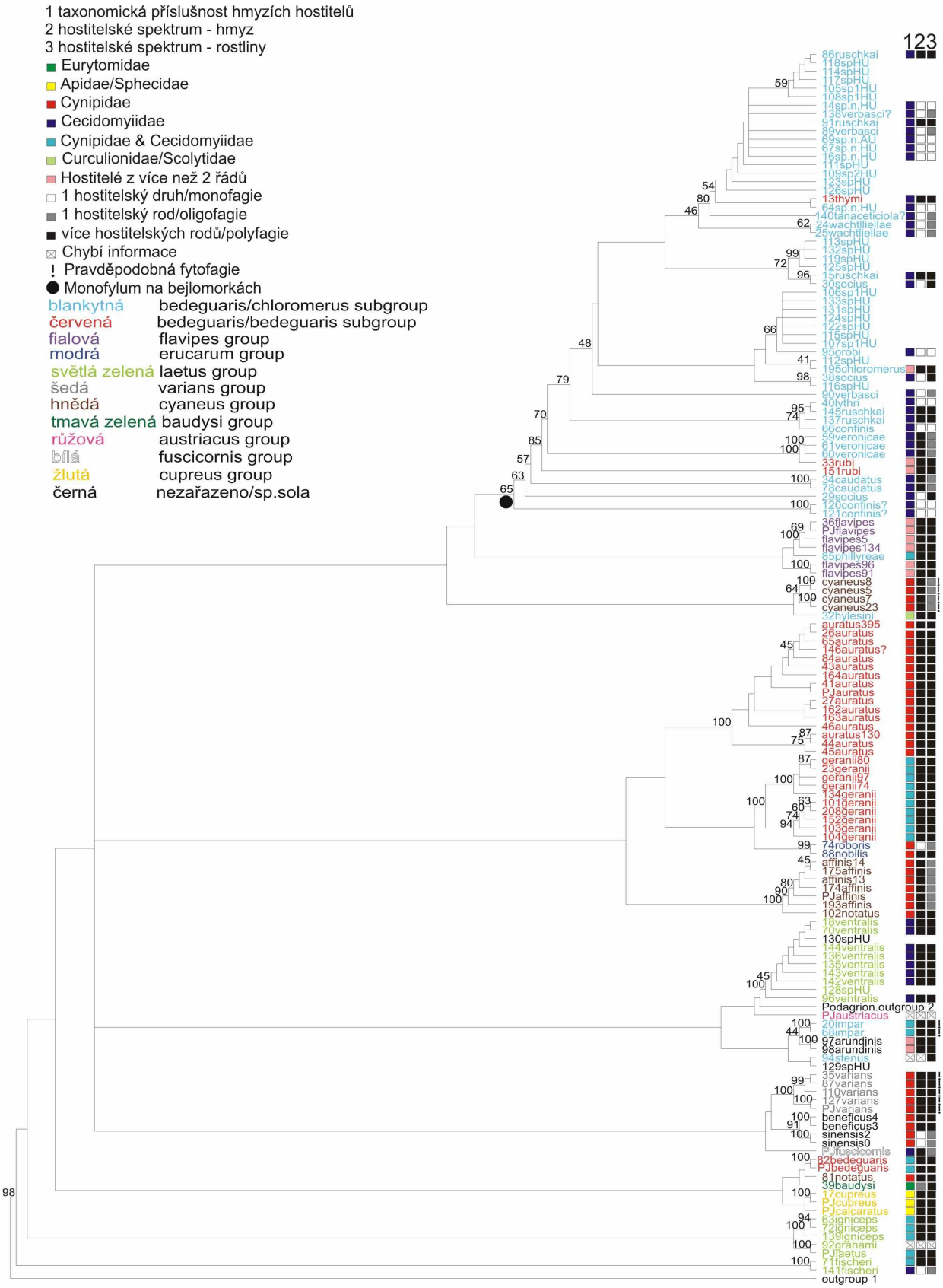
Tabulka 8: Souhrnné informace o datasetech sekvencí vkládaných do fylogenetických programů

Výsledky různých metodologických přístupů (BA, ML, MP) k datasetům OTU ukázaly podobné topologie. Pouze v případě datasetu COI se výsledné topologie výrazněji lišily. Statistická podpora uzlů neboli větvení OTU byla nejvyšší v případě metody BA, hodnoty bootstrapů pro ML a MP byly o něco nižší.

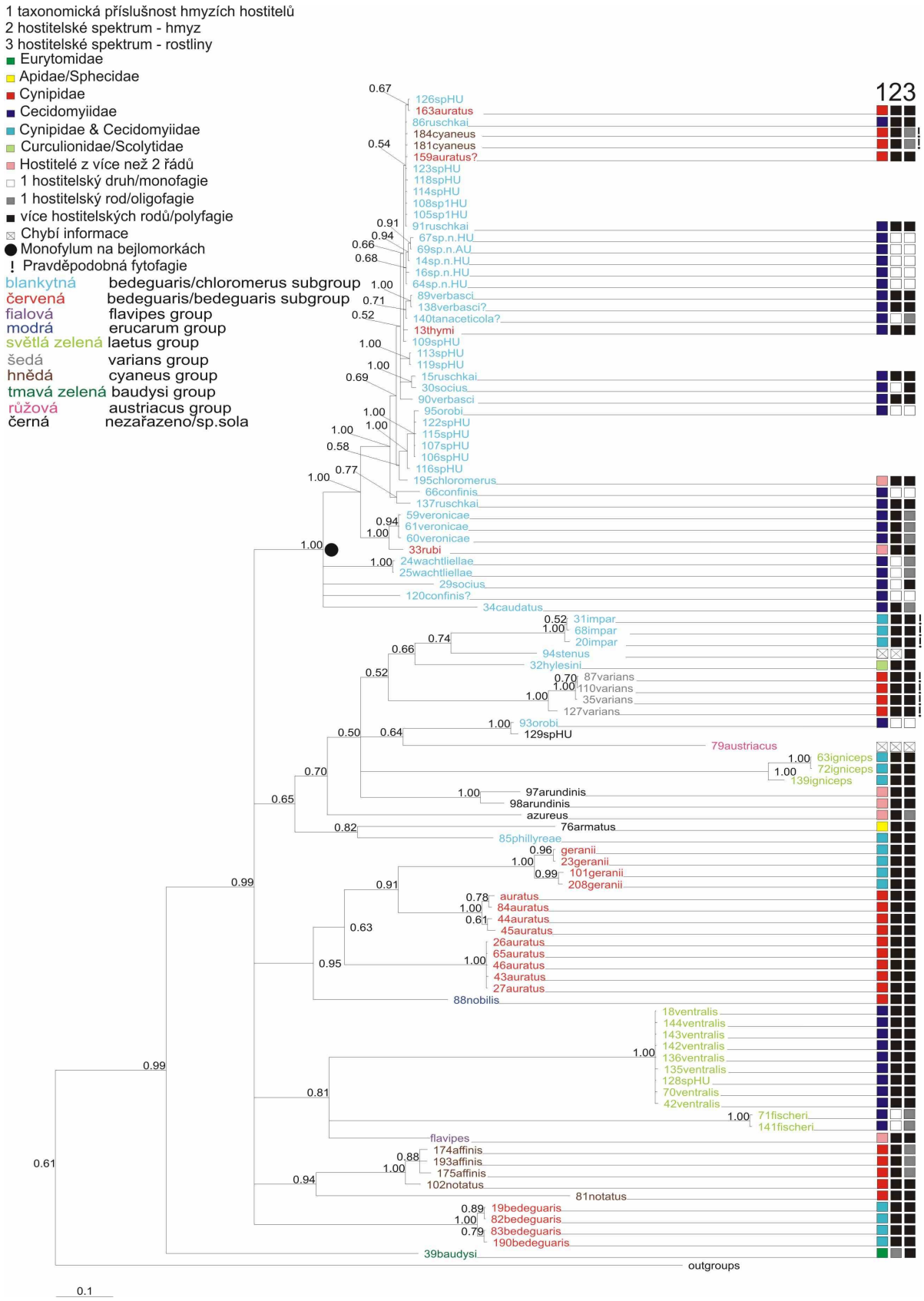
Výsledné kladogramy pro dataset s názvem COI jsou uvedeny na obr. 2 – 4, pro dataset CytB na obr. 5 – 7, pro COI_ cytB na obr. 8 – 10, pro dataset 28D2_COI na obr. 11 – 13, pro 28D2_cytB na obr. 14 – 16 a pro dataset s názvem 28D2_COI_cytB na obr. 17 – 19.

Obr. 2: Konsenzuální fylogenetický strom vypočtený na základě genu COI metodou BA. V uzlech jsou uvedeny hodnoty posteriorní pravděpodobnosti. Počet generací 8 651 000. Barvy písma znázorňují druhové skupiny.

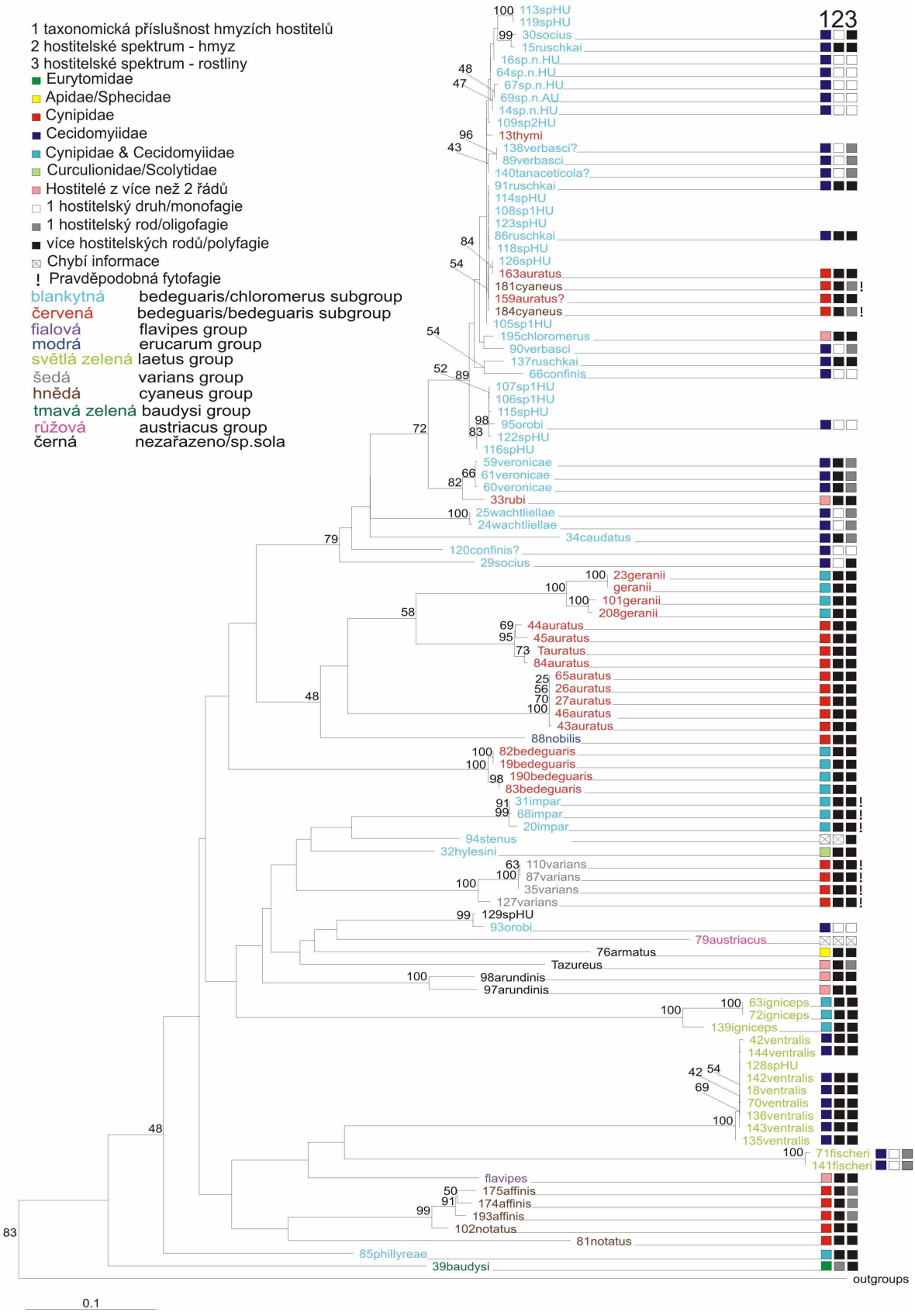
Obr. 3: Konsenzuální fylogenetický strom vypočtený na základě genu COI metodou ML (model GTRGAMMA). Bylo konstruováno 1000 bootstrapových replikátů. V uzlech jsou uvedeny hodnoty bootstrapu >40%. Barvy písma znázorňují druhové skupiny.



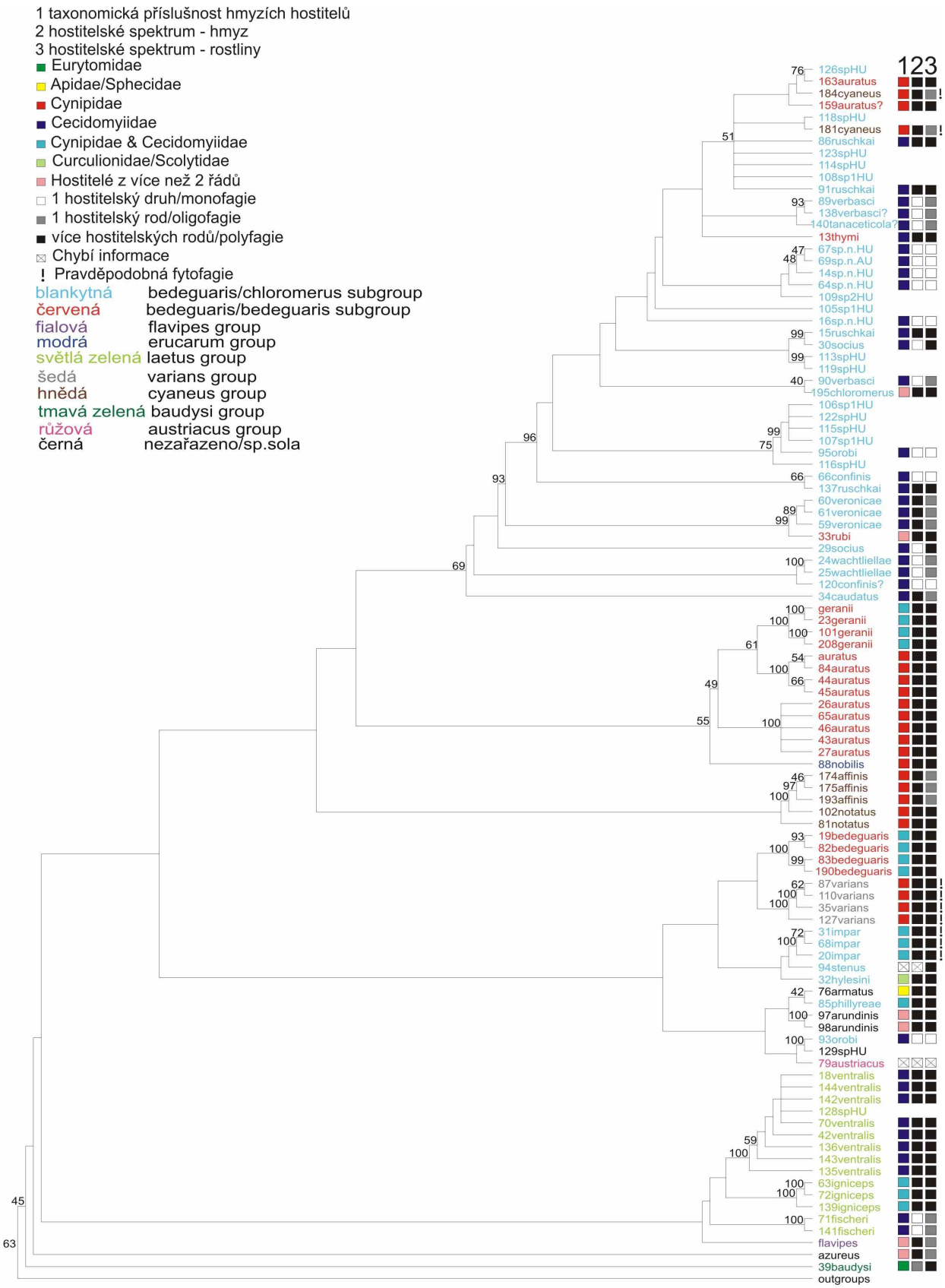
Obr. 4: Konsenzuální fylogenetický strom vypočtený na základě genu COI metodou MP. Bylo konstruováno 1000 bootstrapových replikátů. V uzlech jsou uvedeny hodnoty bootstrapu >40%. Délka stromu je 1858 kroků. Barvy písma znázorňují druhové skupiny.



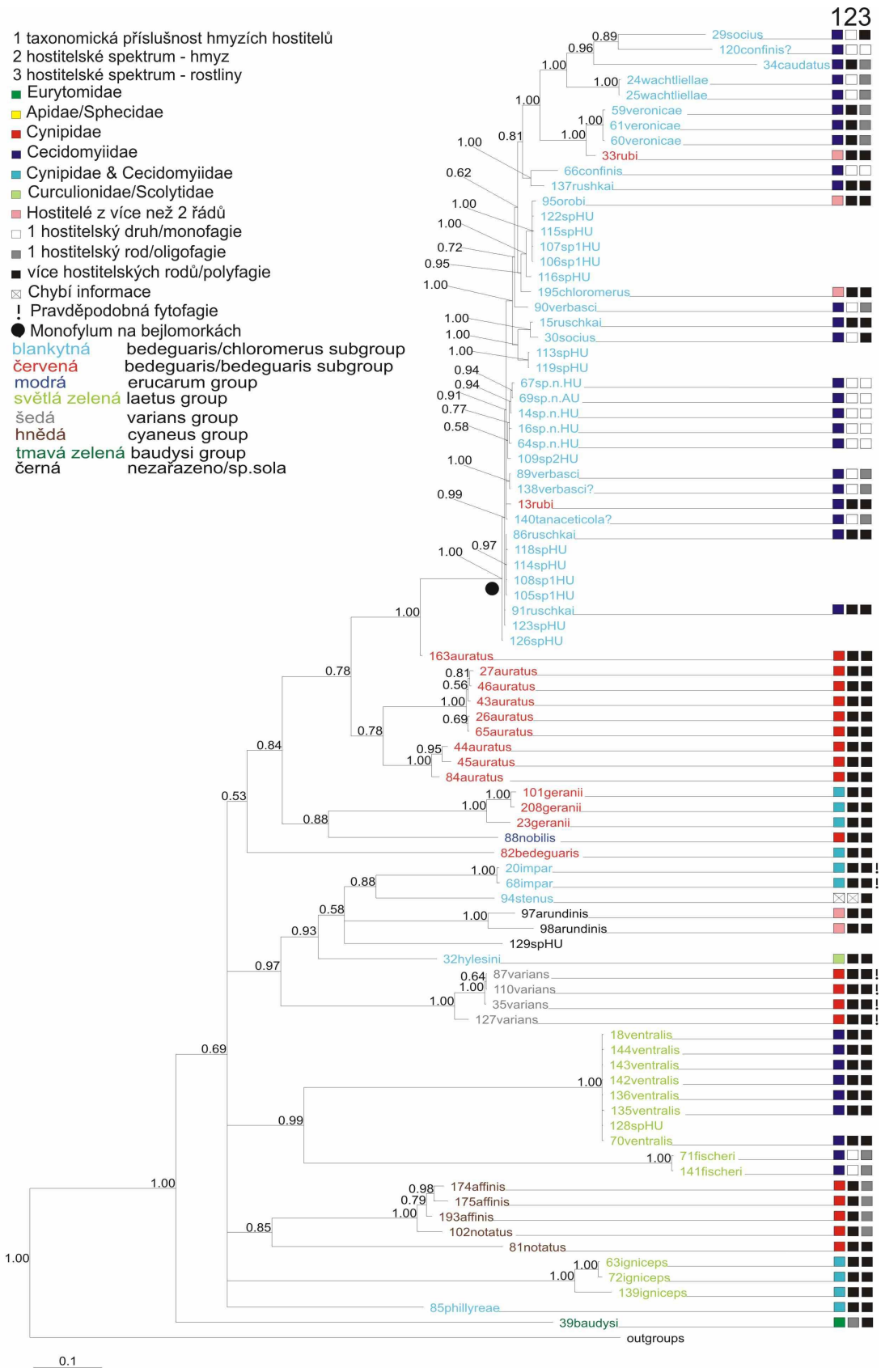
Obr. 5: Konsenzuální fylogenetický strom vypočtený na základě genu CytB metodou BA. V uzlech jsou uvedeny hodnoty posteriorní pravděpodobnosti. Počet generací 3 846 000. Barvy písma znázorňují druhové skupiny.



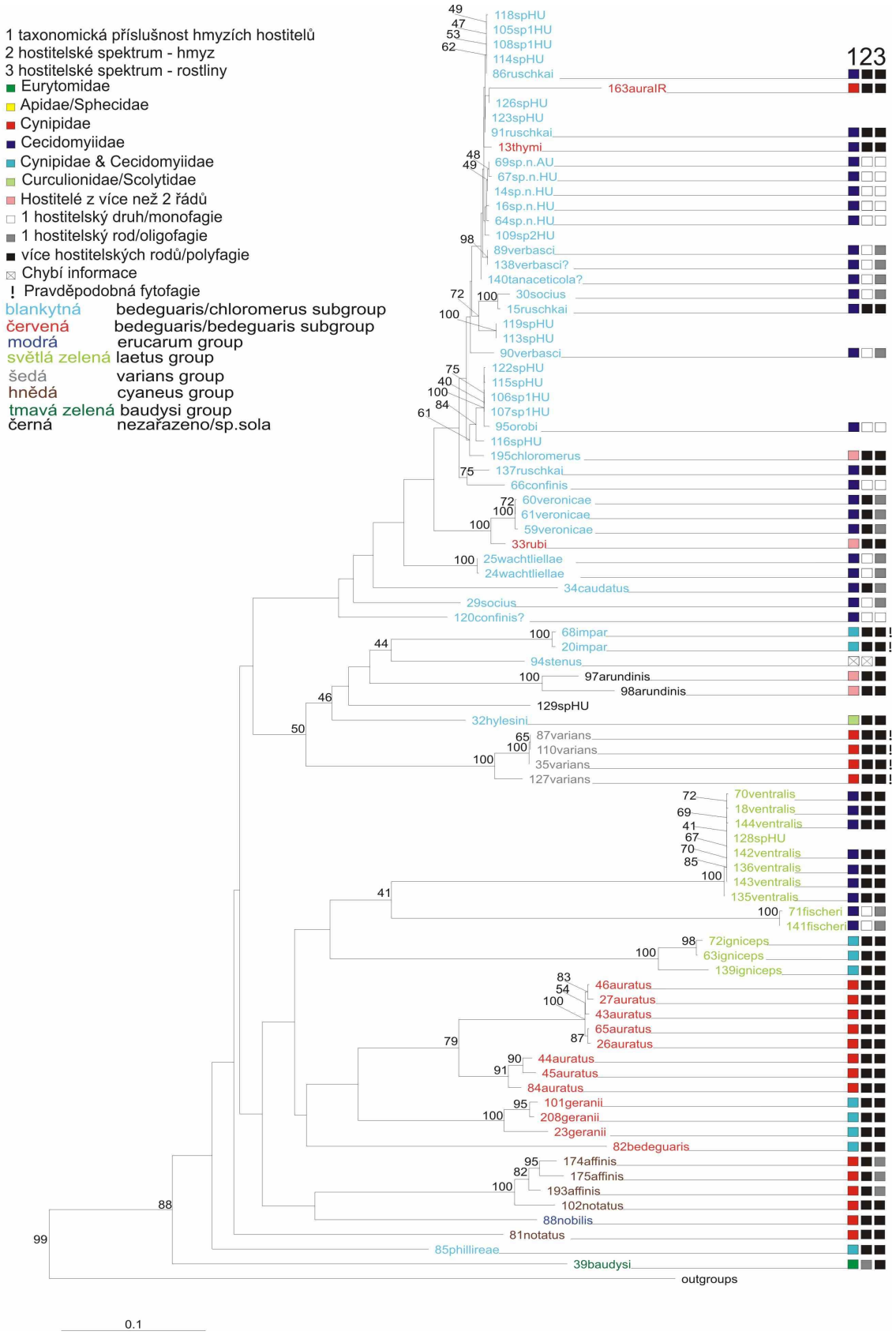
Obr. 6: Konsenzuální fylogenetický strom vypočtený na základě genu CytB metodou ML (model GTRGAMMA). Bylo konstruováno 1000 bootstrapových replikátů. V uzlech jsou uvedeny hodnoty bootstrapu >40%. Barvy písma znázorňují druhové skupiny.



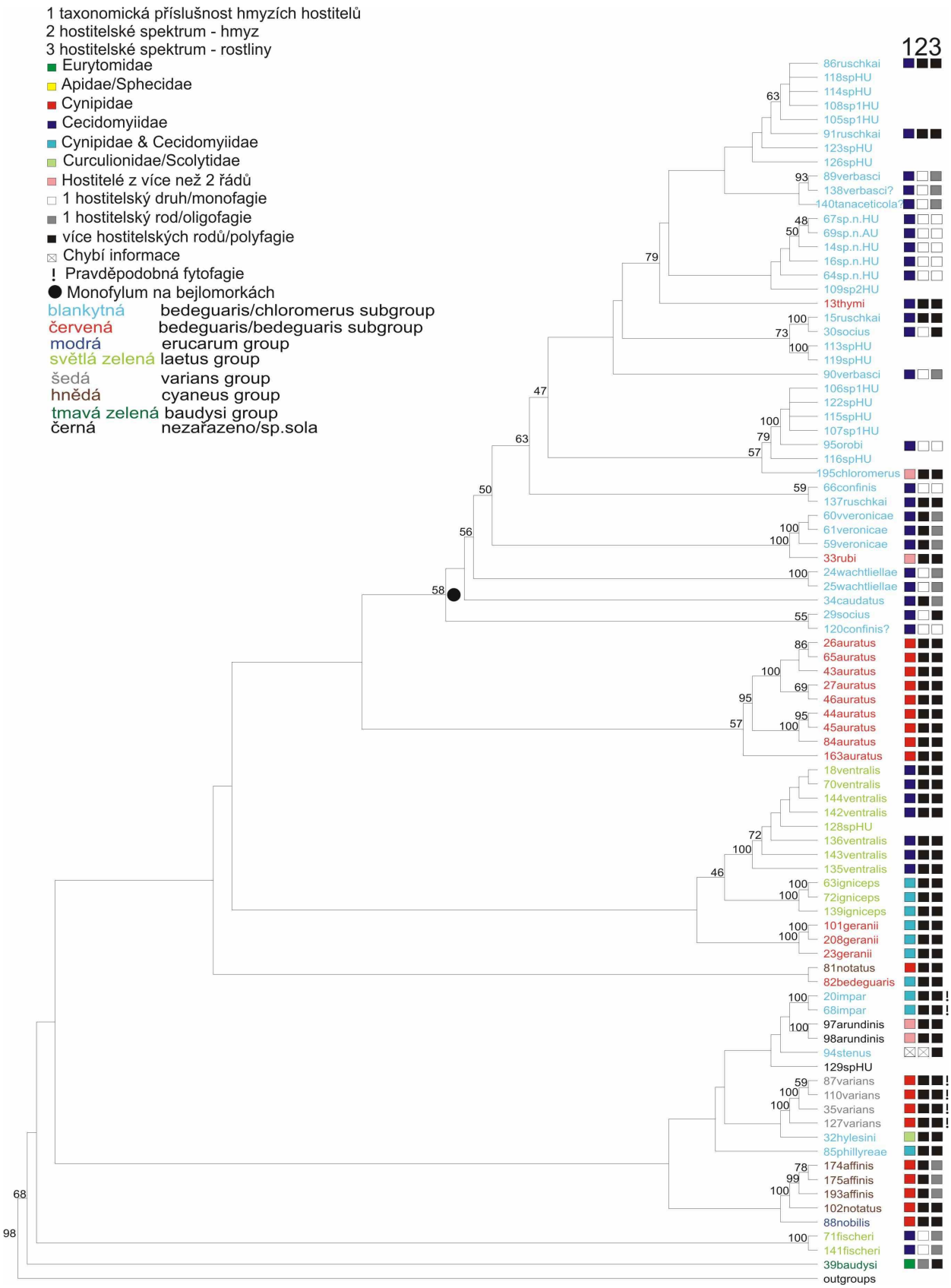
Obr. 7: Konsenzuální fylogenetický strom vypočtený na základě genu CytB metodou MP. Bylo konstruováno 1000 bootstrapových replikátů. V uzlech jsou uvedeny hodnoty bootstrapu >40%. Délka stromu je 2258 kroků. Barvy písma znázorňují druhové skupiny.



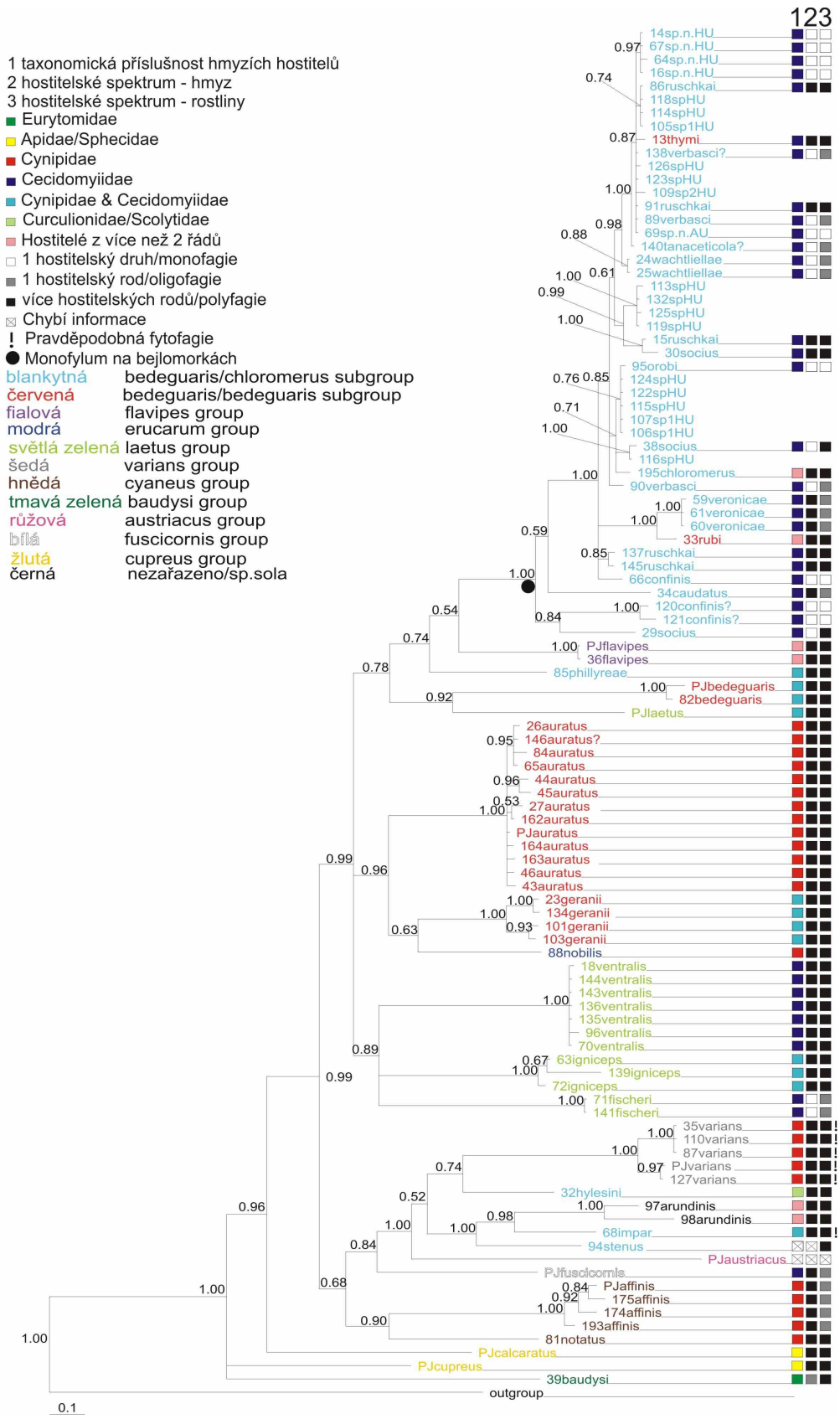
Obr. 8: Konsenzuální fylogenetický strom vypočtený na základě genů CytB a COI metodou BA. V uzlech jsou uvedeny hodnoty posteriorní pravděpodobnosti. Počet generací 3 864 000. Barvy písma znázorňují druhové skupiny.



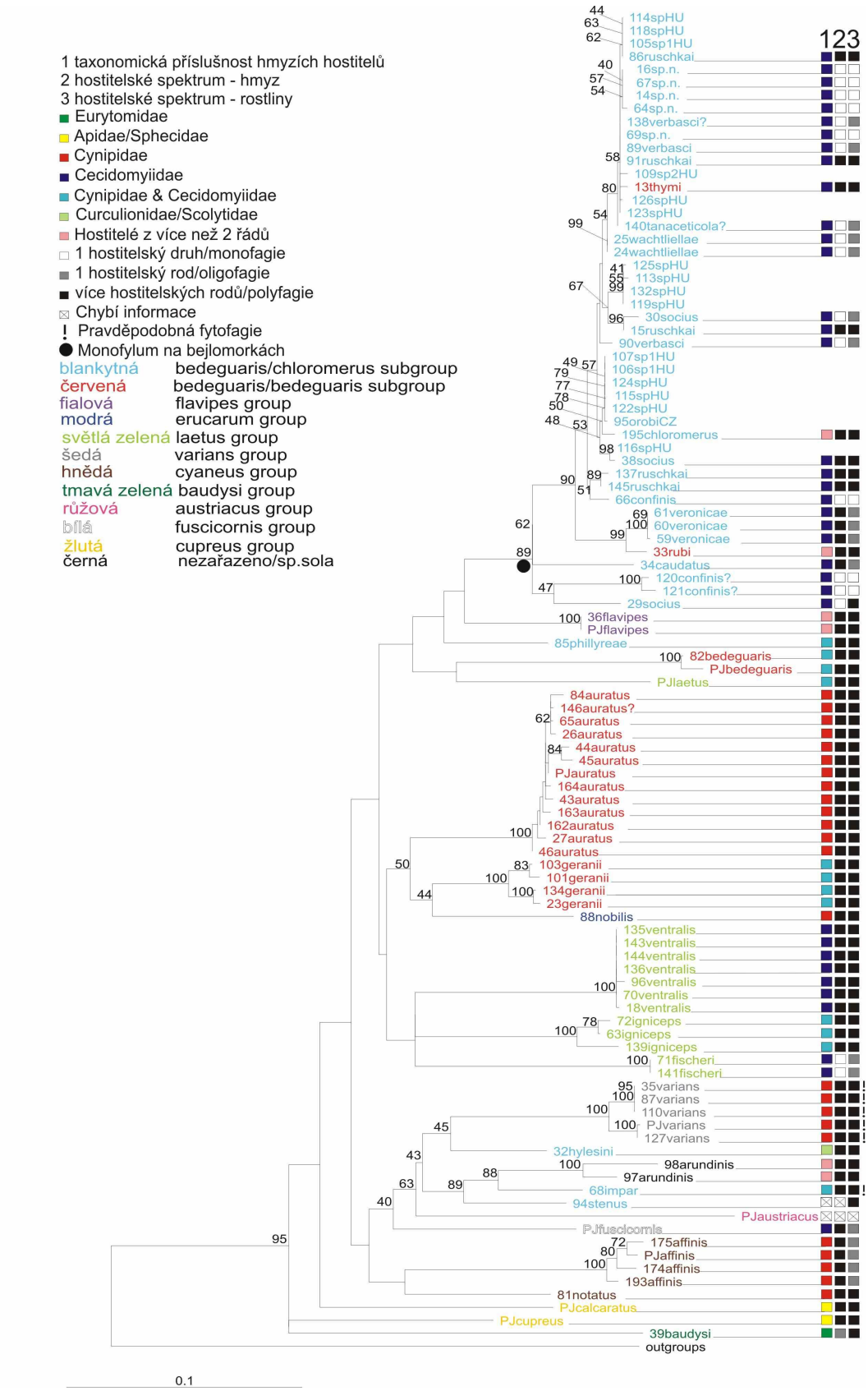
Obr. 9: Konsenzuální fylogenetický strom vypočtený na základě genů CytB a COI metodou ML (model GTRGAMMA). Bylo konstruováno 1000 bootstrapových replikátů. V uzlech jsou uvedeny hodnoty bootstrapu >40%. Barvy písma znázorňují druhové skupiny.



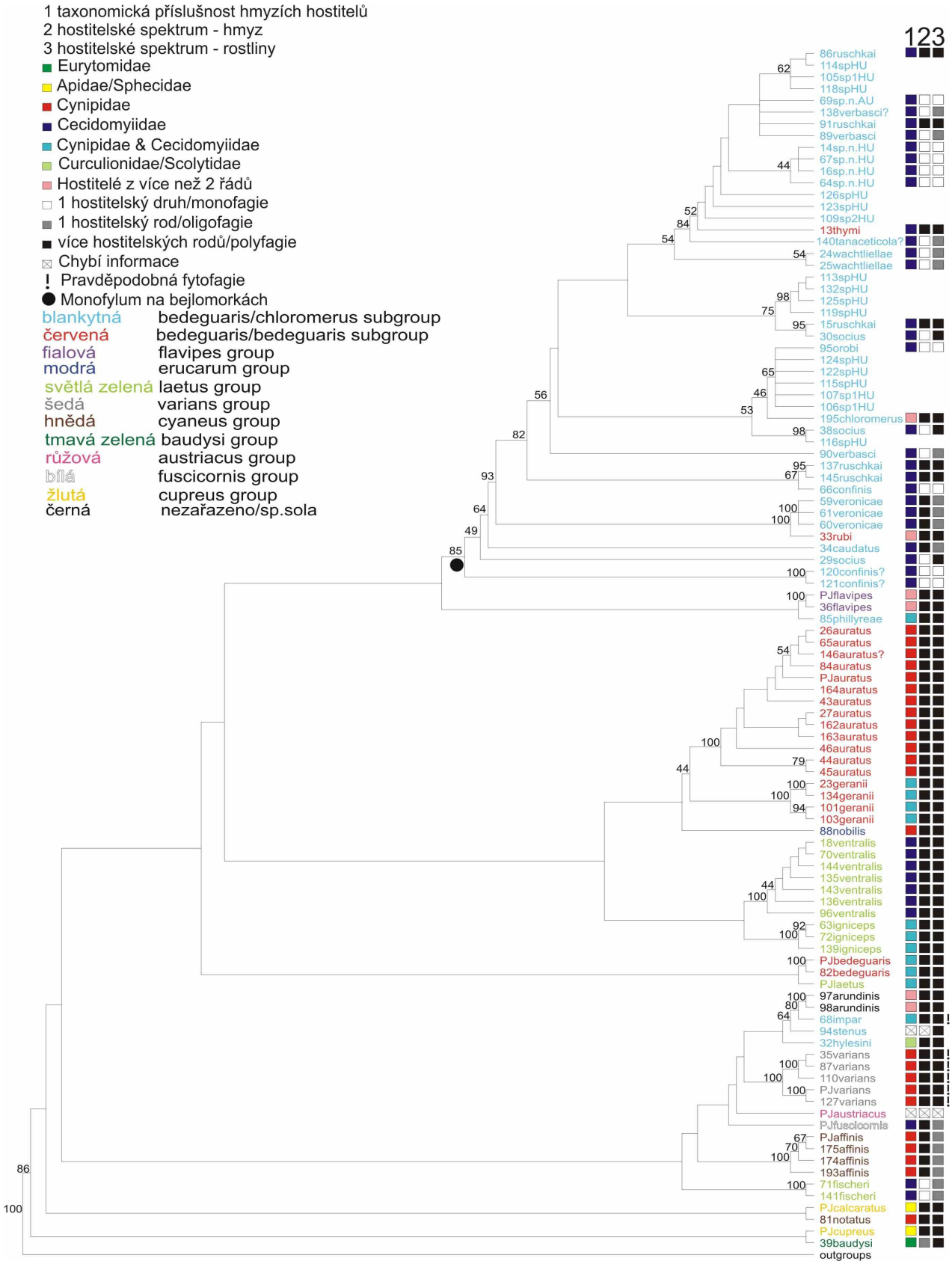
Obr. 10: Konsenzuální fylogenetický strom vypočtený na základě genů CytB a COI metodou MP. Bylo konstruováno 1000 bootstrapových replikátů. V uzlech jsou uvedeny hodnoty bootstrapu >40%. Délka stromu je 3342 kroků. Barvy písma znázorňují druhové skupiny.



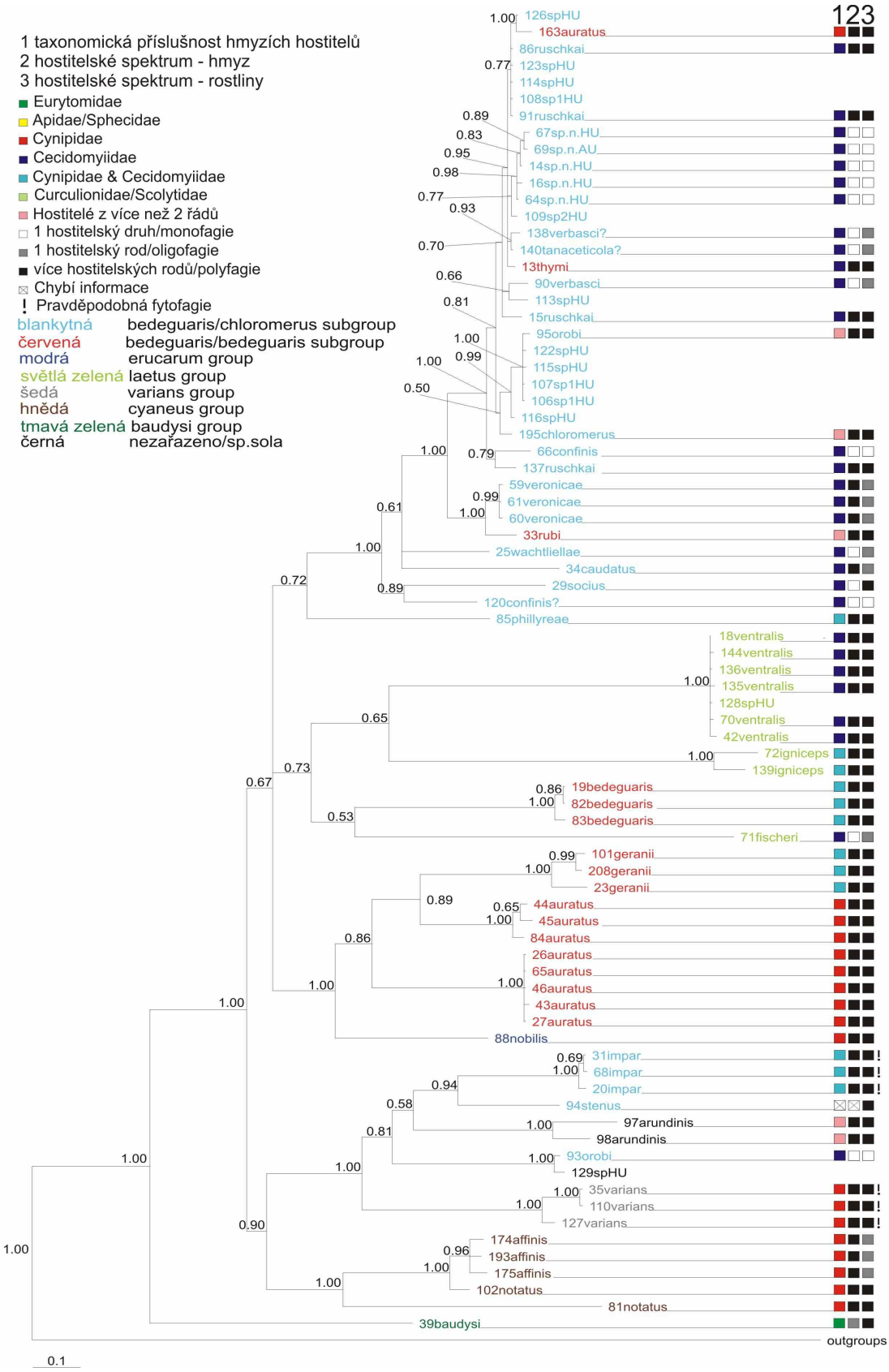
Obr .11: Konsenzuální fylogenetický strom vypočtený na základě genů 28D2 a COI metodou BA. V uzlech jsou uvedeny hodnoty posteriorní pravděpodobnosti. Počet generací 6 191 000. Barvy písma znázorňují druhové skupiny.



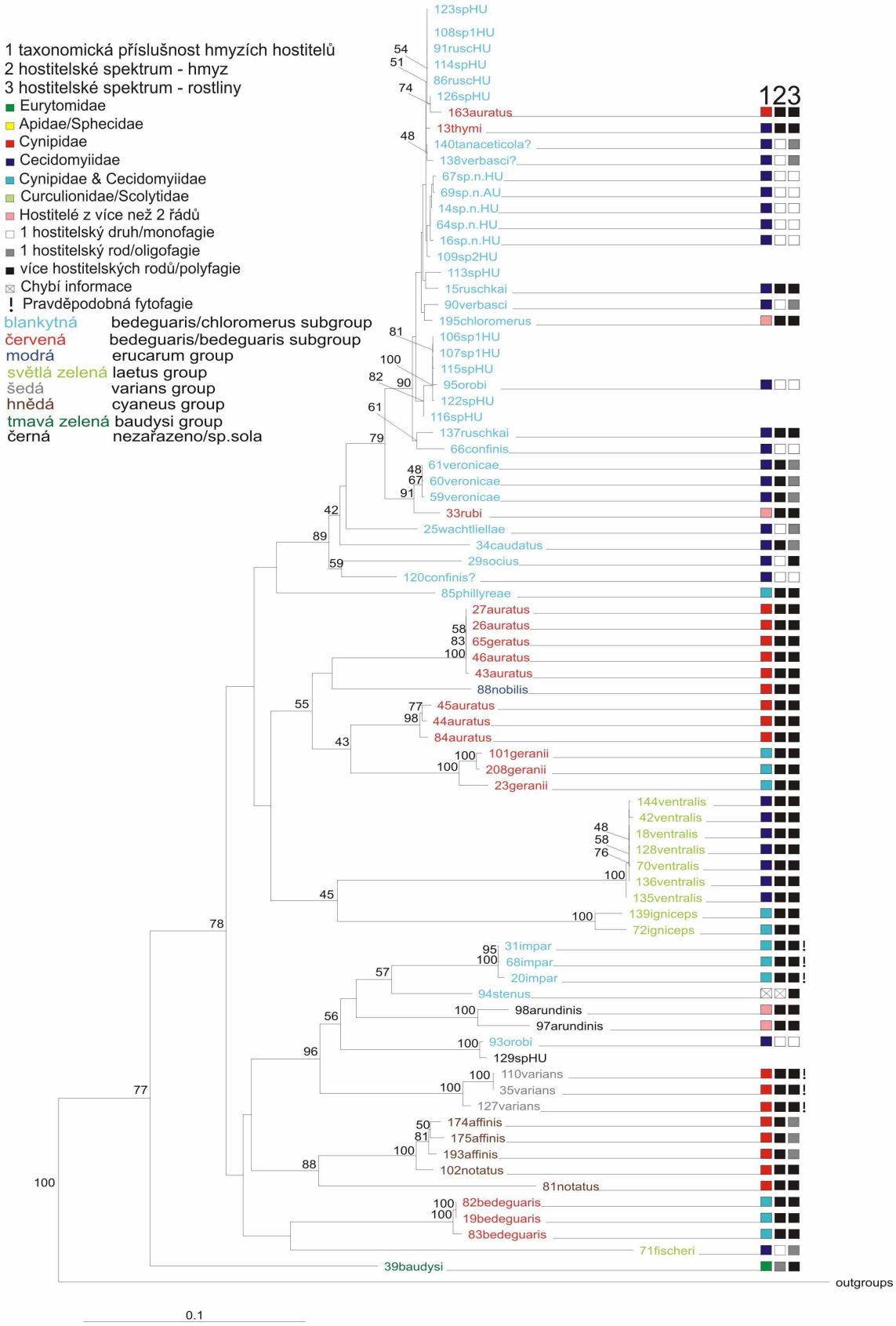
Obr. 12: Konsenzuální fylogenetický strom vypočtený na základě genů 28D2 a COI metodou ML (model GTRGAMMA). Bylo konstruováno 1000 bootstrapových replikátů. V uzlech jsou uvedeny hodnoty bootstrapu >40%. Barvy písma znázorňují druhové skupiny.



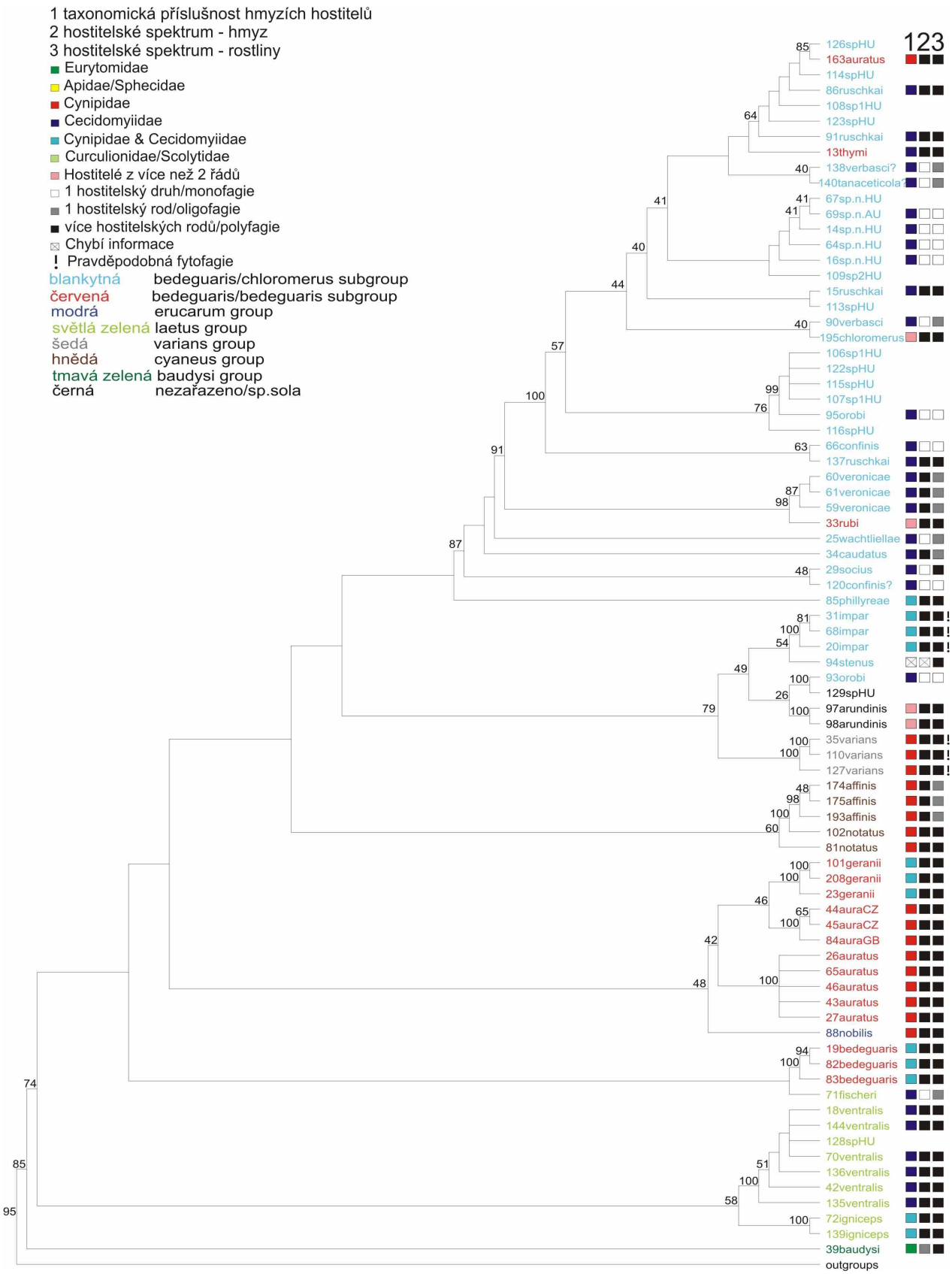
Obr. 13: Konsenzuální fylogenetický strom vypočtený na základě genů 28D2 a COI metodou MP. Bylo konstruováno 1000 bootstrapových replikátů. V uzlech jsou uvedeny hodnoty bootstrapu >40%. Délka stromu je 1721 kroků. Barvy písma znázorňují druhové skupiny.



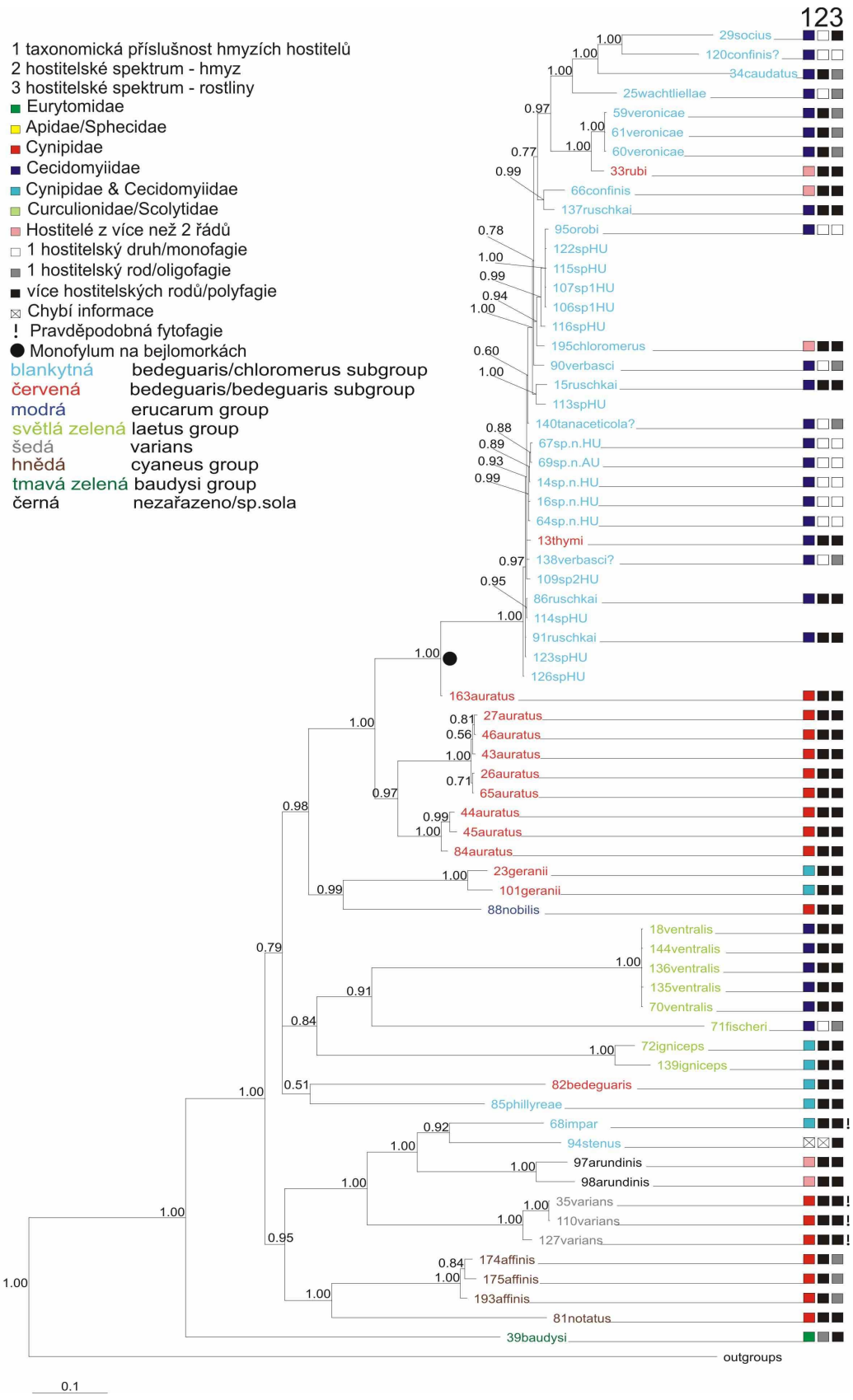
Obr. 14: Konsenzuální fylogenetický strom vypočtený na základě genů 28D2 a CytB metodou BA. V uzlech jsou uvedeny hodnoty posteriorní pravděpodobnosti. Počet generací 3 140 000. Barvy písma znázorňují druhové skupiny.



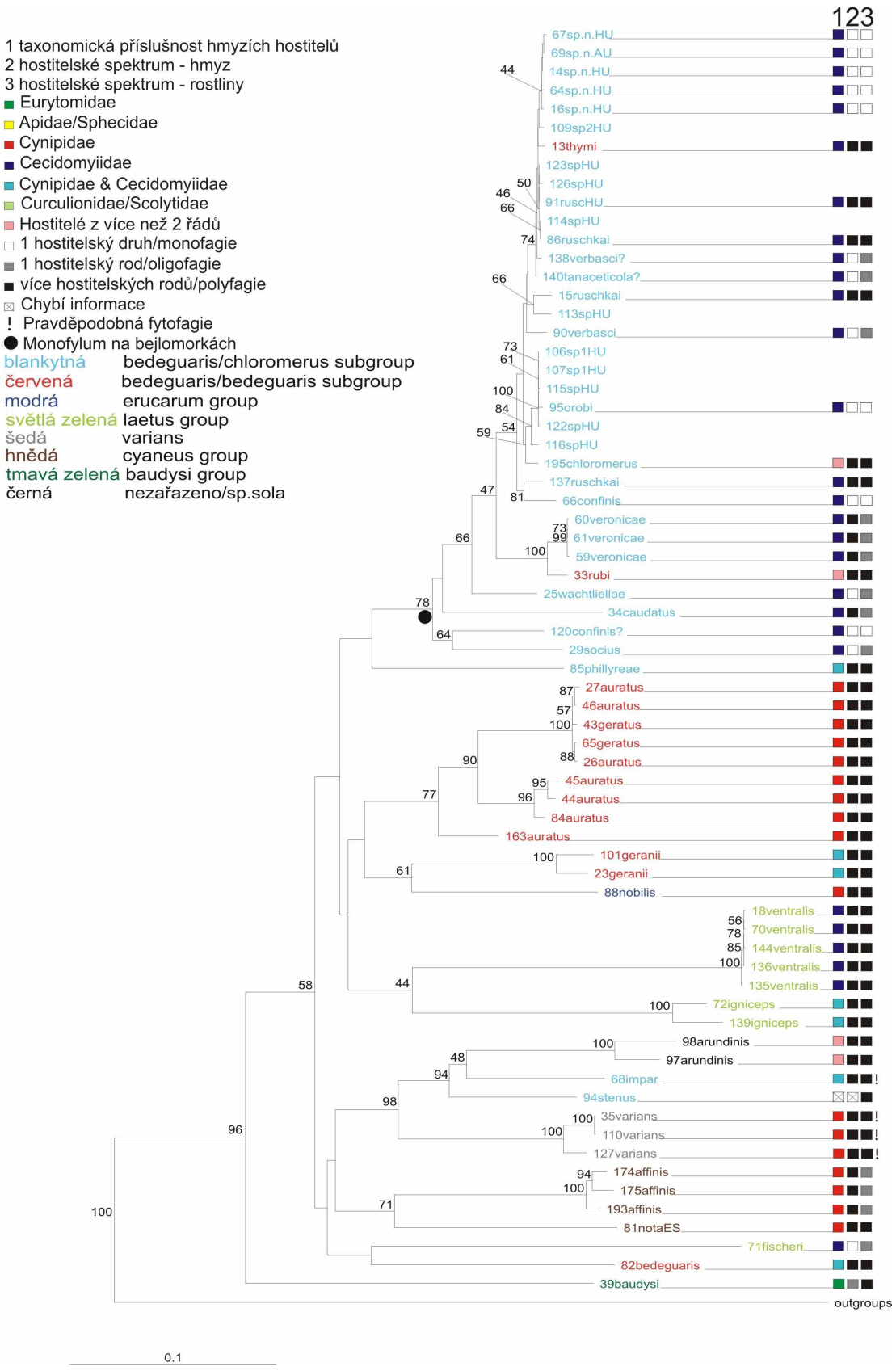
Obr. 15: Konsenzuální fylogenetický strom vypočtený na základě genů 28D2 a CytB metodou ML (model GTRGAMMA). Bylo konstruováno 1000 bootstrapových replikátů. V uzlech jsou uvedeny hodnoty bootstrapu >40%. Barvy písma znázorňují druhové skupiny.



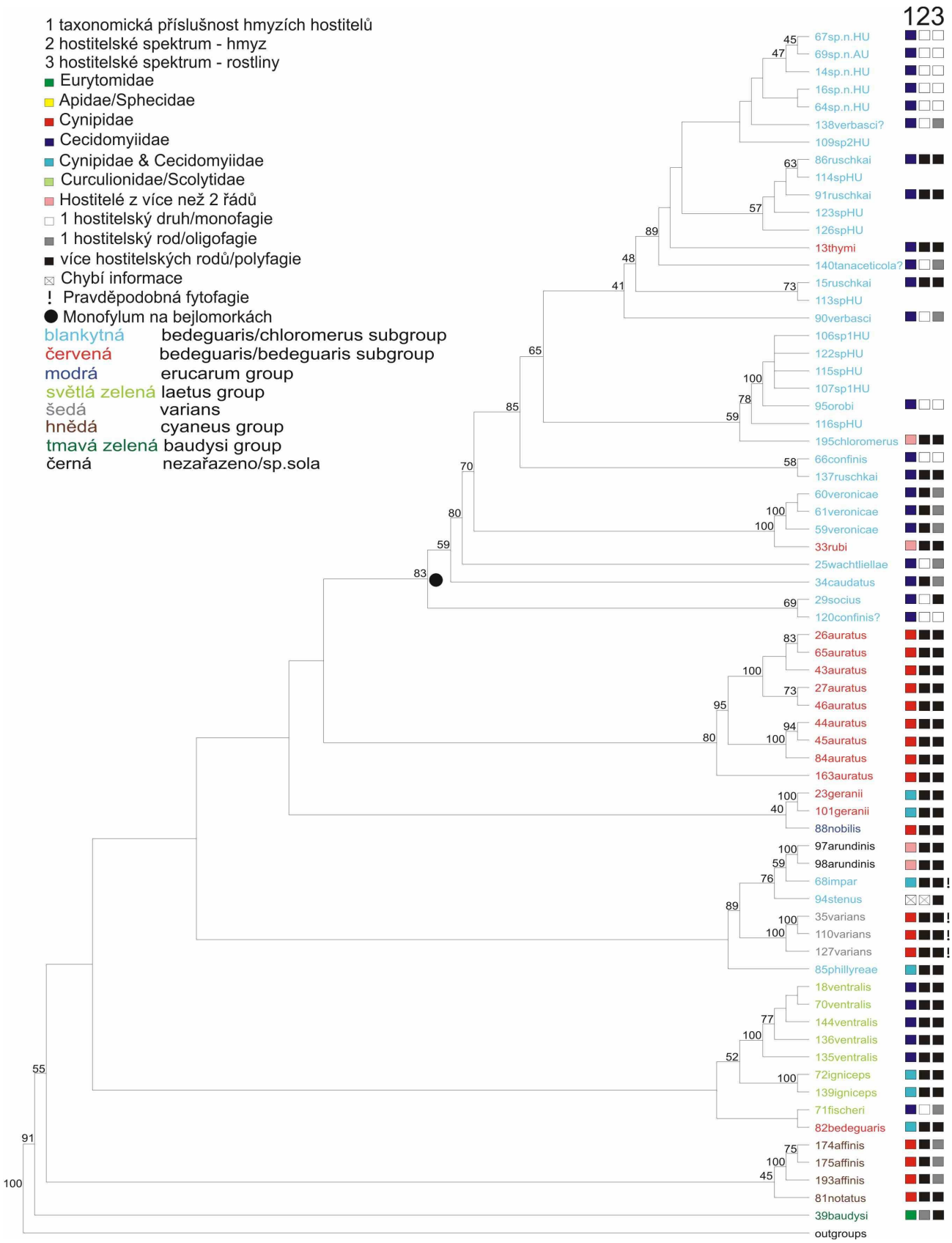
Obr. 16: Konsenzuální fylogenetický strom vypočtený na základě genů 28D2 a CytB metodou MP. Bylo konstruováno 1000 bootstrapových replikátů. V uzlech jsou uvedeny hodnoty bootstrapu >40%. Délka stromu je 2196 kroků. Barvy písma znázorňují druhové skupiny.



Obr. 17: Konsenzuální fylogenetický strom vypočtený na základě genů 28SD2, COI a CytB metodou BA. V uzlech jsou uvedeny hodnoty posteriorní pravděpodobnosti.Počet generací 9 000 000. Barvy písma znázorňují druhové skupiny.



Obr. 18: Konsenzuální fylogenetický strom vypočtený na základě genů 28SD2, COI a CytB metodou ML (model GTRGAMMA). Bylo konstruováno 1000 bootstrapových replikátů. V uzlech jsou uvedeny hodnoty bootstrapu >40%. Barvy písma znázorňují druhové skupiny.



Obr. 19: Konsenzuální fylogenetický strom vypočtený na základě genů 28SD2, COI a CytB metodou MP. Bylo konstruováno 1000 bootstrapových replikátů. V uzlech jsou uvedeny hodnoty bootstrapu >40%. Délka stromu je 3338 kroků. Barvy písma znázorňují druhové skupiny.

5.2 Popis topologií

Druhy, které byly sekvenované pro účely této diplomové práce, jsou v grafických zobrazeních rozlišitelné pomocí číselného kódu na začátku druhového jména (např. 110varians). Sekvence druhů převzaté z diplomové práce PJ jsou značeny kódem PJ na začátku druhového jména (např. PJcupreus). Sekvence pocházející z databáze GenBank buď nemají žádný kód, je zde tedy jen druhové jméno taxonu (dataset CytB, např. geranii) nebo je číslo až na konci názvu OTU (dataset COI, např. auratus395).

Analýzy různých genů a různých konkatenátů genů dávají pokaždé jiné výsledky. Stabilně nacházené topologie v kladogramech jsou většinou až v koncových větvích. Druhy, které jsou vždy zahrnuty do jednoho společného jednodruhového kladu (pokud bylo v analýzách více jedinců daného druhu) jsou *T. affinis*, *T. geranii*, *T. arundinis*, *T. veronicae*, *T. bedeguaris*, *T. varians*, *T. igniceps*, *T. ventralis*, *T. wachtliellae*, *T. impar*, *T. flavipes*, *T.beneficus* a *T. sinensis*. Ostatní druhy s více než jedním vzorkem v datasetech nejsou sdruženy do společných jednodruhových větví, což platí pro vzorky druhů *T. orobi*, *T. socius*, *T. confinis*, *T. ruschkai* a *T. verbasci.* Ani jeden z těchto druhů nemá ve fylogenetických stromech podporu své molekulární jednotnosti. Neznámý druh *Torymus* sp. n. vycházel jako monofylum (viz obr. 5, 8, 9, 10, 14, 15, 16, 17, 18 a 19), ale ve mnoha případech se jeho druhovost nepotvrdila.

V datasetu COI, tedy v datasetu s největším počtem vzorků, jsou stabilně nacházeným monofylem druhy ze skupiny *erucarum* group (*T. roboris* a *T. nobilis*), které jsou často zobrazeny v těsné blízkosti *T. geranii* a *T. auratus*. Monofylie platí i pro asijské taxony *T. beneficus* + *T. sinensis*.

Ve výsledných topologiích se často vyskytovala větev, která zahrnuje zejména parazitoidy bejlomorek nebo případně parazitoidy s širokým hostitelským spektrem hmyzu (napadající hmyz z více než dvou řádů). Podpora tohoto větvení je vysoká, nejnižší zaznamenaná hodnota bootstrapu je 58 %, ale v analýze metodou BA má posteriorní pravděpodobnost nejčastěji hodnotu 1.00 (resp. 100 %). Tento klad je téměř výhradně tvořen druhy zařazenými do podskupiny *chloromerus* druhové skupiny *bedeguaris* group. Tato korunová linie je narušena v několika případech druhy z jiných druhových skupin nebo podskupin. V analýzách vycházejících z datasetu CytB jsou zde *T. cyaneus* a *T. auratus*, v datasetu 28D2_cytB se sem řadí *T. auratus*. Stabilně sem pak spadají druhy *T. thymi* a *T. rubi*, které patří do podskupiny *bedeguaris*.

Ovšem ne všechny analyzované taxony z podskupiny *chloromerus* se vyskytují ve výše zmíněné korunové skupině taxonů. Druhy jako *T. hylesini*, *T. impar*, *T. stenus* a *T. phillyreae* jsou v bazálnějším postavení. Druhová skupina *bedeguaris* group není v žádném z kladogramů zobrazena jako monofylum. Často se jako příbuzní jeví zástupci druhů *T. auratus* a *T. geranii* s podporami větvení od 4 (obr. 4) do 96 % (obr. 11). *T. bedeguaris* mívá variabilní polohu, někdy se nachází u báze kladogramu (obr. 18), někdy naopak v těsné blízkosti korunové skupiny (obr. 2, obr. 3). V případě hypotetické příbuznosti s *T. laetus* na obr. 11 je podpora 92%, naopak v případě hypotetické příbuznosti *T. bedeguaris* s parafylem *T. geranii* + *T. auratus* je podpora uzlu pouze 53 % (obr. 8).

Druhová skupina *laetus* group je zastoupena druhy *T. ventralis*, *T. igniceps*, *T. fischeri*, *T. laetus* a *T. grahami*. V případě prvních tří zmíněných druhů se celkem čtyřikrát objevuje monofyletický klad (obr. 7, 9, 11 a 17), ale druhy *T. laetus* a *T. grahami* nebyly nalezeny v jejich blízkosti. Tyto dva druhy jsou ale součástí pouze datasetu COI, resp. *T. laetus* ještě 28D2_COI. Druhy skupiny *laetus* group se často objevují v blízkosti druhů ze skupiny *bedeguaris* group, podskupiny *bedeguaris*.

Druhová skupina *cyaneus* group se v kladogramech objevuje jako monofylum pouze pro druh *T. affinis* a *T. notatus*. Navíc *T. notatus* se neřadí k *T. affinis* ve všech případech (viz obr. 2, 3, 4, 9, 10 a 13) a podpora větvení těchto dvou OTU bývá nízká. *T. cyaneus* je zahrnut pouze ve dvou datasetech, ale ani v jednom případě není zobrazen v blízkém vztahu se zbytkem skupiny (obr. 2 – 7). *T. affinis* spolu s *T. notatus* mají tendenci být řazeni blízko báze stromu do blízkosti taxonů *T. varians* + *T. hylesini* + *T. stenus* + *T. impar* + *T. arundinis*. Ve společném kladu s nimi (a několika dalšími OTU) jsou na obr. 11, 12, 13, 14, 15, 17 a 18, alespoň ve společném kladu s *T.varians* jsou na obr. 3.

Druh vyskytující se na úplné bázi kladogramu je nejčastěji (ve 12 případech) *T. baudysi*. Jako další taxony příbuzné tomuto bazálnímu druhu jsou řazeny druhy z druhové skupiny *cupreus*, tj. *T. cupreus* a *T. calcaratus* (obr. 3, 4, 11, 12 a 13).

Často objevujícím se monofylem, které ale není žádnou druhovou skupinou jsou druhy *T. varians* + *T. hylesini* + *T. stenus* + *T. impar* + *T. arundinis*. Tuto skupinu lze často nalézt v příbuzenství *T. affinis* + *T. notatus* při základně kladogramu. Její monofylie nebyla podpořena v analýzách zobrazených na obr. 5 a 6 (pouze *T. arundinis* v jiné pozici), dále ani v případě obr. 2, 3, 4 a 7, tedy v případě datasetů obsahujících pouze jediný gen.

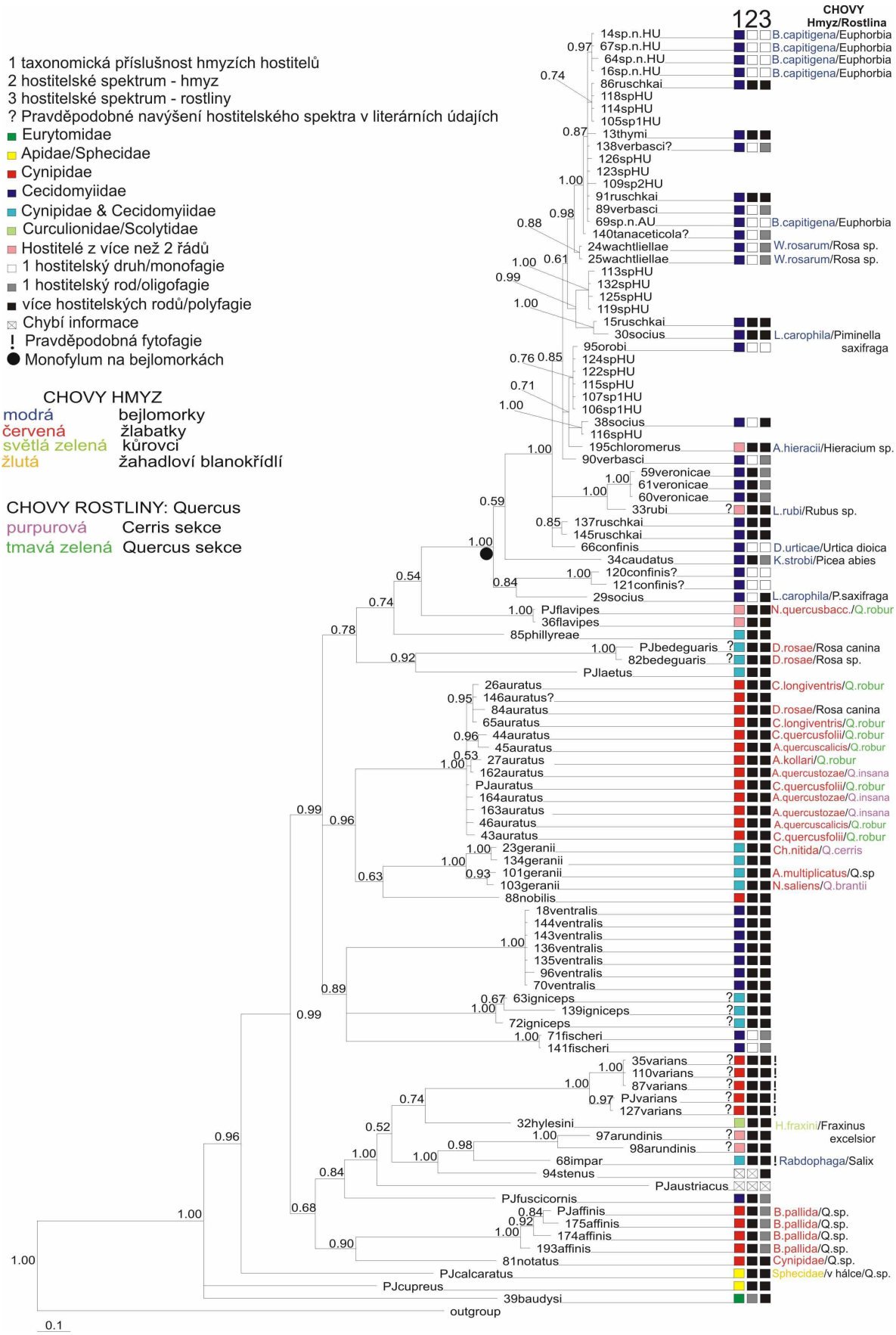
5.3 Vztahy k hostitelským organismům

V obrázcích 20 – 22 jsou viditelné i vazby parazitoidů na hostitelské organismy, které jsou potvrzené líhnutím z determinovaných hálek. Ve všech vyobrazeních je pak pomocí barevných čtverců zaznamenáno hostitelské spektrum daného druhu převzaté z Noyes 2011.

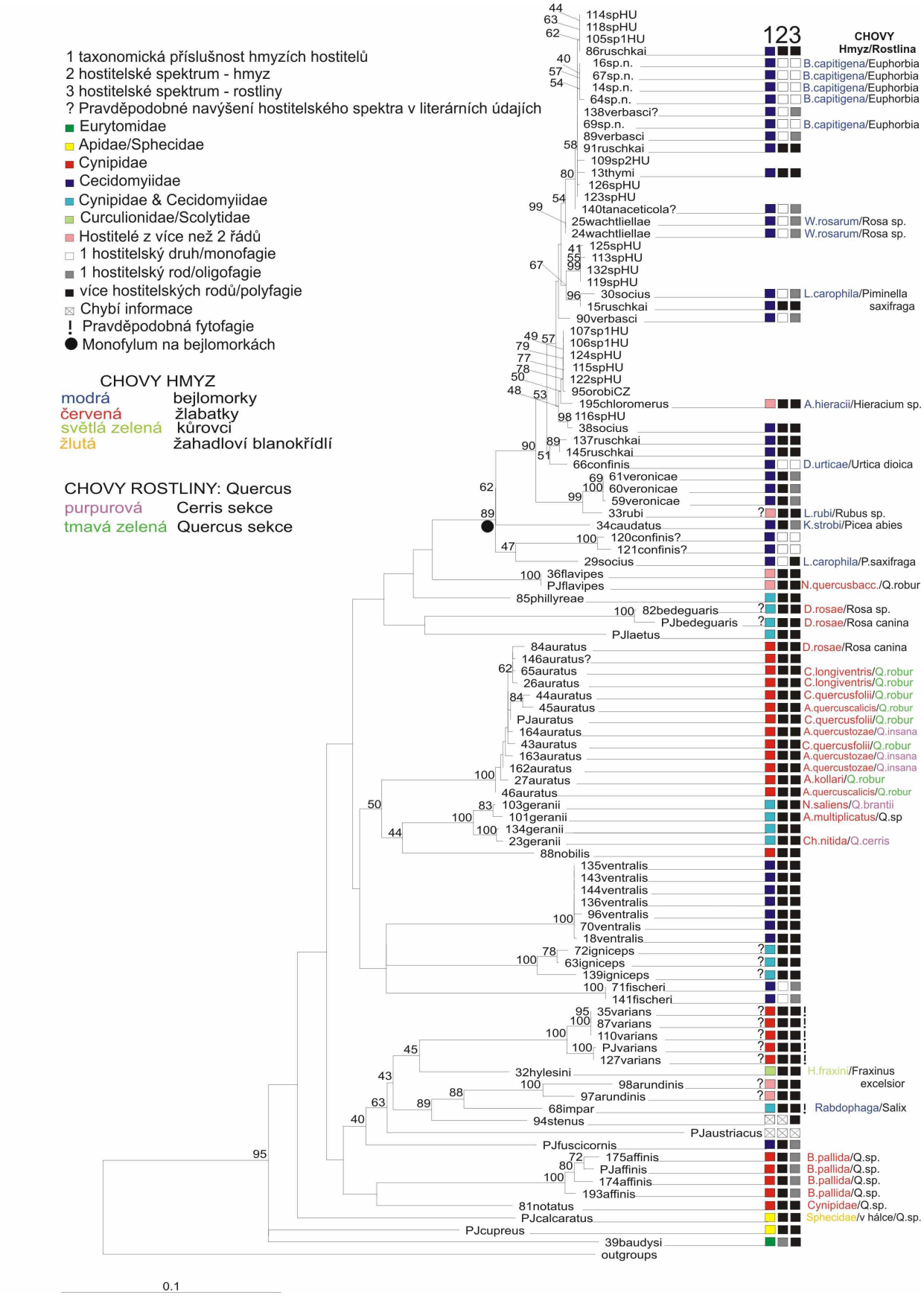
Pouze v jediném případě (obr. 4) bylo výsledkem analýz monofylum druhů *T. notatus* + *T. affinis* + *T. nobilis* + *T. roboris* + *T. geranii* + *T. auratus* specializujících se na dubové hálky, v případech 7, 9 a 16 jsou znázorněny jako parafylum. Častěji se však druhy z druhové skupiny *cyaneus* group vyskytují v jiné pozici.

Druh *T. auratus* nevykazuje dle molekulárních znaků individuální specializaci podle vzhledu hostitelské rostliny. Jedinci, kteří byli vychováni z dubů sekce *Quercus* respektive z dubů sekce *Cerris* se neoddělují do samostatných kladů. Vzorky druhu *T. geranii* nemají v tomto směru žádnou vypovídající hodnotu, viz obr. 2, 3, 4, 11, 12 a 13 . V datasetech CytB a 28D2_cytB jsou vzorky druhu *T. auratus* pocházející z hálek na dubech sekce *Cerris* řazeny do korunové skupiny.

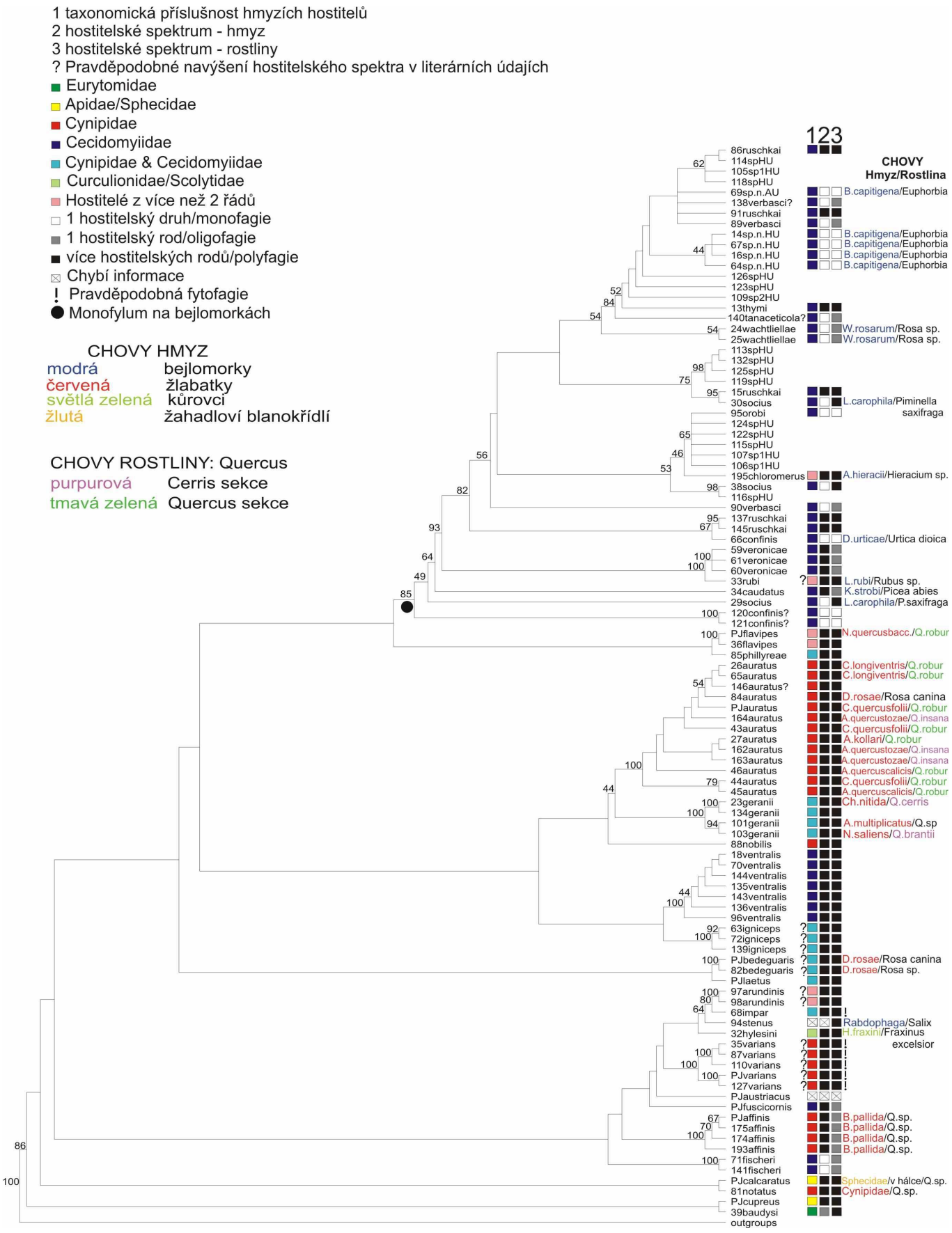
Nedošlo ani k výraznému oddělení druhů specializujících se na bejlomorky od druhů, které se specializují na žlabatky. Parazitoidy bejlomorek je možné nalézt jak v korunové skupině tak i ve skupině *laetus* group nebo v blízkosti skupiny *T. varians* + *T. hylesini* + *T. stenus* + *T. impar* + *T. arundinis*. Parazitoidi žlabatek jsou rozptýleni ve více kladech ve spodní polovině každého stromu.



Obr. 20: Konsenzuální fylogenetický strom vypočtený na základě genů 28SD2 a COI metodou BA. Jsou zde zaznamenány potvrzené vazby na hostitele díky vychování parazitoidů z determinovaných hálek.



Obr. 21: Konsenzuální fylogenetický strom vypočtený na základě genů 28SD2 a COI metodou ML. Jsou zde zaznamenány potvrzené vazby na hostitele díky vychování parazitoidů z determinovaných hálek.



Obr. 22: Konsenzuální fylogenetický strom vypočtený na základě genů 28SD2 a COI metodou MP. Jsou zde zaznamenány potvrzené vazby na hostitele díky vychování parazitoidů z determinovaných hálek.

6 Diskuze

6.1 Vhodnost použitých genů

Sekvence tří různých genů a jejich konkatenátů byly použity pro zkoumání na úrovni druhů v rámci jednoho rodu. Samotná parciální sekvence pro cytochrom oxidázu I ukazovala výsledky, které nebyly v souladu s výsledky ostatních analýz. Může se jednat o saturaci pozic v alignmentu. V takovém případě by rozdíl v jedné pozici mohl znamenat větší počet záměn, než je v alignmentu patrný. Již v roce 1989 (Crozier *et al.*, 1989) bylo dokázáno, že úsek mitochondriální DNA včely kódující COI se vyvíjel rychleji než ten samý úsek octomilky. Lze se tedy domnívat, že u blanokřídlého hmyzu tato sekvence dosahuje velké míry rychlosti evoluce. Bylo by proto vhodné sekvenci podrobit saturačnímu testu, který ovšem nebyl v případě této práce proveden. Dalším problémem datasetu COI byla pozice součásti outgroup, druhu *Podagrion pachymerum*, který se nevyskytuje na bázi stromu, ale uvnitř jedné z větví (obr. 4). Může se jednat o jev související s tzv. „přitahováním dlouhých větví". Tato nesrovnalost za určitých podmínek nemusí být vyřešena ani přidáváním taxonů do analýz (Kim, 1996), proto mohla nastat i přes velký počet taxonů v datasetu COI. K rozřešení fylogeneze na rodové taxonomické úrovni je možné použít pouze několik dalších genů (jaderné geny: ITS – internal transcribed spacer (Denman *et al.*, 2000), EF alfa – elongation factor (Danforth *et al.*, 1999), jejich amplifikace se však v pilotních testech nezdařila nebo jejich sekvence nebyly dostatečně variabilní. Proto jsem se neuchylovala k saturačnímu testu.

Sekvence COI se v konkatenátech s ostatními geny projevovala pravděpodobně bez odchylek. Zbylé geny a jejich konkatenáty nevnášely do fylogeneze žádné další zásadní konfliktní situace. Nepovažovala jsem za nutné provádět ILD test (Incongruence Length Difference test), který bývá používán k testování konfliktu mezi částmi konkatenovaných datasetů (Farris *et al.*, 1994). Jeho výpovědní hodnota byla totiž v tomto směru několikrát zpochybněna (Barker & Lutzoni, 2002; Yoder *et al.*, 2001).

Analýza pro samostatný gen pro 28D2 rDNA nebyla provedena z důvodu jeho malé variability, která by pravděpodobně vedla k nerozlišeným topologiím. Běžně se totiž používá spíše pro fylogenetické studie na vyšší taxonomické úrovni (Hedges *et al.*, 1990). V kombinaci s dalšími geny však jeho sekvence poskytla cenné znaky a měla vliv na výsledné topologie (viz 28D2_COI). Tento úsek genomu byl zahrnut do analýz hlavně kvůli svému jadernému původu.

6.2 Monofylie druhových skupin

Žádná z druhových skupin ustanovených podle Grahama a Gijswijta (1998) nebyla podpořena jako zcela monofyletická. V rámci druhové skupiny *bedeguaris* group, podskupiny *bedeguaris* molekulární znaky dokonce rozdělují morfologicky velmi podobné druhy do vzdálených větví. Konkrétně se jedná o druhy *T. bedeguaris*, *T. geranii* a *T. auratus*, které sdílejí výraznou skulpturu na dorzu hrudi a nápadně velké ocelli. Jako blízce příbuzné jsou však znázorněny jen *T. auratus* + *T. geranii* a *T. bedeguaris* je často v jiné pozici. Mohlo by se proto jednat o morfologickou konvergenci a přizpůsobení se k napadání velkých hálek s tlustou stěnou (dubové žlabatky a *Diplolepis rosae* Linnaeus, 1758).

Podskupina *chloromerus* druhové skupiny *bedeguaris* group byla rozdělena do několika skupin. I přesto její velká část tvoří monofylum v pozici korunové větve. Toto monofylum nejčastěji narušují pouze dva druhy patřící do druhové skupiny *bedeguaris* group. Jedním z nich je druh *T. rubi* a druhým je *T. thymi*. Menší část druhů řazených do podskupiny *chloromerus* je naopak řazená do skupiny druhů *T. varians* + *T. hylesini* + *T. stenus* + *T. impar* + *T. arundinis*. Tyto OTU jsou od ostatních zástupců podskupiny *chloromerus* odlišeny vysokou hodnotou znaku „ovipositor index“ (OI). Tento znak je definován jako poměr délky kladélka k délce zadní holeně. Vysokou hodnotu OI nacházíme v celé skupině *T. varians* + *T. hylesini* + *T. stenus* + *T. impar* + *T. arundinis*.

Druhová skupina *laetus* group nemůže být na základě mých analýz prohlášena jako celek za monofylum. Na druhou stranu se do společné větve řadila aspoň část jejích druhů, a to *T. fischeri, T. igniceps* a *T. ventralis*. Druhy *T. laetus* a *T. grahami* se vyskytovali v jiných větvích. Známými hostiteli *T. laetus*, *T. fischeri* a *T. ventralis* jsou bejlomorky způsobující hálky na ostřicích. Jedná se o bejlomorky společného supertribu Cecidomyiidi (Cecidomyiidae: Cecidomyiinae). Tyto bejlomorky jsou v České Republice velmi vzácné (Skuhravý & Skuhravá, 1998), ale odchyt druhů *T. laetus* a *T. igniceps* je naopak častý, nejvíce pak na vlhkých nelesních biotopech (pers. observ.). U druhu *T. igniceps* se spekuluje o tom, že hostiteli by mohly být žlabatky na růžích, ale přisuzuje se jim i asociace s ostřicemi. Vzhledem ke konfliktu ve frekvenci výskytu potvrzených hostitelů a jejich parazitoidů je nutné podrobit hostitelské spektrum této skupiny detailnějšímu zkoumání a zjistit, zda napadá i jiné živočichy ve vlhkých nelesních biotopech nebo případně i na jiných stanovištích.

Nakonec ani druhová skupina *cyaneus* group nemůže být podle výsledků považována za monofylum, protože druh *T. cyaneus* se vyskytoval ve větvích značně vzdálených od bazálně postavených druhů *T. affinis* + *T. notatus*.

Ke zbytku ze 13 evropských druhových skupin se nelze vyjádřit ve smyslu jejich monofylie kvůli nedostatku dat.

6.3 Morfologie a další dělení rodu *Torymus*

Ve fylogenetických stromech je málo skupin, které by sdílely nějaké jasné morfologické synapomorfie. Nejdůležitější je asi skupina *T. varians* + *T. hylesini* + *T. stenus* + *T. impar* + *T. arundinis*, která disponuje vysokou hodnotou OI. Pak se pospolu nachází několik druhů z *laetus* group, kteří se vymezují dvojzubými mandibulami (oproti trojzubým u všech ostatních druhů), skulpturou na propodeu a absencí frena na štítku. Neumím ovšem vysvětlit, proč se *T. laetus* a *T. grahami* neumístili v příbuznosti zbylých druhů skupiny *laetus* group. Jak bylo popsáno výše pro případ druhů *T. geranii*, *T. auratus* a *T. bedeguaris*, některé zjevné morfologické synapomorfie by mohly být konvergence.

Vzhledem k inkonzistenci monofyletických druhových skupin se lze domnívat, že ani koncept podrodů definovaných Zavadou (2003) nelze považovat za oprávněný. Například *T. fuscicornis* a *T. azureus*, kteří dle Zavady patří do podrodu *Lioterphus*, se v kladogramech řadí do blízké příbuznosti druhů *T. varians* + *T. hylesini* + *T. stenus* + *T. impar* + *T. arundinis*. Ve stejné poloze nacházíme ovšem i druh *T. austriacus*, který patří do jiného podrodu (podrod *Callimomus*). Navíc do podrodu *Callimomus* jsou řazeni ještě zástupci druhové skupiny *laetus* group, která se v topologiích nezobrazuje v příbuznosti s *T. austriacus*. Mohu proto shrnout, že podrody rodu *Torymus* nejsou monofyletické skupiny.

Někteří autoři dokonce stále používají rozdělení na rod *Torymus* a rod *Diomorus* (Zerova & Seryogina, 2001), a to i několik let po synonymizování tohoto rodu s rodem *Torymus*. Do rodu *Diomorus* se řadí například *T. armatus*, *T. calcaratus* a *T. cupreus*. Naopak *T. baudysi* je řazen přímo do rodu *Torymus* (Grissell, 1995). Rod *Diomorus* proto nemůže být považován za validní monofylum, protože druhy do něj řazené spadají do kladu, který může být celý považován za rod *Torymus*.

6.4 Koncept morfospecies

Jedinci některých druhů jako například *T. orobi*, *T. socius*, *T. confinis*, *T. ruschkai* a *T. verbasci* netvořili monofyla tak, jak by se dalo očekávat dle morfologické příslušnosti. Při popisovaní nových druhů, specielně v rámci rodu *Torymus* je často více přihlíženo k hostitelské rostlině než k samotným morfologickým rozdílům (Graham & Gijswijt, 1998).

Je proto možné, že při nedostatečném počtu zástupců nově popisovaného druhu, bude přehlédnut skutečný rozsah morfologických charakteristik, který by nový druh normálně zařadil jako extrémní formu druhu již popsaného. V tomto případě tedy molekulárně genetické markery poukázaly na možný konflikt mezi počtem druhů v rámci rodu *Torymus* vymezených morfologicky (ekologicky) a geneticky. Tento výsledek považuji za pozoruhodný, protože molekulární fylogenetika má častěji tendenci druhy rozdělovat do mnoha kryptických OTU, jako tomu bylo například ve studii o tropických lumčících (Smith *et al.*, 2008). V rámci komunity hálka – parazitoid byly již dříve navrženy oba postupy, a to v jediné studii a dokonce pro jediný druh (Nicholls *et al.*, 2010). *Megastigmus almusiensis* Doganlar, 1989 zde je považován pouze za extrémní formu v kontinuu druhu *M. dorsalis* Fabricius, 1798. Samotný *M. dorsalis* je pak považován za komplex dvou kryptických druhů (Nicholls *et al.*, 2010).

6.5 Potravní strategie

Původní potravní strategií pro rod *Torymus* byla pravděpodobně zoofagie, poněvadž druh *T. baudysi* stejně jako všechny použité outgroups a ostatní rody příbuzné rodu *Torymus* jsou taktéž zoofágní (Noyes, 2011). Z mých výsledků vyplývá, že plesiomorfní hostitelskou skupinou pravděpodobně nemusí být hálkotvorné žlabatky ani bejlomorky. Hostiteli *T. baudysi* jsou hálkotvorné chalcidky rodu *Tetramesa* Walker, 1848 z čeledi Eurytomidae (Chalcidoidea), které vytváří hálky na stéblech trav. Hostiteli dalších skupin vyskytujících se na bázi stromů jsou žahadloví blanokřídlí nebo hálkotvorné bejlomorky a žlabatky (Graham & Gijswijt, 1998). Je proto možné, že první zástupci rodu *Torymus* byli parazitoidi jiných skupin než těch, na kterých recentně dominují. Stejně jako s rostoucí nabídkou krytosemenných rostlin pravděpodobně probíhala radiace u mnoha skupin hálkotvorného hmyzu (Price, 2005), lze předpokládat podobný proces i u jejich parazitoidů. Duby a růže jsou nejčastějšími hostiteli žlabatek a jejich diverzita na těchto rostlinách je značná (Stone & Cook, 1998). Hypoteticky by se dalo předpokládat, že tito hostitelé poskytli volné niky parazitoidům, kteří se rozšířili na další hálkotvorné organismy (ve výsledcích čtyř z šesti datasetů byly hned jako další bazální skupina po *T. baudysi*, případně *T. cupreus* a *T. calcaratus* druhy specializující se převážně na žlabatky na dubech či růžích).

Podle barev čtverců v obrázcích 2 – 22 lze vypozorovat, že v případě většiny druhů se jedná o polyfágy (zjištěné hostitelské spektrum je často velmi široké). Už z tohoto faktu lze usuzovat, že platí teorie dle Askewa (1975), který se domníval, že polyfagie je odvozenou

strategií v klimaxových společenstvech. V korunové linii jsou ale druhy, jejichž hostitelská specifita je omezena pouze na jeden druh hmyzího hostitele (bílý čtverec v druhém sloupci). To by na první pohled mohlo znamenat, že došlo ke zpětné specializaci parazitoidů. Druhým a pravděpodobnějším vysvětlením je, že popisování druhů podle hostitelské rostliny (viz výše kapitola 8.4) způsobilo tuto zdánlivou změnu v hostitelském spektru. Právě OTU jako např. *T. ruschkai* ukazují, že vzorky druhů považovaných za specialisty se nacházejí ve více polohách v korunové linii a netvoří již zmíněné jednodruhové monofylum. To naznačuje, že se v této skupině ve skutečnosti jedná o několik málo druhů, kteří parazitují větší množství hálek pocházejících od bejlomorek. Neznámý druh pojmenován jako *Torymus* sp. n. byl vychován z bejlomorky *Bayeria capitigena* Bremi, 1847 z pryšce. Původně jsme si také mysleli, že půjde o nový druh specializující se na bejlomorku na pryšci, ale v mnoha případech nebyla jeho monofylie podpořena. Proto pod vlivem výsledků mých analýz raději ještě jeho popis odložíme.

Velmi obtížná determinace některých druhů z rodu *Torymus* (do roku 1998 neexistovala žádná ucelenější taxonomická studie jednotlivých druhů) pravděpodobně v historii mohla zapříčinit i několik omylů v šíři hostitelského spektra zkoumaných druhů (konkrétně *T. rubi*, *T. bedeguaris*, *T. igniceps*, *T. varians* a *T. arundinis*). Otazník vedle druhového spektra těchto druhů v obrázcích 20 – 22 značí OTU, které mají pravděpodobně užší hostitelské spektrum, než bylo navrženo (Graham & Gijswijt, 1998; Noyes, 2011). Podle literárních údajů jsou tyto druhy extrémně polyfágní (světle modrý nebo růžový čtverec v obrázcích kladogramů), ale zdá se, že rozsah hostitelů nedosahuje tak velké taxonomické škály. Například *T. arundinis* pravděpodobně parazituje pouze na bejlomorkách na rákosu. Domnělá taxonomická šíře hostitelů tohoto druhu (bejlomorky, žlabatky a kůrovci) může být výsledkem jeho záměny s *T. hylesini*, který napadá hlavně kůrovce a který je mu velmi podobný. U druhů jako jsou *T. rubi* (hostitel *Lasioptera rubi* Schrank, 1803), *T. bedeguaris* (žlabatky na růžích), *T. auratus* (žlabatky na dubech) a *T. igniceps* (bejlomorky) se nejedná přímo o mylné hostitelské spektrum, ale o to, že chalcidka převážně napadá užší skupinu hostitelů (viz závorka vedle názvu druhu), zatímco ostatní jen výjimečně. To se mi v některých případech potvrdilo i v chovech. Zohlednění frekvence napadení jednotlivých hálek v literatuře chybí, ale mohlo by vnést nový pohled na hostitelská spektra jednotlivých druhů. V případě *T. varians* je pravděpodobná striktní fytofagie, zatímco v literatuře se setkáme i s hostitelem jako je druh žlabatky *Diplolepis* sp. (Noyes 2011).

Monofylum *T. varians* + *T. hylesini* + *T. stenus* + *T. impar* + *T. arundinis* plus *T. austriacus* a *T. fuscicornis* jako jeho sesterské druhy se naopak zdá být skupinou sekundárně

specializovaných druhů. Druh *T. varians* je semenožravý, *T. hylesini* se specializuje na kůrovce, *T. arundinis* je pravděpodobně také spíše specialista na bejlomorkách tvořících hálky na rákosu, *T. impar* se nejčastěji orientuje na hálky na vrbách a lze očekávat, že se dokáže živit rostlinnými pletivy stejně jako *T. cyaneus* (Collett in litt.). *T. stenus* je pak nacházen nejčastěji na trávě rodu *Deschampsia* Beauvois. Je proto možné, že fytofagie u *T. varians* je nějakým způsobem ve spojitosti s nižší mírou polyfagie ostatních druhů v této skupině. Druh *T. varians* se v některých kladogramech nachází na bázi této větve, v některých je naopak mezi jejími odvozenými druhy, nelze proto jednoznačně říct, jestli je fytofagie stavem odvozeným nebo původním a proto ani určit její vliv na potravní strategii druhů příbuzných s *T. varians*.

Jednou z otázek, na které jsem se snažila touto prací odpovědět, bylo, jestli je ve fylogenezi oddělena linie druhů rodu *Torymus* parazitujících na žlabatkách od druhů parazitujících na bejlomorkách. Z výsledků jasně vyplývá, že tomu tak není ani pro jednu skupinu. Dokonce ani parazitoidi dubových žlabatek se nezdají být monofyletickou skupinou vzhledem k časté pozici *T. affinis* blízko báze stromu. Druhy parazitující na bejlomorkách se oddělují minimálně do dvou výrazných skupin. Ta bližší bázi stromu pochází ze skupiny *laetus* group a jejím původním biotopem je asi vlhké prostředí mírného pásma. Na druhou stranu korunová větev zahrnuje parazitoidy bejlomorek způsobující hálky na bylinách a keřích v sušším prostředí (louky až stepi).

Na obrázku 23 je zjednodušený kladogram s nastíněním hypotetického vývoje potravních strategií pomocí hostitelských skupin. Poukazuje na to, že tendence k parazitaci larev hálkotvorných bejlomorek a hálkotvorných žlabatek vznikla v evoluci rodu *Torymus* minimálně dvakrát.

.

Obr. 23. Možný vývoj obsazování hostitelských druhů rodem *Torymus*. Strom byl zkonstruován na základě nejčastěji se opakující rozlišené topologie.

6.6 Vztah k hostitelské rostlině

Jedinci druhů *T. auratus*, kteří byli vychováni z hálek různých sekcí rodu *Quercus*, nevykazovali individuální specializaci podle příslušnosti hostitelské rostliny do sekce. Již dříve bylo zkoumáno, jestli polyfágní parazitoidi dubových hálek (rod *Megastigmus*) budou schopni přeskoku na žlabatku na jiný druh dubu z rozdílné sekce. Bylo zjištěno, že to možné je (Hayward and Stone, 2006), s čímž souhlasí i mé výsledky.

Pro druh *T. geranii* nebylo možné vyvodit žádné závěry, protože nebyl k dispozici dostatek dat pro jedince z více hostitelských rostlin. U tohoto druhu se nepodařilo osekvenovat velkou část vzorků a výsledné čtyři vzorky nedávají žádnou odpověď na otázku individuální specializace.

Zdá se, že tyto dva druhy můžeme dále považovat za generalisty. Není možné dělat jakékoliv závěry o způsobu orientace parazitoidů a jejich rozlišovací schopnosti hostitelské rostliny/hálky. Podle mého názoru je ale orientace parazitoidů velmi komplexní a neomezuje se pouze na vyhledání jednoho druhu nebo rodu hostitelské rostliny, na kterém se nachází specifická hálka. Pokud by se vosičky takto orientovaly, tak by bylo možné očekávat výraznou polyfagii a snížení počtu druhů v korunové větvi všech fylogenetických stromů.

Ve výsledných topologiích byl ale i klad, kde se orientace pouze podle vzhledu rostliny nedá vyloučit. Jedná se o pravděpodobně sekundárně specializovanou větev s menší škálou hostitelů a s fytofágním druhem (*T. varians* + *T. hylesini* + *T. stenus* + *T. impar* + *T. arundinis* plus *T. austriacus*, *T. fuscicornis* a v některých analýzách ještě *T. azureus*). Právě *T. azureus* je i v literatuře považován extrémního generalistu pouze na jediném rodu rostlin (*Picea* spp.).

7 Závěr a shrnutí

Tato diplomová práce pomohla nahlédnout do průběhu evoluce jedné významné skupiny parazitoidů hmyzu. I když původní strategií bylo pravděpodobně napadání larev hmyzu vyskytujícího se v rostlinných pletivech, tak nejvíce evropských druhů rodu *Torymus* napadá hálkotvorné bejlomorky a žlabatky. Může se tedy jednat o adaptivní radiaci druhů, která proběhla díky nabídce potravních zdrojů.

Zástupci rodu *Torymus* mohou být nadále považováni za generalisty s výjimkou několika málo druhů, u nichž by mohla existovat sekundární specializace na hostitelský hmyz nebo rostlinu. Nebyla potvrzena ani individuální specializace na vzhled rostliny v rámci jednoho druhu. Nelze odpovědět na to, podle jakých signálů se orientují, i když alespoň v jedné větvi kladogramu by mohla být klíčovým signálem podoba hostitelské rostliny.

U skupin, pro které byla získána data, bylo částečně zpochybněno současné dělení evropských druhů do morfologických a ekologických druhových skupin nebo dokonce do samostatných rodů či podrodů. OTU se v mých analýzách sice rozdělily do několika větví, ale toto dělení není shodné s navrhovanými druhovými skupinami. Při pokusu o další třídění do druhových skupin bude nutné přihlížet hlavně k ekologii druhů a k biotopu, ve kterém se přirozeně vyskytují. Morfologické znaky se také uplatní, i když některé z nich jsou pravděpodobně konvergentní. Specializace na taxonomickou příslušnost hostitele je podle mne při popisu druhových skupin zavádějící.

Patrně bude nutné přehodnotit i způsob, jakým se popisují nové druhy rodu. Bylo zjištěno, že hostitelské vazby nejsou tak striktní, jak bylo myšleno, proto je nutné dbát na výrazné morfologické apomorfie nového druhu. Bylo by vhodné nové druhy popisovat až při vychování velkého počtu vzorků a za použití morfometrických analýz, což dovolí jednoznačné odlišení od jiných druhů.

8 Seznam literatury

Abrahamson, W.G. and McCrea, K.D. 1986. Nutrient and Biomass Allocation in Solidago altissima: Effects of Two Stem Gallmakers, Fertilization, and Ramet Isolation. *Oecologia*, **68**: 174-180.

Anderson, K.G. and Harris, M.O. 2006. Does R Gene Resistance Allow Wheat to Prevent Plant Growth Effects Associated with Hessian Fly (Diptera: Cecidomyiidae) Attack? *Journal of Economic Entomology*, **99**: 1842-1853.

Askew, R.R. 1961. On the Biology og the Inhabitants of Oak Galls of Cynipidae (Hymenoptera) in Britain. *Transactions of the Society for British Entomology*, **14**: 237 - 268.

Askew, R.R. 1965. The Biology of the British Species of the Genus *Torymus* Dalman (Hymenoptera: Torymidae) Associated with galls of Cynipidae (Hymenoptera) on Oak, with Special Reference to Alternation of Froms. *Transactions of the Society for British Entomology*, **16**: 217 - 232.

Askew, R.R. 1975. The Organisation of Chalcid-dominated Parasitoid Communities Centred upon Endophytic Hosts. In *Evolutionary Strategies of parasitic Insects and Mites* (P.W. Price, ed), pp. 130 - 153. New York: Plenum Press.

Askew, R.R. 1980. The Diversity of Insect Communities in Leafmines and Plant Galls. *Journal of Animal Ecology*, **49**: 817-829.

Askew, R.R. and Shaw, M.R. 1986. Parasitoid communities: their size, structure and development. In *Insect parasitoid* (J. Waage and D. Greathead, eds), pp. 225 - 264. London, UK: Academic Press.

Bailey, R., Schonrogge, K., Cook, J.M., Melika, G., Csoka, G., Thuroczy, C. and Stone, G.N. 2009. Host Niches and Defensive Extended Phenotypes Structure Parasitoid Wasp Communities. *PLoS Biol*, **7**: e1000179.

Barker, F.K. and Lutzoni, F.M. 2002. The Utility of the Incongruence Length Difference Test. *Systematic Biology*, **51**: 625-637.

Baust, J.G., Grandee, R., Condon, G. and Morrissey, R.E. 1979. The Diversity of Overwintering Strategies Utilized by Separate Populations of Gall Insects. *Physiological Zoology*, **52**: 572-580.

Bouček, Z. 1988. *Australasian Chalcidoidea (Hymenoptera). A biosystematic revision of genera of fourteen families, with a reclassification of species.* Wallingford, Oxon, UK: CAB International.

Campbell, B.C., Steffen-Campbell, J.D. and Werren, J.H. 1994. Phylogeny of the Nasonia species complex (Hymenoptera: Pteromalidae) inferred from an internal transcribed spacer (ITS2) and 28S rDNA sequences. *Insect Molecular Biology*, **2**: 225-237.

Cornell, H.V. 1983. The Secondary Chemistry and Complex Morphology of Galls Formed by the Cynipinae (Hymenoptera): Why and How? *American Midland Naturalist*, **110**: 225-234.

Crozier, R.H., Crozier, Y.C. and Mackinlay, A.G. 1989. The CO-I and CO-II region of honeybee mitochondrial DNA: evidence for variation in insect mitochondrial evolutionary rates. *Molecular Biology and Evolution*, **6**: 399-411.

Danforth, B.N., Sauquet, H. and Packer, L. 1999. Phylogeny of the Bee Genus Halictus (Hymenoptera: Halictidae) Based on Parsimony and Likelihood Analyses of Nuclear EF-1[alpha] Sequence Data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **13**: 605-618.

Dawkins, R. 1982. *The extended phenotype: the gene as a unit of selection*. New York: Freeman (Oxford Oxfordshire and San Francisco).

Dawkins, R. and Krebs, J.R. 1979. Arms Races between and within Species. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, **205**: 489-511.

Denman, S., Crous, P., Taylor, J., Kang, J., Pascoe, I. and Wingfield, M. 2000. An overview of the taxonomic history of Botryosphaeria, and a re-evaluation of its anamorphs based on morphology and ITS rDNA phylogeny. *Studies in Mycology*, **45**: 129 - 140.

Farris, J.S., Källersjö, M., Kluge, A.G. and Bult, C. 1994. TESTING SIGNIFICANCE OF INCONGRUENCE. *Cladistics*, **10**: 315-319.

Felsenstein, J. 1985. Confidence Limits on Phylogenies: An Approach Using the Bootstrap. *Evolution*, **39**: 783-791.

Fernandes, G.W. and Negreiros, D. 2001. The occurrence and effectiveness of hypersensitive reaction against galling herbivores across host taxa. *Ecological Entomology*, **26**: 46-55.

Fernandes, G.W. and Price, P.W. 1988. Biogeographical Gradients in Galling Species Richness. Tests of Hypotheses. *Oecologia*, **76**: 161-167.

Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. and Vrijenhoek, R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, **3**: 294-299.

Gillespie, J.J., Munro, J.B., Heraty, J.M., Yoder, M.J., Owen, A.K. and Carmichael, A.E. 2005. A Secondary Structural Model of the 28S rRNA Expansion Segments D2 and D3 for Chalcidoid Wasps (Hymenoptera: Chalcidoidea). *Molecular Biology and Evolution*, **22**: 1593-1608.

Graham , d.V., M.W.R. and Gijswijt, M.J. 1998. Revision of the European species of Torymus Dalman (s. lat.) (Hymenoptera: Torymidae). *Zoologische Verhandelingen*, **317**: 1 - 202.

Grissell, E.E. 1976. A revision of western Nearctic species of Torymus Dalman (Hymenoptera: Torymidae). *University of California Publications in Entomology*, **79**: 1-120.

Grissell, E.E. 1995. Toryminae (Hymenoptera: Chalcidoidea: Torymidae) a redefinition, generic classification, and annotated world catalog of species. *Memoirs on Entomology, International*, **2**: 1 - 474.

Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, **41**: 95-98.

Harper, L.J., Schonrogge, K., Lim, K.Y., Francis, P. and Lichtenstein, C.P. 2004. Cynipid galls: insect-induced modifications of plant development create novel plant organs. *Plant, Cell & Environment*, **27**: 327-335.

Hawkins, B.A. and Gagné, R.J. 1989. Determinants of assemblage size for the parasitoids of Cecidomyiidae (Diptera). *Oecologia*, **81**: 75-88-88.

Hawkins, B.A. and Goeden, R.D. 1984. Organization of a parasitoid community associated with a complex of galls on Atriplex spp. in southern California. *Ecological Entomology,* **9**: 271-292.

Hayward, A., Stone, G.N. 2006. Comparative phylogeography across two trophic levels: the oak gall waps *Andricus kollari* and its chalcid paraditoid *Megastigmus stigmatizans*. *Molecular Ecology* **15**: 479 - 489.

Hedges, S.B., Moberg, K.D. and Maxson, L.R. 1990. Tetrapod phylogeny inferred from 18S and 28S ribosomal RNA sequences and a review of the evidence for amniote relationships. *Molecular Biology and Evolution,* **7**: 607-633.

Janšta, P. 2006. Fylogeneze chalcidek čeledi Torymidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) – analýza molekulárních a morfologických znaků. Diplomová práce: Univerzita Karlova v Praze.

Jermiin, L.S. and Crozier, R.H. 1994. The cytochrome b region in the mitochondrial DNA of the ant *Tetraponera rufoniger*: Sequence divergence in hymenoptera may be associated with nucleotide content. *Journal of Molecular Evolution,* **38**: 282-294-294.

Jones, D. 1983. The influence of host density and gall shape on the survivorship of Diastrophus kincaidii Gill. (Hymenoptera: Cynipidae). *Canadian Journal of Zoology,* **61**: 2138-2142.

Kaartinen, R., Stone, G.N., Hearn, J., Lohse, K. and Roslin, T. 2010. Revealing secret liaisons: DNA barcoding changes our understanding of food webs. *Ecological Entomology,* **35**: 623-638.

Kim, J. 1996. General Inconsistency Conditions for Maximum Parsimony: Effects of Branch Lengths and Increasing Numbers of Taxa. *Systematic Biology,* **45**: 363-374.

Kinsey, A. 1920. Phylogeny of cynipid genera and biological characteristics. *Bulletin of American Museum of Natural History,* **42**: 357 - 402.

Labandeira, C.C. and Phillips, T.L. 1996. A Carboniferous insect gall: insight into early ecologic history of the Holometabola. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* **93**: 8470-8474.

Larew, G.H. 1986. The fossil gall record:a brief summary. Proceedings of the Entomological Society of Washington, **88:** 385-388.

Malyshev, S.I. 1968. *Genesis of the hymenoptera and the phases of their evolution*. London, UK: Methuen & company.

Nicholls, J.A., Preuss, S., Hayward, A., Melika, G., Csoka, G., Nieves-Aldrey, J.L., Askew, R.R., Tavakoli, M., Schonrogge, K. and Stone, G.N. 2010. Concordant phylogeography and cryptic speciation in two Western Palaearctic oak gall parasitoid species complexes. *Molecular Ecology,* **19**: 592-609.

Noyes, J.S. 2011. Universal Chalcidoidea Database: http://www.nhm.ac.uk/research-curation/research/projects/chalcidoids/ The Natural History Museum London.

Posada, D. 2008. jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution,* **25**: 1253-1256.

Price, P.W. 1975. Introduction: the Parasitic Way of Life and its Consequences. In *Evolutionary Strategies of Parasitic Insects and Mites* (P.W. Price, ed), pp. 1 - 13. New York: Plenum Press.

Price, P.W. 1987. Adaptive nature of insect galls. *Environmental entomology,* **16**: 15.

Price, P.W. 2005. Adaptive radiation of gall-inducing insects. *Basic and Applied Ecology,* **6**: 413-421.

Raman, A., Schaefer, C.W. and Withers T.M. (editors). 2005. *Biology, Ecology and Evolution of Gall-inducing Arthropods*, Vol. 1. Enfield, New Hampshire, USA: Science Publishers, Inc.

Ronquist, F. and Huelsenbeck, J.P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics,* **19**: 1572-1574.

Ronquist, F. and Liljeblad, J. 2001. Evolution of the Gall Wasp-Host Plant Association. *Evolution,* **55**: 2503-2522.

Ronquist, F. and Nieves-Aldrey, J.L. 2001. A new subfamily of Figitidae (Hymenoptera, Cynipoidea). *Zoological Journal of the Linnean Society,* **133**: 483-494.

Roskam, J.C. 1985. Evolutionary patterns in gall midge - host plant associations (Diptera, Cecidomyiidae). *Tijdschrift Voor Entomologie,* **128**: 193 - 213.

Sanver, D. and Hawkins, B.A. 2000. Galls as habitats: the inquiline communities of insect galls. *Basic and Applied Ecology,* **1**: 3-11.

Schäller, G. 1969. Untersuchungen zur erzeugung künstlicher Pflanzengallen. *Marcellia,* **35**: 131 - 153.

Simmons, R.B. and Weller, S.J. 2001. Utility and Evolution of Cytochrome b in Insects. *Molecular Phylogenetics and Evolution,* **20**: 196-210.

Skuhravý, V. and Skuhravá, M. 1998. *Bejlomorky lesních stromů a keřů*. Písek, Česká republika: Matice lesnická s. r. o.

Smith, M.A., Rodriguez, J.J., Whitfield, J.B., Deans, A.R., Janzen, D.H., Hallwachs, W. and Hebert, P.D.N. 2008. Extreme diversity of tropical parasitoid wasps exposed by iterative integration of natural history, DNA barcoding, morphology, and collections. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* **105**: 12359-12364.

Stamatakis, A. 2006. RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics,* **22**: 2688-2690.

Stone, G.N. and Cook, J.M. 1998. The structure of cynipid oak galls: patterns in the evolution of an extended phenotype. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences,* **265**: 979-988.

Stone, G.N., Hernandez-Lopez, A., Nicholls, J.A., Di Pierro, E., Pujade-Villar, J., Melika, G. and Cook, J.M. 2009. EXTREME HOST PLANT CONSERVATISM DURING AT LEAST 20 MILLION YEARS OF HOST PLANT PURSUIT BY OAK GALLWASPS. *Evolution,* **63**: 854-869.

Stone, G.N. and Schönrogge, K. 2003. The adaptive significance of insect gall morphology. *Trends in Ecology & Evolution,* **18**: 512-522.

Stone, G.N., van der Ham, R.W.J.M. and Brewer, J.G. 2008. Fossil oak galls preserve ancient multitrophic interactions. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences,* **275**: 2213-2219.

Swofford, D.L. 2003. *PAUP*: phylogenetic analysis using parsimony, version 4.0b10*. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates.

Tamura, K., Dudley, J., Nei, M. and Kumar, S. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) Software Version 4.0. *Molecular Biology and Evolution,* **24**: 1596-1599.

Thompson, J.D., Higgins, D.G. and Gibson, T.J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research,* **22**: 4673-4680.

Turlings, T.C.J., Tumlinson, J.H. and Lewis, W.J. 1990. Exploitation of Herbivore-Induced Plant Odors by Host-Seeking Parasitic Wasps. *Science,* **250**: 1251-1253.

Waring, G.L. and Price, P.W. 1989. Parasitoid pressure and the radiation of a gallforming group (Cecidomyiidae: *Asphondylia* spp.) on creosote bush (*Larrea tridentata*). *Oecologia,* **79**: 293-299-299.

Yang, Z. and Rannala, B. 1997. Bayesian phylogenetic inference using DNA sequences: a Markov Chain Monte Carlo Method. *Molecular Biology and Evolution,* **14**: 717-724.

Yoder, A.D., Irwin, J.A. and Payseur, B.A. 2001. Failure of the ILD to Determine Data Combinability for Slow Loris Phylogeny. *Systematic Biology,* **50**: 408-424.

Zavada, A. 2003. Definition of subgenera and a reassessment of species groups of Torymus Dalman (Hymenoptera: Torymidae), based on Palaearctic material. *Phegea,* **31**: 91-120.

Zerova, M.D. and Seryogina, L.Y. 2001. New for the Fauna of Russia Species of the Genus Diomorus (Hymenoptera, Torymidae). *Vestnik zoologii,* **35**: 85 - 88.

9 Přílohy

9.1 Seznam zkratek

µl – mikrolitr
°C – stupeň Celsia
28SD2 rDNA – velká ribosomální podjednotka 28S rDNA, expansion segment D2
BA – Bayesova analýza
CI – celkový index konzistence (tzv. consistency index)
CO_2 – oxid uhličitý
COI – podjednotka I cytochrom oxidázy
CPD – Critical Point Device
CytB – cytochrom B
DNA – deoxyribonukleová kyselina
ddH20 – dvakrát destilovaná voda
GTR – Generalised Time Reversible model evoluce sekvencí DNA
HI – celkový index homoplázie (homoplasy index)
$MgCl_2$ – chlorid hořečnatý
ML – analýza maximální věrohodnosti
MP – analýza maximální parsimonie
ng – nanogram
OI – ovipositor index
OTU – operativní taxonomická jednotka
PCR – polymerázová řetězová reakce (polymerase chain reaction)
PJ – Mgr. Petr Janšta
PřF UK – Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze
Taq – *Thermus aquaticus*
RNA – ribonukleová kyselina
UV – ultrafialové záření

9.2 Tabulky druhů zahrnutých do analýz

Tabulka 1: Druhové skupiny rodu Torymus podle tří různých literárních zdrojů, jejich hostitelská spektra a morfologické charakteristiky.

Druhová skupina	Autor	Počet taxonů	Klasifikace dle Grissell 1976	Klasifikace dle Zavada 2003 do podrodů	Hostitel	Čeleď hostitele	Hostitelská rostlina	Morfologické znaky
Torymus nitidulus group	Graham & Gijswijt, 1998	2		*Lioterphus*	*Semudobia* spp.	Cecidomyiidae	*Betula* spp.	střední holeně s jednou ostruhou (ostatní druhy rodu mají dvě ostruhy), paličkovitá tykadla, frenum na štítku vyvinuto
Torymus laetus group	Graham & Gijswijt, 1998	10		*Callimomus*	neznámý, pravděpodobně Cecidomyiidae gen. spp.	Cecidomyiidae	*Carex* spp.	dvouzubé mandibuly (ostatní druhy rodu mají trojzubé mandibuly), propodeum silně skulpturované, bez frena na štítku
Torymus armatus species sola	Graham & Gijswijt, 1998	1		*Areotorymus*	Sphecidae gen. spp.	Sphecidae	*Rubus* spp.	frenální rýha vyvinuta, zadní stehno se silným zubem, propodeum hladké, lesklé
Torymus cupreus group	Graham & Gijswijt, 1998	3	*fullawai* group	*Areotorymus*	Sphecidae gen. spp.	Sphecidae		frenální rýha vyvinuta, zadní stehno se silným zubem, propodeum vrásčité
Torymus austriacus group	Graham & Gijswijt, 1998	2		*Callimomus*	neznámý			frenální rýha vyvinuta, velmi jemná skulptura, oceli malé
Torymus azureus species sola	Graham & Gijswijt, 1998	1		*Torymus*	Cecidomyiidae gen. spp.	Cecidomyiidae	*Picea* spp.	frenální rýha vyvinuta, prodloužená zadní kyčel, okcipitální rýha velmi jemná
Torymus baudysi group	Graham & Gijswijt, 1998	1	*tubicola* group	*Arctorymus*	*Tetramesa* spp.	Eurytomidae	Poaceae gen. spp.	frenální rýha vyvinuta, přisedlé stigma v žilnatině křídla
Torymus cyaneus group	Graham & Gijswijt, 1998	6		*Torymus*	Cynipidae gen. spp.	Cynipidae	*Quercus* spp.	frenální rýha vyvinuta, krátké kostální pole, celkově 8-9,5 krát tak dlouhé, jako široké
Torymus varians group	Graham & Gijswijt, 1998	3	*varians* group	*Torymus*			Rosaceae	frenální rýha vyvinuta, dlouhé kostální pole, celkově 11-12 krát tak dlouhé, jako široké
Torymus erucarum group	Graham & Gijswijt, 1998	6		*Torymus*	Cynipidae gen. spp.	Cynipidae	*Quercus* spp.	bez frenální rýhy, zadní kyčel dorzálně bez set, poměrně velká středohruď a štítek
Torymus hederae group	Graham & Gijswijt, 1998	4		*Torymus*	Cecidomyiidae gen. spp.	Cecidomyiidae	*Fagus sylvatica*	bez frenální rýhy, články tykadel dlouhé a úzké
Torymus flavipes group	Graham & Gijswijt, 1998	2		*Torymus*	Cecidomyiidae gen. spp., Cynipidae gen. spp.	Cecidomyiidae, Cynipidae	*Quercus* spp.	bez frenální rýhy, delší ostruha zadní holeně, delší než polovina bazálního chodidlového článku
Torymus pulchellus group	Graham & Gijswijt, 1998	3		*Torymus*	Cecidomyiidae gen. spp.	Cecidomyiidae	*Salix* spp.	bez frenální rýhy, ostruha zadní holeně velmi krátká
Torymus arundinis species sola	Graham & Gijswijt, 1998	1		*Torymus*	Cecidomyiidae gen. spp.	Cecidomyiidae	*Phragmites excelsior*	bez frenální rýhy, přední křídlo se dvěma až třemi řadami set na kubitální žilce
Torymus favardi species sola	Graham & Gijswijt, 1998	1		*Torymus*	Cecidomyiidae gen. spp., Cynipidae gen. spp.	Cecidomyiidae, Cynipidae	*Quercus ilex*	bez frenální rýhy, stigma obkrouženo velkou tmavou skvrnou
Torymus cingulatus group	Graham & Gijswijt, 1998	7		*Torymus*				bez frenální rýhy, zadní kyčel velmi dlouhá (2,5 - 3 krát delší než široká)
Torymus apiomyiae species sola	Graham & Gijswijt, 1998	1		*Torymus*	*Apiomyia bergenstammi*	Cecidomyiidae	*Pirus communis*	bez frenální rýhy, tělo hustě ochlupeno, včetně křídel, černé nohy a pysková makadla
Torymus bedeguaris group	Graham & Gijswijt, 1998	103	*bedeguaris* group	*Torymus*	Cecidomyiidae gen. spp., Cynipidae gen. spp.	Cecidomyiidae, Cynipidae		sběrná skupina, bez frenální rýhy, další morfologické znaky nejednotné

Tabulka 2: Seznam analyzovaných druhů, jejich lokalit a způsobu získání. V případě vychování druhu z hostitelské hálky je uvedena taxonomická příslušnost hostitele a rostlina, z které byla hálka sebrána.

Číslo vzorku/ kód názvu	Rodové a druhové jméno	Lokalita	Původ	Druh hostitele	Taxonomická příslušnost hostitele	Druh hositelské rostliny
13	*Torymus thymi* Ruschka, 1921	AU, Niederösterr., Ascher env., 3.vii.2008, leg. P. Janšta	nasmýkáno			
14	*Torymus* sp. n.	HU, Örkény, 128m, N47°06.218', E019°23.434', 4.–5.v ii.2008, ex Bayeria capitigena??? on Euphorbia sp., leg. P. Janšta, 17/08	vychováno	*Bayeria capitigena* Bremi, 1847	Cecidomyiidae	*Euphorbia* sp.
15	*Torymus ruschkai* Hoffmeyer, 1929	SK SW, Velké Leváre – ABROD , N48°32.135', E017°00. 180', 6.vii.2008, [flooded meadow, individually], sweeping	nasmýkáno			
16	*Torymus* sp. n.	HU, Kunbaracs, 99m, N 46°59.501', E019°23.492', 4.v ii.2008, ex Bayeria capitigena on Euphorbia cyparissias, leg. P. Janšta, 16/08	vychováno	*Bayeria capitigena* Bremi, 1847	Cecidomyiidae	*Euphorbia cyparissias* Linnaeus
17	*Torymus cupreus* Spinola, 1808	SK SW, Velké Leváre – ABROD, N48°32.135', E017°00.1 80', 6.vii.2008, [flooded meadow, individually], sweeping	nasmýkáno			
18	*Torymus ventralis* Fonscolombe, 1832	SK SW, Velké Leváre – ABROD, N48°32.135', E017°00.1 80', 6.vii.2008, [flooded meadow, individually], sweeping	nasmýkáno			
19	*Torymus bedeguaris* Linnaeus, 1758	GR, Lake Limni Mikro Prespa, Achillios env., 5.-10.v.2008, leg. Z. Musilová, O. Gahura	vychováno	*Diplolepis rosae* Linnaeus, 1758	Cynipidae	*Rosa* sp.
20	*Torymus impar* Rondani, 1877	HU, Örkény, 128m, N47°06.218', E019°23.434', 4.–5.v ii.2008, ex Cecidomyiidae on Salix sp., leg. P. Janšta, 26/08	vychováno	*Rabdophaga* sp.	Cecidomyiidae	*Salix* sp.
23	*Torymus geranii* Walker, 1833	CZ, Bohemia centr., Praha-Suchdol, CZU area, 3.xi.2007, ex Chilaspis nitida on Q. cerris	vychováno	*Chilaspis nitida* Giraud, 1859	Cynipidae	*Quercus cerris* Linnaeus
24	*Torymus wachtliellae* Graham & Gijswijt, 1998	CZ, Mor. mer., Klentnice env., 48°50´15.77´´N, 16°3 8´35.91´´E, 23.viii.2007, ex Wachtliella rosarum, Petr Janšta leg.	vychováno	*Wachtliella rosarum* Hardy, 1850	Cecidomyiidae	*Rosa canina* Linnaeus
25	*Torymus wachtliellae* Graham & Gijswijt, 1998	CZ, Mor. mer., Klentnice env.,48°50´15.77´´N, 16°38 ´35.91´´E, 23.viii.2007, ex Wachtliella rosarum, Petr Janšta leg.	vychováno	*Wachtliella rosarum* Hardy, 1850	Cecidomyiidae	*Rosa canina* Linnaeus
26	*Torymus auratus* Müller, 1764	CZ, Boh. mer., Frahelž env., 15.viii.2007, ex Cynips longiventris on Q. robur, Petr Janšta leg.	vychováno	*Cynips longiventris* Hartig, 1840	Cynipidae	*Quercus robur* Linnaeus
27	*Torymus auratus* Müller, 1764	CZ, Boh. mer., Frahelž env., 15.viii.2007, ex Andricus kollari on Q. robur, Petr Janšta leg.	vychováno	*Andricus kollari* Hartig, 1843	Cynipidae	*Quercus robur* Linnaeus
29	*Torymus socius* Mayr, 1874	CZ, Mor. mer. or., Ždánice env., 49°04´40.67´´N, 17°01´55.44´´E, 24.viii.2007 (reared 14.ix.2007), ex Lasioptera carophila??? on Pimpinella saxifraga, Petr Janšta leg.	vychováno	*Lasioptera carophila* F. Löw, 1874	Cecidomyiidae	*Pimpinella saxifraga* Linnaeus
30	*Torymus socius* Mayr, 1874	CZ, Mor. mer. or., Ždánice env., 49°04´40.67´´N, 17°01´55.44´´E, 24.viii.2007 (reared 14.ix.2007), ex Lasioptera carophila??? on Pimpinella saxifraga, Petr Janšta leg.	vychováno	*Lasioptera carophila* F. Löw, 1874	Cecidomyiidae	*Pimpinella saxifraga* Linnaeus
31	*Torymus impar* Rondani, 1877	HU, Örkény,128m, N47°06.218'E019°23.434', 4.–5.vii .2008, ex Cecidomyiidae on Salix sp., leg. P. Janšta	vychováno	*Rabdophaga* sp.	Cecidomyiidae	*Salix* sp.
32	*Torymus hylesini* Graham, 1994	CZ, Boh. or., Jilemnice - Dívčina, 1.-3.vii.2005, ex Hylesinus fraxini on Fraxinus excelsior, leg. P. Šrámek	vychováno	*Hylesinus fraxini* Panzer, 1779	Scolytidae	*Fraxinus excelsior* Linnaeus
33	*Torymus rubi* Schrank, 1781	CZ, Boh. bor., Doksy, 1.v.2005, leg. P. Janšta	vychováno	*Lasioptera rubi* Schrank, 1803	Cecidomyiidae	*Rubus* sp.

34	*Torymus caudatus* Boheman, 1834	CZ, Boh. mer. or., Humpolec env., 20.iv.2005, leg. P. Janšta	vychováno	*Kaltenbachiola strobi* Winnertz, 1853	Cecidomyiidae	*Picea abies* (Linnaeus) Karsten
35	*Torymus varians* Walker, 1833	CZ, Mor. mer., Mikulov NPR Tabulová, 7.vii.2007, on Crataegus sp., Petr Janšta leg.	nasmýkáno			*Crataegus* sp.
36	*Torymus flavipes* Walker, 1833	CZ, Boh. mer., Vlkov env. - Rozemberk pond dam, ex galls of Neuroterus sp., 21.xi.2004, Petr Janšta leg.	vychováno	*Neuroterus quercusbaccarum* Linnaeus, 1758	Cynipidae	*Quercus robur* Linnaeus
38	*Torymus socius* Mayr, 1874	HR S., 23km SE from Dubrovnik, Radovčiči env., 26.vii.2005, sweeping of vegetation, leg. P. Janšta	nasmýkáno			
39	*Torymus baudysi* Bouček, 1954	CZ, CHKO Pálava, Děvín res., 8.vii.2004, leg. P. Janšta	nasmýkáno			
40	*Torymus lythri* Bouček, 1994	CZ, CHKO Pálava, Děvín res., 8.vii.2004, leg. P. Janšta	nasmýkáno			
41	*Torymus auratus* Müller, 1764	CZ, Praha - Kunratický les, 219m, grid 5952, N 50°0 1,433´´, E 14°28, 321´´, 30.v.2004, leg. P. Janšta	vychováno	*Cynips quercusfolii* Linnaeus, 1758		*Quercus robur* Linnaeus
42	*Torymus ventralis* Fonscolombe, 1832	CZ, Mor. mer., Kurdějov env., 5.vi.2005, leg. J. Bezděk	nasmýkáno			
43	*Torymus auratus* Müller, 1764	CZ, Bohemia, Mokrovlaty - Pouště, 6.xii.2004, leg. M. Weiser, ex C. quercus folii?	vychováno	*Cynips quercusfolii* Linnaeus, 1758	Cynipidae	*Quercus robur* Linnaeus
44	*Torymus auratus* Müller, 1764	CZ, Bohemia, Mokrovlaty - Pouště, 6.xii.2004, leg. M. Weiser, ex C. quercus folii?	vychováno	*Cynips quercusfolii* Linnaeus, 1758	Cynipidae	*Quercus robur* Linnaeus
45	*Torymus auratus* Müller, 1764	CZ, Praha - Suchdol, x.2003, leg. Fikaček & Šípek, ex. C. quercus-calicis	vychováno	*Andricus quercuscalicis* Burgsdorf, 1783	Cynipidae	*Quercus robur* Linnaeus
46	*Torymus auratus* Müller, 1764	CZ, Praha - Suchdol, x.2003, leg. Fikaček & Šípek, ex. C. quercus-calicis	vychováno	*Andricus quercuscalicis* Burgsdorf, 1783	Cynipidae	*Quercus robur* Linnaeus
59	*Torymus veronicae* Ruschka, 1921	HU, Köszeg, Irotkö summit, 19.v.2001, leg. L. Masner, s.s.	nasmýkáno			
60	*Torymus veronicae* Ruschka, 1921	HU, Köszeg, Irotkö range, 900m, 19.v.2001, leg. L. Masner, s.s.	nasmýkáno			
61	*Torymus veronicae* Ruschka, 1921	HU, Köszeg, Irotkö summit, 19.v.2001, leg. L. Masner, s.s.	nasmýkáno			
63	*Torymus igniceps* Mayr, 1874	CZ, Orlické hory PLA, Ošerov, 50°19'28.895"N, 16°20 '26.43"E, 9.vii.2008, MT J. Hájek	Malaise trap (MP)			
64	*Torymus* sp. n.	HU, Orkény, ex Bayeria capitigena on Euphorbia, 4.-5.7.2008, leg. Petr Janšta	vychováno	*Bayeria capitigena* Bremi, 1847	Cecidomyiidae	*Euphorbia* sp.
65	*Torymus auratus* Müller, 1764	CZ, Drnholec, ex Cynips longiventris on Quercus robur, 23.vii.2007, leg. P. Janšta	vychováno	*Cynips longiventris* Hartig, 1840	Cynipidae	*Quercus robur* Linnaeus
66	*Torymus confinis* Walker, 1833	CZ, Velký Vřešťov, ex Dasineura urtica on Urtica dioica, 17.vii.2008, leg. P. Janšta	vychováno	*Dasineura urticae* Perris, 1840	Cecidomyiidae	*Urtica dioica* Linnaeus
67	*Torymus* sp. n.	HU, Orkény, ex Bayeria capitigena on Euphorbia, 4.-5.7.2008, leg. Petr Janšta	vychováno	*Bayeria capitigena* Bremi, 1847	Cecidomyiidae	*Euphorbia* sp.
68	*Torymus impar* Rondani, 1877	HU, Orkény, ex Rabdophaga sp. on Salix, 4.-5.7.2008, leg. Petr Janšta	vychováno	*Rabdophaga* sp.	Cecidomyiidae	*Salix* sp.
69	*Torymus* sp. n.	AU, Weidling, ex Bayeria capitigena on Euphorbia sp. 2.vii.2008, leg. P. Janšta	vychováno	*Bayeria capitigena* Bremi, 1847	Cecidomyiidae	*Euphorbia* sp.
70	*Torymus ventralis* Fonscolombe, 1832	CZ, Bílé Karpaty PLA, Hutě NR, MT, 48°59'28.001"N, 17°54'30.193"E, 19.vi.2007, J. Macek lgt.	MT			

71	*Torymus fischeri* Ruschka, 1921	CZ, Bílé Karpaty PLA, Hutě NR, MT, 48°59'28.001"N, 17°54'30.193"E, 19.vi.2007, J. Macek lgt.	MT			
72	*Torymus igniceps* Mayr, 1874	CZ, Orlické hory PLA, Ošerov, 50°19'28.895"N, 16°20 '26.43"E, 9.vii.2008, MT J. Hájek lgt.	MT			
74	*Torymus roboris* Walker, 1833	CZ, Železné hory PLA, Doubrava riv., Svatomariánské údolí NR, MT, 49°44'49.04"N, 15°40'55.959"E, 10.viii.2006, F. Bár ta lgt.	MT			
76	*Torymus armatus* Boheman, 1834	CZ, Český kras PLA, Koda NR, 49°55'55.318"N, 14°6'59.332 "E, 22.vi..2007, J. Macek lgt.	MT			
78	*Torymus caudatus Boheman, 1834*	CZ, Kralický Sněžník Mts., Mokřiny, údolí Prudkého potoka, 50°9'50.2"N, 16°51'23.36"E, 26.ix.2005, J. Ježek lgt.	MT			
79	*Torymus austriacus* Graham, 1994	CZ, České Švýcarsko NP, Růžák NR, MT., 16.v.2007, 50°50'0.492"N, 14°19'49.508"E, 16.v.2007, J. Macek lgt	MT			
81	*Torymus notatus* Walker, 1833	ES, Jabalcón, THS, 5.iv.2010	vychováno	Cynipidae gen. sp.	Cynipidae	*Quercus* sp.
82	*Torymus bedeguaris* Linnaeus, 1758	RS, Divl Jana, 2.viii.2009, Šťáhlavský	vychováno	*Diplolepis rosae* Linnaeus, 1758	Cynipidae	*Rosa* sp.
83	*Torymus bedeguaris* Linnaeus, 1758	GB, Faversham, 25.iii.2010	vychováno	*Diplolepis rosae* Linnaeus, 1758	Cynipidae	*Rosa canina* Linnaeus
84	*Torymus auratus* Müller, 1764	GB, Faversham, 27.x.2009	vychováno	*Diplolepis rosae* Linnaeus, 1758	Cynipidae	*Rosa canina* Linnaeus
85	*Torymus phillyreae* Ruschka, 1921	FR, 96, 'Gard' Dourbies, 'Montagne Lingas, sentier de découverte PN, 29.vi.2007, Delvare G.,	nasmýkáno			
86	*Torymus ruschkai* Hoffmeyer, 1929	HU, Köszeg, 47.364302°N, 16.52591°E, 30.vi.2010	nas mýkáno			
87	*Torymus varians* Walker, 1833	HU, Köszeg, 47.364302°N, 16.52591°E, 30.vi.2010	nas mýkáno			
88	*Torymus nobilis* Boheman, 1834	HU, Köszeg, 47.364302°N, 16.52591°E, 30.vi.2010	nas mýkáno			
89	*Torymus verbasci* Ruschka, 1921	HU, Köszeg, 30.vi.2010	nasmýkáno			
90	*Torymus verbasci* Ruschka, 1921	CZ, CHKO Pálava, NPR Děvín-Kotel-Soutěska, 1.vii.2010	nasmýkáno			
91	*Torymus ruschkai* Hoffmeyer, 1929	HU, Nagavászony, 47.01925°N, 17.71442°E, 27.vi.2010	nasmýkáno			
92	*Torymus grahami* Bouček, 1994	HU, Hegyesd, 46.92691°N, 17.51883°E, 27.vi.2010	nas mýkáno			
93	*Torymus orobi* Mayr, 1874	CZ, Perná, 48°51'49.57"N, 16°38'0.126"E, 1.vii.2010	nasmýkáno			
94	*Torymus stenus* Graham, 1994	CZ, Perná, 48°51'49.57"N, 16°38'0.126"E, 1.vii.2010	nasmýkáno			
95	*Torymus orobi* Mayr, 1874	CZ, Pavlov, 48°51'57.842"N, 16°39'10.717"E, 3.vii.2 010	nasmýkáno			
96	*Torymus ventralis* Fonscolombe, 1832	CZ, Pavlov, 48°51'57.842"N, 16°39'10.717"E, 3.vii.2 010	nasmýkáno			
97	*Torymus arundinis* Walker, 1833	CZ, Velký Vřešťov, 50°21'59.059"N, 15°44'11.993"E, 5.vii.2010	nasm ýkáno			
98	*Torymus arundinis* Walker, 1833	CZ, Velký Vřešťov, 50°22'0.763"N, 15°44'11.234"E, 5.vii.2010	nasmý káno			

101	*Torymus geranii* Walker, 1833	IR, Lorestan, Ghelaei, Lor 351, ex galls of Andricus multiplicatus, G. Melika	vychováno	*Andricus multiplicatus* Giraud, 1859	Cynipidae	*Quercus* sp.
102	*Torymus notatus* Walker, 1833	IR, KO, Bane, Lor 321, ex Aphelonyx persica/kordestanica, G. Melika	vychováno	*Aphelonix persica* Stone, Sadeghi & Pujade-Villar, 2004/*kordestanica* Melika 2010	Cynipidae	*Quercus* sp.
103	*Torymus geranii* Walker, 1833	IR, Lorestan, Ghelaei, 2005, Lor 316, ex Neuroterus saliens on Quercus brandti, G. Melika	vychováno	*Neuroterus saliens* Kollar, 1857	Cynipidae	*Quercus brantii* Lindl.
104	*Torymus geranii* Walker, 1833	IR, Lorestan, Ghelaei, 2005, Lor 316, ex Neuroterus saliens on Quercus brandti, G. Melika	vychováno	*Neuroterus saliens* Kollar, 1857	Cynipidae	*Quercus brantii* Lindl.
105	*Torymus* sp.1	HU, Veszprém distr., Nagavászony, 4,5 km NNE of vill., 300 m, 47.01925°N, 17.71442°E, 27.vi.2010, steppe, scrub, oak forest, H. Baur, G. Delvare, G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
106	*Torymus* sp.1	HU, Veszprém distr., Nagavászony, 4,5 km NNE of vill., 300 m, 47.01925°N, 17.71442°E, 27.vi.2010, steppe, scrub, oak forest, H. Baur, G. Delvare, G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
107	*Torymus* sp.1	HU, Veszprém distr., Nagavászony, 4,5 km NNE of vill., 300 m, 47.01925°N, 17.71442°E, 27.vi.2010, steppe, scrub, oak forest, H. Baur, G. Delvare, G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
108	*Torymus* sp.1	HU, Veszprém distr., Nagavászony, 4,5 km NNE of vill., 300 m, 47.01925°N, 17.71442°E, 27.vi.2010, steppe, scrub, oak forest, H. Baur, G. Delvare, G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
109	*Torymus* sp.2	HU, Fertó-Hanság NP, 118 m, 47°40.70N, 16°50.89E, 2 4.vi.2010, sweeping roadside, G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
110	*Torymus varians* Walker, 1833	HU, Szombathely distr., Köszeg, 1,5 km NE of Cák vill., 47.364302°N, 16.52591°E, 30.vi.2010, meadow, H. Baur, G. Delvare , G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
111	*Torymus* sp.	HU, Szombathely distr., Köszeg, 1,5 km NE of Cák vill., 47.364302°N, 16.52591°E, 30.vi.2010, meadow, H. Baur, G. Delvare , G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
112	*Torymus* sp.	HU, Szombathely distr., Köszeg, 1,5 km NE of Cák vill., 47.364302°N, 16.52591°E, 30.vi.2010, meadow, H. Baur, G. Delvare , G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
113	*Torymus* sp.	HU, Szombathely distr., Köszeg, 1,5 km NE of Cák vill., 47.364302°N, 16.52591°E, 30.vi.2010, meadow, H. Baur, G. Delvare , G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
114	*Torymus* sp.	HU, Szombathely distr., Köszeg, 1,5 km NE of Cák vill., 47.364302°N, 16.52591°E, 30.vi.2010, meadow, H. Baur, G. Delvare , G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
115	*Torymus* sp.	HU, Szombathely distr., Köszeg, 1,5 km NE of Cák vill., 47.364302°N, 16.52591°E, 30.vi.2010, meadow, H. Baur, G. Delvare , G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
116	*Torymus* sp.	HU, Szombathely distr., Köszeg, 1,5 km NE of Cák vill., 47.364302°N, 16.52591°E, 30.vi.2010, meadow, H. Baur, G. Delvare , G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
117	*Torymus* sp.	HU, Szombathely distr., Köszeg, 1,5 km NE of Cák vill., 47.364302°N, 16.52591°E, 30.vi.2010, meadow, H. Baur, G. Delvare , G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			

118	*Torymus* sp.	HU, Szombathely distr., Köszeg, 1,5 km NE of Cák vill., 47.364302°N, 16.52591°E, 30.vi.2010, meadow, H. Baur, G. Delvare , G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
119	*Torymus* sp.	HU, Szombathely distr., Köszeg, 1,5 km NE of Cák vill., 47.364302°N, 16.52591°E, 30.vi.2010, meadow, H. Baur, G. Delvare , G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
120	*Torymus confinis?* Walker, 1833	HU, Kiskunsági NP, Kecskemét distr., Bócsa, 10 km NNE of vill., 46.69669°N, 19.53034°E, 29.vi.2010, sandy dunes with scrub (Sal ix, Pinus, Juniperus, Populus) and grassy places, H. Baur, G. Delvare, G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
121	*Torymus confinis?* Walker, 1833	HU, Kiskunsági NP, Kecskemét distr., Bócsa, 10 km NNE of vill., 46.69669°N, 19.53034°E, 29.vi.2010, sandy dunes with scrub (Sal ix, Pinus, Juniperus, Populus) and grassy places, H. Baur, G. Delvare, G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
122	*Torymus* sp.	HU, Veszprém distr., Várpalota, 2 km SSE of vill., 47.18453°N, 18.15362°E, 28.vi.2010, meadow, H. Baur, G. Delvare, G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
123	*Torymus* sp.	HU, Veszprém distr., Várpalota, 2 km SSE of vill., 47.18453°N, 18.15362°E, 28.vi.2010, meadow, H. Baur, G. Delvare, G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
124	*Torymus* sp.	HU, Balatonfeldvídek NP, Veszprém distr., Mindszentkálla, env., 410 m, 46.88390°N, 17.54229°E, 26.vi.2010, meadow and scru b with Rosa, Crataegus, edge of oak forest, H. Baur, G. Delvare, G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
125	*Torymus* sp.	HU, Balatonfeldvídek NP, Veszprém distr., Mindszentkálla, env., 410 m, 46.88390°N, 17.54229°E, 26.vi.2010, meadow and scru b with Rosa, Crataegus, edge of oak forest, H. Baur, G. Delvare, G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
126	*Torymus* sp.	HU, Balatonfeldvídek NP, Veszprém distr., Mindszentkálla, env., 410 m, 46.88390°N, 17.54229°E, 26.vi.2010, meadow and scru b with Rosa, Crataegus, edge of oak forest, H. Baur, G. Delvare, G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
127	*Torymus varians* Walker, 1833	HU, Balatonfeldvídek NP, Veszprém distr., Mindszentkálla, env., 410 m, 46.88390°N, 17.54229°E, 26.vi.2010, meadow and scru b with Rosa, Crataegus, edge of oak forest, H. Baur, G. Delvare, G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			*Crataegus* sp.
128	*Torymus* sp.	HU, Veszprém distr., Hegyesd, env., 175 m, 46.92691°N, 17.51883°E, 27.vi.2010, steppe, scrub, oaks, H. Baur, G. Delvare, G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
129	*Torymus* sp.	HU, Veszprém distr., Hegyesd, env., 175 m, 46.92691°N, 17.51883°E, 27.vi.2010, steppe, scrub, oaks, H. Baur, G. Delvare, G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
130	*Torymus* sp.	HU, Veszprém distr., Hegyesd, env., 175 m, 46.92691°N, 17.51883°E, 27.vi.2010, steppe, scrub, oaks, H. Baur, G. Delvare, G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
131	*Torymus* sp.	HU, Veszprém distr., Hegyesd, env., 175 m, 46.92691°N, 17.51883°E, 27.vi.2010, steppe, scrub, oaks, H. Baur, G. Delvare, G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
132	*Torymus* sp.	HU, Veszprém distr., Hegyesd, env., 175 m, 46.92691°N, 17.51883°E, 27.vi.2010, steppe, scrub, oaks, H. Baur, G. Delvare, G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
133	*Torymus* sp.	HU, Veszprém distr., Hegyesd, env., 175 m, 46.92691°N, 17.51883°E, 27.vi.2010, steppe, scrub, oaks, H. Baur, G. Delvare, G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			

134	*Torymus geranii* Walker, 1833	HU, Balatonfeldvídek NP, Veszprém distr., Mindszentkálla, env., 410 m, 46.88390°N ,17.54229°E ,27.vi.2010, meadow and scru b with Rosa, Crataegus, edge of oak forest, H. Baur, G. Delvare, G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
135	*Torymus ventralis* Fonscolombe, 1832	HU, Veszprém distr., Hegyesd, env., 175 m, 46.92691°N, 17.51883°E, 28.vi.2010, steppe, scrub, oaks, H. Baur, G. Delvare, G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
136	*Torymus ventralis* Fonscolombe, 1832	HU, Veszprém distr., Hegyesd, env., 175 m, 46.92691°N, 17.51883°E, 28.vi.2010, steppe, scrub, oaks, H. Baur, G. Delvare, G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
137	*Torymus ruschkai* Hoffmeyer, 1929	HU, Köszegi Tájvédelmi Korzet, Szombathely distr., Köszeg, 4 km W of vill., 47°21.249´N, 16°27.939´E, 30.vi.2010, edge of fores t, H. Baur, G. Delvare, G. Gibson, P. Janšta	nasmýkáno			
138	*Torymus verbasci?* Ruschka, 1921	HU, Köszegi Tájvédelmi Korzet, Szombathely distr., Köszeg, 4 km W of vill., 47°21.249´N, 16°27.939´E, 30.vi.2010, Verbascum sp. , P. Janšta	nasmýkáno			*Verbascum* sp.
139	*Torymus igniceps* Mayr, 1874	HU, Szombathely distr., Köszeg, 1,5 km NE of Cák vill., 47.36417°N, 16.52813°E, 30.vi.2010, Salix, Filipendula, Lythrum , Carex, P. Janšta	nasmýkáno			
140	*Torymus tanaceticola?* Ruschka, 1921	HU, Szombathely distr., Köszeg, 1,5 km NE of Cák vill., 47.36417°N, 16.52813°E, 30.vi.2010, Salix, Filipendula, Lythrum , Carex, P. Janšta	nasmýkáno			
141	*Torymus fischeri* Ruschka, 1921	HU, Szombathely distr., Köszeg, 1,5 km NE of Cák vill., 47.36417°N, 16.52813°E, 30.vi.2010, Salix, Filipendula, Lythrum , Carex, P. Janšta	nasmýkáno			
142	*Torymus ventralis* Fonscolombe, 1832	HU, Szombathely distr., Köszeg, 1,5 km NE of Cák vill., 47.36417°N, 16.52813°E, 30.vi.2010, Salix, Filipendula, Lythrum , Carex, P. Janšta	nasmýkáno			
143	*Torymus ventralis* Fonscolombe, 1832	HU, Szombathely distr., Köszeg, 1,5 km NE of Cák vill., 47.36417°N, 16.52813°E, 30.vi.2010, Salix, Filipendula, Lythrum , Carex, P. Janšta	nasmýkáno			
144	*Torymus ventralis* Fonscolombe, 1832	HU, Szombathely distr., Köszeg, 1,5 km NE of Cák vill., 47.36417°N, 16.52813°E, 30.vi.2010, Salix, Filipendula, Lythrum , Carex, P. Janšta	nasmýkáno			
145	*Torymus ruschkai* Hoffmeyer, 1929	CZ, Moravia, Znojmo distr, Dyjákovičky - Ječmeniště, 5,5 km SE of vill., 48°44'47.033"N, 16°8'48.473"E, 3.vii.2010, steppe, H. Baur, G. Delvare, P. Janšta	nasmýkáno			
146	*Torymus auratus?* Müller, 1764	CZ, Bohemia, Trutnov distr., Velký Vřešťov, U Rybníka, 1,4 km NW of vill., 50°22'0.763"N, 15°44'11.234"E, 5.vii.2010, enbankme nt of pond, shrub covered by sweet solution of aphids, H. Baur, G. Delvare, P. Janšta	nasmýkáno			
151	*Torymus rubi* Schrank, 1781	CZ, Bohemia, Trutnov distr., Vilantice, 1 km E of vill., 50°21'48.108"N, 15°48'8.046"E, 5.vii.2010, meadow, edge of scrub, H . Baur, G. Delvare, P. Janšta	nasmýkáno			
152	*Torymus geranii* Walker, 1833	IR, KO, Marivan, 377, ex n. lanuginosus on Quercus brandtii, G.Melika	vychováno	*Neuroterus lanuginosus* Giraud, 1859	Cynipidae	*Quercus brantii* Lindl.
159	*Torymus auratus?* Müller, 1764	IR, Lo, Chegeni, 353, ex Dr. israeli, sexual galls (galls are yellow), 2006 on Q. brandtii, G.Melika	vychováno	*Chilaspis israeli* Sternlicht, 1968.	Cynipidae	*Quercus brantii* Lindl.
162	*Torymus auratus* Müller, 1764	IR, 179, ex A.insana on Q. insana, G.Melika	vychováno	*Andricus quercustozae* Bosc, 1792	Cynipidae	Quercus infectoria Olivier
163	*Torymus auratus* Müller, 1764	IR, 179, ex A.insana on Q. insana, G.Melika	vychováno	*Andricus quercustozae* Bosc, 1792	Cynipidae	Quercus infectoria Olivier

164	*Torymus auratus* Müller, 1764	IR, 179, ex A.insana on Q. insana, G.Melika	vychováno	*Andricus quercustozae* Bosc, 1792	Cynipidae	Quercus infectoria Olivier
174	*Torymus affinis* Fonscolombe, 1832	RO, Botosani distr., Leorda, 15.iv.2009, leg. O. Popovici	vychováno	*Biorhiza pallida* Olivier, 1791	Cynipidae	*Quercus* sp.
175	*Torymus affinis* Fonscolombe, 1832	RO, Botosani distr., Leorda, 15.iv.2009, leg. O. Popovici	vychováno	*Biorhiza pallida* Olivier, 1791	Cynipidae	*Quercus* sp.
181	*Torymus cyaneus* Walker, 1847	CZ, Moravia, Břeclav distr., Valtice, Lednicko-Valtický areál u státní hranice, 4.x.2006, K. holý	nasmýkáno			
184	*Torymus cyaneus* Walker, 1847	CZ, Bohemia, Rakovník distr., Skryje, ex C. longiventris, 4.x.2005, K. Holý	vychováno	*Cynips longiventris* Hartig, 1840	Cynipidae	*Quercus* sp.
190	*Torymus bedeguaris* Linnaeus, 1758	CZ, Bohemia, Litoměřice distr., CHKO Č. středohoří, Trnobrany, louka na kopci Sedlo, ex. D.rosae, 5.x.2009, K. Holý	vychováno	*Diplolepis rosae* Linnaeus, 1758	Cynipidae	*Rosa canina* Linnaeus
193	*Torymus affinis* Fonscolombe, 1832	FR, Rhone-Alpes, Drome district, Portes-les-Valence, Highway A7, near train station, 1 km SE from the town, 107 m, 44°51'55.649 "N, 4°51'59.972"E, 8.ii.2011, edge of Quercus-Fagus forest, S. Křížek	vychováno	*Biorhiza pallida* Olivier, 1791	Cynipidae	*Quercus* sp.
195	*Torymus chloromerus* Walker, 1833	AU, Niederosterreich distr., Rosenburg, 339 m, N48 38 15.3, E15 37 40.3, 24.vii.2010, M. Kubešová	vychováno	*Aulacidea hieracii* Linnaeus, 1758	Cynipidae	*Hieracium* sp.
208	*Torymus geranii* Walker, 1833	IR, LO, Ghalaei, 316, ex First year acorn (collected inspring), N. saliens, sex. Gen. on Q. brandtii, G.Melika	vychováno	*Neuroterus saliens* Kollar, 1857	Cynipidae	*Quercus brantii* Lindl.
PJ15	*Torymus varians* Walker, 1833	CZ, Moravia mer., Mikulov env., Svatý kopeček „reservation“, 7.vii.2004, leg. et det. P. Janšta	nasmýkáno			
PJ17	*Torymus flavipes* Walker, 1833	CZ, Bohemia mer., Vlkov nad Lužnicí env. (1 km W of village), reared from galls of Neuroterus quercusbaccarum (Linnaeus, 1758), 22.xi.2004, leg. et det. P. Janšta	vychováno	*Neuroterus quercusbaccarum* Linnaeus, 1758	Cynipidae	*Quercus robur* Linnaeus
PJ18	*Torymus calcaratus* Nees, 1834	CZ, Moravia mer. occ., Moravský Krumlov env., along the road Moravský Krumlov – Rokytná, 7.-20.iv. 2004, reared from galls of Andricus kollari (Hartig, 1843), leg. et det. P. Janšta	vychováno	Sphecidae gen. sp. v hálkách *Andricus kollari*	Sphecidae	*Quercus petraea* (Mattuschka) Liebl
PJ19	*Torymus auratus* Müller, 1764	CZ, Bohemia centr., Pouště env. (3 km E of Dobříš), reared from galls of Cynips quercusfolii Linnaeus, 1758, 6.xii.2004, leg. M. Weiser, det. P. Janšta	vychováno	*Cynips quercusfolii* Linnaeus, 1758	Cynipidae	*Quercus robur* Linnaeus
PJ23	*Torymus affinis* Fonscolombe, 1832	CZ, Moravia mer. occ., Moravský Krumlov env., along the road Moravský Krumlov – Rokytná, 7.-20.iv. 2004, reared from galls of Biorhiza pallida (Olivier, 1791), leg. et det. P. Janšta	vychováno	*Biorhiza pallida* Olivier, 1791	Cynipidae	*Quercus petraea* (Mattuschka) Liebl
PJ24	*Torymus bedeguaris* Linnaeus, 1758	CZ, Bohemia centr., Praha-Kunratice, Kunratický les, reared from galls of Diplolepis rosae (Linnaeus, 1758), iv.2004, leg. et det. P. Janšta	vychováno	*Diplolepis rosae* Linnaeus, 1758	Cynipidae	*Rosa canina* Linnaeus
PJ25	*Torymus laetus* Walker, 1833	CZ, Bohemia bor., Břehyně u Doks (3 km E of Doksy), 25.vii.2004, leg. et det. P. Janšta	nasmýkáno			
PJ32	*Torymus fuscicornis* Walker, 1833	CZ, Moravia mer. occ., NP Podyjí, Havraníky env., Havranické vřesoviště, 10.v.2005, swept from Betula pendula Roth, 1788, leg. et det. P. Janšta	nasmýkáno			*Betula pendula* Roth
PJ35	*Torymus cupreus* Spinola, 1808	CZ, Bohemia centr., Praha – Klánovice, Klánovický les, 28.vii.2005, leg. J. Straka, det. P. Janšta	nasmýkáno			
PJ41	*Torymus austriacus* Graham, 1994	CZ, Moravia mer., Jaroslavice env., swept on Dactylis glomerata L., 28.iv.2006, leg. P. Janšta & J. Straka, det. P. Janšta	nasmýkáno			*Dactylis glomerata* Linnaeus
Tflav	*Torymus flavipes* Walker, 1833		GenBank			
Tgera	*Torymus geranii* Walker,		GenBank			

	1833					
Tazur	*Torymus azureus* Boheman, 1834		GenBank			
Taura	*Torymus auratus* Müller, 1764		GenBank			
Tger97	*Torymus geranii* Walker, 1833		GenBank			
Tger74	*Torymus geranii* Walker, 1833		GenBank			
Tger80	*Torymus geranii* Walker, 1833		GenBank			
Tfla5	*Torymus flavipes* Walker, 1833		GenBank			
Tfla 134	*Torymus flavipes* Walker, 1833		GenBank			
Tfla96	*Torymus flavipes* Walker, 1833		GenBank			
Tfla91	*Torymus flavipes* Walker, 1833		GenBank			
Taur395	*Torymus auratus* Müller, 1764		GenBank			
Taur130	*Torymus auratus* Müller, 1764		GenBank			
Tcya8	*Torymus cyaneus* Walker, 1847		GenBank			
Tcya5	*Torymus cyaneus* Walker, 1847		GenBank			
Tcya7	*Torymus cyaneus* Walker, 1847		GenBank			
Tcya23	*Torymus cyaneus* Walker, 1847		GenBank			
Taff14	*Torymus affinis* Fonscolombe, 1832		GenBank			
Taff13	*Torymus affinis* Fonscolombe, 1832		GenBank			
Tbene3	*Torymus beneficus* Yasumatsu & Kamijo, 1979		GenBank			
Tbene4	*Torymus beneficus* Yasumatsu & Kamijo, 1979		GenBank			
Tsine0	*Torymus sinensis* Kamijo, 1982		GenBank			
Tsine2	*Torymus sinensis* Kamijo, 1982		GenBank			

Tabulka 3: Seznam analyzovaných druhů, jejich pohlaví a genů, které byly pro daný taxon použity do analýz. Černý obdélník znamená jednoznačně čitelnou sekvenci, šedivý obdélník znamená sekvenci s nepřesně čitelnými úseky. Bílý obdélník značí, že sekvence daného taxonu pro daný gen nebyla získána. Otazník ve sloupci Druhová skupna/příp. podskupina znamená, že jedinci byli poničeni natolik, že je nebylo možné zařadit do druhové skupiny. Pomlčka ve stejném sloupci značí druhy, které dosud nebyli zařazeni do žádné z druhových skupin.

Číslo vzorku/ kód názvu	Kód vzorku v datasetech	Rodové a druhové jméno	Pohlaví	CytB	COI	SSU 28D2 rDNA	GenBank kód	Druhová skupina/příp. podskupina
13	13thymAU	*Torymus thymi* Ruschka, 1921	F					bedeguaris/bedeguaris
14	14sp.n.HU	*Torymus* sp. n.	F					bedeguaris/chloromerus
15	15ruscSK	*Torymus ruschkai* Hoffmeyer, 1929	F					bedeguaris/chloromerus
16	16sp.n.HU	*Torymus* sp. n.	F					bedeguaris/chloromerus
17	17cuprSK	*Torymus cupreus* Spinola, 1808	F					cupreus
18	18ventSK	*Torymus ventralis* Fonscolombe, 1832	F					laetus
19	19bedeGR	*Torymus bedeguaris* Linnaeus, 1758	F					bedeguaris/bedeguaris
20	20impaHU	*Torymus impar* Rondani, 1877	F					bedeguaris/chloromerus
23	23geraCZ	*Torymus geranii* Walker, 1833	F					bedeguaris/bedeguaris
24	24wachCZ	*Torymus wachtliellae* Graham & Gijswijt, 1998	F					bedeguaris/chloromerus
25	25wachCZ	*Torymus wachtliellae* Graham & Gijswijt, 1998	F					bedeguaris/chloromerus
26	26auraCZ	*Torymus auratus* Müller, 1764	F					bedeguaris/bedeguaris
27	27auraCZ	*Torymus auratus* Müller, 1764	F					bedeguaris/bedeguaris
29	29sociCZ	*Torymus socius* Mayr, 1874	F					bedeguaris/chloromerus
30	30sociCZ	*Torymus socius* Mayr, 1874	F					bedeguaris/chloromerus
31	31impaHU	*Torymus impar* Rondani, 1877	F					bedeguaris/chloromerus
32	32hyleCZ	*Torymus hylesini* Graham, 1994	F					bedeguaris/chloromerus
33	33rubiCZ	*Torymus rubi S*chrank, 1781	F					bedeguaris/bedeguaris
34	34caudCZ	*Torymus caudatus* Boheman, 1834	F					bedeguaris/chloromerus
35	35variCZ	*Torymus varians* Walker, 1833	F					varians
36	36flavCZ	*Torymus flavipes* Walker, 1833	F					flavipes
38	38sociHR	*Torymus socius* Mayr, 1874	F					bedeguaris/chloromerus
39	39baudCZ	*Torymus baudysi* Bouček, 1954	F					baudysi
40	40lythCZ	*Torymus lythri* Bouček, 1994	F					bedeguaris/chloromerus

41	41auraCZ	*Torymus auratus* Müller, 1764	F					bedeguaris/bedeguaris
42	42ventCZ	*Torymus ventralis* Fonscolombe, 1832	F					laetus
43	43auraCZ	*Torymus auratus* Müller, 1764	F					bedeguaris/bedeguaris
44	44auraCZ	*Torymus auratus* Müller, 1764	F					bedeguaris/bedeguaris
45	45auraCZ	*Torymus auratus* Müller, 1764	F					bedeguaris/bedeguaris
46	46auraCZ	*Torymus auratus* Müller, 1764	F					bedeguaris/bedeguaris
59	59veroHU	*Torymus veronicae* Ruschka, 1921	F					bedeguaris/chloromerus
60	60veroHU	*Torymus veronicae* Ruschka, 1921	F					bedeguaris/chloromerus
61	61veroHU	*Torymus veronicae* Ruschka, 1921	F					bedeguaris/chloromerus
63	63igniCZ	*Torymus igniceps* Mayr, 1874	F					laetus
64	64sp.n.HU	*Torymus* sp. n.	F					bedeguaris/chloromerus
65	65auraCZ	*Torymus auratus* Müller, 1764	F					bedeguaris/bedeguaris
66	66confCZ	*Torymus confinis* Walker, 1833	F					bedeguaris/chloromerus
67	67sp.n.HU	*Torymus* sp. n.	F					bedeguaris/chloromerus
68	68impaHU	*Torymus impar* Rondani, 1877	F					bedeguaris/chloromerus
69	69sp.n.AU	*Torymus* sp. n.	F					bedeguaris/chloromerus
70	70ventCZ	*Torymus ventralis* Fonscolombe, 1832	F					laetus
71	71fischCZ	*Torymus fischeri* Ruschka, 1921	F					laetus
72	72igniCZ	*Torymus igniceps* Mayr, 1874	F					laetus
74	74roboCZ	*Torymus roboris* Walker, 1833	F					erucarum
76	76armaCZ	*Torymus armatus* Boheman, 1834	F					species sola
78	78caudCZ	*Torymus caudatus Boheman, 1834*	F					bedeguaris/chloromerus
79	79austCZ	*Torymus austriacus* Graham, 1994	F					austriacus
81	81notaES	*Torymus notatus* Walker, 1833	F					cyaneus
82	82bedeRS	*Torymus bedeguaris* Linnaeus, 1758	F					bedeguaris/bedeguaris
83	83bedeGB	*Torymus bedeguaris* Linnaeus, 1758	F					bedeguaris/bedeguaris
84	84auraGB	*Torymus auratus* Müller, 1764	F					bedeguaris/bedeguaris
85	85philFR	*Torymus phillyreae*	F					bedeguaris/chloromerus
86	86ruscHU	*Torymus ruschkai* Hoffmeyer, 1929	F					bedeguaris/chloromerus
87	87variHU	*Torymus varians* Walker, 1833	F					varians
88	88nobiHU	*Torymus nobilis* Boheman, 1834	F					erucarum
89	89verbHU	*Torymus verbasci* Ruschka, 1921	F					bedeguaris/chloromerus
90	90verbCZ	*Torymus verbasci* Ruschka, 1921	F					bedeguaris/chloromerus
91	91ruscHU	*Torymus ruschkai* Hoffmeyer, 1929	F					bedeguaris/chloromerus

92	92grahHU	*Torymus grahami* Bouček, 1994	F					laetus
93	93orobCZ	*Torymus orobi* Mayr, 1874	F					bedeguaris/chloromerus
94	94stenCZ	*Torymus stenus* Graham, 1994	F					bedeguaris/chloromerus
95	95orobCZ	*Torymus orobi* Mayr, 1874	F					bedeguaris/chloromerus
96	96ventCZ	*Torymus ventralis* Fonscolombe, 1832	F					laetus
97	97arunCZ	*Torymus arundinis* Walker, 1833	F					species sola
98	98arunCZ	*Torymus arundinis* Walker, 1833	F					species sola
101	101geraIR	*Torymus geranii* Walker, 1833	F					bedeguaris/bedeguaris
102	102notaIR	*Torymus notatus* Walker, 1833	F					cyaneus
103	103geraIR	*Torymus geranii* Walker, 1833	F					bedeguaris/bedeguaris
104	104geraIR	*Torymus geranii* Walker, 1833	F					bedeguaris/bedeguaris
105	105sp1HU	*Torymus* sp.1	F					bedeguaris/chloromerus
106	106sp1HU	*Torymus* sp.1	F					bedeguaris/chloromerus
107	107sp1HU	*Torymus* sp.1	F					bedeguaris/chloromerus
108	108sp1HU	*Torymus* sp.1	F					bedeguaris/chloromerus
109	109sp2HU	*Torymus* sp.2	F					bedeguaris/chloromerus
110	110variHU	*Torymus varians* Walker, 1833	F					varians
111	111spHU	*Torymus* sp.	F					bedeguaris/chloromerus
112	112spHU	*Torymus* sp.	F					bedeguaris/chloromerus
113	113spHU	*Torymus* sp.	F					bedeguaris/chloromerus
114	114spHU	*Torymus* sp.	F					bedeguaris/chloromerus
115	115spHU	*Torymus* sp.	F					bedeguaris/chloromerus
116	116spHU	*Torymus* sp.	F					bedeguaris/chloromerus
117	117spHU	*Torymus* sp.	F					bedeguaris/chloromerus
118	118spHU	*Torymus* sp.	F					bedeguaris/chloromerus
119	119spHU	*Torymus* sp.	F					bedeguaris/chloromerus
120	120conf_HU	*Torymus confinis?* Walker, 1833	F					bedeguaris/chloromerus
121	121conf_HU	*Torymus confinis?* Walker, 1833	F					bedeguaris/chloromerus
122	122spHU	*Torymus* sp.	F					bedeguaris/chloromerus
123	123spHU	*Torymus* sp.	F					bedeguaris/chloromerus
124	124spHU	*Torymus* sp.	F					bedeguaris/chloromerus
125	125spHU	*Torymus* sp.	F					bedeguaris/chloromerus
126	126spHU	*Torymus* sp.	F					bedeguaris/chloromerus
127	127variHU	*Torymus varians* Walker, 1833	F					varians

128	128spHU	*Torymus* sp.	F					laetus
129	129spHU	*Torymus* sp.	F					?
130	130spHU	*Torymus* sp.	F					?
131	131spHU	*Torymus* sp.	F					bedeguaris/chloromerus
132	132spHU	*Torymus* sp.	F					bedeguaris/chloromerus
133	133spHU	*Torymus* sp.	F					bedeguaris/chloromerus
134	134geraHU	*Torymus geranii* Walker, 1833	F					bedeguaris/bedeguaris
135	135ventHU	*Torymus ventralis* Fonscolombe, 1832	F					laetus
136	136ventHU	*Torymus ventralis* Fonscolombe, 1832	M					laetus
137	137ruscHU	*Torymus ruschkai* Hoffmeyer, 1929	F					bedeguaris/chloromerus
138	138verb_HU	*Torymus verbasci?* Ruschka, 1921	F					bedeguaris/chloromerus
139	139igniHU	*Torymus igniceps* Mayr, 1874	F					laetus
140	140tana_HU	*Torymus tanaceticola?* Ruschka, 1921	F					bedeguaris/chloromerus
141	141fiscHU	*Torymus fischeri* Ruschka, 1921	F					laetus
142	142ventHU	*Torymus ventralis* Fonscolombe, 1832	F					laetus
143	143ventHU	*Torymus ventralis* Fonscolombe, 1832	M					laetus
144	144ventHU	*Torymus ventralis* Fonscolombe, 1832	M					laetus
145	145ruscCZ	*Torymus ruschkai* Hoffmeyer, 1929	F					bedeguaris/chloromerus
146	146aur_CZ	*Torymus auratus?* Müller, 1764	M					bedeguaris/bedeguaris
151	151rubiCZ	*Torymus rubi S*chrank, 1781	F					bedeguaris/bedeguaris
152	152geraIR	*Torymus geranii* Walker, 1833	F					bedeguaris/bedeguaris
159	159aur_IR	*Torymus auratus?* Müller, 1764	F					bedeguaris/bedeguaris
162	162auraIR	*Torymus auratus* Müller, 1764	F					bedeguaris/bedeguaris
163	163auraIR	*Torymus auratus* Müller, 1764	F					bedeguaris/bedeguaris
164	164auraIR	*Torymus auratus* Müller, 1764	M					bedeguaris/bedeguaris
174	174affiRO	*Torymus affinis* Fonscolombe, 1832	F					cyaneus
175	175affiRO	*Torymus affinis* Fonscolombe, 1832	F					cyaneus
181	181cyanCZ	*Torymus cyaneus* Walker, 1847	F					cyaneus
184	184cyanCZ	*Torymus cyaneus* Walker, 1847	F					cyaneus
190	190bedeCZ	*Torymus bedeguaris* Linnaeus, 1758	F					bedeguaris/bedeguaris
193	193affiFR	*Torymus affinis* Fonscolombe, 1832	F					cyaneus
195	195chloAU	*Torymus chloromerus* Walker, 1833	F					bedeguaris/chloromerus
208	208geraIR	*Torymus geranii* Walker, 1833	F					bedeguaris/bedeguaris
PJ15	PJvari	*Torymus varians* Walker, 1833	F					varians

PJ17	PJflav	*Torymus flavipes* Walker, 1833	F					flavipes
PJ18	PJcalc	*Torymus calcaratus* Nees, 1834	F					cupreus
PJ19	PJaura	*Torymus auratus* Müller, 1764	F					bedeguaris/bedeguaris
PJ23	PJaffi	*Torymus affinis* Fonscolombe, 1832	F					cyaneus
PJ24	PJbede	*Torymus bedeguaris* Linnaeus, 1758	F					bedeguaris/bedeguaris
PJ25	PJlaet	*Torymus laetus* Walker, 1833	F					laetus
PJ32	PJfusc	*Torymus fuscicornis* Walker, 1833	F					nitidulus
PJ35	PJcupr	*Torymus cupreus* Spinola, 1808	F					cupreus
PJ41	PJaust	*Torymus austriacus* Graham, 1994	F					austriacus
Tflav	Tflav	*Torymus flavipes* Walker, 1833	F				GU123596	flavipes
Tgera	Tgera	*Torymus geranii* Walker, 1833	F				GU123595	bedeguaris/bedeguaris
Tazur	Tazur	*Torymus azureus* Boheman, 1834	F				AY898704	species sola
Taura	Taura	*Torymus auratus* Müller, 1764	F				GU123594	bedeguaris/bedeguaris
Tger97	Tger97	*Torymus geranii* Walker, 1833	F				HM574309	bedeguaris/bedeguaris
Tger74	Tger74	*Torymus geranii* Walker, 1833	F				HM574303	bedeguaris/bedeguaris
Tger80	Tger80	*Torymus geranii* Walker, 1833	F				HM574307	bedeguaris/bedeguaris
Tfla5	Tfla5	*Torymus flavipes* Walker, 1833	F				HM574313	flavipes
Tfla 134	Tfla 134	*Torymus flavipes* Walker, 1833	F				HM574287	flavipes
Tfla96	Tfla96	*Torymus flavipes* Walker, 1833	F				HM574259	flavipes
Tfla91	Tfla91	*Torymus flavipes* Walker, 1833	F				HM574254	flavipes
Taur395	Taur395	*Torymus auratus* Müller, 1764	F				HM574337	bedeguaris/bedeguaris
Taur130	Taur130	*Torymus auratus* Müller, 1764	F				HM574340	bedeguaris/bedeguaris
Tcya8	Tcya8	*Torymus cyaneus* Walker, 1847	F				HM574325	cyaneus
Tcya5	Tcya5	*Torymus cyaneus* Walker, 1847	F				HM574328	cyaneus
Tcya7	Tcya7	*Torymus cyaneus* Walker, 1847	F				HM574326	cyaneus
Tcya23	Tcya23	*Torymus cyaneus* Walker, 1847	F				HM574246	cyaneus
Taff14	Taff14	*Torymus affinis* Fonscolombe, 1832	F				HM574341	cyaneus
Taff13	Taff13	*Torymus affinis* Fonscolombe, 1832	F				HM574342	bedeguaris/bedeguaris
Tbene3	Tbene3	*Torymus beneficus* Yasumatsu & Kamijo, 1979	F				AB070503	-
Tbene4	Tbene4	*Torymus beneficus* Yasumatsu & Kamijo, 1979	F				AB070504	-
Tsine0	Tsine0	*Torymus sinensis* Kamijo, 1982	F				AB070490	-
Tsine2	Tsine2	*Torymus sinensis* Kamijo, 1982	F				AB070492	-