

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



**Tereza Beranová**

Populační genetika včel  
Population genetics of bees

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: Mgr. Jakub Straka, Ph.D.

Praha 2019

## Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto 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.

Jsem si vědom toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 16. srpna 2019

Tereza Beranová

**Poděkování:**

Především děkuji svému školiteli Mgr. Jakobovi Strakovi, Ph.D. za jeho trpělivost, vstřícnost, ochotu a rady při psaní této bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat rodině a přátelům za podporu a inspiraci, kterou mi byli i ve složitých chvílích studia.

## **Abstrakt**

Včely jsou jednou z hospodářsky nejdůležitějších skupin hmyzu, která se podílí na opylování zemědělských plodin. Tato bakalářská práce je rešerší článků, které se zabývají genetickou rozmanitostí včel (Apoidea, Anthophila) a faktory, které tuto genetickou diverzitu ovlivňují. Představuje vlivy jak antropogenních faktorů, jako je urbanizace, intenzifikace zemědělství, fragmentace krajiny, tak neantropogenních faktorů, které zahrnují změny klimatu a přirozených podmínek, dopady napadení parazity a patogeny na populace včel. Část bakalářské práce tvoří všeobecný přehled o životě včel a uvedení do základů populační genetiky. Hlavním cílem bakalářské práce je zjistit, jak rozsáhlá je problematika úbytku opylovačů, zejména volně žijících včel s předložením základního přehledu metod, které se v těchto studiích využívají.

**Klíčová slova:** populace, DNA analýza, ohrožení, zachování genetické rozmanitosti, včely, biogeografie

## **Abstract**

Bees are one of the most important group of all insect, which plays a significant role in crop pollination. This bachelor thesis is review of articles, which speaks about genetic diversity of Apidae and factors, which influence genetic diversity of this family. This thesis represents anthropogenic impact, such as urbanization and fragmentation, and impact, which was not caused by human population, such as, climate change and parasite impact, on bee population. Part of this thesis is created by bee life overview and basic information about population genetics. The aim of this work is finding extent of declining pollinator problem, especially wild bees and also naming the basic methods, which are used in this work.

**Key words:** population, DNA analysis, threats, conservation genetics, bees, biogeography

## Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b> .....	1
<b>2</b>	<b>Včely</b> .....	2
2.1	Fylogeneze včel.....	2
2.2	Ohrožení a úbytek včel.....	3
<b>3</b>	<b>Populační genetika</b> .....	6
3.1	Vnější vlivy působící na genofond populace.....	6
3.2	Genetické mechanismy evoluce .....	7
3.3	Hardy-Weinbergův zákon .....	7
3.4	Metody a programy využívané v populační genetice včel .....	8
3.4.1	Statictická analýza.....	8
3.4.2	Fylogenetická analýza .....	9
3.4.3	Biogeografická analýza .....	10
3.4.4	Demografická analýza .....	10
3.4.5	Bottleneck analýza.....	11
<b>4</b>	<b>Populační genetika včel</b> .....	12
4.1	Příčiny poklesu populací a změn genetické diverzity populací včel .....	12
4.1.1	Vliv klimatu a změny přírodních podmínek na populace včel.....	12
4.1.2	Vliv urbanizace na populace včel.....	15
4.1.3	Vliv zemědělství a pastvy na populace včel.....	17
4.1.4	Vliv parazitů, parazitoidů a patogenů na populace včel .....	19
4.2	Historická demografie včel.....	21
<b>5</b>	<b>Závěr</b> .....	25
<b>6</b>	<b>Seznam použité literatury</b> .....	26

## 1 Úvod

Včela medonosná (*Apis mellifera* Linnaeus, 1758) je jeden z druhů blanokřídlého hmyzu, který hraje zásadní roli nejen v životě lidí, ale také v celých ekosystémech (Brothers 1999). Pro většinu lidí přináší užitek produkty, které nám včely medonosné dodávají. V potravinářském průmyslu, kosmetice, ale také ve farmacii jsou využívány například med, vosk i mateří kašička (Bogdanov 2007). Tyto látky jsou v první řadě produkovány pro potřebu samotného včelstva, ale pro lidskou populaci jsou ovšem pouze komfortem, který nám včely přináší, a lidstvo se bez nich dokáže obejít. *Apis mellifera* je pouze jedním z celkového počtu 20 tisíc popsaných druhů (Ascher a Pickering, 2014), kdy u většiny zástupců fylogenetické skupiny Anthophila převládá soliterní způsob života nad eusocialitou (Michener 2007). Eusocialita je pak typická právě pro *A. mellifera*.

Druhá a pro nás zásadní úloha včel je opylování. Vztah mezi rostlinou a opylovačem je ve většině případů mutualistický. Opylovač, díky kterému je zaručeno rozmnožení rostliny, bude odměněn potravou v podobě nektaru, nebo pylu. Ve výjimečných případech může docházet ke vztahům, kdy dochází k pevnějším vazbám určitého druhu rostliny a hmyzu, jako je to například u vztahu *Verticordia nitens* (Myrtaceae) a soliterní včely *Euryglossa morrisoni* Houston, 1992 (Colletidae, Euryglossini) (Houston et al. 1993). Včely, se jako zástupci z velice diferencované říše hmyzu zásadně podílí

na produktivitě našeho zemědělství, v němž plodiny vypěstované díky opylovačům tvoří 15 až 30 % z celkových zásob jídla určeného pro lidskou populaci (Kremen et al. 2002). Také se podílí na celkové obživě jak lidí, tak řady druhů zvířat na této planetě.

Role opylovačů je ovšem ve velké míře závislá na klimatickém pásmu. Zatímco v tropickém klimatickém pásmu je převážná část vegetace opylována hmyzem, převážně včelami, v mírném klimatickém pásmu je většina lesních stromů větrosprašná. Včely se v této oblasti podílí na opylování malých stromů, keřů a bylin (Michener 2007). Také značná část lidmi domestikovaných plodin je závislá na opylování včelami (Klatt et al., 2014). Opylovací služby, které nám včely poskytují, jsou částečně v ohrožení v kombinaci důsledků antropogenních vlivů. Člověk svými aktivitami ovlivňuje populace opylovačů účelově, například používáním pesticidů (Goulson et al. 2015). Zároveň ale člověk nevědomě ovlivňuje populace prostřednictvím rozšiřující se urbanizace, krajinných změn, změn klimatu, letecké dopravy, či rozšiřováním včelích chorob (Potts et al. 2010).

## 2 Včely

### 2.1 Fylogeneze včel

Nadčeleď Apoidea je fylogenetická skupina, která je tvořena skupinami Anthophila, Ammoplanidae, Psenidae, Pemphredonidae, Philanthidae, Bembicidae, Crabronidae, Mellinidae, Sphecidae, Astatidae a Ampulicidae (Sann et al. 2018).

Včely jsou řazeny do fylogenetické skupiny Anthophila, která obsahuje přes 20 tisíc popsáných druhů (Ascher a Pickering, 2014). Vznik původní včelí korunové skupiny je datován do doby před cca 120 miliony lety (Smith et al. 2010), kdy zároveň došlo k expanzi, nebo vzniku vyšších dvouděložných rostlin, které jsou značně závislé na opylování včelami. Zároveň se předpokládá důležitá úloha včel při diverzifikaci těchto rostlin, které v dnešní době představují přes 75 % existujících druhů krytosemenných rostlin (Cardinal Sophie a Danforth Bryan N., 2013). Včely dělíme na 7 čeledí, a to Melittidae, Apidae, Andrenidae, Colletidae, Stenotritidae, Megachilidae a Halictidae, které se ve většině případů vyskytují i v Česku. Dříve byly čeledi seskupovány podle morfologie na skupinu včel „krátkojazyčných“, kam patří čeledi Andrenidae, Colletidae, Stenotritidae, Halictidae a Melittidae a na skupinu včel „dlouhojazyčných“, kam patří zbylé dvě čeledi Megachilidae a Apidae (Michener 2000). Dnešní fylogenetické molekulární analýzy podporují morfologické rozdělení těchto monofyletických skupin na „krátkojazyčné“ a „dlouhojazyčné“ včely kromě čeledi Melittidae, která je sesterskou skupinou všech ostatních čeledí včel (Cardinal et al. 2018; He et al. 2018).

Čeleď Melittidae je jednou z druhově chudších čeledí, které se řadí do skupiny Anthophila. Obsahuje pouze něco málo přes 200 popsáných druhů (Murray et al. 2018). Společný předek všech včel byl s největší pravděpodobností oligolektický druh, což znamená specializaci na malý okruh kvetoucích rostlin patřících většinou do jedné čeledi (Milet-Pinheiro et al. 2015). Pro Melittidae, například pro včely rodu *Rediviva*, to znamená modifikaci předních končetin, které této čeledi slouží ke sběru olejů z hlubokých květů (Murray et al., 2018; Pauw et al., 2017). Čeleď Melittidae se následovně dělí do tří podčeledí, a to Melittinae, Meganomiinae a Dasypodainae (Michez et al., 2009).

Další čeledí, která zahrnuje kolem 2900 dosud popsáných druhů je čeleď Andrenidae (Ascher a Pickering, 2014). Ta zahrnuje jak druhy oligolektické, tak polylektické. Polylektické druhy se živí pylem, který pochází od více čeledí kvetoucích rostlin. Druhy čeledi Andrenidae můžeme rozdělit do tří podčeledí. Podčeleď Andreninae tvoří sesterské odvětví ke skupinám Panurginae a Oxaeinae (Larkin et al., 2008; Murray et al., 2018). Centrum biodiverzity čeledi se nachází na západním pobřeží Severní a Jižní Ameriky, a také v Palearktu. Její zástupce můžeme nalézt na všech kontinentech kromě Austrálie (Danforth et al. 2013).

Colletidae je čeleď, která je druhově podobně bohatá, jako výše zmíněná čeleď Andrenidae, a zastřešuje více než 2500 druhů (Ascher a Pickering, 2014). Včely této čeledi mají rozmanité velikosti a liší se i mírou ochlupení. Základním znakem pro rozeznání jedinců této čeledi od jiných čeledí včel je dvoulaločný jazýček (glossa). Tato čeleď vykazuje největší míru druhové diverzity na jižní polokouli (Almeida a Danforth, 2009; Danforth et al., 2013).

Jediná čeleď, která nemá žádného evropského zástupce, je čeleď Stenotritidae a nachází se pouze v Austrálii. Je to nejméně druhově početná čeleď a zahrnuje pouze 21 popsaných endemických zástupců (Ascher a Pickering, 2012). Existuje několik teorií pro její fylogenetické zařazení, které zařazují čeleď Stenotritidae jako sesterskou skupinu čeledi Oxaeinae, dále jako sesterskou skupinu pro všechny ostatní čeledi včel, ale nejvíce podporovanou teorií je sesterský vztah k čeledi Colletidae (Danforth et al. 2006; Danforth et al. 2013).

Čeleď Halictidae je druhou největší čeledí obsahující přes 4300 popsaných druhů, která se dělí do 4 podčeledí, Rophitinae, Nomiinae, Nomioiinae a Halictinae (Ascher a Pickering, 2014). Tato čeleď je velmi pestrá z pohledu životních strategií. Její zástupci se živí jako generalisté, specialisté, kleptoparazité i sociální parazité a chování jejich zástupců může být soliterní, komunální, semisociální i eusociální. Přes všechny rozdíly strategií a sociálního chování fylogenetické analýzy podporují monofyletické uspořádání skupiny Halictidae (Danforth et al. 2008; Danforth et al. 2013).

Čeleď Apidae je jednou z nejvíce rozmanitých skupin v rámci životních strategií. Apidae zahrnuje druhy, které jsou soliterní, na různých úrovních sociality, a obsahuje také řadu kleptoparazitických druhů. I přes všechny rozdíly v životních strategiích jsou monofyletickou skupinou (Cardinal et al. 2010), která je tvořena více než pěti tisíci popsanými druhy (Ascher a Pickering, 2014). Apidae lze dle fylogenetické analýzy rozčlenit na Apinae, která je jednou z nejodvozenějších čeledí a sesterskou skupinou pro Eucerinae a Xylocopinae, které mají společného předka. Sesterskými podčeleděmi uvedených skupin jsou Anthophorinae a Nomadinae, které mají navzájem sesterský vztah (Bossert et al. 2019).

Poslední skupinou, která se řadí do „dlouhojazyčných“ včel je čeleď Megachilidae, která obsahuje přes 4 tisíce popsaných druhů. Jejich chování je většinou soliterní, často kleptoparazitické a jen vzácně komunální (Litman et al. 2013). Fylogenetická analýza čeledi Megachilidae podporuje monofyletické uspořádání u podčeledí Lithurginae, Pararhophitinae a Megachilinae a možná parafyletické uspořádání podčeledi Fideliinae vůči ostatním třem podčeledím (Litman et al. 2011; Danforth et al. 2013). Často jsou pro jejich snadný chov využívány jako modelové organismy pro výzkum vztahů mezi opylovači a rostlinami (Williams 2003).

## 2.2 Ohrožení a úbytek včel

V posledních padesáti letech byl zaznamenán pokles početnosti řady druhů včel a u některých jejich populací dokonce i extinkce. V Severní Americe byl zaznamenán až 50% pokles u populací *Apis mellifera* (Apidae) (Kraus a Page, 1995). Tento problém se týká jak včel, tak i dalších hmyzích opylovačů. Příčiny poklesů populací *A. mellifera* i jiných druhů včel jsou velice rozmanité. V mnoha případech jsou zapříčiněny antropogenní činností. Mezi tyto příčiny patří ztráta habitatu a fragmentace krajiny, nebo pokles diverzity populací, parazité a onemocnění včel, využívání pesticidů i klimatické změny (Potts et al. 2010).

Pro včely je velice důležitý dostatečný zdroj pylu. Rostliny mají své kvetoucí období, které



je druhově a klimaticky specifické. Existuje synchronizace mezi životním cyklem včel a kvetoucím obdobím těchto rostlin (Kudo 2014). Některé solitérní druhy mají kratší období, ale pro některé eusociální druhy žijící v tropických oblastech může období sběru dosahovat délku až jednoho roku (Goulson et al. 2015). Proto je ztráta habitatu jednou z velmi vážných příčin poklesu druhové diverzity. U poklesu populací zapříčiněného úbytkem habitatu hraje zásadní roli, zda jsou dané druhy potravní generalisté, či specialisté a v neposlední řadě také jejich tělesná velikost (Clavel et al. 2011). V tomto ohledu byl zaznamenán největší dopad na populace, které jsou generalistické a dosahující menší velikosti (Bommarco et al. 2010).

Pesticidy jsou využívány k ochraně zemědělských plodin a tím ke zvýšení produktivity zemědělství. Negativní efekty využívání pesticidů se odráží nejen na poklesu populací včel, ale na poklesu populací všech opylovačů (Stokstad 2013). Je známo, že na poklesu populací se nepodílí pouze využívání insekticidů, které mají zabránit hmyzím škůdcům před znehodnocení jejich úrody, ale také použití fungicidů (Michaud a Grant, 2003). Z insekticidů se pro včely v poslední době ukázalo nejvíce kritické využití neonikotinoidů. Tyto látky působí na nervovou soustavu hmyzu. Dochází k nadměrné stimulaci nikotinových acetylcholinových receptorů a postupně k paralýze a smrti jedince (Tomizawa a Casida, 2004). Fungicidy jsou využívány k zabránění šíření houbových onemocnění, které se nejčastěji objevují v období dešťů. Jejich využití se zdá zásadnější, a to hlavně díky načasování jejich aplikace. Insekticidy jsou ve většině případů používány až po odkvetení, zatímco fungicidy jsou využívány ještě před vykvetením vegetace (Park et al., 2015).

Za další aspekt úbytku populací považujeme parazity a onemocnění včel. Mnoho studií se zabývá parazity *A. mellifera*, (Apidae), ale už mnohem méně studií se zabývá včelami „samotářskými“. Mezi nemoci „samotářských“ včel, ale i *A. mellifera* patří DWV (deformed wing virus), která zapříčiňuje časté úmrtí v larválním stádiu a u dospělců se projevuje deformací křídel, mohutnějším, ale zkráceným abdomenem a změnou barvy jedince (de Miranda a Genersch, 2010). Dalším parazitem je *Nosema ceranae* (Microsporidia, Fungi), která napadá epiteliální vrstvu žaludku a středního střeva včel a tím značně zkracuje délku života jedince (Higes et al., 2006). Mezi další parazity, kteří jsou více nároční ve výběru svého hostitele, patří *Crithidia bombi* Léger, 1902 (Euglenozoa, Trypanosomatidae). *Crithidia bombi* je jeden z nejčastějších endoparazitů napadajících čmeláky. Nemoc způsobená tímto prvokem snižuje schopnost včely rozeznat, která rostlina má a která nemá nektar, to vede k vyhladovění a celkovému úbytku populací (Goulson et al., 2015; Imhoof a Schmid-Hempel, 1999).

V průběhu století dochází ke klimatickým změnám, které mění podmínky a obyvatelnost různých prostředí. Od roku 1970 byl v Severní Americe naměřen nárůst průměrné teploty přibližně o 1,4 °C (Bartomeus et al. 2011). Dochází k migraci druhů včel do vyšších nadmořských výšek právě v důsledku zvyšování průměrné teploty (Giannini et al. 2012). Dalším problémem je narůstající poptávka po opylovačích. Tento problém se USA snaží vyřešit zakládáním nových úlů, jejichž počet se od roku 2006 zvýšil o 45 %, ale stále není dostatečný vůči zvýšení vysazování zemědělských plodin, které se za tuto dobu zvýšily o 300 % (Aizen a Harder, 2009). Například v Brazílii předpokládají obrovské

ekonomické ztráty, které jsou spojeny s klimatickými změnami a jsou zapříčiněny úbytkem populací včelích specialistů (Giannini et al. 2012).

Poslední ze zmíněných příčin je urbanizace a krajinné změny. Studie ukazují předpokládaný negativní vliv na populace tavních včel způsobené zpevněním půdy, což značně ztěžuje jejich hnízdění (Jha a Kremen, 2013a). Také byla zjištěna preference vyšší biodiverzity potravních zdrojů, která se ukazuje důležitější než jejich hustota. Tento problém je nejvíce zřejmý v agroekologických systémech, kde dochází k převládání rostlinných monokultur v okolí farem a zemědělských půd (Kennedy et al. 2013). S těmito poznatky bychom měli při rozšiřování měst a zemědělských půd brát v úvahu potřeby opylovačů a chránit jejich biodiverzitu (Jha a Kremen, 2013a).

### 3 Populační genetik

#### 3.1 Vnější vlivy působící na genofond populace

Populační genetik je vědecké odvětví zabývající se změnami zastoupení různých alel v populaci. Studuje genetickou variabilitu populace a evoluční jevy, které ovlivňují genetickou variabilitu, mezi které patří například mutace a migrace, selekce a genetický drift (Snustad a Simmons, 2009).

Mutace je hlavním zdrojem genetické variability, kterou můžeme pozorovat u všech živých organismů od bakterií po člověka. Rozumí se jimi jakákoli dědičná změna v genetickém materiálu, mezi kterou řadíme translokaci, inverzi, přeuspořádání hmoty chromozomů nebo změna v sekvenci nukleotidů jednoho genu (Gillespie 2004). Nejjednodušší mutací je substituce, což je mutace bodová, při které dochází k záměně jedné sekvence DNA za druhou. Tato mutace obvykle nemá buď žádný, anebo velmi malý efekt. Dalším typem je inserce a delece nukleotidových bází, jejichž příčinou jsou transposony neboli pohyblivé elementy. Tato mutace již může mít větší důsledky na fenotyp, jelikož může způsobit změnu čtecího rámce genetického kódu. Posledním typem mutací jsou inverze a translokace, které řadíme do chromozomálních aberací. Tento typ mutace může způsobovat velké fenotypové změny, u kterých je také důležitá skutečnost, zda byly geny porušeny přeuspořádáním (Gillespie 2004). Je důležité si také uvědomit, že geny mutují velmi pomalu. Jejich typické rozpětí je  $10^{-4}$  až  $10^{-6}$  mutací na jeden gen za jednu generaci a ve velkých populacích je výskyt nové mutace minimální (Snustad a Simmons, 2015).

Migrace mutacím poskytuje způsob rozšíření do dalších subpopulací. V populační genetice je charakterizována jako pohyb jedinců mezi populacemi, což může způsobit tok genu, který je dán pohybem genu mezi populacemi. Genetickou strukturu populací ovlivňují oba směry migrace, jak imigrace, tak emigrace. Migrace můžeme v rámci populační genetiky považovat za období mutace, jelikož přináší potencionálně nové alely do populace. Stupeň migrace mezi subpopulacemi v rámci druhu je také mnohonásobně častější než stupeň mutace genu (Gillespie 2004).

Selekční tlak určuje, zda je daná mutace výhodná, či nevýhodná pro fitness jedince. Selekcce samotná je síla, která v populaci zvyšuje, nebo snižuje frekvenci alel. Při šlechtění je tato síla využívána jako hlavní nástroj záměrného zlepšování kultivovaných rostlin a domestikovaných živočichů s cílením na změnu genového složení, které je výhodné pro šlechtitele. Selekcce působí jak na kvalitativní, tak kvantitativní znaky. U kvalitativních znaků můžeme důsledky pozorovat na změnách frekvencí alel a genotypů, zatímco u kvantitativních znaků sledujeme výsledky selekce pomocí posunu průměrné fenotypové hodnoty (Snustad a Simmons, 2015). Zvýhodnění či znevýhodnění určitého genotypu vůči ostatním charakterizuje hodnota fitness ( $w$ ). Ta vypovídá, kolik mají potomků oproti jedincům s rozdílným genotypem, tedy jakou mírou přispívají jedinci s tímto genotypem do genofonu populace. Hodnota fitness je uváděna v procentech a nabývá hodnot od 0 do 100 (Gillespie 2004).

Genetický drift v rámci genofonu dané populace můžeme charakterizovat jako náhodné posuny

frekvencí alel. Prakticky to znamená, že změny frekvencí závisí vyloženě na náhodě při vzniku gamet a zygot a nepodléhají selekci (Gillespie 2004). V určitých případech může někdy dojít k fixaci jedné alely a zároveň úplného vymizení druhé alely, čemuž říkáme kumulativní změny. Genetický drift se nejvíce uplatňuje v relativně malých populacích. Čím menší je populace, tím větší může být chyba (Snustad a Simmons, 2015). Situací, kdy dochází k plynulé změně genové frekvence vlivem imigrace a emigrace ve velkých populacích, je genový tok. Genový tok může být omezován právě migrací, fyzickými bariérami nebo například pohlavním výběrem (Roderick 1996).

### 3.2 Genetické mechanismy evoluce

Mezi genetické mechanismy evoluce patří mutace, dále genová duplikace, selekce a genový drift. Genová duplikace je zdvojení úseku genetické informace, které může proběhnout na malém úseku DNA a v určitých případech dochází i k polyploidizaci neboli zvětšování celého genomu (Gillespie 2004). Tento mechanismus má ve většině případů negativní účinky pro svého nositele, ale v populačním měřítku je to jeden ze způsobů, jak se v evoluci zlepšují původní funkce genů. První genové duplikace a jejich vlivy byly studovány Bridgesem na ovocných muškách *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 (Diptera, Drosophilidae), kdy měly genetické zásahy vliv na velikost očí u mušek *D. melanogaster* (Bridges 1936).

Dalším genetickým mechanismem evoluce je selekce, což je typický mechanismus evoluce (Darwin a Wallace, 1958). Existují tři typy selekce a to normalizující, balancující a direkcionální. Normalizující selekce zachovává současný stav populace, kdy jsou vyloučeny odchylky od normálu. Balancující selekce v populaci udržuje určitý polymorfismus a direkcionální selekce se nejvíce uplatňuje při změně podmínek, kdy je potřebná adaptace fenotypu (Gillespie 2004).

Posledním mechanismem je genový drift, což je děj, při kterém dochází k náhodným změnám frekvencí alel v určité populaci. Tyto alely se mohou zafixovat, a nebo může dojít k jejich eliminaci (Masel 2011). Genetický drift se může uplatnit prostřednictvím efektu zakladatele, který je charakterizován vznikem nové populace z velmi malé skupiny jedinců (Gillespie 2004).

### 3.3 Hardy-Weinbergův zákon

V roce 1908 britský matematik G. H. Hardy a německý fyzik Wilhelm Weinberg nezávisle na sobě objevili pravidlo dnes nazývané Hardy-Weinbergův zákon, někdy také označovaný jako Hardy-Weinbergova rovnováha. Poprvé se podařilo propojit genotypovou frekvenci s geny (Hardy, 1908; Weinberg, 1908). Toto je rovnice popisující rovnováhu,

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

u níž předpokládáme, že v populaci existují pouze dvě alely sledovaného genu, které označujeme, jako dominantní (A) a recesivní (a). Frekvence těchto alel značíme pro A jako  $p$  a pro a jako  $q$  (McMurrin 2010).

Tento zákon má pouze teoretickou platnost, které musí splňovat několik podmínek. Organismy

podléhající tomuto zákonu musí být diploidní, rozmnožování probíhá pouze sexuálně, generace v rámci jedné populace se nepřekrývají, populace má nekonečně mnoho jedinců a párování probíhá náhodně, frekvence alel jsou rovnoměrně rozděleny mezi obě pohlaví a pro splnění posledního pravidla nesmí populace podléhat selekci, migraci, mutaci a nesmí docházet ke genetickému toku (McMurrin 2010; Namipashaki et al. 2015). Pokud dojde k porušení těchto podmínek, může u výsledků dojít k neočekávané odchylce. Následky se liší podle míry porušení podmínek. Například při nenáhodném párování může dojít k inbreedingu, jehož následkem je homozygotní stav všech alel nebo při malé velikosti populace dochází ke změně frekvencí alel vlivem genetického driftu. Tento jev nabývá na důležitosti s klesajícím počtem variant alel. Další jevy, které mají vliv na frekvenci alel jsou například i selekce, která je zásadní na rozdíl od migrace a mutace (Hartl a Clark, 1989).

### 3.4 Metody a programy využívané v populační genetice včel

#### 3.4.1 Statistická analýza

Mezi metody matematické analýzy řadíme například metodu AMOVA, neboli analýza molekulárního rozptylu, která byla inspirována metodou ANOVA. Tato metoda byla vytvořena v 90. letech 20. století Laurentem Excoffierem, Peterem Smousem a Josephem Quattrem a slouží k detekci diferenciaci populace s využitím molekulárních markerů (Excoffier et al. 1992). Po vytvoření AMOVA byl na přelomu 20. a 21. století vytvořen Excoffierem program pro zpracování této analýzy Arlequin (Excoffier et al. 2005). V průběhu dalších let následovaly další programy, například Info-gen (Balzarini a Di Rienzo, 2004), který je pro studenty dostupný zdarma a Genalex (v6.5; Peakall a Smouse 2012), který se využívá na AMOVA, ale také na výpočty dalších statistických analýz (Peakall a Smouse, 2006).

Další metodou, která se využívá k analýze dat je Monte Carlo metoda, která využívá pseudonáhodných čísel k určení střední hodnoty veličiny, která je výsledkem určitého náhodného děje (Doucet et al. 2013). Metoda Monte Carlo se využívá i v dalších oborech kromě populační genetiky, jako například v matematice, fyzice, výpočetní technice a má velký potenciál v budoucím řešení statistických, finančních a inženýrských problémů (Kroese et al. 2014). V biologii se využívá Monte Carlo podle Markovova řetězce k simulování modelů jednotlivých populací, jejichž model obsahuje pouze jeden parametr. Také k simulování multipopulačních modelů neboli model ostrova, u kterého dochází k výměně genů mezi konstantními populacemi, na které má největší vliv velikost populací a migrace. A dále se používá k simulování modelů rozdělovajících se populací, pro které je typická speciace. Když zahrneme rozdělování populací do multipopulačního genetického modelu můžeme propojit modely fylogenetické s populačně genetickými (Hey a Nielsen, 2007). Ke grafickému vytvoření těchto fylogenetických stromů můžeme využít programy MrBayes 3.2 (Ronquist et al. 2012), Phylobayes 3 (Lartillot et al. 2009), nebo také Migration (Beerli a Felsenstein 2001; Beerli 2002) a Lamarc 2.02 (Kuhner et al. 2005), které také odhadují parametry populací, jako je míra migrace a rekombinace, velikost populace a růst populace (Bertorelle et al. 2009 May).

### 3.4.2 Fylogenetická analýza

Jednou z hojně využívaných metod pro rekonstrukci příbuzenských vztahů je metoda maximální věrohodnosti, které je vhodná pro snadné a zároveň rychlé a přesné zpracování velkého množství dat (Guindon a Gascuel, 2003). Tato metoda se zakládá na vytvoření pravděpodobnostního modelu, u kterého následovně ověřujeme shodu se skutečností na základě námi získaných dat. V praxi tento model funguje za přítomnosti programů, které generují molekulární sekvence, které jsou porovnávány s reálnými molekulárními sekvencemi. Ty slouží jako podklad, který má nejpravděpodobnější správnost, pro zobrazení fylogenetického stromu a samostatných příbuzenských vztahů (Huelsenbeck a Crandall 1997; Shimodaira a Hasegawa 1999). Pro statistické určení významnosti alternativních topologií se využívá Shimodaira-Hasegawa test (Shimodaira a Hasegawa, 2001), Zharkikh-Li test (Li a Zharkikh, 1995), bootstrap probability test (Basawa et al. 1991), Approximately unbiased test (Shimodaira 2002), případně Kishino a Hasegawův test (Ota et al. 2000), který je využíván i v praktické rovině. Příčinou nepravdivých výsledků může být přehlížení selekce topologie s následkem přehnané důvěryhodnosti ve špatný fylogenetický strom. (Shimodaira 2002)

Další z analýz je Bayesovská analýza, která je založena na určení relativní pravděpodobnosti u dvou nebo více alternativních možností. Pravděpodobnost hypotéz vypočítáváme pomocí hodnot apriorní pravděpodobnosti, podmíněné pravděpodobnosti, celkové pravděpodobnosti a aposteriorní pravděpodobnosti. U apriorní pravděpodobnosti je předem předpokládáno, že je každá hypotéza správná, zatímco u podmíněné, je pravděpodobnost omezena určitým faktorem. Celková pravděpodobnost je výsledkem apriorní a podmíněné pravděpodobnosti, zatímco aposteriorní pravděpodobnost staví obě celkové pravděpodobnosti do opozice (Nussbaum, 2004). Ve fylogenetické analýze se ve většině případů využívá aposteriorní pravděpodobnost, u které platí, že se zvyšující se aposteriorní pravděpodobností se zvyšuje i správnost fylogenetické analýzy (Huelsenbeck, 2001; Huelsenbeck a Ronquist, 2001). Jednou z dalších metod využívaných pro Batesovskou analýzu je metoda Monte Carlo pomocí Markovova řetězce, která je založena na principu vzorkování pravděpodobnostního rozdělení (Cowles a Carlin, 1996). Vývoj této metody byl také zásadní pro vývoj snadnějších výpočtů hierarchických modelů, jako je například potřeba pro výpočet fylogenetického stromu, vyžadujících stovky až tisíce interakcí neznámých parametrů (Coburn 2007). Dalšími dříve využívanými metodami je například metoda maximální parsimonie, fenetická metoda neighbor joining, metoda minimum evolution a Fitch-Margoliash metoda (Saitou a Imanishi, 1989), kterými se z důvodu nevyužití v této práci nebudeme zabývat.

Pro vizuální zpracování fylogenetických analýz využíváme programy, které jsou víceúčelové, ale i programy, které jsou speciálně určené pro fylogenetickou analýzu. Jedním z programů, který je využíván i pro demografickou a statistickou analýzu v populační genetice je program Arlequin (Excoffier et al. 2005), DnaSP (Rozas et al. 2003), GDA (Lewis a Zaykin 2000), GENETIX (Belkhir et al., 2004), MEGA (Tamura et al., 2013), MSA (Dieringer a Schlotterer, 2003) a SPAGeDi (Hardy a Vekemans X., 2002). Program MRBAYES (Ronquist et al. 2012) je ve fylogenetické analýze využíván

pro Bayesovu analýzu, tak pro metodu maximální věrohodnosti. Mezi programy, které jsou specializované na fylogenetickou analýzu a jsou využívány, jak pro Bayesovskou analýzu, tak pro metodu maximální věrohodnosti, patří RaxML (Stamatakis 2014), Garli (Zwickl, 2006), IQtree (Nguyen et al. 2015), PAML (Yang 2007) a další.

### 3.4.3 Biogeografická analýza

Již od dob Charlese Darwina je znám předpoklad, že fylogenetické vztahy by nám mohly poskytnout informace o geografickém rozšíření a původu druhů (Darwin 1907). Biogeografie je zkoumána pomocí čtyř základních modelů, a to difúzní, ostrovní, hierarchické modely variance a síťové modely. Difúzní model je především využíván pro fylogenetickou analýzu. Na základě těchto čtyř modelů je možné použít statistické metody, jako je metoda maximální věrohodnosti a Bayesovská statistika (Ronquist a Sanmartín, 2011).

Pro testování scénářů se využívá Přibližný Bayesovský výpočet (ABC), který může být ideálním nástrojem k odvození složitých modelů (Pritchard et al. 1999). Přibližný Bayesovský výpočet se vyhýbá výpočtům pravděpodobností využitím statistik a simulací. Tento výpočet má kořeny v algoritmu pro odmítnutí, který spočívá v simulaci velkého počtu dat pod základem hypotetického evolučního scénáře. Získané informace se redukuje pomocí souhrnné statistiky. V posledním kroku je hodnocena nepřesnost parametrů vzhledem k pozorovaným statistikám (Csilléry et al. 2010).

„Discriminant analysis of principal components“, neboli DAPC je přístup, který umožňuje vybírat informace z genetických dat a díky tomu přiřazovat jedince, ke skupinám. Pokud chybí informace o společných předcích zkoumaných skupin, tato analýza využije  $k$  průměru k vytvoření modelu na základě genetických klastrů (Jombart et al. 2010).

Pro biogeografickou analýzu jsou využívány hlavně programy DIVA (Ronquist, 1996), SIMCOAL (Laval a Excoffier, 2004), MaCS (Laval a Excoffier, 2004), PopABC (Lopes et al. 2009) a další.

### 3.5 Demografická analýza

Značné množství studií zabývajících se demografickou a biogeografickou analýzou zkoumá historické i recentní rozšíření určitých druhů, prolínání a rozdělení populací. Biogeografie se celkově zabývá rozdělením biodiverzity v čase a prostoru, které jsou často vysvětlitelné pomocí historických faktorů, za které pokládáme extinci, speciaci, pohyb kontinentů, či klimatické změny zapříčiněné zaledněním (Brown 2009). Nejvíce využívané metody demografické a biogeografické analýzy jsou analýzy nazývané „Bayesian skyline plot“ a „mismatch distribution“, díky kterým můžeme získávat informace o růstu, či poklesu populací.

Jednou z posledních zmíněných metod využívaných pro demografickou analýzu je test neutrality. Za předpokladu selektivní neutrality je předpokládán počet mutací na vnějších větvích genealogie roven  $\theta = 4N_e$ . Efektivní velikost populace je značena  $N_e$ . Platnost této rovnice není

závislá na velikosti vzorku. Pokud dojde k selekci, dojde k odchýlení počtu vnějších mutací od neutrálního očekávání. Pro vnitřní mutace to bude znamenat menší ovlivnění. Studium vnitřních a vnějších mutací byla odvozena veličina *theta*. Odvození veličiny *theta* následně umožnilo vývin nových statistických testů k testování hypotéz za předpokladu, že jsou všechny mutace v lokusu neutrální (Ramos-Onsins a Rozas, 2002). Je dokázáno, že homozygotitu ovlivňuje přítomnost škodlivých alel a další vlivy, které ji odchylují od neutrality (Watterson 1978). Ta může být ovlivněna právě populační historií, ale i přirozeným výběrem. Většina studií využívajících test neutrality se zabývá historickými posuny velikostí populací a také slouží jako podpora pro fylogenetické analýzy (Grant, 2015; Ramos-Onsins a Rozas, 2002).

### 3.5.1 Bottleneck analýza

Tato analýza je důležitá pro zjištění heterozygotity v populaci, která závisí hlavně na míře růstu populace probíhajícího po bottlenecku, ale také na samotné velikosti bottlenecku (Nei et al. 1975). Při bottlenecku jsou v některých případech nejvíce eliminovány vzácné alely, díky čemuž dochází nejen k poklesu heterozygotnosti jedinců v populaci, ale také k vyššímu výskytu inbreedingu a ztrátě genetické variace. V některých případech dochází dokonce k fixaci vzácně se vyskytujících alel, které byly schopny „přežít“ bottleneck. Právě díky těmto faktorům se zvyšuje možnost vymření populace (Cornuet a Luikart, 1996; Leberg, 1992).

Pro bottleneck analýzu se v některých případech využívají dva hlavní modely. Prvním modelem je takzvaný Infinite alleles model. Tento model pracuje s daty, které analyzují kolísání rychlosti mutací mezi proteinovými lokusy a následně jsou vytvořeny vzorce pro výpočet podílu polymorfních lokusů, genetické vzdálenosti, distribuce vzdálenosti alel, rozptylu a dalších informací (Cornuet a Luikart, 1996; Nei et al., 1976). Druhým modelem je takzvaný Stepwise mutation model, který odvozuje vzorec pro rovnovážné rozdělení alelických kmitočtů v konečné populaci (Valdes et al. 1993). Dalším zmíněným modelem je Kimura-Crow model, neboli Model nekonečně mnoha alel, který není dodnes zcela vyřešen (Kimura a Crow, 1964).

Všechny tyto modely jsou dále zpracovány pomocí statistické analýzy výkonu, takzvané statistic power analysis, která za určitých podmínek ulehčuje detekci bottlenecků. Tato analýza nám umožňuje určit pravděpodobnost detekce efektu dané velikosti s určitou úrovní spolehlivosti v rámci velikostně omezeného vzorku. Jsou dány čtyři veličiny, které mají velice blízký vztah a v případě absence jedné veličiny je možné ji pomocí ostatních tří dopočítat. Těmito veličinami je velikost vzorku, velikost efektu, hladina významnosti a síla, která je definována jako pravděpodobnost nalezení námi očekávaného efektu (Cornuet a Luikart, 1996).



## 4 Populační genetika včel

### 4.1 Příčiny poklesu populací a změn genetické diverzity populací včel

Za posledního více než čtvrt století byl zaznamenán rapidní pokles létajícího hmyzu, kam řadíme i všechny druhy včel. V tomto období každoročně vymřelo průměrně kolem 2 % hmyzu bez ohledu na typ stanoviště nebo krajiny (Hallmann et al. 2017: 75). Pokles populací byl zaznamenán na všech kontinentech (Kluser a Peduzzi, 2007). Nejvíce studií však poukazuje na populační změny na území západní Evropy, ale i dalších částí Evropy, nebo například Jižní Ameriky, kde jsou druhy rodu *Euglossina* lokálně ohroženy potenciálním vymíráním (Nemésio 2011; Ollerton et al. 2014). V této práci se budu snažit podat přehled vlivů na snížení genetické diverzity nebo důvodů šíření určitých druhů. Ve většině případů bývají důvodem změn velikosti populací kombinace různých příčin.

#### 4.1.1 Vliv klimatu a změny přírodních podmínek na populace včel

Na území jižní a severní Ameriky byly v průběhu několika desítek let zaznamenány klimatické změny, které zasahují floru a faunu (Barnosky a Lindsey, 2010). V jižní Americe a Evropě se přepokládá zvýšení průměrné teploty o 2 až 6 °C do konce 21. století (Christensen a Christensen, 2007; Salazar et al., 2007). Vyšší teploty zapříčiní vyšší míru evaporace, která bude mít v celkovém měřítku za následek delší období sucha a postupné rozšíření oblastí savan až o 30 %, a to by mohlo proběhnout do konce 21. století (Salazar et al. 2007 May 16). Změna klimatu se ovšem netýká pouze budoucnosti. V minulosti docházelo ke změně klimatických podmínek, která měla za následek změnu v diverzitě a celkovém zastoupení druhů živočichů i rostlin (Maes et al. 2010; Groom et al. 2014). K porovnání si můžeme udat příklad populací Pleistocénu, kdy byly klimatické podmínky nestabilní, a to hrálo roli při diverzifikaci neotropických opylovačů. Ze studovaných druhů včel byl v Pleistocenu značně rozšířený druh *Eulaema cingulata* (Fabricius, 1804) (Apidae, Euglossini), ale i přesto tento druh zaznamenal jeden z největších populačních poklesů na území dnešní Jižní Ameriky. Pokles početnosti populací *E. cingulata* byl zapříčiněn suchem, které bylo nepříznivé i pro druhy s širokou ekologickou nikou (Lopez-Urbe et al. 2014).

Na území Atlantského lesa, jednoho z jihoamerických biotů neotropické oblasti, byla studována závislost počtu druhů a šíře niky, kterou je možné vysvětlit fenoménem, který je nazýván jako vztah hojnosti a velikosti rozptylu (Gaston et al. 1997). Ve studii, kde byly využity mikrosatelitové markery, byla zjištěna vysoká genetická diverzita u všech studovaných populací druhu *Eufriesea violacea* (Blanchard, 1840) (Apidae, Euglossini). Mezi všemi populacemi *E. violacea* byla na základě alelických frekvenčních rozdílů naměřena střední až nízká úroveň genetické diferenciaci, která byla zaznamenána pomocí  $\Phi_{ST}$  analýzy.  $D_{est}$  analýza prokázala ještě o něco vyšší úroveň genetické diferenciaci, což naznačuje omezení toku genu mezi populacemi různých stanovišť Atlantského lesa. Na území Atlantského lesa nebylo zaznamenán pokles genetické diverzity, který by mohl ohrozit populace druhu *E. violacea* (Freiria et al. 2012).

Další studie z brazilské oblasti Atlantického lesa a savany, při které byly využity markery mikrosatelitů, allozymů a náhodných amplifikací polymorfní DNA (RAPD), se zabývala včelami druhu *Melipona rufiventris* Lepeletier, 1836 (Apidae, Meliponini). Včely druhu *M. rufiventris* hrají velkou roli v opylování brazilských volně rostoucích rostlin. Vliv na *M. rufiventris* nemají pouze klimatické změny, ale také odlesňování. Byla zaznamenána nízká genetická heterogenita, kterou můžeme vysvětlit nízkým genovým tokem a působením selekčních sil. Selekcční síly působily na subpopulace, které obývají různá stanoviště a vedou k diferenciaci populací *M. rufiventris* (Tavares et al. 2007). K diferenciaci populací *M. rufiventris* může přispívat i omezení aktivního šíření, které je kolem několika set metrů (Engels a Imperatriz-Fonseca, 1990) a fragmentace stanovišť (Brown a Albrecht, 2001), které vytváří genetickou variabilitu subpopulací. Snížení genetické diverzity a inbreeding mohl mít také vliv na zmenšení populací *M. rufiventris*, která je v dnešní době pokládána za ohrožený druh. Genetické analýzy *M. rufiventris* naznačují, že by se mohlo jednat o dva nezávislé druhy, a to *M. rufiventris* a *M. mondury*, u kterých by se mělo zamezit přesunu obou populací, prostřednictvím antropogenních sil, pro udržení alel specifických pro oblasti Atlantického lesa a savany (Tavares et al. 2007).

Na území Brazílie, Kolumbie a Panamy byla sledována frekvence diploidních trubců několika druhů rodu *Euglossa*, *Eulaema*, *Eufriesea* a *Exaerete* (orchideové včely; Apidae, Euglossini). Výsledky z jejich taxonomicky širokého výběru ukazují extrémně nízkou frekvenci diploidních trubců, což naznačuje vysoký tok genů mezi populacemi a vyšší efektivní velikost populace. Z toho vyplývá, že populace orchidejových včel na území Brazílie a Kolumbie není zatížena inbreedingem, ani ztrátou genetické diverzity (Souza et al. 2010). Ve studiích včel tribu Euglossini na území Peru, byly zaznamenány opačné výsledky. Malé populace včel tribu Euglossini vykazovaly vysokou úroveň produkce diploidních trubců, která je indukována nízkou efektivní velikostí populace druhu *Euglossa imperialis* Cockerell, 1922 (Apidae) (Zayed et al. 2004). Ke stejnému závěru, a to ke klesání genetické diverzity u zástupců tribu Euglossini, došly i starší publikace z Panamy a Kolumbie (Roubik et al. 1996; López-Uribe et al. 2007). Možná chybovost, která se mohla vyskytnout u výzkumů v Peru a Kolumbii, může být založena na chybovosti analýz naložených na allozimech, kde mohlo dojít k nadhodnocení produkce diploidních trubců u orchidejových včel (Souza et al. 2010). Přikláním se tedy k tvrzení, které ukazuje vyšší genetickou diverzitu populací včel tribu Euglossini, které může být dáno genovým tokem na pevnině. Ovšem nemůžeme vyloučit, že v budoucnosti nemohou nastat problémy v genetické diverzitě, vzniklé zvyšujícím se vlivem antropogenních zásahů. Kolumbijské nížinné lesy jsou zatíženy fragmentací, rozsáhlým chovem dobytka, zemědělstvím, vysazováním palmových plantáží, ilegální těžbou a dalšími způsoby ničení tamních habitatů, kvůli kterým je tato oblast považována za jednu z nejohroženějších ekosystémů v neotropické oblasti (Etter et al. 2006; Ramírez et al. 2015).

Změna přírodních podmínek může přinést zánik populací, ale v některých případech také rozvoj malých populací, které byly dříve konkurenčně utlačovány jinými druhy. Pro další populace nastává možnost přizpůsobení se novým podmínkám, změna životní strategie, zmenšení velikosti populace, nebo v krajních případech podlehnutí nově nastoleným podmínkám a následné vymření (Hinterding et

al. 1997). Také byl vypořádan geografický vzorec, který byl charakterizován nižším nárůstem srážek a teplotami, které každoročně stoupaly od 0,02 do 0,04 °C. Na území Norska byl zaznamenán růst teplot západním směrem. I přes nárůst teplot a pomalejší nárůst srážek ([www.met.no](http://www.met.no), dostupné na: <ftp://ftp.met.no/projects/klimagrid>) je zde možná existence nějakého dalšího neznámého faktoru, který mohl tyto populace ovlivnit (Fourcade et al. 2019). Na území Severní Ameriky, v oblasti severozápadního Pacifiku, byly zkoumány druhy *Bombus sylvicola* Kirby, 1837, *B. melanopygus* Nylander 1848, *B. flavifrons* Cresson, 1863, *B. mixtus* Cresson 1878 (Apidae, Bombini). Druh *B. sylvicola* je omezen hlavně na biotopy s vysokou nadmořskou výškou. Druhy *B. melanopygus* a *B. flavifrons* jsou rozšířeny nad výškový gradient lesa a jsou také potenciálně méně omezovány přirozenými a antropogenními bariérami pro tok genů. Na rozdíl od *B. melanopygus* a *B. flavifrons* je tok genů druhu *B. mixtus* omezen přírodními bariérami, v tomto případě vodními toky (Koch et al. 2017). V souvislosti s klimatickými změnami jsou nejcitlivější právě druhy alpských ekosystémů (Miller-Struttman et al. 2015). Oba druhy *B. melanopygus* a *B. flavifrons* jsou rozšířené nad výškovým gradientem lesa, ale na základě dat z AMOVA analýzy studie naznačuje relativně vysoký tok genů mezi populacemi. Zároveň byla pozorována malá genetická diferenciace, což předpovídá schopnost přežít globální klimatické změny a pravděpodobnost rozptylu na příznivá stanoviště pro druhy *B. melanopygus* a *B. flavifrons* (Koch et al. 2017).

Jedním z druhů, u kterých dochází k morfologickému přizpůsobení, jsou dlouhojazyčnatí *B. balteatus* Dahlbom, 1832 a *Bombus sylvicola*, jejichž přirozeným prostředím je alpská oblast pensylvánských hor. V závislosti se změnou klimatu ztrácí druhy *B. balteatus* a *B. sylvicola* zdroj potravy. Kvůli klimatickým změnám dochází k úbytku vegetace v nižších nadmořských výškách a zároveň dochází k úbytku rostlin, pro které bylo možné získání nektaru hmyzem s dlouhým ústním ústrojím, jako mají zmíněné druhy včel (Miller-Struttman et al. 2015). Ve studii z Velké Británie byl zaznamenán vztah mezi změnami klimatu v kombinaci se snížením potravních zdrojů na druhy *B. distinguendus* Morawitz, 1869 a *B. sylvarum* (Linnaeus, 1761) (Williams et al., 2007). Kombinace vlivu klimatu se snížením potravních zdrojů byla zaznamenána i u populací čmeláků v Norsku (Klanderud a Birks, 2016). Latitudiální posun rozšíření čmeláků (*Bombus* spp.) byl popsán celosvětově (Kerr et al. 2015).

V lokalitách, kde byl zaznamenán větší nárůst teploty nebo srážek byl pozorován pokles druhové bohatosti (Rusek 1998). Další účinek klimatických změn, který můžeme pozorovat, je změna vegetace. Změna vegetace mohla hrát roli v lokálním vyhynutí populací, které již nebyly nahrazeny novými populacemi stejného druhu. Ve studii Chen et al., 2011, která shrnuje a uvádí záznamy o poklesu, jsou informace z Evropy, Severní Ameriky a Chile a v ní je zaznamenán pokles druhové bohatosti, který zasáhl více oblastí. Změnou klimatu došlo k posunu nížinných druhů do horských pásem, což celkově zvýšilo druhovou diverzitu v oblastech vyšších nadmořských výšek (Chen et al. 2011). Podobné posuny populací z nížinných oblastí do vyšších nadmořských výšek byly zaznamenány i v Itálii u druhu *B. alpinus* (Linnaeus, 1758) (Biella et al. 2017) a v Severní Americe u několika druhů

čmeláků *B. appositus* Cresson, 1878, *B. frigidus* Smith, 1854, *B. balteatus*, *B. sylvicola* (Pyke et al. 2016). Například i u nížinného druhu *Melipona subnitida* Ducke, 1911 (Apidae, Meliponini) se do roku 2050 předpokládá posun do vysokohorských stanovišť a zároveň izolace vzniklých populací. Nízký tok genů mezi izolovanými populacemi *M. subnitida* by mohl zapříčinit ohrožení těchto nížinných populací (Giannini et al. 2017). Tento předpoklad je dán změnou klimatických podmínek v kombinaci s krajinnou izolací. Výrazné sezonní výkyvy produkce královen a trubců a celkově nízká hustota populace mohou vést k páření navzájem příbuzných jedinců a zvýšit pozorovanou úroveň inbreedingu. Také byla zjištěna prostorová autokorelace závislosti mezi příbuzností populací a vzájemné vzdálenosti, která byla pozitivní až do vzdálenosti 300 km. Tento poznatek by mohl pomoci v ochraně nížinných a horských populací (Jaffé et al. 2019).

#### 4.1.2 Vliv urbanizace na populace včel

Nárůst urbanizace může mít na populace včel jak negativní, tak pozitivní vliv. Hlavním negativním jevem je ovlivnění lokálního i regionálního toku genů u původních populací včel (Jha a Kremen, 2013b). U nejvíce urbanizovaných oblastí byla zjištěna až desetinásobně zvýšená hodnota inbreedingu oproti normálním hodnotám (López-Urbe et al. 2015). Pokud se ale zaměříme na lokální malé populace ve městech, existují „ostrůvky“, které se vyznačují zvýšenou druhovou i genetickou diverzitou (Fortel et al. 2014). Tento fenomén je zapříčiněn vysazováním tropických květin v zahradách i mimo ně. Na tyto květiny se následně mohou zaměřit další druhy včel, někdy i nepůvodní (Matteson et al. 2008), které by za normálních podmínek nenašly zdroj své potravy nebo ideální hnízdní stanoviště v dostatečné vzdálenosti od jiného nejbližšího zdroje (Salisbury et al. 2015). I v evropských studiích byl zjištěn pokles populací druhů včel, který byl výrazně ovlivněn urbanizací a erozí, která zasahovala do přirozeného habitatu. Populace druhu *Colletes floralis* Eversman, 1852 (Colletidae, Colletini) jsou kvůli těmto vlivům ve Velké Británii značně izolované a nemůže mezi nimi ani na malé vzdálenosti probíhat genetický tok (Davis et al. 2010). V jedenácti městech státu Sao Paula (Brazílie) byl pomocí mikrosatelitů a allozymů zkoumán vliv urbanizace na genetickou diverzitu druhu *Euglossa cordata* Linnaeus, 1758 (Apidae, Euglossini) (Cerântola et al. 2011). Tato studie odhalila velkou genetickou rozmanitost a zároveň vykazují nízkou strukturu populace se vzácným výskytem diploidních trubců. Z čehož u populace *E. cordata* vyplývá vysoký genetický tok a velká efektivní velikost populace. Nízký počet heterozygotů v populacích Sao Paula nebyl způsoben selekčním tlakem, ani členěním populací *E. cordata*. Pokud jsou výsledky správné, předpokládají se genetické a historicky demografické faktory, které heterozygoty samců ovlivnily (Cerântola et al. 2011). Stejně jako urbanizace způsobuje fragmentaci životního prostředí (Suzuki et al. 2010), je očekáváno, že bude i u městských populací tribu Euglossini vykazována snížená efektivní velikost populace a zároveň bude probíhat silnější genetický drift (Cook a Crozier 1995). Data, která vyplývají ze studie o *E. cordata* vykazují neočekávanou genetickou odolnost vůči předpokládaným škodlivým antropogenním vlivům (Cerântola et al. 2011).

V oblastech, kde důsledkem intenzivní urbanizace došlo k neprostopnosti území, a tím

k ovlivnění genetického toku v populaci, byly zaznamenány známky inbreedingu druhu volně žijících včel *Bombus vosnesenskii* Radoszkowski, 1862 (Apidae, Bombini) (Jha a Kremen, 2013b). Existuje také souvislost mezi větší velikostí těla včel a vyšší frekvencí genetického toku mezi populacemi. Genetická struktura populací souvisí s velikostí těla daných populací, kdy větší druhy mají zároveň výhodu delšího doletu, a tedy větší území pro sběr potravy a hnízdění (López-Uribe et al. 2019 Jan 22). Pro zvýšení genetické variability hraje velkou roli obvyklá míra migrace včelích královen pro nalezení nového hnízda, které může být vzdálené i více než 9 km. Samci stejného druhu jsou schopni migrovat ve vzdálenosti o něco větší a existují i případy, kdy jedinci větších velikostí, například rodu *Bombus*, tuto hranici překračují (Jha a Kremen, 2013b). Pozitivní korelaci mezi velikostí druhů a migrací můžeme potvrdit i v návaznosti na studii, která udává největší druhovou bohatost včel v ideální vzdálenosti od lesních a lučních oblastí, které jsou přímo propojeny s příměstskými oblastmi. Pro malé včely je tedy přelet mezi vzdálenými zahradami a parky daleko složitější a v určitých případech nemožný (Banaszak-Cibicka et al. 2016). Pro přežití jednotlivých druhů v městském prostředí je zásadní, jak zdroj jejich potravy, tak optimální podmínky pro hnízdění. Na určitých městských oblastech můžeme pozorovat hustou podrostovou vegetaci, nadměrné zastínění a velkou vlhkost. Všechny tyto faktory znesnadňují stavbu hnízd a snižují hustotu populací (Banaszak-Cibicka et al. 2016).

Brazílská studie se zabývala vlivem urbanizace na tři druhy čmeláků *B. bellicosus* Smith, 1879, *B. pauloensis* Friese, 1913 a *B. morio* Swederus, 1787 (Apidae, Bombini) (Martins a Melo, 2010). Nejvyšší genetickou diverzitu vykazoval druh *B. morio*. Následně *B. pauloensis*, u kterého ale v období let 1946 až 2012 genetická variabilita významně klesala. *Bombus pauloensis* je pokládán za stabilní (Martins a Melo, 2010), proto v důsledku této studie je předpokládán vliv urbanizace, která u *B. pauloensis* způsobuje zranitelnost. Pro poslední studovaný druh *B. bellicosus* nebyl v důsledku omezené populační velikosti nasbírán dostatek informací (Maebe et al. 2018). V poslední sezoně výzkumu se bohužel nepodařilo nasbírat žádné vzorky, což může být způsobeno celosvětovým úbytkem včel, nebo častými bouřkami s intenzivními srážkami. Po bouřích v Kostarice v roce 1997 až 1999 bylo zaznamenáno pomalejší kvetení rostlin, které jsou klíčovým zdrojem pro včely a péči o jejich hnízda (Frankie et al. 2005).

Několik studií také zkoumalo druhovou diverzitu populací v příměstských oblastech, které jsou tvořeny zelenými plochami a obytnými domy se zahradami, ty pro včely poskytují zdroj potravy a místo na hnízdění. Druhovou diverzitu populací v příměstských oblastech je možné přirovnat k diverzitě populací uvnitř rozsáhlého lesa (Winfree et al. 2007; Fetridge et al. 2008). Je tedy naděje, že urbanizace zachovává určitou biodiverzitu díky botanickým zahradám a parkům ve městech, a také díky příměstskému zahradnictví. Zahrady sice nemají pozitivní vliv na oligolektické druhy a biotopové specialisty, přesto umožňují výskyt druhů s hnízděním v zemi a také druhům kleptoparazitickým (Fetridge et al. 2008).

#### 4.1.3 Vliv zemědělství a pastvy na populace včel

Zemědělství je činností, která je zásadní pro obživu lidské populace. Její intenzifikace snižuje rozmanitost a hojnost původních druhů včel (Kremen et al. 2002). Snižování druhové diversity je dáno dvěma hlavními důvody, a to nízkou různorodostí kvetoucích rostlin, která negativně koreluje s druhovou rozmanitostí včel (Holzschuh et al. 2006), ale také využívání herbicidů a pesticidů v zemědělství. Pokles v důsledku malé diverzity rostlinných zdrojů může být řešen neosazováním okrajů pole zemědělskými plodinami, vysazením směsi osiva, které by zvýšilo květové bohatství a následně i bohatost opylovačů (Pywell et al. 2005). Německá studie se zabývá vztahem čmeláka druhu *B. pascuorum* (Scopoli, 1763) k zemědělskému využití půdy (Herrmann et al. 2007). V této studii na některých územích Německa korelační koeficient hodnot inbreedingu negativně koreloval s velikostí populací. Zároveň byla nalezena pozitivní korelace mezi množstvím kvetoucích rostlin a velikostí populací *B. pascuorum*. U populací *B. pascuorum*, kde byly naměřeny vyšší hodnoty inbreedingu, byl zaznamenán nedostatek heterozygotů a malá relativní velikost populace. Na území, kde byla u populací *B. pascuorum* zjištěna větší velikost populace, je předpokládán silný pozitivní vztah s dostupností potravních zdrojů, a to ke druhu *Brassica napus* (Brassicaceae) (Herrmann et al. 2007). U některých populací druhu *B. pascuorum* byly naměřeny vysoké hodnoty inbreedingu (Herrmann et al. 2007), což je v rozporu se studiemi z Velké Británie (Darvill et al. 2004). Populace *B. pascuorum*, kde byl naměřen nižší stupeň heterogenozity, vykazovaly malou populační velikost než populace s vyšším stupněm heterogenozity. Rozhodně nemůžeme vyloučit inbreeding jako důvod ztráty heterozygoty v populacích právě v závislosti na vysoké hodnotě inbreedingu (Gerloff a Schmid-Hempel, 2005). Další možností, která může vysvětlit negativní korelaci mezi velikostí populací a zvýšenou hodnotou inbreedingu je snížená produkce dělnic a tím i snížená reprodukční schopnost. U neotropického druhu *B. atratus* Franklin, 1913, bylo zjištěno zpomalení růstu populací způsobené produkcí diploidních trubců. Je také pravděpodobné, že prostorové rozšíření plodin ovlivnilo velikosti kolonií v následujícím roce (Herrmann et al. 2007).

Pesticidy jsou látky, které slouží k ochraně zemědělských plodin a svým chemickým složením tlumí nemoci rostlin a zabíjí živočišné škůdce. Existuje mnoho druhů pesticidů zaměřených speciálně na určité škůdce a nemoci, například fungicidy, aficidy, insekticidy, herbicidy, arborocidy a další (Gevao et al. 2000). Využívají se hlavně pro zvýšení efektivity zemědělství, která neustále stoupá, ale právě stoupaní produkce plodin a potenciální pokles opylovačů by mohl způsobit problémy lidské populaci (Popp et al. 2013). Jedním z mnoha pesticidů, které jsou využívány pro kontrolu býložravých hmyzích škůdců, jsou neonikotinoidy. Tyto látky se aplikují na semena plodin pro ochranu vyrůstající rostliny, ale jsou to látky perzistující v půdě, vodě a sedimentech, a tak působí znečištěný povrchové vody. Ta je pohlcena nejen hospodářskými rostlinami, u kterých jsou následně tyto látky obsaženy v pylu a nektaru a mají vliv na populace včel (Woodcock et al. 2017). Ve švédské studii byla zjištěna spojitost mezi nízkou hustotou samotářských i sociálních včel a použitím systemických neonikotinoidů. Dalším zjištěním byla negativní korelace insekticidů s tvorbou hnízd solitérních včel. Na polích, kde byly

v průběhu hnízdní sezony použity neonicotinoidy, bylo nalezeno 6 z původních 8 vytipovaných hnízd opuštěných (Rundlöf et al. 2015 5). Důvod neschopnosti včel stavět hnízda ještě není plně vyřešen, ale předpokládá se ovlivnění nervové soustavy pesticidy, které způsobí narušení paměti, navigačních schopností (Gill a Raine, 2014), i schopnosti starat se o potomstvo (Crall et al., 2018). Třetím zjištěním byla negativní korelace s růstem kolonií a reprodukcí čmeláka *Bombus terrestris* Linnaeus, 1758 (Apidae). U tohoto druhu byl pozorován snížený přírůstek hmotnosti larev, který je ovšem zásadní pro následující produkci královen a samečů (Whitehorn et al. 2012). Nejspíše právě díky této skutečnosti byl zaznamenán 85% pokles v reprodukci (Rundlöf et al. 2015 5). Ve studii na včele medonosné (*A. mellifera*) byl zjišťován vliv neonicotinoidů na genetickou variabilitu populací. Jako zásadní činností pro zdravou populaci je zde bráno úspěšné páření královny s trubci. Páření však může být ovlivněno neonicotinoidy. Ty ovlivňují prostorovou orientaci královny, což je důležité pro úspěšné nalezení trubců. Ztráta orientace a neúspěšnost páření následně snižuje růst populace královny, která je ovlivněna neonicotinoidy. Předpokládá se, že bude redukce růstu kolonie v hnízdech ovlivněné královny následně přetrvávat až do její smrti (Whitehorn et al. 2012). Existuje také rozdíl u populací včel mezi státy, které se specializují na pěstování různých plodin. Například v Maďarsku a ve Velké Británii, kde je jako zdroj pícnin využívána *Brassica napus*, byl zjištěn vyšší výskyt nemocí v úlech (Woodcock et al. 2017). Dalším příkladem je hromadné vymírání včel na území Německa, Itálie, Slovenska a Francie, kde došlo k sadbě kukuřičných semen. Secí stroje vytvořily oblak toxického prachu, kde byly včely vystaveny smrtelné dávce neonicotinoidů (van der Sluijs et al. 2013). Zároveň musíme brát v úvahu rozdílnost reakce na tyto pesticidy u volně žijících druhů včel a včely medonosné. Citlivost na tyto toxické látky pro jednotlivé druhy včel není zcela vyřešena. V některých případech je vysvětlena rozdílnou průměrnou tělesnou hmotností jednotlivých druhů, kdy větší druhy vykazují nižší citlivost vůči tomuto typu pesticidů (Cresswell et al. 2014). Zjištění těchto faktů vedlo k významnému omezení pesticidů v Evropě a v roce 2018 byl Evropskou Unií vydán zákaz používání neonicotinoidů v zemědělství (nařízení č. 1107/2009/EU). Můžeme brát tento zákaz jako významný krok vpřed k uvědomění důležitosti opylovačů pro lidskou populaci.

Mezi další antropogenní činnosti, které ovlivňují populace včel je pastva zemědělských zvířat. Tato činnost ukázala u většiny studií jednotný trend, a to pokles abundance, který se odvíjel od zvýšení intenzity pastvy (Kimoto 2010). Předpokládá se, že hlavní souvislostí mezi změnou hojnosti a druhové rozmanitosti čmeláků je dopad pastvy na rostliny rostoucí na daných stanovištích. Musíme tedy studovat i vliv pastvy na druh rostliny preferovaný určitým druhem včely. Například byl zjištěn hojnější růst rostlin *Hedysarum* Linné, 1753 (Fabaceae) a *Saussurea* Lipsch, 1964 (Asteraceae) v následující sezoně v oblastech, kde byla pastva v létě předešlého roku zastavena (Xie et al. 2008). Existují i studie, které zvýšení druhové diverzity nezaznamenaly (Mayer 2005). Velký vliv na zvýšení druhové rozmanitosti mělo zastoupení taxonů. Důležitá byla rozdílnost citlivosti vůči úbytku vegetace. Jedním z taxonů, který je velmi citlivý, je například rod *Bombus* (Goulson et al. 2008; Banaszak-Cibicka et al. 2016). Pro některé druhy byla dokonce hojnost pastvy pozitivně spojena s hojností včel. Druhy, které na této

činnosti profitovaly, tvoří zemní hnízda a samotnou pastvou došlo ke zvýšení hnízdních příležitostí (Vulliamy et al. 2006). Vliv pastvy na druhovou a genovou diverzitu není ještě zcela vyřešen a z hlediska genetické diverzity bohužel ani žádné studie neexistují. Existují však studie, které hodnotí pastvu hospodářských zvířat jako negativní pro populace včel (Franzén a Nilsson, 2008; Minckley, 2014; Xie et al., 2008), ale také studie, které ji shledávají pozitivní (Carvell 2002; Morandin et al. 2007).

#### 4.1.4 Vliv parazitů, parazitoidů a patogenů na populace včel

Dalším zkoumaným faktorem, který ovlivňuje populace včel, jsou parazité, parazitoidi a patogeny. Mnoho studií je zaměřených na *A. mellifera*, jako je to například u vlivu *Varroa destructor* Anderson & Trueman, 2000 (Acari), který v některých případech slouží jako vektor pro RNA viry, které jsou následně přenášeny nejen na *A. mellifera*, ale i na volně žijící druhy včel. Další nejvíce zmiňovanou skupinou, hned po včele medonosné, jsou čmeláci. Studie s tematikou vlivu patogenů a parazitů na volně žijící včely se vyskytují velice zřídka a je celkově známo velmi málo informací. *Apis mellifera* je pro nás v této tematice velice důležitá. Je pokládána za vektor, který dále přenáší nákazy z komerčně využívaných populací na čmeláky a další volně žijící včely (Manley et al. 2019).

Včela medonosná není jediný druh, který je komerčně využíván v zemědělství. Ke komerčnímu opylování jsou využívány různé druhy čmeláků, nejčastěji *B. terrestris*, u kterých se běžně objevují patogeny (Colla et al. 2006). Například tracheální roztoč *Locustacarus buchneri* Stammer, 1951 (Acari) má zásadní vliv při hledání potravy. Toto chování je zapříčiněno vyvoláním fyziologického stresu roztočem, což vede ke snížení efektivity pro nalezení potravního zdroje u čmeláků. Další parazit, který má stejný efekt na včelí hostitele, je střevní prvok *Crithidia bombi*, kvůli které včely průměrně navštíví o 12 % méně květů, než neinfikované včely (Otterstatter et al. 2005). Tito čmeláci a *A. mellifera* mohou způsobit šíření patogenů mezi volně žijící populace a druhy včel (Woolhouse et al., 2001). Například v Ontariu byla zaznamenána až 75% infikovanost divokých čmeláků, způsobená přenosem z komerčně využívaných druhů rodu *Bombus*. Přenos patogenů byl závislý na ročním období a promořenost patogenem klesala se vzdáleností od skleníků, kde byly chováni komerčně využívaní čmeláci (Otterstatter a Thomson, 2008). *Crithidia bombi* je střevní prvok, který snižuje fitness hostitele a ovlivňuje vývin ovárií, což ohrožuje produkci následující generace královen a trubců (Imhoof a Schmid-Hempel, 1999). V Severní Americe byl v průběhu několika desítek let zaznamenán rapidní pokles populace u volně žijících čmeláků. Je předpokládáno, že během posledních 20 let došlo ke snížení relativního zastoupení *B. occidentalis* Greene, 1858, *B. pensylvanicus* (De Geer, 1773), *B. affinis* Cresson, 1863 a *B. terricola* Kirby, 1837 (Apidae, Bombini) až o 96 % a jejich geografické rozšíření bylo redukováno o 23 až 87 % (Cameron et al. 2011). V Chile také zaznamenali významnou změnu v diverzitě populací čmeláků. Původní druhy *B. dahlbomii* Guérin-Méneville, 1835 byl zcela vytlačen nepůvodním *B. terrestris*. Jeho šíření je odhadováno na 200 km za rok. Potlačení původních druhů je kromě silného konkurenčního tlaku připisováno také vlivu parazitů *C. bombi* a *Nosema bombi* Fantham & Porter, 1914 (Microsporidia) (Schmid-Hempel et al. 2014).



Dalším problematickým patogenem je *Nosema ceranae* Ingemar Fries, 1996 (Microsporidia), která byla v důsledku transportu rozšířena i do Evropy a Ameriky, kde se jí velmi daří. Její prevalence v studovaném prostředí byla rovna až 21 % (Meeus et al. 2011). Tento patogen je snadno přenosný z *A. mellifera* mezi volně žijící včely a v některých případech působí jedinci některých druhů čmeláků jako distributoři tohoto prvoka, aniž by byli sami nakaženi (Folly et al. 2017). Důkazem přenosu tohoto patogenu je i zaznamenaný výskyt *N. ceranae* nejen u divokých čmeláků žijících v Evropě, Číně a Jižní Americe (Plischuk et al. 2009; Graystock et al. 2013), ale také u solitérních včel v Evropě (Ravoet et al. 2014). Dramatický pokles populací druhů *B. occidentalis*, *B. pensylvanicus*, *B. affinis* a *B. terricola* v USA v průběhu několika desítek let byl na mnoha místech předpokládán, ale zdaleka ne v tak značném rozsahu. Na řadě míst se staly tyto druhy vzácnými (Cameron et al., 2011; Williams a Osborne, 2009). Na odůvodnění tohoto poklesu existuje několik teorií. Jednou z nejvíce podporovaných je rozšíření nákazy druhu *N. bombi*, které původně zasáhlo pouze komerční kolonie, ale následně se rozšířilo i do divokých populací (Colla et al. 2006; Cox-Foster et al. 2007). Tuto teorii podporuje i výše zmíněná studie (Cameron et al. 2011), která u klesajících populací druhů rodu *Bombus* potvrdila zvýšenou prevalenci *N. bombi*, ale pro potvrzení přímého spojení druhem *Bombus terrestris* a invazivností nákazy je doporučen genetický screening a další zkoumání jak *N. bombi*, tak dalších možných patogenů (Cameron et al. 2011). Při studiu populací *B. auricomus* (Robertson, 1903) byla zjištěna závislost rozšíření infekce na kastách. Nejvyšší míru infekce vykazovali trubci, následovala kasta dělnic a nejmenší míru infekce vykazovala královna a kasta budoucích královen (Chu a Cameron, 2017). Dalším faktorem, který může zapříčiňovat ústup čmeláků v těchto lokalitách může být využívání pesticidů, ztráta habitatu, nebo například nižší genetická rozmanitost u *B. occidentalis* a *B. pensylvanicus* (Szabo et al. 2012). Malá efektivní velikost populace v kombinaci se zvýšeným potenciálem inbreedingu a genetického driftu může zvyšovat šanci nakažení populace *N. bombi*. Byla také zaznamenána vysoká míra genetického toku, která dává naději možným doplněním diverzity disperzí při ztrátě diverzity při genetickém driftu (Zayed 2009; Cameron et al. 2011). Další studie ze Severní Ameriky zkoumala vliv *N. bombi* na druhy *B. occidentalis* a *B. moderatus* (Linnaeus, 1761). Infekce druhu *B. occidentalis* patogenem *N. bombi* dosahovala až 44 %, za to u druhu *B. moderatus* byla znatelně nižší. Stejně jako u nákazy střevním prvokem *C. bombi*, i zde byla zjištěna negativní korelace mezi nízkou genetickou diverzitou a rozšířením infekce u populací *Bombus occidentalis* a *Bombus moderatus* (Koch a Strange, 2012).

Ve Velké Británii byla zkoumána úspěšná invaze čmeláka *B. hypnorum* (Linnaeus, 1758), který unikl z pevniny od konkurenčního tlaku. Ani vysoká prevalence *C. bombi* a dalších parazitů neomezuje šíření populací *B. hypnorum* po Velké Británii (Jones a Brown, 2017). Předpokládá se, že britská populace *B. hypnorum* vznikla za pomoci maximálně dvou několikanásobně oplozených královen. Ve studii druhu *B. hypnorum* byla vypočtena prevalence *C. bombi* vydělením počtu všech královen počtem nakažených královen. *Bombus hypnorum* vykazoval vyšší prevalenci patogenů *C. bombi* než nativní druhy včel. Největší vliv na přežití královen druhu *B. hypnorum* měla právě

vysoká prevalence a vyšší citlivosti vůči patogenům. Přes vysokou prevalenci parazitů a jejich vliv na populace *B. hypnorum* nezabránil rychlému rozšíření po Velké Británii. Jedním z faktorů, který mohl potenciálně přispět k tomuto úspěchu v šíření *B. hypnorum*, je potravní generalismus tohoto druhu, který je dobře přizpůsoben na městské podmínky. Dalším faktorem je bivoltinnost *B. hypnorum*, což přispívá k ještě rychlejšímu populačnímu růstu (Jones a Brown, 2017). Jelikož nedochází k hibernaci královny, může královna najít partnera a ihned založit kolonii. Ztráta hibernace je možným důvodem zabránění infekce *Sphaerularia bombi* Dufour, 1837 (Nematoda) pro populace *B. hypnorum*. Poslední možností je jednoduše invaze do příznivějšího prostředí, které je oddělené přírodní bariérou, tedy mořem (Jones a Brown, 2017). Studie na Hebridenských ostrovech (Whitehorn et al. 2011) potvrzuje negativní korelaci prevalence střevního parazita *C. bombi* s poklesem genetické heterozygotity u populací druhu *B. muscorum* (Linnaeus, 1758). Nízká imunokompetence může být způsobena nízkou heterozygotitou, což má za následek zvýšenou citlivost k infekci. Další možností je selekce u populacích včel v kombinaci s nízkou genetickou diverzitou, která vede k rychlejšímu šíření *C. bombi* v populaci. U inbredních populací včel, kde byla vyšší infekce *C. bombi*, bylo zjištěno nižší rozšíření populací, což by mohlo odrážet neschopnost inbredních populací přežít vysoké úrovně infekce (Whitehorn et al. 2011).

Dalším parazitem, který napadl evropský druh *Bombus terrestris*, u kterého proběhla invaze do Tasmánie, je roztoč *Kuzinia laevis* Zachvatkin, 1941 (Acaridae). *Kuzinia laevis* byl přítomen až na 80 % jedinců z populace, a to v počtu 350 až 400 jedinců *K. laevis* na jednoho jedince *B. terrestris*. U nativních rodů včel se ovšem objevuje až 800 *K. laevis* na jednoho jedince nativních včel. Pro *B. terrestris* to znamená malé genetické zatížení, přesto byla naměřena malá genetická diverzita tasmánské populace *B. terrestris*. To ovšem populaci nemusí negativně ovlivnit. V Tasmánii nejškodlivější paraziti chybí, a tak je *K. laevis* jediný parazitický stresor.

#### 4.2 Historická demografie včel

K šíření populací dochází ve většině případů třemi způsoby. Díky lidmi zprostředkovanému transportu, kdy je šíření neúmyslné, úmyslné šíření za účelem komerčního opylování, nebo z důvodu měnících se podmínek, které dané druhy vede ke změně stanoviště (Lopez-Urbe et al. 2014). V této části se budu zabírat hlavně klimatickými vlivy na populace včel.

Jednou ze studií, která zaznamenává neúmyslné rozšíření druhu včely, je studie o druhu *Ceratina smaragdula* (Fabricius, 1787) (Apidae, Ceratinini) na Havaj (Shell a Rehan, 2017). Tento druh je na těchto ostrovech považován za nepůvodní, ale během několika let došlo k rozsáhlé expanzi, kdy se *C. smaragdula* rozšířila napříč ostrovem Maui ve velkém rozsahu nadmořských výšek. Nebezpečí druhu *C. smaragdula* tkví i ve stejné hnízdní strategii, jako má původní druh rodu *Hylaeus* a to hnízdění ve stoncích rostlin (Ali et al. 2016). To pro původní endemický druh přináší konkurenční tlak, který jim snižuje reprodukční úspěch (Magnacca 2007). Genetická homogenita hawajských populací naznačuje krátkou genetickou izolaci nativního druhu *C. smaragdula*, který byl zaznamenán

před 40 lety od druhotně kolonizovaného druhu *C. smaragdula*, kterou kromě molekulárních studií podporují i historické záznamy (Ali et al. 2016). V neposlední řadě se spekuluje o vlivu nepůvodního druhu rodu *Ceratina* na celkový ekosystém Havajských ostrovů. Působí zde jako opylovač invazivních druhů krytosemenných rostlin a zapříčiňuje tlak na původní druhy včel (Pleasants a Wendel, 2010).

Nejčastějším typem rozšíření u hmyzu je „Island hopping“, rozptyl na velké vzdálenosti a antropogenně usnadněný transport. Rozptyl na velké vzdálenosti není podporován kvůli oceánským a vzdušným proudům, které zabraňují letu a raftingu do této lokace (Tabata 1975). V případě rozšíření druhu *C. smaragdula* na havajské ostrovy je nejvíce podporována poslední možnost (Shell a Rehan, 2017). Stejný typem rozšíření využil i druh *Ceratina dentipes* Friese, 1914 (Apidae), který kolonizoval do jihovýchodní Asie. V jihovýchodní Asii byla porovnáována genetická diverzita *C. dentipes* s trasami antropogenního transportu (Shell a Rehan, 2019). *Ceratina dentipes* původně pochází z Afriky. Časový rámec příchodu *C. dentipes* odpovídá příchodu lidí do Indonésie a je odhadován do doby před 70 tisíci lety (Westaway et al. 2017).

Dalším typem je cílené šíření pro hospodářské účely, kdy byly japonské populace druhu *Anthophora plumipes* (Lepelletier, 1841) pragmaticky rozšířeny v Severní Americe pro opylování zemědělských plodin. Analýza, založená na 11 mikrosatelitových lokusech a částečné sekvenci cytochrom oxidázy c, byla využita na studium solitérních včel rodu *Anthophora* (Apidae, Anthophorini) (Černá et al. 2017). Druh *Anthophora plumipes* se nachází v Evropě, severní Africe a na Středním východě Bond a Kirby, 1999). Dříve byl považován za jeden druh společně s druhem *Anthophora villosula* Smith, 1854, ale pomocí nukleárních a mitochondriálních markerů byla zjištěna genetická diferenciace od *A. plumipes*. Haplotypy populací *A. plumipes* v Řecku, Izraeli a Španělsku také naznačují určitý stupeň diferenciace a endemismu. Tato diferenciace může být dána fragmentací krajiny po konci doby ledové. Analýzy, které se zaměřili na britskou populaci, odhalily nízkou efektivní velikost populace a asymetrický tok genů ze západní Evropy (Černá et al. 2017). Dalším druhem je *Lasioglossum leucozonium* (Schrank, 1781) (Apoidea, Halictidae), který byl do Severní Ameriky zavlečen před zhruba sto lety. Populace *L. leucozonium* vykazují nízkou hodnotu heterozygoty a kolem 30% samců je diploidních, a tedy neplodných (Zayed et al. 2007).

Jednou z příčin pohybu populací opylovačů jsou také klimatické změny, které nepůsobí pouze změny velikostí populací, ale také mění přírodní podmínky habitatu. Změnou přírodních podmínek dochází buď k velmi pomalému přizpůsobení, nebo migraci za podobnými přírodními podmínkami. V důsledku progresivní změny klimatu v Austrálii došlo u druhu *Ceratina australensis* (Perkins, 1912) (Apidae) k posunu populací směrem k pobřežním oblastem (Dew et al. 2019). Populace jižní Austrálie zahrnuje pouze jeden haplotyp, což je možné vysvětlit nedávným vznikem populace, kdy nebyl dostatečný čas pro vznik nových haplotypů (Dew et al. 2016). Do budoucna je v subalpínských a vysokohorských oblastech předpokládán nárůst chráněné zóny obývané druhem *C. australensis* o téměř 4 %, což potvrzuje domněnky o zvýšení efektivnosti populace po glaciálním maximu poslední doby ledové (Dew et al. 2016). Se změnou klimatu a zvyšováním aridifikace by měl přijít celkový nárůst

potenciálních stanovišť, který je pro druhy adaptované na sucho ideální. Australská včela druhu *Exoneurella tridentata* (Huston, 1976) (Apidae, Allodapini), která je také přizpůsobena suchým podmínkám, může být více zranitelná vůči změně klimatických podmínek v důsledku potravní specializace na druhy stromů pocházející z čeledi Sapindaceae a Fabaceae (Silva et al. 2018). *Ceratina australensis* má jako zástupce potravních generalistů výhodu v travnaté krajině, která je ochuzena o stromovitý porost (Hall et al. 2019). Pokud budou klimatické změny pokračovat, potenciální stanoviště tohoto druhu budou zasahovat do oblastí, které jsou v Austrálii nejvíce obydlené a dojde ke kontaktus vlivy urbanizace a zemědělsky využívanou půdou. Ani tyto podmínky ale nemusí vést k poklesu populací. Jak jsme výše zmiňovali, tento druh je zvyklý na podmínky, které jsou v určitém směru podobné městským podmínkám (Dew et al. 2019).

Další oblast, která zažívá klimatické změny, je Brazílie, která je domovem orchidejové včely druhu *Euglossa iopocila* Dressler, 1982 (Apidae, Euglossini). Genetická struktura tohoto druhu byla utvářena událostmi, které tento druh orchidejových včel diverzifikovali do 3 populací na tomto území. Kromě klimatických změn nemůžeme vyloučit vliv selekčního tlaku, který mohl také ovlivnit genetickou a fenotypovou rozmanitost. Bylo nalezeno pravděpodobné centrum původu tohoto druhu, které se nachází v koridoru biologické a genetické rozmanitosti (Frantine-Silva et al. 2017). Je předpokládáno, že diferenciaci *E. iopocila* na dnešní 3 populace je způsobena izolací jednotlivých populací a zároveň mnohonásobným vyhynutím a rekolonizací populací způsobenou kolísáním klimatu na daném území (Carnaval a Moritz, 2008). Výsledky SMD, které se soustředily na střední holocén, naznačují velké propojení populací *E. iopocila* podél pobřeží Atlantického pralesa. Tento scénář může usnadnit disperzi samců a vysvětlit vyšší úroveň toku genů, což má za následek nedostatek genetické struktury mezi odlišnými klastry (Penha et al. 2015). Na základě dvou hypotéz bylo nalezeno území, které lze považovat za klimatický stabilní, což bylo historicky potvrzeno. V refugiích Bahnia a Pernambuco převládá stabilní klima již 130 tisíc let, což by mohlo být zásadní pro přežití druhů za kritických podmínek (Carnaval a Moritz, 2008). V Atlantickém lese zároveň neprobíhá dostatečná ochrana, která by omezovala antropogenní vlivy a tím i prohloubení klimatických změn, což má za následek nízkou úroveň genetického toku mezi třemi populacemi *E. iopocila* (Frantine-Silva et al. 2017). Výše jsme se zajímali o potravní generalisty, kteří jsou méně limitováni zdrojem své potravy. *Melitta nigricans* Alfken, 1905 a *M. tricineta* Kirby, 1802 (Melittidae, Melittini) jsou druhy potravních specialistů, které již za dobu své existence pocítily klimatické změny spolu s blízce příbuzným druhem *M. leporina* (Panzer, 1799). *Melitta leporina* se specializuje na rostliny rodu Fabaceae, které jsou v Evropě hojné (Michez et al. 2008). U druhu *M. leporina* byla zjištěna neobvykle vysoká úroveň polymorfismu. Sice se předpokládá, že generalisté mají vyšší genetickou variabilitu (Habel et al. 2009), ale v hodnotě, která byla zjištěna v této studii u specializovaného druhu, ji je možné vysvětlit více způsoby. Pro udržení tak vysoké úrovně genového polymorfismu mohla hrát roli velikost populace, vysoká integrovaná rekombinace, nebo vyvážený výběr působící na dva lokusy (Dellicour et al. 2015). Tyto 3 studované druhy se díky své blízké příbuznosti podobají vzájemnou morfologií a původem

(Greenleaf et al. 2007), ale jsou mezi nimi i genetické rozdíly, které vyplývají z velikosti populací. Zatímco je u *M. leporina* zřejmá velká efektivní velikost populace, která trvá již delší dobu, u *M. nigricans* se předpokládá nedávný rapidní populační růst z malé populace (Dellicour et al. 2015). Další znak, který může odrážet genetická rozmanitost těchto druhů, je dynamika jejich populací. Ta může být ovlivněna nižší hojností a rozšířením potravního zdroje, což by teoreticky u specialistů mohlo způsobit nižší genetickou diverzitu, která je viditelná u druhu *M. tricincta*. Pro druh *M. nigricans* ovšem neexistuje vzorec, který by lehce vysvětlil jeho genetickou variabilitu. Všechny tyto děje nemohou být vysvětleny pouze změnou klimatu (Taberlet et al. 1998). Jelikož by tyto vlivy musely působit na všechny druhy stejným způsobem. Zde je nutné zohlednit způsob života, specializaci na potravní zdroje a jejich hojnost (Dellicour et al. 2015). Můžeme předpokládat účinky kombinace faktorů nedávného rozšíření a nárůstu populace, které proběhlo před zhruba 2000 lety a malé dostupnosti potravního zdroje.

Jednou z nejzranitelnějších částí Afriky z hlediska klimatických změn je fauna „winter rainfall area“. Dnes je africký deštný prales omezena na území, které pokrývá 150 000 km<sup>2</sup> (Kuhlmann et al. 2012). V důsledku zvyšování teplot byly zaznamenány největší druhové ztráty živočichů na východní straně „winter rainfall area“, což odráží zvyšování gradientu aridity (Arenas et al. 2012). Byl zjištěn pokles potravních zdrojů pro opylovače až o 50 %, v důsledku fenologických posunů vyvolaných klimatickými změnami (Arenas et al. 2012). Místní druhy včel však nevykazují velkou míru synchronizace se svými hostitelskými zdroji (Aizen et al. 2009). Pravděpodobnější možností, která vysvětluje druhový pokles lépe než snížení potravních zdrojů, je změna klimatu. Největší citlivost na změny teploty a pozdní nástup zimních dešťů vykazují rostliny rodu *Oxalis*. Což by mohlo ovlivnit druhou stranu tohoto vztahu, snížením reprodukce rostlin a změnou struktury vegetace (Parmesan 2006). Teplota a faktory prostředí neovlivňují pouze demografii, ale také úroveň sociality primitivně sociálních včel. Znamky sociality se ve většině případů objevují v nižších nadmořských výškách a teplejším klimatickém prostředí (Soucy 2002).

Klima není jediným vlivem, který může zapříčinit šíření, ústup a přesun populací. Jedním z vlivů může být následování potravního zdroje, což je typické pro potravní specialisty. Právě tuto hypotézu podporuje i nedávná studie ze Spojených států Amerických, kde *Peponapis pruinosa* (Say, 1837) (Apidae, Eucerini) expandovala z oblasti střední Ameriky do mírného pásu Severní Ameriky (López-Uribe et al. 2016). Většina hmyzem opylovaných rostlin neexpanduje do jiných podnebných pásů, a nebo expandují, ale nejsou následovány svými specifickými opylovači (Kim a Sappington, 2006). Proto je tato studie jedinečná. Pomocí DAPC analýzy byly odhaleny tři geneticky rozdílné klastry, které s největší pravděpodobností zůstávají izolované a bez zaznamenané migrace. Všechny tyto populace následovaly jejich rostlinného hostitele *Cucurbita foetidissima* Say, 1837 (Cucurbitaceae). Pomocí koalescenční analýzy byly odhadnuty demografické parametry. Tato analýza prokázala nízkou genetickou variabilitu oddělených populací, které zároveň odolávají, jak negativním účinkům nízké genetické variability, tak tlaku intenzivního zemědělství a ztrátě habitatu (López-Uribe et al. 2016).

## 5 Závěr

Pochopení faktorů, které ovlivňují populační genetiku včel, může pomoci k ochraně nejen ohrožených druhů včel, ale k celkové ochraně hmyzích opylovačů. Jak ukazují v této bakalářské práci, metody populační genetiky nám jsou schopny ukázat faktory, které ovlivňují populace včel. Pro získání znalostí o opylovačích, kteří jsou důležití pro pěstování zemědělských plodin, je nutné zabývat se touto tematikou globálně.

S měnícími se klimatickými podmínkami může dojít ke zvýšení genetické diverzity u druhů, které jsou lépe přizpůsobené teplejším podmínkám nebo suchu. Dále může dojít k migraci za vyhovujícími podmínkami nebo k zániků druhů, které nejsou schopny rychlého přizpůsobení. Přirozeně suché a teplé podmínky ve městech mohou některým druhům vyhovovat. U populací, které se v městském prostředí úspěšně množí, a probíhá plynulý genetický tok, je zaznamenána vysoká genová diverzita. Klimatické změny a antropogenní činnost jsou ale spíše pro včely negativní. Například v Alpinských oblastech se se zvyšující teplotou posouvají populace chladnomilných druhů do vyšších nadmořských výšek. Druhům *Bombus balteatus* a *B. sylvicola*, které tuto oblast obývají, se zmenšuje jejich přirozený habitat a zároveň se snižuje zdroj potravy a prostor na hnízdění. V důsledku poklesu velikosti populací druhů *B. balteatus* a *B. sylvicola* a zároveň jejich izolací, by mohlo docházet ke zvyšování inbreedingu a poklesu genetické diverzity.

Zemědělské plodiny se mohou zdát jako velký potravní zdroj pro hmyzí opylovače, ale využívané pesticidy tento zdroj znehodnocují. Insekticidy a fungicidy včely buď přímo zabíjí, nebo snižují jejich reprodukční úspěch. Dalším příkladem antropogenní hrozby je šíření patogenů, které se pomocí komerčně využívaných opylovačů mohou dostávat do volně žijících populací včel. Dále bych chtěla poukázat na možné způsoby šíření studovaných včel. Prvním způsobem je samovolné šíření, kdy dochází k expanzi druhu za jeho potravním zdrojem. Dalším způsobem je cíleným přenosem lidmi za účelem opylování, jak tomu bylo u druhu *Anthophora plumipes*, nebo nezáměrné zavlečení, jako u druhu *Lasioglossum leucozonium*. Populace obou druhů vykazují velmi nízkou genetickou diverzitu. Přesto jsou zavlečené druhy úspěšné a mohou vytvářet problémy původním druhům, jako například včela *Ceratina smaragdula*, která na hawajských ostrovech ohrožuje původní endemické druhy rodu *Hylaeus*.

Mnoho studií populační genetiky včel se zabývá pouze včelou medonosnou (*A. mellifera*). Nemůžeme ovšem kategorizovat poznatky antropogenních vlivů na populační genetiku včel, které obývají jak různá klimatická pásma a mají různé potravní, sociální a hnízdní strategie, na základě zkoumání pouze jednoho druhu, navíc často uměle chovaného člověkem. Z důvodu malého počtu studií na téma populační genetiky volně žijících včel není možné vytvořit úplný obraz vlivu klimatu, zemědělství, urbanizace ani patogenů na tyto populace. Pro budoucí výzkum bych doporučila zkoumání nejen genetické diverzity a fylogeneze jednotlivých rodů a druhů včel, ale také sledování podrobných dopadů na jejich populace. Budoucí získané informace by nám mohly ukázat nejčastější příčiny poklesu populací opylovačů, a tedy možná řešení problému.

## 6 Seznam použité literatury

- Aizen MA, Garibaldi LA, Cunningham SA, Klein AM. 2009. How much does agriculture depend on pollinators? Lessons from long-term trends in crop production. *Ann Bot-London*. 103(9):1579–1588.
- Aizen MA, Harder LD. 2009. The global stock of domesticated honey bees is growing slower than agricultural demand for pollination. *Curr Biol*. 19(11):915–918.
- Ali H, Alqarni AS, Shebl M, Engel MS. 2016. Notes on the nesting biology of the small carpenter bee *Ceratina smaragdula* (Hymenoptera: Apidae) in Northwestern Pakistan. *Flo Enomol*. 99(1):89–93.
- Almeida EAB, Danforth BN. 2009. Phylogeny of colletid bees (Hymenoptera: Colletidae) inferred from four nuclear genes. *Mol Phylogenet Evol*. 50(2):290–309.
- Arenas M, Ray N, Currat M, Excoffier L. 2012. Consequences of range contractions and range shifts on molecular diversity. *Mol Biol Evol*. 29(1):207–218.
- Ascher JohnS, Pickering J. 2014. Discover Life bee species guide and world checklist (Hymenoptera: Apoidea: Anthophila). [accessed 2014 Sep 30]. [http://www.discoverlife.org/mp/20q?guide=Apoidea\\_species](http://www.discoverlife.org/mp/20q?guide=Apoidea_species).
- Balzarini M, Di Rienzo J (2004) Info-Gen: Software for statistical analysis of genetic data. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina. Site web: <http://www.info-gen.com.ar/>. [accessed 2019 May 24].
- Banaszak-Cibicka W, Ratyńska H, Dylewski Ł. 2016. Features of urban green space favourable for large and diverse bee populations (Hymenoptera: Apoidea: Apiformes). *Urba For Urban Gree*. 20:448–452.
- Barnosky AD, Lindsey EL. 2010. Timing of quaternary megafaunal extinction in South America in relation to human arrival and climate change. *Quatern Int*. 217(1):10–29.
- Bartomeus I, Ascher JS, Wagner D, Danforth BN, Colla S, Kornbluth S, Winfree R. 2011. Climate-associated phenological advances in bee pollinators and bee-pollinated plants. *P Natl Acad Sci Biol*. 108(51):20645–20649.
- Basawa IV, Mallik AK, McCornick WP, Reeves JH, Taylor RL. 1991. Bootstrap test of significance and sequential bootstrap estimation for unstable first order autoregressive processes. *Commin Stat Theory*. 20(3):1015–1026.
- Beerli, P., 2002 MIGRATE: documentation and program, part of LAMARC, Version 1.5. web: <http://evolution.genetics.washington.edu/lamarc.html> [accessed 2019 June 21].
- Bertorelle G, Bruford MW, Hauffe HC, Rizzoli A, Vernesi C. 2009 May. Population genetics for animal conservation by Giorgio Bertorelle. Cambridge Core. [accessed 2019 Apr 7]. [/core/books/population-genetics-for-animal-conservation/FE162F14A9A70FE4FA5A8D2BB8B76E8D](http://core/books/population-genetics-for-animal-conservation/FE162F14A9A70FE4FA5A8D2BB8B76E8D).

- Biella P, Bogliani G, Cornalba M, Manino A, Neumayer J, Porporato M, Rasmont P, Milanesi P. 2017. Distribution patterns of the cold adapted bumblebee *Bombus alpinus* in the Alps and hints of an uphill shift (Insecta: Hymenoptera: Apidae). *J Insect Conserv.* 21(2):357–366.
- Bogdanov S. 2007. Authenticity of honey and other bee products: state of the art. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca Animal Science and Biotechnologies.* 64(1–2). [accessed 2019 Aug 8]. <https://journals.usamvcluj.ro/index.php/zootehnie/article/view/2192>.
- Bommarco R, Biesmeijer JC, Meyer B, Potts SG, Pöyry, Roberts, Steffan-Dewenter I, Öckinger E. 2010. Dispersal capacity and diet breadth modify the response of wild bees to habitat loss. *P Roy Soc B-Biol Sci.* 277(1690):2075–2082.
- Bond DA, Kirby EJM. 1999. *Anthophora plumipes* (Hymenoptera: Anthophoridae) as a pollinator of broad bean (*Vicia faba major*). *J Apicult Res.* 38(3–4):199–203.
- Bossert S, Murray EA, Almeida EAB, Brady SG, Blaimer BB, Danforth BN. 2019. Combining transcriptomes and ultraconserved elements to illuminate the phylogeny of Apidae. *Mol Phylogenet Evol.* 130:121–131.
- Bridges CB. 1936. The bar ‘gene’ a duplication. *Science.* 83(2148):210–211.
- Brothers DJ. 1999. Phylogeny and evolution of wasps, ants and bees (Hymenoptera, Chrysidoidea, Vespoidea and Apoidea). *Zool Scr.* 28(1–2):233–250.
- Brown D. 2009. *Biogeography.* Sinauer associates.
- Brown JC, Albrecht C. 2001. The effect of tropical deforestation on stingless bees of the genus *Melipona* (Insecta: Hymenoptera: Apidae: Meliponini) in central Rondonia, Brazil. *J Biogeography.* 28(5):623–634.
- Cameron SA, Lozier JD, Strange JP, Koch JB, Cordes N, Solter LF, Griswold TL. 2011. Patterns of widespread decline in North American bumble bees. *P Natl Acad Sci-Biol.* 108(2):662–667.
- Cardinal S, Buchmann SL, Russell AL. 2018. The evolution of floral sonication, a pollen foraging behavior used by bees (Anthophila). *Evolution.* 72(3):590–600.
- Cardinal S, Danforth BN. 2013. Bees diversified in the age of eudicots. *Proc R Soc B.* 280(1755):20122686.
- Cardinal S, Straka J, Danforth BN. 2010. Comprehensive phylogeny of apid bees reveals the evolutionary origins and antiquity of cleptoparasitism. *P Roy Soc B-Biol Sci.* 107(37):16207–16211.
- Carnaval AC, Moritz C. 2008. Historical climate modelling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic forest. *J Biogeogr.* 35(7):1187–1201.
- Carvell C. 2002. Habitat use and conservation of bumblebees (*Bombus* spp.) under different grassland management regimes. *Biol Conserv.* 103(1):33–49.
- Cerântola N de CM, Oi CA, Cervini M, Del Lama MA. 2011. Genetic differentiation of urban populations of *Euglossa cordata* from the state of São Paulo, Brazil. *Apidologie.* 42(2):214–222.



- Černá K, Munclinger P, Vereecken NJ, Straka J. 2017. Mediterranean lineage endemism, cold-adapted palaeodemographic dynamics and recent changes in population size in two solitary bees of the genus *Anthophora*. *Conserv Genet.* 18(3):521–538.
- Chen IC, Hill JK, Ohlemüller R, Roy DB, Thomas CD. 2011. Rapid range shifts of species associated with high levels of climate warming. *Science.* 333(6045):1024–1026.
- Christensen JH, Christensen OB. 2007. A summary of the prudence model projections of changes in European climate by the end of this century. *Climatic Change.* 81(1):7–30.
- Chu CC, Cameron SA. 2017. A scientific note on *Nosema bombi* infection intensity among different castes within a *Bombus auricomus* nest. *Apidologie.* 48(2):141–143.
- Clavel J, Julliard R, Devictor V. 2011. Worldwide decline of specialist species: toward a global functional homogenization? *Front Ecol Environ.* 9(4):222–228.
- Coburn TC. 2007. Hierarchical modeling and analysis for spatial data. *Math Geol.* 39(2):261–262.
- Colla SR, Otterstatter MC, Gegear RJ, Thomson JD. 2006. Plight of the bumble bee: Pathogen spillover from commercial to wild populations. *Biological Conservation.* 129(4):461–467.
- Cook JM, Crozier RH. 1995. Sex determination and population biology in the hymenoptera. *Trends Ecol Evol.* 10(7):281–286.
- Cornuet JM, Luikart G. 1996. Description and Power Analysis of Two Tests for Detecting Recent Population Bottlenecks from Allele Frequency Data. *Genetics.* 144(4):2001–2014.
- Cowles MK, Carlin BP. 1996. Markov chain Monte Carlo convergence diagnostics: A comparative review. *J Am Stat Assoc.* 91(434):883–904.
- Cox-Foster DL, Conlan S, Holmes EC, Palacios G, Evans JD, Moran NA, Quan P-L, Briese T, Hornig M, Geiser DM, et al. 2007. A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. *Science.* 318(5848):283–287.
- Crall JD, Switzer CM, Oppenheimer RL, Versypt ANF, Dey B, Brown A, Eyster M, Guérin C, Pierce NE, Combes SA, et al. 2018. Neonicotinoid exposure disrupts bumblebee nest behavior, social networks, and thermoregulation. *Science.* 362(6415):683–686.
- Cresswell JE, Robert F-XL, Florance H, Smirnoff N. 2014. Clearance of ingested neonicotinoid pesticide (imidacloprid) in honey bees (*Apis mellifera*) and bumblebees (*Bombus terrestris*). *Pest Manag Sci.* 70(2):332–337.
- Csilléry K, Blum MGB, Gaggiotti OE, François O. 2010. Approximate Bayesian Computation (ABC) in practice. *Trends Ecol Evol.* 25(7):410–418.
- Danforth BN, Cardinal S, Praz C, Almeida EAB, Michez D. 2013. The impact of molecular data on our understanding of bee phylogeny and evolution. *Annu Rev Entomol.* 58(1):57–78.
- Danforth BN, Eardley C, Packer L, Walker K, Pauly A, Randrianambinintsoa FJ. 2008. Phylogeny of Halictidae with an emphasis on endemic African Halictinae. *Apidologie.* 39:86-U42.
- Danforth BN, Sipes S, Fang J, Brady SG. 2006. The history of early bee diversification based on five genes plus morphology. *P Natl Acad Sci-Biol.* 103(41):15118–15123.

- Darvill B, Knight ME, Goulson D. 2004. Use of genetic markers to quantify bumblebee foraging range and nest density. *Oikos*. 107(3):471–478.
- Darwin C. 1907. On the origin of species by means of natural selection, or, the preservation of favoured races in the struggle for life. London; Henry Frowde. [accessed 2018 Mar 15]. <http://www.biodiversitylibrary.org/bibliography/2109>.
- Darwin C, Wallace AR. 1958. Evolution by natural selection. Evolution by natural selection. [accessed 2019 Aug 9]. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19581604931>.
- Davis ES, Murray TE, Fitzpatrick U, Brown MJF, Paxton RJ. 2010. Landscape effects on extremely fragmented populations of a rare solitary bee, *Colletes floralis*. *Mol Ecol*. 19(22):4922–4935.
- Dellicour S, Michez D, Rasplus J-Y, Mardulyn P. 2015. Impact of past climatic changes and resource availability on the population demography of three food-specialist bees. *Mol Ecol*. 24(5):1074–1090.
- Dew RM, Rehan SM, Schwarz MP. 2016. Biogeography and demography of an Australian native bee *Ceratina australensis* (Hymenoptera, Apidae) since the last glacial maximum. *J Hymenopt Res*. 49:25–41.
- Dew RM, Silva DP, Rehan SM. 2019. Range expansion of an already widespread bee under climate change. *Global Ecology and Conservation*. 17:e00584.
- Dieringer D, Schlötterer C. 2003. microsatellite analyser (MSA): a platform independent analysis tool for large microsatellite data sets. *Mol Ecol Notes*. 3(1):167–169. 8286.2003.00351.x.
- Doucet A, Freitas N de, Gordon N. 2013. Sequential Monte Carlo Methods in Practice. Springer Science & Business Media.
- Engels W, Imperatriz-Fonseca VL. 1990. Caste Development, Reproductive Strategies, and Control of Fertility in Honey Bees and Stingless Bees. In: Engels W, editor. *Social Insects: An Evolutionary Approach to Castes and Reproduction*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. p. 167–230. [accessed 2019 Aug 10].
- Etter A, McAlpine C, Wilson K, Phinn S, Possingham H. 2006. Regional patterns of agricultural land use and deforestation in Colombia. *Agr Ecosyst Environ*. 114(2):369–386.
- Excoffier L, Laval G, Schneider S. 2005. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinform Online*. 1:47–50.
- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*. 131(2):479–491.
- Fetridge ED, Ascher JS, Langellotto GA. 2008. The bee fauna of residential gardens in a suburb of New York city (Hymenoptera: Apoidea). *Ann Entomol Soc Am*. 101(6):1067–1077.
- Folly AJ, Koch H, Stevenson PC, Brown MJF. 2017. Larvae act as a transient transmission hub for the prevalent bumblebee parasite *Crithidia bombi*. *JournJ Invertebr Pathol*. 148:81–85.
- Fortel L, Henry M, Guilbaud L, Guirao AL, Kuhlmann M, Mouret H, Rollin O, Vaissiere BE. 2014.

- Decreasing abundance, increasing diversity and changing structure of the wild bee community (Hymenoptera: Anthophila) along an urbanization gradient. *Plos One*. 9(8):e104679.
- Fourcade Y, Åström S, Öckinger E. 2019. Climate and land-cover change alter bumblebee species richness and community composition in subalpine areas. *Biodivers Conserv*. 28(3):639–653.
- Frankie GW, Rizzardi M, Vinson SB, Griswold TL, Ronchi P. 2005. Changing bee composition and frequency on a flowering legume, *Andira inermis* (Wright) kunth ex DC. during El Niño and La Niña years (1997-1999) in Northwestern Costa Rica. *J Kansas Entomol Soc*. 78(2):100–117.
- Frantine-Silva W, Giangarelli DC, Penha RES, Suzuki KM, Dec E, Gaglianone MC, Alves-dos-Santos I, Sofia SH. 2017. Phylogeography and historical demography of the orchid bee *Euglossa iopoeila*: signs of vicariant events associated to Quaternary climatic changes. *Conserv Genet*. 18(3):539–552.
- Franzén M, Nilsson SG. 2008. How can we preserve and restore species richness of pollinating insects on agricultural land? *Ecography*. 31(6):698–708.
- Freiria GA, Ruim JB, de Souza RF, Sofia SH. 2012. Population structure and genetic diversity of the orchid bee *Eufriesea violacea* (Hymenoptera, Apidae, Euglossini) from Atlantic Forest remnants in southern and southeastern Brazil. *Apidologie*. 43(4):392–402.
- Gaston KJ, Blackburn TM, Lawton JH. 1997. Interspecific abundance-range Size relationships: an appraisal of mechanisms. *J Anim Ecol*. 66(4):579–601.
- Gerloff CU, Schmid-Hempel P. 2005. Inbreeding depression and family variation in a social insect, *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). *Oikos*. 111(1):67–80.
- Gevao B, Semple KT, Jones KC. 2000. Bound pesticide residues in soils: a review. *Environ Pollut*. 108(1):3–14.
- Giannini TC, Acosta AL, Garófalo CA, Saraiva AM, Alves-dos-Santos I, Imperatriz-Fonseca VL. 2012. Pollination services at risk: Bee habitats will decrease owing to climate change in Brazil. *Ecol Model*. 244(Supplement C):127–131.
- Giannini TC, Maia-Silva C, Acosta AL, Jaffé R, Carvalho AT, Martins CF, Zanella FCV, Carvalho CAL, Hrcir M, Saraiva AM, et al. 2017. Protecting a managed bee pollinator against climate change: strategies for an area with extreme climatic conditions and socioeconomic vulnerability. *Apidologie*. 48(6):784–794.
- Gill RJ, Raine NE. 2014. Chronic impairment of bumblebee natural foraging behaviour induced by sublethal pesticide exposure. *Funct Ecol*. 28(6):1459–1471.
- Gillespie JH. 2004. *Population Genetics: A Concise Guide*. JHU Press.
- Goulson D, Lye GC, Darvill B. 2008. Decline and conservation of bumble bees. *Annu Rev Entomol*. 53(1):191–208.
- Goulson D, Nicholls E, Botías C, Rotheray EL. 2015. Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. *Science*. 347(6229):1255957.
- Grant WS. 2015. Problems and cautions with sequence mismatch analysis and bayesian skyline plots to

- infer historical demography. *J Hered.* 106(4):333–346.
- Graystock P, Yates K, Darvill B, Goulson D, Hughes WOH. 2013. Emerging dangers: Deadly effects of an emergent parasite in a new pollinator host. *J Invertebr Pathol.* 114(2):114–119.
- Greenleaf SS, Williams NM, Winfree R, Kremen C. 2007. Bee foraging ranges and their relationship to body size. *Oecologia.* 153(3):589–596.
- Groom SVC, Stevens MI, Schwarz MP. 2014. Parallel responses of bees to Pleistocene climate change in three isolated archipelagos of the southwestern Pacific. *P Roy Soc B-Biol Sci.* 281(1785):20133293.
- Guindon S, Gascuel O. 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Syst Biol.* 52(5):696–704.
- Habel JC, Meyer M, Schmitt T. 2009. The genetic consequence of differing ecological demands of a generalist and a specialist butterfly species. *Biodivers Conserv.* 18(7):1895–1908.
- Hall MA, Nimmo DG, Cunningham SA, Walker K, Bennett AF. 2019. The response of wild bees to tree cover and rural land use is mediated by species' traits. *Biol Conserv.* 231:1–12.
- Hallmann CA, Sorg M, Jongejans E, Siepel H, Hofland N, Schwan H, Stenmans W, Müller A, Sumser H, Hörrén T, et al. 2017. More than 75 percent decline over 27 years in total flying insect biomass in protected areas. *Plos One.* 12(10):e0185809.
- Hartl DL, Clark AG. 1989. Principles of population genetics. [accessed 2019 Apr 11]. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19890174792>.
- He B, Su T, Wu Y, Xu J, Huang D. 2018. Phylogenetic analysis of the mitochondrial genomes in bees (Hymenoptera: Apoidea: Anthophila). *Plos One.* 13(8):e0202187.
- Herrmann F, Westphal C, Moritz RFA, Steffan-Dewenter I. 2007. Genetic diversity and mass resources promote colony size and forager densities of a social bee (*Bombus pascuorum*) in agricultural landscapes. *Mol Ecol.* 16(6):1167–1178.
- Hey J, Nielsen R. 2007. Integration within the Felsenstein equation for improved Markov chain Monte Carlo methods in population genetics. *P Natl Acad Sci-Biol.* 104(8):2785–2790.
- Hinterding R, Michalewicz Z, Eiben AE. 1997. Adaptation in evolutionary computation: a survey.
- Holzschuh A, Steffan-Dewenter I, Kleijn D, Tschamtker T. 2006. Diversity of flower-visiting bees in cereal fields: Effects of farming system, landscape composition and regional context. *J Appl Ecol.* 44:41–49.
- Houston TF, Lamont BB, Radford S, Errington SG. 1993. Apparent mutualism between *Verticordia nitens* and *V. murea* (Myrtaceae) and their oil-ingesting bee pollinators (Hymenoptera, Colletidae). *Aust J Bot.* 41(3):369–380.
- Huelsenbeck JP. 2001. Bayesian Inference of Phylogeny and Its Impact on Evolutionary Biology. *Science.* 294(5550):2310–2314.
- Huelsenbeck JP, Crandall KA. 1997. Phylogeny estimation and hypothesis testing using maximum likelihood. *Annu rev ecol syst.* 28:437–466.

- Huelsenbeck JP, Ronquist F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*. 17:754–755.
- Imhoof B, Schmid-Hempel P. 1999. Colony success of the bumble bee, *Bombus terrestris*, in relation to infections by two protozoan parasites, *Crithidia bombi* and *Nosema bombi*. *Insectes soc.* 46(3):233–238.
- Jaffé R, Veiga JC, Pope NS, Lanes ECM, Carvalho CS, Alves R, Andrade SCS, Arias MC, Bonatti V, Carvalho AT, et al. 2019. Landscape genomics to the rescue of a tropical bee threatened by habitat loss and climate change. *Evol Appl.* 12(6):1164–1177.
- Jha S, Kremen Claire. 2013. Resource diversity and landscape-level homogeneity drive native bee foraging. *P Natl Acad Sci-Biol.* 110(2):555–558.
- Jha S, Kremen C. 2013. Urban land use limits regional bumble bee gene flow. *Mol Ecol.* 22(9):2483–2495.
- Jombart T, Devillard S, Balloux F. 2010. Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genet.* 11(1):94.
- Jones CM, Brown MJF. 2017. Parasites and genetic diversity in an invasive bumblebee. *J Appl Ecol.*:1428–1440.
- Kennedy CM, Lonsdorf E, Neel MC, Williams NM, Ricketts TH, Winfree R, Bommarco R, Brittain C, Burley AL, Cariveau D, et al. 2013. A global quantitative synthesis of local and landscape effects on wild bee pollinators in agroecosystems. *Ecol Lett.* 16(5):584–599.
- Kerr JT, Pindar A, Galpern P, Packer L, Potts SG, Roberts SM, Rasmont P, Schweiger O, Colla SR, Richardson LL, et al. 2015. Climate change impacts on bumblebees converge across continents. *Science.* 349(6244):177–180.
- Kim KS, Sappington TW. 2006. Molecular genetic variation of boll weevil populations in North America estimated with microsatellites: Implications for patterns of dispersal. *Genetica.* 127(1):143.
- Kimoto C. 2010. Effect of livestock grazing on native bees in a Pacific Northwest bunchgrass prairie.
- Kimura M, Crow JF. 1964. The Number of Alleles That Can Be Maintained in a Finite Population. *Genetics.* 49(4):725–738.
- Klanderud K, Birks HJB. 2016 Jul 27. Recent increases in species richness and shifts in altitudinal distributions of Norwegian mountain plants: The Holocene. [accessed 2019 Aug 13]. <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1191/0959683603hl589ft>.
- Klatt BK, Holzschuh A, Westphal C, Clough Y, Smit I, Pawelzik E, Tschardt T. 2014. Bee pollination improves crop quality, shelf life and commercial value. *P Roy Soc B-Biol Sci.* 281(1775):20132440.
- Kluser S, Peduzzi P. 2007. Global pollinator decline: a literature review. [accessed 2017 Oct 11]. <https://archive-ouverte.unige.ch/unige:32258/ATTACHMENT01>.
- Koch JB, Looney C, Sheppard WS, Strange JP. 2017. Patterns of population genetic structure and

- diversity across bumble bee communities in the Pacific Northwest. *Conserv Genet.* 18(3):507–520.
- Koch JB, Strange JP. 2012. The Status of *Bombus occidentalis* and *B. moderatus* in Alaska with Special Focus on *Nosema bombi* Incidence. *nwsc.* 86(3):212–220.
- Kraus B, Page RE. 1995. Effect of *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata: Varroidae) on Feral *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in California. *Environ Entomol.* 24(6):1473–1480.
- Kremen C, Williams NM, Thorp RW. 2002. Crop pollination from native bees at risk from agricultural intensification. *P Natl Acad Sci-Biol.* 99(26):16812–16816.
- Kroese DP, Brereton T, Taimre T, Botev ZI. 2014. Why the Monte Carlo method is so important today. *Wires Comput Mol Sci.* 6(6):386–392.
- Kudo G. 2014. Vulnerability of phenological synchrony between plants and pollinators in an alpine ecosystem. *Ecol Res.* 29(4):571–581.
- Kuhlmann M, Guo D, Veldtman R, Donaldson J. 2012. Consequences of warming up a hotspot: species range shifts within a centre of bee diversity. *Divers Distrib.* 18(9):885–897.
- Kuhner MK, Yamato J, Beerli P et al. (2005) lamarc version 2.0. University of Washington, Seattle, Washington. web: <http://evolution.gs.washington.edu/lamarc.html>.
- LEWIS, P. O., and D. ZAYKIN. 2000. GDA: software for the analysis of discrete genetic data. *Evolution.*
- Larkin LL, Neff JL, Simpson BB. 2008. The evolution of a pollen diet: Host choice and diet breadth of *Andrena* bees (Hymenoptera: Andrenidae). *Apidologie.* 39(1):133–145.
- Lartillot N, Lepage T, Blanquart S. 2009. PhyloBayes 3: a Bayesian software package for phylogenetic reconstruction and molecular dating. *Bioinformatics.* 25(17):2286–2288.
- Laval G, Excoffier L. 2004. SIMCOAL 2.0: a program to simulate genomic diversity over large recombining regions in a subdivided population with a complex history. *Bioinformatics.* 20(15):2485–2487.
- Leberg PL. 1992. Effects of Population Bottlenecks on Genetic Diversity as Measured by Allozyme Electrophoresis. *Evolution.* 46(2):477–494.
- Li W-H, Zharkikh A. 1995. Statistical Tests of DNA Phylogenies. *Syst Biol.* 44(1):49–63.
- Litman JR, Danforth BN, Eardley CD, Praz CJ. 2011. Why do leafcutter bees cut leaves? New insights into the early evolution of bees. *P Roy Soc B-Biol Sci.* 278:3593–3600.
- Litman JR, Praz CJ, Danforth BN, Griswold TL, Cardinal S. 2013. Origins, evolution, and diversification of cleptoparasitic lineages in long-tongued bees. *Evolution.* 67(10):2982–2998.
- Lopes JS, Balding D, Beaumont MA. 2009. PopABC: a program to infer historical demographic parameters. *Bioinformatics.* 25(20):2747–2749.
- López-Urbe MM, Almanza MT, Ordoñez M. 2007. Diploid male frequencies in colombian populations of euglossine bees. *Biotropica.* 39(5):660–662.
- López-Urbe MM, Cane JH, Minckley RL, Danforth BN. 2016. Crop domestication facilitated rapid

- geographical expansion of a specialist pollinator, the squash bee *Peponapis pruinosa*. *Proc R Soc B*. 283(1833):20160443.
- López-Urbe MM, Jha S, Soro A. 2019 Jan 22. A trait-based approach to predict population genetic structure in bees. *Mol Ecol*.
- López-Urbe MM, Morreale SJ, Santiago CK, Danforth BN. 2015. Nest suitability, fine-scale population structure and male-mediated dispersal of a solitary ground nesting bee in an urban landscape. *Plos One*. 10(5):e0125719.
- Lopez-Urbe MM, Zamudio KR, Cardoso CF, Danforth BN. 2014. Climate, physiological tolerance and sex-biased dispersal shape genetic structure of Neotropical orchid bees. *Mol Ecol*. 23(7):1874–1890.
- Maebe K, Golsteyn L, Nunes-Silva P, Blochtein B, Smagghe G. 2018. Temporal changes in genetic variability in three bumblebee species from Rio Grande do Sul, South Brazil. *Apidologie*. 49(3):415–429.
- Maes D, Titeux N, Hortal J, Anselin A, Declerck K, De Knijf G, Fichet V, Luoto M. 2010. Predicted insect diversity declines under climate change in an already impoverished region. *J Insect Conserv*. 14(5):485–498.
- Magnacca KN. 2007. Conservation status of the endemic bees of Hawai'i, *Hylaeus* (*Nesoprosopis*) (Hymenoptera: Colletidae). *Pac Sci*. 61(2):173–190.
- Manley R, Temperton B, Doyle T, Gates D, Hedges S, Boots M, Wilfert L. 2019. Knock-on community impacts of a novel vector: spillover of emerging DWV-B from *Varroa*-infested honeybees to wild bumblebees. *Ecol Lett*. 22(8):1306–1315.
- Martins AC, Melo GAR. 2010. Has the bumblebee *Bombus bellicosus* gone extinct in the northern portion of its distribution range in Brazil? *J Insect Conserv*. 14(2):207–210.
- Masel J. 2011. Genetic drift. *Curr Biol*. 21(20):R837–R838.
- Matteson KC, Ascher JS, Langellotto GA. 2008. Bee richness and abundance in New York City urban gardens. *Ann Entomol Soc Am*. 101(1):140–150.
- Mayer C. 2005. Does Grazing Influence Bee Diversity? In: Huber BA, Sinclair BJ, Lampe K-H, editors. *African Biodiversity*. Springer US. p. 173–179.
- McMurrin SL. 2010. The Hardy-Weinberg Principle. *Primus*. 20(6):529–549.
- Meeus I, Brown MJF, Graaf DCD, Smagghe G. 2011. Effects of invasive parasites on bumble bee declines. *Conserv Biol*. 25(4):662–671.
- Meteorologisk institutt. Meteorologisk institutt. [accessed 2019 Aug 13]. <http://www.met.no/>.
- Michaud JP, Grant AK. 2003. Sub-lethal effects of a copper sulfate fungicide on development and reproduction in three coccinellid species. *J Insect Sci*. 3(1). [accessed 2019 Aug 13]. <https://academic.oup.com/jinsectscience/article/3/1/16/846004>.
- Michener CD. 2000. *The bees of the world*. The Johns Hopkins University Press.
- Michener CD. 2007. *The bees of the world*. 2nd ed. The Johns Hopkins University Press.

- Michez D, Patiny S, Rasmont P, Timmermann K, Vereecken NJ. 2008. Phylogeny and host-plant evolution in Melittidae *s.l.* (Hymenoptera: Apoidea). *Apidologie*. 39(1):146–162.
- Milet-Pinheiro P, Ayasse M, Dötterl S. 2015. Visual and olfactory floral cues of *Campanula* (Campanulaceae) and their significance for host recognition by an oligolectic bee pollinator. *Plos One*. 10(6):e0128577.
- Miller-Struttman NE, Geib JC, Franklin JD, Kevan PG, Holdo RM, Ebert-May D, Lynn AM, Kettenbach JA, Hedrick E, Galen C. 2015. Functional mismatch in a bumble bee pollination mutualism under climate change. *Science*. 349(6255):1541–1544.
- Minckley RL. 2014. Maintenance of richness despite reduced abundance of desert bees (Hymenoptera: Apiformes) to persistent grazing. *Insect Conserv Diver*. 7(3):263–273.
- Miranda JR de, Genersch E. 2010. Deformed wing virus. *J Invertebr Pathol*. 103:S48–S61.
- Morandin LA, Winston ML, Abbott VA, Franklin MT. 2007. Can pastureland increase wild bee abundance in agriculturally intense areas? *Basic Appl Ecol*. 8(2):117–124.
- Murray EA, Bossert S, Danforth BN. 2018. Pollinivory and the diversification dynamics of bees. *Biol Lett*. 14(11):20180530.
- Namipashaki A, Razaghi-Moghadam Z, Ansari-Pour N. 2015. The essentiality of reporting Hardy-weinberg equilibrium calculations in population-based genetic association studies. *Cell J*. 17(2):187–192.
- Nei M, Chakraborty R, Fuerst PA. 1976. Infinite allele model with varying mutation rate. *P Natl Acad Sci-Biol*. 73(11):4164–4168.
- Nei M, Maruyama T, Chakraborty R. 1975. The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution*. 29(1):1–10.
- Nemésio A. 2011. *Euglossa marianae* sp. n. (Hymenoptera: Apidae): a new orchid bee from the Brazilian Atlantic Forest and the possible first documented local extinction of a forest-dependent orchid bee. *Zootaxa*. 2892:59–68.
- Nguyen L-T, Schmidt HA, von Haeseler A, Minh BQ. 2015. IQ-TREE: A Fast and Effective Stochastic Algorithm for Estimating Maximum-Likelihood Phylogenies. *Mol Biol Evol*. 32(1):268–274.
- Ollerton J, Erenler H, Edwards M, Crockett R. 2014. Extinctions of aculeate pollinators in Britain and the role of large-scale agricultural changes. *Science*. 346(6215):1360–1362.
- Ota R, Waddell PJ, Hasegawa M, Shimodaira H, Kishino H. 2000. Appropriate likelihood ratio tests and marginal distributions for evolutionary Tree models with constraints on parameters. *Mol Biol Evol*. 17(5):798–803.
- Otterstatter MC, Gegear RJ, Colla SR, Thomson JD. 2005. Effects of parasitic mites and protozoa on the flower constancy and foraging rate of bumble bees. *Behav Ecol Sociobiol*. 58(4):383–389.
- Otterstatter MC, Thomson JD. 2008. Does pathogen spillover from commercially reared bumble bees threaten wild pollinators? *Plos One*. 3(7):e2771.
- Park MG, Blitzer EJ, Ali J, Losey JE, Danforth BN. 2015. Negative effects of pesticides on wild bee



- communities can be buffered by landscape context. *P Roy Soc B-Biol Sci.* 282(1809):20150299.
- Parmesan C. 2006. Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annu Rev Ecol Evol Syst.* 37(1):637–669.
- Pauw A, Kahnt B, Kuhlmann M, Akob D, Montgomery GA, Murray E, Danforth BN. 2017. Long-legged bees make adaptive leaps: linking adaptation to coevolution in a plant–pollinator network. *P Roy Soc B-Biol Sci.* 284(1862):20171707.
- Peakall R, Smouse PE. 2006. genalex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol Ecol Notes.* 6(1):288–295.
- Penha RES, Gaglianone MC, Almeida FS, Boff SV, Sofia SH. 2015. Mitochondrial DNA of *Euglossa iopoecila* (Apidae, Euglossini) reveals two distinct lineages for this orchid bee species endemic to the Atlantic Forest. *Apidologie.* 46(3):346–358.
- Pleasants JM, Wendel JF. 2010. Reproductive and pollination biology of the endemic Hawaiian cotton, *Gossypium tomentosum* (Malvaceae)1. *Pac Sci.* 64(1):45–55.
- Plischuk S, Martín-Hernández R, Prieto L, Lucía M, Botías C, Meana A, Abrahamovich AH, Lange C, Higes M. 2009. South American native bumblebees (Hymenoptera: Apidae) infected by *Nosema ceranae* (Microsporidia), an emerging pathogen of honeybees (*Apis mellifera*). *Env Microbiol Rep.* 1(2):131–135.
- Popp J, Pető K, Nagy J. 2013. Pesticide productivity and food security. A review. *Agron Sustain Dev.* 33(1):243–255.
- Potts SG, Biesmeijer JC, Kremen C, Neumann P, Schweiger O, Kunin WE. 2010. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends Ecol Evol.* 25(6):345–353.
- Pritchard JK, Seielstad MT, Perez-Lezaun A, Feldman MW. 1999. Population growth of human Y chromosomes: a study of Y chromosome microsatellites. *Mol Biol Evol.* 16(12):1791–1798.
- Pyke GH, Thomson JD, Inouye DW, Miller TJ. 2016. Effects of climate change on phenologies and distributions of bumble bees and the plants they visit. *Ecosphere.* 7(3):e01267.
- Pywell RF, Warman EA, Carvell C, Sparks TH, Dicks LV, Bennett D, Wright A, Critchley CNR, Sherwood A. 2005. Providing foraging resources for bumblebees in intensively farmed landscapes. *Biol Conserv.* 121(4):479–494.
- Ramírez SR, Hernández C, Link A, López-Urbe MM. 2015. Seasonal cycles, phylogenetic assembly, and functional diversity of orchid bee communities. *Ecol Evol.* 5(9):1896–1907.
- Ramos-Onsins SE, Rozas J. 2002. Statistical properties of new neutrality tests against population growth. *Mol Biol Evol.* 19(12):2092–2100.
- Ravoet J, De Smet L, Meeus I, Smaghe G, Wenseleers T, de Graaf DC. 2014. Widespread occurrence of honey bee pathogens in solitary bees. *J Invertebr Pathol.* 122:55–58.
- Roderick GK. 1996. Geographic structure of insect Populations: Gene flow, phylogeography, and their uses. *Annu Rev Entomol.* 41(1):325–352.

- Ronquist F. 1996. Manual DIVA v.1.1. Computer program for MacOS and Win32. <http://diva.sourceforge.net/>
- Ronquist F, Sanmartín I. 2011. Phylogenetic methods in biogeography. *Annu Rev Ecol Evol Syst.* 42(1):441–464.
- Ronquist F, Teslenko M, Mark P van der, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP. 2012. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Syst Biol.* 61(3):539–542.
- Roubik DW, Weight LA, Bonilla MA. 1996. Population genetics, diploid males, and limits to social evolution of Euglossine bees. *Evolution.* 50(2):931–935.
- Rozas J, Sánchez-DelBarrio JC, Messeguer X, Rozas R. 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics.* 19(18):2496–2497.
- Rundlöf M, Andersson GKS, Bommarco R, Fries I. 2015 5. Seed coating with a neonicotinoid insecticide negatively affects wild bees | Nature. *Nature International journal of science.* [accessed 2019 Jul 24]. <https://www.nature.com/articles/nature14420>.
- Rusek J. 1998. Biodiversity of Collembola and their functional role in the ecosystem. *Biodivers Conserv.* 7(9):1207–1219.
- Saitou N, Imanishi T. 1989. Relative efficiencies of the Fitch-Margoliash, maximum-parsimony, maximum-likelihood, minimum-evolution, and neighbor-joining methods of phylogenetic tree construction in obtaining the correct tree. *Mol Biol Evol.* 6(5):514–514.
- Salazar LF, Nobre CA, Oyama MD. 2007 May 16. Climate change consequences on the biome distribution in tropical South America. *Geophys Res Lett.* [accessed 2019 Jul 19]. <https://agupubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1029/2007GL029695>.
- Salisbury A, Armitage J, Bostock H, Perry J, Tatchell M, Thompson K. 2015. Enhancing gardens as habitats for flower-visiting aerial insects (pollinators): should we plant native or exotic species? Diamond S, editor. *J Appl Ecol.* 52(5):1156–1164.
- Sann M, Niehuis O, Peters RS, Mayer C, Kozlov A, Podsiadlowski L, Bank S, Meusemann K, Misof B, Bleidorn C, et al. 2018. Phylogenomic analysis of Apoidea sheds new light on the sister group of bees. *BMC Evol Biol.* 18(1):71.
- Schmid-Hempel R, Eckhardt M, Goulson D, Heinzmann D, Lange C, Plischuk S, Escudero LR, Salathe R, Scriven JJ, Schmid-Hempel P. 2014. The invasion of southern South America by imported bumblebees and associated parasites. *J Anim Ecol.* 83(4):823–837.
- Shell WA, Rehan SM. 2017. Range expansion of the small carpenter bee *Ceratina smaragdula* across the Hawaiian archipelago with potential ecological implications for native pollinator systems. *Pac Sci.* 71(1):1–15.
- Shell WA, Rehan SM. 2019. Invasive range expansion of the small carpenter bee, *Ceratina dentipes* (Hymenoptera: Apidae) into Hawaii with implications for native endangered species displacement.

- Biol Invasions. 21(4):1155–1166.
- Shimodaira H. 2002. An approximately unbiased test of phylogenetic tree selection. *Syst Biol.* 51(3):492–508.
- Shimodaira H, Hasegawa M. 1999. Multiple comparisons of log-likelihoods with applications to phylogenetic inference. *Mol Biol Evol.* 16(8):1114–1114.
- Shimodaira H, Hasegawa M. 2001. Consel: for assessing the confidence of phylogenetic tree selection. *Bioinformatics.* 17(12):1246–1247.
- Silva DP, Dew RM, Vilela B, Stevens MI, Schwarz MP. 2018. No deaths in the desert: predicted responses of an arid-adapted bee and its two nesting trees suggest resilience in the face of warming climates. *Insect Conserv Diver.* 11(5):449–463.
- van der Sluijs JP, Simon-Delso N, Goulson D, Maxim L, Bonmatin J-M, Belzunces LP. 2013. Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. *Curr Opin Env Sust.* 5(3):293–305.
- Smith SA, Beaulieu JM, Donoghue MJ. 2010. An uncorrelated relaxed-clock analysis suggests an earlier origin for flowering plants. *PNAS.* 107(13):5897–5902.
- Snustad DP, Simmons MJ. 2015. Principles of genetics. Seventh edition. USA: John Wiley & Sons.
- Soucy SL. 2002. Nesting biology and socially polymorphic behavior of the sweat bee *Halictus rubicundus* (Hymenoptera: Halictidae). *Ann Entomol Soc Am.* 95(1):57–65.
- Souza RO, Del Lama MA, Cervini M, Mortari N, Eltz T, Zimmermann Y, Bach C, Brosi BJ, Suni S, Quezada-Euán JG, et al. 2010. Conservation genetics of neotropical pollinators revisited: microsatellite analysis suggests that diploid males are rare in orchid bees. *Evolution.* 64(11):3318–3326.
- Stamatakis A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics.* 30(9):1312–1313.
- Stokstad E. 2013. Pesticides under fire for risks to pollinators. *Science.* 340(6133):674–676.
- Suzuki KM, Arias MC, Giangarelli DC, Freiria GA, Sofia SH. 2010. Mitochondrial DNA diversity of orchid bee *Euglossa fimbriata* (Hymenoptera: Apidae) populations assessed by PCR-RFLP. *Biochem Genet.* 48(3):326–341.
- Szabo ND, Colla SR, Wagner DL, Gall LF, Kerr JT. 2012. Do pathogen spillover, pesticide use, or habitat loss explain recent North American bumblebee declines? *Conserv Lett.* 5(3):232–239.
- Tabata S. 1975. The general circulation of the Pacific Ocean and a brief account of the oceanographic structure of the North Pacific Ocean Part I - circulation and volume transports. *Atmosphere.* 13(4):133–168.
- Taberlet P, Fumagalli L, Wust-Saucy A-G, Cosson J-F. 1998. Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Mol Ecol.* 7(4):453–464.

- Tamura, K, J. Dudley, M. Nei, & S. Kumar. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 6.0. Advance Access published May 7. Oxford University Press. *Mol. Biol. Evol.* <http://dx.doi.org/10.1093/molbev/msm092>
- Tavares MG, Dias LA dos S, Borges AA, Lopes DM, Busse AHP, Costa RG, Salomão TMF, Campos LA de O. 2007. Genetic divergence between populations of the stingless bee urucu amarela (*Melipona rufiventris* group, Hymenoptera, Meliponini): is there a new *Melipona* species in the Brazilian state of Minas Gerais? *Genet Mol Biol.* 30(3):667–675.
- Tomizawa M, Casida JE. 2004. Neonicotinoid insecticide toxicity: Mechanisms of Selective Action. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 45(1):247–268.
- Valdes AM, Slatkin M, Freimer NB. 1993. Allele frequencies at microsatellite loci: the stepwise mutation model revisited. *Genetics.* 133(3):737–749.
- Vulliamy B, Potts SG, Willmer PG. 2006. The effects of cattle grazing on plant-pollinator communities in a fragmented Mediterranean landscape. *Oikos.* 114(3):529–543.
- Watterson GA. 1978. The homozygosity test of neutrality. *Genetics.* 88(2):405–417.
- Westaway KE, Louys J, Awe RD, Morwood MJ, Price GJ, Zhao J -x, Aubert M, Joannes-Boyau R, Smith TM, Skinner MM, et al. 2017. An early modern human presence in Sumatra 73,000–63,000 years ago. *Nature.* 548(7667):322–325.
- Whitehorn PR, O'Connor S, Wackers FL, Goulson D. 2012. Neonicotinoid pesticide reduces bumble bee colony growth and queen production. *Science.* 336:351–352.
- Whitehorn PR, Tinsley MC, Brown MJF, Darvill B, Goulson D. 2011. Genetic diversity, parasite prevalence and immunity in wild bumblebees. *Proc R Soc B.*:1195–1202.
- Williams NM. 2003. Use of novel pollen species by specialist and generalist solitary bees (Hymenoptera : Megachilidae). *Oecologia.* 134:228–237.
- Williams P, Colla S, Xie Z. Bumblebee vulnerability: common correlates of winners and losers across three continents. *Conserv Biol.* 23(4):931–940.
- Williams PH, Araújo MB, Rasmont P. 2007. Can vulnerability among British bumblebee (*Bombus*) species be explained by niche position and breadth? *Biol Conserv.* 138(3):493–505.
- Winfree R, Griswold T, Kremen C. 2007. Effect of human disturbance on bee communities in a forested ecosystem. *Conserv Biol.* 21(1):213–223.
- Woodcock BA, Bullock JM, Shore RF, Heard MS, Pereira MG, Redhead J, Ridding L, Dean H, Sleep D, Henrys P, et al. 2017. Country-specific effects of neonicotinoid pesticides on honey bees and wild bees. *Science.* 356(6345):1393–1395.
- Woolhouse MEJ, Haydon DT, Antia R. 2005. Emerging pathogens: the epidemiology and evolution of species jumps. *Trends Ecol Evol.* 20(5):238–244.
- Xie Z, Williams PH, Tang Y. 2008. The effect of grazing on bumblebees in the high rangelands of the eastern Tibetan Plateau of Sichuan. *J Insect Conserv.* 12(6):695–703.

- Yang Z. 2007. PAML 4: Phylogenetic analysis by Maximum Likelihood. *Mol Biol Evol.* 24(8):1586–1591.
- Zayed A. 2009. Bee genetics and conservation. *Apidologie.* 40(3):237–262.
- Zayed A, Constantin ŞA, Packer L. 2007. Successful biological invasion despite a severe genetic load. Freckleton R, editor. *PLoS ONE.* 2(9):e868.
- Zayed A, Roubik DW, Packer L. 2004. Use of diploid male frequency data as an indicator of pollinator decline. *Proc R Soc Lond B.* 271(Suppl 3):S9–S12.