

UNIVERZITA KARLOVA
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Studijní obor Biologie

Katedra Zoologie



Karel Kodejš

**Populační genetika a speciální mechanismy u řasníků rodu *Stylops*
(Strepsiptera)**

Population genetics and speciation in *Stylops* (Strepsiptera)

Diplomová práce

Školitel: Mgr. Jakub Straka Ph.D.

Praha 2017

Prohlášení

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

V Praze dne 14. 8. 2017

.....

Karel Kodejš

Poděkování

Na tomto místě bych rád poděkoval především svému školiteli Jakobovi Strakovi za trpělivé vedení diplomové práce. Dále bych chtěl poděkovat za psychickou i materiální podporu své rodině a především Anetě.

Dále patří díky Danovi a ostatním, bez kterých by se nikdy nenashromáždilo takové množství materiálu, bez kterého by se tato práce neobešla. I když si to s největší pravděpodobností nepřčtou, díky zde patří i našim zahraničním spolupracovníkům, kteří poskytli materiál ze svých zemí.

Díky patří za všeobecnou podporu i všem lidem z pracovny, fakulty, táborů, olympiády a podobně, bez nichž by to zkrátka nebylo ono...

Abstrakt

Práce se zabývá populační genetikou vybraných druhů rodu *Stylops* v rámci Evropy. V rámci tohoto rodu bylo analyzováno pět druhů za použití dvou přístupů – analýzy mikrosatelitů u druhu *Stylops ater* a u všech druhů analýzy mitochondriální DNA za použití genu cytochrom oxidáza I. Pro analýzu mikrosatelitových markerů byla použita jednak bayesovská klastrovací analýza a analýza ABC (Aproximate Bayesian Analysis). Mitochondriální markery byly zpracovány formou haplotypových sítí a analýzy populační historie prostřednictvím Bayesian skyline plots.

Byla zjištěna nečekaně nízká úroveň populační struktury u druhu *Stylops ater* s výrazně odlišnými populačními klastry na území Skandinávie a Pobaltí, které naznačují možnost období izolace těchto populací v minulosti, případně nedávnou expanzi a změnu frekvencí alel následkem malé velikosti populací.

Dále byla podpořena hypotéza časové segregace populací v rámci druhu *Stylops nevinsoni*, a to na základě rozdílného období letové aktivity několika druhů jejich hostitelů. U ostatních druhů byla prokázána buď segregace na základě rozdílných hostitelů (*S. mellitae*), případně na základě geografického rozšíření (*S.nassonowi*, *S.spreta*)

Zajímavým zjištěním je také detekce redukce velikosti populací v období před cca 8 000 až 2 000 lety, tedy v historicky velmi nedávné době.

Klíčová slova: populační genetiky, speciace, koevoluce, hmyz, Strepsiptera, včely, *Stylops*, *Andrena*

Abstract

This thesis is focused to population genetics of selected species of genus *Stylops* in Europe. Within this genus, five species was analysed by usage of two approaches – microsatellite analysis in *Stylops ater* and analysis of mitochondrial DNA in all five species. Mitochondrial gene for cytochrome c oxidase (1st subunit) was used. For microsatellite analysis was performed bayesian clustering analysis and ABC approach (Approximate Bayesian Computation). Mitochondrial markers were processed by making haplotype networks and demography analysis by computing Bayesian skyline plots.

For *Stylops ater*, surprisingly low level of population subdivision was detected, yet with clearly differentiated population clusters from Scandinavia and baltic coast of Europe, which may imply period of isolation of these populations or relatively recent population expansion and genetic differentiation due to lower population sizes.

Next, hypothesis of possible temporal segregation of subpopulations of *Stylops nevinsoni* based on different activity period of their host species groups, was supported. In other three species, population subdivision was observed to be related either due to host specialisation (*Stylops mellitae*) or geographic consequences (*S.nassonowi*, *S.spreta*).

Interesting finding is also detection of population size reduction in all five studied species, which took place in relatively recent time (about 8 to 2 kya)

Keywords: population genetics, speciation, coevolution, insects, Strepsiptera, bees, *Stylops*, *Andrena*

Obsah

1. Úvod a cíle diplomové práce	10
2. Literární přehled	11
2.1 Populační genetika parazitů obecně	11
2.2 Řasníci (Strepsiptera)	11
3. Metodika	14
3.1 Použitý materiál	14
3.2 Příprava vzorků a izolace DNA	31
3.3 Analýza mikrosatelitů u druhu <i>Stylops ater</i>	31
3.3.1 Testování mikrosatelitových lokusů	31
3.3.2 Příprava na fragmentační analýzu	32
3.3.3 Zpracování výsledků fragmentace	32
3.3.4 Klastrovací analýza	33
3.3.6 Aproximate Bayesian Computation (ABC)	33
3.4 Analýza mitochondriální DNA	35
3.4.1 PCR	35
3.4.2 Sekvenační reakce	35
3.4.3 Zpracování výsledků sekvenace	36
3.4.4 Tvorba haplotypových sítí	36
3.4.5 Datování a populační vývoj	36
4. Výsledky	38
4.1 Analýza mikrosatelitů u druhu <i>Stylops ater</i>	38
4.1.1 Klastrovací analýza	38
4.1.2 Aproximate Bayesian Computation (ABC)	40
4.2 Analýza mitochondriální DNA	43
4.2.1 Tvorba haplotypových sítí	43
4.2.2 Datování a populační vývoj	47
5. Diskuse	50
5.1 Klastrovací analýza	50
5.2 Aproximate bayesian computation (ABC)	51
5.3 Haplotypové sítě mitochondriální DNA	51
5.4 Datování a populační vývoj	52
5.5 Možné směry dalšího výzkumu	53
6. Závěr	54
7. Použitá literatura	55

1. Úvod a cíle diplomové práce

Populačně genetické studie parazitů jsou v poslední době poměrně časté (namátkou například Štefka et al., 2011), a to především díky rozvoji a široké dostupnosti molekulárně genetických metod a potenciálu evolučně zajímavé historie, kdy do problematiky kromě jiných faktorů jako je ekologie, klima a geografie vstupuje i nutnost koevoluce s hostitelem (Bell, 2016). Díky tomu je obecně předpokládána větší míra strukturovanosti populací a rychlejší evoluční změny u parazitů v kontrastu s volně žijícími druhy.

V této práci je modelovým systémem 5 druhů řasníků rodu *Stylops*, které se na základě předchozích studií zdají mít rozdílnou koevoluční a populační historii. (Jůzová et al., 2015). Cíle práce jsou:

- 1) Analýza populační struktury druhu *Stylops ater* na základě mikrosatelitů pomocí bayesiánského klastrování a ABC (Approximate Bayesian Computation)
- 2) Analýza haplotypové diverzity a vztahu jednotlivých haplotypů mitochondriálního genu COI u druhů *Stylops ater*, *S. mellitae*, *S. nevinsoni*, *S. nassonowi* a *S. sprete*. Interpretace získaných struktur ve smyslu rozlišení vlivu hostitelů a prostředí.
- 3) Zjištění změn velikosti populace v historii na základě Bayesian skyline plots, molekulární nadatování těchto změn a jejich interpretace.

2. Literární přehled

2.1 Populační genetiky parazitů obecně

Parazitické organismy jsou oblíbeným modelem pro populačně genetické studie, mimo jiné proto, že jejich výzkum může výrazně rozšířit znalost evoluční historie nejen jich samých, ale i jejich hostitelů (Nieberding and Olivieri, 2007). U parazitů se obecně předpokládá vyšší rychlost fixace genetických změn v DNA než u jejich volně žijících hostitelů, především díky kratším životním cyklům a nižším velikostem jednotlivých populací (Barrett et al., 2008). Díky tomu lze na základě populační historie parazita modelovat historický vývoj populací jeho hostitele, respektive hostitelů, a to často do značných detailů (Nieberding and Olivieri, 2007). Lze tak například modelovat místa původu nedávno expandujících druhů (Juhásová et al., 2016), směry šíření u rychlých radiací (Štefka et al., 2011), případně odhalit izolované subpopulace i v případech, kdy se izolace ještě nestačila projevit na genetické struktuře hostitele (Nieberding et al., 2004). Na míru koevoluce s hostitelským druhem má vliv v první řadě hostitelská specializovanost, dále pak přítomnost disperzních stádií v životním cyklu, počet druhů hostitelů v průběhu vývoje a hostitelské přeskoky. Nejlépe odpovídá hostitelským druhům evoluční historie parazitů s jednoduchým životním cyklem, zahrnující jediný druh hostitele a bez diapauzujících stádií, jako jsou zástupci všenek (Anoplura: Amblycera a Anoplura: Ischnocera) (např. Whiteman et al., 2007), případně jednorodí (Monogenea: Gyrodactylidae) (např. Pariselle et al., 2011). Veliký vliv na populační strukturu, respektive na její snižování, má i schopnost parazita dispergovat bez přičinění hostitele. Přítomnost volně žijících stádií má za následek redukci populační struktury a může způsobit velké rozdíly v evoluční historii i blízce příbuzných druhů (Whiteman et al., 2007).

2.2 Řasníci (Strepsiptera)

Řasníci jsou řád obligátně endoparazitického hmyzu s kosmopolitním rozšířením a širokým hostitelským spektrem. Pozice tohoto řádu byla dlouhou dobu nejasná a prodělala mnoho dramatických změn (Beutel and Pohl, 2006). Fylogenomické studie však značně podpořily nyní obecně přijímanou hypotézu, že se jedná o skupinu sesterskou broukům (Coleoptera) (Misof et al., 2014).

Řasníci parazitují na sedmi řádech hmyzu (Thysanura, Blattodea, Mantodea, Orthoptera, Hemiptera, Diptera, Hymenoptera) a cca 30 čeledích. Parazitismem jsou extrémně

modifikovaní a v průběhu evoluce se u nich vyvinuly až obskurní adaptace, které nemají u jiného hmyzu obdoby, a to jak morfologické, ekologické a etologické (Kathirithamby, 1991; Pohl and Beutel, 2008), tak i v rámci embryonálního vývoje (miniaturizace, rychlost vývoje, minimum žloutku v embryích) (Fraulob et al., 2014). Mezi pozoruhodné znaky této skupiny patří i miniaturizace genomu, zástupce tohoto řádu (*Caenocholax fenyesei*) se vyznačuje zatím nejmenším změřeným genomem v rámci hmyzu (Johnston et al., 2004). Nálezy řasníků v jantaru dokládají, že byli velmi specializovanou skupinou již v období křídly (Kinzelbach and Pohl, 1994).

Samice všech recentně žijících čeledí řasníků jsou až na zástupce bazální čeledi Mengerillidae trvale endoparazitické a nepohyblivé, dospělí samci jsou vždy volně žijící a musí samici aktivně vyhledávat. Hostitele invadují první larvální instary zvané triungulinidi, produkovaní samicí bez kladení vajíček. (Kathirithamby, 1991)

Komplexní životní parazitické strategie řasníků nejsou dosud do detailu objasněné. Jejich pochopení může být velmi důležité pro porozumění hostitelským specializacím a může se lišit i mezi příbuznými druhy v rámci jednotlivých skupin (např. rodů). Případem zvláštní specializace je heterotrofická heteronomie u čeledi Myrmecolacidae, jejíž samci se vyvíjejí v mravencích a samice se vyvíjejí a trvale žijí v kobyilkách, cvrčcích (Orthoptera), nebo v kudlankách (Mantodea) (Kathirithamby, 1989). V rámci této čeledi byla provedena vůbec první fylogeografická studie u řasníků na druhu *Caenocholax fenyesei* ve střední Americe. Bylo zjištěno, že tento druh tvoří minimálně 10 linií, které lze považovat za kryptické druhy. Tyto linie se liší mírou hostitelské a biogeografické specifity. Míra hostitelské specifity se překvapivě lišila i mezi samci a samicemi (Hayward et al., 2011).

Hostitelskou specializací může ovlivnit řada vlastností a schopností zástupců jednotlivých druhů. Jednou z nich je schopnost překonávat imunitní odpověď hostitele. Ta se u různých čeledí řasníků zřejmě značně liší (Kathirithamby, 1989), ale detaily nejsou přesně známy. Hostitelská specializace může být také předurčena behaviorálními vlastnostmi řasníků i jejich hostitelů. U čeledí Xenidae a Stylopidae, které v rámci řasníků tvoří odvozenou monofyletickou skupinu, je například na přenos invazních stádií nutný vektor, kterým je v tomto případě hnízdící samice hostitelského druhu blanokřídlých. U všech ostatních čeledí napadá larva řasníka hostitelského jedince přímo (Kathirithamby et al., 2012).

Řasníci čeledi Stylopidae, parazitující na včelách, mají u prvních instarů značně vyvinutou chetotaxi, která je přizpůsobením k zachytávání se na ochlupených tělech

svých hostitelů (Pohl and Beutel, 2008). Rod *Stylops* je v rámci této čeledi nejpočetnějším (Straka et al., 2015). Je úzce specializován na hostitelské včely rodu *Andrena* a již v předchozích projektech se ukázal jako velmi dobrý model pro výzkum hostitelské specifity a diverzity na vnitrodruhové i mezidruhové úrovni (Jůzová et al., 2015). Na základě předběžných výsledků se jednotlivé druhy v rámci rodu *Stylops* také často výrazně liší svou evoluční historií, představují tedy zajímavý model pro pochopení mechanismů speciace a dějů na vnitropopulační úrovni (Straka et al., unpubl.).

Jedním z výrazných faktorů se silným dopadem na speciaci parazitických druhů jsou vlastnosti hostitele. U řasníků rodu *Stylops* se předpokládá, že k přenosu invazních stádií na vektory dochází na květech rostlin (Linsley and MacSwain, 1957). Na základě předchozích výsledků klastrují řasnici druhového komplexu *Stylops nevinsoni* do dvou odlišných linií. Jedna linie parazituje časně jarní a druhá pozdně jarní druhy včel. Je tedy možné, že zde dochází k sympatrické speciaci.

Dalším důležitým faktorem při diverzifikaci linií je také geografická struktura areálu a historické události, jako je redukce areálu na refugia a opětovné rozšíření s případným vznikem druhotného kontaktu takto vzniklých druhů. Takovýchto příkladů známe celou řadu (např. Šmíd et al., 2013; Szymura and Barton, 1986). V rámci studovaného rodu tomuto scénáři nejvíce nasvědčují předběžné analýzy u druhového komplexu *Stylops nassonowi* parazitující zejména podrody *Hoplandrena* a *Plastandrena* rodu *Andrena*.

Neméně důležitým je i rozrůznění parazitických populací na základě specializace na různé hostitele a vznik hostitelských ras (McCoy et al., 2003). Tento faktor se zdá být klíčovým při evoluci druhové skupiny okolo druhů *S. nevinsonii* a *S. melittae*, parazitující zástupce několika blízce příbuzných podrodů v rámci rodu *Andrena*. Oba druhy jsou pravděpodobně vázány na své linie již dlouhou dobu a postupně jim hostitelé divergují do různých druhů, které jsou dnes dávány do různých podrodů. Jedná se tedy pravděpodobně o opožděnou kospeciaci.

Na základě předchozích dat (Černá et al., 2013) se u druhu *Stylops ater* zdá být důležitou jak adaptace na hostitele, tak jeho geografické rozšíření. Na základě signálu z mitochondriálního genu COI a jednoho jaderného genu se zdá, že tento druh prošel v nedávné době velkou expanzí z malého refugia. V rámci areálu však dokáže parazitovat jen některé populace hostitelského druhu *A. vaga* (Černá et al., 2013). Tento druh je tedy vhodným kandidátem na studium koevoluce s hostitelem na vnitrodruhové úrovni.

3. Metodika

3.1 Použitý materiál

Použitý materiál (**Tabulka 1**) pochází z několika zdrojů. Základ tvoří jedinci nasbíraní v dřívějších letech a umístění v soukromé sbírce J.Straky, D.Bendy, a K.Kodejše. Za účelem doplnění datasetu bylo v letech 2014-2016 realizováno několik výjezdů do Maďarska a Polska. Materiál původem z Estonska, Švédska a Nizozemí, některé německé a polské vzorky byly získány na základě spolupráce se zahraničními kolegy.

Tabulka 1: seznam jedinců použitých v práci a jejich původ

označení	rod	druh	hostitel	lokality	stát	datum	sběratel
<i>Stylops ater</i>							
SCi1	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena cineraria (L. 1758)	Chýnice	Boh. centr.	09-IV-06	J. Batelka, J.Straka
SCi11	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena cineraria (L. 1758)	Torun, Piaski, military area	Poland	15-IV-15	K. Kodejš, J.Straka
SCi12	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena cineraria (L. 1758)	Torun, Piaski, military area	Poland	15-IV-15	K. Kodejš, J.Straka
SCi2	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena cineraria (L. 1758)	Tiché údolí, Roztoky env.	Boh. centr.	20-IV-06	J. Straka
SCi3	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena cineraria (L. 1758)	Bynovec env., Českosaské Švýcarsko	Boh. bor.	03-IV-11	J. Straka
SCi4	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena cineraria (L. 1758)	Tiché údolí, Roztoky env.	Boh. centr.	06-IV-11	K. Rezková
SCi5	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena cineraria (L. 1758)	Prokopské údolí, Praha-Jinonice	Boh. centr.	07-V-10	J. Straka
SCi6	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena cineraria (L. 1758)	Sušice env. , step u lomů	Boh. mer.	09-IV-07	L. Dvořák
SCi7	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena cineraria (L. 1758)	Velký Bolevecký rybník Bolevec, Plzeň	Boh. occ.	06-IV-10	K. Rezková
SNi2	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena nigroaenea (Kirby, 1802)	Prokopské údolí, Praha-Jinonice	Boh. centr.	13-III-07	J. Straka
SVa100	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Halle env.	Germany	25-II-14	R.Paxton
SVa101	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Halle env.	Germany	25-II-14	R.Paxton
SVa102	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Halle env.	Germany	25-II-14	R.Paxton
SVa103	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Halle env.	Germany	25-II-14	R.Paxton
SVa104	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Halle env.	Germany	25-II-14	R.Paxton
SVa105	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Halle env.	Germany	25-II-14	R.Paxton
SVa106	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Halle env.	Germany	25-II-14	R.Paxton
SVa107	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Halle env.	Germany	25-II-14	R.Paxton
SVa108	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Halle env.	Germany	25-II-14	R.Paxton
SVa109	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	lhaste (Tartu env.)	Estonia	21-IV-13	V.Soon
SVa110	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	lhaste (Tartu env.)	Estonia	21-IV-13	V.Soon
SVa111	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	lhaste (Tartu env.)	Estonia	21-IV-13	V.Soon
SVa112	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	lhaste (Tartu env.)	Estonia	21-IV-13	V.Soon
SVa113	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	lhaste (Tartu env.)	Estonia	21-IV-13	V.Soon
SVa114	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	lhaste (Tartu env.)	Estonia	21-IV-13	V.Soon

označení	rod	druh	hostitel	lokalita	stát	datum	sběratel
SVa115	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Kalmistu (Tartu env.)	Estonia	16-IV-13	V. Soon
SVa116	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Ruda , Veselí nad Lužnicí env.	Bohemia	04-IV-11	K.Rezková (Černá)
SVa117	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Smí, Česká Lípa env.	Bohemia	29-III-11	K.Rezková (Černá)
SVa118	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Smí, Česká Lípa env.	Bohemia	29-III-11	K.Rezková (Černá)
SVa119	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Smí, Česká Lípa env.	Bohemia	29-III-11	K.Rezková (Černá)
SVa120	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Smí, Česká Lípa env.	Bohemia	29-III-11	K.Rezková (Černá)
SVa121	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Smí, Česká Lípa env.	Bohemia	29-III-11	K.Rezková (Černá)
SVa122	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Smí, Česká Lípa env.	Bohemia	29-III-11	K.Rezková (Černá)
SVa123	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Smí, Česká Lípa env.	Bohemia	29-III-11	K.Rezková (Černá)
SVa124	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Drahkov sand quarry, Strakonice env.	Bohemia	21-III-15	J.Kadlec
SVa125	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Drahkov sand quarry, Strakonice env.	Bohemia	21-III-15	J.Kadlec
SVa126	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Drahkov sand quarry, Strakonice env.	Bohemia	21-III-15	J.Kadlec
SVa127	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Drahkov sand quarry, Strakonice env.	Bohemia	21-III-15	J.Kadlec
SVa128	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Drahkov sand quarry, Strakonice env.	Bohemia	21-III-15	J.Kadlec
SVa129	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Drahkov sand quarry, Strakonice env.	Bohemia	21-III-15	J.Kadlec
SVa130	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Drahkov sand quarry, Strakonice env.	Bohemia	21-III-15	J.Kadlec
SVa131	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Drahkov sand quarry, Strakonice env.	Bohemia	21-III-15	J.Kadlec
SVa132	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Drahkov sand quarry, Strakonice env.	Bohemia	21-III-15	J.Kadlec
SVa133	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Na Plachtě 2 + 3	Bohemia	30-III-14	D.Benda
SVa134	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Na Plachtě 2 + 3	Bohemia	30-III-14	D.Benda
SVa135	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Na Plachtě 2 + 3	Bohemia	30-III-14	D.Benda
SVa136	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Na Plachtě 2 + 3	Bohemia	30-III-14	D.Benda
SVa137	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Tullinge, Lida	Sweden	09-III-14	J.Abenius
SVa138	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Tullinge, Lida	Sweden	09-III-14	J.Abenius
SVa139	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Tullinge, Lida	Sweden	09-III-14	J.Abenius
SVa140	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Tullinge, Lida	Sweden	09-III-14	J.Abenius
SVa141	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Tullinge, Lida	Sweden	09-III-14	J.Abenius
SVa142	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Tullinge, Lida	Sweden	09-III-14	J.Abenius

označení	rod	druh	hostitel	lokalita	stát	datum	sběratel
SVa172	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Dresden env.	Germany	08-IV-13	Mende
SVa173	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Dresden env.	Germany	08-IV-13	Mende
SVa174	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Dresden env.	Germany	08-IV-13	Mende
SVa175	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Sanda, Sorunda	Sweden	10-IV-16	J.Abenius
SVa176	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Sanda, Sorunda	Sweden	10-IV-16	J.Abenius
SVa177	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Sanda, Sorunda	Sweden	10-IV-16	J.Abenius
SVa178	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Sanda, Sorunda	Sweden	10-IV-16	J.Abenius
SVa179	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Sanda, Sorunda	Sweden	10-IV-16	J.Abenius
SVa180	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Sanda, Sorunda	Sweden	10-IV-16	J.Abenius
SVa181	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Sanda, Sorunda	Sweden	10-IV-16	J.Abenius
SVa182	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Sanda, Sorunda	Sweden	10-IV-16	J.Abenius
SVa183	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Pangoli lake, sand quarry	Estonia	11-IV-15	M.Martin
SVa184	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Kalmistu (Tartu env.)	Estonia	28-III-16	V.Soon
SVa185	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Kalmistu (Tartu env.)	Estonia	28-III-16	V.Soon
SVa186	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Ihaste (Tartu env.)	Estonia	10-IV-15	V.Soon
SVa187	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Ihaste (Tartu env.)	Estonia	10-IV-15	V.Soon
SVa188	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Ihaste (Tartu env.)	Estonia	11-IV-15	V.Soon
SVa189	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Ihaste (Tartu env.)	Estonia	12-IV-15	V.Soon
SVa19	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Amalienhof, Barnim, Brandenburg	Germany	06-IV-96	F. Burger
SVa190	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Ihaste (Tartu env.)	Estonia	13-IV-15	V.Soon
SVa191	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Ihaste (Tartu env.)	Estonia	14-IV-15	V.Soon
SVa192	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Ihaste (Tartu env.)	Estonia	15-IV-15	V.Soon
SVa193	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Ihaste (Tartu env.)	Estonia	16-IV-15	V.Soon
SVa194	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Ihaste (Tartu env.)	Estonia	17-IV-15	V.Soon
SVa195	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Ihaste (Tartu env.)	Estonia	18-IV-15	V.Soon
SVa196	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Ihaste (Tartu env.)	Estonia	19-IV-15	V.Soon
SVa197	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Ihaste (Tartu env.)	Estonia	20-IV-15	V.Soon
SVa198	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Ihaste (Tartu env.)	Estonia	21-IV-15	V.Soon

označení	rod	druh	hostitel	lokality	stát	datum	sběratel
SVa199	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Ihaste (Tartu env.)	Estonia	22-IV-15	V. Soon
SVa217	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Amalienhof, Barnim, Brandenburg	Germany	06-IV-96	F. Burger
SVa218	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Amalienhof, Barnim, Brandenburg	Germany	06-IV-96	F. Burger
SVa219	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Amalienhof, Barnim, Brandenburg	Germany	06-IV-96	F. Burger
SVa220	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Amalienhof, Barnim, Brandenburg	Germany	06-IV-96	F. Burger
SVa221	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Mallnow, Märkiscnd, Brandenburg	Germany	24-IV-95	F. Burger
SVa222	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Brodowin, sandpit, Brandenburg	Germany	08-III-97	F. Burger
SVa230	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst, De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T. Smit
SVa231	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst, De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T. Smit
SVa232	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst, De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T. Smit
SVa233	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst, De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T. Smit
SVa234	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst, De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T. Smit
SVa235	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst, De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T. Smit
SVa236	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst, De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T. Smit
SVa237	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst, De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T. Smit
SVa238	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst, De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T. Smit
SVa239	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst, De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T. Smit
SVa240	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst, De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T. Smit
SVa241	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst, De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T. Smit
SVa242	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst, De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T. Smit
SVa243	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst, De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T. Smit
SVa244	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst, De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T. Smit
SVa245	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst, De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T. Smit
SVa246	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst, De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T. Smit
SVa247	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst, De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T. Smit
SVa248	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst, De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T. Smit
SVa249	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst, De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T. Smit
SVa250	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst, De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T. Smit

označení	rod	druh	hostitel	lokality	stát	datum	sběratel
SVa251	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst,De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T.Smit
SVa252	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst,De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T.Smit
SVa253	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst,De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T.Smit
SVa254	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst,De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T.Smit
SVa255	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst,De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T.Smit
SVa256	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst,De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T.Smit
SVa257	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst,De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T.Smit
SVa258	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst,De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T.Smit
SVa259	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Soerst,De Stompert, Amersfoort env.	Netherlands	07-IV-13	J.T.Smit
SVa260	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Maashorst	Netherlands	07-IV-13	P. van Breugel
SVa261	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Maashorst	Netherlands	07-IV-13	P. van Breugel
SVa262	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Maashorst	Netherlands	07-IV-13	P. van Breugel
SVa263	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Maashorst	Netherlands	07-IV-13	P. van Breugel
SVa264	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Maashorst	Netherlands	07-IV-13	P. van Breugel
SVa265	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Maashorst	Netherlands	07-IV-13	P. van Breugel
SVa266	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Maashorst	Netherlands	07-IV-13	P. van Breugel
SVa267	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Maashorst	Netherlands	07-IV-13	P. van Breugel
SVa268	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Maashorst	Netherlands	07-IV-13	P. van Breugel
SVa269	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Maashorst	Netherlands	07-IV-13	P. van Breugel
SVa270	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Maashorst	Netherlands	07-IV-13	P. van Breugel
SVa271	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Maashorst	Netherlands	07-IV-13	P. van Breugel
SVa272	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Maashorst	Netherlands	07-IV-13	P. van Breugel
SVa273	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Maashorst	Netherlands	07-IV-13	P. van Breugel
SVa274	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Maashorst	Netherlands	07-IV-13	P. van Breugel
SVa275	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Maashorst	Netherlands	07-IV-13	P. van Breugel
SVa276	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Maashorst	Netherlands	07-IV-13	P. van Breugel
SVa277	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Maashorst	Netherlands	07-IV-13	P. van Breugel
SVa28	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Amalienhof, Barnim, Brandenburg	Germany	06-IV-96	F. Burger

označení	rod	druh	hostitel	lokality	stát	datum	sběratel
SVa36	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Greiffenberg, Brandenburg	Germany	09-IV-95	S. M.Blank
SVa37	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Amalienhof, Barnim, Brandenburg	Germany	28-II-97	F. Burger
SVa38	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Konstantynów, sandpit	Poland	15-IV-15	K. Kodejš, J.Straka
SVa4	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Pomezí nad Ohří, pískovna	Boh. occ.	19-IV-10	J. Straka
SVa40	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Nielbark, sandy area	Poland	15-IV-15	K. Kodejš, J.Straka
SVa48	Stylops Kirby, 1803	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Kutná Hora, Bylany	Boh. centr.	03-IV-05	J. Batelka
SVa49	Stylops Kirby, 1803	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Kutná Hora, Bylany	Boh. centr.	03-IV-05	J. Batelka
SVa50	Stylops Kirby, 1803	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Kutná Hora, Bylany	Boh. centr.	03-IV-05	J. Batelka
SVa51	Stylops Kirby, 1803	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Kutná Hora, Bylany	Boh. centr.	03-IV-05	J. Batelka
SVa52	Stylops Kirby, 1803	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Praha - Dubeč, Na skále, Rohožník	Boh. centr.	16-IV-05	J. Batelka
SVa53	Stylops Kirby, 1803	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Kutná Hora, Bylany	Boh. centr.	03-IV-05	J. Batelka
SVa54	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Prokopské údolí, Praha-Jinonice	Boh. centr.	29-IV-04	J. Hrček
SVa55	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Prokopské údolí, Praha-Jinonice	Boh. centr.	29-IV-04	J. Hrček
SVa56	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Prokopské údolí, Praha-Jinonice	Boh. centr.	19-IV-04	J. Hrček
SVa58	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Prokopské údolí, Praha-Jinonice	Boh. centr.	19-IV-04	J. Hrček
SVa59	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Prokopské údolí, Praha-Jinonice	Boh. centr.	19-IV-04	J. Hrček
SVa81	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Káraný, vlečka, na okraji lesa	Boh. centr.	14-III-07	J. + J. Batelka
SVa86	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Hlásná Třebáň, CHKO Český Kras	Boh. centr.	13-III-11	A. Damaška
SVa87	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Hlásná Třebáň, CHKO Český Kras	Boh. centr.	13-III-11	A. Damaška
SVa88	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Hlásná Třebáň, CHKO Český Kras	Boh. centr.	13-III-11	A. Damaška
SVa90	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Hlásná Třebáň, CHKO Český Kras	Boh. centr.	13-III-11	A. Damaška
SVa91	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Hlásná Třebáň, CHKO Český Kras	Boh. centr.	13-III-11	A. Damaška
SVač11	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Srní, Česká Lípa env.	Bohemia	29-III-11	K.Rezková (Černá)
SVač10	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Srní, Česká Lípa env.	Bohemia	29-III-11	K.Rezková (Černá)
SVač11	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Srní, Česká Lípa env.	Bohemia	29-III-11	K.Rezková (Černá)
SVač12	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Srní, Česká Lípa env.	Bohemia	29-III-11	K.Rezková (Černá)
SVač13	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Srní, Česká Lípa env.	Bohemia	29-III-11	K.Rezková (Černá)
SVač14	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Srní, Česká Lípa env.	Bohemia	29-III-11	K.Rezková (Černá)

označení	rod	druh	hostitel	lokality	stát	datum	sběratel
SVačl15	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Srní, Česká Lípa env.	Bohemia	29-III-11	K.Rezková (Černá)
SVačl16	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Srní, Česká Lípa env.	Bohemia	29-III-11	K.Rezková (Černá)
SVačl17	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Srní, Česká Lípa env.	Bohemia	29-III-11	K.Rezková (Černá)
SVačl2	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Srní, Česká Lípa env.	Bohemia	29-III-11	K.Rezková (Černá)
SVačl3	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Srní, Česká Lípa env.	Bohemia	29-III-11	K.Rezková (Černá)
SVačl4	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Srní, Česká Lípa env.	Bohemia	29-III-11	K.Rezková (Černá)
SVačl5	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Srní, Česká Lípa env.	Bohemia	29-III-11	K.Rezková (Černá)
SVačl6	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Srní, Česká Lípa env.	Bohemia	29-III-11	K.Rezková (Černá)
SVačl7	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Srní, Česká Lípa env.	Bohemia	29-III-11	K.Rezková (Černá)
SVačl8	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Srní, Česká Lípa env.	Bohemia	29-III-11	K.Rezková (Černá)
SVačl9	Stylops Kirby, 1802	ater Reichert, 1914	Andrena vaga Panzer, 1799	Srní, Česká Lípa env.	Bohemia	29-III-11	K.Rezková (Černá)

označení	rod	druh	hostitel	lokality	stát	datum	sběratel
Druhová skupina <i>Stylops nassonowi</i>							
SAg1	Stylops Kirby, 1802	aterrimus Newport, 1851	Andrena agilissima (SCOP., 1770)	Tamerza env.	Tunisia	31-III-06	J. Batelka, J. Straka
SBm1, SNI8	Stylops Kirby, 1802	aterrimus Newport, 1851	Andrena bimaculata (Kirby, 1802)	Velký Luh, sandpit	Boh. occ.	20-IV-10	J. Straka
SCa15	Stylops Kirby, 1802	aterrimus Newport, 1851	Andrena carantonica PÉREZ, 1902	Sokolovsko	Boh. occ.	13-IV-12	E. Matoušková
SCa7	Stylops Kirby, 1802	aterrimus Newport, 1851	Andrena carantonica PÉREZ, 1902	Zürich, ENHANCE, KF66	Switzerland	25-V-10	
SCa8	Stylops Kirby, 1802	aterrimus Newport, 1851	Andrena carantonica PÉREZ, 1902	Zürich, ENHANCE, KF66	Switzerland	25-V-10	
Ssp1	Stylops Kirby, 1802	aterrimus Newport, 1851	Andrena sp.	Wadi Raml, 4. 5km E Douz	Tunisia	04-IV-06	J. Batelka, J. Straka
STig1	Stylops Kirby, 1802	aterrimus Newport, 1851	Andrena bimaculata (Kirby, 1802)	Tamerza env.	Tunisia	31-III-06	J. Batelka, J. Straka
STig2	Stylops Kirby, 1802	aterrimus Newport, 1851	Andrena bimaculata (Kirby, 1802)	Gafsa env.	Tunisia	01-IV-06	J. Batelka, J. Straka
SCa1	Stylops Kirby, 1802	nassonowi Pierce, 1909	Andrena carantonica PÉREZ, 1902	Lednice	Mor. mer.	13-VI-06	J. Straka
SCa10	Stylops Kirby, 1802	nassonowi Pierce, 1909	Andrena carantonica PÉREZ, 1902	Dolní Dunajovice env.	Mor. mer.	16-IV-07	P. Bogusch
SCa11	Stylops Kirby, 1802	nassonowi Pierce, 1909	Andrena carantonica PÉREZ, 1902	Sušice env. , step u lomů	Boh. mer.	21-IV-07	L. Dvořák
SCa2	Stylops Kirby, 1802	nassonowi Pierce, 1909	Andrena carantonica PÉREZ, 1902	Divoká Šárka, Praha-Liboc	Boh. centr.	15-IV-06	J. Straka
SCa4	Stylops Kirby, 1802	nassonowi Pierce, 1909	Andrena carantonica PÉREZ, 1902	Budapest env. , Budaörs, lime mts.	Hungaria centr.	25-IV-09	J. Straka, P. Bogusch
SCa5	Stylops Kirby, 1802	nassonowi Pierce, 1909	Andrena carantonica PÉREZ, 1902	Dolní Věstonice env.	Mor. mer.	05-IV-08	J. Batelka, J. Straka
SCa6	Stylops Kirby, 1802	nassonowi Pierce, 1909	Andrena carantonica PÉREZ, 1902	Dolní věstonice, Pálava	Mor. mer.	06-IV-09	P. Bogusch
SCa72	Stylops Kirby, 1802	nassonowi Pierce, 1909	Andrena carantonica PÉREZ, 1902	Bylany, Kutná Hora env.	Boh. centr.	19-IV-15	J. Straka
SCa9	Stylops Kirby, 1802	nassonowi Pierce, 1909	Andrena carantonica PÉREZ, 1902	Chvalské skály, Praha-H. Počernice	Boh. centr.	03-VI-05	J. Straka
SHo1	Stylops Kirby, 1802	nassonowi Pierce, 1909	Andrena sp.	Gözeldere 25km E, Hakkari prov.	Turkey	22-VI-10	Mi. Halada
SSa1	Stylops Kirby, 1802	nassonowi Pierce, 1909	Andrena savignyi Spinola, 1838	Riyadh, Al Amariah, Majra Al-gasim	Saudi Arabia	05-III-11	M. A. Hannan
SSg1	Stylops Kirby, 1802	nassonowi Pierce, 1909	Andrena spinigera (Kirby, 1802)	Dolní věstonice, Pálava	Mor. mer.	06-IV-09	P. Bogusch
STi1	Stylops Kirby, 1802	nassonowi Pierce, 1909	Andrena tibialis (KIRBY, 1802)	Sušice env. , step u lomů	Boh. mer.	09-IV-07	L. Dvořák
STi2	Stylops Kirby, 1802	nassonowi Pierce, 1909	Andrena tibialis (KIRBY, 1802)	Örkeny (puszta)	Hungaria	24-IV-09	J. Straka, .Bogusch
STi3	Stylops Kirby, 1802	nassonowi Pierce, 1909	Andrena tibialis (KIRBY, 1802)	Dolní Věstonice env.	Mor. mer.	05-IV-08	J. Batelka, J. Straka
STi4	Stylops Kirby, 1802	nassonowi Pierce, 1909	Andrena tibialis (KIRBY, 1802)	Závišín, pr. Blatná	Boh. mer.	04-IV-09	P. Bogusch
STi6	Stylops Kirby, 1802	nassonowi Pierce, 1909	Andrena tibialis (KIRBY, 1802)	Sušice env. , step u lomů	Boh. mer.	09-IV-07	L. Dvořák

označení	rod	druh	hostitel	lokality	stát	datum	sběratel
Druhá skupina <i>Stylops nevinsoni</i>							
SFu1	Stylops Kirby, 1802	nevinsoni Perkins, 1918	<i>Andrena fulva</i> (Müller, 1766)	Chýnice	Boh. centr.	22-IV-06	J. Batelka, J. Straka
SFu2	Stylops Kirby, 1802	nevinsoni Perkins, 1918	<i>Andrena fulva</i> (Müller, 1766)	Kamenný Přívoz, Jílové env.	Boh. centr.	05-IV-09	Z. Žáková
SFu68	Stylops Kirby, 1802	nevinsoni Perkins, 1918	<i>Andrena fulva</i> (Müller, 1766)	Skoupý, Týnčany karst	Boh. centr.	16-IV-16	J. Straka, J. Perry
SFu69	Stylops Kirby, 1802	nevinsoni Perkins, 1918	<i>Andrena fulva</i> (Müller, 1766)	Skoupý, Týnčany karst	Boh. centr.	16-IV-16	J. Straka, J. Perry
SFu70	Stylops Kirby, 1802	nevinsoni Perkins, 1918	<i>Andrena fulva</i> (Müller, 1766)	Skoupý, quarry, Týnčany karst	Boh. centr.	16-IV-16	J. Straka, J. Perry
SFu72	Stylops Kirby, 1802	nevinsoni Perkins, 1918	<i>Andrena fulva</i> (Müller, 1766)	Cák, loc 3, light forest	Hungary	05-IV-16	J. Straka, D. Benda, K. Kodejš
SFu73	Stylops Kirby, 1802	nevinsoni Perkins, 1918	<i>Andrena fulva</i> (Müller, 1766)	Cák, loc 3, light forest	Hungary	05-IV-16	J. Straka, D. Benda, K. Kodejš
SHe1	Stylops Kirby, 1802	nevinsoni Perkins, 1918	<i>Andrena helvola</i> (LINNAEUS, 1758)	Dolní Dunajovice env.	Mor. mer.	16-IV-07	P. Bogusch
SHe2	Stylops Kirby, 1802	nevinsoni Perkins, 1918	<i>Andrena helvola</i> (LINNAEUS, 1758)	Boršov u Litětín PP	Boh. or.	13-IV-08	P. Bogusch
SHe30	Stylops Kirby, 1802	nevinsoni Perkins, 1918	<i>Andrena helvola</i> (LINNAEUS, 1758)	Velký Luh, sandpit	Boh. occ.	23-IV-13	J. Straka et J. Matějů
SHe32	Stylops Kirby, 1802	nevinsoni Perkins, 1918	<i>Andrena helvola</i> (LINNAEUS, 1758)	Myštice, Blatná 8km N	Boh. mer.	04-XI-14	P. Šípek
SHe4	Stylops Kirby, 1802	nevinsoni Perkins, 1918	<i>Andrena helvola</i> (LINNAEUS, 1758)	Vyžlovka, Praha 25km E	Boh. centr.	04-IV-09	J. Batelka
SHe74	Stylops Kirby, 1802	nevinsoni Perkins, 1918	<i>Andrena helvola</i> (LINNAEUS, 1758)	Petrovice rocks, Týnčany karst	Boh. centr.	09-IV-16	J. Straka
SHe81	Stylops Kirby, 1802	nevinsoni Perkins, 1918	<i>Andrena helvola</i> (LINNAEUS, 1758)	Cák, loc 4, forest clearing	Hungary	05-IV-16	J. Straka, D. Benda, K. Kodejš
SHe82	Stylops Kirby, 1802	nevinsoni Perkins, 1918	<i>Andrena helvola</i> (LINNAEUS, 1758)	Cák, loc 4, forest clearing	Hungary	05-IV-16	J. Straka, D. Benda, K. Kodejš
SHe83	Stylops Kirby, 1802	nevinsoni Perkins, 1918	<i>Andrena helvola</i> (LINNAEUS, 1758)	Cák, loc 4, forest clearing	Hungary	05-IV-16	J. Straka, D. Benda, K. Kodejš
SC1	Stylops Kirby, 1802	praecocis Luna de Carvalho, 1974	<i>Andrena clarkella</i> (Kirby, 1802)	Plachta-Hradec Králové	Boh. centr.	25-III-05	P. Bogusch
SPr1	Stylops Kirby, 1802	praecocis Luna de Carvalho, 1974	<i>Andrena praecox</i> (SCOPOLI, 1763)	Chýnice	Boh. centr.	09-IV-06	J. Batelka et J. Straka
SPr10	Stylops Kirby, 1802	praecocis Luna de Carvalho, 1974	<i>Andrena praecox</i> (SCOPOLI, 1763)	Vyžlovka, Praha 25km E	Boh. centr.	04-IV-09	J. Batelka
SPr11	Stylops Kirby, 1802	praecocis Luna de Carvalho, 1974	<i>Andrena praecox</i> (SCOPOLI, 1763)	Čelákovice	Boh. centr.	28-III-08	J. Straka
SPr12	Stylops Kirby, 1802	praecocis Luna de Carvalho, 1974	<i>Andrena praecox</i> (SCOPOLI, 1763)	Klánovický les and Prameniště za tratí, Praha-Běchovice	Boh. centr.	18-III-12	J. Straka
SPr13	Stylops Kirby, 1802	praecocis Luna de Carvalho, 1974	<i>Andrena praecox</i> (SCOPOLI, 1763)	Klánovický les and Prameniště za tratí, Praha-Běchovice	Boh. centr.	18-III-12	J. Straka

označení	rod	druh	hostitel	lokality	stát	datum	sběratel
SPr19	Stylops Kirby, 1802	praecocis Luna de Carvalho, 1974	Andrena praecox (SCOPOLI, 1763)	Horní Slavkov (26a), Stannum, odkaliště	Boh. occ.	13-IV-14	J. Straka
SPr2	Stylops Kirby, 1802	praecocis Luna de Carvalho, 1974	Andrena praecox (SCOPOLI, 1763)	Klánovický les, Praha-Klánovice	Boh. centr.	15-III-08	J. Straka
SPr27	Stylops Kirby, 1802	praecocis Luna de Carvalho, 1974	Andrena praecox (SCOPOLI, 1763)	Nielbark, sandy area	Poland	15-IV-15	K. Kodejš, J. Straka
SPr28	Stylops Kirby, 1802	praecocis Luna de Carvalho, 1974	Andrena praecox (SCOPOLI, 1763)	Nielbark, sandy area	Poland	15-IV-15	K. Kodejš, J. Straka
SPr3	Stylops Kirby, 1802	praecocis Luna de Carvalho, 1974	Andrena praecox (SCOPOLI, 1763)	Praha-Štěrboholy, hráz rybníka Slatina	Boh. centr.	01-IV-11	J. Batelka
SPr4=SCa3	Stylops Kirby, 1802	praecocis Luna de Carvalho, 1974	Andrena praecox (SCOPOLI, 1763)	Chýnice	Boh. centr.	16-IV-06	J. Batelka et J. Straka
SPr47	Stylops Kirby, 1802	praecocis Luna de Carvalho, 1974	Andrena praecox (SCOPOLI, 1763)	Skoupý, quarry, Týnčany karst	Boh. centr.	16-IV-16	J. Straka, J. Perry
SPr5	Stylops Kirby, 1802	praecocis Luna de Carvalho, 1974	Andrena praecox (SCOPOLI, 1763)	Klánovický les, Praha-Klánovice	Boh. centr.	15-III-08	J. Straka
SPr6	Stylops Kirby, 1802	praecocis Luna de Carvalho, 1974	Andrena praecox (SCOPOLI, 1763)	Malešov env. , Vrchlice dam, 5 km S Kutná Hora	Boh. centr.	04-IV-10	K. Rezková
SPr8	Stylops Kirby, 1802	praecocis Luna de Carvalho, 1974	Andrena praecox (SCOPOLI, 1763)	Závišín, pr. Blatná	Boh. mer.	04-IV-09	P. Bogusch
SMs1	Stylops Kirby, 1802	sp.	Andrena mitis Schmiedeknecht, 1883	Polabiny env.	Boh. centr.	21-IV-08	P. Bogusch

označení	rod	druh	hostitel	lokality	stát	datum	sběratel
<i>Stylops spreta</i>							
Ssp18-24	Stylops Kirby, 1802	sp.	Andrena sp.	Dana	Jordan	03-V-12	M. Kafka
SMc1	Stylops Kirby, 1802	spretá Perkins, 1918	Andrena sp.	Archaia Olympia, Ilis prov.	Greece	10-III-11	J. Straka, K.Rezková
SMc3	Stylops Kirby, 1802	spretá Perkins, 1918	Andrena sp.	Mykines env. , Argolis prov.	Greece	16-III-11	J. Straka, K.Rezková
SMc4	Stylops Kirby, 1802	spretá Perkins, 1918	Andrena sp.	between Kamişli and Findikli, Adana Prov.	Turkey	29-VI-11	J. Straka et P.Janšta
SMc8	Stylops Kirby, 1802	spretá Perkins, 1918	Andrena sp.	Muniesa 3km S, Aragón prov.	Spain	08-IV-12	K. Černá, a kol
SMi1	Stylops Kirby, 1802	spretá Perkins, 1918	Andrena minutula (Kirby, 1802)	Chýnice	Boh. centr.	22-IV-06	J. Batelka et J.Straka
SMi16	Stylops Kirby, 1802	spretá Perkins, 1918	Andrena minutula (Kirby, 1802)	Hradec u Kadaně, pasture	Boh. occ.	27-IV-14	J. Straka
SMi17	Stylops Kirby, 1802	spretá Perkins, 1918	Andrena minutula (Kirby, 1802)	Nákladové nádraží Žižkov, část 2	Boh. centr.	11-VI-14	J. Straka
SMi2	Stylops Kirby, 1802	spretá Perkins, 1918	Andrena minutula (Kirby, 1802)	Písečný vršek, Praha-Běchovice	Boh. centr.	04-VII-05	J. Batelka
SMi3	Stylops Kirby, 1802	spretá Perkins, 1918	Andrena minutula (Kirby, 1802)	Dubeček, Praha-Dubeč	Boh. centr.	25-IV-06	J. Batelka
SMi37	Stylops Kirby, 1802	spretá Perkins, 1918	Andrena minutula (Kirby, 1802)	Zalíbené u Hlinska (61), peatbog	Boh. or.	31-VII-15	J. Straka
SMi4	Stylops Kirby, 1802	spretá Perkins, 1918	Andrena minutula (Kirby, 1802)	Šobes, NP Podyjí	Mor. mer.	04-IV-09	J. Straka
SMi60	Stylops Kirby, 1802	spretá Perkins, 1918	Andrena minutula (Kirby, 1802)	České Budějovice	Boh. mer.	22-VI-08	T. Halada
SMo2	Stylops Kirby, 1802	spretá Perkins, 1918	Andrena minutuloides Perkins, 1914	Chýnice	Boh. centr.	21-V-06	J. Batelka et J.Straka
SMo26	Stylops Kirby, 1802	spretá Perkins, 1918	Andrena minutuloides Perkins, 1914	Litér, lime stone steppe	Hungary	04-IV-16	J.Straka, D.Benda, K.Kodejš
SMo3	Stylops Kirby, 1802	spretá Perkins, 1918	Andrena minutuloides Perkins, 1914	Klánovický les, Praha-Klánovice	Boh. centr.	13-VII-06	J. Straka
SMo6	Stylops Kirby, 1802	spretá Perkins, 1918	Andrena minutuloides Perkins, 1914	Havranické vřesoviště, Havraníky env. , NP Podyjí	Mor. mer.	24-VII-13	J. Straka
SPu1	Stylops Kirby, 1802	spretá Perkins, 1918	Andrena pusilla cf. Pérez, 1903	Orlice PP, Hradec Králové env.	Boh. centr.	06-V-08	P. Bogusch
SSt2	Stylops Kirby, 1802	spretá Perkins, 1918	Andrena stromella Stöckhert, 1928	Leuk, KF 8, Rand	Switzerland	23-V-06	Y. Chittaro
SSu1	Stylops Kirby, 1802	spretá Perkins, 1918	Andrena subopaca Nylander, 1848	Pálava, Pavlov env.	Mor. mer.	22-VI-05	J. Straka
SSu14	Stylops Kirby, 1802	spretá Perkins, 1918	Andrena subopaca Nylander, 1848	Schweinitz, Thüringen	Germany	07-IV-00	F. Burger
SSu15	Stylops Kirby, 1802	spretá Perkins, 1918	Andrena subopaca Nylander, 1848	Čelákovice, Svatý Václav	Boh. centr.	01-V-06	J. Batelka
SSu2	Stylops Kirby, 1802	spretá Perkins, 1918	Andrena subopaca Nylander, 1848	Karlické údolí, Český kras	Boh. centr.	10-V-07	J. Straka
SSu3	Stylops Kirby, 1802	spretá Perkins, 1918	Andrena subopaca Nylander, 1848	Vyžlovka, Praha 25km E	Boh. centr.	04-IV-09	J. Batelka
SSu30	Stylops Kirby, 1802	spretá Perkins, 1918	Andrena subopaca Nylander, 1848	Koda NPR, les, Tetín env. , CHKO Český kras	Boh. centr.	04-VI-09	J. Straka

označení	rod	druh	hostitel	lokality	stát	datum	sběratel
<i>Stylops mellitae</i>							
SFI1	Stylops Kirby, 1802	mellitae Kirby, 1802	Andrena flavipes Panzer, 1799	Čelákovice, Sv. Václav	Boh. centr.	01-V-06	J. Batelka
SFI10	Stylops Kirby, 1802	mellitae Kirby, 1802	Andrena flavipes Panzer, 1799	Dolní Dunajovice env.	Mor. mer.	06-V-06	J. Straka
SFI11	Stylops Kirby, 1802	mellitae Kirby, 1802	Andrena flavipes Panzer, 1799	Pouzďfanská step, Pouzďřany	Mor. mer.	24-IV-06	J. Straka
SFI16	Stylops Kirby, 1802	mellitae Kirby, 1802	Andrena flavipes Panzer, 1799	Čelákovice	Boh. centr.	02-V-08	J. Batelka
SFI17	Stylops Kirby, 1802	mellitae Kirby, 1802	Andrena flavipes Panzer, 1799	Travčický les, Nučnický, sandpít	Boh. bor.	02-V-09	P. Tyrner
SFI18	Stylops Kirby, 1802	mellitae Kirby, 1802	Andrena flavipes Panzer, 1799	bývalý důl Ronna (42), Kladno env.	Boh. centr.	01-VIII-10	J. Straka
SFI19	Stylops Kirby, 1802	mellitae Kirby, 1802	Andrena flavipes Panzer, 1799	Tasovice, lom	Mor. mer.	05-IV-08	J. Batelka et J.Straka
SFI2	Stylops Kirby, 1802	mellitae Kirby, 1802	Andrena flavipes Panzer, 1799	Divoká Šárka, Praha-Liboc	Boh. centr.	15-IV-06	J. Straka
SFI20	Stylops Kirby, 1802	mellitae Kirby, 1802	Andrena flavipes Panzer, 1799	Dolní Věstonice env.	Mor. mer.	13-IV-08	J. Batelka et J.Straka
SFI21	Stylops Kirby, 1802	mellitae Kirby, 1802	Andrena flavipes Panzer, 1799	Chýnice	Boh. centr.	22-IV-06	J. Batelka et J.Straka
SFI22	Stylops Kirby, 1802	mellitae Kirby, 1802	Andrena flavipes Panzer, 1799	PP Žatec	Boh. bor.	12-IV-08	P. Tyrner
SFI31	Stylops Kirby, 1802	mellitae Kirby, 1802	Andrena flavipes Panzer, 1799	Záluží, Roudnice nad Labem env.	Boh. bor.	19-IV-09	J. Batelka, J.Straka
SFI33-35	Stylops Kirby, 1802	mellitae Kirby, 1802	Andrena flavipes Panzer, 1799	Prokopské údolí, Praha-Jinonice	Boh. centr.	13-III-07	J. Straka
SFI3-5	Stylops Kirby, 1802	mellitae Kirby, 1802	Andrena flavipes Panzer, 1799	Polabiny, Pardubice	Boh. or.	13-III-07	P. Bogusch
SFI36	Stylops Kirby, 1802	mellitae Kirby, 1802	Andrena flavipes Panzer, 1799	Havranické vřesoviště, , NP Podyjí	Mor. mer.	03-IV-09	J. Straka
SFI40	Stylops Kirby, 1802	mellitae Kirby, 1802	Andrena flavipes Panzer, 1799	Chvaletice env. , ash sedimentary basin	Boh. centr.	01-VIII-09	I. Černá et R.Tropek
SFI58	Stylops Kirby, 1802	mellitae Kirby, 1802	Andrena flavipes Panzer, 1799	Halinów, sandpít	Poland	16-IV-15	K. Kodejš, J.Straka
SFI6	Stylops Kirby, 1802	mellitae Kirby, 1802	Andrena flavipes Panzer, 1799	Polabiny, Pardubice	Boh. or.	09-III-07	P. Bogusch
SFI70	Stylops Kirby, 1802	mellitae Kirby, 1802	Andrena flavipes Panzer, 1799	Travčický les, Nučnický env.	Boh. bor.	07-IV-09	P. Tyrner
SFIg1	Stylops Kirby, 1802	mellitae Kirby, 1802	Andrena flavipes Panzer, 1799	Tamerza env.	Tunisia	31-III-06	J. Batelka & J. Straka
SGr1	Stylops Kirby, 1802	mellitae Kirby, 1802	Andrena gravida Imhoff, 1832	Polabiny env.	Boh. centr.	25-IV-06	P. Bogusch
SGr2	Stylops Kirby, 1802	mellitae Kirby, 1802	Andrena gravida Imhoff, 1832	Botanická zahrada, Praha - Troja	Boh. centr.	16-III-07	J. Straka
SGr3	Stylops Kirby, 1802	mellitae Kirby, 1802	Andrena gravida Imhoff, 1832	Dolní Věstonice, Pálava	Mor. mer.	30-III-08	J. Straka
SGr4	Stylops Kirby, 1802	mellitae Kirby, 1802	Andrena gravida Imhoff, 1832	Budapest env. , Budaörs, lime mts.	Hungaria centr.	25-IV-09	J. Straka, P.Bogusch
SGr5	Stylops Kirby, 1802	mellitae Kirby, 1802	Andrena gravida Imhoff, 1832	Poysdorf 1km E, Lower Austria	Austria	27-IV-08	J. Halada
SGr7	Stylops Kirby, 1802	mellitae Kirby, 1802	Andrena gravida Imhoff, 1832	Lednice env.	Mor. mer.	24-V-09	J. Straka
SGr70	Stylops Kirby, 1802	mellitae Kirby, 1802	Andrena gravida Imhoff, 1832	Božice, sand quarry	Mor.mer.	29-III-16	J. Straka

označení	rod	druh	hostitel	lokality	stát	datum	sběratel
SGr92	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena gravida IMHOFF, 1832	Várpalota, steppe	Hungary	04-IV-16	J.Straka, D.Benda, K.Kodejš
SGr95	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena gravida IMHOFF, 1832	Tihany 1, Gödrös, steppe	Hungary	04-IV-16	J.Straka, D.Benda, K.Kodejš
SNi1	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena nigroaenea (Kirby, 1802)	Podyjí	Mor. mer.	01-V-04	J. Straka
SNi101	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena nigroaenea (Kirby, 1802)	Pouzdřany	Mor. mer.	29-III-16	J.Straka
SNi104	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena nigroaenea (Kirby, 1802)	Pouzdřany	Mor. mer.	06-IV-16	J.Straka, D.Benda, K.Kodejš
SNi109	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena nigroaenea (Kirby, 1802)	Cák, loc 4, forest clearing	Hungary	05-IV-16	J.Straka, D.Benda, K.Kodejš
SNi11	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena nigroaenea (Kirby, 1802)	Leuk, KF 8, Rand	Switzerland	02-V-06	Y. Chittaro
SNi114	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena nigroaenea (Kirby, 1802)	Közszegszerdahely	Hungary	05-IV-16	J.Straka, D.Benda, K.Kodejš
SNi13	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena nigroaenea (Kirby, 1802)	Radnice env. , odval dolu	Boh. occ.	07-VI-09	J. Farkač, J.Straka, V.Vrabec
SNi15	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena nigroaenea (Kirby, 1802)	Hošťka, Štětí env.	Boh. bor.	19-IV-09	J. Batelka, J.Straka
SNi16	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena nigroaenea (Kirby, 1802)	Prokopské údolí, Praha-Jinonice	Boh. centr.	06-IV-09	J. Straka
SNi17	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena nigroaenea (Kirby, 1802)	Písečný vrch, České středohoří	Boh. bor.	05-V-07	J. Batelka, J.Batelka
SNi18	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena nigroaenea (Kirby, 1802)	Sv. Kopeček. Mikulov env.	Mor. mer.	14-IV-11	P.Bogusch
SNi19	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena nigroaenea (Kirby, 1802)	Mazarete 1. 5km SE, Castilla-La Mancha prov.	Spain	07-IV-12	K. Černá, K.Jůzová et J.Straka
SNi3	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena nigroaenea (Kirby, 1802)	Dolní Věstonice env.	Mor. mer.	13-IV-08	J. Batelka, J.Straka
SNi4	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena nigroaenea (Kirby, 1802)	St. Vincent deBarbeyrargues, Hérault	France	05-V-93	P. G.Mason
SNi6	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena nigroaenea (Kirby, 1802)	Kalogria env., pine forest on sandy dunes, Achaia prov.	Greece	11-III-11	J. Straka K.Rezková
SNi7	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena nigroaenea (Kirby, 1802)	Velký Luh, sandpit	Boh. occ.	20-IV-10	J. Straka
SNi1	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena nitida (MÜLLER, 1776)	Botanická zahrada, Praha - Troja	Mor. mer.	16-III-07	J. Straka
SNi10	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena nitida (MÜLLER, 1776)	Bynovec, bývalá lesní školka	Boh. bor.	25-IV-08	L. Blažej
SNi2	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena nitida (MÜLLER, 1776)	Cibulka, Praha-Košíře	Boh. centr.	02-V-05	J. Straka
SNi3	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena nitida (MÜLLER, 1776)	Sušice env. , step u lomů	Boh. mer.	09-IV-07	L. Dvořák
SNi4	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena nitida (MÜLLER, 1776)	Boří les env.	Mor. mer.	05-IV-08	J. Batelka, J.Straka
SNi48	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena nitida (MÜLLER, 1776)	Quedlinburg, Sachsen-Anhalt	Germany	28-V-02	O. Schweiger

označení	rod	druh	hostitel	lokalita	stát	datum	sběratel
SNt6	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena nitida (MÜLLER, 1776)	Boří les env.	Mor. mer.	13-IV-08	J. Batelka, J. Straka
SNt8	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena nitida (MÜLLER, 1776)	Sušice env. , step u lomů	Boh. mer.	09-IV-07	L. Dvořák
SNt9	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena nitida (MÜLLER, 1776)	Dolní Věstonice env.	Mor. mer.	13-IV-08	J. Batelka, J. Straka
STh1	Stylops Kirby, 1802	melittae Kirby, 1802	Andrena thoracica (FABRICIUS, 1775)	Salihli 35 km SEE	Turkey	30-VI-06	J. Halada

3.2 Příprava vzorků a izolace DNA

Vzorky byly vyjmuty z lihu (96%) ve kterém jsou skladovány. Samice řasníků byla navíc vyjmuta z hostitelské včely. Po odpaření zbytků ethanolu byla provedena izolace DNA. K izolaci byl použit DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen), za použití následujícího postupu: 1) lyzace celého jedince řasníka v roztoku 20 µl proteinázy K a 180 µl pufru ATL přes noc za teploty 96°C, 2) promíchání lyzátu (kutikula izolovaného jedince je před tímto krokem vyjmuta a uschována pro případ budoucího morfologického studia) a vysrážení DNA za pomoci směsi 200 µl 96% ethanolu a 200 µl pufru AL, 3) přepipetování roztoku na membránu izolační kolonky a následná centrifugace při rychlosti 8000 rpm po dobu 1 minuty, 4) promytí membrány 500 µl pufru AW1 za pomoci centrifugace (1 min při 8000 rpm), 5) promytí membrány 500 µl pufru AW2, centrifugace při rychlosti 14000 rpm po dobu 3 minut, 6) uvolnění DNA z membrány pomocí 150 µl pufru AE (inkubace 1 min v pokojové teplotě a následná centrifugace při 8000 rpm po dobu 1 min). Z důvodu většího výtěžku DNA byl krok 6) zopakován ještě jednou.

Izolace DNA probíhala stejným způsobem jak za účelem získání materiálu pro sekvenaci, tak pro analýzu mikrosatelitů, kdy byl z důvodu většího počtu jedinců použita verze izolačního kitu umožňující izolaci celé destičky o 96 vzorcích naráz.

3.3 Analýza mikrosatelitů u druhu *Stylops ater*

3.3.1 Testování mikrosatelitových lokusů

Primery pro mikrosatelitové lokusy pro druh *Stylops ater* byly navrženy a otestovány v dřívějších letech K.Černou. Pro další analýzy bylo na základě největší variability a vhodné délky vyselektováno 6 dvojic primerů (**Tabulka 2**), které byly objednány u firmy Applied Biosystems, vybavených fluorescenčními značkami. Dvojice primerů, které tvoří produkty navzájem se nepřekrývající délky byly označeny stejnou značkou, díky čemuž může být všech 6 mikrosatelitových lokusů analyzováno najednou v multiplexu.

Tabulka 2: značené mikrosatelitové primery včetně použitého fluorescenčního markeru

číslo	fluorescenční značka	F	R
1	PET	GCCGTTGATGTTGATGTTGA	GTTTAATATCACTGACAATGG
3	PET	TCGAAGAAGTCAGACCAG	GTTTCTTTCTCGGTTCTGGACTCG
12	NED	GCCGTTGATGTTGATGTTGA	GTTTCGGAGTTTATCGATTCCATT
15	VIC	TTGCCATCAAGTGCTAATAAC	GTTTGTCTGTTGCTGTTGCTG
28	FAM	GCATATCTCATGTTGCTG	GTTTCAAATTTTCGGACAGAG
41	FAM	TCACATTCGGCAACTTCA	GTTTCACGAGTTGAAAGGGGTT

3.3.2 Příprava na fragmentační analýzu

Fragmentační analýze předcházelo provedení PCR pomocí Type-it Multiplex PCR kitu, se kterým lze na rozdíl od běžně používaných směsí použít více kombinací primerů v jedné reakci. Použity byly cyclery značky Biorad U použitých primerů se po několika pokusech osvědčila koncentrace každého z nich 1 $\mu\text{mol/l}$.

Směs na PCR obsahovala na každý vzorek 5,5 μl Type-it Multiplex PCR master mixu (směsi polymerázy, nukleotidů a roztoku MgCl_2), 1,5 μl roztoku DNA, 0,5 μl multiplexu primerů a 2,5 μl deionizované vody.

S touto směsí proběhla PCR za následujících podmínek: Počáteční denaturace při 95 °C po dobu 15 min následovaná cyklem, který byl 30x opakován. Zahrnoval 30 s denaturace (94 °C), 1,5 min nasedání primerů (60 °C) a prodlužování řetězce při 72 °C po dobu 1 minuty. Na závěr byly vzorky vystaveny teplotě 60 °C po dobu 30 minut.

Pro samotnou fragmentační analýzu byla namíchána reakční směs tvořená 8,8 μl formamidu, 0,8 μl produktu PCR a 0,4 μl délkového markeru LIZ 500 (Applied Biosystems). Po namíchání byla podrobena denuraci v cycleru ve dvou krocích – denaturace při 95 °C po dobu 5 minut, následovaná prudkým zchlazením.

Fragmentační analýza byla prováděna v servisní laboratoři sekvenace DNA ve druhém suterénu budovy PřF, Viničná 7.

3.3.3 Zpracování výsledků fragmentace

Výstupem fragmentační analýzy je chromatogram tvořený vrcholy reprezentujícími jednotlivé mikrosatelitové alely. K určení jejich příslušnosti a délky (v počtu bází) byl využit program GeneMarker 1.85 od společnosti SoftGenetics. V tomto programu je délka alely automaticky určena na základě srovnání s délkovým standardem

(v našem případě LIZ 500), v některých případech dochází k falešnému označení sebemenších chybových vrcholů jako alely. V jednom případě došlo ke špatné kalibraci délky a tento vzorek musel být nakalibrován manuálně. Výstupem programu GeneMarker je vyexportovaná databáze tvořená délkami jednotlivých alel, kterou lze použít pro další analýzy. Pro další analýzy byly použity genotypy 277 jedinců druhu *Stylops ater*.

3.3.4 Klastrovací analýza

Populační struktura druhu *Stylops ater* byla analyzována pomocí programu Structure 2.3.4 (Pritchard et al., 2000). Program na základě námi zadané hodnoty K rozdělí danou populaci na K skupin a pro každého jedince určí pravděpodobnost příslušnosti ke každé z nich. V případě výrazné populační struktury je u většiny jedinců pravděpodobnost příslušnosti k některé ze skupin blízka 1, pokud jedinec s jistotou zařadit nejde, je naopak blízka hodnotě 1/K. Jelikož program využívá bayesovské statistiky, konkrétně algoritmu náhodných řetězců MCMC (Markov Chain Monte Carlo), zařazující jedince do skupin více méně v lokálním měřítku, pro odhalení celkové populační struktury je zapotřebí dostatečný počet opakování těchto řetězců. V našem případě se jednalo o 1 000 000 opakování pro každé K, s tím, že pro každé K analýza běžela nezávisle 10krát, pro K= 1-12

Pro určení hodnoty K, která daná data nejlépe popisuje byly výsledky analýzy v programu Structure vyhodnoceny pomocí aplikace Structure harvester (Earl and vonHoldt, 2011). Zde lze optimální K odvodit z hodnoty ΔK . Je ale potřeba si uvědomit, že výsledky klastrovací analýzy mohou odrážet hierarchickou strukturu populací a výsledky pro různý počet klastrů mohou nést podobně užitečné informace.

Grafický výstup v podobě sloupcového grafu, kdy každý sloupec odpovídá jednomu jedinci a je na něm barevně znázorněna pravděpodobnost zařazení do daného klastru, byl pro každé K složen v programu Clumpak (Kopelman et al., 2015).

3.3.6 Aproximate Bayesian Computation (ABC)

Další možnost využití bayesiánské analýzy pro určení populační struktury na základě mikrosatelitových markerů poskytuje přístup ABC (Aproximate bayesian computation), implementovaný v programu DIYABC (Cornuet et al., 2014). Na rozdíl od klastrovací analýzy se v něm nejedná o rozdělení vzorku na jednotlivé klastry, ale u předem daných populací v něm lze odvodit jejich příbuznost a historii. Využívá výpočtu

pravděpodobnosti, s jakou reálná data odpovídají určité vymodelované populační struktuře (posterior probability). Kromě databáze jedinců a jejich alel je dalším vstupním parametrem určitý počet scénářů populační historie, které je třeba namodelovat v závislosti na tom, jaké modely populační historie předpokládáme, nebo chceme otestovat. Kromě topologie vztahů mezi populacemi lze operovat i se splýváním populací v historii a se změnami v jejich (efektivní) velikosti.

V další fázi pak program na základě reálných frekvencí alel a jejich počtu nasimuluje populační struktury, které by odpovídaly daným scénářům co nejvíce. Ze statistických důvodů je opět potřeba, aby těchto simulací vznikl velký počet, tvůrci programu doporučují alespoň 1×10^4 simulací na jeden testovaný scénář.

Posledním krokem je samotná analýza posteriorních pravděpodobností daných scénářů, kdy je reálné rozložení alel a jejich frekvencí srovnáváno se simulovanými datasety, čímž získáme z našich navržených scénářů ten nejpravděpodobnější.

3.4 Analýza mitochondriální DNA

3.4.1 PCR

Za účelem odhalení populační struktury na základě mitochondriální DNA byla využita sekvenace genu pro podjednotku I. Cytochrom c Oxidázy (CoI). Tento gen byl již dříve s úspěchem použit při studiu fylogeneze řasníků (např. Jůzová et al., 2015; Nakase and Kato, 2013).

Část použitých sekvencí pochází z dřívějších výzkumů (Jůzová et al., 2015). Na sekvenaci dalších vzorků pro doplnění datasetu byly použity primery COI22F (sekvence TCWACAAATCATAAAATAATTGG) a Coi669R (sekvence TCCTCCTCCTAAAGGRTCRAA) (Jůzová, 2012). Pro namíchání reakční směsi na PCR bylo použito PPP Master mixu (Top Bio). Reakční směs měla následující složení: 5 μl PPP Master mixu, 1,2 μl MgCl₂, 1,8 μl deionizované vody, 1 μl izolované DNA a po 0,5 μl roztoků primerů (F a R).

PCR probíhala následujícími kroky: počáteční denaturace při 94 °C po dobu 5 min, denaturace (95 °C; 1 min), nasedání primerů (annealing; 50 °C, 1 min), prodlužování řetězce (elongace; 72 °C, 1,5 min), závěrečný alignment (72 °C, 5 min)

Po PCR byla úspěšnost amplifikace cílového genu ověřena elektroforézou na 1 % agarózovém gelu. Z každého vzorku byly na gel umístěny 1,5 až 2 μl.

3.4.2 Sekvenační reakce

Před mícháním vlastní sekvenační reakce byly vzorky purifikovány (zbaaveny zbytků polymerázy, volných nukleotidů a dalších složek PCR reakce). Purifikace byla prováděna enzymatickou cestou pomocí roztoku CleanSweep (Thermo Fisher Scientific). Purifikační reakce sestávala z 5 μl PCR produktu, 1 μl deionizované vody a 1 μl roztoku Clean Sweep. Takto získaná směs reagovala v cycleru 45 min při teplotě 37 °C, následně 15 min při 80 °C. Na závěr byly reakční zkumavky zchlazeny na 4 °C.

Směs na sekvenační reakci se skládá z 2-5 μl purifikovaného PCR produktu (v závislosti na jeho koncentraci), 0,32 μl primeru (F nebo R), objem byl do 8 μl doplněn deionizovanou vodou. Sekvenace probíhala Sangerovou metodou v sekvenační laboratoři PřF UK v centru Biocev.

3.4.3 Zpracování výsledků sekvenace

Chromatogramy získané ze sekvenační laboratoře byly zkontrolovány a oříznuty o počáteční a koncové chybové úseky v programu Geneious 9 (Kearse et al., 2012). Jelikož byla sekvenace provedena zvlášť s primerem forward a reverse, byl proveden alignment, vzájemná kontrola a doplnění jedné ze sekvencí podle opačného směru. Na závěr byly sekvence rozděleny podle druhu řasníka a oříznuty na stejnou délku.

3.4.4 Tvorba haplotypových sítí

Alignmenty jednotlivých druhů byly použity na tvorbu haplotypových sítí v programu PopArt 1.7 (popart.otago.ac.nz), který klastruje jedince k sobě na základě jejich genetické vzdálenosti. V závislosti na druhu byly do analýzy zahrnuty matice reprezentující původ jedince a/nebo hostitelský druh, respektive podrod. Genetické vzdálenosti mezi haplotypy byly vypočítány v programu BIOEDIT 7.1.3.0 (Hall, 1999).

Pro otestování síly vlivu daného faktoru byla u některých jedinců provedena analýza molekulární variance (AMOVA), pomocí které lze zjistit, kolik variability v datech vysvětluje vliv hostitele, respektive geografie (Excoffier, 1993). Pro tyto účely byl použit program GenAlEx (Peakall and Smouse, 2006).

3.4.5 Datování a populační vývoj

Pro rekonstrukci historického vývoje populací byl použit program Beast 1.8.4 (Drummond and Rambaut, 2007), kde byly vytvořeny Bayesian skyline grafy (BSP), vyvozující ze současného složení populace změny její efektivní velikosti v historii. Pro výpočet BSP byly použity pouze třetí pozice v kodonu genu COI, jelikož se jedná o pozici pod nejmenším vlivem selekce (např. Groom et al., 2014). Substituční model pro jednotlivé druhy byl určen programem PartitionFinder (Lanfear et al., 2012) a jako nejvhodnější modely byly vybrány následující: *Stylops ater*: HKY, *Stylops melittae*: TRN, *Stylops nassonowi*: TRN+G, *Stylops nevinsoni*: GTR, *Stylops sprete*: TRN. Analýza byla prováděna ve třech nezávislých bězích, při 100 milionech opakování a uchování každého 10 000. stromu. Kromě BSP byly v programu vygenerovány i samotné datované fylogeneze pro každý druh. Datování bylo provedeno na základě molekulárních hodin s rychlostí 1,0. Datovací škála je relativní a založená na mutační rychlosti. Ta není spolehlivě u řasníků známa, pro hrubý odhad můžeme použít mutační rychlost mitochondriální DNA zjištěnou u octomilky (*Drosophila melanogaster*), která je

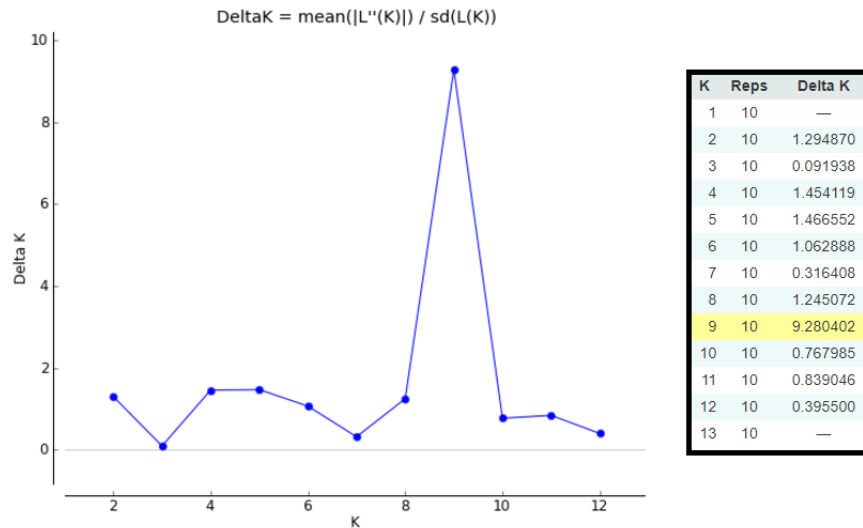
odhadnuta na $6,2 \times 10^{-8}$ mutací za generaci (Haag-Liautard et al., 2008)). Počet generací se u řasníků liší, druhy *S.spreta* a část populace *S.mellitae* mají dvě generace za rok, zatímco ostatní druhy jen jednu (Straka et al., 2015). U jednogeneračních druhů tak odpovídá hodnota 0,1 na škále cca 16 000 let, u čistě dvougeneračního druhu *S.spreta* 32 000 let a u částečně dvougeneračního druhu *S.mellitae* lze použít 1,5 násobek, tedy 24 000 let.

4. Výsledky

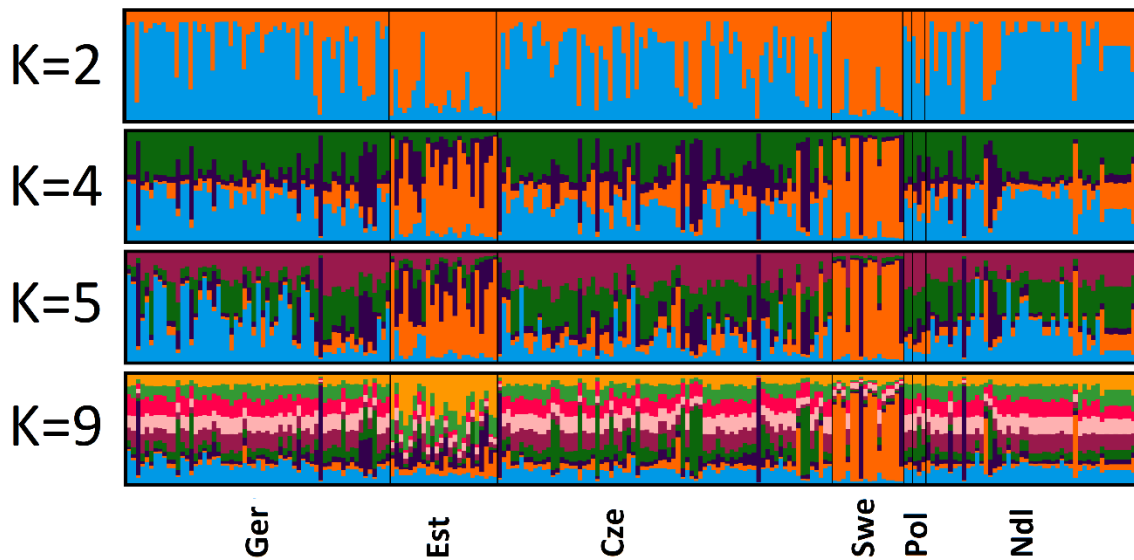
4.1 Analýza mikrosatelitů u druhu *Stylops ater*

4.1.1 Klastrovací analýza

Výsledky klastrovací analýzy vykazovaly nejvyšší hodnotu ΔK u $K=9$, poněkud vyšší i u $K=2, 4$ a 5 (viz **Obrázek 1**). S výjimkou dvou populací, a to sice z lokalit ležících na území Švédska a Estonska, se však rozložení klastrů jeví značně náhodné a nevykazující žádnou zjevnou populační strukturu. Naopak již jmenované skandinávské, respektive pobaltské klastry se jeví při většině hodnot K uniformní a jako jediné tvořené jedinci s téměř 100% pravděpodobností zařazení do dané skupiny, při vyšších hodnotách K i navzájem odlišné. (viz **Obrázek 2**). Jedinci byli rozděleni do populací podle států, neboť jednotlivé lokality v rámci nich se pravděpodobností zařazení do klastrů nelišily ani v jednom případě.



Obrázek 1.: Graf vytvořený programem Structure Harvester reprezentující hodnoty ΔK pro jednotlivé počty klastrů



Obrázek2: grafický výstup programu Structure pro vybrané hodnoty K.

(Ger=Německo, Est=Estonsko, Cze= Česká republika, Swe= Švédsko, Pol=Polsko, Ndl= Nizozemí)

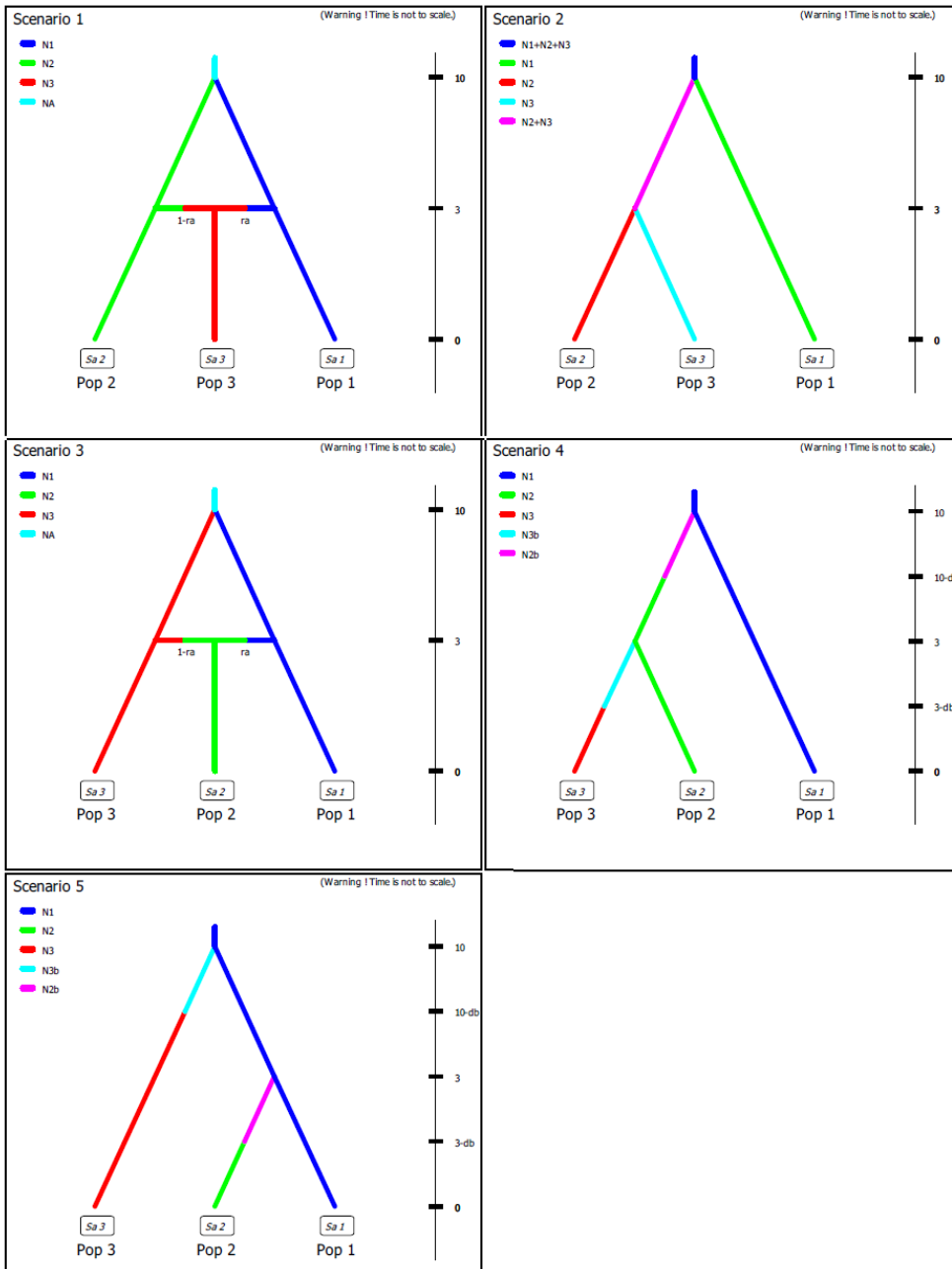
4.1.2 Approximate Bayesian Computation (ABC)

V návaznosti na výsledky klastrovací analýzy byly pro účely programu DIYABC uvažovány tři populace – první tvořená vzorky ze střední a západní Evropy, druhá z Pobaltí (Estonské lokality) a třetí skandinávská (Švédsko).

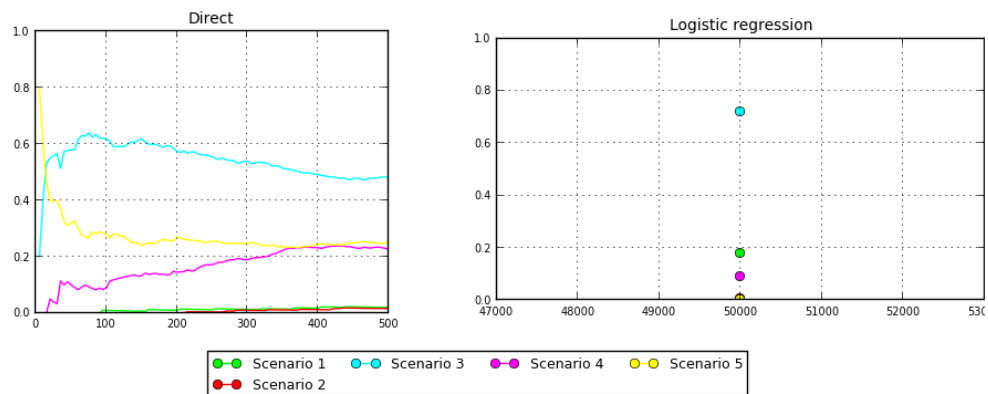
Bylo testováno celkem 5 navzájem se vylučujících scénářů populační historie (**viz obrázek 3**) První scénář ilustruje možnost, kdy došlo k oddělení pobaltské populace a teprve později by vznikla diferenciovaná skandinávská populace za přičinění jedinců z obou ostatních populací. Obdobně by topologie vypadala i v případě, že by se obě severské populace z původní vyštěpila nezávisle a při migraci by došlo ke kontaktu s pobaltskou. Scénář 2 reprezentuje možnost oddělení obou severnějších populací od zbytku a teprve následně jejich rozdělení. Tento scénář je vhodné otestovat především z důvodu, že v rámci klastrovací analýzy se obě severské populace ve většině případů vyskytují v jednom klastru. Třetí scénář znázorňuje variantu, kdy by došlo nejprve k odštěpení skandinávské linie a pobaltská by vznikla sekundárním kontaktem těchto populací. Čtvrtá varianta je analogická druhé s tím, že navíc obsahuje možnost, že s každou migrací došlo ke změně (efektivní) velikosti populace, bottleneck efektu. poslední, pátý scénář opět zohledňuje změny populační velikosti při odštěpení od mateřské linie, ale počítá s nezávislým oddělením skandinávské a pobaltské populace.

Pro samotnou analýzu bylo vygenerováno 5 milionů simulovaných populací a následně byly určeny posteriorní pravděpodobnosti jednotlivých scénářů.

Výsledky ukazují grafy na **obrázku 4**, zdaleka nejvyššího skóre dosáhl scénář číslo 3, tedy divergence skandinávské a ostatní evropské populace a jejich opětovný kontakt za vzniku pobaltské.



Obrázek 3: Testované scénáře vývoje současné populační struktury (bliže k jednotlivým viz text)

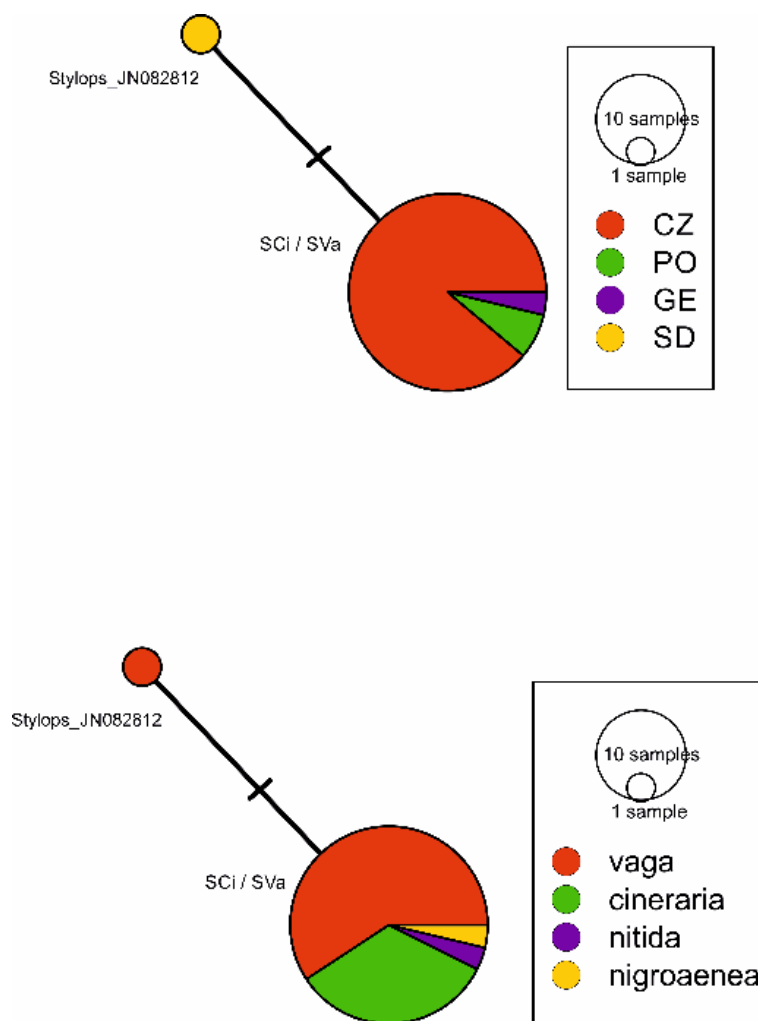


Obrázek 4: Výsledky analýzy posteriorních pravděpodobností jednotlivých populačních scénářů. Vlevo bez korelace, vpravo po logistické regresi

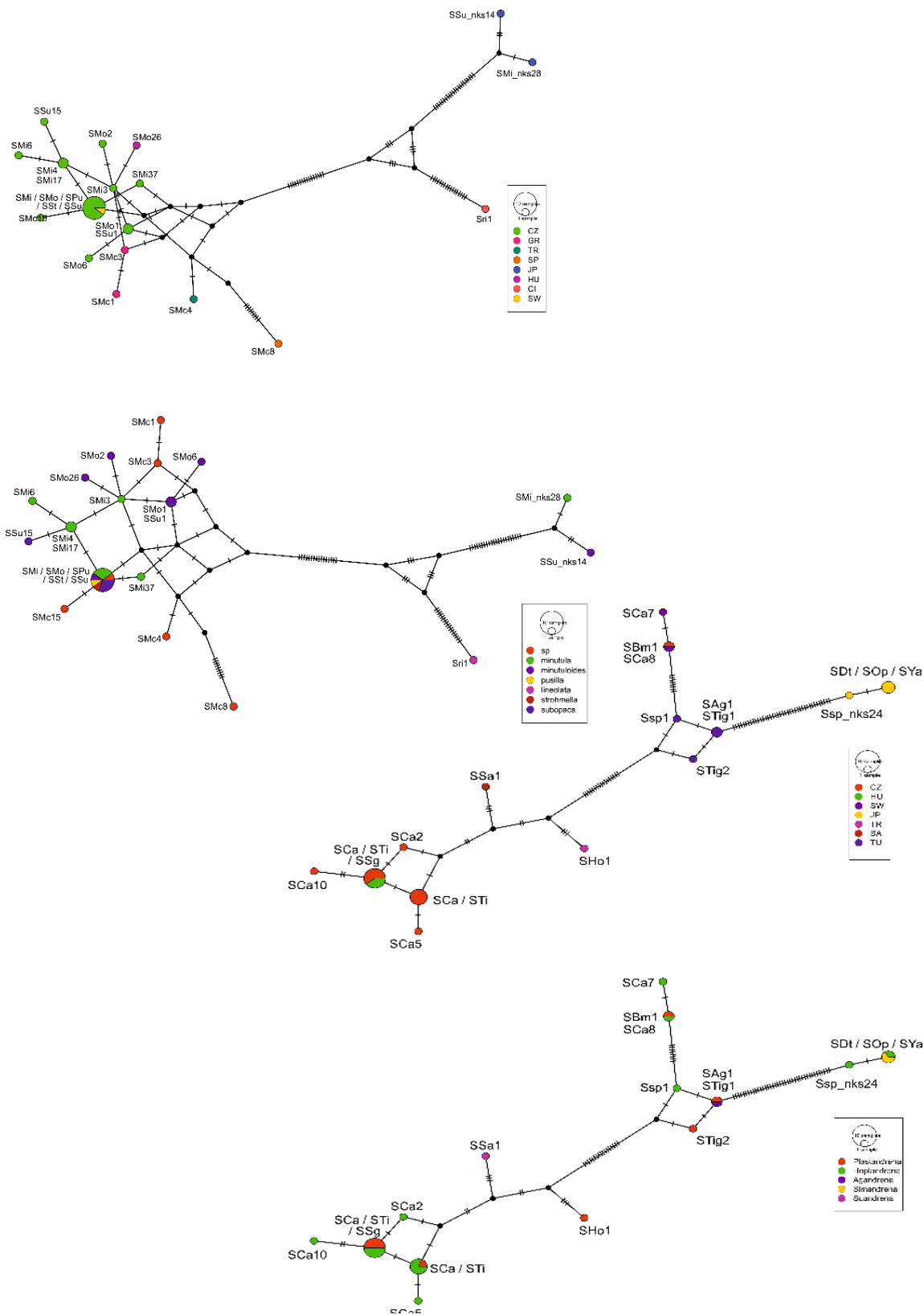
4.2 Analýza mitochondriální DNA

4.2.1 Tvorba haplotypových sítí

Haplotypové sítě získané v programu PopArt pro jednotlivé druhy se od sebe značně liší. U druhu *Stylops ater* díky malé (téměř nulové) variabilitě ve sledovaném genu žádná struktura pozorovatelná není (viz **Obrázek 5**). U druhu *Stylops spreta* a o něco méně i u *S.nassonovi* haplotypová síť nejlépe koreluje s geografickým původem jedinců, zatímco hostitelské podrody jsou distribuovány po síti relativně náhodně (viz **Obrázek 6**).

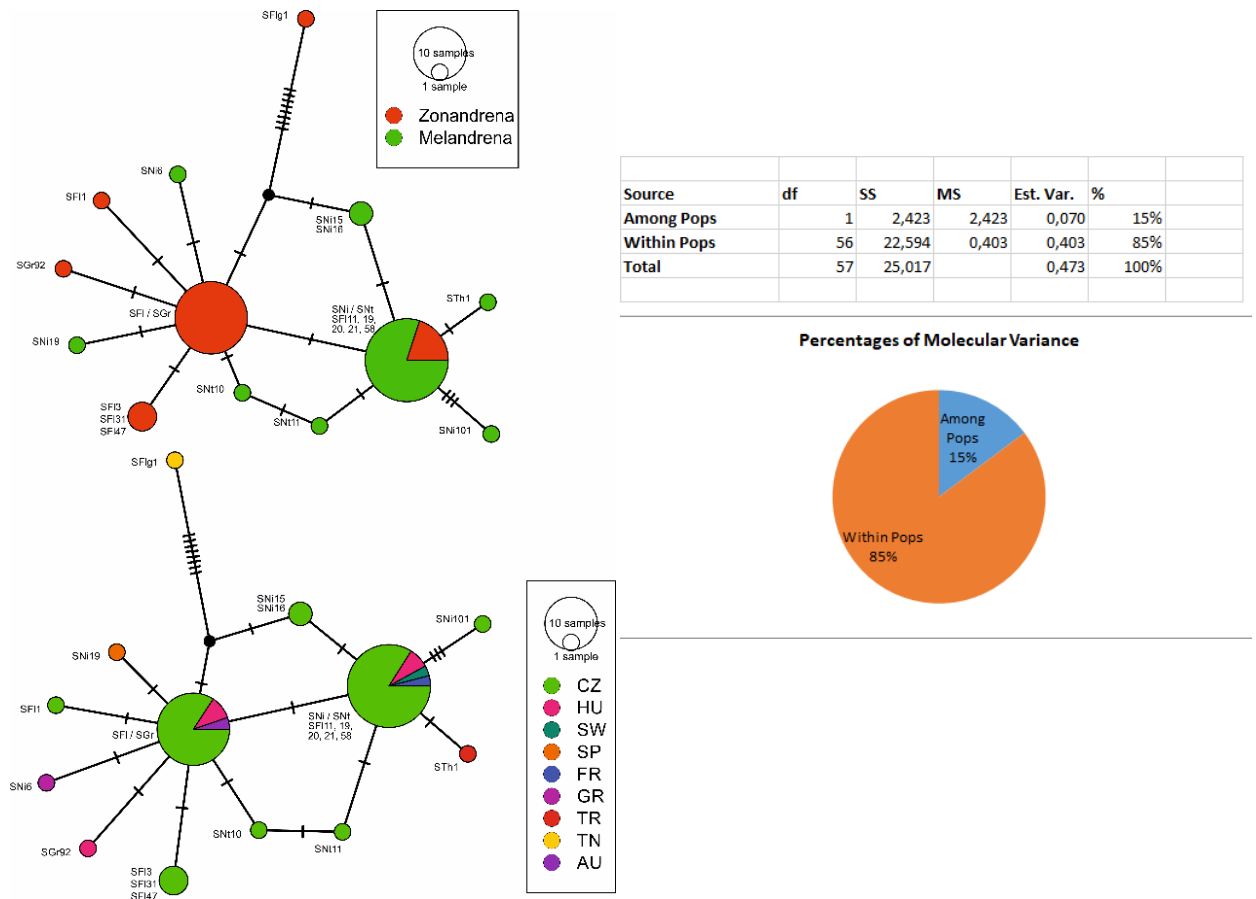


Obrázek 5: Haplotypové síť druhu *Stylops ater*, ukazující téměř nulovou sekvenční variabilitu



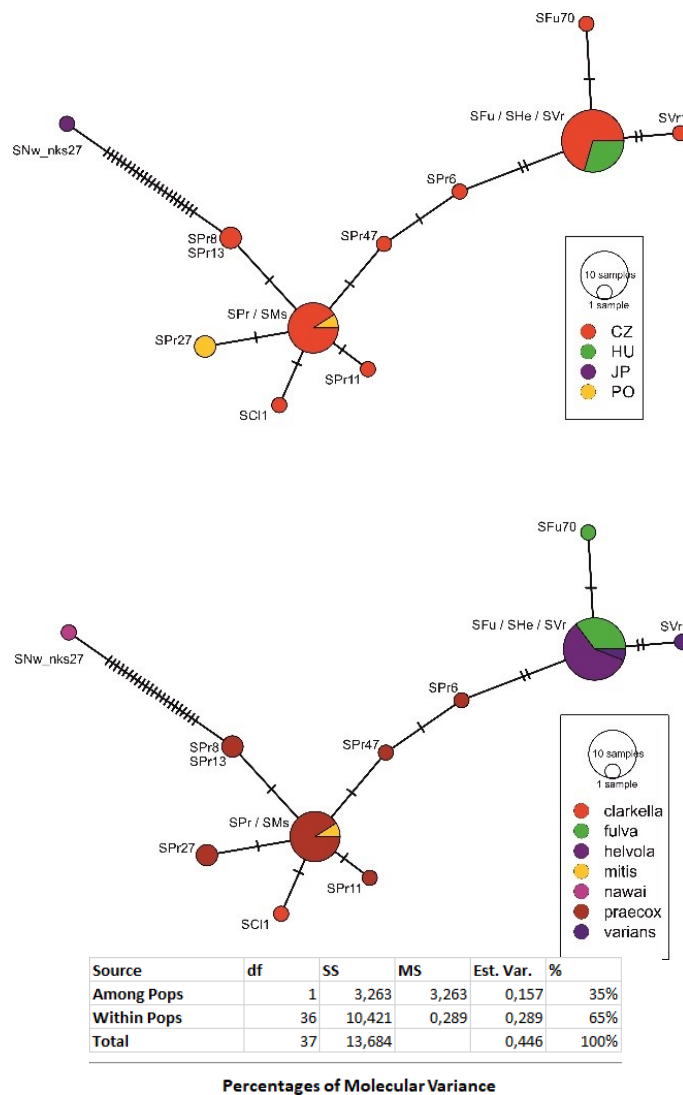
Obrázek 6: Haplotypové sítě pro druhy *Stylops spreta* (nahore) a *Stylops nassonovi* (dole)

Haplotypová struktura druhu *Stylops mellitae* na první pohled vykazuje známky korelace s hostitelskými podrody (*Melandrena* a *Zonandrena*). Výsledky testu AMOVA ukazují, že tato korelace je středně silná, pvod z hostitele určitého podrodu vysvětluje 15 % variability v datech (viz Obrázek 7).



Obrázek 7: Haplotypová síť u druhu *Stylops mellitae*, vpravo výsledky testu AMOVA při rozdělení podle podrodu hostitele

U druhu *Stylops nevinsoni* nejlépe s haplotypovou strukturou koreluje druh hostitele, respektive to, zda se jedná o hostitele s pozdnějším (*Andrena fulva*, *A. helvola*, *A. varians*) nebo časnějším (*Andrena praecox*, *A. mitis*, *A. clarkella*) obdobím aktivity v rámci roku, zde již tato veličina vysvětluje 35% variability v sekvenčních datech (viz Obrázek 8).

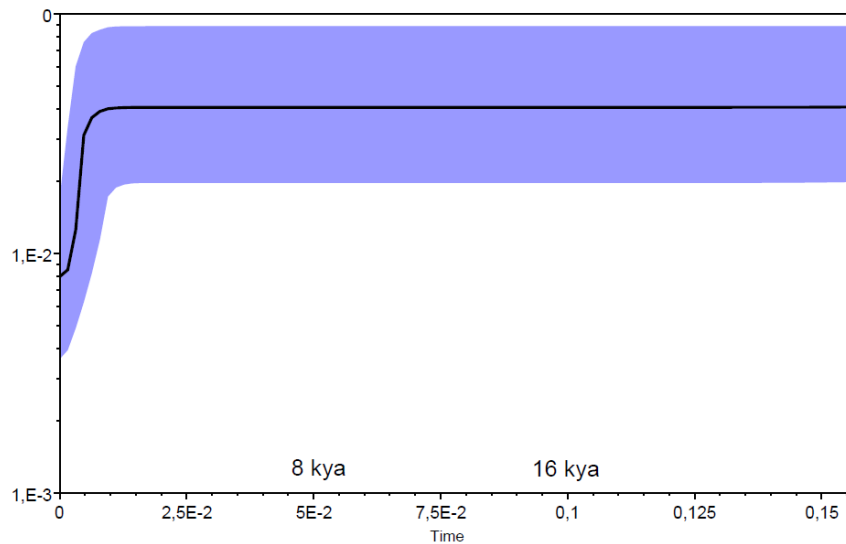


Obrázek 8: Haplotypová síť druhu *Stylops nevinsoni*, vpravo výsledky testu AMOVA při rozdělení jedinců podle druhu hostitele na časně a pozdní

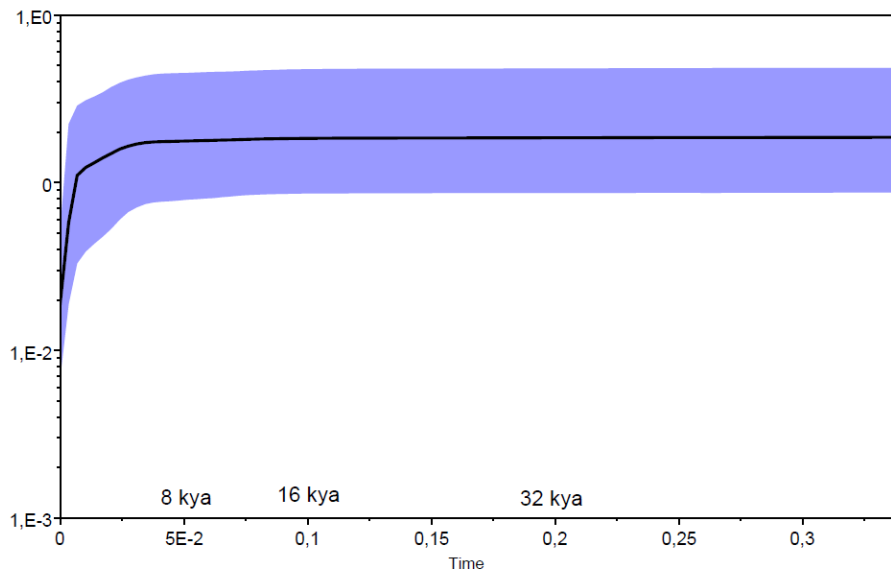
4.2.2 Datování a populační vývoj

Z demografické analýzy na základě tvorby Bayesian skyline plot vyplývá, že u všech studovaných druhů došlo v nedávné době k poklesu efektivní velikosti populace (viz obrázek 9). Doba, ve které k této redukci došlo, se na základě odhadu mutační rychlosti pohybuje mezi 2 a 8 tisíci let. Nejmarkantnější pokles byl zaznamenán u druhu *Stylops ater*, zatímco nejmenší u druhu *S.melittae*.

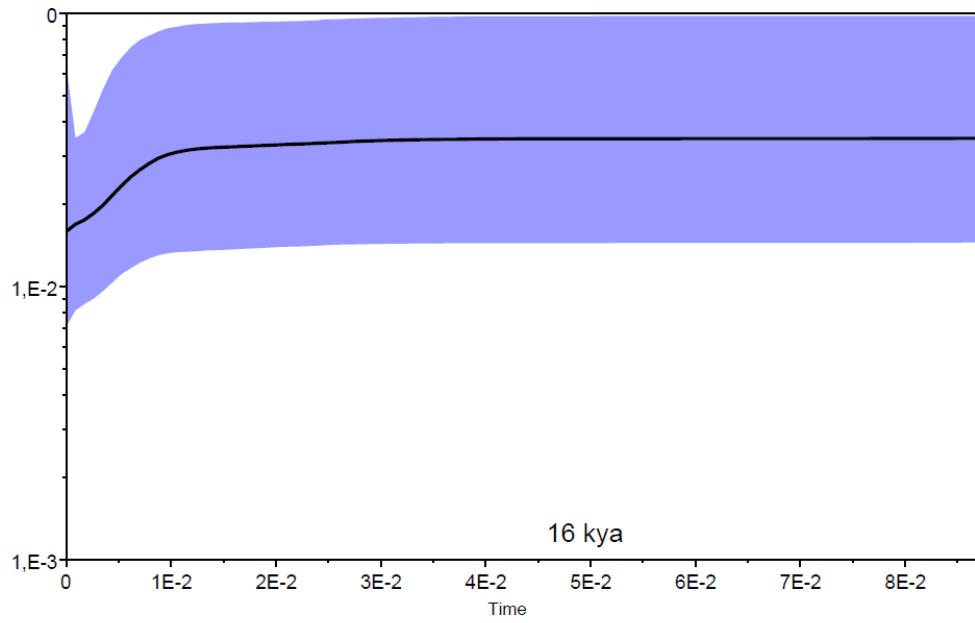
Stylops ater



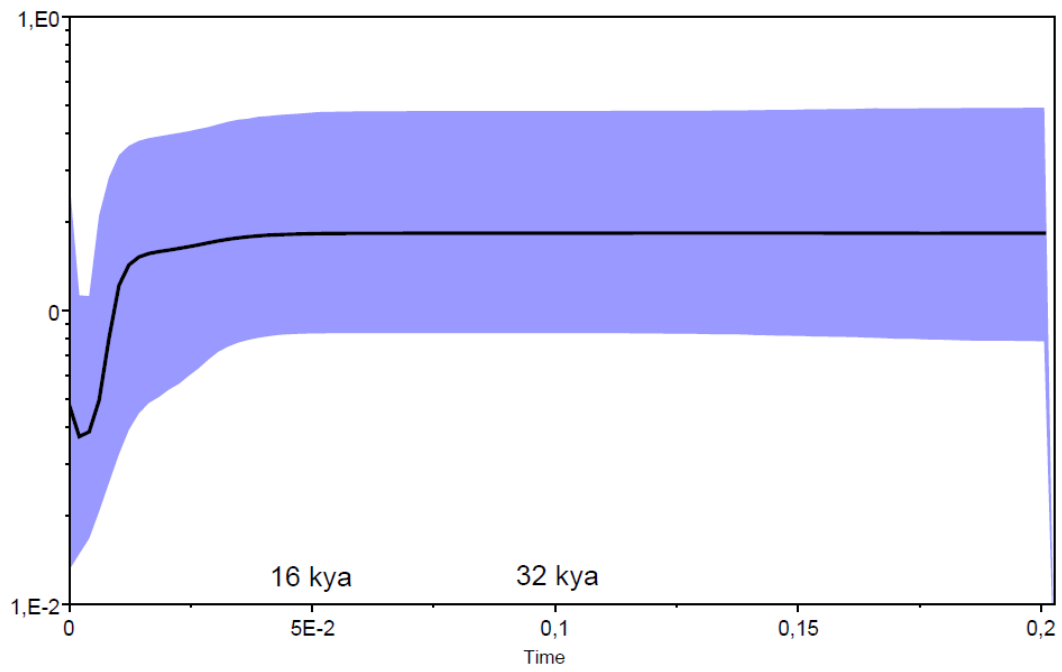
Stylops nassonowi



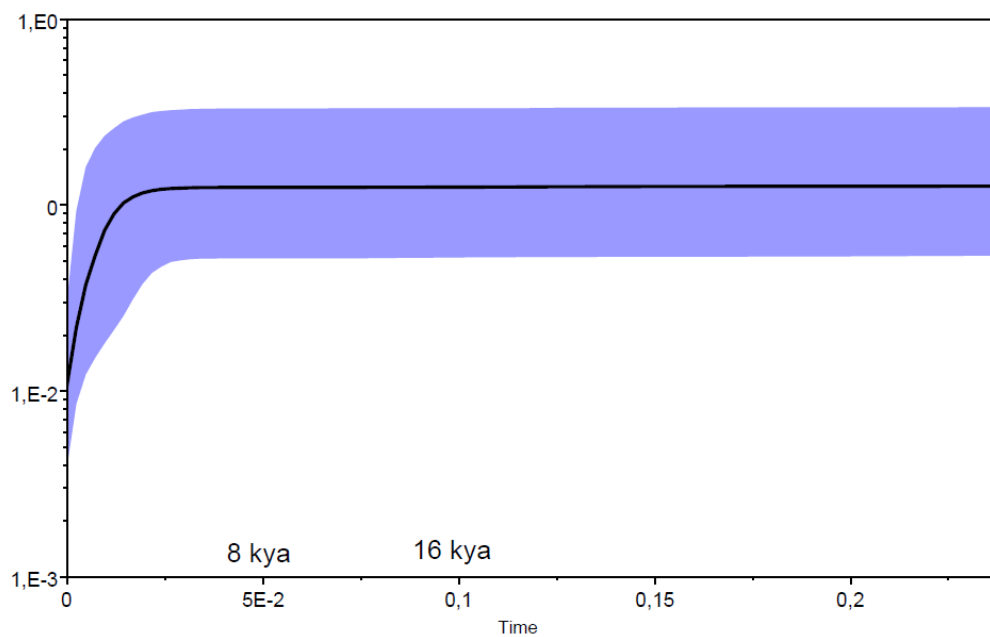
Stylops mellitae



Stylops spreta



Stylops nevinsoni



Obrázek 9: Bayesian skyline plots pro jednotlivé druhy. Časová škála je kalibrována v závislosti na životním cyklu konkrétních druhů (viz kapitola 3.4.5), kya = tisíc let zpět (kilo years ago)

5. Diskuse

5.1 Klastrovací analýza

Výsledky analýzy v programu Structure ukázaly u druhu *Stylops ater* překvapivě málo výrazné rozrůznění populací, kdy ve většině areálu výskytu (střední a západní Evropa) není žádná zjevná strukturovanost populace patrná, a to ani při malém počtu klastrů. Naopak již u $K=2$ lze pozorovat zřetelné oddělení populací vyskytujících se na území Švédska a Estonska. Při vyšším počtu požadovaných klastrů pak dochází k rozrůznění těchto populací, kdy mnohem jednoznačněji odlišená od zbytku se jeví švédská populace. Vzhledem ke geografickým souvislostem tato populační struktura naznačuje, že by se mohlo jednat o relativně nedávnou areálovou expanzi a s ní spojená redukce velikosti populace, následkem čehož by došlo k zafixování jiných frekvencí alel než ve zdrojové populaci. Další možností je určité období izolace těchto severských populací od zbytku evropské, ať už na základě geografických bariér (výskyt na Skandinávském poloostrově) nebo čistě na základě vzdálenosti (isolation by distance) (Avice, 2000).

Naopak homogenita zbytku evropské populace naznačuje, že ačkoli u parazitických organismů obvykle předpokládáme větší tendenci k vytváření výrazné populační struktury (Nieberding and Olivieri, 2007), nemusí tomu tak být vždy. Příčinou by mohla být s největší pravděpodobností schopnost migrace jedinců mezi lokalitami. I na jiných modelových systémech se ukazuje, že potenciál parazitického druhu k vytváření izolovaných populací výrazně klesá, pokud má tento druh ve svém životním cyklu disperzní stadium. Díky tomu se od sebe liší strukturovanost populace i u blízce příbuzných taxonů, kdy jeden z nich vytváří disperzní stadia a druhý ne (např. Whiteman et al., 2007). V případě řasníků lze uvažovat disperzi ve dvou případech, jednak migraci dospělých samců, jejichž disperzní potenciál u rodu *Stylops* zatím testován nebyl, jednak rozšiřování prvních instarů pomocí hostitelských včel druhu *Andrena vaga*, u kterých hraje migrace mezi lokalitami významnou roli v udržování kontinuity populační struktury v rámci středoevropské části areálu, ve které jsou pro tento druh možnosti hnízdění značně fragmentované a lokální (Černá et al., 2013).

5. 2 Aproximate bayesian computation (ABC)

Pomocí ABC byly, vzhledem k nedostatečné strukturovanosti ve většině areálu, zjištěné pomocí klastrovací analýzy testovány scénáře vývoje vztahů mezi třemi populacemi – švédskou (reprezentující Skandinávii), estonskou (Pobaltí) a zbytkem Evropy. Scénáře byly zvoleny tak, aby pokrývaly co největší spektrum možných vztahů mezi těmito populacemi. Vzhledem k větší vnitropopulační variabilitě byla za zdrojovou populaci považován evropský klastr a možnost šíření směrem ze severu tak nebyla uvažována. Jedním z možných scénářů je společný původ obou severních populací a jejich pozdější oddělení. V tom případě by tyto dvě populace byly součástí společné linie sesterské zbytku (evropskou populaci vzhledem k její nestrukturovanosti uvažujeme jako jednu linii, ačkoli by při detailnější fylogeografické analýze za použití většího množství a více typů markerů s největší pravděpodobností byla vůči skandinávské a pobaltské parafyletická). Další možností je nezávislé odštěpení skandinávské a pobaltské populace od evropské. V tom případě bychom očekávali topologii, kdy je první štěpení na skandinávskou a pobaltsko-evropskou populaci, která se rozdělí při dalším štěpení, případně štěpení Pobaltí x Skandinávie + Evropa. Poslední možností je to, že jedna z populací vznikla spojením genetického materiálu dvou ostatních. Uvažována byla také možnost změny velikosti populace v průběhu migrace.

Nejpravděpodobnějším scénářem se stala topologie naznačující oddělení skandinávské a evropské populace, jejichž spojením následně vznikla populace v Pobaltí. Tato topologie může vzniknout sekundárním kontaktem dříve oddělených populací, což by bylo v souladu s hypotézou vzniku odlišné populační struktury severovýchodních populací u tohoto druhu na základě určitého období izolace a obdobně by tento scénář vysvětloval menší odlišnost pobaltské populace od zbytku Evropy při použití vyššího počtu klastrů. Další možností, jak tuto topologii interpretovat, je větší pravděpodobnost migrace z evropské populace do Pobaltí než do Skandinávie, přičemž by výsledná topologie evolučních vztahů mezi nimi vypadala obdobně.

5.3 Haplotypové sítě mitochondriální DNA

Haplotypové sítě vytvořené v programu PopArt ukázaly velice rozdílnou míru sekvenční variability mezi zkoumanými druhy. V případě druhu *Stylops ater* byla sekvenční variabilita prakticky nulová, což může reflektovat v této práci pomocí mikrosatelitů zjištěnou homogenitu evropské populace tohoto druhu (skandinávské,

ani estonské vzorky do této analýzy ještě zahrnuty nebyly). Naopak se touto analýzou neprokázala jakákoli odlišnost jedinců izolovaných z méně častého hostitelského druhu *Andrena cineraria* a tedy ani žádné zjevné tendence ke specializaci na jeden z hostitelských druhů.

V případě druhů *Stylops spreta* a *Stylops nassonowi* haplotypová síť dobře reflektuje původ vzorků, naopak při rozdělení jedinců podle hostitelských druhů je jejich distribuce na síti více méně náhodná. U těchto druhů lze tedy při použití více markerů předpokládat tvorbu spíše geografických než hostitelsky specifických subpopulací.

U druhu *Stylops mellitae* parazitujícím pískorypky podrodů *Zonandrena* a *Melandrena* haplotypovou síť nejlépe reflektuje právě toto rozdělení. Na základě analýzy molekulární variance (AMOVA), ukazující, že variabilitu v sekvencích COI toto rozdělení vysvětlí z 11%, lze tvrdit, že zde hostitelská specializace není extrémně silná. Může to být způsobeno buď ranou fází specializace na hostitelské podrody, stejně jako určitou konstantní frekvencí přeskoků mezi hostiteli (Jůzová, 2012).

Druh *Stylops nevinsoni* v této analýze poskytl nejzajímavější výsledky. Haplotypová síť nejvíce odpovídá rozdělení na základě hostitelských druhů, nicméně rozdělení podle hostitele samo o sobě variabilitu vysvětluje slabě (AMOVA – 14%), stěžejní roli v diferenciaci populační struktury tohoto druhu hraje to, zda je jejich hostitel zástupcem druhu s časnou nebo pozdní letovou periodou v rámci roku. Toto rozdělení pak vysvětluje 35 % variability v datech. Tento druh se proto jeví jako ideální model pro studium sympatrické speciace na základě časové a nikoli prostorové segregace jedinců.

5.4 Datování a populační vývoj

Na základě analýzy v programu Beast byl u všech druhů zjištěn recentní pokles efektivní velikosti populace. Podle datování pomocí molekulárních hodin v období mezi 2 a 8 tisíci let. Roli v tomto procesu může hrát fragmentace areálu, především co do hnízdních možností v substrátu hnízdicích hostitelských druhů, a to buď na základě změn společenstev po konci posledního glaciálu (Hewitt, 1999), případně je reálná souvislost s rozvojem zemědělství a dalších antropogenních faktorů. Detailní vysvětlení tohoto fenoménu by vyžadovalo detailnější studii zahrnující více faktorů.

5.5 Možné směry dalšího výzkumu

Práce ukázala hned několik fenoménů, na jejichž studium lze navázat a patřičně naše znalosti prohloubit. V první řadě se jedná o fylogeografickou analýzu druhu *Stylops ater*, kde by bylo zajímavé za použití většího množství genetických markerů detailněji odhalit směry expanzí, případně změny velikosti populačních velikostí následkem bottleneck efektu. Kromě dalšího multiplexu mikrosatelitových markerů se nabízí variabilní intronové sekvence jaderných genů (Smith and Gaffney, 2005), případně využití next generation sekvenování na získání velkého množství SNP (jednonukleotidového polymorfismu) napříč genomem pomocí RAD sekvenování (Baxter et al., 2011; Hohenlohe et al., 2011).

Z dalších zde nastíněných jevů hlubší studium vyžaduje i potenciální případ počínající sympatrické speciace v rámci druhu *Stylops nevinsoni*, stejně tak jako hostitelská specializace u druhu *Stylops mellitae*. V těchto případech bude nezbytné rozšíření spektra analyzovaných jedinců (kromě vhodného použití dalších genetických markerů).

Dalším polem výzkumu, které se nabízí, je i koevoluční analýza ve spojení s populační genetikou hostitelských druhů, jejichž materiál je z velké části evropského areálu rozšíření již k dispozici a u některých druhů první populačně genetické studie již proběhly (Černá et al., 2013).

6. Závěr

V práci byla studována populační struktura 5 vybraných druhů řasníků rodu *Stylops* na základě analýzy mikrosatelitů a mitochondriální DNA. Použit byl multiplex 6 mikrosatelitových lokusů a mitochondriální gen pro cytochrom c oxidázu.

Za pomoci metod bayesiánského klastrování a ABC byla zjištěna populační struktura u druhu *Stylops ater* a byly poodhaleny možné mechanismy jejího vzniku.

Na základě analýzy mitochondriální DNA byla podpořena hypotéza o segregaci populací druhu *Stylops nevinsonii* na základě výskytu jejich hostitelů v čase v rámci sezóny. U druhu *Stylops mellitae* byla podpořena strukturovanost populace na základě hostitelských druhů, respektive podrodů.

U ostatních dvou druhů výsledky nasvědčují strukturování jejich populací na základě geografického výskytu.

Na základě analýzy demografické struktury populací se podařilo zjistit, že všechny studované druhy prošly v relativně nedávné době obdobím snížené početnosti populací.

7. Použitá literatura

- Avise, J.C. (2000). *Phylogeography: the history and formation of species* (Harvard university press).
- Barrett, L.G., Thrall, P.H., Burdon, J.J., and Linde, C.C. (2008). Life history determines genetic structure and evolutionary potential of host–parasite interactions. *Trends Ecol. Evol.* *23*, 678–685.
- Baxter, S.W., Davey, J.W., Johnston, J.S., Shelton, A.M., Heckel, D.G., Jiggins, C.D., and Blaxter, M.L. (2011). Linkage mapping and comparative genomics using next-generation RAD sequencing of a non-model organism. *PloS One* *6*, e19315.
- Bell, K. (2016). Coevolving histories inside and out: phylogenetics, comparative parasitology, and host affinities of chipmunk sucking lice and pinworms.
- Beutel, R.G., and Pohl, H. (2006). Endopterygote systematics – where do we stand and what is the goal (Hexapoda, Arthropoda)? *Syst. Entomol.* *31*, 202–219.
- Černá, K., Straka, J., and Munclinger, P. (2013). Population structure of pioneer specialist solitary bee *Andrena vaga* (Hymenoptera: Andrenidae) in central Europe: the effect of habitat fragmentation or evolutionary history? *Conserv. Genet.* *14*, 875–883.
- Cornuet, J.-M., Pudlo, P., Veyssier, J., Dehne-Garcia, A., Gautier, M., Leblois, R., Marin, J.-M., and Estoup, A. (2014). DIYABC v2.0: a software to make approximate Bayesian computation inferences about population history using single nucleotide polymorphism, DNA sequence and microsatellite data. *Bioinformatics* *30*, 1187–1189.
- Drummond, A.J., and Rambaut, A. (2007). BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *Bmc Evol. Biol.* *7*.
- Earl, D.A., and vonHoldt, B.M. (2011). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv. Genet. Resour.* *4*, 359–361.
- Excoffier, L. (1993). Analysis of molecular variance (AMOVA) version 1.55. Genet. Biometry Lab. Univ. Geneva Switz.
- Fraulob, M., Beutel, R.G., Machida, R., and Pohl, H. (2014). The embryonic development of *Stylops ovinae* (Strepsiptera, Stylopidae) with emphasis on external morphology. *Arthropod Struct. Dev.* 1–27.
- Groom, S.V.C., Stevens, M.I., and Schwarz, M.P. (2014). Parallel responses of bees to Pleistocene climate change in three isolated archipelagos of the southwestern Pacific. *Proc. R. Soc. B-Biol. Sci.* *281*, 20133293.
- Haag-Liautard, C., Coffey, N., Houle, D., Lynch, M., Charlesworth, B., and Keightley, P.D. (2008). Direct estimation of the mitochondrial DNA mutation rate in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Biol.* *6*, e204.

- Hall, T.A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp. Ser.* 41, 95–98.
- Hayward, A., McMahon, D.P., and Kathirithamby, J. (2011). Cryptic diversity and female host specificity in a parasitoid where the sexes utilize hosts from separate orders. *Mol. Ecol.* 20, 1508–1528.
- Hewitt, G.M. (1999). Post-glacial re-colonization of European biota. *Biol. J. Linn. Soc.* 68, 87–112.
- Hohenlohe, P.A., Amish, S.J., Catchen, J.M., Allendorf, F.W., and Luikart, G. (2011). Next-generation RAD sequencing identifies thousands of SNPs for assessing hybridization between rainbow and westslope cutthroat trout. *Mol. Ecol. Resour.* 11, 117–122.
- Johnston, J.S., Ross, L.D., Beani, L., Hughes, D.P., and Kathirithamby, J. (2004). Tiny genomes and endoreduplication in Strepsiptera. *Insect Mol. Biol.* 13, 581–585.
- Juhásová, L., Králová-Hromadová, I., Bazsalovicsová, E., Minárik, G., Štefka, J., Mikulíček, P., Pálková, L., and Pybus, M. (2016). Population structure and dispersal routes of an invasive parasite, *Fascioloides magna*, in North America and Europe. *Parasit. Vectors* 9, 547.
- Jůzová, K. (2012). Hostitelská specializace a druhová diverzita řasníků rodu *Stylops* (Strepsiptera). Master thesis. Přírodovědecká fakulta UK.
- Jůzová, K., Nakase, Y., and Straka, J. (2015). Host specialization and species diversity in the genus *Stylops* (Strepsiptera: Stylopidae), revealed by molecular phylogenetic analysis. *Zool. J. Linn. Soc.* 174, 228–243.
- Kathirithamby, J. (1989). Review of the Order Strepsiptera. *Syst. Entomol.* 14, 41–92.
- Kathirithamby, J. (1991). Strepsiptera. *Insects Aust. Textb. Stud. Res. Work.* 684–695.
- Kathirithamby, J., McMahon, D.P., Anober-Lantican, G.M., and Ocampo, V.R. (2012). An unusual occurrence of multiparasitism by two genera of Strepsiptera (Insecta) in a mango leafhopper *Idioscopus clypealis* (Lethierry) (Hemiptera: Cicadellidae) in the Philippines. *Zootaxa* 16–28.
- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., et al. (2012). Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28, 1647–1649.
- Kinzelbach, R., and Pohl, H. (1994). The fossil Strepsiptera (Insecta: Strepsiptera). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 87, 59–70.
- Kopelman, N.M., Mayzel, J., Jakobsson, M., Rosenberg, N.A., and Mayrose, I. (2015). Clumpak: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. *Mol. Ecol. Resour.* 15, 1179–1191.

- Lanfear, R., Calcott, B., Ho, S.Y.W., and Guindon, S. (2012). PartitionFinder: Combined Selection of Partitioning Schemes and Substitution Models for Phylogenetic Analyses. *Mol. Biol. Evol.* *29*, 1695–1701.
- Linsley, E.G., and MacSwain, J.W. (1957). Observations on the habits of *Stylops pacifica* Bohart. *Univ. Calif. Publ. Entomol.* *11*, 395–430.
- McCoy, K.D., Boulinier, T., Tirard, C., and Michalakis, Y. (2003). Host-Dependent Genetic Structure of Parasite Populations: Differential Dispersal of Seabird Tick Host Races. *Evolution* *57*, 288–296.
- Misof, B., Liu, S., Meusemann, K., Peters, R.S., Donath, A., Mayer, C., Frandsen, P.B., Ware, J., Flouri, T., Beutel, R.G., et al. (2014). Phylogenomics resolves the timing and pattern of insect evolution. *Science* *346*, 763–767.
- Nakase, Y., and Kato, M. (2013). Cryptic diversity and host specificity in giant *Xenos* strepsipterans parasitic in large *Vespa* hornets. *Zoolog. Sci.* *30*, 331–336.
- Nieberding, C.M., and Olivieri, I. (2007). Parasites: proxies for host genealogy and ecology? *Trends Ecol. Evol.* *22*, 156–165.
- Nieberding, C., Morand, S., Libois, R., and Michaux, J.R. (2004). A parasite reveals cryptic phylogeographic history of its host. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* *271*, 2559–2568.
- Pariselle, A., Boeger, W.A., Snoeks, J., Bilong Bilong, C.F., Morand, S., and Vanhove, M.P. (2011). The monogenean parasite fauna of cichlids: a potential tool for host biogeography. *Int. J. Evol. Biol.* *2011*.
- Peakall, R.O.D., and Smouse, P.E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Resour.* *6*, 288–295.
- Pohl, H., and Beutel, R.G. (2008). The evolution of Strepsiptera (Hexapoda). *Zoology* *111*, 318–338.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., and Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* *155*, 945–959.
- Šmíd, J., Carranza, S., Kratochvíl, L., Gvoždík, V., Nasher, A.K., and Moravec, J. (2013). Out of Arabia: A Complex Biogeographic History of Multiple Vicariance and Dispersal Events in the Gecko Genus *Hemidactylus* (Reptilia: Gekkonidae). *PLoS ONE* *8*, e64018.
- Smith, P.J., and Gaffney, P.M. (2005). Low genetic diversity in the Antarctic toothfish (*Dissostichus mawsoni*) observed with mitochondrial and intron DNA markers. *Ceamlr Sci.* *12*, 43–51.
- Štefka, J., Hoeck, P.E., Keller, L.F., and Smith, V.S. (2011). A hitchhikers guide to the Galápagos: co-phylogeography of Galápagos mockingbirds and their parasites. *BMC Evol. Biol.* *11*, 284.

Straka, J., Jůzová, K., and Nakase, Y. (2015). Nomenclature and taxonomy of the genus *Stylops* (Strepsiptera): An annotated preliminary world checklist. *Acta Entomol. Musei Natl. Pragae* 55, 305–332.

Szymura, J.M., and Barton, N.H. (1986). Genetic analysis of a hybrid zone between the fire-bellied toads, *Bombina bombina* and *B. variegata*, near Cracow in southern Poland. *Evolution* 1141–1159.

Whiteman, N.K., Kimball, R.T., and Parker, P.G. (2007). Co-phylogeography and comparative population genetics of the threatened Galápagos hawk and three ectoparasite species: ecology shapes population histories within parasite communities. *Mol. Ecol.* 16, 4759–4773.

popart.(popart.otago.ac.nz)