

Trofički odnosi pauka u mediteranskim maslinicima i vinogradima analizirani metodom DNA metabarkodiranja

Anđelić Dmitrović, Barbara

Doctoral thesis / Disertacija

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:276721>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-06-30**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu

PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

Barbara Anđelić Dmitrović

**TROFIČKI ODNOSI PAUKA U
MEDITERANSKIM MASLINICIMA I
VINOGRADIMA ANALIZIRANI METODOM
DNA METABARKODIRANJA**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2022.



University of Zagreb

FACULTY OF SCIENCE
DEPARTMENT OF BIOLOGY

Barbara Anđelić Dmitrović

**SPIDER TROPHIC INTERACTIONS IN
MEDITERRANEAN OLIVE GROVES AND
VINEYARDS ANALYZED USING DNA
METABARCODING**

DOCTORAL DISSERTATION

Zagreb, 2022.

Ovaj doktorski rad je izrađen na Biološkom odsjeku, Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod vodstvom dr. sc. Lucije Šerić Jelaske, u sklopu Sveučilišnog poslijediplomskog doktorskog studija Biologije pri Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Doktorski rad izrađen je uz novčanu potporu Hrvatske zaklade za znanost u sklopu uspostavnog-istraživačkog projekta „Neonikotinoidi i bakar u mediteranskoj poljoprivredi – učinci na neciljanu faunu beskralješnjaka kroz trofičke interakcije“ voditeljice dr. sc. Lucije Šerić Jelaske.

Lucija Šerić Jelaska, viša je znanstvena suradnica zaposlena na Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Zagrebu. Na istoimenom fakultetu je doktorirala na temu ekologije u šumskim ekosustavima. Kao postdoktorandica odlazi na Sveučilište u Cardiffu, u Velikoj Britaniji, gdje istražuje trofičke odnose kukaca koristeći suvremene tehnologije i metode molekularne biologije. Trenutačno je voditeljica projekta MEDITERATRI (HRZZ), EntoCryoArk (HAZU) i projekta razvoja praćenja saproksilnih NATURA 2000 kornjaša (OPKK). Na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu sudjeluje u izvođenju kolegija "Zoologija", "Uvod u forenzičku biologiju", "Osnove molekularne ekologije" te predaje "Forenzičnu entomologiju" na Veterinarskom fakultetu u Zagrebu. Koautorica je sveučilišnog udžbenika „Entomologija – znanost o kukcima“. Aktivno je sudjelovala u radu Hrvatskog entomološkog društva i njegovog časopisa Entomologia Croatica te bila tajnica Hrvatskog ekološkog društva. Autorica je brojnih znanstvenih radova objavljenih u prestižnim časopisima. Sudjelovala je na brojnim međunarodnim znanstvenim skupovima kroz izlaganja, ali i kao član organizacijskih i znanstvenih odbora.

ZAHVALE

Hvala mojoj mentorici dr. sc. Luciji Šerić Jelaska na stručnom vodstvu tijekom doktorskog studija te izrade doktorske disertacije. Hvala na svim znanstvenim i stručnim savjetima te pomoći tijekom svih faza istraživanja koji su značajno doprinijeli izradi mog doktorskog rada.

Hvala svim kolegama s MEDITERATRI projekta, dr. sc. Tomislavu Kosu, dr.sc. Mišelu Jeliću te Lari Ivanković Tatalović na pomoći tijekom terenskih i laboratorijskih istraživanja, ali i na svim stručnim savjetima i riječima podrške tijekom izrade ove doktorske disertacije.

Hvala Domagoju Gajskom na stručnoj i prijateljskoj pomoći!

Hvala Lari za sve jutarnje kave koje su me čekale. Hvala Andreji na najfinijim marendama i za sve knjiške i ostale ćakule. Hvala mojoj Dori što me uvijek gurala naprijed. Hvala Leoni, Mateju i Pavelu na pomoći i podršci.

Hvala svim mojim Šibenčankama, Petri, Dini, Gabi što su bile sa mnom na svim dionicama ovog puta.

Hvala mojoj obitelji. Najveće hvala mojoj majci, sestri i Nikoli na bezuvjetnoj ljubavi i podršci. Bez vas ništa pa ni ovo ne bi bilo moguće. Hvala Arianu.

Ovu doktorsku disertaciju posvećujem svojim roditeljima.

Trofički odnosi pauka u mediteranskim maslinicima i vinogradima analizirani metodom DNA
metabarkodiranja

Barbara Anđelić Dmitrović

Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet

U poljoprivrednim ekosustavima pauzi su među najvažnijim grabežljivcima i igraju važnu ulogu u biološkoj kontroli kukaca nametnika na biljnim kulturama. Koriste različite tehnike lova, uključujući aktivni lov i pasivnu grabežljivost što utječe na složenost njihovih trofičkih odnosa. Istraživanje složenih trofičkih mreža olakšano je razvojem metoda molekularne biologije u analizi okolišne DNA. Prilikom analize trofičkih odnosa metodom DNA metabarkodiranja važna je istraženost faune određenog područja te potpunost relevantnih baza podataka. Za utvrđivanje trofičkih interakcija paukova uzorkovanje jedinki paukova i ostale faune beskrležnjaka provedeno je u maslinicima i vinogradima na području Zadarske županije. DNA barkodiranje korišteno je za analizu raznolikosti beskrležnjaka, a DNA metabarkodiranje za izgradnju trofičkih mreža pauka. Analiza raznolikosti potvrdila je brojne vrste jedinstvene za područje istraživanja. Metabarkodiranje je potvrdilo složene trofičke mreže zajednice pauka sa značajnim sezonskim varijacijama i varijacijama ovisno o staništu. Osim toga, naši su rezultati otkrili kako se pauzi hrane nametnicima na biljkama, te da tip upravljanja i tehnika lova određuju njihov potencijal u biološkoj kontroli.

(111 stranica, 20 slike, 15 tablica, 209 literaturnih navoda, jezik izvornika hrvatski)

Ključne riječi: biološka kontrola, citokrom c oksidaza, DNA metabarkodiranje, okolišna DNA, pauzi, raznolikost, trofičke mreže

Mentor: Dr. sc. Lucija Šerić Jelaska, viša znanstvena suradnica

Ocjenjivači: 1. Dr. sc. Sunčica Bosak, izvanredna profesorica

2. Dr. sc. Vlatka Čubrić Čurik, redovita profesorica

3. Dr. sc. Branka Bruvo Mađarić, znanstvena suradnica

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Doctoral thesis

Spider trophic interactions in Mediterranean olive groves and vineyards analyzed using DNA
metabarcoding

Barbara Anđelić Dmitrović

Department of Biology, Faculty of Science

In agricultural systems, spiders are among the most important predators and play a vital role in controlling insect pests. Spiders, as a group, employ a variety of hunting tactics, including active hunting and passive web-waiting, which affect their food webs.. The advent of molecular biology techniques for the environmental DNA analysis has facilitated the study of such complex trophic networks, while knowledge about local fauna and filling the relevant databases with species with Mediterranean distribution are crucial. A sampling of spider species and other invertebrate species was done in the olive orchards and vineyards of Zadar County in order to determine the trophic relationships of spiders. We used DNA barcoding for invertebrate's diversity analysis and DNA metabarcoding for building spiders' trophic networks. Diversity analysis confirmed that many species were unique to the study region. DNA metabarcoding confirmed that spiders have a complex trophic network with significant seasonal and site-dependent variation. Additionally, results confirmed spiders consume pests, but the pest management type and guild they belong to determines their biocontrol capability.

(111 pages, 20 figures, 15 tables, 209 references, original in croatian)

Keywords: biological control, cytochrome c oxidase, diversity, DNA metabarcoding, environmental DNA, spiders, trophic networks

Supervisor: Dr. Lucija Šerić Jelaska, Senior Scientific Associate

Reviewers: 1. Dr. Sunčica Bosak, Associate Professor
2. Dr. Vlatka Čubrić Čurik, Full Professor
3. Dr. Branka Bruvo Mađarić, Research Associate

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1 Ciljevi i hipoteze.....	3
2. LITERATURNI PREGLED	5
2.1 Pauci (Arahnida, Araneae)	5
2.1.1 Trofička ekologija pauka.....	5
2.1.2 Uloga pauka u biološkoj kontroli	8
2.1.3 Utjecaj gospodarenja poljoprivrednim površinama na zajednicu pauka	9
2.2 DNA barkodiranje.....	10
2.2.1 DNA barkodiranje u svrhu procjene bioraznolikosti u mediteranskoj biogeografskoj regiji.....	12
2.2.2 DNA barkodiranje pauka (Arahnida, Araneae).....	13
2.3 Primjena metabarkodiranja eDNA u trofičkoj ekologiji.....	14
3. MATERIJALI I METODE.....	17
3.1 Područje istraživanja i metode uzorkovanja beskralježnjaka	17
3.2 Morfološko određivanje beskralježnjaka.....	22
3.3 Metoda DNA barkodiranja.....	22
3.3.1 Izolacija ukupne genomske DNA.....	22
3.3.2 Umnažanje DNA i određivanje primarne strukture DNA	23
3.3.3 Uređivanje i sravnavanje dobivenih sekvencija i bioinformatička obrada podataka	24
3.3.4 Rarefakcijske krivulje temeljene na broju jedinki.....	26
3.4 Metoda DNA metabarkodiranja	26
3.4.1 Izolacija eDNA iz probavila.....	26
3.4.2 Umnažanje eDNA iz probavila, priprema biblioteke i sekvenciranje nove generacije.....	27
3.4.3 Bioinformatička obrada i analiza podataka	31
3.4.4 Statistička i grafička obrada podataka	32
3.5 PCR dijagnostika.....	33
3.5.1 PCR dijagnostika- <i>Bactrocera oleae</i>	35
3.5.2 PCR dijagnostika- Collembola	36
4. REZULTATI.....	38
4.1 4.1. DNA barkodiranje.....	38
4.1.1 4.1.1. DNA barkodiranje beskralježnjaka mediteranskih maslinika i vinograda s ciljem procjene biološke raznolikosti	38
4.1.2 Učinkovitost DNA barkodiranja, taksonomsko određivanje vrsta i dodjela <i>Barcode Index Number</i> ... 38	
4.1.3 Određivanje pauka putem DNA barkodova	43
4.2 PCR dijagnostika <i>B. oleae</i> i Collembola u sadržaju probavila pauka.....	49
4.3 DNA Metabarkodiranje	49
4.3.1 Početnice- izvedba.....	49
4.3.2 Analiza prehrane jedinki pauka	50
4.3.3 Raznolikost plijena u probavilu pauka	55
4.3.4 Biološki potencijal pauka u kontroli kukaca nametnika.....	57
4.3.5 Odabir plijena u maslinicima.....	61
4.4 Primjena rezultata DNA barkodiranja pri analizi rezultata DNA metabarkodiranja trofičkih odnosa	64
5. RASPRAVA	66

5.1	DNA barkodiranje potencijalnog plijena u mediteranskim vinogradima i maslinicima...	66
5.2	DNA barkodiranje pauka	68
5.3	Trofički odnosi pauka analizirani metodom DNA metabarkodiranja	68
5.4	Primjena rezultata barkodiranja u interpretaciji rezultata metabarkodiranja.....	72
6.	<i>ZAKLJUČAK</i>	74
7.	<i>LITERATURA</i>	75
8.	<i>PRILOZI</i>	95
9.	<i>ŽIVOTOPIS</i>	108

1. UVOD

Mediteranska staništa imaju veliku bioraznolikost (Myers i sur., 2000.; Cox i sur., 2011.) iako čine mali dio ukupnih kopnenih ekosustava. Mediteranski kopneni ekosustavi su nedovoljno biološki istraženi, što uključuje i poljoprivredne ekosustave u mediteranskoj biogeografskoj regiji. Noviji pristupi, kao što su DNA barkodiranje (Hebert i sur., 2003.) i metabarkodiranje (Taberlet i sur., 2012.), mogu pomoći znanstvenicima da bolje razumiju biološku raznolikost mediteranskih poljoprivrednih ekosustava i složene ekološke veze u takvim ekosustavima.

Pauci (Araneae) su dominantni grabežljivci među člankonošcima (Coddington i Colwell, 2000.; Gregorič i sur. 2020.), brojni u mnogim ekosustavima zahvaljujući sposobnosti da koloniziraju različita područja (Nyffeler i Sunderland, 2003.). Istraživanje trofičke ekologije pauka važno je za razumijevanje odabira plijena, evolucije hvatanja plijena, u određivanju čimbenika koji reguliraju brojnost i raznolikost pauka u određenim staništima te uloge pauka u dinamici zajednice člankonožaca, uključujući biološku kontrolu kukaca koji uzrokuju štete na usjevima (Wilder, 2011.). Pauci se hrane različitim vrstama šesteronošaca (Hexapoda) s višestrukih trofičkih razina (Scheu, 2001.) te tako povezuju nadzemne i podzemne trofičke mreže (Toju i Baba, 2018.). Veličina tijela pauka te veličina populacije ovisna je o količini dostupne biomase plijena (Miyashita i sur., 2003.), a određene skupine beskralježnjaka, poput skokuna, mogu im biti značajan izvor hrane (McNabb i sur., 2001.; Toju i Baba, 2018.; Parimuchová i sur., 2021.).

Za ovo istraživanje trofičkih odnosa pauka odabrano je pet porodica, Lycosidae, Gnaphosidae, Araneidae, Thomisidae i Oxyopidae s obzirom na to da zauzimaju različite ekološke niše i slojeve vegetacije, primjenjuju različite tehnike love te s obzirom na njihovu učestalost u poljoprivrednim staništima. Pauci iz porodica Lycosidae i Gnaphosidae pripadaju fauni tla. Lycosidae ne grade mreže za hvatanje plijena, već ih aktivno love danju, a karakterizira ih veličina tijela i do četiri centimetra (Cardoso i sur., 2011.; Mullen, 2002.; Wilder, 2011). Vrste iz porodice Gnaphosidae su prisutne u različitim tipovima staništa (Weeks i sur., 2000.), te su tipične za mediteranska staništa (Cardoso i sur., 2007.). Gnaphosidae kao noćno aktivni pauci natječu se za hranu s drugim grabežljivim člankonošcima aktivnim noću, poput trčaka (Coleoptera, Carabidae). Sowa i sur. (2020.) su utvrdili trčke u ishrani i time potvrdili hranidbene interakcije unutar iste trofičke razine (engl. *intraguild* grabežljivost). Također pauci iz ove porodice preklapaju se i u odabiru plijena s paucima porodice Lycosidae (Weeks i sur., 2000.). Za razliku od jedinki iz porodica Lycosidae i

Gnaphosidae koji aktivno love svoj plijen po tlu, pauci iz porodice Araneidae pletu vertikalne sferne mreže (Cardoso i sur., 2011.). Samiayyan (2014.) navodi njihov potencijal u biokontroli kukaca nametnika na biljkama zajedno s paucima porodica Thomisidae, Lycosidae, Oxyopidae, Eresidae, Clubionidae i Hersilidae. Nentwiga (1983.) je u svom istraživanju utvrdio veliki udio fitofagnih i detritofagnih beskralježnjaka u ishrani paukova uz prevladavanje fitofaga na poljoprivrednim staništima. Oxyopidae, kao i Araneidae, dio su faune na vegetaciji, ali za razliku od pauka porodice Araneidae ne pletu mreže već plijen love na biljkama niskog rasta. Vrste ove porodice globalno su rasprostranjene te učestale na poljoprivrednim površinama (Hagen i sur., 1999.). Usprkos tome što sudjeluju u biokontroli kukaca nametnika na biljkama, mogu imati i negativan učinak na biološku kontrolu kroz *intraguild* grabežljivost, hraneći se drugim paucima i ostalim grabežljivim vrstama (Nyffeler i sur., 1992.; Rostami i sur., 2018.). Također, i pauci iz porodice Thomisidae obitavaju na niskom bilju gdje svoj plijen love iz zasjede (engl. *sit and wait*) (Elias i sur., 2011.).

Određene porodice pauka mogu kontrolirati brojnost kukaca nametnika na biljkama (Young i Edwards, 1990.; Marc i Canard, 1997.; Hagen i sur., 1999.; Samiayyan, 2014.; Cuff i sur., 2021.; Barreira i sur., 2021.), te s obzirom da zauzimaju različite slojeve vegetacije (Buchholz, 2009.; Katušić, 2017.) i love plijen s različitih ekoloških i trofičkih razina mogu dati dobar uvid u dinamiku zajednice člankonožaca u istraživanom ekosustavu. Upravo iz razloga što pauci primjenjuju različite tehnike lova te zauzimaju brojne slojeve vegetacije, zonu tla, polja grmlja te stabla (Duffey, 1966.; Katušić, 2017.), za utvrđivanje njihovih trofičkih odnosa metodama molekularne biologije potrebno je poznavati faunu istraživanog staništa i ukupnu biološku raznolikost područja uključujući i genetsku raznolikost.

Zbog nepotpunosti baza genetskih sekvencija, poput GenBank (National Center for Biotechnology Information, NCBI) te „Barcode of Life“ (BOLD) baze (Kennedy i sur., 2020.), veliki se udio sekvencija može pridružiti tek višim taksonomskim kategorijama što dodatno otežava istraživanje trofičkih interakcija putem metodologije okolišne DNA (engl. *environmental* DNA, eDNA). Istraživanje De Leon i sur. (2020.) ukazuje na potrebu stvaranja lokalnih baza podataka s obzirom da globalni rezultati ne omogućavaju određivanje vrsta i/ili haplotipova s užim arealom. Stoga istraživanju trofičkih odnosa trebaju prethoditi istraživanja raznolikosti beskralježnjaka te DNA barkodiranje potencijalnog plijena grabežljivih člankonožaca na istraživanom području.

U sklopu MEDITERATRI projekta (HRZZ-UIP-2017-05) primjenom metode DNA metabarkodiranja utvrditi će se ukupna ishrana predatorskih beskrležnjaka, a moje doktorsko istraživanje u fokus stavlja trofičke odnose pauka. Ovo su prva istraživanja trofičkih odnosa beskrležnjaka *in situ* primjenom metodologije okolišne DNA i DNA metabarkodiranja u Hrvatskoj te je ovo ujedno i prvo istraživanje trofičkih odnosa pauka primjenom metodologije DNA metabarkodiranja u Hrvatskoj, s naglaskom na mediteransko biogeografsko područje. Korištenje DNA metabarkodiranja dati će opsežniji uvid u složene trofičke mreže u odnosu na ranija istraživanja te olakšati i usmjeriti buduća istraživanja koja za cilj imaju razvoj biološke kontrole kukaca nametnika na biljkama.

1.1 Ciljevi i hipoteze

Glavni ciljevi istraživanja su utvrditi raznolikost pauka i njihovog plijena putem DNA barkodiranja, te trofičke odnose zajednice pauka putem DNA metabarkodiranja. Područje istraživanja obuhvaća mediteranske maslinike i vinograde, te prirodna staništa s hrastom crnikom i borovicom na području Zadarske županije.

Specifični ciljevi su:

- i. utvrditi raznolikost vrsta i genetsku raznolikost odabranih skupina beskrležnjaka u mediteranskim vinogradima, maslinicima i prirodnom staništu;
- ii. utvrditi trenutno stanje podataka u bazama NCBI GenBank i BOLD, kao osnove za provođenje eDNA istraživanja u mediteranskim kopnenim ekosustavima te utvrditi skupine beskrležnjaka s nedovoljnom zastupljenošću podataka i sekvencija u bazama za mediteransku biogeografsku regiju;
- iii. odrediti sastav plijena u probavilu pauka i njihov potencijal u biološkoj kontroli kukaca nametnika na biljkama;
- iv. usporediti sastav plijena između različitih porodica pauka s različitim strategijama lova i ekološkim nišama;
- v. utvrditi utjecaj upravljanja poljoprivrednim staništem na sastav različitih tipova plijena u probavilu pauka;

- vi. usporediti ishranu pauka s ostalim grabežljivim skupinama s kojima mogu doći u natjecanje za hranu na istraživanim plohama.

Postavljene su sljedeće hipoteze:

- i. kod istraživanih skupina beskralježnjaka postoji velika genetska raznolikost unutar mediteranske biogeografske regije;
- ii. na istraživanom području postoje brojne vrste koje nisu navedene u bazama podataka BOLD i NCBI GenBank, te se radi o novim nalazima za navedene baze;
- iii. zbog svoje brojnosti u staništima u mediteranskoj biogeografskoj regiji, pauci kao grabežljivci su bitan čimbenik u trofičkim interakcijama te u poljoprivrednim ekosustavima mogu sudjelovati u biološkoj kontroli kukaca nametnika na biljkama;
- iv. prisutnost određenih skupina plijena važna je za održavanje populacija i zajednica pauka u navedenim ekosustavima, a različite tehnike love te ekološke niše u kojima su vrste pauka prisutne utječu na njihov odabir plijena;
- v. tip upravljanja poljoprivrednim površinama utječe na trofičke odnose pauka;
- vi. pauci su grabežljivi nad kukcima koji uzrokuju štete na usjevima unutar mediteranskih maslinika i vinograda.

2. LITERATURNI PREGLED

2.1 Pauci (Arahnida, Araneae)

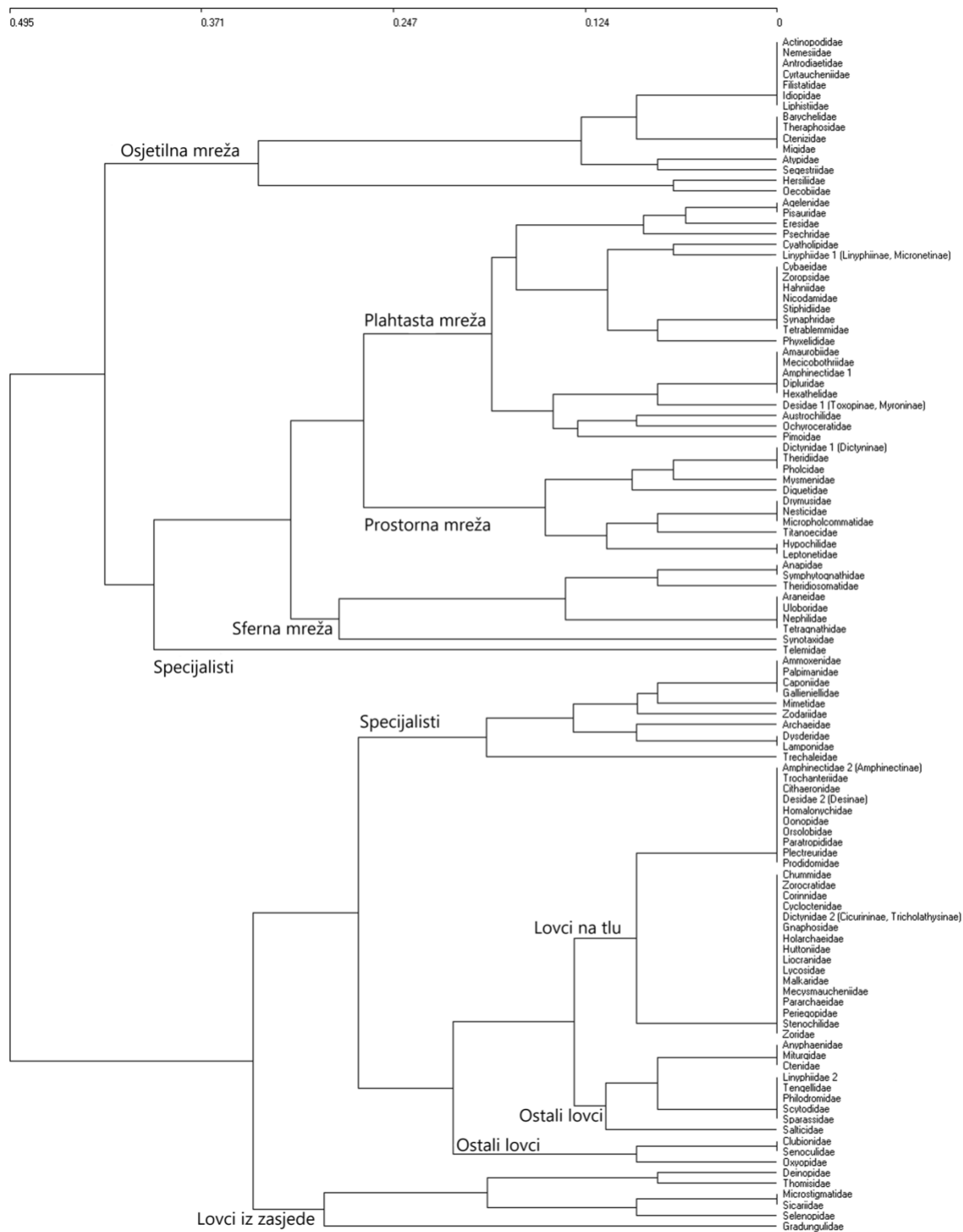
Pauci su među najzastupljenijim i najraznolikijim grabežljivcima u svim vrstama kopnenih staništa diljem svijeta. Vrstama su jedan od najbogatijih redova, s ukupno 113 porodica, 4033 roda i 46499 zabilježenih i opisanih vrsta (Selden, 2017.). Pauci su za razliku od ostalih svojiti s visokom biološkom raznolikošću isključivo grabežljivci, dok kod kukaca i grinja visoka bioraznolikost moguće proizlazi iz raznolikosti u trofičkim strategijama (Samiayyan, 2014.). Pauci su prisutni u različitim vrstama okoliša, od prirodnih staništa, djelomično prirodnih staništa, do poljoprivrednih ekosustava i drugih izmijenjenih staništa (Kubiak i sur., 2022.).

2.1.1 Trofička ekologija pauka

Većina pauka su prema vrsti plijena polifagni i generalisti, te se hrane člankonošcima, kukcima i drugim paucima. Na važnost trofičkih odnosa pauka za ekosustav ukazuje i činjenica da sveukupna zajednica pauka pojede od 400 do 800 tona plijena tijekom godine, a velik udio plijena se odnosi na šesteronošce (Selden, 2017.). Cardoso i sur. (2011.) dijele pauke u osam kategorija s obzirom na tehnike lova: lovci (engl. *other hunters*), lovci na tlu (engl. *ground hunters*), lovci iz zasjede (engl. *ambush hunters*), lovci specijalisti (engl. *specialists*), pauci koji pletu sferne mreže (engl. *orb web weavers*), pauci koji pletu prostorne mreže (engl. *space web weavers*), pauci koji pletu plahtaste mreže (engl. *sheet web weavers*), te pauci koji pletu osjetilne mreže (engl. *sensing web weavers*). Mrežu plete oko 50% vrsta te se razlike u njihovoj strukturi između vrsta smatraju i taksonomskim svojstvom (Selden, 2017.). Trofička niša vrste određena je tehnikom lova, slojem vegetacije u kojoj je vrsta prisutna te veličinom tijela, a trofički odnosi pauka uvelike variraju između svojiti (Sanders i sur., 2015.; Hambäck i sur., 2021.; Cuff i sur., 2021b.). To pokazuje kako i unutar grabežljivaca generalista, kao što su pauci, postoji gradijent specijalizacije koji se može predvidjeti funkcionalnim značajkama (Hambäck i sur., 2021.). Sukladno navedenom, različite porodice pauka više love određeni plijen zbog specifičnih tehnika lova koje primjenjuju, što ih razlikuje po učinkovitosti pri hvatanju određenih vrsta plijena, te činjenice da nastanjuju različite slojeve vegetacije (Marc i Canard, 1997.; Chatterjee i sur., 2009.). Također, postoji razlika u učestalosti ulova plijena iz iste vrste ovisno o tehnikama lova pauka (Michalko i Pekár, 2016.).

Pauci lovci iz zasjede pokazuju veću stopu *intraguild* grabežljivosti u odnosu na ostale pauke (Hambäck i sur., 2021.). Pauci lovci iz zasjede učinkovitiji su u hvatanju pokretljivog plijena, pauci koji aktivno love plijen u hvatanju sjedilačkog plijena prisutnog na tlu, dok pauci koji pletu mreže u hvatanju letećeg plijena (Cardoso i sur., 2011.; Michalko i sur., 2019.). Rezultati Sandersa i sur. (2015.) pokazuju kako tehnika lova utječe na stvaranje funkcionalnih grupa pauka, dok pripadnost određenom sloju vegetacije smanjuje broj različitih grupa grupirajući vrste koje su prisutne više u vegetaciji i love pretežito leteće kukce te vrste koje su prisutne na tlu i niskom bilju i love plijen s tla uključujući razlagače. S druge strane, Mezőfi i sur. (2020.) smatraju da je trofička niša određena vrsno-specifičnim funkcionalnim osobinama te se ne može uspoređivati između porodica već isključivo vrsta. Ishrana paukova se može sagledati ovisno o načinu savladavanja i probavljanja plijena gdje pauci mogu uzimati hranu u tekućem obliku na način da plijen savladavaju korištenjem otrova, razgrade ga te razgrađenog unose u organizam (Macías-Hernández i sur., 2018.). Zbog promjene u veličini tijela kod odraslih u odnosu na juvenilne jedinke dolazi do pomaka u trofičkoj niši (Mezőfi i sur., 2020.; Hambäck i sur., 2021.; Cuff i sur., 2021b.). Prema istraživanju Murphyja i sur. (2020.) juvenilne jedinke češće love manje pokretni plijen na tlu, dok odrasle jedinke odabiru i druge vrste plijena. Odrasle jedinke također odabiru taksonomski i veličinom širi raspon plijena u odnosu na juvenilne jedinke iste vrste, odnosno njihove trofičke niše su šire (Sanders i sur., 2015.; Mezőfi i sur., 2020.). S promjenom veličine tijela dolazi do promjena u drugim funkcionalnim osobinama jedinke zbog čega veličina tijela ima veći utjecaj na strukturu trofičke niše vrste u odnosu na starost jedinke (Kirkpatrick, 1984.; Sanders i sur., 2015.).

Trofičke niše se mogu razlikovati između spolova. Tako se ženke i mužjaci vrsta porodice Lycosidae razlikuju u ishrani. Ženke više jedu i jedu razmjerno veći plijen u odnosu na mužjake svoje vrste (Walker i Rypstra, 2002.). Takva raznolikost nije obilježje samo ove porodice niti se pojavljuje kod svih vrsta ove porodice (Walker i Rypstra, 2002.). Smatra se da su razlike u trofičkim nišama između mužjaka i ženki iste vrste određene reproduktivnom strategijom kod ženki i većim tijelom u odnosu na mužjaka (Pekár i sur., 2011.). Također ženke pokazuju veću grabežljivost prema drugim grabežljivim skupinama (Cuff i sur., 2021b.).



Slika 1. Klaster porodica pauka s obzirom na tehniku lova plijena koja ih karakterizira. Preuzeto i prilagođeno prema Cardoso i sur. (2011.)

Osim različitih tehnika lova koje primjenjuju, na trofičke odnose pauka utječu i uvjeti u okolišu (Michalko i sur., 2019.). Primjerice, pauci prilagođavaju razinu grabežljivosti gustoći plijena u ekosustavu (Cuff i sur., 2021b.). Međutim povezanost između gustoće plijena i povećane grabežljivosti ne mora biti linearna te na nju mogu utjecati i drugi čimbenici poput strukture staništa (Vucic-Pestic i sur., 2010.). Gustoća plijena ima većeg utjecaja na pauke lovce u odnosu na pauke koji grade mreže (Royauté i Pruitt, 2015.; Michalko i sur., 2019.). Laboratorijskim istraživanjima utvrđena je razlika između količine plijena kojeg su pauci pojeli u odnosu na onaj koji su samo uhvatili i ubili (Mansour i Heimbach, 1993.).

2.1.2 Uloga pauka u biološkoj kontroli

Razlike u trofičkim nišama pauka kao posljedica različitih bioloških i ekoloških značajki vrste utječu na uspješnost u biološkoj kontroli kukaca nametnika na biljkama (Cuff i sur., 2021b.). Postavilo se pitanje je li generalna grabežljivost kod pauka umanjuje njihov pritisak na kukce koji su nametnici na biljkama (Symondson i sur., 2002.). Učinkovitost biološke kontrole može ovisiti o hranidbenim odnosima među predatorima na istoj trofičkoj razini, gdje veća grabežljivost nad drugim grabežljivim skupinama smanjuje potencijal paukova u biološkoj kontroli kukaca nametnika na biljkama (Traugott i sur., 2012.; Michalko i Pekár, 2016.). Također učinkovitost određene vrste pauka u biološkoj kontroli može ovisiti i o širini njene trofičke niše. Pauci iz porodice Thomisidae imaju usku trofičku nišu i hrane se plijenom poput oprašivača i drugih pauka, ali i unutar takve uske trofičke niše se hrane lisnim ušima i sudjeluju u biološkoj kontroli (Birkhofer i sur., 2008.).

Određene skupine beskralježnjaka predstavljaju izvor hrane paucima u razdobljima kada kukci nametnici na biljkama nisu prisutni (McNabb i sur., 2001.; Toju i Baba, 2018.; Parimuchová i sur., 2021.), a upravo takva sposobnost pauka da se hrane drugim skupinama plijena pozitivno utječe na njihov potencijal u biološkoj kontroli omogućujući im prisutnost u poljoprivrednom ekosustavu u trenutcima kada krene kolonizacija kukaca nametnika na biljkama (Symondson i sur., 2002.). Međutim, teško je predvidjeti utjecaj ostalog plijena na razinu biološke kontrole pauka ako pauci taj tip plijena odabiru s većom učestalošću u odnosu na plijen koji uzrokuje štete na usjevima (Michalko i sur., 2019.).

Visoka stopa grabežljivosti kod paukova povećava njihov potencijal u biološkoj kontroli (Wise, 1993.). Pauci su učinkovitiji u biološkoj kontroli vrsta koje uzrokuju štete na usjevima iz skupina Diptera i Hemiptera s obzirom da su te skupine zastupljenije u njihovoj prehrani (Michalko i Pekár, 2016.). Na prehranu pauka porodice Philodromidae s kukcima koji uzrokuju štete na biljkama utječe abundancija takvih vrsta te hitiniziranost tijela i potencijalna štetnost (Michalko i Pekár 2015.). Također i vrste porodice Lycosidae uspješno kontroliraju populacije lisnih uši u poljoprivrednim staništima. Međutim za kontrolu različitih zajednica fitofagnih kukaca nužne su različite skupine grabežljivaca uz pauke, poput na primjer predatorskih trčaka (Suenaga i Hamamura, 2015.).

Učinkovitost pauka u suzbijanju kukaca nametnika na biljkama povećava se rastom gustoće jedinki pauka, a neznatno raste ako se poveća taksonomska raznolikost pauka (Michalko i sur., 2019.). Također, pauci pokazuju najveći pritisak na kukce kojima se hrane dok je njihova brojnost niska kao na primjer na početku razmnožavanja kukaca (Michalko i sur., 2019.). Takav način pritiska naziva se funkcionalnim odgovorom tipa II. Osim takvog odgovora na gustoću kukaca nametnika na biljkama, pauci pokazuju i funkcionalni odgovor tipa III. Takav odgovor podrazumijeva povećanje stope hvatanja plijena rastom gustoće s niske na srednju gustoću plijena (Michalko i sur., 2019.).

2.1.3 Utjecaj gospodarenja poljoprivrednim površinama na zajednicu pauka

Sastav zajednice pauka i odabir staništa pod utjecajem su strukture i promjena u ekosustavu (Uetz, 1991.), poput strukture vegetacije, sastava tla, te promjena izazvanih ljudskim utjecajem, poput poljoprivrede (Schmidt i sur., 2005.). Pauci su bioindikator promjena u okolišu uvjetovanih ljudskim utjecajem (Argañaraz i sur., 2020.).

Rezultati Argañaraza i sur. (2020.) pokazuju da u staništima koja se mijenjaju zbog ljudskog utjecaja, poput promjena staništa uslijed poljoprivredne proizvodnje, počinju dominirati vrste pauka koje pripadaju lovcima generalistima i dnevno i noćno aktivnim. Takve promjene mogu utjecati i na učinkovitost pauka pri suzbijanju nametnika na biljkama. U konvencionalnim usjevima brojniji su pauci pletači mreža i specijalisti, dok su u organskim usjevima brojniji pauci koji su aktivni lovci i lovci iz zasjede (Caprio i sur., 2015.). Schmidt i sur. (2005.) procjenjuju veću gustoću pauka u usjevima s organskim tipom upravljanja u odnosu na one s konvencionalnim tipom, dok

na povećanje bogatstva vrsta utječu samo staništa bez usjeva (engl. *non-crop habitats*). S obzirom da je biološka kontrola nametnika na biljkama povezana s većom gustoćom predatora, povećanje brojnosti pauka na staništima s organskim tipom upravljanja može pozitivno utjecati na njihovu ulogu u biokontroli (Schmidt i sur., 2005.). Smanjeni intezitet upravljanja prilikom gospodarenja maslinicima pozitivno utječe na sprječavanje gubitka bioraznolikosti (Kubiak i sur., 2022.). Kubiak i sur. (2022.) navode kako bi maslinici mogli biti pogodan ekosustav za pauke održavajući uravnoteženu raznolikost na razini porodice paukova te različitih skupina s obzirom na tehniku lova.

Istraživanjima je potvrđen izravan negativan utjecaj sredstava za zaštitu bilja na raznolikost pauka i veličinu populacija, zbog migracija, smanjenog potencijala za razmnožavanje, te promjena u ponašanju poput smanjenja grabežljivosti (Pekar, 2012.; Benamu i sur., 2013.). Sredstva za zaštitu bilja iz skupine insekticida djeluju na smanjenu raznolikost plijena u ekosustavu te i na taj način neizravno negativno utječu na pauke (Pekar, 2012.).

2.2 DNA barkodiranje

DNA barkodiranje ima široku primjenu te se koristi u određivanju vrsta (Čandek i Kuntner, 2014.; Grzywacz i sur., 2017.), povezivanju razvojnih stadija (Garcia-Robledo i sur., 2013.), integrativnoj taksonomiji za opisivanje vrsta (Hlebec i sur., 2021.), filogenetskim analizama, te analizama bioraznolikosti određenih skupina (Morinière i sur., 2017; Lopez-Vaamonde i sur., 2021.; Hlebec i sur., 2022.) ili geografskih regija (De Leon i sur., 2020.; Villalta i sur., 2021.). Temelji se na umnažanju standardizirane 658 pb duge regije mitohondrijskog gena za citokrom c oksidazu podjedinicu I (*COI*) (Hebert i sur., 2003.). DNA barkodiranje i Barcode Index Number (BIN) sustav (Ratnasingham i Hebert, 2013.) koriste se i kao isključivi alati za opise vrsta (Sharkey i sur. 2021). Međutim, brojna istraživanja potvrđuju manjkavost DNA barkodiranja kao jedinog alata pri opisu vrsta (Kiplinig i sur., 2005.; De Salle i Goldstein, 2019.; Meier i sur., 2021.; Zamani i sur., 2022.; Hlebec i sur., 2022.), posebice za skupine u kojima je prisutna visoka unutarvrsta (Huang i sur., 2007.; Spelda i sur., 2011.; Wesener i sur., 2016.; Qiao i sur., 2019.), ili niska međuvrsta genetska udaljenost (Palsbøll i sur., 2010.). Učinkovitost DNA barkodiranja u određivanju vrsta razlikuje se između skupina organizama te ovisi o dostupnosti i obujmu podataka za skupinu u bazama podataka (NCBI GenBank i BOLD), povezanosti molekularnih podataka s morfološkim

opisom vrste, filogeografskim i ekološkim značajkama i geografskom rasprostranjenosti za specifične vrste te razini taksonomske razlučivosti vrsta unutar roda (Parmentier i sur., 2013.; Čandek i Kuntner, 2015.; Lopez-Vaamonde i sur., 2021.). S obzirom na sve navedene nedostatke određivanje vrste putem DNA barkodiranja pouzdano je samo u slučajevima kada postoji značajna razlika između prosječne unutarvrstne i prosječne međuvrstne genetske udaljenosti, tj. ako postoji tzv. *barcode gap*, te ako je takva genetska razlučivost vrste povezana s pripadajućim taksonomsko-morfološkim podacima (Hebert i sur., 2003.; Astrin i sur., 2006.; Čandek i Kuntner, 2014.). Preciznost *barcode gap*-a za odabrani genetski marker ovisi o razmaku između unutarvrstne genetske udaljenosti i međuvrstne divergencije (Meier i sur., 2008.). Preciznost *barcode gap*a je veća, a time i učinkovitost DNA barkodiranja, što je veća razlika između genetske raznolikosti unutar vrste i divergencije koja razdvaja sestrinske vrste (Meier i sur., 2008.). Nepopunjenost baza i slaba istraženost određenih geografskih regija otežava identifikaciju vrsta s užim arealom (De Leon i sur., 2020.).

S obzirom na postojanje razlike u brzini kojom se slabije istražene vrste morfološki opisuju i određuju te brzine kojom se one sekvenciraju uveden je pojam *dark taxa* (Page, 2016.). Pod pojmom *dark taxa* učestalo podrazumijevamo svojte koje su bogate vrstama, ali su zbog nekih značajki kao što je mala veličina jedinki često zanemarene od strane taksonomskih stručnjaka (Hausmann i sur., 2020.). Takve svojte specifične su za određene redove kukaca, na primjer Diptera i Hymenoptera (Kortmann i sur., 2022.), ali i za druge skupine poput gljiva (Kortmann i sur., 2022.). Također, pojam *dark taxa* odnosi se i na vrste koje s obzirom na nedovoljan broj specijaliziranih taksonoma još nisu morfološki opisane (Page, 2016.; Hausmann i sur., 2020.). Chimeno i sur. (2022.) su utvrdili visoku biološku raznolikost i veliki udio neotkrivenih vrsta unutar porodica Diptera s malom veličinom tijela čak i u geografskim područjima koja su dobro istražena.

Hartop i sur. (2022.) navode da je za opis takvih svojti važno koristiti integrativnu taksonomiju te predlažu razvoj "Large-scale Integrative Taxonomy" (LIT) smjernica koje bi olakšale opažanje i sistematizaciju takvih svojti. Page (2016.) navodi da je upitno predstavljaju li ove *dark taxa* novootkrivenu biološku raznolikost ili su to poznate svojte, koje nismo uspjeli povezati s već opisanim vrstama.

Određivanje vrsta pomoću barkodirajuće regije osnova je istraživanja temeljenih na metabarkodiranju okolišnih uzoraka tj. metabarkodiranju eDNA. Takva istraživanja naslanjaju se

na popunjenost baza podataka kako bi dobivenim sekvencijama pridodala ime vrste (Hajibabaei i sur., 2011.).

2.2.1 DNA barkodiranje u svrhu procjene bioraznolikosti u mediteranskoj biogeografskoj regiji

Meditransko područje je vrstama izrazito bogato s velikim brojem endema (Vogiatzakis i sur., 2006.). Smatra se kao jedno od globalnih žarišta (*hotspot*) biološke raznolikosti (Myers i sur., 2000.). Upravo velik broj vrsta i visoki endemizam usporavaju određivanje vrsta, procjenu biološke raznolikosti područja i njihovo očuvanje odnosno konzervaciju, dok novi alati za procjenu biološke raznolikosti ubrzavaju te procese. To se odnosi i na obalno područje Hrvatske koje karakterizira visoka biološka raznolikost i brojne endemske vrste (Jelaska i sur., 2010.).

DNA barkodiranje umanjuje vrijeme potrebno za taksonomsko određivanje jedinki u odnosu na standardnu morfološku metodologiju te se s obzirom na to često koristi u zaštiti i očuvanju vrsta te za utvrđivanje bioraznolikosti (deWaard i sur., 2009.; de Waard i sur., 2018.). Korištenjem DNA barkodiranja, opažanja do sad nezabilježanih vrsta i/ili širenja areala vrsta (Ashfaq i sur., 2014.) su ubrzana. Ograničavajući čimbenik prilikom upotrebe DNA barkodiranja u određivanju vrsta je popunjenost baza podataka poput NCBI GenBank i BOLD baze. Također baze podataka trebaju strože standarde za unos podataka i veću kontrolu kvalitete unesenih podataka, kao i poticaj vlasnicima podataka da nakon početne faze unosa podatke ispravljaju i nadopunjuju po potrebi (Elbrecht i sur., 2017.; Tzafesta i sur., 2021.), kako bi se s visokom pouzdanošću mogli koristiti za gore navedene svrhe.

DNA barkodiranje se pokazalo pouzdanim za određivanje vrsta na području Mediterana za pojedine skupine poput kornjaša (Magoda i sur., 2018.), vodencvjetova i drugih vodenih člankonožaca (Cardoni i sur., 2015.; Galimberti i sur., 2020.; Tzafeste i sur., 2021.), mrava (Blatrix i sur., 2020.; Schär i sur., 2020.) te leptira (Lopez-Vaamonde i sur., 2021.) upravo zbog velikog broja vrsta iz navedenih skupina sa sekvenciranom *COI barcode* regijom. Velik broj sekvencija za vrste s globalnom rasprostranjenošću pohranjenih u genetskim bazama podataka za skupine poput Hemiptera (Weigand i sur., 2019.), olakšava njihovo određivanje na osnovi DNA barkoda. S druge strane, određene skupine, osobito one zahtjevne za morfološko određivanje i uzorkovanje, na primjer neke porodice Diptera, nisu dodane u baze podataka, što otežava njihovo određivanje putem DNA barkodiranja čak i u geografskim područjima koja su bolje istražena (Chimeno i sur.,

2022.). Za pojedine skupine mali broj vrsti je zastupljen sa sekvencijom u bazama posataka. Na primjer kod jednakonožnih rakova (Isopoda) od ukupno 10450 opisanih vrsta (Lewis, 2009.) za samo 1325 vrsta postoji javno dostupna sekvencija u BOLD bazi (zadnje pristupljeno 11. svibnja 2022); te kod skokuna (Collembola) od ukupno 9300 vrsta (Hopkin, 1998.) za samo 1342 vrste postoji javno dostupna sekvencija u BOLD bazi (pristupljeno 11. svibnja 2022) (Ratnasingham i Hebert, 2007.).

2.2.2 DNA barkodiranja pauka (Arahnida, Araneae)

DNA barkodiranje se sve češće koristi za određivanje vrsta unutar skupina s brojnim porodicama i vrstama kao što su pauci, u svrhu ubrzanja procjene bioraznolikosti unutar porodica i/ili geografskih regija (Tyagi i sur., 2019.; Kennedy i sur., 2020.). Primjenjuje se i u određivanju juvenilnih jedinki pauka koje zbog nerazvijenih vrsno specifičnih spolnih obilježja nije moguće morfološki identificirati (Raso i sur., 2014.).

Kako je ranije navedeno, pouzdano određivanje vrste putem DNA barkodiranja moguće je samo u slučajevima kada postoji jasno definirani *barcode gap*. Domènech i sur. (2022.) utvrđuju prosječnu najvišu unutarvrstu udaljenost od 2,07% za pauke rasprostranjene na području Iberijskog poluotoka te primjenjivost *barcode gapa* u 94% slučajeva. U istraživanjima Čandek i Kuntner (2015.), kod porodica Lycosidae i Tetragnathidae nije utvrđeno preklapanje u vrijednostima genetskih udaljenosti unutar vrsta i između vrsta dok se takvo preklapanje javlja kod porodice Araneidae što umanjuje upotrebljivost *barcode gapa* za razlikovanje vrsta unutar ove porodice. Tyagi i sur. (2019.) predlažu prag *barcode gapa* za razgraničenje vrsta pauka i ostalih paučnjaka između 2,6% i 3,7% u odnosu na prethodna istraživanja koja su taj prag postavila između 2% i 3,6% (Čandek i Kuntner, 2015.; Astrin i sur., 2016.).

Navedena istraživanja (Čandek i Kuntner, 2015.; Astrin i sur., 2016.; Tyagi i sur., 2019.; Domènech i sur., 2022.) potvrđuju postojanje *barcode gapa* te time i mogućnost upotrebe DNA barkodiranja u određivanju vrsta pauka. Međutim postoje čimbenici koji mogu negativno utjecati na rezultate DNA barkodiranja, poput nuklearnih mitohondrijskih pseudogena (Song i sur., 2008.; Buhay, 2009.) ili umnažanja DNA bakterije *Wolbachia* (Smith i sur., 2012.; Stahlhut i sur., 2012.). Za države poput Kanade (Blagoev i sur., 2016.), Njemačke (Astrin i sur., 2016.), Indije (Tyagi i sur., 2019.), Španjolske i Portugala (Domènech i sur., 2022.), te Slovenije i Švicarske (Coddington i

sur., 2016.) postoje genetske baze u kojima su pohranjene sekvencije za taksonomski širok raspon pauka što olakšava određivanje vrsta. Također točnost određivanja raste s povećanjem broja vrsta po rodu i rodova po porodici s molekularno-taksonomskim podacima javno dostupnim u bazama (Coddington i sur., 2016.). I dalje, velik broj unesenih *barcode* sekvencija je pridodan krivim vrstama pauka zbog pogreški pri morfološkoj determinaciji što uzrokuje pogrešno određivanje jedinki kroz sravnjivanje njihovih sekvencija s onim javno dostupnim u BOLD-u ili NCBI GenBanku (Blagoev i sur., 2016.; Coddington i sur., 2016.)

2.3 Primjena metabarkodiranja eDNA u trofičkoj ekologiji

Trofički odnosi izravno i neizravno utječu na sastav i raznolikost zajednice, dinamiku populacije i kruženje tvari u okolišu, uključujući hranjive tvari, ali i štetne spojeve poput insekticida i teških metala (Garvey i Whiles, 2016.; Šerić Jelaska i sur., 2014b.; Šerić Jelaska i Symondson, 2016.; Whitaker i sur., 2019.). Ranije metode za određivanje trofičkih odnosa uključivale su opažanje i morfološko određivanje plijena tijekom hranjenja ili u probavilu predatora. S obzirom da su takve metode često taksonomski neprecizne njima se ne može utvrditi ukupna raznolikost plijena te su se znanstvenici okrenuli razvoju i primjeni modernijih tehnika za utvrđivanje ishrane jedinki (Tercel i sur., 2021.).

Prve tehnike temeljene na metodama molekularne biologije korištene za proučavanje trofičkih odnosa su primjena monoklonalnih antitijela i dijagnostika lančanom reakcijom polimerazom (PCR) (Symondson, 2002.; Harwood i sur., 2005). Primjena monoklonalnih antitijela temelji se na detekciji vrsno-specifičnih proteina, uključujući proteine karakteristične za određeni razvojni stadij vrste prisutne u probavilu predatora (Fournier i sur., 2008.). S druge strane, PCR dijagnostika se temelji na mogućnosti razlikovanja jedinstvenog slijeda nukleotida plijena u odnosu na predatora, umnažanjem DNA izolirane iz probavila predatora koristeći vrsno ili grupno specifične početnice. Ova metoda omogućuje određivanje jedne do više vrsta plijena korištenjem vrsno specifičnih PCR početnica (Šerić Jelaska i Symondson, 2016.; Lantero i sur., 2017; Panni i Pizzolotto, 2018.) te ciljane skupine plijena iznad razine vrste (utvrđivanje prisutnosti roda, porodice, reda itd.) korištenjem grupno specifičnih početnica (Kuusk i Agusti, 2008.; Jelaska i sur., 2014.), međutim nije pogodna za utvrđivanje ukupne raznolikosti plijena u probavilu. Istraživanje González-Chang i sur (2016.) pokazuje da je u periodu do 2016. godine najzastupljenija metoda za istraživanje

trofičkih odnosa PCR dijagnostika (zastupljena u preko 50% znanstvenih radova), dok je metoda enzimski imunotest s monoklonalnim antitijelima (ELISA-mab) bila prisutna u preko 15% znanstvenih radova. Prednosti PCR dijagnostike u odnosu na ELISA-mab su jednostavniji razvoj specifičnih početnica u odnosu na razvoj specifičnih monoklonalnih antitijela te u tome što je poluživot molekule DNA u probavilu predatora dulji u usporedbi s poluživotom proteina (Fournier i sur., 2008.; González-Chang i sur., 2016.).

Obje navedene metode ne daju sveukupnu raznolikost plijena u probavilu predatora s obzirom da ciljaju samo prisutnost određene vrste, roda ili porodice u probavilu (Piñol i sur., 2014.). Za razliku od prethodnih metoda, metoda DNA barkodiranja uz upotrebu sekvenciranja nove generacije sve češće se primjenjuje za utvrđivanje plijena i usporedbu prehrane mnogih životinja u različitim staništima (Pompanon i sur., 2012.; Yoon i sur., 2017.; Macías-Hernández i sur., 2018.; Toju i Baba, 2018.; Casey i sur., 2019.; de Sousa i sur., 2019.; Lafage i sur., 2020.; Bonato i sur., 2021.; Cuff i sur., 2021a.; Cuff i sur., 2021b.; Parimuchová i sur., 2021.; Sierra Ramírez i sur., 2021.). DNA metabarkodiranje temelji se na paralelnom sekvenciranju milijuna kratkih fragmenata DNA iz probavila korištenjem tehnologije sekvenciranja visoke propusnosti te upotrebi općih PCR početnica koje imaju mogućnost umnažanja taksonomski širokog raspona plijena (Valentini i sur., 2009.; Elbrecht i sur., 2019.; de Sousa i sur., 2019.). U istraživanjima trofičkih odnosa koristi se *COI* molekularni marker s obzirom na njegovu taksonomsku razlučivost, ali i veću zastupljenost *COI* sekvencija u bazama za brojne taksonomske grupe u odnosu na ostale biljege. Upotrebom općih početnica, tehnike sekvenciranja nove generacije te podataka u bazama, ova metoda omogućuje otkrivanje ukupnog sadržaja probavila grabežljivca (Macías-Hernández i sur., 2018.; Bonato i sur., 2021.).

Međutim, visoka razina umnažanja DNA predatora u odnosu na fragmentiranu DNA plijena u probavilu smanjuje dubinu sekvenciranja prilikom korištenja općih PCR početnica i ograničava uspješnost DNA metabarkodiranja. Problem je posebno izražen u slučajevima kad su plijen i predator u bliskom filogenetskom odnosu, što je često kod predatorskih beskraljeznjaka (Tercel i sur., 2021.). Korištenje početnica koje sprječavaju umnažanje (engl. *blocking primers*) (Leray i sur. 2013.) ili početnica koje ne umnažaju DNA predatora, tzv. isključujućih početnica (engl. *excluding primers*) (Elbrecht i Leese, 2017; Cuff i sur., 2021a); Cuff i sur., 2021b) može umanjiti ili spriječiti umnažanje DNA grabežljivca te tako povećati udio plijena u ukupnom broju sekvencija. *Blocking* početnice se sve rjeđe koriste jer često sprječavaju ili umanjuju umnažanje DNA plijena te uzrokuje

pojavu lažno negativnih rezultata (Elbrecht i Leese, 2017). S obzirom da su *blocking* početnice često vrsno specifične to otežava njihovu primjenu u istraživanjima trofičkih odnosa zajednice grabežljivih člankonožaca. Drugo ograničenje metodologije DNA metabarkodiranja je nedostatak standardiziranog načina za kvantitativnu procjenu biomase pojedinog plijena u sadržaju probavila. Određena istraživanja koriste dobiveni broja očitavanja (engl. *reads*) kao ekvivalent udjelu pojedinačnog plijena u ukupnoj biomasi plijena (Thomas i sur., 2016.). Podloga za to je sekvenciranje *mock community* uzorka poznatog sastava, zajedno s istraživanim uzorcima, s ciljem uspostavljanja izravne korelacije između broja očitavanja i biomase ili broja jedinki određenog plijena (de Sousa i sur., 2019.). Međutim više čimbenika, biološke ili tehničke prirode, čini primjenu broja očitavanja (*reads*) nepreciznom pri kvantitativnom određivanju biomase plijena: (i) proces razgradnje i rascjepkanost DNA plijena u probavilu uzrokuju smanjenje broja fragmenata zadovoljavajuće duljine za umnažanje te posljedično smanjen broj očitavanja za ranije konzumirani plijen, (ii) također različita tkiva imaju različit udio mitohondrija te se posljedično razlikuju u koncentraciji mtDNA, (iii) opće početnice više umnažaju DNA određenih skupina ili vrsta. Zbog takvih ograničenja pri kvantitativnom određivanju biomase mnogi se autori zadržavaju na skupovima podataka koji analiziraju učestalost pojavljivanja različitih svojti plijena u probavilu (Clare i sur., 2014.), dok Deagle i sur. (2018.) smatraju da se abundancija prema broju očitavanja (engl. *read abundance data*) ne treba zanemariti. Korištenjem isključivo učestalosti svojti zanemaruje se podatak je li unutar jednog uzorka dobiveno par sekvencija DNA taksona ili 10 000 sekvencija.

Još jedno ograničenje ove metodologije je nemogućnost razlikovanja grabežljivosti i sekundarne grabežljivosti. Takvo ograničenje prisutno je i kod drugih metoda, poput PCR dijagnostike i primjene monoklonalnih antitijela. Sekundarna grabežljivost podrazumijeva detekciju plijena u probavilu grabežljivca usprkos tome što se navedeni grabežljivac nije hranio tim plijenom, već se hranio drugom grabežljivom vrstom koja je ranije konzumirala taj specifičan plijen. Rješenje za ovakav problem leži u poznavanju ekologije proučavanog grabežljivca na osnovu koje je moguće razlučiti je li se istraživani grabežljivac hranio određenom vrstom plijena ili je DNA navedenog plijena detektirana u probavilu grabežljivca s obzirom da se hranio drugom grabežljivom vrstom koja je imala navedenu vrstu plijena prisutnu u probavilu (Petrankova i sur., 2016.).

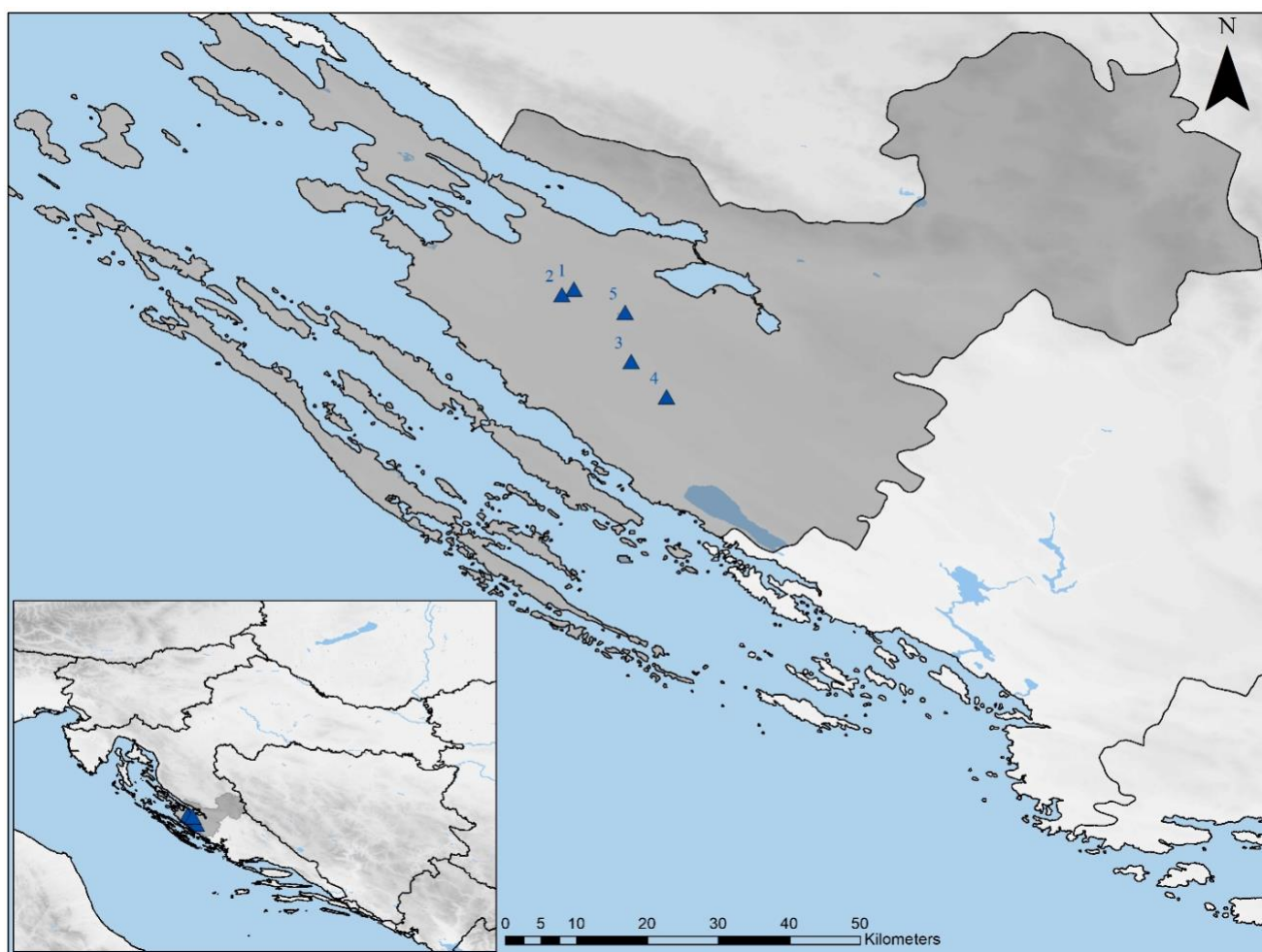
Usprkos određenim ograničenjima metodologije, DNA metabarkodiranje omogućilo je obuhvatniju procjenu prehrane brojnih vrsta u odnosu na ranije korištene metode te tako

unaprijedilo područje trofičke ekologije (de Sousa i sur., 2019.; Ando i sur., 2020.; Tercel i sur., 2021.; Cuff i sur., 2021a.; Cuff i sur., 2021b.; Bonato i sur., 2021.; Parimuchová i sur., 2021.).

3. MATERIJALI I METODE

3.1 Područje istraživanja i metode uzorkovanja beskralježnjaka

Uzorkovanje faune beskralježnjaka obavljeno je na pet ploha na području Zadarske županije u mediteranskom dijelu Hrvatske (Slika 2).



Slika 2. Karta s plohama (plavi trokuti) u Zadarskoj županiji, na kojima je provedeno terensko istraživanje i uzorkovanje. Ploha bez ljudskog upravljanja s prirodnom vegetacijom nalazi se u blizini Poličnika (1), maslinici se nalaze u Poličniku (2) i Škabrnji (3), te vinogradi u Nadinu (4) i Baštici (5).

Od navedenih ploha četiri su poljoprivredna staništa, vinograd s ekološkim suzbijanjem nametnika na biljkama (VE), vinograd s integriranim suzbijanjem nametnika na biljkama (VI), maslinik s ekološkim suzbijanjem nametnika na biljkama (ME), te maslinik s integriranim suzbijanjem nametnika (MI) (Tablica 1). Posljednja ploha se odnosi na stanište bez ljudskog upravljanja (C) s tipičnom mediteranskom vegetacijom makije i gariga. Integrirano suzbijanje nametnika podrazumijeva tip upravljanja u kojem se koristi više tehnika za suzbijanje nametnika poput biološke kontrole, upotrebe kemijski sintetiziranih i prirodnih spojeva (Kogan, 1998). Ekološko suzbijanje nametnika je tip upravljanja poljoprivrednim površinama kod kojeg nema upotrebe sintetičkih kemijskih spojeva za suzbijanje nametnika, dok se prirodni spojevi (npr. bakreni oksidi) koriste (Ianotta i sur. 2007.).

Područje Ravnih kotara, na kojem su smještene navedene plohe, ima dugu povijest poljoprivrede, posebice maslinarstva i vinogradarstva, a istraživane plohe su pod poljoprivrednim uzgojem više desetljeća, osim maslinika s ekološkim suzbijanjem nametnika (EPM) na biljkama koji se obrađuje posljednjih 12 godina. Vinograd s ekološkim suzbijanjem nametnika na biljkama smješten je u Nadinu te je okružen drugim vinogradima s istim tipom upravljanja, a vinograd s integriranim suzbijanjem nametnika (IPM) nalazi se u Baštici te je okružen drugim poljoprivrednim površinama s različitim kulturama. Maslinik s ekološkim suzbijanjem nametnika na biljkama nalazi se u Poličniku i nije okružen drugim poljoprivrednim površinama. Maslinik s integriranim suzbijanjem nametnika nalazi se u Škabrnji i okružen je drugim poljoprivrednim površinama s različitim kulturama. Kemijsko-fiziološke karakteristike tla na istraživanim plohama navedene su u Tablici 2, a koncentracija primijenjenih pesticida prikazana je na Slici 3.

Tablica 1. Podaci o istraživanim plohama na području Zadarske županije. Na poljoprivrednim staništima razlikuju se dva tipa upravljanja, ekološki tip upravljanja (EPM) te integrirani tip upravljanja (IPM). Preuzeto i prilagođeno prema Šerić Jelaska i sur. (2022c.).

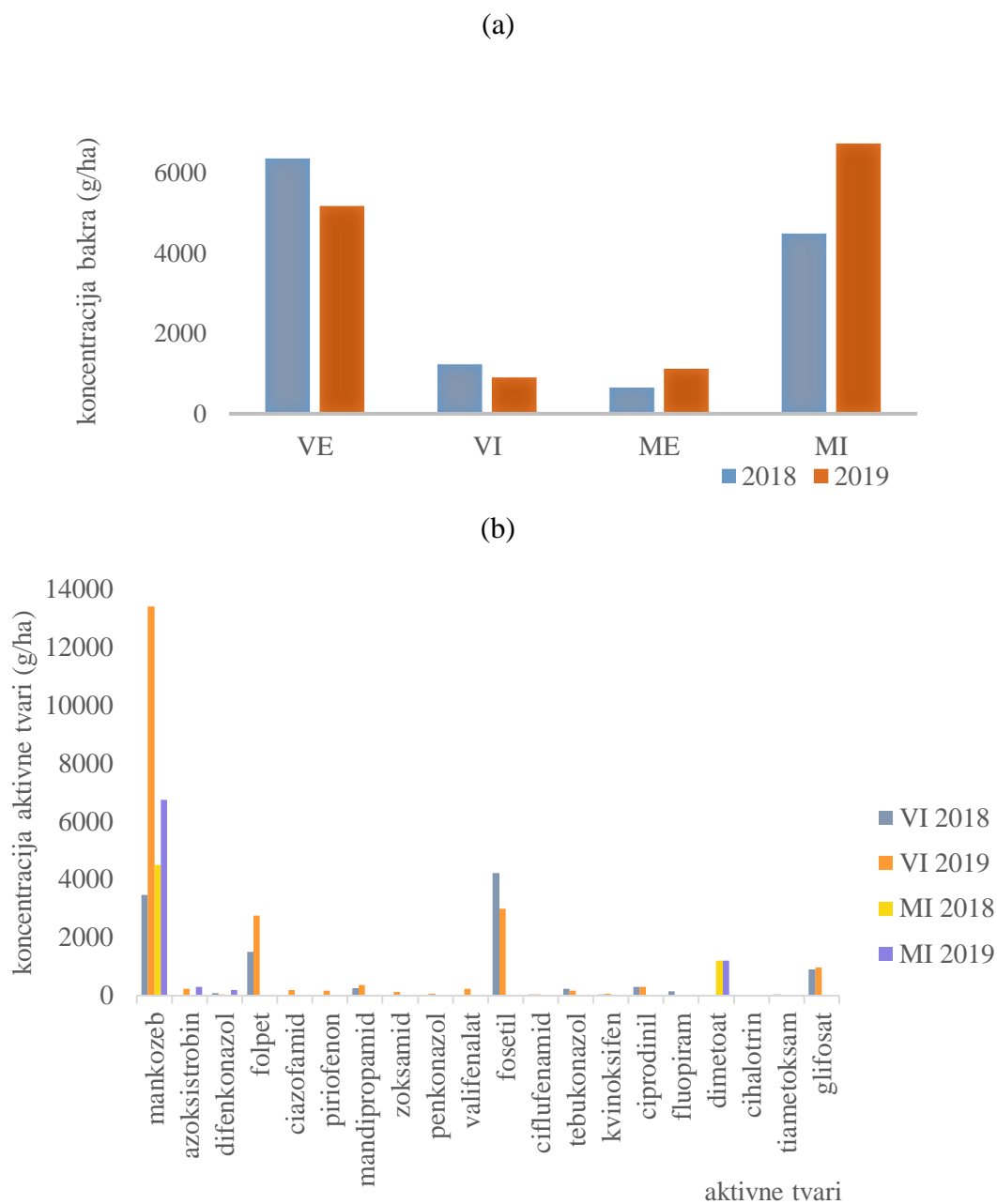
Broj plohe	Tip plohe	Skraćeni ca	Ploha	Tip upravljanja	Površina (ha)	Vegetacija
1	Prirodno stanište	C	Poličnik	/	/	Kamenito tlo s makijom
2	Maslinik	ME	Poličnik	Ekološki (EPM)	24	Kamenito tlo s malo biljnog pokrova
3		MI	Škabrnja	Integrirani (IPM)	0,85	Travnati pokrov okružen šikarom
4	Vinograd	VE	Nadin	Ekološki (EPM)	15	Obrađivano tlo s korovom
5		VI	Baštica	Integrirani (IPM)	6	Obrađivano tlo s korovom

Tablica 2. Kemijsko-fiziološke karakteristike tla na istraživanim plohama. MI označava maslinik s IPM, ME maslinik s EPM, VI vinograd s IPM, VE vinograd s EPM, C prirodno stanište (Šerić Jelaska, osobno priopćenje) ST DEV označava standardnu devijaciju navedenih vrijednosti.

Oznaka plohe	Prosječni pH	ST DEV (pH)	Prosječni udio organske tvari (%)	ST DEV (udio organske tvari)	Prosječni retencijski kapacitet tla za vodu (%)	ST DEV (kapacitet tla za vodu)	Retencijski kapacitet za vodu prema Gračaninu
C	7,16	0,18	7,54	0,73	39,14	4,22	osrednji
ME	7,59	0,05	5,68	0,44	30,40	9,87	malen
MI	7,61	0,06	3,60	0,44	38,22	8,23	osrednji
VE	7,48	0,07	3,59	0,27	43,18	3,72	osrednji
VI	7,52	0,12	4,74	0,48	31,84	3,25	malen

Fauna beskralježnjaka uzorkovana je tijekom dvije godine, 2018. i 2019., od travnja do srpnja i od rujna do studenog kako bi se obuhvatio cijeli vegetacijski period. Korištene su različite metode uzorkovanja. Metoda lovnih zamki korištena je u 2018. za uzorkovanje faune tla s ciljem dobivanja podataka o raznolikosti beskralježnjaka na istraživanim ploham. Lovne zamke ($\varnothing = 8$ cm, $V = 300$ mL) postavljene su ispod stabla masline odnosno vinove loze s razmakom između susjednih zamki od 10 metara. Zamke su postavljene u sredini istraživanih ploha s ciljem izbjegavanja utjecaja ruba (engl. *edge effect*) na faunistički sastav. Tako postavljene zamke pražnjene su u prosjeku svaka dva tjedna u periodima uzorkovanja. Uzorkovane jedinke pohranjene su u 80% etanol. Metodom stresanja uzorkovana je fauna u krošnji tijekom sezone 2018. Stresanjem je bilo obuhvaćeno pet grana na dvanaest različitih stabala pri svakom terenskom obilasku ploha od ukupno devet obilazaka. Uzorkovanje tla metodom Tullgrenovih lijevaka obavljeno je jednom u travnju i jednom u listopadu 2018. godine. Jedinke uzorkovane metodom stresanja i Tullgrenovih lijevaka pohranjene su u apsolutni etanol kako bi se očuvala DNA za daljnje analize. Metoda zamki životovki i sakupljanje rukom provodilo se tijekom 2018. i 2019. Navedene metode korištene su za uzorkovanje predatorskih beskralježnjaka s ciljem istraživanja trofičkih odnosa metodom eDNA.

U zamke životovke je dodavano par kapi vinskog octa kao mamac te su ostavljane tijekom noći i pražnjene sljedeće jutro. Jedinke su se neposredno nakon sakupljanja, pohranjivale u apsolutni etanol, koji je potrebno promijeniti unutar 24 h nakon skupljanja kako bi se očuvala DNA prisutna u probavilu. Također u zamke životovke dodane su grane kako bismo spriječili da se jedinke koje se nađu u zamkama međusobno napadnu. Zamke su se otvarale svakim izlaskom na teren i pregledavale svaki dan sve dok se nije ulovio dovoljan broj jedinki za trofičke analize. Svaka predatorska jedinka odvajana je u zasebnu epruvetu kako bi se izbjegla unakrsna kontaminacija.



Slika 3. Primijenjena koncentracija bakra (g/ha) na istraživanim poljoprivrednim plohama (a) te primijenjena koncentracija (g/ha) sintetičkih pesticida na plohama s integriranim načinom upravljanja (b) tijekom 2018. i 2019. godine. Preuzeto i prikazano prema Ivanković Tatalović i sur. (2020.) i Šerić Jelaska i sur. (2020.). MI označava maslinik s IPM, ME maslinik s EPM, VI vinograd s IPM, VE vinograd s EPM.

3.2 Morfološko određivanje beskrležnjaka

Pauci prikupljeni metodom lovnih zamki određeni su morfološki do razine vrste ili roda korištenjem internetske baze "Araneae-Spiders of Europe" (<https://www.araneae.nmbe.ch>, zadnje pristupljeno 15 travnja 2022.) (Nentwig i sur., 2022.). Pauci prikupljeni metodom stresanja određeni su morfološki do razine porodice korištenjem knjige Pekar i sur. (2013.). Pauci prikupljeni metodom zamki živolovki ili rukom, za istraživanje trofičkih odnosa, morfološki su određeni do vrste u slučaju odraslih jedinki, a roda ili porodice u slučaju juvenilnih ili subadultnih jedinki korištenjem ranije navedenog *online* izvora.

Uzorci beskrležnjaka prikupljeni metodom stresanja svrstani su u redove ili porodice, te podijeljeni na morfo-vrste prema Brock (2017.) Tako razvrstani uzorci korišteni su u daljnjim laboratorijskim analizama.

3.3 Metoda DNA barkodiranja

3.3.1 Izolacija ukupne genomske DNA

Izolacija DNA beskrležnjaka napravljena je prema protokolu od Casquet i sur. (2012.) korištenjem Chelex polimera (Sigma Aldrich, Merck, Darmstadt, Njemačka) ili korištenjem standardnih kitova za izolaciju DNA, DNA Blood and Tissue (Qiagen, Hilden, Njemačka) te GenElute Mammalian Genomic DNA kit (Sigma Aldrich, Merck, Darmstadt, Germany). DNA je izolirana iz epitelnog tkiva u slučaju gujavica (Lumbricidae, Oligochaeta), te mišića u nozi ili cijele jedinke, ovisno o dimenziji jedinke, u slučaju kukaca (Arthropoda, Insecta), pauka (Arthropoda, Araneae) te jednakonožnih rakova (Malacostraca, Isopoda). Prema protokolu od Casquet i sur. (2012.) odabrani dio tkiva jedinke odvojen je sterilnom pincetom ili škaricama te je dodano 150 μL 10% Chelexa (Sigma Aldrich, Merck, Darmstadt, Njemačka) i 10 μL proteinaze K (c= 20 mg/mL) (Sigma Aldrich, Merck, Darmstadt, Njemačka). Pincete i škare sterilizirane su plamenom nakon svake sekcije, kako bi se spriječila unakrsna kontaminacija uzoraka. Uzorci su potom vorteksirani, centrifugirani (30 s, 8000 rpm) te inkubirani preko noći na 56°C. Izolati gDNA su pohranjeni na -20°C prije daljnje uporabe. Volumen DNA eluata iznosio je 200 μL u slučaju standardnih kitova, odnosno 160 μL u slučaju izolacije putem Chelex protokola.

3.3.2 Umnažanje DNA i određivanje primarne strukture DNA

Za lančane reakcije polimerazom (engl. *polymerase chain reaction*, PCR) korištena je DreamTaq 2x (ThermoFisher Scientific, Waltham, Massachusetts, SAD) ili Emerald 2x (Takara, Kusatsu, Shiga, Japan) polimeraza te parovi početnica za barkod regiju mitohondrijskog gena za citokrom oksidazu podjedinica I (*COI*); LCO1490/HCO2198 (Folmer i sur., 1994.) te LCO1490/chelicerate reverse 2 (Barrett i Hebert, 2005.).

Tablica 3. Popis početnica korištenih za umnažanje barkod regije prema skupinama s navedenim temperaturama sparivanja početnica s kalupom.

Razred	Red	Temperatura sparivanja početnica s kalupom	Početnice
Insecta	Hymenoptera	47°C	LCO1490/HCO2198
Insecta	Lepidoptera	51°C	LCO1490/HCO2198
Insecta	Diptera	51°C	LCO1490/HCO2198
Insecta	Hemiptera	47°C	LCO1490/HCO2198
Annelida	Clitellata	51°C	LCO1490/HCO2198
Malacostraca	Isopoda	51°C	LCO1490/HCO2198
Entognatha	Collembola	50°C	LCO1490/HCO2198
Arahnida	Araneae	51°C	LCO1490/chelicerate reverse2

Sve reakcijske smjese sadržavale su 1×PCR pufer, 0,2 μM koncentraciju početnica te 1 μL DNA kalupa u ukupnom volumenu 10 μL. Reakcijski uvjeti za DreamTaq polimerazu bili su sljedeći: početna denaturacija na 95 °C tijekom 3 minute, nakon čega je slijedilo 40 ciklusa koji su uključivali denaturaciju na 95 °C tijekom 30 s, sparivanje početnica s kalupom na temperaturi naznačenoj u Tablici 3 tijekom 30 s i elongaciju na 72 °C tijekom 60 s, te završna elongacija na 72 °C tijekom 10 minuta. Za Emerald polimerazu, denaturacija je bila na 94 °C tijekom 30 s, sparivanje početnica s kalupom na temperaturi naznačenoj u Tablici 3 tijekom 30 s i elongacija na 72 °C tijekom 60 s, broj ciklusa iznosio je 40.

Uspješnost umnažanja fragmenata i njihova koncentracija provjereni su gel elektroforezom koristeći 1% agarozni gel.

Sekvenciranje je prethodilo uklanjanje preostalih dNTP-ova i istaloženih početnica enzimskim pročišćavanjem PCR produkata. Enzimi korišteni u reakciji bili su egzonukleaza 1 (Exo1) i alkalna fosfataza (AP) (New England Biolabs, Ipswich, Massachusetts, SAD), a za 10 µL reakcijskog volumena dodano je 0,0025 µL Exo1 (početna koncentracija= 20000 units/mL) i 0,005 µL AP (početna koncentracija= 1000 units/mL). Reakcijski uvjeti uključivali su tri koraka: 37 °C tijekom 60 minuta, 80 °C tijekom 20 minuta i 4 °C tijekom 10 minuta. Uzorci su na Sangerovo sekvenciranje poslani u Macrogen Inc. (Amsterdam, Nizozemska), a za sekvenciranje su korištene početnice istovjetne onima u PCR reakciji.

3.3.3 Uređivanje i sravnavanje dobivenih sekvencija i bioinformatička obrada podataka

Za sve dobivene sekvencije kromatogrami su pregledani za postojanje stop-kodona, insercija ili delecija i dvostrukih signala, kao naznaka da se radi o umnažanju jezgrinog pseudogena mitohondrijskog gena ili neuspjelom sekvenciranju, koristeći BIOEDIT v.7.2. (Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI, USA) (Hall, 1999.). Sekvencije neodgovarajuće kvalitete izostavljene su iz daljnjih analiza. Sekvencije su uređene na način da su uklonjeni nukleotidi koji odgovaraju sekvencijama početnica korištenih u PCR reakciji. U slučaju uspješnog sekvenciranja 5` i 3` smjerova sekvencija sastavljena je iz oba smjera koristeći BIOEDIT v.7.2. (Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI, USA) (Hall, 1999.).

Taksonomsko određivanje jedinki napravljeno je korištenjem alata dostupnih baza podataka; Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (Altschul i sur., 1990.) u National Center for Biotechnology Information (NCBI) bazi, te BOLD Identification Engine (Ratnasingham i Hebert, 2007) u bazi The Barcode of Life Data System (BOLD).

Dok su u slučaju pauka odrasle jedinke određene integrativnim taksonomskim pristupom koristeći morfološke osobine te usporedbu *COI* regije s podacima u bazi, dok su juvenilne jedinke, s obzirom da ne posjeduju razvijene dijagnostičke osobine potrebne za određivanje vrste, određene su povezivanjem dobivenih sekvencija sa sekvencijama odraslih jedinki, dostupnih u bazama, a čija je identifikacija utvrđena morfologijom.

Postojanje *barcode gap*-a utvrđeno je korištenjem alata "Barcode Gap Analysis" dostupnog putem BOLD baze podataka (Ratnasingham i Hebert, 2007.), koristeći MUSCLE sravnjenje (Edgar i sur., 2004.) te Kimura-2-Parameter (K2P) distance (Puillandre i sur., 2012.).

Jedinke čije određivanje do razine vrste nije bilo moguće korištenjem dostupnih podataka u bazama, svrstane su u zasebne molekularne operacijske jedinice (eng. Molecular Operational Taxonomic Unit, MOTU) primjenom filogenetskih analiza i metoda razgraničavanja vrsta (eng. *species delimitation methods*). Sve dostupne sekvencije za gujavice te skokune preuzete su iz baze podataka BOLD (zadnje pristupljeno 15. veljače 2022.) i sravnjene sa sekvencijama s istraživanih ploha u MEGA X (Kumar i sur. 2018) koristeći MUSCLE (Edgar i sur., 2004.). Sekvencije su raspoređene u *COI* haplotipove pomoću online alata FaBox v.1.5 (Villesen, 2007.) za sve analizirane rodove gujavica i skokuna. Prisutnost stop-kodona u sravnjenjima DNA sekvencija provjerena je u programu Mesquite ver. 3.5 (Maddison i Maddison, 2019.). Metoda najveće vjerojatnosti (engl. *The Maximum Likelihood analysis*, ML) napravljena je korištenjem RAxML-HPC ver. 8.2.12 (<https://www.phylo.org>, zadnje pristupljeno 14. veljače 2022.) (Stamatakis, 2014.) u CIPRES Gateway (Miller i sur., 2010.) korištenjem GTRGAMMA modela. Brza *bootstrap* analiza (engl. *a rapid bootstrap analysis*) s 1000 replikata (Stamatakis, 2014.) korištena je za pretragu ML stabla. Za određivanje broja MOTU jedinica korištene su analize razgraničavanja vrsta, "Automatic Barcode Gap Discovery" (ABGD) metoda (Puillandre i sur., 2011.), „a Bayesian implementation of the PTP model for species delimitation“ (bPTP) metoda (Zhang i sur., 2013.) te "multi-rate Poisson Tree Process" (mPTP) metoda (Kapli i sur., 2017.). Metodama ABGD i bPTP analizirane su sravnjene DNA sekvencije haplotipova, dok su metodom mPTP analizirana ranije izvedena ML stabla. ABGD metoda provedena je na serveru (<https://bioinfo.mnhn.fr/abi/public/abgd/abgdweb.html>, zadnje pristupljeno 14. veljače 2022.), primjenom K2P modela i korištenjem zadanih parametara, osim parametra *relative gap width*, koji je postavljen na $X = 1,0$. Metoda mPTP provedena je serveru (<http://mptp.h-its.org/>, zadnje pristupljeno 14. veljače 2022.), sa zadanim postavkama i unosom ML stabla iz RAxML (Stamatakis, 2014.). bPTP metoda je provedena na serveru (<https://species.h-its.org>, zadnje pristupljeno 14. veljače 2022.), implementirana korištenjem zadanih parametara, osim parametra ukorijenjenosti stabla gdje je navedeno da je stablo ukorijenjeno te navođenjem vanjske grupe. Genetske udaljenosti (p-udaljenosti) izračunate su u MEGA-X (Kumar i sur., 2018.).

3.3.4 Rarefakcijske krivulje temeljene na broju jedinki

Rarefakcijske krivulje temeljene na broju jedinki (engl. *rarefaction individual-based curves*) su napravljene za uzorke uzimane metodom stresanja redovito tijekom cijele sezone kako bi se odredio očekivani broj BIN-ova kao funkcija broja uzorkovanja. Broj uzorkovanih BIN-ova smatra se prikladnim za procjenu bogatstva vrsta kada krivulja dosegne plato (Albertini i sur., 2017.)

3.4 Metoda DNA metabarkodiranja

3.4.1 Izolacija eDNA iz probavila

Pauci imaju predprobavu izvan tijela, a probava plijena se odvija u različitim dijelovima tijela, uključujući prsa i noge gdje su smještene divertikule srednjeg crijeva te je sukladno odvajanje probavila zahtjevno (Macias-Hernández i sur., 2018.; Bulgarini i sur., 2022.). S obzirom na to, prilikom izolacije DNA plijena odvajanje je zadak pojedinačnih jedinki slijedeći rezultate Macias-Hernández i sur. (2018.) da je najviša koncentracija DNA plijena prisutna u zatku pauka u usporedbi s drugim dijelovima tijela. Sekcija je napravljena pomoću pinceta i škara, steriliziranih natrijevim hipokloritom (uz detaljno ispiranje destiliranom vodom) i plamenom nakon svake sekcije, kako bi se spriječila unakrsna kontaminacija uzoraka. Nakon izolacije DNA grupe uzoraka sav pribor je dodatno steriliziran izlaganjem UV svjetlu na 30 minuta ili dulje.

DNA je izolirana korištenjem DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, Hilden, Njemačka). U prvom koraku, tkivo je usitnjeno sterilnim mikro-štapićima, u puferu za lizu tkiva i proteinazi K. Usitnjeni uzorci su nekoliko puta vorteksirani te centrifugirani (30 s, 8000 rpm), a zatim inkubirani na 56°C tijekom 12 sati ili duže, kako bi se potpunom fragmentacijom tkiva osigurao bolji prinos DNA. Preostali dio izolacije izveden je slijedeći upute proizvođača. Elucija DNA je napravljena u volumenu od 200 µL. Svi izolirani uzorci DNA pohranjeni su na -80°C do daljnje uporabe. Za svakih 12 jedinki pauka uključena je barem jedna negativna kontrola, tretirana istovjetno uzorcima, ali bez dodanog tkiva. U slučaju da su negativne kontrole sadržavale DNA, odgovarajući skup uzoraka izostavljen je iz naknadnih analiza.

3.4.2 Umnažanje eDNA iz probavila, priprema biblioteke i sekvenciranje nove generacije

Za analizu ishrane putem eDNA metodologije korišten je protokol Šerić Jelaska (2019.) razvijen na trčcima kroz projekt „Jedinstvo uz pomoć znanja“ (UKF br. 10/19). i temeljen na istraživanjima vezanim za eDNA metodologiju (Taberlet i sur., 2012.) i molekularne alate u istraživanjima prehrane pauka i drugih skupina beskralježnjaka (Binladen i sur., 2007.; Brown i sur., 2014.; Cuff i sur., 2021a.; Cuff i sur., 2021b.; Tercel i sur., 2022.) nakon čega je u laboratoriju provedena optimizacija PCR za umnažanje *COI* markera iz eDNA pauka. Za umnažanje eDNA pauka odabrana su dva para početnica: BF3-BR2 od Elbrechta i sur. (2019.), koje umnažaju širok raspon beskralježnjaka uključujući pauke, te TelperionF-LaurelinR, koje umnažaju DNA niza beskralježnjaka, ali ne i DNA pauka, tzv. isključujuće početnice (engl. *excluding primers*) (Cuff i sur., 2021a.) (Tablica 4). Par početnica BF3-BR2 umnaža ciljnu regiju *COI* dugu 418 pb, a duljina amplikona iznosi 458 pb. Par početnica TelperionF-LaurelinR umnaža ciljnu regiju *COI* dugu 301 pb, a duljina amplikona iznosi 344 pb. Svi uzorci su umnoženi koristeći Qiagen PCR Multiplex Kit (Qiagen, Hilden, Njemačka) s ciljem potvrde eDNA plijena u probavilu pauka, u reakcijskoj smjesi ukupnog volumena 5 μ L, sastavljenoj od 2,5 μ L QIAGEN Multiplex PCR Master Mixa, 0,1 μ L pojedine početnice u konačnoj koncentraciji od 0,2 μ M, 1,3 μ L sterilne vode i 1 μ L DNA kalupa. Reakcijski uvjeti bili su kako slijedi: 95 °C tijekom 15 min, nakon čega je slijedilo 35 ciklusa denaturacije na 94 °C tijekom 30 s, sparivanje početnica s DNA kalupom na 47°C za par početnica BF3-BR2, ili 54°C za par početnica TelperionF-LaurelinR tijekom 30 s, elongacija na 72 °C tijekom 90 s, i jedan ciklus završne elongacije na 72 °C tijekom 10 minuta. PCR amplikoni su vizualizirani na 2% agaroznom gelu te su neumnoženi uzorci odbačeni iz daljnjih analiza.

Tablica 4. Početnice unutar *COI* regije korištene za umnažanje eDNA prisutne u probavilu pauka. Skraćenica F označava početnice u 5`-3` smjeru (engl. *forward*), skraćenica R označava početnice u 3`-5` smjeru (engl. *reverse*).

Početnica	Sekvencija 5`-3`	Smjer	Duljina (pb)	Izvor
BF3	CCHGAYATRGCHTTYCCHCG	F	20	Elbrecht i sur., 2019.
BR2	TCDGGRTGNCCRAARAAYCA	R	20	Elbrecht i Leese, 2017.
TelperionF	GGAACWHTATAYTTWATWTTYGG	F	23	Cuff i sur., 2021.
LaurelinR	GGRTAWACWGTTCAWCCWGT	R	20	Cuff i sur., 2021.

Izabrani uzorci su zatim umnoženi u MID-tag PCR reakcijama u svrhu pripreme knjižnice (engl. *library preparation*) za sekvenciranje nove generacije. Sve početnice su označene jedinstvenom Molecular Identifier (MID) oznakom duljine 8 pb (Tablica 5,6), tako da svaki uzorak ima jedinstvenu kombinaciju 5` i 3` početnice, za oba para početnica. Duljina amplicona s MID označenim početnicama u slučaju BF3-BR2 iznosila je 474 pb, a u slučaju TelperionF-LaurelinR para početnica 360 pb. Navedena PCR reakcija je provedena u ukupnom volumenu od 25 µL, s 12,5 µL QIAGEN Multiplex PCR Master Mixa, 2,5 µL 2 µM 5` i 3` početnice, 6,5 µL sterilne vode i 1 µL DNA kalupa. Protokol PCR reakcije slijedio je prethodno opisane uvjete. U svakoj pojedinačnoj reakciji uključeno je 12 negativnih PCR kontrola i dvije pozitivne PCR kontrole prema protokolu preuzetom iz ranijih istraživanja (Cuff i sur., 2021a.; Cuff i sur., 2021b.; Šerić Jelaska, 2019). Nakon PCR reakcije, koncentracija amplicona izmjerena je gel elektroforezom na 2% agaroznom gelu. Uzorci vizualizirani na istom agaroznom gelu grupirani su u jedan skup uzorak prema izračunatoj koncentraciji. Proces grupiranja u skup uzoraka (engl. *pool*) uključivao je dodavanje volumena pojedinačnog uzorka izračunatog prema omjeru njegove koncentracije i koncentracije uzorka s najvišom koncentracijom DNA, kako bi se osigurala približna ekvimolarnost DNA iz svakog uzorka. Negativne kontrole grupirane su na temelju prosječnog volumena svih uzoraka.

Tablica 5. Popis početnica s MID oznakama (kurziv) za BF3-BR2 par početnica te pripadajuće sekvencije.

Početnica	Sekvencija 5`-3`
BF3F1	<i>TAGCCACTCCHGAYATRGCHTTYCCHCG</i>
BF3F2	<i>GAGGACTACCHGAYATRGCHTTYCCHCG</i>
BF3F3	<i>AGAAGAGGCCHGAYATRGCHTTYCCHCG</i>
BF3F4	<i>CGATGAGTCCHGAYATRGCHTTYCCHCG</i>
BF3F5	<i>GTGTAGTCCCHGAYATRGCHTTYCCHCG</i>
BF3F6	<i>GAGTTCCTCCHGAYATRGCHTTYCCHCG</i>
BF3F7	<i>ACACACAGCCHGAYATRGCHTTYCCHCG</i>
BF3F8	<i>AACCTAGCCCHGAYATRGCHTTYCCHCG</i>
BF3F9	<i>ACACAGGTCCHGAYATRGCHTTYCCHCG</i>
BF3F10	<i>TAGAGCTGCCHGAYATRGCHTTYCCHCG</i>
BF3F11	<i>AACCTCAGCCHGAYATRGCHTTYCCHCG</i>
BF3F12	<i>GGATGATCCCHGAYATRGCHTTYCCHCG</i>
BF3F13	<i>TATCTGGCCCHGAYATRGCHTTYCCHCG</i>
BF3F14	<i>CTGGTTGACCHGAYATRGCHTTYCCHCG</i>
BF3F15	<i>TCCAACACCCHGAYATRGCHTTYCCHCG</i>
BF3F16	<i>GTGTGAAGCCHGAYATRGCHTTYCCHCG</i>
BR2R1	<i>TCATAGCGTCDGGRTGNCCRAARAAYCA</i>
BR2R2	<i>TGAGGACATCDGGRTGNCCRAARAAYCA</i>
BR2R3	<i>AACAGGAGTCDGGRTGNCCRAARAAYCA</i>
BR2R4	<i>GAGTAACCTCDGGRTGNCCRAARAAYCA</i>
BR2R5	<i>CAGCTCATTCDDGGRTGNCCRAARAAYCA</i>
BR2R6	<i>TGCTCCAATCDGGRTGNCCRAARAAYCA</i>
BR2R7	<i>TCAGTCGATCDGGRTGNCCRAARAAYCA</i>
BR2R8	<i>GTGCTCAATCDGGRTGNCCRAARAAYCA</i>
BR2R9	<i>ACAAGACCTCDGGRTGNCCRAARAAYCA</i>
BR2R10	<i>CAGGAACATCDGGRTGNCCRAARAAYCA</i>
BR2R11	<i>GTGATCTCTCDGGRTGNCCRAARAAYCA</i>

Tablica 5.- nastavak

BR2R12	<i>ACTTGGCTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA</i>
BR2R13	<i>CGATACTCDGGRTGNCCRAARAAYCA</i>
BR2R14	<i>TCATCCTGTCDGGRTGNCCRAARAAYCA</i>
BR2R15	<i>CAGGCTAATCDGGRTGNCCRAARAAYCA</i>
BR2R16	<i>TCATCGGTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA</i>
BR2R17	<i>AGTCCACTCDGGRTGNCCRAARAAYCA</i>
BR2R18	<i>AACCAACGTCDGGRTGNCCRAARAAYCA</i>
BR2R19	<i>CGCATAGATCDGGRTGNCCRAARAAYCA</i>
BR2R20	<i>CAGTTCTCTCDGGRTGNCCRAARAAYCA</i>

Tako dobiveni skupovi uzoraka pročišćeni su pomoću SPRIselect kuglica (Beckman Coulter, Brea, SAD), prema protokolu proizvođača za *left-side size selection*. Nakon pročišćavanja, koncentracija svakog skupa izmjerena je na Qubit Fluorometru (ThermoFisher Scientific, Waltham, SAD) korištenjem Qubit dsDNA High-sensitivity Assay kita (ThermoFisher Scientific, Waltham, SAD) prema uputama proizvođača. Izmjerene koncentracije korištene su za grupiranje skupova uzoraka, prema najvišoj koncentraciji, u jedan skup (engl. *super pool*) kako bi se osigurala približna ekvimolarnost DNA. U Novogene Europe (Cambridge, Ujedinjeno Kraljevstvo) je napravljena priprema Illumina knjižnice dodavanjem Illumina adaptera i sekvenciranje sljedeće generacije na Illumina Novaseq uređaju visoke protočnosti. Sekvenciranje s duljinom amplikona od 250 pb je napravljeno u oba smjera uz dubinu sekvenciranja od 35 000 očitavanja po uzorku.

Tablica 6. Popis početnica s MID oznakama (kurziv) za TelperionF-LaurelinR par početnica te pripadajuće sekvencije.

Početnica	Sekvencija 5`-3`
TelperionF1	<i>TAGCCACTGGAACWHTATAYTTWATWTTYGG</i>
TelperionF2	<i>GAGGACTAGGAACWHTATAYTTWATWTTYGG</i>
TelperionF3	<i>AGAAGAGGGGAACWHTATAYTTWATWTTYGG</i>
TelperionF4	<i>CGATGAGTGGAACWHTATAYTTWATWTTYGG</i>
TelperionF5	<i>GTGTAGTCGGAACWHTATAYTTWATWTTYGG</i>

Tablica 6.- nastavak

TelperionF6	<i>GAGTTCCTGGAACWHTATAYTTWATWTTYGG</i>
TelperionF7	<i>ACACACAGGGAACWHTATAYTTWATWTTYGG</i>
TelperionF8	<i>AACCTAGCGGAACWHTATAYTTWATWTTYGG</i>
LaurelinR1	<i>CGCATAGAGGRTAWACWGTTCAWCCWGT</i>
LaurelinR2	<i>CAGTTCTCGGRTAWACWGTTCAWCCWGT</i>
LaurelinR3	<i>AACGAGTGGGRTAWACWGTTCAWCCWGT</i>
LaurelinR4	<i>CTGTCAACGGRTAWACWGTTCAWCCWGT</i>
LaurelinR5	<i>TCCACCTAGGRTAWACWGTTCAWCCWGT</i>
LaurelinR6	<i>CGCATCTTGGRTAWACWGTTCAWCCWGT</i>
LaurelinR7	<i>GATACGCTGGRTAWACWGTTCAWCCWGT</i>
LaurelinR8	<i>GTGTTGGAGGRTAWACWGTTCAWCCWGT</i>
LaurelinR9	<i>ACACTAGGGGRTAWACWGTTCAWCCWGT</i>
LaurelinR10	<i>CGCCAATTGGRTAWACWGTTCAWCCWGT</i>
LaurelinR11	<i>TAGCAAGGGGRTAWACWGTTCAWCCWGT</i>
LaurelinR12	<i>GTCACAGAGGRTAWACWGTTCAWCCWGT</i>

3.4.3 Bioinformatička obrada i analiza podataka

Bioinformatički protokol (engl. *bioinformatic pipeline*) preuzet je od Drake i Cuff. (2021.) te prilagođen radu na računalnom klasteru Isabella (Sveučilišni računski centar Sveučilišta u Zagrebu, SRCE).

Sekvenciranja na Illumini je generiralo 9 234 272 očitavanja (engl. *reads*) za sekvenciranje s BF3-BR2 parom početnica te 3 519 228 očitavanja (engl. *reads*) za sekvenciranje s TelperionF-LaurelinR parom početnica. Kvaliteta dobivenih sekvencija provjerena je koristeći algoritam FastP (Chen i sur., 2018.) nakon čega su u istom programu *forward* i *reverse* očitavanja sravnjena (engl. *aligned*) i sjedinjena (engl. *merged*). Demultipleksiranje, proces kojim se NGS očitavanja dodjeljuju izvornom uzorku na temelju sekvencije pripadajućeg molekularnog barkoda, napravljeno je koristeći Mothur v. 1.40.4 algoritam (Schloss i sur. 2009). Kopije su uklonjene, a očitavanja su grupirana u OTU-e koristeći Unoise3 algoritma u Usearch11 programu (Edgar, 2010.). Dobivenim sekvencijama dodijeljen je taksonomski identitet korištenjem podataka iz GenBanka putem BLASTn v2.7.1. (Camacho i sur., 2009.) koristeći 97% identiteta (Alberdi i sur., 2017.). Tijekom pripreme podataka

za statističke analize uklonjeni su svi brojevi očitavanja koji su bili manji od najvećeg broja očitavanja prisutnog u negativnim kontrolama za odgovarajući OTU. Također, svojite zabilježene u pozitivnim kontrolama, a koje se razlikuju od svojiti odabranih za pozitivne kontrole izračunate su kao postotak u odnosu na ukupan broj očitavanja u toj pozitivnoj kontroli. Najveći od tih postotaka korišten je za uklanjanje očitavanja po uzorku te su smatrani pogreškom tijekom sekvenciranja poput *tag-jumpinga* i većeg umnažanja najzastupljenijih svojiti. Za BF3BR2 par početnica takav postotak iznosio je 1,6% dok za TelperionF-LaurelinR je iznosio 0,6%.

3.4.4 Statistička i grafička obrada podataka

Analize su provedene u programima Statistica™ v.14, R v.4.2.1. (R Core Team, 2022), programu TIBCO Statistica™ i Paleontological Statistics 4.03 softveru (PAST) (Hammer i sur., 2001.).

Razlike u hranjenju pauka s različitim redovima beskrležnjaka uspoređene su između skupina pauka s obzirom na tip lova, dviju sezona (jesen i proljeće) te tipa upravljanja poljoprivrednim površinama korištenjem generalizirane jednadžbe procjene (engl. *generalized estimating equations*, GEE) putem „geeglm“ u „geepacku“ paketu (Pekár i Brabec, 2018.). U analizi su korišteni binarni podaci, tj. prisutnost odnosno odsutnost redova plijena u probavilu, s obzirom na poteškoće pri kvantifikaciji podataka metabarkodiranja (Deagle i sur., 2019). Razlike su vizualizirane korištenjem Sankey dijagrama putem „SankeyNetwork“ u paketu “networkD3” (Allaire i sur., 2017).

Paket “vegan package” putem naredbe „shannon“ (Oksanen i sur., 2022) korišten je za analizu alfa raznolikosti (Shannonov indeks raznolikosti) redova plijena u probavilu pauka s različitih ploha.

Shannonov indeks je korišten u odnosu na druge indekse raznolikosti s obzirom da uzima u obzir i bogatstvo vrsta i ravnomjernost u distribuciji vrsta u uzorku.

Jaccard indeksi su izračunati i prikazani korištenjem softvera PAST 4.03 (Hammer i sur., 2001.).

Jaccard indeks uzima u obzir samo prisutnost ili odsutnost vrsta te je kao metoda pogodna za analizu trofičkih odnosa dobivenih sekvenciranjem nove generacije s obzirom na zahtjevnost pretvaranja broja očitavanja u brojnost plijena u probavilu. Jaccard indeks korišten je za usporedbu plijena između ploha te za usporedbu s ranijim rezultatima o raznolikosti beskrležnjaka analiziranih metodom DNA barkodiranja.

Razlike u grabežljivosti pauka prema fitofagnim beskrležnjacima, ostalom plijenu ili drugim grabežljivcima analizirane su faktorijalnom analizom varijance (engl. *Factorial Analysis of Variance*, ANOVA) u programu TIBCO Statistica™. Za ANOVA analizu, vrste plijena zabilježene u probavilu klasificirane su u tri skupine, fitofagni beskrležnjaci, ostali plijen (kukci i ostali beskrležnjaci u koje spadaju detritofagi, paraziti i oprašivači) i grabežljivci (www.cabi.org/isc, zadnje pristupljeno 29.9.2022.). Broj jedinki zabilježen u probavilu pauka grupiran prema navedenim skupinama korišten je u analizi. Razlike u grabežljivosti pauka prema fitofagima, ostalom plijenu ili drugim grabežljivcima vizualizirane su pomoću funkcije 'geom_violin' u 'ggplot2' s naznačenim kvartilima, medijanom i gornjom granicom od 95%, za odabrane faktore. Odabir plijena objašnjava ovisi li prehrana pauka o dostupnosti specifičnog plijena u staništu ili će pauci specifičan plijen odabirati u većim količinama i pri manjim gustoćama tog plijena u staništu odnosno u manjim količinama pri većim gustoćama tog plijena u staništu. Odabir plijena je analiziran putem mrežnih nulnih modela u paketu "econullnet" (Vaughan i sur., 2018.) s naredbom "generate_null_net".

3.5 PCR dijagnostika

Metodom PCR dijagnostike ispitani su odabrani DNA izolati iz probavila pauka, koristeći grupno ili vrsno specifične početnice, ciljajući dio mitohondrijskog ili jezgrinog genoma za odabrane skupine plijena, Collembola i Diptera (vrsta *Bactrocera oleae*, Tephritidae) prateći metodologiju iz Šerić Jelaska i sur. (2014a., 2014b.) i Šerić Jelaska i Symondson (2016.). Popis početnica korišten za PCR dijagnostiku naveden je u Tablici 7. Popis analiziranih jedinki nalazi se u Tablici P2.

Tablica 7. Popis početnica korištenih za PCR dijagnostiku. Skraćenica F označava početnice u 5`-3`smjeru (engl. *forward*), skraćenica R označava početnice u 3`-5`smjeru (engl. *reverse*). Skraćenica *COI* označava ciljnu regiju unutar gena za citokrom c oksidazu, dok *18S* označava regiju unutar gena za 18S ribosomsku RNA.

Početnica	Sekvencija 5`-3`	Smjer	Vrsno/grupno specifične početnice:	Ciljna regija	Duljina amplikona (pb)	Izvor
p_Cox1D F	CAGTAGTACTAA CAGCCCTAC	F	<i>B. oleae</i>	<i>COI</i>	136	Panni i Pizzolotto, 2018.
p_Cox1D R	TTGGTAAAGGAT TGGGTCTCC	R				Panni i Pizzolotto, 2018.
334F	CAGCAGCATAGT GGAAAACG	F	<i>B. oleae</i>	<i>COI</i>	106	Lantero i sur., 2017.
440R	GATACCTGCTAA ATGGAGTG	R				Lantero i sur., 2017.
Col4F	GCTACAGCCTGA ACAWTWG	F	Collembola	<i>18S</i>	177 pb	Kuusk i Agusti, 2008.
COL5R	TCTTGGCAAATG CTTTCGCAGTA	R				Kuusk i Agusti, 2008.

PCR dijagnostika je odabrana kao metoda za usporedbu, dodatnu provjeru i nadopunjavanje rezultata DNA metabarkodiranja sadržaja probavila i to ciljano za maslininu muhu (*B. oleae*) kao vrstu koja uzrokuje značajnije štete na urodu maslina te skokune. Cilj je bio optimizirati metodu PCR dijagnostike (optimizacija različitih parova početnica) kako bi se mogla koristiti za kvantifikaciju interakcija *B. oleae* i vrsta pozitivnih na nju, te koristiti u maslinicima za monitoring interakcija i prisutnost navedene vrste.

3.5.1 PCR dijagnostika- *Bactrocera oleae*

Prvi par početnica za pregledavanje probavila pauka na prisutnost *Bactrocera oleae* su početnice 334F-440R (Lantero i sur., 2017.). Optimizacija PCR protokola uključivala je umnažanje ne-ciljne DNA, u vidu ukupne genomske DNA predatora (*Zelotes* sp., Gnaphosidae; *Oxyopes* sp., Oxyopidae; *Xerolycosa* sp., Lycosidae; *Alopecosa* sp., Lycosidae) te ukupne genomske DNA drugih vrsta Diptera i drugih beskrležnjaka, te ciljne DNA (*B. oleae*) u gradijent PCR reakciji. Raspon temperatura sparivanja početnica s DNA kalupom u PCR reakciji iznosio je od 53°C do 64°C. Reakcijska smjesa sadržavala je 1× DreamTaq PCR pufer (ThermoFisher Scientific, Waltham, Massachusetts, SAD), 0,2 μM koncentraciju početnica te 1 μL DNA kalupa u ukupnom volumenu 6 μL. Reakcijski uvjeti za DreamTaq polimerazu bili su kako slijedi: početna denaturacija na 95 °C tijekom 3 minute, nakon čega je slijedilo 40 ciklusa koji su uključivali denaturaciju na 95 °C tijekom 30 s, sparivanje početnica s kalupom na temperaturama od 53°C do 64°C tijekom 30 s i elongaciju na 72 °C tijekom 60 s, te završna elongacija na 72 °C tijekom 10 minuta. Na temperaturi 62°C umnažala se ciljna DNA (*B. oleae*), dok se DNA grabežljivih vrsta, drugih Diptera i beskrležnjaka nije umnažala te je ta temperatura sparivanja početnica s kalupom odabrana za reakcije navedene u sljedećem odlomku .

Ukupno 168 jedinki pauka pregledano je za prisutnost *B. oleae* u probavilu. Jedinke čija je DNA iz probavila pregledavana na prisutnost *B. oleae* su prikupljene u dva istraživana maslinika kako je opisano u potpoglavlju ” 3.1 Područje istraživanja i metode uzorkovanja beskrležnjaka”, te im je DNA izolirana kao dio istraživanja metabarkodiranje probavila pauka, prema protokolu opisanom u potpoglavlju ” 3.4.1. Izolacija eDNA iz probavila“. Sve PCR reakcije su uključivale pozitivne kontrole (gDNA *B. oleae*) te negativne PCR kontrole. Reakcijska smjesa sadržavala je 1× DreamTaq PCR pufer (ThermoFisher Scientific, Waltham, Massachusetts, SAD), 0,2 μM koncentraciju početnica te 1 μL DNA kalupa u ukupnom volumenu 6 μL. Reakcijski uvjeti za DreamTaq polimerazu bili su kako slijedi: početna denaturacija na 95 °C tijekom 3 minute, nakon čega je slijedilo 40 ciklusa koji su uključivali denaturaciju na 95 °C tijekom 30 s, sparivanje početnica s kalupom na temperaturama od 62°C tijekom 30 s i elongaciju na 72 °C tijekom 60 s, te završna elongacija na 72 °C tijekom 10 minuta. Rezultati PCR dijagnostike provjereni su gel elektroforezom na 2% agaroznom gelu.

Drugi par početnica za pregledavanje probavila pauka na prisutnost *B. oleae* su početnice p_Cox1D F-p_Cox1D R (Panni i Pizzolotto, 2018.). Optimizacija PCR protokola uključivala je umnažanje

ne-ciljne DNA, u vidu ukupne genomske DNA predatora (*Araneus grossus*, Araneidae; *Hogna radiata*, Lycosidae) te ukupne genomske DNA drugih vrsta Diptera (*Scaptomyza pallida*, Drosophilidae; *Psilopa obscuripes*, Ephydriidae; *Sarcophaga anaces*, Tachinidae) i drugih Insecta (*Prays oleae*, Lepidoptera, Prayidae; *Psammotettix confinis*, Hemiptera, Cicadellidae; *Agalmatium flavescens*; Hemiptera, Issidae; *Pheidole* sp., Hymenoptera, Formicidae; *Tapinoma* sp., Hymenoptera, Formicidae), te ciljne DNA (*B. oleae*). U gradijent PCR reakciji s rasponom temperature sparivanja početnica s DNA kalupom od 50°C do 65°C odabrana je temperatura od 55.5°C. Pri odabranoj temperaturi umnažala se ciljna DNA (*B. oleae*), a DNA predatorskih vrsta i ostalih Diptera i Insecta nije. PCR reakcijska smjesa sadržavala je 1× DreamTaq PCR pufer (ThermoFisher Scientific, Waltham, Massachusetts, SAD), 0,2 μM koncentraciju početnica te 1 μL DNA kalupa u ukupnom volumenu 6 μL. Reakcijski uvjeti za DreamTaq polimerazu bili su sljedeći: početna denaturacija na 95 °C tijekom 3 minute, nakon čega je slijedilo 40 ciklusa koji su uključivali denaturaciju na 95 °C tijekom 30 s, sparivanje početnica s kalupom na temperaturama od 50°C do 65°C tijekom 30 s i elongaciju na 72 °C tijekom 60 s, te završna elongacija na 72 °C tijekom 10 minuta.

Odabranih 168 jedinki pauka pregledano je za prisutnost *B. oleae* u probavilu. Sve PCR reakcije su uključivale pozitivne kontrole (gDNA *B. oleae*) te negativne PCR kontrole. Reakcijska smjesa sadržavala je 1× DreamTaq PCR pufer (ThermoFisher Scientific, Waltham, Massachusetts, SAD), 0,2 μM koncentraciju početnica te 1 μL DNA kalupa u ukupnom volumenu 6 μL. Reakcijski uvjeti za DreamTaq polimerazu bili su kako slijedi: početna denaturacija na 95 °C tijekom 3 minute, nakon čega je slijedilo 40 ciklusa koji su uključivali denaturaciju na 95 °C tijekom 30 s, sparivanje početnica s kalupom na temperaturi od 55.5°C tijekom 30 s i elongaciju na 72 °C tijekom 60 s, te završna elongacija na 72 °C tijekom 10 minuta. Rezultati PCR dijagnostike provjereni su gel elektroforezom na 2% agaroznom gelu.

3.5.2 PCR dijagnostika- Collembola

Par početnica za pregledavanje probavila pauka na prisutnost skokuna (Collembola) su početnice Col4F- COL5R (Kuusk i Agusti, 2008). Optimizacija PCR protokola uključivala je umnažanje ne-ciljne DNA, u vidu ukupne genomske DNA predatora (*Araneus grossus*, Araneidae; *Hogna radiata*, Lycosidae) te ukupne genomske DNA drugih vrsta Hexapoda (*Sarcophaga anaces*,

Diptera, Tachinidae; *Prays oleae*, Lepidoptera, Prayidae; *Coreus marginatus*, Hemiptera, Coreidae), te ciljne DNA skokuna (Collembola) u gradijent PCR reakciji. PCR reakcijska smjesa sadržavala je 1× DreamTaq PCR pufer (ThermoFisher Scientific, Waltham, Massachusetts, SAD), 0,2 μM koncentraciju početnica te 1 μL DNA kalupa u ukupnom volumenu 6 μL. Reakcijski uvjeti za DreamTaq polimerazu bili su sljedeći: početna denaturacija na 95 °C tijekom 3 minute, nakon čega je slijedilo 40 ciklusa koji su uključivali denaturaciju na 95 °C tijekom 30 s, sparivanje početnica s kalupom na gradijentu temperatura od 53,5°C do 60,5°C tijekom 30 s i elongacija na 72 °C tijekom 60 s, te završna elongacija na 72 °C tijekom 10 minuta. Na temperaturi 57.7°C umnažala se ciljna DNA skokuna, dok se DNA predatorskih vrsta i drugih Hexapoda nije umnažala te je ta temperatura sparivanja početnica s kalupom odabrana za sljedeće reakcije.

Ukupno 79 jedinki pauka pregledano je za prisutnost skokuna (Collembola) u probavilu. Jedinke su izdvojene ovisno pripadaju li fauni tla, te su odabrane porodice Lycosidae i Gnaphosidae; te su dodatno izdvojene jedinke sakupljene u mjesecima kada su na istraživanim plohama zabilježene i jedinke iz reda Collembola.

PCR reakcijska smjesa napravljena je kako je ranije navedeno. Reakcijski uvjeti za DreamTaq polimerazu bili su kako slijedi: početna denaturacija na 95 °C tijekom 3 minute, nakon čega je slijedilo 40 ciklusa koji su uključivali denaturaciju na 95 °C tijekom 30 s, sparivanje početnica s kalupom na temperaturi od 57.7°C tijekom 30 s i elongaciju na 72 °C tijekom 60 s, te završna elongacija na 72 °C tijekom 10 minuta. Rezultati PCR dijagnostike provjereni su gel elektroforezom na 2% agaroznom gelu.

4. REZULTATI

4.1 4.1. DNA barkodiranje

4.1.1 4.1.1. DNA barkodiranje beskralježnjaka mediteranskih maslinika i vinograda s ciljem procjene biološke raznolikosti

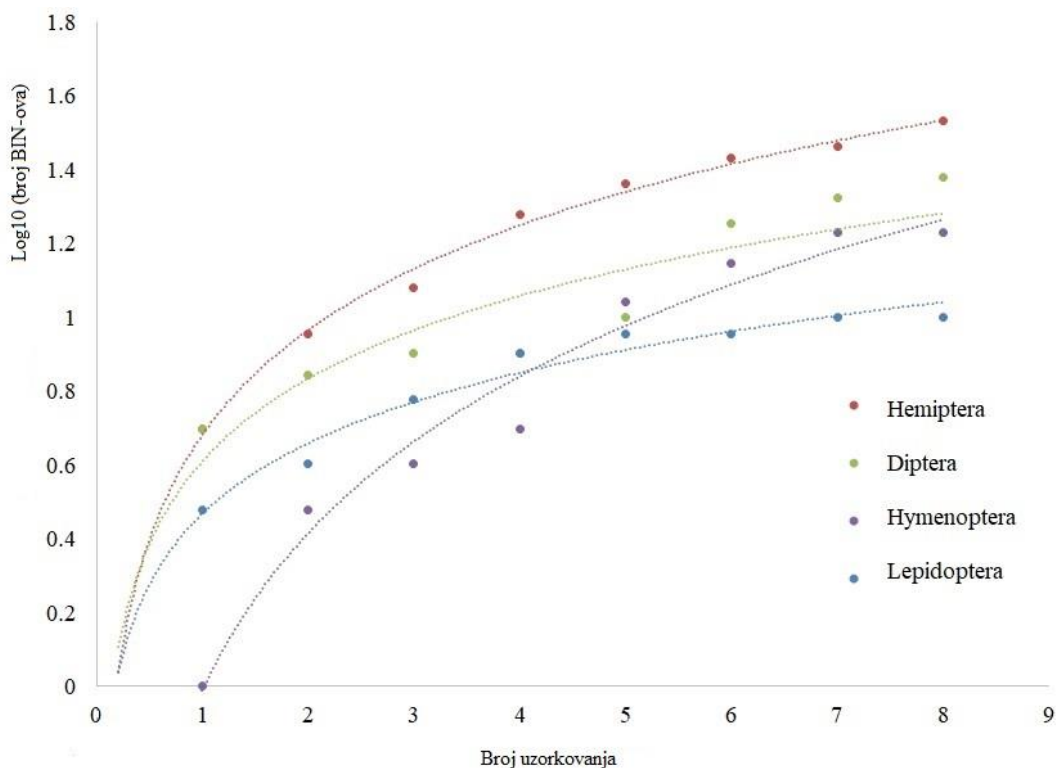
COI sekvencije dobivene su za 269 jedinki iz sedam analiziranih skupina beskralježnjaka: Hemiptera, Lepidoptera, Hymenoptera, Diptera, Isopoda, Collembola, Oligochaeta. Dobivene *COI* sekvencije sa svim potrebnim podacima nalaze se u genetičkoj bazi podataka Barcode of Life (Dataset - DS-070222 "DNA barcoding of seven invertebrate groups inhabiting olive orchards and vineyards accelerate understudied Mediterranean biodiversity assessment") (Anđelić Dmitrović i sur. 2022). Podaci pohranjeni za navedeni set podataka obuhvaćaju fotografije jedinki, podatke o staništu i uzorkovanju te sekvencije i pripadajuće kromatograme.

4.1.2 Učinkovitost DNA barkodiranja, taksonomsko određivanje vrsta i dodjela *Barcode Index Number*

Taksonomskim određivanjem jedinki beskralježnjaka, sravnjivanjem *COI* sekvencija s javno dostupnim sekvencijama u bazama podataka BOLD i NCBI GenBank, ostvareno je podudaranje do razine vrste za 142 od 269 uzoraka. Udjeli jedinki određenih do vrste po pojedinim skupinama bili su za skupinu Lepidoptera 100% (16 od 16), Hymenoptera 83,93% (47 od 56), Hemiptera 70,21% (33 od 47), Diptera 58,33% (35 od 60), te Isopoda 29,73% (11 od 37). U dvije skupine, Oligochaeta i Collembola, korištenjem javno dostupnih podataka takvo određivanje nije bilo moguće.

Analizirani uzorci svrstani su u ukupno 114 BIN-ova, a od toga 40 BIN-ova (35,1%) predstavljali su novi doprinos globalnim bazama podataka. Najveći broj BIN-ova bio je u slučaju Hemiptera (34), Diptera (29) i Hymenoptera (18). S druge strane, najmanji broj jedinstvenih BIN-ova uočen je u Oligochaeta (šest) i Collembola (pet). Većini zabilježenih vrsta dodijeljen je jedan specifični BIN. Iznimke su bile *Tetramorium semilaevae* (Hymenoptera, Formicidae), *Armadillidium vulgare* (Isopoda, Armadillidiidae) i *Prays oleae* (Lepidoptera, Praydidae), kojima su dodijeljena dva ili više BIN-ova.

Prema rarefakcijskim krivuljama temeljenim na broju jedinki vidljivo je kako za analizirane skupine broj zabilježenih BIN-ova nije dosegao (Slika 4).



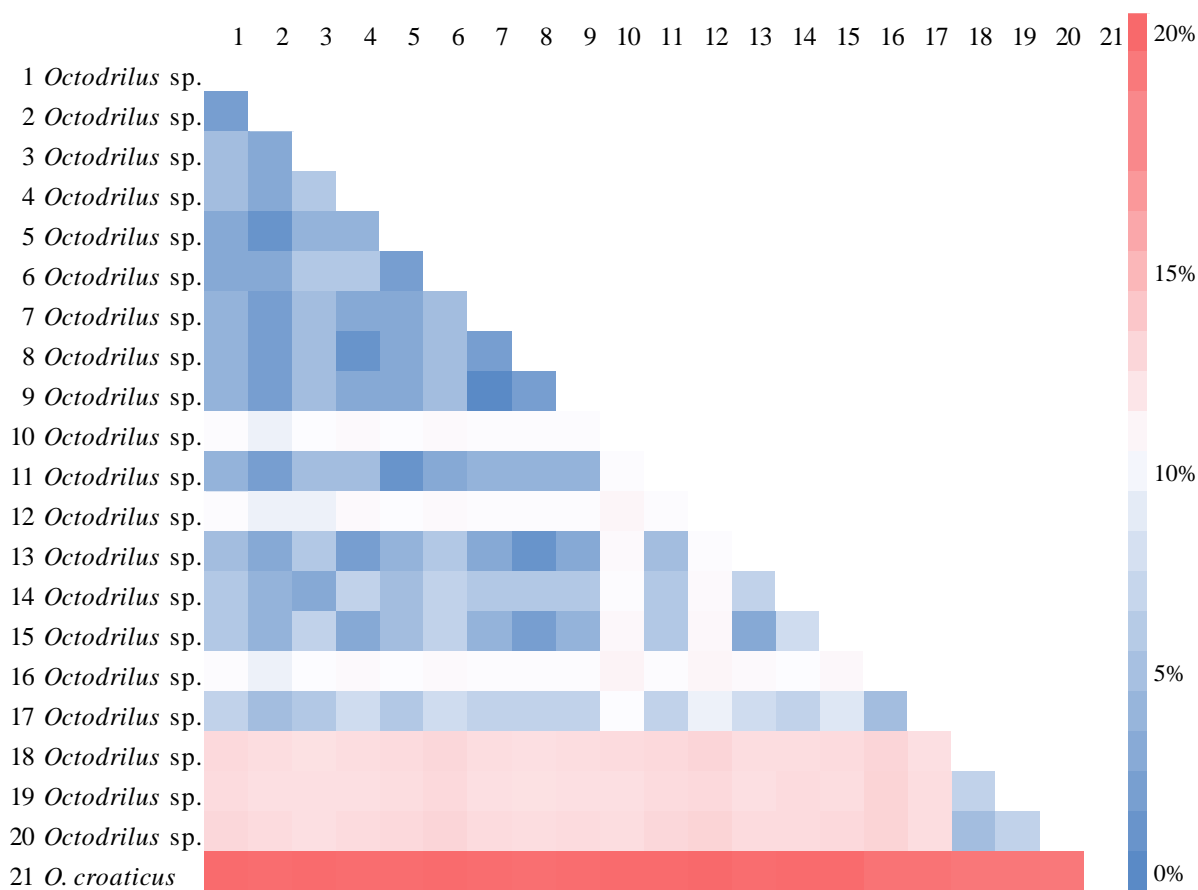
Slika 4. Rarefakcijske krivulje pokazuju broj različitih BIN-ova za analizirane skupine prikazane kao funkcija broja uzorkovanja. Preuzeto i prilagođeno prema Anđelić Dmitrović i sur. (2022.).

4.1.1.2. Razgraničenje vrsta za jedinice iz skupina Oligochaeta i Collembola

COI sekvencije dobivene su za 36 jedinki Oligochaeta te su raspoređene u šest jedinstvenih BIN-ova koji su predstavljali novi doprinos globalnoj bazi podataka BOLD. Sekvencije su raspoređene u 21 *COI* haplotip te grupirane u tri molekularne operacijske jedinice (MOTU) pomoću metoda razgraničenja vrsta (ABGD, bPTP i mPTP). Broj tako određenih MOTU jedinica nije odgovarao broju BIN-ova, stoga su pojedini BIN-ovi svrstani unutar jedinstvene MOTU jedinice. Prvi MOTU grupirao je četiri BIN-a, redom BOLD:AEH4576, BOLD:AEJ1183, BOLD:AEJ1182 i BOLD:AEH3543, te 17 haplotipova. Preostala dva BIN-a podijeljena su u dvije MOTU jedinice. Druga MOTU jedinica (MOTU 2) odgovarala je BIN-u BOLD:AEH3542. Dok je treća MOTU jedinica (MOTU 3) odgovarala BIN-u BOLD:AEI1132.

Nekorigirana p-udaljenost između MOTU 1 i 2 iznosila je 6,68% (0,0668 +/- SD 0,004283), između MOTU 1 i 3 iznosila je 11,59% (0,1159 +/- SD 0,098806), a između MOTU 2 i 3 iznosila je 19% (0,1928 +/- 0,00133 SD) (Tablica 8). P-udaljenosti između 21 *COI* haplotipa prikazane su na Slici 5.

Prvi najbliži srodnik u slučaju MOTU1 i MOTU2 bila je vrsta *Octodrilus complanatus* (Dugès, 1828), dok je MOTU3 bio genetski udaljeniji. Filogenetski rezultat stabla ML prikazan je na Slici 6.



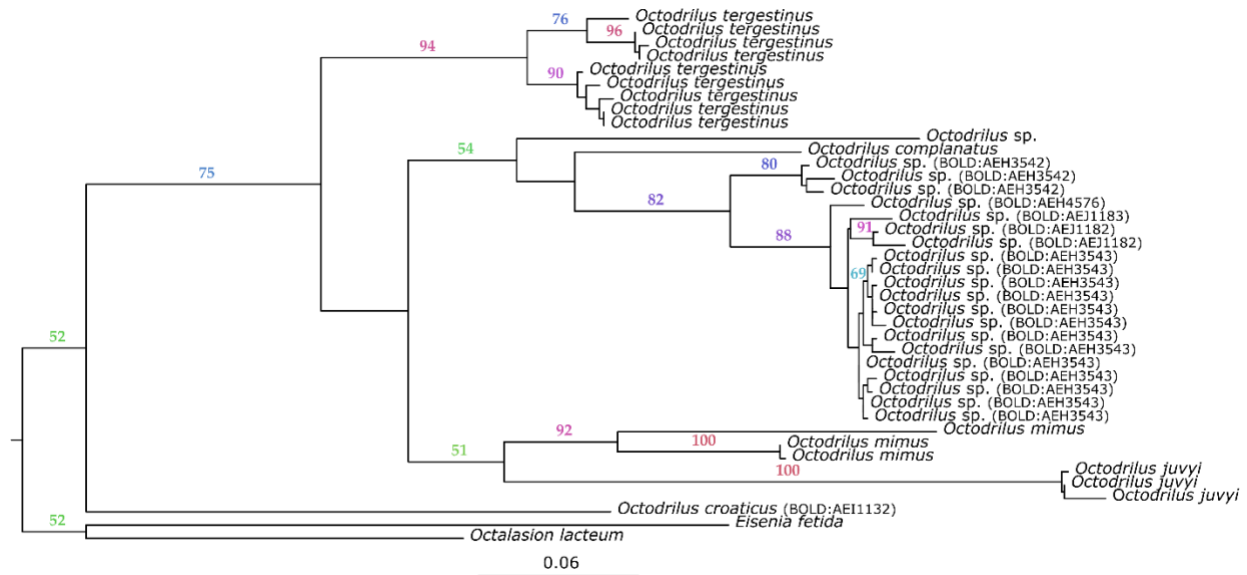
Slika 5. Međuvrsne i unutarvrsne nekorigirane p-udaljenosti za *Octodrilus* *COI* haplotipove prikazane su pomoću *heat map*. Haplotipovi od rednog broja 1 do 17 pripadaju u MOTU1, od 18 do 20 u MOTU2, te 21 pripada u MOTU3.

Morfološki, *Octodrilus* jedinka MOTU3 pripada skupini malih, crveno pigmentiranih vrsta iz roda *Octodrilus*, te je i nalazište ove jedinke vrlo geografski blizu tipskom lokalitetu koji je za *O. croaticus* dao Mršić (1991). Stoga je u ovom trenutku MOTU3 identificiran kao *O. croaticus*.

Ostale jedinke pokazivale su preklapanja u brojnim morfološkim i anatomskim karakteristikama te nema razdvajanja u klasičnim dijagnostičkim znakovima. S obzirom na to, svrstani su u istu morfo skupinu. Njihova bi opća morfologija sugerirala blizak odnos s *O. complanatus* što je primijećeno i u genetičkim analizama.

Tablica 8. Izračunate p-udaljenosti između *Octodrilus* MOTU grupa.

MOTU grupe	p-udaljenosti	%	Minimum vrijednost p-udaljenosti	Maksimum vrijednost p-udaljenosti	Standarda Deviacija	Standarda Pogreška
MOTU1/MOTU2	0,067	6,682	0,060	0,076	0,004	0,001
MOTU1/MOTU3	0,116	11,589	0,005	0,207	0,099	0,024
MOTU2/MOTU3	0,193	19,278	0,191	0,194	0,001	0,001

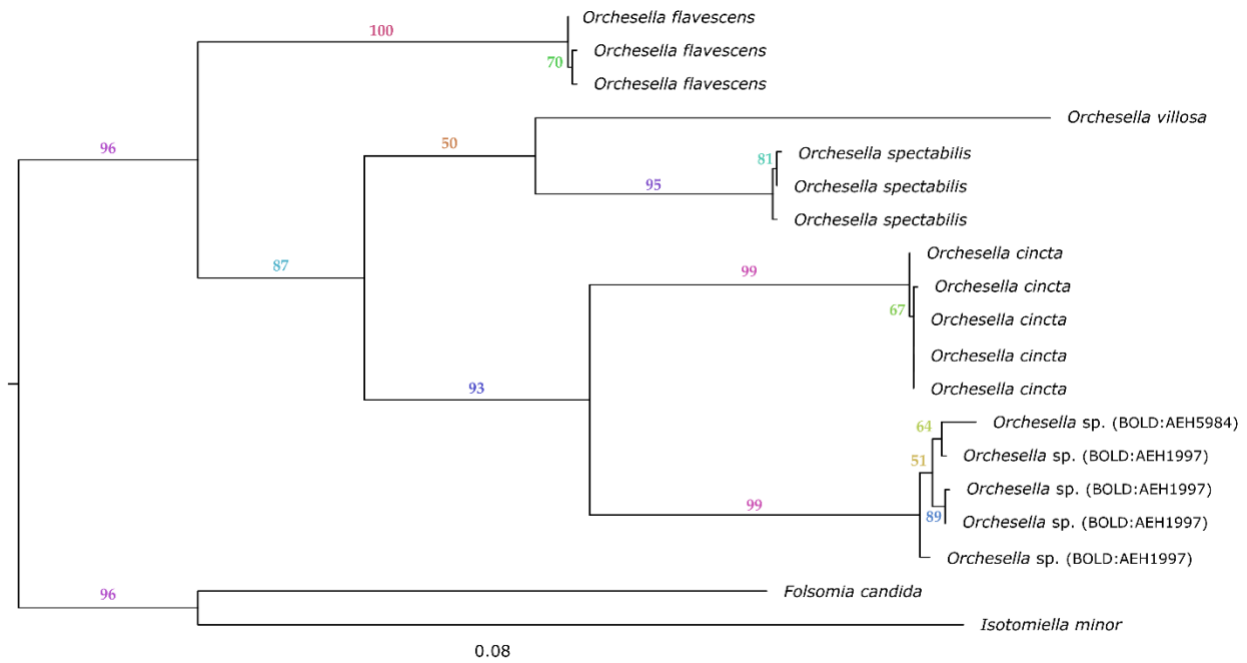


Slika 6. Filogram dobiven metodom najveće vjerojatnosti za jedinke roda *Octodrilus*. Brojevi na granama predstavljaju neparametrijsku *bootstrap* vrijednost (≥ 50). Stablo je ukorijenjeno s vanjskim grupama, *Octolasion lacteum* (BOLD:ACF5848) i *Eisenia fetida* (BOLD:AAB2558). Preuzeto i prilagođeno prema Anđelić Dmitrović i sur. (2022.).

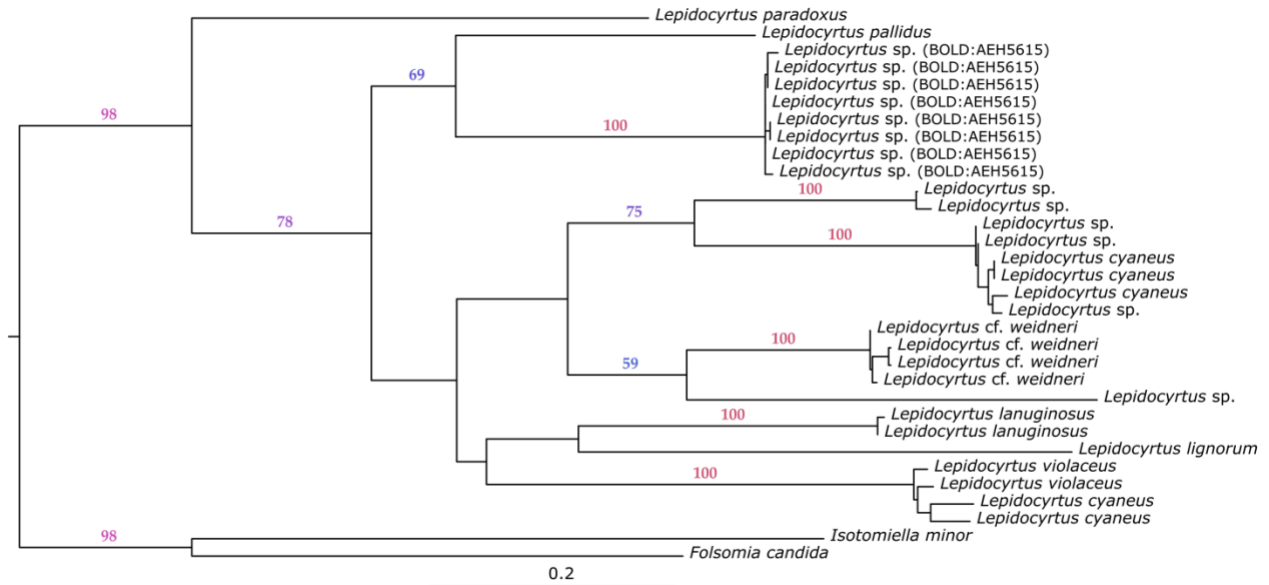
Collembola jedinke raspoređene su u pet BIN-ova. Morfološki jedinke iz BIN-ova BOLD:AEH5984 i BOLD:AEE1997 pripadaju rodu *Orchesella* Templeton, 1835

(Entomobryomorpha, Entomobryidae). Jedinke svrstane u BIN BOLD:AEH5615 morfološki su određene do roda *Lepidocyrtus* Bourlet, 1839 (Entomobryomorpha, Entomobryidae), a BIN BOLD:AEH9402 kao rod *Heteromurus* Wankel, 1860 (Entomobryomorpha, Entomobryomorpha). Jedinke iz preostalog BIN-a (BOLD:AEJ0895) morfološki su određene do razine porodice Sminthuridae (Symphypleona).

Korištenjem mPTP pristupa razgraničenju vrsta BIN-ovi BOLD:AEH5984 i BOLD:AEE1997, morfološki rod *Orchesella*, sjedinjeni su u jedan MOTU. *Orchesella cincta* i gore spomenuti MOTU povezani su i genetski i morfološki (osobna komunikacija prof. Ľubomír Kováč, veljača 2022.) (Slika 7).



Slika 7. Filogram najveće vjerojatnosti za jedinke roda *Orchesella*. Brojevi na granama predstavljaju neparametrijsku *bootstrap* vrijednost (≥ 50). Stablo je ukorijenjeno s vanjskim grupama, *Folsomia candida* (BOLD:AAB6463) i *Isotomiella minor* (BOLD:ACQ1061). Preuzeto i prilagođeno prema Anđelić Dmitrović i sur. (2022.).



Slika 8. Filogram najveće vjerojatnosti za jedinke roda *Lepidocyrtus*. Brojevi na granama predstavljaju neparametrijsku *bootstrap* vrijednost (≥ 50). Stablo je ukorijenjeno s vanjskim grupama, *Folsomia candida* (BOLD:AAB6463) i *Isotomiella minor* (BOLD:ACQ1061). Preuzeto i prilagođeno prema Anđelić Dmitrović i sur. (2022.).

Filogenetska analiza pokazala je najveću srodnost jedinki roda *Lepidocyrtus* vrsti *Lepidocyrtus pallidus* (Slika 8).

BIN BOLD:AEH9402, te BIN BOLD:AEJ0895 grupirali su po jednu jedinku Collembola te s obzirom na to nisu analizirani metodom najveće vjerojatnosti.

4.1.3 Određivanje pauka putem DNA barkodova

Od svih analiziranih jedinki pauka, za 40% uzoraka dobivene su *COI* sekvencije dulje od 550 pb, te je ukupan broj dobivenih *COI* sekvencija 100 (uključujući četiri sekvencije kraće od 550 pb). Sekvencije duge 658 pb složene su iz sekvencija dobivenih sekvenciranjem u oba smjera, dok su ostale sekvencije dobivene sekvenciranjem u jednom smjeru. Uspjeh sekvenciranja razlikovao se između uzoraka sakupljenih metodom stresa i metodom prikupljanja rukom, te su s većom uspješnošću sekvencirani uzorci prikupljeni rukom zbog boljeg očuvanja uzoraka.

Unutar 100 barkodiranih primjeraka pauka identificirana je 31 vrsta iz 12 porodica pauka (Agelenidae, Araneidae, Gnaphosidae, Linyphiidae, Lycosidae, Oxyopidae, Philodromidae, Pisauridae, Salticidae, Theridiidae, Thomisidae, Titanoecidae), a 22 uzorka identificirana su do razine roda. Rezultati su navedeni u Tablici 9.

Analizirani uzorci svrstani su u 44 BIN-a, a od toga osam BIN-ova predstavljali su novi doprinos globalnim bazama podataka.

Tablica 9. Vrste, pripadajuće Barcode Index Number oznake, te duljine dobivenih sekvencija za jedinke pauka uključene u istraživanje. Dijelu jedinki, u trenutku preuzimanja rezultata, nije dodijeljen Barcode Index Number te isti nije naveden.

Redni broj	Barcode Index Number	Vrsta	Duljina COI sekvencije (pb)
1	BOLD:AAD4170	<i>Agalenatea redii</i>	616
2	BOLD:AAD4170	<i>Agalenatea redii</i>	591
3	BOLD:AAD4170	<i>Agalenatea redii</i>	613
4		<i>Agalenatea redii</i>	658
5		<i>Agalenatea redii</i>	594
6		<i>Agyneta rurestris</i>	658
7	BOLD:ADM2493	<i>Alopecosa albofasciata</i>	620
8	BOLD:ADM2493	<i>Alopecosa albofasciata</i>	610
9	BOLD:ADM2493	<i>Alopecosa albofasciata</i>	606
10	BOLD:ADM2493	<i>Alopecosa albofasciata</i>	565
11	BOLD:ADM2493	<i>Alopecosa albofasciata</i>	584
12	BOLD:AEN9542	<i>Alopecosa solitaria</i>	610
13		<i>Araniella cucurbitina</i>	609
14	BOLD:AAO2309	<i>Argiope lobata</i>	605
15	BOLD:AAI5400	<i>Drassodes</i> sp.	613
16	BOLD:AAI5400	<i>Drassodes</i> sp.	614

Tablica 9. - nastavak

17	BOLD:ACF0172	<i>Drassodes</i> sp.	613
18	BOLD:AEO0983	<i>Drassyllus</i> sp.	604
19	BOLD:AAN3143	<i>Episinus</i> sp.	574
20	BOLD:AAN3143	<i>Episinus truncatus</i>	612
21	BOLD:AAI5655	<i>Frontinellina frutetorum</i>	605
22	BOLD:AAL7074	<i>Haplodrassus dalmatensis</i>	612
23	BOLD:ACA1731	<i>Haplodrassus dalmatensis</i>	550
24	BOLD:ACA1731	<i>Haplodrassus dalmatensis</i>	591
25	BOLD:ADL9712	<i>Haplodrassus signifer</i>	615
26	BOLD:ADL9712	<i>Haplodrassus signifer</i>	562
27		<i>Heliophanus tribulosus</i>	386
28	BOLD:AEC3635	<i>Heriaeus hirtus</i>	616
29	BOLD:AEC3635	<i>Heriaeus hirtus</i>	576
30		<i>Heriaeus hirtus</i>	658
31	BOLD:AAF0703	<i>Hogna radiata</i>	570
32	BOLD:AAF0703	<i>Hogna radiata</i>	608
33	BOLD:AAI1939	<i>Hogna radiata</i>	549
34	BOLD:AAI1939	<i>Hogna radiata</i>	612
35	BOLD:AAV4231	<i>Nomisia exornata</i>	623
36	BOLD:AAV4231	<i>Nomisia exornata</i>	605
37	BOLD:AAV2942	<i>Nurscia albomaculata</i>	618
38	BOLD:AAD0599	<i>Oxyopes heterophthalmus</i>	600
39	BOLD:AAD0599	<i>Oxyopes heterophthalmus</i>	612
40	BOLD:AAD0599	<i>Oxyopes heterophthalmus</i>	544
41		<i>Oxyopes heterophthalmus</i>	658
42	BOLD:AAN2902	<i>Oxyopes lineatus</i>	600
43	BOLD:ADM0953	<i>Oxyopes lineatus</i>	611
44		<i>Oxyopes lineatus</i>	600
45	BOLD:AEN9436	<i>Ozyptila</i> sp.	611
46	BOLD:ACK1770	<i>Pardosa hortensis</i>	560

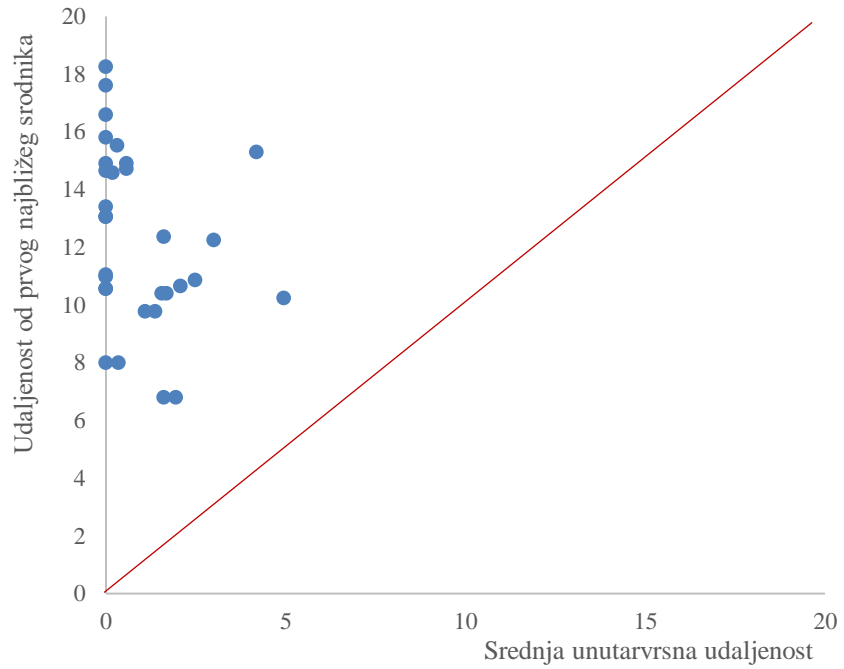
Tablica 9. - nastavak

47	BOLD:AEJ9860	<i>Pellenes</i> sp.	604
48	BOLD:AEM5910	<i>Philaeus</i> sp.	614
49	BOLD:AEI4573	<i>Philaeus chrysops</i>	617
50	BOLD:AEN4117	<i>Philaeus chrysops</i>	646
51		<i>Philaeus chrysops</i>	657
52		<i>Philaeus chrysops</i>	658
53	BOLD:AEM6843	<i>Philodromus</i> sp.	614
54	BOLD:AEN3459	<i>Philodromus</i> sp.	596
55	BOLD:AEN3459	<i>Philodromus</i> sp.	610
56		<i>Philodromus</i> sp.	658
57		<i>Philodromus</i> sp.	658
58		<i>Philodromus</i> sp.	612
59		<i>Philodromus</i> sp.	658
60	BOLD:AAU4290	<i>Philodromus rufus</i>	612
61	BOLD:AAU4290	<i>Philodromus rufus</i>	612
62	BOLD:AAU4290	<i>Philodromus rufus</i>	595
63	BOLD:AAU4290	<i>Philodromus rufus</i>	605
64	BOLD:AAU4290	<i>Philodromus rufus</i>	613
65	BOLD:AAI2725	<i>Pisaura</i> sp.	611
66	BOLD:AAI2725	<i>Pisaura</i> sp.	600
67	BOLD:AAI2725	<i>Pisaura</i> sp.	567
68		<i>Pisaura</i> sp.	610
69	BOLD:AAE4245	<i>Pisaura mirabilis</i>	613
70		<i>Pseudicius encarpatus</i>	608
71	BOLD:AAZ7423	<i>Steatoda albomaculata</i>	615
72	BOLD:ADC5504	<i>Steatoda albomaculata</i>	594
73	BOLD:ACC4521	<i>Synema globosum</i>	616
74		<i>Synema globosum</i>	375
75		<i>Tegenaria hasperi</i>	658
76	BOLD:AAD7031	<i>Thomisus onustus</i>	616

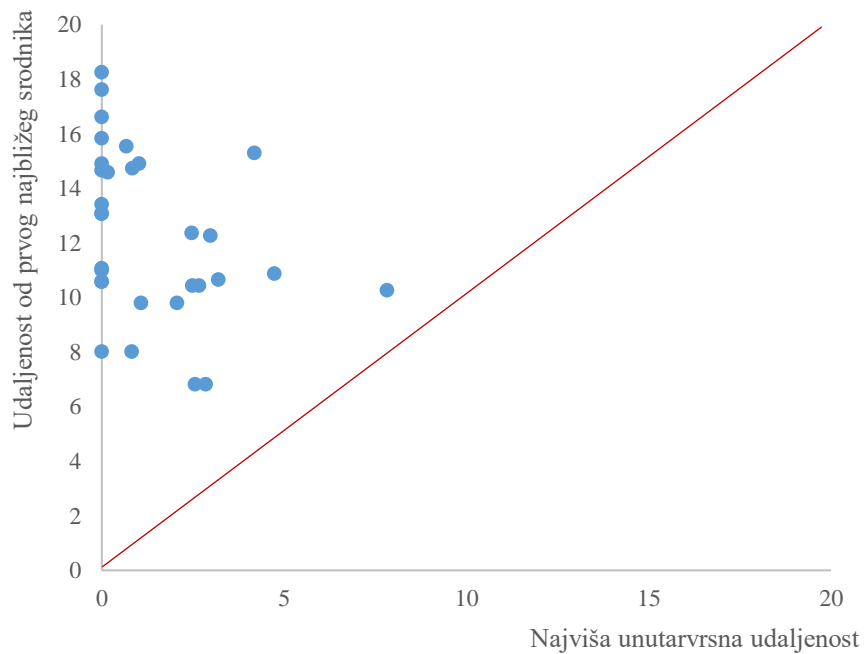
Tablica 9. - nastavak

77	BOLD:AAD7031	<i>Thomisus onustus</i>	618
78	BOLD:AAD7031	<i>Thomisus onustus</i>	613
79	BOLD:AAD7031	<i>Thomisus onustus</i>	612
80	BOLD:ACA5373	<i>Tibellus macellus</i>	599
81	BOLD:ACA5373	<i>Tibellus macellus</i>	621
82	BOLD:ACA5373	<i>Tibellus macellus</i>	592
83	BOLD:ADK2735	<i>Urocoras</i> sp.	606
84	BOLD:ADK2735	<i>Urocoras</i> sp.	619
85	BOLD:AEO5034	<i>Xysticus</i> sp.	604
86	BOLD:AAL7716	<i>Xysticus kochi</i>	611
87	BOLD:AAL7716	<i>Xysticus kochi</i>	612
88	BOLD:AAL7716	<i>Xysticus kochi</i>	614
89	BOLD:AAL7716	<i>Xysticus kochi</i>	611
90	BOLD:AAL7716	<i>Xysticus kochi</i>	614
91	BOLD:AAL7716	<i>Xysticus kochi</i>	618
92	BOLD:AAL7716	<i>Xysticus kochi</i>	615
93	BOLD:AAL7716	<i>Xysticus kochi</i>	556
94	BOLD:AEI0370	<i>Xysticus marmoratus</i>	617
95	BOLD:AEI0371	<i>Xysticus marmoratus</i>	624
96	BOLD:AEI0371	<i>Xysticus marmoratus</i>	595
97	BOLD:AAL7076	<i>Zelotes</i> sp.	579
98	BOLD:AAV7755	<i>Zelotes longipes</i>	585
99	BOLD:AAC8031	<i>Zygiella atrica</i>	584
100		<i>Araneaus</i> sp.	550

A



B



Slika 9 (A) Srednja unutarvrсна udaljenost (*p*-distance) naspram udaljenosti od prvog najbližeg srodnika. Točke iznad dijagonale označavaju analizirane vrste u kojima je *barcode gap* prisutan. (B) Najviša vrijednost unutarvršne udaljenosti (*p*-distance) naspram udaljenosti od prvog najbližeg srodnika.

Srednja unutarvrnsna udaljenost (Mean Intra-Specific Distance) za sve analizirane uzorke iz reda Araneae iznosila je 0,95% (SE=0,04), dok je vrijednost udaljenosti od prvog najbližeg srodnika (Distance to Nearest Neighbour) iznosila 12,32% (SE=0,01). Svi analizirani uzorci bili su iznad *barcode gap*-a, gdje je razlika između udaljenosti od prvog najbližeg srodnika i najviše unutarvrnsne udaljenosti iznad nule (Slika 9).

4.2 PCR dijagnostika *B. oleae* i Collembola u sadržaju probavila pauka

Analizirani su pauci prikupljeni u maslinicima i u samo 0,6% njih (1 jedinka od 168) otkriveni su ostaci DNA *B. oleae* korištenjem p_Cox1D F-p_Cox1D R para početnica.

Korištenjem para početnica 334F-440R nije umnožena DNA *B. oleae* u probavilu analiziranih predatora.

Analizom sadržaja probavila pauka uzorkovanih u periodima najveće zastupljenosti Collembola na poljoprivrednim istraživanim plohama, maslinicima i vinogradima, DNA skokuna nije potvrđena u probavilu jedinki pauka.

S obzirom na mali udio jedinki pozitivnih na istraživani plijen, daljnja statistička obrada rezultata nije napravljena.

Usporedba s rezultatima dobivenim DNA metabarkodiranjem prikazana je u poglavlju Diskusija.

4.3 DNA Metabarkodiranje

4.3.1 Početnice- izvedba

Od 256 pregledanih pauka, s BF3-BR2 parom početnica umnoženo je 198 uzoraka, a podaci su prikupljeni za 156 jedinki, od kojih je za 90 jedinki umnožena samo predatorska DNA (Tablica 10, Tablica P1).

U slučaju Telperion-Laurelin para početnica umnoženo je 55 uzoraka, a podaci su prikupljeni za 53 uzorka, od toga u slučaju 28 uzoraka je zabilježen plijen u probavilu.

Tablica 10. Izvedba početnica korištenih za metabarkodiranje probavila pauka.

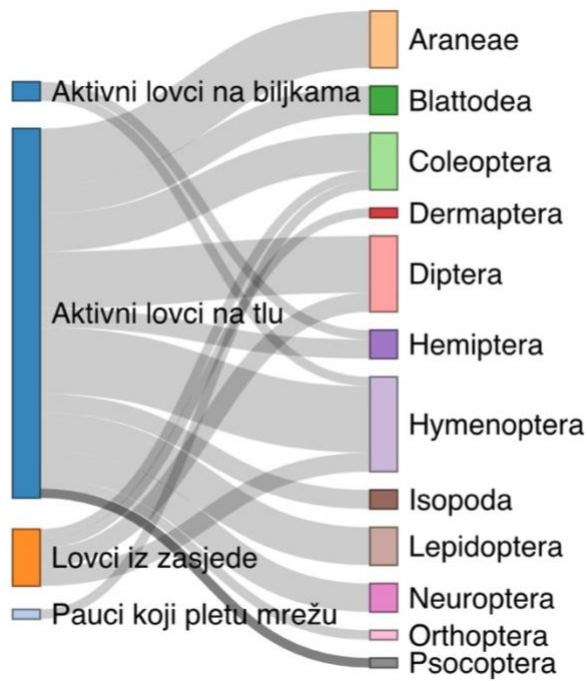
Početnice	Jedinke (N)	Jedinke poslane na sekvenciranje (N)	Pozitivne jedinice na DNA plijena u probavilu (N)	Negativne jedinice na DNA plijena u probavilu (N)	Jedinke za koje sekvenciranje nije uspjelo (N)
Telperion-Laurelin	221	55	28	25	2
BF3-BR2	256	198	66	90	42

4.3.2 Analiza prehrane jedinki pauka

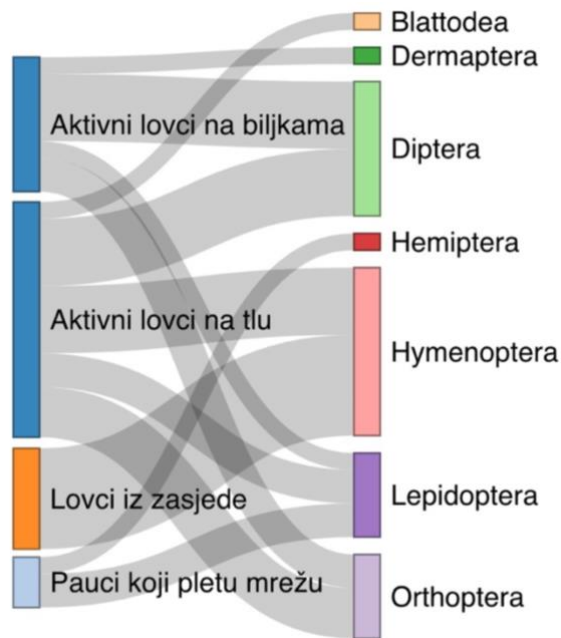
Podaci o prehrani prikupljeni su za 82 jedinice pauka preklapanjem rezultate za oba para početnica, od toga 8 jedinice uzorkovanih na prirodnom staništu, 26 u masliniku s EPM, 31 u masliniku s IPM, 14 u vinogradu s IPM, te 3 u vinogradu s EPM.

U sastavu probavila pauka zabilježeno je 12 redova beskralježnjaka, redom Araneae, Blattodea, Coleoptera, Dermaptera, Diptera, Hemiptera, Hymenoptera, Isopoda, Lepidoptera, Neuroptera, Orthoptera i Psocoptera. Redovi plijena zabilježeni u probavilu pauka uzorkovanih u masliniku s IPM prikazani su na Slici 10A, dok su redovi plijena zabilježeni u probavilu pauka uzorkovanih u masliniku s EPM prikazani su na Slici 10B. Redovi plijena zabilježeni u probavilu pauka uzorkovanih u vinogradu s IPM prikazani su na Slici 11A. Redovi plijena zabilježeni u probavilu pauka uzorkovanih na prirodnom staništu prikazani su na Slici 11B. Važnost redova plijena u prehrani pauka uzorkovanih u vinogradu s EPM su kako slijedi Diptera, Araneae te Hymenoptera.

A

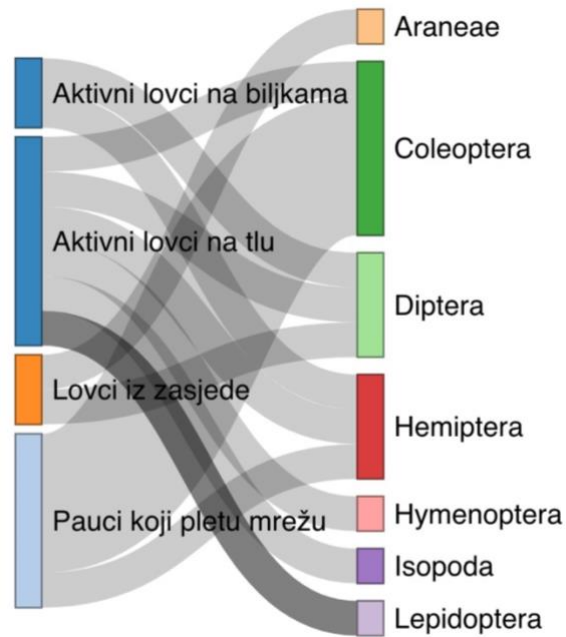


B

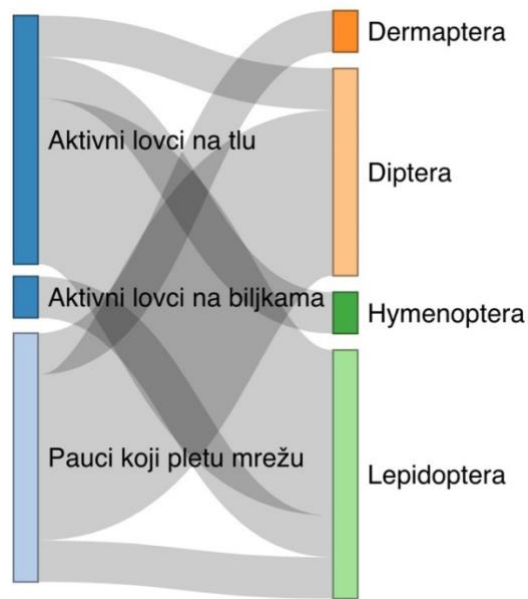


Slika 10. Sankey dijagrami prehrane pauka podijeljenih s obzirom na strategije lova u (A) masliniku s IPM i (B) masliniku s EPM. Širina oznake skupine prema strategiji lova ukazuje na relativnu brojnost pauka po skupini, širina putova protoka ukazuje na relativnu važnost (relativan broj jedinki zabilježen) u prehrani pauka po skupini, a širina oznake određenog plijena ukazuje na relativnu važnost tog plijena u prehrani pauka za sve vrste prema strategiji lova.

A



B



Slika 11. Sankey dijagrami prehrane pauka po redovima plijena podijeljenih s obzirom na strategije lova u vinogradu s IPM (A) i prirodnom staništu (B). Širina oznake skupine prema strategiji lova ukazuje na relativnu brojnost pauka po skupini, širina putova protoka ukazuje na relativnu važnost (relativan broj jedinki zabilježen) u prehrani pauka po skupini, a širina oznake određenog plijena

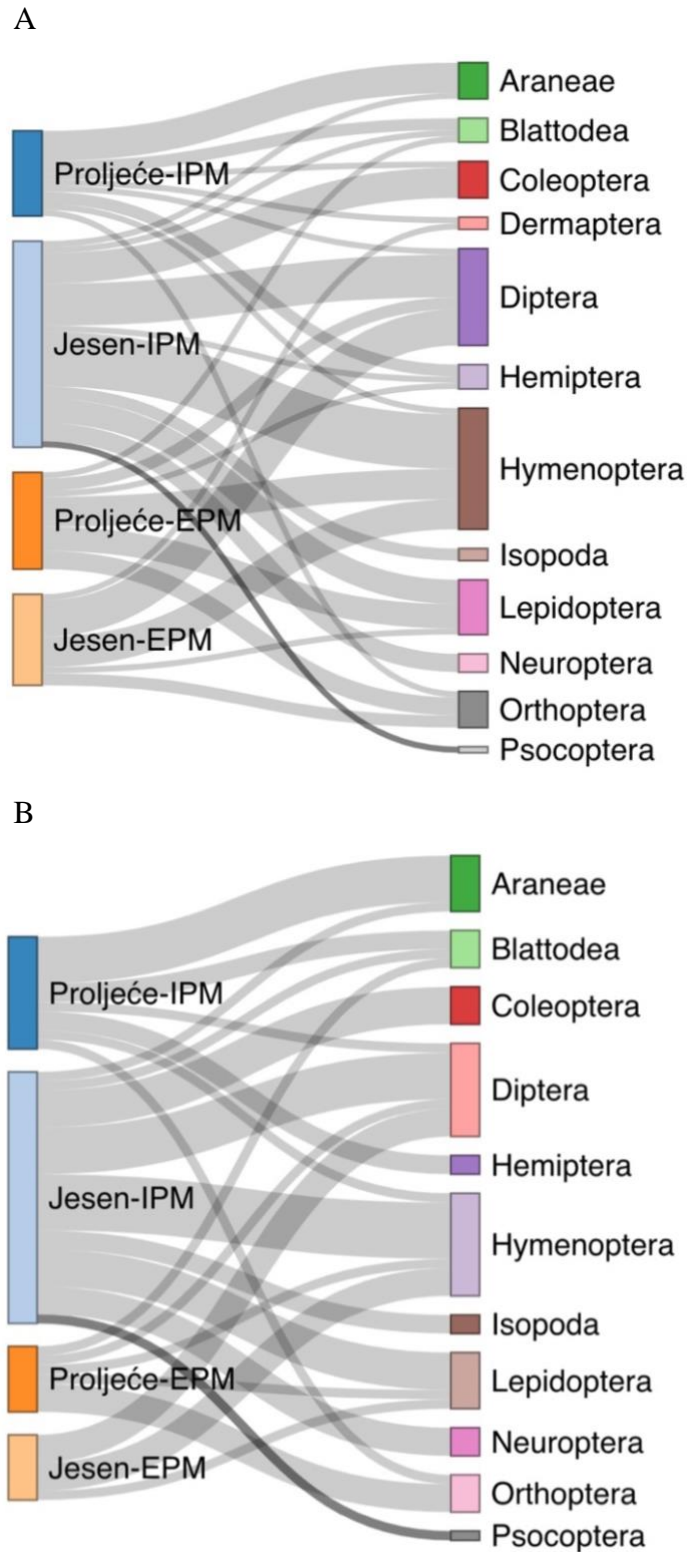
ukazuje na relativnu važnost tog plijena (relativan broj jedinki zabilježen) u prehrani pauka za sve vrste prema strategiji lova.

4.3.2.1 Utjecaj staništa (tipa upravljanja) i perioda uzorkovanja na sastav redova beskraljčnjaka u probavilu pauka

Uočene su razlike u prehrani pauka između tipa upravljanja i perioda uzorkovanja

Specifična prehrana pauka uzorkovanih u maslinicima bila je značajno povezana s načinom upravljanja (GEE: $\chi^2 = 656,8$, d.f. = 11, $p = <0,001$), te periodom uzorkovanja (GEE: $\chi^2 = 402,74$, d.f. = 11, $p = <0,001$) (Slika 12A). S obzirom da čine najveći udio u ukupnom broju analiziranih jedinki, pauzi aktivni lovci na tlu analizirani su zasebno.

Specifična prehrana pauka aktivnih lovaca na tlu uzorkovanih u maslinicima bila je značajno povezana s tipom upravljanja (GEE: $\chi^2 = 296,81$, d.f. = 11, $p = <0,001$), periodom uzorkovanja (GEE: $\chi^2 = 2223,88$, d.f. = 11, $p = <0,001$), te interakcijom tipa upravljanja i perioda uzorkovanja (GEE: $\chi^2 = 162,19$, d.f. = 11, $p = <0,001$) (Slika 12B).



Slika 12. Sankey dijagrami prehrane uzorkovanih u dva tipa maslinika s obzirom na tip upravljanja i period uzorkovanja (A) te pauka lovaca na tlu uzorkovanih u dva tipa maslinika s obzirom na tip upravljanja i period uzorkovanja. (B) Širina oznake za period uzorkovanja - tipa upravljanjan

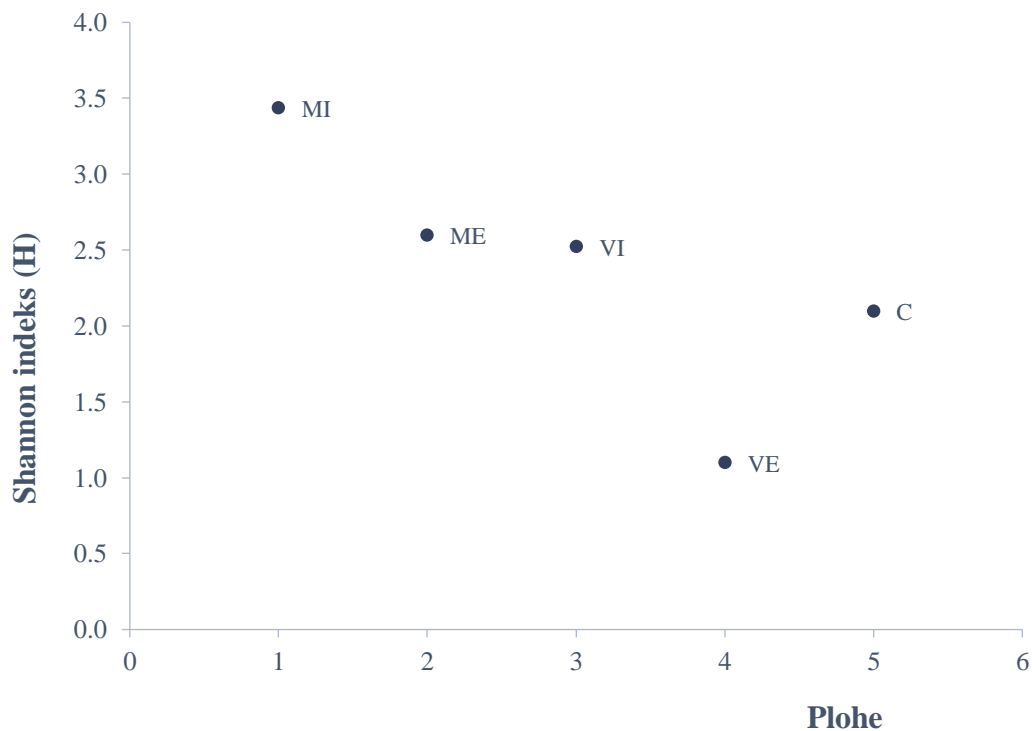
prema ukazuje na relativnu brojnost pauka po skupini, širina putova protoka ukazuje na relativnu važnost (relativan broj jedinki zabilježen) u prehrani pauka po skupini, a širina oznake određenog plijena ukazuje na relativnu važnost tog plijena (relativan broj jedinki zabilježen) u prehrani pauka za sve vrste prema strategiji lova.

Specifična prehrana pauka uzorkovanih u vinogradima bila je značajno povezana s tipom upravljanja (GEE: $\chi^2 = 2268,07$, d.f. = 6, $p = <0,001$), te periodom uzorkovanja (GEE: $\chi^2 = 38,59$, d.f. =6, $p = <0,001$).

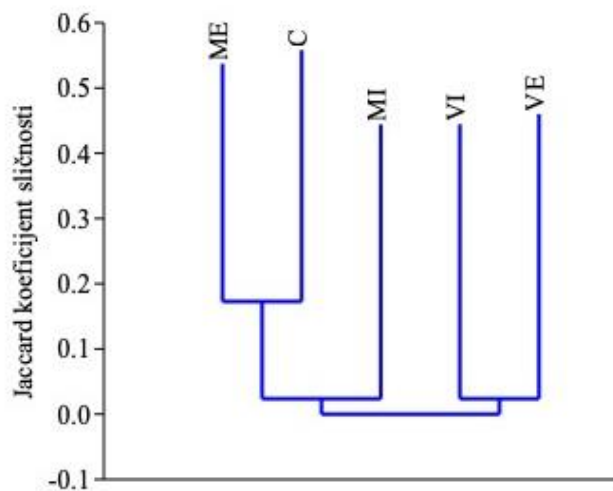
4.3.3 Raznolikost plijena u probavilu pauka

Najveća alfa raznolikost (Shannon indeks raznolikosti) rodova plijena zabilježenih u probavilu primijećena je za pauke uzorkovane u masliniku s IPM ($H = 3,4$), dok je najmanja alfa raznolikost primijećena u probavilu pauka uzorkovanih u vinogradu s EPM ($H = 1,1$), što se može pripisati i manjem broju uzoraka za taj skup pauka (Slika 13).

Najveća sličnost rodova plijena (Jaccardov koeficijent sličnosti) zabilježenih u probavilu primijećena je za pauke uzorkovane u prirodnom staništu i masliniku s EPM (Slika 14). Također prema sličnosti rodova plijena pauci uzorkovani u prirodnom staništu te masliniku s EPM grupirali su se i s paucima uzorkovanim u masliniku s IPM. Pauci uzorkovani u oba tipa vinograda grupirani su s obzirom na sastav plijena u probavilu.



Slika 13. Shannon indeks raznolikosti plijena zabilježenog u probavilu pauka između različitih ploha. MI označava maslinik s IPM, ME maslinik s EPM, VI vinograd s IPM, VE vinograd s EPM, C prirodno stanište.



Slika 14. Sličnost (Jaccardov koeficijent sličnosti) između ploha s obzirom na rodove plijena zabilježene u probavilu pauka. MI označava maslinik s IPM, ME maslinik s EPM, VI vinograd s IPM, VE vinograd s EPM, C prirodno stanište.

Pojedine vrste koje se u literaturi navode kao nametnici na biljkama zabilježene su u sastavu probavila pauka, uključujući muhe (*Cystiphora sonchi*, *Oscinella* sp.), leptire (*Cadra figulilella*, *Plutella xylostella*, *Prays oleae*, *Prays fraxinella*, *Udea ferrugalis*), stjenice (*Psammotettix* sp., *Laodelphax striatellus*) te kornjaše (*Sitona lineatus*). Osim vrsta koje se u literaturi navode kao nametnici na biljkama zabilježene su i vrste koje se smatraju invazivnim vrstama poput komarca *Aedes albopictus*, kusokrilaca (Coleoptera, Staphylinidae) *Oxytelus sculptus* te *Philonthus concinnus*, te leptira *Plutella xylostella*.

4.3.4 Biološki potencijal pauka u kontroli kukaca nametnika

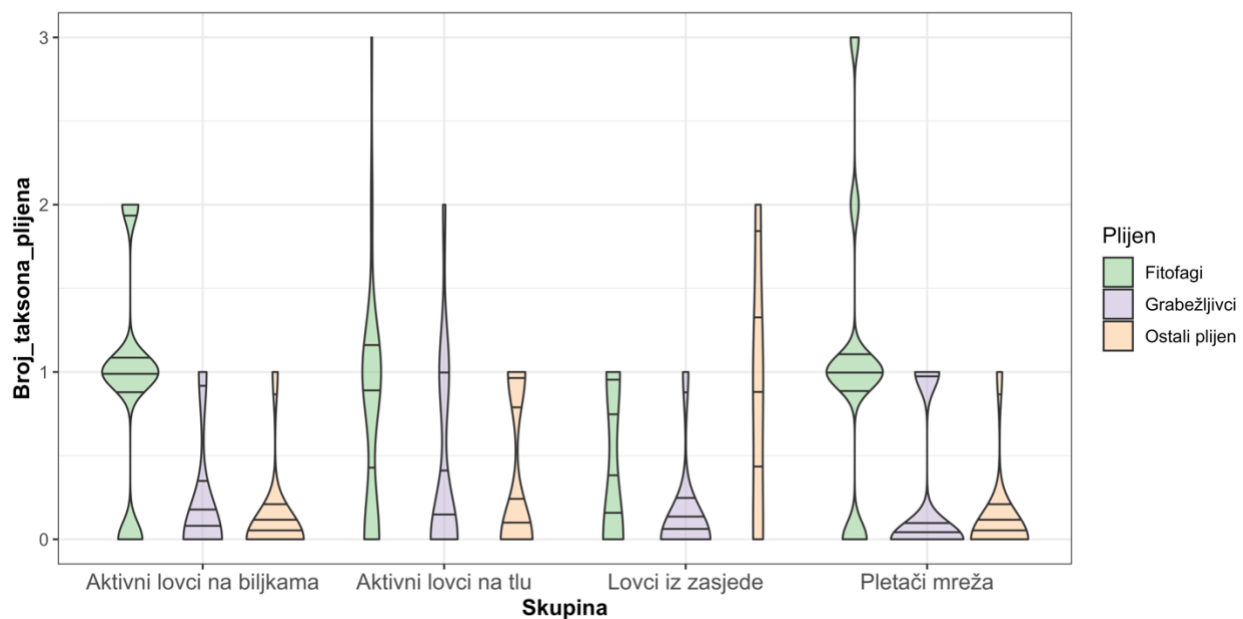
U mediteranskim staništima, značajan učinak na prehranu pauka fitofagnim beskralježnjacima u odnosu na ostali plijen ili *intraguild* grabežljivost ima tehnika lova (Faktorijalna ANOVA: $F_6=3,057$, $p=0.007$) te tip upravljanja poljoprivrednim staništem (Faktorijalna ANOVA: $F_4=4,729$, $p=0.001$), dok sezona nema utjecaja (Faktorijalna ANOVA: $p>0.05$) (Tablica 11).

Razlike u frekvenciji fitofagnog, ostalog plijena i drugih grabežljivaca zabilježenih u probavilu različitih skupina pauka s obzirom na tehniku lova koju primjenjuju prikazane su na Slikama 15-17.

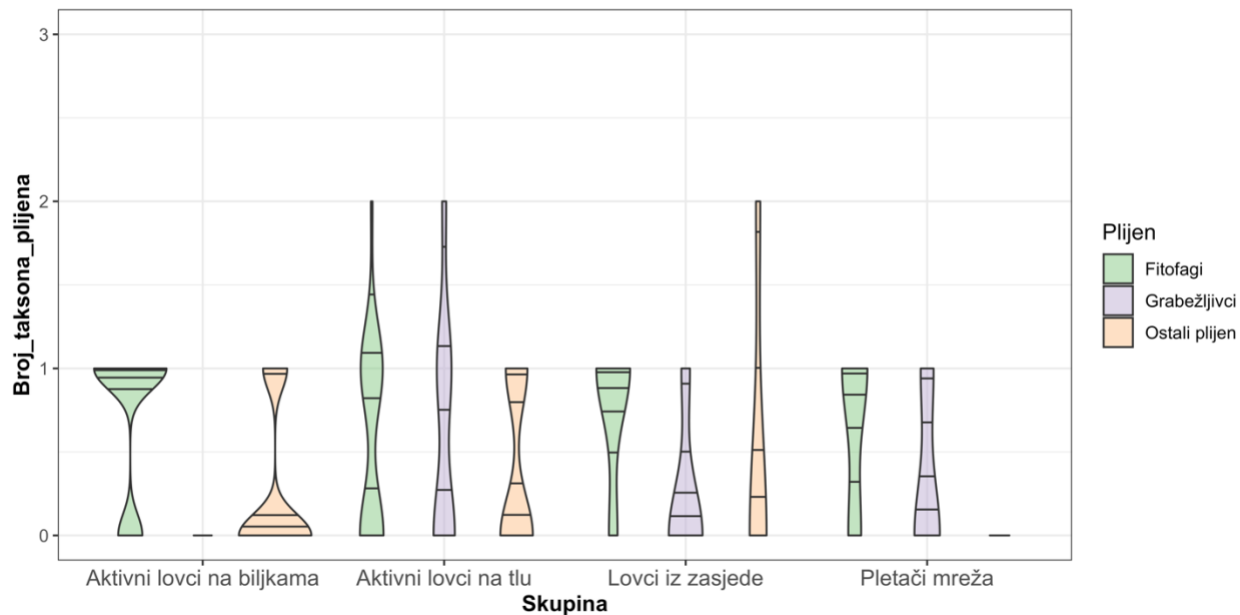
Tablica 11. Rezultati analize varijanci za utjecaj tehnike lova pauka (Skupina), tipa upravljanja (Upravljanje) te sezone (Sezona) na tipove plijena (Plijen) zabilježene u probavilu pauka.

Efekt	SS	Df	MS		P
Odsjek (engl. Intercept)	32,309	1	32,309	99,503	0,000
Upravljanje*Plijen	6,142	4	1,535	4,729	0,001
Sezona*Plijen	1,221	2	0,610	1,880	0,155
Odsjek (engl. Intercept)	22,838	1	22,838	68,070	0,000
Plijen*Skupina	6,153	6	1,026	3,057	0,007
Sezona*Plijen	1,221	2	0,610	1,880	0,155

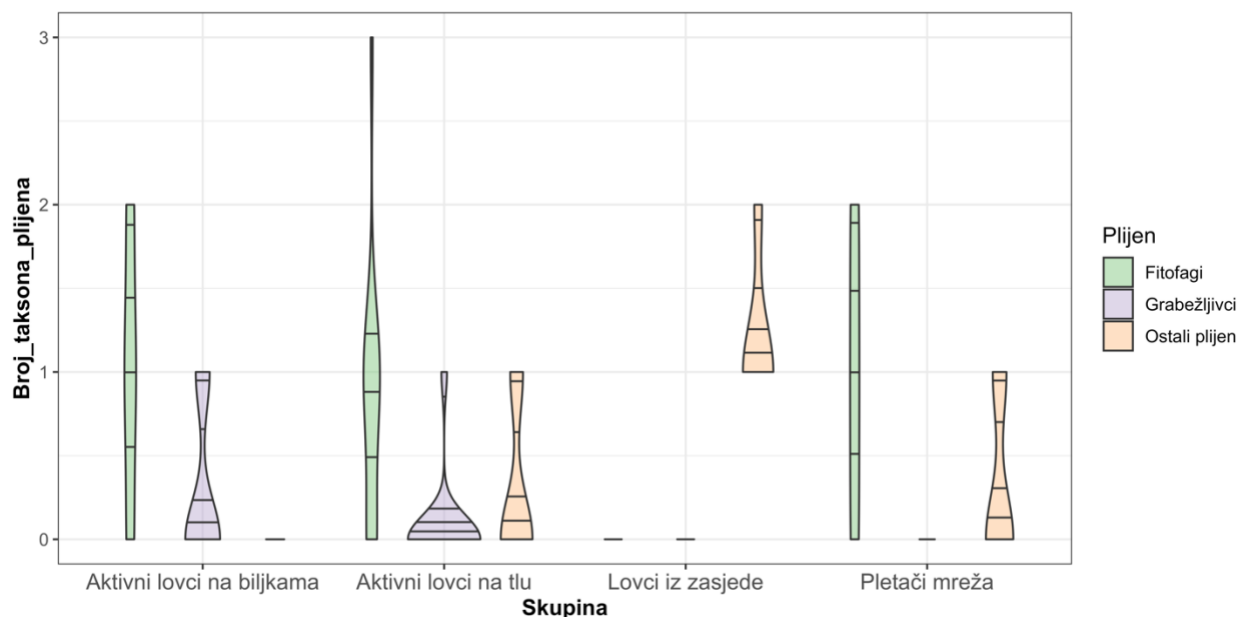
*SS označava zbroj kvadrata (engl. *Sum of Squares*), df označava stupnjeve slobode (engl. *Degrees of Freedom*), MS označava sredinu kvadrata (engl. *Mean of Squares*), F označava F-omjer (engl. *F-ratio*) te p označava p-vrijednost (engl. *p-value*).



Slika 15. Frekvencija fitofaga, ostalog plijena i grabežljivaca zabilježenih u probavilu pauka grupiranih s obzirom na tehniku lova na poljoprivrednim površinama. Vodoravne linije unutar oblika označavaju, odozdo prema gore, donji kvartil, medijan, gornji kvartil i gornjih 95%. Širina iscrtanog oblika označava relativnu učestalost pauka koji su se hranili određenom skupinom plijena.



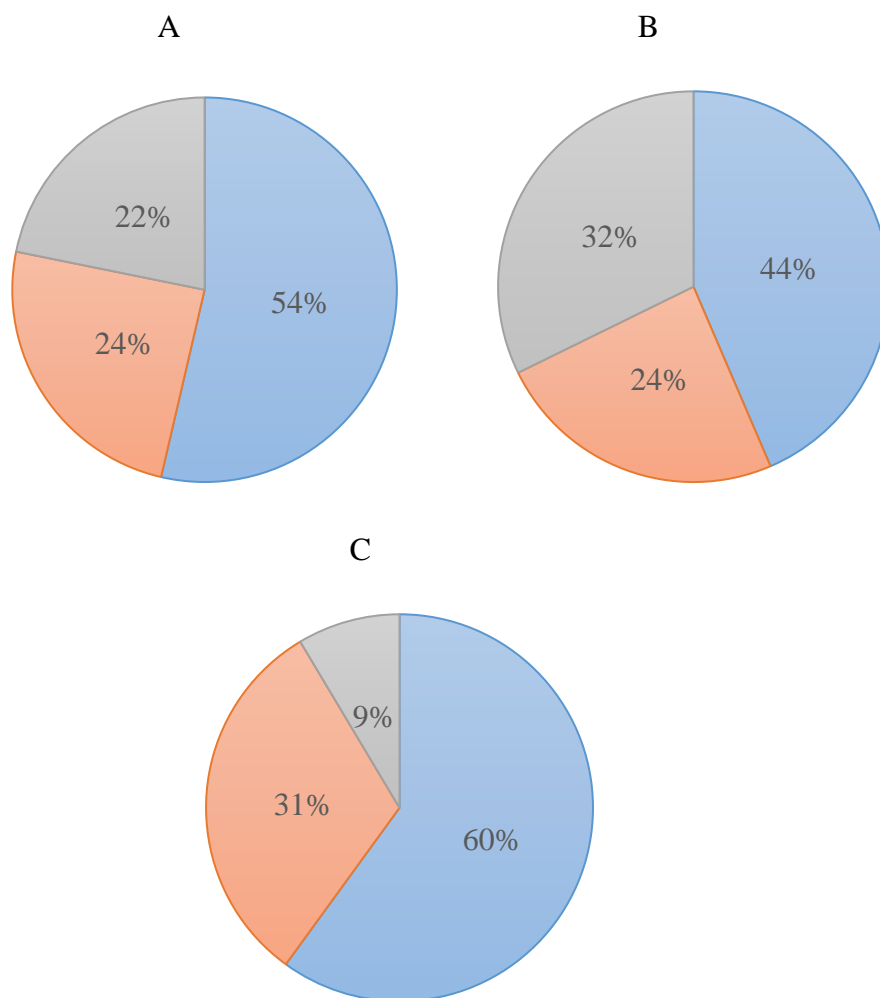
Slika 16. Frekvencija fitofaga, ostalog plijena i grabežljivaca zabilježenih u probavilu pauka grupiranih s obzirom na tehniku lova na poljoprivrednim površinama s IPM. Vodoravne linije unutar oblika označavaju, odozdo prema gore, donji kvartil, medijan, gornji kvartil i gornjih 95%. Širina iscrtanog oblika označava relativnu učestalost pauka koji su se hranili određenom skupinom plijena.



Slika 17. Frekvencija fitofaga, ostalog plijena i grabežljivaca zabilježenih u probavilu pauka grupiranih s obzirom na tehniku lova na poljoprivrednim površinama s EPM. Vodoravne linije unutar oblika označavaju, odozdo prema gore, donji kvartil, medijan, gornji kvartil i gornjih 95%.

Širina iscrtanog oblika označava relativnu učestalost pauka koji su se hranili određenom skupinom plijena.

Najveći udio plijena u probavilu pauka činili su fitofagni beskralježnjaci (54%) (Slika 21). Na plohama s EPM najmanji udio u ukupnom plijenu činili su ostali grabežljivci, dok na plohama s IPM najmanji udio u ukupnom plijenu činio je ostali plijen (Slika 18). I na plohama s EPM i na plohama s IPM najveći udio plijena otpadao je na fitofagne organizme.



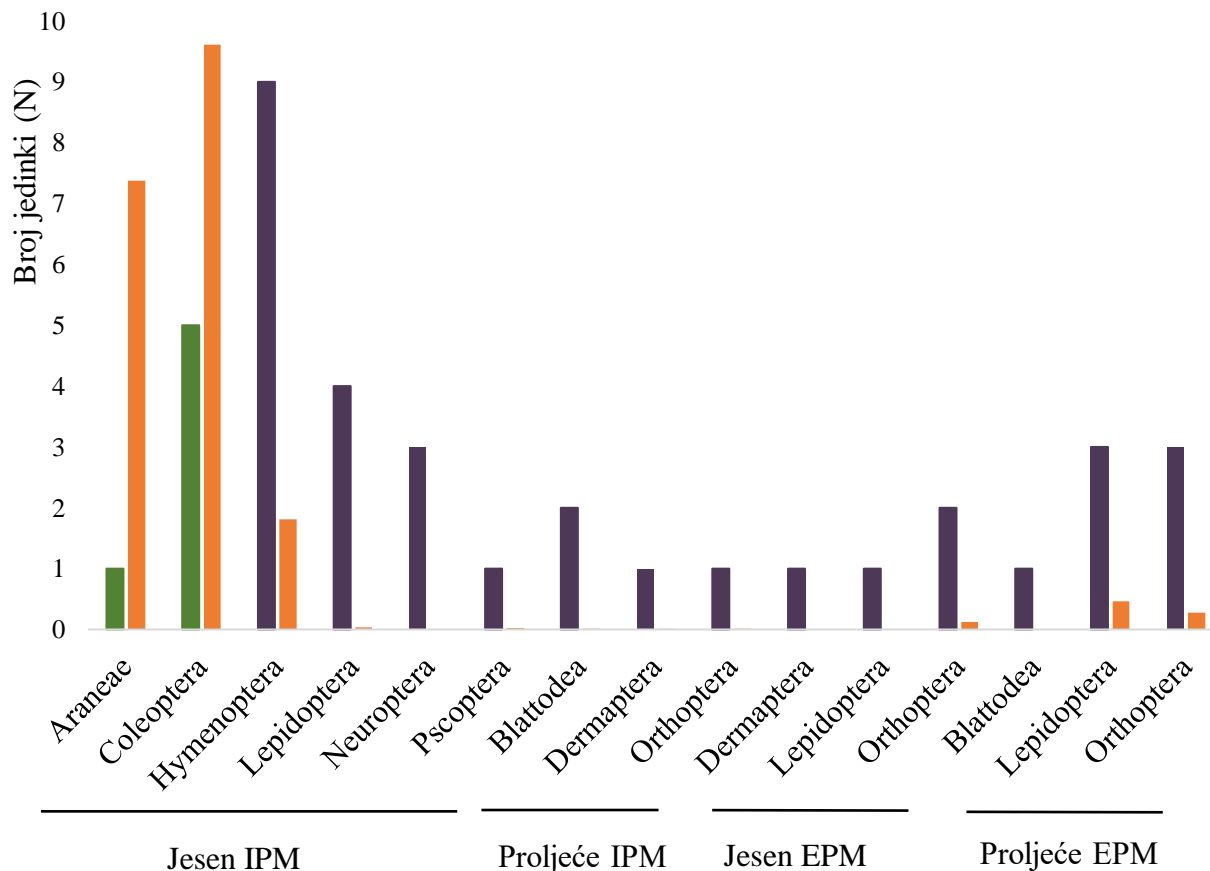
Slika 18. Udjeli fitofaga (plavo), ostalog (narančasto) i grabežljivog (sivo) plijena na svim plohama (A), na plohama s IPM (B) te na plohama s EPM (C).

4.3.5 Odabir plijena u maslinicima

Pauci su birali plijen koji su jeli s višom ili nižom relativnom učestalošću od očekivane na temelju dostupnosti u oba tipa maslinika u obje sezone (Tablica 12).

Pauci iz maslinika s IPM u jesen jeli su skupine Hymenoptera (SES= 5,77; zabilježeno= 9; očekivano = 2), Lepidoptera (SES= 2,13; zabilježeno= 4; očekivano = 0,04), Neuroptera (SES= NP; zabilježeno= 3; očekivano = 0) i Psocoptera (SES= 6,66; zabilježeno= 1; očekivano = 0,02) više od očekivanog, a druge pauke (SES= -3,08; zabilježeno= 1; očekivano = 7) i Coleoptera (SES= -2,17; zabilježeno= 5; očekivano = 10) manje od očekivanog prema nul modelima (Slika 19). Pauci iz maslinika s IPM u proljeće jeli su skupine Blattodea (SES= 1,45; zabilježeno= 2; očekivano = 0,02), Dermaptera (SES= ,291; zabilježeno= 1; očekivano = 0,01) i Orthoptera (SES= 7,38; zabilježeno= 1; očekivano = 0,02) znatno više od očekivanog (Slika 19). Odabir svih ostalih redova plijena bio je u skladu s nultim modelima te su ih pauci jeli prema stopama očekivanim na temelju njihove gustoće.

Pauci iz maslinika s EPM u jesen jeli su Dermaptere (SES= NP; zabilježeno= 1; očekivano = 0), Lepidoptere (SES= NP; zabilježeno= 1; očekivano = 0), i Orthoptere (SES= 5,65; zabilježeno= 2; očekivano = 0), više od očekivanog (Slika 19). Pauci iz maslinika s EPM u proljeće jeli su skupine Blattodea (SES= NP; zabilježeno= 1; očekivano = 0), Lepidoptera (SES= 4,08; zabilježeno= 3; očekivano = 0,46), i Orthoptera (SES= 5,48; zabilježeno= 3; očekivano = 0,28), više od očekivanog (Slika 19). Odabir svih ostalih redova plijena bio je u skladu s nultim modelima te su ih pauci jeli prema stopama očekivanim na temelju njihove gustoće (Tablica 12).



Slika 19. Prikaz odstupanja od očekivanih učestalosti trofičkih odnosa pauka u dva tipa maslinika u dvije sezone. Narančasto = očekivani broj, zeleno = niži broj zabilježenih jedinki tog reda u probavilu od očekivanog, ljubičasto = veći broj zabilježenih jedinki tog reda probavilu odnosu od očekivanog. Učestalost redova plijena u probavilu pauka razdvojena je prema sezonama (jesen-proljeće) i načinu upravljanja maslinikom (IPM-EPM).

Tablica 12. Odabir plijena prema gustoći u maslinicima s EPM i IPM u dvije sezone analiziran metodom *econullnetr* nultog modela. Ns označava uzorke čiji je zabilježeni broj u probavilu u skladu s *null* modelom. NP je oznaka za nije primjenjivo. SES označava Standardizirani učinak veličine (eng. Standardized effect sizes).

Tip upravljanja	Sezona	Red plijena	Zabilježeno jedinki u probavilu (N)	Odabir plijena	SES
IPM	Jesen	Araneae	1	Slabije	-3,0813
		Blattodea	1	ns	2,8563

Tablica 12. - nastavak

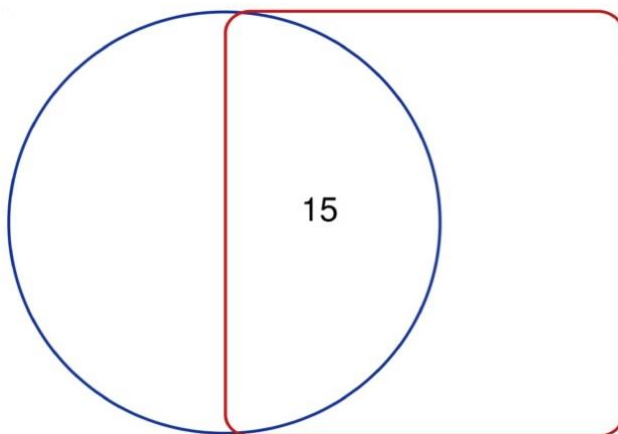
		Coleoptera	5	Slabije	-2,1746
		Dermaptera	0	ns	-0,2528
		Diptera	6	ns	-0,5977
		Hemiptera	1	ns	0,1053
		Hymenoptera	9	Jače	5,7725
		Isopoda	2	ns	-1,998
		Lepidoptera	4	Jače	2,1258
		Neuroptera	3	Jače	NP
		Orthoptera	0	ns	-0,2221
		Pscoptera	1	Jače	6,6607
IPM	Proljeće	Araneae	4	ns	1,94
		Blattodea	2	Jači	1,45
		Coleoptera	1	ns	-1,49
		Dermaptera	1	Jači	1,29
		Diptera	1	ns	-1,61
		Hemiptera	2	ns	0,5
		Hymenoptera	1	ns	-0,95
		Isopoda	0	ns	-1,04
		Lepidoptera	0	ns	-0,13
		Neuroptera	0	ns	NP
		Orthoptera	1	Jači	7,38
		Pscoptera	0	ns	-0,13
EPM	Jesen	Araneae	0	ns	-2,02
		Blattodea	0	ns	NP
		Coleoptera	0	ns	-1,39
		Dermaptera	1	Jači	NP
		Diptera	3	ns	1,58
		Hemiptera	0	ns	-1,62
		Hymenoptera	5	ns	1,12
		Isopoda	0	ns	-0,43
		Lepidoptera	1	Jači	NP
		Neuroptera	0	ns	-0,36
		Orthoptera	2	Jači	5,65
		Pscoptera	0	ns	-0,1
EPM	Proljeće	Araneae	0	ns	-1,81
		Blattodea	1	Jači	NP
		Coleoptera	0	ns	-1,36
		Dermaptera	0	ns	-0,25
		Diptera	2	ns	0,31
		Hemiptera	1	ns	0,12

Tablica 12. - nastavak

Hymenoptera	4	ns	-1,37
Isopoda	0	ns	-1,05
Lepidoptera	3	Jači	4,08
Neuroptera	0	ns	-0,14
Orthoptera	3	Jači	5,48
Pscoptera	0	ns	-0,05

4.4 Primjena rezultata DNA barkodiranja pri analizi rezultata DNA metabarkodiranja trofičkih odnosa

U probavilu pauka potvrđene su vrste i morfo-vrste Isopoda (1), Diptera (2), Coleoptera (2), Hemiptera (3), Hymenoptera (3), Araneae (1), Lepidoptera (3) koje su ranije određene metodom DNA barkodiranja faune mediteranskih poljoprivrednih površina u sklopu MEDITERATRI projekta (HRZZ-UIP-05-2017) i ove doktorske disertacije (Slika 20). Za neke jedinke koje su zabilježene u probavilu pauka sravnjivanje sekvencija s onima dostupnim u bazama podataka dalo je podudarne rezultate za vrste čija geografska rasprostranjenost ne obuhvaća šire područje istraživanja te smatramo kako bez obzira na podudaranje se ne radi o navedenim vrstama (Tablica 13).



Slika 20. Vennov dijagram broja morfo-vrsta koje su analizirane DNA barkodiranjem u sklopu MEDITERATRI projekta (plavi krug) i broj vrsta potvrđenih u probavilu pauka metodom DNA metabarkodiranja (crveni kvadrat).

Dio jedinki zabilježenih u probavilu pauka iz redova Coleoptera, Hemiptera, Diptera, Hymenoptera i Dermaptera određen je samo do reda, porodice ili roda na temelju sravnjavanja sekvencija sa sekvencijama pohranjenim u bazama podatka (Tablica 13).

Tablica 13. Pouzdanost DNA metabarkodiranja u određivanju vrsta plijena u probavilu.

Plijen određen do vrste (N)	Plijen upitno određen do vrste (s obzirom na geografsku rasprostranjenost) (N)	Plijen određen do reda (N)	Plijen određen do porodice (N)	Plijen određen do roda (N)
45	5	3	2	9

5. RASPRAVA

5.1 DNA barkodiranje potencijalnog plijena u mediteranskim vinogradima i maslinicima

Rezultati DNA barkodiranja potvrđuju da su jedinke redova Lepidoptera, Hemiptera, Diptera, i Hymenoptera imale bolju pokrivenost u bazama podataka u odnosu na jedinke redova Collembola, Isopoda i Oligochaeta. S obzirom na široku rasprostranjenost u poljoprivrednim područjima, potvrđeno je da redovi Hemiptera i Diptera imaju najveći broj vrsta i morfo-vrsta. Zbog opsežnih postignuća u implementaciji DNA barkodiranja i stvaranja referentnih baza podataka, predstavnike reda Hemiptera se može u velikoj mjeri odrediti na razini vrste (Coeur d'acier i sur., 2014.; Footit i sur., 2008.; Gwiazdowski i sur., 2015.; Park i sur., 2015.) što potvrđuju i rezultati mojeg istraživanja. Za vrste iz reda Lepidoptera takvo određivanje omogućeno je intenzivnim barkodiranjem europske faune s više od 73% vrsta rasprostranjenih na području Europe s unesenim sekvencijama u BOLD ili NCBI GenBank (Huemer i sur., 2014.; Lopez-Vaamonde i sur., 2021.). Istraživanje Huemer i Mutanena (2022.) pokazuje da je veća zastupljenost u bazama vrsta sa sjevernoeuropskom i srednjeeuropskom rasprostranjenošću u odnosu na vrste s rasprostranjenošću u južnoj Europi te bi daljnje barkodiranje faune i povećanje broja jedinki Lepidoptera u uzorku vjerojatno ukazalo na takav jaz u bazama. U slučaju vrsta iz reda Hymenoptera vrste zabilježene u tijeku našeg istraživanja pokazuju rasprostranjenost na području mediteranske biogeografske regije te je taksonomsko određivanje provedeno na temelju sekvencija dostupnih za vrste s mediteranskom rasprostranjenošću koje su pohranjene u bazama podataka (Schär i sur., 2020.). Takvi rezultati ukazuju na važnost barkodiranja vrsta s užim arealom kako bi njihova identifikacija bila moguća korištenjem DNA barkodiranja. Jedinke iz reda Diptera potvrdile su obrazac ranije prijavljen u istraživanjima (Morinière i sur., 2019., Chimeno i sur., 2022.) za vrste iz svojiti koje se smatraju *dark taxa* zbog svoje male tjelesne veličine te posljedično zanemarenosti tijekom ranijih istraživanja. Takve jedinke je otežano odrediti na razini vrste korištenjem DNA barkodiranja. Međutim, DNA barkodiranjem nije uspjelo određivanje jedinki redova Oligochaeta i Collembola do razine vrste. Jedinke reda Oligochaeta određene su do razine roda te je potvrđeno da pripadaju rodu *Octodrilus*. Metode razgraničenja vrsta, korištene u svrhu određivanja broja MOTU jedinica na istraživanom području, pokazale su da se uzorak može podijeliti na tri MOTU jedinice (Slika 6). Međutim, uzimajući u obzir rezultate Huanga i sur. (2007.), gdje je međuvrsna udaljenost u

nekim slučajevima bila veća od 15%, a unutar vrsna udaljenost do 7,8% jedinice reda Oligochaeta grupirale su se u dvije morfo-skupine (Tablica 8). Takav rezultat je u skladu s morfološkim podacima.

Usporedba dobivenih rezultata za jedinice iz reda Collembola s ranijim istraživanjima (Shaw i Benefer, 2015.) ukazuje da se vjerojatno radi o endemskim ili vrstama s uskim arealom. Jedinice su grupirane u četiri MOTU jedinice usporedbom morfoloških s genetskim podacima i rezultatima metoda razgraničenja vrsta naših jedinki (Slika 7, Slika 8). Najviše jedinki pripadalo je rodu *Lepidocyrtus* koji među rodovima Collembola ima najveći broj vrsta (Mateos i sur., 2019.). Zbog učestalosti kriptičnih vrsta i skupina vrsta koje se ne mogu razriješiti korištenjem samo morfoloških oznaka, smatra se kako je stvarni broj vrsta *Lepidocyrtus* znatno veći od broja vrsta trenutno poznatog što je vjerojatno slučaj s primjercima roda *Lepidocyrtus* prikupljenim na našim istraživačkim plohama (Mateos i sur., 2018.). Kompleks vrsta *Lepidocyrtus pallidus* sastoji od šest vrsta (*L. pallidus* Reuter, 1890; *L. serbicus* Denis, 1933; *L. pseudosinelloides* Gisin, 1967; *L. weidneri* Hüther, 1971; *L. arrabonicus* Traser 2000 *L. tomosvaryi* sp.). U Europi rod *Lepidocyrtus* broji sve veći broj vrsta (Winkler i sur. 2012).

Metode razgraničenja vrsta dva BIN-a iz roda *Orchesella* grupirali su u jedan MOTU (Slika 7). Između dva navedena BIN-a postoji morfološka razlika vidljiva u različitim razinama pigmentacije, ali ova unutarvrsna varijabilnost, koja utječe na pigmentaciju, ponekad je povezana s njihovim životnim ciklusom (Parisi i sur., 1960.). Vrste roda *Orchesella* s područja Mediterana imaju visoku genetsku divergentnost, što je vjerojatno razlog zašto se naši primjerci razlikuju u odnosu na druge vrste roda *Orchesella*, čije su sekvencije prijavljene u bazama podataka, BOLD i NCBI GenBank (Galimberti i sur., 2019.; Parisi i sur., 1960.)

Naši rezultati potvrđuju da je važno povezati rezultate molekularnih analiza s morfološkim podacima u bazama podataka, s obzirom na nesklad rezultata između metoda razgraničenja vrsta, što u slučaju skupina Oligochaeta i Collembola potvrđuju i ranija istraživanja (Galimberti i sur., 2019.).

Učinkovitost DNA barkodiranja u poljoprivrednim područjima unutar mediteranskog dijela Hrvatske varira ovisno o nizu čimbenika, uključujući stupanj razriješenosti taksonomskih odnosa unutar skupine i povezanost molekularnih s morfološkim podacima vrste (De Salle i Goldstein, 2019.) i dostupnost podataka za različite skupine organizama u dvije najveće baze podataka (NCBI i BOLD). Stoga je važno dopuniti bazu DNA barkodova s mediteranskim svojstama koje još nisu

sekvencirane, posebice za skupine kao što su Collembola i Oligochaeta. Referentna baza DNA barkodova, koja uključuje sekvencije za endemske i vrste s uskim arealom (Anđelić Dmitrović i sur., rad na recenziji), za navedeno područje vjerojatno bi podržala taksonomska istraživanja te olakšala istraživanja bioraznolikosti za mediteransko biogeografsko područje.

5.2 DNA barkodiranje pauka

U ovom istraživanju dobiveni su DNA barkodovi za 31 vrstu pauka prisutnih u mediteranskoj biogeografskoj regiji (Tablica 9). Rezultati ovog istraživanja potvrđuju DNA barkodiranje kao pouzdanu metodu u razlikovanju vrsta pauka prisutnih u istraživanom području, s obzirom na postojanje *barcode gap*-a između unutarvrstnih i međuvrstnih nukleotidnih divergencija, što je potkrijepljeno i ranijim istraživanjima u drugim geografskim regijama (Barrett i Hebert, 2005.; Robinson i sur., 2009.; Blagoev i sur., 2016.; Gaikwad i sur., 2016.; Tyagi i sur., 2019).

Na temelju sličnosti dobivenih sekvencija s onima pohranjenim u NCBI i BOLD bazama podataka, odredili smo 78% jedinki do razine vrste (Tablica 9). Naši podaci potvrđuju kako su pauci rasprostranjeni na području mediteranskih poljoprivrednih staništa dobro zastupljeni u genetičkim bazama podataka, međutim, određene vrste još nisu povezane sa sekvencijom *barcode* regije, a razlog tome može biti nedovoljna uzorkovanost određenih područja te je potrebno proširivanje baza podataka s navedenim sekvencijama.

Zbog zahtjevne morfološke determinacije te nemogućnosti morfološkog određivanja juvenilnih jedinki dobra popunjenost baza podataka NCBI i BOLD sa sekvencijama pauka osnova je brojnih ekoloških istraživanja koja se temelje na upotrebi DNA barkodiranja. S obzirom na kraće fragmente regije *COI* koje se koriste u istraživanjima DNA metabarkodiranja sadržaja probavila važno je imati pouzdane baza podataka kako bi se takve kratke sekvencije mogle povezati s istraživanom grabežljivom vrstom i pripadajućim plijenom. To je posebno važno kod istraživanja trofičkih odnosa juvenilnih pauka koje nije moguće prethodno morfološki odrediti, a čine važnu komponentu trofičke mreže zajednice pauka.

5.3 Trofički odnosi pauka analizirani metodom DNA metabarkodiranja

Odnose između grabežljivaca i plijena nije moguće uvijek pratiti izravnim promatranjem u istraživanjima trofičke ekologije. Opažanje plijena otežano je kod skupina koje svoj plijen

razgrađuju probavnim enzimima prije samog hranjenja kao što je slučaj kod štriga i pauka (Bonato i sur., 2021.). Analizu trofičkih odnosa kod takvih skupina grabežljivaca olakšavaju novije metode trofičke ekologije, preciznije metode metabarkodiranja sadržaja probavila grabežljivaca. Međutim, iako ove metode nisu ograničene u analizi trofičke mreže grabežljivaca s obzirom na način savladavanja i probave plijena, postoje drugi ograničavajući čimbenici koji otežavaju analizu cjelovite prehrane grabežljivaca. Veća zastupljenost DNA grabežljivca u uzorku i pristranost PCR početnica prema određenim taksonomskim skupinama otežava otkrivanje slabije zastupljenog plijena u probavilu (Taberlet i sur., 2018.; Lamb i sur., 2019.; Bonato i sur., 2021.). Isključivo umnažanje DNA plijena korištenjem isključujućih početnica koje ne umnažaju DNA predatora (engl. *predator excluding primers*) može uzrokovati nepotpuno otkrivanje trofičkih interakcija posebice *intraguild* interakcija, a time i utjecati na nepotpunost trofičke mreže i ekološku funkciju (Cuff i sur., 2022.). S ciljem ograničavanja učinka navedenih čimbenika korištena su dva tipa početnica tijekom istraživanja, opće i početnice koje ne umnažaju DNA grabežljivca odnosno isključujuće početnice. Velika zastupljenost umnožene DNA grabežljivca uzrokovala je da, u procesu sekvenciranja, na ovoj dubini sekvenciranja (35 000 očitavanja po uzorku), DNA plijena nije sekvencirana za velik broj uzoraka. Za dio navedenih uzoraka (16%) podaci o plijenu dobiveni su korištenjem isključujućih početnica. To je posebno vidljivo u slučaju vrste *Oxyopes heterophthalmus* gdje su podaci o prehrani za većinu jedinki (71%) ove predatorske vrste dobiveni korištenjem isključujućih početnica. Bez navedenih podataka ostali bismo bez saznanja o prehrani velikog udjela jedinki koji se od ostalih predatora razlikuju prema tehnici lova. To potvrđuje kako se korištenjem oba tipa početnica dobiju podaci o trofičkoj mreži većeg broja predatora. Na primjeru ovog istraživanja vidljivo je da se ni jedan od ova dva tipa početnica ne može koristiti samostalno s obzirom da korištenjem generalnih početnica sekvenciranje ponekad rezultira samo sekvencijama predatora, dok isključujuće početnice imaju slabiju razinu umnažanja od generalnih početnica. Isključujuće početnice su pokazale taksonomsku pristranost (engl. *taxonomic bias*) prilikom umnažanja DNA drugih redova člankonožaca u odnosu na DNA pauka, kao što je ciljano i očekivano, ali i u odnosu na DNA mrežokrilaca (Hymenoptera). S obzirom na navedeno potvrđeno je da upotreba isključivo početnica koje ne umnažaju DNA grabežljivca (isključujuće početnice) maskira *intraguild* grabežljivosti, a to je uočeno i u ranijim istraživanjima (Sierra Ramírez i sur., 2021; Cuff i sur., 2021a.). Opće i isključujuće početnice se nadopunjuju te u nekim

slučajevima tamo gdje opće početnice umnažaju samo DNA grabežljivca, isključujući početnice daju informaciju o plijenu.

U probavilu pauka utvrđena je široka raznolikost potencijalnog plijena, ukupno 12 redova te 57 rodova člankonožaca (Slike 10-11). Također zabilježena je grabežljivost prema vrstama koje su nametnici na biljkama, kao i važnost alternativnog plijena, te grabežljivost nad drugim predatorima, dominantno drugim paucima, kornjašima (Coleoptera) i mrežokrilcima. Skupine plijena zabilježene u probavilu koje su činile 77% ukupne prehrane pauka bile su Diptera, Lepidoptera, Hemiptera i Hymenoptera, dok se najveći udio Hymenoptera odnosio na jedinke mrava. Takvi rezultati su u skladu s ranijim rezultatima DNA barkodiranja faune te očekivani s obzirom da se radi o poljoprivrednim površinama (Kubiak i sur., 2022.). Sposobnost pauka da koriste alternativni, visoko hranjivi te lako dostupni plijen vjerojatno objašnjava učestalost Diptera i mrava (Formicidae) u probavilu, kao i manjih udjela ostalih alternativnih vrsta plijena (Kuusk i Ekbohm, 2010). S obzirom da su mravi vrlo aktivni kukci te brojni na istraživanim poljoprivrednim površinama (Primorac, 2021.) dolaze u česte interakcije s grabežljivcima, čime se povećavaju šanse grabežljivosti pauka prema ovoj skupini. Također, ranija istraživanja potvrđuju visoku zastupljenost Diptera u probavilu različitih porodica pauka (Kennedy i sur., 2019.; Saqib i sur., 2022.).

Na ukupnu strukturu plijena u probavilu pauka značajno su utjecali tip upravljanja poljoprivrednom površinom, kroz utjecaj obrade tla i upotrebe pesticida, te razlike u sezonama, s obzirom na pomak u dostupnosti određenih redova plijena. Dobiveni rezultati su u skladu s ranijim istraživanjima. Saqib i sur. (2022.) također su potvrdili značajan utjecaj tipa upravljanja na prehranu pauka, a Roubinet i sur. (2017.) su zabilježili značajne promjene u prehrani predatora tijekom sezona. Dok je analiza prehrane pokazala utjecaj sezone na sastav redova plijena u probavilu, sezonalne promjene nisu utjecale na omjer prehrane pauka s fitofagima u odnosu na *intraguild* predaciju i prehranu ostalim beskralježnjacima. To upućuje na to kako je potencijal pauka u biološkoj kontroli bio nepromijenjen tijekom godine. Pauci su jeli različite redove plijena tijekom dviju sezona, jesen i proljeće, međutim razina prehrane potencijalnim nametnicima na biljkama se nije znatno mijenjala. S druge strane, tip upravljanja poljoprivrednim površinama imao je značajan utjecaj na biološki potencijal pauka u kontroli fitofagnih kukaca. Veći biološki potencijal zabilježen je za

pauke s poljoprivrednih ploha s ekološkim tipom upravljanja gdje je omjer između udjela fitofagnog plijena i *intraguild* predacije bio veći u odnosu na pauke s poljoprivrednih ploha s integriranim tipom upravljanja (Slika 19). Ranija istraživanja potvrđuju kako učinkovitost u biološkoj kontroli ovisi o razini *intraguild* grabežljivosti, gdje visoke razine ove grabežljivosti negativno utječu na potencijal u kontroli kukaca nametnika na biljkama (Michalko i Pekár, 2016.; Traugott i sur., 2012.). Saqib i sur. (2022.) pokazuju kako ekološki tip upravljanja i slabija primjena pesticida imaju pozitivan utjecaj na ekološke funkcije grabežljivaca, što je potvrđeno i ovim istraživanjem.

Analizom odabira plijena (Slika 19 i Tablica 12) potvrđeno je kako su pauca manje od očekivanog jeli druge grabežljivce, kornjaše i druge pauke, s obzirom na njihovu dostupnost u masliniku s integriranim tipom upravljanja, što pozitivno utječe na njihov potencijal u biološkoj kontroli. Također, u oba tipa maslinika, određene fitofagne skupine, poput leptira, skakavaca i grizlica jeli su s većom frekvencijom u odnosu na njihovu dostupnost. Ipak, negativno na biološki potencijal može utjecati veća grabežljivost nad nekim predatorskim skupinama poput Neuroptera i Dermaptera.

Najveća raznolikost plijena na razini roda zabilježena je u ishrani pauka u masliniku s integriranim tipom upravljanja (Slika 13), što je u skladu s rezultatima ranije provedenih istraživanja bioraznolikosti na istraživanim plohama (Ivanković i sur., 2020.). Međutim, takva veća bioraznolikost plijena ne podrazumijeva veći potencijal pauka u biološkoj kontroli. Rodovi plijena zabilježeni u probavilu pauka s različitih poljoprivrednih ploha i prirodnog staništa grupirali su se prema plohama na sličan način koji je utvrđen za beskralježnjake uzorkovane na istim plohama i analizirane metodom DNA barkodiranja (Anđelić Dmitrović i sur., 2022.). Analiza sastava rodova plijena zabilježenih u probavilu sugerira veću sličnost u ukupnom sastavu plijena između staništa s obzirom na vrstu poljoprivredne kulture.

Usporedba rezultata PCR dijagnostike i DNA metabarkodiranja sadržaja probavila ukazala je kako jedinice iz skupine Collembola na istraživanim plohama ne služe paucima kao vid alternativnog plijena što je u suprotnosti s ranijim istraživanjima (Agusti i sur., 2003.; Kuusk i Agusti, 2008.). Također rezultati DNA metabarkodiranja nisu potvrdili prisutnost *B. oleae* u probavilu pauka, ali

ta prisutnost je potvrđena metodom PCR dijagnostike. Mali broj jedinki pozitivan na DNA *B. oleae* u probavilu može se objasniti malim brojem jedinki ove vrste nametnika zabilježenih tijekom redovnog monitoringa u istraživanoj sezoni na odabranim plohama (Šerić Jelaska i sur., osobno priopćenje).

Pauci kao grabežljivci pokazuju razlike u trofičkim nišama s predatorskim trčcima s istraživanih ploha (Šerić Jelaska, 2022a.; Šerić Jelaska i sur., 2022b.). Dok su se određenim skupinama, poput Collembola i Phasmidae, trčci učestalo hranili takve jedinke nisu zabilježene u probavilu pauka. S druge strane Blattodea i Dermaptera su bili čest plijen utvrđen u probavilu pauka, ali nisu činile dio trofičke mreže u slučaju trčaka. Kako je očekivano, rezultati pokazuju najveće preklapanje u odabiru plijena i zahtjevima za hranom između trčaka i pauka aktivnih lovaca na tlu iz porodica Lycosidae i Gnaphosidae, s obzirom da dijele ekološku nišu. Potvrđeno je i postojanje *intraguild* grabežljivost između trčaka i pauka, te je zabilježena grabežljivost u oba smjera (Davey i sur., 2012.; Sowa i sur., 2020.; Šerić Jelaska i sur., 2022b.). Visoke stope *intraguild* grabežljivosti između trčaka i pauka mogu potencijalno umanjiti biološku kontrolu nametnika za obje skupine. Ipak, važno je naglasiti kako bez obzira na postojanje *intraguild* grabežljivosti treba poticati upravljanje poljoprivrednim površinama kako bi bile više u skladu s prirodom te poticale veće gustoće pauka, trčaka i ostalih grabežljivaca na staništu.

5.4 Primjena rezultata barkodiranja u interpretaciji rezultata metabarkodiranja

Usporedba vrsta zabilježenih metabarkodiranjem u probavilu pauka (ovo istraživanje) i onih ranije barkodiranih u sklopu istraživanja bioraznolikosti poljoprivrednih staništa (Anđelić Dmitrović i sur., 2022.) pokazala je kako je samo četvrtina vrsta prisutnih u probavilu ranije analizirana metodom DNA barkodiranja.

DNA barkodiranje je otkrilo da su vrste iz skupine poput gujavica i skokuna slabije zastupljene u dvije baze podataka, NCBI i BOLD. S obzirom na to, integrirani pristup koji objedinjuje morfološku identifikaciju te sekvenciranje i pohranjivanje sekvencije *COI* regije, važan je kako bi se vrste iz navedenih skupina mogle odrediti kada su prisutne u probavilu grabežljivaca s istraživanih staništa. Vrste iz ove dvije skupine nisu zabilježene u probavilu pauka, ali su ranije zabilježene u probavilu drugih grabežljivih skupina s istraživanog područja (Šerić Jelaska, 2022a.;

Šerić Jelaska i sur., 2022b.). Također, u probavilu pauka zabilježen je plijen iz skupine Dermaptera čija slaba zastupljenost u bazama otežava taksonomsko određivanje plijena do razine vrste. To još jednom potvrđuje činjenicu kako je dobra popunjenost baza podataka ključna osnova istraživanja temeljenih na upotrebi okolišne DNA.

6. ZAKLJUČAK

DNA barkodiranje pokazalo se kao prikladna metoda za analizu biološke raznolikosti beskralježnjaka u mediteranskim poljoprivrednim sustavima, pogotovo za skupine Araneae, Hemiptera, Lepidoptera i Hymenoptera, zbog dobre zastupljenosti sekvencija vrsti iz navedenih skupina u genetičkim bazama te postojanja *barcode gapa*. Međutim u slučaju određenih skupina poput Collembola i Oligochaeta, nadopunjavanje rezultata DNA barkodiranja s klasičnom morfološkom analizom ključno je za određivanje vrsta.

Metabarkodiranje korištenjem kratkog *COI* fragmenta može otkriti širok raspon plijena u probavilu pauka te je dobar pristup u analizi trofičkih odnosa pauka u mediteranskim maslinicima i vinogradima. Upotrebom eDNA metodologije potvrđene su trofičke razlike između skupina pauka s obzirom na tip lova, ali i utjecaj antropogenih učinaka na sastav plijena u probavilu, poput tipa upravljanja poljoprivrednim površinama. Zbog visokog udjela fitofaga u ishrani, pauci imaju potencijal u biološkoj kontroli kukaca nametnika tijekom obje sezone uzorkovanja, jeseni i proljeća.

S obzirom da je ovo prvo istraživanje u Hrvatskoj u kojem se primjenjuje metabarkodiranje u utvrđivanju potencijala pauka u biološkoj kontroli nametnika na poljoprivrednim kulturama, rezultati i razvoj metodologije će potaknuti daljnja istraživanja uloge pauka u trofičkim interakcijama člankonožaca i važnosti očuvanja bioraznolikosti ovog područja.

7. LITERATURA

- Agusti N, Shayler SP, Harwood JD, Vaughan IP, Sunderland KD, Symondson WOC (2003). Collembola as alternative prey sustaining spiders in arable ecosystems: prey detection within predators using molecular markers. *Molecular Ecology* 12: 3467-3475.
- Alberdi A, Aizpurua O, Gilbert MTP, Bohmann K (2017) Scrutinizing key steps for reliable metabarcoding of environmental samples. *Methods in Ecology and Evolution* 9: 1–14.
- Albertini A, Pizzolotto R, Petacchi R (2017) Carabid patterns in olive orchards and woody semi-natural habitats: First implications for conservation biological control against *Bactrocera oleae*. *BioControl* 62: 71–83.
- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ (1990) Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* 215: 403–410.
- Ando H, Mukai H, Komura T, Dewi T, Ando M, Isagi Y (2020) Methodological trends and perspectives of animal dietary studies by noninvasive fecal DNA metabarcoding. *Environmental DNA* 2: 391–406. <https://doi.org/10.1002/edn3.117>
- Anđelić Dmitrović B, Ivanković Tatalović L, Kos T, Crnčan P, Gajski D, Jelić M, Šerić Jelaska L (2022) Mediterranean vineyards and olive groves in Croatia harbor some rare and endemic invertebrates. *Biodiversity Data Journal*, rad na recenziji.
- Anđelić Dmitrović B, Jelić M, Rota E, Šerić Jelaska L (2022) DNA Barcoding of Invertebrates Inhabiting Olive Orchards and Vineyards Accelerates Understudied Mediterranean Biodiversity Assessment. *Diversity* 14: 182. <https://doi.org/10.3390/d14030182>
- Argañaraz CI, Rubio GD, Rubio M, Castellarini F (2020) Ground-dwelling spiders in agroecosystems of the Dry Chaco: a rapid assessment of community shifts in response to land use changes. *Biodiversity* 21: 125-135. doi:10.1080/14888386.2020.1831605
- Ashfaq M, Hebert PD, Mirza MS, Khan AM, Mansoor S, Shah GS, Zafar Y (2014) DNA barcoding of *Bemisia tabaci* complex (Hemiptera: Aleyrodidae) reveals southerly expansion of the dominant whitefly species on cotton in Pakistan. *PLoS ONE* 9: e104485.
- Astrin JJ, Höfer H, Spelda J, Holstein J, Bayer S, Hendrich L, Huber BA, Kielhorn KH, Krammer HJ, Lemke ML, Monje JC, Morinière J, Rulik B, Petersen M, Janssen H, Muster C (2016) Towards a DNA barcode reference database for spiders and harvestmen of Germany. *PLoS ONE* 11: e0162624.

Astrin JJ, Huber BA, Bernhard M, Klutsch CFC (2006) Molecular taxonomy in pholcid spiders (Pholcidae, Araneae): evaluation of species identification methods using CO1 and 16S rRNA. *Zoologica Scripta* 35: 441–457.

Barreira R, Paz MC, Amaro L, Sousa JP, Benhadi-Marín J, Rasko M, Alves da Silva A, Alves J, Chuhutin A, Topping CJ, Santos SAP (2021) Developing an Agent-Based Model for *Haplodrassus rufipes* (Araneae: Gnaphosidae), a Generalist Predator Species of Olive Tree Pests: Conceptual Model Outline. *Biology and Life Sciences Forum*. 4: 45. <https://doi.org/10.3390/IECPS2020-08745>

Barrett RDH, Hebert PDN (2005) Identifying spiders through DNA barcodes. *Canadian Journal of Zoology* 83: 481-491. <https://doi.org/10.1139/Z05-024>

Benamú M, Schneider M, González A, Sánchez N (2013) Short and long-term effects of three neurotoxic insecticides on biological and behavioural attributes of the orb-web spider *Alpaida veniliae* (Araneae, Araneidae): implications for IPM programs. *Ecotoxicology* 22: 1155–1164.

Binladen J, Gilbert MTP, Bollback JP, Panitz F, Bendixen C, Nielsen R, Willerslev E (2007) The use of coded PCR primers enables high-throughput sequencing of multiple homolog amplification products by 454 parallel sequencing. *PLoS One* 2: 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000197>

Birkhofer K, Gavish-Regev E, Endlweber K, Lubin YD, Von Berg K, Wise DH, Scheu S (2008) Cursorial spiders retard initial aphid population growth at low densities in winter wheat. *Bulletin of Entomological Research* 98: 249-255.

Blagoev GA, deWaard JR, Ratnasingham S, deWaard SL, Lu L, Robertson J, Telfer AC, Hebert, PD (2016) Untangling taxonomy: a DNA barcode reference library for Canadian spiders. *Molecular Ecology Resources* 16: 325-341. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12444>

Blatrix R, Aubert C, Decaens T, Berquier C, Andrei-Ruiz MC, Galkowski C (2020) Contribution of a DNA barcode to an assessment of the specificity of ant taxa (Hymenoptera: Formicidae) on Corsica. *European Journal of Entomology* 117: 420–429.

Bonato L, Peretti E, Sandionigi A, Bortolin F (2021) The diet of major predators of forest soils: A first analysis on syntopic species of Chilopoda through DNA metabarcoding. *Soil Biology and Biochemistry* 158: 108264.

Brock PD (2017) *A photographic guide to Insects of Southern Europe & the Mediterranean*. Pisces publications, Newbury, Berkshire

Brown DS, Burger R, Cole N, Vencatasamy D, Clare EL, Montazam A, Symondson WOC (2014) Dietary competition between the alien Asian Musk Shrew (*Suncus murinus*) and are-introduced population of Telfair's Skink (*Leiopisma telfairii*). *Molecular Ecology* 23: 3695–3705. <https://doi.org/10.1111/mec.12445>

Buchholz S (2009) Community structure of spiders in coastal habitats of a mediterranean Delta region (Nestos Delta, NE Greece). *Animal Biodiversity and Conservation* 32: 101–115.

Buhay J (2009) “COI-like” sequences are becoming problematic in molecular systematic and DNA barcoding studies. *Journal of Crustacean Biology* 29: 96–110.

Bulgarini G, Piemontese L, Guidetti R, Cesari M, di Bella E, Maistrello L (2022) Identification of predatory arthropods of the invasive *Halyomorpha halys* through molecular gut content analysis. *Agricultural and Forest Entomology* 24: 219–228. <https://doi.org/10.1111/afe.12485>

CABI (2022) *Invasive Species Compendium*. Wallingford, UK: CAB International. www.cabi.org/isc.

Camacho C, Coulouris G, Avagyan V, Ma N, Papadopoulos J, Bealer K, Madden TL (2009) BLAST+: architecture and applications. *BMC Bioinformatics* 10: 1–9.

Cardoni S, Tenchini R, Ficulle I, Piredda R, Simeone MC, Belfiore C (2015) DNA barcode assessment of Mediterranean mayflies (Ephemeroptera), benchmark data for a regional reference library for rapid biomonitoring of freshwaters. *Biochemical Systematics and Ecology* 62: 36–50.

Cardoso P, Pekár S, Jocqué R, Coddington JA (2011) Global Patterns of Guild Composition and Functional Diversity of Spiders. *PLOS ONE* 6: e21710. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021710>

Cardoso P, Silva I, De Oliveira NG, Serrano AR (2007) Seasonality of spiders (Araneae) in Mediterranean ecosystems and its implications in the optimum sampling period. *Ecological Entomology* 32: 516–526.

Casey JM, Meyer CP, Morat F, Brandl SJ, Planes S, Parravicini V (2019) Reconstructing hyperdiverse food webs: Gut content metabarcoding as a tool to disentangle trophic interactions on coral reefs. *Methods in Ecology and Evolution* 10: 1157–1170. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13206>

Casquet J, Thebaud C, Gillespie RG (2012) Chelex without boiling, a rapid and easy technique to obtain stable amplifiable DNA from small amounts of ethanol-stored spiders. *Molecular Ecology Resources* 12: 136–141. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2011.03073.x>

Chatterjee S, Isaia M, Venturino E (2009) Spiders as biological controllers in the agroecosystem. *Journal of Theoretical Biology* 258: 352–362. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2008.11.029>

Chen S, Zhou Y, Chen Y, Gu J (2018) fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics* 34: 884–890. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty560>

Chimeno C, Hausmann A, Schmidt S, Raupach MJ, Doczkal D, Baranov V, Hübner J, Höcherl A, Albrecht R, Jaschhof M, Haszprunar G, Hebert PDN (2022) Peering into the Darkness: DNA Barcoding Reveals Surprisingly High Diversity of Unknown Species of Diptera (Insecta) in Germany. *Insects* 13: 82. <https://doi.org/10.3390/insects13010082>

Clare EL, Symondson WOC, Fenton MB (2014) An inordinate fondness for beetles? Variation in seasonal dietary preferences of night-roosting big brown bats (*Eptesicus fuscus*). *Molecular Ecology* 23: 3633–3647. <https://doi.org/10.1111/mec.12519>

Coeur d’acier A, Cruaud A, Artige E, Genson G, Clamens AL, Pierre E, Hudaverdian S, Simon JC, Jousset E, Rasplus JY (2014) DNA Barcoding and the Associated PhylAphidB@se Website for the Identification of European Aphids (Insecta: Hemiptera: Aphididae). *PLoS ONE* 9: e97620.

Coddington JA, Agnarsson I, Cheng R, Čandek K, Driskell A, Frick H, Gregorič M, Kostanjšek R, Kropf C, Kweskin M, Lokovšek T, Pipan M, Vidergar N, Kuntner M. (2016) DNA barcode data accurately assign higher spider taxa. *PeerJ* 4:e2201. <https://doi.org/10.7717/peerj.2201>

Coddington JA, Colwell RK (2000) Ecology. U: Samuel. M Scheiner (ed.) *Encyclopedia of Biodiversity*. Academic Press, Elsevier, 199–218.

Cox RL, Underwood EC (2011) The Importance of Conserving Biodiversity Outside of Protected Areas in Mediterranean Ecosystems. *PLOS ONE* 6. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014508>

Cuff JP, Drake LE, Tercel MP, Stockdale JE, Orozco-terWengel P, Bell JR, Vaughan IP, Müller CT, Symondson WOC (2021a) Money spider dietary choice in pre- and post-harvest cereal crops using metabarcoding. *Ecological Entomology* 46: 249–261. <https://doi.org/10.1111/een.12957>

Cuff JP, Tercel MP, Drake LE, Vaughan IP, Bell JR, Orozco-terWengel P, Müller CT, Symondson, WOC (2021b). Density-independent prey choice, taxonomy, life history, and web characteristics determine the diet and biocontrol potential of spiders (Linyphiidae and Lycosidae) in cereal crops. *Environmental DNA* 00: 1–16. <https://doi.org/10.1002/edn3.272>

Cuff JP, Windsor FM, Tercel MP, Kitson, JJ, Evans, DM (2022). Overcoming the pitfalls of merging dietary metabarcoding into ecological networks. *Methods in Ecology and Evolution* 13: 545–559. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13796>

Čandek K, Kuntner M (2015) DNA barcoding gap: reliable species identification over morphological and geographical scales. *Molecular Ecology Resources* 15: 268-277. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12304>

Deagle, BE, Thomas, AC, McInnes, JC, Clarke LJ, Vesterinen EJ, Clare EL, Kartzinel TR, Eveson JP (2019) Counting with DNA in metabarcoding studies: How should we convert sequence reads to dietary data?. *Molecular Ecology* 28: 391– 406. <https://doi.org/10.1111/mec.14734>

De Leon LF, Cornejo A, Gavilan RG, Aguilar C (2020) Hidden biodiversity in Neotropical streams: DNA barcoding uncovers high endemism of freshwater macroinvertebrates at small spatial scales. *PLoS ONE* 15: e0231683. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231683>

de Sousa LL, Silva SM, Xavier R (2019) DNA metabarcoding in diet studies: Unveiling ecological aspects in aquatic and terrestrial ecosystems. *Environmental DNA* 1: 199-214.

DeSalle R, Goldstein P (2019) Review and interpretation of trends in DNA barcoding. *Frontiers in Ecology and Evolution* 7: 302.

deWaard JR, Landry JF, Schmidt BC, Derhousoff J, McLean JA, Humble LM (2009) In the dark in a large urban park: DNA barcodes illuminate cryptic and introduced moth species. *Biodiversity and Conservation* 18: 3825-3839.

deWaard JR, Levesque-Beaudin V, deWaard SL, Ivanova NV, McKeown JTA, Miskie R, Naik S, Perez KHJ, Ratnasingham S, Sobel CN, Sones JE, Steinke C, Telfer AC, Young AD, Young MR, Zakharov EV, Hebert PD (2018) Expedited Assessment of Terrestrial Arthropod Diversity by Coupling Malaise Traps with DNA Barcoding. *Genome* 62: 85-95. <https://doi.org/gen-2018-0093>

Drake LE, Cuff JP (2021) Post-bioinformatic methods to identify and reduce the prevalence of artefacts in metabarcoding data. <https://doi.org/10.5061/dryad.2jm63xsp4>

Duffey E (1966) Spider ecology and habitat structure (Arach., Araneae). *Senckenbergiana Biologica* 47: 45–49.

Edgar RC (2004) MUSCLE: A multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. *BMC Bioinformatics* 5: 113. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-5-113>

Edgar, RC (2010) Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics* 26: 2460–2461.

Elbrecht V, Braukmann TWA, Ivanova NV, Prosser SWJ, Hajibabaei M, Wright M, Zakharov EV, Hebert PDN, Steinke D (2019) Validation of COI metabarcoding primers for terrestrial arthropods. *PeerJ* 7:e7745. <https://doi.org/10.7717/peerj.7745>

Elbrecht V, Leese F (2017) Validation and development of COI metabarcoding primers for freshwater macroinvertebrate bioassessment. *Frontiers in Environmental Science* 5: 11.

Elbrecht V, Vamos EE, Meissner K, Aroviita J, Leese F (2017) Assessing strengths and weaknesses of DNA metabarcoding-based macroinvertebrate identification for routine stream monitoring. *Methods in Ecology and Evolution* 8: 1265–1275.

Elias DO, Andrade MCB, Kasumovic MM (2011) Dynamic Population Structure and the Evolution of Spider Mating Systems. U: Jérôme Casas (ed.) *Advances in Insect Physiology*. Academic Press, 65-114.

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

Footitt RG, Maw HEL, Von Dohlen CD, Hebert PD (2008) Species identification of aphids (Insecta: Hemiptera: Aphididae) through DNA barcodes. *Molecular Ecology Resources* 8: 1189–1201.

Fournier V, Hagler J, Daane K, De León J, Groves R (2008) Identifying the predator complex of *Homalodisca vitripennis* (Hemiptera: Cicadellidae): A comparative study of the efficacy of an ELISA and PCR gut content assay. *Oecologia* 157: 629–640.

Gaikwad S, Warudkar A, Shouche Y (2016). Efficacy of DNA barcoding for the species identification of spiders from Western Ghats of India. *Mitochondrial DNA Part A* 28: 638–644.

Galimberti A, Spada M, Russo D, Mucedda M, Agnelli P, Crottini A, Ferri E, Martinoli A, Casiraghi M (2012) Integrated Operational Taxonomic Units (IOTUs) in Echolocating Bats: A Bridge between Molecular and Traditional Taxonomy. *PLoS ONE* 7: e40122.

González-Chang M, Wratten SD, Lefort MC, Boyer S (2016). Food webs and biological control. A review of molecular tools used to reveal trophic interactions in agricultural systems. *Food Webs* 9: 4-11.

Gregorič M, Kutnjak D, Bačnik K, Gostinčar C, Pecman A, Ravnikar M, Kuntner M (2020) Spider webs as eDNA tool for biodiversity assessment of life's domains. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.07.18.209999>

Galimberti A, Assandri G, Maggioni D, Ramazzotti F, Baroni D, Bazzi G, Chiandetti I, Corso A, Ferri V, Galuppi M, Ilahiane L, La Porta G, Laddaga L, Landi F, Mastropasqua F, Ramellini S, Santinelli R, Soldato G, Surdo S, Casiraghi M (2021) Italian odonates in the Pandora's box: A

comprehensive DNA barcoding inventory shows taxonomic warnings at the Holarctic scale. *Molecular Ecology Resources* 21: 183–200. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13235>

García-Robledo C, Kuprewicz EK, Staines CL, Kress WJ, Erwin TL (2013) Using a comprehensive DNA barcode library to detect novel egg and larval host plant associations in *Cephaloleia* Rolled-leaf Beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 110: 189–198.

Garvey JE, Whiles M (2016) *Trophic Ecology*. 1st edn. CRC Press, Boca Raton <https://doi.org/10.1201/9781315367804>

Gwiazdowski RA, Footitt RG, Maw HEL, Hebert PD (2015) The Hemiptera (Insecta) of Canada: Constructing a Reference Library of DNABarcodes. *PLoS ONE* 4: e0125635.

Hagen KS, Mills NJ, Gordh G, Mcmurtry JA (1999) Terrestrial Arthropod Predators of Insect and Mite Pests. U: Bellows TS, Fisher TW (ed.) *Handbook of Biological Control*. Academic Press, 383-503 <https://doi.org/10.1016/B978-012257305-7/50063-1>

Hajibabaei M, Shokralla S, Zhou X, Singer GAC, Baird DJ (2011) Environmental barcoding: a next-generation sequencing approach for biomonitoring applications using river benthos. *PloSOne* 6: 1–7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017497>.

Hall TA (1999) BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41: 95–98.

Hambäck PA, Cirtwill AR, García D, Grudzinska-Sterno M, Miñarro M, Tasin M, Samnegård U (2021) More intraguild prey than pest species in arachnid diets may compromise biological control in apple orchards. *Basic and Applied Ecology* 57: 1-13.

Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD (2001) PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4: 9.

Hausmann A, Krogmann L, Peters RS, Rduch V, Schmidt S (2020) Gbol iii: dark taxa. *Barcode Bulletin* 10.

Hartop E, Srivathsan A, Ronquist F, Meier F (2022) Towards Large-scale Integrative Taxonomy (LIT): resolving the data conundrum for dark taxa. *Systematic Biology* syac033. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syac033>

Harwood J, Sunderland K, Symondson W (2005). Monoclonal antibodies reveal the potential of the tetragnathid spider *Pachygnatha degeeri* (Araneae: Tetragnathidae) as an aphid predator. *Bulletin of Entomological Research* 95: 161-167.

Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR (2003) Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B* 270: 313–321. <http://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>

Hlebec D, Sivec I, Podnar M, Skejo J, Kučinić M (2021) Morphological and molecular characterisation of the Popijač's Yellow Sally, *Isoperla popijaci* sp. nov., a new stenoendemic stonefly species from Croatia (Plecoptera, Perlodidae). *ZooKeys* 1078: 85-106. <https://doi.org/10.3897/zookeys.1078.66382>

Hlebec D, Sivec I, Podnar M, Kučinić M. 2022. DNA barcoding for biodiversity assessment: Croatian stoneflies (Insecta: Plecoptera) *PeerJ* 10:e13213 <https://doi.org/10.7717/peerj.13213>

Hopkin SP (1998) Collembola: the most abundant insects on earth. *Antenna* 22: 117-121.

Huang J, Xu Q, Sun ZJ, Tang GL, Su ZY (2007) Identifying earthworms through DNA barcodes. *Pedobiologia* 51: 301–309.

Huemer P, Mutanen M, Sefc KM, Hebert PD (2014) Testing DNA barcode performance in 1000 species of European Lepidoptera: Large geographic distances have small genetic impacts. *PLoS ONE* 9: e115774.

Huemer P, Mutanen M (2022) An Incomplete European Barcode Library Has a Strong Impact on the Identification Success of Lepidoptera from Greece. *Diversity* 14: 118. <https://doi.org/10.3390/d14020118>

Iannotta N, Belfiore T, Brandmayer P, Noce ME, Scalercio S (2007) Evaluation of the impact on entomocoenosis of active agents allowed in organic olive farming against *Bactrocera oleae* (Gmelin, 1790). *Journal of Environmental Science and Health* 42: 783-788.

Ivanković Tatalović L, Anđelić B, Jelić M, Kos T, Benítez H, Šerić Jelaska L (2020) Fluctuating Asymmetry as a Method of Assessing Environmental Stress in Two Predatory Carabid Species within Mediterranean Agroecosystems. *Symmetry* 12: 1890. <https://doi.org/10.3390/sym12111890>

Ivanković L, Anđelić B, Gajski D, Jelić M, Kos T, Šerić Jelaska L (2020) Diversity and ecology of non-target invertebrate fauna in Integrated and Ecologically based Pest Managements in agricultural sites within MEDITERATRI project. U: Mioč, Boro; Širić, Ivan (ed.) 55th Croatian & 15th International Symposium on Agriculture. Zagreb, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, 62-62.

Jelaska SD, Nikolić T, Šerić Jelaska L, Kušan V, Peternel H, Gužvica G, Major Z (2010) Terrestrial biodiversity analyses in Dalmatia (Croatia): A complementary approach using diversity and rarity. *Environmental Management* 45: 616-625. <https://doi.org/10.1007/s00267-010-9437-y>

Kapli P, Lutteropp S, Zhang J, Kober, K, Pavlidis P, Stamatakis A, Flouri T (2017) Multi-rate Poisson tree processes for single-locus species delimitation under maximum likelihood and Markov chain Monte Carlo. *Bioinformatics* 33: 1630–1638

Katušić L (2017) Pauci Hrvatske i analiza okolišne uvjetovanosti njihove rasprostranjenosti. Disertacija, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet

Kennedy SR, Lim JY, Clavel J, Krehenwinkel H, Gillespie RG (2019) Spider webs, stable isotopes and molecular gut content analysis: multiple lines of evidence support trophic niche differentiation in a community of Hawaiian spiders. *Functional Ecology* 33: 1722–1733.

Kennedy SR, Prost S, Overcast I, Rominger AJ, Gillespie RG, Krehenwinkel H (2020) High-throughput sequencing for community analysis: the promise of DNA barcoding to uncover diversity, relatedness, abundances and interactions in spider communities. *Development Genes and Evolution* 230: 185–201 <https://doi.org/10.1007/s00427-020-00652-x>

Kirkpatrick M (1984) Demographic models based on size, not age, for organisms with indeterminate growth. *Ecology* 65: 1874–1884.

Kipling WW, Mishler BD, Wheeler QD (2005) The Perils of DNA Barcoding and the Need for Integrative Taxonomy. *Systematic Biology* 54: 844–851. <https://doi.org/10.1080/10635150500354878>

Kogan M (1998). Integrated pest management: historical perspectives and contemporary developments. *Annual review of entomology* 43: 243.

Kortmann M, Roth N, Buse J, Hilszczański J, Jaworski T, Morinière J, Seidl R, Thorn S, Müller, JC (2022a) Arthropod Dark Taxa Provide New Insights into Diversity Responses to Bark Beetle Infestations. *Ecological Applications* 32: e2516. <https://doi.org/10.1002/eap.2516>

Kubiak KL, Pereira JA, Tessaro D, Santos SAP, Benhadi-Marín J (2022) Functional diversity of epigeal spiders in the olive grove agroecosystem in northeastern Portugal: a comparison between crop and surrounding semi-natural habitats. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 170: 449-458.

Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K (2018) MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35: 1547–1549.

Kuusk AK, Agustí N (2008) Group-specific primers for DNA-based detection of springtails (Hexapoda: Collembola) within predator gut contents. *Molecular Ecology Resources* 8: 678–621.

Kuusk AK, Ekblom B (2010). Lycosid spiders and alternative food: feeding behavior and implications for biological control. *Biological Control* 55: 20-26.

Lafage D, Elbrecht V, Cuff JP, Steinke D, Hambäck PA, Erlandsson A (2020) A new primer for metabarcoding of spider gut contents. *Environmental DNA* 2: 234-243

Lamb P.D, Hunter E, Pinnegar JK, Creer S, Davies RG, Taylor MI (2019) How quantitative is metabarcoding: A meta-analytical approach. *Molecular Ecology* 28: 420–430. <https://doi.org/10.1111/mec.14920>

Lantero E, Matallanas B, Ochando MD, Pascual S, Callejas C (2017) Specific and sensitive primers for the detection of predated olive fruit flies, *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae). *Spanish Journal of Agricultural Research* 15: e1002. <https://doi.org/10.5424/sjar/2017152-9920>

Leray M, Agudelo N, Mills SC, Meyer CP (2013). Effectiveness of annealing blocking primers versus restriction enzymes for characterization of generalist diets: unexpected prey revealed in the gut contents of two coral reef fish species. *PloS one* 8: e58076.

Lewis JJ (2009) Isopoda (Aquatic Sowbugs). U: Gene E. Likens (ed.) *Encyclopedia of Inland Waters*, Academic Press, 346-355 <https://doi.org/10.1016/B978-012370626-3.00177-0>.

Lopez-Vaamonde C, Kirichenko N, Cama A, Doorenweerd C, Godfray HCJ, Guiguet A, Gomboc S, Huemer P, Landry JF, Laštuvka A, Laštuvka Z, Lee KM, Lees DC, Mutanen M, van Nieuwerkerken EJ, Segerer AH, Triberti P, Wieser C, Rougerie R (2021) Evaluating DNA Barcoding for Species Identification and Discovery in European Gracillariid Moths. *Frontiers in Ecology and Evolution* 9.

Macías-Hernández N, Athey K, Tonzo V, Wangenstein OS, Arned M, Harwood JD (2018). Molecular gut content analysis of different spider body parts. *PLoS ONE* 13: e0196589. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196589>

Maddison WP, Maddison DR (2019) Mesquite: A Modular System for Evolutionary Analysis. Version 3.50. <http://www.mesquiteproject.org>

Magoga G, Sahin DC, Fontaneto D, Montagna M (2018) Barcoding of Chrysomelidae of Euro-Mediterranean area: efficiency and problematic species. *Scientific Reports* 8: 13398. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31545-9>

Mansour F, Heimbach U (1993) Evaluation of lycosid, micryphantid and linyphiid spiders as predators of *Rhopalosiphum padi* (Hom.: Aphididae) and their functional response to prey density-laboratory experiments. *Entomophaga* 38: 79–87. <https://doi.org/10.1007/BF02373142>

Marc P, Canard A (1997) Maintaining spider biodiversity in agroecosystems as a tool in pest control. *Agriculture, ecosystems & environment* 62: 229-235.

Mateos E, Lukić M (2019) New European *Lepidocyrtus* Bourlet, 1839 (Collembola, Entomobryidae) with the first description of feeding-related dancing behaviour in Collembola. *Zootaxa* 4550: 221–235.

Mateos E, Escuer P, Buşmachi G, Riutort M, Álvarez-Presas M (2018) Untangling *Lepidocyrtus* (Collembola, Entomobryidae): New molecular data shed light on the relationships of the European groups. *Invertebrate Systematics* 32: 639–651.

McNabb DM, Halaj J, Wise DH (2001) Inferring trophic positions of generalist predators and their linkage to the detrital food web in agroecosystems: a stable isotope analysis. *Pedobiologia* 45: 289–297. <https://doi.org/doi:10.1078/0031-4056-00087>

Meier R, Blaimer BB, Buenaventura E, Hartop E, von Rintelen T, Srivathsan A, Yeo D (2022) A re-analysis of the data in Sharkey et al.’s (2021) minimalist revision reveals that BINs do not deserve names, but BOLD Systems needs a stronger commitment to open science. *Cladistics* 38: 264-275. <https://doi.org/10.1111/cla.12489>

Meier R, Zhang G, Ali F (2008) The Use of Mean Instead of Smallest Interspecific Distances Exaggerates the Size of the “Barcoding Gap” and Leads to Misidentification. *Systematic Biology* 57: 809–813. <https://doi.org/10.1080/10635150802406343>

Mezőfi L, Markó G, Nagy C, Korányi D, Markó V (2020). Beyond polyphagy and opportunism: natural prey of hunting spiders in the canopy of apple trees. *PeerJ* 8: e9334. <https://doi.org/10.7717/peerj.9334>

Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T (2010) Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. Gateway Computing Environments Workshop (GCE). Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE), New Orleans, SAD, Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE), Manhattan, New York, SAD, 1–8.

Michalko R, Pekár S (2016) Different hunting strategies of generalist predators result in functional differences. *Oecologia* 181: 1187–1197. <https://doi.org/10.1007/s00442-016-3631-4>

Michalko R, Pekár S, Entling MH (2019) An updated perspective on spiders as generalist predators in biological control. *Oecologia* 189: 21–36. <https://doi.org/10.1007/s00442-018-4313-1>

Michalko R, Pekár S, Dul'a M, Entling MH (2019) Global patterns in the biocontrol efficacy of spiders: A meta-analysis. *Global Ecology and Biogeography* 28: 1366– 1378. <https://doi.org/10.1111/geb.12927>

Miyashita T, Takada M, Shimazaki A (2003) Experimental evidence that aboveground predators are sustained by underground detritivores. *Oikos* 103: 31–36.

Morinière J, Balke M, Doczkal D, Geiger MF, Hardulak LA, Haszprunar G, Hausmann A, Hendrich L, Regalado L, Rulik B, Wägele JW, Hebert PN (2019) A DNA barcode library for 5200 German flies and midges (Insecta: Diptera) and its implications for metabarcoding-based biomonitoring. *Molecular Ecology Resources* 19: 900–928.

Morinière J, Hendrich L, Balke M, Beermann AJ, König T, Hess M, Koch S, Müller R, Leese D, Hebert PD, Hausmann A, Schubart CD, Haszprunar G (2017) A DNA barcode library for Germany's mayflies, stoneflies and caddisflies (Ephemeroptera, Plecoptera and Trichoptera). *Molecular Ecology Resources* 17: 1293– 1307. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12683>

Mršić N (1991) Monograph on earthworms (Lumbricidae) of the Balkans. *Acad. Sci. Et Artium Slov.* 30: 1–757.

Mullen GR (2002) 22 - SPIDERS (Araneae). U: Gary Mullen, Lance Durden (ed.) *Medical and Veterinary Entomology*. Academic Press, 427-448. <https://doi.org/10.1016/B978-012510451-7/50024-4>.

Myers N, Mittermeier R, Mittermeier C, da Fonseca GAB, Kent J (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853–858. <https://doi.org/10.1038/35002501>

Nentwig W (1983) The prey of web-building spiders compared with feeding experiments (Araneae: Araneidae, Linyphiidae, pholcidae, Agelenidae). *Oecologia* 56: 132–139. <https://doi.org/doi:10.1007/bf00378229>

Nentwig W, Blick T, Bosmans R, Gloor D, Hänggi A, Kropf C (2022) *Spiders of Europe*. Version 3. <https://doi.org/10.24436/1>

Nyffeler M, Dean DA, Sterling WL (1992) Diets, Feeding Specialization, and Predatory Role of Two Lynx Spiders, *Oxyopes salticus* and *Peucetia viridans* (Araneae:Oxyopidae), in a Texas Cotton Agroecosystem. *Environmental Entomology* 21: 1457–1465. <https://doi.org/10.1093/ee/21.6.1457>

Nyffeler M, Sunderland KD (2003) Composition, abundance and pest control potential of spider communities in agroecosystems: a comparison of European and US studies. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 95: 579–612. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(02\)00181-0](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(02)00181-0)

Oksanen J, Blanchet FG, Kindt R, Legendre P, Minchin PR, O’Hara RB, Simpson GL, Solymos P, Stevens MHH, Szoecs E, Wagner H (2022) *vegan: Community Ecology Package* (R package version 2.4-1).

Page RD (2016) DNA barcoding and taxonomy: Dark taxa and dark texts. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 371: 20150334.

Palsbøll PJ, Zachariah Peery M, Berube M (2010) Detecting populations in the ‘ambiguous’ zone: Kinship-based estimation of population structure at low genetic divergence. *Molecular ecology resources* 10: 797-805.

Panni S, Pizzolotto R (2018) Fast molecular assay to detect the rate of decay of *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae) DNA in *Pterostichus melas* (Coleoptera: Carabidae) gut contents. *Applied Entomological Zoology* 53: 425–431. <https://doi.org/10.1007/s13355-018-0564-x>

Parisi V (1960) Ricerche sui Collemboli: Dati morfometrici sullo sviluppo della livrea della *Orchesella villosa* (L.) e descrizione di una nuova specie. *Bollettino di Zoologia Agraria e di Bachicoltura* 3: 117–126.

Park D, Suh S, Hebert PN, Oh H, Hong, K (2011) DNA barcodes for two scale insect families, mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae) and armored scales (Hemiptera: Diaspididae). *Bulletin of Entomological Research* 101: 429–434

Parimuchová A, Dušátková LP, Kováč Ľ, Macháčková T, Slabý O, Pekár S (2021) The food web in a subterranean ecosystem is driven by intraguild predation. *Scientific Reports* 4994. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84521-1>

Parmentier I, Duminil J, Kuzmina M, Philippe M, Thomas DW, Kenfack D, Chuyong GB, Cruaud C, Hardy OJ (2013) How Effective Are DNA Barcodes in the Identification of African Rainforest Trees? *PLoS ONE* 8: e54921. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054921>

Pekár S (2012) Spiders (Araneae) in the pesticide world: an ecotoxicological review. *Pest Management Science* 68: 1438-1446. <https://doi.org/10.1002/ps.3397>

Pekár S, Brabec M (2018) Generalized estimating equations: A pragmatic and flexible approach to the marginal GLM modelling of correlated data in the behavioural sciences. *Ethology* 124: 86-93.

- Pekár S, Martišová M, Bilde T (2011) Intersexual Trophic Niche Partitioning in an Ant-Eating Spider (Araneae: Zodariidae). PLOS ONE 6: e14603. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014603>
- Pekár S, Martišová M, Sentenská L (2012) Naši Pávaouci-Pexeso. MUNI Press, Brno.
- Petrakova L, Michalko R, Loverre P, Sentenská L, Korenko S, Pekar S (2016) Intraguild predation among spiders and their effect on the pear psylla during winter. Agriculture, Ecosystems & Environment 233: 67-74.
- Piñol J, San Andrés V, Clare EL, Mir G, Symondson WOC (2014) A pragmatic approach to the analysis of diets of generalist predators: the use of next-generation sequencing with no blocking probes. Molecular Ecology Resources 14: 18-26. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12156>
- Pompanon F, Deagle BE, Symondson WO, Brown DS, Jarman SN, Taberlet P (2012) Who is eating what: diet assessment using next generation sequencing. Molecular Ecology 21: 1931-1950. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05403.x>
- Primorac J (2021) Utjecaj ekološkog i integriranog suzbijanja nametnika u agroekosustavima sjeverne Dalmacije na bioraznolikost mrava (Insecta: Hymenoptera: Formicidae), Diplomski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb
- Puillandre N, Lambert A, Brouillet S, Achaz G (2011) ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. Molecular Ecology 21: 1864–1877. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05239.x>
- Puillandre N, Modica MV, Zhang Y, Sirovich L, Boisselier MC, Cruaud C, Holford M, Samadi S (2012) Large-scale species delimitation method for hyperdiverse groups. Molecular Ecology 21: 2671-2691.
- Qiao P, Qin W, Ma H, Zhang T (2019). Two new species of lithobiid centipedes and the first record of *Lamyctes africanus* Porath (Chilopoda: Lithobiomorpha) in China. Journal of Natural History 53: 897–921 <https://doi.org/10.1080/00222933.2019.1606355>
- R Core Team. (2022) R: A language and environment for statistical computing. <http://www.r-project.org/>.
- Raso L, Sint D, Rief A, Kaufmann R, Traugott M. (2014) Molecular identification of adult and juvenile linyphiid and theridiid spiders in Alpine glacier foreland communities. PLoS ONE 9: e101755.

Ratnasingham S, Hebert PDN (2007) BOLD: The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). *Molecular Ecology Notes* 7: 355–364. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01678.x>

Ratnasingham S, Hebert PDN (2013) A DNA-based registry for all animal species: The barcode index number (BIN) system. *PLoS ONE* 8: e66213. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066213>

Rostami E, Madadi H, Abbasipour H, Cuthbertson AG (2018). First report of the predatory spider, *Oxyopes lineatus* Latreille (Aranea: Oxyopidae) feeding on the tomato leaf miner, *Tuta Absoluta* (Meyrick)(Lepidoptera: Gelechiidae). *Advances in Food Sciences* 40: 128-133.

Royauté R, Pruitt JN (2015) Varying predator personalities generates contrasting prey communities in an agroecosystem. *Ecology* 96: 2902–2911. <https://doi.org/10.1890/14-2424.1>

Roubinet E, Birkhofer K, Malsher G, Staudacher K, Ekbom B, Traugott M, Jonsson M (2017) Diet of generalist predators reflects effects of cropping period and farming system on extra- and intraguild prey. *Ecological Applications* 27:1167-1177.

Samiayyan K (2014) Spiders – The Generalist Super Predators in Agro-Ecosystems. U: Dharam P. Abrol (ed.) *Integrated Pest Management*, Academic Press, 283–310 <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-398529-3.00016-6>

Sanders D, Vogel E, Knop E (2015) Individual and species-specific traits explain niche size and functional role in spiders as generalist predators. *Journal of Animal Ecology* 84: 134-142. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12271>

Saqib HSA, Sun L, Pozsgai G, Liang P, You M, Gurr GM, You S (2022), DNA metabarcoding of gut contents reveals key habitat and seasonal drivers of trophic networks involving generalist predators in agricultural landscapes. *Pest Management Science*. <https://doi.org/10.1002/ps.7161>

Schär S, Menchetti M, Schifani E, Hinojosa JC, Platania L, Dapporto L, Vila R (2020) Integrative biodiversity inventory of ants from a Sicilian archipelago reveals high diversity on young volcanic islands (Hymenoptera: Formicidae). *Organisms Diversity and Evolution* 20: 405–416.

Scheu S (2001) Plants and generalist predators as links between the below-ground and above-ground system. *Basic and Applied Ecology* 2 :3–13.

Schloss PD, Westcott SL, Ryabin T, Hall JR, Hartmann M, Hollister EB, Lesniewski RA, Oakley BB, Parks DH, Robinson CJ, Sahl JW, Stres B, Thallinger GG, Van Horn DJ, Weber CF (2009) Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for

describing and comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology* 75: 7537-7541. <https://doi.org/10.1128/AEM.01541-09>

Selden PA (2017) Arachnids. In Reference module in life sciences, Elsevier. Published online.

Sharkey MJ, Janzen DH, Hallwachs W, Chapman EG, Smith MA, Dapkey T, Brown A, Ratnasingham S, Naik S, Manjunath R, Perez K, Milton M, Hebert P, Shaw SR, Kittel RN, Solis MA, Metz MA, Goldstein PZ, Brown JW, Quicke DLJ, van Achterberg C, Brown BV, Burns JM (2021) Minimalist revision and description of 403 new species in 11 subfamilies of Costa Rican braconid parasitoid wasps, including host records for 219 species. *ZooKeys* 1013: 1-665. <https://doi.org/10.3897/zookeys.1013.55600>

Robinson E, Blagoev G, Hebert PN, Adamowicz S (2009). Prospects for using DNA barcoding to identify spiders in species-rich genera. *ZooKeys* 16: 27.

Shaw P, Benefer CM (2015) Development of a barcoding database for the UK Collembola: Early results. *Soil Organisms* 87: 197–202.

Sierra Ramírez D, Guevara G, Franco Pérez LM, Van der Meijden A, González-Gómez JC, Carlos Valenzuela-Rojas J, Prada Quiroga CF (2021) Deciphering the diet of a wandering spider (*Phoneutria boliviensis*; Araneae: Ctenidae) by DNA metabarcoding of gut contents. *Ecology and evolution* 11: 5950-5965.

Smith M, Bertrand C, Crosby K, Eveleigh E, Fernandez-Triana J, Fisher B, Gibbs J, Hajibabaei M, Hallwachs W, Hind K, Hrcek J, Huang DW, Janda M, Janzen DH, Li Y, Miller SE, Packer L, Quicke D, Ratnasingham S, Rodriguez J, Rougerie R, Shaw MR, Sheffield C, Stahlhut JK, Steinke D, Whitfield J, Wood M, Zhou X (2012) Wolbachia and DNA barcoding insects: patterns, potential, and problems. *PLoS One* 7: e36514.

Song H, Buhay JE, Whiting MF, Crandall KA (2008). Many species in one: DNA barcoding overestimates the number of species when nuclear mitochondrial pseudogenes are coamplified. *Proceedings of the national academy of sciences* 105: 13486-13491.

Sow A, Haran J, Benoit L, Galan M, Brévault T (2020) DNA Metabarcoding as a Tool for Disentangling Food Webs in Agroecosystems. *Insects* 11: 294. <https://doi.org/10.3390/insects11050294>

Spelda J, Reip HS, Oliveira-Biener U, Melzer RR (2011). Barcoding Fauna Bavarica: Myriapoda—a contribution to DNA sequence-based identifications of centipedes and millipedes (Chilopoda, Diplopoda). *ZooKeys* 156:123-139.

Stamatakis A (2014) RAxML version 8: A tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30: 1312–1313. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033>

Stahlhut JK, Gibbs J, Sheffield CS, Smith MS, Packer L (2012) *Wolbachia* (Rickettsiales) infections and bee (Apoidea) barcoding: a response to Gerth et al. *Systematics and Biodiversity* 10: 395-401.

Suenaga, H, Hamamura T (2015) Effects of manipulated density of the wolf spider, *Pardosa astrigera* (Araneae: Lycosidae), on pest populations and cabbage yield: a field enclosure experiment. *Applied Entomology and Zoology* 50: 89-97.

Symondson WOC (2002) Molecular identification of prey in predator diets. *Molecular Ecology*, 11: 627-641. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2002.01471.x>

Symondson WOC, Sunderland KD, Greenstone MH (2002) Can generalist predators be effective biocontrol agents? *Annual Review of Entomology* 47: 561-594.

Šerić Jelaska L (2019) „Jedinstvo uz pomoć znanja“ br. 10/19

Šerić Jelaska L (2022a) DNA metabarcoding revealed expected but also some exceptional prey species in the diet of carabid beetles in Mediterranean agriculture. U: Hokkanen, Heikki (ed.) *Book of Abstracts XXVI International Congress of Entomology*. Helsinki, Finland, 155-156

Šerić Jelaska L, Anđelić Dmitrović B, Gajski D (2022b) Trofičke interakcije člankonožaca u mediteranskoj poljoprivredi utvrđene metodom DNA. U: Katarina Caput Mihalić, Vlatka Mičetić Stanković, Inga Urlić, Armin Mešić, Petar Kružić (ed.) *Knjiga sažetaka 14. Hrvatski biološki kongres*. Pula, Hrvatska,

Šerić Jelaska L, Franjević D, Jelaska SD, Symondson WOC (2014a) Prey detection in carabid beetles in woodland ecosystems by PCR analyses of gut content. *European journal of entomology* 111: 631–638. <https://doi.org/10.14411/eje.2014.079>

Šerić Jelaska L, Ivanković Tatalović L, Kostanjšek F, Kos T (2022c) Ground beetle assemblages and distribution of functional traits in olive orchards and vineyards depend on the agricultural management practice. *BioControl* 3: 275-286. <https://doi.org/10.1007/s10526-022-10133-x>

Šerić Jelaska L, Jurasović J, Brown SD, Vaughan PI, Symondson WOC (2014b) Molecular field analysis of trophic relationships in soil-dwelling invertebrates to identify mercury, lead and

cadmium transmission through forest ecosystems. *Molecular Ecology* 23: 3755–3766. <https://doi.org/10.1111/mec.12566>

Šerić Jelaska L, Kos T, Jelić M, Anđelić B, Ivanković L (2020) MEDITERATRI projekt – priča o utjecaju pesticida na predatorske člankonošce. U: Bažok, R. (ed.) 64. Seminar biljne zaštite-zbornik sažetaka.

Šerić Jelaska L, Symondson WOC (2016) Predation on epigeic, endogeic and anecic earthworms by carabids active in spring and autumn. *Periodicum Biologorum*: 118:281-289.

Taberlet P, Coissac E, Hajibabaei M, Rieseberg, LH (2012) Environmental DNA. *Molecular Ecology* 21: 1789-1793. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05542.x>

Tercel MPTG, Moorhouse-Gann RJ, Cuff JP, Drake LE, Cole NC, Goder M, Mootoocurpen R, Symondson, WOC (2022) DNA metabarcoding reveals introduced species predominate in the diet of a threatened endemic omnivore, Telfair's skink (*Leiolopisma telfairii*). *Ecology and Evolution* 12: e8484. <https://doi.org/10.1002/ece3.8484>

Tercel MPTG, Symondson WOC, Cuff JP (2021) The problem of omnivory: A synthesis on omnivory and DNA metabarcoding. *Molecular Ecology* 30: 2199-2206. <https://doi.org/10.1111/mec.15903>

Thomas AC, Deagle BE, Eveson JP, Harsch CH, Trites AW (2016) Quantitative DNA metabarcoding: Improved estimates of species proportional biomass using correction factors derived from control material. *Molecular Ecology Resources*, 16: 714–726. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12490>

Toju H, Baba YG (2018) DNA metabarcoding of spiders, insects, and springtails for exploring potential linkage between above- and below-ground food webs. *Zoological Letters* 4. <https://doi.org/10.1186/s40851-018-0088-9>

Traugott M, Bell JR, Raso L, Sint D, Symondson WO (2012) Generalist predators disrupt parasitoid aphid control by direct and coincidental intraguild predation. *Bulletin of Entomological Research* 102: 239-247.

Tyagi K, Kumar V, Kundu S, Pakrashi A, Prasad P, Caleb JTD, Chandra K (2019) Identification of Indian Spiders through DNA barcoding: Cryptic species and species complex. *Scientific Reports* 9: 14033. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50510-8>

Tzafesta E, Zangaro F, Specchia V, Pinna M. (2021) An Overview of DNA-Based Applications for the Assessment of Benthic Macroinvertebrates Biodiversity in Mediterranean Aquatic Ecosystems. *Diversity* 13:112. <https://doi.org/10.3390/d13030112>

Uetz GW (1991) Habitat structure and spider foraging. In: Bell, S.S., McCoy, E.D., Mushinsky, H.R. (eds) *Habitat Structure. Population and Community Biology Series*, vol 8. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-011-3076-9_16

Valentini A, Pompanon F, Taberlet P (2009) DNA barcoding for ecologists. *Trends in Ecology & Evolution* 24: 110–117. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2008.09.011>

Vaughan, IP, Gotelli, NJ, Memmott, J, Pearson, CE, Woodward, G, Symondson, WOC (2018) econullnetr: An r package using null models to analyse the structure of ecological networks and identify resource selection. *Methods in Ecology and Evolution* 9: 728–733. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12907>

Villalta I, Ledet R, Baude M, Genoud D, Bouget C, Cornillon M, Moreau S, Courtial B, Lopez-Vaamonde C (2021) A DNA barcode-based survey of wild urban bees in the Loire Valley, France. *Scientific Reports* 11: 4770. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83631-0>

Villesen P (2007) FaBox: An online toolbox for fasta sequences. *Molecular Ecology Notes* 7: 965–968. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01821.x>

Vogiatzakis IN, Mannion AM, Griffiths GH (2006) Mediterranean ecosystems: Problems and tools for conservation. *Progress in Physical Geography* 30: 175–200.

Vucic-Pestic O, Birkhofer K, Rall B, Scheu S, Brose U (2010) Habitat structure and prey aggregation determine the functional response in a soil predator–prey interaction. *Pedobiologia* 53: 307–312. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2010.02.003>

Walker SE, Rypstra AL (2002) Sexual dimorphism in trophic morphology and feeding behavior of wolf spiders (Araneae: Lycosidae) as a result of differences in reproductive roles. *Canadian Journal of Zoology* 80: 679–686.

Weigand H, Beermann AJ, Čiampor F, Costa FO, Csabai Z, Duarte S, Ekrem, T (2019) DNA barcode reference libraries for the monitoring of aquatic biota in Europe: Gap-analysis and recommendations for future work. *Science of the Total Environment*, 678: 499–524. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.247>

- Weeks RD, Thomas JR, Holtzer O (2000) Habitat and Season in Structuring Ground-Dwelling Spider (Araneae) Communities in a Shortgrass Steppe Ecosystem. *Environmental Entomology* 29: 1164–1172. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-29.6.1164>
- Wesener T, Voigtländer K, Decker P, Oeyen JP, Spelda J (2016) Barcoding of Central European Cryptops centipedes reveals large interspecific distances with ghost lineages and new species records from Germany and Austria (Chilopoda, Scolopendromorpha). *564*: 21-46. <https://doi.org/10.3897/zookeys.564.7535>
- Whitaker MRL, Baker CCM, Salzman SM, Martins DJ, Pierce NE (2019) Combining stable isotope analysis with DNA metabarcoding improves inferences of trophic ecology. *PLoS ONE* 14: e0219070. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219070>
- Wilder SM (2011) Spider Nutrition: An Integrative Perspective. U: Jérôme Casas (ed.) *Advances in Insect Physiology*. Academic Press, 87-136 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387668-3.00002-7>
- Winkler D, Traser G (2012) Explanation of the European *Lepidocyrtus pallidus-serbicus* group (Collembola, Entomobryidae), with description of new species from Hungary. *Zootaxa* 3394: 35–47.
- Wise DH (1993) *Spiders in Ecological Webs*. Cambridge University Press, Cambridge
- Zamani A, Fric ZF, Gante HF, Hopkins T, Orfinger AB, Scherz MD, Sucháčková Bartoňová A, Dal Pos D (2022) DNA barcodes on their own are not enough to describe a species. *Systematic Entomology* 47: 1– 5. <https://doi.org/10.1111/syen.12538>
- Zhang J, Kapli P, Pavlidis P, Stamatakis AA (2013) General Species Delimitation Method with Applications to Phylogenetic Placements. *Bioinformatics* 29: 2869-2876.
- Yoon TH, Kang HE, Lee SR, Lee JB, Baeck GW, Park H, Kim HW (2017) Metabarcoding analysis of the stomach contents of the Antarctic Toothfish (*Dissostichus mawsoni*) collected in the Antarctic Ocean. *PeerJ* 5: e3977.
- Young OP, Edwards GB (1990) Spiders in United States field crops and their potential effect on crop pests. *Journal of Arachnology* 18: 1-27.

8. PRILOZI

Tablica P1. Popis jedinki pauka analiziranih metodom DNA metabarkodiranja pozitivnih na plijen u probavilu te pripadajući plijen.

Uzorak	Vrsta pauka	Porodica paauk	Vrsta plijena	Red plijena	Broj očitanja	Ploha	Tip upravljanja
MT1011	<i>Xysticus kochi</i>	Thomisidae	<i>Sitticus penicillatus</i>	Araneae	51	Vinograd	IPM
MT1053	<i>Xysticus acerbus</i>	Thomisidae	<i>Corynoptera perpusilla</i>	Diptera	32	Maslinik	IPM
MT1153	<i>Xysticus marmoratus</i>	Thomisidae	<i>Tetramorium semilaeve</i>	Hymenoptera	89	Maslinik	EPM
MT1154	<i>Xysticus marmoratus</i>	Thomisidae	<i>Lasioglossum glabriusculum</i>	Hymenoptera	77	Maslinik	EPM
MT1154	<i>Xysticus marmoratus</i>	Thomisidae	<i>Tetramorium semilaeve</i>	Hymenoptera	184	Maslinik	EPM
MT1163	<i>Xysticus marmoratus</i>	Thomisidae	<i>Aphaenogaster balcanica</i>	Hymenoptera	191	Maslinik	EPM
MT1189	<i>Xysticus kochi</i>	Thomisidae	<i>Smittia</i> sp.	Diptera	67	Vinograd	IPM
MT1223	<i>Xysticus kochi</i>	Thomisidae	<i>Forficulidae</i> sp.	Dermaptera	90	Maslinik	IPM
MT1302	<i>Xysticus acerbus</i>	Thomisidae	<i>Aphaenogaster balcanica</i>	Hymenoptera	9	Maslinik	EPM
MT1334	<i>Thomisidae</i> sp.	Thomisidae	<i>Corynoptera perpusilla</i>	Diptera	16	Maslinik	IPM
MT1346	<i>Xysticus acerbus</i>	Thomisidae	<i>Aphaenogaster balcanica</i>	Hymenoptera	4376	Maslinik	EPM
MT1043	<i>Pistius truncatus</i>	Thomisidae	<i>Udea ferrugalis</i>	Lepidoptera	33	Prirodno stanište	NP
MT1425	<i>Bassaniodes caperatus</i>	Thomisidae	<i>Tetramorium semilaeve</i>	Hymenoptera	7	Maslinik	IPM
			<i>Poecilus</i> sp.	Coleoptera	14		
			<i>Plagiolepis pygmaea</i>	Hymenoptera	6		
MT1007	<i>Alopecosa solitaria</i>	Lycosidae	<i>Solenopsis fugax</i>	Hymenoptera	17	Prirodno stanište	NP
			<i>Udea accolalis</i>	Lepidoptera	7		
MT1008	<i>Alopecosa solitaria</i>	Lycosidae	<i>Udea accolalis</i>	Lepidoptera	16	Prirodno stanište	NP
MT1014	<i>Xerolycosa</i> sp.	Lycosidae	<i>Harpegnathos saltator</i>	Hymenoptera	11	Maslinik	EPM
MT1017	<i>Hogna radiata</i>	Lycosidae	<i>Oscinella</i> sp.	Diptera	15738	Maslinik	EPM
			<i>Cystiphora sonchi</i>	Diptera	7374		
			<i>Philosepedon humeralis</i>	Diptera	6222		

Tablica P1. - nastavak

MT1050	<i>Pardosa hortensis</i>	Lycosidae	<i>Harmonia axyridis</i>	Coleoptera	798	Maslinik	IPM
MT1052	<i>Alopecosa</i> sp.	Lycosidae	<i>Chrysoperla carnea</i>	Neuroptera	230	Maslinik	IPM
			<i>Aedes albopictus</i>	Diptera	58		
MT1054	<i>Arctosa</i> sp.	Lycosidae	<i>Diptera</i> sp.	Diptera	964	Maslinik	IPM
			<i>Forcipomyia</i> sp.	Diptera	31		
			<i>Epinotia thapsiana</i>	Lepidoptera	183		
			<i>Poecilus sericeus</i>	Coleoptera	8		
MT1061	<i>Alopecosa albofasciata</i>	Lycosidae	<i>Messor ibericus</i>	Hymenoptera	53	Maslinik	IPM
			<i>Cantharis livida</i>	Coleoptera	14		
			<i>Cadra figulilella</i>	Lepidoptera	59		
			<i>Sarcophaga nigriventris</i>	Diptera	83		
MT1077	<i>Alopecosa albofasciata</i>	Lycosidae	<i>Chrysoperla carnea</i>	Neuroptera	78	Maslinik	IPM
MT1078	<i>Alopecosa albofasciata</i>	Lycosidae	<i>Bradysia brevispina</i>	Diptera	1092	Maslinik	IPM
			<i>Chrysoperla carnea</i>	Neuroptera	87		
MT1086	<i>Alopecosa</i> sp.	Lycosidae	<i>Corynoptera perpusilla</i>	Diptera	75	Vinograd	EPM
MT1100	<i>Hogna radiata</i>	Lycosidae	<i>Ectopsocus</i> sp.	Pscoptera	45	Maslinik	IPM
			<i>Sitticus penicillatus</i>	Araneae	96		
MT1101	<i>Pardosa hortensis</i>	Lycosidae	<i>Solenopsis</i> sp.	Hymenoptera	63	Maslinik	IPM
			<i>Harmonia axyridis</i>	Coleoptera	31		
			<i>Dryobotodes eremita</i>	Lepidoptera	46		
MT1145	<i>Hogna radiata</i>	Lycosidae	<i>Aphaenogaster balcanica</i>	Hymenoptera	9	Maslinik	IPM
MT1164	<i>Hogna radiata</i>	Lycosidae	<i>Tetramorium semilaeve</i>	Hymenoptera	30	Maslinik	EPM
MT1177	<i>Hogna radiata</i>	Lycosidae	<i>Diplostyla concolor</i>	Araneae	125	Maslinik	IPM
MT1177			<i>Agyneta pseudorurestris</i>	Araneae	8		
MT1184	<i>Hogna radiata</i>	Lycosidae	<i>Loboptera decipiens</i>	Blattodea	21	Maslinik	EPM
MT1193	<i>Pardosa proxima</i>	Lycosidae	<i>Hymenoptera</i> sp.	Hymenoptera	13	Vinograd	IPM
MT1195	<i>Hogna radiata</i>	Lycosidae	<i>Phoridae</i> sp.	Diptera	6037	Maslinik	EPM
MT1205	<i>Pardosa hortensis</i>	Lycosidae	<i>Harmonia axyridis</i>	Coleoptera	55	Vinograd	IPM
			<i>Dryobotodes eremita</i>	Lepidoptera	80		

Tablica P1. - nastavak

MT1216	<i>Hogna radiata</i>	Lycosidae	<i>Bradysia brevispina</i>	Diptera	36	Maslinik	IPM
MT1221	<i>Hogna radiata</i>	Lycosidae	<i>Nysius</i> sp.	Hemiptera	176	Maslinik	IPM
			<i>Sitticus penicillatus</i>	Araneae	1221		
MT1222	<i>Xerolycosa nemoralis</i>	Lycosidae	<i>Nysius graminicola</i>	Hemiptera	63	Maslinik	IPM
MT1225	<i>Pardosa hortensis</i>	Lycosidae	<i>Psammotettix</i> sp.	Hemiptera	76	Vinograd	IPM
MT1236	<i>Trochosa ruricola</i>	Lycosidae	<i>Eriocottis fuscanelle</i>	Lepidoptera	14832	Prirodno stanište	NP
MT1237	<i>Alopecosa</i> sp.	Lycosidae	<i>Psila</i> sp.	Diptera	30	Prirodno stanište	NP
MT1237			<i>Eriocottis fuscanelle</i>	Lepidoptera	1892		
MT1238	<i>Alopecosa accentuata</i>	Lycosidae	<i>Aiolopus strepens</i>	Orthoptera	33	Maslinik	EPM
MT1241	<i>Alopecosa</i> sp.	Lycosidae	<i>Eriocottis fuscanelle</i>	Lepidoptera	441	Maslinik	EPM
MT1242	<i>Hogna radiata</i>	Lycosidae	<i>Tettigonia viridissima</i>	Orthoptera	145	Maslinik	IPM
MT1267	<i>Hogna radiata</i>	Lycosidae	<i>Loboptera decipiens</i>	Blattodea	139	Maslinik	IPM
MT1268	<i>Hogna radiata</i>	Lycosidae	<i>Loboptera decipiens</i>	Blattodea	651	Maslinik	IPM
			<i>Cheiracanthium mildei</i>	Araneae	29		
MT1307	<i>Lycosidae</i> sp.	Lycosidae	<i>Armadillidium vulgare</i>	Isopoda	6	Maslinik	IPM
MT1308	<i>Lycosidae</i> sp.	Lycosidae	<i>Solenopsis</i> sp.	Hymenoptera	33	Maslinik	IPM
MT1312	<i>Lycosidae</i> sp.	Lycosidae	<i>Harpegnathos saltator</i>	Hymenoptera	9	Maslinik	IPM
MT1313	<i>Lycosidae</i> sp.	Lycosidae	<i>Plutella xylostella</i>	Lepidoptera	9	Maslinik	IPM
MT1315	<i>Lycosidae</i> sp.	Lycosidae	<i>Loboptera decipiens</i>	Blattodea	80	Maslinik	IPM
MT1316	<i>Alopecosa farinosa</i>	Lycosidae	<i>Formica glauca</i>	Hymenoptera	44	Maslinik	IPM
MT1319	<i>Alopecosa accentuata</i>	Lycosidae	<i>Armadillidium vulgare</i>	Isopoda	10	Maslinik	IPM
MT1322	<i>Lycosidae</i> sp.	Lycosidae	<i>Solenopsis</i> sp.	Hymenoptera	93	Maslinik	IPM
MT1347	<i>Lycosidae</i> sp.	Lycosidae	<i>Stigmella freyella</i>	Lepidoptera	13	Maslinik	EPM
MT1370	<i>Pardosa hortensis</i>	Lycosidae	<i>Corynoptera perpusilla</i>	Diptera	582	Vinograd	IPM
MT1389	<i>Hogna radiata</i>	Lycosidae	<i>Aiolopus strepens</i>	Orthoptera	5822	Maslinik	EPM
MT1418	<i>Hogna radiata</i>	Lycosidae	<i>Tegenaria hasperi</i>	Araneae	14	Maslinik	IPM
MT1209	<i>Zelotes</i> sp.	Gnaphosidae	<i>Armadillidium vulgare</i>	Isopoda	11	Vinograd	IPM
MT1256	<i>Haplodrassus dalmatensis</i>	Gnaphosidae	<i>Aiolopus strepens</i>	Orthoptera	7	Maslinik	EPM

MT1353	<i>Gnaphosidae</i> sp.	Gnaphosida e	<i>Tetramorium</i> <i>caespitum</i>	Hymenoptera	111	Maslinik	EPM
MT1356	<i>Nomisia</i> <i>exornata</i>	Gnaphosida e	<i>Aphaenogaster</i> <i>balcanica</i>	Hymenoptera	6	Maslinik	EPM
MT1016	<i>Oxyopes</i> <i>heterophthalmus</i>	Oxyopidae	<i>Aiolopus</i> <i>strepens</i>	Orthoptera	16	Maslinik	EPM
MT1018	<i>Oxyopes</i> <i>heterophthalmus</i>	Oxyopidae	<i>Cystiphora</i> <i>sonchi</i>	Diptera	8	Maslinik	EPM
	<i>Oxyopes</i> <i>heterophthalmus</i>		<i>Philosepedon</i> <i>humeralis</i>	Diptera	9		
MT1022	<i>Oxyopes</i> <i>heterophthalmus</i>	Oxyopidae	<i>Chromatomyia</i> <i>horticola</i>	Diptera	188	Maslinik	EPM
MT1023	<i>Oxyopes</i> <i>heterophthalmus</i>	Oxyopidae	<i>Forficula</i> <i>auricularia</i>	Dermaptera	12	Maslinik	EPM
MT1134	<i>Oxyopes</i> <i>heterophthalmus</i>	Oxyopidae	<i>Sitticus</i> <i>penicillatus</i>	Araneae	63	Vinograd	EPM
MT1190	<i>Oxyopes</i> <i>heterophthalmus</i>	Oxyopidae	<i>Laodelphax</i> <i>striatellus</i>	Hemiptera	13	Vinograd	IPM
MT1300	<i>Oxyopes</i> sp.	Oxyopidae	<i>Tetramorium</i> <i>semilaeve</i>	Hymenoptera	9	Maslinik	IPM
MT1375	<i>Oxyopes</i> sp.	Oxyopidae	<i>Aiolopus</i> <i>strepens</i>	Orthoptera	8	Maslinik	EPM
MT1384	<i>Oxyopes</i> sp.	Oxyopidae	<i>Cymoninus</i> <i>notabilis</i>	Hemiptera	46	Maslinik	IPM
MT1239	<i>Tibellus</i> <i>macellus</i>	Philodromidae	<i>Eriocottis</i> <i>fuscanella</i>	Lepidoptera	43	Maslinik	EPM
			<i>Cystiphora</i> <i>sonchi</i>	Diptera	14		
MT1368	<i>Tibellus</i> <i>macellus</i>	Philodromidae	<i>Corynoptera</i> <i>perpusilla</i>	Diptera	26	Vinograd	IPM
MT1009	<i>Agalenatea</i> <i>redii</i>	Araneidae	<i>Psila</i> sp.	Diptera	3440	Prirodno stanište	NP
MT1158	<i>Araneidae</i> sp.	Araneidae	<i>Euscelis</i> <i>lineolata</i>	Hemiptera	9	Maslinik	EPM
MT1168	<i>Agalenatea</i> <i>redii</i>	Araneidae	<i>Oxytelus</i> <i>sculptus</i>	Coleoptera	219	Maslinik	IPM
MT1171	<i>Agalenatea</i> <i>redii</i>	Araneidae	<i>Lecithocera</i> <i>nigrana</i>	Lepidoptera	36	Prirodno stanište	NP
MT1173	<i>Neoscona</i> <i>adiana</i>	Araneidae	<i>Cystiphora</i> <i>sonchi</i>	Diptera	24	Prirodno stanište	NP
			<i>Philosepedon</i> <i>humeralis</i>	Diptera	29		
			<i>Oscinella</i> sp.	Diptera	16		
			<i>Forficula</i> <i>auricularia</i>	Dermaptera	9		

Tablica P1. - nastavak

MT1199	<i>Agalenatea redii</i>	Araneidae	<i>Philonthus concinnus</i>	Coleoptera	59	Vinograd	IPM
MT1202	<i>Larinioides cornutus</i>	Araneidae	<i>Philonthus concinnus</i>	Coleoptera	75	Vinograd	IPM
MT1204	<i>Agalenatea redii</i>	Araneidae	<i>Coccinella septempunctata</i>	Coleoptera	124	Vinograd	IPM
MT1206	<i>Agalenatea redii</i>	Araneidae	<i>Sitona lineatus</i>	Coleoptera	59	Vinograd	IPM
MT1259	<i>Agalenatea</i> sp.	Araneidae	<i>Prays oleae</i>	Lepidoptera	302	Maslinik	EPM
			<i>Prays fraxinella</i>	Lepidoptera	395		
MT1264	<i>Araneus diadematus</i>	Araneidae	<i>Formica</i> sp.	Hymenoptera	8	Vinograd	EPM
MT1371	<i>Latrodectus tredecimguttatus</i>	Theridiidae	<i>Toya propinqua</i>	Hemiptera	184	Vinograd	IPM

* Za svaku vrstu plijena zabilježenu u probavilu pauka naveden je broj očitavanja (*read count*) s kojim je vrsta zabilježena u probavilu. IPM označava poljoprivrednu površinu s integriranim tipom upravljanja, EPM označava poljoprivrednu površinu s ekološkim tipom upravljanja, NP označava da tip upravljanja nije primjenjiv jer se radi o prirodnom staništu.

Tablica P2. Popis jedinki pauka korištenih u analizama prisutnosti plijena u probavilu metodama molekularne biologije.

Uzorak	Porodica	Ploha	Godina	<i>B. oleae</i> (p_Cox1D F- p_Cox1D R)	<i>B. oleae</i> (334F- 440R)	Collembola (Col4F- COL5R)	Ukupan plijen (BF3- BR2)	Ukupan plijen (Telperion- Laurelin)
MT1003	Gnaphosidae	C	2018.	/	/	0	1	0
MT1007	Lycosidae	C	2018.	/	/	0	1	1
MT1008	Lycosidae	C	2018.	/	/	0	1	1
MT1009	Araneidae	C	2018.	/	/	/	1	1
MT1010	Lycosidae	C	2018.	/	/	/	1	0
MT1040	Lycosidae	C	2018.	/	/	0	1	0
MT1041	Oxyopidae	C	2018.	/	/	0	1	1
MT1042	Oxyopidae	C	2018.	/	/	/	1	1
MT1043	Thomisidae	C	2018.	/	/	0	1	1
MT1120	Araneidae	C	2018.	/	/	0	1	0
MT1121	Lycosidae	C	2018.	/	/	0	0	0
MT1143	Lycosidae	C	2018.	/	/	0	1	1
MT1144	Araneidae	C	2018.	/	/	0	1	1
MT1150	Araneidae	C	2018.	/	/	/	1	1
MT1151	Araneidae	C	2018.	/	/	0	1	1
MT1171	Araneidae	C	2018.	/	/	0	1	1

Tablica P2. - nastavak

MT1173	Araneidae	C	2018.	/	/	/	1	1
MT1174	Lycosidae	C	2018.	/	/	/	1	0
MT1180	Araneidae	C	2018.	/	/	/	1	0
MT1224	Gnaphosidae	C	2019.	/	/	/	1	0
MT1236	Lycosidae	C	2019.	/	/	/	1	1
MT1237	Lycosidae	C	2019.	/	/	/	1	1
MT1386	Araneidae	C	2019.	/	/	/	1	1
MT1013	Gnaphosidae	ME	2018.	0	0	/	1	1
MT1014	Lycosidae	ME	2018.	0	0	/	1	1
MT1015	Gnaphosidae	ME	2018.	0	0	/	1	1
MT1016	Oxyopidae	ME	2018.	0	0	/	1	1
MT1017	Lycosidae	ME	2018.	0	0	0	1	1
MT1018	Oxyopidae	ME	2018.	0	0	0	1	1
MT1022	Oxyopidae	ME	2018.	0	0	/	1	1
MT1023	Oxyopidae	ME	2018.	0	0	0	1	1
MT1024	Oxyopidae	ME	2018.	0	0	0	1	1
MT1108	Gnaphosidae	ME	2018.	0	0	/	0	0
MT1109	Lycosidae	ME	2018.	0	0	0	0	0
MT1111	Lycosidae	ME	2018.	0	0	0	0	0
MT1114	Thomisidae	ME	2018.	0	0	0	0	0
MT1115	Gnaphosidae	ME	2018.	0	0	0	0	0
MT1116	Gnaphosidae	ME	2018.	0	0	0	0	0
MT1117	Thomisidae	ME	2018.	0	0	0	0	0
MT1122	Lycosidae	ME	2018.	0	0	0	1	0
MT1123	Araneidae	ME	2018.	0	0	/	0	0
MT1124	Thomisidae	ME	2018.	0	0	/	0	0
MT1125	Thomisidae	ME	2018.	0	0	0	0	0
MT1126	Araneidae	ME	2018.	0	0	0	1	0
MT1127	Oxyopidae	ME	2018.	0	0	0	1	0
MT1129	Oxyopidae	ME	2018.	0	0	0	1	0
MT1152	Lycosidae	ME	2018.	/	/	0	1	0
MT1153	Thomisidae	ME	2018.	0	0	0	1	0
MT1154	Thomisidae	ME	2018.	0	0	/	1	0
MT1155	Thomisidae	ME	2018.	0	0	0	1	0
MT1156	Araneidae	ME	2018.	0	0	0	1	0
MT1158	Araneidae	ME	2018.	0	0	/	1	0
MT1160	Thomisidae	ME	2018.	0	0	/	1	0
MT1162	Thomisidae	ME	2018.	0	0	/	1	0
MT1163	Thomisidae	ME	2018.	0	0	/	1	0

Tablica P2. - nastavak

MT1164	Lycosidae	ME	2018.	0	0	/	1	1
MT1184	Lycosidae	ME	2018.	0	0	/	1	0
MT1194	Gnaphosidae	ME	2019.	/	/	/	1	0
MT1195	Lycosidae	ME	2019.	/	/	/	1	1
MT1196	Gnaphosidae	ME	2019.	/	/	/	1	1
MT1197	Lycosidae	ME	2019.	/	/	/	1	1
MT1226	Lycosidae	ME	2019.	/	/	/	1	0
MT1234	Lycosidae	ME	2019.	/	/	/	1	1
MT1238	Lycosidae	ME	2019.	/	/	/	1	1
MT1239	Philodromidae	ME	2019.	/	/	0	1	1
MT1241	Lycosidae	ME	2019.	/	/	/	1	1
MT1244	Lycosidae	ME	2019.	/	/	0	1	0
MT1245	Gnaphosidae	ME	2019.	/	/	0	1	0
MT1246	Lycosidae	ME	2019.	/	/	0	0	0
MT1249	Lycosidae	ME	2019.	/	/	/	1	0
MT1250	Gnaphosidae	ME	2019.	/	/	0	1	0
MT1255	Gnaphosidae	ME	2019.	/	/	0	1	1
MT1256	Gnaphosidae	ME	2019.	/	/	0	1	0
MT1257	Lycosidae	ME	2019.	/	/	/	1	0
MT1258	Thomisidae	ME	2019.	/	/	0	1	0
MT1259	Araneidae	ME	2019.	/	/	/	1	1
MT1265	Thomisidae	ME	2019.	/	/	/	0	1
MT1266	Araneidae	ME	2019.	/	/	/	1	0
MT1271	Gnaphosidae	ME	2019.	/	/	/	1	0
MT1272	Gnaphosidae	ME	2019.	/	/	0	1	1
MT1277	Araneidae	ME	2019.	/	/	/	1	1
MT1331	Gnaphosidae	ME	2019.	/	/	0	1	1
MT1361	Lycosidae	ME	2019.	/	/	0	1	1
MT1389	Lycosidae	ME	2019.	/	/	0	1	1
MT1372	Araneidae	ME	2019.	0	0	0	1	0
MT1342	Gnaphosidae	ME	2019.	0	0	0	1	0
MT1344	Gnaphosidae	ME	2019.	0	0	0	1	0
MT1346	Thomisidae	ME	2019.	0	0	/	1	1
MT1347	Lycosidae	ME	2019.	0	0	0	1	1
MT1348	Oxyopidae	ME	2019.	0	0	0	1	1
MT1353	Gnaphosidae	ME	2019.	0	0	0	1	0
MT1354	Gnaphosidae	ME	2019.	0	0	0	1	1
MT1356	Gnaphosidae	ME	2019.	0	0	0	1	0
MT1301	Lycosidae	ME	2019.	0	0	/	1	0

Tablica P2. - nastavak

MT1302	Thomisidae	ME	2019.	0	0	/	1	1
MT1303	Gnaphosidae	ME	2019.	0	0	/	0	1
MT1388	Lycosidae	ME	2019.	0	0	/	0	0
MT1391	Gnaphosidae	ME	2019.	0	0	/	1	0
MT1374	Lycosidae	ME	2019.	0	0	/	0	0
MT1375	Oxyopidae	ME	2019.	0	0	/	0	1
MT1376	Oxyopidae	ME	2019.	0	0	/	1	1
MT1377	Oxyopidae	ME	2019.	0	0	0	1	1
MT1378	Oxyopidae	ME	2019.	0	0	0	1	1
MT1379	Oxyopidae	ME	2019.	0	0	0	1	1
MT1381	Oxyopidae	ME	2019.	0	0	/	0	0
MT1382	Lycosidae	ME	2019.	0	0	/	0	1
MT1383	Oxyopidae	ME	2019.	0	0	/	0	1
MT1044	Lycosidae	MI	2018.	0	0	/	0	0
MT1045	Lycosidae	MI	2018.	0	0	/	0	1
MT1046	Gnaphosidae	MI	2018.	0	0	/	0	0
MT1047	Lycosidae	MI	2018.	0	0	/	0	0
MT1049	Lycosidae	MI	2018.	0	0	/	1	0
MT1050	Lycosidae	MI	2018.	0	0	/	1	0
MT1052	Lycosidae	MI	2018.	0	0	/	1	1
MT1053	Thomisidae	MI	2018.	0	0	/	1	1
MT1054	Lycosidae	MI	2018.	0	0	/	0	1
MT1055	Lycosidae	MI	2018.	0	0	0	0	0
MT1056	Lycosidae	MI	2018.	0	0	/	0	0
MT1057	Lycosidae	MI	2018.	0	0	/	0	0
MT1059	Lycosidae	MI	2018.	0	0	/	0	0
MT1060	Lycosidae	MI	2018.	0	0	/	0	0
MT1061	Lycosidae	MI	2018.	0	0	/	1	1
MT1064	Lycosidae	MI	2018.	0	0	/	0	0
MT1065	Lycosidae	MI	2018.	0	0	0	0	0
MT1066	Gnaphosidae	MI	2018.	1	0	/	0	0
MT1068	Thomisidae	MI	2018.	0	0	/	0	0
MT1070	Lycosidae	MI	2018.	0	0	/	0	0
MT1071	Lycosidae	MI	2018.	0	0	/	0	1
MT1074	Thomisidae	MI	2018.	0	0	/	0	0
MT1075	Lycosidae	MI	2018.	0	0	/	0	0
MT1076	Lycosidae	MI	2018.	0	0	/	0	0
MT1077	Lycosidae	MI	2018.	0	0	0	1	1
MT1078	Lycosidae	MI	2018.	0	0	0	1	1

Tablica P2. - nastavak

MT1080	Lycosidae	MI	2018.	0	0	0	1	0
MT1089	Gnaphosidae	MI	2018.	0	0	0	0	0
MT1091	Gnaphosidae	MI	2018.	0	0	/	0	0
MT1092	Lycosidae	MI	2018.	0	0	0	0	0
MT1095	Lycosidae	MI	2018.	0	0	0	0	0
MT1097	Lycosidae	MI	2018.	0	0	0	0	0
MT1100	Lycosidae	MI	2018.	0	0	/	1	0
MT1101	Lycosidae	MI	2018.	0	0	0	1	0
MT1145	Lycosidae	MI	2018.	/	/	0	1	0
MT1148	Lycosidae	MI	2018.	/	/	0	0	0
MT1149	Lycosidae	MI	2018.	/	/	0	1	0
MT1167	Thomisidae	MI	2018.	0	0	/	1	0
MT1168	Araneidae	MI	2018.	0	0	0	1	1
MT1169	Thomisidae	MI	2018.	0	0	0	1	0
MT1176	Lycosidae	MI	2018.	/	/	0	0	0
MT1177	Lycosidae	MI	2018.	/	/	0	1	0
MT1182	Thomisidae	MI	2018.	0	0	0	1	0
MT1216	Lycosidae	MI	2019.	/	/	0	1	0
MT1221	Lycosidae	MI	2019.	/	/	0	1	1
MT1222	Lycosidae	MI	2019.	/	/	0	0	1
MT1223	Thomisidae	MI	2019.	/	/	0	0	1
MT1242	Lycosidae	MI	2019.	/	/	0	1	0
MT1243	Gnaphosidae	MI	2019.	/	/	0	1	0
MT1267	Lycosidae	MI	2019.	/	/	0	1	0
MT1268	Lycosidae	MI	2019.	/	/	0	1	0
MT1269	Lycosidae	MI	2019.	/	/	0	1	0
MT1274	Lycosidae	MI	2019.	/	/	0	1	1
MT1418	Lycosidae	MI	2019.	/	/	/	1	0
MT1332	Lycosidae	MI	2019.	0	0	/	1	1
MT1333	Lycosidae	MI	2019.	0	0	0	1	1
MT1334	Thomisidae	MI	2019.	0	0	0	1	0
MT1335	Oxyopidae	MI	2019.	0	0	/	1	1
MT1304	Lycosidae	MI	2019.	0	0	0	1	0
MT1305	Lycosidae	MI	2019.	0	0	0	1	0
MT1306	Lycosidae	MI	2019.	0	0	0	1	0
MT1307	Lycosidae	MI	2019.	0	0	0	1	1
MT1308	Lycosidae	MI	2019.	0	0	0	1	0
MT1309	Lycosidae	MI	2019.	0	0	/	1	0
MT1310	Lycosidae	MI	2019.	0	0	0	1	0

Tablica P2. - nastavak

MT1311	Lycosidae	MI	2019.	0	0	0	1	1
MT1312	Lycosidae	MI	2019.	0	0	/	1	0
MT1300	Oxyopidae	MI	2019.	0	0	/	1	0
MT1313	Lycosidae	MI	2019.	0	0	/	1	0
MT1314	Lycosidae	MI	2019.	0	0	/	0	0
MT1315	Lycosidae	MI	2019.	0	0	/	1	0
MT1316	Lycosidae	MI	2019.	0	0	/	1	0
MT1317	Lycosidae	MI	2019.	0	0	/	1	0
MT1318	Lycosidae	MI	2019.	0	0	/	1	0
MT1319	Lycosidae	MI	2019.	0	0	/	1	0
MT1320	Lycosidae	MI	2019.	0	0	/	1	0
MT1321	Lycosidae	MI	2019.	0	0	/	1	0
MT1322	Lycosidae	MI	2019.	0	0	0	1	0
MT1323	Lycosidae	MI	2019.	0	0	0	1	0
MT1324	Lycosidae	MI	2019.	0	0	/	1	0
MT1325	Lycosidae	MI	2019.	0	0	0	1	0
MT1326	Thomisidae	MI	2019.	0	0	0	1	0
MT1327	Lycosidae	MI	2019.	0	0	/	1	0
MT1328	Lycosidae	MI	2019.	0	0	0	1	0
MT1330	Lycosidae	MI	2019.	0	0	0	1	0
MT1409	Gnaphosidae	MI	2019.	0	0	0	1	0
MT1411	Lycosidae	MI	2019.	0	0	0	1	0
MT1414	Lycosidae	MI	2019.	0	0	0	1	0
MT1419	Gnaphosidae	MI	2019.	0	0	0	1	0
MT1422	Thomisidae	MI	2019.	0	0	0	1	0
MT1384	Oxyopidae	MI	2019.	0	0	/	1	1
MT1385	Lycosidae	MI	2019.	0	0	/	1	0
MT1387	Gnaphosidae	MI	2019.	0	0	0	0	0
MT1425	Thomisidae	MI	2019.	0	0	0	1	0
MT1037	Gnaphosidae	VE	2018.	/	/	0	1	0
MT1086	Lycosidae	VE	2018.	/	/	0	1	1
MT1130	Oxyopidae	VE	2018.	/	/	0	0	0
MT1132	Araneidae	VE	2018.	/	/	0	1	0
MT1134	Oxyopidae	VE	2018.	/	/	/	1	0
MT1140	Gnaphosidae	VE	2018.	/	/	0	1	0
MT1141	Gnaphosidae	VE	2018.	/	/	0	1	0
MT1227	Gnaphosidae	VE	2019.	/	/	/	1	0
MT1229	Gnaphosidae	VE	2019.	/	/	/	1	0
MT1240	Lycosidae	VE	2019.	/	/	/	1	0

Tablica P2. - nastavak

MT1260	Gnaphosidae	VE	2019.	/	/	/	1	0
MT1262	Araneidae	VE	2019.	/	/	/	1	0
MT1263	Araneidae	VE	2019.	/	/	/	1	0
MT1264	Araneidae	VE	2019.	/	/	/	1	0
MT1011	Thomisidae	VI	2018.	/	/	/	1	0
MT1032	Oxyopidae	VI	2018.	/	/	/	0	0
MT1034	Oxyopidae	VI	2018.	/	/	/	0	0
MT1035	Oxyopidae	VI	2018.	/	/	/	0	0
MT1036	Oxyopidae	VI	2018.	/	/	/	0	0
MT1118	Araneidae	VI	2018.	/	/	/	0	0
MT1136	Araneidae	VI	2018.	/	/	0	1	0
MT1137	Oxyopidae	VI	2018.	/	/	/	1	0
MT1179	Gnaphosidae	VI	2018.	/	/	0	1	1
MT1187	Oxyopidae	VI	2018.	/	/	0	1	0
MT1188	Thomisidae	VI	2018.	/	/	0	1	0
MT1189	Thomisidae	VI	2018.	/	/	/	1	0
MT1190	Oxyopidae	VI	2018.	/	/	0	1	1
MT1191	Thomisidae	VI	2018.	/	/	0	1	0
MT1192	Thomisidae	VI	2018.	/	/	0	1	1
MT1193	Lycosidae	VI	2018.	/	/	/	1	0
MT1198	Araneidae	VI	2019.	/	/	0	1	0
MT1199	Araneidae	VI	2019.	/	/	/	1	0
MT1200	Araneidae	VI	2019.	/	/	/	0	0
MT1201	Araneidae	VI	2019.	/	/	/	1	0
MT1202	Araneidae	VI	2019.	/	/	/	1	0
MT1203	Araneidae	VI	2019.	/	/	0	1	0
MT1204	Araneidae	VI	2019.	/	/	/	1	0
MT1205	Lycosidae	VI	2019.	/	/	0	1	0
MT1206	Araneidae	VI	2019.	/	/	0	1	0
MT1207	Araneidae	VI	2019.	/	/	0	1	0
MT1209	Gnaphosidae	VI	2019.	/	/	0	1	0
MT1210	Araneidae	VI	2019.	/	/	0	1	0
MT1212	Thomisidae	VI	2019.	/	/	0	1	0
MT1225	Lycosidae	VI	2019.	/	/	/	1	0
MT1232	Lycosidae	VI	2019.	/	/	0	1	0
MT1233	Lycosidae	VI	2019.	/	/	0	1	0
MT1235	Gnaphosidae	VI	2019.	/	/	0	1	0
MT1275	Lycosidae	VI	2019.	/	/	0	1	0
MT1329	Lycosidae	VI	2019.	/	/	0	1	1

Tablica P2. - nastavak

MT1362	Lycosidae	VI	2019.	/	/	/	1	0
MT1405	Gnaphosidae	VI	2019.	/	/	/	1	0
MT1390	Thomisidae	VI	2019.	/	/	/	0	0
MT1368	Philodromidae	VI	2019.	/	/	/	1	1
MT1370	Lycosidae	VI	2019.	/	/	/	1	1
MT1371	Theridiidae	VI	2019.	/	/	/	1	0
MT1380	Miturgidae	ME	2019.	0	0	/	/	/
MT1392	Miturgidae	ME	2019.	0	0	/	/	/
MT1393	Miturgidae	ME	2019.	0	0	0	/	/
MT1413	Miturgidae	MI	2019.	0	0	0	/	/
MT1416	Miturgidae	MI	2019.	0	0	0	/	/
MT1417	Miturgidae	MI	2019.	0	0	/	/	/
MT1396	Miturgidae	MI	2019.	0	0	/	/	/
MT1401	Miturgidae	MI	2019.	0	0	/	/	/
MT1394	Miturgidae	MI	2019.	0	0	/	/	/
MT1401	Miturgidae	MI	2019.	0	0	/	/	/
MT1128	Philodromidae	ME	2018.	0	0	/	/	/
MT1278	Philodromidae	ME	2019.	0	0	/	/	/
MT1019	Pisauridae	ME	2018.	0	0	/	/	/
MT1020	Pisauridae	ME	2018.	0	0	/	/	/
MT1025	Pisauridae	ME	2018.	0	0	/	/	/
MT1026	Pisauridae	ME	2018.	0	0	/	/	/
MT1027	Pisauridae	ME	2018.	0	0	/	/	/
MT1051	Pisauridae	MI	2018.	0	0	0	/	/
MT1062	Pisauridae	MI	2018.	0	0	/	/	/
MT1067	Pisauridae	MI	2018.	0	0	/	/	/
MT1073	Pisauridae	MI	2018.	0	0	/	/	/
MT1094	Pisauridae	MI	2018.	0	0	/	/	/
MT1099	Pisauridae	MI	2018.	0	0	/	/	/
MT1110	Pisauridae	ME	2018.	0	0	/	/	/
MT1113	Pisauridae	ME	2018.	0	0	0	/	/
MT1185	Pisauridae	MI	2018.	0	0	/	/	/
MT1338	Pisauridae	ME	2019.	0	0	/	/	/
MT1410	Pisauridae	ME	2019.	0	0	/	/	/
MT1403	Pisauridae	MI	2019.	0	0	/	/	/
MT1407	Pisauridae	MI	2019.	0	0	/	/	/
MT1415	Pisauridae	MI	2019.	0	0	/	/	/
MT1421	Pisauridae	MI	2019.	0	0	/	/	/
MT1397	Pisauridae	MI	2019.	0	0	0	/	/

Tablica P2. - nastavak

MT1398	Pisauridae	MI	2019.	0	0	0	/	/
---------------	------------	----	-------	---	---	---	---	---

* 1 označava prisutnog ciljnog plijena u probavilu analiziranog uzorka pauka, 0 označava kako ciljni plijen nije prisutan u probavilu, / označava da uzorak pauka nije analiziran u navedenoj metodi.

9. ŽIVOTOPIS

Barbara Anđelić Dmitrović rođena je u Šibeniku 1993. Osnovnu školu i gimnaziju „Antuna Vrančića“ završila je u Šibeniku. Prirodoslovno matematički fakultet, preddiplomski studij Molekularna biologija upisuje 2012. godine i završava 2015. Po završetku upisuje diplomski studij Molekularna biologija, a na drugoj godini diplomskog studija i studijski program Bioindustrijske tehnike te obrazovanje nastavlja i na Sveučilištu u Orleansu, Francuska. Diplomirala je 2017. godine na oba Sveučilišta. Tijekom boravka u Francuskoj sudjeluje na znanstveno-istraživačkom projektu “Multimodal molecular imaging of metastatic cancer” u Francuskom Nacionalnom Centru za Znanstvena Istraživanja. Od 2018. zaposlena je kao asistent u Zoologijskom zavodu Biološkog odsjeka PMF-a na projektu MEDITERATRI- Neonikotinoidi i bakar u mediteranskoj poljoprivredi – učinci na neciljanu faunu beskralježnjaka kroz trofičke interakcije. Iste godine upisuje Poslijediplomski studij Biologije, a tijekom studija i u sklopu MEDITERATRI projekta sudjelovala je na tri međunarodna kongresa kao usmeni izlagač, na osam domaćih i međunarodnih kongresa kao koautor te na tri radionice. Sudjelovala je na popularizaciji znanosti i projekta MEDITERATRI kroz različite aktivnosti poput Noć istraživači, Festivala znanosti te Dana i noći na PMF. Osvojila je nagradu za najboljeg mladog izlagača na kongresu IOBC u Zadru 2018. Osvojila je nagradu BRDO za najboljeg asistenta na Biološkom odsjeku u akademskoj 2019. /2020 godini. Prvi je autor jednog znanstvenog rada i koautor na još jednom znanstvenom radu, jedan rad je prihvaćen za objavu dok je jedan u postupku recenzije.

Radovi u časopisima

Vucić M, Hama LM, Jelić D, Bačić M, Klobučar G, Anđelić Dmitrović B, Bogutskaya N (2023) First record of North Italian roach, *Leucos aula* (Bonaparte, 1841) on the Pag Island, Croatia – relict of the last glacial maximum? *Organisms Diversity and Evolution* (prihvaćen)

Anđelić Dmitrović B, Jelić M, Rota E, Šerić Jelaska L (2022) DNA Barcoding of Invertebrates Inhabiting Olive Orchards and Vineyards Accelerates Understudied Mediterranean Biodiversity Assessment. *Diversity* 14: 182. <https://doi.org/10.3390/d14030182>

Ivanković Tatalović L, Anđelić B, Jelić M, Kos T, Benítez H, Šerić Jelaska L (2020) Fluctuating Asymmetry as a Method of Assessing Environmental Stress in Two Predatory Carabid Species within Mediterranean Agroecosystems. *Symmetry* 12: 1890. <https://doi.org/10.3390/sym12111890>

Sažeci sa skupova

Kos, Tomislav; Šerić Jelaska Lucija; Jelić Mišel; Ivanković Tatalović Lara; Anđelić Dmitrović, Barbara Trčci (fam. Carabidae), pregled faune kao potencijala biološkog suzbijanja u mediteranskim agro-ekosustavima. // Zbornik sažetaka 5. simpozij HED-a / Sarajlić, Ankica ; Ravlić, Marija (ur.). Osijek: Hrvatsko entomološko društvo, 2022. str. 10-10. (<https://www.bib.irb.hr/1222003>)

Anđelić, Barbara; Gajski, Domagoj; Šerić Jelaska, Lucija Ground and above-ground spiders' predatory choices: their biocontrol potential in Mediterranean vineyards and olive orchards. // Abstract booklet 33rd European Congress of Arachnology Greifswald, 2022. str. 9-9

Anđelić, Barbara; Jelić, Mišel; Šerić Jelaska, Lucija DNA barcoding of insect groups in Mediterranean vineyards and olive orchards in Zadar County, Croatia. // The 1st International Electronic Conference on Entomology Online, 2021. 046564, 1

Šerić Jelaska, Lucija; Anđelić, Barbara; Ivanković Tatalović, Lara; Kos, Tomislav DROSOPHILA SUZUKII RECORDED IN MEDITERRANEAN OLIVE ORCHARDS IN CROATIA. // Zbornik sažetaka (Hrvatski simpozij o invazivnim vrstama s međunarodnim sudjelovanjem) / Jelaska, Sven (ur.). Zagreb: Hrvatsko ekološko društvo, 2021. str. 78-78

Anđelić, Barbara; Jelić, Mišel; Ivanković, Lara; Kos, Toimislav; Šerić Jelaska, Lucija Metabarkodiranje za potrebe molekularnih trofičkih analiza. // SIMPOZIJ STUDENATA DOKTORSKIH STUDIJA PMF-a: Knjiga sažetaka / Rončević, Sanda ; Barišić, Dajana (ur.). Zagreb: Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2020. str. 84-84

Šerić Jelaska, Lucija; Kos, Tomislav; Jelić, Mišel; Anđelić, Barbara; Ivanković, Lara MEDITERATRI projekt – priča o utjecaju pesticida na predatorske člankonošce. // 64. Seminar biljne zaštite- zbornik sažetaka / Bažok, Renata (ur.). Zagreb: Hrvatsko društvo biljne zaštite, 2020. str. 66-67

Ivanković, Lara; Anđelić, Barbara; Gajski, Domagoj; Jelić, Mišel; Kos, Tomislav; Šerić Jelaska, Lucija Diversity and ecology of non-target invertebrate fauna in Integrated and Ecologically based Pest Managements in agricultural sites within MEDITERATRI project. // 55th Croatian & 15th International Symposium on Agriculture- Book of abstracts / Mioč, Boro ; Širić, Ivan (ur.). Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, 2020. str. 62-62

Ivanković Tatalović, Lara; Anđelić, Barbara; Jelić, Mišel; Kos, Toimislav; Šerić Jelaska, Lucija

RAZNOLIKOST I EKOLOGIJA FAUNE BESKRALJEŠNJAKA U AGROEKOSUSTAVIMA S EKOLOŠKIM I INTEGRIRANIM TIPOM UPRAVLJANJA. // SIMPOZIJ STUDENATA DOKTORSKIH STUDIJA PMF-a: Knjiga sažetaka / Rončević, Sanda ; Barišić, Dajana (ur.).

Zagreb: Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2020. str. 34-34

Šerić Jelaska, Lucija; Jelić, Mišel; Ivanković, Lara; Anđelić, Barbara; Gajski, Domagoj; Kos, Tomislav Raznolikost beskralješnjaka u ekološkom i integriranom upravljanju maslinicima i vinogradima. // Zbornik skupa Održivi razvoj poljoprivrede i turizma u kontekstu klimatskih promjena / Krapac, Marin ; Goreta Ban, Smiljana (ur.). Poreč: Institut za poljoprivredu i turizam, 2020. str. 54-55

Šerić Jelaska, Lucija; Anđelić, Barbara; Bahun, Vedran; Franin, Kristijan; Kos, Tomislav MEDITERATRI – Praćenje neonikotinoida i bakra kroz trofičke interakcije u integriranoj i ekološkoj poljoprivredi Mediterana. // Glasilo biljne zaštite XIX/1-2 (dodatak) / Bažok, Renata (ur.). Opatija, Hrvatska: Hrvatsko društvo biljne zaštite, 2019. str. 75-76

Kos, Tomislav; Anđelić, Barbara; Jelić, Mišel; Franin, Kristijan; Šerić Jelaska, Lucija Diversity of plant-eating invertebrates as potential prey of carabid beetles in olive groves and vineyards in southern Croatia. // 19th European Carabidologists Meeting: Book of abstracts Fiera di Primiero, Italija: Pensoft, ARPHA Conference Abstracts 2, 2019. str. 42-43 doi:10.3897/aca.2.e38570

Šerić Jelaska, Lucija; Anđelić, Barbara; Jelić, Mišel; Kos, Tomislav; Benitez, Hugo Body burden of pesticides and shape asymmetry in carabid beetles in different agricultural practices in Mediterranean agroecosystems. // 19th European Carabidologist Meeting Fiera di Primiero, Italija: Pensoft, ARPHA Conference Abstracts 2, 2019. str. 1-1 doi:https://.org/10.3897/aca.2.e38626

Bahun, Vedran; Anđelić, Barbara; Jelić, Mišel; Kos, Tomislav; Franin, Kristijan; Šerić Jelaska, Lucija Predatory arthropod in IPM and ecologically managed olive orchards: the impact on the strengths of trophic interactions. // Book of Abstracts - 54th Croatian & 14th International Symposium on Agriculture / Mioč, Boro ; Širić, Ivan (ur.). Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zagreb, Hrvatska, 2019. str. 239-239

Šerić Jelaska, Lucija; Anđelić, Barbara; Jelić, Mišel; Kos, Tomislav MEDITERATRI project - assessing the trophic ecology of predatory arthropods in Mediterranean agriculture via DNA metabarcoding diet analyses. // 19th European Carabidologist Meeting Fiera di Primiero, Italija, 2019. str. 1-1 doi:https://.org/10.3897/aca.2.e38865

Andelić, Barbara; Jelić, Mišel; Kos, Tomislav; Šerić Jelaska, Lucija Fluctuating asymmetry and shape analysis on *Poecilus koyi* (Coleoptera: Carabidae) in Mediterranean agroecosystems of Croatia. // CONGRESS on Plant Protection- Book of Abstracts / Tanović, Brankica ; Dolzhenko, Victor ; Nicot, Philippe (ur.). Zlatibor: Plant Protection Society of Serbia, 2019. str. 162-163

Šerić Jelaska, Lucija; Kos, Tomislav; Jelić, Mišel; Andelić, Barbara; Bahun, Vedran; Franin, Kristijan MEDITERATRI project (Croatian Science Foundation) - understanding the effect of pesticide on non-target invertebrates through trophic interactions in Mediterranean Agriculture. // Book of Abstracts of the 12th meeting of the IOBC-WPRS Working Group "Pesticides and Beneficial Organisms" / Smagghe, Guy ; Pajač Živković, Ivana (ur.). Zagreb: IOBC, 2018. str. 34-34

Andelić, Barbara; Šerić Jelaska, Lucija; Kos, Tomislav; Jelić, Mišel; Bahun, Vedran; Franin, Kristijan Application of molecular methods in trophic ecology of useful predators within Mediterranean agriculture : a review. // 12th meeting of the IOBC-WPRS Working Group "Pesticides and Beneficial Organisms" (IOBS/WPRS) : abstracts / Smagghe, Guy ; Pajač Živković, Ivana (ur.). Zagreb: IOBC, 2018. str. 9-9