

# Određivanje bioraznolikosti faune tulara (Insecta, Trichoptera) u Hrvatskoj metodom barkodiranja DNA

---

Ćukušić, Anđela

Doctoral thesis / Disertacija

2019

*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:217:045262>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-04**



*Repository / Repozitorij:*

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





Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno-matematički fakultet – Biološki odsjek

Anđela Ćukušić

**Određivanje bioraznolikosti faune tulara  
(Insecta, Trichoptera) u Hrvatskoj metodom  
barkodiranja DNA**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2019



Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno-matematički fakultet – Biološki odsjek

Anđela Ćukušić

**Određivanje bioraznolikosti faune tulara  
(Insecta, Trichoptera) u Hrvatskoj metodom  
barkodiranja DNA**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2019



University of Zagreb

Faculty of Science - Division of Biology

Anđela Čukušić

**Determination of caddisflies (Insecta,  
Trichoptera) fauna biodiversity in Croatia  
using the method of DNA barcoding**

DOCTORAL DISSERTATION

Zagreb, 2019

Ovaj rad je izrađen na Zoologijskom zavodu i Hrvatskom prirodoslovnom muzeju, pod vodstvom dr. sc. Mladena Kučinića, red. prof. i dr. sc. Martine Podnar Lešić, znanstvene suradnice, u sklopu Sveučilišnog poslijediplomskog doktorskog studija Biologije pri Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

## **Određivanje bioraznolikosti faune tulara (Insecta, Trichoptera) u Hrvatskoj metodom barkodiranja DNA**

Andela Ćukušić

Zoologijski zavod, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, Zagreb, Hrvatska

Tulari se zbog povezanosti sa specifičnim uvjetima staništa i osjetljivosti na onečišćenje, smatraju ključnom bioindikatorskom skupinom na temelju koje su se brojne zemlje obavezale pratiti biološku kakvoću slatkovodnih ekosustava. Pouzdano i brzo određivanje do razine vrste pokazalo se izazovnom u taksonomiji. Fauna tulara u Hrvatskoj nepotpuno je istražena zbog malog broja specijaliziranih taksonoma i nedostatka morfološkog ključa za određivanje pojedinih svojti ženki i ličinki. U ovom radu korištena je metoda DNA barkodiranja, koja se pokazala kao brz i pouzdan alat za određivanje nepoznatih uzoraka svrstavanjem u poznatu vrstu ili skupinu srodnih vrsta kroz filogenetsku analizu. Istraženi su filogenetski odnosi 441 primjerka tulara prikupljenih na 177 lokacija u Hrvatskoj. Uspješno je DNA barkodirano 85% poznatih vrsta tulara, odnosno 89% poznatih rodova u fauni Hrvatske iz svih 17 porodica, a DNA barkodirajuće sekvence pohranjene su u svjetsku javnu bazu BOLD. Metodom DNA barkodiranja potvrđeni su nalazi novih i rijetkih vrsta u fauni Hrvatske, određeni primjerci koje nije bilo moguće odrediti korištenjem morfoloških značajki ili za koje nisu opisane dijagnostičke značajke. Istaknuti su genetski divergentni primjerci unutar poznatih vrsta. Otkriveno je šest do sada nezabilježene vrsta za znanost, uključujući i pet kriptičnih vrsta.

(309 stranica, 78 slika, 42 tablica, 306 literaturnih navoda, hrvatski jezik)

Ključne riječi: tulari, *COI*, taksonomija, filogenija, vodeni kukci

Voditelji: red. prof. Dr. sc. Mladen Kučinić; Dr. sc. Martina Podnar Lešić,  
znanstvena suradnica

Ocjenitelji: doc. Dr. sc. Ana Previšić  
Dr. sc. Branka Bruvo Mađarić, znanstvena suradnica  
red. prof. Dr. sc. Ivana Maguire

## **Determination of caddisflies (Insecta, Trichoptera) fauna biodiversity in Croatia using the method of DNA barcoding**

Anđela Ćukušić

Division of Zoology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, Zagreb, Croatia

Caddisflies are used as biological indicators of water quality because they are highly sensitive to environmental stress and pollution. Therefore, they have an essential role in standardized ecological assessment of aquatic ecosystems in most countries. However, reliable and rapid identification to the species level is proved challenging. In Croatia, caddisfly faunistic data are incomplete due to a small number of taxonomists and a lack of morphological description keys for females and larvae of known species. In this research, a DNA barcoding method was used as a fast and reliable tool that can classify an unknown sample into a known species or group of related species through phylogenetic analysis. Phylogenetic relations between 441 caddisfly individuals, sampled from 177 locations in Croatia are analyzed in this study. A full-length DNA barcode was obtained from 85% of known caddisfly species, representing 89% of known genera and all 17 families of caddisflies known from Croatia. DNA barcode sequences are stored in the BOLD public database. The DNA barcoding method confirmed findings of new and rare species in Croatian caddisfly fauna, identified specimens that were not possible using morphology or for which no diagnostic features were described. Specimens with highly divergent DNA barcode with respect to known species are highlighted. DNA barcoding revealed six new species, including five cryptic species hitherto unrecorded based on morphology.

(309 pages, 78 figures, 42 tables, 306 references, original in Croatian)

Key words: caddisfly, *COI*, taxonomy, phylogeny, aquatic insects

Supervisors: PhD. Mladen Kučinić, Assoc. Prof., PhD. Martina Podnar Lešić, research associate

Reviewers: PhD. Ana Previšić, Assis. Prof.

PhD. Branka Bruvo Mađarić, research associate

PhD. Ivana Maguire, Assoc. Prof.

## INFORMACIJE O MENTORIMA

**Ime i prezime mentora:** Mladen Kučinić

**Matični broj znanstvenika:** 176213

**URL za web CROSBİ:** <https://bib.irb.hr/lista-radova?autor=176213>

**Radno mjesto:** Redoviti profesor na Prirodoslovno-matematički fakultetu (PMF), Sveučilište u Zagrebu.

### **Obrazovanje:**

1985. Diplomirani inženjer eksperimentalne biologije, PMF, Sveučilište u Zagrebu, 1997. Magistar znanosti, polje Biologija, PMF, Sveučilište u Zagrebu, 2002. Doktor znanosti, polje Biologija, PMF, Sveučilište u Zagrebu.

### **Zaposlenje:**

1985-1987. kustos, Hrvatski narodni zoološki muzej u Zagrebu

1987-1998. viši kustos, Hrvatski prirodoslovni muzej u Zagrebu

1998. do danas: PMF, Sveučilište u Zagrebu: 1998.- 2002. Asistent, 2002-2004. Viši asistent, 2004-2009. Docent, 2009-2016. Izvanredni profesor, 2016. Redoviti profesor.

### **Mentorstva doktorskih studenata i poslijedoktoranata:**

2004-2016. 48 diplomanata, 1 magistarskog rada, 7 uspješno obranjenih doktorskih disertacija, mentor na 5 doktorskih disertacija na PMF-u, Sveučilište u Zagrebu.

### **Nastavne aktivnosti:**

Predavač i nositelj na sveučilišnom prediplomskom studiju Zoologija, Terenska nastava iz botanike i zoologije te na sveučilišnom diplomskom studiju Ekologije kukaca, Entomologija, Principi i načela sistematske zoologije na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu, Sveučilišta u Zagrebu. Predavač na sveučilišnom diplomskom studiju Funkcionalnost bioloških sustava na Fakultetu strojarstva i brodogradnje, Sveučilište u Zagrebu, sveučilišnom prediplomskom studiju Entomologija na Sveučilištu na Primorskom in Koper (Republika Slovenija) i sveučilišnom prediplomskom i diplomskom studiju Zoologija na S. Toraigyrov, Državno Sveučilište u Pavlodaru (Republika Kazahstan).

### **Sudjelovanje na najvažnijim znanstvenim i stručnim projektima:**

Voditelj projekta DNA barkodiranje bioraznolikosti hrvatske faune (2017. do danas), suvoditelj za područje Hrvatske, Bosne i Hercegovine, Srbije, Makedonije i Albanije projekta The Drusinae (Insecta: Trichoptera) in a world of global change (2012-2015), koordinator za skupinu Trichoptera unutar projekta EU Natura 2000, Integration project, NIP (2012-2016),, voditelj projekta Raznolikost i ekologija Arthropoda u zaštićenim krškim područjima Hrvatske (2007-2013), voditelj projekta Entomološka zbirka i podaci o tularima, Trichoptera and leptirima, Lepidoptera zabilježenim u Nacionalnom parku Krka (2012-2013).



**Ime i prezime mentora:** Martina Podnar Lešić

**Matični broj znanstvenika:** 235332

**URL za web CROSBİ:** <https://bib.irb.hr/lista-radova?autor=235332>

**Radno mjesto:** viša kustosica u Hrvatskom prirodoslovnom muzeju (HPM)

**Obrazovanje, usavršavanje i zaposlenje:**

1995 - Diplomirani inženjer biologije, smjer Molekularna biologija, PMF, Sveučilište u Zagrebu; 2000 - Magistra znanosti, polje Biologija, grana Molekularna i stanična biologija, PMF, Sveučilište u Zagrebu; 2005 - Doktorica znanosti, polje Biologija, PMF, Sveučilište u Zagrebu; 1996-1997 mlađa asistentica, Institut Ruđer Bošković, 1997- danas - zaposlena u Hrvatskom prirodoslovnom muzeju, Zagreb (1997-2011 kao znanstveni novak, 2011-2013 kao kustosica, 2014 – danas kao viša kustosica; Zbirka tkiva za genetičke analize).

**Organizacijske i nastavne aktivnosti:**

Predavačica kolegija Molekularna arheogenetika na Odsjeku za etnologiju i kulturnu antropologiju (od 2017. do danas), Filozofski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Predavačica u sklopu Metodoloških tečajeva u biologiji i medicini Instituta Ruđer Bošković (metode: molekularna filogenija (2009-2012)); Predavačica i nositeljica kolegija Molekularna evolucija, doktorski studij biologije, PMF, Sveučilište u Zagrebu (od 2011. do danas); Gost predavač u okviru kolegija "Osnove molekularne ekologije" - PMF (2012, 2016).

**Sudjelovanje u znanstvenim projektima:**

Od 2017. do danas na dva projekta: „DNA barkodiranje bioraznolikosti hrvatske faune“ (HRZZ: 9988) te „Klimatske promjene i invazivne vrste – utvrđivanje utjecaja na bioraznolikost nativnih slatkovodnih rakova i pastrva i njihova konzervacija“ (HRZZ: 2563). 2007-2013: “Biologija ugroženih i endemičnih životinjskih vrsta Hrvatske” (MZOŠ: 183-1193080-0831) 2002-2006; “Biologija indikatorskih vrsta ugroženih staništa” (Ministarstvo znanosti i tehnologije: 0183007); 1997-2001: “Fauna hrvatskih otoka Jadrana” (Ministarstvo znanosti i tehnologije, šifra: 0183005).

**Usavršavanje, stručnim tečajevi i radionice:**

2000-2002: 18-mjesečni studijski boravak u Laboratoriju za molekularnu sistematiku Prirodoslovnog muzeja u Beču, Austrija. 2011. Radionica: “Molecular phylogeny and microevolution in rodents” (Prirodoslovni muzej u Beču)

**Nagrade i stipendije:** 2006. Nagrada “Željko Trgovčević” za mlade istraživače u području molekularne biologije (Hrvatsko genetičko društvo), 2010. Synthesys -The European Union - funded Integrated Activities Grant (TAF-A, prirodoslovni muzej u Beču).

**Akademski doprinos i znanstveni interes:**

Područje znanstvenog interesa je molekularna sistematika, filogenija, filogeografija, konzervacijska genetika i molekularna sistematika s naglaskom na filogeniju i filogeografiju gušterica iz porodice Lacertidae. Sudjelovala je u filogenetskim i filogeografskim istraživanjima brojnih životinjskih vrsta (beskralježnjaka i kralježnjaka) uključujući slatkovodne rakove i školjkaše, ribe, voluharice i šišmiše.

## Sadržaj

1. UVOD .....	1
1.1. Svrha i ciljevi rada .....	1
1.2. Polazna hipoteza .....	2
2. LITERATURNI PREGLED .....	3
2.1. Red Trichoptera .....	3
2.1.1. Rasprostranjenost i brojnost tulara .....	4
2.1.2. Životni ciklus tulara .....	39
2.1.3. Morfološke značajke tulara .....	40
2.1.4. Filogenija i sistematika tulara .....	44
2.2. Metoda DNA barkodiranja .....	49
2.2.1. Operativne taksonomske jedinice i definiranje genetske udaljenost za DNA barkod regiju .....	51
2.3. DNA barkodiranje komplementira filogenetska i taksonomska istraživanja – primjeri na istraživanju tulara .....	54
3. MATERIJALI I METODE .....	4
3.1. Područje istraživanja.....	4
3.2. Morfološka analiza i određivanje .....	11
3.3. Molekularno genetičke laboratorijske metode i materijali .....	13
3.3.1. Izolacija genomske DNA .....	13
3.3.2. PCR (Lančana reakcija polimeraze) i korištene početnice.....	14
3.3.3. Elektroforetsko odjeljivanje fragmenata DNA .....	16
3.3.4. Određivanje primarne strukture DNA (sekvenciranje) .....	17
3.4. Analiza i obrada podataka .....	17
3.4.1. Bioinformatičke analize .....	17
3.4.2. Odabrane nove i taksonomski specifične svojte tulara u Hrvatskoj – setovi podataka i bioinformatičke analize .....	21

4.	REZULTATI.....	63
4.1.	Nove i taksonomski specifične vrste u fauni tulara Hrvatske .....	63
4.1.1.	Nova vrsta za Hrvatsku iz roda <i>Tinodes</i> Curtis, 1834.....	63
4.1.2.	Nove vrste za Hrvatsku iz roda <i>Adicella</i> McLachlan, 1877.....	67
4.1.3.	Potvrda nalaza rijetke vrste <i>Trichostegia minor</i> (Curtis, 1834).....	69
4.1.4.	Određivanje malih vrsta i potvrda novih vrsta za Hrvatsku iz porodice Hydroptilidae.....	72
4.1.5.	Taksonomski specifične vrste u fauni Hrvatske <i>Micropterna wagneri</i> Malicky, 1971 i <i>Micropterna fissa</i> McLachlan, 1875 .....	82
4.1.6.	Taksonomski specifične vrste iz roda <i>Rhyacophila</i> Pictet, 1834.....	86
4.1.1.	Filogenetski odnosi vrsta roda <i>Chaetopteryx</i> Stephens, 1829 prisutnih u Hrvatskoj .....	94
4.1.2.	Osvrt na vrste iz roda <i>Potamophylax</i> Wallengren, 1891 u Hrvatskoj.....	98
4.1.3.	Taksonomski status podvrste <i>Triaenodes ochreellus lefkas</i> , Malicky 1974 ....	104
4.1.4.	Potencijalno nova vrsta za znanost <i>Agapetus</i> cf. <i>fuscipes</i> .....	106
4.2.	Povezivanje mužjaka i ženki metodom DNA barkodiranja .....	109
4.2.1.	Povezivanje mužjaka i ženki vrste <i>Lepidostoma basale</i> Kolenati 1848 .....	109
4.2.2.	Povezivanje mužjaka i ženki vrste <i>Rhyacophila schmidinarica</i> Urbanič, Krušnik & Malicky 2000 .....	111
4.2.3.	Povezivanje mužjaka i ženki <i>Hydropsyche angustipennis</i> Curtis 1834 i potvrda nove vrste <i>Hydropsyche bulbifera</i> McLachlan, 1878 u fauni Hrvatske.....	113
4.3.	Povezivanje odraslog i ličinačkog stadija metodom DNA barkodiranja.....	115
4.3.1.	Povezivanje odraslog i ličinačkog stadija vrste <i>Glossosoma discophorum</i> Klapalek, 1902 .....	115
4.4.	Otkrivanje kriptičnih vrsta metodom DNA barkodiranja.....	119
4.4.1.	Otkrivanje kriptičnih vrsta roda <i>Diplectrona</i> Westwood, 1839.....	119
4.5.	Filogenetski odnosi tulara u Hrvatskoj na temelju DNA barkoda.....	130
5.	RASPRAVA.....	140

5.1.	Nove i taksonomski specifične vrste u fauni tulara Hrvatske .....	142
5.1.1.	Nove vrste za Hrvatsku iz roda <i>Tinodes</i> Curtis, 1834.....	142
5.1.2.	Nove vrste za Hrvatsku iz roda <i>Adicella</i> McLachlan, 1877.....	143
5.1.3.	Potvrda nalaza rijetke vrste <i>Trichostegia minor</i> (Curtis, 1834).....	144
5.1.4.	Određivanje malih vrsta i potvrda novih vrsta za Hrvatsku iz porodice Hydroptilidae.....	146
5.1.5.	Taksonomski specifične vrste u fauni Hrvatske <i>Micropterna wagneri</i> Malicky, 1971 i <i>Micropterna fissa</i> McLachlan, 1875 .....	154
5.1.6.	Taksonomski specifične vrste iz roda <i>Rhyacophila</i> Pictet, 1834.....	158
5.1.7.	Filogenetski odnosi vrsta roda <i>Chaetopteryx</i> Stephens, 1829 prisutnih u Hrvatskoj .....	164
5.1.8.	Osvrt na vrste iz roda <i>Potamophylax</i> Wallengren, 1891 u Hrvatskoj .....	166
5.1.9.	Taksonomski status podvrste <i>Triaenodes ochreellus lefkas</i> , Malicky 1974 ....	171
5.1.10.	Potencijalno nova vrsta za znanost iz roda <i>Agapetus</i> Curtis, 1834 .....	173
5.2.	Povezivanje mužjaka i ženki metodom DNA barkodiranja .....	175
5.2.1.	Povezivanje mužjaka i ženki vrste <i>Lepidostoma basale</i> Kolenati 1848 .....	175
5.2.2.	Povezivanje mužjaka i ženki vrste <i>Rhyacophila schmidinarica</i> Urbanič, Krušnik & Malicky 2000 .....	176
5.2.3.	Povezivanje mužjaka i ženki <i>Hydropsyche angustipennis</i> Curtis 1834 i potvrda nove vrste <i>Hydropsyche bulbifera</i> McLachlan, 1878 u fauni Hrvatske.....	177
5.3.	Povezivanje odraslog i ličinačkog stadija, metodom DNA barkodiranja.....	179
5.3.1.	Povezivanje odraslog i ličinačkog stadija vrste <i>Glossosoma discophorum</i> Klapalek, 1902 .....	179
5.4.	Otkrivanje kriptičnih vrsta metodom DNA barkodiranja.....	182
5.4.1.	Otkrivanje kriptičnih vrsta roda <i>Diplectrona</i> Westwood, 1839.....	182
5.5.	Filogenetski odnosi tulara u Hrvatskoj na temelju DNA barkoda.....	187
5.5.1.	Filogenetski odnosi tulara u Hrvatskoj na temelju DNA barkoda .....	187
6.	ZAKLJUČAK .....	191

7.	LITERATURA.....	193
8.	PRILOZI.....	229
9.	ŽIVOTOPIS .....	306

## POPIS KRATICA

16S, 28S rRNA - mitohondrijski kodirana komponenta velike podjedinice (eng. LSU -large subunit ribosomalne RNA)

ABGD - eng. Automatic Barcode Gap Discovery

BA - Bayesian analiza (eng. Bayesian analysis)

BIC - eng. Bayesian information criterion

BIN - Barcode indeks number

BOLD - eng. The Barcode of Life Data System

BPP - Bayesian posteriorna vjerojatnost (eng. Bayesian posterior probabilities)

CAD - karbamoil fosfat sinteza, gen (eng. Carbamoyl-Phosphate Synthetase 2)

CPSase - karbamoil fosfat sinteza, enzim (eng. Carbamoyl-Phosphate Synthetase)

COI - podjedinica 1 citokrom C oksidaze (eng. cytochrome oxidase subunit I)

COII - podjedinica 2 citokrom oksidazu (eng. cytochrome oxidase subunit II)

CBOL - eng. Consortium for the Barcode of Life

CROBF - projekt u BOLD bazi, dio projekta „DNA barkodiranje bioraznolikosti Hrvatske“ faune

CROTR - podprojekt projekta CROBF u BOLD bazi, dio projekta „DNA barkodiranje bioraznolikosti Hrvatske“

D1, D2, D3 rRNA - djelovi velike podjedinice ribosomalne RNA

DNA - deoksiribonukleinska kiselina

DNAqua-Net - EU Cost Action for developing new genetic tools for bioassessment of aquatic ecosystems in Europe

eDNA metabrkođing - okolišno DNA barkodiranje (eng. environmental DNA barcoding)

EF-1 $\alpha$  - elongacijski faktor 1 $\alpha$  (eng. elongation factor 1 alpha)

EPT - Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera

ER - ekoregija

GBIF - eng. Global Biodiversity Information Facility

GR - gorska regija prema Bertić (2001).

iBOL - eng. International Barcode of Life Project

ID - identification number

IDH - izocitrat dehidrogenaza, enzim (eng. Isocitrate dehydrogenase 1)

K2P - korigirane genetske udaljenosti (eng. corrected distances, Kimura two-parameter distance)

mtDNA - mitohondrijska DNA

MOTUS - operativne molekularne taksonomske jedinice (eng. molecular operational taxonomic units)

MP - metoda najveće štedljivosti (eng. maximum parsimony)

ML - metoda najveće vjerojatnosti (eng. maximum likelihood)

MR - mediteranska regija prema Bertić (2001).

NCBI - eng. National Center for Biotechnology Information

NIP - eng. EU Natura 2000 Integration Project

NJ - metoda susjednog sparivanja (eng. neighbor joining)

OTU- operativne taksonomske jedinice (eng. operational taxonomic units)

p-distance -nekorigirane udvojene genetske udaljenosti, PD (eng. p uncorrected pairwise distance)

pb - parova baza

POL (I, II) - RNA polimeraza (I, II)

PCR - lančana reakcija polimerazom (eng. polymerase chain reaction)

PPR - planinska regija prema Bertić (2001).

RNA - ribonukleinska kiselina

rRNA - ribosomalna RNA

RP2 - enzim za polimerazu ribonukleinske kiseline 2

RaxML - eng. Randomized Axelerated Maximum Likelihood

tRNA - transfer ribonukleinska kiselina

UV - ultraljubičasto

wg - gen, eng. wingless

# 1. UVOD

## 1.1. Svrha i ciljevi rada

Tulari, red Trichoptera Kirby, 1813 pripadaju holometabolnim kukcima koji tokom životnog ciklusa prolaze potpunu preobrazbu. S taksonomskog stajališta velika morfološka razlika pojedinih životnih stadija predstavlja izazov za određivanje i potrebu za većim brojem ključeva za određivanje. Dodatan problem kod određivanja tulara predstavlja značajan broj taksonomski neopisanih primjeraka ženki poznatih vrsta. Kod beskralježnjaka, pa tako i tulara ponekad je nemoguće prepoznati vrstu koristeći samo morfološke značajke. Kako se tulari koriste kao biološki element kakvoće u monitoringu ekološkog stanja površinskih voda postoji velika potreba za brzim i točnim određivanjem vrsta unutar ove skupine. Tulari su skupina kukaca koji u svojem životnom ciklusu koriste slatkovodna i kopnena staništa te tako predstavljaju važnu kariku u prijenosu energije i trofičkoj dinamici između ta dva staništa (Resh i Rosenberg 1984). Uz dvokrilce, najveći su red vodenih kukaca. Nastanjuju gotovo sva vodena staništa, od visokoplaninskih izvora, do nizinskih rijeka, potoka i jezera, na svim kontinentima osim Antarktike (Morse 2003, Graf i sur. 2008). Tako su tulari čest predmet ekoloških istraživanja koja nameću potrebu za novom metodologijom koja će olakšati i ubrzati proces određivanja vrsta. Iako je znanje o raznolikosti, rasprostranjenosti i ekologiji faune tulara u Republici Hrvatskoj napredovalo u posljednjih 20 godina, ova skupina beskralježnjaka nije u potpunosti istražena. Postoji mali broj stručnjaka - taksonoma specijaliziranih za određivanje tulara. Metodologija DNA barkodiranja predložena je 2003. godine kao univerzalni sistem za određivanje biološkog materijala u smislu određivanja vrste, ali također i kao oruđe za otkrivanje novih tzv. kriptičnih vrsta koje se ne mogu međusobno razlikovati na temelju morfoloških karakteristika (Hebert i sur. 2003). Pri tome se određuje slijed nukleotida standardiziranog fragmenta mitohondrijskog gena za podjedinicu jedan citokrom oksidaze (*COI*) duljine oko 650 pb. Ideja ovog rada je uz tradicionalne, taksonomske metode, korištenjem metode DNA barkodiranja obogatiti dosadašnja znanja o raznolikosti i rasprostranjenosti tulara Hrvatske. Osim toga, svrha je i testirati primjenjivost molekularnih metoda, prvenstveno DNA barkodiranja, na rasvjetljavanje filogenetskih odnosa ovog reda u Hrvatskoj. Duljina odabranog *COI* fragmenta je dovoljno velika da prikaže genetsku varijaciju između vrsta i dovoljno mala da se može lako i jeftino analizirati. Također, mala duljina DNA barkod regije omogućuje njenu amplifikaciju iz degradirane



DNA što omogućuje analizu materijala iz tradicionalnih muzejskih zbirki. Filogenetska informacija sadržana u DNA barkod regiji dovoljna je da omogući svrstavanje nepoznatog uzorka u poznatu vrstu ili skupinu srodnih vrsta kroz filogenetsku analizu (Valentini i sur. 2008). Metoda je uspješno zaživjela u znanstvenoj zajednici što je rezultiralo brojnim međunarodnim inicijativama kao što je npr. International Barcode of Life (iBOL) koja obuhvaća članice organizacija sa svih kontinenata (preko 150 zemalja) uključujući brojne institute, sveučilišta i prirodoslovne muzeje. Ideja ovog rada je upotpuniti javno dostupnu bazu BOLD - The Barcode of Life Data System, koja predstavlja svjetsku bazu DNA barkodova (carstva Animalia, Plantae, Fungi, Protista) s primjercima DNA barkoda tulara iz Hrvatske te ih usporediti s postojećim DNA sekvencama tulara u bazi. S obzirom na gore navedeno, cilj ovog rada je u najvećoj mogućoj mjeri DNA barkodirati faunu tulara Hrvatske.

## 1.2. Polazna hipoteza

1. DNA barkodiranje ukazat će na prisustvo novih ili ranije nezabilježenih, kriptičnih vrsta tulara ili dugotrajno izolirane genetske linije unutar poznatih vrsta čime će se popuniti praznine u postojećoj inventarizaciji biološke raznolikosti tulara.
2. DNA barkodiranje omogućit će precizno određivanje vrsta koje nije bilo moguće morfološki odrediti.
3. DNA barkodiranje omogućit će povezivanje odraslih i ličinačkih stadija kao i povezivanje mužjaka i ženki vrsta kod kojih nisu opisane morfološke dijagnostičke značajke za jedan od razvojnih stadija odnosno spolova.
4. DNA barkodiranje unaprijediti će analizu makrozoobentosa (omogućiti će primjenu novih DNA metodologija u praćenju stanja slatkovodnih ekosustava, pomoći će u izradi determinacijskih ključeva).

## 2. LITERATURNI PREGLED

### 2.1. Red Trichoptera

Red Trichoptera uspostavio je 1813 Kirby davši im ime koje u prijevodu znači dlakava krila (grč. trichos - dlaka, pteron - krila) referirajući se na krila odraslih jedinki. Pretpostavlja se da hrvatski naziv tulari potječe od kućica u obliku tuljaca koje oblikuju ličinke. Pripadaju skupini holometaboličnih kukaca što znači da tokom životnog ciklusa prolaze potpunu preobrazbu. Dio njihovog razvojnog ciklusa odvija se u vodi u kojoj žive stadiji jajašca, ličinke i kukuljice, dok odrasli oblik (imago) živi na kopnu. U slatkovodnim ekosustavima predstavljaju jednu od najraznovrsnijih i najbrojnijih skupina kukaca (Holzenthal i sur. 2007). Uloga tulara u hranidbenom lancu slatkovodnih ekosustava je značajna jer predstavljaju hranu velikog broja riba, vodozemaca, gmazova, ptica i šišmiša (Wiggins 2004). Zbog povezanosti sa specifičnim uvjetima staništa i osjetljivosti na onečišćenje, tulari predstavljaju jednu od ključnih bioindikatorskih skupina u procjeni ekološkog stanja različitih slatkovodnih staništa, kao i promjena u zajednicama (Graf i sur. 2008). Tulari, uz vretenca (Odonata), vodencvjetove (Ephemeroptera), obalčare (Plecoptera) i dvokrilce (Diptera), čine glavninu kukaca makrozoobentosa slatkovodnih staništa. Biomonitoring slatkovodnih ekosustava zahtijeva korištenje spoznaja iz različitih područja znanosti odnosno interdisciplinarni pristup. Podrazumijeva korištenje monitoringa vrsta, populacija i zajednica koristeći ekološke, fiziološke i molekularne tehnike kako bi se prikupile informacije o stanju ekosustava koji je pod utjecajem čovjeka (Rosenberg i Resh 1993). Gospodarenje slatkovodnim ekosustavom, odnosno površinskim, podzemnim prijelaznim i priobalnim vodama u Hrvatskoj se provodi kroz Zakon o vodama (ZOV) (Narodne novine - NN br. 53/09, 63/11, 130/11, 56/13, 14/14, 46/18) i Uredbu o standardu kakvoće vode (NN 73/13, 151/14, 78/15 i 61/16, 80/18). U ove zakone su uvrštene odredbe temeljnog dokumenta gospodarenja slatkovodnim ekosustavima u Europskoj uniji – Okvirne direktive o vodama (eng. Water Framework Directive, 2000). Tako je Hrvatska, kao i druge zemlje Europske unije, obavezna pratiti biološku kakvoću slatkovodnih ekosustava. Unutar praćenja bioloških elemenata kakvoće makrozoobentosa koristi se EPT indeks, odnosno udio predstavnika skupina: vodencvjetova (Ephemeroptera), obalčara (Plecoptera) i tulara (Trichoptera). Kako bi odredili EPT indeks potrebno je točno određivanje svake od skupina do najniže moguće taksonomske razine. Određivanje ličinki

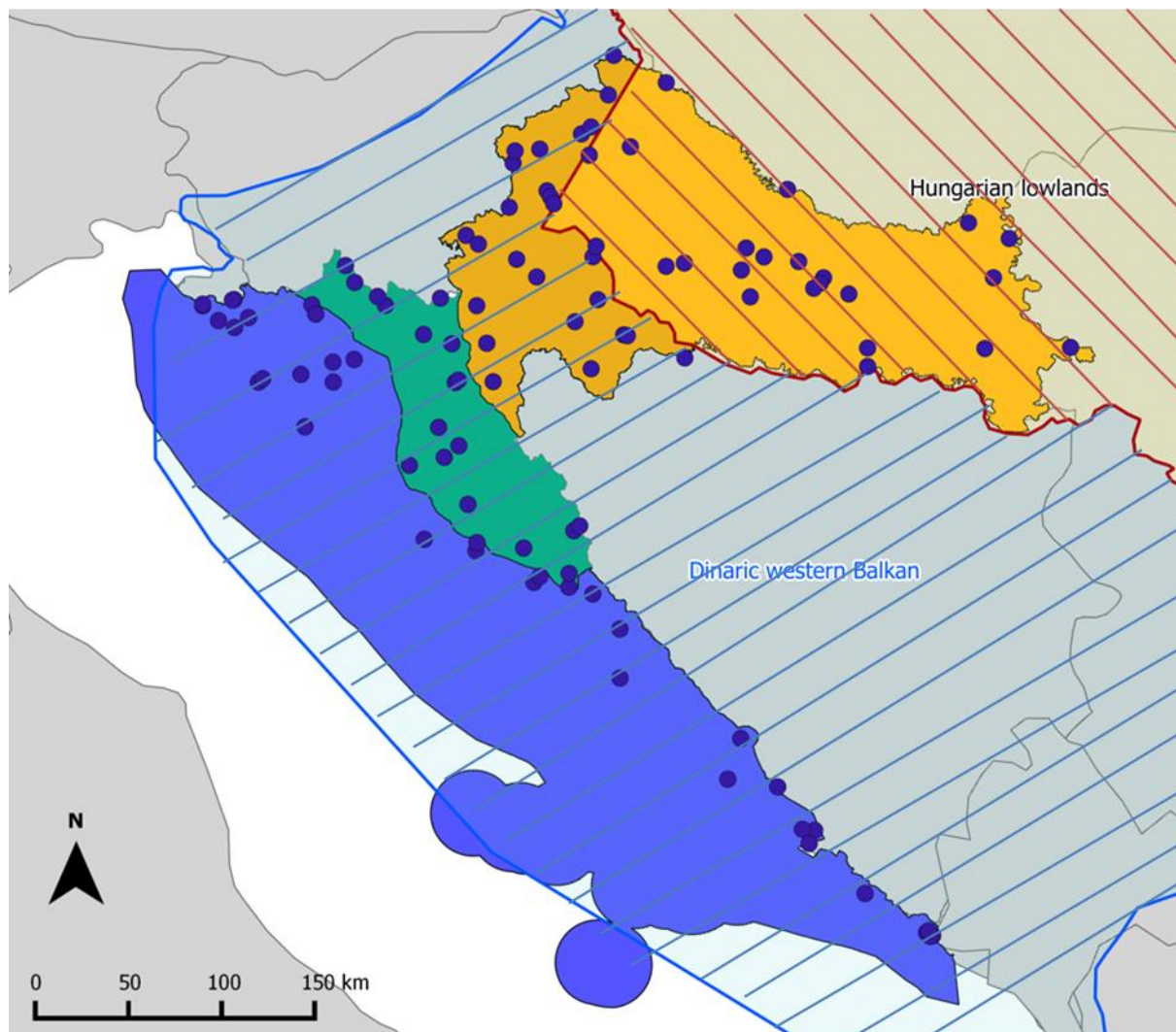
tulara ne daje uvijek dovoljno točne rezultate. Postoje vrste koje se u tom razvojnem stadiju ne mogu uvijek sigurno i točno odrediti, čak i uz upotrebu najbolje literature i dugogodišnje iskustvo (Malicky 2004), dok je kod odraslih određivanje moguće do razine vrste. Kod odraslih tulara genitalni aparat mužjaka ima bolje definirane strukture i omogućuje najtočnije određivanje, dok je kod ženki unutar istog roda moguće da su genitalne strukture identične. Stoga je kod pojedinih rodova određivanje ženki znatno otežano (kao npr. kod rodova *Wormaldia*, *Glossosoma*, *Hydropsyche*, *Tinodes*) ili nije moguća (kao npr. kod rodova *Agapetus*, *Hydroptila*, *Hydropsyche*, *Synagapetus*) (Malicky 2004). Iz tog razloga postoji veći broj ključeva za imago i opisanih mužjaka, nego što je slučaj s ličinkama, kukuljicama i ženkama.

### 3. MATERIJALI I METODE

#### 3.1. Područje istraživanja

Prikupljanje tulara u razdoblju od 2014. do 2018. godine provedeno je na 177 odabranih lokaliteta na području cijele Hrvatske (Tablica 1). Navedeni lokaliteti predstavljaju lokacije uzorkovanja, no nije iz svih prikupljenih uzoraka izolirana DNA. Odabrani su lokaliteti predstavljali razna vodena staništa (velike i male rijeke, potoci, jezera; izvori, srednji i donji tok) u različitim dijelovima Hrvatske (Slika 1). Odabrani lokaliteti posjećeni su 3 puta godišnje u sljedećim sezonama: proljetni period (ožujak-svibanj), ljetni period (lipanj-kolovoz), jesenski period (rujan-listopad). U radu je uzeta podjela ekoregija prema Illies (1967, 1978) koja je uobičajena kod europskih limnologa. Prema Illies (1967, 1978) Hrvatska se nalazi u dvije ekoregije: ER 5. Dinarski zapadni Balkan (eng. Dinaric Western Balkan) i ER 11. Panonske nizine (eng. Hungarian lowlands) (Slika 1). Također je korištena i geografska podjela prema Bertić i sur. (2001) na: panonsko-peripanonsku (PPR), planinsku, gorsku (GR) i mediteransku regiju (MR) kako bi rezultati bili usporedivi s postojećim istraživanjima tulara u Hrvatskoj koji koriste navedenu podjelu (Slika 1). Dio terenskih prikupljanja uzoraka bio je usmjeren na prikupljanje vrsta koje su poznate za faunu Hrvatske, ali nisu prikupljene redovitim odlascima na teren. Stoga su se posjetili tipski lokaliteti (*locus typicus*) za određene svojte. Tipski lokalitet označava lokalitet na kojem su prikupljeni primjerci koji su poslužili opisu nove svojte (npr. Plitvička jezera su tipski lokalitet za

podvrstu *Rhyacophila dorsalis plitvicensis*). Kartografski prikazi u ovom radu kreirani su korištenjem programa Qgis.



Slika 1. Prikaz Hrvatske s lokalitetima prikupljanja uzoraka (označeno točkama), te podjela na geografske regije prema Bertić i sur. (2001) (plava = mediteranska regija, zelena = gorska regija, narančasta = panonsko-peripanonska regija) i ekoregijama prema Illies (1967,1978) (ER5 = plavo polje s plavim linijama, ER11 = smeđe polje s crvenim linijama).

Tablica 1. Popis lokacija na kojima su prikupljeni uzorci s koordinatama (lat i log) i pripadajućom geografskom regijom prema Bertić i sur. (2001) i ekoregijama prema Illiesu (1967, 1978).

	Lokalitet	Illies	Bertić	Lat	Log
1.	jezero Butoniga	ER5	MR	45.33353	13.92393
2.	jezero Crna Mlaka	ER5	PPR	45.60946	15.72417
3.	jezero Kutu -Badžule	ER5	MR	42.95550	17.61194

Tablica 1. Popis lokacija na kojima su prikupljeni uzorci s koordinatama (lat i log) i pripadajućom geografskom regijom prema Bertić i sur. (2001) i ekoregijama prema Illesu (1967, 1978).

	Lokalitet	Ilies	Bertić	Lat	Log
4.	jezero na Jankovcu - dom na Jovanovici, Papuk	ER11	PPR	45.51875	17.68616
5.	potok Jankovac (gornji tok) - zapadno od Orahovca, Papuk	ER11	PPR	45.54677	17.70636
6.	jezero Njivice - otok Krk	ER5	MR	45.17510	14.56077
7.	jezero Ponikve - otok Krk	ER5	MR	45.07511	14.56783
8.	jezero Ričice	ER5	GR	44.31891	15.78087
9.	jezero Veliko Blato - otok Pag	ER5	MR	44.36133	15.14679
10.	jezero Vransko jezero - otok Cres	ER5	MR	44.85475	14.39545
11.	lokva Beli - otok Cres	ER5	MR	45.11417	14.34851
12.	Pašin potok - Mečenčani	ER5	MR	45.28238	16.43015
13.	Pašina vrela - iznad sela Mečenčani	ER5	MR	45.28936	16.42339
14.	potok Bistra (srednji tok) - Bistra, Medvednica	ER5	PPR	45.93647	15.93040
15.	potok Bliznec (srednji tok) - javna ustanova PP Medvednica	ER5	PPR	45.87790	15.97634
16.	potok Crkveni jarak (srednji tok)	ER11	PPR	45.62616	15.31290
17.	potok Donja Rašenica (izvor) - Grubišno polje	ER11	PPR	45.67013	17.21983
18.	potok Dubračina (donji tok)-Tribalj	ER5	MR	45.18100	14.69631
19.	potok Glogovica (izvor) - Glogovica, Dilj gora	ER11	PPR	45.22757	17.98672
20.	potok Glogovnica (izvor) - Kalnik	ER11	PPR	46.12975	16.55683
21.	potok Jelenska (gornji tok) - Gornja Jelenska	ER11	PPR	45.59768	16.69643
22.	potok Konavočica (izvor) – Vodovođe, Palje, Konavle	ER5	MR	42.51763	18.42215
23.	potok Konavočica (srednji tok) - Palje, Konavle	ER5	MR	42.51433	18.41553
24.	Konavle izvor Vrelo	ER5	MR	42.63289	18.19673
25.	Konavle, Pridvorje	ER5	MR	42.54532	18.34713
26.	potok Mlini (izvor)	ER5	MR	45.45257	13.92448
27.	potok Mlini (srednji tok) - Ugrini	ER5	MR	45.44619	13.92388
28.	potok Peratovica (izvor) - V. Peratovica, Bilogora	ER11	PPR	45.76341	17.31431
29.	potok Peratovica (srednji tok) - Bilogora	ER11	PPR	45.70927	17.23127
30.	potok pritok Cetine (gornji tok) - Civljane	ER5	MR	43.94781	16.40143
31.	potok Rakov potok (izvor) - Medvednica	ER5	PPR	45.93406	15.98197
32.	potok Roč (izvor) - Marušići	ER5	MR	45.42331	13.72946
33.	potok Roč-Marušić - srednji tok kod Mosta	ER5	MR	45.42287	13.72803
34.	potok Štirovača (gornji tok, izvor) - srednji Velebit	ER5	GR	44.69808	15.04992
35.	potok Šumi (izvor) – Ivančica	ER5	PPR	46.18884	16.15777
36.	potok Trsteno - Trsteno	ER5	MR	42.71332	17.97793
37.	potok Velika Paklenica (donji tok) - Anića kuk, Velebit	ER5	MR	44.30919	15.47926
38.	potok Velika Paklenica (srednji tok) - Borisov dom, Velebit	ER5	MR	44.34557	15.48262
39.	potok Vrba (izvor) - Muć	ER5	MR	43.72087	16.40175
40.	potok Vrutak (izvor) - Gornja Podgora	ER5	MR	43.24933	17.08480
41.	potok Žbiljski potok (srednji tok) - nizvodno od Žbilja	ER5	PPR	46.11356	15.72579
42.	potok Zeleni Vir (izvor)	ER5	GR	45.42289	14.89573

Tablica 1. Popis lokacija na kojima su prikupljeni uzorci s koordinatama (lat i log) i pripadajućom geografskom regijom prema Bertić i sur. (2001) i ekoregijama prema Illesu (1967, 1978).

	Lokalitet	Illies	Bertić	Lat	Log
43.	rijeka Baranjska Karašica (donji tok) - Popovac	ER11	PPR	45.79171	18.63281
44.	rijeka Bednja - Ivanečka Železnica, Ivanec	ER5	PPR	46.21884	16.21340
45.	rijeka Bosut (donji tok) - lokacija na cesti Rokovci - Andrijaševci	ER11	PPR	45.22795	18.73942
46.	rijeka Butišnica (srednji tok) - Golubić (uzvodno)	ER5	MR	44.11094	16.22735
47.	rijeka Čabranka (donji tok, ušće)	ER5	PPR	45.52566	14.69947
48.	rijeka Čabranka (izvor) - Čabar	ER5	GR	45.60104	14.64079
49.	rijeka Čabranka - most nizvodno od Čabra	ER5	GR	45.59241	14.65096
50.	rijeka Čabranka - nizvodno od Mandli	ER5	GR	45.55587	14.69314
51.	rijeka Cetina - Mrtvaja, Totići, Sinjsko polje	ER5	MR	43.65655	16.73205
52.	rijeka Cetina, kanal Brkljača - Sinjsko polje	ER5	MR	43.63441	16.74053
53.	rijeka Cetina - Rumin, Vrilo, Mali Rumin	ER5	MR	43.77979	16.65660
54.	rijeka Cetina – Čikotina lađa	ER5	MR	43.53301	16.74463
55.	rijeka Cetina – Radmanove Mlinice	ER5	MR	43.53301	16.74463
56.	rijeka Drava - Nemetin	ER11	PPR	45.54310	18.77929
57.	rijeka Drava (srednji tok) - Gornji Hrašćan	ER5	PPR	46.34733	16.33361
58.	rijeka Drava (srednji tok) - Terezino Polje	ER11	PPR	45.94127	17.47603
59.	rijeka Dretulja (izvor)	ER5	GR	45.07462	15.34285
60.	rijeka Dretulja (srednji tok) - Plaški	ER5	GR	45.08003	15.32687
61.	rijeka Dunav - Zlatna Greda	ER11	PPR	45.72272	18.89766
62.	rijeka Dunav (srednji tok) - Šarengrad	ER11	PPR	45.23441	19.28276
63.	rijeka Gacka (izvor) - Tonkovića vrilo	ER5	GR	44.78813	15.36709
64.	rijeka Gacka (izvor) - Majerovo vrilo	ER5	GR	44.81471	15.3588
65.	rijeka Gacka (srednji tok) - Otočac	ER5	GR	44.86174	15.23327
66.	rijeka Korana (srednji tok) - Veljun	ER5	PPR	45.25267	15.54611
67.	rijeka Krapina (srednji tok) - Krapina Selo	ER5	PPR	46.07230	16.20007
68.	rijeka Korana - Bogovolja	ER5	PPR	45.06581	15.73413
69.	rijeka Krapinjšica (srednji tok) –Velika Ves	ER11	PPR	46.11985	15.88531
70.	rijeka Krupa (donji tok) - Manastir	ER5	MR	44.19010	15.88937
71.	rijeka Kupa (donji tok) - Brest	ER5	PPR	45.44606	16.26450
72.	rijeka Kupa (donji tok) - Jamnička Kiselica	ER5	PPR	45.54714	15.85891
73.	rijeka Kupa (gornji tok) - Brod na Kupi	ER5	PPR	45.46203	14.85570
74.	rijeka Kupa (srednji tok) - Pribanjci	ER5	GR	45.46125	15.26577
75.	rijeka Kupčina (izvor, gornji tok) - Žumberak	ER5	PPR	45.73623	15.41461
76.	rijeka Kupčina (srednji tok) - Kostanjevac, Žumberak	ER5	PPR	45.70267	15.48455
77.	rijeka Lika – izvor	ER5	GR	44.42618	15.54100
78.	rijeka Lika (gornji tok) - Kosinj	ER5	GR	44.73540	15.27411
79.	rijeka Lika (srednji tok) - Bilaj	ER5	GR	44.51490	15.42327
80.	rijeka Ljuta (izvor) - Konavle	ER5	MR	42.53966	18.37984

Tablica 1. Popis lokacija na kojima su prikupljeni uzorci s koordinatama (lat i log) i pripadajućom geografskom regijom prema Bertić i sur. (2001) i ekoregijama prema Illesu (1967, 1978).

	Lokalitet	Illies	Bertić	Lat	Log
81.	rijeka Ljuta (srednji tok) - Konavle	ER5	MR	42.53390	18.37822
82.	rijeka Maja- Glina	ER5	PPR	45.34614	16.10924
83.	rijeka Matica (srednji tok) - Vrgorac	ER5	MR	43.17546	17.38640
84.	rijeka Mirna - Kotli	ER5	MR	45.36817	14.01761
85.	rijeka Mirna - Livade	ER5	MR	45.35406	13.83109
86.	rijeka Mislina (donji tok) - Mlinište	ER5	MR	42.99231	17.61362
87.	rijeka Mrežnica – Belavići	ER5	PPR	45.41223	15.47848
88.	rijeka Mura (donji tok) - Goričan	ER11	PPR	46.40518	16.70370
89.	rijeka Mura (skela) - Sveti Martin na Muri	ER5	PPR	46.52811	16.37190
90.	rijeka Neretva (donji tok) - Opuzen	ER5	MR	43.02209	17.55640
91.	rijeka Odra (donji tok) - livade Selce	ER5	PPR	45.64107	16.22615
92.	rijeka Pakra - Kusunje	ER11	PPR	45.45717	17.22600
93.	rijeka Raša - Izvor Grdak	ER5	MR	45.09260	14.01831
94.	rijeka Raša (srednji tok) - dolina Raše	ER5	MR	45.08192	14.03024
95.	rijeka Riječina (izvor)	ER5	MR	45.42199	14.42127
96.	rijeka Riječina (srednji tok) - Drastin	ER5	MR	45.37853	14.44914
97.	rijeka Rijeka - Bastaji, Papuk	ER11	PPR	45.63656	17.31619
98.	potok Škodinovac - Bastaji	ER11	PPR	45.66388	17.33289
99.	rijeka Sava - Drenje Brdovečko	ER11	PPR	45.86144	15.68711
100.	rijeka Sava (srednji tok) - Orle	ER11	PPR	45.68708	16.24706
101.	rijeka Sava (srednji tok) - Slavonski Brod	ER11	PPR	45.11492	17.96371
102.	rijeka Slunječica (izvor)	ER5	PPR	45.07964	15.58925
103.	rijeka Sutla (srednji tok) - Zelenjak, Kumrovec	ER5	PPR	46.05928	15.71507
104.	rijeka Toplica (srednji tok) - Batinjani, Daruvar	ER11	PPR	45.60923	17.27930
105.	rijeka Tounječica (izvor)	ER5	GR	45.24844	15.32317
106.	rijeka Una (donji tok) - Hrvatska Dubica	ER5	PPR	45.19111	16.78692
107.	rijeka Una (gornji tok) - Srb	ER5	GR	44.41922	16.13499
108.	rijeka Una (izvor)	ER5	GR	44.39934	16.10382
109.	rijeka Veličanka - uzvodno od Požege	ER11	PPR	45.49104	17.64883
110.	rijeka Velika rijeka (Kutjevačka rijeka) (izvor) - Krndija	ER11	PPR	45.47447	17.86741
111.	rijeka Vitunječica (izvor) - Vitunj	ER5	GR	45.29117	15.14049
112.	rijeka Voćnska (izvor) - Voćin	ER11	PPR	45.61943	17.54401
113.	rijeka Vrljika (izvor) - Proložac, Imotski	ER5	MR	43.45465	17.17195
114.	rijeka Žirovnica (gornji tok) - Gvozdansko	ER5	PPR	45.13633	16.23782
115.	rijeka Zrmanja (donji tok) - most kod Kaštel Žegarskog	ER5	MR	44.16240	15.85086
116.	rijeka Zrmanja (izvor)	ER5	GR	44.20484	16.08444
117.	rijeka Zrmanja (srednji tok) - Palanka	ER5	GR	44.14688	16.07112
118.	Bijeli potoci - Kamensko, Korenica	ER5	GR	44.67402	15.84855
119.	izvor na Bjelolasici	ER5	GR	45.27310	14.96323

Tablica 1. Popis lokacija na kojima su prikupljeni uzorci s koordinatama (lat i log) i pripadajućom geografskom regijom prema Bertić i sur. (2001) i ekoregijama prema Illesu (1967, 1978).

	Lokalitet	Illies	Bertić	Lat	Log
120.	izvor na Keljevo brdo - Korenica	ER5	GR	44.71890	15.74119
121.	rijeka Petrinjčica - Prnjavor Čuntićki	ER5	PPR	45.35303	16.28199
122.	rijeka Petrinjčica - Hrvatski Čuntić	ER5	PPR	45.35767	16.28479
123.	izvor Grab - Sinj	ER5	MR	43.64099	16.76997
124.	rijeka Rudnica, izvor – Ožanići	ER5	GR	45.21457	15.39262
125.	rijeka Zagorska Mrežnica, izvor - Desmerice	ER5	GR	45.19455	15.22274
126.	rijeka Dobra izvor - Mala Dobra	ER5	GR	45.42795	14.95681
127.	rijeka Dobra - kanjon	ER5	GR	45.3578	15.30490
128.	rijeka Dobra - Novigrad na Dobri	ER5	GR	45.46408	15.43058
129.	rijeka Dobra - Trošmarija	ER5	GR	45.32717	15.27631
130.	rijeka Dobra - Jarče polje	ER5	GR	45.43335	15.40031
131.	rijeka Dobra - Lešće	ER5	GR	45.37336	15.35576
132.	rijeka Dobra - Kamičnik	ER5	GR	45.36598	15.07526
133.	rijeka Dobra - Priselci	ER5	GR	45.55818	15.49650
134.	izvor Napojište - Plitvički Ljeskovac	ER5	GR	44.82661	15.61666
135.	potok Plitvice, izvor - Plitvica Selo	ER5	GR	44.90137	15.57379
136.	potok Plitvice, srednji tok - Plitvica Selo	ER5	GR	44.90301	15.59250
137.	Prošćansko jezero, most - NP Plitvička jezera	ER5	GR	44.85339	15.58917
138.	jezero Gavanovac - NP Plitvička jezera	ER5	GR	44.89844	15.61086
139.	jezero Kozjak, most - NP Plitvička jezera	ER5	GR	44.88010	15.61403
140.	jezero Milanovac - NP Plitvička jezera	ER5	GR	44.89582	15.6094
141.	slap Labudovac - NP Plitvička jezera	ER5	GR	44.87054	15.59858
142.	jezero Ciginovac - NP Plitvička jezera	ER5	GR	44.87165	15.59708
143.	izvor Crne rijeke - Plitvička jezera	ER5	GR	44.83086	15.61343
144.	izvor Česma - Vrlika	ER5	MR	43.90841	16.38209
145.	rijeka Kupčina – Lazina, Karlovac	ER5	PPR	45.59929	15.62301
146.	rijek Norin, ušće - Metković	ER5	MR	43.03489	17.60777
147.	rijeka Cetina - izvor Glavaš	ER5	MR	43.97648	16.43020
148.	potok Križ - Petrinja	ER11	PPR	45.42250	16.24800
149.	Bijeli potoci - Kamensko, Korenica	ER5	GR	44.64247	15.86368
150.	izvor Drakulić rijeke	ER5	GR	44.78892	15.65101
151.	izvor Grude	ER5	MR	42.52946	18.39940
152.	izvor Rabac	ER5	MR	45.08494	14.13915
153.	izvor Čerišnjevac - Pazin	ER5	MR	45.28281	13.91373
154.	izvor Ružicov	E11	PPR	45.51156	17.85922
155.	rijeka Krka - NP Krka, desna obala, pristanište za brodove	ER5	MR	43.80572	15.96375
156.	rijeka Krka - Visovac, pristanište na desnoj obali	ER5	MR	43.86144	15.97422
157.	rijeka Krka - HE Miljacka	ER5	MR	44.00119	16.01822
158.	rijeka Krka - Roški slap	ER5	MR	43.90329	15.97541



Tablica 1. Popis lokacija na kojima su prikupljeni uzorci s koordinatama (lat i log) i pripadajućom geografskom regijom prema Bertić i sur. (2001) i ekoregijama prema Illesu (1967, 1978).

	Lokalitet	Illies	Bertić	Lat	Log
159.	jezero Brljan - NP Krka	ER5	MR	44.00873	16.03701
160.	izvor Bijela stijena - Petrovec, Petrinja	ER5	PPR	45.42317	16.22337
161.	rijeka Milka Trnina	ER5	GR	44.89443	15.60811
162.	rijeka Utinja, vodocrpilište Banovina - Pecki	ER5	PPR	45.38730	16.24771
163.	potok Šumetlica - Pšunj	ER11	PPR	45.37560	17.36087
164.	pritok rijeke Maje, Banovina	ER11	PPR	45.32821	16.11993
165.	Gospin potok - Šumarska kuća Duboka, Velika, Papuk	ER11	PPR	45.47889	17.65952
166.	rijeka Sunja - Kukuruzari	ER11	PPR	45.26795	16.48591
167.	potok Vrklješće, izvor - Velika Rakovic, Samoborsko gorje	ER5	MR	45.77922	15.71631
168.	Biokovo, Zagvozd	ER5	MR	43.41378	17.05910
169.	Lazac - Risnjak	ER5	GR	45.45263	14.60594
170.	Baške Oštarije	ER5	GR	44.53164	15.16667
171.	Nova velika, jama - Biokovo	ER5	MR	43.32883	17.05030
172.	Amfora, jama, Bikovo	ER5	MR	43.33513	17.07383
173.	Mokre noge, jama - Biokovo	ER5	MR	43.32889	17.05612
174.	Jama pod sv. Jurom - Biokovo	ER5	MR	43.34227	17.05306
175.	Bukovac špilja - Delnice	ER5	GR	45.34308	14.75720
176.	Jama Vjetrova - Crnopac	ER5	GR	44.25343	15.84123
177.	Velika Čulimova pećina, špilja - Kijevo	ER5	MR	43.98908	16.37234

Tijekom terenskog istraživanja bilježeni su podatci o prikupljenim vrstama (npr. ime vrste, spol jedinke, brojnost), o području istraživanja (npr. abiotički čimbenici: temperatura vode, temperatura i vlažnost zraka, vrsta staništa, uzroci ugroženosti) i o korištenoj metodi prikupljanja. Fotografirana su mjesta uzorkovanja tulara te je GPS uređajem zabilježena točna lokacija. Prikupljanje je vršeno tijekom dana i noći. Tijekom dana uzorci tulara su prikupljeni ručno te s entomološkom mrežicom (Slika 2) u vremenu od 30 minuta na različitim staništima. Tijekom noći za prikupljanje tulara koristila se svjetlosna klopka koja je bila postavljena 90 minuta. Svjetlosnu lovku čini izvor svjetlosti (fluorescentna cijev koja emitira ultraljubičasto - UV zračenje) koji se postavlja u središte metalne konstrukcije piramidalnog oblika i prekriva reflektirajućom bijelom plahtom (Slika 3). Pazilo se da svjetlosna klopka ne bude postavljena za vrijeme punog mjeseca, snažnog vjetera i jake kiše. Svi skupljeni uzorci tulara pohranjeni su u plastične posudice s 96% etilnim alkoholom i primjereno označeni.



Slika 2. Prikupljanje tulara za vrijeme dana (slika lijevo – ručno prikupljanje (foto: Renata Ćuk), slika desno – prikupljanje entomološkom mrežicom (foto: Antun Delić).

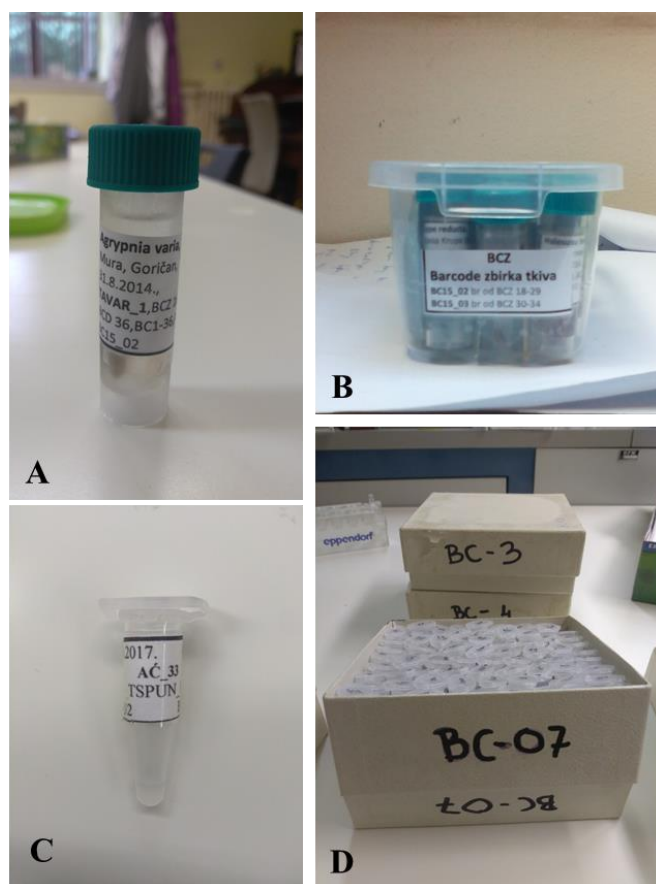


Slika 3. Prikupljanje tulara tijekom noći uz pomoć svjetlosne klopke.

### 3.2. Morfološka analiza i određivanje

U laboratoriju su provedene morfološke analize i određivanje prikupljenih uzoraka. Za određivanje ličinki korištena je sljedeća literatura: Hickin (1967), Lepneva (1966) i Waringer i Graf (2011). Određivanje odraslih tulara provedena je prema standardnoj literaturi: Kumanski (1985) i Malicky (2004). Osim terenskog prikupljanja, dio uzoraka ustupili su kolege iz osobnih zbirki tulara. Molekularna analiza provedena je na izdvojenim primjercima iz prikupljenih i morfološki određenih uzorka. S ostalim prikupljenim uzorcima i svim pratećim podatcima formirana je entomološka zbirka „Trichoptera NIP“ u Hrvatskom prirodoslovnom muzeju. Uzorci na kojima je napravljena molekularna analiza pohranjeni su u zbirku tkiva BCZ „DNA barcode collection“ u Hrvatskom prirodoslovnom muzeju. Svaki uzorak DNA dobio je jedinstven broj - DNA kod u zbirci DNA (npr. TABAL\_1). Oznaka je skraćena slova reda (T - Trichoptera), imena roda (A – *Adicella*) imena vrste (BAL –

*balcanica*), rednog broja uzora (1 – prvi uzorak ove vrste u zbirci). Oznaka DNA koda naznačena je na etiketi postavljenoj na tubici (Eppendorf tuba volumena 1.5  $\mu$ L) za pohranu DNA. Uz DNA kod svaki primjerak je dobio jedinstven broj u zbirci izolirane DNA i s naznakom kutije u kojoj je pohranjena za lakše snalaženje. Tako npr. uzorak TABAL\_1 ima oznaku BCD 248 što znači da je to 248 primjerak u Barkod zbirci DNA, a BC4-13 znači da je pohranjen u kutiju oznake BC4 na mjestu 13. Primjerci izolirani u zadnje dvije godine dobili su i još jednu jedinstvenu oznaku koja predstavlja projekt unutar kojeg su izolirane (Projekt DNA barkodiranje bioraznolikosti hrvatske faune, [www.pmf.unizg.hr/dna\\_barkodiranje](http://www.pmf.unizg.hr/dna_barkodiranje)). Tako npr. imamo uzorak TLSPA\_1 AC\_1 što znači da je to prvi primjerak vrste *Limnephilus sparsus* u „Barcode zbirka DNA“ i prvi primjerak tulara izoliran unutar projekta. Životinja iz koje je izolirana DNA pohranjena je u tubu s 96% etanolom kao dokazni muzejski primjerak (engl. voucher specimen) s istom oznakom kao i Barcode zbirka DNA. Navedena životinja dio je zbirke DNA barcode collection - BZC“ (Slika 4).



Slika 4. A-D. Pohrana uzoraka: A – pojedinačna životinja koja služi kao dokazni muzejski primjerak, vaučer (eng. voucher), B – pohrana više vaučera koji čine zbirku tkiva BCZ, C – eluat izolirane DNA, D – više uzoraka izolirane DNA koji čine zbirku izolirane DNA BCD.

### **3.3. Molekularno genetičke laboratorijske metode i materijali**

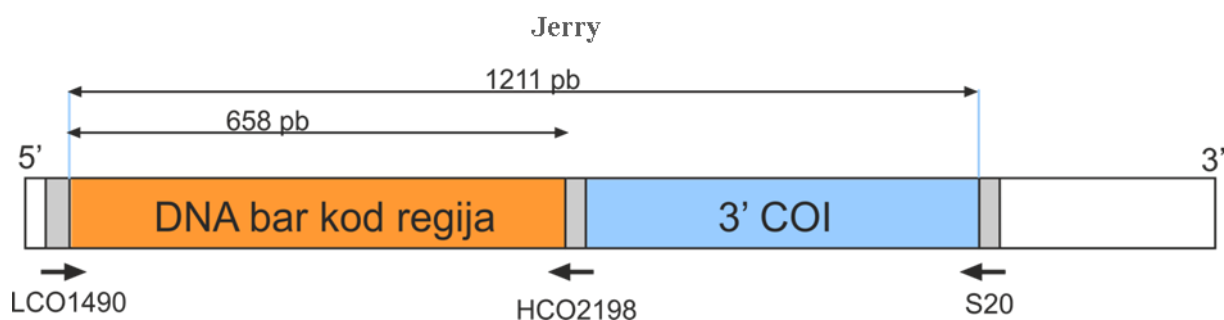
Iz terenski prikupljenih uzoraka izdvojeni su uzorci iz kojih je izolirana DNA. Osim primjeraka iz Hrvatske, obrađeni su i primjerci iz drugih zemalja u svrhu usporedbe sekvenci DNA barkod regije (PRILOG 1). Za sve primjerke iz kojih je uspješno izolirana DNA i dobiven željeni PCR produkt, DNA barkod regija, s pripadajućim informacijama unesene su u BOLD bazu. Unesene DNA barkod sekvence dostupne su javnosti unutar alata Identification Engine, a preuzimanje i rad sa podacima i sekvencama moguć je preko kreiranih Projekata unutar BOLD baze (navedeni alati BOLD baze objašnjeni su u potpoglavlju 3.4.1. Bioinformatičke analize ovog rada, stranica 20). Dio DNA sekvenci s podacima iz ovog rada su javno dostupni u BOLD bazi na Public Data Portal ([www.boldsystems.org](http://www.boldsystems.org)). Nakon objave pojedinog znanstvenog rada ili završetka projekta bit će javno dostupni sve DNA barkod sekvence i podatci iz ovog rada.

#### **3.3.1. Izolacija genomske DNA**

Ukupna genomska DNA izolirana je iz tkiva noge tulara. Kod malih vrsta (veličine oko 2 mm) korištena je cijela životinja, koja je nakon izolacije pohranjena (točnije genitalni aparat). Testirana je uspješnost izolacije ukoliko se uzorak prije izolacije zdrobi ili razreže skalpelom na manje dijelove u odnosu na netretirani uzorak. Rezultati su bili istovjetni za tretirane i ne tretirane uzorke, stoga se prije izolacije nije vršilo usitnjavanje uzoraka. Testirana je uspješnost različitih komercijalnih kompleta za izolaciju DNA: Invitrogen™ PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific), One-Tube Hair DNA Extraction Kit (BioBasic), QIAamp® - Isolation of Genomic DNA from FFPE Tissue (QIAGEN), GenElute™ Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit (SIGMA – ALDRICH). Komplet za izolaciju DNA QIAGEN imao je najveću uspješnost izolacije DNA iz tkiva tulara, posebno kod malih vrsta. Za daljnju izolaciju DNA odabran je SIGMA – ALDRICH komplet za izolaciju DNA koji se pokazao kao najbolji uzimajući u obzir omjer cijene i uspješnosti izolacije DNA iz tkiva tulara. Daljnja izolacija DNA iz tulara provedena je prema uputama proizvođača. Jedina promjena u odnosu na tvorničke upute jest elucija DNA u puferu za izolaciju. Ovisno o ulaznoj količini tkiva, DNA je eluirana u 50 µl ili 30 µl pufera za eluciju.

### 3.3.2. PCR (Lančana reakcija polimeraze) i korištene početnice

U PCR reakciji (engl. Polymerase Chain Reaction) za 5' regiju mitohondrijskog gena za citokrom oksidazu podjedinica I većinom su korištene univerzalne početnice LCO-1490 i HCO-2198 (Folmer i sur. 1994). Početnica za smjer 5' prema 3' predstavlja „forward“ početnicu, a početnica u smjeru 3' prema 5' „reverse“ početnicu. U dosadašnjim istraživanjima tulara na području Hrvatske korištena je druga regija, tj. 3' regija gena za citokrom oksidazu podjedinica I (*COI*), stoga se nastojalo dobiti dulji fragment DNA koji bi uključivao i ovu regiju. Za navedenu regiju korištena je početnica S20 (Pauls i sur. 2003) u kombinaciji s početnicom LCO-1490 (rezultat je dulji fragment, obje regije), a rjeđe s početnicom Jerry (Simon i sur. 1994) (rezultat je kraći fragment, 3' regija, duljine 541 bp) (Slika 5).



Slika 5. Shematski prikaz regije mitohondrijskog gena za citokrom oksidazu podjedinica I uključujući početnice s naznačenom regijom koju umnožavaju, smjerom i duljinom prikazanom u parovima baza.

Za primjerke kod kojih nismo dobili PCR produkt kombinacijom nekih od navedenih početnica, dizajnirane su vrsno specifične početnice: TM1 LCOI, TM2 LCOI, TM3 HCOI, TM4 HCOI, DIPL H1, DIPL H2, DIPL H3. Najveća uspješnost PCR reakcije postignuta je koktelom C\_LepFolF i C\_LepFolR, tj. smjesom početnica LCO-1490 i LepF1 - C\_LepFolF te HCO-2198 i LepR1 - C\_LepFolR u omjeru 50:50 (Tablica 2). U tablici (Tablica 2) su navedene početnice za druge fragmente mitohondrijskog *16S* rRNA i nuklearnih *wg*, *CAD* biljega.

Tablica 2. Početnice korištene u PCR reakcijama.

Gen	Naziv početnice	Sekvenca 5'-3'	Literatura
<i>COI</i>	LCO-1490	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG	Folmer i sur. 1994

Tablica 2. Početnice korištene u PCR reakcijama.

Gen	Naziv početnice	Sekvenca 5'-3'	Literatura
	HCO-2198	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	
	S20	GGGAAAAAGGTTAAATTTACTCC-3	Pauls i sur. 2003
	Jerry	CAACATTTATTTTGATTTTTTTGG	Simon i sur. 1994
	TM3 HCOI	TGATTYTTYGGYCACCCWGAAGTTTA	ovaj rad
	TM4 HCOI	TGATTYTTYGGRCACCCWGAAGTTTA	ovaj rad
	DIPLH1	TATATGGGATAAATTTGAAG	ovaj rad
	DIPLH2	AATGTGCTACTACATAATARGT	ovaj rad
	DIPLH3	AATGRGCTACTACRTARTATGT	ovaj rad
	LepF1	ATTCAACCAATCATAAAGATATTGG	Hebert i sur. 2003 a,b
	LepR1	TAAACTTCTGGATGTCCAAAAAATCA	Hebert i sur. 2003 a,b
	C_LepFolF	LepF1:LCO-1490	Hernández-Triana i sur. 2014
	C_LepFolR	LepR1:HCO-2198	Hernández-Triana i sur. 2014
16S rRNA	LR-N-13398	CACCTGmAACAAAAACAT	Simon i sur. 1994
	LR-J-12887	TTACGCTGTTATCCTAA	Simon i sur. 1994
CAD	CAD_743nF	TAA TAC GAC TCA CTA TAG GGG GNG TNA CNA CNG CNT GYT TYG ARC	Wahlberg i sur. 2008
	CAD_1028R	ATT AAC CCT CAC TAA AGG GT TRT TNG GNA RYT GNC CNC CCA T	Wahlberg i sur. 2008
wg	Wingnut1a	GAA ATG CGN CAR GAR TGY AA	Pauls i sur. 2008
	Wingnut3	ACY TCR CAR CAC CAR TGR AA	Pauls i sur. 2008

PCR je metoda kojom se iz ukupne genomske DNA umnožavaju ciljani segmenti DNA. U ovom radu lančana reakcija polimeraze odvijala se kako je dalje napisano. Mijenjao se ukupan volumen reakcijske smjese (50  $\mu$ L, 25  $\mu$ L, 20  $\mu$ L, 15  $\mu$ L). Reakcijska smjesa, sadržavala je 1X (koncentracija) pufera (5X Green Go Taq®Flexi Buffer, Promega), 0.2 mM svakog deoksiribonukleotid trifosfat - dNTP (10 mM PCR Nucleotide Mix, Biobasic), po 0.4  $\mu$ M svake početnice, 1.25 U (Go Taq®Hot Start Polymerase, Promega), 5  $\mu$ L eluata genomske DNA, a ostatak volumena nadopunjen je destiliranom vodom (eng. *nuclease free water*), ovisno kolika je ukupna reakcijska smjesa (do 50  $\mu$ L, 25  $\mu$ L, 20  $\mu$ L, 15  $\mu$ L). Ukoliko nije dobiven PCR produkt ovim omjerom standarda za PCR i volumena DNA, povećan je volumen DNA. Prilikom svake PCR reakcije korištena je negativna kontrola koja nije sadržavala DNA nego vodu, a služila je kao kontrola potencijalne kontaminacije pojedinih

kemikalija i pribora. Kako bi se izbjegla kontaminacija, reakcijska smjesa bez početnica i DNA kalupa, osvijetljena je 10 minuta ultraljubičastim (UV) svjetlom valne duljine od 254 do 300 nm (Sarkar i Sommer 1990). Uvjeti PCR reakcije mijenjani su ovisno o ciljanom genu i korištenim početnicama kako je navedeno u tablici (Tablica 3).

Tablica 3. Uvjeti PCR reakcije (\*početnice prema Hernández-Triana i sur. 2014).

GEN	Korak PCR reakcije	Temperatura (°C)	Trajanje (min)	Br. ciklusa
<i>COI, 16S rRNA i CAD</i>	Početna denaturacija	95	2:00	1 ciklus
	Naizmjenična denaturacija	95	0:30	35 ciklusa
	Sparivanje početnica	50	0:30	
	Produljenje lanaca DNA	72	1:30	
	Finalno produljenje lanca DNA	72	7:00	
	Hlađenje	4	∞	
<i>wg</i>	Početna denaturacija	95	2:00	1 ciklus
	Naizmjenična denaturacija	95	0:30	35 ciklusa
	Sparivanje početnica	52	0:30	
	Produljenje lanaca DNA	72	1:30	
	Finalno produljenje lanca DNA	72	7:00	
	Hlađenje	4	∞	
<i>COI (samo s početnicama C_LepFolF i C_LepFolR*)</i>	Početna denaturacija	94	2:00	1 ciklus
	Naizmjenična denaturacija	95	0:40	5 ciklusa
	Sparivanje početnica	55	1:00	
	Produljenje lanaca DNA	72	0:40	
	Naizmjenična denaturacija	95	0:30	35 ciklusa
	Sparivanje početnica	51	0:30	
	Produljenje lanaca DNA	72	1:00	
	Finalno produljenje lanca DNA	72	5:00	
Hlađenje	4	∞		

### 3.3.3. Elektroforetsko odjeljivanje fragmenata DNA

Uspješnost PCR reakcije provjerena je metodom elektroforeze u agaroznom gelu. Elektroforeza je metoda koja omogućuje razdvajanje molekula DNA po duljini pod utjecajem istosmjernog električnog polja. Negativno nabijene DNA molekule kreću se od negativne katode prema pozitivnoj anodi, pri čemu kraće molekule putuju brže kroz gel od duljih. Korišten je 1%-tni agarozni gel koji je pripremljen otapanjem 1 g agaroze u 100 ml 1x TBE (tris-borat- etilendiamintetraoctena kiselina) pufera s 100 µl etidijevog bromida koncentracije 0,5 µg/ml. Etidij bromid je boja koja interkalira u dvolančanu DNA te omogućuje vizualizaciju fragmenata DNA pod UV svjetlom.

### 3.3.4. Određivanje primarne strukture DNA (sekvenciranje)

PCR produkti poslani su na pročišćavanje i na obostrano sekvenciranje (smjer „forward“ i „reverse“) u komercijalni servis Macrogen Inc. (Amsterdam, Nizozemska). Sekvenciranje je provedeno upotrebom početnica koje su korištene u amplifikaciji fragmenata DNA.

## 3.4. Analiza i obrada podataka

### 3.4.1. Bioinformatičke analize

#### 3.4.1.1. Uređivanje i sravnjivanje nukleotidnih sekvenci

Sekvence dobivene eksperimentalnom obradom označene su jedinstvenim oznakama kao i u procesima izolacije i umnažanja. Autentičnost umnoženih i sekvenciranih mtDNA nukleotidnih sljedova provjerena je usporedbom s DNA barkod sekvencama pohranjenim u BOLD bazi podataka. Pri tom je uspoređena dobivena sekvenca iz ove studije s postojećim sekvencama pohranjenim u BOLD bazi korištenjem analitičkih alata platforme BOLD.

Za pregledavanje i uređivanje eksperimentalno dobivenih sekvenci korišten je program Bioedit 7.2.4. (Hall 1999). Uređivanje sravnjenih sekvenci korištenih u analizi uključivalo je uklanjanje početnica te loše očitanih početaka i krajeva varijabilnih duljina. Razlike u očitanim nukleotidima provjerene su pregledavanjem kromatograma pojedinih sekvenci. Sve pogreške sekvenciranja su ručno ispravljene, a prisutne su u obliku pogrešno očitano signala, preklapanja signala dviju baza ili izostavljanja neke od baza. Sekvence loše kvalitete ili nedovoljne duljine izostavljene su iz daljnje analize. DNA barkod regija dobivena je sravnjivanjem sekvenci iz oba smjera za svaki uzorak (smjer 5' prema 3' i smjer 3' prema 5'). Obostrani nukleotidni sljedovi međusobno su sravnjeni u programu Bioedit 7.2.4 pomoću ClustalW višestrukog sravnjivanja (Larkin i sur. 2007). Sekvence su kolabirane u jedinstvene haplotipove (skupinu sekvenci s identičnim nukleotidnim slijedom) koristeći online servis FaBox v.1.41 (Villesen 2007).

#### 3.4.1.2. Filogenetičke i filogeografske analize sekvenci

Filogenetske analize provedene su na sljedećim filogenetskim metodama: metoda Bayesian analize (BA, eng. Bayesian analysis), metoda najveće štedljivosti (MP, eng. maximum



parsimony), metoda najveće vjerojatnosti (ML, eng. maximum likelihood) te metoda susjednog sparivanja (NJ, eng. neighbour joining). Programi korišteni za analize srađenjenih sekvenci i rekonstrukciju filogenetskih stabala su MEGA6 (Tamura i sur. 2013) za NJ, ML i MP analize te MrBayes (Ronquist i Huelsenbeck 2003) za BA analizu. Većina filogenetskih stabala u ovom radu rekonstruirana su metodama NJ i ML zbog dobivanja brzog rezultata te mogućnosti usporedbe rezultata s prijašnjim istraživanjima koja se dominantno temelje na navedenim metodama. BA analiza korištena je za utvrđivanje veće vjerodostojnosti rezultata kod molekularno-filogenetskih analiza pojedinih svojti. BA analiza rijeđe je korištena metoda u ovom radu s obzirom da je potrebna duža priprema DNA sekvenci te sporija obrada i dobivanje rezultata.

Rekonstrukciji filogenetskog stabla prethodi odabir optimalnog evolucijskog modela za svaki genski biljeg. Evolucijski ili nukleotidni supstitucijski modeli pretpostavljaju kojim je načinom došlo do nukleotidnih promjena u sekvencama tijekom evolucijske prošlosti. Primjena različitih evolucijskih modela rezultira različitim rezultatima filogenetskih analiza. Statistički testovi odabiru model koji najbolje pristaje uz analizirane podatke, a mogu se podijeliti u dvije skupine: hijerarhijski test udjela vjerojatnosti (hLRT, eng. hierarchical likelihood ratio test) te informacijski kriterij (IC, eng. information criteria). Najpovoljniji evolucijski model odabran je u programu jModelTest 2.1.5. (Darriba i sur. 2012) prema Bayesian informacijskom kriteriju (BIC, eng. Bayesian information criterion). Nekorigirane udvojene genetske udaljenosti (PD, eng. p-distance, uncorrected pairwise distance) i korigirane genetske udaljenosti (K2P, eng. corrected distances, Kimura two-parameter distance) izračunate su u programu MEGA6. Također, uz pomoć programa MEGA6, određene su vrijednosti sačuvanih mjesta (C; eng. conserved sites), varijabilnih mjesta (V, eng. variable sites) te parsimonijski informativnih mjesta (Pi, parsimony informative sites). U provedenim filogenetičkim analizama (NJ, MP i ML) kao statistička podrška grananja unutar stabla korištena je metoda bootstrap. Podrška za grananja unutar filogenetskih stabala određena je na temelju 1000 *bootstrap* ponavljanja za MP i ML analizu te na temelju 5000 *bootstrap* ponavljanja za NJ analizu. Podrška grananjima u BA procijenjena je na temelju posteriornih vjerojatnosti (eng. Bayesian posterior probabilities, BPP). Parametri analiza za podatke postavljeni su na isti način. U NJ metodi korištene su p-distance (eng. uncorrected pairwise distance), a u analizu su uključene tranzicije i transverzije. Filogenetsko stablo u MP metodi dobiveno je „tree bisection reconnection“ (TBR) algoritmom pri čemu je razina

pretrage iznosila jedan, a inicijalno stablo dobiveno nasumičnim dodavanjem sekvenci u 10 kopija. U analizi statističkom metodom ML korišteni su prethodno navedeni supstitucijski modeli, a heuristička metoda odabira stabala je „Nearest-Neighbor-Interchange“ (NNI). U BA metodi prvih 20% stabala isključeno je iz analiza kao „burn in“ (Posada i Crandall 2001). Filogenetska stabla su uređena u programu CorelDRAW Graphics Suite X7 (<http://www.coreldraw.com>).

Star BEAST metoda (\*BEAST) implementirana u programskom paketu BEAST v2.4.0 (Bouckaert i sur. 2014) korištena je za konstrukciju stabla vrsta kao i određivanje vremena divergencije među njima (Heled i Drummond 2009). Set podataka sastojao se od pojedinačnih sravnjenja sva četiri korištena molekularna biljega (*COI*, *16S rRNA*, *CAD* i *wg*) pri čemu su korištene samo one jedinke za koje su uspješno umnožena sva četiri biljega (Tablica 18). Ovaj Bayesianski pristup temelji se na teoriji koalescencije i koristi multiple genske lokuse te omogućava razrješavanje filogenetskih odnosa blisko srodnih vrsta kao i razgraničenje kriptičnih vrsta. Pri tome se u istoj Bayesian MCMC (eng. Monte Carlo Markov Chain) analizi simultano određuje stablo vrsta i sva stabla gena (za svaki od molekularnih biljega). Budući da metoda zahtijeva *a priori* specificiranje vrsta, hipotetske vrste specificirane su na temelju rezultata provedenih ML i Bayesian filogenetskih analiza. Evolucijski model i parametri modela primijenjeni za svaku particiju konkateniranih sekvenci odabrani su računalnim programom jModelTest 2.1.5. (Darriba i sur. 2012) korištenjem Bayesian informacijskog kriterija. Za sve particije korišten je striktni molekularni sat pri čemu je za *COI* particiju primijenjena fiksna vrijednost od 0,0177 supstitucija po mjestu u milijun godina (prema Papadopoulou i dr. 2010). Molekularni sat, supstitucijski modeli i modeli stabala zadani su u analizi kao nevezani (eng. unlinked) za sva četiri lokusa uz iznimku vezanog (eng. linked) modela stabla za dva mitohondrijska lokusa (*COI* i *16S rRNA*). Analiza je provedena korištenjem Yule specijacijskog modela kroz 150 000 000 generacija uz uzorkovanje svake 15-tisućite generacije od kojih je prvih 10% odbačeno („burn-in“). Konvergencija analiza testirana je na temelju posteriornih uzoraka korištenjem dijagnostičkog softvera Tracer v. 1.6 (Rambaut i dr. 2014). Efektivne veličine uzoraka (ESS vrijednosti) bile su >200 za sve parametre indicirajući konvergenciju. Stablo vrsta vizualizirano je korištenjem DensiTree softvera (Bouckaert 2010).

### 3.4.1.3. Razdvajanje vrsta

ABGD (Automatic Barcode Gap Discovery) analiza je automatizirana metoda pomoću koje se sekvence iz seta podataka razvrstavaju u hipotetske vrste na temelju tzv. „barkod praznine“ (eng. barcode gap, Hebert i sur. 2003b). DNA barkod prazina predstavlja prekid u distribuciji vrijednosti udvojenih genetičkih udaljenosti (interval između maksimalnih intraspecifičnih i minimalnih interspecifičnih udaljenosti). „Barkod praznina“ može se uočiti kad god su genetske razlike između organizama koji pripadaju istoj vrsti manje nego što su genetske razlike između organizama koji pripadaju različitim vrstama. ABGD analiza izvršena je korištenjem mrežnog softvera ABGD (Puillandre i sur. 2012). Pri tome su vrijednosti minimalne i maksimalne intraspecifične varijabilnosti postavljene na  $P_{min}=0,001$  i  $P_{max}=0,08$  (pretpostavljeni interval u kojem se nalazi DNA barkod praznina za skupinu Trichoptera), za minimalnu širinu barkod praznine (koja određuje osjetljivost metode na širinu praznine) uzeta je vrijednost 1, a za udaljenost je izabran Kimura 2 parametar. Korištene su srađnjene sekvence gena *COI* (DNA barkod regija) koje su potom kolabirane u haplotipove. Kao rezultat analize dobiju se dvije particije, rekurzivna i inicijalna. U ovom radu uzete su u obzir inicijalne patricije s obzirom da su stabilnije na širok raspon prije postavljenih vrijednosti (npr. vrijednosti  $P_{mim}$ ,  $P_{max}$ ) te su uobičajeno bliže broju grupa koje su i taksonomski validne (Puillandre i sur. 2012). Analiza grupira sekvence u grupe koje predstavljaju hipotetske vrste, odnosno molekularne operativne taksonomske jedinice - MOTUs.

### 3.4.1.4. Analize pomoću BOLD platforme

BOLD, osim baze, predstavlja bioinformatičku platformu s alatom koji je korišten u ovom radu ([www.boldsystem.org](http://www.boldsystem.org) version 4.0):

1. BOLD Identification Engine – omogućuje automatsko određivanje promatrane *COI*, DNA barkod sekvence na način da se promatrana DNA barkod sekvenca uspoređuje s postojećim DNA barkod sekvencama (javnim i privatnim) u bazi. Rezultat je prikazan postotkom sličnosti promatrane DNA barkod sekvence s gdje 100% sličnosti znači da je promatrana DNA barkod sekvenca u potpunosti identična s DNA barkod sekvencom iz baze. Rezultat određivanja može se prikazati u obliku filogenetskog stabla;

2. Kreiranje projekata – registracijom u BOLD bazi kreira se projekt u koji se unosi DNA barkod sekvence i podatke za pojedine primjerke (morfološko određivanje, razvojni stadij, spol, osoba koja je morfološki odredila primjerak, vrijeme i mjesto prikupljanja, geografske koordinate itd.). Svaki od projekata se naziva s nekoliko slova (npr. projekt CROTR, unutar projekta CROBF). Navedeni projekti, pa tako i DNA sekvence s podacima mogu biti privatni - dostupni samo osobi koja ih je kreirala (i osobama koje ona odredi) ili javni - dostupni svim korisnicima;
3. Taxon ID tree – omogućuje konstrukciju filogenetskog stabla metodom susjednog sparivanja od unesenih DNA barkod sekvenci;
4. Cluster Sequences – alat koji svrstava DNA barkod sekvence u operative taksonomske jedinice nazivane „Barcode index number – BIN“ (Barcode of Life Data Systems Handbook, Ratnasingham i Hebert 2007).

### **3.4.2. Odabrane nove i taksonomski specifične svojte tulara u Hrvatskoj – setovi podataka i bioinformatičke analize**

#### 3.4.2.1. Vrste iz roda *Tinodes* Curtis, 1834

Metoda DNA barkodiranja korištena je kako bi se sigurnošću potvrdilo da se radi o novoj vrsti roda *Tinodes* u fauni Hrvatske. Za izradu filogenetskih stabala temeljenih na DNA barkod regiji korištene su uz sekvence dobivene ovim radom (Tablica 4) i sekvence preuzete iz BOLD baze podataka (*Tinodes higashiyamanus* Tsuda, 1942, *T. n. sp. nr. turanicus* Martynov, 1927, *T. dives consiglioi* Botosaneanu, 1980, *T. provo* Ross & Merkley, 1950, PRILOG 2). Od navedenih DNA sekvenci načinjeni su jedinstveni haplotipovi. Rodovi i vrste iz porodice Psychomyiidae (*Psychomyia flavida* Hagen, 1861, *P. mortisai* Tsuda, 1942, *Lype diversa* (Banks, 1914), *L. excisa* Mey, 1991) korištene su za ukorjenjivanje stabla. Za rekonstrukciju filogenetskog stabla odabrane su metode: NJ, ML i BA. Kod ABGD analize uzeta je vrijednost inicijalne particije s maksimalnom vrijednosti intraspecifične udaljenosti od 0,08.

Tablica 4. Popis korištenih DNA barkod sekvenci dobivenih ovim radom za filogenetsku analizu vrsta roda *Tinodes*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD ID sekvence i lokacija nalaza.

Ime vrste	ID uzorka	BOLD ID Sekvence	Lokacija nalaza
<i>Tinodes antonioi</i> Botosaneanu & Taticchi-Vigano, 1974	TTANT_1	NIP002-16	potok Roč (izvor) - Marušići
<i>Tinodes</i> sp.	TTIN_1	NIP003-16	potok Mlini (izvor)
<i>Tinodes</i> sp.	TTIN_2	NIP004-16	potok Roč (izvor) - Marušići
<i>Tinodes braueri</i> McLachlan, 1878	TTBRA_1	NIP005-16	rijeka Krupa (donji tok) - Manastir
<i>Tinodes pallidulus</i> McLachlan, 1878	TTPAL_1	NIP006-16	potok Roč (izvor) - Marušići
<i>Tinodes waeneri</i> (Linnaeus, 1758)	TTWAE_1	NIP001-16	potok Mlini (izvor)
<i>Tinodes dives</i> (Pictet, 1834)	TTDIV_1	NIP007-16	rijeka Una (izvor)

#### 3.4.2.2. Vrste iz roda *Adicella* McLachlan, 1877

Metoda DNA barkodiranja korištena je kako bi sa sigurnošću potvrdili da se radi o nove dvije vrste roda *Adicella*: *A. cremisa* Malicky 1972 i *A. balcanica* Botosaneanu & Novak 1965 u fauni Hrvatske. Za izradu filogenetskih stabala temeljenih na genu za *COI* korišteni su jedinstveni haplotipovi dobiveni ovim radom (Tablica 5) i sekvence preuzete iz BOLD baze (PRILOG 3). Za rekonstrukciju filogenetskog stabla odabrana je metoda: NJ. Za ukorjenjivanje stabala korištena je sekvenca vrste *Rhyacophila vulgaris* Pictet, 1834.

Tablica 5. Popis korištenih DNA barkod sekvenci dobivenih ovim radom za filogenetsku analizu vrsta roda *Adicella*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD ID sekvence i lokacija nalaza.

Ime vrste	ID uzorka	BOLD ID Sekvence	Lokacija nalaza
<i>Adicella balcanica</i> Botosaneanu & Novak 1965	TABAL_1	NIP010-16	rijeka Krupa (donji tok) - Manastir
<i>Adicella cremisa</i> Malicky 1972	TACRE_1	NIP009-16	rijeka Zrmanja (srednji tok) - Palanka
<i>Adicella cremisa</i>	TASYR_1	NIP008-16	rijeka Krapina (srednji tok) - Krapina Selo
<i>Rhyacophila vulgaris</i> Pictet, 1834	TRVUL_1	CROAA031-18	rijeka Kupčina (gornji tok) – Vrabac, Žumberak

#### 3.4.2.3. Vrste iz roda *Trichostegia* Kolenati, 1848

Za izradu filogenetskih stabala temeljenih na genu za *COI*, DNA barkod regije korišteni su haplotipovi dobiveni ovim radom (Tablica 6) i sekvence preuzete iz BOLD baze (*Hagenella*

*clathrate* (Kolenati, 1848), *Oligostomis reticulata* (Linnaeus, 1761), *Phryganea bipunctata* Retzius, 1783, PRILOG 4). Od navedenih DNA sekvenci načinjeni su jedinstveni haplotipovi. Za rekonstrukciju filogenetskog stabla odabrane u metode: NJ i ML. Kod ABGD analize uzeta je vrijednost inicijalne particije s vrijednosti intraspecifične udaljenosti od 0,08. Korištena je metoda DNA barkodiranja kako bi se potvrdila morfološka određena vrsta i utvrdili odnosi vrste *Trichostegia minor* (Curtis, 1834) unutar porodice Phryganidae. Za ukorjenjivanje stabala korištena je sekvenca vrste *Lepidostoma hirtum* (Fabricius, 1775).

Tablica 6. Popis korištenih DNA barkod sekvenci dobivenih ovim radom za filogenetsku analizu vrsta roda *Trichostegia*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD ID sekvence i lokacija nalaza.

Ime vrste	ID uzorka	BOLD ID Sekvence	Lokacija nalaza
<i>Trichostegia minor</i> (Curtis, 1834)	TTMIN_1	CROAA133-18	Rijeka Gacka, izvor Majerovo vrilo
<i>Agrypnia varia</i> , Fabricius, 1793	TAVAR_1	CROAA013-18	Rijeka Mura, Goričan
<i>Phryganea grandis</i> Linnaeus, 1758	TPGRA_1	CROAA134-18	Rijeka Dunav, Zlatna greda
<i>Lepidostoma hirtum</i> (Fabricius, 1775)	TLHIT_1	CROAA126-18	Rijeka Kupa, Pribanjci

#### 3.4.2.4. Svojte iz porodice Hydroptilidae

Ovim radom testirana je mogućnost metode DNA barkodiranja u određivanju mikrotulara, porodice Hydroptilidae. Kako se radi o veličinom malim vrstama unutar porodice Hydroptilidae s malim razlikama u građi genitalnog aparata mužjaka teškoća u morfološkom određivanju je razumljiva te pokazuje potrebu potvrđivanja morfološki određenih primjeraka s molekularnim metodama. Za filogenetske analize na temelju *COI* gena korišteni su haplotipovi dobiveni ovim radom te haplotipovi preuzeti iz BOLD baze (Tablica 7, za rod *Hydroptila* Dalman, 1819 PRILOG 5, za rod *Orthotrichia* Eaton, 1873 PRILOG 6, za rod *Ithytrichia* Eaton, 1873 PRILOG 7, za rod *Oxyethira* Eaton, 1873 PRILOG 8. Za rekonstrukciju filogenetskog stabla odabrane u metode: NJ i ML Kod ABGD analize uzeta je vrijednost inicijalne particije s vrijednosti intraspecifične udaljenosti od 0,08 za rod *Hydroptila* i *Ithytrichia*, 0,049 za *Orthotrichia*, 0,03 za *Oxyethira*. Za ukorjenjivanje stabala korištena je sekvenca vrste *Glossosoma conformis* Neboiss, 1963.

Tablica 7. Popis korištenih DNA barkod sekvenci dobivenih ovim radom za filogenetsku analizu vrsta iz porodice Hydroptilidae. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD ID sekvence i lokacija nalaza.

Ime vrste	ID uzorka	BOLD ID Sekvence	Lokacija nalaza
<i>Hydroptila forcipata</i> Eaton, 1873	THFOR_1	CROAA093-18	rijeka Čabranka, ušće
<i>Hydroptila forcipata</i>	THFOR_3	CROTR121-19	rijeka Dobra, Priselci
<i>Hydroptila forcipata</i>	THFOR_2	CROTR095-19	rijeka Cetina, Čikotina lađa
<i>Hydroptila forcipata</i>	THFOR_5	CROTR131-19	rijeka Krka, Roški slap
<i>Hydroptila forcipata</i>	THFOR_4	CROTR127-19	rijeka Cetina, Radmanove mlinice
<i>Hydroptila lotensis</i> Mosely, 1930	THANG_1	CROAA119-18	rijeka Bednja, Ivanečka Železnica
<i>Hydroptila lotensis</i>	THANL_1	CROAA108-18	rijeka Bednja, Ivanečka Železnica
<i>Hydroptila lotensis</i>	THYD_13	CROTR185-19	potok Pecki, Banovina
<i>Hydroptila lotensis</i>	THLOT_1	CROTR255-19	rijeka Petrinjčica, Hrvatski Čuntić
<i>Hydroptila martini</i> Marshall, 1977	THMAR_1	CROAA094-18	rijeka Gacka, Otičac
<i>Hydroptila martini</i>	THYD_5	CROTR087-19	rijeka Rudnica
<i>Hydroptila martini</i>	THYD_7	CROTR088-19	rijeka Rudnica
<i>Hydroptila martini</i>	THYD_8	CROTR141-19	rijeka Rudnica
<i>Hydroptila martini</i>	THYP_8	CROTR170-19	Konavle, Pridvorje
<i>Hydroptila phaon</i> Malicky, 1976	THPHA_1	CROTR232-19	potok Marušići, izvor
<i>Hydroptila phaon</i>	TPHAK_1	-	rijeka Vitunjčica, izvor
<i>Hydroptila simulans</i> Mosely, 1920	THSIM_1	CROTR129-19	rijeka Krka, Roški slap
<i>Hydroptila sparsa</i> Curtis, 1834	THSPA_1	CROAA124-18	rijeka Neretva, Opuzen
<i>Hydroptila sparsa</i>	THYP_6	CROTR196-19	Konavle, Pridvorje
<i>Hydroptila sparsa</i>	THYD_12	CROTR184-19	rijeka Krka, Visovac
<i>Hydroptila sparsa</i>	THSPA_4	CROTR156-19	rijeka Krka, Roški slap
<i>Hydroptila tigurina</i> Ris, 1894	THTIG_1	CROTR146-19	rijeka Mrežnica, Belavići
<i>Hydroptila tigurina</i>	THTIG_2	CROTR182-19	rijeka Dobra, Priselci
<i>Hydroptila tigurina</i>	THTIG_3	CROTR183-19	rijeka Dobra, Priselci
<i>Hydroptila tineoides</i> Dalman, 1819	THTIN_1	CROTR085-19	rijeka Dobra, Jarče
<i>Hydroptila tineoides</i>	THID_3	CROTR102-19	rijeka Rudnica, izvor
<i>Hydroptila tineoides</i>	THID_6	CROTR139-19	rijeka Rudnica, izvor
<i>Hydroptila tineoides</i>	THTIN_2	CROTR231-19	rijeka Petrinjčica, Prnjavor Čuntićki
<i>Hydroptila vectis</i> Curtis, 1834	THVEC_1	CROAA091-18	rijeka Bednja, Ivanečka Železnica
<i>Hydroptila vectis</i>	THVEC_2	CROTR168-19	Pridvorje, Konavle
<i>Hydroptila vectis</i>	THYD_3	CROTR215-19	potok Čerišnjevac, izvor, Pazin
<i>Orthotrichia angustella</i> (McLachlan, 1865)	THYP_1	CROAA068-18	rijeka Kupa, Jamnička Kiselica
<i>Orthotrichia costalis</i> Curtis, 1834	THSPA_5	CROTR184-19	rijeka Krka, Roški slap
<i>Orthotrichia costalis</i>	THYD_10	CROTR224-19	rijeka Krka, Visovac
<i>Orthotrichia costalis</i>	THYD_11	CROTR184-19	rijeka Krka, Visovac
<i>Orthotrichia tragetti</i> Mosely, 1930	TOTRA_1	CROAA069-18	jezero Kuti, Badžule
<i>Ithytrichia lamellaris</i> Eaton, 1873	TILAM_1	CROAA067-18	rijeka Raša, dolina
<i>Ithytrichia lamellaris</i>	TILAM_2	CROTR200-19	rijeka Krapina
<i>Ithytrichia lamellaris</i>	TILAM_3	CROTR138-19	rijeka Dobra, polje Jarče
<i>Ithytrichia lamellaris</i>	TITH_1	CROTR143-19	rijeka Dobra, polje Jarče
<i>Oxyethira flavicornis</i> Pictet, 1834	TOFLA_1	CROAA050-18	rijeka Sava, Drenje Brdovečko
<i>Oxyethira flavicornis</i>	THYD_1	CROAA095-18	rijeka Lika, Bilaj
<i>Oxyethira flavicornis</i>	TOFLA_2	CROTR062-19	rijeka Lika, Bilaj
<i>Oxyethira flavicornis</i>	TOXY_1	CROTR103-19	rijeka Dobra, Trošmarija
<i>Oxyethira flavicornis</i>	TOFLA_1	CROAA050-18	rijeka Sava, Drenje Brdovečko
<i>Oxyethira falcata</i> Morton, 1893	THYP_4	CROTR166-19	Konavle, Pridvorje
<i>Oxyethira falcata</i>	THYP_5	CROTR167-19	Konavle, Pridvorje

Tablica 7. Popis korištenih DNA barkod sekvenci dobivenih ovim radom za filogenetsku analizu vrsta iz porodice Hydroptilidae. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD ID sekvence i lokacija nalaza.

Ime vrste	ID uzorka	BOLD ID Sekvence	Lokacija nalaza
<i>Oxyethira falcata</i>	THYP_7	CROTR169-19	Konavle, Pridvorje
<i>Glossosoma conformis</i> Neboiss, 1963	TGCON_2	CROTR210-19	potok Bliznec, Medvednica

#### 3.4.2.5. Vrste iz roda *Micropterna* Stein, 1873

Za genetske analize vrste blabla na temelju *COI* gena korištene su sekvence dobivene ovim radom te sekvence preuzete iz BOLD baze (Tablica 8, PRILOG 9). Od navedenih DNA sekvenci načinjeni su jedinstveni haplotipovi. Kako se u BOLD bazi za istovjetne DNA sekvence koristi različiti taksonomski naziv u daljnjem radu korišteni su nazivi prema validnoj taksonomiji prema Morse (2019). Za rekonstrukciju filogenetskog stabla odabrane u metode: NJ, ML i BA. Kod ABGD analize uzeta je vrijednost inicijalne particije s maksimalnom vrijednosti intraspecifične udaljenosti od 0,08. Za ukorjenjivanje stabala korištena je sekvencavrst *Halesus tessellatus* (Rambur, 1842).

Tablica 8. Popis korištenih DNA barkod sekvenci dobivenih ovim radom za filogenetsku analizu vrsta roda *Micropterna*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD ID sekvence i lokacija nalaza.

Ime vrste	ID uzorka	BOLD ID Sekvence	Lokacija nalaza
<i>Micropterna wagneri</i> Malicky, 1971	TMWAG_1	NIPM001-17	potok u selu Palje, Konavle
<i>Micropterna wagneri</i>	TPWAG_1	NIPM002-17	potok u selu Palje, Konavle
<i>Micropterna wagneri</i>	TRIC_13	CROTR108-19	Spelaeacelicokave, jama, Bridash massif, Albanija
<i>Micropterna nycterobia</i> McLachlan, 1875	TMIC_1	NIPM003-17	rijeka Zrmanja - izvor
<i>Micropterna nycterobia</i>	TMNYC_1	NIPM006-17	rijeka Krupa - Manastir
<i>Micropterna nycterobia</i>	TMNYC_2	CROTR016-19	izvor na Keljevo brdo - Korenica
<i>Micropterna nycterobia</i>	TRIC_10	CROTR174-19	Velika Čulimova pećina, špilja - Kijevo
<i>Micropterna nycterobia</i>	TLIM_3	CROTR055-19	Jama pod sv. Jurom, Biokovo
<i>Micropterna nycterobia</i>	TMSEQ_4	CROTR226-19	Mokre noge, jama, Biokovo
<i>Micropterna nycterobia</i>	TMWAG_2	CROTR055-19	Jama pod sv. Jurom, jama, Biokovo
<i>Micropterna testacea</i> (Gmelin, 1789)	TMTES_2	CROTR026-19	rijeka Lika, izvor
<i>Micropterna testacea</i>	TLIM_5	CROTR098-19	Nova velika, jama, Biokovo
<i>Micropterna testacea</i>	TMTES_3	CROTR028-19	rijeka Gacka, izvor, Mejervo vrilo
<i>Micropterna testacea</i>	TMTES_1	NIPM008-17	rijeka Lika, Bilaj, Gospić
<i>Micropterna lateralis</i> (Stephens, 1837)	TMLAT_1	CROTR002-19	rijeka Lika, izvor
<i>Micropterna lateralis</i>	TLIM_2	NIPM005-17	rijeka Dretulja- Plaški
<i>Micropterna lateralis</i>	TMLAT_2	-	potok Peratovica (izvor) - Bilogora



Tablica 8. Popis korištenih DNA barkod sekvenci dobivenih ovim radom za filogenetsku analizu vrsta roda *Micropterna*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD ID sekvence i lokacija nalaza.

Ime vrste	ID uzorka	BOLD ID Sekvence	Lokacija nalaza
<i>Micropterna sequax</i> McLachlan, 1875	TLIM_2	NIPM005-17	rijeka Dretulja, Plaški, Ogulin
<i>Micropterna sequax</i>	TMSEQ_3	CROTR239-19	jezero Kozjak, pristanište - NP Plitvička jezera
<i>Micropterna sequax</i>	TMSEQ_2	CROTR051-19	jezero Kozjak, most - NP Plitvička jezera
<i>Micropterna sequax</i>	TMSEQ_1	NIPM007-17	potok Marušić, izvor, Roč, Istra
<i>Micropterna sequax</i>	TRIC_12	-	Mahovina, Sozina, Limljani, Virpazzan, Crna Gora
<i>Micropterna sequax</i>	TMIC_2	NIPM004-17	rijeka Una - izvor
<i>Micropterna fissa</i> McLachlan, 1875	TMIC_3m	CROTR045-19	Mokre noge, jama, Biokovo
<i>Micropterna fissa</i>	TMIC_3f	CROTR050-19	Mokre noge, jama, Biokovo
<i>Halesus tessellatus</i>	THDIG_1	NIPM009-17	rijek Zrmanja - izvor

#### 3.4.2.6. Vrste iz roda *Rhyacophila* Pictet, 1834

U analizu su uvrštene sekvence vrsta roda *Rhyacophila* prisutnih u Hrvatskoj koje su dobivenih ovim istraživanjem (Tablica 9) i preuzetim iz BOLD baze. Od navedenih DNA sekvenci načinjeni su jedinstveni haplotipovi. Vrsta iz porodice *Anabolia furcata* Brauer, 1857 korištena je za ukorjenjivanje stabla (Tablica 9, PRILOG 10). Za rekonstrukciju filogenetskog stabla odabrane u metode: NJ i ML. Kod ABGD analize uzeta je vrijednost inicijalne particije s vrijednosti intraspecifične udaljenosti od 0,004.

Tablica 9. Popis korištenih DNA barkod sekvenci dobivenih ovim radom za filogenetsku analizu vrsta roda *Rhyacophila*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD ID sekvence i lokacija nalaza.

Ime vrste	ID uzorka	BOLD ID Sekvence	Lokacija nalaza
<i>Rhyacophila aurata</i> Brauer, 1857	TRAUR_1	CROTR144-19	rijeka Kupa (gornji tok) - Brod na Kupi
<i>Rhyacophila aurata</i>	TRAUR_2	CROTR145-19	rijeka Mrežnica - Belavići
<i>Rhyacophila balcanica</i> Radovanović, 1953	TRBAL_1	-	rijeka Una - izvor
<i>Rhyacophila cabrankensis</i> Malicky, Previšić & Kučinić, 20	TRCAB_1	CROAA089-18	rijeka Čabranka (izvor) - Čabar
<i>Rhyacophila dorsalis</i> Curtis, 1834	TRDOR_1	CROTR257-19	Sutla - Zelenjak, Kumrovec
<i>Rhyacophila dorsalis</i>	TRDOR_2	CROAA060-18	izvor Čabranke
<i>Rhyacophila dorsalis</i>	TRDP_2	CROTR258-19	rijeka Sunja - Kukuruzari
<i>Rhyacophila dorsalis</i>	TRHY_2	CROTR263-19	rijeka Mrežnica - Belavići
<i>Rhyacophila dorsalis</i>	TRDOP_1	CROAA033-18	rijeka Kupa - Brod na Kupi
<i>Rhyacophila dorsalis</i>	TRDOP_2	CROAA034-18	rijeka Kupa - Pribanjci
<i>Rhyacophila dorsalis plitvicensis</i> Kučinić	TRDOP_4	CROTR262-19	jezero Labudovac - Plitvička jezera

Tablica 9. Popis korištenih DNA barkod sekvenci dobivenih ovim radom za filogenetsku analizu vrsta roda *Rhyacophila*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD ID sekvence i lokacija nalaza.

Ime vrste	ID uzorka	BOLD ID Sekvence	Lokacija nalaza
& Malicky, 2002			
<i>Rhyacophila dorsalis plitvicensis</i>	TRDPL_3	CROTR259-19	jezero Labudovac - Plitvička jezera
<i>Rhyacophila dorsalis plitvicensis</i>	TRDPL_1	CROTR259-19	jezero Gavanovac - Plitvička jezera
<i>Rhyacophila dorsalis plitvicensis</i>	TRDPL_4	CROTR261-19	jezero Labudovac - Plitvička jezera
<i>Rhyacophila fasciata</i> Hagen, 1859	TRFAS_1	CROTR264-19	potok Zeleni Vir (izvor)
<i>Rhyacophila fasciata</i>	TRFAS_2	CROTR116-19	Mrežnica, Belavići
<i>Rhyacophila hirticornis</i> McLachlan, 1879	TRHIT_1	CROTR265-19	potok Šumi (izvor) - Ivančica
<i>Rhyacophila loxias</i> Schmid, 1970	TRLOX_2	-	rijeka Veličanka - uzvodno od Požege
<i>Rhyacophila loxias</i>	TRARM_1	-	Sastav reke, NP Mavrovo, Makedonija
<i>Rhyacophila nubila</i> Zetterstedt, 1840	TRDP_1	CROTR267-19	rijeka Petrinjčica - Prnjavor Čuntički
<i>Rhyacophila nubila</i>	TRAUR_3	CROTR198-19	rijeka Petrinjčica - Prnjavor Čuntički
<i>Rhyacophila obliterated</i> McLachlan, 1863	TROBL_1	-	Guriikuq, Kosovo
<i>Rhyacophila obliterated</i>	TROBL_2	-	Kutjevačka rijeka, gornji tok
<i>Rhyacophila palmeni</i> McLachlan, 1879	TRPAL_1	-	Trigona (MKZ), Village, Kardista, Grčka
<i>Rhyacophila palmeni</i>	TRPAL_3	-	KM 10 Manastir: Pejë Municipality, Kosovo
<i>Rhyacophila palmeni</i>	TRPAL_4	-	Fthiotida, Iti-Geb, Pervoli, Grčka
<i>Rhyacophila palmeni</i>	TRPAL_5	-	rijeka Aroanios, Achaias (Achaia), Krinofita, Grčka
<i>Rhyacophila palmeni</i>	TRPAL_6	-	Pika 2, Kosovo
<i>Rhyacophila palmeni</i>	TRPAL_7	CROAA030-18	rijeka Kupa, Pribanjci
<i>Rhyacophila polonica</i> McLachlan, 1879	TRHY_1	-	potok Zeleni Vir (izvor)
<i>Rhyacophila polonica</i>	TRPOL_1a	-	Mushtisht, Kosovo
<i>Rhyacophila praemorsa</i> McLachlan, 1879	TRPRAE_1	CROTR058-19	potok Jankovac (gornji tok) - Papuk
<i>Rhyacophila schmidinarica</i> Urbanič, Krušnik & Malicky, 2000	TRSCH_1	CROTR007-19	izvor na Bjelolasici
<i>Rhyacophila schmidinarica</i>	TRSCH_3	CROTR070-19	izvor Napojište – Plitvički Ljeskovac
<i>Rhyacophila schmidinarica</i>	TRSCH_4	CROTR084-19	izvor Napojište – Plitvički Ljeskovac
<i>Rhyacophila torrentium</i> FJ Pictet, 1834	TRTOR_1	-	potok Zeleni Vir (izvor)
<i>Rhyacophila tristis</i> Pictet, 1834	TRTRI_1	-	Pika 6, Dečan, Kosovo
<i>Rhyacophila tristis</i>	TRTRI_2	-	Kujavqe, Kosovo
<i>Rhyacophila tristis</i>	TRTRI_4	CROAA098-18	izvor potoka vodov, Konavle
<i>Rhyacophila tristis</i>	TRTRI_5	CROTR011-19	izvor potoka vodov, Konavle
<i>Rhyacophila vulgaris</i> Pictet, 1834	TRVUL_1	CROAA031-18	rijeka Kupčina, gornji tok, Vrabac, Žumberak
<i>Anabolia furcata</i> Brauer, 1857	TAFUR_1	CROAA002-18	potok Jankovac (gornji tok) - Papuk

#### 3.4.2.7. Vrste iz roda *Chaetopteryx* Stephens, 1829

U cilju utvrđivanja odnosa između vrsta roda *Chaetopteryx* Stephens, 1829, a posebno vrsta *C. psunjensis* Oláh 2017 i *C. papukensis* Oláh & Szivák, 2012, prikupljeni su novi uzorci ovih dviju vrsta. Za vrstu *C. psunjensis* mjesto s kojeg je prvi put prikupljen uzorak i znastveno

opisan, *locus typicus*, jest izvor Jankovac na Papuku (uzorci TCSCHE\_1, TCSCHE\_1), a za *C. psunjensis* izvor potoka Šumetlica na Psunju (uzorci TCPSU\_1f, TCPSU\_2m). Prikupljeni materijal je analiziran u ovom radu i uspoređen s postojećim DNA sekvencama mitohondrijskog gena *COI*, DNA barkod regije, korištenima u radu Kučinić i sur. (2013), te DNA sekvencama dostupnim na BOLD bazi (Tablica 10, PRILOG 11). Od navedenih DNA sekvenci načinjeni su jedinstveni haplotipovi. Za rekonstrukciju filogenetskog stabla odabrane u metode: NJ, ML i BA. Kod ABGD analize uzete su dvije vrijednosti inicijalne particije s maksimalnom vrijednosti intraspecifične udaljenosti od 0,01 te 0,007. S obzirom da vrste *C. psunjensis* i *C. papukensis* pripadaju kompleksu vrsta *C. rugulosa* s malom genetskom udaljenosti očekuje se manja širina barkod prazine. Za ukorjenjivanje stabala korištene su sekvence vrste *Ecclisopteryx keroveci* Previšić, Graf & Vitecek, 2014.

Tablica 10. Popis korištenih DNA barkod sekvenci dobivenih ovim radom za filogenetsku analizu vrsta roda *Chaetopteryx*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD ID sekvence i lokacija nalaza.

Ime vrste	ID uzorka	BOLD ID Sekvence	Lokacija nalaza
<i>Chaetopteryx fusca</i> Brauer, 1857	TCFUS_1	CROAA082-18	rijeka Zagorska Mrežnica, izvor
<i>Chaetopteryx bosniaca</i> Marinkovic-Gospodnetić, 1959	TAAPF_2	CROAA081-18	rijeka Cetina, izvor Glavaš
<i>Chaetopteryx schmidi</i> Botosaneanu, 1957	TCSCHE_2	CROAA077-18	izvor Škodinovac, Bastaji
<i>Chaetopteryx schmidi</i>	TCSCHE_1	CROAA003-18	potok Jankovac (izvor) - zapadno od Orahovca, Papuk
<i>Chaetopteryx schmidi</i>	TCPSU_1f	CROTR110-19	potok Šumetlica, izvor, Psunj
<i>Chaetopteryx schmidi</i>	TCPSU_2m	CROTR111-19	potok Šumetlica, izvor, Psunj
<i>Chaetopteryx rugulosa</i> Kolenati, 1848	TAGA_3	CROAA122-18	potok Vrklješće, Samoborsko gorje
<i>Chaetopteryx major</i> McLachlan, 1876	TCMAJ_1	CROAA103-18	potok Šumetlice, izvor - Psunj
<i>Ecclisopteryx keroveci</i> Previšić, Graf & Vitecek, 2014	TED_1	CROAA059-18	Rijeka Veličanka
<i>Ecclisopteryx keroveci</i>	TEKER 1	CROTR041-19	rijeka Dretulja - Plaški

#### 3.4.2.8. Vrste iz roda *Potamophylax* Wallengren, 1891

U radu su uspoređeni filogenetski odnosi vrsta roda *Potamophylax* prisutnih u Hrvatskoj (DNA sekvence dobivene ovim radom) s istim vrstama u Europi (DNA sekvence preuzete iz BOLD baze) (Tablica 11, PRILOG 12) na temelju DNA barkod regije. Od navedenih DNA sekvenci načinjeni su jedinstveni haplotipovi. Za ukorjenjivanje stabala korištene su sekvence vrste *Limnephilus sparsus* Curtis, 1834. Za rekonstrukciju filogenetskog stabla odabrane u

metode: NJ i ML. Kod ABGD analize uzeta je vrijednost inicijalne particije s maksimalnom vrijednosti intraspecifične udaljenosti od 0,03.

Tablica 11. Popis korištenih DNA barkod sekvenci dobivenih ovim radom za filogenetsku analizu vrsta roda *Potamophylax*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD ID sekvence i lokacija nalaza.

Ime vrste	ID uzorka	BOLD ID Sekvence	Lokacija nalaza
<i>Potamophylax cingulatus</i> Stephens, 1837	TPCIN_1	CROAA087-18	potok Šumi (izvor) – Ivančica
<i>Potamophylax latipennis</i> (Curtis, 1834)	TPLAT_1	CROAA027-18	rijeka Una, Srb
<i>Potamophylax latipennis</i>	TPLAT_2	CROAA028-18	rijeka Dretulja (izvor)
<i>Potamophylax latipennis</i>	TPLAT_3	CROAA078-18	rijeka Zrmanja (izvor)
<i>Potamophylax latipennis</i>	TPLAT_4	CROAA079-18	rijeka Riječina (izvor)
<i>Potamophylax latipennis</i>	TPROT_2	CROTR207-19	rijeka Gacka, izvor Tonkovića vrilo
<i>Potamophylax luctuosus</i> Piller & Mitterpacher, 1783	TPLUC_1	CROTR282-19	rijeka Kupa - Pribanjci
<i>Potamophylax luctuosus</i>	TPLUC_2	CROAA113-18	rijeka Velika rijeka (Kutjevačka rijeka) (izvor) - Krndija
<i>Potamophylax nigricornis</i> (Pictet, 1834)	TPNIG_1	CROTR022-19	rijeka Velika rijeka (Kutjevačka rijeka) (izvor) - Krndija
<i>Potamophylax pallidulus</i> (Klapalek, 1899)	TPPAL_1	CROAA114-18	Rakov potok, Medvednica
<i>Potamophylax pallidulus</i>	TPPAL_4	CROTR136-19	izvor Napojište
<i>Potamophylax pallidulus</i>	TPPAL_5	CROTR171-19	izvor Crne rijeke, Plitvice
<i>Potamophylax rotundipennis</i> (Brauer, 1857)	TPROT_1	CROAA016-18	rijeka Sava - Drenje Brdovečko
<i>Potamophylax rotundipennis</i>	TPROT_3	CROTR186-19	jezero Gavanovac - NP Plitvička jezera
<i>Limnephilus sparsus</i> Curtis, 1834	TLSPA_2	CROTR025-19	rijeka Dretulja, Plaški

#### 3.4.2.9. Vrste iz roda *Triaenodes* McLachlan, 1865

Provedena je filogenetska analiza na temelju gena *COI*, DNA barkod regija primjerka TTOCL\_1 *Triaenodes ochreellus lefkas*, Malicky 1974 s vrstama iz roda *Triaenodes* McLachlan, 1865. Korištene su DNA sekvence nastale ovim radom (Tablica 12) i one preuzete iz BOLD baze (*T. ochreellus ochreellus* McLachlan, 1877, *T. unanims* McLachlan, 1877, *T. reuteri* (McLachlan, 1880), *T. detruncatus* (Martynov, 1929), *T. simulans* (Tjeder, 1929), *T. plectus* Ulmer, 1908, *T. rufescens* Martynov, 1935, PRILOG 13). Od navedenih DNA sekvenci načinjeni su jedinstveni haplotipovi. Za rekonstrukciju filogenetskog stabla odabrane u metode: NJ i ML. Kod ABGD analize uzeta je vrijednost inicijalne particije s maksimalnom vrijednosti intraspecifične udaljenosti od 0,04. Za ukorjenjivanje stabala korištene su sekvence vrste *Mystacides longicornis* (Linnaeus, 1758).

Tablica 12. Popis korištenih DNA barkod sekvenci dobivenih ovim radom za filogenetsku analizu vrsta roda *Triaenodes*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD ID sekvence i lokacija nalaza.

Ime vrste	ID uzorka	BOLD ID Sekvence	Lokacija nalaza
<i>Triaenodes ochreellus lefkas</i> Malicky 1974	TTOCL_1	NIPTR001-17	rijeka Neretva Opuzen
<i>Triaenodes ochreellus lefkas</i>	TTOCL_2	CROTR015-19	rijeka Mislina (donji tok) - Mlinište
<i>Mystacides longicornis</i> Linnaeus, 1758	TMYS_1	CROAA015-18	rijeka Drava – Gornji Hrašćan

#### 3.4.2.10. Vrste iz roda *Agapetus* Curtis, 1834

Na izvoru Ljute u Konavlima prikupljen je mužjak roda *Agapetus* Curtis, 1834 morfološki najbližiji *A. fuscipes* Curtis, 1834. Kako bi se utvrdilo radi li se o varijaciji unutar vrste *A. fuscipes* ili nekoj drugoj vrsti napravljena je filogenetska analiza na temelju *COI* gena (DNA barkod) regije. U analizu su osim vrste *A. fuscipes* uvrštene tri vrste iz roda *Agapetus* za koje je poznato da imaju areal rasprostiranja u Hrvatskoj: *A. delicatulus* McLachlan, 1884, *A. laniger* Pictet, 1834, *A. ochripes* Curtis, 1834 te vrste koje se može očekivati u fauni Hrvatske. U analizu su uvrštene i vrste roda *Synagapetus* McLachlan, 1879 dobivene ovim radom (Tablica 13) i preuzete iz BOLD baze (*A. slavorum* Botosaneanu 1960, *A. delicatulus* McLachlan, 1884, *A. nimbulus* McLachlan, 1879, *A. padanus* (Bertuetti, Lodovici & Valle, 2004), *S. dubitans* McLachlan, 1879, PRILOG 14). Od navedenih DNA sekvenci načinjeni su jedinstveni haplotipovi. Kako se u BOLD bazi za istovjetne DNA sekvence koristi različiti taksonomski naziv (rod *Agapetus* i *Synagapetus*) u Tablica 13 navedeni su nazivi originalno preuzeti iz BOLD baze u zagradi te nadalje korišteni ujednačeno prema validnoj taksonomiji prema Morse (2019). Za rekonstrukciju filogenetskog stabla odabrane u metode: NJ i ML. Kod ABGD analize uzeta je vrijednost inicijalne particije s maksimalnom vrijednosti intraspecifične udaljenosti od 0,08.

Tablica 13. Popis korištenih DNA barkod sekvenci dobivenih ovim radom za filogenetsku analizu vrsta roda *Agapetus* i *Synagapetus*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD ID sekvence i lokacija nalaza.

Ime vrste	ID uzorka	BOLD ID Sekvence	Lokacija nalaza
<i>Agapetus</i> cf. <i>fuscipes</i>	TAFUS_1	NIP011-17	izvor Ljute, Konavle
<i>Agapetus</i> cf. <i>fuscipes</i>	TAFUS_2	CROTR225-19	izvor Ljute, Konavle
<i>Agapetus</i> cf. <i>fuscipes</i>	TAFUS_3	CROTR230-19	izvor Ljute, Konavle
<i>Agapetus</i> cf. <i>fuscipes</i>	TAFUS_4	CROTR216-19	izvor Ljute, Konavle

Tablica 13. Popis korištenih DNA barkod sekvenci dobivenih ovim radom za filogenetsku analizu vrsta roda *Agapetus* i *Synagapetus*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD ID sekvence i lokacija nalaza.

Ime vrste	ID uzorka	BOLD ID Sekvence	Lokacija nalaza
<i>Agapetus ochripes</i> Curtis, 1834	TAOCH_2	CROTR010-19	Gospin potok, Papuk
<i>Agapetus ochripes</i>	TAOCH_3	CROTR199-19	rijeka Lika, izvor
<i>Agapetus laniger</i> Pictet, 1834	TALAN_1	NIPAG001-17	rijeka Drava, Goričan
<i>Synagapetus moselyi</i> (Ulmer, 1938)	TSMOS_1	NIPAG003-17	potok Crkveni jarak (srednji tok)
<i>Synagapetus krawanyi</i> Ulmer, 1939	TSKRA_1	CROTR153-19	izvor Škodinovac - Bastaji
<i>Synagapetus krawanyi</i>	TAGA_1	CROTR213-19	potok Vrklišće, izvor - Samoborsko gorje
<i>Synagapetus krawanyi</i>	TAGA_2	NIPAG002-17	potok Vrklišće, izvor - Samoborsko gorje
<i>Glossosoma bifidum</i> McLachlan, 1879	TGBIF_1	NIPAG004-17	rijeka Kupčina (izvor, gornji tok) - Žumberak

#### 3.4.2.11. Vrste iz roda *Lepidostoma* Rambur, 1842

S obzirom da nije moguće pouzdano morfološki odrediti ženku vrste *Lepidostoma basale* Kolenati 1848 prema referentnom ključu za određivanje „Atlas of European Trichoptera“ napravljeno je molekularno određivanje metodom DNA barkodiranja. Na lokalitetu Pašina vrela kod sela Mečenčani prikupljen je i morfološki određen mužjak vrste *L. basale* (TLBAS\_2) i ženka morfološki nasličnija navednoj vrsti (TLBAS\_2). U Hrvatskoj je rasprostranjena još jedna vrsta iz roda *Lepidostoma*, *L. hirtum* (Fabricius, 1775) koja je uvrštena u analizu, kao i DNA sekvence tih vrsta iz BOLD baze (Tablica 14, PRILOG 15). Od DNA sekvenci nisu načinjeni jedinstveni haplotipovi, već su korištene pojedinačne sekvence, s obzirom da su većinom korištene DNA sekvence s malim brojem primjeraka nastale ovim radom. Za rekonstrukciju filogenetskog stabla odabrane u metode: NJ i ML. Za ukorjenjivanje stabala korištena je sekvenca vrste *Crunoecia kempnyi* Morton, 1901.

Tablica 14. Popis korištenih DNA barkod sekvenci dobivenih ovim radom za filogenetsku analizu vrsta roda *Lepidostoma*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD ID sekvence i lokacija nalaza.

Ime vrste	ID uzorka	BOLD ID Sekvence	Lokacija nalaza
<i>Lepidostoma basale</i> Kolenati 1848	TLBAS_1	CROAA024-18	Pašina vrela - iznad sela Mečenčani
<i>Lepidostoma basale</i>	TLBAS_2	CROAA025-18	Pašina vrela - iznad sela Mečenčani

Tablica 14. Popis korištenih DNA barkod sekvenci dobivenih ovim radom za filogenetsku analizu vrsta roda *Lepidostoma*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD ID sekvence i lokacija nalaza.

Ime vrste	ID uzorka	BOLD ID Sekvence	Lokacija nalaza
<i>Lepidostoma basale</i>	TLBAS_3	CROTR122-19	rijeka Grab, izvor - Sinj
<i>Lepidostoma hirtum</i> (Fabricius, 1775)	TLHIT_1	CROAA126-18	rijeka Kupa, Pribanjci
<i>Lepidostoma hirtum</i>	TLHIT_2	CROTR053-19	Rudnica izvor
<i>Lepidostoma hirtum</i>	TLHIT_3	CROTR132-19	rijeka Krka, Roški slap
<i>Lepidostoma hirtum</i>	TLHIT_4	CROTR235-19	rijeka Krka, HE Miljacka
<i>Lepidostoma hirtum</i>	TLHIT_5	CROTR218-19	jezero Labudovac, Plitvička jazera
<i>Crunoecia kempnyi</i> Morton, 1901	TCKEM_1	CROTR074-19	rijeka Cetina, selo Totići

#### 3.4.2.12. Vrsta *Rhyacophila schmidinarica* Urbanič, Krušnik & Malleky, 2000

S obzirom da nije moguće morfološki odrediti ženku vrste *Rhyacophila schmidinarica* prema referentnom ključu za određivanje „Atlas of European Trichoptera“ napravljeno je molekularno određivanje. Metoda DNA barkodiranja korištena je kako bi povezali mužjaka vrste *R. schmidinarica* s lokaliteta izvor Napojište – Plitvički Ljeskovac (ID uzorka: TRSCH\_3) i ženke roda *Rhyacophila* s istog lokaliteta (TRSCH\_4). Vrsta *Plectrocnemia conspersa* (Curtis, 1834) korištena je za ukorjenjivanje stabla. Osim primjeraka dobivenih ovim radom, u analizu su uvršteni primjerci vrste *Rhyacophila hirticornis* McLachlan, 1879 koja je morfološki najbližnja i stoga najčešće krivo morfološki određena (Tablica 15). Od DNA sekvenci nisu načinjeni jedinstveni haplotipovi, već su korištene pojedinačne sekvence, s obzirom da su većinom korištene DNA sekvence s malim brojem primjeraka nastale ovim radom (Tablica 15, PRILOG 16). Za rekonstrukciju filogenetskog stabla odabrane u metode: NJ i ML.

Tablica 15. Popis korištenih DNA barkod sekvenci dobivenih ovim radom za filogenetsku analizu vrsta roda *Rhyacophila*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD ID sekvence i lokacija nalaza.

Ime vrste	ID uzorka	BOLD ID Sekvence	Lokacija nalaza
<i>Rhyacophila schmidinarica</i> Urbanič, Krušnik & Malleky, 2000	TRSCH_1	CROTR007-19	izvor na Bjelolasici
<i>Rhyacophila schmidinarica</i>	TRSCH_3	CROTR070-19	izvor Napojište – Plitvički Ljeskovac
<i>Rhyacophila schmidinarica</i>	TRSCH_4	CROTR084-19	izvor Napojište – Plitvički Ljeskovac
<i>Plectrocnemia conspersa</i> (Curtis, 1834)	TPCON_2	CROTR008-19	izvor na Bjelolasici

3.4.2.13. Vrste iz roda *Hydropsyche* Pictet, 1834

S obzirom da nije moguće morfološki odrediti ženku vrste *Hydropsyche angustipennis* Curtis 1834 prema referentnom ključu „Atlas of European Trichoptera“, napravljeno je molekularno određivanje metodom DNA barkodiranja. U analizu je uvršten morfološki određeni mužjak vrste *H. angustipennis* te primjerak ženke roda *Hydropsyche* s iste lokacije, potok Dubočanka blizu mjesta Tribalj. U analizu su uvrštene i druge vrste iz roda *Hydropsyche* koje imaju areal u Hrvatskoj prikupljene ovim radom (Tablica 16) i preuzete iz BOLD baze (*H. guttata* Pictet, 1834, *H. ornatula* McLachlan, 1878). Također, metodom DNA barkodiranja nastojala se potvrditi nova vrsta za faunu Hrvatske morfološki određena kao *H. bulbifera* McLachlan, 1878. Osim vrsta iz roda *Hydropsyche* nastalih ovim radom preuzete su DNA sekvence iz BOLD baze vrsta koji su zabilježene u Hrvatskoj (Tablica 16, PRILOG 17). Od DNA sekvenci nisu načinjeni jedinstveni haplotipovi, već su korištene pojedinačne sekvence, s obzirom da su većinom korištene DNA sekvence s malim brojem primjeraka nastale ovim radom. Za ukorjenjivanje stabala korištene su sekvence vrste *Plectrocnemia conspersa* (Curtis, 1834). Za rekonstrukciju filogenetskog stabla odabrane u metode: NJ i ML.

Tablica 16. Popis korištenih DNA barkod sekvenci dobivenih ovim radom za filogenetsku analizu vrsta roda *Hydropsyche*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD ID sekvence i lokacija nalaza.

Ime vrste	ID uzorka	BOLD ID Sekvence	Lokacija nalaza
<i>Hydropsyche angustipennis</i> (Curtis, 1834)	THANG_1	CROAA119-18	Baranjska Karašica, Popovac
<i>Hydropsyche angustipennis</i>	THANG_2	CROAA108-18	potok Dubračina, Tribalj
<i>Hydropsyche angustipennis</i>	THANG_3	CROAA109-18	potok Dubračina, Tribalj
<i>Hydropsyche bulbifera</i> McLachlan, 1878	THBUB_1	CROAA005-18	potok Bistra, Medvednica
<i>Hydropsyche bulbifera</i>	THBUB_3	CROTR039-19	rijeka Gacka-Otočac
<i>Hydropsyche bulgaromanorum</i> Malicky, 1977	THBUL_1	CROAA056-18	rijeka Dunav - Zlatna Greda
<i>Hydropsyche bulgaromanorum</i>	THBUL_2	CROAA055-18	rijeka Dunav - Zlatna Greda
<i>Hydropsyche contubernalis</i> McLachlan, 1865	TCHE_1	CROAA076-18	rijeka Drava, Goričan
<i>Hydropsyche contubernalis</i>	THCON_2	CROTR269-19	potok Bistra
<i>Hydropsyche contubernalis</i>	THCON_1	CROAA006-18	rijeka Sava (srednji tok) - Orle
<i>Hydropsyche contubernalis</i>	THCON_3	CROTR219-19	rijeka Sunja, Kukuruzari
<i>Hydropsyche dinarica</i> Marinković-Gospodnetić, 1979	THDIN_1	CROTR150-19	rijeka Čabranka, most nizvodno od Čabra
<i>Hydropsyche fulvipes</i> (Curtis, 1834)	THINS_8	CROTR163-19	Palje brdo-Konavle
<i>Hydropsyche incognita</i> Pitsch, 1993	THINC_3	CROAA123-18	rijeka Toplica - Batinjani, Papuk
<i>Hydropsyche incognita</i>	THINC_5	CROTR036-19	rijeka Voćinska - Voćin
<i>Hydropsyche incognita</i>	THINC_11	CROTR119-19	rijeka Dobra - Priselci, ušće
<i>Hydropsyche instabilis</i> (Curtis, 1834)	THINS_2	CROTR238-19	potok Velika Paklenica-Anića kuk
<i>Hydropsyche instabilis</i>	THINS_5	CROTR270-19	potok Plitvice, Plitvička jezera,



Tablica 16. Popis korištenih DNA barkod sekvenci dobivenih ovim radom za filogenetsku analizu vrsta roda *Hydropsyche*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD ID sekvence i lokacija nalaza.

Ime vrste	ID uzorka	BOLD ID Sekvence	Lokacija nalaza
<i>Hydropsyche instabilis</i>	THINS_6	CROTR091-19	izvor Grab
<i>Hydropsyche instabilis</i>	THINS_7	CROTR151-19	Cetina, Čikotina lađa
<i>Hydropsyche instabilis</i>	THINS_3	CROTR162-19	Gospin potok, Papuk
<i>Hydropsyche instabilis</i>	THINS_9	CROTR142-19	rijeka Dobra - izvor
<i>Hydropsyche instabilis</i>	THINS_10	CROTR242-19	rijeka Krka - Miljacka
<i>Hydropsyche instabilis</i>	THINS_4	CROTR201-19	izvor Rječine
<i>Hydropsyche instabilis</i>	THYD_1	CROAA053-18	jezero Crna Mlaka
<i>Hydropsyche modesta</i> Navas, 1925	THMOD_1	CROAA046-18	rijeka Sava-Drenje Brdovečko
<i>Hydropsyche mostarensis</i> Klapalek, 1898	THMOS_1	CROTR086-19	rijeka Krka - Miljacka
<i>Hydropsyche pellucidula</i> (Curtis, 1834)	THYD_1	CROTR271-19	jezero Crna Mlaka
<i>Hydropsyche pellucidula</i>	THPEL_2	CROTR155-19	jezero Ponikve- otok Krk
<i>Hydropsyche pellucidula</i>	THINC_1a	CROTR194-19	rijeka Mirna- Livade
<i>Hydropsyche saxonica</i> McLachlan, 1884	THSAX_1	CROAA070-18	potok Vrba, Muć
<i>Hydropsyche saxonica</i>	THSAX_2	CROTR149-19	potok Vrba, Muć
<i>Hydropsyche saxonica</i>	THSAX_3	CROTR202-19	potok Mlini, Ugrini
<i>Hydropsyche saxonica</i>	THINC_3	CROAA123-18	rijeka Toplica - Batinjani, Papuk
<i>Hydropsyche saxonica</i>	THSAX_4	CROTR229-19	rijeka Milka Trnina
<i>Plectrocnemia conspersa</i> (Curtis, 1834)	TPCON_2	CROTR008-19	Bjelolasica izvor

#### 3.4.2.14. Vrste iz roda *Glossosoma* Curtis, 1834

S obzirom da nije moguće morfološki odrediti ličinku vrste *Glossosoma discophorum* Klapalek, 1902, napravljeno je molekularno određivanje metodom DNA barkodiranja. U analizu je uvršten mužjak morfološki određeni kao vrsta *G. discophorum* (TGDIS\_7) te primjerak ličinke roda *Glossosoma* (TGDIS\_5) s iste lokacije. U analizu su uvrštene i druge vrste roda *Glossosoma* za koje je poznato da imaju areal u Hrvatskoj: *G. bifidum* McLachlan, 1879, *G. conformis* Neboiss, 1963, *G. neretvae* Marinkovic, 1988 (Tablica 17) te sekvence iz BOLD baze onih vrsta koje se nisu prikupile u ovom radu (PRILOG 18). S obzirom na manji broj vrsta i manji broj primjeraka, od DNA sekvenci nisu načinjeni jedinstveni haplotipovi, već su korištene pojedinačne sekvence. Za rekonstrukciju filogenetskog stabla odabrane u metode: NJ i ML. Kod ABGD analize uzeta je vrijednost inicijalne particije s maksimalnom vrijednosti intraspecifične udaljenosti od 0,08. Vrsta *Agapetus ochripes* Curtis, 1834 korištena je za ukorjenjivanje stabla.

Tablica 17. Popis korištenih DNA barkod sekvenci dobivenih ovim radom za filogenetsku analizu vrsta roda *Hydropsyche*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD ID sekvence i lokacija nalaza.

Ime vrste	ID uzorka	BOLD ID Sekvence	Lokacija nalaza
<i>Glossosoma bifidum</i> McLachlan, 1879	TGBIF_1	NIPAG004-17	rijeka Kupčina, izvor, Žumberak
<i>Glossosoma conformis</i> Neboiss, 1963	TGCON_1	CROTR210-19	potok Bliznec, Medvednica
<i>Glossosoma conformis</i>	TGCON_2	CROTR014-19	potok Bliznec, Medvednica
<i>Glossosoma discophorum</i> Klapalek, 1902	TGDIS_1	CROAA004-18	rijeka Tounjčica (izvor)
<i>Glossosoma discophorum</i>	TGDIS_2	CROAA035-18	izvor Vitunjčice
<i>Glossosoma discophorum</i>	TGDIS_3	CROAA036-18	izvor Slunjčice
<i>Glossosoma discophorum</i>	TGDIS_4	CROAA036-18	izvor Une
<i>Glossosoma discophorum</i>	TGDIS_5	CROAA064-18	Mali Rumin
<i>Glossosoma discophorum</i>	TGDIS_6	CROTR057-19	izvor potoka Plitvice
<i>Glossosoma discophorum</i>	TGDIS_7	CROTR063-19	Mali Rumin
<i>Glossosoma discophorum</i>	TGDIS_8	CROTR090-19	izvor Grab
<i>Glossosoma neretvae</i> Marinkovic, 1988	TGNER_1	CROTR052-19	rijeka Neretva - Žitomislić, Bosna i Hercegovina
<i>Glossosoma neretvae</i>	TGNER_2	CROTR059-19	rijeka Neretva – Žitomislić, Bosna i Hercegovina
<i>Glossosoma klotho</i> Malicky, 2003	TGKLO_3 a	CROTR093-19	rijeka Bistrica, Te Manastir Mulla, Pejë, Kosovo
<i>Agapetus ochripes</i>	TAOCH_2	CROTR010-19	Gospin potok - Šumarska kuća Duboka, Velika, Papuk

#### 3.4.2.15. Vrste iz roda *Diplectrona* Westwood, 1839

Morfološkim pregledom ličinki roda *Diplectrona* prikupljenih na izvoru rijeke Ljute, Konavle, uočeno je da se razlikuju od ličinki roda *Diplectrona* rasprostranjenih ostalim dijelovima Hrvatske. Nakon toga slijedila je molekularna analiza koja je uključila odrasle primjerke s navedene lokacije te primjerke *D. atra* McLachlan, 1878 s Papuka gdje su prikupljeni uzorci ličinki i odraslih. Osim primjeraka iz Hrvatske u analizu su uvršteni primjerci *D. atra* iz Bosne i Hercegovine, Kosova, Makedonije, Crne Gore i Albanije. Kao referentni primjerci uzeti su *D. felix* McLachlan, 1878 i *D. atra* iz Francuske od kuda su i opisane ove dvije vrste (Tablica 18). Osim DNA sekvenci vrsta nastalih ovim radom preuzete su sekvence iz BOLD baze (*D. obscura* Ulmer, 1930, *D. aurovittata* (Ulmer, 1906), *D. metaqui* Ross, 1970, *D. modesta* Banks, 1908, *D. zealandensis* Mosely, 1953), a vrste iz roda *Hydropsyche* korištene su za ukorjenjivanje filogenetskog stabla (*H. pelucidulla* (Curtis, 1834), *H. siltalai* Doehler, 1963). Od navedenih DNA sekvenci načinjeni su jedinstveni haplotipovi. Setovi podataka i duljina sravnjenja korišteni za rekonstrukciju filogenetskih

odnosa vrsta roda *Diplectrona* navedeni su tablici (Tablica 19). Kod ABGD analize uzeta je vrijednost inicijalne particije s maksimalnom vrijednosti intraspecifične udaljenosti od 0,08.

Tablica 18. Oznake, lokaliteti prikupljanja, DNA kodovi analiziranih primjeraka roda *Diplectrona* te duljine sekvencioniranih fragmenata četiri molekularna biljega uzoraka analiziranih u studiji. Kratice: pb = parova baza, FR = Francuska, HR= Hrvatska, KOS = Kosovo, MK = Republika Sjeverna Makedonija, MNE = Crna Gora, AL = Albanija.

Ime vrste	ID uzorka	Oznaka uzorka (voucher)	Lokacija nalaza	Molekularni biljeg (gen)			
				COI	16S rRNA	wg	CA D
				(duljina sekvencioniranog fragmenata u pb)			
<i>Diplectrona atra</i> McLachlan, 1878	DATBH_1	DatBH0101M	BiH: Sutjeska, NP Jabučica sastavci	1038	537		
<i>Diplectrona atra</i>	DATFR_1	DatFR0101M	FR: Belvoeer, Doubs	1127	537	418	850
<i>Diplectrona atra</i>	DATFR_2	DatFR0102M		1120	514	418	818
<i>Diplectrona atra</i>	DATFR_3	DatFR0103F		1168			
<i>Diplectrona atra</i>	DATFR_4	DatFR0104F		1168			
<i>Diplectrona atra</i>	DATH_1	DatHR0301M	HR: Gospin izvor, Papuk	658	515	418	850
<i>Diplectrona atra</i>	DATH_3	DatHR0303M		1168			
<i>Diplectrona atra</i>	DATH_4	DatHR0304F		1168		418	818
<i>Diplectrona atra</i>	DATH_6	DatHR0201M	HR: Dubočanka, Papuk	1040	537	418	850
<i>Diplectrona atra</i>	DATH_8	DatHR0203M		1068	511	418	850
<i>Diplectrona atra</i>	DATH_9	DatHR0204M		1019			
<i>Diplectrona atra</i>	DATH-10	DatHR0205M		1059			
<i>Diplectrona atra</i>	DATKO_1	DatKO0401M	KOS: odujevë Municipality, selo Murgull izvorišno područje rijeke Lla, uz glavnu cestu	1147			
<i>Diplectrona atra</i>	DATKO_2	DatKO0402M		1147	551	418	818
<i>Diplectrona atra</i>	DATKO_4	DatKO0404M		1168	528	418	850
<i>Diplectrona atra</i>	DATKO_5	DatKO0501M	KOS: Drini burim, Pejë Municipality, selo Radac, izvorišno područje rijeka Drini i Bardhë	1155			
<i>Diplectrona atra</i>	DATKO_6	DatKO0601M	KOS: Bajgorë, Mitrovicë Municipality, izvorišno područje rijeke Kaçandoll, uz glavnu cestu	1146			
<i>Diplectrona atra</i>	DATMK_1	DatMK0101	MK: Mavrovo, Rosočki livadi, Kalin izvor, Rosočka reka	1039		418	850
<i>Diplectrona atra</i>	DATMK_2	DatMK0102F		1032	538	418	818
<i>Diplectrona atra</i>	DATMN_1	DatMN0101	MNE: Andrijevica, Aksov potok	1168			
<i>Diplectrona atra</i>	DATMN_3	DatMN0301	MNE: Andrijevica, Desni prtok Zlorečice	1168	528	391	850
<i>Diplectrona atra</i>	DATMN_4	DatMN0401	MNE: Andrijevica, Rajeva rijeka	1003			
<i>Diplectrona atra</i>	DATMN_5	DatMN0501	MNE: Murinska rijeka i izvori	910			
<i>Diplectrona atra</i>	DATMN_6	DatMN0502		1048	551	418	818
<i>Diplectrona atra</i>	DIPL_1	DspHR0101	HR: Izvor Ljute, Konavle	620			
<i>Diplectrona atra</i>	DSPH_2	DspHR0102		972	524	391	850
<i>Diplectrona atra</i>	DSPH_4	DspHR0104		658	524	391	818
<i>Diplectrona atra</i>	TDATR_1	TDATR_1		1030	546	418	818

Tablica 18. Oznake, lokaliteti prikupljanja, DNA kodovi analiziranih primjeraka roda *Diplectrona* te duljine sekvencioniranih fragmenata četiri molekularna biljega uzoraka analiziranih u studiji. Kratice: pb = parova baza, FR = Francuska, HR= Hrvatska, KOS = Kosovo, MK = Republika Sjeverna Makedonija, MNE = Crna Gora, AL = Albanija.

Ime vrste	ID uzorka	Oznaka uzorka (voucher)	Lokacija nalaza	Molekularni biljeg (gen)			
				<i>COI</i>	<i>16S</i> rRNA	<i>wg</i>	<i>CAD</i>
				(duljina sekvencioniranog fragmenta u pb)			
<i>Diplectrona atra</i>	TDATR_2	TDATR_2		1030	546	418	850
<i>Diplectrona atra</i>	DVAAL_1	DvaAL0101M	AL: potok u selu Moglicë, Korçë, Opari	1168	512	418	850
<i>Diplectrona atra</i>	DVAAL_2	DvaAL0102M		1168	534	418	818
<i>Diplectrona atra</i>	DVAAL_3	DvaAL0103M		1146			
<i>Diplectrona atra</i>	DVAAL_4	DvaAL0105L		1146			
<i>Diplectrona atra</i>	DVAAL_5	DvaAL0106L		1168	512	418	818
<i>Diplectrona felix</i> McLachlan, 1878	DFEFR_1	DfeFR0101M	FR: Leoinassiere	658	489	418	850
<i>Diplectrona felix</i>	DFEFR_2	DfeFR0102M		1065	488	418	818
<i>Diplectrona felix</i>	DFEFR_3	DfeFR0103M		658	514	418	818
<i>Diplectrona felix</i>	DFEFR_4	DfeFR0104M		658			

Tablica 19. Setovi podataka i duljina sravnjenja u parovima baza korišteni za rekonstrukciju filogenetskih odnosa vrsta roda *Diplectrona*.

SET PODATAKA		DULJINA SRAVNJENJA (pb)
1	<i>COI</i> 5' (DNA barkod regija)	658
2	<i>COI</i> 5',3' (DNA barkod regija i nizvodna regija gena)	1168
3	<i>16S</i> rRNA	509
4	<i>CAD</i>	818
5	<i>wg</i>	418
6	konkatenirane mitohondrijske sekvence: <i>COI</i> 5',3' + <i>16S</i> rRNA	1677
7	konkatenirane nuklearne sekvence: <i>wg</i> + <i>CAD</i>	1236
8	konkatenirane mt i nukl. sekvence: <i>COI</i> 5',3' + <i>16S</i> rRNA + <i>wg</i> + <i>CAD</i>	2913

#### 3.4.2.16. Filogenetsko stablo tulara Hrvatske

Uz pomoć analitičkog alata BOLD baze (eng. workbench) konstruirano je filogenetsko stablo svih DNA barkod sekvenci dobivenih ovih radom. Za konstrukciju stabla unutar BOLD baze korištena je opcija Taxon ID tree, odabran je tip filogenetskog stabla: filogram i kružni filogram, model genetske udaljenosti: Kimura 2 parametar, metoda konstrukcije: susjedno sparivanje, sekvence su usklađene BOLD Aligner (eng. Amino Acid based HMM), genetske udaljenosti izračunate pomoću udvojenih distanci (eng. Pairwise Deletion), uključene su sve

pozicije kodona. Korištene su samo pojedinačne DNA sekvence nastale ovim radom i stoga nisu načinjeni jedinstveni haplotipovi.

### 3.4.3. Rasprostranjenost i brojnost tulara

Do sada je poznato više od 16 267 vrsta tulara u 632 roda i 63 porodice (Morse 2019), a po brojnosti su sedmi red kukaca. Smatra se da je ova velika raznolikost posljedica proizvodnje svilenih niti iz usnog aparata u ličinačkom stadiju čime su stvorili mogućnost naseljavanja različitih vodenih staništa (Mackay i Wiggins 1979). Tulari su široko rasprostranjeni i nastanjuju gotovo sva slatkovodna staništa: od planinskih potoka do nizinskih rijeka, močvare, jezera, izvore, hidropetrik, pa čak i bočate vode. Prvotna staništa koja su tulari nastanjivali nakon prelaska u vodeni ekosustav su hladne tekućice (Wiggins 1977). Pojedine vrste nastanjuju specifične dijelove slatkovodnih staništa (npr. samo izvorišnu zonu ili samo donje dijelove toka). Među tularima česta je pojava endema, vrsta koje imaju uski areal. Pojedine vrste tulara pojavljuju se samo u određenim mikrostaništima, na različitim podlogama (npr. samo na pješčanoj podlozi ili samo na podlozi obrasloj algama ili krojenjem), hidrologiji (npr. preferiraju središnji tok rijeke gdje su struje jake, ili samo sporotekuće dijelove obrasle makrofitima) (Graf i sur. 2008).

### 3.4.4. Životni ciklus tulara

U svom životnom ciklusu većina tulara vezana je za vodene ekosustave uz nekoliko iznimaka koje su terestričke. Tipična staništa terestričkih tulara su vlažna tresetišta s mahovinama i tlo s otpalim lišćem bjelogoričnih šuma. U Europi su poznate terestričke vrste koje pripadaju porodici Limnephilidae: *Enoicyla pusilla* Burmeister, 1939 i *Enoicyla reichenbachii* (Kolenati 1848), *Architremma ulachensis* Mart (Hickin 1967), a u Sjevernoj Americi *Philocasca demita* Ross 1941 i *Ironoquia parvula* (Wiggins 1977). Najveći broj vrsta tulara ima jednu generaciju godišnje (univoltne vrste), ali postoje i vrste s dvije ili više generacija u jednoj godini (multivoltne), te vrste s višegodišnjim ciklusom (semivoltne). Mnogim tularima treba jedna godina da završe jednu generaciju, no poznate su i vrste kojima treba tri godine (Holzenthal i sur. 2015). Dominantan utjecaj na trajanje životnog ciklusa ima temperatura, koja je određena prvenstveno nadmorskom visinom, zemljopisnom širinom, te klimom i reljefom područja na kojima vrste obitavaju (Kučinić 2002). Kod najvećeg broja vrsta period pojavljivanja odrasle jedinke traje od proljeća do jeseni (Hickin 1967). Kod vrsta hladne klime kao što je *Chaetopteryx* zabilježena je emergencija i do zime, točnije do siječnja (Kučinić i sur. 2013).

Životni ciklus tulara započinje jajašcem. Ženke polažu jajašca uložena u ljepljivi, želatinuozi, polisaharidni matriks. Jajašaca može biti od desetak do 800. Vrijeme polaganja

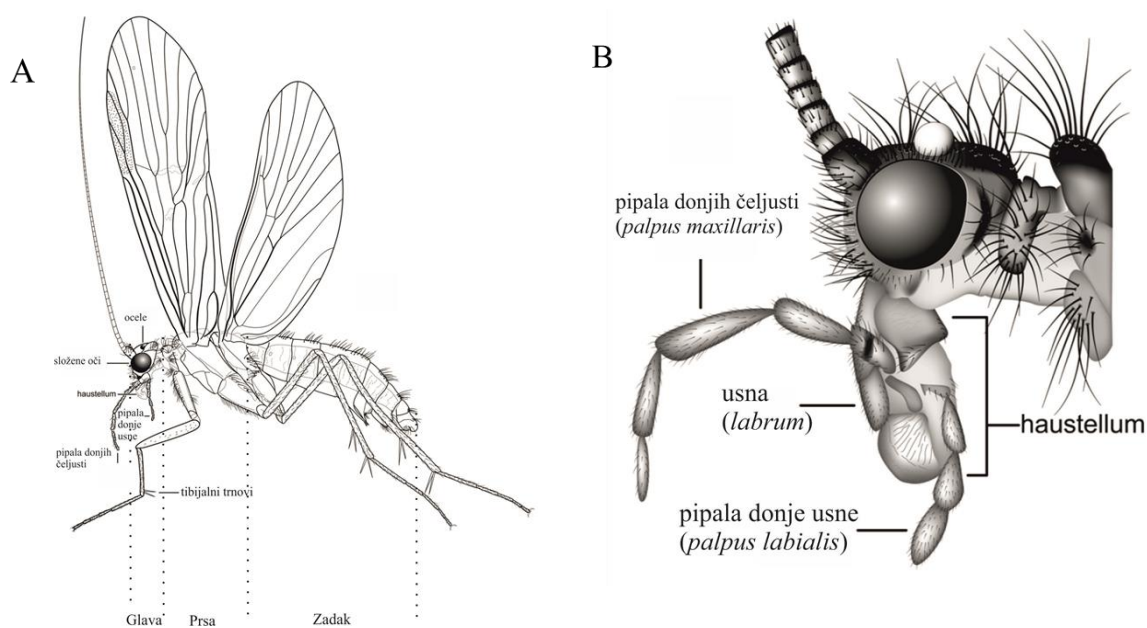
jajašaca određeno je vrstom i klimatskim uvjetima. Poznata su tri modela polaganja jajašaca (Solem i Gullerfors 1996): na površini vode, unutar vode na različitom supstratu (kamenje, dijelove biljaka) i na obalnu vegetaciju ili objekte.

Ličinke se u jajašcima razvijaju dva do tri tjedna. Većina jajašaca razvija se u proljeće i ljeto. Najveći dio životnog ciklusa tulari provode u ličinačkom stadiju. Kreću se po supstratu vodenih staništa ili nošene strujom vode – driftom. Ponekad ličinke prelaze u stanje mirovanja – dijavapauzu, obično zimi kada je temperatura vode niska i zalihe hrane male (Elliot 1968). Nakon što ličinke dosegnu određenu veličinu zakukulje se. Oni koji žive u kućicama zakukulje se u njima, a slobodno živući primjerci naprave si košuljicu od iste tvari od koje rade mrežice - kokon. U stanju kukuljice provode nekoliko mjeseci. Nakon preobrazbe izlaze iz kukuljica kao odrasle jedinke obično po noći i pužući prema površini do obližnje vegetacije (Malicky 2004). Proces prelaska iz vodenog u kopneni ekosustav naziva se emergencija (Daries 1984). Na vrijeme i trajanje emergencije utječu razni ekološki čimbenici (nadmorska visina, temperatura zraka, vlažnost, mjesečeve mijene, geografski položaj, temperatura) (Corbet 1964). Odrasli žive nekoliko dana do nekoliko tjedana uglavnom na zalihama prikupljenim u ličinačkom stadiju uz povremeni unos tekućine. Odrasle jedinke nekih skupina kao što je porodica Limnephilidae imaju dijavapauzu - mirovanje od nekoliko tjedana prije nego razviju jajašca. Odrasle jedinke najaktivnije su u sumrak. Mužjaci prilaze ženkama privučeni hormonima ili se pare u rojenju. Uglavnom dolazi do rojenja - skupljanja mužjaka i ženki u velikom broju tvoreći oblak za vrijeme parenja. Rojenje traje od 2 do 15 tjedana, a kod nekih vrsta može biti 2 ili više sezona rojenja. Postoje slučajevi kada su ženke slabo pokretne ili nepokretne te feromonima privuku mužjake (npr. kod roda *Chaetopteryx*). Tokom života mužjaci i ženke se pare nekoliko puta s različitim partnerima. Ženke se nakon prvog parenja i polaganja jaja još neko vrijeme hrane i ponavljaju parenje i polaganje jaja (Petersson i Hasselrot 1994). Poznato je ponavljanje „kolonizacijski ciklus“ kada ženke polažu jaja uzvodno od mjesta emergencije do kojeg su se ličinke driftom spustile nizvodno (Statzner 1978). Postoje i slučajevi partenogeneze kod tulara kao što je slučaj kod vrsta roda *Apatania* Kolenati, 1847 kod kojih nisu poznati mužjaci (Malicky 2005).

### 3.4.5. Morfološke značajke tulara

Veličina tulara je od 1,5-3 mm koliko su velike neke vrste iz porodice Hydroptilidae i Glossosomatidae do 45 mm velikih vrsta iz porodice Phryganeidae. Porodica Hydroptilidae

uključuje najmanje tulare (odrasle jedinke veličine su oko 2-5 mm) i nazivaju se mikrotularima. Tijelo tulara podijeljeno je na glavu (*caput*), prsa (*torax*) i zadak (*abdomen*) (Slika 6 A). Na glavi, koja je u hipognatnom položaju u odnosu na tijelo, nalaze se dobro razvijena ticala sastavljena od većeg broja članaka. Sastavljene oči uvijek su prisutne, dok prisutnost jednostavnih očiju, ocela, ovisi o rodu, odnosno porodici i stoga čini karakteristiku bitnu prilikom određivanja (Malicky 2004). Odrasle jedinke imaju reduciran usni aparat za lizanje tekućine (biljnih sokova, nektara lisnih ušiju). Usni aparat čini strukturu jedinstvenu za ovaj red – *haustelum*. Haustelum je nastao spajanjem vršnog dijela donje usne (*labium*) i podždrijelnog žlijeba (*hypopharynx*) (Holzenthal i sur. 2007). Na usnom aparatu dobro su razvijena pipala donjih čeljusti (*palpus maxillaris*) i pipala donje usne (*palpus labialis*). Za određivanje imaga posebno je bitan broj članaka u gornjočeljusnim pipalima, koji se kreće od 3 do 5 (Malicky 2004) (Slika 6 B).



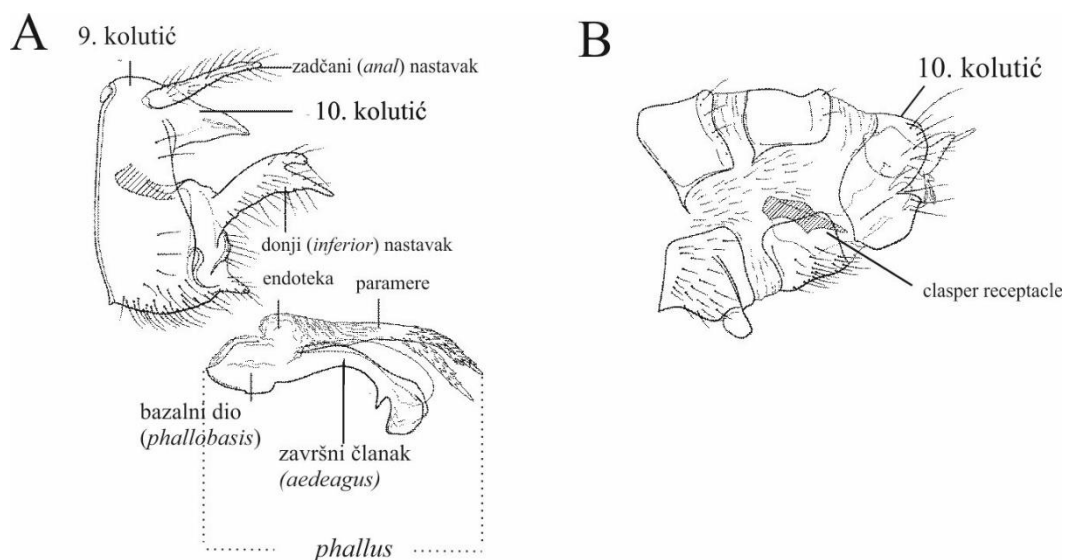
Slika 6. A-B. Vanjski izgled odraslog tulara (A – podjela tijela na osnovne dijelove, B – dijelovi usnog aparata. Preuzeto i prilagođeno iz Holzenthal i sur. (2007).

Odrasle jedinke imaju krila i tijelo prekriveno dlakama te su obično neupadljivih boja (smeđi, sivi, žuti, crni...). Na prsima se nalaze dva para krila i tri para nogu za hodanje. Letenje omogućuje disperziju vrste. Tulari uglavnom lete desetak metara od vodenog staništa (Sode i Wiber-Larsen 1993). Pojedine vrste iz porodice Limnephilidae lete daleko od slatkovodnih tijela u kojima su emergirali i to nekoliko desetaka kilometara uzvodno ili na veće nadmorske



visine (Malicky 1987). Zabilježeno je da se vrsta *Potamophylax cingulatus* Stephens, 1837 širi minimalnom brzinom od 7,3 km godišnje (Gíslason i sur. 2015). Općenito se smatra da je maksimalna udaljenost do koje se tulari mogu širiti 30-40 km (Collier i Smith 1998).

Na nogama tulara nalaze se tibijalni trnovi-ostruge čiji broj može varirati od 0-4. Broj trnova čini formulu po kojoj se mogu odrediti rodovi ili porodice. Zadak se sastoji od 11 kolutića, a zadnja tri sudjeluju u izgradnji muškog i ženskog spolnog aparata. Genitalni aparat mužjaka specifičan je za svaku vrstu i predstavlja najbolji način da se točno utvrdi taksonomska pripadnost. Ženski genitalni aparat je jednostavniji od muškog, stoga je pregledom nekih skupina moguće odrediti jedinke ženki do razine vrste, no kod nekih je određivanje nepouzđano ili gotovo nemoguće. S trbušne strane 9. kolutića zatka mužjaka nalaze se parni gonopodiji (od jednog ili dva članka) i služe za pridržavanje ženke prilikom parenja. Deseti kolutić zadka dosta je kraći i uži od devetog i često može biti različitog oblika. Kod porodice Rhyacophilidae, koja je filogenetski najstarija porodica, jače su izraženi gonopodiji, a kod ostalih su slabije izraženi, dok su kod porodice Psychomyiidae potpuno reducirani. Ispod 10. kolutića nalazi se muški kopulacijski organ (*phallus*) (Slika 7 A), a smješten je u posteriornom dijelu 9 kolutića. *Phallus* se sastoji od pokretnog bazalnog dijela (*phallobasis*) i završnog članka (*aedeagus*), na čijem se vršnom dijelu nalazi otvor sjemenovoda (*ductus ejaculatoris*). Unutrašnja struktura genitalnog aparata kod ženki koja prima *phallus* tijekom kopulacije zajedno sa spermalnim sadržajem može biti kompleksna i specifična za vrstu (Slika 7 B).



Slika 7. A-B. Slika kopulacijski organa odraslog tulara: A - muški genitalni aparat, B – ženski genitalni aparat. Preuzeto i prilagođeno iz Holzenthal i sur. (2007).

Ličinke imaju hitiniziranu glavu na kojoj razlučujemo: gornje i donje čeljusti, gornja i donja usna, glaveni štitić (*clypeus*), ticala odnosno njihovi začeci, čelo, tjeme, zatiljak, obraze (*genae*). Oblik glavenog štitića koristi se za razlikovanje pojedinih vrsta. Ticala su kratka i sastavljena od jednog segmenta, često degradirana u zrelijim stadijima. Jednostavne oči su prisutne na obrazima, ali ne predstavljaju važno osjetilo s obzirom da ličinke život provode skrivajući se u supstratu. Položaj očiju ovisi o načinu prehrane: predatorske ličinke imaju oči smještene na prednjem rubu obraza, a biljojedne na stražnjem. Ličinke imaju dobro razvijene organe za grizenje. Najviše se ističu gornje čeljusti (*mandibule*) koje su jako hitinizirane i prilagođene načinu prehrane ličinke. Tako u vrsta porodica Rhyacophilidae, Philopotamidae, Polycentropidae na rubu imaju zubiće u obliku noža ili srpa, a kod vrsta iz porodice Limnephilidae zubići su uvijek tupi, a u određenim slučajevima mogu i nedostajati, npr. u nekih vrsta roda *Drusus* (Kučinić i sur. 2015a, 2016, Waringer i sur. 2013). Na tri prsna kolutića smještene su dobro razvijene noge za hodanje. Raznolika je hitiniziranost prsnih kolutića. Tako kod vrsta porodice Hydroptilidae i Hydropsychidae sva tri kolutića su hitinizirana, kod vrsta porodica Phryganidae, Polycentropidae samo je prvi kolutić hitiniziran, kod porodice Limnephilidae, Odontoceridae, Sericostomatidae prva dva kolutića su hitinizirana, a treći je prekriven membranom. Ličinke koje imaju kućice na prvom kolutiću sa strane prsa imaju opnastu izraslinu – posteralni trn. Zadak se sastoji od devet opnastih kolutića, a kod nekih vrsta na zadnjem kolutiću prisutne su hitinizirane pločice. Zadak kod svih ličinki završava analnom pandžicom. Analna pandžica koristi kao kuka kojom se slobodnoplivajuće ličinke hvataju za mrežu ili za unutrašnje niti u kućici. Na abdomenu od drugog do osmog kolutića prisutne su uzdušničke škrge (rijetka je pojava škrge na toraksu ili nedostatak škrge). Škrge oblikom mogu biti nitaste, sastavljene i busenaste. Smještene su u nizu na bočnim, donjoj i gornjoj strani zadka. Njihov oblik, raspored i smještaj važno su svojstvo za određivanje ličinki (Hickin 1967). S obzirom na tip hrane tulari se u ličinačkom stadiju dijele na: herbivore, detritivore i karnivore, dok se po načinu uzimanja hrane dijele na: strugače (eng. *scrapers* ili *grazers*), sakupljače (engl. *collectors*), usitnjivače (eng. *shredders*), procjeđivače (eng. *filter feeders*), predatore i bušače (eng. *pierces*) (Mackay 1979). Prehrana algama, gljivama i bakterijama vjerojatno je bio prvotni način prehrane tulara, a nakon pojave angiospermnih biljaka pojavili su se i biljojedi (Wiggins 2004).

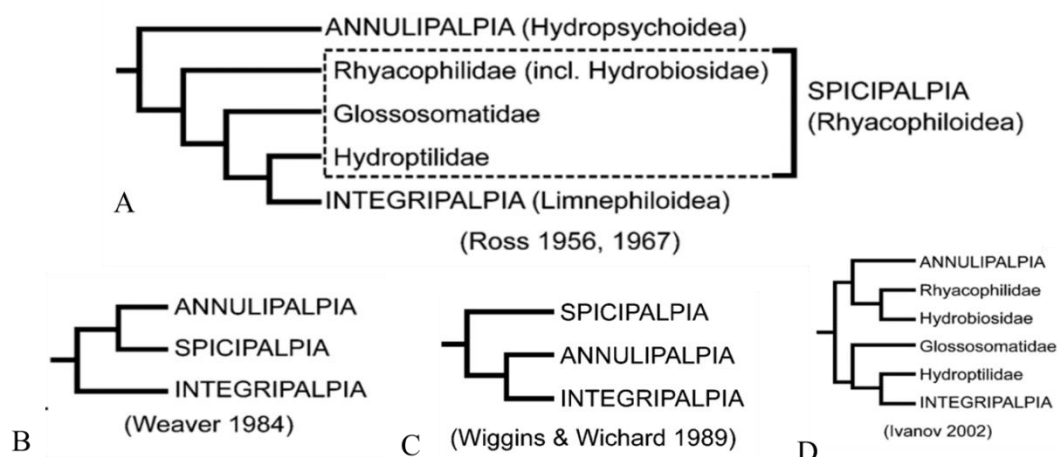
Uz pomoć donjousnih žlijezda tulari stvaraju ljepljive niti, svilu. Svilenkaste niti omogućuju većini ličinki gradnju kućice – tuljca. Ličinke koje grade prenosne tuljce pripadaju skupini

Integripalpia te manji dio skupini „Spicpalpia“. Neke skupine uz pomoć ljepljivih niti grade mreže kojima sabiru hranu (Hydropsychidae, Polycentropodidae, Ecnomidae, Philopotamidae). Ove porodice koje grade mreže - skloništa pripadaju skupini Annulipalpia. Ovakva strategija posljedica je uštede energije na traženje hrane, a time i povećanu izloženost predatorima (Wiggins 1973). Pojedine ličinke grade meandrirajuće galerije na površini kamenja (Psyscomyiidae) ili se slobodno kreću (npr. predatorske vrste iz porodice Rhyacophilidae) (Edington i Hildrew 1995). Velika je raznolikost oblika tuljca (u presjeku okrugli, kvadratasti...) i materijala od kojeg su izgrađeni (sitni pijesak, različite veličine stijena, ljuštura puževa, organske tvari – korijenja, lišća). Poznato je da ličinke grade tuljce već 160-70 milijuna godina a obzirom na najstariji nalaz datira iz sedimenta geološkog razdoblja srednje jure. Najvjerojatniji je razlog izrade kućica zaštita od predatora (kamouflažom) i efikasnije disanje (dokazana je veća apsorpcija kisika iz vode ako se ličinka nalazi unutar kućice u odnosu na ličinke bez kućica) (Wiggins 2004). Većinom kućica prati rast ličinke, a neke nadograđuju novu na staroj kućici (Glossosomatidae). Zanimljivo je kako ličinke porodice Hydroptilidae žive kao slobodne prva četiri razvojna stadija, a kućicu grade na početku 5. stadija. U stadiju kukuljice ličinke ulaze nakon više presvlačenja (najmanje pet puta), a neke vrste mogu se presvlačiti i više od pet puta. Kukuljice tulara pripadaju skupini slobodnih kukuljica jer su im ticala, noge i krila u razvoju odvojene od tijela. Noge na toraksu mogu ostati nepromijenjene sa plivajućim dlakama, na abdomenu ostaju ličinačke škrge. Gornje čeljusti kukuljice dobro su razvijene (Holzenthall i sur. 2007).

### 3.4.6. Filogenija i sistematika tulara

Trichoptera zajedno sa sestrinskim redom Lepidoptera (leptiri) čine nadred Amphiesmenoptera (grč. *amphiesma*, što znači odjeća referirajući na dlake i ljuske kojima su prekriveni ovi kukci). Smatra se da se odvajanje tulara i leptira od zajedničkog pretka dogodilo prije 234 milijuna godina (mil. god.) (Malm i sur. 2013). Unutar monofiletskog reda Trichoptera odvajaju se dva monofiletska podreda: Annulipalpia i Integripalpia (Holzenthall i sur. 2007, 2011, 2014, Kjer i sur. 2001, 2002, 2016). Recentna podjela na podredove Annulipalpia i Integripalpia temelji se na načinu na koji ličinke koriste ljepljive niti, svilu, odnosno izrađuju li tuljce ili mreže ili žive slobodno. Podred Annulipalpia uključuje 10 recentnih porodica (prema Holzenthall i sur. 2011) čije ličinke grade mreže od svilenkastih niti koje im služe za prikupljanje hrane i kao sklonište. Ličinke ovog podreda preferiraju tekućice, a samo nekoliko predstavnika je zabilježeno u stajaćicama. Mrežama filtriraju organske

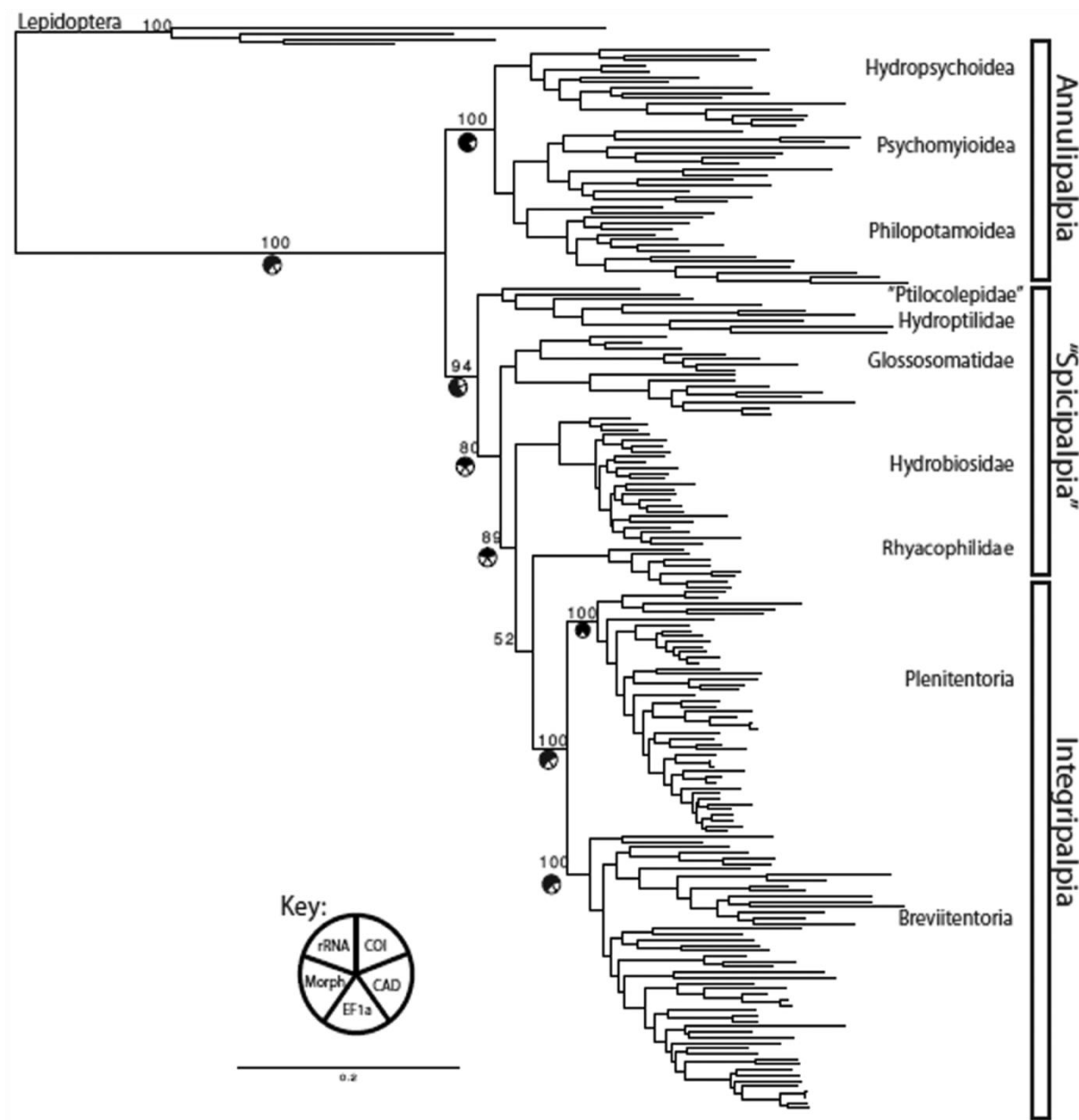
čestice različite veličine (ovisno o veličini mreže koje može biti od nekoliko do 100 mikrometara). Neke vrste grade cijevi od svile te se hrane perifitonom ili nanosima na podlozi. Kod ovog podreda neke ličinke žive unutar mreže i hrane se beskralješnjacima koji se uhvate na niti slično paucima na kopnu. Ponašanje kukuljica je raznoliko. „Spicipalpia“ uključuje porodice raznolikog ponašanja ličinki. Predatorne vrste porodica Rhyacophilidae i Hydrobiosidae žive slobodno, a svilu koriste samo da se pričvrste u slučaju jačih struja koje bi ih mogle odnijeti. Ličinke iz porodica Hydroptilidae tek u zadnjem, petom stadiju grade prozirne kućice. Vrste porodica Glossosomatidae grade nove tuljce svakim presvlačenjem, a oblikom podsjećaju na kornjačin oklop. Ličinke podreda Integripalpia koji uključuje 39 recentnih porodica (prema Holzenthal i sur. 2011) grade tuljce od različitog materijala, ovisno o vrsti. Morfološke značajke svih vrsta u ovom podredu su: nepostojanje poprečnog rebra na krilu, stražnja krila šira od prednjih u području analnih rebara, ženke nemaju začane privjeske, leđna strana srednjeg prsnog kolutića (mezonotum) ličinke potpuno je hitinizirana, na prvom začanom kolutiću postoje leđna i bočna zadebljanja i kratke i jake analne pandžice. Ovakva podjela na dva podreda nije oduvijek zastupljena, odnosno postojale su različite hipoteze o filogenetskim odnosima unutar roda Trichoptera koje su autori temeljili na značajkama ličinki, kukuljica i imaga (Weaver i Morse 1986, Frania i Wiggins 1997, Ivanov 1997). Postojanje trećeg podreda „Spicipalpia“ je diskutabilno i često neodređenog filogenetskog odnosa unutar reda tulara, a odnosi se na četiri porodice: Rhyacophilidae, Hydrobiosidae, Hydroptilidae i Glossosomatidae. Ross (1956, 1967) je koristio ponašanje ličinki prilikom gradnje tuljaca i tulara smjestio u dva podreda: Annulipalpia i Integripalpia, smještajući „Spicipalpia“ unutar nadporodice Rhyacophiloidea (Holzenthal i sur. 2007) (Slika 8 A). Weaver (1984, 1992a, 1992b) te Weaver i Morse (1986) su zaključili na temelju više morfološki značajki (ličinki, kukuljica i odraslih) da je skupina „Spicipalpia“ monofiletska i unutar podreda Annulipalpia (Holzenthal i sur. 2007) (Slika 8 B). Wiggins i Wichard (1989) su evolucijske odnose temeljili na kokonu pupe pretpostavljajući zatvoreni, polupropustan, tanki kokon kakav grade porodice koje pripadaju skupini „Spicipalpia“ izvorišnim iz kojeg su se razvili propusni kokoni s ventilacijskim otvorima kakve nalazimo kod Annulipalpia i Integripalpia (Slika 8 C). Ivanov (2002) predlaže porodice Hydroptilidae i Glossosomatidae („Spicipalpia“) kao sestrinske Integripalpia dok su porodice Rhyacophilidae i Hydrobiosidae („Spicipalpia“) sestrinske sa Annulipalpia (Holzenthal i sur. 2007) (Slika 8 D).



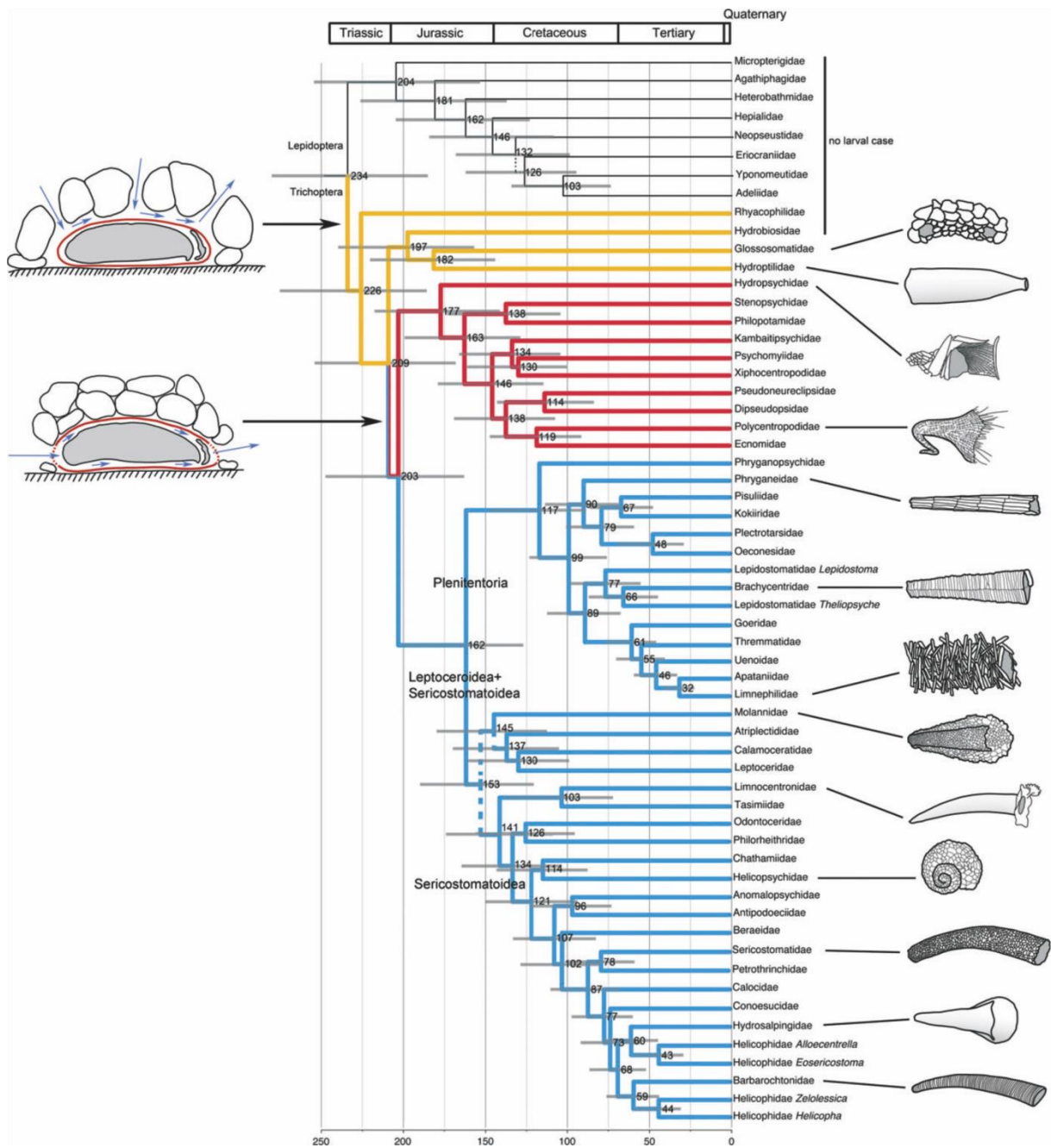
Slika 8. A-D. Hipoteze o filogenetskim odnosima između podredova tulara prema različitim autorima A – Ross, B – Weaver, C – Wiggins i Wichard, D – Ivanov. Slika preuzeta iz Holzenthal i sur. 2007.

U zadnjih godina provode se i molekularna istraživanja filogenetskih odnosa unutar reda Trichoptera. Kjer i suradnici (2001) su prvi počeli koristiti molekularne podatke u kombinaciji s morfološkim pri čemu su koristili jezgrine i mitohondrijske molekularne biljege: sekvence nekoliko fragmenata male i velike podjedinice nuklearne ribosomske rRNA (*D1*, *D3*, *V4–5*), *EF-1 $\alpha$*  i *COI*. Prilikom svog zadnjeg istraživanja filogenije tulara, Kjer i sur. (2016) koriste i dodatni nuklearni biljeg, gen *CAD*. Filogenetski odnosi rekonstruirani su upotrebom filogenetske metode Randomized Axelerated Maximum Likelihood – RaxML koja omogućuje rad s velikim brojem podataka. Bolja podržanost (52 – 89%) dobivena je za odnose između porodica unutar skupine „Spicipalpia“. Nadporodica Hydropsychoidea (Hydropsychidae) predstavlja sestrinsku svojtu svim ostalim svojutama Annulipalpia. Autori naglašavaju da poziciju skupine „Spicipalpia“ u filogenetskom stablu treba uzeti s oprezom. Kjer i sur. (2016) prvi put pokazuju visoko podržano grupiranje (94% *bootstrap* podrška) skupine "Spicipalpia" sa skupinom Integripalpia (Slika 9). Idalje „Spicipalpia“ nije monofiletska skupina (Kjer i sur. 2016). Unutar podreda Annulipalpia, Hydropsychoidea (= Hydropsychidae) je sestrinska grupa svim ostalima s 94% *bootstrap* podrškom, a podred Integripalpia se dijeli na Brevitentoria i Plenitentoria (Kjer i sur. 2016). Malm i sur. (2013) koriste tri nuklearna biljega: *CPSase*, *CAD*, *IDH*, *POL* te mitohondrijski *COI* (DNA barkod regiju) kako bi otkrili filogenetske odnose unutar tulara. Ovi autori dobili su da porodice Rhyacophilidae i Hydrobiosidae imaju bazalni položaj, te da su porodice Glossosomatidae i Hydroptilidae monofiletske i tvore sestrinsku grupu s Annulipalpia. Porodica Hydropsychidae

smjestila se unutar podreda Annulipalpia kao sestrinska ostalima (Slika 10) (Malm i sur. 2013).



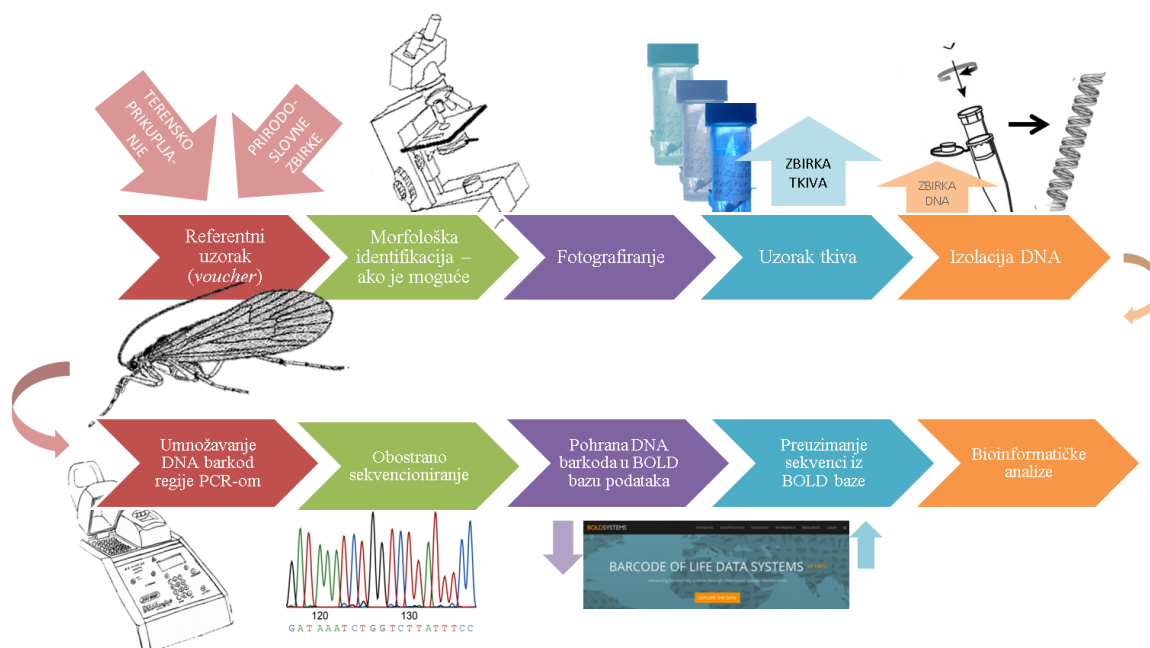
Slika 9. Filogram dobiven RaxML analizom na temelju jezgrinih i mitohondrijskih molekularnih biljega. Grafikon u obliku pite pokazuje koji su podatci neovisno potvrdili svaki čvor (obojeni crno). Slika preuzeta iz Kjer i sur. (2016).



Slika 10. Filogenetsko stablo tulara. Čvorovi predstavljaju srednje vrijednosti vremena razdvajanja porodica, a sive linije predstavljaju 95% interval pouzdanosti. Obojene grane predstavljaju tri podreda: „Spicipalpia“ (žuta), Annulipalpia (crvena) i Integripalpia (plava). Crtež u lijevom gornjem kutu predstavlja hipotetski kokon pupe, a plave strelice predstavljaju smjer strujanja vode. S desne strane prikazane su tipične kućice predstavnika porodica. Preuzeto iz Malm i sur. (2013).

### 3.5. Metoda DNA barkodiranja

Metoda DNA barkodiranja predložena je 2003. godine kao brz i pouzdan način određivanja vrsta korištenjem kratke, standardizirane regije određenih gena (Hebert i sur. 2003a). Za životinje je predložen mitohondrijski fragment gena za podjedinicu 1 citokrom c oksidaze (*COI*) dug oko 650 parova baza (Hebert i sur. 2003a). Konzorcij za barkodiranje živog svijeta (eng. Consortium for the Barcode of Life – CBOL) predložio je priznate i uobičajene standarde i protokole za DNA barkodiranje (Slika 11).



Slika 11. Shematski prikaz standarda i protokola za DNA barkodiranje.

Mitohondrijska DNA smještena je unutar organela mitohondrija koje nalazimo u svim stanicama životinjskih tkiva. Mitohondrijska DNA (mtDNA) je dvolančana kružna molekula veličine između 15 000 i 20 000 pb (parova baza). Sadrži nekodirajuću kontrolnu regiju (D-petlja) i kodirajući dio. D-petlja sadrži repetitivne sljedove i važna je za inicijaciju transkripcije i replikacije. U kodirajućem dijelu se nalazi 37 gena različite funkcije i brzine evoluiranja: 22 gena za transfer RNA – tRNA (transfer ribonukleinska kiselina), 2 gena za ribosomske RNA – rRNA (ribosomska ribonukleinska kiselina) i 13 gena koji kodiraju za proteine uključene u transport elektrona i oksidativnu fosforilaciju (Wolstenholme 1992). Protein citokrom oksidaza podjedinica 1 (*COI*) dobro je očuvan kod svih aerobnih organizama i biokemijski dobro istražen. Važan je u procesu oksidativne fosforilacije jer



sudjeluje u transportu elektrona i protona na unutarnjoj membrani mitohondrija (Lunt i sur. 1996). Pogodnosti *COI* gena mitohondrijske DNA je što nema introne (za razliku od jezgrine DNA) te insercije i delecije (za razliku od gena za ribosomske *12 S*, *12 S* rRNA). Upotrebom univerzalnih robusnih početnica moguće ga je umnožiti kod gotovo svih životinjskih koljena. Brzina molekularne evolucije ovog gena je i do tri puta veća u odnosu na gene za rRNA te omogućuje razlikovanje ne samo vrsta nego i divergentnih linija unutar vrsta (Hebert i sur. 2003a).

Novi pristupi su potakli nastanak udruženja udruženja, kao što je Konzorcij za barkodiranje života (CBOL - Consortium for the Barcoding of Life, osnovan 2004. godine) i Projekt međunarodnog barkodiranja života (iBOL - International Barcode of Life Project, osnovan 2007. godine) koji okuplja znanstvenike iz preko 150 zemalja (Valentini i sur. 2009). Navedena udruženja populariziraju metodu DNA barkodiranja. Kako bi određivanje nepoznatih DNA barkodova funkcioniralo, za usporedbu je potrebna opsežna baza DNA barkodova poznatih vrsta s pridruženim morfološkim određenim primjercima. Ratnasingham i Hebert (2007) uspostavljaju BOLD bazu (BOLD - The Barcode of Life Data System). BOLD predstavlja bazu DNA barkodova (za carstva Animalia, Plantae, Fungi i Protista) i bioinformatičku platformu koja omogućuje korisnicima određivanje svojti, upravljanje podacima, analizu sekvenci i upotrebu statističkih metoda za rekonstrukciju filogenetskih stabala. BOLD baza komunicira između postojećih genetičkih repozitorija kao što je National Center for Biotechnology Information – NCBI i Global Biodiversity Information Facility - GBIF, odnosno povučene su i postojeće *COI* sekvence iz Banke gena – GenBank (Ratnasingham i Hebert 2007). U cilju stvaranja nacionalnih baza DNA barkod sekvenci pojedine države pokreću inicijative za barkodiranje života (npr. ABOL – Austrija, GBOL – Njemačka, FinBol – Finska itd.). Razvijaju se i kampanje s ciljem prikupljanja DNA barkodova svih vrsta unutar specifičnih taksonomskih grupa (npr. za mrave Formicidae barcode of life, za ptice All Birds Barcoding Initiative, za tulare Trichoptera Barcode of Life itd.) ([www.ibol.org](http://www.ibol.org)). Cilj je stvoriti opsežnu referentnu bazu podataka sa DNA barkodovima čitavog živog svijeta. Razlog za uvođenjem ovakvog pristupa dolazi iz potrebe da se što prije odredi postojeći živi svijet. Usljed dominantno antropogenog utjecaja ubrzano se povećava broj svojti koje nestaju sa Zemlje, dominantno antropogeno uvjetovano, te se smatra da se događa šesta kriza bioraznolikosti – globalni nestanak živog svijeta. Klasična taksonomija ne uspijeva opisati postojeće vrste tolikom brzinom kojom one nestaju. Četiri su glavna

ograničenja u klasičnoj, morfološkoj determinaciji vrsta: fenotipska i genetička plastičnost, problem kriptičnih vrsta, morfološka svojstva karakteristična za samo jedan životni stadij jedinice te stručnost taksonoma (Waterton i sur. 2013). Razumljiva je potreba za određivanjem pojedinih vrsta s obzirom da je vrsta temeljna jedinica svim poljima biologije (anatomije, ponašanja, ekologije, evolucije, genetike, paleontologije, molekularne biologije, paleontologije, fiziologije, taksonomije (De Queiroz 2005).

Osim u taksonomiji metoda DNA barkodiranja našla je primjenu i u:

- a) kontroli poljoprivrednih štetnika – određivanje štetnika u bilo kojem razvojnom stadiju omogućava bolju kontrolu i smanjuje troškove;
- b) određivanje vektora zaraze – omogućava stručnjacima koji nisu biolozi da prepoznaju vektore patogena kao što su pojedine vrste komaraca;
- c) kontroli ilegalne trgovine – omogućava određivanje bioloških materijala i tako omogućuje sprječavanje unosa nedozvoljenih proizvoda ili živih primjeraka skupina čija trgovina je zabranjena;
- d) zaštiti rijetkih životinja – omogućava kontrolu podrijetla hrane i proizvoda od ugroženih životinja koji se mogu naći na tržištu,
- e) prehrambenoj i kozmetičkoj industriji – omogućava određivanje sadržaja proizvoda i time kontrolu točnosti podataka navedenih na deklaraciji (Kaur 2015).

### **3.5.1. Operativne taksonomske jedinice i definiranje genetske udaljenost za DNA barkod regiju**

Za standardni opis vrste na temelju morfologije potrebno je mnogo vremena, pa su se znanstvenici suočili s potrebom definiranja pojma koja će ubrzati procjenu biološke raznolikosti. Tako je nastao pojam operativne taksonomske jedinice (eng. operational taxonomic units – OTU). OTU nepoznate uzorke životinja razdvaja u vrste na temelju definiranih morfoloških ili molekularnih udaljenosti (ili kombinacije). U posljednje vrijeme uobičajeno je koristiti taksonomiju potpomognutu molekularnim metodama. U takvim istraživanjima koristi se pojam molekularne operativne taksonomske jedinice (eng. molecular operational taxonomic units – MOTU). Iz razloga sve češćeg pridruživanja metode DNA barkodiranja klasičnoj taksonomiji nastojalo se definirati kriterij za imenovanje operativne taksonomske jedinice putem genske udaljenosti DNA barkodova između taksona. Razni znanstvenici nude rješenja preko analitičkih programa s algoritmima koje Ratnasingham i

Hebert (2013) testiraju na točnost i brzinu pri definiranju granica između životinjskih vrsta. Odabiru analizu „Refined Single Linkage – RESL“ koja generira životinjske operativne taksonomske jedinice za DNA barkod sekvence. Takve operativne taksonomske jedinice nazivaju „Barcode indeks number – BIN“. Sistem za grupiranje DNA barkod sekvenci u „BINove“ javno je dostupan na BOLD (Barcode of Life Data System) platformi (Ratnasingham i Hebert 2007).

Jedan od kriterija za postavljanje razlike između životinjskih svojti, pa tako i kod tulara, je postotak genetske udaljenosti između promatranih DNA sekvenci. Hebert i sur. (2003b) su ustanovili da većina vrsta pokazuje vrijednosti nekorrigiranih udvojenih genetskih udaljenosti između vrsta veću od 2%. S obzirom da postoji veliki broj istraživanja tulara koja koriste genetsku udaljenost na temelju DNA barkod regije potkrepljenju drugim molekularnim biljezima i morfološkim kriterijima, ovim radom je moguće definirati takvu granicu (Tablica 20). Popularan način među znanstvenicima u postavljanju granica među svojtima su genetska stabla rekonstruirana različitim metodama kao i brojni alati za analizu (npr. analiza ABGD - Automatic Barcode Gap Discovery objašnjena u podpoglavlju 3.4.1. Bioinformatičke analize ovog rada; strana 20) (Meier 2008). U ovom radu je korišteno više različitih kriterija za definiranje granica između svojti tulara na temelju DNA barkod regije.

Tablica 20. Genetske udaljenosti kod različitih sistematskih kategorija unutar reda Trichoptera na temelju DNA barkod regije iz različitih istraživanja. Kratice označavaju taksonomske kategorije: por.=porodica, podpor.=podporodica. Crtica označava da nije utvrđena vrijednost. Zadebljanim slovima označene su intraspecifične vrijednosti.

Svojta	Tip genetske udaljenosti	Min (%)	Max (%)	Autori
Trichoptera	<b>Intraspecifična</b>	0	<b>3,19</b>	Johanson 2007
Trichoptera	Interspecifična	8,06	15,65	Johanson 2007
Trichoptera (Kalifornija)	Intraspecifična	-	2	Jackson i sur. 2014
Trichoptera	<b>Intraspecifična</b>	-	<b>0,8</b>	Geraci i sur. 2011
Trichoptera	Interspecifična	1,9	31	Geraci i sur. 2011
Trichoptera (Novi Zeland)	<b>Intraspecifična</b>	<b>0</b>	<b>8,50</b>	Hogg i sur. 2009
Trichoptera (Novi Zeland)	Interspecifična	-	19,50	Hogg i sur. 2009
por. Glossosomatidae	<b>Intraspecifična</b>	<b>0,51</b>	<b>1,54</b>	Zhou i sur. 2010
por. Glossosomatidae	Interspecifična	11,47	25,79	Zhou i sur. 2010
por. Hydropsychidae	<b>Intraspecifična</b>	0	<b>5,25</b>	Zhou i sur. 2010
por. Hydropsychidae	Interspecifična	11,47	21,82	Zhou i sur. 2010

Tablica 20. Genetske udaljenosti kod različitih sistematskih kategorija unutar reda Trichoptera na temelju DNA barkod regije iz različitih istraživanja. Kratice označavaju taksonomske kategorije: por.=porodica, podpor.=podporodica. Crtica označava da nije utvrđena vrijednost. Zadebljanim slovima označene su intraspecifične vrijednosti.

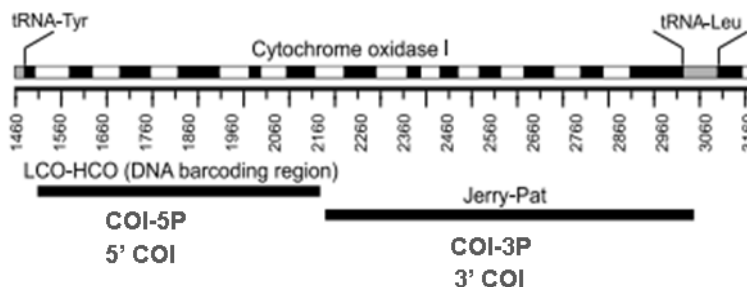
Svojta	Tip genetske udaljenosti	Min (%)	Max (%)	Autori
por. Hydroptilidae	<b>Intraspecifična</b>	<b>0,85</b>	<b>2,7</b>	Zhou i sur. 2010
por. Hydroptilidae	Interspecifična	-	20,12	Zhou i sur. 2010
por. Limnephilidae	<b>Intraspecifična</b>	0	<b>4,01</b>	Zhou i sur. 2010
por. Limnephilidae	Interspecifična	3,46	12,66	Zhou i sur. 2010
por. Philopotamidae	Interspecifična	-	25,76	Zhou i sur. 2010
por. Phryganeidae	<b>Intraspecifična</b>	<b>0</b>	<b>1,54</b>	Zhou i sur. 2010
por. Phryganeidae	Interspecifična	3,45	13,36	Zhou i sur. 2010
por. Polycentropodidae	<b>Intraspecifična</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	Zhou i sur. 2010
por. Polycentropodidae	Interspecifična	-	19,9	Zhou i sur. 2010
rod Hydropsyche	<b>Intraspecifična</b>	0	<b>9,04</b>	Zhou i sur. 2007
rod Hydropsyche	Interspecifična	11,61	19,69	Zhou i sur. 2007
rod <i>Smicridea</i> McLachlan, 1871	Intraspecifična	-	<b>5,9</b>	Pauls i sur. 2010
rod <i>Smicridea</i>	Interspecifična	8,05	21,7	Pauls i sur. 2010
rod <i>Metrichia</i> Ross, 1938	<b>Intraspecifična</b>	-	<b>4,8</b>	Santos i sur. 2016b
rod <i>Metrichia</i>	Interspecifična	12,6		Santos i sur. 2016b
rod <i>Synoestropsis</i> Ulmer, 1905	<b>Intraspecifična</b>	<b>0</b>	<b>7,0</b>	Barcelos-Silva i sur. 2018
rod <i>Synoestropsis</i>	Interspecifična	7,8	30,9	Barcelos-Silva i sur. 2018
rod <i>Apatania</i> Kolenati, 1848	<b>Intraspecifična</b>	<b>0,1</b>	<b>1,1</b>	Salokannel i sur. 2010.
rod <i>Apatania</i>	Interspecifična	1,4	12,8	Salokannel i sur. 2010.
<i>Anisogamus waringeri</i> Graf & Vitecek, 2015	<b>Intraspecifična</b>	-	<b>0,2</b>	Graf i sur. 2015
<i>Anisogamus waringeri</i>	Interspecifična	8,2		Graf i sur. 2015
<i>Anisogamus difformis</i> (McLachlan, 1867)	<b>Intraspecifična</b>	-	<b>8,2</b>	Graf i sur. 2015
nadpor. <i>Drusinae</i>	<b>Intraspecifična</b>	-	<b>1,4</b>	Waringer i sur. 2011
<i>Drusus melanchaete</i> McLachlan, 1876	<b>Intraspecifična</b>	0,2	<b>0,4</b>	Waringer i sur. 2008
<i>Drusus melanchaete</i>	Interspecifična	6,4		Waringer i sur. 2008
<i>Drusus franzressli</i> Malicky, 1974	<b>Intraspecifična</b>	-	<b>1,4</b>	Waringer i sur. 2013
<i>Drusus spelaeus</i> (Ulmer, 1920)	<b>Intraspecifična</b>	-	<b>1,4</b>	Waringer i sur. 2013
rod <i>Chaetopteryx</i>	<b>Intraspecifična</b>	-	<b>2</b>	Kučinić i sur. 2013
<i>Chaetopteryx buhari</i> Kučinić, Szivák & Delić, 2013	<b>Intraspecifična</b>	<b>0,13</b>	<b>0,17</b>	Kučinić i sur. 2013
<i>Chaetopteryx buhari</i>	Interspecifična	1,61	2,2	Kučinić i sur. 2013
<i>Silo pallipes</i> Fabricius, 1781	<b>Intraspecifična</b>	-	<b>3,81</b>	Morinière i sur. 2017
<i>Cheumatopsyche lepida</i> Pictet, 1834	<b>Intraspecifična</b>	-	<b>1,26</b>	Morinière i sur. 2017
<i>Hydropsyche instabilis</i> Curtis, 1834	<b>Intraspecifična</b>	-	<b>6,42</b>	Morinière i sur. 2017
<i>Halesus tessellatus</i> Rambur, 1842	<b>Intraspecifična</b>	-	<b>2,14</b>	Morinière i sur. 2017
<i>Limnephilus rhombicus</i> Linnaeus, 1758	<b>Intraspecifična</b>	-	<b>3,32</b>	Morinière i sur. 2017

Tablica 20. Genetske udaljenosti kod različitih sistematskih kategorija unutar reda Trichoptera na temelju DNA barkod regije iz različitih istraživanja. Kratice označavaju taksonomske kategorije: por.=porodica, podpor.=podporodica. Crtica označava da nije utvrđena vrijednost. Zadebljanim slovima označene su intraspecifične vrijednosti.

Svojta	Tip genetske udaljenosti	Min (%)	Max (%)	Autori
<i>Potamophylax nigricornis</i> Pictet, 1834	<b>Intraspecifična</b>	-	<b>1,71</b>	Morinière i sur. 2017
<i>Odontocerum albicorne</i> Scopoli, 1763	<b>Intraspecifična</b>	-	<b>2,83</b>	Morinière i sur. 2017
<i>Rhyacophila fasciata</i> Hagen, 1859	<b>Intraspecifična</b>	-	<b>3,86</b>	Morinière i sur. 2017
<i>Rhyacophila obliterata</i> McLachlan, 1863	<b>Intraspecifična</b>	-	<b>3,64</b>	Morinière i sur. 2017
<i>Rhyacophila vulgaris</i> Pictet, 1834	<b>Intraspecifična</b>	-	<b>3,15</b>	Morinière i sur. 2017

### 3.6. DNA barkodiranje komplementira filogenetska i taksonomska istraživanja – primjeri na istraživanju tulara

U filogenetskim i taksonomskim istraživanjima tulara korištene su različite regije *COI* gena, između ostalog i barkod regija. Za DNA barkod regiju u radovima na temu tulara koriste se i pojmovi 5' kraj mitohondrijskog *COI* gena, 5' *COI*, *COI*-5P, mt*COI*-5P, *COI* barkod, mtDNA *COI*. Pri istraživanju tulara kao molekularni biljeg upočetku se koristi 3' kraj mitohondrijskog *COI* gena (npr. Smith i sur. 2006). Za ovu regiju *COI* gena Simon i sur. 1994. godine dizajnirali su početnice Jerry i Pat, često korištene u istraživanjima tulara (Roe i Sperling, 2007) (Slika 12). Veći broj istraživanja tulara na području Europe koristi 3' regiju gena *COI* umnoženu početnicama Jerry i S20, nazvanu i *COI*-3P ili *S20-Jerry region* (Pauls i sur. 2003., Pauls i sur. 2006, 2008, 2009).



Slika 12. Pregled *COI* gena s početnicama za 3' kraj regije *COI* gena i naznačenom DNA barkod regijom (prilagođeno i preuzeto iz Roe i Sperling, 2007).

U početku istraživanja na rodu *Drusus* Stephens, 1833 koristi se 3' regija gena *COI*. Pauls i sur. (2006) koriste 3' regiju gena *COI* (uz druge molekularne biljege) kod istraživanja filogenije vrste *Drusus discolor* (Rambur, 1842), za razrješavanje evolucije prehrane kod Drusinae te 2009. godine za istraživanje populacijske strukture simpatrijskih vrsta tulara istočne Europe (Pauls i sur. 2009). Lehrian i sur. (2009, 2010) istražuju populacijsku genetiku i filogeografiju zimskih vrsta *D. discolor* i *Hydropsyche tenuis* Navás 1932, koristeći između ostalih biljega i 3' regiju gena *COI*. Previšić i sur. (2009) koriste 3' regiju gena *COI* uz 16S rRNA kako bi objasnili rasprostiranje endemskih vrsta roda *Drusus* na području Balkanskog poluotoka, a potom 2014. godine kako bi utvrdili lokalnu i regionalnu genetičku strukturu populacija i divergenciju navedenog roda u razdoblju pliocena/pleistocena (Previšić i sur. 2014b). Iste godine Previšić i sur. opisuju kriptične vrste *Ecclisopteryx keroveci* Previšić, Graf i Vitecek, 2014 i *E. ivkae* Previšić, Graf i Vitecek, 2014 koristeći potvrdu molekularnim biljezima (među njima i 3' regijom gena *COI*) (Previšić i sur. 2014a). Kučinić i sur. koriste isti mitohondrijski biljeg za opis ličinki vrsta: *D. ramae* Marinkovic-Gospodnetić, 1971 i *D. medianus* Marinkovic-Gospodnetić, 1976 (Kučinić i sur. 2010) te *D. bosnicus* Klapalek, 1899 i ličinke *D. plicatus* Radovanović, 1942 (Kučinić i sur. 2015a), za povezivanje ličinki i odrasle jedinke podvrste *D. radovanovici radovanovici* Marinković-Gospodnetić, 1971 (Kučinić i sur. 2011). Vitecek i sur. (2015a) pri opisu novih vrsta roda *Wormaldia* sa Sardinije i roda *Drusus* s Balkana odabiru 3' kraj gena *COI* uz druge biljege kao molekularnu potvrdu morfološki određenim vrstama. Morfološki opis ličinki vrsta *D. krusniki* Malicky 1981, *D. vernonensis* Malicky 1989, i *D. vespertinus* Marinković 1976, Waringer i sur. (2016) upotpunjuju isključivo 3' regijom gena *COI*. Kubow i sur. (2010) pridodaju popularnosti korištenja 3' regiju gena *COI* kod europskih planinskih vrsta tulara te u radu upotpunjavaju nove spoznaje na području filogeografije kod vrste *Allogamus uncatatus* (Brauer, 1857).

DNA barkodiranje u istraživanju tulara započinje Kjer i sur. 2001. i 2002. godine koristeći 5' regiju gena *COI* kao jedan od biljega u otkrivanju filogenetskih odnosa ovog reda. Prijašnja istraživanja koja koriste ovaj mitohondrijski biljeg uključuju razne pripadnike skupine kukaca (Insecta), pa tako i tulara, no ne bave se isključivo problematikom ove skupine (Liu 1993, Roehbdanz i Degrugillier 1998, Herbeck i Novembre 2003). DNA barkod regiju, uz druge biljege, koriste Leese, Wagner i Schmidt (2004) u doktorskoj disertaciji kojom objašnjavaju filogeografiju i filogeniju unutar porodice Sericostomatidae. Prilikom proučavanja genetske strukture populacije u odnosu na prostorni raspored kod vrste *Tasimia palpata* Mosely, 1936

uz druge molekularne biljege koristi se DNA barkod regija (Schultheis i Hughes 2005, Schultheis i sur. 2008). Baker i sur. (2003) koriste DNA barkod regiju za otkrivanje nove vrste *Cheumatopsyche* sp. AV1 u Australiji.

Česta upotreba DNA barkod regije vidljiva je u revizijama taksona kao što je slučaj kod revizije endemskog roda Nove Kaledonije *Gracilipsodes* Sykora, 1967 (Malm i Johanson 2008) uz jezgrine gene *CAD*, *EF-1 $\alpha$* , *IDH*, *POL*. DNA barkod regija komplementira nuklearni gen *28S* pri reviziji vrste *Diplectrona modesta* Banks 1908, pokazujući da se ne radi o jednoj vrsti, nego o kompleksu vrsta (Harvey 2010). Reviziju potporodice Protoptilinae osim na morfologiji Robertson i Holzenthal (2013) temelje isključivo na DNA barkod regiji. DNA barkod regija koristi se kao jedan od biljega uz pet fragmenata gena za *CAD*, *EF-1 $\alpha$*  na temelju kojeg su Johanson i sur. (2017) napravili reviziju nadporodice Sericostomatoidea, smještajući 58 rodova u 14 porodica od kojih su tri novoformirane. Uz morfološke opise novih vrsta sve češće znanstvenici koriste DNA barkod regiju kao potvrdu distinkcije između postojećih vrsta (npr. vrste roda *Symphitoneuria* Ulmer, 1906 u Malm i Johanson 2007). DNA barkodiranjem uz 3 jezgrina biljega: *EF-1 $\alpha$* , *CAD*, *RP2* omogućeno je otkrivanje 47 novih vrsta tulara u Novoj Kaledoniji te je tako podržana ideja o ovom otoku kao vrućoj točki bioraznolikosti (Espeland i Johanson 2010a). Metoda DNA barkodiranja najčešći je alat koji pomaže taksonomima koji na temelju morfološki značajki određuju potencijalno novu vrstu. Ova metoda daje im dodatnu sigurnost prilikom opisa novih vrsta obično odbacujući da se radi o morfološkim varijacijama u populaciji postojeće vrste. Opisi novih vrsta upotpunjeni su metodom DNA barkodiranja u slijedećim radovima: potvrđivanje novih vrsta roda *Hydropsyche* Pictet, 1834 na rijeci Tigris u Iraku (uz nuklearni gen *28S* rRNA- Geraci i sur. 2010), opise nove vrste roda *Neophylax* McLachlan, 1871 (uz morfologiju - Flint i Kjer 2011), te 4 nove vrste roda *Oecetis* McLachlan, 1877 za Koreju (uz morfologiju - Lee i sur. 2011), potom dvije nove vrste roda *Calocoides* Neboiss 1984 iz Australije (Shackleton i Webb 2014), novu vrstu tulara *Neophylax splendens* Denning, 1948 za Cypress Hills i Saskatchewan u Kanadi (Hoemsen i sur. 2015), nove vrste iz Australije *Caenota hackleton* Shackleton i Webb 2015 i *C. equustagna* Shackleton i Webb 2015 (uz morfologiju - Shackleton i Webb 2015). Metoda DNA barkodiranja koristi se u potvrđivanju novih nalaza tulara za Britansku kolumbiju (Erasmus i sur. 2018). Santos i sur. (2016b) prilikom morfološkog opisa dvadeset novih vrsta roda *Metrichia* Ross, 1938 iz Brazila koriste DNA barkod regiju. Macher i sur. (2016) smatraju da grananja filogenetskog stabla *COI* gena

unutar porodice Sericostomatidae mogu ukazivati na nove vrste na području planine Montseny. Mitohondrijski biljeg *COI* (DNA barkod regija) poslužio je Salokannel i sur. (2012) kao dodatni argument morfološkom određivanju za dokazivanje sinonimizacije vrste *Oxyethira boreella* Svensson i Tjeder, 1975 s *O. falcata* Morton, 1893. Hoppeler i sur. (2016) koriste termin operativne molekularne taksonomske jedinice (MOTU) kako bi opisali molekularnim metodama izdvojene primjerke porodice Hydropsychidae s Himalaja pri tom koristeći 5' i 3' kraj *COI* gena i ribosomalni biljeg 28S rRNA. Kod istraživanja roda *Drusus* počinje se uz biljege za 3' kraj *COI* gena koristiti i DNA barkod regija. Tako se DNA barkod regija koristi uz druge biljege: nuklearni biljeg *wg*, *CAD*, *D2* regiju 28S rRNA kod opisa nove vrste s Kosova *Drusus dardanicus* Ibrahim, Kučinić i Vitecek 2015 (Ibrahim i sur. 2015) te *D. sharrensis* Ibrahim, Vitecek i Previšić 2016 (Ibrahim i sur. 2016a). Nastavlja se korištenje DNA barkod regije za rasvjetljivanje filogenije vrsta *Drusus balcanicus* Kumanski, 1973, *D. botosaneanui* Kumanski, 1968, *D. serbicus* Marinkovic-Gospodnetić, 1971, *D. tenellus* (Klapalek, 1898) uz biljege 16S rRNA, *wg*, *CAD* (Waringer i sur. 2015). Kako bi se otkrili filogenetski odnosi mesojednih pripadnika nadreda Drusinae koristi se DNA barkod regija uz opsežan broj morfoloških karakteristika, 3' kraj *COI* gena, 16S rRNA, *wg*, *CAD*, 28S rRNA (Vitecek i sur. 2015b). DNA barkod regija glavni je biljeg u istraživanju mobilnosti vrste *Neothremma alicia* Dodds i Hisaw, 1925 na temelju razmjene gena između populacija u različitim vodotocima (Jiang 2010). Povijesna biogeografija roda *Apsilochorema* Ulmer, 1907 otkrivena je korištenjem DNA barkod regije i *CAD* gena (Striberg i Johanson 2011). Uobičajeno se DNA barkod regija koristi kao jedan od molekularnih biljega u istraživanju filogenije pojedinih taksona pa tako ga se uz 28S rRNA koristi Geraci (2007) kod porodice Hydropsychidae. Johanson i Keijsner (2008) uz 70 morfoloških karakteristika, biljege 16S rRNA i *EF-1 $\alpha$*  koriste i DNA barkod regiju kod razjašnjavanja filogenije porodice Helicophidae. Hogg i sur. (2009) pak za određivanje i filogeniju tulara Novog Zelanda koriste isključivo DNA barkod regiju. Uz biljege *CAD*, *EF-1 $\alpha$* , *RP2* Espeland i Johanson (2010b) koriste DNA barkod regiju kako bi utvrdili raznolikost vrsta unutar roda *Agmina* u Novoj Kaledoniji. Za testiranje monofilije porodice Calocidae s Novog Zelanda i Australije Johanson i Malm (2010) uz 16S rRNA, *EF-1 $\alpha$* , *CAD*, *POL-II* biljege koriste i DNA barkod regiju. Statzner i sur. (2010) metodom DNA barkodiranja uz gen 16S rRNA istražuju filogenetske odnose unutar roda *Hydropsyche* Pictet, 1834 u rijeci Loire, a Robertson-Thompson (2010) potporodice Protoptilinae porodice Glossosomatidae. Lecaudey (2013) koristi DNA barkod regiju uz jezgrine biljege *CAD*, *POL*, *IDH* za filogeniju islandske vrste



*Apatania zonella* (Zetterstedt, 1840). Santos i sur. (2016a) koriste DNA barkod regiju u analizi filogenije potporodice Leucotrichiinae koja pripada mikrotularima Novog svijeta. Triboy i sur. (2017) koriste DNA barkod regiju za razumijevanje filogenetskih odnosa 9 vrsta s Bajkalskog jezera. Saito i sur. (2018) proučavaju filogenetske odnose 21 vrste roda *Stenopsyche* McLachlan, 1866 u Japanu, na temelju morfologije te na temelju DNA barkod regije i nuklearnog biljega *EF-1 $\alpha$* . Kod istraživanja filogenija porodice Leptoceridae Malm i Johanson (2011) uz DNA barkod regiju uspješno koriste nuklearne gene i to neke po prvi puta za istraživanje filogenije tulara kao što je *IDH*. Johanson i Malm (2010) testiraju monofiliju Novozelandske i Australske porodice Calocidae pri čemu uz četiri različita molekularna biljega (*16S* rRNA, *EF-1 $\alpha$* , *CAD*) koriste i *COI* gen (5' regija). Johanson i sur. (2012) koristeći *COI* gen (DNA barkod regija) uz *CAD*, *IDH* dokazuju monofiliju porodice Calocidae. Sanz Muñoz (2010) proučavajući razlike dviju ekološki različitih vrsta tulara *Apatania zonella* (Zetterstedt, 1840) i *Potamophylax cingulatus* (Stephens, 1837) koristi dvije regije *COI* gena (3' kraj i DNA barkod regiju) te ponovno Gíslason i sur. (2015) s istim setom *COI* biljega proučavaju filogeografiju vrste *P. cingulatus* (Stephens, 1837). Kjer i sur. (2014) dokazuju kako je DNA barkod regija uz rRNA (*28S rRNA* regiju D2) dovoljan da potkrijepi morfološki određene vrste i stvori brzu sliku filogenije kozmopolitskog roda *Chimarra* Leach, 1815. Na istom rodu *Chimarra* Wahlberg i Johanson (2014) prikazuju filogeografiju i dokazuju monofiliju roda, pri tom koristeći biljege *COI* (DNA barkod regiju), *CAD* i *POL-II*. Vidljiva je upotreba DNA barkod regije i u filogeografskim istraživanjima tulara npr. vrsta roda *Xanthochorema* Kimmins, 1953 uz biljege citokrom oksidazu 2 *COII*, *16S* rRNA, *EF-1 $\alpha$*  (Espeland i sur. 2008). Kako bi utvrdili podrijetlo islandske populacije vrste *Apatania zonella* Pálsson i sur. (2016) koriste DNA barkod regiju uz varijacije tri nuklearna gena: *POL II*, *CAD*, *IDH*.

DNA barkod regija nije predviđena za određivanje filogenetskih odnosa na višim taksonomskim razinama, ali se koristi uz druge molekularne biljege. Nastavljaju se istraživanja filogenije reda tulara koja između ostalih molekularnih biljega uključuju DNA barkod regiju (Holzenthal i sur. 2011, Kjer i sur. 2014, 2016., Frandsen i sur. 2016). Zhou i sur. (2016) su svjesni da se filogenija tulara ne može temeljiti samo na jednom biljegu, stoga radom žele usmjeriti taksonomska istraživanja na zanimljive rezultate koji odskoče od poznatog. Navedeni autori prihvaćaju termin Barcode Index Number – BIN kao pojam sličan, ali ne istovjetan taksonomskom značenju vrste.

Zhou i sur. (2009a, 2010) prikupili su opsežnu bazu sekvenci s DNA barkod regijom skupine EPT u Kanadi. Jedan od primjera je regionalna DNA barkod baza tulara Nacionalnog parka Great Smoky Mountains (Zhou i sur. 2011). Njemačku bazu DNA barkod sekvenci EPT skupine Morinière i sur. (2017) upotpunili su s 2 613 jedinke koje pripadaju 363 vrstama, što predstavlja 86% glavnih bioindikatorskih vrsta prisutnih u Njemačkoj. Testiranje metode DNA barkodiranja iz formalinskih primjeraka i pokušaj stvaranja DNA barkod baze slatkovodnih makrobeskralješnjaka pokazalo se neuspješnim (Baird i sur. 2011). Pilgrim i sur. (2011) testiraju metodu DNA barkodiranja kao alat u biološkim indikatorima kvalitete slatkovodnih sustava odabirući EPT skupinu. Najbolje rezultate za DNA barkod regiju prilikom određivanja bioloških indikatora kvalitete slatkovodnih ekosustava dobili su Sweeney i sur. (2011) uspoređujući rezultate određivanja amatera do razine porodice, stručnjaka entomologa do razine roda, stručnjaka entomologa do razine vrste/roda i metode DNA barkodiranja. Korisnost metode DNA barkodiranja u određivanju EPT skupine pokazali su i Gill i sur. (2013) koji su DNA barkod regijom uspjeli odrediti 69 različitih linija koje najvjerojatnije predstavljaju vrste dok je morfološko određivanje izdvojilo 49 morfovvrsta. Slične rezultate dobili su Jackson i sur. (2014) koji su metodom DNA barkodiranja odredili 104 vrste vodenih makrobeskralješnjaka, odnosno značajno više nego morfološkim određivanjem. Gibson i sur. (2015) te Cordero i sur. (2017) nastavljaju s potvrdom uspješnosti korištenja molekularnih metoda (mitohondrijski biljeg *COI* 3' kraj i 5' kraj) uz morfološke metode za kvalitetan biomonitoring slatkovodnih ekosustava. Pri određivanju i analizi makrobeskralješnjaka slatkovodnih ekosustava sve više se koristi nova generacija sekvencioniranja koja omogućuje istodobnu analizu izuzetno velikog broja sekvenci, zvana metabarkodiranje. Navedena metoda uvrštena je biološkog monitoringa slatkovodnih beskralješnjaka (Hajibabaei i sur. 2011, Elbrecht i Leese 2015). Leese i sur. (2016) postavljaju DNA metabarkoding kao metodu koja će zadovoljiti kriterije potrebne za ispunjavanje Direktive o vodama. U toj metodologiji biomonitoringa slatkovodnih i morskih ekosustava uključena je metoda DNA barkodiranja, a projekt nastao tom idejom *DNAqua-Net* služi kao platforma za edukaciju istraživača u mnogim europskim zemljama.

DNA barkodiranje omogućilo je rješavanje jednog od većih problema u određivanju tulara - povezivanje morfološki različitih stadija, odnosno ličinke i odrasle jedinke. Ovi životni stadiji kod tulara, kao holometabolnih kukaca, imaju značajne morfološke razlike i stoga potrebu za zasebnim ključevima za određivanje. Postoji određeni broj vrsta za koje je jedan od stadija

neopisan i nepoznat (najčešće stadij ličinke). Među prvima koji koriste metodu DNA barkodiranja u rješavanju ovog problema kod vrsta porodice Hydropsychidae su Zhou i sur. (2007) i potom Zhou i sur. (2009b), nakon čega izrađuju morfološke ključeve za određivanje. Nekoliko ličinki roda *Cheumatopsyche* Wallengren, 1891 Sjeverne Amerike pridruženo je odraslom obliku (Burlington 2011). Ruiter i sur. (2013) uspjeli su uz DNA barkod regije povezati nekoliko ličinki u kanadskoj regiji Churchill s odraslim stadijem. Shackleton i Webb (2013) opisuju do tada nepoznate ličinke vrste *Pliocaloca fidesria* Shackleton 2013 iz Australije na temelju DNA barkod regije i poznatog odraslog stadija. Graf i sur. (2015) potvrđuju morfološki određene nove vrste *Anisogamus waringeri* Graf i Vitecek, 2015 s oba kraja *COI* gena (5' i 3' kraj *COI*) te joj pridružuju neodređenu ličinku s istog lokaliteta. Torii i Nakamura (2016) su zahvaljujući DNA barkod metodi uspjeli opisati nepoznate ličinke vrste *Eoneureclipsis montanus* Torii i Nishimoto, 2011 iz Japana. Molina i sur. (2017) posežu za metodom DNA barkodiranja kao točnim i brzim alatom kojim povezuju različite životne stadije EPT koji nastanjuju rijeku La Paz u Boliviji. Mali broj taksonomskih radova otežava morfološko određivanje vrsta iz planina Hengduan Mountains i Himalaje (Kina i Nepal) stoga Hjalmarsson i sur. (2018) koriste DNA barkod regiju, *CAD* i *28S rRNA* gen kako bi opisane ličinke roda *Himalopsyche* Banks, 1940 povezali s odraslim oblikom. Hjalmarsson i sur. (2018) koriste osim vrsta i termin operativne taksonomske jedinice-OTUs koje predstavljaju konsenzus morfologije, statističkih analiza i molekularnih biljega. Stroil i sur. (2018) uspjeli su povezati odrasle jedinke vrste *Rhyacophila bosnica* Schmid, 1970 iz Bosne i Hercegovine s do tada nepoznatim ličinačkim stadijem zahvaljujući DNA barkod metodi. Drugi veći problem s kojim se susreću taksonomi koji proučavaju tulare jest otežana određivanje morfološki nediferenciranih ženki. Postojeći morfološkim ključevi ne omogućuju određivanje određenih ženki do razine vrste. Prilikom rješavanja i ovog problema metoda DNA barkodiranja se pokazala uspješnom. Tako u radu Johanson (2007) DNA barkod metodom povezuje mužjaka, ženku i ličinku dvije vrste roda *Xanthochorema* Kimmins, 1953 iz Nove Kaledonije. Ženke roda *Apatania* Kolenati, 1847 teško je morfološki odrediti, a k tome dio vrsta ima mali broj mužjaka u populaciji, a dio vrsta se razmnožava partenogenetski zbog čega Salokannel i sur. (2010) koriste DNA barkod metodu pri određivanju. Navedeni autori su uz pomoć DNA barkoda odredili primjerke do razine vrste i potom napravili novi morfološki ključ za određivanje ženki vrste *Apatania* prisutnih u Finskoj.

Metodom DNA barkodiranja omogućeno je uočavanje i otkrivanje kriptičnih vrsta kao što je slučaj kod vrsta čileanskog roda tulara *Smicridea* McLachlan, 1871 (Pauls i sur. 2010). Istraživanje Harvey i sur. (2012) primjer je potrebe za integralnim pristupom morfoloških i molekularnih istraživanja kriptičnih vrsta. Istraživanje je rezultiralo sa sedam genetski divergentnih grupa na temelju DNA barkod regije koje su u skladu s morfološkim razlikama ličinki, ali ne i odraslih oblika vrsta *Diplectrona* Westwood, 1839 Sjeverne Amerike. Istraživanjem populacijske genetike široko rasprostranjenog australskog tulara *Lectrides varians* Mosely, 1953, Wickson i sur. (2014) otkrili su dva različita haplotipa na temelju DNA barkod regije koji ukazuju na kriptičnu vrstu.

Vitecek i sur. (2017) dokazuju kako je bitan integrativni pristup u opisu vrste i određivanju filogenetskih odnosa te u istraživanju koriste uz DNA barkod regiju, 14 morfoloških karakteristika i 5 molekularnih biljega (3' kraj *COI*, *16S* rRNA, *wg*, *CAD*, *28S* rRNA). Zanimljivo je korištenje DNA barkod regije (uz druge biljege) tulara (uz druge redove kukaca) u ispitivanju povezanosti gubitka mogućnosti leta i brzine molekularne evolucije kod insekata (Mitterboeck i Adamowicz 2013). Godoy i sur. (2018) koriste DNA barkod regiju uz nuklearne (rRNA *D1*, *D3*, *V4-5*, *EF-1 $\alpha$* ) kako bi testirali utječu li filogenetske informacije na kvalitetu modela rasprostiranja tulara u području Cerrado u Brazilu ovisno o utjecaju okolišnih faktora. Modeli koji su koristili filogenetske informacije pokazali su se točnijim te su tako autori pokazali korisnost filogenije u ekološkim istraživanjima.

Postoje i pokušaji kritike 5' regije mitohondrijskog *COI* gena kao DNA barkod regije za životinje. Marcus (2018) kritizira korištenje *COI* gena u metodi DNA barkodiranja i pritom za primjer uzima nekoliko vrsta tulara (6 vrsta porodice Hydropsychidae, 1 vrsta porodice Limnephilidae i jedna porodice Leptoceridae). Rezultati grananja nisu imali dobru podršku niti je topologija filogenetskog stabla odgovarala dosadašnjim taksonomskim spoznajama, stoga Marcus (2018) predlaže da nova generacija DNA barkod regije bude čitav mitohondrijski genom i nuklearna ribosomalna RNA. Do sada ovaj prijedlog nije prihvaćen u smislu proširivanja DNA barkod regije, iako veliki broj istraživanja uz DNA barkod regiju uključuje i druge molekularne biljege.

Prva primjena metode DNA barkodiranja u istraživanju tulara u Hrvatskoj započinje 2013. godine kada se morfološki opis nove vrste *Chaetopteryx buchari* Kučinić, Szivák i Delić, 2013

potvrđuju filogenetskom analizom na temelju DNA barkod regije (Kučinić i sur. 2013). Szivák i sur. (2017) istražuju koji su klimatski, geološki i biogeografski procesi uvjetovali rasprostranjene pojedinih vrsta unutar roda *Chaetopteryx* Stephens, 1829 na području zapadnog Balkana i pri tom koriste DNA barkod regiju uz jezgrin biljeg.

## 4. REZULTATI

Metodom DNA barkodiranja uspješno je dobiven DNA barkod od 441 primjerka tulara iz Hrvatske, u punoj dužini od 658 parova baza. Navedeni primjerci čine 172 operativne taksonomske jedinice – OTU, odnosno 177 BINova u koje ih je razdvojila BOLD platforma za analizu. Navedeni primjerci prema kombiniranoj morfološkoj i DNA barkod identifikaciji broje 172 vrste. Prvo su svi primjerci morfološki određeni, a potom je rezultat uspoređen s onima određenima prema BOLD bazi (BOLD Identification Engine). Kod primjeraka kojima se nije podudarala morfološki određena svojta s određivanjem prema BOLD bazi provjereno je radi li se o grešci u morfolološkom određivanju ili u BOLD bazi (npr. primjerak TGDIS\_1 BOLD Identification Engine odredio je kao *Glossosoma neretvae*, no nakon morfološke provjere utvrđeno je da pripada vrsti *G. discophorum*). Primjerci koji nisu mogli biti morfološki određeni do razine vrste, određeni su metodom DNA barkodiranja i pod tim imenom navedeni (npr. primjerak THYD\_5 morfološki određena kao *Hydroptila* sp., a s DNA barkodom je određena do razine vrste kao *H. martini*, PRILOG 19). Rezultatima ovog rada dobiven je DNA barkod od 85% poznatih vrsta, odnosno 89% poznatih rodova tulara u fauni Hrvatske iz svih 17 porodica. Od navedenih primjeraka, za 20 vrsta unos DNA barkod sekvence i podataka u BOLD bazu predstavlja nove BIN-ove (PRILOG 19). Nadalje, s obzirom da je do sada u BOLD bazi bilo pohranjeno 37 DNA barkodova primjeraka tulara iz Hrvatske koji predstavljaju 9 vrsta, s 441 novim unosom u BOLD bazu, nastalm ovim radom, broj DNA barkodova primjeraka tulara iz Hrvatske je 84 puta veći.

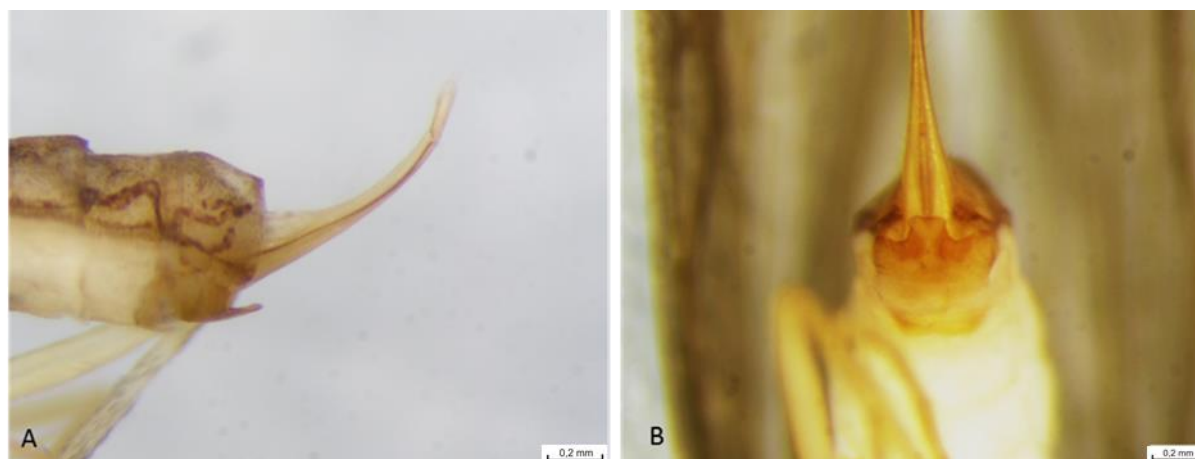
### 4.1. Nove i taksonomski specifične vrste u fauni tulara Hrvatske

#### 4.1.1. Nova vrsta za Hrvatsku iz roda *Tinodes* Curtis, 1834

Na lokacijama potok Mlini i potok Roč kod mjesta Marušić zabilježen je prvi nalaz vrste *Tinodes antonioi* u fauni Hrvatske. Ove vrste moguća je morfološki odrediti na temelju genitalnog aparata mužjaka (Slika 13) i ženke (Slika 14) koji se dobro razlikuju od drugih vrsta roda *Tinodes*.



Slika 13. A-B. Vanjski izgled odraslog mužjaka vrste *T. antonioi* (A) i lateralni izgled genitalnog aparata (B) (Foto: Mladen Kučinić).



Slika 14. A-B. Morfološki izgled genitalnog aparata ženke vrste *T. antonioi* lateralni izgled (A) i ventralni izgled (B) (Foto: Mladen Kučinić).

Metoda DNA barkodiranja korištena je kao potpora morfološkom određivanju vrste *T. antonioi*. Tri primjerka *T. antonioi* iz Hrvatske (oznaka TTANT\_1, TTIN\_1, TTIN\_2) uspoređeno je s vrstama roda *Tinodes* koje su zabilježene u Hrvatskoj. BOLD Identification Engine nije uspio odrediti sekvence *T. antonioi* iz Hrvatske do razine vrste s obzirom da sekvence ove vrste nisu do sada bile unesene u bazu (PRILOG 19). Primjerci *T. antonioi* iz Hrvatske predstavljaju prvi unos sekvenci *COI* gena (DNA barkod regije) i podataka za vrstu *T. antonioi* u BOLD bazu. Unesena je još jedna vrsta nova za BOLD bazu iz roda *Tinodes*: DNA barkod vrste i podatci za *T. braueri* iz Hrvatske. Sve tri korištene metode filogenetske analize (NJ, ML BA) rezultirale su grupiranjem jedinki vrste *T. antonioi* unutar visoko podržane monofiletske skupine (Slika 15).

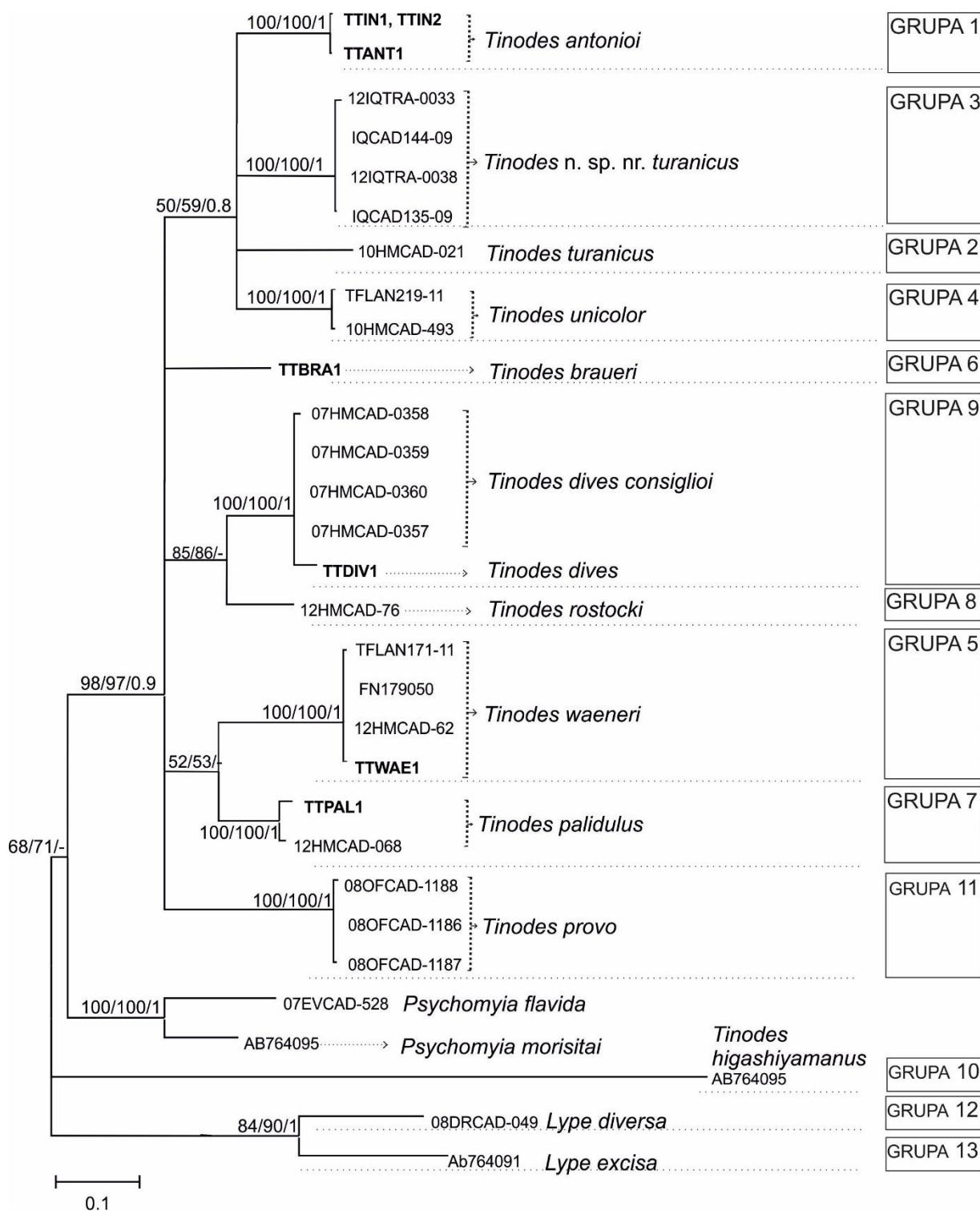
Rasponi nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti između vrsta roda *Tinodes* iznosi od 10–27%, dok je razlika unutar pojedinih vrsta od 0-3%. Najniža interspecifična udvojena genetska udaljenost je između *T. antonioi* i *T. n. sp. nr. turanicus* (10%), a najviša između *T. antonioi* i *T. higashiyamanus* (24%) (Tablica 21).

ABGD analiza grupirala je haplotipove u 13 grupa (Slika 15). Sekvence vrste *T. antonioi* odvajaju se od drugih vrsta roda *Tinodes*. Svaka od nastalih grupa formirana je suglasno važećoj taksonomiji. ABGD analiza detektirala je praznine u distribuciji vrijednosti udvojenih genetičkih udaljenosti, tzv. „barkod praznine“ od 0,003 do 0,09 (Slika 16).

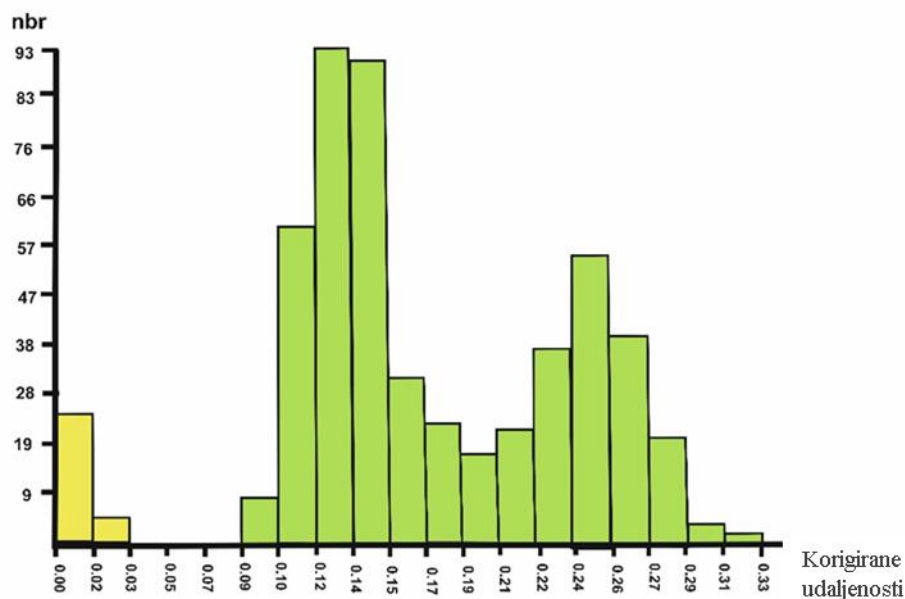
Tablica 21. Vrijednosti nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti (p-udaljenosti) DNA barkod regije (mitohondrijski *COI* gen) izražene u postotcima za vrste roda *Tinodes* i *Psychomyia flavida* (vanjska grupa). Zadebljanim brojevima su označene intraspecifične vrijednosti.

	<i>T. antonioi</i>	<i>T. turanicus</i>	<i>Ti- n. sp. nr. turanicus</i>	<i>T. unicolor</i>	<i>T. waeneri</i>	<i>T. braueri</i>	<i>T. pallidulus</i>	<i>T. rostocki</i>	<i>T. dives</i>	<i>T. dives consiglio</i>	<i>T. higashiyamanus</i>	<i>T. provo</i>
<i>T. antonioi</i>	<b>0-0,1</b>											
<i>T. turanicus</i>	10,9	<b>0</b>										
<i>T. sp. nr. turanicus</i>	9,7-10,3	9,6-9,9	<b>0,1-1</b>									
<i>T. unicolor</i>	11,1	11,3-11-6	10,3-11,3	<b>0,3</b>								
<i>T. waeneri</i>	13,4-13,8	13,5-14,2	12-13,2	12,6-13,8	<b>0,3-0,9</b>							
<i>T. braueri</i>	10,5	12,2	10,6-11,1	12-12,3	12,3-13,2	<b>0</b>						
<i>T. pallidulus</i>	11,7-11,9	11,7-12,3	10,2-10,7	11,1-11,7	9,7-10,8	10,1-10,3	<b>0-0,2</b>					
<i>T. rostocki</i>	13,5	11,4	11,4-11,6	11,5-11,7	12-12,9	10,5	10,34	<b>0</b>				
<i>T. dives</i>	13,9	13,9	11,6-11,9	14,4-14,7	12,5-12,8	12,9	10,5-10,6	9,9	<b>0</b>			
<i>T. dives consiglio</i>	13,1-13,2	13,1-13,2	10,8-11,1	13,2-13,9	11,7-12,2	11,4-11,9	9,9-10,5	8,7-9,1	2,6-2,8	<b>0,1-0,5</b>		
<i>T. higashiyamanus</i>	20,4	12,2	22-22,3	20,1-20,4	21,2-22,5	21,4	19,8-20,2	20,2	20,9	20,4	<b>0</b>	
<i>T. provo</i>	13,9-14,1	14,1-14,3	11,6-12,2	13,1-13,4	12,8-13,7	13,1-13,2	11,4-12,2	13,7-13,8	13-13,3	12,6-12,9	21,9-22,3	<b>0</b>
<i>P. flavida</i>	18,2	17,4	16,6-16,7	18-18,3	16,1-16,8	15,5	15,8-16,1	17,8	16,8	16,1	20,8	16,1-16,3





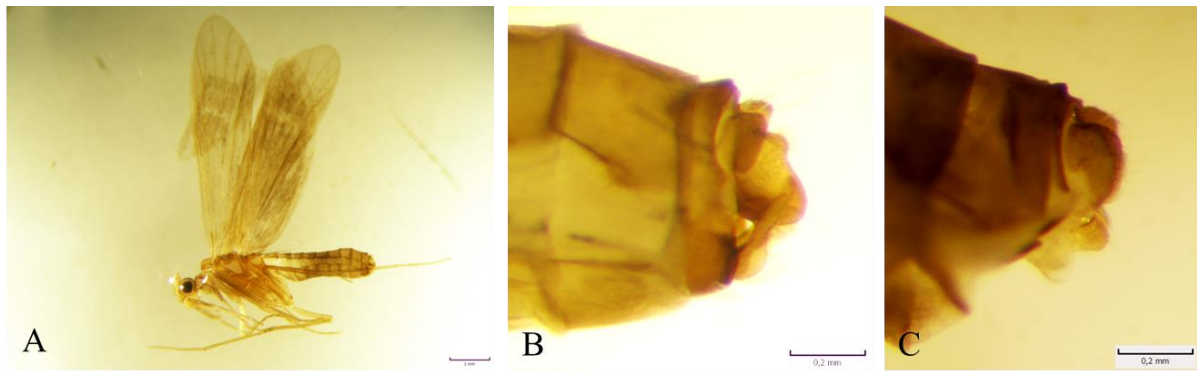
Slika 15. ML filogenetsko stablo vrsta roda *Tinodes* i drugih vrsta i rodova iz porodice Psychomyiidae, temeljeno na fragmentu DNA barkod regije. Na granama su označene *bootstrap* vrijednosti (BS) i posteriorne vjerojatnosti (BPP) redom za analize NJ/ML/BA. BS vrijednosti manje od 50% i BPP vrijednosti manje od 0,9 nisu prikazane. Zadebljanim slovima označene su sekvence nastale ovim radom. Na desnoj strani označene su grupe kao rezultat ABGD analize i predstavljaju hipotetske vrste.



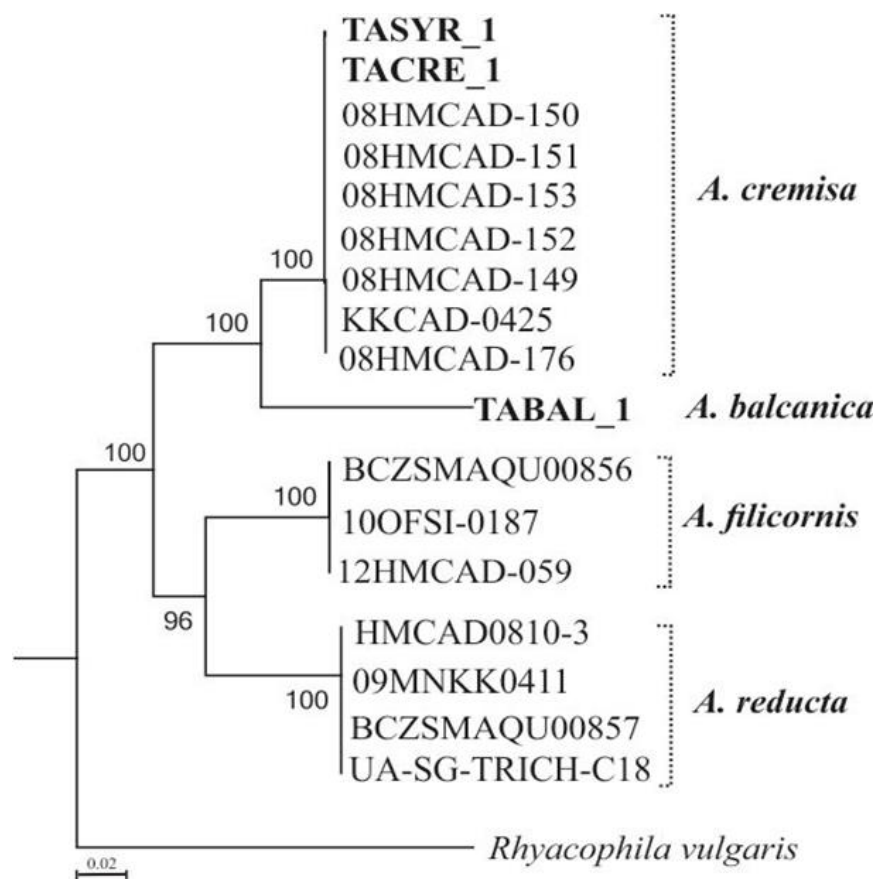
Slika 16. Histogram na temelju ABGD analize nastao koristeći K2P evolucijski model za vrste unutar roda *Tinodes*. Vrijednosti korigiranih (K2P) genetskih udaljenosti nalaze se na horizontalnoj osi, a na vertikalnoj broj udvojenih usporedbi (nbr). Na lijevoj strani histograma (obojeno žutim) prikazana je intraspecifična, a na desnoj strani (obojeno zeleno) interspecifična varijanca vrijednosti.

#### 4.1.2. Nove vrste za Hrvatsku iz roda *Adicella* McLachlan, 1877

Mužjak vrste *Adicella cremisa* prikupljen je na rijeci Krapini pokraj Krapina sela (TASYR\_1) te na rijeci Zrmanji kod mjesta Palanka (TACRE\_1) (Slika 17). Ženka iz roda *Adicella* (TABAL\_1) prikupljena na rijeci Krupi pokraj Manastira, morfološki je određena kao *A. balcanica*. Obje vrste do sada nisu bile zabilježene u fauni Hrvatske. Filogenetski odnosi između svojti u skladu su s onim kako su morfološki određene. Oba primjerka vrste *A. cremisa* (TASYR\_1, TACRE\_1) su se grupirala s visokom podržanošću u monofiletsku grupu s primjercima vrste *A. cremisa* iz Italije (Slika 18). Nekorigirane udvojene genetske distance između *A. cremisa* i *A. cremisa* iz Italije iznose 0,11% i 0,44% (Tablica 22). Intraspecifična genetska udaljenost između *A. cremisa*, analiziranih ovim radom, iznosi 0,14%. Primjerak TABAL\_1 pokazao se kao sestrinska grupa *A. cremisa*. Potvrđena je morfološko određivanje TABAL\_1 kao *A. balcanica* s obzirom da se dobro odvaja od svih vrsta roda *Adicella* zabilježenih u Hrvatskoj: *A. filicornis* (Pictet, 1834), *A. reducta* (McLachlan, 1865), *A. syriaca* Ulmer, 1907 i novo zabilježene vrste *A. cremisa* utvrđene u fauni Hrvatske ovim istraživanjima. Vrijednost nekorigirane udvojene distance između *A. balcanica* (TABAL\_1) i ostalih vrsta roda *Adicella* iznosi od 11,2% (*A. cremisa*, Italija) do 20,76% (*A. filicornis*) (Tablica 22).



Slika 17. A-C. Vanjski izgled odraslog mužjaka vrste *A. cremisa* (A), lateralni izgled genitalnog aparata mužjaka (B) i ženke (C).



Slika 18. Filogenetsko stablo konstruirano metodom susjednog sparivanja na temelju sekvenci mitohondrijskog gena za *COI* (DNA barkod regija) vrsta roda *Adicella*. Na granama su označene *bootstrap* vrijednosti. Vrsta *Rhyacophila vulgaris* predstavlja vanjsku vrstu.

Tablica 22. Srednje vrijednosti nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti za vrste roda *Adicella* izražene u postotcima na temelju DNA barkod regije (mitohondrijski *COI* gen). Zadebljanim brojevima su označene intraspecifične vrijednosti.

	<i>A. cremisa</i> Zrmanja	<i>A. cremisa</i> Krapina	<i>A. cremisa</i> , Italija	<i>A. balcanica</i> Krupa	<i>A. filicornis</i>	<i>A. reducta</i> BOLD
<i>A. cremisa</i> , Zrmanja	-					
<i>A. cremisa</i> , Krapina	0,32	-				
<i>A. cremisa</i> , Italija	0,11	0,44	<b>0,14</b>			
<i>A. balcanica</i> , Krupa	13,99	14,59	11,02	-		
<i>A. filicornis</i>	14,07	14,27	14,41	20,76	<b>0,11</b>	
<i>A. reducta</i> , BOLD	13,18	13,68	15,29	20,36	11,05	<b>0,78</b>
<i>A. syriaca</i>	12,95	12,75	12,77	19,48	14,84	15,49

#### 4.1.3. Potvrda nalaza rijetke vrste *Trichostegia minor* (Curtis, 1834)

Vrsta *Trichostegia minor* prikupljena je na Majerovom vrilu, izvoru rijeke Gacke (leg. D. Cerjanec). Uzorak *T. minor* iz Hrvatske je odrasli mužjak s oznakom TTMIN\_1 (Slika 19). BOLD Identification Engine odredio je sekvencu uzorka TTMIN\_1 kao *T. minor* s 98.93% sličnosti s postojećom sekvencom u BOLD bazi (PRILOG 19).



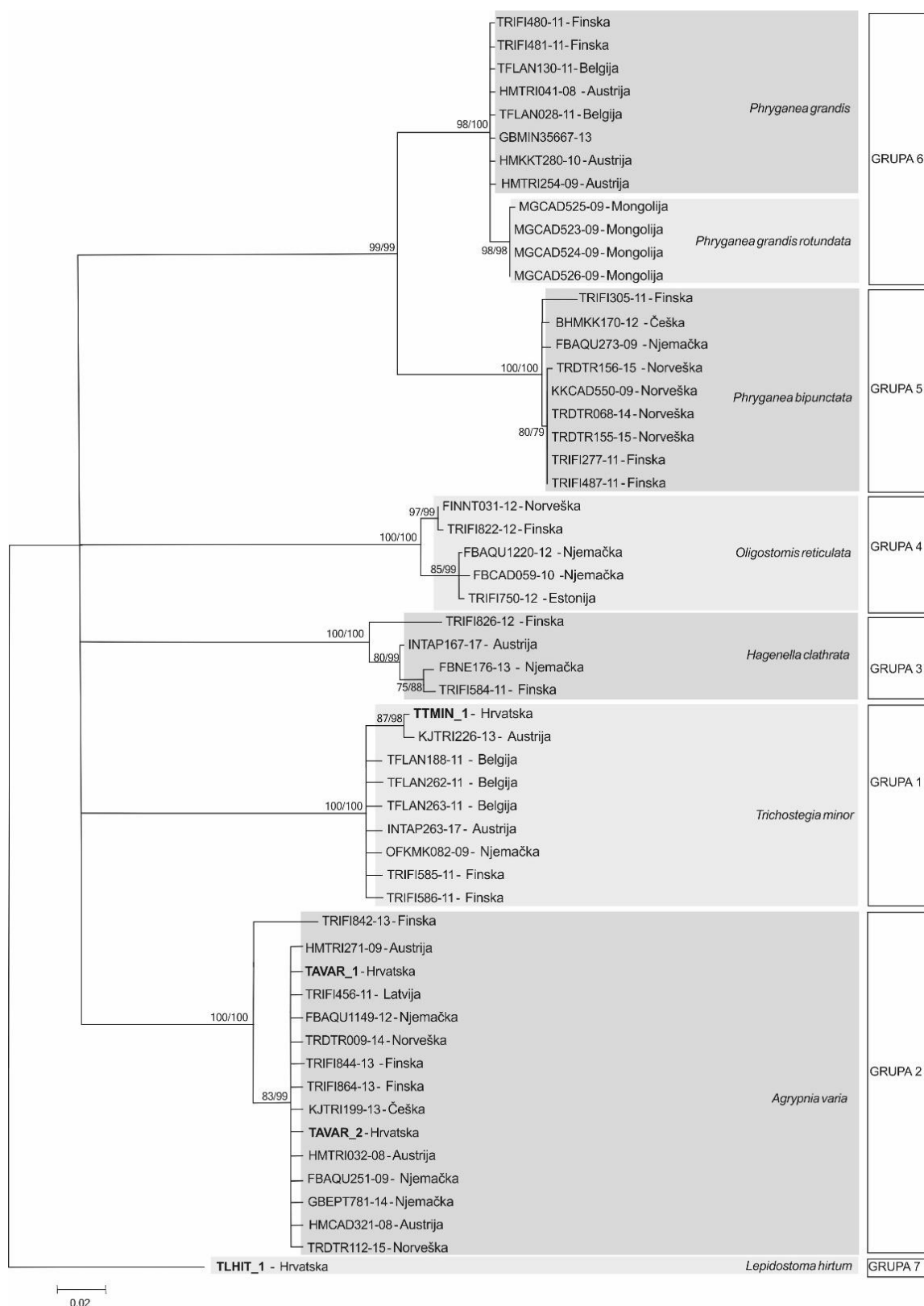
Slika 19. Dorzalni izgled genitalnog aparata mužjaka *T. minor* (Foto: Mladen Kučinić).

Haplotip jedinke vrste *T. minor* iz Hrvatske grupirao se s ostalim haplotipovima vrste *T. minor* iz Europe (Slika 20). Haplotip *T. minor* TTMIN\_1 iz Hrvatske i KJTRI226-13 iz Austrije odvojile su se u zasebnu grupu od ostalih *T. minor* iz Europe. ABGD analiza svrstava sve haplotipove *T. minor* pa tako i haplotip iz Hrvatske u jednu grupu (grupa 1). ABGD analiza podijelila je analizirane haplotipove u 7 grupa, hipotetskih vrsta u skladu s onim kako su morfološki određene (Slika 20). Haplotipovi podvrste *P. grandis rotundata* ABGD analiza nije svrstala u zasebnu grupu, već čine jednu grupu s *P. grandis* (grupa 6, Slika 20). Minimalna interspecifična vrijednosti p-udaljenosti između *T. minor* iz Hrvatske i vrsta iz porodice

Phryganeidae je 14% dok ta vrijednost s vanjskom vrstom *Lepidostoma hirtum* iznosi (16%) (Tablica 23). Genetski najbližnji primjerak *T. minor* (TTMIN\_1) je KJTTRI226-13 sa samo 0,6% razlike u DNA barkod regiji. Minimalna vrijednost p-udaljenosti s ostalim primjercima *T. minor* iznosi 2% (Tablica 23).

Tablica 23. Vrijednosti nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti (p-udaljenosti) za gen *COI*, DNA barkod regiju izražene u postotcima za vrste porodice Phryganeidae i vrstu *Lepidostoma hirtum* (vanjska grupa). Zadebljanim brojevima su označene intraspecifične vrijednosti.

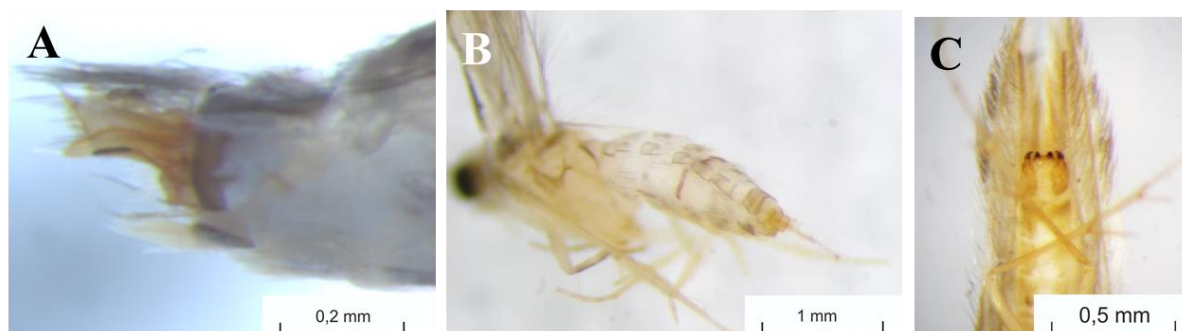
	<i>T. minor</i> TTMIN_1 i KJTTRI226- 13	<i>T. minor</i>	<i>Agrypnia</i> <i>varia</i>	<i>Hagenella</i> <i>clathrata</i>	<i>Oligostomi</i> <i>s reticulata</i>	<i>Phryganea</i> <i>bipunctata</i>	<i>P.</i> <i>grandis</i>
<i>T. minor</i> TTMIN_1 i KJTTRI226-13	<b>0- 0,5</b>						
<i>T. minor</i>	2-2,8	<b>0 – 0,1</b>					
<i>Agrypnia</i> <i>varia</i>	16,11-17	15,7-17,0	<b>0,20- 3,5</b>				
<i>Hagenella</i> <i>clathrata</i>	15,7-16,5	15,3-16,5	14,7-16,5	<b>0,4-4,5</b>			
<i>Oligostomis</i> <i>reticulata</i>	14,3-15,1	13,9-15,3	14,1-15,7	13,4-14,5	<b>0,2-2,8</b>		
<i>Phryganea</i> <i>bipunctata</i>	16,3-17,2	16,3-17,4	16,3-17,1	14,3-15,3	14,3-15,3	<b>0,1-1,8</b>	
<i>Phryganea</i> <i>grandis</i>	14,5-15,2	14,3-15,9	15,5-16,7	13,9-15,7	12,6-13,8	8,8-10,2	<b>0,2-1,6</b>
<i>Lepidostoma</i> <i>hirtum</i>	15,9-16,1	15,7-16,1	15,7-17,1	16,7-18,1	17,1-17,5	18,3-19,1	15,7-16,1



Slika 20. Filogenetsko stablo vrsta porodice Phryganeidae konstruirano metodom najveće vjerojatnosti temeljeno na genu *COI* (DNA barkod regija). Vrsta *Lepidostoma hirtum* predstavlja vanjsku grupu. Na granama su označene *bootstrap* vrijednosti veće od 70 (za NJ/ML metode). Zadebljanim slovima označene su sekvence nastale ovim radom. Na desnoj strani označene su grupe kao rezultat ABGD analize i predstavljaju hipotetske vrste.

#### 4.1.4. Određivanje malih vrsta i potvrda novih vrsta za Hrvatsku iz porodice Hydroptilidae

Ovim je istraživanjem utvrđeno prisustvo 7 vrsta roda *Hydroptila*, koje, iako su široko rasprostranjene, do sada nisu zabilježene u fauni Hrvatske. To su vrste: *Hydroptila simulans*, *H. phaon*, *H. forcipata*, *H. lotensis*, *H. tineoides*, *H. tigurina* i *H. martini* (Slika 21 A). Kao rezultat ovog istraživanja, rod *Orthotrichia* u fauni Hrvatske bogatiji je s novo zabilježenim vrstama *O. angustella* (Slika 21 B) i *O. costalis*. Prisutnost roda *Ithytrichia* u Hrvatskoj potvrđena je pronalaskom jedine vrste unutar roda: *I. lamellaris*. Rod *Oxyethira* bogatiji je za jednu vrstu *O. flavicornis* (Slika 21 C). Ostala dva roda iz porodice Hydroptilidae, rodovi *Agraylea* Curtis, 1834 i *Allotrichia* McLachlan, 1880 zastupljeni su s po jednom vrstom u fauni Hrvatske. Obje navedene vrste, *Agraylea sexmaculata* Curtis, 1834 (uzorci broj 56-58, PRILOG 19) i *Allotrichia pallicornis* (Eaton, 1873) (uzorci broj 59 i 60, PRILOG 19) su ovim radom potvrđene u fauni Hrvatske. Neke od navedenih vrsta morfološki su određene do razine vrste u prijašnjim istraživanjima što je ovim radom potvrđeno na temelju metode DNA barkodiranja.



Slika 21. Lateralni izgled genitalnog aparata mužjaka vrste: A - *Hydroptila martini*, B - *Orthotrichia angustella*, C - *Oxyethira flavicornis* (Foto: Mladen Kučinić).

Svaka od novozabilježenih vrsta roda *Hydroptila* grupirala se s primjercima iste vrste iz Europe (Slika 23). Vrsta *H. simulans* s visokom podržanošću grupira s vrstom *H. simulans* iz Finske, Njemačke i Austrije (Slika 23). ABGD analiza svrstava sve sekvence vrste *H. simulans* u jednu grupu (grupa 6), potencijalnu vrstu (Slika 23).

Četiri primjerka iz Hrvatske (THANG\_2, THANG\_1, THLOT\_1, THYD\_13) se s visokom podržanošću grupiraju s primjerkom iz Finske (Slika 23). Primjerci THANG\_2, THANG\_1 iz Hrvatske morfološki su određeni kao vrsta *H. angulata*, no jasno odvajanje ovih primjeraka od haplotipova vrste *H. angulata* iz Italije i Njemačke rezultira ispravljanjem taksonomskog

imenovanja. Temeljem filogenetskog stabla i vrijednosti p-udaljenosti između THANG\_2, THANG\_1 i vrste *H. angulata* (Slika 23) utvrđeno je da se radi o vrsti *H. lotensis*. Primjerak THYD\_13 iz Hrvatske nije bilo moguće morfološki odrediti do razine vrste, no metodom DNA barkodiranja taksonomski je određen kao *H. lotensis* što je podržano i filogenetskim analizama (Slika 23). ABGD analiza svrstava sve sekvence vrste *H. lotensis* u jednu grupu (grupa 3), potencijalnu vrstu (Slika 23).

Dva primjerka vrste *H. phaon* iz Hrvatske međusobno su grupirana s visokom podržanošću (Slika 23). Morfološke značajke tih primjeraka govore da se radi o vrsti *H. phaon*, dok molekularna analiza isključuje mogućnost da se radi o nekoj drugoj vrsti koja je bila uključena u analizu. Sekvence *COI* gena vrste *H. phaon* predstavljaju prvi unos sekvenci *COI* gena (DNA barkod regije) ove vrste u BOLD bazu (Slika 23). ABGD analiza sekvence vrste *H. phaon* u jednu grupu (grupa 5), potencijalnu vrstu (Slika 23).

Unutar vrste *H. vectis* dolazi do odvajanja linija u 2 grupe s dobrom podržanošću (Slika 23). Jednu grupu čine primjerci iz Estonije, dok drugu čine primjerci iz Austrije, Italije i Hrvatske (THVEC\_1, THVEC\_2, THYD\_3,). ABGD analiza je svrstala sve sekvence vrste *H. vectis* u jednu grupu, potencijalnu vrstu (grupa 10, Slika 23). Primjerak THYD\_3 iz Hrvatske nije bilo moguće morfološki odrediti do razine vrste, no metodom DNA barkodiranja dodjeljen je taksonomski status vrste *H. vectis*. Navedeno je vidljivo na filogenetskom stablu u kojem se primjerak THYD\_3 s visokom podržanošću grupira s ostalim sekvencama vrste *H. vectis* iz Europe.

Pet primjeraka vrste *H. forcipata* iz Hrvatske (THFOR\_1-5) grupirali su se s ostalim primjercima iz Europe i zajedno tvore dobro podržanu monofiletsku grupu (Slika 23). ABGD analiza je svrstala sve sekvence vrste *H. forcipata* u jednu grupu, potencijalnu vrstu (grupa 2, Slika 23).

Primjerci vrste *H. tigurina* iz Hrvatske (THTIG\_1 i THTIG\_3) se međusobno grupiraju s visokom podržanošću (Slika 23). ABGD analiza grupira primjerke u jednu grupu (grupa 8). Sekvence *COI* gena vrste *H. tigurina* predstavljaju prvi unos sekvenci *COI* gena (DNA barkod regije) ove vrste u BOLD bazu (Slika 23).

Primjerci THTIN\_1, THTIN\_2, THID\_3 i THYD\_6 iz Hrvatske čine monofiletsku grupu s primjercima vrste *H. tineoides* s visokom podržanošću (Slika 23). Primjerci THID\_3 i

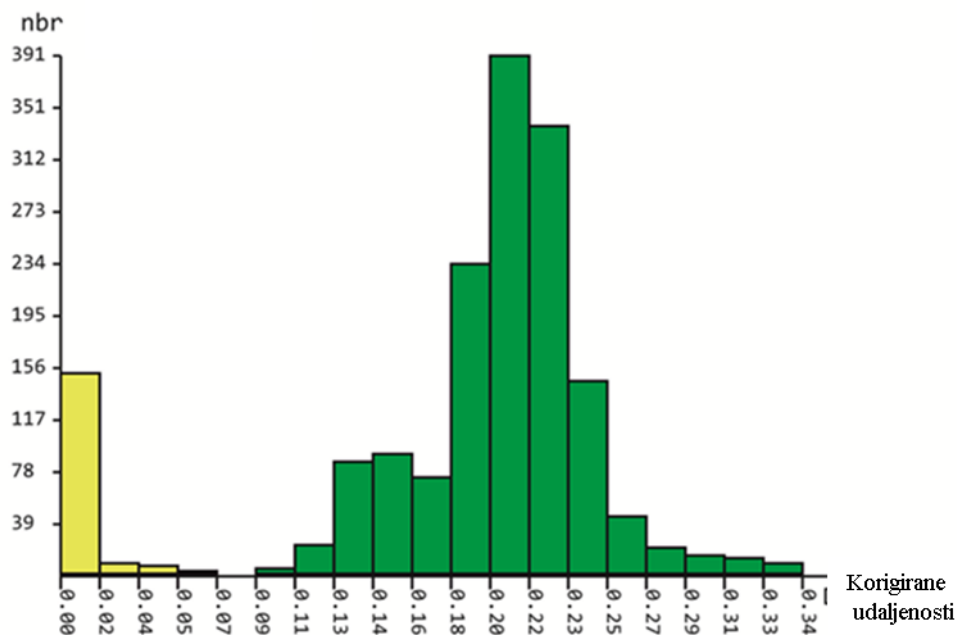


THYD\_6 nisu se mogli biti morfološki odrediti, no filogenetska analiza ih jasno svrstala u vrstu *H. tineoides* (Slika 21). ABGD analiza svrstava navedene primjerke u grupu 9 zajedno s ostalim primjercima vrste *H. tineoides* (Slika 23).

Primjerci vrste *H. sparsa* iz Hrvatske grupiraju se unutar relativno dobro podržane grupe haplotipova vrste *H. sparsa* (Slika 23). ABGD analiza sve primjerke svrstava u jednu grupu (grupa 7). Primjerci THYP\_6 i THYD\_12 su uspješno određeni kao *H. sparsa* metodom DNA barkodiranja s obzirom da taksonomsku pripadnost nije bilo moguće odrediti na temelju morfologije (Slika 23).

Primjerci vrste *H. martini* su grupirani s ostalim primjercima iz Europe s visokom podržanošću (Slika 23). Od primjeraka vrste *H. martini* odvajaju se dvije podgrupe s primjercima iz Austrije i Crne Gore (Slika 23). ABGD analiza svrstava sve primjerke vrste *H. martini* u jednu grupu (grupa 4, Slika 23).

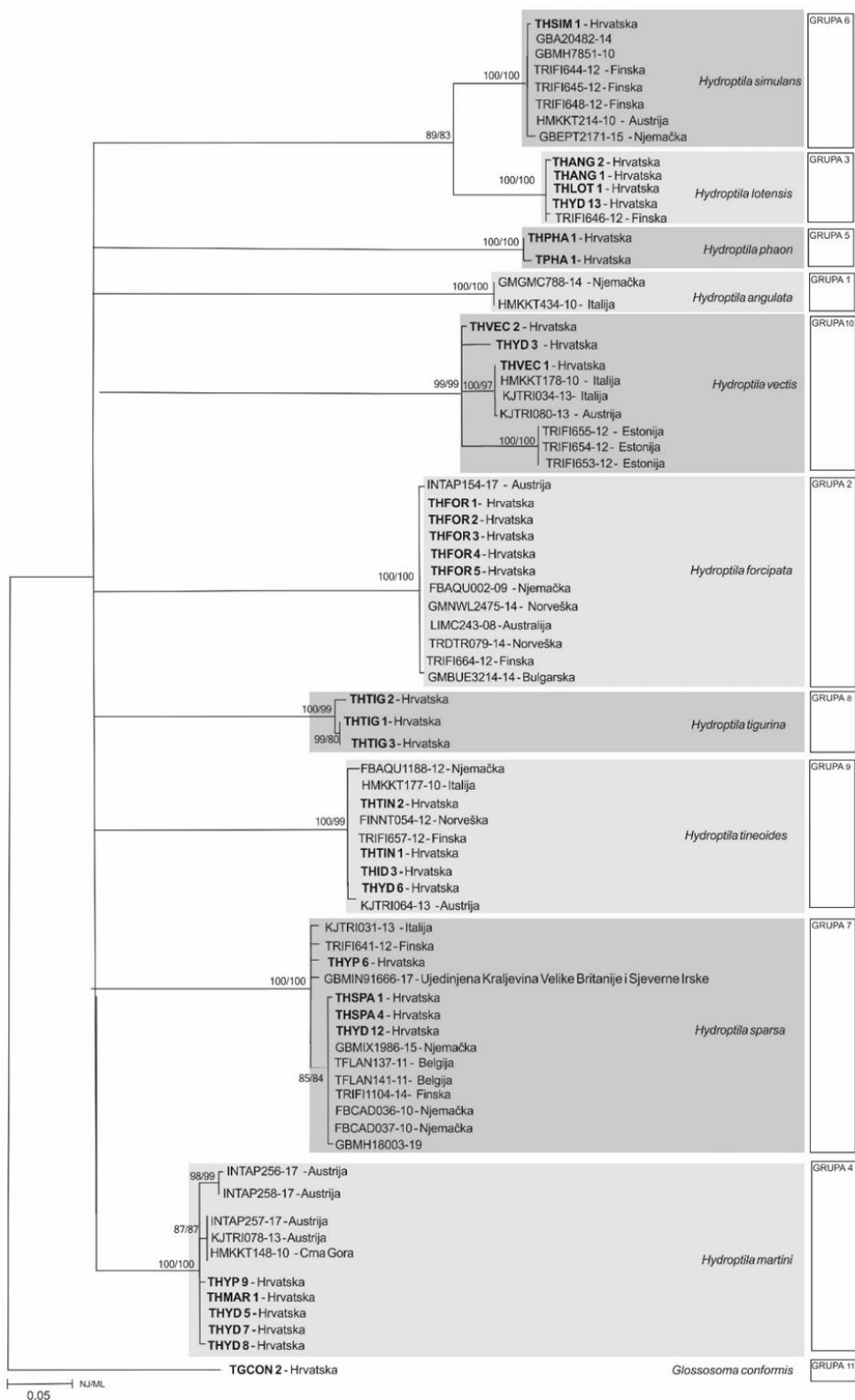
U raspodjeli učestalosti p-udaljenosti nalazi se barkod praznina između vrijednosti od 0,07-0,09 (Slika 23). Najveća intraspecifična p-udaljenost zabilježena je unutar vrste *H. vectis* (6,1%, Tablica 24), dok je najmanja interspecifična p-udaljenost zabilježena između vrsta *H. simulans* i *H. lotensis* (11,9%-12,5%, Tablica 24). Najveća interspecifična p-udaljenost između analiziranih primjeraka roda *Hydroptila* zabilježena je između vrsta *H. martini* i *H. forcipata* te *H. tineoides* i *H. phaon* (25,6%; Tablica 24). Promatrane vrste roda *Hydroptila* imaju raspon interspecifična genetska udaljenosti s vanjskom vrstom *G. conformis* od 25,3% (*H. martini*) do 30,8% (*H. vectis*; Tablica 24).



Slika 22. Histogram na temelju ABGD analize nastao koristeći K2P evolucijski model unutar vrsta roda *Hydroptila*. Vrijednosti korigiranih (K2P) genetskih udaljenosti nalaze se na horizontalnoj osi, a na vertikalnoj broj udvojenih usporedbi (nbr). Na lijevoj strani histograma (obojeno žutim) prikazana je intraspecifična, a na desnoj strani (obojeno zeleno) interspecifična varijanca vrijednosti.

Tablica 24. Vrijednosti nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti (p-udaljenosti) DNA barkod regije (mitohondrijski *COI* gen) izražene u postotcima za vrste roda *Hydroptila* te vrste *Glossosoma conformis* (vanjska vrsta). Intraspecifične vrijednosti označene su zadebljanim brojevima.

	<i>H. angulata</i>	<i>H. forcipata</i>	<i>H. lotensis</i>	<i>H. martini</i>	<i>H. phaon</i>	<i>H. simulans</i>	<i>H. sparsa</i>	<i>H. tigurina</i>	<i>H. tineoides</i>	<i>H. vectis</i>
<i>H. angulata</i>	<b>0</b>									
<i>H. forcipata</i>	18,6	<b>0,1</b>								
<i>H. lotensis</i>	19,2	17,4	<b>0</b>							
<i>H. martini</i>	19,2	25,6	19,8-20,4	<b>0,9</b>						
<i>H. phaon</i>	19,2-20,1	20,6	16,8	19,6	<b>0,6</b>					
<i>H. simulans</i>	17,7-18	17,8	11,9-12,5	21,6-22,6	16,2-17,4	<b>0-1,2</b>				
<i>H. sparsa</i>	21-21,6	21,9	19,5-19,8	19,8-21,6	20,4-21,6	18,9-19,8	<b>0-1,5</b>			
<i>H. tigurina</i>	19,9	16,9	18,9	20-21,6	18,3-19,2	19,5-20,4	18,9-19,5	<b>0-1,2</b>		
<i>H. tineoides</i>	22,9-24,1	19,2-20,1	21-22,3	20-21,6	23,5-25,6	22,6-23,5	19,5-20,7	16,8-18	<b>0-2,1</b>	
<i>H. vectis</i>	17,4-20,4	19,5-22	19,5-22	19,8-22,6	20,1-23,2	19,8-23,5	22,3-25	17,4-19,2	22-24,4	<b>0-6,1</b>
<i>Glossosoma conformis</i>	27,1	29,3	26,5	25,3-25,9	27,4-28	26,8-27,4	29,9-30,2	25,6-26,2	25,6-26,5	30,8-21,7



Slika 23. Filogenetsko stablo konstruirano metodom najveće vjerojatnosti temeljeno na *COI* genu (DNA barkod regiji) na kojem su vidljivi odnosi između vrsta roda *Hydroptila* te *Glossosoma conformis* (vanjska grupa). Na granama su označene *bootstrap* vrijednosti (BS) redom NJ/ML. BS vrijednosti manje od 80 nisu prikazane. Zadebljanim slovima označene su sekvence dobivene u ovom radu. Na desnoj strani označene su grupe kao rezultat ABGD analize i predstavljaju hipotetske vrste.

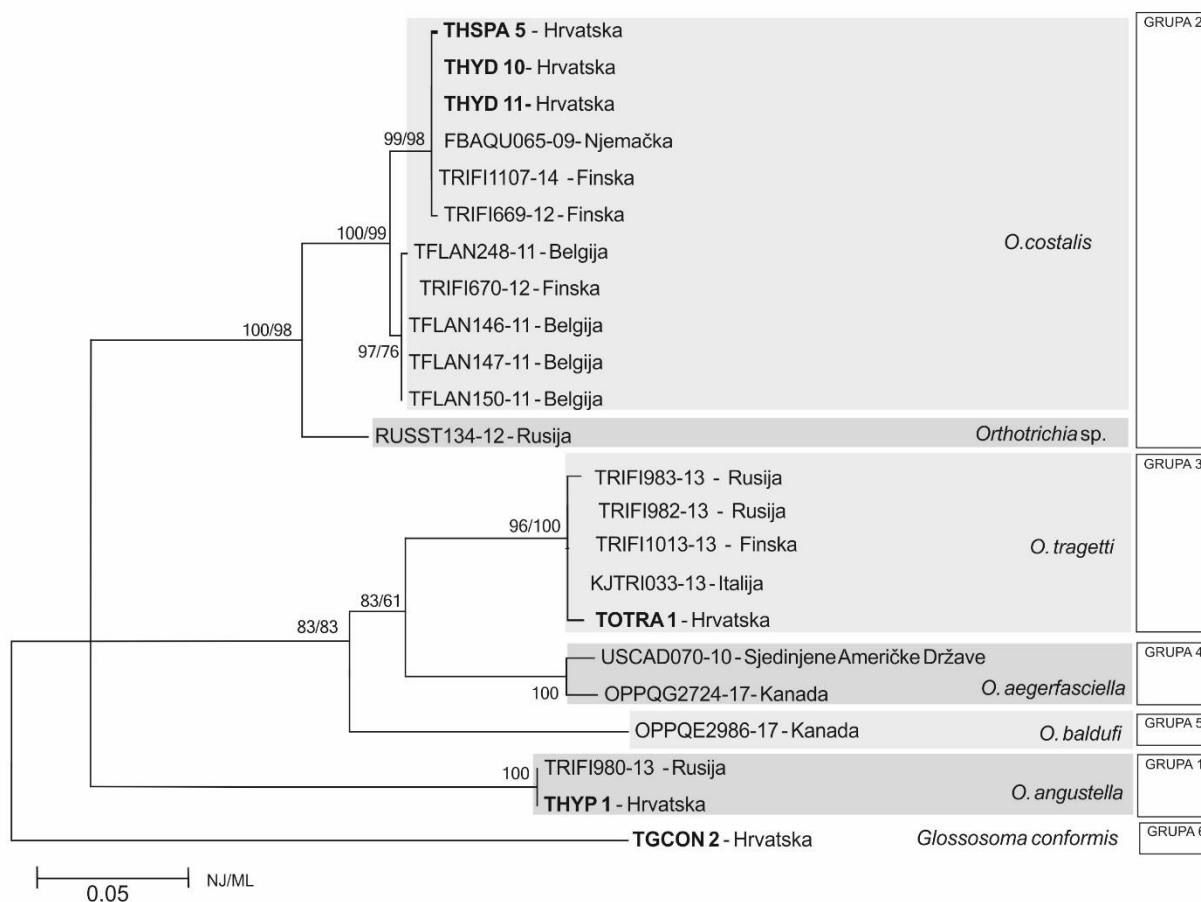
Svaki od analiziranih primjeraka iz roda *Orthotrichia* iz Hrvatske se grupirao s primjercima svoje vrste (Slika 24). Nedeterminirana linija RUSST134-12 iz Rusije sadržana je unutar *O. costalis* grupe (grupa 2), prema ABGD analizi, ali u filogenetskom stablu čini zasebnu, visokopodržanu granu (Slika 24). Preostali uzorci grupiraju se u dvije dobro podržane linje, ali sa plitkim filogenetskim grananjem. Genetiske udaljenosti između primjeraka *O. costalis* koji čine primjerci iz Finske, Njemačke i Hrvatske te primjeraka iz Belgije i Finske iznosi 1,9% (Tablica 25).

Primjerci unutar vrste *O. tragetti* čine monofiletsku grupu s visokom podržanošću, te su prema ABGD analizi svrstani u jednu grupu (grupa 3, Slika 24). Vrsta *O. aegerfasciella* Chambers, 1873 sestrinska je vrsti *O. tragetti*, a njima dvjema vrsta *O. baldufi* Kingsolver & Ross, 1961 iz Sjeverne Amerike. Filogenetski odnosi između tri navedene vrste su tek umjereno podržani *bootstrap* vrijednostima. ABGD analiza svrstava navedene vrste u zasebne grupe (grupa 3, 4 i 5, Slika 24). Prosječne vrijednost p-udaljenosti između vrsta roda *Orthotrichia* iz Europe i Američke, sličnih su vrijednosti, tj. u rasponu od 10,3% do 13,7% (Tablica 25).

Primjerak THYP\_1 nije bilo moguće morfološki točno odrediti, no s obzirom da ima identičan haplotip kao i primjerak vrste *O. angustella* (TRIFI980-13) iz Rusije, filogenetske analize, kao i ABGD analiza grupirale su ga s vrstom *O. angustella* s visokom podržanošću (Tablica 25, Slika 24). Suhodno tome dodijeljen mu je pripadajući taksonomski status – pripadnost vrsti *O. angustella*.

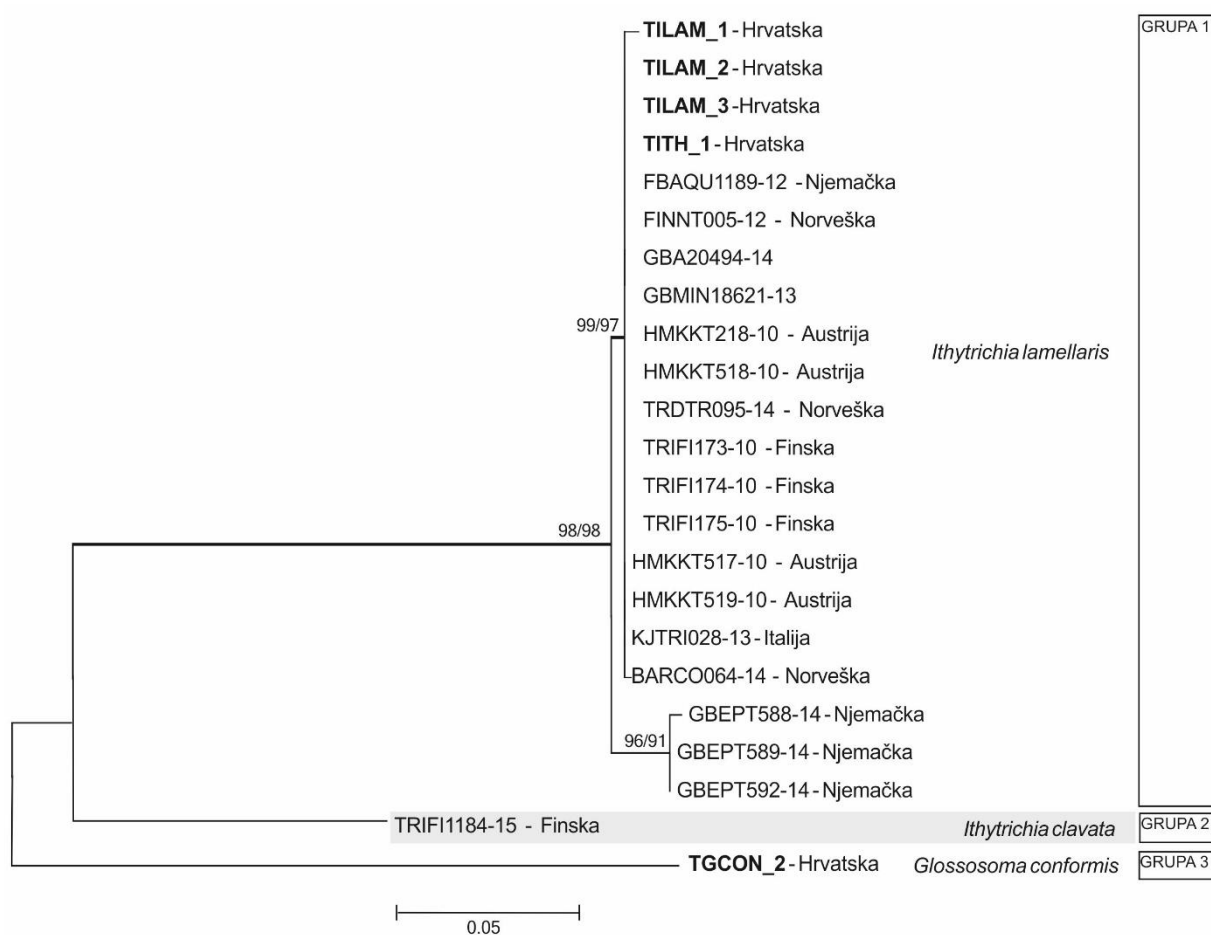
Tablica 25. Srednje vrijednosti nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti (p-udaljenosti) DNA barkod regije izražene u postotcima za vrste roda *Orthotrichia* te vrste *Glossosoma conformis* (vanjska vrsta). Intraspecifične vrijednosti su označene zadebljanim brojevima. Značenje kratica u tablici: Njem. - Njemačka, Fin. – Finska, Bel. – Belgija, Hr. – Hrvatska.

	<i>O. angustella</i>	<i>O. costalis</i> (Njem., Fin., Hr)	<i>O. costalis</i> (Bel., Fin.)	<i>O. tragetti</i>	RUSST 134-12	<i>O. aegerfasciella</i>	<i>O. baldufi</i>
<i>O. angustella</i>	<b>0</b>						
<i>O. costalis</i> (Njem., Fin., Hr.)	13,4	<b>0,3</b>					
<i>O. costalis</i> (Bel., Fin.)	13,8	1,9	<b>0,3</b>				
<i>O. tragetti</i>	13,7	12,6	12,8	<b>0,5</b>			
RUSST134-12	13,3	6	5,3	12	-		
<i>O. aegerfasciella</i>	14,6	13,5	13,2	10,3	12,7	<b>1,9</b>	
<i>O. baldufi</i>	15,9	14,2	14,4	13	14	13,5	-
<i>G. conformis</i>	24,9	23,6	23,9	25,5	24,5	24,7	25



Slika 24. Filogenetsko stablo konstruirano metodom najveće vjerojatnosti temeljeno na *COI* genu (DNA barkod regiji) na kojem su vidljivi odnosi između vrsta roda *Orthotrichia* te *Glossosoma conformis* (vanjska grupa). Na granama su označene *bootstrap* vrijednosti (BS) redom NJ/ML. BS vrijednosti manje od 80 nisu prikazane. Zadebljanim slovima označene su sekvence nastale ovim radom. Na desnoj strani označene su grupe kao rezultat ABGD analize i predstavljaju hipotetske vrste.

Filogenetsko svrstava primjerke *I. lamellaris* iz Hrvatske u grupu s ostalim primjercima ove vrste iz Europe s visokom podržanošću (Slika 25). Unutar grupe *I. lamellaris* odvajaju se dvije linije: jedna linija s primjercima iz Njemačke i druga s primjercima iz ostalih europskih zemalja. ABGD analiza svrstala je primjerke u istu grupu (grupa 1, Slika 25). Najveća vrijednost nekorrigirane genetske udaljenosti unutar vrste *I. lamellaris* iznosi 2,5%, dok je interspecifična iznosi 20,3% (Tablica 26).



Slika 25. Filogenetsko stablo konstruirano metodom najveće vjerojatnosti temeljeno na *COI* genu (DNA barkod regiji) na kojem su vidljivi odnosi između vrsta roda *Ithytrichia* te *Glossosoma conformis* (vanjska grupa). Na granama su označene *bootstrap* vrijednosti (BS) redom NJ/ML. BS vrijednosti manje od 80 nisu prikazane. Zadebljanim slovima označene su sekvence nastale ovom radu. Na desnoj strani označene su grupe kao rezultat ABGD analize i predstavljaju hipotetske vrste.

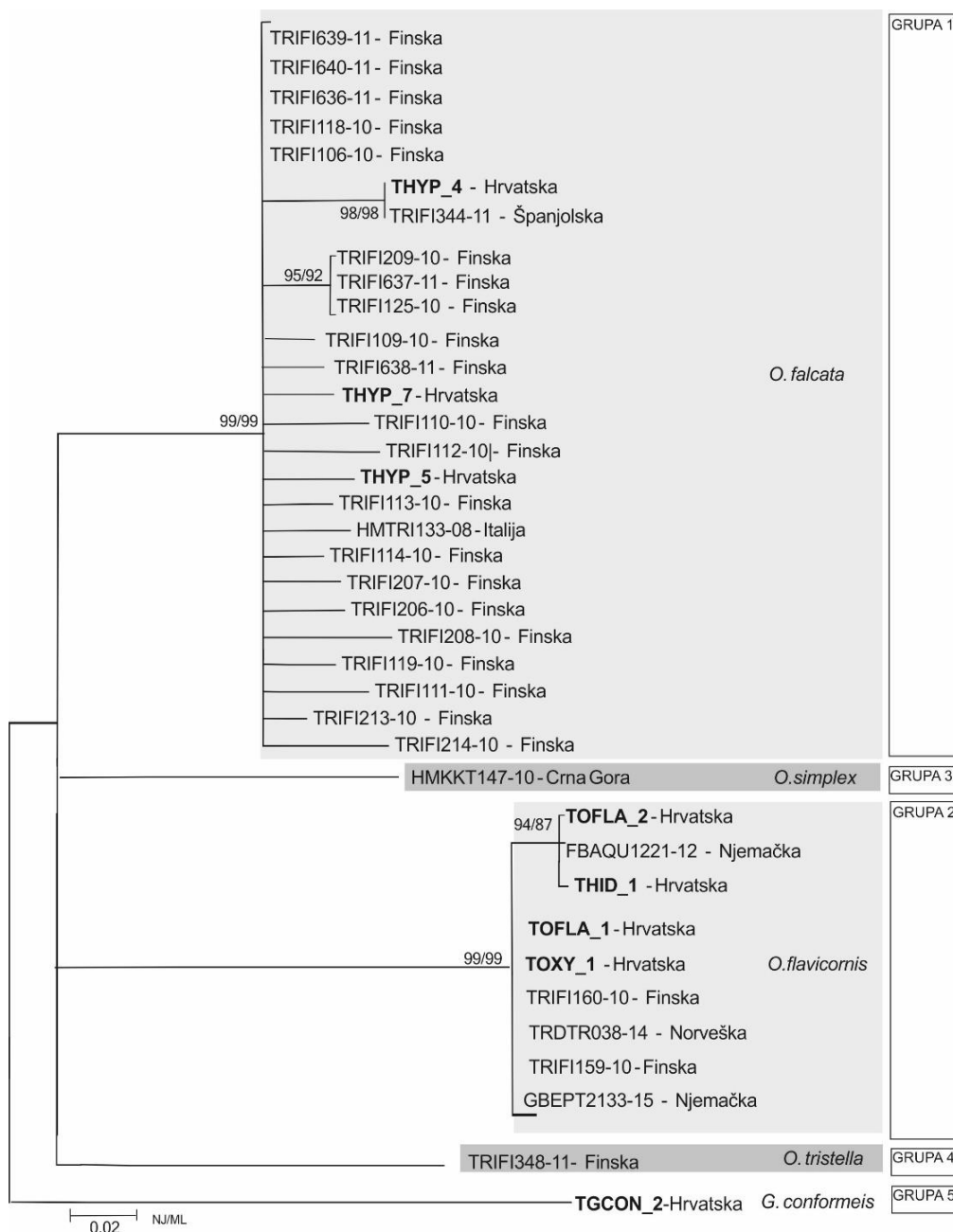
Tablica 26. Vrijednosti nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti (p-udaljenosti) DNA barkod regije (mitohondrijski *COI* gen) izražene u postocima za vrste roda *Ithytrichia*. Zadebljanim brojevima označena je intraspecifična vrijednost

	<i>I. lamellaris</i>	<i>I. clavata</i>
<i>I. lamellaris</i>	0-2,5	
<i>I. clavata</i>	20-20,3	-
<i>Glossosoma conformis</i>	24,8	28,3

Svi primjerci *Oxyethira falcata* iz Hrvatske grupirani su s drugim primjercima ove vrste iz Europe s visokom podržanošću (Slika 26). Unutar grupe *O. falcata* dolazi do odvajanja primjeraka iz Finske u jednu liniju, te Španjolske i jednog primjerka iz Hrvatske u drugu liniju. Sve navedene primjerke vrste *O. falcata* ABGD analiza svrstava u jednu grupu (grupa 1, Slika 26). Svi primjerci *O. flavicornis* iz Hrvatske grupirani su s drugim primjercima ove vrste iz Europe s visokom podržanošću (Slika 26). Unutar grupe *O. flavicornis* dolazi do umjereno podržanog odvajanja dvaju primjeraka iz Hrvatske (TOFLA\_2 i THID\_1) i jednog iz Njemačke u zasebnu liniju. ABGD analiza svrstava sve primjerke vrste *O. flavicornis* u jednu grupu (grupa 2, Slika 26). Najveća intraspecifična genetska udaljenost zabilježena je unutar vrste *O. falcata* i iznosi 6,7% (Tablica 27). Najveća interspecifična vrijednost unutar roda *Oxyethira* zabilježena je između vrsta *O. flavicornis* i *O. tristella* (21,8%), a najmanja između vrsta *O. simplex* i *O. falcata* (14,4%, Tablica 27).

Tablica 27. Raspon vrijednosti nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti (p-udaljenosti) DNA barkod regije (mitohondrijski *COI* gen) za vrste roda *Oxyethira* prikazane u postotcima. Intraspecifične vrijednosti su prikazane zadebljanim brojevima.

	<i>O. falcata</i>	<i>O. flavicornis</i>	<i>O. simplex</i>	<i>O. tristella</i>
<i>O. falcata</i>	<b>0-6,7</b>			
<i>O. flavicornis</i>	18,3-20,1	<b>0-2,8</b>		
<i>O. simplex</i>	14,4-16,2	18,1-19	-	
<i>O. tristella</i>	16-17,8	21,3-21,8	17,1	-
<i>G. conformis</i>	16-17,8	26,4-26,6	24,8	25,2

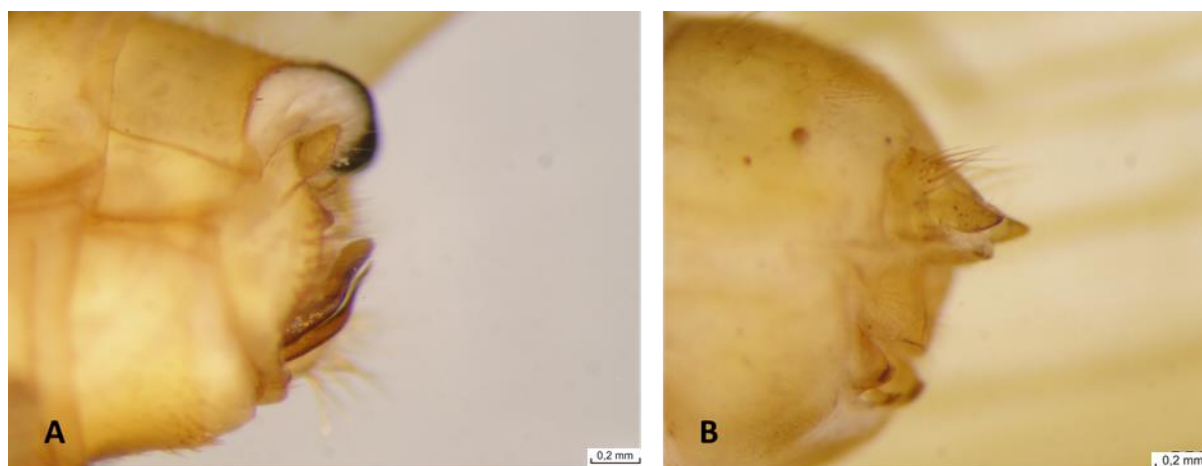


Slika 26. Filogenetsko stablo konstruirano metodom najveće vjerojatnosti temeljeno na *COI* genu (DNA barkod regiji) na kojem su vidljivi odnosi između vrsta roda *Oxyethira* te *Glossosoma conformis* (vanjska grupa). Na granama su označene *bootstrap* vrijednosti (BS) redom NJ/ML. BS vrijednosti manje od 80 nisu prikazane. Zadebljanim slovima označene su sekvence nastale u ovom radu. Na desnoj strani označene su grupe kao rezultat ABGD analize i predstavljaju hipotetske vrste.



#### 4.1.5. Taksonomski specifične vrste u fauni Hrvatske *Micropterna wageneri* Malicky, 1971 i *Micropterna fissa* McLachlan, 1875

Ovim radom prikupljena su 2 primjerka vrste *Micropterna wageneri* na potoku Konavočica: na izvoru u selu Vodovođe i srednjem toku kod sela Palje u Konavlima (leg. S. Žalac, M. Kučinić). Primjerci prikupljeni u Konavlima određeni su prema morfološkim značajkama genitalija mužjaka (Slika 27 A) i ženke (Slika 27 B). Osim u Hrvatskoj, vrsta *M. wageneri* prikupljena je u speleološkom objektu Spelaecelicokave u Albaniji (leg. Branko Jalžić).



Slika 27. A-B. Lateralni izgled genitalnog aparata vrste *M. wageneri* A – mužjaka, B – ženke (Foto:Mladen Kučinić).

BOLD Identification Engine nije uspio odrediti sekvence *M. wageneri* iz Hrvatske do razine vrste s obzirom da sekvence ove vrste nisu do sada bile unesene u BOLD bazu. Primjerci *M. wageneri* iz Hrvatske uneseni su u BOLD bazu i predstavljaju prvi unos DNA barkod sekvenci i podataka za vrstu *M. wageneri*.

Vrsta *M. fissa* je široko rasprostranjena, ali je u fauni tulara Hrvatske rijetko zabilježena. Ovim radom prikupljeni su mužjak i ženka vrste *M. fissa* u kopulaciji u jami Mokre noge na Biokovu na dubini oko 700 m. Mužjaka i ženku vrste *M. fissa* BOLD Identification Engine odredio je kao najbližnje primjerku iz Italije (BOLD Id: BHMKK197-12) (PRILOG 19).

Maksimalna vrijednost p-udaljenosti unutar *M. wageneri* iznosi 0,4% što ujedno predstavlja minimalnu intraspecifičnu vrijednost zabilježenu među analiziranim vrstama roda *Micropterna* (Tablica 28). Sličnu maksimalnu vrijednost intraspecifične genetske udaljenosti (0,5%) zabilježena je i kod vrste *M. fissa* (Tablica 28). Vrsta *M. wageneri* pokazuje najmanju genetsku

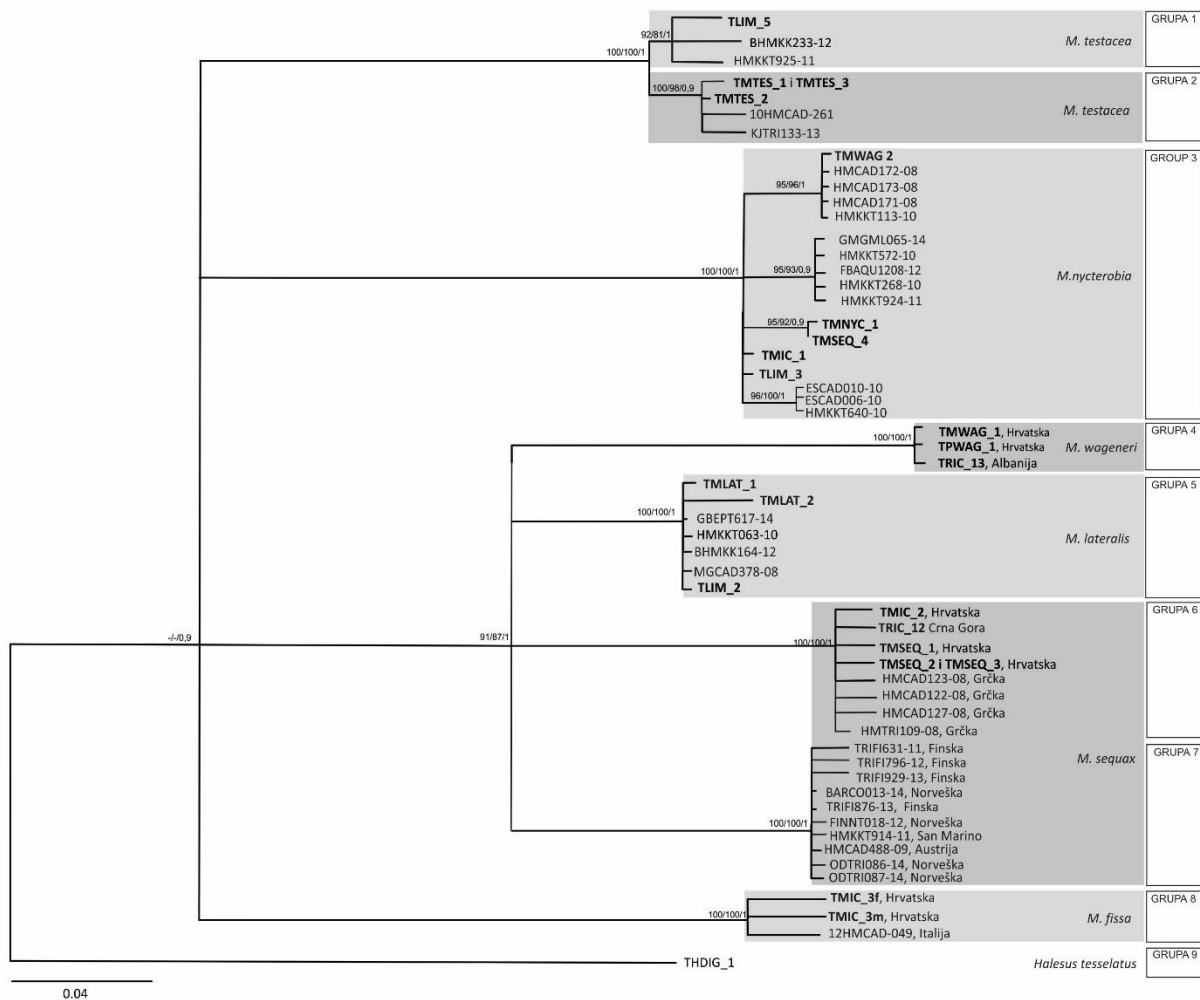
udaljenost s vrstom *M. lateralis* (8,6%), a vrsta *M. fissa* s vrstom *M. nycterobia* (10,6%, Tablica 28).

Filogenetskim metodama svi primjerci vrste *M. wagneri* su s visokom podržanošću formiraju monofiletsku grupu (Slika 28). ABGD analiza ih svrstava u zasebne hipotetske vrste (grupa 4, Slika 28). S visokom vrijednosti podrške grupirani su pripadnici vrste *M. fissa* te ih ABGD analiza svrstava u grupu 8 (Slika 28).

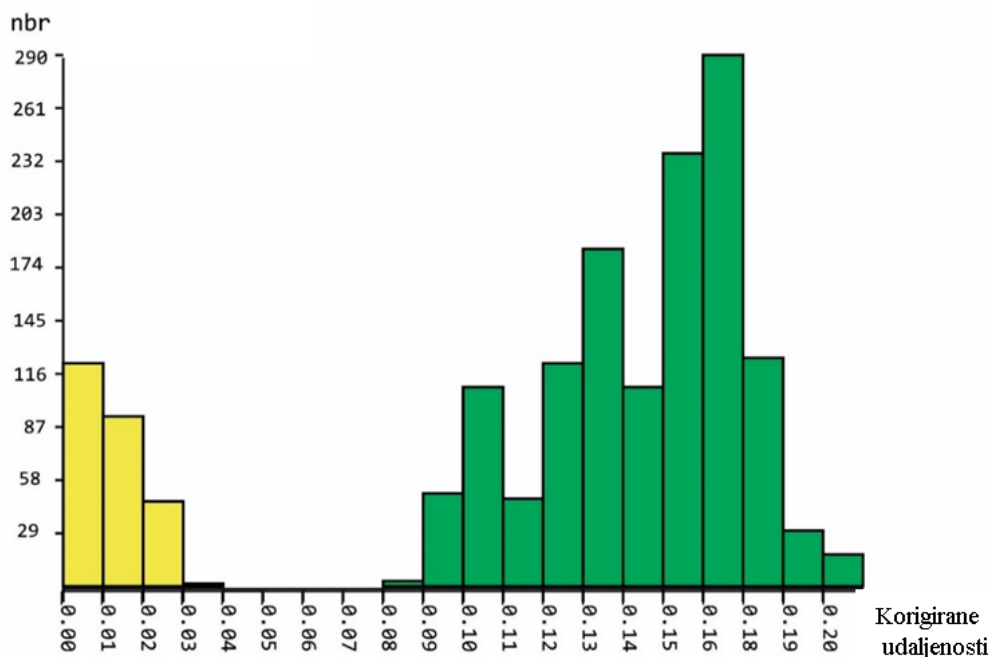
Filogenetsko stablo dobiveno analizom DNA barkod regije s visokom podržanošću prikazuje odvajanje vrste *M. testacea* u dvije zasebne linije unutar visoko podržane monofiletske grupe (Slika 28). ABGD analiza odvajanja vrste *M. testacea* u dvije grupe (grupa 1 i grupa 2, Slika 28).

ABGD analiza svrstava sve primjerke vrste *M. nycterobia* u jednu grupu (grupa 3, Slika 28). Primjerci vrste *M. nycterobia* iz Hrvatske u filogenetskom stablu su s visokom podržanošću grupirani s ostalim primjercima naveden vrste (Slika 28).

Primjerci vrste *M. sequax* grupiraju se u dvije duboko odijeljene genetske linije, koje ne čine monofiletsku grupu nego su u nerazriješenoj tetratomiji s vrstama *M. wagneri* i *M. lateralis* (Slika 28). Minimalna intraspecifična nekorigirana udvojena genetička udaljenosti među njima iznosi 7,2%, a ABGD analiza ih svrstava u zasebne hipotetske vrste (grupa 6 i grupa 7, Tablica 28). Primjerci vrste *M. sequax* iz Hrvatske grupiraju se s primjercima iz Grčke i Crne Gore (ABGD grupa 6, Slika 28). Distribucija učestalosti nekorigiranih udvojenih genetskih distanci prikazana je na histogramu (Slika 29). Između vrijednosti p-distance 0,04-0,08 nalazi se "barkod praznina".



Slika 28. Filogenetsko stablo konstruirano metodom Bayesian analize temeljeno na genu *COI*, DNA barkod regija između vrsta roda *Micropterna* te *Halesus tessellatus* (vanjska grupa). Na granama su označene *bootstrap* vrijednosti (BS) i posteriorne vrijednosti Bayesian metode redom NJ/ML/BA. BS vrijednosti manje od 80 i BPP vrijednosti manje od 0,90 nisu prikazane. Zadebljanim slovima označene su sekvence nastale ovim radom. Na desnoj strani označene su grupe kao rezultat ABGD analize i predstavljaju hipotetske vrste.



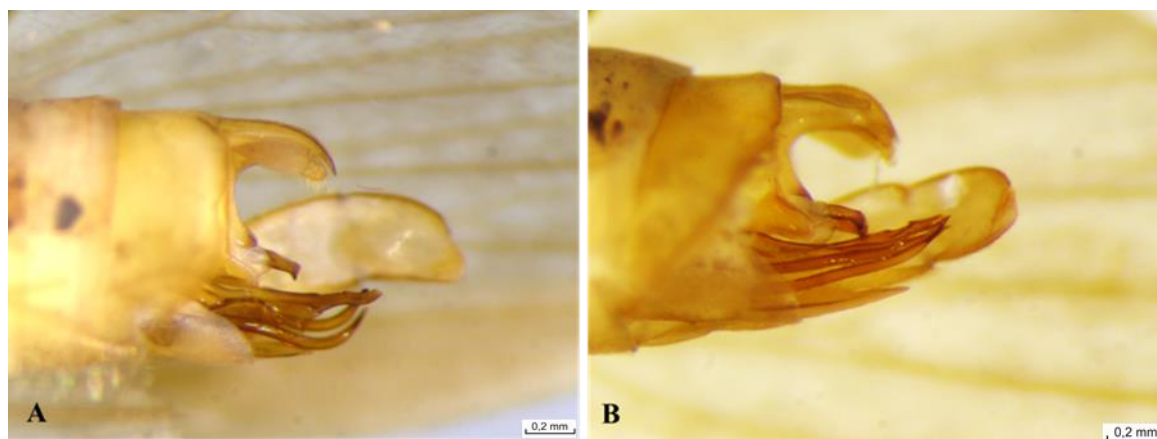
Slika 29. ABGD analize koji prikazuje distribuciju K2P distanci unutar i između vrsta roda *Micropterna*. Vrijednosti korigiranih (K2P) genetskih udaljenosti nalaze se na horizontalnoj osi, a na vertikalnoj je broj udvojenih usporedbi (nbr). Na lijevoj strani histograma (obojeno žutim) prikazane su intraspecifične, a na desnoj strani (obojeno zeleno) interspecifične vrijednosti.

Tablica 28. Vrijednosti nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti (p-udaljenosti) izražene u postocima za vrste roda *Micropterna* i vrstu *Halesus tessellatus* (vanjska grupa). Intraspecifične vrijednosti označene su zadebljanim brojevima. Grupe navedene u tablici odnose se na grupe određene ABGD analizom.

	<i>M. testacea</i>	<i>M. nycterobia</i>	<i>M. wagneri</i>	<i>M. lateralis</i>	<i>M. sequax</i> (grupa 8)	<i>M. sequax</i> (grupa 7)	<i>M. fissa</i>
<i>M. testacea</i>	<b>0,4-2,3</b>						
<i>M. nycterobia</i>	11,2-13,3	<b>0,2-2,5</b>					
<i>M. wagneri</i>	10,6-11,7	13,3-14,1	<b>0,2-0,4</b>				
<i>M. lateralis</i>	10,6-12,6	12,1-14,4	8,6-10,1	<b>0,2-2,0</b>			
<i>M. sequax</i> (grupa 7)	10,8-12,6	12,3-13,7	9,5-10,5	8,6-10,8	<b>0,2-0,7</b>		
<i>M. sequax</i> (grupa 6)	10,1-11,2	12,1-13,9	9,4-9,9	7,4-9,4	7,2-8,5	<b>0,2-0,9</b>	
<i>M. fissa</i>	10,8-11,2	10,6-12,1	11,0-11,7	11,2-12,3	12,8-13,3	11,5-11,9	<b>0,2-0,5</b>
<i>H. tessellatus</i>	13,7-14,6	12,8-13,5	13,9-14,1	13,2-14,6	13,9-14,4	14,2-14,6	13,9-14,2

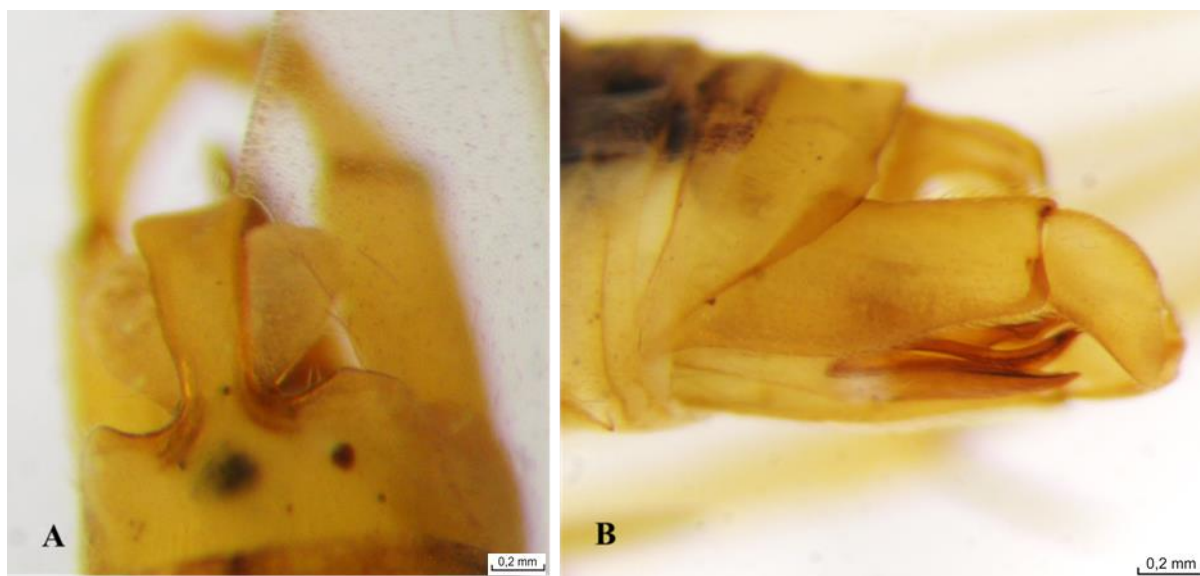
#### 4.1.6. Taksonomski specifične vrste iz roda *Rhyacophila* Pictet, 1834

Na filogenetskom stablu vrsta roda *Rhyacophila* uočavaju se nepodudarnosti s postojećim taksonomskim spoznajama (Slika 34, 1. i 2. dio). Tako se sekvence vrsta *R. dorsalis* i *R. nubila* grupiraju zajedno, vrijednostima umjereno podržane grupe (Slika 34, 1. dio). ABGD analiza grupirala je sekvence vrsta *R. dorsalis* i *R. nubila* u jednu grupu, potencijalnu vrstu (grupa 6) (Slika 34 1. dio). Srednja vrijednost genetičke udaljenosti između sekvenci ovih vrsta je 1,7% (Tablica 29), što je manje nego najveća genetske udaljenost unutar vrste *R. dorsalis* (3%) i *R. nubila* (2,3%). Filogenetska analiza temeljena na *COI* genu ne odvaja primjerke podvrsta *R. dorsalis plitvicensis* (TRDPL\_1, TRDPL\_3, TRDPL\_4, TRDPL\_5; Slika 30 A) i *R. dorsalis persimilis* (TRDOP\_1, TRDOP\_2, TRDOR\_2, TRDPL\_2, TRHY\_2; Slika 30 B) u zasebne genetske linije (Slika 34 1. dio).



Slika 30. A-B. Genitalni aparat mužjaka lateralno s uklonjenom desnom valvom vrste A – *R. dorsalis persimilis*, B – *R. dorsalis plitvicensis* (Foto: Mladen Kučinić).

Svi pripadnici vrste *R. palmeni* sadržani su unutar relativno dobro podržane monofiletkne grupe (Slika 34 1. dio). ABGD analiza sugerira postojanje dvije hipotetske vrste unutar *R. palmeni* pri čemu primjerak iz Hrvatske (TRPAL\_7; Slika 36) formira zasebnu grupu (grupa 18, Slika 34 1. dio), dok ostali primjerci formiraju drugu grupu (grupa 19, Slika 34 1. dio). Srednja genetička udaljenost unutar vrste *R. palmeni* iznosi 3% bez primjerka iz Hrvatske (ID uzorka TRPAL\_7). Primjerak TRPAL\_7 genetski se razlikuje 6,8% od ostalih primjeraka vrste *R. palmeni* (Tablica 29).



Slika 31. A-B. Izgled genitalnog aparata mužjaka vrste *Rhyacophila palmeni* A- dorzalno, B- lateralno.

Pripadnici vrste *R. fasciata* u filogenetskoj analizi svrstani su u 4 neovisne linije koje se ne grupiraju zajedno nego se pojavljuju u nerazriješenoj politomiji s vrstama *R. obliterata* i *R. aurata* (Slika 34 1. dio). Dobro podržano odvajanje imaju primjerci s BOLD sekvenca ID KKUMN428-10 (određena morfološki kao *R. tristis*), KKUMN469-10 iz Španjolske i HMKKT825-11 iz Francuske (Slika 34 1. dio). Također, navedeni primjerci formiraju zasebnu grupu prema ABGD analizi (grupa 10). Primjerci iz Hrvatske (ID uzorka TRFAS\_1 i TRFAS\_2) se odvajaju u zasebnu liniju unutar *R. fasciata* s podržanošću 95 (NJ) i 92 (ML), kao i u ABGD analizi gdje formiraju zasebnu grupu (grupa 7, Slika 34 1. dio). Treće odvajanje s dobrom podržanošću čini linija s primjercima iz Austrije: BOLD sekvenca ID HMKKT197-10 i HMKKT287-10 te primjerak FBAQU371-09 iz Njemačke. Prema ABGD analizi navedeni primjerci grupiraju se odvojeno od ostalih primjeraka vrste *R. fasciata* (grupa 9, Slika 34 1. dio). Preostali primjerci vrste *R. fasciata* grupirani su s visokom podržanošću 99 za NJ i ML te se i prema ABGD analizi nalaze u zasebnoj grupi (grupa 8, Slika 34, 1. dio). Srednja vrijednost genetske udaljenosti unutar vrste *R. fasciata* je 3%, no razlika između pojedinih izdvojenih linija, koje čine ABGD grupe 7, 9, 10 i sekvenci koje čine ABGD grupu 8 iznosi 5,3% (Tablica 29).

Svi primjerci vrste *R. obliterata* sadržani su unutar monofiletske grupe s visokom podržanošću (Slika 34, 1. dio). Dalje se dio primjeraka iz Finske, Njemačke i Grčke odvajaju od primjerka iz Hrvatske (TRLOB\_1). Primjerak TRLOB\_1 prema ABGD analizi formira zasebnu grupu 16

dok su svi ostali sadržani unutar grupe 17 (Slika 34, 1. dio). Genetska udaljenosti između grupe 16 i grupe 17 iznosi 4,7%, dok je intraspecifična genetska raznolikost vrste *R. obliterata* 3% (Tablica 29).

Prema filogenetskoj analizi *R. aurata* čini monofiletsku vrstu koja je dobro podržana (Slika 34., 2. dio). ABGD analiza izdvaja primjerak iz Hrvatske s Mrežnice (TRAUR\_2) u zasebnu grupu (Slika 34, 2. dio). Najveća vrijednost genetičke udaljenost primjerka TRAUR\_2 u odnosu na ostale uzorke vrste *R. aurata* je 3% što je u skladu s intraspecifičnim vrijednostima između vrsta *Rhyacophila* u ovom radu (Tablica 29).

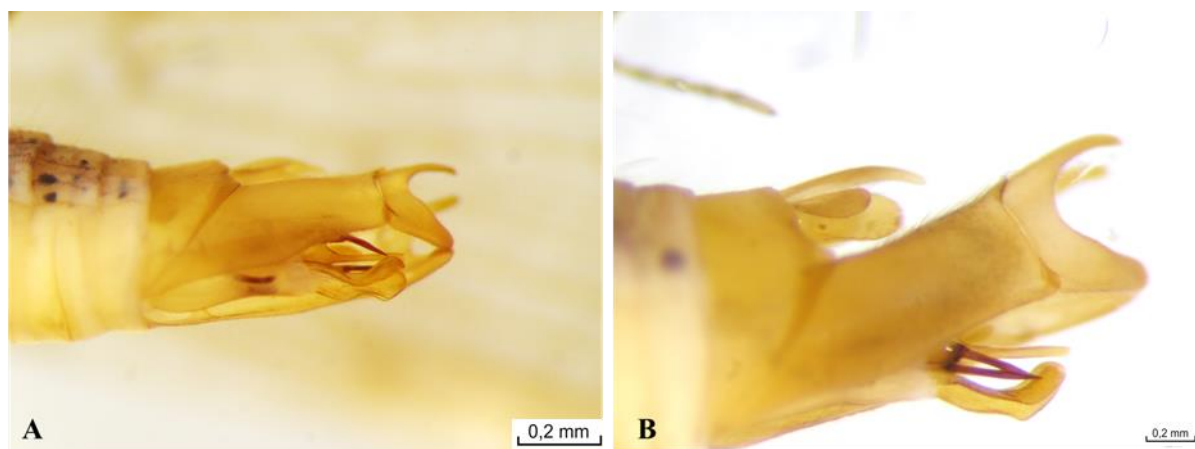
Dva primjerka vrste *R. balcanica* su se grupirali s dobrom podržanošću (Slika 34 2. dio). ABGD analiza razdvojila primjerak s rijeke Une TRBAL\_1 u jednu grupu (grupa 3), a primjerak s Krke HMTRI031-08 u drugu grupu (grupa 4, Slika 34 2. dio). Genetska udaljenost između TRBAL\_1 i HMTRI031-08 je 3,7% (Tablica 29).

Primjerak vrste *R. praemosa* iz Hrvatske se grupira s ostalim primjercima ove vrste s visokom podržanošću unutar grupe parafiletske s obzirom na vrstu *R. polonica* (Slika 34 2. dio). Grupiranje primjeraka vrste *R. polonica* unutar monofiletske grupe slabo je podržano *bootstrap* vrijednostima. Prema ABGD analizi vrste *R. praemosa* i *R. polonica* pripadaju istoj grupi, odnosno, hipotetskoj vrsti (grupa 20, Slika 34 2. dio). Prosječna vrijednost nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti između vrsta *R. praemosa* i *R. polonica* analiziranih ovim radom iznosi 1,9% (Tablica 29).

Primjerak morfološki određen kao *R. cabrankensis* iz Hrvatske (TRCAB\_1; Slika 32 A) odvaja se u zasebnu liniju unutar umjereno podržane grupe koja obuhvaća pripadnike vrste *R. vulgaris*, a koji se grupiraju u dvije slabo, odnosno umjereno podržane duboko odijeljene linije (Slika 34 2. dio). ABGD analiza primjerak TRCAB\_1 svrstava u zasebnu grupu (grupa 5) odvojeno od dvije linije vrste *R. vulgaris* (grupe 26 i 27, Slika 34, 2. dio). Genetska udaljenost između vrsta *R. cabrankensis* i *R. vulgaris* iznosi 1,8% (Tablica 29). Primjerak TRCAB\_1 predstavlja prvi unos sekvenci *COI* gena (DNA barkod regije) i podataka za ovu vrstu u BOLD bazu.

Primjerak vrste *R. vulgaris* iz Hrvatske (TRVUL\_1; Slika 32 B) odvaja se od vrste *R. cabrankensis* i grupira s ostalim primjercima vrste *R. vulgaris* iz Europe, a prema ABGD analizi nalazi se u grupi 26 s primjercima iz Njemačke i Austrije (Slika 34, 2. dio).

Intraspecifična genetska udaljenost analiziranih primjeraka vrste *R. vulgaris* iznosi od 0 do 2,3% (Tablica 29).

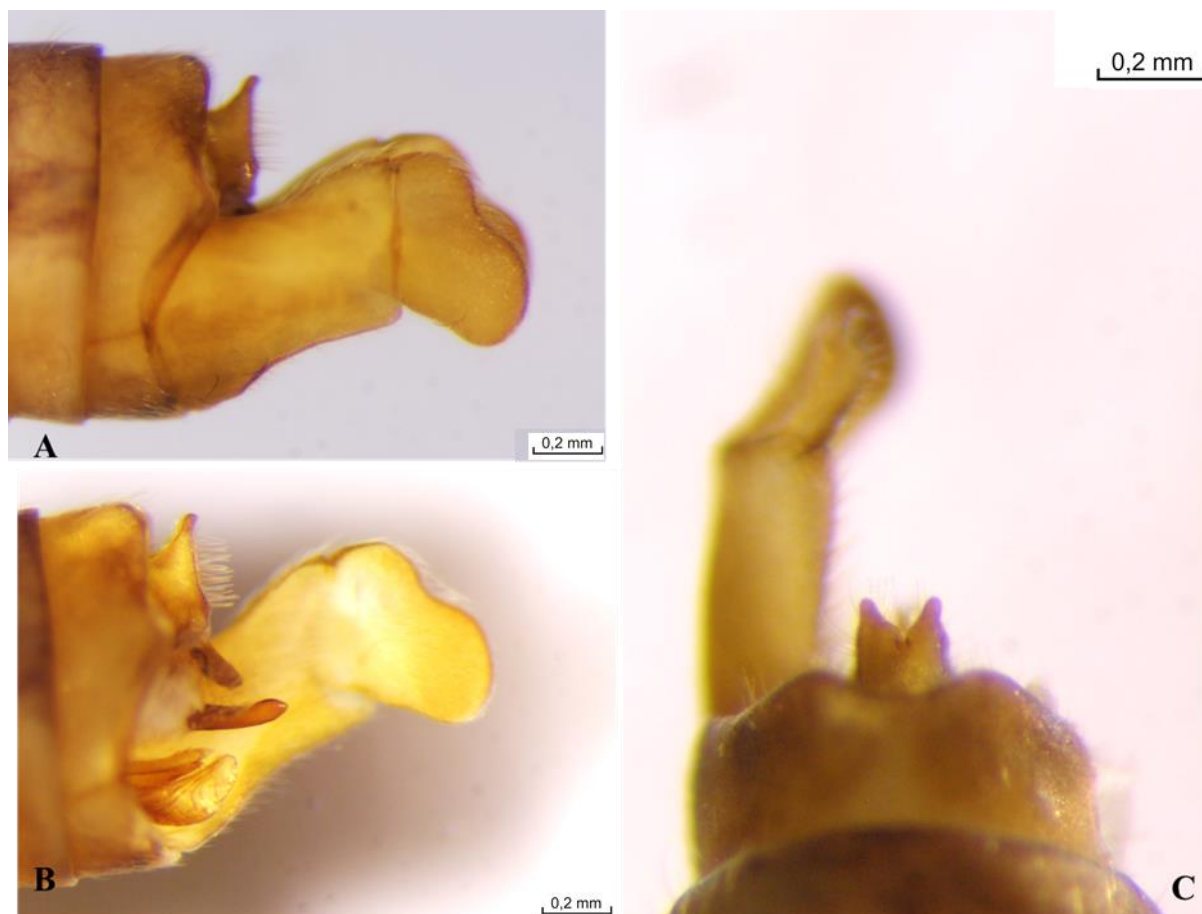


Slika 32. A-B. Genitalni aparat mužjaka lateralno vrste: A – *Rhyacophila cabrankensis* (Foto: Mladen Kučinić), B – *R. vulgaris*.

Primjerak vrste *R. torrentium* iz Hrvatske grupiran je s ostalim primjercima ove vrste prema filogenetskom stablu i prema ABGD analizi (grupa 23, Slika 34, 2. dio).

Primjerci vrsta *R. schmidinarica* i *R. hirticornis* čine sestrinske linije. Primjerci vrste *R. schmidinarica* iz Hrvatske (TRSCH\_1, TRSCH\_3) grupiraju se međusobno, no ne i s primjerkom vrste *R. schmidinarica* (HMTRI029-08) s lokaliteta Bužim, Velebit, preuzetim iz BOLD baze. Ovaj primjerak zajedno s vrstom *R. hirticornis* s lokaliteta potok Šumi (TRHIT\_1; Slika 33) se odvaja u zasebnu liniju, dok ABGD analiza svrstava ove uzorke u zasebne grupe: HMTRI029-08 u grupu 12, a TRHIT\_1 u grupu 11 (Slika 34, 2. dio). Genetska razlika između vrsta *R. hirticornis* i *R. schmidinarica* analiziranih u ovom radu iznosi 3,6%. Genetska razlika između TRHIT\_1 i ostalih primjeraka vrste *R. hirticornis* iznosi 4,7%. Genetska razlika između TRHIT\_1 i primjeraka vrste *R. schmidinarica* iznosi 4,8%, a između TRHIT\_1 i HMTRI029-08 iznosi 3,4% (Tablica 29).





Slika 33. A-C. Izgled genitalnog aparata mužjaka vrste *Rhyacophila hirticornis* iz lokaliteta potok Šumi izvor, lateralno (A), lateralno s uklonjenom desnom valvom (B), i dorzalno (C) (Foto:Mladen Kučinić).

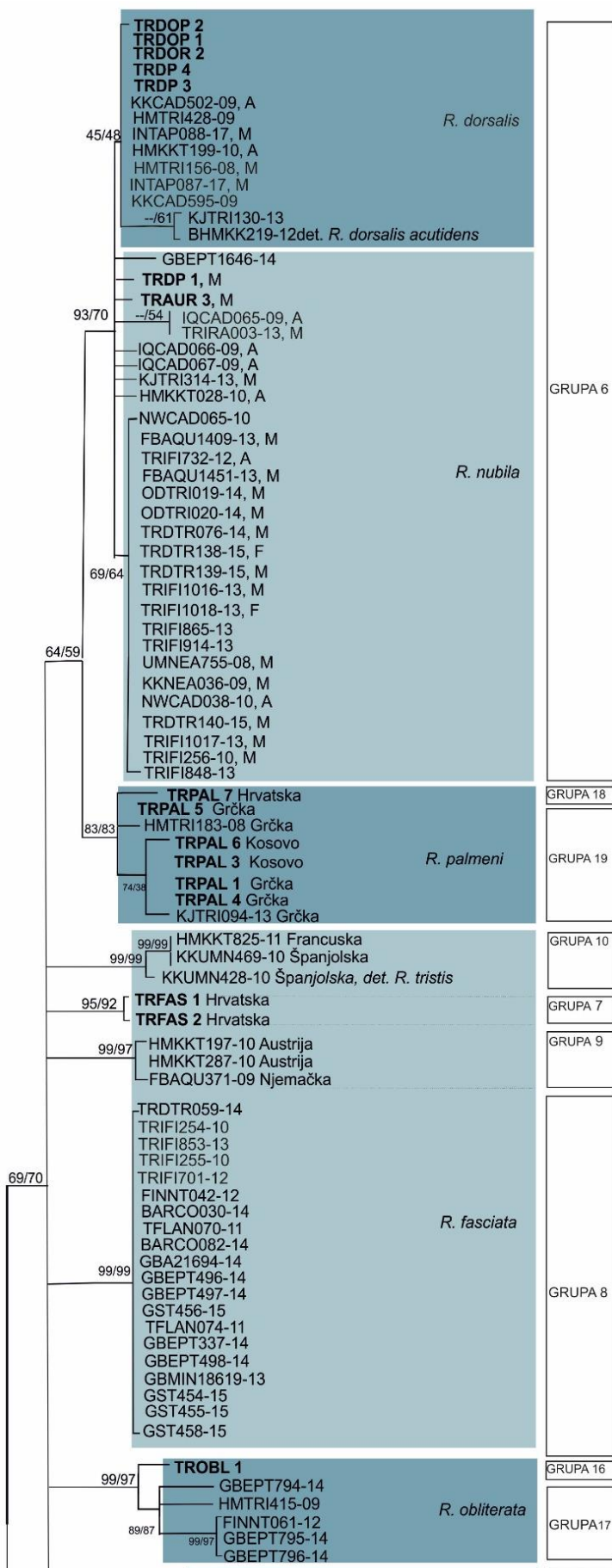
Primjerak vrste *R. laevis* iz Hrvatske grupira se s ostalim primjercima vrste *R. laevis* prema filogenetskom stablu i prema ABGD analizi (grupa 15). Šest primjeraka vrste *R. tristis* iz Hrvatske grupira se s ostalim primjercima *R. tristis* u filogenetskom stablu i prema ABGD analizi (grupa 24, Slika 34 2. dio).

Primjerci vrste *R. loxias* iz Hrvatske grupiraju se s ostalim primjercima *R. loxias* u filogenetskom stablu i prema ABGD analizi (grupa 14, Slika 34 2. dio).

Najveća intraspecifična genetska udaljenost kod analiziranih primjeraka roda *Rhyacophila* zabilježena je unutar vrste *R. hirticornis* (4,7%). Najmanja interspecifična genetska udaljenost zabilježena je između vrsta *R. praemosa* i *R. polonica* (1,9%). Najveća interspecifična genetska udaljenost zabilježena je između vrsta *R. loxias* i *R. hirticornis* (24,6%) (Tablica 29).

Tablica 29. Vrijednosti nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti (p-udaljenosti) za DNA barkod regiju (mitohondrijski *COI* gen) u postotcima, unutar i između analiziranih vrsta roda *Rhyacophila*. Zadebljanim brojevima su označene intraspecifične vrijednosti.

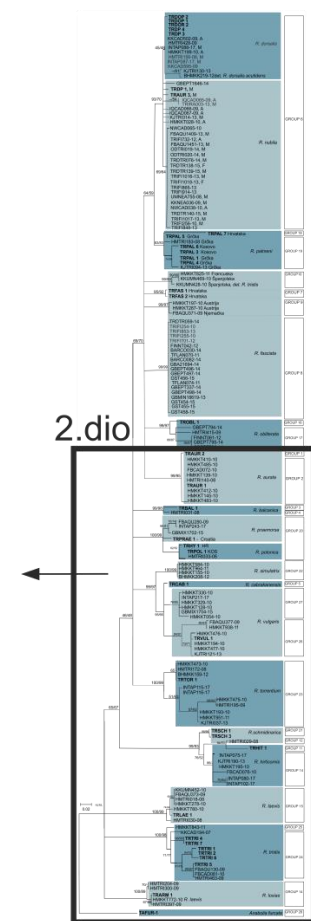
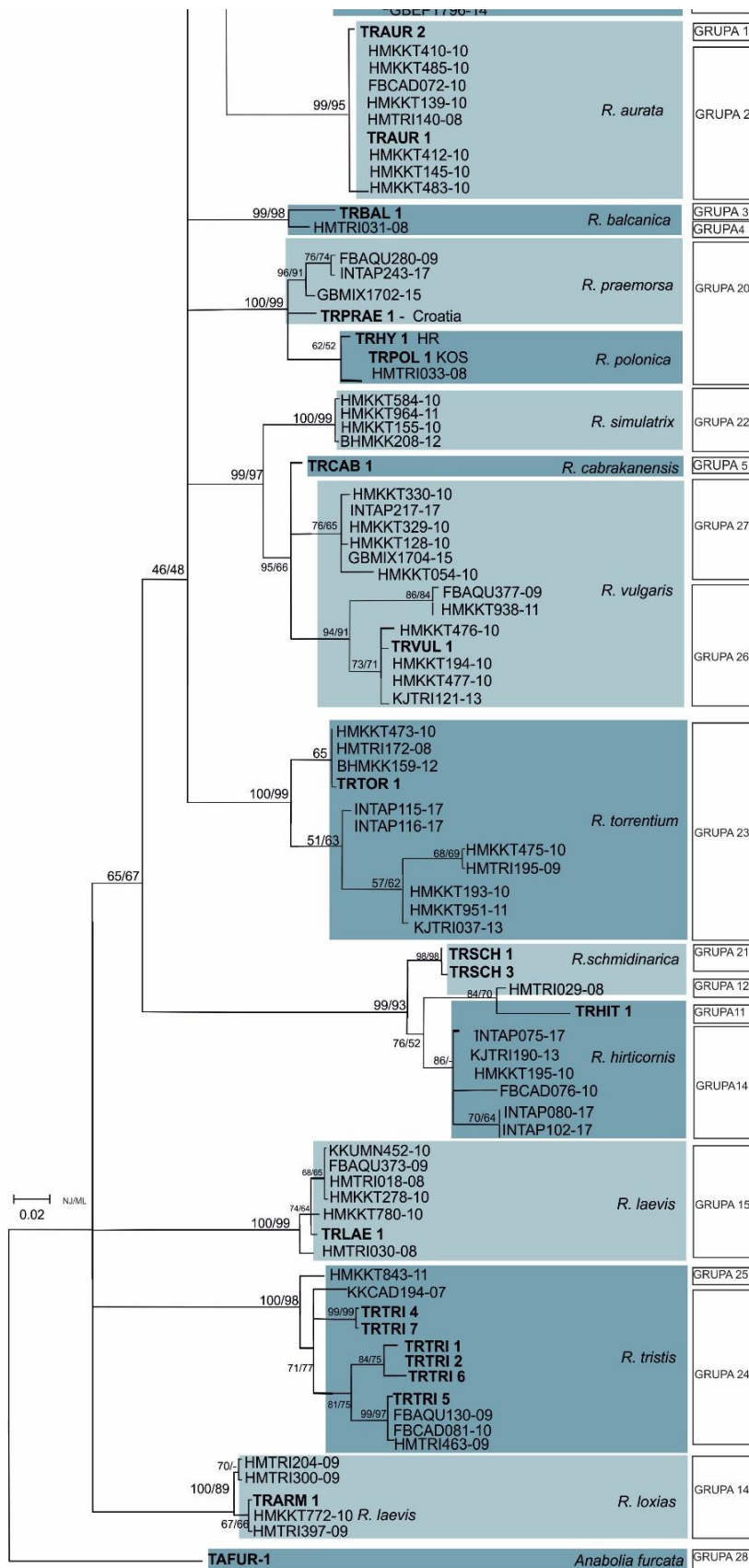
	<i>R. aurata</i>	<i>R. balcanica</i>	<i>R. cabrankensis</i>	<i>R. dorsalis</i>	<i>R. fasciata</i>	<i>R. hirticornis</i>	<i>R. laevis</i>	<i>R. loxias</i>	<i>R. nubila</i>	<i>R. obliterata</i>	<i>R. palmeni</i>	<i>R. polonica</i>	<i>R. praemosa</i>	<i>R. schmidinari ca</i>	<i>R. simulatrix</i>	<i>R. torrentium</i>	<i>R. tristis</i>	<i>R. vulgaris</i>
<i>R. aurata</i>	<b>0-3</b>																	
<i>R. balcanica</i>	11	<b>3,7</b>																
<i>R. cabrankensis</i>	12	12	-															
<i>R. dorsalis</i>	7,3	12	10,6	<b>0-3</b>														
<i>R. fasciata</i>	6,3	12,9	11,3	7,8	<b>0-7,4</b>													
<i>R. hirticornis</i>	20,8	23	22	23,3	21,1	<b>0-4,7</b>												
<i>R. laevis</i>	14,9	16	16,5	16,6	16,9	22,9	<b>0-2</b>											
<i>R. loxias</i>	13,2	15,2	14,2	14,5	13,5	24,6	17,7	<b>0-0,7</b>										
<i>R. nubila</i>	7,4	12	10,4	0,7-3	7,8	23,4	17,8	14,4	<b>0-2,3</b>									
<i>R. obliterata</i>	9,2	13	12	8,3	10	21,3	17,9	13,8	8,4	<b>0-0,4</b>								
<i>R. palmeni</i>	8,1	12,8	11,8	7,1	9,1	22,7	17,8	15,9	6,8	10,5	<b>0-6,8</b>							
<i>R. polonica</i>	13,2	9,8	11,3	10,5	12,9	22,1	18	14,9	11,1	13,9	14,3	<b>0-1</b>						
<i>R. praemosa</i>	9,4	10,5	11,6	10,3	12,5	21,4	18,2	15,2	10,9	13,9	14,4	1,9	<b>0-2</b>					
<i>R. schmidinari ca</i>	21,5	22,3	20,8	22,9	21,1	3,6	22,3	23,6	22,8	21,3	22,5	22,1	21,9	<b>0-4</b>				
<i>R. simulatrix</i>	13	14	5,9	14,9	12,8	21,9	18,1	16,2	14,4	14,8	15,5	14,2	14,1	20,9	<b>0-0,3</b>			
<i>R. torrentium</i>	9,8	12,9	11,7	11,5	11,7	22,1	16,4	13,3	11,8	10,7	11,8	12	11,6	21,2	13,2	<b>0-1</b>		
<i>R. tristis</i>	15,9	16,6	16,6	17,4	16,7	22,5	17	18	17,1	19,9	17,7	18	18	21,2	16,4	14,8	<b>0-4</b>	
<i>R. vulgaris</i>	12,1	13	1,8	11,5	12,2	22	17	14,3	11,6	11,9	12,8	11,8	11,9	21,1	6,4	12	17,3	<b>0-2,3</b>
<i>Anabolia furcata</i>	26,7	28,5	28,5	27,5	27,3	32,4	29,5	25,4	28	31,3	27,8	28,3	28,2	31,3	28,9	28,4	28,5	29,4



1.dio



Slika 34. **1. dio** filogenetskog stabla konstruirano metodom najveće vjerojatnosti temeljeno fragmentu *COI* gena (DNA barkod regija) na kojem su vidljivi odnosi između vrsta roda *Rhyacophila* te *Anabolia furcata* (vanjska grupa). Na granama su označene *bootstrap* vrijednosti (BS) redom NJ/ML. BS vrijednosti manje od 50 nisu prikazane. Zadebljanim slovima označene su sekvence nastale u ovom radu. Na desnoj strani označene su grupe kao rezultat ABGD analize i predstavljaju hipotetske vrste. Na lijevoj strani su uvećani dijelovi stabla (označeni crnim pravokutnikom na desnoj strani). Kratica det. označava morfološki određenu svojtu.



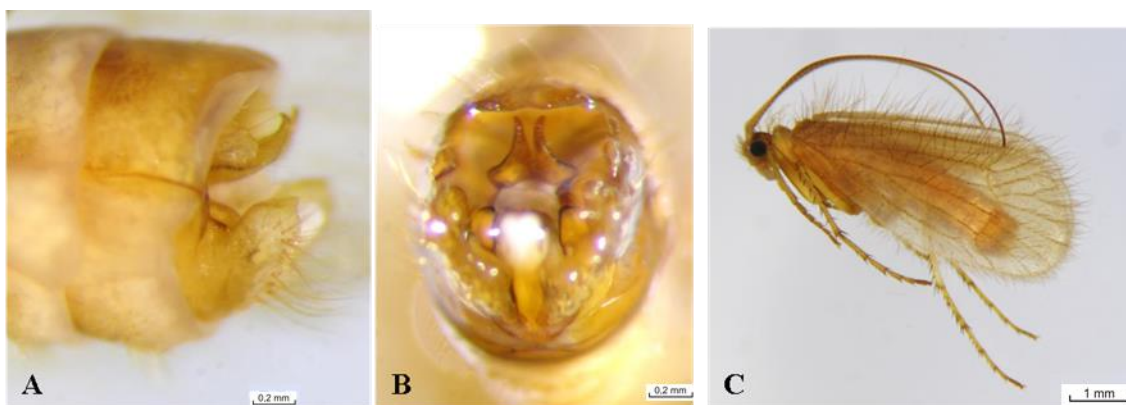
Slika 34. 2. dio filogenetskog stabla konstruirano metodom najveće vjerojatnosti (ML) temeljeno na fragmentu *COI* gena (DNA barkod regija) na kojem su vidljivi odnosi između vrsta roda *Rhyacophila* te *Anabolia furcata* (vanjska grupa). Na granama su označene *bootstrap* vrijednosti (BS) redom NJ/ML. BS vrijednosti manje od 50 nisu prikazane. Zadebljanim slovima označene su sekvence nastale u ovom radu. Na desnoj strani označene su grupe kao rezultat ABGD analize i predstavljaju hipotetske vrste. Na lijevoj strani su uvećani dijelovi stabla na desnoj strani označeni crnim pravokutnikom.

#### 4.1.1. Filogenetski odnosi vrsta roda *Chaetopteryx* Stephens, 1829 prisutnih u Hrvatskoj

Rezultat filogenetske analize roda *Chaetopteryx* na temelju molekularnog biljega *COI* jest grananje analiziranih primjeraka u veći broj linija (Slika 36). Bazalnu liniju filogenetskog stabla čine primjerci vrste *C. major* te *C. gonospina* Marinković-Gospodnetić, 1966. Primjerak HGCAD052-10 morfološki određen kao *C. buhari* s visokom podržanošću se grupira s *C. gonospina* (Slika 36). ABGD analiza oba primjerka svrstava u jednu grupu (grupa 18 kod inicijalne particije 0,007). Primjerak vrste *C. major* iz Hrvatske (TCMAJ\_1) grupiran je s visokom podržanošću s primjercima vrste *C. major* iz Austrije i Mađarske (Slika 36). Sljedeću liniju koja se odvaja čine primjerci vrste *C. aproka* Oláh, 2011 iz Rumunjske. Nadalje dolazi do slabo podržanog grananja dvije linije (A i B) (Slika 36). A liniju čini skupina koja sadrži primjerke vrste *C. gessneri* McLachlan, 1876, *C. villosa* (Fabricius, 1798), *C. fusca* Brauer, 1857, *C. bosniaca* Marinković-Gospodnetić, 1959, *C. moretii* Lodovici & Valle 2000 i *Chaetopterygopsis maclachlani* (Stein, 1874) (Slika 36). B liniju čini bazalna vrsta *C. marinkovicae* Malicky & Krušnik, 1988 te skupina B1 s primjercima vrste: *C. rugulosa* Kolenati, 1848, *C. noricum* Malicky, 1976, *C. mecsekensis* Nogradi, 1986, *C. clara* McLachlan, 1876, *C. goricensis* Malicky & Krušnik, 1986, *C. irinae* Krušnik & Malicky, 1986, *C. buhari*, *C. schmidi* Botosaneanu, 1957 (Slika 36). B1 linija dijeli se na tri grupe: B 1.1, B 1.2. i B 1.3. Grupa B 1.1 sastoji od 6 podgrupa (linije u politomiji). Primjerci TCSCHE\_1, TCSCHE\_2, TCPSU\_1f i TCPSU\_2m, morfološki određeni kao *C. schmidi* (Slika 35), međusobno su grupirali s visokom podržanošću (Slika 36). Zajedno s vrstom *C. rugulosa* iz Slovenije i Hrvatske s lokaliteta na Medvednici čine podgrupu B 1.1.1., dok su primjerci iste vrste s lokaliteta Žumberak i Samoborsko gorje u podgrupi B 1.1.3. Grupa B 1.3. sadrži jedinke morfološki određene kao *C. schmidi* iz Srbije i Rumunjske, *C. papukensis* i *C. mecsekensis* iz Hrvatske (Slika 36).

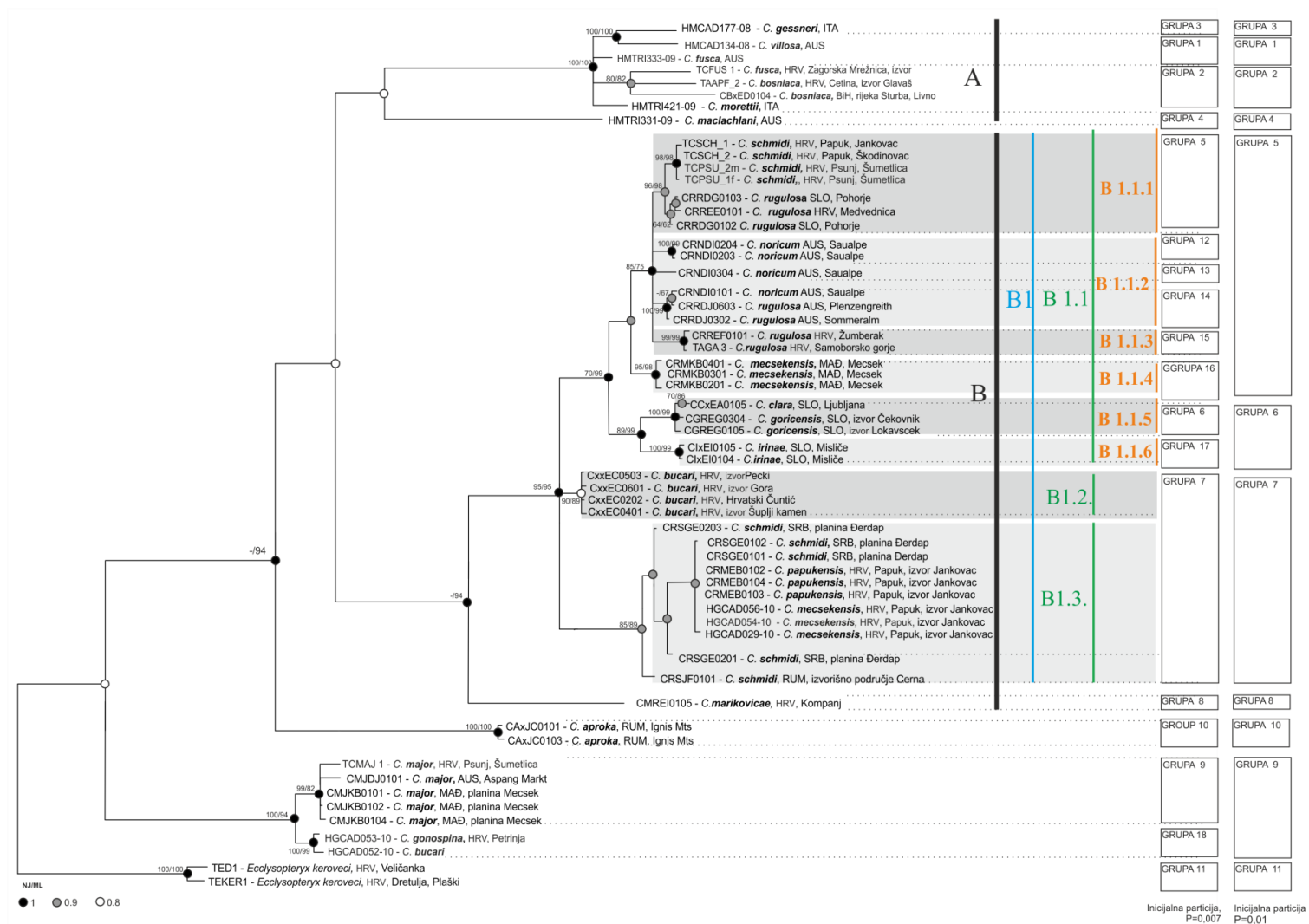
ABGD analiza svrstala je uzorke iz ovog rada u 18 grupa kod inicijalne particije s maksimalnom vrijednosti intraspecifične udaljenosti od 0,007 i u 11 grupa kod inicijalne particije s maksimalnom vrijednosti intraspecifične udaljenosti od 0,01 (Slika 36). Broj grupa kod inicijalne particije 0,007 više odgovara morfološkoj podjeli analiziranih primjeraka. Kod inicijalne particije 0,01 u jednu grupu (grupa 5) svrstani su primjerci TCSCHE\_1, TCSCHE\_2, TCPSU\_1f i TCPSU\_2m, primjerci određeni kao *C. rugulosa*, *C. noricum*, *C. rugulosa mecsekensis*. Ti isti primjerci su kod particije 0,007 podijeljeni u 6 grupa. Kod obje

vrijednosti particija primjerci TCSCH\_1, TCSCH\_2, TCPSU\_1f i TCPSU\_2m grupiraju se s *C. rugulosa* iz Slovenije i Hrvatske (grupa B 1.1.1., ABGD grupa 5). Kod inicijalne particije 0,01 *C. major* i *C. gonospina* svrstani su u jednu grupu (grupa 9). Kod inicijalne particije 0,007 ovi primjerci se odvajaju u dvije grupe: *C. major* (grupa 9) i *C. gonospina* (grupa 18). Prema ABGD analizi bez obzira na vrijednost inicijalne particije vrste roda *Chaetopteryx* prikupljeni na izvoru Jankovac na Papuku se odvajaju u dvije grupe, potencijalne vrste (grupa 5 i grupa 7) (Slika 36).



Slika 35. A-C. Izgled genitalnog aparat mužjaka TCSCH\_1, morfološki određeni kao *C. schmidi*: A – lateralni, B – kaudalni izgled, C – izgled cijele životinje (Foto: Mladen Kučinić).

Primjerak TCSCH\_1 prikupljen na izvoru Jakovac, Papuk ima identičan haplotip kao i TCPSU\_1f, TCPSU\_2m koji su prikupljeni na izvoru Šumetlica, Pšunje te kao primjerak TCSCH\_2 prikupljen na izvoru Škodinovac, Bastaji. Najmanja genetska udaljenost između navedenih primjeraka zabilježena je s vrstom *C. rugulosa*, grupe B 1.1.1 i B.1.1.3 (1,7%), a najveća između vrsta *C. major* i *C. gonospina* (14,3%) (Tablica 30). Primjerci TCSCH\_1, TCSCH\_1, TCPSU\_1f i TCPSU\_2m se od vrste *C. schmidi*, grupa B 1.3, razlikuju 5,7%. Navedena četiri primjerka se od vrste *C. mecsekensis*, grupa B 1.3 (HGCAD056-10, HGCAD055-10, HGCAD054-10, HGCAD029-10) razlikuju 5,9%. Unutar grupe B 1.3 različito morfološki određeni primjerci genetski se razlikuju 1,5% (*C. schmidi* iz Srbije i Rumunjske, *C. mecsekensis* iz Hrvatske, *C. papukensis* iz Hrvatske) (Tablica 30).



Slika 36. Filogenetsko stablo konstruirano Bayesian metodom na temelju DNA barkod regije vrsta roda *Chaetopteryx*. Crni krugovi na čvorovima označavaju BPP>0.95, sivi 0.8 < BPP ≤ 0.95 i bijeli BPP ≤ 0.8. Brojevi na granama označavaju BS vrijednosti metoda NJ/ML. BS vrijednosti manje od 60 nisu prikazane. Na desnoj strani su označene su grupe kao rezultat ABGD analize pri inicijalnoj particiji P=0,007 i P=0,01. Kratice označavaju države ITA =Italija, AUS =Austrija, HRV =Hrvatska, BiH =Bosna i Hercegovina, SRB =Srbija, MAD= Mađarska, SLO= Slovenija, RUM =Rumunjska

Tablica 30. Vrijednosti nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti (p-udaljenosti) DNA barkod regije (mitohondrijski *COI* gen) za vrste roda *Chaetopteryx* i *Ecclisopteryx keroveci* (vanjska vrsta). Zadebljani brojevi predstavljaju intraspecifične vrijednosti. Brojčano numeričke oznake odnose se na filogentske grupe (Slika 36).

%	<i>C. fusca</i>	<i>C. bosniaca</i>	<i>C. schmidi</i> TCPSU 1, TCPSU 2	TCSCH 1, TCSCH 2	<i>C. rugulosa</i> (B 1.1.1)	<i>C. mecsekensis</i> (B 1.1.4., Mađarska)	<i>C. bucari</i>	<i>C. schmidi</i> (B. 1. 3., Srbija, Rumunjska)	<i>C. mecsekensis</i> (B. 1. 3., Papuk)	<i>C. marinkovicae</i>	<i>C. major</i>	<i>C. gonospina</i>
<i>C. fusca</i>	<b>0,1</b>											
<i>C. bosniaca</i>	1,2	<b>1,5</b>										
<i>C. schmidi</i> TCPSU 1, TCPSU 2	12,6	12,9	<b>0</b>									
TCSCH 1, TCSCH 2	12,6	12,9	0	<b>0</b>								
<i>C. rugulosa</i> (B 1.1.1)	12,7	13,3	1,7	1,7	<b>1,7</b>							
<i>C. mecsekensis</i> (B 1.1.4. Mađarska)	11,8	11,8	3,1	3,1	3	<b>0,2</b>						
<i>C. bucari</i>	12,3	12,2	5	5	4,4	4,4	<b>0,2</b>					
<i>C. schmidi</i> (B. 1. 3., Srbija, Rumunjska)	12,4	12,2	5,7	5,7	5,4	4,7	2,1	<b>0,5</b>				
<i>C. mecsekensis</i> (B. 1. 3., Papuk)	12,3	12,3	5,9	5,9	5,4	5,4	2,4	1,5	<b>0,3</b>			
<i>C. marinkovicae</i>	11,7	11,6	9	9	9,3	8,8	8,8	8,6	8,6	-		
<i>C. major</i>	15,3	15,4	14,2	14,2	14,2	13,8	14	11,4	14,6	12,8	<b>1,7</b>	
<i>C. gonospina</i>	14,6	14,7	14,3	14,3	14,1	13,8	13,4	14,4	14,5	13,5	3,4	<b>0,5</b>
<i>E. keroveci</i>	14,4	14	16	16	16	15,7	15,2	15,3	15,3	15,1	15,2	15,5



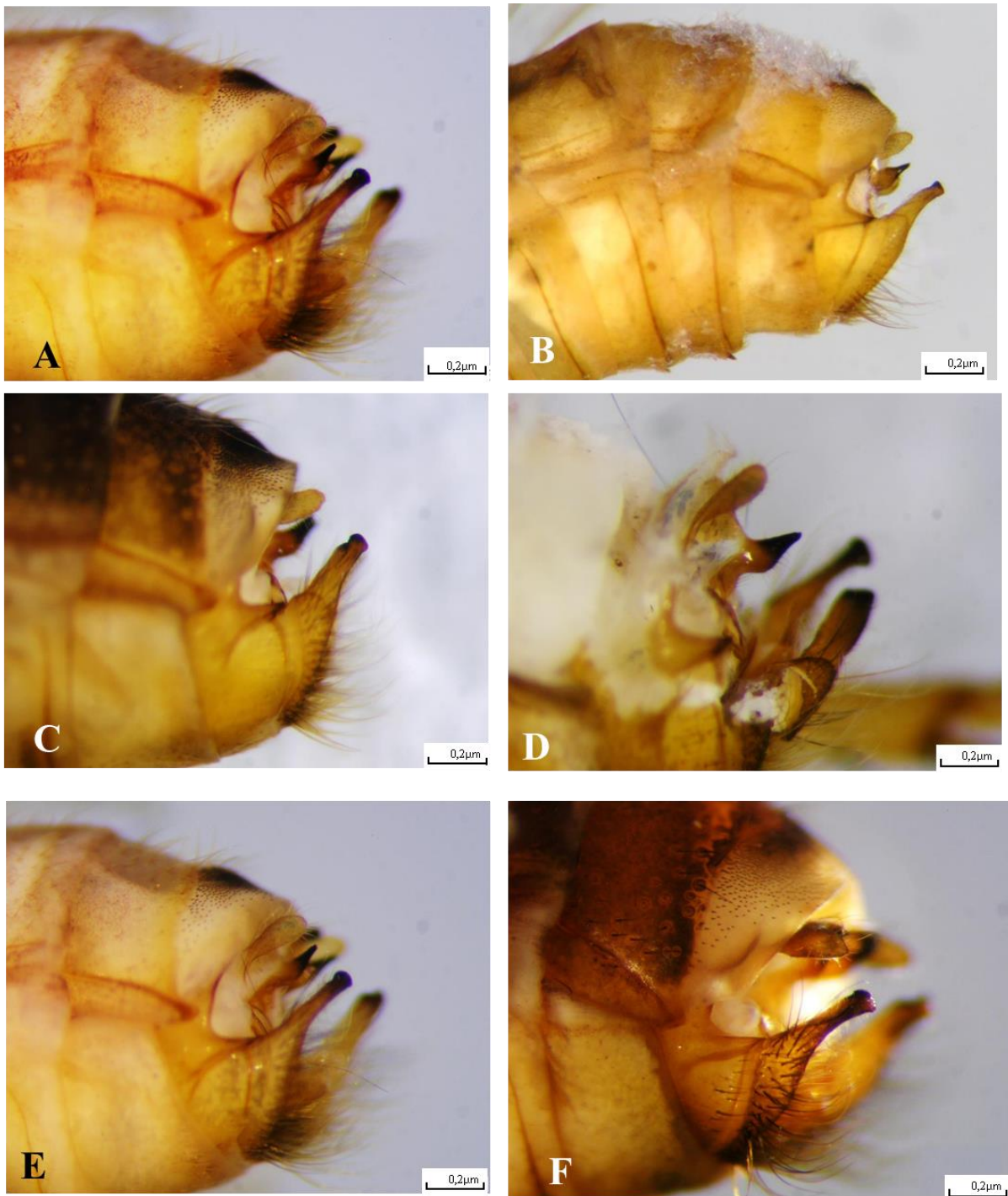
#### 4.1.2. Osvrt na vrste iz roda *Potamophylax* Wallengren, 1891 u Hrvatskoj

Vrsta *P. cingulatus* (TPCIN\_1) iz Hrvatske grupira se s ostalim primjercima iz Europe s visokom podržanošću (Slika 39 1. dio). Ova se haplotip grupira s primjercima iz Austrije, Češke i Njemačke. Filogenetska analiza ukazuje da unutar ove vrste postoji nekoliko linija/grupa koje odgovaraju geografskim cjelinama. Tako se odvaja prva grupa haplotipova Sjeverne Europe i Sjeverne Amerike sa Španjolskom, tzv. sjeverna grupa kojoj pripadaju primjerci iz Finske, Norveške, Belgije, Njemačke, Sjedinjenih Američkih Država, Španjolske, a unutar ove grupe izdvaja se linija primjeraka s Islanda (Slika 39, 1. dio). Ovoj sjevernoj grupi sestrična je grupa haplotipova iz središnje Europe, tzv. srednjeeuropska grupa kojoj pripadaju primjerci iz Austrije, Njemačke, Češke i Hrvatske (Slika 39, 1. dio). Treću grupu čine primjerci iz Južne Europe, tzv. južna grupa kojoj pripadaju primjerci iz Francuske, Italije (Slika 39, 1. dio). Filogenetsko stablo nije podržalo postojanje morfološki određene podvrste *P. cingulatus alpinus*, već je smještena unutar vrste *P. cingulatus* srednjeeuropske grupe (Slika 39, 1. dio). Raspon genetske udaljenosti između uzoraka vrste *P. cingulatus* iz Hrvatske i iz Europe iznosu 1,6%-9,3% (Tablica 31).

Primjerci TPLAT\_1, TPLAT\_2, TPLAT\_3, TPLAT\_4, TPROT\_2 iz Hrvatske morfološki određeni kao *P. latipennis* (Slika 37) grupirali su se unutar vrste *P. cingulatus*, a ne s primjercima vrste *P. latipennis* iz Europe (Slika 39, 1. dio). Ovih 5 primjerka čine zasebnu genetsku liniju unutar vrste *P. cingulatus*. Raspon vrijednost nekorigiranih udvojenih genetskih između *P. latipennis* iz Hrvatske i *P. latipennis* iz Europe (5,8-11,2%) veća je nego između *P. latipennis* iz Hrvatske i *P. cingulatus* (5,4-9,7%) (Tablica 31). Raspon vrijednosti nekorigiranih udvojenih genetskih distanci između *P. latipennis* i *P. cingulatus* iz Hrvatske je 6,6-7,8 %, što je u jednakom rasponu genetskih distanci *P. latipennis* iz Hrvatske i *P. cingulatus* iz Europe (5,4-9,7%) te *P. latipennis* iz Hrvatske s *P. latipennis* iz Europe (5,8-11,2%) (Tablica 31). ABGD analiza svrstala je primjerke obje morfološki određene vrste *P. latipennis* i *P. cingulatus* u jednu grupu, hipotetsku vrstu (grupa 1, Slika 39, 1. dio).

Uzorak vrste *P. nigricornis* iz Hrvatske grupira se s visokom podržanošću (NJ 99 i ML 96) s primjercima iz Austrije (HMTRI167-08 i BHMKK198-12) (Slika 39, 2. dio). Na filogenetskom stablu jasno je da se *P. nigricornis* iz Hrvatske grupira s visokom podrškom zajedno s primjercima iz Austrije (Slika 39, 2. dio). Maksimalna intraspecifična vrijednosti između (primjeraka iz Austrije i Hrvatske) i ostalih sekvenci *P. nigricornis* iznosi 6,6%

(Tablica 31). ABGD analiza svrstava sve primjerke *P. nigricornis* u jednu grupu, hipotetsku vrstu (grupa 4) (Slika 39, 2. dio).



Slika 37. A-F. Lateralni izgled muškog genitalnog aparata vrsta roda *Potamophylax*: A - *P. latipennis*, TPLAT\_2, B - lateralni izgled *P. cingulatus*, TPCIN\_1, C – *P. latipennis* primjerak TPLAT\_3, rijeka Zrmanja, izvor, D - *P. latipennis*, primjerak TPLAT\_4, rijeka Rječina, izvor, E - *P. latipennis*, primjerak TPLAT\_1, rijeka Una, Srb, F - *P. latipennis*, primjerak TPLAT\_7, rijeka Gacka, izvor Tonkovića vrilo (Foto: Mladen Kučinić).



Slika 38. Ventralni izgled genitalnog aparata ženke: A – *P. latipennis*, TPROT\_2 (Foto: Mladen Kučinić).

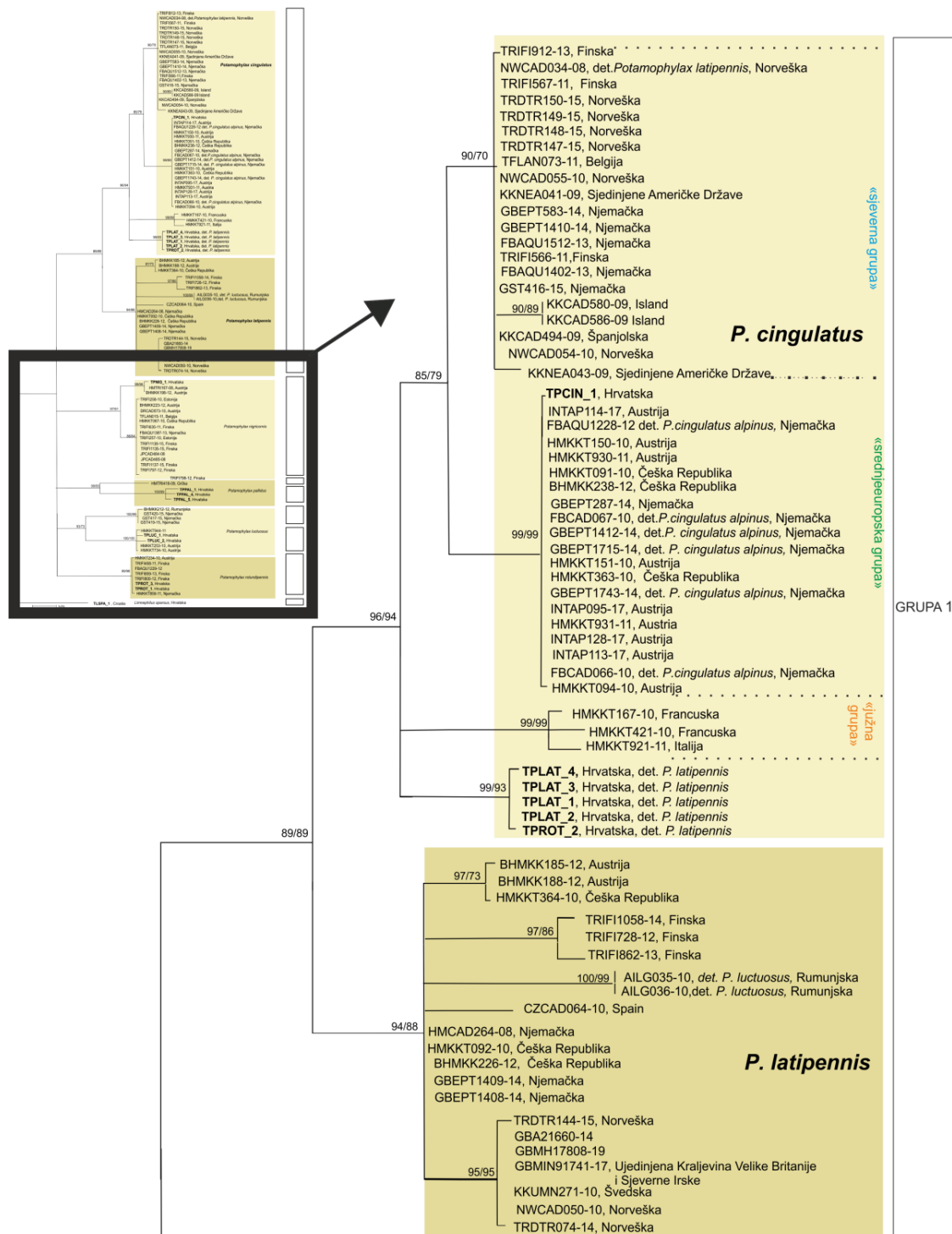
Primjerci TPPAL\_1, TPPAL\_4, TPPAL\_5 vrste *P. pallidus* iz Hrvatske grupirani su unutar dobro podržane grupe (Slika 39, 2. dio). Haplotip iz Grčke HMTRI418-09 izdvaja se u zasebnu liniju (Slika 39, 2. dio). Visoka vrijednost nekorigiranih udvojenih genetskih distanci između *P. pallidus* iz Hrvatske i Grčke ukazuje na mogućnost da se radi o duboko divergentim linijama (10,5-10,9%, Tablica 31). Također, ABGD analiza svrstala je primjerke *P. pallidus* u dvije grupe: *P. pallidus* iz Hrvatske u grupu 5, a *P. pallidus* iz Grčke u grupu 6 (Slika 39, 2. dio).

Na filogenetskom stablu dobro podržano razdvajanje dvije duboko odijeljene linije unutar vrste *P. luctuosus* (Slika 39, 2. dio). Primjerci vrste *P. luctuosus* iz Hrvatske grupirani su s primjercima iz Austrije, a odvojeni od primjeraka iz Njemačke i Rumunjske (Slika 39, 2. dio). ABGD analiza svrstala je primjerke vrste *P. luctuosus* u dvije grupe, potencijalne vrste: *P. luctuosus* iz Hrvatske i Austrije u grupu 2, a primjerke iz Grčke i Njemačke u grupu 3 (Slika 39, 2. dio). Raspon nekorigiranih udvojenih genetskih distanci između *P. luctuosus* iz Hrvatske i *P. luctuosus* iz Austrije (ABGD grupa 2) iznosi 0,8-1,2%, dok je ta vrijednost između *P. luctuosus* iz Hrvatske (ABGD grupa 2) te *P. luctuosus* iz Njemačke i Rumunjske (ABGD grupa 3) 13,2% što ukazuje na mogućnost da se radi o duboko divergentim linijama (Tablica 31).

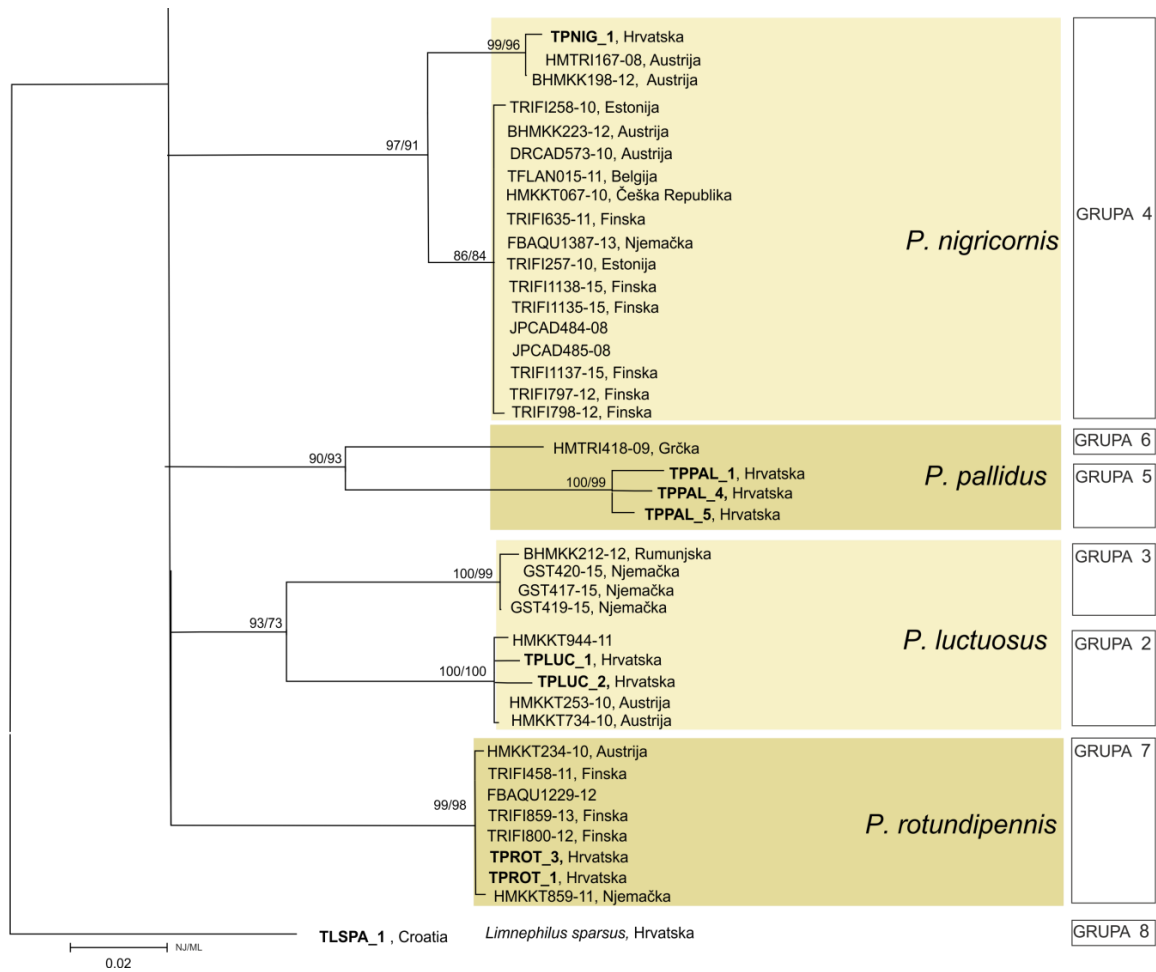
Svi primjerci vrste *P. rotundipennis* grupiraju se s visokom podržanošću u jednu monofiletsku grupu (Slika 39, 2. dio). ABGD analiza također svrstava sve primjerke *P. rotundipennis* u jednu grupu (grupa 7, Slika 39, 2. dio). Raspon vrijednost p-distanci između *P. rotundipennis* iz Hrvatske i drugih dijelova Europe iznosi od 0,4% do 4,7% (Tablica 31).

Tablica 31. Vrijednosti nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti (p-udaljenosti) za DNA barkod regiju (mitohondrijski *COI* gen) izražene u postotcima za vrste roda *Potamophylax* i vrstu *Limnephilus sparsus* koja je uzeta kao vanjska grupa. Zadebljanim brojevima su označene intraspecifične vrijednosti.

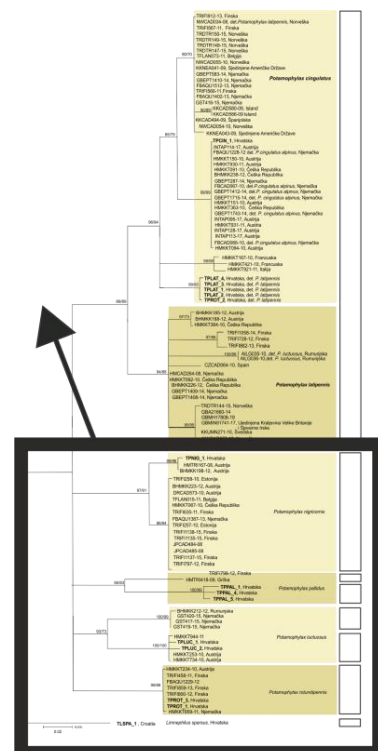
	<i>P. cingulatus</i> , Hrvatska	<i>P. cingulatus</i> , Europa	<i>P. latipennis</i> , Hrvatska	<i>P. latipennis</i> , Europa	<i>P. luctuosus</i> , Hrvatska	<i>P. luctuosus</i> , Europa	<i>P. nigricornis</i>	<i>P. pallidus</i> , Hrvatska	<i>P. pallidus</i> , Europa	<i>P. rotundipennis</i>
<i>P. cingulatus</i> , Hrvatska	-									
<i>P. cingulatus</i> , Europa	1,6-9,3	<b>0-10,5</b>								
<i>P. latipennis</i> , Hrvatska	6,6-7,8	5,4-9,7	<b>0,4-1,2</b>							
<i>P. latipennis</i> , Europa	5,8-13,2	8,9-14,7	5,8-11,2	<b>0-5,8</b>						
<i>P. luctuosus</i> Hrvatska	15,1-15,9	15,1-17,4	14,7-15,1	13,6-15,9	<b>0,8</b>					
<i>P. luctuosus</i> , Europa	14-15,9	12,8-17,4	12-14,7	5-15,1	0,8-13,2	<b>0-12,8</b>				
<i>P. nigricornis</i>	14-14,7	13,2-17,4	13,6-15,5	12-14,3	13,6-14,7	11,6-17,1	<b>0-6,6</b>			
<i>P. pallidus</i> , Hrvatska	17,8-18,2	15,1-19,8	14,3-15,1	15,5-19	15,1-16,3	14,7-17,4	14,7-17,4	<b>0,8-2,3</b>		
<i>P. pallidus</i> , Europa	15,5	13,6-17,1	10,9-11,6	13,2-15,1	13,6-14	13,2-14,3	12-13,2	10,5-10,9	-	
<i>P. rotundipennis</i>	13,6-17,1	13,2-18,6	12-14,7	13,2-17,1	10,9-13,6	10,1-14,3	10,5-15,5	17,4-19	14-14,7	<b>0-5,4</b>
<i>Limnephilus sparsus</i>	17,1	17,1-19,8	17,4-18,2	16,3-17,4	16,3	14,7-15,9	15,1-16,3	17	16,3	13,6-15,5



Slika 39. **1. dio** filogenetskog stabla konstruiranog metodom najveće vjerojatnosti temeljeno na DNA barkod regiji na kojem su vidljivi odnosi između vrsta roda *Potamophylax* i *Limnephilus sparsus* (vanjska grupa). Na granama su označene *bootstrap* vrijednosti (BS) redom NJ/ML. BS vrijednosti manje od 80 nisu prikazane. Zadebljanim slovima označene su sekvence nastale u ovom radu. Na desnoj strani označene su grupe kao rezultat ABGD analize i predstavljaju hipotetske vrste. Bojama su naznačene filogenetske grupe unutar vrste *P. cingulatus*. Kratica det. označava morfološki određenu svojtu.



Slika 39. **2. dio** filogenetskog stabla konstruiranog metodom najveće vjerojatnosti temeljeno na DNA barkod regiji na kojem su vidljivi odnosi između vrsta roda *Potamophylax* i *Limnephilus sparsus* (vanjska grupa). Na granama su označene bootstrap vrijednosti (BS) redom NJ/ML. BS vrijednosti manje od 80 nisu prikazane. Zadebljanim slovima označene su sekvence nastale u ovom radu. Na desnoj strani označene su grupe kao rezultat ABGD analize i predstavljaju hipotetske vrste. Kratica det. označava morfološki određenu svojtu.

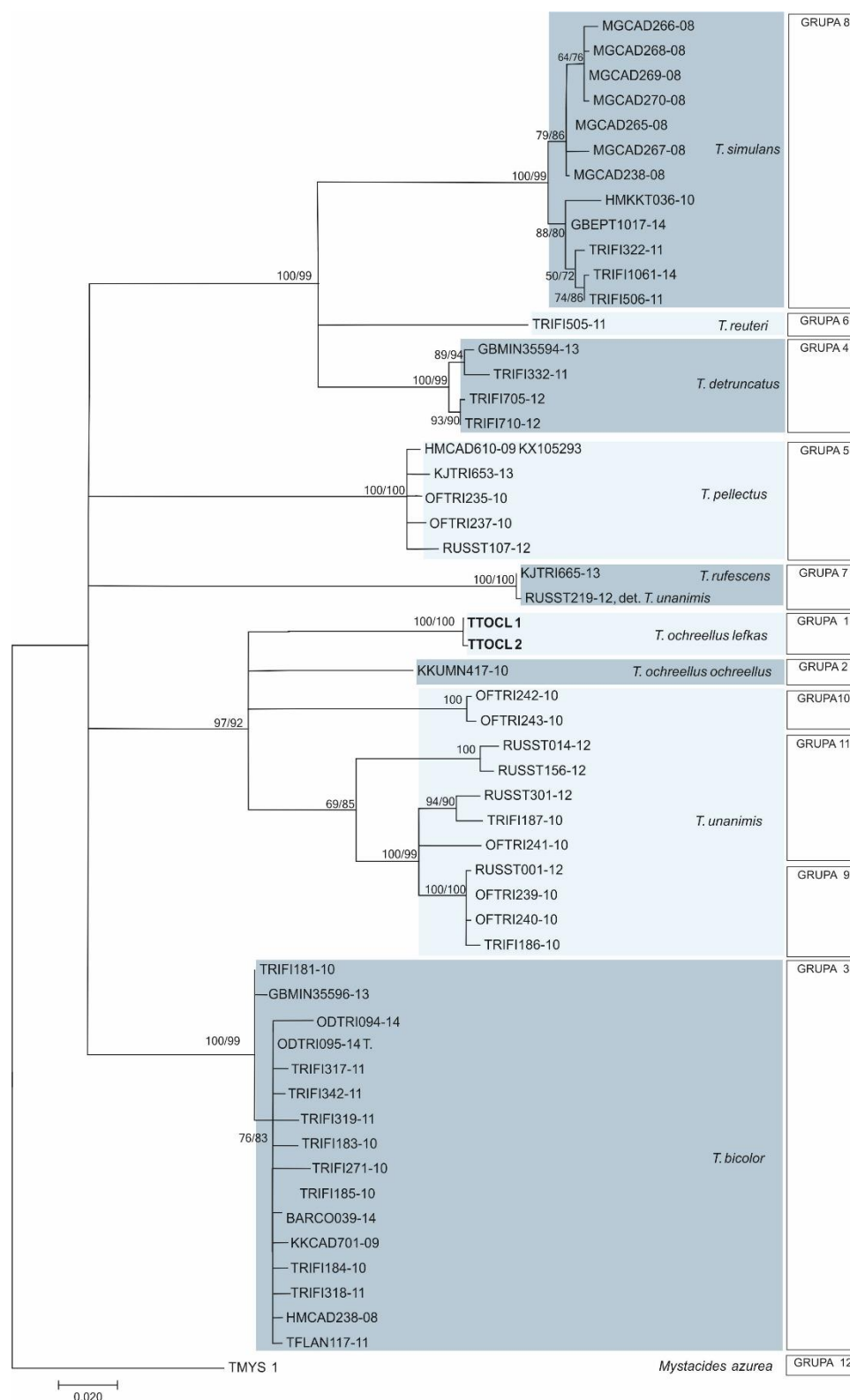


#### 4.1.3. Taksonomski status podvrste *Triaenodes ochreellus lefkas*, Malicky 1974

BOLD Identification Engine odredio je DNA barkod sekvence *T. ochreellus lefkas* iz Hrvatske: TTOCL\_1 (Slika 40) s 90,48% sličnosti, a TTLOC\_2 s 90,63% sličnosti s postojećom sekvencom *T. ochreellus ochreellus* iz Španjolske (ID uzorka 09MNKK0409, ID sekvence KKUMN417-10) (PRILOG 19). Filogenetsko stablo rezultiralo je visoko podržanim grupiranjem uzoraka TTOCL\_1 i TTOCL\_2 u zasebnu grupu od ostalih vrsta roda *Triaenodes* (Slika 41). ABGD analiza svrstala je primjerke *T. ochreellus lefkas* u zasebnu grupu 1 dok su primjerci druge podvrste *T. ochreellus ochreellus* odvojeni u grupu 2 (Slika 41). Vrijednost nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti između TTOCL\_1 i KKUMN417-10 iznosi 10,2% (Tablica 32). Prosječna intraspecifična genetska udaljenost između vrsta roda *Triaenodes* korištenih u ovoj analizi iznosi 1,7%, od koje odskaču maksimalne vrijednosti unutar vrste *T. ochreellus* (10,2%) te maksimalne vrijednosti unutar vrste *T. unanimis* (18,7%). Najmanja interspecifična vrijednost između vrsta roda *Triaenodes* korištenih u ovoj analizi iznosi 10,6% između *T. reuteri* i *T. detruncatus*, a najveća vrijednost iznosi 20,4% između *T. unanimis* te *T. ochreellus* i *T. simulans* (Tablica 32).



Slika 40. A-B. Izgled vrste *T. ochreellus lefkas*: A - primjerak TTOCL\_1 prikupljen na lokaciji rijeka Neretva, Opuzen, B – lateralni izgled genitalnog aparata mužjaka. (Foto: Mladen Kučinić).



Slika 41. Filogenetsko stablo konstruirano metodom najveće vjerojatnosti temeljeno na fragmentu *COI* (DNA barkod regija) na kojem su vidljivi odnosi između vrsta roda *Triadenodes* te *Mystacides azurea* (vanjska vrsta). Na granama su označene *bootstrap* vrijednosti (BS) redom NJ/ML. BS vrijednosti manje od 70 nisu prikazane. Zadebljanim slovima označene su sekvence nastale u ovom radu. Na desnoj strani označene su grupe kao rezultat ABGD analize i predstavljaju hipotetske vrste.

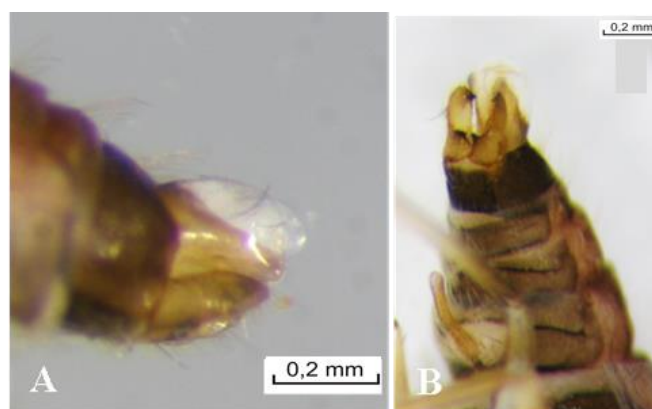


Tablica 32. Rasponi nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti (p-udaljenosti) za DNA barkod regiju (mitohondrijski *COI* gen), između vrsta roda *Triaenodes* te *Mystacides azurea* (vanjske grupa). Zadebljanim brojevima označene su intraspecifične vrijednosti.

	<i>T. ochreellus</i>	<i>T. bicolor</i>	<i>T. detruncatus</i>	<i>T. pellectus</i>	<i>T. reuteri</i>	<i>T. rufescens</i>	<i>T. simulans</i>	<i>T. unanimis</i>
<i>T. ochreellus</i>	<b>0-10,2</b>							
<i>T. bicolor</i>	14,6-16,5	<b>0,2-1,7</b>						
<i>T. detruncatus</i>	15,4-18,1	14-16,7	<b>0,2-1,7</b>					
<i>T. pellectus</i>	14,2-15,9	12,7-14,9	13,7-16,1	<b>0,2-1,7</b>				
<i>T. reuteri</i>	15,7-17,4	14,5-15,8	10,6-12,1	14,7-15,3	<b>0</b>			
<i>T. rufescens</i>	15,9-18,6	16,1-19,7	19,2-19,7	18,2-18,9	19,4	<b>0</b>		
<i>T. simulans</i>	16,5- 20,4	15,7- 18,4	11,0- 13,4	14,9-16,5	11,4-12,4	18,7-20,6	<b>0,2-3,3</b>	
<i>T. unanimis</i>	10,6-18,6	13,3-17,7	15,6-19,5	13,8-18,9	15,1-19,6	0,2-18,7	16,1-20,4	<b>0,2-18,7</b>
<i>Mystacides azurea</i>	17,4-18,2	15,2-16,7	18,5-0,19,4	17,6-18,2	17,8	20,8	19,2-20,6	16,2-20,8

#### 4.1.4. Potencijalno nova vrsta za znanost *Agapetus* cf. *fuscipes*

Na izvoru Ljute u Konavlima prikupljen je mužjak roda *Agapetus* Curtis, 1834 morfološki najbližnji vrsti *A. fuscipes* Curtis, 1834 (Slika 42). BOLD Identification Engine nije uspio odrediti sekvence *Agapetus* cf. *fuscipes* iz Hrvatske (TAFUS\_1, TAFUS\_2, TAFUS\_3, TAFUS\_4) do razine vrste te je naveo vrstu *A. slavorum* kao najbližnju s 87% sličnosti (PRILOG 19).

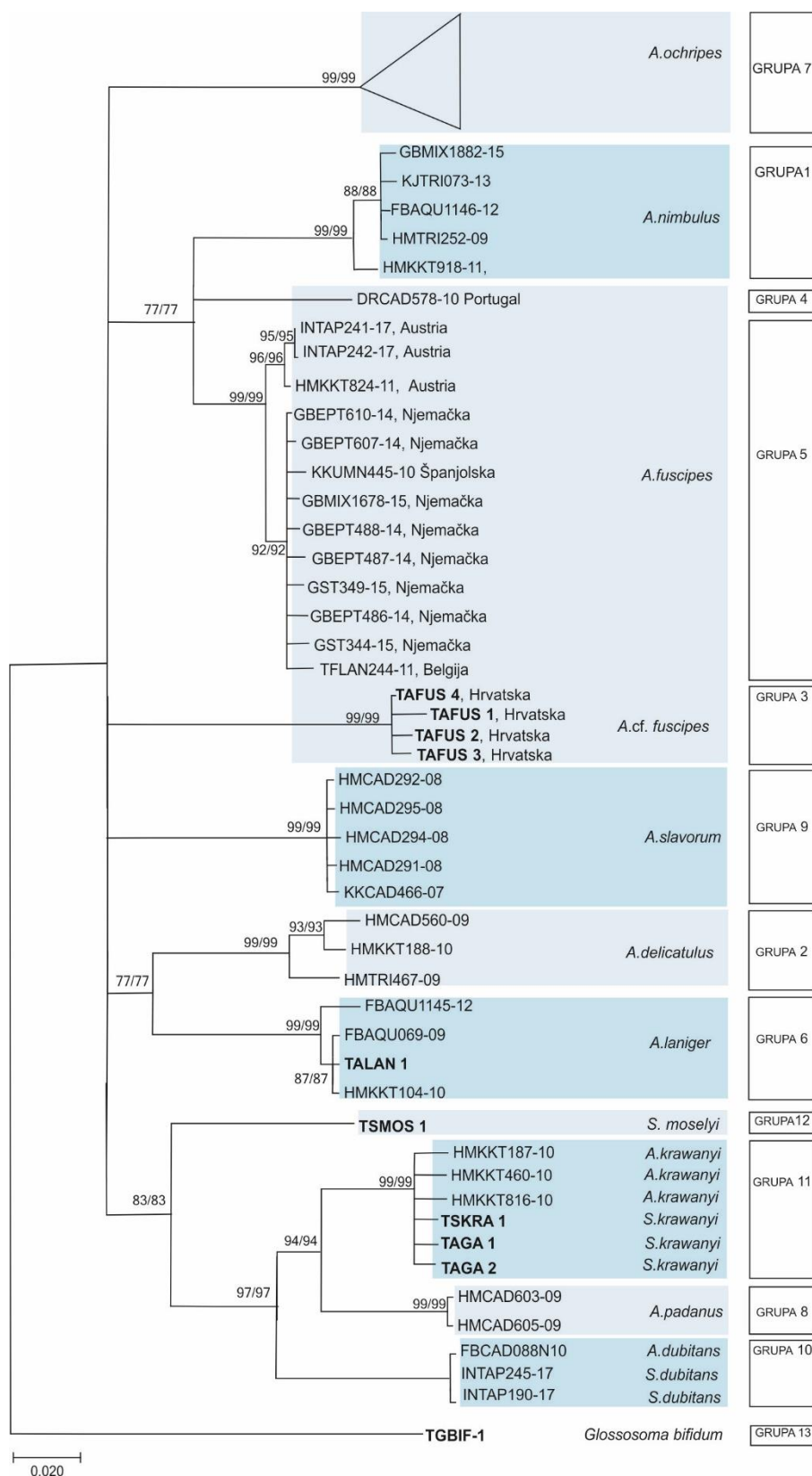


Slika 42. A-C. Morfološki izgled genitalnog aparata mužjaka vrste *Agapetus* cf. *fuscipes* lateralni izgled (A) i ventralni izgled (B) (Foto:Mladen Kučinić).

Filogenetsko stablo konstruirano metodom najveće vjerojatnosti rezultiralo je grupiranjem svih primjeraka *A. cf. fuscipes* (TAFUS\_1, TAFUS\_2, TAFUS\_3, TAFUS\_4) u zasebnu grupu (Slika 43). Rezultat ABGD analize ide u prilog mogućnosti da se radi novoj vrsti i odvađa navedene primjerke u zasebnu grupu 3, dok su primjerci *A. fuscipes* iz ostalih dijelova Europe u grupi 4 i 5. Haplotip DRCAD578-10 iz Portugala ABGD analiza svrstava u zasebnu grupu 4 dok su ostali haplotipovi vrste *A. fuscipes* su u grupi 5 (Slika 43).

Na filogenetskom stablu sekvence iz BOLD baze određene kao *Agapetus* (*A. krawanyi*, *A. padanus*, *A. dubitans* grupirale sa vrstama iz roda *Synagapetus* (Slika 43). Vrsta *S. moselyi* (uzorak TSMOS\_1) je duboko odijeljena linija koju ABGD analiza svrstava u zasebnu grupu (grupa 12, Slika 43). DNA barkod sekvencija primjeraka TSMOS\_1 vrste *S. moselyi* predstavlja prvi unos ove vrste i podataka u BOLD bazu.

Genetske udaljenosti između linija *A. cf. fuscipes* i linije *A. fuscipes* iznosi 13,6% (Tablica 33). Minimalna interspecifična genetska udaljenost kod roda *Agapetus* zabilježena je između *A. laniger* i *A. delicatulus* te *A. nimbulus* i *A. fuscipes* (7,4%, Tablica 33). Maksimalna interspecifična genetska udaljenost zabilježena je između *A. padanus* i *A. ochripes* (18,6%, Tablica 33). Intraspecifična genetska udaljenost unutar *A. cf. fuscipes* iznosi 1%, a unutar *A. fuscipes* iz Europe 1,5% što je ujedno i maksimalna vrijednost kod roda *Agapetus*. Kod analiziranih primjeraka minimalna interspecifična genetska udaljenost između roda *Agapetus* i *Synagapetus* je u rangu minimalne vrijednosti unutar roda *Agapetus* (od 8,6% između *S. krawanyi* i *A. padanus*). Kod analiziranih primjeraka maksimalna interspecifična genetska udaljenost između roda *Agapetus* i *Synagapetus* je u rangu minimalne vrijednosti roda *Agapetus* i vanjske grupe *G. bifidum* (od 19,6% između *S. krawanyi* i *A. ochripes*, Tablica 33).



Slika 43. Filogenetsko stablo konstruirano metodom najveće vjerojatnosti temeljeno na fragmentu mt DNA na kojem su vidljivi odnosi između vrsta roda *Agapetus*, *Synagapetus* te *Glossosoma bifidum* (vanjska grupa). Na granama su označene bootstrap vrijednosti (BS) redom NJ/ML. BS vrijednosti manje od 70 nisu prikazane. Zadebljanim slovima označene su sekvence nastale u ovom radu. Na desnoj strani označene su grupe kao rezultat ABGD analize i predstavljaju hipotetske vrste. Zbog velikog broja kolabirane sekvence *A. ochripes*, prikazane su trokutom.

Tablica 33. Srednja vrijednost nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti (p-udaljenosti) za DNA barkod regiju (mitohondrijski *COI* gen), između vrsta roda *Agapetus*, *Synagapetus* i *Glossosoma bifidum* kao vanjske vrste. Zadebljanim brojevima su označene intraspecifične genetske udaljenosti.

	<i>A. delicatulus</i>	<i>A. cf. fuscipes</i>	<i>A. fuscipes</i>	<i>A. laniger</i>	<i>A. nimbulus</i>	<i>A. ochripes</i>	<i>A. padanus</i>	<i>A. slavorum</i>	<i>S. moselyi</i>	<i>S. dubitans</i>	<i>S. krawanyi</i>	<i>Glossosoma</i>
<i>A. delicatulus</i>	<b>2,2</b>											
<i>A. cf. fuscipes</i>	16,8	<b>1,0</b>										
<i>A. fuscipes</i>	10,5	13,6	<b>1,5</b>									
<i>A. laniger</i>	7,4	18,5	9,1	<b>1,3</b>								
<i>A. nimbulus</i>	11,8	14,6	7,4	10,9	<b>1,0</b>							
<i>A. ochripes</i>	13,9	15,9	10,4	11,8	14,1	<b>0,1</b>						
<i>A. padanus</i>	15,2	17,7	15,2	11,9	17,1	18,6	<b>0</b>					
<i>A. slavorum</i>	12,6	12,4	10,1	10,4	12,4	13,5	16,1	<b>0,6</b>				
<i>S. moselyi</i>	13,3	15,4	11,6	10,2	17,0	17,9	10,8	16,0	<b>0</b>			
<i>S. dubitans</i>	16,7	15,7	17,9	14,1	17,7	22,4	11,9	15,3	14,6	<b>0</b>		
<i>S. krawanyi</i>	16,7	18,5	17,2	15,0	18,7	19,6	8,6	14,9	12,1	11	<b>1,2</b>	
<i>Glossosoma</i>	19,4	23,8	18,6	16,1	20,3	21,6	22,9	19,6	23,1	24	23,7	<b>0</b>

## 4.2. Povezivanje mužjaka i ženki metodom DNA barkodiranja

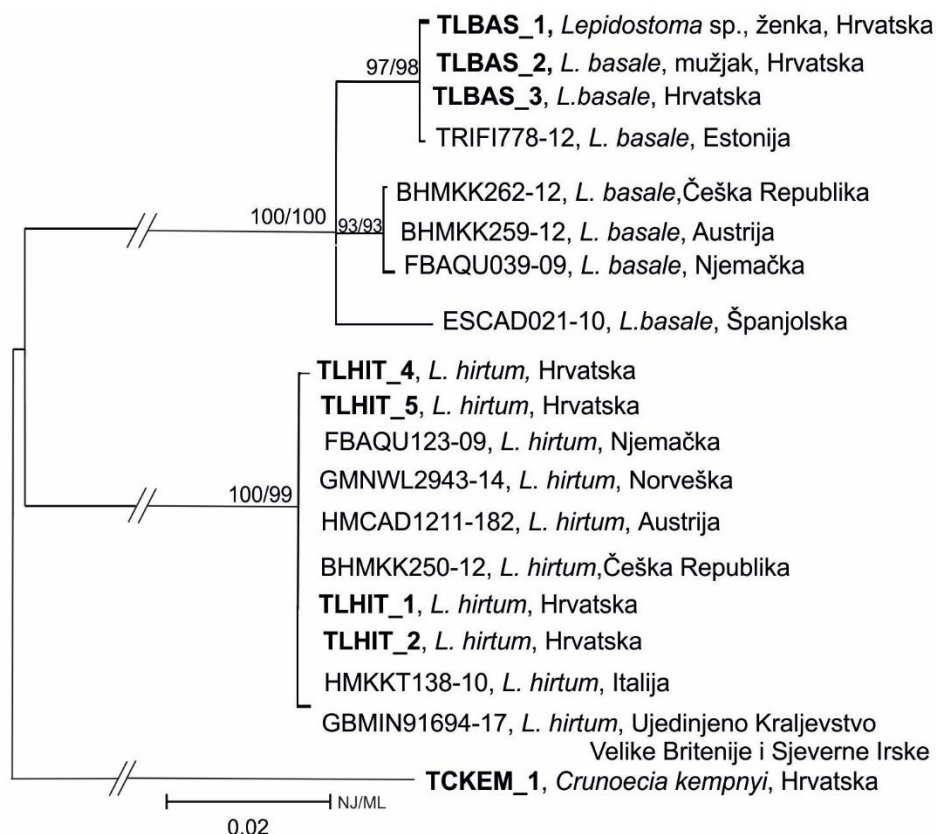
### 4.2.1. Povezivanje mužjaka i ženki vrste *Lepidostoma basale* Kolenati 1848

Na lokalitetu Pašina vrela kod sela Mečenčani prikupljen je mužjak koji je morfološki određen kao *L. basale*, TLBAS\_2. Na istom lokalitetu prikupljena je ženka roda *Lepidostoma* koja najviše nalikuje vrsti *L. basale*, TLBAS\_1 (Slika 44).



Slika 44. A-C. Genitalni aparat ženke vrste *Lepidostoma* sp. lateralna (A), ventralna (B) i dorzalna (C) strana.

Konstruirano filogenetsko stablo na temelju molekularnog biljega *COI* rezultiralo je grupiranjem ženke TLBAS\_1 s mužjakom *L. basale* (TLBAS\_2) s istog lokaliteta (Slika 45). Oba primjerka (TLBAS\_1, TLBAS\_2) grupirala su se s primjerkom iz Hrvatske (izvora Grab, TLBAS\_3) i Estonije (TRIFI778-12). Ženke TLBAS\_1 s visokom podržanošću grupira s ostalim primjercima vrste *L. basale* (Slika 45). Vrsta *L. hirtum* grupira se u zasebnu grupu s visokom pouzdanošću (Slika 45). Dodatnu sigurnost rezultatu da ženka TLBAS\_1 pripada vrsti *L. basale* daje vrijednost nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti između ženke TLBAS\_1 i mužjaka *L. basale* (TLBAS\_2, TLBAS\_3) koja iznosi 0,2% (Tablica 34). Vrijednost intraspecifične *p*-udaljenosti unutar *L. basale* u Europi iznosi od 0,1% do 2,4%. Vrijednost interspecifične *p*-udaljenosti između *L. basale* i *L. hirtum* iznosi od 15,1% do 16,3% (Tablica 34).



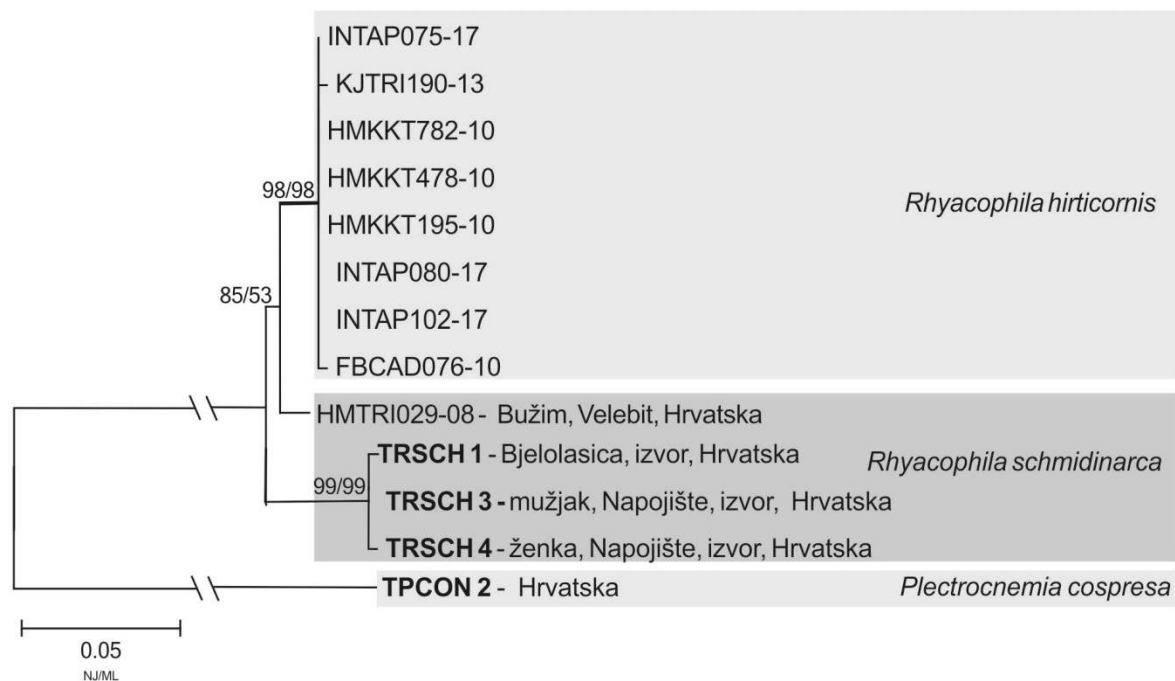
Slika 45. Filogenetsko stablo konstruirano metodom najveće vjerojatnosti temeljeno na fragmentu *COI* na kojem su vidljivi odnosi između ženke *Lepidostoma* sp. i drugih vrsta iz roda *Lepidostoma*. Za ukorjenjivanje stabala korištena je vrsta *Crunoecia kempnyi*. Na granama su označene *bootstrap* vrijednosti (BS) redom NJ/ML. BS vrijednosti manje od 80 nisu prikazane. Zadebljanim slovima označene su sekvence nastale u ovom radu.

Tablica 34. Rasponi nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti (p-udaljenosti) za DNA barkod regiju (mitohondrijski *COI* gen) u postotcima, unutar i između vrsta *Lepidostoma* i vanjske vrste *Crunoecia kempnyi*. Zadebljanim brojevima su označene intraspecifične vrijednosti.

	<i>Lepidostoma</i> sp. ženka, Hrvatska	<i>L. basale</i> , Hrvatska	<i>L. basale</i> , Europa	<i>L. hirtum</i>	<i>Crunoecia</i> <i>kempnyi</i>
<i>Lepidostoma</i> sp. ženka, Hrvatska	-				
<i>L. basale</i> , Hrvatska	0-0,2	<b>0,2</b>			
<i>L. basale</i> , Europa	0,2-2,2	0,2-2,4	<b>0,1-2,4</b>		
<i>L. hirtum</i>	15,6-16,2	15,6-16,2	15,1-16,3	<b>0-0,9</b>	
<i>Crunoecia</i> <i>kempnyi</i>	18,9	18,9-19,1	18,3-18,9	16,7-17,1	-

#### 4.2.2. Povezivanje mužjaka i ženki vrste *Rhyacophila schmidinaria* Urbanič, Krušnik & Malicky 2000

Filogenetska analiza na temelju molekularnog biljega *COI* je dobro podržala grupiranje ženke TRSCH\_4 s mužjakom vrste *R. schmidinaria*, TRSCH\_3 (Slika 46). Svi primjerci vrste *R. schmidinaria* iz ovog rada grupiraju se u odijeljenu dobro podržanu grupu. Primjerak HMTRI029-08 vrste *R. schmidinaria* iz lokaliteta Bužim, Velebit svrstan je kao sestrinski vrsti *R. hirticornis*, ali to grupiranje nije dobro podržano *bootstrap* vrijednostima. Ženka TRSCH\_4 ima identičan DNA barkod mužjaku vrste *R. schmidinaria*, TRSCH\_3 (vrijednost p-distance je 0, Tablica 35). Raspon intraspecifične vrijednosti unutar *R. hirticornis* iznosi od 3,9% do 4,1%. Raspon interspecifična udvojena genetska udaljenost između vrsta *R. schmidinaria* i *R. hirticornis* iznosi 3,6% do 3,9 (Tablica 35).



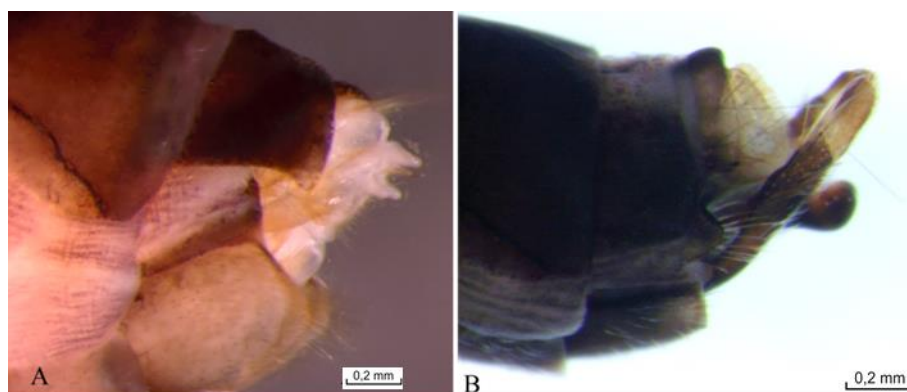
Slika 46. Filogenetsko stablo konstruirano metodom najveće vjerojatnosti temeljeno na DNA barkod regiji vrste *R. schmidinarica*. Na granama su označene *bootstrap* vrijednosti (BS) redom NJ/ML. BS vrijednosti manje od 50 nisu prikazane.

Tablica 35. Vrijednosti nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti (p-udaljenosti) izražene u postocima za vrste *R. schmidinarica* i *R. hirticornis* te vrstu *Plectrocnemia conspersa* koja je uzeta kao vanjska grupa. Zadebljanim brojevima su označene intraspecifične vrijednosti.

	<i>R. schmidinarica</i> HMTRI029-08	<i>R. schmidinarica</i> a TRSCH_1	<i>R. schmidinarica</i> a TRSCH_3, m	<i>R. schmidinarica</i> a TRSCH_4, f	<i>R. hirticornis</i>	<i>Plectrocnemia conspersa</i>
<i>R. schmidinarica</i> HMTRI029-08	-					
<i>R. schmidinarica</i> TRSCH_1	3,6	-				
<i>R. schmidinarica</i> TRSCH_3, m	3,9	0,3	-			
<i>R. schmidinarica</i> TRSCH_4, f	3,9	0,3	0	-		
<i>R. hirticornis</i>	1,6-1,8	3,6-3,9	3,9-4,1	3,9-4,1	<b>0-0,5</b>	-
<i>Plectrocnemia conspersa</i>	33,9	34,1	34,1	34,1	33,9-34,4	-

#### 4.2.3. Povezivanje mužjaka i ženki *Hydropsyche angustipennis* Curtis 1834 i potvrda nove vrste *Hydropsyche bulbifera* McLachlan, 1878 u fauni Hrvatske

Na potoku Dubočanka blizu mjesta Tribalj prikupljen je mužjak koji je morfološki određen kao *H. angustipennis*, THANG\_3 (Slika 47 B). Na istom lokalitetu prikupljena je ženka iz roda *Hydropsyche*, THANG\_2 (Slika 47 A).

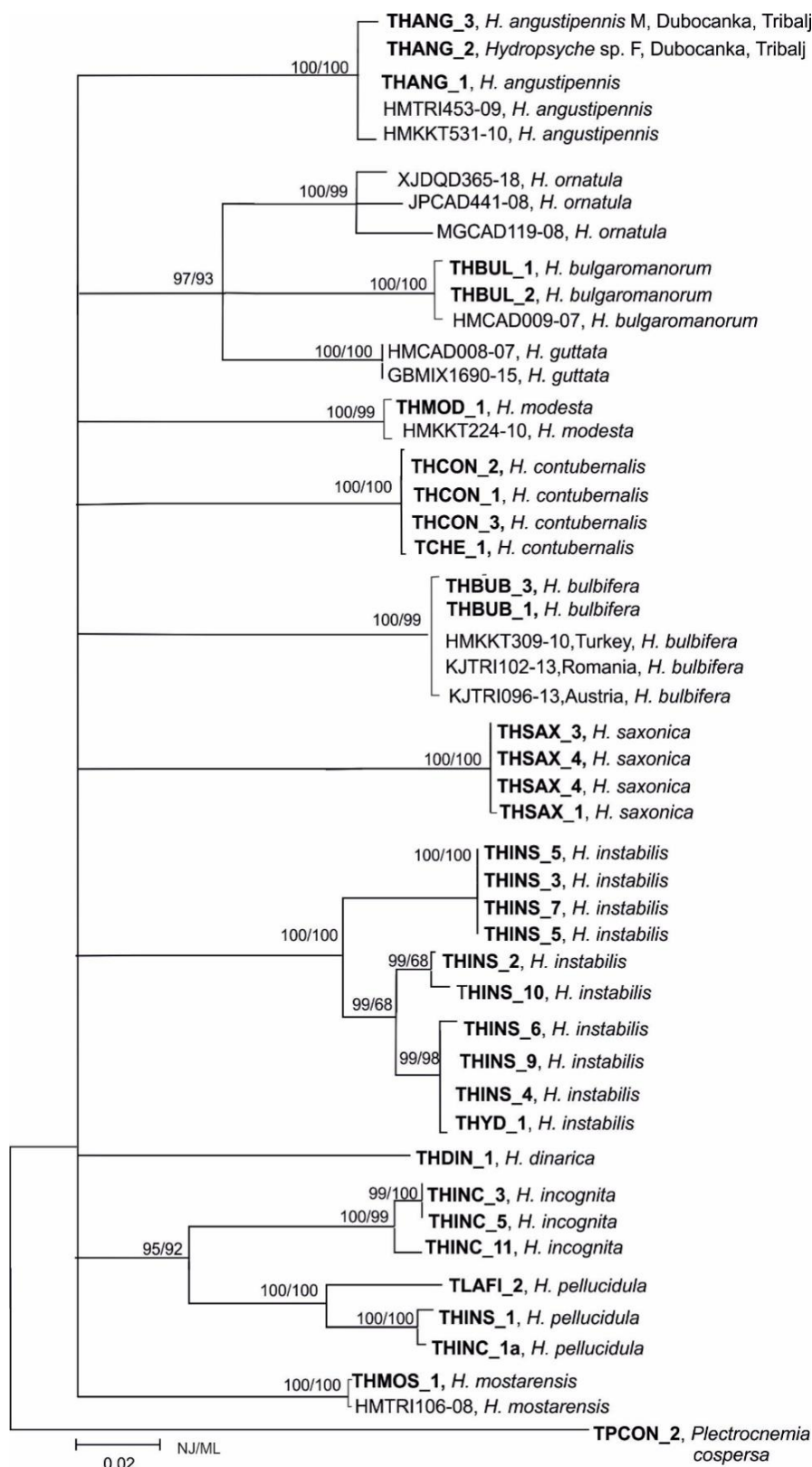


Slika 47. A-B. Lateralni izgled genitalnog aparata A –ženke *Hydropsyche* sp. i B – mužjaka vrste *H. angustipennis*.

Mužjak THANG\_3 i ženka THANG\_2 s istog lokaliteta grupirani su s visokom podržanošću unutar vrste *H. angustipennis* (Slika 48). Maksimalna vrijednost p-udaljnosti između ženke THANG\_2 i vrste *H. angustipennis* je 1,7% što je u rangu intraspecifičnih genetskih udaljenosti unutar promatranih vrsta roda *Hydropsyche*. Raspon genetskih udaljenosti unutar promatranih vrsta roda *Hydropsyche* je od 0 do 5,9% (maksimalna vrijednost zabilježena je unutar vrste *H. instabilis*) (Tablica 36).

Ostale vrste iz roda *Hydropsyche* zabilježene u Hrvatskoj grupirane su sukladno onom kako su morfološki određene. Svaka od zabilježenih vrsta roda *Hydropsyche* u Hrvatskoj se grupirala s primjercima iste vrste s visokom podržanošću (Slika 48). Vrste *H. ornatula*, *H. bulgaromanorum* i *H. guttata* pokazale su se srodnima i svrstane su u dobro podržanu grupu (Slika 48). Vrste *H. incognita* i *H. pellucidula* su se pokazale sestrijskima. DNA barkod metodom potvrđena je morfološki određena vrsta *H. bulbifera*, koja do sada nije zabilježena u Hrvatskoj. Primjerci iz Hrvatske grupirali su se s visokom podržanošću u monofiletskoj grupi s ostalim primjercima *H. bulbifera* iz Turske, Rumunjske i Austrije (Slika 48).





Slika 48. Filogenetsko stablo konstruirano metodom najveće vjerojatnosti temeljeno na fragmentu *COI* (DNA barkod regija) koje prikazuje srodstvene odnose roda *Hydropsyche*. *Plectrocnemia conspersa* korištena je kao vanjska vrsta. Na granama su označene *bootstrap* vrijednosti (BS) redom NJ/ML. BS vrijednosti manje od 90 nisu prikazane. Zadebljanim slovima označene su sekvence nastale ovim radom.

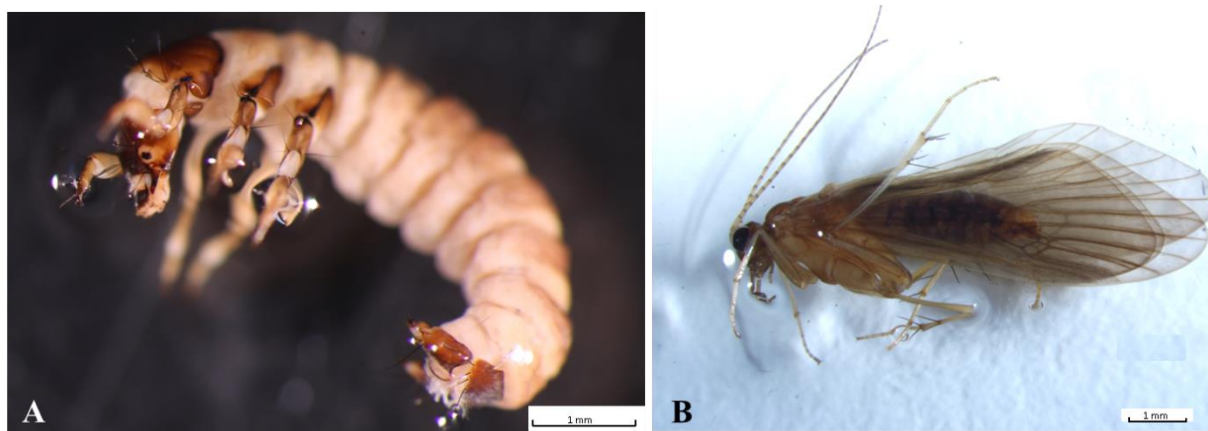
Tablica 36. Vrijednosti nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti (p-udaljenosti) za DNA barkod regiju (mitohondrijski *COI* gen) izražene u postotcima za vrste roda *Hydropsyche*.

Vrsta	Vrsta	Vrijednost p-udaljenosti	Vrsta	Vrijednost p-udaljenosti
<i>Hydropsyche</i> sp. F, Hrvatska	<i>H. angustipennis</i>	0-1.7	<i>H. angustipennis</i>	0.8-1.7
	<i>H. bulbifera</i>	14.3-15.1	<i>H. bulbifera</i>	1.5
	<i>H. bulgaromanorum</i>	11.7-11.9	<i>H. bulgaromanorum</i>	0-0.2
	<i>H. contubernalis</i>	13.6-14.3	<i>H. contubernalis</i>	0-0.8
	<i>H. dinarica</i>	14	<i>H. guttata</i>	0
	<i>H. guttata</i>	12.4	<i>H. incognita</i>	0-1.3
	<i>H. incognita</i>	14.7-15.1	<i>H. instabilis</i>	0-5.9
	<i>H. instabilis</i>	13.4-14.5	<i>H. modesta</i>	0.4
	<i>H. modesta</i>	12	<i>H. mostarensis</i>	0.4
	<i>H. mostarensis</i>	12.7	<i>H. pellucidula</i>	0-5
	<i>H. pellucidula</i>	13.4-14.1	<i>H. ornatula</i>	1.9-2.9
	<i>H. ornatula</i>	11.9-13	<i>H. saxonica</i>	0
	<i>H. saxonica</i>	15	-	-
	<i>Plectrocnemia cospresa</i>	22.9	-	-

### 4.3. Povezivanje odraslog i ličinačkog stadija metodom DNA barkodiranja

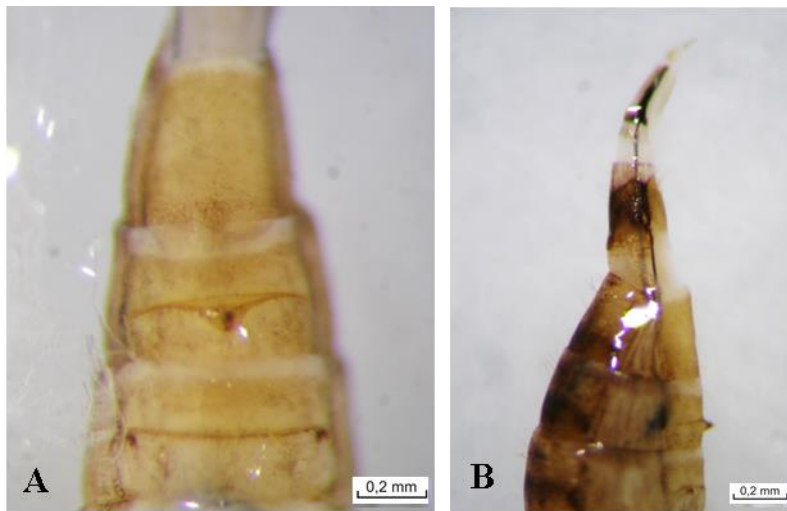
#### 4.3.1. Povezivanje odraslog i ličinačkog stadija vrste *Glossosoma discophorum* Klapalek, 1902

Na izvoru Mali Rumin, pritoku rijeke Cetine, prikupljena je ličinka iz roda *Glossosoma* (TGDIS\_5) koja nije mogla biti određena do razine vrste (Slika 49 A). Na istom lokalitetu prikupljen je mužjak vrste *G. discophorum* (TGDIS\_7, Slika 49 B).



Slika 49. A-B. Ličinka *Glossosoma* sp. (A) (Foto:Renata Ćuk) i odrali mužjak vrste *G. discophorum* (B) s lokaliteta Mali Rumin.

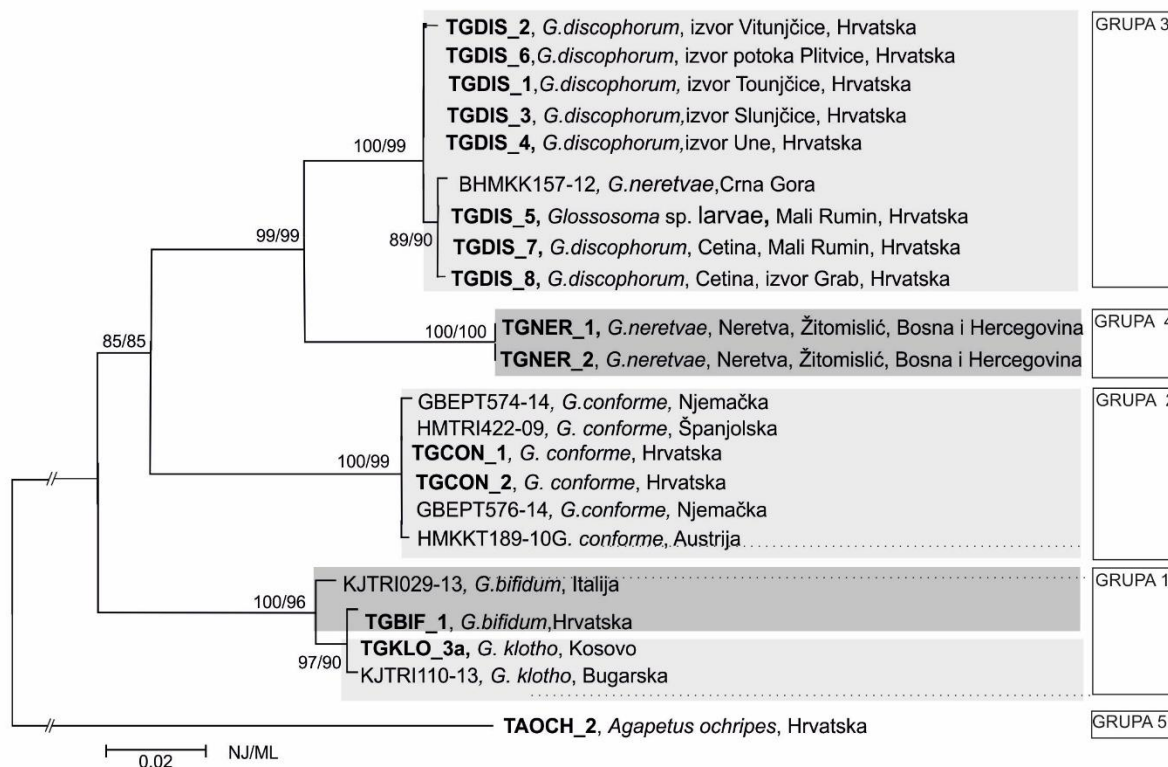
Ličinka TGDIS\_5 se grupira visokom s mužjakom TGDIS\_7 prikupljenim na istom lokalitetu što znači da pripada vrsti *G. discophorum* (Slika 52). Mužjak TGDIS\_7 i ličinka TGDIS\_5, zajedno s primjerkom *G. discophorum* TGDIS\_8 s izvora Grab te primjerkom BHMKK157-12 morfološki određenim kao *G. neretvae*, se odvajaju u zasebnu podliniju vrste *G. discophorum* (Slika 52). Zajedno s mužjakom vrste *G. discophorum* na izvoru Tounjčice prikupljena je i ženka TGDIS\_1 za koju se pretpostavilo da pripada istoj vrsti. Uspješno je dobiven DNA barkod samo ženke TGDIS\_1 (Slika 50) za koju je potvrđeno da se radi o vrsti *G. discophorum* s obzirom na visoko podržano grupiranje s drugim primjercima vrste *G. discophorum* (Slika 52). Također, svi ostali primjerci morfološki određeni kao *G. discophorum* (Slika 51 A-C) grupiraju se zajedno s visokom podržanošću (Slika 52). Primjerak BHMKK157-12 iz Crne Gore, morfološki određen *G. neretvae*, čija je DNA sekvenca preuzeta iz BOLD baze, se grupirao s vrstom *G. discophorum* (Slika 52). ABGD analiza svrstava primjerke *G. discophorum* (uključujući ličinku TGDIS\_5 i primjerak BHMKK157-12 iz Crne Gore) u jednu grupu (grupa 3) (Slika 52). Vrsta *G. neretvae* iz Bosne i Hercegovine ABGD analiza svrstava u grupu 4. Vrsta *G. neretvae* pokazala se sestrinskom vrstom *G. discophorum*, a *G. conformis* tim dvjema vrstama (Slika 52). Vrsta *G. klotho* Malicky, 2003 grupirala se s vrstom *G. bifidum* visokom vrijednosti *bootstrap* podrške (Slika 52). ABGD analiza rezultira svrstavanjem svih primjeraka dvije morfološki različite vrste *G. klotho* i *G. bifidum* (Slika 51 D) u jednu grupu (grupa 1, Slika 52). Maksimalna vrijednost nekorigirane udvojene distance između ličinke TGDIS\_5 i vrste *G. discophorum* iznosi 0,6% (Tablica 37). Slična maksimalnu vrijednost genetske udaljenosti zabilježena je unutar vrste *G. discophorum* kod primjeraka uvrštenih u ovu analizu i iznosi 0,8%. Intraspecifična genetska raznolikost u tom rasponu zabilježena je i kod vrste *G. conformis* (0-0,5%). Primjerak BHMKK157-12 morfološki određen kao vrsta *G. neretvae* iz Crne Gore prema p-distanci razlikuje se od vrste *G. discophorum* od 0,5% do 1,1% dok se od *G. neretvae* iz Bosne i Hercegovine razlikuje 7,2%. Primjerci vrste *G. neretvae* korišteni u ovim radu se od *G. discophorum* razlikuju od 6,4% do 6,7%. Primjerak KJTRI029-13 *G. bifidum* iz Italije se genetski razlikuje od primjerka TGBIF\_1 *G. bifidum* iz Hrvatske 1,4%, a od vrste *G. klotho* 1,1%. Primjerci *G. bifidum* iz Hrvatske i *G. klotho* se genetski razlikuju 0,5% (Tablica 37).



Slika 50. A-B. Izgled genitalnog aparata ženke vrste *G. discophorum*, TGDIS\_1 s izvora Tounjčice: A – ventralni izgled, B – lateralni izgled.



Slika 51. A-D. Lateralni izgled genitalnog aparata mužjaka vrste: A - *G. discophorum* s izvora Rumin, TGDIS\_5; B – *G. discophorum* izvora Grab, TGDIS\_8; C – *G. discophorum* s izvora Slunjčice, TGDIS\_3; D- *G. bifidum*, TGBIF\_1, Kupčina, izvor (Foto: Mladen Kučinić).



Slika 52. Filogenetsko stablo konstruirano metodom najveće vjerojatnosti temeljeno na fragmentu *COI* (DNA barkod regija) koje prikazuje srodstvene odnose ličinke *Glossosoma* s ostalim vrstama roda *Glossosoma*. Vrsta *Agapetus ochripes* korištena je kao vanjska vrsta. Na granama su označene *bootstrap* vrijednosti (BS) redom NJ/ML. BS vrijednosti manje od 80 nisu prikazane. Zadebljanim slovima označene su sekvence nastale u ovom radu. Na desnoj strani označene su grupe kao rezultat ABGD analize i predstavljaju hipotetske vrste.

Tablica 37. Vrijednosti nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti (p-udaljenosti) izražene u postotcima za vrste roda *Glossosoma* te vrstu *Agapetus ochripes* koja je uzeta kao vanjska grupa. Zadebljanim brojevima su označene intraspecifične vrijednosti.

	<i>G. conformis</i>	<i>G. discophorum</i>	<i>Glossosoma</i> sp. larvae	<i>G. neretvae</i> , Crna Gora	<i>G. neretvae</i> , BiH	<i>G. bifidum</i> , Italija	<i>G. bifidum</i> Hrvatska	<i>G. klotho</i>
<i>G. conformis</i>	<b>0-0,5</b>							
<i>G. discophorum</i>	11-11,4	<b>0,2-0,8</b>						
<i>Glossosoma</i> sp. larvae	11-11,3	0-0,6	-					
<i>G. neretvae</i> , Crna Gora	11,3	0,5-1,1	0,5	-				
<i>G. neretvae</i> , BiH	11,6	6,4-6,7	6,7	7,2	-			
<i>G. bifidum</i> , Italija	11	11,4-11,6	11,4	11,8	13,8	-		
<i>G. bifidum</i> , Hrvatska	11,6	12,1	11,9	12,2	14	1,4	-	
<i>G. klotho</i>	11,8	12	11,9	12,2	14	1,1	0,5	<b>0</b>
<i>A. ochripes</i>	23,4	24	24	24	25,4	22,3	21,9	21,9

#### 4.4. Otkrivanje kriptičnih vrsta metodom DNA barkodiranja

##### 4.4.1. Otkrivanje kriptičnih vrsta roda *Diplectrona* Westwood, 1839

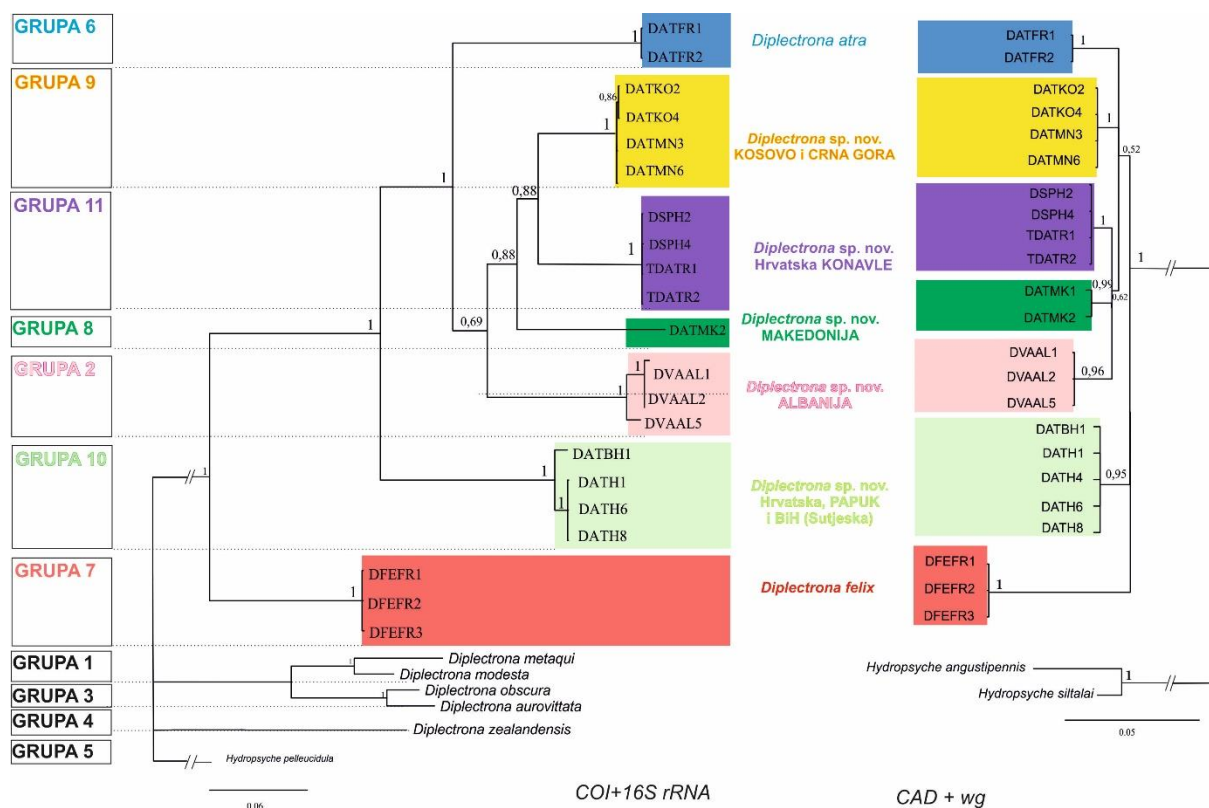
BOLD Identification Engine uspio je odrediti osam haplotipova koji pripadaju vrstama *D. atra* i *D. felix* iz Francuske (Tablica 38).

Tablica 38. Rezultati određivanja putem BOLD Identification Engine na temelju *COI* haplotipova (DNA barkod regija).

<i>COI</i> haplotip	Geografska rasprostranjenost DNA kod analiziranih jedinki	Taksonomsko određivanje i postotak genetske sličnosti s najrodnijom sekvencom u BOLD bazi.
1	Hrvatska, Papuk: DATH1, DATH3, DATH4, DATH6, DATH8 i DATH10	Vrsno podudaranje: nema Najsličnija sekvenca: <i>Diplectrona atra</i> : 88.76%
2	Hrvatska, Papuk: DATH9	Vrsno podudaranje: nema Najsličnija sekvenca: <i>Diplectrona atra</i> : 88.56%
3	Albanija: DVAAL1, DVAAL4	Vrsno podudaranje: nema Najsličnija sekvenca: <i>Diplectrona atra</i> : 87.86%
4	Albanija: DVAAL2, DVAAL3	Vrsno podudaranje: nema Najsličnija sekvenca: <i>Diplectrona atra</i> : 88.02%
5	Albanija: DVAAL5	Vrsno podudaranje: nema Najsličnija sekvenca: <i>Diplectrona atra</i> : 88.02%
6	Kosovo i Crna Gora: DATKO4, DATKO5, DATKO6, DATMN1, DATMN3, DATMN4, DATMN5, DATMN6	Vrsno podudaranje: nema Najsličnija sekvenca: <i>Diplectrona atra</i> : 91.4%
7	Republika Sjeverna Makedonija, nadalje Makedonija: DATMK1	Vrsno podudaranje: nema Najsličnija sekvenca: <i>Diplectrona atra</i> : 90.17%
8	Makedonija: DATMK2	Vrsno podudaranje: nema Najsličnija sekvenca: <i>Diplectrona atra</i> : 90.23%
9	Francuska: DFEFR1, DFEFR2, DFEFR4	Vrsno podudaranje: pronađeno <i>Diplectrona felix</i> (sličnost: 99.69%)
10	Francuska: DFEFR3	Vrsno podudaranje: pronađeno <i>Diplectrona felix</i> (sličnost: 99.54%)
11	Francuska: DATFR1, DATFR2, DATFR3, DATFR4	Vrsno podudaranje: pronađeno <i>Diplectrona atra</i> (sličnost: 100%)
12	Hrvatska, Konavle: DIPL1, DSPH2, DSPH4, TDATR2, TDATR1	Vrsno podudaranje: nema Najsličnija sekvenca: <i>Diplectrona atra</i> : 90.98 %
13	Bosna i Hercegovina, Sutjeska: DATBH1	Vrsno podudaranje: nema Najsličnija sekvenca: <i>Diplectrona atra</i> : 88.76 %

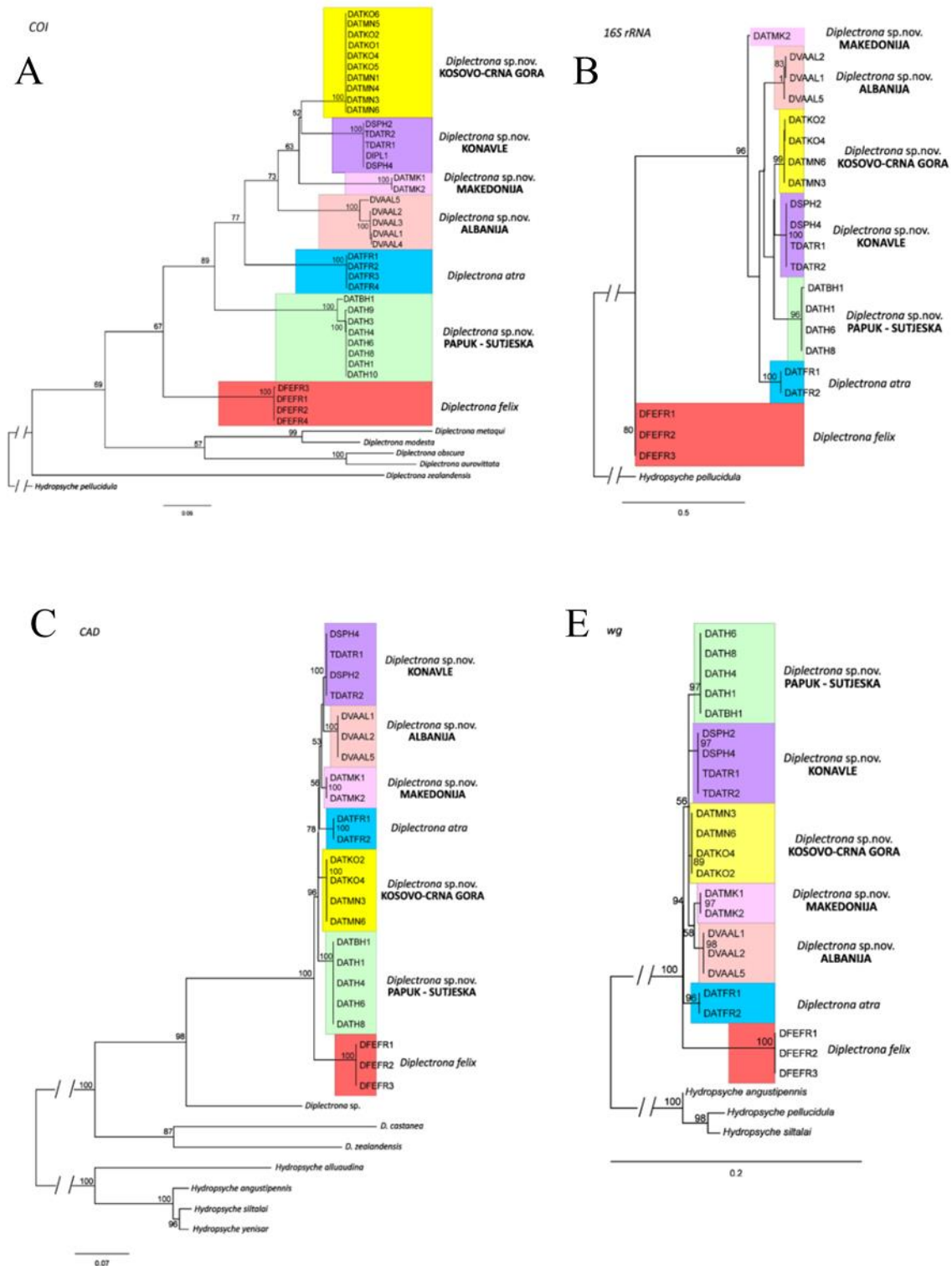
Sve četiri metode (NJ, MP, ML i BA) rekonstrukcije evolucijskih odnosa na temelju molekularnih biljega, mitohondrijskog *COI* i *16S* rRNA te nuklearnih *CAD* i *wg*, rezultirale su filogenetskim stablima sa sličnom topologijom, podržanošću i duljinom grana. Prikazana su dva filogenetska stabla: jedno temeljeno na konkateniranim mitohondrijskim sekvencama i drugo na konkateniranim nuklearnim sekvencama (Slika 53). Sve metode i svi setovi

podataka pokazali su da se uzorci iz ove studije grupiraju s visokom podržanošću (na temelju *bootstrap* vrijednosti i Bayesian posteriornih vjerojatnosti) u sedam duboko odijeljenih monofiletskih grupa: 1. *Diplectrona felix* (Francuska), 2. *Diplectrona atra* (Francuska), 3. *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Papuk-BiH, Sutjeska, 4. *Diplectrona* sp. nov. Makedonija, 5. *Diplectrona* sp. nov. Albanija, 6. *Diplectrona* sp. nov. Kosovo-Crna Gora, 7. *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Konavle. Filogenetsko stablo temeljeno na mitohondrijskim biljezima pokazalo je postojanje dvije dobro podržane podgrupe unutar *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Papuk-BiH, Sutjeska i *Diplectrona* sp. nov. Albanija grupe. U prvom slučaju haplotipovi populacija s Papuka svrstavaju se u jednu, a haplotip sa Sutjeske u drugu podgrupu dok su u slučaju *Diplectrona* sp. nov. Albanija grupe, haplotipovi obje podgrupe zabilježeni u istoj populaciji. Analiza pojedinačnih mitohondrijskih i nuklearnih sekvenci, kao i konkateniranih sekvenci mitohondrijskih i nuklearnih biljega daje rezultat koji s visokom podržanošću razlučuju odvajanje u zasebne grupe (Slika 53, Slika 54). Srodstveni odnosi između pojedinih grupa nerazriješenim ukoliko promatramo rezultate navedenih analiza, no odnose razlučuje stablo vrsta derivirano Bayesian analizom (Slika 55). Svojta *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Papuk-BiH, Sutjeska predstavlja sestrinsku grupu skupini koja sadrži preostalih pet grupa roda *Diplectrona* iz ovog rada. Vrsta *D. felix* iz Francuske se pokazala kao sestrinska grupa dobro podržanoj grupi koja uključuje ostale primjerke roda *Diplectrona* iz ovog rada. Navedeni rezultati upućuju da na arealu vrste *D. atra* (jugoistočni dio Europe) zapravo dolazi kompleks od 5 vrsta koje smo do sada zabilježili na područjima Hrvatske, Bosne i Hercegovine, Kosova, Albanije i Makedonije. Na području Hrvatske dolaze dvije vrste, jedna na području Papuka kao regionalni endem (jer obuhvaća i područje Bosne i Hercegovine), i druga kao mikroendem jer naseljava samo područje Konavala. ABGD analiza svrstala je uzorke vrsta roda *Diplectrona* iz ovog rada u 7 grupa, hipotetskih vrsta kod maksimalne vrijednosti intraspecifične udaljenosti od 0,0492 neovisno o relativnoj širini DNA barcode praznine ( $X=1$  do 5) (Slika 53). Tako su haplotipovi *D. felix* (Francuska) svrstani u grupu 7, *D. atra* (Francuska) u grupu 6, *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Papuk-BiH, Sutjeska u grupu 10, *Diplectrona* sp. nov. Makedonija u grupu 8, *Diplectrona* sp. nov. Albanija u grupu 2, *Diplectrona* sp. nov. Kosovo-Crna Gora u grupu 9 i *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Konavle u grupu 11. U okviru ovih vrijednosti DNA barkod praznine niti neke postojeće, općeprihvaćene vrste iz drugih dijelova Europe ne razdvajaju u zasebne grupe, pa tako npr. *D. obscura* i *D. aurovittata* formiraju grupu 3, a *D. modesta* i *D. metaqui* grupu 1 (Slika 53).



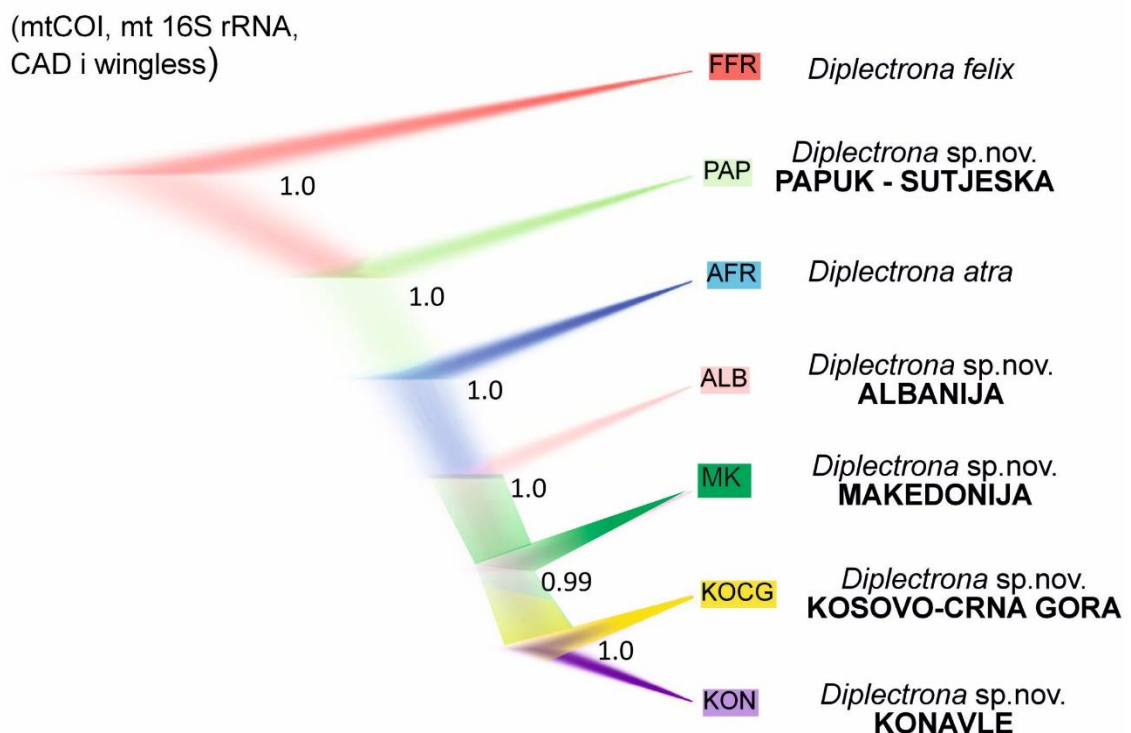
Slika 53. Filogenetska stabla prikazuju odnose unutar vrsta roda *Diplectrona*, konstruirana su Bayesian metodom uz primjenu odgovarajućih evolucijskih modela na temelju konkateniranih sekvenci, lijevo: mitohondrijskih biljega (*COI* i *16S* rRNA, duljine 1677 pb) i desno: nuklearnih biljega (*CAD* i *wg*, duljine 1236 pb). Brojevi uz čvorove predstavljaju podršku u vidu posteriornih vjerojatnosti (BPP). Na lijevoj strani navedene su grupe ABGD analize DNA barkod regije (duljine 658 pb) gdje svaka grupa predstavlja hipotetske vrste. Vrste iz roda *Hydropsyche* korištene su za ukorjenjivanje stabala.





Slika 54. A-E. Filogenetska stabla prikazuju odnose unutar vrsta roda *Diplectrona* konstruirana metodom najveće vjerojatnosti uz primjenu odgovarajućeg evolucijskog modela na temelju pojedinačnih genetskih biljega: A - mitohondrijskog biljega *COI* (*COI* 5' i *COI* 3', duljine 1168 pb), B - mitohondrijskog biljega *16S rRNA* (duljine 509 pb), C - nuklearnog biljega *CAD* (duljine 818 pb) i D - nuklearnog biljega *wg* (duljine 418pb). Brojevi uz čvorove predstavljaju *bootstrap* podršku grananjima. Vrste iz roda *Hydropsyche* korištene su za ukorjenjivanje stabala.

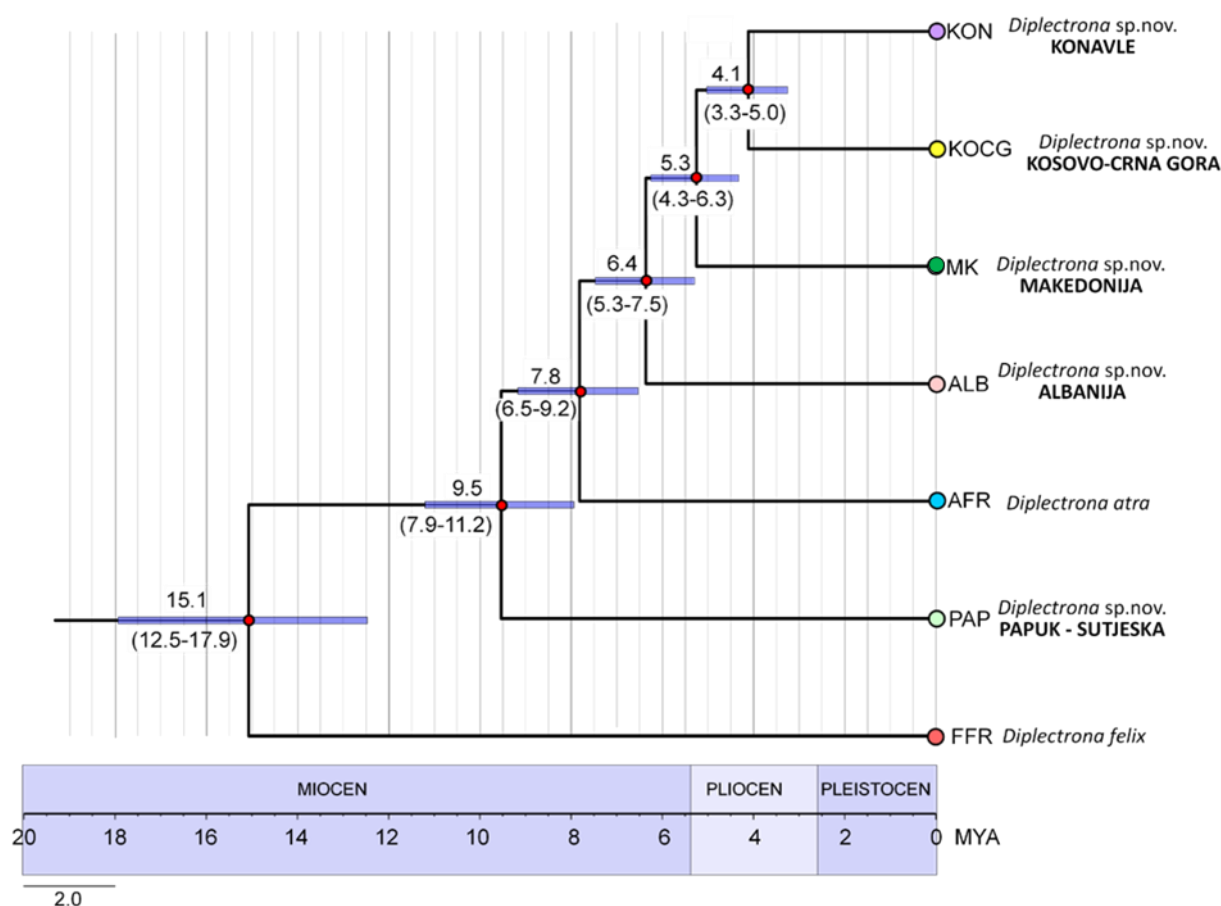
Bayesianski pristup rekonstrukcije stabla vrsta temeljen na teoriji koalescencije i multiplim genskim lokusima (Bayesian analiza sekvenci dva mitohondrijska, *COI* i *16S* rRNA i 2 nuklearna molekularna biljega, *CAD* i *wg*, korištenjem \*BEAST metode) rezultirao je visoko podržanim grananjima i razlučenim srodstvenim odnosima između svih 7 hipotetskih vrsta (Slika 55). Odnosno, sve hipotetske vrste u stablu vrsta su razlučene kao zasebne, jasno odvojene linije. Vrsta *D. felix* iz Francuske pri tome predstavlja najdivergentniju liniju. Prva se odvaja *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Papuk-BiH, Sutjeska koja čini sestrinsku grupu skupini u kojoj se sukcesivno odvajaju *D. atra* (Francuska), zatim *Diplectrona* sp. nov. Albanija te *Diplectrona* sp. nov. Makedonija koja predstavlja sestrinsku grupa najrodnijim linijama *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Konavle i *Diplectrona* sp. nov. Kosovo-Crna Gora (Slika 55).



Slika 55. Stablo vrsta roda *Diplectrona* dobiveno Bayesian analizom sekvenci dva mitohondrijska (*COI* i *16S* rRNA) i 2 nuklearna molekularna biljega (*CAD* i *wg*) korištenjem \*BEAST metode. Brojevi na čvorovima predstavljaju podršku u vidu posteriornih vjerojatnosti (BPP).

Procijenjena vremena razdvajanja pojedinih linija prikazana su na stablu vrsta (Slika 56). Vrsta *D. felix* razdvojila se od ostalih linija već u prvoj polovici miocena, prije otprilike 15 milijuna godina (mil. god.). U drugoj polovici miocena razdvojile su se redom *Diplectrona*

sp. nov. Hrvatska, Papuk-BiH, Sutjeska (prije otprilike 9,5 mil. god.), zatim *D. atra* (prije otprilike 7,8 mil. god.) te *Diplectrona* sp. nov. Albanija (prije otprilike 6,4 mil. god.). Preostale tri linije diversificirale su u pliocenu i to najprije *Diplectrona* sp. nov. Makedonija (prije otprilike 5,3 mil. god.), dok su se *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Konavle i *Diplectrona* sp. nov. Kosovo-Crna Gora razdvojile prije otprilike 4,1 mil. god. (Slika 56).



Slika 56. \*BEAST stablo vrsta temeljeno na 4 molekularna markera koje prikazuje vremenski okvir divergencije (u milijunima godina) pojedinih linija vrsta roda *Diplectrona* analiziranih u ovom radu. Za svako grananje prikazana je srednja vrijednost procijenjenog vremena odvajanja te interval 95% pouzdanosti (u zagradi).

Rasponi nekorrigiranih udvojenih genetskih udaljenosti u postotcima, unutar i između uočenih genetskih linija za sva 4 genetska biljega prikazani su u slijedećim tablicama: mitohondrijskog biljega *COI* (Tablica 39), mitohondrijskog biljega *16S rRNA* (

Tablica 40), nuklearnog biljega *CAD* (Tablica 41) i nuklearnog biljega *wg* (Tablica 42). Za razliku od visokih vrijednosti p-udaljenosti između genetskih linija zabilježenih u ovom radu, s izuzetkom linija *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Papuk-BiH, Sutjeska i *Diplectrona* sp. nov.

Albanija genetska raznolikost unutar linija ili nije zabilježena ili je izrazito niska za mitohondrijske molekularne biljege (rasponi udvojenih genetskih udaljenosti od 0 – 0,2%). No, ove vrijednosti udvojenih genetskih udaljenosti su višestruko manje nego genetska udaljenosti između različitih linija. Raspon p-udaljenosti za *COI* između pojedinih linija je u rasponu od 9% (između *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Konavle i *Diplectrona* sp. nov. Kosovo-Crna Gora) do 15,7% (između *Diplectrona* sp. nov. Albanija i *D. felix*, Francuska; Tablica 39). Raspon p-udaljenosti za *16S* rRNA između pojedinih linija je u rasponu od 5,9% (između *Diplectrona* sp. nov. Albanija i *D. felix*, Francuska). Raspon udvojenih genetskih udaljenosti za *16S* rRNA između pojedinih linija je od 5,9% (između *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Konavle i *Diplectrona* sp. nov. Kosovo-Crna Gora) do 15,4% (između *Diplectrona* sp. nov. Albanija i *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Papuk-BiH, Sutjeska;

Tablica 40). U nuklearnim markerima (*wg* i *CAD*) nije zabilježena genetska varijabilnost unutar linija. Udvojene genetske udaljenosti između linija za *CAD* nalaze u rasponu od 1,2% (između *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Konavle i *Diplectrona* sp. nov. Kosovo-Crna Gora) do 6,2% (između *Diplectrona* sp. nov. Albanija i *D. felix*; Tablica 41). Udvojene genetske udaljenosti između linija za *wg* nalaze u rasponu od 1% (između *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Konavle i *Diplectrona* sp. nov. Kosovo-Crna Gora) do 7,2% (između *Diplectrona* sp. nov. Albanija i *D. felix*; Tablica 42).

Tablica 39. Rasponi nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti (p-udaljenosti) za DNA barkod regija (gen *COI*) u postotcima, unutar (zadebljanim brojevima) i između uočenih genetskih linija *Diplectrona* sp. nov. te *D. atra* i *D. felix*. Kratice označavaju države: HR-Hrvatska, BiH- Bosna i Hercegovina, CG-Crna Gora.

	<i>Diplectrona</i> sp. nov. HR,Papuk- BiH.	<i>Diplectrona</i> sp. nov. HR, Konavle	<i>Diplectrona</i> sp. nov. Kosovo-CG	<i>Diplectrona</i> sp. nov. Makedonija	<i>Diplectrona</i> sp. nov. Albanija	<i>D. atra</i>	<i>D. felix</i>
<i>Diplectrona</i> sp. nov. HR, Papuk - BiH.	<b>0,0-1,7</b>						
<i>Diplectrona</i> sp. nov. HR, Konavle	15,3-15,5	<b>0,0</b>					
<i>Diplectrona</i> sp. nov Kosovo-CG	13,5-13,8	9,0	<b>0,0</b>				
<i>Diplectrona</i> sp. nov. Makedonija	15,0-15,3	10,8	10,2	<b>0,2</b>			
<i>Diplectrona</i> sp. nov Albanija	15,0-15,7	11,2-11,4	10,2-10,3	11,6-12,5	<b>0,0-2,0</b>		
<i>D. atra</i>	13,8-14,9	11,7	11,2	13,1	13,5-14,0	<b>0,0</b>	
<i>D. felix</i>	14,3-15,0	14,3-14,4	14,4-14,6	15,0-15,2	14,6-14,9	14,9- 15,0	<b>0,0- 0,2</b>

Tablica 40. Rasponi nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti (p-udaljenosti) za mitohondrijski gen za *16S* rRNA u postotcima, unutar (zadebljanim slovima) i između uočenih genetskih linija *Diplectrona* sp. nov. te *D. atra* i *D. felix*. Kratice označavaju države: HR-Hrvatska, BiH- Bosna i Hercegovina, CG-Crna Gora.

	<i>Diplectrona</i> sp. nov. HR,Papuk- BiH.	<i>Diplectrona</i> sp. nov. HR, Konavle	<i>Diplectrona</i> sp. nov. Kosovo-CG	<i>Diplectrona</i> sp. nov. Makedonija	<i>Diplectrona</i> sp. nov. Albanija	<i>D. atra</i>	<i>D. felix</i>
<i>Diplectrona</i> sp. nov. HR,Papuk - BiH.	<b>0,0-0,8</b>						
<i>Diplectrona</i> sp. no.v HR, Konavle	8,4-9,0	<b>0,0</b>					
<i>Diplectrona</i> sp. nov. Kosovo-CG	8,6	5,9	<b>0,0-0,2</b>				
<i>Diplectrona</i> sp. nov. Makedonija	10-10,6	9,0	7,6-7,8	-			
<i>Diplectrona</i> sp. nov. Albanija	9,8-10,2	7,9-8,1	8,7-8,9	7,8	<b>0,0-0,6</b>		
<i>D. atra</i>	10,6-11,2	9,3	9,3	7,6	9,7	<b>0,0</b>	
<i>D. felix</i>	13,2	13,6	13,6-13,8	12,4	15,0-15,4	14,7	<b>0,0</b>

Tablica 41. Rasponi nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti (p-udaljenosti) za nuklearni gen *CAD* u postotcima, unutar (zadebljanim slovima) i između uočenih genetskih linija *Diplectrona* sp. nov. te *D. atra* i *D. felix*. Kratice označavaju države: HR-Hrvatska, BiH- Bosna i Hercegovina, CG-Crna Gora.

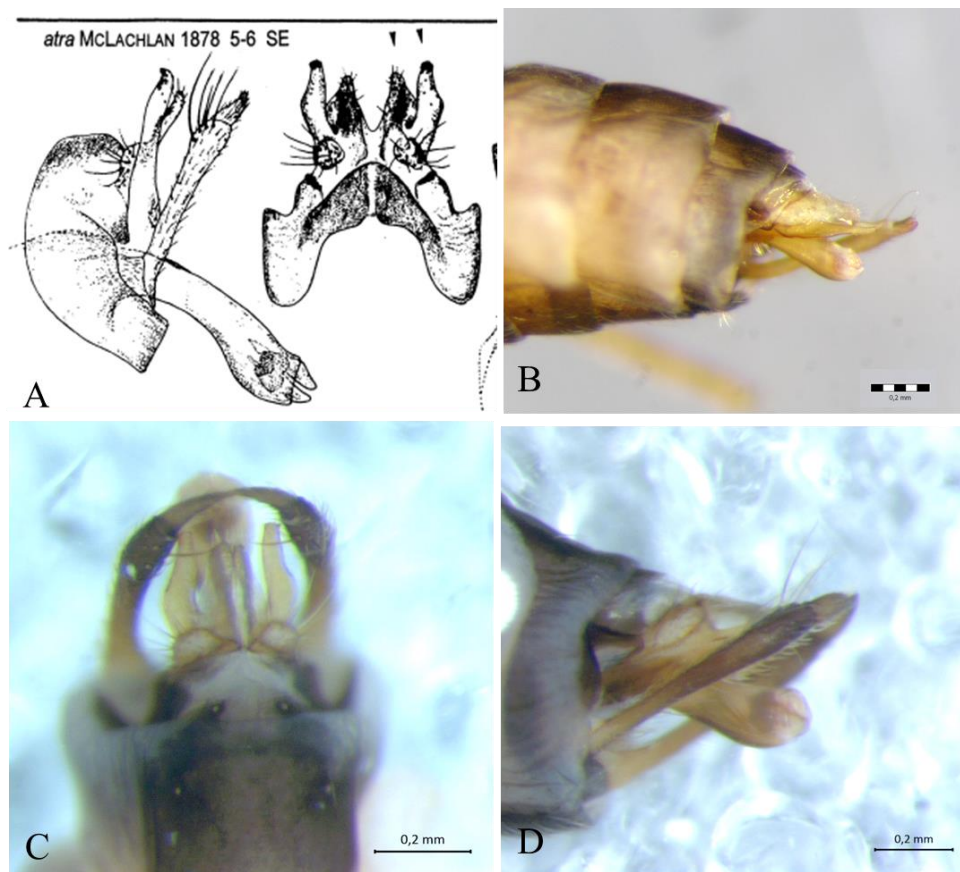
	<i>Diplectrona</i> sp. nov. HR,Papuk- BiH.	<i>Diplectrona</i> sp. nov. HR, Konavle	<i>Diplectrona</i> sp. nov. Kosovo-CG	<i>Diplectrona</i> sp. nov. Makedonija	<i>Diplectrona</i> sp. nov. Albanija	<i>D. atra</i>	<i>D. felix</i>
<i>Diplectrona</i> sp. nov HR,Papuk - BiH.	<b>0,0</b>						
<i>Diplectrona</i> sp. nov. HR, Konavle	2,8	<b>0,0</b>					
<i>Diplectrona</i> sp. nov. Kosovo-CG	2,6	2,0	<b>0,0</b>				
<i>Diplectrona</i> sp. nov. Makedonija	2,8	1,2	2,0	<b>0,0</b>			
<i>Diplectrona</i> sp. nov. Albanija	3,7	2,1	3,1	2,6	<b>0,0</b>		
<i>D. atra</i>	3,4	2,3	2,8	2,6	3,2	<b>0,0</b>	
<i>D. felix</i>	5,7	5,6	5,9	5,4	6,2	6,2	<b>0,0</b>

Tablica 42. Rasponi nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti (p-udaljenosti) za nuklearni gen *wg* u postotcima, unutar (zadebljanim slovima) i između uočenih genetskih linija *Diplectrona* sp. nov. te *D. atra* i *D. felix*. Imena država u tablici se odnose na države iz kojih je prikupljena određena vrsta *Diplectrona* sp. nov. Kratice označavaju države: HR- Hrvatska, BiH- Bosna i Hercegovina, CG-Crna Gora.

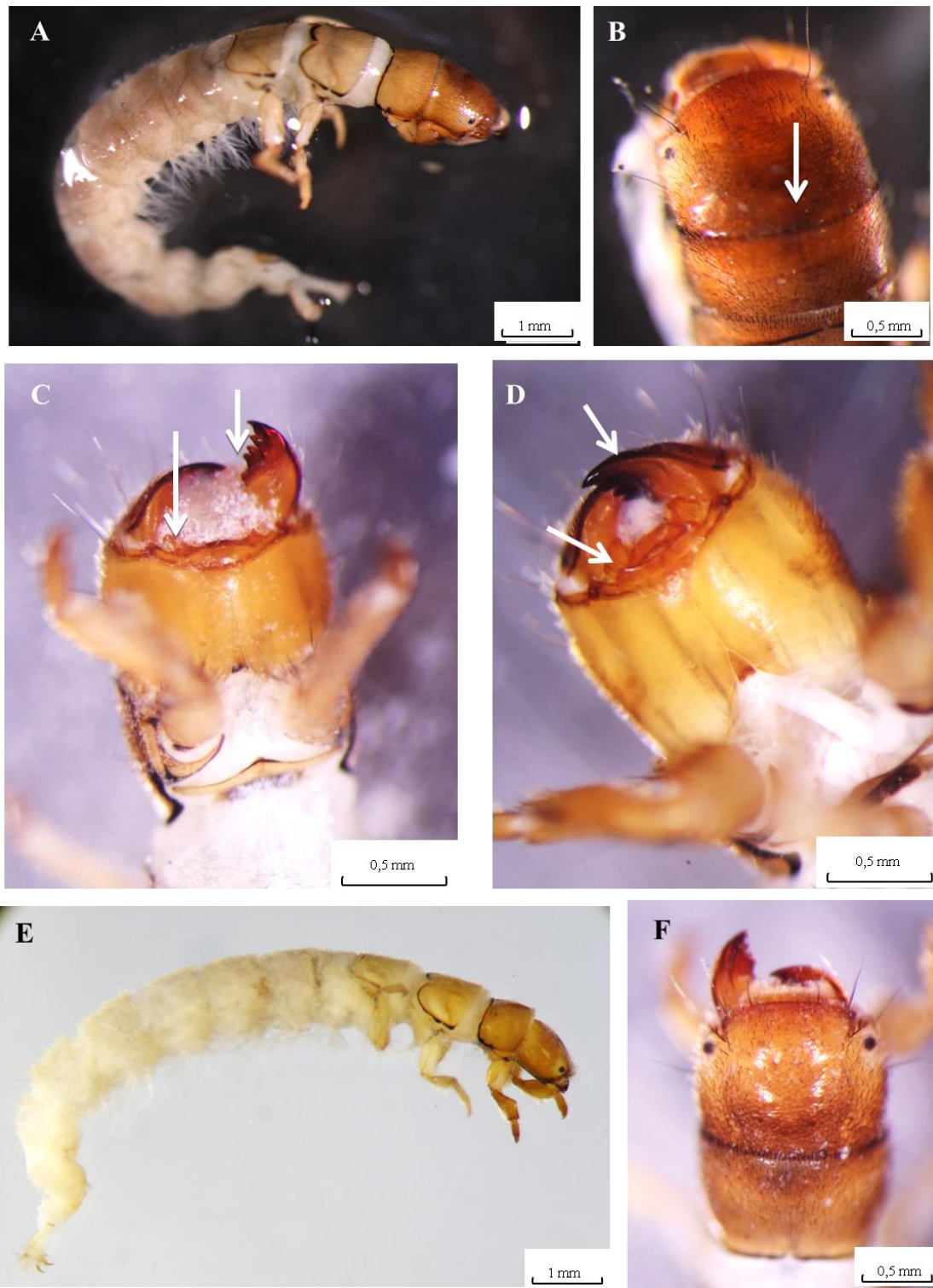
	<i>Diplectrona</i> sp. nov. HR,Papuk- BiH.	<i>Diplectrona</i> sp. nov. HR, Konavle	<i>Diplectrona</i> sp. nov. Kosovo-CG	<i>Diplectrona</i> sp. nov. Makedonija	<i>Diplectrona</i> sp. nov. Albanija	<i>D.</i> <i>atra</i>	<i>D.</i> <i>felix</i>
<i>Diplectrona</i> sp. nov. HR,Papuk - BiH.	<b>0,0</b>						
<i>Diplectrona</i> sp. nov. HR, Konavle	1,4	<b>0,0</b>					
<i>Diplectrona</i> sp. nov Kosovo-CG	1,2	1,0	<b>0,0</b>				
<i>Diplectrona</i> sp. nov. Makedonija	1,4	1,7	1,2	<b>0,0</b>			
<i>Diplectrona</i> sp. nov. Albanija	1,7	1,9	1,4	1,2	<b>0,0</b>		
<i>D. atra</i>	2,6	2,4	1,9	2,6	2,9	<b>0,0</b>	
<i>D. felix</i>	6,2	6,7	6,9	7,2	6,9	7,2	<b>0,0</b>

Analiza morfološki značajki genitalnog aparata mužjaka uočenih genetskih linija nije pokazala značajne razlike. Uočene su određene razlike u pojedinim dijelovima genitalnog aparata mužjaka (*aedeagus*, *apendages superiores*, *apendages inferiores*), ali nedovoljno konstantne i značajne da se u ovom trenutku smatraju karakteristikama specifičnim za pojedinu novu vrstu roda *Diplectrona* analiziranu ovim radom (Slika 57). Za razliku od odraslih jedinki, kod ličinki u petom razvojnom stadiju (iz populacija u Hrvatskoj (*Diplectrona* sp. nov. Konavle i *Diplectrona* sp. nov. Papuk) našli smo određene morfološke razlike, dovoljne za razlikovanje tih dviju kriptičkih vrsta, ali ne i dovoljno značajne morfološke razlike u odnosu na ličinke vrsta *D. atra* i *D. felix* rasprostranjene u zapadnoj i dijelovima srednje Europe (Slika 58). Nadalje, između petog stadija ličinki *Diplectrona* sp. nov. Papuk i populacija iz Konavala postoje određene manje morfološke razlike. Te razlike očituju se u sljedećim značajkama: 1. ličinke *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Papuk su manje za oko 30% u odnosu na ličinke *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Konavle, 2. fina granulacija površine glave uključujući i frontoklipeus (dorzalno) petom razvojnog stadija izražena je samo kod populacije *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Pauk, ali ne i kod *Diplectrona*

sp. nov. Hrvatska, Konavle (Slika 58 B i F), 3. lateralni segmenti submentuma šiljatog su oblika kod ličinki populacije *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Papuk, a zaobljenog oblika kod ličinki posljednjeg petog razvojnog stadija populacija *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Konavle (Slika 58 C i D), 4. manje razlike u morfologiji zubića na terminalnom rubu gornjih čeljusti kod ovih dviju populacija (Slika 58 C i D),



Slika 57. A-D. Izgled genitalnog aparata mužjaka *Diplectrona*: A – *D. atra* iz morfološkog ključa (Malicky 2004), B - *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Konavle, lateralni izgled (Foto:Mladen Kučinić), C - *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Papuk, dorzalni izgled i D – lateralni izgled.



Slika 58. A-F. Ličinke *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska: A – C s lokacije Papuk; A-izgled cijele ličinke dorzolateralno, B- izgled glave dorzalno s vidljivim fino granuliranome površinome uključujući i područje frontoklipeusa, C- ventralni izgled glave, gornja strelica označava zubiće na čeljustima, a donja šiljasto izbočenje na submentumu, D - F s lokacije Konavle; D-ventralni izgled glave, donja bijela strelica označava lateralne, zaobljene dijelove submentuma, gornja strelica označava zubiće na čeljustima, E- izgled cijele ličinke dorzolateralno, dorzalni izgled glave, strelica označava niz kratkih, tamnih dlačica na prednjem rubu pronotuma) (Foto: Renata Ćuk).



#### 4.5. Filogenetski odnosi tulara u Hrvatskoj na temelju DNA barkoda

Metodom susjednog sparivanja na temelju molekularnog biljega *COI* (DNA barkod regije) konstruirano je filogenetsko stablo tulara iz Hrvatske (Slika 59. 1. dio, 2. dio, 3. dio, 4. dio, 5. dio, Slika 60). Filogenetski odnosi svih primjeraka tulara iz Hrvatske analiziranih u ovom radu rekonstruirani su korištenjem alata BOLD platforme (alat Taxon ID tree). Rezultati filogenetske analize odgovaraju važećoj taksonomiji. DNA barkod sekvence analiziranih primjeraka dijele se na podred Annulipalpia i Integripalpia, te Integripalpia dalje na Brevitentoria i Plenitentoria (Slika 60). Parafiletičke porodice „Spicipalpia“ se grupiraju s Integripalpia. U „Spicipalpia“ grupiraju se porodice Glossosomatidae, Hydroptilidae i Rhyacophilidae. U Brevitentoria grupiraju se porodice Odontoceridae, Beraeidae, Leptoceridae, Sericostomatidae. U Plenitentoria grupiraju se porodice Limnephilidae, Goeridae, Lepidostomatidae, Phryganidae, Brachycentridae. Annulipalpia se dijele na monofiletske nadporodice: Psychomyioidea (porodica Psychomyiidae), Philopotamoidea (porodice Polycentropodidae, Ecnomidae) i Hydropsychoidea (porodica Hydropsychidae) (Slika 60).

Rodovi *Agapetus* i *Synagapetus* odvajaju se u dvije zasebne linije unutar porodice Glossosomatidae (Slika 59 1. dio). Rodovi *Agapetus* i *Synagapetus* čine sestrinsku grupu rodu *Glossosoma* i porodici Hydroptilidae. Porodica Hydroptilidae se dijeli na dvije genetske linije: jednu u koju se grupiraju rodovi *Orthotrichia*, *Allotrichia*, *Oxyethira*, a u drugu se grupiraju: *Agraylea*, *Ithytrichia* i *Hydroptila*. Svaki od navedenih rodova porodice Hydroptilidae pokazuje monofiliju. Vrsta *Glossosoma bifidum* se postavila kao sestrinska vrstama *G. discophorum* i *D. neretvae* (Slika 59 1. dio).

Rod *Ecclisopteryx* grupirao se s rodом *Drusus* kao najsirodniji vrstama *D. chrysotus* i *D. discolor* (Slika 59 1. dio). Rod *Drusus* se nije pokazao monofiletskim. Rod *Rhadicoleptus* pokazao se sestrinski grupi koja sadrži vrste roda *Drusus* i *Ecclisopteryx*. Dva sestrinska roda *Grammotaulius* Kolenati, 1848 i *Glyphotaelius* Stephens, 1833 pokazali su se sestrinskim skupini koja obuhvaća određene vrste roda *Limnephilus* Leach, 1815 (*L. lunatus* Curtis, 1834, *L. graecus* Schmid, 1965, *L. marmoratus* Curtis, 1834, *L. flavicornis* (Fabricius, 1787)). Navedene vrste roda *Limnephilus* te *Grammotaulius* i *Glyphotaelius* čine zasebnu grupu unutar roda *Limnephilus*. Unutar roda *Limnephilus* najsirodniji parovi vrsta su: *L. auricula* Curtis, 1834-*L. ingavus* MacLachlan, 1865, *L. lunatus*-*L. graecus*, *L. marmoratus*-*L.*

*flavicornis*, *L. griseus* (Linnaeus, 1758)-*L. vittatus* (Fabricius, 1798), *L. affinis* Curtis, 1834-*L. hirsutus* (Pictet, 1834). Primjerak (TGNIG\_1) vrste *L. marmoratus* s rijeke Mirne odvaja se od ostalih primjeraka vrste *L. marmoratus* čineći vanjsku vrstu grupi koja sadrži primjerke vrsta *L. marmoratus*, *L. flavicornis*, *L. rhombicus* (Slika 59 2. dio).

Rod *Chaetopteryx* se nije pokazao monofiletskim s obzirom da se vrsta *Allogamus auricollis* (Pictet, 1834) grupira s vrstom *Chaetopteryx major*. Vrsta *Annitella apfelbecki* (Klapalek, 1899) se pokazala sestrinska vrstama roda *Chaetopteryx* (*C. fusca*, *C. bosniaca*, *C. rugulosa*, *C. schmidi*) (Slika 59 2.dio).

Vrsta *Anabolia furcata* postavlja se vanjska grupi koju čine *Allogamus auricollis*, vrste roda *Chaetopteryx*, vrste roda *Potamophylax* i vrsta *Annitella apfelbecki* (Slika 59 2.dio).

Primjerci morfološki određeni kao *Halesus tessellatus* (Rambur, 1842) (THTES\_4, THTES\_3, THTES\_1) nalaze se unutar grupe s vrstom *H. digitatus* (Schrank, 1781) (Slika 59. 2. dio). Rod *Halesus* Walker, 1860 je monofiletski i postavlja se kao sestrinski grupi koja koja se sastoji od vrste *Allogamus auricollis*, vrsta roda *Chaetopteryx*, vrsta roda *Potamophylax* i vrste *Annitella aphelfecki* (Slika 59 2.dio).

Rod *Potamophylax* nije monofiletski (Slika 59 2.dio). Vrste *P. rotundipennis*, *P. luctuosus* i *P. nigricornis* grupiraju s vrstama rodova *Halesus*, *Chaetopteryx*, *Annitella* i *Allogamus*. Ostale vrste roda *Potamophylax* (*P. latipennis*, *P. cingulatus*, *P. pallidus*) grupiraju s vrstom *Micropterna nycterobia* (Slika 59 2.dio).

Rod *Micropterna* nije monofiletski (Slika 59 3.dio). Vrsta *M. nycterobia* se grupira s određenim vrstama roda *Potamophylax*. Ostale vrste roda *Micropterna* (*M. fissa*, *M. testacea*, *M. wagneri*, *M. lateralis*, *M. sequax*) čine sestrinsku grupu s vrstama roda *Stenophylax* i vrstom *Mesophylax asperus*. Rod *Stenophylax* je monofiletski: vrste *S. permistus*, *S. vibex*, *S. mitis* se grupiraju zajedno (Slika 59 3.dio).

Porodica Goeridae se pokazala monofiletskom s dva monofiletska roda *Silo* Curtis, 1833 i *Goera* Stephens, 1829 (Slika 59 3. dio). Filogenetsko stablo temeljeno na DNA barkod regiji ukazalo je na divergentnu genetsku liniju unutar roda *Silo*. Primjerak TSIL\_1, morfološki određen kao *Silo pallipes* (Fabricius, 1781) iz izvora Vrelo u Konavlima izdvaja se u zasebnu liniju od ostalih primjeraka vrste *S. pallipes*. Navedeni primjerak odvaja se i od primjeraka

vrste *S. piceus* (Brauer, 1857) i postavlja se kao vanjska grupa ovim dvjema vrstama. BOLD Identification Engine je odredio primjerak kao *Lithax obscurus* (Hagen, 1859) s 90,48% sličnosti (PRILOG 19). BOLD Identification Engine nije našao sličnosti s trećom vrstom iz roda *Silo* koja je prisutna u fauni Hrvatske i čiji DNA barkod postoji u BOLD bazi, *S. nigricornis* kao ni vrstama roda *Lithax* McLachlan, 1876 zabilježenim u Hrvatskoj fauni (Slika 59 3. dio).

Porodica Brachycentridae se pokazala monofiletskom odvajajući se u dvije genetske linije roda *Brachycentrus* Curtis, 1834 i *Micrasema* McLachlan, 1876 (Slika 59 3. dio).

Porodica Phryganeidae se pokazala sestrinskom porodici Lepidostomatidae. Porodica Phryganeidae se dijeli na monofiletske rodove *Phryganea* Linnaeus, 1758, *Trichostegia* Kolenati, 1848, *Agrypnia* Curtis, 1835. Porodica Lepidostomatidae se dijeli na monofiletske rodove *Crunoecia* McLachlan, 1876 i *Lepidostoma* (Slika 59 3. dio).

Porodica Sericostomatidae zastupljena s jednom vrstom u ovoj analizi, *Sericostoma flavicorne* Schneider, 1845 dobro se odvajaju od svih drugih porodica (Slika 59 3. dio).

Porodica Leptoceridae je monofiletska (Slika 59 3. dio). Vrsta *Leptocerus tineiformis* Curtis, 1834 se postavlja kao vanjska grupa ostalim rodovima i vrstama porodice Leptoceridae. Rod *Athripsodes* Billberg, 1820 je parafiletski s obzirom na rod *Ceraclea* Stephens, 1829 (Slika 59 3. dio). Rod *Setodes* Rambur, 1842 je parafiletski s obzirom na monofiletski rod *Mystacides* Berthold, 1827. Monofiletski rod *Oecetis* McLachlan, 1877 je sestrinska grupa monofiletskim rodovima *Triaenodes* i *Adicella*. (Slika 59 4. dio).

Porodice Beraeidae i Odontoceridae su se pokazale sestrinskima (Slika 59 4. dio).

Porodica Rhyacophilidae je monofiletska (Slika 59 4. dio).

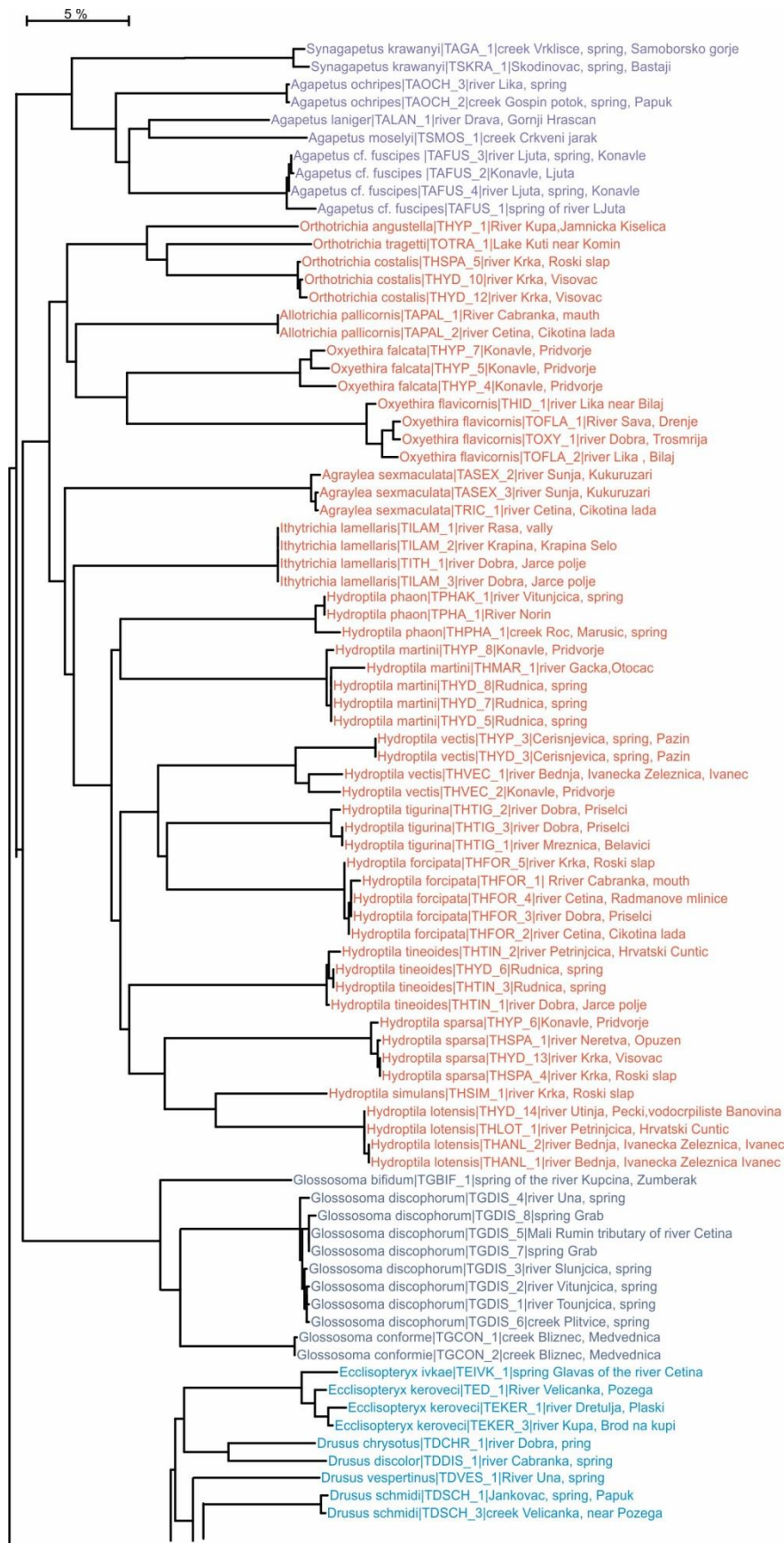
Porodica Hydropsichidae je monofiletska (Slika 59 4. dio i 5. dio). Monofiletski rod *Diplectrona* sestrinski je ostalim rodovima (*Hydropsyche* i *Cheumatopsyche* Wallengren, 1891) porodice Hydropsichidae (Slika 59 4. dio). Vrsta *Cheumatopsyche lepida* (Pictet, 1834) se izdvojila kao vanjska vrsta rodu *Hydropsyche*. Unutar roda *Hydropsyche* prva se odvajaju vrsta *H. mostarensis*. Ostale vrste roda *Hydropsyche* obuhvaćene su u tri podgrupe. Jednu podgrupu čine vrste *H. modesta*, *H. bulgaromanorum*, *H. angustipennis*, *H. conturbenalis*

(Slika 59 4. dio). Drugu podgrupu čine *H. saxonica*, *H. dinarica*, *H. pellucidula*, *H. incognita*. Treću podgrupu čine *H. fulvipes*, *H. bulbifera*, *H. instabilis* (Slika 59 5. dio).

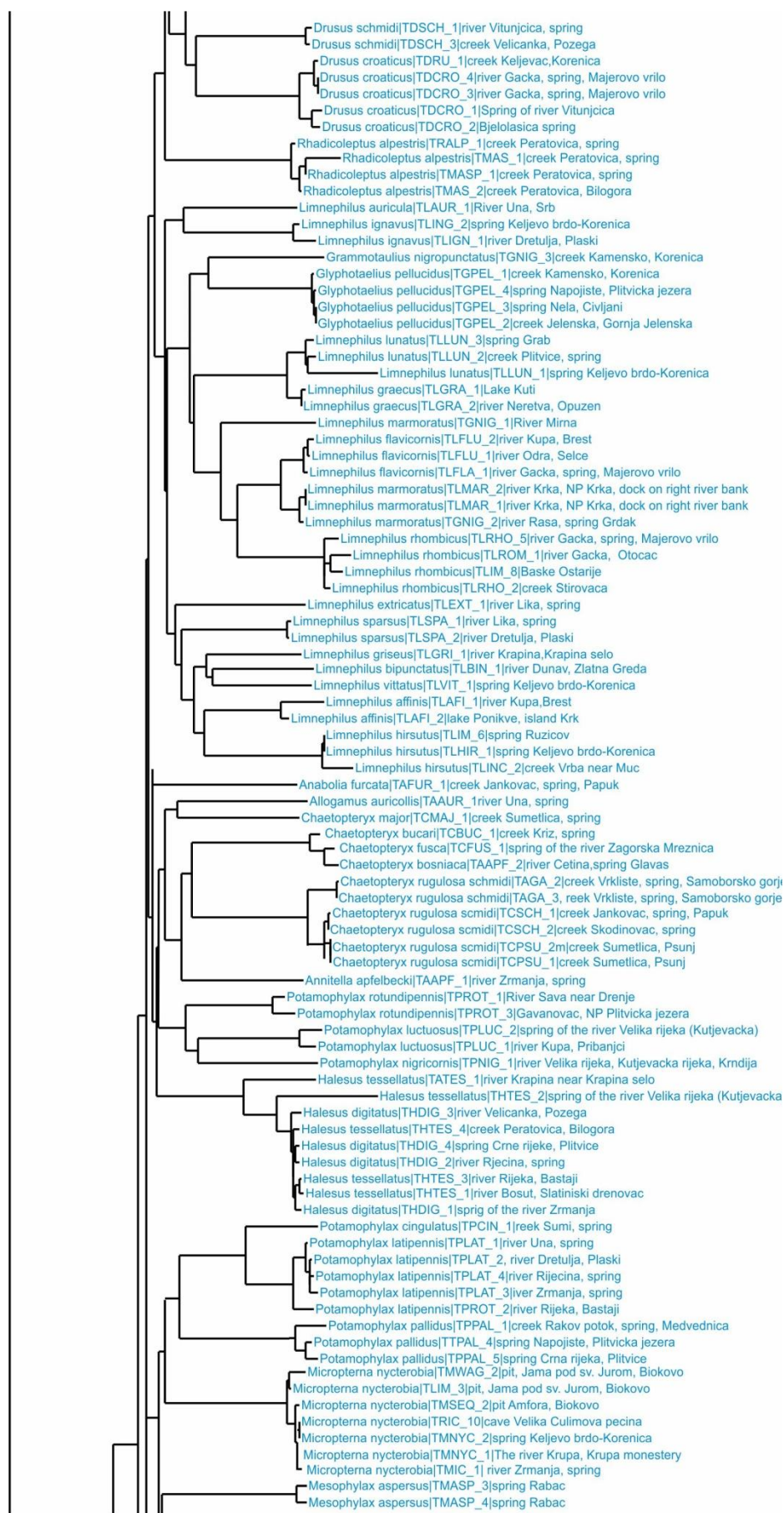
Porodica Philopotamidae je monofiletska. Rod *Wormaldia* McLachlan, 1865 nije monofiletski jer se vrste *W. pulla* (McLachlan, 1878) i *W. copiosa* (McLachlan, 1868) grupiraju s vrstama roda *Philopotamus* Stephens, 1829 (*P. montanus* (Donovan, 1813) i *P. varriegatus*) (Scopoli, 1763). Vrste *W. subterranea* Radovanović, 1932, *W. subnigra* McLachlan, 1865 i *W. occipitalis* (Pictet, 1834) se grupiraju zajedno (Slika 59 5. dio).

Porodica Ecnomidae se grupira s porodicom Polycentropodidae. Vrsta *Neuroclepsis bimaculata* (Linnaeus, 1758) prva se odvaja unutar porodice Polycentropodida čineći vanjsku vrstu rodovima *Cyrnus* Stephens, 1836, *Plectrocnemia* Stephens, 1836 i *Polycentropus* Curtis, 1835. Rodovi *Cyrnus*, *Plectrocnemia*, *Polycentropus* su monofiletski. Rod *Polycentropus* se dijeli u četiri podgrupe koje predstavljaju vrste sukladno onome kako su morfološki određene: *P. schmidi* Novak & Botosaneanu, 1965, *P. excisus* Klapalek, 1894, *P. irroratus* Curtis, 1835 i *P. flavomaculatus* (Pictet, 1834) (Slika 59 5. dio).

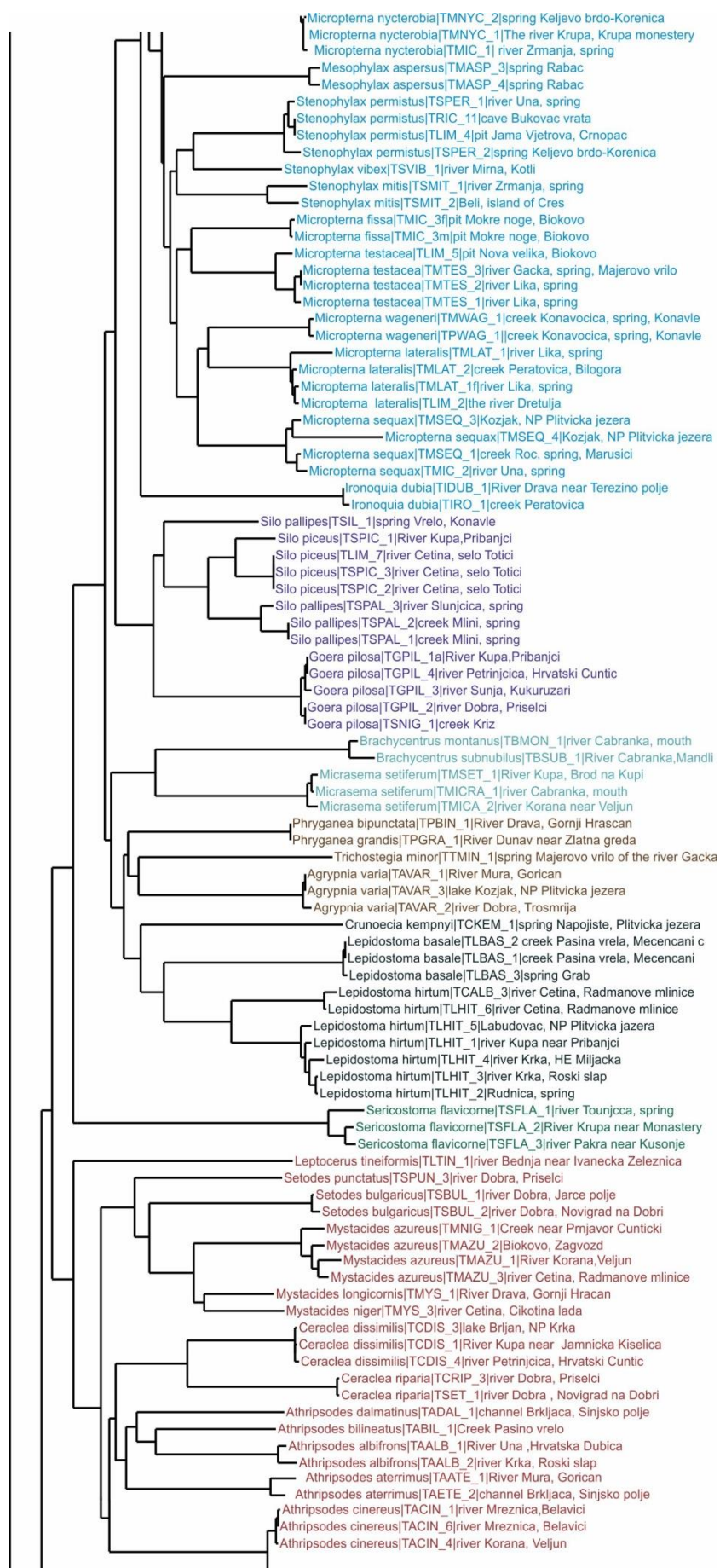
Porodica Psychomyiidae je monofiletska i dijeli se na dvije podgrupe: jednu čine rodovi *Lype* McLachlan, 1878 i *Psychomyia* Latreille, 1829, a drugu monofiletski rod *Tinodes*. Unutar roda *Psychomyia* prva se odvaja vrsta *P. klapaleki* Malicky, 1995. Vrsta *P. pusilla* (Fabricius, 1781) djeli se na tri genetske linije (Slika 59 5. dio).



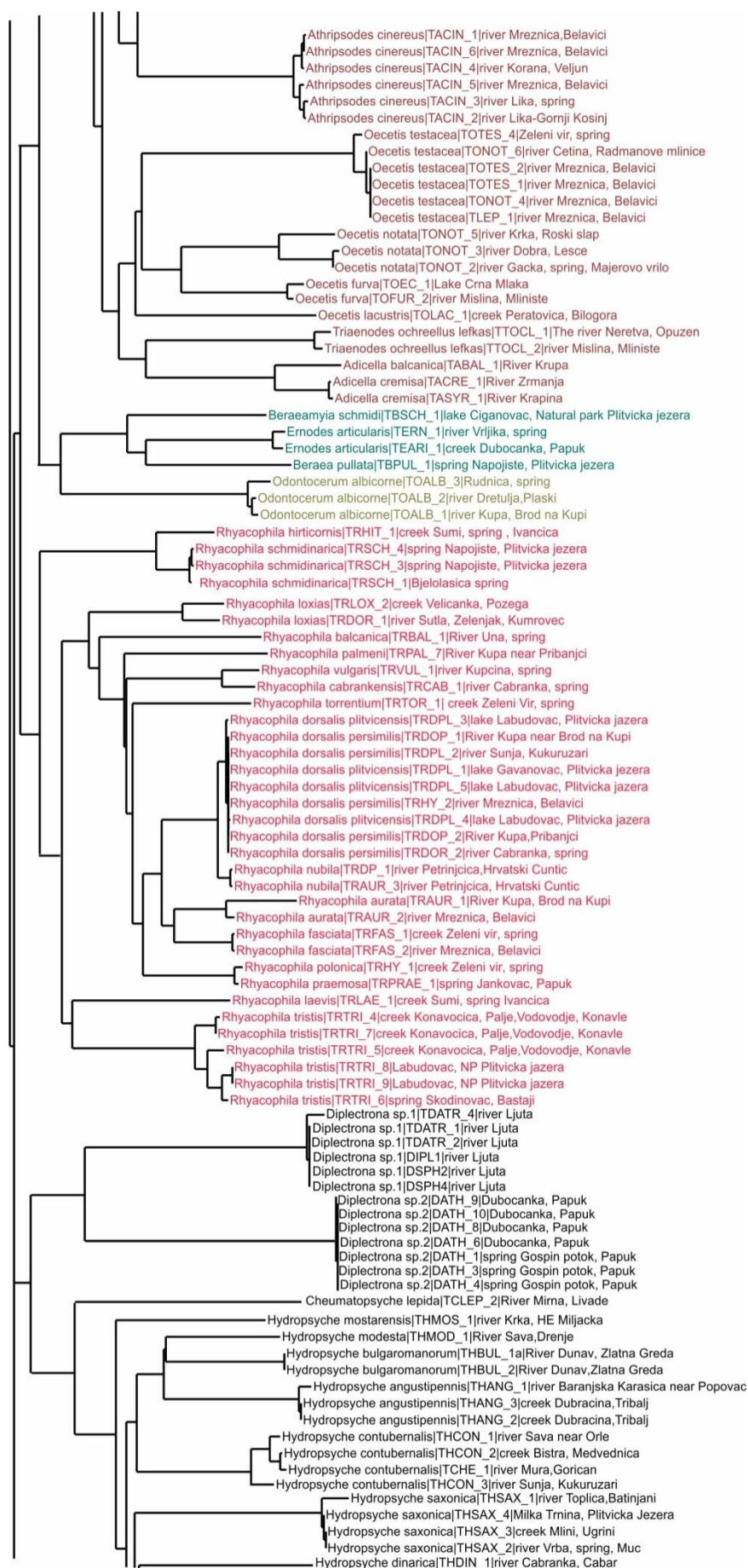
Slika 59. **1. dio**  
 Filogenetsko stablo  
 konstruirano  
 metodom  
 susjednog  
 sparivanja na  
 temelju  
 mitohondrijskog  
 biljega *COI* (DNA  
 barkod regija)  
 korištenjem  
 analitičkog alata  
 Taxon ID tree  
 dostupnog na  
 BOLD bazi  
 (<http://www.boldsystems.org>).  
 Različite boje na  
 kraju grana  
 označavaju  
 različite porodice.  
 Ljubičasta slova  
 predstavljaju  
 porodicu  
 Glossosomatidae,  
 crvena  
 Hydroptilidae,  
 plava  
 Limnephilidae.



Slika 59. **2. dio**  
 Filogenetsko stablo  
 konstruirano  
 metodom  
 susjednog  
 sparivanja na  
 temelju  
 mitohondrijskog  
 biljega *COI* (DNA  
 barkod regija)  
 korištenjem  
 analitičkog alata  
 Taxon ID tree  
 dostupnog na  
 BOLD bazi  
 (<http://www.boldsystems.org>).  
 Različite boje na  
 kraju grana  
 označavaju  
 različite porodice.  
 Plava slova  
 predstavljaju  
 porodicu  
 Limnephilidae.

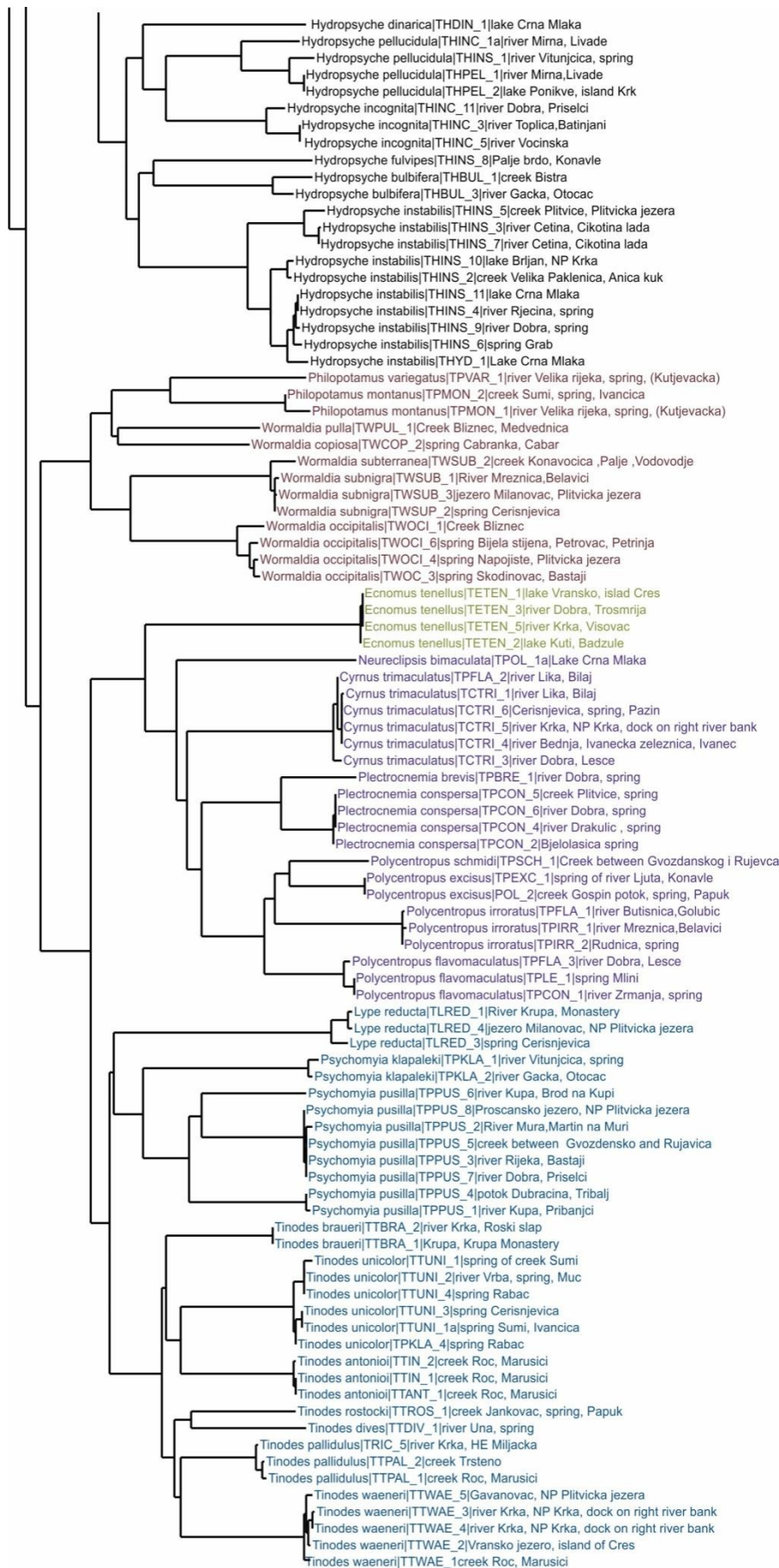


Slika 59. **3. dio**  
 Filogenetsko stablo  
 konstruirano  
 metodom  
 susjednog  
 sparivanja na  
 temelju  
 mitohondrijskog  
 biljega *COI* (DNA  
 barkod regija)  
 korištenjem  
 analitičkog alata  
 Taxon ID tree  
 dostupnog na  
 BOLD bazi  
 (<http://www.boldsystems.org>).  
 Različite boje na  
 kraju grana  
 označavaju  
 različite porodice.  
 Plava slova  
 predstavljaju  
 porodicu  
 Limnephilidae,  
 ljubičasta  
 Goeridae, svjetlo  
 plava  
 Brachycentridae,  
 smeđa  
 Phryganeidae, crna  
 Lepidostomatidae,  
 zelena  
 Sericostomatidae,  
 tamno crvena  
 Leptoceridae.

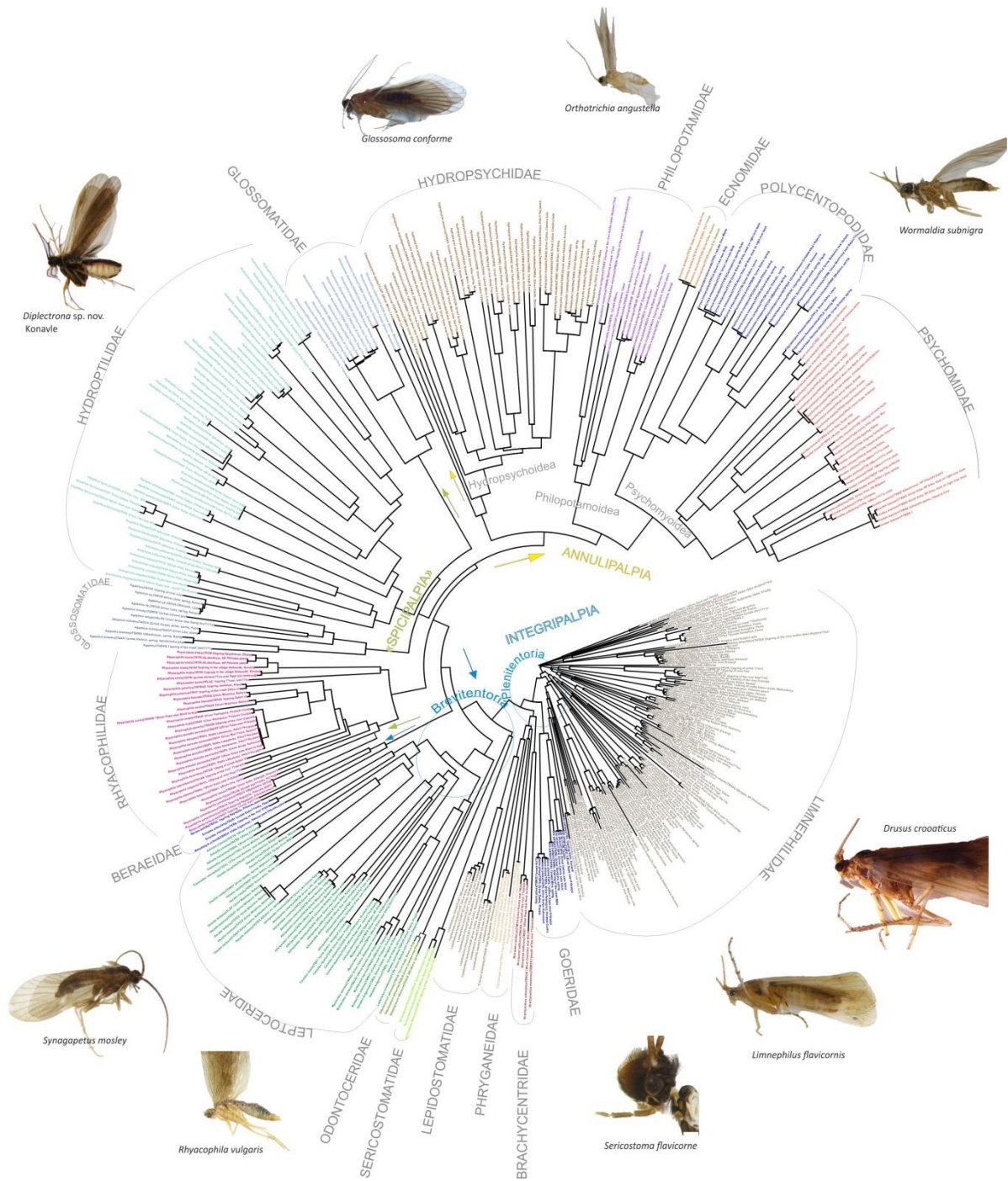


Slika 59. 4. dio  
 Filogenetsko stablo  
 konstruirano  
 metodom  
 susjednog  
 sparivanja na  
 temelju  
 mitohondrijskog  
 biljega *COI* (DNA  
 barkod regija)  
 korištenjem  
 analitičkog alata  
 Taxon ID tree  
 dostupnog na  
 BOLD bazi  
 (<http://www.boldsystems.org>).  
 Različite boje na  
 kraju grana  
 označavaju  
 različite porodice.  
 Tamno crvena boja  
 označava porodicu  
 Leptoceridae,  
 tamno zelena  
 Beraeidae, svjetlo  
 zelena  
 Odontoceridae,  
 crvena  
 Rhyacophilidae,  
 crna  
 Hydropsichidae.





Slika 59. **5. dio** Filogenetsko stablo konstruirano metodom susjednog sparivanja na temelju mitohondrijskog biljega *COI* (DNA barkod regija) korištenjem analitičkog alata Taxon ID tree dostupnog na BOLD bazi (<http://www.boldsystems.org>). Različite boje na kraju grana označavaju različite porodice. Crna boja označava porodicu Hydropsychidae, smeđa Philopotamidae, zelena Ecnomidae, ljubičasta Polycentropodidae, plava Psychomyiidae.



Slika 60. Filogenetsko stablo konstruirano metodom susjednog sparivanja (NJ) na temelju mitohondrijskog biljega *COI* (DNA barkod regija) korištenjem analitičkog alata Taxon ID tree dostupnog na BOLD bazi uz fotografije tulara, predstavnika pojedinih porodica. Različite boje na kraju grana označavaju različite porodice naznačene na slici. Označena podjela na Annulipalpia – žuta slova i Integripalpia – plava slova (na Brevitentoria i Plenitentoria) te „Spicipalpia“ – zelena slova. Kod Annulipalpia sivim slovima naznačena je podjela na nadporodice.

## 5. RASPRAVA

Kako bi metoda DNA barkodiranja omogućila određivanje nepoznatog uzorka potrebna je referentna baza DNA barkod sekvenci, stoga su brojne države pokrenule nacionalne inicijative DNA barkodiranja živog svijeta (npr. 2009. godine *Barcoding Fauna Bavarica*, 2011. godine *FINBOL – Finnish Barcode of Life* itd.). Ovim radom započeti su prvi koraci u stvaranju nacionalne baze DNA barkoda tulara Hrvatske. Uspoređujući s drugim nacionalnim bazama, udio od 85% DNA barkodova poznatih vrsta tulara iz Hrvatske dobiven u okviru ovog istraživanja je dobar početak sustavnog DNA barkodiranja faune. Za usporedbu u Njemačkoj je DNA barkodirano 63% poznatih vrsta tulara (Morinière i sur. 2017), u Kanadi 84% vrsta tulara područja rijeke Churchill (Zhou i sur. 2010). Ovim radom je povećan broj DNA barkod sekvenci tulara iz Hrvatske u BOLD bazi i time olakšan nastavak korištenja DNA barkod metode u biomonitoringu slatkovodnih ekosustava s naglaskom na endemičnu faunu (za koju ne postoje DNA barkod sekvence). Također, baza DNA barkod sekvenci olakšavat će primjenu nove generacije biološkog monitoringa slatkovodnih beskralješnjaka, tzv. okolišni DNA barkoding (Hajibabaei i sur. 2011, Leese i sur. 2016). Velik broj DNA barkod sekvenci nastao ovim radom omogućit će da se u Hrvatskoj, kao i u drugim europskim zemljama uvede rutinsko određivanje tulara metodom DNA barkodiranja, dok se (ionako mali broj) taksonoma može fokusirati na zahtjevnije taksonomske zadatke (Weigand i sur. 2019). Preko podataka unesenih u BOLD bazu rezultati ovog rada su uvršteni u istraživanje Weigand i sur. (2019) koja analizira stanje u pojedinim europskim državama. Istraživanje Weigand i sur. (2019) analizira broj svojiti koje se koriste za biomonitoring slatkovodnih ekosustava i broja DNA barkod sekvenci u BOLD bazi za iste svojite.

Svi tulari od kojih je dobivena DNA barkod sekvenca te njihova DNA nastali ovim radom su pohranjeni u tri zbirke. Cijela životinja (bez nekoliko nogu), kao dokazni muzejski primjerak, vaučer, pohranjena je u zbirku tkiva za DNA analize BCZ ili entomološku zbirku „Trichoptera NIP“. DNA tulara koja je izolirana ovim radom je pohranjena u DNA barkod zbirku izolirane DNA BCD. Pohrana uzoraka je važna za znanstvenu zajednicu. Astrin i sur. (2013) naglašavaju važnost dokaznih muzejskih primjeraka te posebno njihovu pohranu u muzejima, mjestima tradicionalne pohrane prirodoslovne građe. Dokazni muzejski primjerak,

osim što omogućava provjeru točnosti rezultata nastalih ovom studijom, omogućuje nastavak rada drugih stručnjaka (npr. taksonomi mogu morfološki opisati ličinku koja nije do sada opisana, a određena je metodom DNA barkodiranja) te je omogućen nastavak istraživanja. Za primjerke čiji PCR produkt nije dobiven ovim radom preostaje mogućnost da je se dobije drugim metodama (npr. primjenom početnica specifičnijih za pojedinu svojtu, umnožavanjem manjih segmenta DNA, promjenom uvjeta PCR reakcije).

DNA barkod svakog primjerka iz ovog rada uspoređen je s postojećim DNA barkodovima tulara u BOLD bazi podataka koristeći alat BOLD Identification Engine. Iako je BOLD baza podataka najopsežnija baza DNA barkod sekvenci, ne treba zanemariti mogućnost pogrešne određivanja upotrebom ovog alata. Naime, s obzirom da je teško provjeriti točnost velikog broja sekvenci javnih baza, moguće je da se u BOLD bazi nađu DNA sekvence krivo određenih uzoraka (Slika 61). Na takve pogreške upozoravaju autori Jinbo i sur. (2011) i Meier (2008) s obzirom na greške zabilježene u Banci gena (eng. NCBI Gen Bank), javno dostupnoj bazi svih DNA sekvenci. Stoga navedeni autori pozivaju na oprez kod donošenja zaključaka u istraživanjima.

### Top 20 Matches

							Display option:	Top 20 ▾
Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	Subspecies	Similarity (%)	Status
Arthropoda	Insecta	Trichoptera	Limnephilidae	<i>Stenophylax</i>	<i>sequax</i>		100	Published <a href="#">↗</a>
Arthropoda	Insecta	Trichoptera	Limnephilidae	<i>Stenophylax</i>	<i>lateralis</i>		100	Private
Arthropoda	Insecta	Trichoptera	Limnephilidae	<i>Stenophylax</i>	<i>lateralis</i>		100	Published <a href="#">↗</a>
Arthropoda	Insecta	Trichoptera	Limnephilidae	<i>Stenophylax</i>	<i>lateralis</i>		100	Published <a href="#">↗</a>
Arthropoda	Insecta	Trichoptera	Limnephilidae	<i>Stenophylax</i>	<i>sequax</i>		100	Published <a href="#">↗</a>
Arthropoda	Insecta	Trichoptera	Limnephilidae	<i>Stenophylax</i>	<i>sequax</i>		100	Published <a href="#">↗</a>
Arthropoda	Insecta	Trichoptera	Limnephilidae	<i>Stenophylax</i>	<i>sequax</i>		100	Published <a href="#">↗</a>
Arthropoda	Insecta	Trichoptera	Limnephilidae	<i>Micropterna</i>	<i>lateralis</i>		100	Published <a href="#">↗</a>
Arthropoda	Insecta	Trichoptera	Limnephilidae	<i>Stenophylax</i>	<i>sequax</i>		100	Published <a href="#">↗</a>
Arthropoda	Insecta	Trichoptera	Limnephilidae	<i>Micropterna</i>	<i>lateralis</i>		100	Published <a href="#">↗</a>
Arthropoda	Insecta	Trichoptera	Limnephilidae	<i>Micropterna</i>	<i>lateralis</i>		100	Published <a href="#">↗</a>

Slika 61. Prikaz mogućih rezultata BOLD Identification Engine usporedbe *COI* DNA barkod sekvenci prilikom čega su dostupne sekvence s krivim taksonomskim oznakama. Nejasno je o kojoj vrsti se radi između 3 različite ponuđene identične sekvence (*Stenophylax sequax*, *Stenophylax lateralis*, *Micropterna lateralis*).

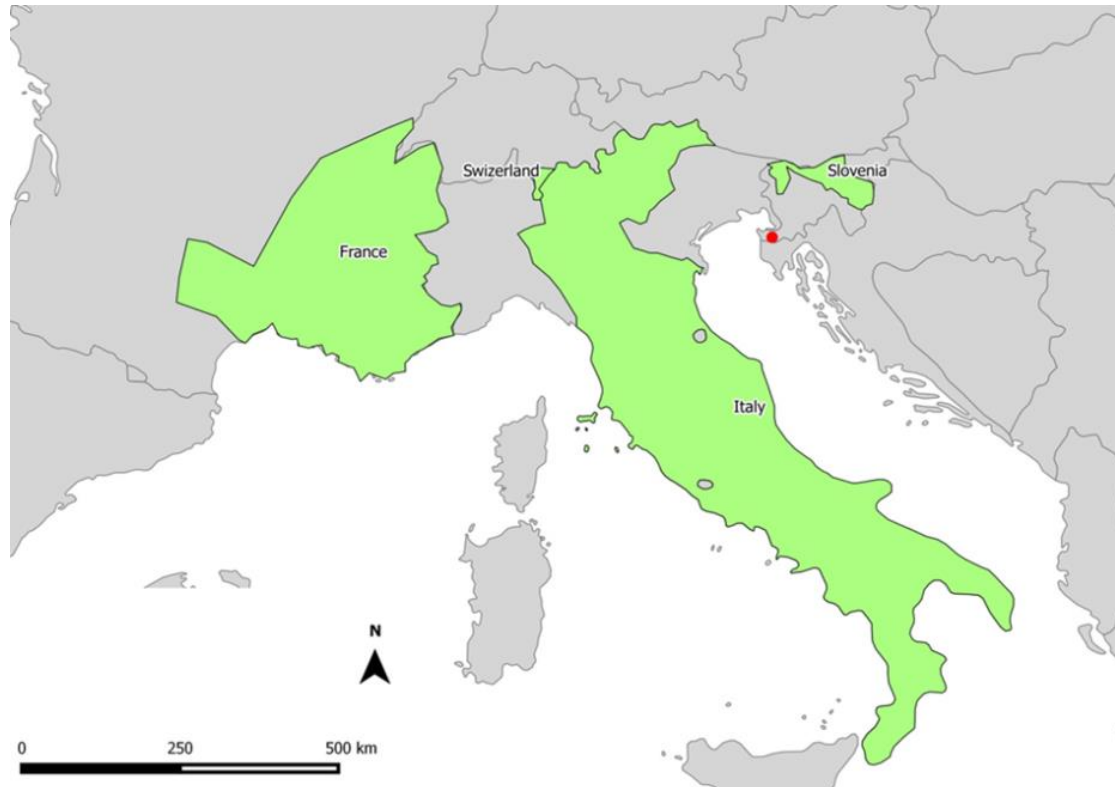
## 5.1. Nove i taksonomski specifične vrste u fauni tulara Hrvatske

### 5.1.1. Nove vrste za Hrvatsku iz roda *Tinodes* Curtis, 1834

Metoda DNA barkodiranja se pokazala u slučaju vrste *T. antonioi* kao brz i pouzdan alat u potvrđivanju morfološkog određivanja kao što je i u drugim radovima (Pauls i sur. 2010, Jackson i sur. 2014, Zhou i sur. 2007; 2009). S obzirom da u BOLD bazi nije bila dostupna DNA sekvenca vrste *T. antonioi*, molekularno određivanje u kombinaciji s morfološkom rezultirala je dokazom da se ne radi ni o jednoj drugoj vrsti roda *Tinodes* zabilježenoj u Hrvatskoj. U analizu nije uvrštena DNA barkod regija za vrstu *T. andras* koja je zabilježena u fauni Hrvatske. Kako je vrsta *T. andrasi* zabilježena u Konavlima i predstavlja endem južne Dalmacije možemo odbaciti da se radi o vrsti *T. andrasi*. „Barkod praznina“ pokazuje da su genetske razlike između vrsta roda *Tinodes*, pa tako i *T. antonioi* koji pripadaju istoj vrsti manje nego što su genetske razlike svojiti koje pripadaju različitim vrstama. Minimalna vrijednost nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti između *T. antonioi* i drugih vrsta roda *Tinodes* (9,7%) je veća od minimalnih interspecifičnih vrijednosti zabilježenih kod tulara (8% Pauls i sur. 2010, 8,2% Graf i sur. 2015). Najveće intraspecifična vrijednost (3%) zabilježena je između *T. dives* iz Hrvatske i *T. dives consiglioi* iz Italije ukazujući da se radi o evolucijski duboko razdvojenim linijama unutar vrste.

DNA barkod *T. antonioi* vrste po prvi put je unesen u BOLD bazu na temelju rezultata ovog rada što predstavlja veliku vrijednost s obzirom da se radi o rijetkoj vrsti. Vrsta *T. antonioi* rasprostranjena je na europskom kontinentu i do sada zabilježena u Italiji, Francuskoj, Švicarskoj i Sloveniji (Cianficconi 2002, Krušnik i Urbanič 2002, Botosaneanu i Giudicelli 2004) (Slika 62). Vrsta *T. antonioi* predstavlja Alpsko-Apeninski endem koji je rijetko zabilježen i u malom broju na navedenom području usprkos velikom broju istraživanja. Cianficconi i sur. (1987) objavljuju da su u šest godina istraživanja na 33 mjesta za uzorkovanje samo jedne godine našli 11 primjeraka, Botosaneanu i Giudicelli (2004) bilježe da su sveukupno prikupili jednog mužjaka i jednu ženku na četiri posjeće lokacije u južnoistočnoj Francuskoj, Cianficconi i Corallini (2010) su tijekom istraživanja pokrajine Molise u Italiji od 1962 do 2005 prikupili su samo jednu ženku i jednog mužjaka. U ovom istraživanju, vrsta *T. antonioi* prikupljena je u gornjim tokovima dva potoka u Istri (potok Roč, Marušići i potok Mlini) i nije zabilježena u većim tekućicama ili stajaćicama na kojima je provedeno istraživanje, stoga možemo zaključiti da ova vrsta preferira manje tekućice. Veći broj jedinki (ukupno sedam) prikupljen je na potoku Roč, Marušić koji je pod manjim

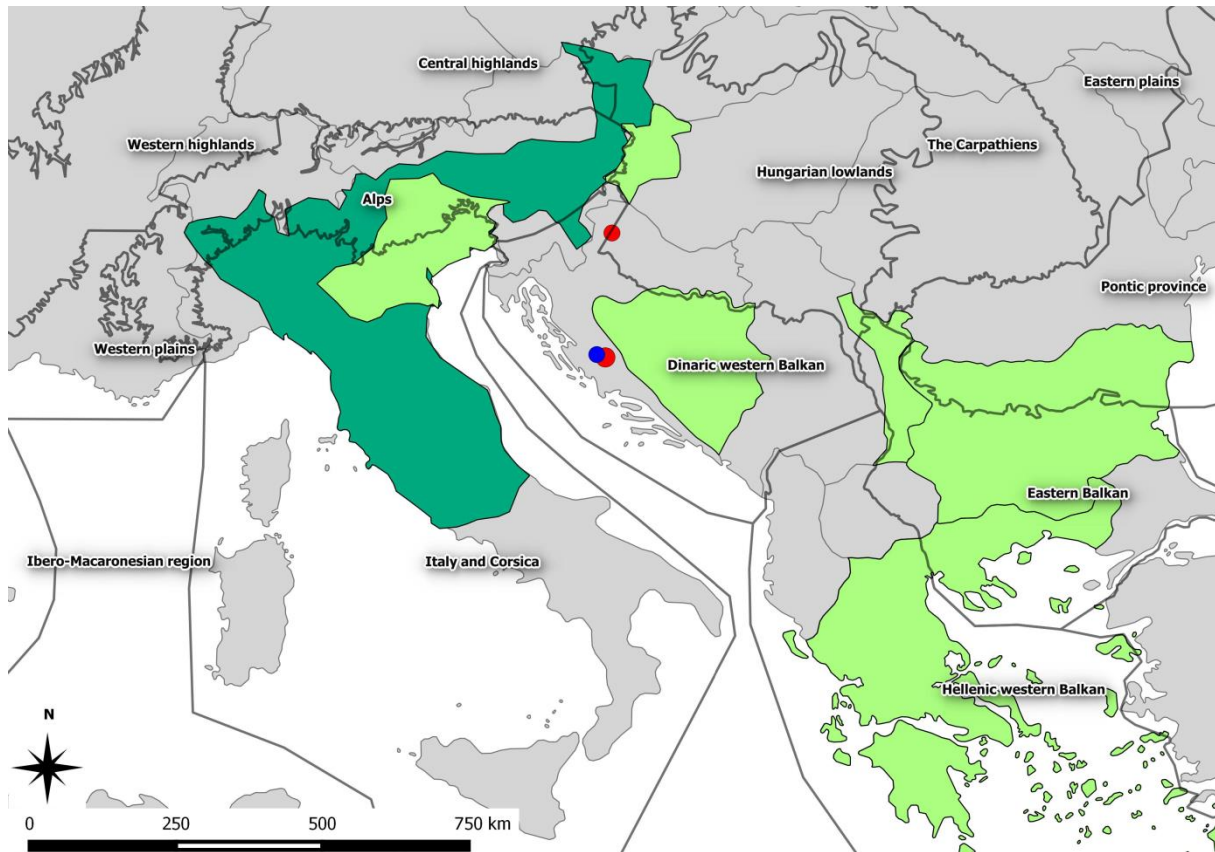
antropogenim utjecajem nego potok Mlini (prikupljeno 3 primjerka). Izvor potoka Mlini koristi se za crpljenje vode i stoga su hidrološke karakteristike tekućice promijenjene, no ne i kemijski sastav (Biondić i sur. 2009). Prikupljeni podaci s istraživanih tekućica govore nam da je vrsta *T. antonioi* osjetljiva na antropogeni utjecaj, no da je ipak u mogućnosti tolerirati određene hidrološke promjene u staništu.



Slika 62. Mjesto novog nalaza vrste *T. antonioi* u Hrvatskoj (crvena točka) s prikazom rasprostranjenosti vrste u Europi (zeleno polje) prema Graf i sur. (2019).

### 5.1.2. Nove vrste za Hrvatsku iz roda *Adicella* McLachlan, 1877

U ovom radu metoda DNA barkodiranja se pokazala pouzdanom u razdvajanju bliskih vrsta, kao i u prijašnjim radovima (npr. Pauls i sur. 2010, Jackson i sur. 2014). Prema Graf i sur. (2008, 2019) u Europi je prisutno 14 vrsta roda *Adicella*, od kojih su dvije široko rasprostranjene: *A. filicornis* (Pictet 1834) i *A. reducta* (McLachlan 1865), prisutne i u Hrvatskoj (Kučinić i sur. 2012, Previšić i sur. 2013b). Uz spomenute vrste *A. filicornis* i *A. reducta* u Hrvatskoje je zabilježena i treća vrsta roda *Adicella*, *A. syriaca* Ulmer, 1907 (Kučinić i sur. 2012). S ovim istraživanjem je po prvi put utvrđeno prisustvo vrsta *A. cremisa* i *A. balcanica* te one predstavljaju nove vrste za faunu Hrvatske (Ćukušić i sur. 2017) (Slika 63). Za buduća istraživanja je bitno prikupiti mužjaka vrste *A. balcanica* s obzirom da su mužjaci morfološki informativniji.



Slika 63. Mjesto novog nalaza vrste *A. cremisa* u Hrvatskoj (crvene točke) i *A. balcanica* (plava točka) s prikazom rasprostranjenosti vrsta u Europi. Tamno zeleno polje predstavlja rasprostranjene *A. cremisa*, a svijetlo zeleno polje *A. balcanica* prema Graf i sur. (2019) i Malicky (2013).

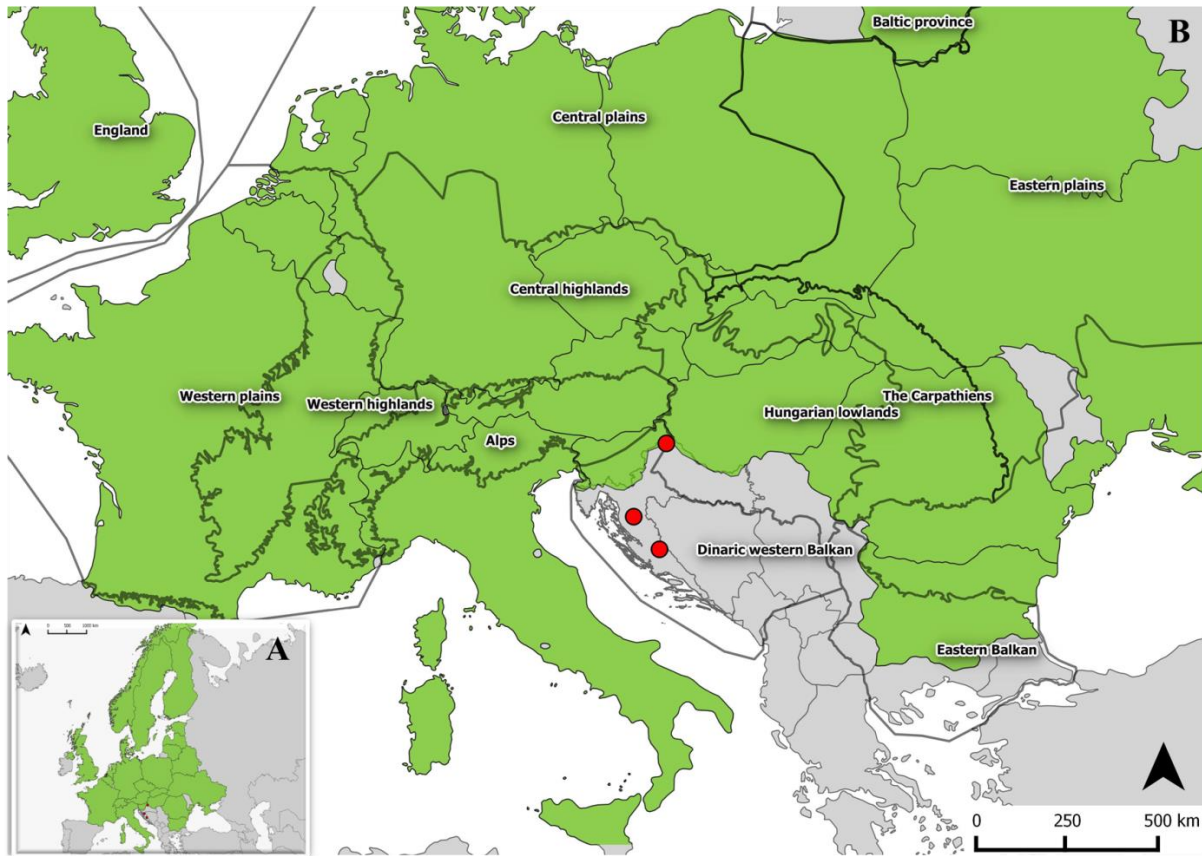
Do sada ni jedno istraživanje nije proučavalo genetsku udaljenost vrsta roda *Adicella* temeljenu na *COI* genu. No genetska udaljenost unutar roda *Adicella* dobivena ovim radom slična je vrijednostima zabilježenim kod roda *Smicridea*, Hydropsychidae, također za DNA barkod regiju (20%, Pauls i sur. 2010). Rezultati DNA barkodiranja potvrđuju morfološku određivanje dvije nove vrste roda *Adicella* za Hrvatsku. Velika genetska sličnost između populacija *A. cremisa* u Italiji i Hrvatskoj (*A. cremisa* iz lokacije Zrnmnja 0,11%, Krapina 0,44%) ukazuje na postojanje protoka gena kod disjunktne populacije rasprostranjene na širem geografskom području što je zabilježeno kod drugih slatkovodnih svojiti makrozoobentosa, npr. kod obalčara vrste *Dinocras cephalotes* (Elbrecht i sur. 2014).

### 5.1.3. Potvrda nalaza rijetke vrste *Trichostegia minor* (Curtis, 1834)

Vrsta *T. minor* rijetko je zabilježena iako široko rasprostranjena i zabilježena u 16 ekoregija prema Illies 1967, 1978. Također i na području Hrvatske usprkos intenzivnijem terenskim

obilascima slatkovodnih staništa u Hrvatskoj u posljednjih nekoliko godina. Vrsta *T. minor* zabilježena je u Hrvatskoj u Varaždinu (Malicky 2009), na izvoru rijeke Cetine (Vučković i sur. 2011) te ovim istraživanjem na izvoru Gacke, Mejerovo vrilo. Baza podataka Fauna Europaea ne navodi areal vrste za područje Hrvatske (Malicky 2013) (Slika 64). Da se radi o široko rasprostranjenoj i rijetkoj vrsti i u fauni Bugarske navodi Kumanski (2007), odnosno u fauni Italije navodi Wolf i sur. (2013). Rezultati filogenetske analize nedvojbeno pokazuju da primjerci DNA barkodirani u ovom istraživanju pripadaju vrsti *T. minor* što daje dodatnu sigurnost u točnost morfološkog određivanja (Slika 19). Na temelju prijašnjih istraživanja i ovog rada, možemo zaključiti da je utvrđena prisutnost *T. minor* u svim geografskim i biogeografskim regijama u Hrvatskoj. Analizirani primjerci iz Hrvatske izdvajaju se s primjerkom iz Austrije u zasebnu genetsku liniju od ostalih primjeraka *T. minor*. No navedeno odvajanje ne možemo smatrati značajnom divergentnom linijom s obzirom da genetska udaljenost od 2% između odvojene genetske linije (Hrvatska i Austrija) i ostalih primjeraka vrste *T. minor* u rangu s zabilježenim intraspecifičnim udaljenostima kod tulara (0-1,54% Phryganeidae Zhou i sur. 2010, 3,19% Johanson 2007). Također, na temelju analiziranih vrsta porodice Phryganeidae može se zaključiti da su intraspecifične razlike unutar vrste *T. minor* među najnižim zabilježenim (najniža 0,1%, najviša 4,5%). Mala genetska razlika između populacija rasprostranjenih na geografski velikim područjima upućuje na konstantan protok gena. Jedan od razloga široke rasprostranjenosti *T. minor* je vjerojatno što vrsta preferira spore tekućice i stajaćice te ima veliku moć prilagodbe jaja i ličinki na promjene u okolišu. Jaja i ličinke ove vrste mogu podnijeti sušu, smrzavanje, veliku fluktuaciju pH, razine alkaliniteta i duže periode bez kisika (Van der Hoek i sur. 1989).





Slika 64. Prikaz nalaza vrste *T. minor* (crvene točke) na području te rasprostranjenosti vrste u Europi prema Malicky (2013) - zeleno polje i Graf i sur. (2019) – crni rub sa označenim geografskim regijama prema Illiesu (1967, 1978). Slika B predstavlja uvećani dio slike A u lijevom donjem kutu.

#### 5.1.4. Određivanje malih vrsta i potvrda novih vrsta za Hrvatsku iz porodice Hydroptilidae

DNA barkodiranje se pokazalo kao izuzetno korisno za problematično određivanje mikrotulara. Zbog svoje male veličine, iako široko rasprostranjeni, često se ne zabilježe terenskim istraživanjem. Kako se posljednjih godina intenziviraju terenska istraživanja, tako bilježimo veći broj novih vrsta porodice Hydroptilidae za fauni Hrvatske (Previšić i sur. 2007, 2013b, Cerjanec 2012, Kučinić i sur. 2015b). Ovim radom je na temelju metode DNA barkodiranja potvrđena prisutnost novih vrsta za faunu Hrvatske iz porodice Hydroptilidae (*Hydroptila simulans*, *H. phaon*, *H. forcipata*, *H. lotensis*, *H. martini*, *H. tigurina*, *H. tineoides*, *O. angustella*, *O. costalis*, *I. lamellaris*, *O. flavicornis*). Iako su neke od navedenih vrsta morfološki određeni do razine vrste u prijašnjim istraživanjima (Cerjanec 2012) i radovima (Kučinić i sur. 2015b) primjerke THYD\_13, THYD\_3, THID\_3, THYD\_6, THYP\_6, THYD-12, THYP\_9, THYD\_5, THYD\_7, THYD\_8 nije bilo moguće morfološki

odrediti do razine vrste bez upotrebe binokularne lupe veće moći razlučivanja. U ovom slučaju DNA barkod metodom određeni su navedeni primjerci koji su se s viskom pouzdanošću grupirali s haplotipovima morfološki određenih primjeraka iz Hrvatske i primjeraka iz BOLD baze.

Vrsta *H. simulans* do sada nije zabilježena u fauni Hrvatske, a ovim radom je bez sumnje potvrđena njena prisutnost u Hrvatskoj. S obzirom da je zabilježena u ekoregijama ER 5 i ER 11, kojima pripada Hrvatska, razumljivo je bilo očekivati prisutnost *H. simulans* u fauni Hrvatske (Graf i sur. 2008; Slika 65 A). Prema filogenetskoj analizi na temelju *COI* gena, DNA barkod regije, potvrđeno je monofiletsko grupiranje s drugim primjercima *H. simulans* iz Europe. Kao dodatna potpora su rezultati ABGD analize koji su svrstali sve primjerke vrste *H. simulans* u jednu grupu, teoretsku vrstu. Intraspecifična genetska udaljenost unutar široko rasprostranjene vrste *H. simulans* je mala (0-1,2%), no u rangu intraspecifičnih vrijednosti zabilježenih kod roda *Hydroptila* (0,85-2,7% Zhou i sur. 2010) i tulara (0-3,19% Johanson 2007).

Vrstu *H. lotensis* u fauni tulara Hrvatske navodi Cerjanec (2012) u doktorskoj disertaciji što je potvrđeno i metodom DNA barkodiranja. Prisutnost vrste *H. lotensis* u Hrvatskoj bila je očekivana s obzirom da je zabilježena u ekoregijama kojima pripada Hrvatska (ER 5 i ER 11) (Graf i sur. 2008; 2019; Slika 65 D). Svi primjerci vrste *H. lotensis* iz ovog rada monofiletski se grupiraju s primjerkom iz Finske.

Vrsta *H. phaon* nije prethodno zabilježena u fauni Hrvatske i u BOLD bazi ne postoji DNA barkod sekvenca navedene vrste. Ovo je ujedno i prvi nalaz vrste u ekoregiji ER 5 s obzirom da je do sada zabilježena u ekoregijama: ER 3 Italija, Korzika i Malta, ER 4 Alpe, ER 6 Helenski zapadni Balkan (Graf i sur. 2008, 2019; Slika 65 B). Morfološki određeni primjerci *H. phaon* su se odvojili od svih ostalih vrsta roda *Hydroptila* analiziranih ovim radom. Primjerke THPHA\_1 i TPHA\_1 vrste *H. phaon* i ABGD analiza je svrstala u zasebnu grupu, hipotetsku vrstu. Vrijednosti nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti između haplotipova THPHA\_1 i TPHA\_1 je u rangu intraspecifičnih vrijednosti zabilježenih kod vrsta porodice Hydroptilidae (0,85-2,7% Zhou i sur. 2010), a vrijednosti genetske udaljenosti između THPHA\_1, TPHA\_1 i ostalih analiziranih primjeraka roda *Hydroptila* također su u rangu interspecifičnih vrijednosti zabilježenih kod vrsta porodice Hydroptilidae (20,12% Zhou i sur. 2010).

Vrsta *H. vectis*, poznata od prije u fauni Hrvatske (Previšić i sur. 2007). Primjerci naveden vrste analizirani ovim radom svrstali su se sukladno taksonomiji. Kod vrste *H. vectis* dolazi do podjele u genetske grupe koje se podudaraju s geografskim podrijetlom. Jednu grupu čine primjerci *H. vectis* iz Estonije (ER 15). U grupu s primjercima iz Italije (ER 3) i Austrije (ER 11) svrstao se primjerak THVEC\_1 iz Hrvatske (prikupljen na rijeci Bednji koja pripada panonsko-peripanonskoj regiji, odnosno ER 11). Zasebno su se odvojili primjerci THVEC\_2 i THYD\_3 prikupljeni u Konavlima i izvoru Čerišnjevac koji pripadaju mediteranskoj regiji, odnosno ER 5. S obzirom na genetske udaljenosti kod analiziranih vrsta roda *Hydroptila* između primjeraka vrste *H. vectis* zabilježen je i najveći raspon genetskih udaljenosti (0-6,1 što je. Ovakva genetska udaljenost u rangu intraspecifičnih vrijednosti zabilježenih kod tulara (8,50%, Hogg i sur. 2009, 7% Barcelos-Silva i sur. 2018), no predstavlja maksimalne vrijednosti zabilježene kod roda *Hydroptila* (0,85-2,7% Zhou i sur. 2010). Ipak, ABGD analiza je svrstala sve primjerke *H. vectis* u jednu grupu. Navedeno ukazuje da ova vrsta ima visoko diferenciranu genetičku populacijsku strukturu, što je najčešće indikacija slabog ili ne postojećeg protoka gena između disjunktno rasprostranjenih populacija (npr. Lehrian i sur., 2009; Pauls i sur., 2006; Previšić i sur. 2009, 2014b).

Prisustvo vrste *H. forcipata* u fauni Hrvatske zabilježeno je u radu Kučinić i sur. (2015b), što je dodatno potvrđeno ovim radom pomoću metode DNA barkodiranja. Utvrđeno je i proširenje areala rasprostiranja *H. forcipata* na jugu Hrvatske (rijeka Cetina i Krka). Vrsta *H. forcipata* zabilježena je u svim ekoregijama u Europi, a ovim radom dani su dodatni podaci o njenoj rasprostranjenosti u Hrvatskoj (Slika 65 C). Svi primjerci vrste *H. forcipata* analizirani ovim radom pokazali su monofiletsko grupiranje s primjercima ove vrste iz Europe. Navedeno grupiranje je dodatno potvrđeno ABGD analizom koja je sve primjerke vrste *H. forcipata* svrstala u jednu grupu, hipotetsku vrstu. Bez obzira na široku rasprostranjenost vrste između primjeraka vrste *H. forcipata* zabilježen je najmanji raspon genetske udaljenosti (0-0,1%) s obzirom na ostale vrste roda *Hydroptila* analizirane ovim radom, što upućuje na postojeći protok gena među populacijama (npr. Lehrian i sur. 2009). Vrijednost nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti je u rangu intraspecifičnih vrijednosti zabilježenih kod porodice Hydroptilidae (0,85-2,7% Zhou i sur. 2010).

Vrstu *H. tigurina* u fauni tulara Hrvatske navodi Cerjanec (2012) u doktorskoj disertaciji što je potvrđeno i u ovom radu metodom DNA barkodiranja. Ovo je ujedno i prvi nalaz vrste u ekoregiji ER 5 s obzirom da je do sada zabilježena u ekoregijama: ER 3, ER 4, ER 6, ER 17.

ER 18 (Graf i sur. 2008, 2019; Slika 65 F). U BOLD bazi ne postoji DNA barkod sekvenca vrste *H. tigurina*, stoga primjerci morfološki određeni kao *H. tigurina* ovim radom predstavljaju prvi unos DNA barkoda. Također ABGD analiza ih svrstava u zasebnu grupu od svih ostalih vrsta roda *Hydroptila*, a vrijednosti nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti između primjeraka vrste *H. tigurina* iz Hrvatske i ostalih vrsta roda *Hydroptila* je u rangu interspecifične vrijednosti zabilježene kod Hydroptilidae (20.12% Zhou i sur. 2010) i kod drugih tulara (8,5-19,5% Hogg i sur. 2009).

Vrstu *H. tineoides* u fauni tulara Hrvatske navodi Cerjanec (2012) u doktorskoj disertaciji što je potvrđeno i ovim radom metodom DNA barkodiranja. Vrsta *H. tineoides* zabilježena je u svim ekoregijama u Europi, stoga je nalaz u Hrvatskoj bio očekivan (Graf i sur. 2008, 2019; Slika 65 E). ABGD analiza je svrstala u jednu grupu sve primjerke vrste *H. tineoides* iz Hrvatske i Europe. Time je potvrđen rezultat filogenetskog stabla koji svrstava sve analizirane vrste *H. tineoides* u monofiletsku skupinu. Vrijednosti nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti unutar vrste *H. tineoides* u rangu su intraspecifičnih vrijednosti zabilježenih kod porodice Hydroptilidae (0,85-2,7% Zhou i sur. 2010).

Vrsta *H. martini* do sada nije zabilježena u fauni Hrvatske, a ovim je radom dodatno je potvrđena njena prisutnost u Hrvatskoj na temelju molekularne i morfološke determinacije. S obzirom da je zabilježena u ekoregijama ER 5 (Graf i sur. 2008, 2019; Slika 65 G i H), kojima pripada Hrvatska, razumljivo je bilo očekivati prisutnost u fauni Hrvatske. Primjerci vrste *H. martini* iz Hrvatske u filogenetskom stablu se grupiraju s primjercima vrste *H. martini* iz Europe. ABGD analiza svrstava sve primjerke *H. martini* u jednu grupu. Genetska udaljenost između haplotipova vrste *H. martini* (0,9%) je u rangu intraspecifičnih vrijednosti zabilježenih kod porodice Hydroptilidae (0,85-2,7% Zhou i sur. 2010).

Vrsta *H. sparsa* poznata je od prije u fauni Hrvatske (Previšić i sur. 2007). Primjerci analizirani ovim radom svrstali su se sukladno taksonomiji. ABGD analiza je na temelju postojanja "barkod praznine" za sve vrste roda *Hydroptila* potvrdila da se radi o pravim vrstama koje se međusobno dobro genetski odvajaju.

Tijekom dosadšnjih faunističkih istraživanja tulara u Hrvatskoj, vrste rodova *Orthotrichia*, *Ithytrichia* i *Oxyethira* ili su tek nedavno zabilježene na malom broju lokacija (npr. Cerjanec 2012, Vručina i sur. 2016) ili uopće nisu zabilježene. Međutim, neke vrste ovih rodova široko su rasprostranjene u Europi i zabilježene u okolnim područjima, tj. ekoregijama ER5 i ER11

(npr. *O. costalis*), te se redovito bilježe prilikom uzorkovanja makrozoobentosa u svrhu praćenja stanja različitih vodnih tijela (A. Previšić, osobna komunikacija). S obzirom da se ličinački stadiji vrsta ovih rodova ne mogu pouzdano razlikovati (Waringer i Graf 2011), njihovi nalazi ostaju navedeni na razini roda. Stoga je potvrda rasprostranjenosti vrsta ovih rodova u Hrvatskoj očekivana uz primjenu pouzdanih alata njihovog razlikovanja (DNA barkodiranje).

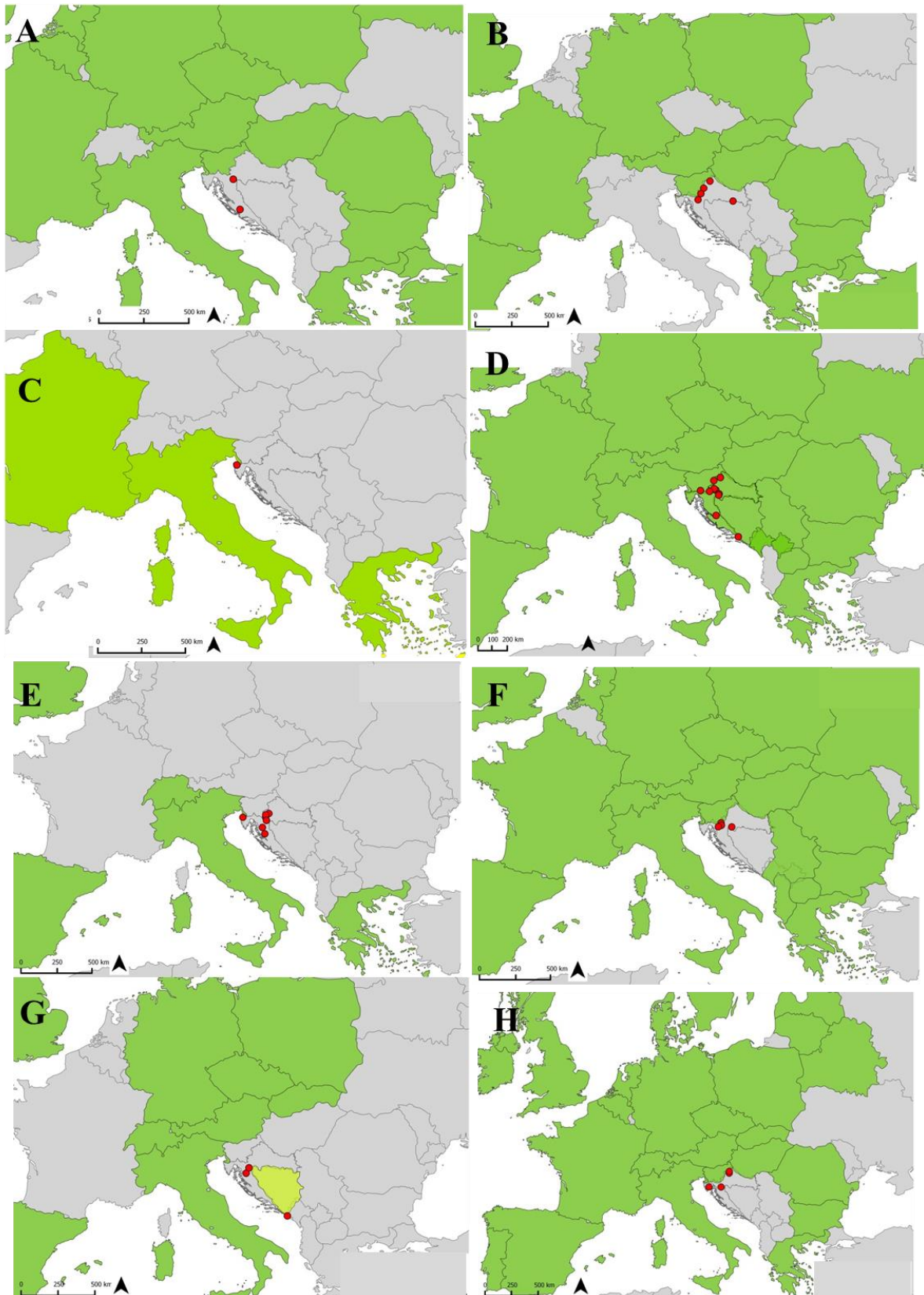
Vrstu *Orthotrichia angustella* u fauni tulara Hrvatske bilježi Cerjanec (2012) u doktorskoj disertaciji što je potvrđeno i metodom DNA barkodiranja u ovom radu. Vrsta *O. angustella* prisutna je u ekoregiji ER 5 (Graf i sur. 2008, 2019; Slika 66 A i B), pa nalaz bio očekivan u fauni Hrvatske. Primjerci vrste *O. angustella* iz Hrvatske grupiraju se s primjercima vrste *O. angustella* iz Rusije u monofiletsku skupinu. ABGD analiza potvrđuje da se radi o istoj vrsti i svrstava sve primjerke *O. angustella* u istu grupu. Primjerci vrste *O. angustella* iz Hrvatske i Rusije ne pokazuju nikakvu genetsku razliku na temelju *COI* gena, DNA barkod regije.

Vrsta *Orthotrichia costalis* po prvi puta je zabilježena u fauni tulara Hrvatske i potvrđena metodom DNA barkodiranja. Vrsta *O. costalis* široko je rasprostranjena u Europi te je sad i potvrđena na teritoriju Hrvatske (Graf i sur. 2008, 2019; Slika 66 B). Vrsta *O. costalis* iz Hrvatske se grupira s ostalim primjercima vrste *O. costalis* iz Europe što potvrđuje i ABGD analiza svrstavajući sve primjerke u jednu grupu. Vrijednosti nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti unutar vrste *O. costalis* (1,9%) je u rangu intraspecifičnih vrijednosti kod porodice Hydroptilidae (0,85-2,7% Zhou i sur. 2010).

Vrsta *Orthotrichia tragetti* je od prije poznata u fauni Hrvatske (Vručina i sur. 2016), a rezultati njene analize u ovom radu su je svrstale sukladno taksonomiji. Vrste iz roda *Orthotrichia* analizirane ovim radom, kao i vrste iz roda *Hydroptila*, pokazuju malu intraspecifičnu razliku (0-1,9%) bez obzira na geografsku udaljenost. Iznenadujuće je da vrste iz roda *Orthotrichia* pokazuju jednaku interspecifičnu razliku bez obzira na kojem kontinentu su rasprostranjene. Raspon interspecifičnih udaljenosti između primjeraka vrste *O. tragetti* i primjeraka vrsta roda *Orthotrichia* iz Sjeverne Amerike (10,3-13%) jednak je rasponu interspecifičnih udaljenosti između primjeraka vrste *O. tragetti* i primjeraka vrsta roda *Orthotrichia* iz Europe (12,6-13,7%). No radi se o relativno slaboj *bootstrap* podršci u grananju unutar roda *Orthotrichia* te su za bolje razumijevanje i konačan zaključak odnosa potrebni dodatni molekularni biljezi.

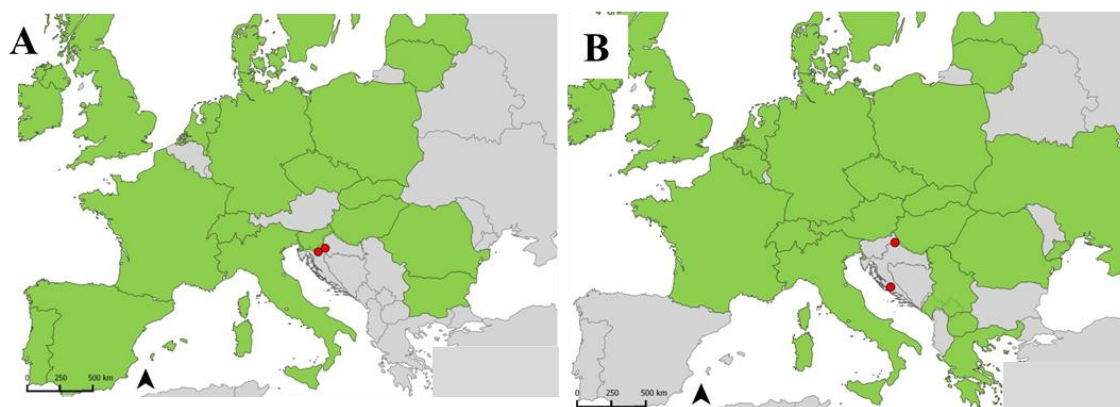
Prisutnost vrste *Ithytrichia lamellaris* u fauni Hrvatske bilježi Cerjanec (2012). DNA barkod metodom potvrđena je morfološki određena vrsta i zato sa dodatnom sigurnošću možemo tvrditi da je *I. lamellaris*, za sada, kao jedina vrsta roda *Ithytrichia* prisutna u fauni Hrvatske. S obzirom da je vrsta *I. lamellaris* zabilježena u većini ekoregija u Europi (Graf i sur. 2008, 2019), pa tako i u ER 5 bio je očekivan njezin nalaz na području Hrvatske. Svi primjerci vrste *I. lamellaris* iz Hrvatske su se grupirali s ostalim primjercima vrste *I. lamellaris* iz Europe. Unutar vrste *I. lamellaris* dolazi do odvajanje dijela primjeraka iz Njemačke od primjeraka *I. lamellaris* iz drugih dijelova Europe, uključujući i primjerak iz Njemačke (FBAQU1189-12). Ovo odvajanje je vidljivo u genetskoj raznolikosti na temelju *COI* gena unutar vrste *I. lamellaris* analiziranih ovim radom, s obzirom da je nešto veće nego u ostalih analiziranih vrsta iz porodice Hydroptilidae (2,5%). Ipak vrijednost nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti je ispod maksimalne intraspecifične vrijednosti zabilježene unutar porodice Hydroptilidae (2,7% Zhou i sur. 2010). ABGD analiza svrstala je sve primjerke vrste *I. lamellaris* unutar jedne grupe.

Vrsta *Oxyethira falcata* do sada nije zabilježena u fauni Hrvatske iako je zabilježena u svim ekoregijama u Europi (Graf i sur. 2008, 2019). DNA barkod metodom *O. falcata* je potvrđena u fauni Hrvatske. Odvajanja pojedinih genetskih linija unutar *O. falcata* ukazuju na genetsku diferenciranost određenih populacija. Vrijednost nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti unutar vrste *O. falcata* (6,7%) analiziranih primjeraka veća je od maksimalne intraspecifične vrijednosti zabilježene kod drugih vrsta roda *Oxyethira* analiziranih u ovom radu (2,8%) te kod porodice Hydroptilidae (2,7% Zhou i sur. 2010), no još uvijek u rangu intraspecifičnih vrijednost zabilježenih kod tulara (8,5% Hogg i sur. 2009). S obzirom na veće genetske distance i nerazriješenu filogeniju (politomija) unutar vrste *O. falcata* treba istaknuti potrebu za analizom dodatnih molekularnih biljega.



Slika 65. A-H. Prikaz nalaza novozabilježenih vrsta roda *Hydroptila* i *Ithytrichia* (crvene točke) na području Hrvatske s rasprostranjenosti vrste u Europi prema Malicky (2013) - zeleno polje, slijedom: A – *H. simulans*, B – *H. lotensis*, C – *H. phaon*, D – *H. forcipata*, E – *H. tigurina*, F – *H. tineoides*, G – *H. martini*, H – *Ithytrichia lamellaris*.

Iako je vrsta *Oxyethira flavicornis* zabilježena u ekoregijama kojima pripada i teritorij Hrvatske (ER 5 i ER 11) (Graf i sur. 2008, 2019) do sada nije potvrđena u fauni Hrvatske. Morfološko određivanje u kombinaciji s metodom DNA barkodiranja u ovome radu potvrđuje prisustvo ove vrste u fauni Hrvatske. Primjerci vrste *O. flavicornis* iz Hrvatske grupiraju se s primjercima navedene vrste iz Europe. Unutar grupe vrsta *O. flavicornis* primjerak s lokaliteta Lika, Bilaj zajedno s primjerkom iz Njemačke se izdvaja u zasebnu liniju. ABGD analiza svrstava sve primjerke *O. flavicornis* u jednu grupu što nam sugerira da se radi o jednoj vrsti. Genetska udaljenost unutar *O. flavicornis* (2,8%) u rangu je intraspecifičnih vrijednosti zabilježenih kod tulara (2,7% Hydroptilidae Zhou i sur. 2010, 4,8% *Metrichia* Santos i sur. 2016b).



Slika 66. A-B. Prikaz nalaza vrsta roda *Orthotrichia* (crvene točke) s rasprostranjenosti vrste u Europi prema Malicky (2013) - zeleno polje: A – vrsta *O. angustella*, B – vrsta *O. costalis*.

Male intraspecifične udaljenosti vrsta porodice Hydroptilidae koje su široko rasprostranjene upućuju da između populacija postoji protok gena i da ti tulari, iako male veličine (mikrotulari), imaju dobre sposobnosti rasprostranjivanja. Ovakav rezultat objašnjava se sposobnošću jedinki porodice Hydroptilidae da iskoriste zračne struje kako bi premostile veće geografske udaljenosti. Moguće je i postojanje većeg broja geografski bliskih populacija. Slične rezultate dobili su Wilcock i sur. (2007) kod vrste *Plectrocnemia conspersa* (Curtis, 1834) u Engleskoj. Vrsta *P. conspersa*, koja naseljava različita vodena staništa, imala je malu genetsku razliku unutar populacije rasprostranjene na području širine 100 km. Na istom promatranom području vrsta *Polycentropus flavomaculatus* (Pictet, 1834), koja naseljava velike rijeke, imala je veliku genetsku razliku unutar geografski udaljenih populacija. Wilcock i sur. (2007) zaključili su da postoji protok gena kod populacije vrste *P. conspersa* zahvaljujući postojanju više manjih populacija na većem geografskom području između kojih

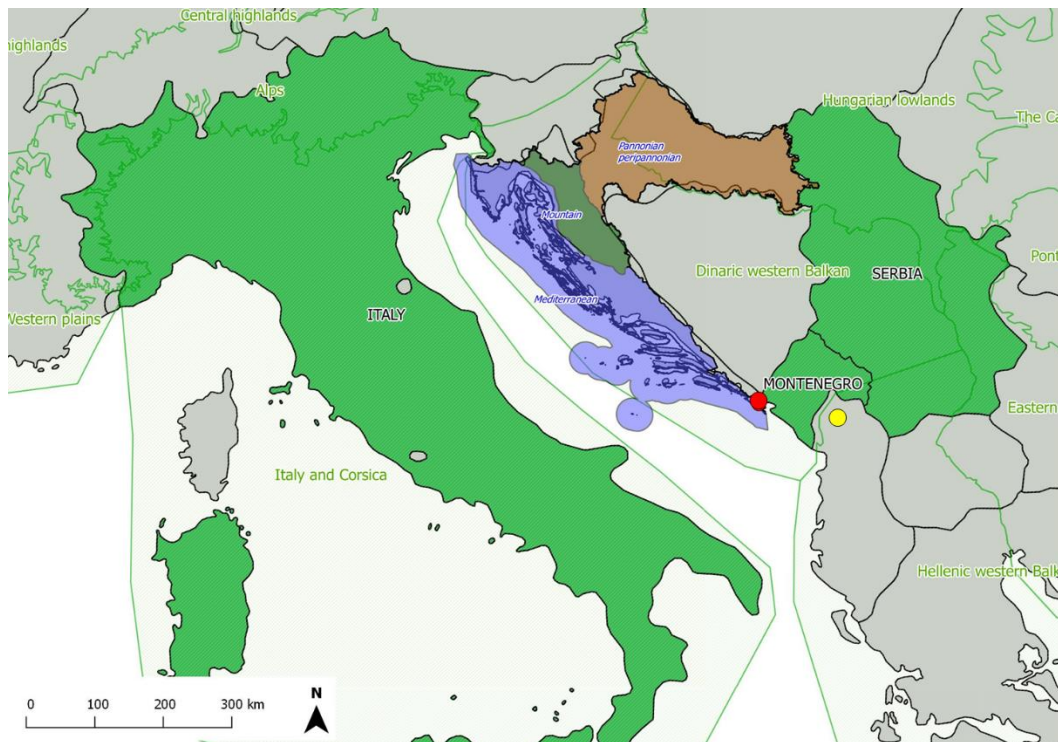


postoji protok gena. Vrste roda *Hydroptila* (osim vrste *H. vectis*) pokazuju malu intraspecifičnu genetsku udaljenost, dok su interspecifične vrijednosti prilično visoke (11,9-25,6%). Ovi rezultati nisu u skladu s Frankham (2013) koji navodi da široko rasprostranjene vrste imaju veću genetsku varijabilnost, te da je genetska varijabilnost negativno korelirana s veličinom tijela. Njegovo je istraživanje temeljeno na alozimima, no autor tvrdi da su slične rezultate dobili i za varijacije u mtDNA. Vrste porodice Hydroptilidae pripadaju najmanjim tularima te su široko rasprostranjene i pokazuju malu intraspecifičnu vrijednost, a u usporedbi s velikim vrstama, npr. roda *Potamophylax* koje su široko rasprostranjene, a pokazuju veliku intraspecifičnu vrijednost.

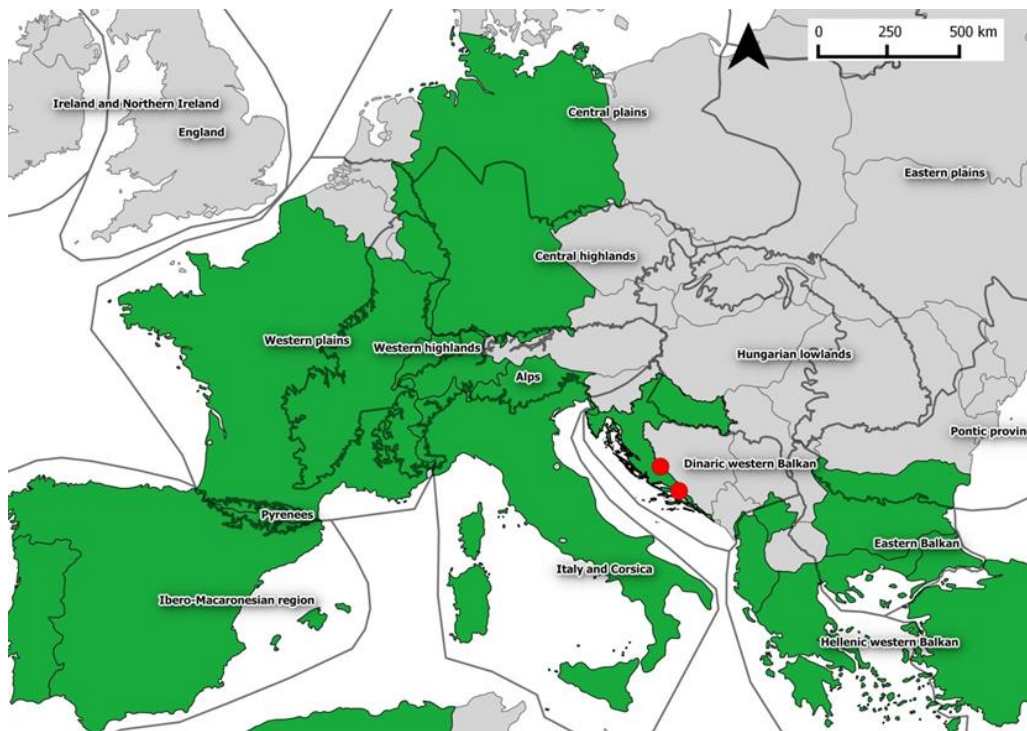
#### **5.1.5. Taksonomski specifične vrste u fauni Hrvatske *Micropterna wagneri* Malicky, 1971 i *Micropterna fissa* McLachlan, 1875**

Iako je duljinom i veličinom tijela *Micropterna wagneri* velika vrsta, rijetko je zabilježena u Hrvatskoj. Prvi nalazi vrste prikupljeni su prije 20 godina na planini Biokovo od strane djelatnika Hrvatskog prirodoslovnog muzeja u Zagrebu (leg. M. Vajdić, F. Perović, M. Kučinić), gdje su i pohranjeni. Lokalitet novog nalaza vrste u ovom istraživanju, potok Konavočica u selu Vodovođe, jedini je usprkos tomu što je područje Konavala posjećeno tri puta godišnje kroz dvije godine s ciljem prikupljanja faune tulara. Prema literaturnim podacima u Europi je vrsta *M. wagneri* rasprostranjena u Italiji, Albaniji, Srbiji i Crnoj Gori (Malicky 1971, Moretti 1981, 1988, Cianficconi 2002, Oláh 2010) (Slika 67). Zanimljiv je nalaz ove rijetke vrste u speleološkom objektu Spelaecelicokave u Albaniji na visini od 1840 m koja se nalazi u području Bridash massif.

U Hrvatskoj je vrsta *M. fissa* prvi put zabilježena 1979 (Malicky 1971) te od tada do 2011. godine kada je prikupljena na izvoru rijeke Cetine (Vučković 2011) ne postoji literaturni podatak o njenoj prisutnosti u fauni Hrvatske. Vrsta *M. fissa* rasprostranjena je od Portugala, Francuske do Turske (Graf i sur. 2008, 2019) (Slika 68). Područje Balkana, iako slabije istraženo, popunjava novim nalazima u Albaniji i Kosovu (Oláh 2010, Ibrahim i sur. 2013).



Slika 67. Mjesto novog nalaza vrste *M. wagneri* u Hrvatskoj (crvena točka) i Albaniji (žuta točka) s prikazom rasprostranjenosti vrste u Europi (zeleno polje) prema Graf i sur. (2019) i prema Malicky (2013). Podjela Europe po geografskim regijama prema Illiesu (1967, 1978) i Hrvatske prema Bertić i sur. (2001) (regije:plavo-mediteranska, zeleno-planinska, smeđe-panonsko-peripanonska).



Slika 68. Lokalitet novog nalaza vrste *M. fissa* u Hrvatskoj (crvene točke) s prikazom rasprostranjenosti vrste (zeleno polje) prema Graf i sur. (2019) i Malicky (2013). Podjela Europe po biogeografskim regijama prema Illiesu (1967, 1978).

U ovom radu potvrđeni su nalazi rijetkih vrsta *M. wagneri* i *M. fissa* u Hrvatskoj. Prema filogenetskoj analizi *M. wagneri* (TMWAG\_1, TMWAG\_2) i *M. fissa* (TMIC\_3m, TMIC\_3f) se odvajaju u izdvojenu genetsku liniju od drugih vrsta roda *Micropterna* čiji areal obuhvaća Hrvatsku. Primjerci vrste *M. wagneri* iz Hrvatske i Albanije grupiraju se međusobno čineći sestrinsku grupu vrstama *M. lateralis* i *M. sequax*. Mužjak i ženka vrste *M. fissa* iz Hrvatske su se grupirali s vrstom *M. fissa* iz Italije. Sve primjerke vrste *M. fissa* ABGD analiza je grupirala u jednu grupu. Intraspecifična vrijednost između jedinki *M. wagneri* (0,2-0,4%) te jedinki *M. fissa* (0,2-0,5%) je najmanja zabilježena intraspecifična udaljenost između vrsta roda *Micropterna* analiziranih ovim radom te među najnižim vrijednostima zabilježenim kod tulara (0-4% Limnephilidae Zhou i sur. 2010, 0,1-1,1% *Apatania* Salokannel i sur. 2010, 0,8% Geraci i sur. 2011). Vrijednosti nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti između *M. wagneri* i ostalih vrsta roda *Micropterna* (8,6-11,7%) u rangu su interspecifičnih vrijednosti zabilježenih kod porodice Limnephilidae (3,46-12,66% Zhou i sur. 2010). Prema genu *COI* najbližnja vrsti *M. fissa* je *M. nycterobia* s genetskom udaljenosti 10,6% što je u rangu interspecifičnih vrijednosti zabilježenih kod tulara (minimalna intarspecifična udaljenost kod vrste *Anisogamus waringeri* iznosi 8,2% Graf i sur. 2015).

Izdvajaju se dvije genetske linije unutar vrsta *M. testacea* i *M. sequax*. Vrsta *M. testacea* sastoji se od dvije podgrupe: jedna s primjercima iz Italije i Hrvatske s lokaliteta Biokovo (mediteranska regija) te druga s primjercima iz Švicarske, Austrije i Hrvatske s lokaliteta rijeka Lika, rijeka Gacka. Iako su navedeni primjerci vrste *M. testacea* razdvojeni i u ABGD analizi, genetska udaljenost unutar *M. testacea* (0-2,3%) je u rangu intraspecifičnih vrijednosti zabilježenih kod tulara (0-3,9% Johanson 2007, 0-2,14% *Halesus tessellatus* Morinière i sur. 2017). Kod vrste *M. sequax* dolazi do odvajanja u dvije genetske linije na filogenetskom stablu i u dvije zasebne grupe u ABGD analizi. Vrsta *M. sequax* dijeli se na primjerke iz Hrvatske, Crne Gore i Grčke u ABGD grupi 7 i primjeraka iz drugih dijelova Europe (Finske, Norveške, Austrije, San Marina) u ABGD grupi 8 (Slika 28). Vrijednosti nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti između ove dvije duboko odijeljene genetske linije unutar vrste *M. sequax* (7,2-8,5%) u rangu je s maksimalnom intraspecifičnom vrijednošću zabilježenom kod tulara (8,50% Hogg i sur. 2009), no ova visoka vrijednost genetske udaljenosti zabilježena je i u rangu interspecifičnih vrijednosti (3,46-12,66% Limnephilidae Zhou i sur. 2010, 6,4% *Drusus melanchaete* Waringer i sur. 2008).

ABGD analiza podržava tradicionalne vrste (*M. nycterobia*, *M. wagneri*, *M. fissa*), ali i indicira postojanje kriptičnog diverziteta unutar *M. testacea*, *M. lateralis*, *M. sequax*, pri čemu kriptični diverzitet podržavaju i rezultati filogenetske analize i visoke vrijednosti genetičke udaljenosti. Buduća istraživanja trebalo bi usmjeriti na određivanje taksonomije i filogenije vrste *M. sequax* koja je pokazala najveću genetičku diferencijaciju.

Vrste roda *Micropterna* rijetko su zabilježene, s obzirom da su, kao i određeni broj vrsta porodice Limnephilidae, velike vrste koje su dobri letači i mogu letjeti na velike udaljenosti (Collier i Smith 1998) i stoga nisu koncentrirane uz vodena staništa gdje se odvija većina istraživanja tulara. Osim toga, neke vrste, kao npr. *M. nycterobia* naseljavaju specifična staništa, kao što su povremeni izvori, te ih se u odraslom stadiju može prikupiti samo u kratkom razdoblju (Graf i sur. 2008, Waringer i Graf 2011). Velik broj pripadnika porodice Limnephilidae, pa tako i vrste roda *Micropterna*, imaju ljetnu dijavauzu s obzirom da im je za sazrijevanje gonada potrebna niža temperatura (Novák i Sehnal 1963). Poznato je da vrste iz porodice Limnephilidae u razdoblju ljetne estivacije miruju u speleološkim objektima čekajući period jeseni kada se pare i polažu jaja u vodena staništa. Nalazi vrste *M. fissa* su ovim radom po prvi puta su zabilježeni u speleološkim objektima Hrvatske, a vrsta *M. wagneri* u speleološkim objektima Albanije. Vrstu *M. wagneri* u speleološkim objektima u Italiji bilježi Moretti (1988), dok Moretti i Gianotti (1964) navode vrstu *M. fissa* kao čestu u špiljama i jamama u Italiji. U speleološkim objektima u Hrvatskoj do sada su zabilježene 4 vrste iz roda *Micropterna*: *M. lateralis*, *M. nycterobia*, *M. sequax*, *M. testacea* (Radovanović 1935, Langhoffer 1915, Kučinić i Ilić 1993, Gottstein-Matočec i sur. 2002). Ovim radom potvrđeni su nalazi vrsta iz roda *Micropterna* u speleološkim objektima: *M. nycterobia* u Velikoj Čulimovoj pećini (Kijevo), jami pod sv. Jurom (Biokovo), u jami Mokre noge (Biokovo), *M. testacea* u jami Nova velika, (Biokovo). Osim njih, zabilježene su i vrste roda *Stenophylax*: *S. permistus* u Bukovac špilji (Delnice), Jami Vjetrova, (Crnopac), jami Amfora (Biokovo). Najčešće vrste tulara u fauni podzemnih objekata Hrvatske su: *S. permistus*, *M. nycterobia* i *M. sequax* (Gottstein-Matočec 2002). I druge vrste tulara dolaze u fauni speleoloških objekata. Tako npr. Gottstein-Matočec (2002) navode vrste *Stenophylax vibex*, *Wormaldia subnigra*, *W. occipitalis*, Moretti i Gianotti (1964) navode vrste *Mesophylax aspersus*, *Stenophylax mucronatus*, *S. crossotus*, *Micropterna impunctatus*, *Potamophylax latipennis*, Waringer i sur. (2013) vrstu *Drusus spelaeus*. Navedene vrste tulara pripadaju troglofilnim vrstama koje jedan period životnog ciklusa provode u speleološkim objektima. Točan razlog boravka tulara u speleološkim objektima nije u potpunosti razjašnjen, a jedan od

razloga korištenja speleoloških objekata je potreba za hladnim periodom za sazrijevanje gonada tijekom ljeta (Gottstein-Matočec 2002). Tulari su u speleološkim objektima zapaženi u ljetnim mjesecima, u dubljim dijelovima objekta, uglavnom u mirovanju i poneki u parenju (kao što je slučaj s vrstom *M. fissa* u ovom radu) što upućuje da nisu slučajno dospjele u podzemlje.

#### 5.1.6. Taksonomski specifične vrste iz roda *Rhyacophila* Pictet, 1834

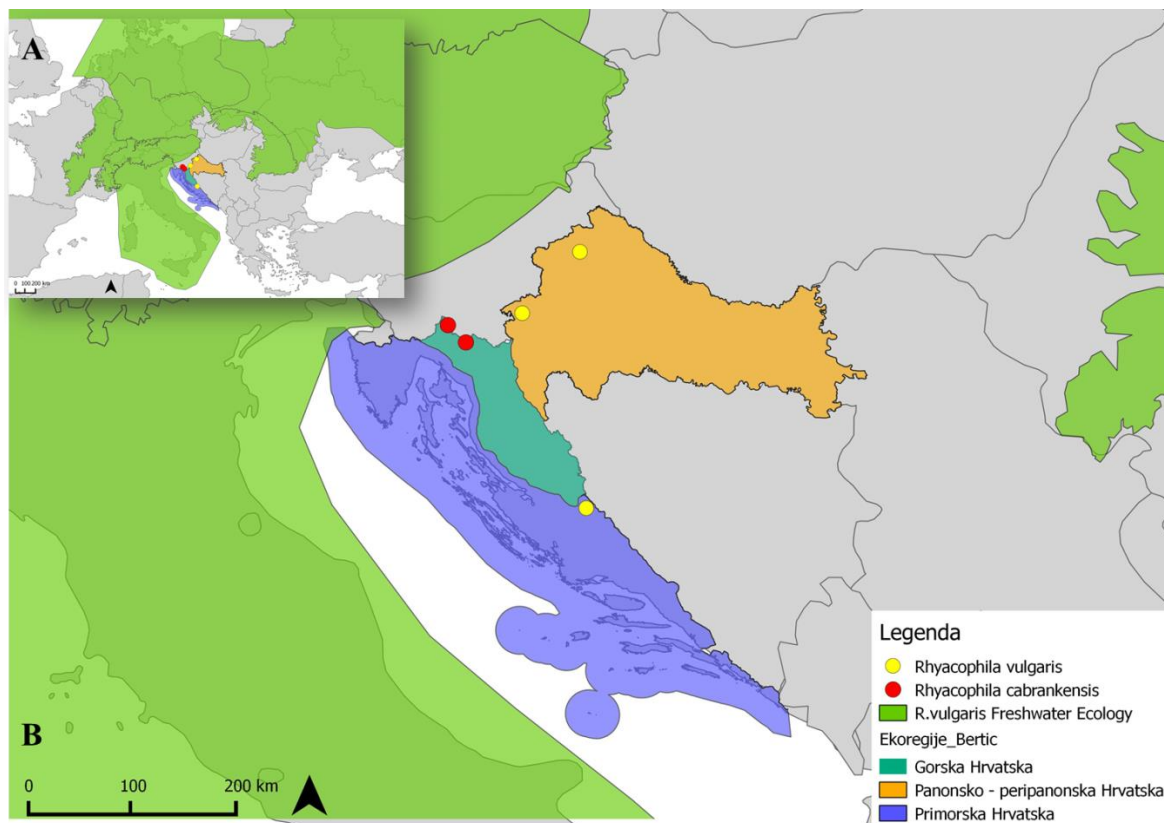
U Hrvatskoj je do sada zabilježeno 17 vrsta iz roda *Rhyacophila* Pictet, 1834 (Previšić i sur. 2007, 2010, 2013a, Vučković i sur. 2011, Malicky 1979, Malicky i sur. 2007, Kučinić 2002, Cerjanec 2012, Ibrahimi i sur. 2012a, Urbanič i sur. 2000). Ovaj rod je jedni predstavnik porodice Rhyacophilidae Stephens, 1836 u Hrvatskoj i Europi. Ličinke vrsta *R. nubila* i *R. dorsalis* nije moguće morfološki razlikovati (Waringer i Graf 2011). Nemogućnost razlikovanja ove dvije vrste na temelju morfoloških osobina ličinki reflektiraju i rezultati filogenetske analize na temelju *COI* gena. Filogenetska analiza pokazala je slabo podržano odvajanje vrsta *R. dorsalis* i *R. nubila* u zasebne linije, a ABGD analiza svrstala je obje vrste u istu grupu, hipotetsku vrstu. Maksimalna vrijednost nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti između *R. nubila* i *R. dorsalis* je 3%, što je u rangu intraspecifične vrijednosti koju su zabilježili Morinière i sur. 2017 kod vrsta *R. fasciata* (3,86%), *R. obliterated* (3,64%) i *R. vulgaris* (3,15%). Minimalna vrijednost nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti između vrsta *R. nubila* i *R. dorsalis* (0,7%) je manja od maksimalne intraspecifične genetičke udaljenosti unutar vrste *R. dorsalis* (3%) i unutar vrste *R. nubila* (2,3%). Većina DNA sekvenci u ovoj analizi dobivena je od mužjaka obje vrste (*R. nubila* i *R. dorsalis*), pa se može eliminirati mogućnost netočne određivanja ličinki kao uzroka grupiranja ove dvije vrste u jednu grupu, s obzirom da se genitalni aparat mužjaka ove dvije vrste morfološki znatno razlikuje (Malicky 2004). Da li *R. nubila* i *R. dorsalis* predstavljaju jednu vrstu s velikom varijacijom u morfologiji populacije ili se radi o dvije vrste, nije moguće odgovoriti na temelju rezultata analiza samo jednog molekularnog biljega i malog broja primjeraka. Stoga su potrebne dodatne analize jezgrinih DNA biljega da bi se isključila eventualna introgresija mitohondrijske DNA iz jedne vrste u drugu, kao i veći broj primjeraka za morfološke usporedbe.

Vrsta *R. palmeni* ima disjunktni areal te je zabilježena u Italiji (Cianficconi i Moretti 1987; Cianficconi i sur 2008), Sloveniji (Konar 1997, Krušnik i Urbanič 2002, Urbanič 2004), Hrvatskoj (Previšić i Popijač 2010, Cerjanec 2012), Grčkoj (Malicky 2005, Karaouzas i sur.

2018) i Kosovu (Ibrahimi 2012a). Značajne morfološke razlike na primjerku TRPAL\_7 vrste *R. palmeni* u odnosu na morfološki ključ nisu uočene. Za konačan zaključak potrebna je analiza većeg broja primjeraka. U slučaju ove vrste, čak su i ženke informativne s obzirom na dobro definirane morfološke karakteristike (Malicky 2004). Uočene su morfološke razlike na ličinkama između populacija na Kosovu i Grčkoj naspram onih u Hrvatskoj i Sloveniji (Karaouzas i sur. 2018). Ibrahimi i sur. (2012a) smatraju da se radi o dvjema kriptičnim vrstama s obzirom da se morfološke razlike uočavaju kod ličinki, ali ne i odraslih primjeraka. Jednu kriptičnu vrstu predstavljaju primjerci iz Hrvatske, Slovenije i Italije, a drugu kriptičnu vrstu predstavljaju primjerci iz Grčke, Albanije, Makedonije i Kosova. Ovom studijom dodan je argument toj tvrdnji s obzirom da se primjerak iz Hrvatske u ABGD analizi odvojio od primjeraka iz Kosova i Grčke u zasebnu grupu. Također, kao argument može poslužiti i relativno visoka genetska udaljenost između primjerka iz Hrvatske i ostalih primjeraka vrste *R. palmeni* (6,8%). Daljnja istraživanja treba nastaviti s većim brojem primjeraka iz navedenih područja te uključiti primjerke iz Slovenije.

Filogenetska analiza na temelju *COI* gena (DNA barkod regije) pokazuje nerazriješenu trihotomiju koju čine vrsta *R. cabrankensis* i dvije linije vrste *R. vulgaris*. Ovakav rezultat je sukladan morfološkoj analizi, s obzirom da je izgled genitalija mužjaka *R. cabrankensis* najbliži izgledu genitalija vrste *R. vulgaris* (Malicky i sur. 2007). No analiza morfoloških značajki ne objašnjava nastalu trihotomiju. Po određenim morfološkim karakteristikama ženke vrste *R. cabrankensis* moguće je zamijeniti sa ženkama vrste *R. simulatrix* (Malicky i sur. 2007). Prema filogenetskom stablu vrsta *R. simulatrix* se s visokom podržanošću postavlja kao sestrična vrsta grupi s vrstama *R. cabrankensis* i *R. vulgaris*. Pretpostavljenu blisku srodnost *R. cabrankensis* i *R. vulgaris* na temelju morfologije (Malicky i sur. 2007) podupiru i rezultati p-udaljenosti. Rezultati ovog rada ne daju odgovor na taksonomski status vrste *R. cabrankensis*, no daju više argumenta da je moguć status podvrste *R. vulgaris*. Vrijednost nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti između vrsta *R. vulgaris* i *R. cabrankensis* (1,8%) je daleko manja nego maksimalna intraspecifična vrijednost vrste *R. vulgaris* (7,4%). Također, interspecifična vrijednost između vrsta *R. cabrankensis* i *R. vulgaris* je niža od intraspecifične vrijednosti koju su zabilježili Morinière i sur. (2017) kod vrsta *R. fasciata* (3,86%), *R. obliterated* (3,64%), *R. vulgaris* (3,15%), ali i niža od svih maksimalnih intraspecifičnih vrijednosti kod vrsta roda *Rhyacophila* zabilježenih u ovom radu. Ipak vrste *R. vulgaris* i *R. cabrankensis* su alopatrijske. Vrsta *R. cabrankensis* predstavlja endem Gorskog kotara gdje je jedino zabilježena prema literaturi i ovim radom,

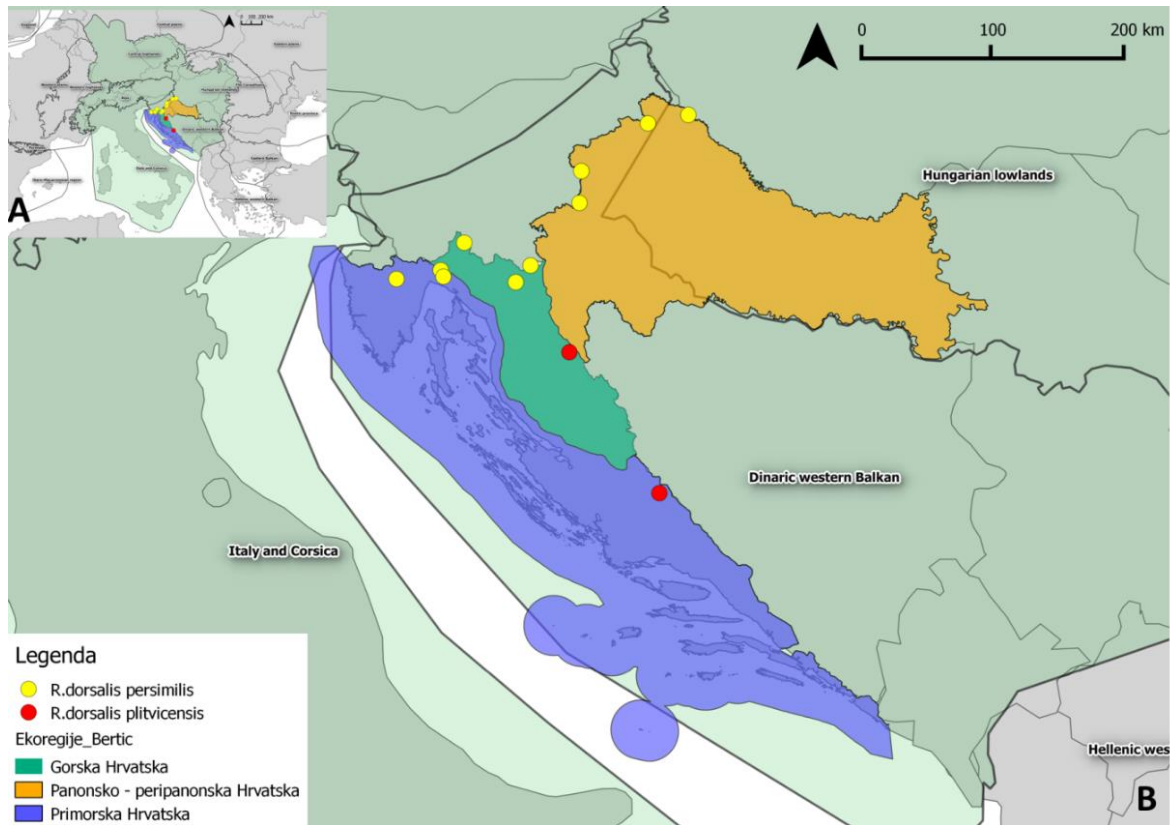
usprkos velikom broju posjećenih lokaliteta u Hrvatskoj (172 lokaliteta 3 puta godišnje). Vrsta *R. vulgaris* zabilježena je u nekoliko ekoregija (ER 5, 7, 9, 13, 16, 17, 20, 23), odnosno njezin areal obuhvaća središnju Europu, a Hrvatska predstavlja jugoistočnu granicu njenog areala. U Hrvatskoj je vrsta *R. vulgaris* zabilježena u mediteranskoj i panonsko-peripanonskoj regiji, dok je vrsta *R. cabrankensis* u gorskoj regiji (Slika 69). Filogenetskom analizom vrsta *R. vulgaris* dijeli se na tri genetske linije, a ABGD analiza ih svrstava u tri grupe (grupa 5, grupa 27, grupa 26). Vrsta *R. cabrankensis* čini jednu genetsku liniju unutar vrste *R. vulgaris*, odnosno grupu 5 u ABGD analizi. Moguće je da se vrsta *R. vulgaris* nedavno odvojila u tri genetske linije, a vrsta *R. cabrankensi* predstavlja jednu od tih linija, tj. mladu vrstu, što je potrebno utvrditi daljnjim molekularnim analizama s većim brojem primjeraka i molekularnih biljega.



Slika 69. Prikaz nalaza vrsta *R. cabrankensis* (crvene točke) i *R. vulgaris* (žute točke) na području Hrvatske s prikazanim regijama prema Bertić i sur., (2001) (tamno zeleno, narančasto i plavo polje, boje objašnjene u legendi) te rasprostranjenosti vrste *R. vulgaris* u Europi (zeleno polje) prema Graf i sur. (2019). Slika B predstavlja uvećani dio slike A u lijevom gornjem kutu.

Filogenetska analiza temeljena na *COI* genu ne odvajaju primjerke podvrste *R. dorsalis plitvicensis* i *R. dorsalis persimilis* u zasebne genetske linije (Slika 34, 1. dio). Ove dvije podvrste grupirane su zajedno s ostalim primjercima vrste *R. dorsalis*. Vrijednosti nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti (između *R. dorsalis plitvicensis* i *R. dorsalis persimilis* iz Hrvatske iznosi 0,3%) jednake su vrijednostima intraspecifične genetske udaljenosti kod *R. dorsalis*. Čak je među nižim intraspecifičnim genetskim udaljenostima zabilježenim kod vrsta roda *Rhyacophila* u ovom radu, ali i u drugim npr. 5,9% Pauls i sur. (2010), 5,25% Zhou i sur. (2010). Podvrsta *R. dorsalis plitvicensis* za sada je zabilježena jedino u području Plitvičkih jezera od kuda je i opisana (Kučinić i Malicky 2002, Kučinić 2002, Previšić i sur. 2010, Ivković i sur. 2013) te na Cetini (Vučković i sur. 2011). Široko rasprostranjena podvrsta *R. dorsalis persimilis* nije zabilježena južnije od Ogulina pa tako ni u području rasprostiranja podvrste *R. dorsalis plitvicensis* (Slika 70). Genitalni aparat mužjaka *R. dorsalis plitvicensis* se razlikuje od genitalnog aparata mužjaka *R. dorsalis persimilis* toliko da se smatra dobrom podvrstom (Slika 30). Alopatrijsko rasprostiranje i izražena morfološka razlika potvrđuju da se radi o pravoj podvrsti *R. dorsalis plitvicensis* što se nije moglo dokazati i metodom DNA barkodiranja. Kao mogući razlog istog DNA barkoda podvrsta *R. dorsalis plitvicensis* i *R. dorsalis persimilis*, treba razmotriti introgresiju mitohondrijske DNA. Introgresija mitohondrijske DNA je tek nedavno zabilježena kod tulara (Myers i sur. 2001, Kjer i sur. 2001, 2002, Graf i sur. 2005, Weigand i sur. 2017). Međutim zabilježena je infekcija tulara, kao i ostalih vodenih kukaca, bakterijom *Wolbachia* (Sazama i sur. 2017). Simbiotska bakterija *Wolbachia* dovodi do introgresija mitohondrijske DNA kod artropoda (npr. Werren i sur. 2008, Zug i Hammerstein 2012), pa tako i kod tularima sestrinskog roda Lepidoptera (npr. Jiggins 2003, Zakharov i sur. 2009). Daljnja istraživanja treba započeti uspoređivanjem jezgrinih biljega podvrsta *R. dorsalis plitvicensis* i *R. dorsalis persimilis*, koji bi mogli rezultirati razrješenjem filogenetskih odnosa.

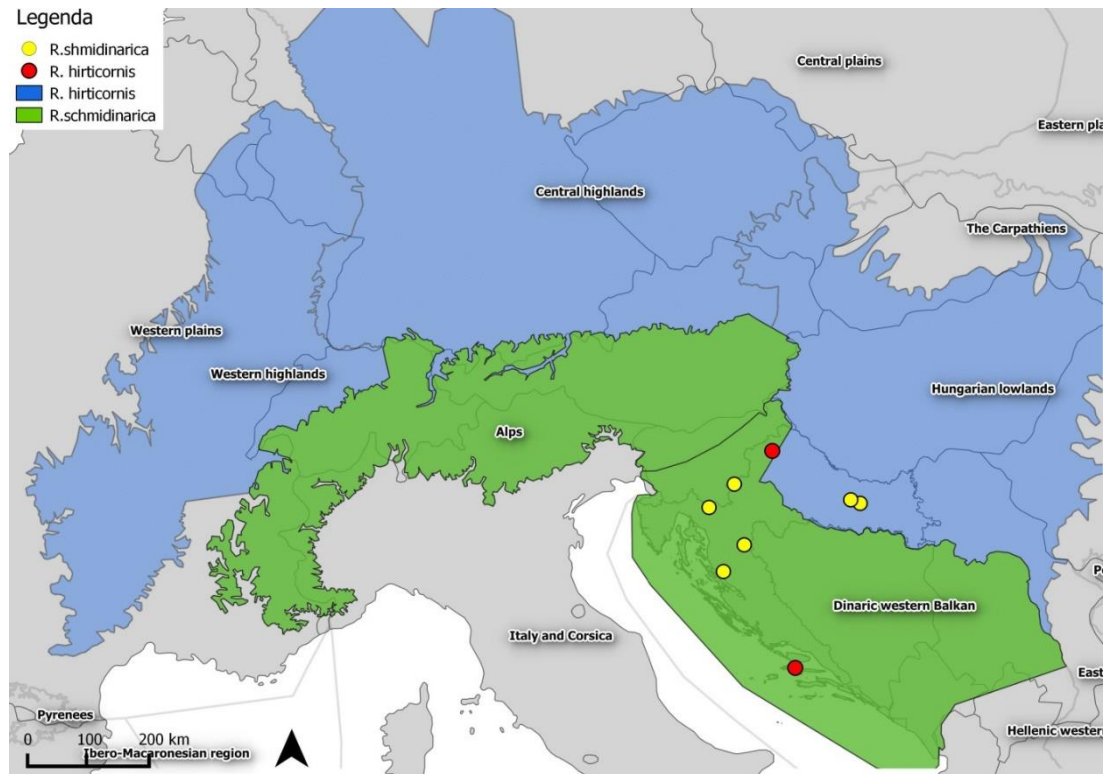




Slika 70. A-B. Prikaz nalaza vrsta *R. dorsalis plitvicensis* (crvene točke) i *R. dorsalis persimilis* (žute točke) na području Hrvatske s prikazanim regijama prema Bertić i sur., (2001) (tamno zeleno, narančasto i plavo polje, boje objašnjene u legendi) te rasprostranjenosti vrste *R. dorsalis persimilis* u Europi (zeleno polje u slici A gore lijevo) prema Graf i sur. (2019) s označenim ekoregijama prema Illies (1967,1978) (crna slova s bijelim obrubom). Slika B predstavlja uvećani dio slike A u lijevom gornjem kutu.

Vrsta *R. schmidinarica* opisana je 2000. godine kada su Urbanič i sur. (2000) ustanovili da se crteži genitalija mužjaka vrste *R. hirticornis* opisani 1879. godine (McLachlan 1879) razlikuju od crteža iste vrste u reviziji roda *Rhyacophila* iz 1970. godine (Schmid 1970). Autori Urbanič i sur. (2000) su i na prikupljenim uzorcima iz Slovenije ustvrdili da se radi o dvije vrste. Prva vrsta je *R. hirticornis* koja odgovara opisu McLachlan iz 1879. godine šire rasprostranjena na Europskom kontinentu, u ekoregijama ER 4, ER 5, ER 8, ER 9, ER 11 prema Illies 1967,1978 (Slika 71). Druga vrsta, koja odgovara crtežu Schmid iz 1970. godine, jest *R. schmidinarica* rasprostranjena u samo dvije ekoregije ER 4 Alpe i ER5 (Slika 71). Filogenetska analiza u ovom radu potkrepljuje srodnost ove dvije vrste jer filogenetsko stablo rezultira grupiranjem haplotipova *R. schmidinarica* i *R. hirticornis* unutar dobro podržane skupine, pri čemu haplotipovi pojedine vrste ne formiraju monofiletske grupe (Slika 34, 2. dio). Primjerci *R. schmidinarica* iz izvora na Bjelolasici i izvora Napojište kod Plitvičkog Ljeskovaca (TRSCH\_1, TRSCH\_3) se grupiraju zajedno, no ne i s primjerkom vrste *R.*

*schmidinarica* iz Bužima na Velebitu (HMTRI029-08). ABGD analiza svrstava haplotipove navedenih primjeraka *R. schmidinarica* u dvije grupe, potencijalne vrste. Maksimalna vrijednost nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti između primjeraka TRSCH\_1, TRSCH\_3 te HMTRI029-08 vrste *R. schmidinarica* (4%) neznatno je veća od maksimalne intraspecifične vrijednosti koju su zabilježili Morinière i sur. (2017) kod *R. fasciata* (3,86%), *R. obliterated* (3,64%), *R. vulgaris* (3,15%), ali i dalje u rangu intraspecifičnih vrijednosti zabilježenih kod tulara (4,8% Santos i sur. 2016b, 5,9% Pauls i sur. 2010, 8% Hogg i sur. 2009). Sličnu vrijednost nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti bilježimo između primjeraka HMTRI029-08, *R. schmidinarica*, Velebit i TRHIT\_1 *R. hirticornis*, potok Šumi (3,4%). Navedeni primjerak *R. hirticornis*, potok Šumi se u filogenetskom stablu odvaja od ostalih primjeraka vrste *R. hirticornis* iz Europe. ABGD analiza primjerak *R. hirticornis*, potok Šumi odvaja u zasebnu grupu. Primjerak *R. hirticornis*, potok Šumi prema vrijednost nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti razlikuje se od ostalih *R. hirticornis* 4,7%. Ukoliko izuzmemo primjerak *R. hirticornis*, potok Šumi, maksimalna intraspecifična vrijednost unutar *R. hirticornis* je 0,3%. Ovakvi rezultati upućuju da primjerak TRHIT\_1 *R. hirticornis*, potok Šumi predstavlja odvojenu genetsku liniju od *R. hirticornis*. Na morfologiji genitalnog aparat mužjaka *R. hirticornis*, potok Šumi moguće je uočiti morfološke razlike od *R. hirticornis* u ključu Malicky (2004). Rezultati ove analize upućuju da kod vrsta *R. hirticornis* i *R. schmidinarica* dolazi do odvajanja zasebnih genetskih linija, točnije tri linije gdje se jedna još recentnije odvaja u dvije linije (ABGD grupa 11 i 12). Prema *COI* genu u ovoj analizi uzorak HMTRI029-08 Velebit (*R. schmidinarica*) i TRHIT\_1 potok Šumi (*R. hirticornis*) predstavljaju divergentne genetske linije unutar *R. hirticornis* i *R. schmidinarica*. Iako filogenetske analize upućuju na potencijalno nove svojte, za konačan zaključak trebalo bi uvrstiti veći broj uzoraka s cijelog područja rasprostriranja ove dvije vrste te povećati broj molekularnih biljega, s naglaskom na jezgrine biljege.



Slika 71. Prikaz nalaza vrsta *R. hirticornis* (crvene točke) i *R. schmidinarica* (žute točke) na području Hrvatske s prikazanom rasprostranjenosti vrste *R. hirticornis* u Europi (plavo polje) i *R. schmidinarica* u Europi (zeleno polje) prema Graf i sur. (2019) s označenim ekoregijama prema Illies (1967, 1978) (crna slova s bijelim obrubom).

### 5.1.7. Filogenetski odnosi vrsta roda *Chaetopteryx* Stephens, 1829 prisutnih u Hrvatskoj

Rezultati analize filogenetskih odnosa unutar roda *Chaetopteryx* dobiveni u ovom radu su u skladu s rezultatima rada Kučinić i sur. (2013). Razlika u odnosu na ovaj rad što u radu Kučinić i sur. (2013) nisu uvrštene *COI* sekvence vrste *C. papukensis* (CRMEB0103, CRMEB0104, CRMEB0102) koje je koautorica Szivák I. ustupila za potrebe ovog rada. U radu Oláh i sur. (2012) uzorke *Chaetopteryx* sp. prikupljene na izvoru Jankovac na Papuku te na izvoru Šumetlica na Psunju imenuju kao novu endemsku vrstu *C. papukensis* Oláh & Szivák 2012. Potom u radu Oláh i sur. (2015) vrste *C. papukensis* s lokacije Šumetlica na Psunju preimenuju u novu endemsku vrstu *C. psunjensis* Oláh 2015. Malicky (2014) osporava vrstu *C. papukensis* smatrajući da se radi o vrsti *C. schmidi*. Morfološkom usporedbom te DNA analizom Malicky (2014) je utvrdio da su *C. papukensis* i *C. schmidi* pripadaju jednoj vrsti. Malicky (2015) navodi kako je malo vjerojatno da na istom lokalitetu postoji više vrsta *Chaetopteryx* s obzirom da je među njima, kao mladim vrstama, moguća hibridizacija. Oláh i

sur. (2012) smatraju da postoje miješane populacije ili populacije gdje dolazi do međusobnog parenja svojti *Chaetopteryx* i kao jedan od primjera koezistencije navodi populacije vrsta *C. schmidi* i *C. papukensis* na Psunju.

Prema DNA barkod regiji primjerci iz ove studije morfološki određenih kao *C. schmidi* (TCSH\_1, TCSH\_2) sa Papuka (Slika 35) i (TCPSU\_1f i TCPSU\_2m) sa Psunja se grupiraju s vrstom *C. rugulosa*. Rezultat nije u skladu s radom Oláh i sur. (2012) u kojem se navodi da je na Papuku prisutna vrsta *C. papukensis*, kao ni s radom Oláh i sur. (2012) kojim se smatra da je na Psunju prisutna vrsta *C. psunjensis*, niti s Malicky (2014) koji smatra da je na Papuku prisutna vrsta *C. schmidi*. Također, rezultati ovog rada pokazuju da se uzorci određeni kao *C. papukensis* (CRMEB0102, CRMEB0104, CRMEB0103) grupiraju s vrstom *C. schmidi* (CRSGE0102, CRSGE0101) iz Srbije, što je u skladu s Malicky (2014), ali nije u skladu s radom Oláh i sur. (2012) koji vrstu *C. papukensis* smatraju zasebnom. Analizom DNA barkod regije u ovom radu uočeno je da morfološki određene jedinke kao tri vrste u grupi B 1.3. (Slika 36), *C. schmidi* (Srbija, Rumunjska), *C. papukensis* (Hrvatska), *C. mecsekensis* (Hrvatska), imaju identične haplotipove. Ovaj rezultat je u skladu s morfološkim rezultatima Malicky (2014) koji je sinonimizirao *C. papukensis*, *C. mecsekensis* s Papuka s *C. schmidi*.

ABGD analiza kod inicijalne particije s maksimalnom vrijednosti intraspecifične udaljenosti od 0,01 sve uzorke vrste *C. rugulosa* svrstava u jednu grupu, hipotetsku vrstu (grupa 5, Slika 36). Kod inicijalne patricije 0,007, ABGD analiza uspijeva razdvojiti sve morfološki određene svojte osim primjeraka iz ovog rada morfološki određenih kao *C. schmidi* koji se grupiraju s jedinkama vrste *C. rugulosa* (Slika 36). Vrijednost nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti između *C. rugulosa* i primjeraka TCSCH\_1, TCSCH\_2, TCPSU\_1f i TCPSU\_2m (1,7%) je manja od interspecifične vrijednosti zabilježene kod tulara (2% *C. buhari/C. schmidi* Kučinić i sur. 2013, 3,19% Johanson, 2007). Ovako male interspecifične vrijednosti zabilježene su za 3' *COI* regiju kod vrsta roda *Ecclisopteryx* (*E. keroveci/E. ivkae* 1,6-2,7%), *Drusus* (1,40–2,51% Kučinić i sur. 2011). No za razliku od vrsta roda *Chaetopteryx*, kod navedenih vrsta roda *Ecclisopteryx* i *Drusus* je dobro definirana morfološka razlika među svojtima (pogotovo na razini ličinki u slučaju vrsta *E. keroveci* i *E. ivkae*) i često se radi o endemima određenog područja (gdje ne postoji mogućnost protoka gena) zbog čega se smatraju pravim vrstama. S druge strane rod *Chaetopteryx*, pa tako i vrste *Chaetopteryx rugulosa* i *C. schmidi* imaju veliku varijaciju u morfologiji genitalija mužjaka što je dovelo do čestih promjena taksonomskih razina (vrsta, podvrsta, grupa, klastera...) (Oláh i sur. 2012,

Malicky 2014, Oláh i sur. 2015). Ipak su molekularnim analizama na temelju mitohondrijskih (*COI*, DNA barkod regija) i jezgrenih (*EF-1 $\alpha$* , *wg*) biljega razdvojene pojedine svojte unutar roda *Chaetopteryx* (Szivák i sur. 2017). Prema Szivák i sur. (2017) definirane su vrste: *C. marinkovicae* (primjerci iz Hrvatske), *C. schmidi* (primjerci iz Rumunjske), *C. buhari* (primjerci iz Hrvatske), *C. irenae* (primjerci iz Slovenije), *C. clara* (primjerci iz Slovenije), *C. goricensis* (primjerci iz Slovenije), *C. meckensis* (primjerci iz Mađarske), *C. rugulosa* (primjerci iz Mađarske, Austrije i Hrvatske), *C. noricum* (primjerci iz Austrije). Szivák i sur. (2017) koriste iste primjerke svojti *Chaetopteryx* kao Kučinić i sur. (2013), ali u manjem broju. No ni jedno od navedenih istraživanja ne uključuje DNA sekvence primjeraka s Papuka i Psunja (primjerci CRMEB0103, CRMEB0104, CRMEB0102).

S obzirom na rezultate ovog rad, moguće je da kod vrsta roda *Chaetopteryx* dolazi do introgresije mitohondrijske DNA kao kod vrsta *Sericostoma personatum* i *S. flavicorne*. Morfološki dobro definirane vrste *S. personatum* i *S. flavicorne* nije moguće razdvojiti na temelju mitohondrijskih biljega (pa tako i *COI*, DNA barkoda), s obzirom da obje vrste imaju visoko diferencirane haplotipove koji su posljedica introgresije (Weigand i sur. 2017). Da bi utvrdili u kakvom su odnosu primjerci s Papuka i Psunja s ostalim primjercima roda *Chaetopteryx* potrebno je napraviti dodatne molekularne biljege.

#### 5.1.8. Osvrt na vrste iz roda *Potamophylax* Wallengren, 1891 u Hrvatskoj

Rod *Potamophylax* u Hrvatskoj zastupljen je s vrstama: *Potamophylax latipennis* (Curtis, 1834), *P. luctuosus* Piller & Mitterpacher, 1783, *P. nigricornis* (Pictet, 1834), *P. pallidus* (Klapalek, 1899), *P. rotundipennis* (Brauer, 1857) te *P. cingulatus* Stephens, 1837 čiji nalaz u Hrvatskoj nije siguran (Marinković-Gospodnetić 1979, Mladinov 1980, Kučinić 2002, Previšić i sur. 2007, Previšić i Popijač 2010, Previšić i sur. 2010).

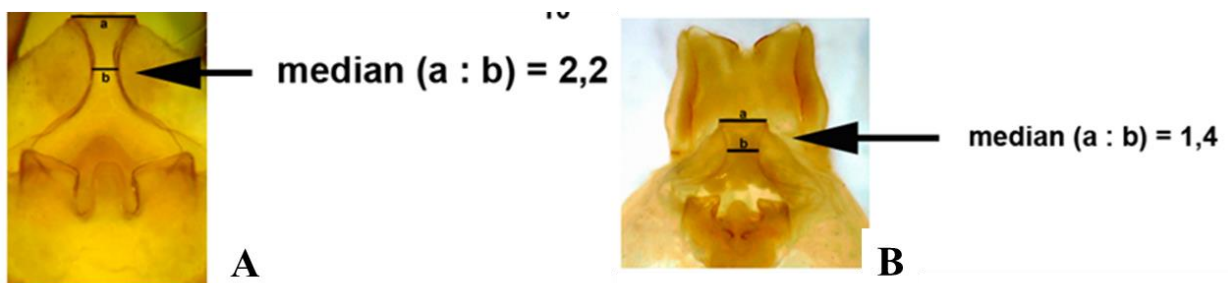
Prvi upitni nalaz vrste *P. cingulatus* pohranjen je u Hrvatskom prirodoslovnom muzeju u Zagrebu. Primjerak je prikupila Lidija Mladinov na rijeci Kupi na graničnom području Hrvatske i Slovenije bez navoda točne lokacije (Mladinov 1980). S obzirom na široki areal vrste *P. cingulatus* (zabilježena je u svim ekoregijama u Europi prema Illies 1967, 1978) očekivan je nalaz u Hrvatskoj. Ovim radom morfološki određen primjerak *P. cingulatus* TPCIN\_1 s potoka Šumi, potvrđen je i metodom DNA barkodiranja. Rezultati filogenetske analize u ovom radu u skladu su s rezultatima rada Gíslason i sur. (2015) koji su uočili da se

*P. cingulatus* odvaja u tri glavne genetske linije. Tri glavne genetske linije vrste *P. cingulatus* prema Gíslason i sur. (2015) čine: Atlantska linija (koja obuhvaća Španjolsku, Norvešku, Finsku, Island, Belgiju, Sjedinjene Američke države i Njemačku), srednjeeuropska linija (obuhvaća Austriju, Češku, Njemačku) i mediteranska, južna linija (Francuska i Italija). Primjerak *P. cingulatus* iz Hrvatske pripada srednjeeuropskoj liniji s uzorcima iz Austrije i Njemačke. Južna linija (Francuska i Italija) se prva odvaja od ostalih primjeraka vrste *P. cingulatus* (u razdoblju od prije 1,8–5,1 milijuna godina, Gíslason i sur. 2015). Zanimljivo je da primjerci *P. cingulatus* s drugog kontinenta, Sjeverne Amerike, pokazuju malu genetsku raznolikost da su sličniji *P. cingulatus* u Europi nego što su to Europski međusobno (npr. *P. cingulatus* iz Španjolske i *P. cingulatus* iz Francuske). Moretti, Szczesny i Tobias su 1994. godine opisali četiri podvrste *P. cingulatus* na temelju morfologije genitalija mužjaka. Navedene četiri podvrste *P. cingulatus* su: *P. cingulatus cingulatus* koja je rasprostranjena na Sjeveru i Zapadu Europskog kontinenta, *P. cingulatus ibericus* Szczesny, 1994 rasprostranjena u Španjolskoj i Portugalu, *P. cingulatus alpinus* Tobias, 1994 rasprostranjena u Alpama i *P. cingulatus depilis* Szczesny, 1994 rasprostranjen u Karpatima. Ova podjela se djelomično podudara s rezultatima filogenije temeljene na *COI* genu iz ovog rada i rada Gíslason i sur. (2015). Uzorci morfološki određeni kao *P. cingulatus alpinus* svrstali su se u srednjoeuropsku genetsku liniju, ne razlikujući se od uzoraka određenih kao vrsta *P. cingulatus* iz istog geografskog područja. Oláh i sur. (2018) podvrsti *P. cingulatus alpinus* daju status vrste *P. alpinus* Tobias, 1994 stat. nov., podvrsti *P. cingulatus depilis* daju status vrste *P. depilis* Szczesny, 1994, stat. nov., podvrsti *P. cingulatus ibericus* daju status vrste *P. ibericus* Szczesny, 1994 stat. nov. Prema Oláh i sur. (2018) navedene vrste roda *Potamophylax* rasprostranjene su: *P. alpinus* rasprostranjena je u Češkoj, Italiji, Francuskoj, Sloveniji, vrsta *P. cingulatus* rasprostranjena je u Češkoj, Francuskoj, Engleskoj, Norveškoj, Španjolskoj, vrsta *P. depilis* rasprostranjena je u Albaniji, Bosni i Hercegovini, Bugarskoj, Hrvatskoj, Mađarskoj, Kosovu, Crnoj Gori, Poljskoj, Rumunjskoj, Slovačkoj, vrsta *P. ibericus* rasprostranjena je u Španjolskoj. Predložene promjene taksonomskog statusa nisu prihvaćene kod drugih taksonoma (npr. Karaouzas i sur. 2019, Martínez i sur. 2016).

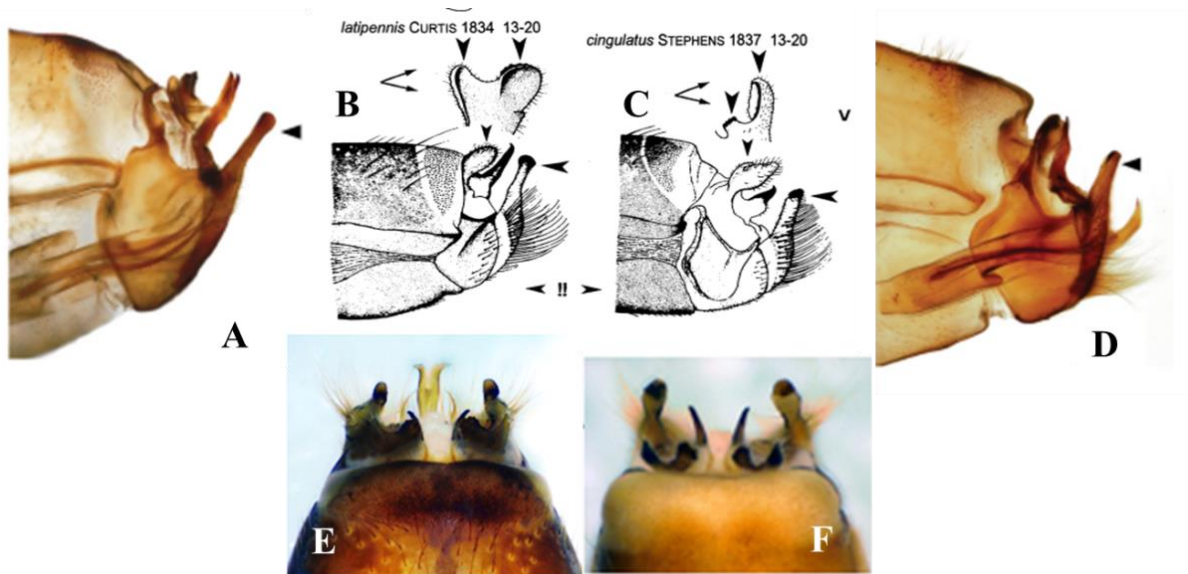
Sličnu raspodjelu genetskih linija kao što je zabilježeno za vrstu *P. cingulatus* pokazuje i vrsta *P. latipennis*, s razlikom što kod srednjoeuropske linije te sjevernoeuropske dolazi do odvajanja u više linija. Srednjoeuropska linija odvaja se u jednu liniju *P. latipennis* iz Austrije i Češke te u drugu liniju *P. latipennis* iz Njemačke i Češke. Sjevernoeuropska linija se odvaja u jednu liniju *P. latipennis* iz Švedske, Norveške i Velike Britanije te u drugu liniju *P.*

*latipennis* iz Finske dok se jedan primjerak *P. latipennis* iz Španjolske odvaja u zasebnu liniju. Kod vrste *P. latipennis* javlja se još jedna linija iz Rumunjske. Primjerci morfološki određeni kao *P. latipennis* (TPLAT\_1, TPLAT\_2, TPLAT\_3, TPLAT\_4, TPROT\_2) iz Hrvatske nisu se grupirali s primjercima te vrste već s vrstom *P. cingulatus* (Slika 39 1. dio).

Vrijednosti nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti između primjeraka TPLAT\_1, TPLAT\_2, TPLAT\_3, TPLAT\_4 i TPROT\_2 (det. *P. latipennis*) i jedinki vrste *P. latipennis* iz Europe (5,8-11,2%) kao i genetskih udaljenosti između TPLAT\_1, TPLAT\_2, TPLAT\_3, TPLAT\_4 i TPROT\_2, *P. latipennis* i jedinki vrste *P. cingulatus* iz Europe (5,4-9,7%) nadmašuje intraspecifične vrijednosti zabilježene kod vrste *P. nigricornis* (1,71%, Morinière i sur. 2017). Ova genetska udaljenost je u rangu interspecifičnih vrijednosti zabilježenih kod tulara (npr. *Drusus melanchaete* 6,4%, Waringer i sur. 2008; *Anisogamus waringeri* 8,2%, Graf i sur. 2015). Morfološko razlikovanje vrsta *P. cingulatus* i *P. latipennis* zahtjevno je čak i kad se determinacija radi prema genitalijama mužjaka (Slika 73). Morfološko određivanje prema genitalnom aparatu ženke je teško ili gotovo nemoguće (Slika 72). ABGD analiza nije razdvojila ove dvije vrste i svrstala ih je u jednu zajedničku grupu, potencijalnu vrstu. Obje vrste imaju istu geografsku rasprostranjenost i nalazimo ih na istim staništima. Primjerci TPLAT\_1, TPLAT\_2, TPLAT\_3, TPLAT\_4 i TPROT\_2, morfološki određeni kao *P. latipennis* kao i ostali primjerci vrste *P. latipennis* iz ovog rada, koji nisu uključeni u molekularne analize, prikupljeni su na izvorišnim dijelovima tekućica bez iznimke. Rezultati ovog rada temeljeni na genu za *COI* (DNA barkod regiji) u ovom radu sugeriraju da se radi o jednoj vrsti *P. cingulatus/latipennis* s nekoliko podvrsta, no za konačan zaključak bi trebalo provjeriti filogenetske odnose na temelju većeg broja gena s naglaskom na jezgrine gene) i detaljno proučiti morfologiju s ciljem pronalaska značajnih karakteristika.



Slika 72. A-B. Ventralni izgled genitalnog aparata ženke A - *P. latipennis*, B - *P. cingulatus* (Tobias i Tobias 2008).



Slika 73. A-F. Prikaz genitalnog aparata mužjaka vrsta iz roda *Potamophylax*: A - lateralni izgled *P. latipennis* (Martínez i sur. 2016), B – crtež genitalnog aparata *P. latipennis* (Malicky 2004), C - crtež genitalnog aparata *P. cingulatus* prema ključu (Malicky 2004), D - lateralni izgled *P. cingulatus* (Martínez i sur. 2016), E – dorzalni izgled *P. latipennis* (Tobias & Tobias 2008), F - dorzalni izgled *P. cingulatus* (Tobias i Tobias 2008).

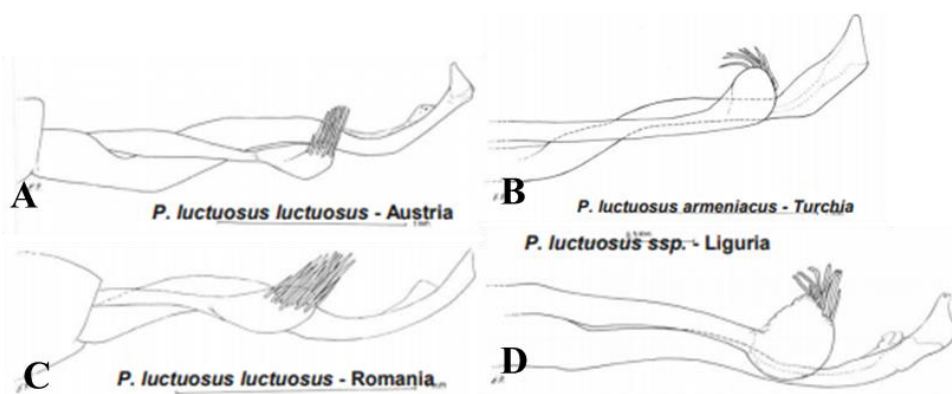
Kod vrste *P. nigricornis* uočavamo odvajanje primjeraka TPNIG\_1 iz Hrvatske i Austrije od *P. nigricornis* iz Njemačke, Češke, Estonije, Belgije, Norveške i Finske. ABGD analiza svrstava sve primjerke *P. nigricornis* u istu grupu, hipotetsku vrstu (Slika 39 2. dio). Između primjeraka vrste *P. nigricornis* uočavaju se visoke vrijednosti nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti. Genetska udaljenost vrsta *P. nigricornis* iz Austrije i Hrvatske naspram primjeraka iz ostalih Europskih država iznosi 6,6% što je u rasponu interspecifičnih vrijednosti zabilježenih kod Limnephilidae 3,46-12,66% (Zhou i sur. 2010), no ipak unutar intraspecifičnih vrijednosti zabilježenih kod nekih tulara (8% Graf i sur. 2015, 7% Barcelos-Silva i sur. 2018). Za sada, prema literaturnim podacima, nije zabilježena razlika u morfologiji kod europskih populacija vrste *P. nigricornis*. Oláh i sur. (2013) ukazuju da na temelju morfologije se može uočiti kriptični diverzitet unutar vrste *P. nigricornis* grupe i opisuju velik broj novih svojti. Oláh i sur. (2013) kod vrsta *P. nigricornis* iz različitih dijelova Europe bilježe stabilnu strukturu genitalnog aparata.

Unutar vrste *P. pallidus* dolazi do odvajanja primjeraka iz Hrvatske (TPPAL\_1, TPPAL\_4, TPPAL\_5) i HMTRI418-09 iz Grčke. ABGD analiza rezultira razdvajanjem populacija *P. pallidus* u dvije grupe, potencijalne vrste. Genetska razlika između *P. pallidus* TPPAL\_1, TPPAL\_4, TPPAL\_5 i *P. pallidus* HMTRI418-09 iznosi 10,5-10,9% što je jednako



minimalnim interspecifičnim vrijednostima između vrsta roda *Potamophylax* analiziranim ovim radom i više od maksimalnih intraspecifičnih vrijednosti zabilježenih kod tulara (8,50% u Hogg i sur. 2009, 4,8% u Santos i sur. 2016b). Za sada ne postoje radovi koji navode morfološke razlike unutar europskih populacija vrste *P. pallidus*, niti su na primjercima iz ovog istraživanja uočene morfološke razlike.

Vrsta *P. luctuosus* dijeli se na dvije dobro podržane genetske linije: jednu liniju čine primjerci TPLUC\_1, TPLUC\_2 iz Hrvatske i Austrije dok drugu liniju čine primjerci iz Rumunjske i Njemačke. Isto grupiranje primjeraka iz Hrvatske i Austrije zabilježeno je i kod vrste *P. nigricornis* u ovom radu. ABGD analiza svrstava primjerke *P. luctuosus* iz Hrvatske i Austrije u jednu grupu, hipotetsku vrstu i primjerke iz Njemačke i Rumunjske u drugu grupu, hipotetsku vrstu (Slika 39 2. dio). Genetska udaljenost između *P. luctuosus* Hrvatska-Austrija i *P. luctuosus* Njemačka-Rumunjska je 12,8% što je najveća intraspecifična udaljenost zabilježena unutar vrsta roda *Potamophylax* korištenih u ovom radu. Ovako visoka vrijednost genetske udaljenosti je u rangu interspecifičnih vrijednosti zabilježenih kod tulara (12,8% kod *Apatania* u Salokannel i sur. 2010; 12,66% kod *Limnephilidae* u Zhou i sur. 2010). Lodovici i Valle (2013a) na kongresu ukazuju na različitu morfologiju muškog genitalnog aparata jedinki vrste *P. luctuosus* rasprostranjenih u Italiji, Turskoj, Rumunjskoj i Austriji smatrajući da se radi o podvrstama (Slika 74). U popisu faune tulara pokrajine Liguria u Italiji, Lodovici i Valle (2013b) ističu da su zamijetili morfološki drugačije primjerke *P. luctuosus* od poznatih, ali do sada nije objavljen znanstveni rad kojim se opisuju nove svojte unutar *P. luctuosus*.



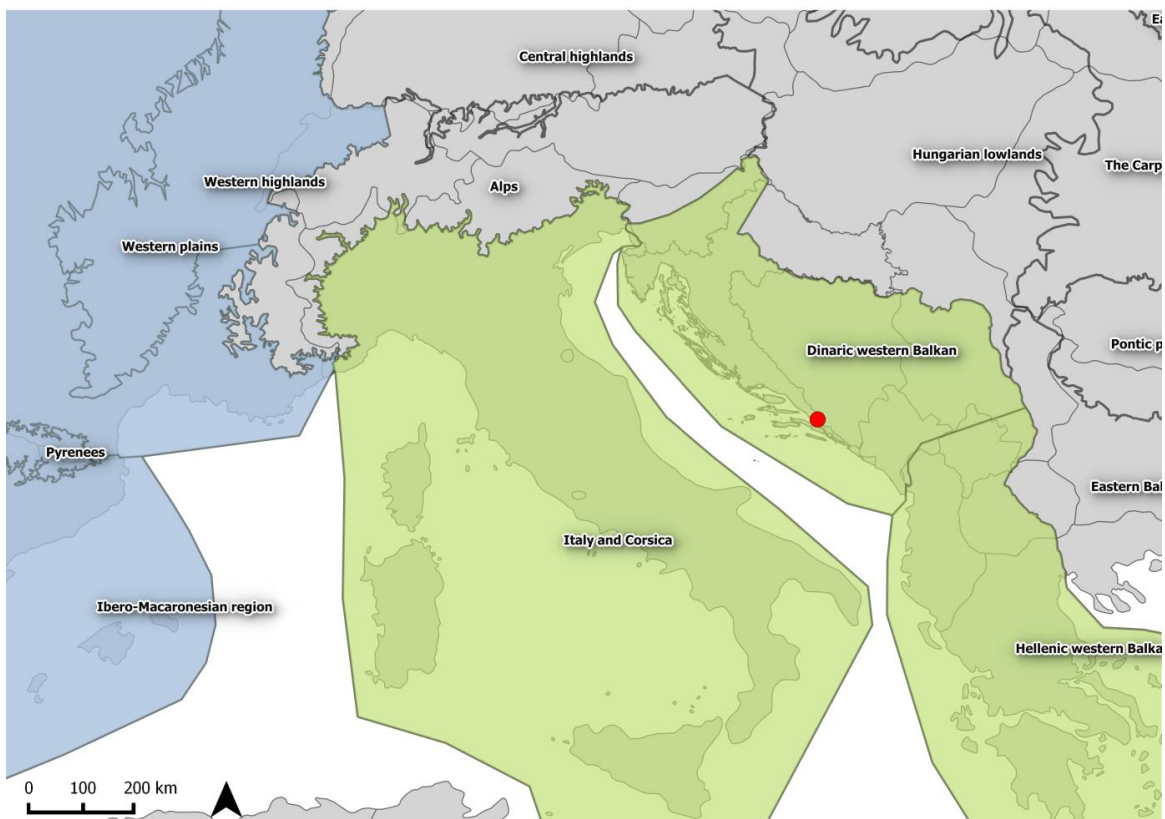
Slika 74. A-D. Lateralni izgled falusa genitalnog aparata mužjaka *P. luctuosus* prema Lodovici i Valle (2013a) rasprostranjenog u A – Austriji, B – Turskoj, C – Rumunjskoj, D – pokrajini Liguria, Italija.

Ovim radom uočene velike genetske razlike unutar pojedinih vrsta roda *Potamophylax* (npr. 10,9% unutar vrste *P. pallidus*, 12,8% unutar vrste *P. luctuosus*), odnosno duboke divergentne grupe unutar pojedinih vrsta. Također, ABGD analiza svrstava određene primjerke morfološki određene vrste roda *Potamophylax* u više hipotetskih vrsta (MOTUS). S obzirom da se rezultati temeljeni samo na jednom molekularnom biljegu, nije moguće donositi konačne zaključke. Rezultati visoke geneske divergentnosti na temelju jednog gena ponekad nisu točni (npr. slučaj vodenjaka *Ichthyosaura alpestris*, Recuero i sur. 2014) niti je nove vrste moguće znanstveno opisivati bez dijagnostičkih morfoloških karakteristika kako navodi Međunarodni kodeks zoološke nomenklature (eng. International Code of Zoological Nomenclature – ICZN, Ride 1999). Dakle, ovi rezultati usmjeravaju buduća istraživanja na određene vrste koje su se istaknule rezultatima analize na temelju gena *COI*, DNA barkod regije (npr. velikom genetskom udaljenosti, dubokom divergentnom linijom). DNA barkodiranje je prvenstveno osmišljeno kao metoda određivanja te kao alat koji će označiti svojte koje je potrebno detaljnije istražiti kao što je slučaj kod vrsta roda *Potamophylax* (Hubert i Hanner 2015). Za navedene istaknute vrste je moguće da predstavljaju kriptične vrste ili posjeduju neuočene morfološke razlike unutar pojedinih populacija i tako predstavljaju nove svojte. Iako se javlja sve veća potreba za brzim opisom novih vrsta, potrebno je zadržati znanstvenu objektivnost i zagovarati integrativni pristup u taksonomiji kako bi se pouzdanost otkrića temeljila na više podataka (Dayrat 2005).

#### **5.1.9. Taksonomski status podvrste *Triaenodes ochreellus lefkas*, Malicky 1974**

Primjerci TTOCL\_1 i TTOCL\_2 prema morfološkim karakteristikama sigurno pripadaju podvrsti *T. ochreellus lefkas* (Slika 40). S obzirom da u BOLD bazi ne postoje DNA sekvence *T. ochreellus lefkas*, navedeni primjerci uspoređeni su s vrstom *T. ochreellus ochreellus*, od koje se prema DNA barkodu značajno razlikuju. Iako su Europi prisutne 4 svojte roda *Triaenodes*: *T. bicolor* (Curtis, 1834), *T. ochreellus ochreellus* McLachlan, 1877, *T. ochreellus lefkas* Malicky, 1974 i *Triaenodes unanimitis* McLachlan, 1877, u Hrvatskoj je zabilježena samo podvrsta *T. ochreellus lefkas* (Malicky 2005, Kučinić i sur. 2015b). Podvrsta *T. ochreellus ochreellus* zabilježena je u ekoregijama (prema Illies, 1967, 1978): ER 1 Iberijsko-Makaronezijska, ER 2 Pirineji, ER 8 Zapadno visokogorje i ER 13 Zapadne ravnice dok je *T. ochreellus lefkas* u ekoregijama ER 3 Italija, Korzika i Malta, ER 5 Dinarski zapadni Balkan i ER 6 Helenski zapadni Balkan (Graf i sur. 2008, Slika 75). Prema navedenoj rasprostranjenosti dvije podvrste *T. ochreellus* jasno je da se radi o alopatrijskim podvrstama. Vrijednost nekorigiranih udvojenih genetske udaljenosti (p-udaljenosti) između ove dvije

podvrste iznosi 10,2%. Ovakva genetska udaljenost zabilježena je među različitim vrstama, odnosno u rangu je interspecifičnih vrijednosti (8,06-15,65% Johanson 2007, 8,05-21,7% Pauls i sur. 2010, 8,2%, Graf i sur. 2015). S obzirom na veliku genetsku udaljenost te alopatrijsku rasprostranjenost u odnosu na podvrstu, smatramo da se radi o dvije vrste *Triaenodes ochreellus* i *Triaenodes lefkas*. No formalnoj promjeni statusa vrste prethode detaljne morfološke analize i analize jezgrinih biljega. U slučaju *Triaenodes ochreellus* i *Triaenodes lefkas* potrebno je provjeriti koliko su navedene svojte morfološki promijenjene da bi predstavljale zasebne vrste te da li na nekom dijelu areala postoje populacije kod kojih dolazi do protoka gena ili su u potpunosti genetički odvojene. Dobar primjer opreza kod proglašavanja vrsta temeljem mitohondrijske DNA je nepostojeća (eng. ghost) mitohondrijska DNA (Wilson i Bernatchez 1998, Pinho i sur. 2008). Nadalje, da bi *Triaenodes lefkas* ili bilo koju drugu svojtu proglasili vrstom potrebno je minimalno još jedan jezgrin biljeg s obzirom da postoje primjeri neslaganja rezultata analiza nastalih na mitohondrijskom i jezgrinim biljezima (npr. Toews i Brelsford 2012).

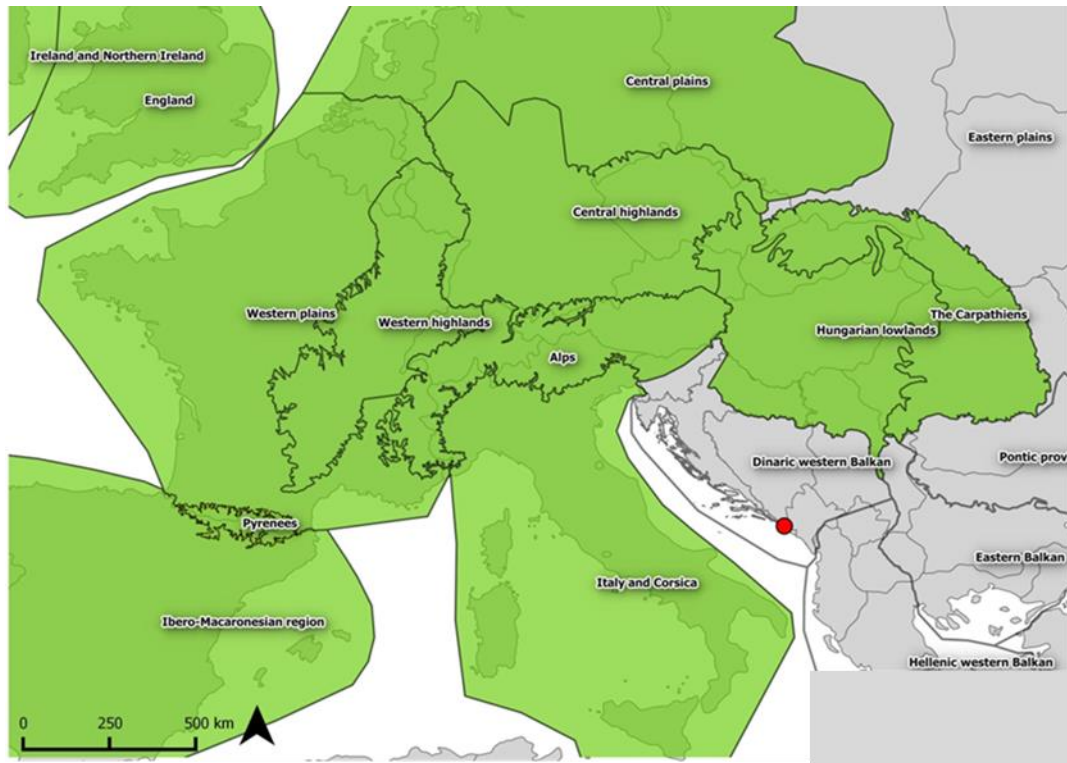


Slika 75. Prikaz rasprostranjenosti podvrste *T. ochreellus ochreellus* (plavo polje) i podvrste *T. ochreellus lefkas* (zeleno polje) u Europi prema Graf i sur. (2019) s nalazom *T. ochreellus lefkas* na području Hrvatske (crvena točka) te označenim ekoregijama prema Illies (1967,1978) (crna slova s bijelim obrubom).

### 5.1.10. Potencijalno nova vrsta za znanost iz roda *Agapetus* Curtis, 1834

Prema filogenetskoj analizi primjerci *A. cf. fuscipes*, Konavle se sa sigurnošću odvajaju se u zasebnu genetsku liniju. Ni jedna od metoda (NJ i ML, Slika 43) nije grupirala primjerke *A. cf. fuscipes*, Konavle s drugim vrstama roda *Agapetus* i *Synagapetus*. Začuđuje rezultat BOLD Identification Engine koji primjercima roda *Agapetus* iz Konavoskog polja kao najbližnju vrstu navodi *A. slavorum*, s obzirom da prema morfološkim značajkama muškog genitalnog aparata najviše sliči vrsti *A. fuscipes*, a znatno se razlikuje od vrste *A. slavorum*. No na filogenetskom stablu nije uočena povezanost *A. cf. fuscipes* i *A. slavorum* s obzirom da se primjerci obje vrste grupiraju u različite visoko podržane grupe. Također, vrste *A. cf. fuscipes* i *A. slavorum* pokazuju genetsku udaljenost koja je u rangu interspecifičnih vrijednost između promatranih vrsta roda *Agapetus* (iznosi 12,4%).

Primjerci *A. cf. fuscipes* na temelju rezultata morfoloških i molekularnih analiza ne pripadaju, drugim vrstama roda *Agapetus* čije DNA barkod sekvence nisu bile dostupne, s obzirom na lokaliziranu rasprostranjenost pojedinih vrsta roda *Agapetus* u Europi (endemi pojedinih ekoregija). Vrste *A. delicatulus* McLachlan, *A. laniger* (Pictet, 1843) i *A. ochripes* Curtis, 1834 su široko rasprostranjene u Europi i jedine koje su zabilježene u fauni Hrvatske (Vučković i sur. 2011, Cerjanec 2012, Previšić i sur. 2013a). Vrsta *A. fuscipes* zabilježena je u 12 ekoregija uključujući i ekoregiju ER 11 koja obuhvaća i teritorij Hrvatske (Graf i sur. 2008, 2019) (Slika 76). Vrsta *A. fuscipes* do sada nije zabilježena u fauni Hrvatske. Navedena baza (Graf i sur. 2008, 2019) ne navodi da je *A. fuscipes* zabilježena u Srbiji (Živić i sur. 2002), Rumunjskoj (Ujvárosi i sur. 2008), Makedoniji (rijeka Vardar, Georgijev 2003), i Bugarskoj (Chertoprud i Palatov 2017). Primjerak morfološki određen kao najbližiji vrsti *A. fuscipes* sa izvora Ljute u Konavlima prikupljen je u ekoregiji ER 5 u kojoj do sada nije zabilježena vrsta *A. fuscipes*.



Slika 76. Prikaz rasprostranjenosti *Agapetus fuscipes* (zeleno polje) u Europi prema Graf i sur. (2019) s nalazom *Agapetus* cf. *fuscipes* na području Hrvatske (crvena točka) te označenim ekoregijama prema Illies (1967, 1978) (crna slova s bijelim obrubom).

ABGD analiza rezultirala je odvajanjem *A. cf. fuscipes* u zasebnu grupu, potencijalnu vrstu. Vrijednost nekorigiranih udvojenih genetskih udaljenosti između primjeraka *A. cf. fuscipes* iz Konavala i primjeraka *A. fuscipes* iz Europe (13,6%) u rangu je interspecifičnih vrijednosti zabilježenih kod roda *Agapetus* analiziranih ovim radom (7,4-18,6%), kao i interspecifičnih vrijednosti kod porodice Glossosomatidae (11,47- 25,79% Zhou i sur. 2010) te interspecifičnih vrijednosti kod drugih tulara (8,06-16,65% Johanson 2007). Također, genetska udaljenost između *A. cf. fuscipes* iz Konavala i genetski najbližije vrste *A. slavorum* (12,4%), u rangu je interspecifičnih vrijednosti. Rezultati filogenetske analize temeljeni na genu *COI* nedvojbeno upućuju da primjerci *A. cf. fuscipes* iz Konavala ne pripadaju ni jednoj od analiziranih vrsta te da se radi o novoj vrsti u fauni Hrvatske, a moguće i novoj vrsti za znanost. Malicky (2004) navodi postojanje nekoliko varijacija u građi genitalnog aparata vrste *A. fuscipes*. S obzirom da nije provedena detaljna analiza morfoloških karakteristika nije moguće tvrditi radi li se o kriptičnim vrstama. Morfologija ličinki s lokaliteta u Konavlima ukazuju na postojanje morfoloških razlika u odnosu na vrstu *A. fuscipes*, no za sigurnu potvrdu potrebno je analizirati veći broj ličinki. Proglašavanje novih vrsta, ili novih molekularnih operativnih taksonomskih jedinica (eng. molecular operational taxonomic –

MOTU) isključivo na temelju DNA barkod regije, kao što je prije navedeno, nije moguće. Zaključno, da bi rezultati temeljeni na mitohondrijskom biljegu *COI* bili neosporno potvrđeni, potreban je integrirani pristup koji kombinira DNA barkod regiju s detaljnim morfološkim opisom svojte i analiza temeljena na većem broju molekularnih biljega u slučaju kriptičnih vrsta.

Navedena vrsta *A. cf. fuscipes* prikupljena je u Konavlima na izvoru rijeke Ljute što je u skladu s do sad zabilježenom biologijom vrste *A. fuscipes* koja preferira gornje tokove tekućica (Waringer i Graf 2011). Za pretpostaviti je da *A. cf. fuscipes* ima univoltan životni ciklus kao i *A. fuscipes* s obzirom da je izvor Ljute posjećivan više puta godišnje, a primjerci su zabilježeni i prikupljeni isključivo u travnju. Vrsta *A. fuscipes* česta je u Europskim tekućicama (Botosaneanu i Malicky 1978, Pitsch 1993, Robert 2001, Fischer 2003, Nijboer 2004) i predstavlja dominantnu vrstu u gornjim tokovima tekućica (Sandrock 1978, Wagner i Schmidt 2004). Kako u prijašnjim istraživanjima tako i ovim terenskim istraživanjem (koje je provedeno na većini vodenih staništa u Hrvatskoj po tri puta (172 lokaliteta), vrsta *A. cf. fuscipes* nije drugdje u Hrvatskoj zabilježena. Više puta su zabilježeni nalazi novih, izdvojenih vrsta na području Konavala koji predstavljaju endeme tog područja. Tako ovaj isti lokalitet, rijeka Ljuta u Konavlima, predstavlja tipski lokalitet za vrstu *Tinodes andrasi* koja od tada nije zabilježena nigdje drugdje (Oláh 2010). Drugi slučaj gdje se fauna tulara na području Konavala pokazala izdvojenom, jest nova vrsta iz ovog rada, *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Konavle. Od drugih životinja, u Konavlima nalazimo ribu koja je endem konavskog polja, miloradovog pijora (*Telestes miloradi*) (Bogutskaya i sur. 2012). Miloradov pijor se sve do nedavno (2015) smatrao izumrlom vrstom zbog antropogene izmjene staništa (Jelić i Jelić 2015). Moguće je da vrsta *A. cf. fuscipes* kao i vrsta *A. fuscipes* nije tolerantna na organsko zagađenje i promjenu hidrološkog režima te ima slabu mogućnost disperzije što ju čini iznimno osjetljivom vrstom (Nijboer 2004). Ukoliko je vrsta *A. cf. fuscipes* osjetljiva na promjene u okolišu kao i vrsta *A. fuscipes*, potrebno je istražiti ovu potencijalno novu vrstu, kako je ne bi zadesila sudbina miloradovog pijora.

## **5.2. Povezivanje mužjaka i ženki metodom DNA barkodiranja**

### **5.2.1. Povezivanje mužjaka i ženki vrste *Lepidostoma basale* Kolenati 1848**

Metoda DNA barkodiranja u ovom radu je omogućila pouzdano povezivanje ženke *Lepidostoma* sp. (TLBAS\_1) s mužjakom vrste *L. basale* (TLBAS\_2) s istog lokaliteta. Oba

primjerka su se grupirala s ostalim primjercima ove vrste, odvajajući se od primjeraka vrste *L. hirtum*. Kod roda *Lepidostoma* prevladava spolni dimorfizam gdje mužjaci imaju razvijene sekundarne spolne karakteristike (vidljive na pipalima donjih čeljusti, antenama, krilima, prvom paru nogu). Sekundarne spolne karakteristike mogu biti toliko raznolike i izražene da je čak prema njima moguće mužjake morfološki odrediti do razine vrste na temelju istih (Weaver 2002). S druge strane, ženke roda *Lepidostoma* rasprostranjene u Europi izgledaju slično (Malicky 2004). Metodom DNA barkodiranja moguće je povezati mužjake i morfološki neodređene ženke. Nakon sigurnog određivanja ženke *L. basale* slijedi traženje vrsno specifičnih morfoloških osobina i izrada ključa.

Prilikom faunističkih istraživanja fokus je na mužjacima jer se na taj način dobiva precizno određena vrsta. No baziranje raznolikosti faune isključivo na mužjacima može dovesti do previđanja, nekih vrsta, posebno rijetkih. U slučajevima kada je broj prikupljenih ženki veći od broja mužjaka može doći i do pogrešnih zaključaka o veličini populacije. Sličan problem s određivanjem ženki kod trzalaca (Diptera, Chironomidae) riješili su Ekrem i sur. (2010) upotrebom metode DNA barkodiranja. Bez upotrebe DNA barkodiranja ne bi mogli identificirati 27% ženki od prikupljenih uzoraka i time bi faunističko istraživanje izvora, temeljeno na morfologiji mužjaka, rezultiralo s 27% manjim bogatstvom vrsta. Problem određivanja isključivo mužjaka može dovesti do toga da se istraživanjem ne zabilježe vrste koje su isključivo ili fakultativno partenogenetske. Za takav slučaj u Finskoj gdje su prisutne tri vrste partenogenetskih tulara (*Apatania hispida* Forsslund 1930, *A. muliebris* McLachlan, 1866, *A. forsslundi* Tobias 1981) Salokannel i sur. (2010) su koristili metodu DNA barkodiranja. Zahvaljujući rezultatima DNA barkodiranja, iako suočeni s problemima u identifikacijskom ključu „Atlas of European Trichoptera“, uspjeli su sa sigurnošću utvrditi koje su vrste roda *Apatania* rasprostranjene u Finskoj. Metoda DNA barkodiranja potvrdila je morfološko određivanje i omogućila Salokannel i sur. (2010) izradu detaljnog i pouzdanog ključa za određivanje vrsta *Apatania* rasprostranjenih u Finskoj.

### **5.2.2. Povezivanje mužjaka i ženki vrste *Rhyacophila schmidinarica* Urbanič, Krušnik & Malicky 2000**

Metoda DNA barkodiranja je uspješno povezala ženku TRSCH\_4 *Rhyacophila* sp. s morfološki određenim mužjakom vrste *R. schmidinarica* TRSCH\_3 s istog lokaliteta. Ženka TRSCH\_4 nedvojbeno pripada vrsti *R. schmidinarica*, s obzirom da ima identičan haplotip kao i mužjak TRSCH\_3 vrste *R. schmidinarica*, dok se oba primjerka razlikuju 0,3% od

ostalim mužjaka ove vrste iz Hrvatske što je u rangu intraspecifičnih vrijednosti zabilježenih kod tulara (1,54%; Zhou i sur. 2010, 4,8%; Santos i sur. 2016b). Uspješnost u povezivanju mužjaka i ženki tulara pomoću mitohondrijskog biljega *COI*, DNA barkod regije, dokazali su i prijašnja istraživanja. Johanson i sur. (2007) kod vrsta roda *Xanthochorema* potvrđuju rezultate povezivanja spolova DNA barkod metodom s rezultatima na temelju mitohondrijskog biljega *16S* rRNA.

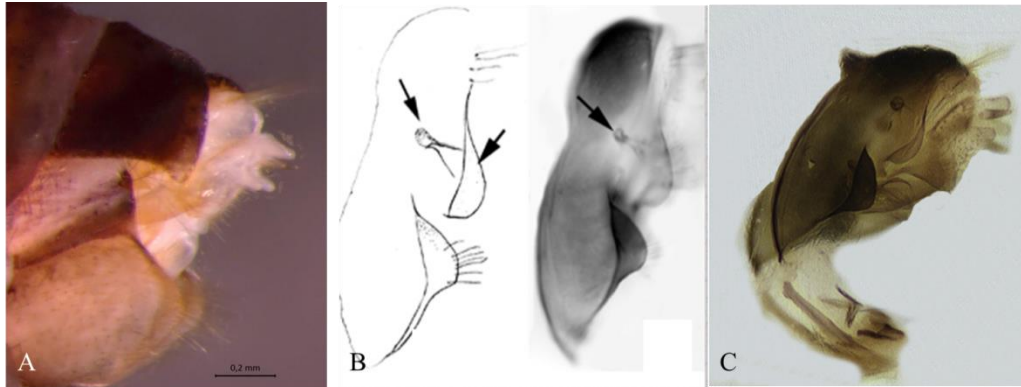
Prilikom opisa nove vrste *Rhyacophila schmidinarica* Urbanič i sur. 2000 daju jednostavan morfološki opis ženke ove vrste i crtež kako bi se mogla razlikovati od vrste *Rhyacophila hirticornis*. U referentnom identifikacijskom ključu izdanom nakon objave opisa vrste „Atlas of European Trichoptera“ (Malicky 2004), ne nalazimo navedeni crtež. Moguće je da crtež genitalnog aparata ženke nije omogućio precizno razlikovanje ženki vrste *R. schmidinarica*, pa stoga nije uvršten u navedeni identifikacijski ključ.

### **5.2.3. Povezivanje mužjaka i ženki *Hydropsyche angustipennis* Curtis 1834 i potvrda nove vrste *Hydropsyche bulbifera* McLachlan, 1878 u fauni Hrvatske**

Unatoč postojanju literature (Neu i Tobias 2004) determinacija ženki u rodu *Hydropsyche* vrlo često je problematična ili čak nemoguća zbog često jako malih morfoloških razlika među vrstama. S obzirom da su vrste roda *Hydropsyche* široko rasprostranjene i često čine većinu biomase u uzorcima iz tekućica, a imaju širok raspon tolerancije na zagađenje postoji velika potreba za određivanjem ženki do razine vrste (Graf i sur. 2008, 2019, Moog 2002). Ovim radom je povezana ženka THANG\_2 *Hydropsyche* sp. s mužjakom THANG\_3 vrste *H. angustipennis* korištenjem metode DNA barkodiranja. Ženka *Hydropsyche* sp. grupirala se s visokom pouzdanošću s mužjakom vrste *H. angustipennis* s istog lokaliteta te s ostalim mužjacima vrste *H. angustipennis*. Sve vrste roda *Hydropsyche*, analizirane ovim radom, jasno su razdvojene u visoko podržane monofiletske grupe. Također, vrijednosti nekorrigiranih udvojenih genetskih udaljenosti potvrđuju taksonomsko određivanje ženke THANG\_2 kao vrste *H. angustipennis*. Genetska udaljenost između ženke THANG\_2 i *H. angustipennis* (0-1,7%) u rangu je intraspecifičnih vrijednosti zabilježenih kod porodice Hydropsychidae (0-5,25% Zhou i sur. 2010), vrste *H. instabilis* (6,42% Morinière i sur. 2017). Minimalna genetska udaljenost između ženke THANG\_2 i drugih vrsta roda *Hydropsyche* (izuzev *H. angustipennis*) korištenih u ovoj analizi (11,7%) je u rangu interspecifičnih vrijednosti zabilježenih kod porodice Hydropsychidae 11,47% Zhou i sur. 2010). Do sada nije korištena metoda DNA barkodiranja za povezivanje ženke s mužjacima roda *Hydropsyche*. Oblik



*clasper receptacle* kod ženki može biti strukturiran te informativan za formalni opis i kasnije morfološko određivanje ženki roda *Hydropsyche* (Neu i Tobias 2004). Stoga, nakon asocijacije mužjaka i ženke roda *Hydropsyche* metodom DNA barkodiranja postoji mogućnost izrade determinacijskog ključa na temelju morfologije ženki ukoliko se struktura genitalnog aparata pokaže informativnom (Slika 77).



Slika 77. Lateralni izgled genitalija ženke vrste *Hydropsyche angustipennis*: A – primjerak THANG\_2 iz Hrvatske, B i C – genitalije ženke s naznačenim *clasper receptacle* (Tobias & Tobias 2008).

Rezultati filogenetske analize vrsta roda *Hydropsyche* rasprostranjenih u Hrvatskoj su u skladu s dosadašnjim istraživanjima. Da su vrste *H. ornatula*, *H. bulgaromanorum* i *H. guttata* blisko srodne pokazuje i grupiranje navedenih vrsta u radu Geraci i sur. 2011 u filogenetskoj analizi temeljenoj na genu *COI*, DNA barkod regiji. Srodnost vrste *H. incognita* i *H. pellucidula* u skladu je s radom Geraci i sur. (2011) gdje se *H. pellucidula* grupira s vrstama *H. incognita* i *H. botosaneanui* Marinković-Gospodnetić, 1966. Nadalje, u ovom radu uočeno je odvajanje pojedinih genetskih linija unutar vrste *H. instabilis* što bilježe i Zamora-Muñoz i sur. (2017) unutar te vrste rasprostranjene na Iberijskom poluotoku. Rezultati DNA barkodiranja potvrdili su morfološki određene vrste *H. bulbifera* koja do sada nije bila zabilježena u fauni Hrvatske. BOLD Identification Engine odredio je primjerke THBUL\_1 i THBUL\_3 kao 100% slične vrsti *Hydropsyche bulbifera* što je potvrđeno grupiranjem primjeraka THBUL\_1 i THBUL\_3 odvojeno od drugih vrsta roda *Hydropsyche* analiziranih u radu.

### **5.3. Povezivanje odraslog i ličinačkog stadija, metodom DNA barkodiranja**

#### **5.3.1. Povezivanje odraslog i ličinačkog stadija vrste *Glossosoma discophorum* Klapalek, 1902**

Povezivanje odraslog i ličinačkog stadija tulara pokazalo se uspješnim koristeći metodu DNA barkodiranja (npr. Zhou i sur. 2007, 2009; Burington 2011, Ruitter i sur. 2013, Shackleton i Webb 2013, Graf i sur. 2015, Torii i Nakamura 2016). Do sada je napravljeno pouzdano povezivanje odraslog i ličinačkog stadija tulara korištenjem drugih molekularnih biljega (npr. korištenje 3' regiju gena *COI*: Waringer i sur. 2008, Kučinić i sur. 2010, Kučinić i sur. 2015, Kučinić i sur. 2016, Waringer i sur. 2016). Kao i navede metode, DNA barkodiranje se pokazalo kao još jedna pouzdana metoda, što potvrđuju i rezultati ovog rada. Prednost korištenja DNA barkod regije pored drugih metoda jest postojanje referentne baze s većim brojem DNA sekvenci različitih svojti, tako da je lakše odrediti nepoznatu ličinku, pogotovo u slučajevima kada nisu prikupljeni adultni oblici ili ih nije moguće odrediti (npr. ženke za koje ne postoji ključ). U tom slučaju se DNA sekvenca nepoznate ličinke povezuje s DNA sekvencama u BOLD bazi (alat Identification Engine) (npr. Zhou i sur. 2009). Shodno tome, prednosti ovog pristupa ogledaju se u sve većoj upotrebi mitohondrijskog biljega *COI*, tj. DNA barkod regije, za povezivanje različitih stadija tulara.

Ličinke tulara, uz ličinke vodencvjetova i obalčara, predstavljaju bitan element u biološkom monitoringu kvalitete slatkovodnih ekosustava (AQEM consortium, 2002, Barbour i sur. 1999). Raspon osjetljivosti tulara na promjene u okolišu (npr. hidromorfološke promjene, promjene količine organske tvari, promjene koncentracije otopljenog kisika, itd.) čini ih idealnim indikatorskim organizmima u slatkovodnim ekosustavima (Waringer i sur. 2013). Postojeći ključevi za određivanje ličinki nisu potpuni, npr. ključevi za određivanje jedne od najistraživanijih skupina tulara u Europi, potporodice Drusinae, pokrivaju samo 50% poznatih vrsta (Vitecek i sur. 2015). Taksonomski ključevi dominantno omogućuju određivanje široko rasprostranjenih vrsta, dok su vrste užeg areala ili endemske vrste manje zastupljene (Waringer i Graf 2011). Tako je veliki broj endema opisan s Balkanskog poluotoka na temelju mužjaka dok ličinke ostaju neopisane. Ako uzmemo u obzir da određivanje do razine vrste daje pouzdanije rezultate kvalitete vode, nego određivanje do više taksonomske razine (Humpesch i Fesl 2005), a postojeći ključevi nisu kompletni, za kvalitetan monitoring

potrebne su nam i molekularne metode. Kako se DNA barkod metoda pokazala pouzdanom u povezivanju poznatih adulta i nepoznate ličinke, primjena ove metode značajno će unaprijediti analizu makrozoobentosa. Rezultati napravljenih molekularnih analiza omogućiti će izradu kompletnih ključeva i bolje morfološko određivanje. Danas razvoj biološkog monitoringa ide u smjeru formiranja alternativnog sustava koji se temelji upravo na DNA barkodiranju, tzv. metabarkodiranju (Bohan i sur. 2017). Sustav koji bi znatno smanjio financijske troškove, ubrzao proceduru, bitno smanjio potrebu za dugotrajnim ljudskim radom (izolacijom i određivanjem velikog broja primjeraka, uz istovremeno poboljšanje taksonomske rezolucije). Navedeni biološki monitoring još je daleko od razvoja pouzdanog i standardiziranog sustav kakv se trenutno koristi (baziran na morfološkom određivanju) jer postoje brojni tehnički izazovi koje je potrebno riješiti. No, daljnji razvoj metoda sekvenciranja (NGS) i obrade podataka svakako idu u prilog metabarkodiranju kao standardiziranoj metodi biološkog monitoringa (Leese i sur. 2016, Bohan i sur. 2017).

Maksimalna vrijednost nekorigiranih genetskih udaljenosti između ličinke roda *Glossosoma* sp. TGDIS\_5 i vrste *G. discophorum* iznosi 0,6% što je u rangu zabilježenih intraspecifičnih vrijednosti kod roda *Glossosoma* (0,51-1,54% Zhou i sur. 2010). Ličinke vrste *G. discophorum* nisu morfološki opisane, te stoga nisu uvrštene u determinacijske ključeve. U dosadašnjim istraživanjima taksonomi su mogli odrediti do razine roda. Nakon što je filogenetska analiza sa sigurnošću potvrdila da primjerak TGDIS\_5 predstavlja vrstu *G. discophorum* slijedeći korak je pronalazak morfoloških karakteristika specifičnih za ovu vrstu i opis ličinke.

Rezultati filogenetske analize su osim povezivanja dva životna stadija tulara, ukazali na dva nepodudaranja s morfološkom određivanjem analiziranih primjeraka. Prvo neslaganje jest što se haplotip primjerka preuzet iz BOLD baze, BHMKK157-12, određen kao *G. neretvae* iz Crne Gore s visokom pouzdanošću grupira s vrstama *G. discophorum* iz Hrvatske. Haplotipovi TGNER\_1, TGNER\_2 *G. neretvae* uzoraka iz Bosne i Hercegovine grupiraju se unutar dobro podržane grupe jasno odvojene od *G. discophorum* grupe (u kojoj je primjerak BHMKK157-12) (Slika 52). Vrijednost nekorigirane genetske udaljenosti između BHMKK157-12 i *G. discophorum* iz Hrvatske (0,5-1,1%) je u rangu intraspecifičnih vrijednosti zabilježenih kod roda *Glossosoma* (0,51-1,54% Zhou i sur. 2010), dok vrijednost nekorigirane genetske udaljenosti između BHMKK157-12 i *G. neretvae* iz Bosne i Hercegovine, TGNER\_1, TGNER\_2 iznosi 7,2% što je u rangu interspecifičnih vrijednosti

zabilježenih kod tulara (6,4% Waringer i sur. 2008). Sličnu genetsku udaljenost pokazuju i *G. neretvae* iz Bosne i Hercegovine i *G. discophorum* iz Hrvatske (6,4-6,7%). Na izvoru rijeke Rude, pritoke Cetine, zabilježena je *G. neretvae* 2014. godine (Malicky 2014) i od tada nije zabilježena u fauni Hrvatske. Vrsta *G. neretvae* endem je rijeke Neretve, rasprostranjena u uskom području te rijeke oko grada Mostara (Stanić-Koštroman i sur. 2015). S obzirom da je *G. neretvae* endemska vrsta nalaz u Crnoj Gori je upućivao na vjerojatnu grešku u određivanju (primjerak BHMKK157-12). Na tipskom lokalitetu prikupljeni su primjerci vrste *G. neretvae* (leg. S. Stanić-Koštroman, R. Ćuk, I. Vučković, M. Kučinić). Kao što je prije navedeno, primjerci s tipskog lokaliteta *G. neretvae* (TGNER\_1 i TGNER\_2) nisu se grupirali s primjerkom BHMKK157-12, kao ni s primjercima određenim kao vrsta *G. discophorum* iz Hrvatske. Jasno je da jedinke određene kao vrsta *G. discophorum* iz Hrvatske odgovaraju crtežu u identifikacijskom ključu (Malicky 2004). Navedeno upućuje na zaključak da je primjerak BHMKK157-12 (Crna Gora) iz BOLD baze morfološki krivo određen, odnosno da pripada vrsti *G. discophorum*.

Prema ABGD analizi svi primjerci pripadaju istoj grupi, hipotetskoj vrsti. Genetska udaljenost unutar svih promatranih primjeraka *G. discophorum* (0,2-0,8%) u rangu je intraspecifičnih vrijednosti zabilježenih kod tulara (4,8% Santos i sur. 2016b). Prema ključu „Atlas of European Trichoptera“ (Malicky 2004), nije moguće odrediti ženke *G. discophorum*. DNA barkod metodom je potvrđeno da ženke TGDIS\_1 pripada vrsti *G. discophorum* s obzirom na visoko podržano grupiranje s drugim primjercima vrste *G. discophorum*.

Drugo uočeno neslaganje rezultata analize uočava se kod primjeraka TGKLO\_3a s Kosova i KJTRI110-13 iz Bugarske morfološki određeni kao vrsta *G. klotho* koji se grupiraju s visokom podržanošću sa primjerkom TGBIF\_1 iz Hrvatske morfološki određenim kao vrsta *G. bifidum*. Navedena grupa (TGKLO\_3a, KJTRI110-13, TGBIF\_1) odvaja se od primjerka KJTRI029-13 iz Italije morfološki određenim kao vrsta *G. bifidum*. ABGD analiza svrstava sve navedene primjerke (morfološki određene kao *G. bifidum* i *G. klotho*) u jednu grupu, hipotetsku vrstu (Slika 52). Genetska udaljenost između vrsta *G. klotho* (TGKLO\_3a, KJTRI110-13) i *G. bifidum*, TGBIF\_1 (0,5%) je u rangu intraspecifičnih vrijednosti zabilježenih kod roda *Glossosoma* (0,51-1,54% Zhou i sur. 2010). Jednake vrijednosti genetske udaljenosti zabilježene su između haplotipova vrste *G. klotho* (TGKLO\_3a, KJTRI110-13) i vrste *G. bifidum* (KJTRI029-13), što znači da je u rangu intraspecifičnih

vrijednosti. Genitalije mužjaka vrsta *G. bifidum* i *G. klotho* morfološki se dobro razlikuju što ne bi trebalo izazvati zabunu kod morfološkog određivanja (Ibrahimi i sur. 2016b).

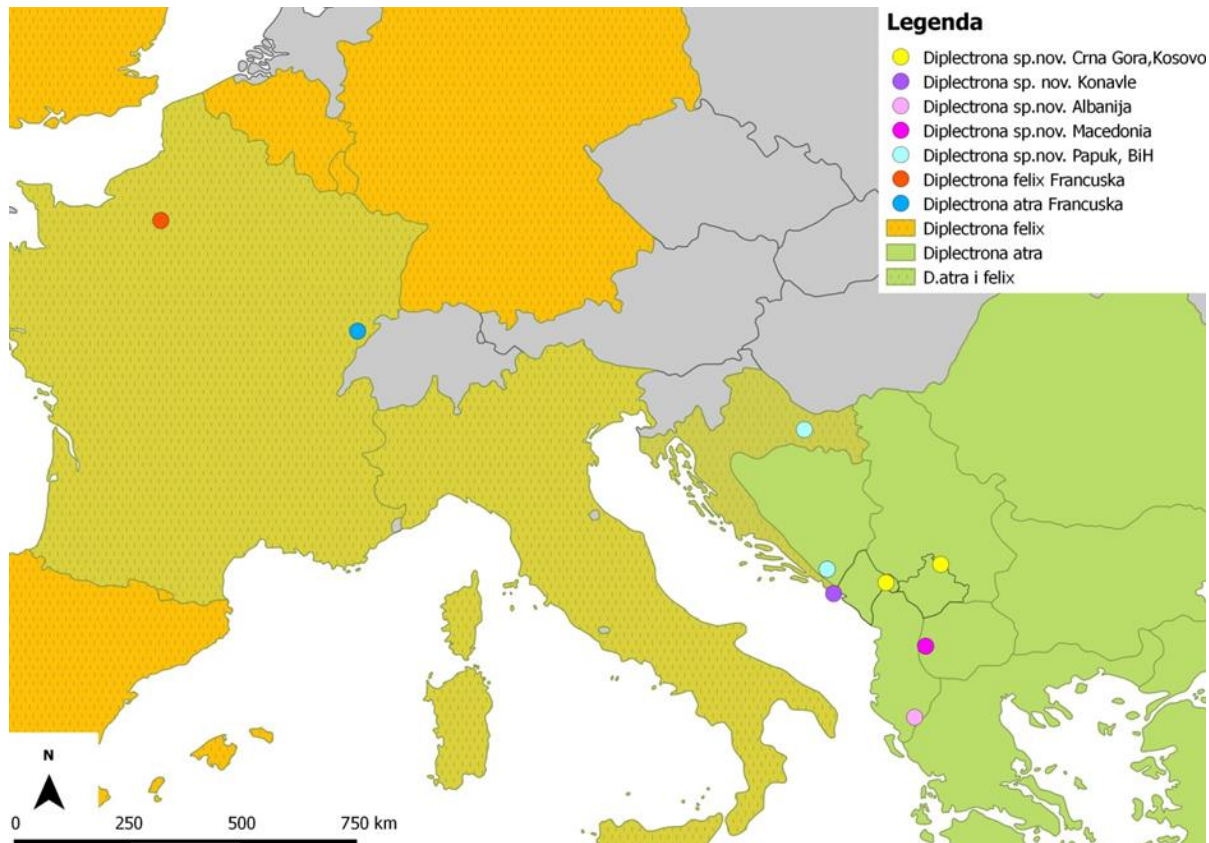
Za konačan i siguran zaključak potrebno je napraviti reviziju vrsta *G. discophorum*, *G. neretvae*, *G. bifidum*, *G. klotho* na način da se poveća broj uzoraka i proširi set molekularnih biljega. Moguće je da se radi o dobro definiranim vrstama koje se nisu mogle razdvojiti na temelju *COI* gena, kao posljedica introgresije. S obzirom da ženke ovih vrsta nisu opisane i teško se morfološki razlikuju daljnja istraživanja potrebno je nastaviti i na tom području.

#### 5.4. Otkrivanje kriptičnih vrsta metodom DNA barkodiranja

##### 5.4.1. Otkrivanje kriptičnih vrsta roda *Diplectrona* Westwood, 1839

Rod *Diplectrona* Westwood, 1840 pripada porodici Hydropsychidae. Rod je široko rasprostranjen i prisutan u svih sedam biogeografskih regija te za sada bilježi 142 vrste i podvrste (Graf i sur. 2019, Graf i sur. 2008). U Europi je zabilježeno devet vrsta roda *Diplectrona*: *Diplectrona atra* McLachlan, 1878, *D. felix* McLachlan, 1878, *D. juliarum* Grigorenko i Ivanov, 1991, *D. magna* Mosely, 1930, *D. meridionalis* Hagen, 1864, *D. moralesi* Schmid, 1952, *D. ripollensis* Tobias, 1972, *D. robusta* Martynov, 1934, *D. vairyra* Schmid, 1959 (Malicky 2004, Graf i sur. 2008, 2016). Od tih vrsta široko rasprostranjene su samo vrste *D. atra* i *D. felix* dok su ostale vrste endemi Iberijskog poluotoka, Korzike ili Kavkaza. Vrsta *D. vairyra* je osim u Iranu (Mirmoayed i Malicky 2002) pronađena samo još u Albaniji što upitan nalaz (Oláh i Kovács, 2013). Rezultatima ovog istraživanja rod *Diplectrona* u Europi bogatiji je s još pet novih vrsta. Svi molekularni biljezi (*COI*, *16S* rRNA, *CAD*, *wg*) i metode razgraničenja vrsta (p-distance, ABGD, \*BEAST) potvrdile su rezultate DNA barkod metode. Molekularne analize vrsta iz roda *Diplectrona* iz Hrvatske, Albanije, Kosova, Makedonije, Bosne i Hercegovine, Crne Gore i Francuska provedene u ovom radu, ukazali su na ukupno pet kriptičnih vrsta s arealom u navedenim zemljama (Slika 78). Od toga, dvije nove kriptične vrste zabilježene su u Hrvatskoj. Za primjerke iz dvije populacije s Papuka (Gospin izvor i Dubočanka) koji su prvobitno na temelju morfoloških značajki određeni kao *D. atra* pokazalo se da zapravo predstavljaju kriptičnu vrstu *Diplectrona* sp. nov. Papuk, Hrvatska-BiH, Sutjeska. Za populaciju s Konavala za koju je preliminarna analiza morfoloških značajki upućivala da pripada vrsti *D. felix*, također se pokazalo da predstavlja kriptičnu vrstu *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Konavle. Ostale populacije s Balkana za koje se prvobitno smatralo da pripadaju vrsti *D. atra*, pokazalo se da

predstavljaju dosad nezabilježene kriptične vrste: *Diplectrona* sp. nov. Makedonija (populacija iz Makedonije), *Diplectrona* sp. nov. Kosovo-Crna Gora (populacije iz Crne Gore te populacije s Kosova) i *Diplectrona* sp. nov. Albanija (populacije iz Albanije).



Slika 78. Prikaz rasprostranjenosti vrsta *D. atra* i *D. felix* prema Graf i sur. (2019) i Malicky (2013) (obojene površine) s mjestima uzorkovanja *Diplectrona* sp. korištenih u ovom istraživanju (predstavljeno točkama). Značenje boja označeno u legendi.

Minimalne nekorigitirane udvojene genetske udaljenosti u DNA barkod regiji između glavnih genetskih linija uočenih u ovom istraživanju iznose 9,0% (između *Diplectrona* sp. nov. Konavle i *Diplectrona* sp. nov. Kosovo-Crna Gora). Taj iznos premašuje minimalne nekorigitirane udvojene genetske udaljenosti u DNA barkod regiji između dvije vrste roda *Diplectrona*: *D. modesta* i *D. metaqui* (raspon udaljenosti od 7,5 do 13,7% - na temelju svih sekvenci trenutno dostupnih u Banci Gena). Nadalje, dosadašnje studije pokazale su da su intraspecifične genetske udaljenosti u DNA barkod regiji tulara uglavnom manje od 8%. Tako su npr. u svom istraživanju tulara nacionalnog parka Great Smoky Mountains iz 2011. godine, Zhou i sur. pokazali da 89% vrsta pokazuje intraspecifične genetske udaljenosti manje od 8% (Zhou i sur. 2010). Iako autori u radu ne definiraju vrijednost od 8% kao striktnu barkod prazninu za istraživane vrste tulara, napominju da je u slučajevima intraspecifičnih genetskih udaljenosti većih od 8% trenutno važeća taksonomija vjerojatno previdjela neke vrste. Pauls i

sur. (2010) pokazali su da barkod praznina u čileanskih vrsta roda *Smicridea* iznosi od 5,9% (maksimalna intraspecifična) do 8,05 % (minimalna interspecifična genetska udaljenost). Iako su u tulara zabilježene i intraspecifične genetske udaljenosti i do 12 % (Zhou i sur. 2007), sami autori navode da se u tim slučajevima vjerojatno radi o kompleksima morfološki kriptičnih vrsta. U istoj studiji minimalne interspecifične genetske udaljenosti bile su blizu 7%, dok je većina interspecifičnih bila u rasponu od 12 do 18%. Također, u tulara su zabilježeni i brojni primjeri taksonomski validnih vrsta s višestruko manjim vrijednostima udvojenih genetskih udaljenosti u DNA barkod regiji, npr. između *Agapetus walkeri* i *A. tomus*: 3,1 % (Zhou i sur. 2011). Dakle, vrijednosti udvojenih genetskih udaljenosti u području DNA barkod regije u rasponu od 9,0 do 15,5 % između 7 glavnih linija uočenih u ovoj studiji u rangu su ili premašuju tipične interspecifične genetske udaljenosti između taksonomski validnih vrsta tulara.

U ovom slučaju, kao što je već ranije zabilježeno u istraživanjima tulara (Pauls i sur. 2008), genetske razlike između linija u sporije evoluirajući nuklearnim genima znatno su manje izražene. Ipak, minimalne genetske udaljenosti od 1,0% u nuklearnom *wg* genu između uočenih genetskih linija *Diplectrona* u rangu su ili premašuju minimalne genetske udaljenosti zabilježene između nekih vrsta roda *Ecclisopteryx* (npr. između *E. guttulata* i *E. dalecarlica* 0,6-1,7%, između *E. guttulata* i *E. keroveci* 0,6-1,5%, Previšić i sur. 2014). Isto vrijedi i za nuklearni *CAD* gen. Genetske udaljenosti između vrsta iz iste porodice (Hydropsychidae) između *H. siltalai* i *H. yenisar* od 2,3% manje su nego genetske udaljenosti između *Diplectrona* sp. nov. s Papuka i svih ostalih uočenih genetskih linija.

Istraživanje slično ovom napravljeno je na vrstama roda *Diplectrona* na istoku Sjeverne Amerike. Harvey i sur. (2012) primijetili su veliku varijabilnost u morfologiji ličinki roda *Diplectrona* te povezali s prijašnjim istraživanjima koja sugeriraju da je *D. modesta* kompleks od nekoliko vrsta. Na temelju *COI* gena, DNA barkod regije, dobili su četiri genetski duboko divergentne grupe haplotipova koje pripadaju prije određenoj vrsti *D. modesta* i dvije duboko divergentne grupe haplotipova koje pripadaju prije određenoj vrsti *D. metaqui*. Ličinke promatranih američkih vrsta roda *Diplectrona* su pokazale značajne morfološke razlike koje su autori opisali. Za službeni opis novih vrsta, kao što i navode u radu, Harvey i sur. 2012 trebaju prikupiti adulte.

Uočena je genetska sličnost populacija *Diplectrona* sp. nov. iz Hrvatske s Papuka te Bosne i Hercegovine (područje Sutjeske) koje su geografski jako udaljene, u odnosu na vrste *Diplectrona* sp. nov. iz Konavla. Genetska razlika između vrsta *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Papuk-BiH, Sutjeska i *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Konavle (15,4%) je veća nego između *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Papuk-BiH, Sutjeska i *Diplectrona* sp. nov. Albanija (13,6%). Ovakve sličnosti između populacija u područjima Papuka te Bosne i Hercegovine bilježimo i kod drugih tulara. Takva dva primjera su geografska rasprostranjenost vrsta *Drusus schmidi* i *Ecclisopteryx keroveci*. Vrsta *D. schmidi* koja naseljava gornje dijelove gorskih i planinskih tekućica na nekoliko lokaliteta u Bosni i Hercegovini (Marinković-Gospodnetić 1979), Kosovu (Ibrahimi i sur. 2012b) i na području Papuka (Previšić i sur. 2013). Nalaz na području Papuka (potok Dubočanka, Previšić i sur. 2013) i u rijeci Veličanka prvi i jedini su nalazi ove vrste izvan područja dinarskog krša u prostoru panonsko-peripanskog područja (Bertić i sur. 2001). Vrsta *Ecclisopteryx keroveci* zabilježena je na Papuku u rijeci Veličanki (ovaj rad TED\_1, Vučković i sur. 2016) te planinskom dijelu Hrvatske (Čabranka, Kupa, Dretulja, Kupica, Belica, Vučković i sur. 2016), Bosni i Hercegovini, Crnoj Gori, Kosovu, Makedoniji (Previšić i sur. 2014, Vučković i sur. 2016). Vrsta *E. keroveci* nije rasprostranjena u mediteranskom dijelu gdje je rasprostranjena vrsta *E. ivkae*. I u slučaju vrste *E. keroveci* uočava se povezanost areala između Papuka te Bosne i Hercegovine. Možemo pretpostaviti da prirodnu barijeru predstavljaju planine Dinara i Kamešnica između Hrvatske i Bosne Hercegovine (Vučković i sur. 2016).

Biogeografska povijest nastanka vrsta *Diplectrona* analiziranih u ovom radu je okvirna s obzirom na mali broj primjeraka uključenih u analizu, te zbog nepotpunog seta primjeraka s cijelog areala vrsta *Diplectrona atra/felix* (Slika 55). No moguće je pretpostaviti da su određeni paleogeografski događaji koji su uvjetovali specijaciju drugih slatkovodnih organizama, utjecali na vrste roda *Diplectrona*. Procijenjeno vrijeme razdvajanja *D. felix* od ostalih vrsta roda *Diplectrona* prije 12,5-17,9 milijuna godina (mil. god.) slaže se s vremenom razdvajanja tulara vrste *Chaetopteryx marinkovicae* od *C. rugulosa* kompleksa vrsta (prije 12-14 mil. god., Szivák i sur. 2017), zatim riba svjetlica vrste *Telestes pleurobipunctatus* (Stephanidis, 1939)/*T. beoticus* (Stephanidis, 1939) linije (prije 15,9–13,8 mil. god., Buj i sur. 2017) te slatkovodnih rakova roda *Austropotamobius* Skorikov, 1907 (prije 11,98-26,70 mil. god., Jelić i sur. 2016, 8-17 mil. god. Klobučar i sur. 2013). Razdvajanje navedenih životinjskih svojti posljedica je Alpinske i Dinaridske orogeneze u miocenu (Rögl, 1998, Pavelić i Belak, 2008) koja je razdvojila sjevernu Europu i Balkan formiranjem planinske



barijere. Od kompleksa vrsta *D. atra*, prva se odvaja *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska Papuk-BiH, Sutjeska pri kraju srednjeg miocena prije 7,9-11,2 mil. god. U tom razdoblju slavonske planine (Papuk, Psunj, Krndija, Požeška i Dilj gora) predstavljaju uzvišenja, odnosno izolirane otoke okružene morem (Pavelić i sur. 2003). U razdoblju prije 6,5-9,2 mil. god. odvaja se *D. atra* od ostalih vrsta *Diplectrona* s Balkana kao i svjetlice *Telestes muticellus* (Bonaparte, 1837) prije 12,6–7,8 mil. god. (Buj i sur. 2017) koji kolonizira Apeninski poluotok s obzirom da se Slovenski koridor zatvara. U razdoblju prije 11,7 mil. god. dolazi do potpune izolacije Panonskog mora i podjele vrsta roda *Austropotamobius* u „zapadnu“ grupu koju čini vrsta bjelonogi rak *A. pallipes* (Lereboullet, 1858) i „istočnu“ koju čini vrsta rak kamenjar *A. torrentium* (von Paula Schrank, 1803) (Klobučar i sur. 2013). U razdoblju prije 5,5-5,3 mil. god. dolazi do stvaranja „Lago mare“, odnosno Sredozemno more se izolira od Atlantskog oceana (Krijgsman i sur. 1999). Razina mora pada jer se Sredozemno more isušuje. Na mjestima gdje se povuklo more stvaraju se slatkovodna jezera koja se pune kopnenim tekućicama, pa tako nastaje i Dinarski sistem jezera. Dolazi do tzv. Mesinske solne krize zbog skoro u potpunosti isušenog Mediteranskog bazena. U miocenu, prije 5,3-7,5 mil. god., odvaja se *Diplectrona* sp. nov. Albanija, a potom prije 4,3-6,3 mil. god. *Diplectrona* sp. nov. Makedonija slično kao i grupa svjetlica *Telestes karsticus*/*T. polylepis* i *T. turskyi*/*T. ukliva* (Buj i sur. 2017). U istom geološkom razdoblju razdvaja se bjelonogi rak *Austropotamobius pallipes* od ostale grupe rakova (Jelić i sur. 2016) kao i tulari grupe *Chaetopteryx schmidi* od *C. rugulosa* grupe (prije 5.9 mil. god., Szivák i sur. 2017). U vremenu prije 5,33 mil. god. Gibraltar se otvara i Atlantski ocean prodire u Mediteran, razina mora raste i prekida riječne tokove. More stvara barijeru među riječnim tokovima koji su do sada bili geografski bliži. U pliocenu prije 4,1 mil. god. odvaja se *Diplectrona* sp. nov. Hrvatska, Konavle kao i *T. miloradi*, endem Konavala (Buj i sur. 2017).

Brojne studije na području Zapadnog Balkana otkrivaju kriptične svojte u slatkovodnim ekosustavima (Grabowski i sur. 2017, Buj i sur. 2014., Klobučar i sur. 2013; Previšić i sur. 2009, 2014, 2016). Neka od navedenih istraživanja koriste DNA barkod regiju (Previšić i sur. 2016, Grabowski i sur. 2017) kako bi pridonijeli otkrivanju kriptičnih vrsta i Balkana kao vruće točke Europske bioraznolikosti (Gottstein-Matočec i sur. 2002, Banarescu 2004, Oikonomou i sur. 2014, Ivković i Plant 2015). Rezultati ovog rada doprinose spoznaji da je bioraznolikost na području Balkana još uvijek uvelike neistražena te naglašavaju potrebu za intenziviranjem istraživanja ovog područja i njegove istodobne zaštite. DNA barkod metoda se u ovom radu pokazala korisnom za otkrivanje kriptičnih vrsta i ubrzavanja procesa

određivanja kao što je i do sad bio slučaj kod kriptičnih vrsta tulara (Pauls i sur. 2010, Havery i sur. 2012, Wickson i sur. 2014).

## 5.5. Filogenetski odnosi tulara u Hrvatskoj na temelju DNA barkoda

### 5.5.1. Filogenetski odnosi tulara u Hrvatskoj na temelju DNA barkoda

Filogenija na temelju *COI* gena, DNA barkod regije, pokazala je rezultate sukladno važećoj filogeniji reda Trichoptera (Slika 60). Prema posljednjim filogenetskim istraživanjima važeća je podjela na podredove Annulipalpia, Integripalpia (unutar kojeg su Brevitentoria i Plenitentoria) te parafiletsku skupinu „Spicipalpia“ koja se grupira s Integripalpia (Kjer i sur. 2016, Zhou i sur. 2016). Utvrđena je monofilija Philopotamoidea, Hydropsychoidea (Kjer i sur. 2001), Psychomyioidea (Kjer i sur. 2016) unutar Annulipalpia, kako su pokazali i rezultati u ovom radu. Iste parafiletske porodice čine skupinu, nekad smatranu podredom, „Spicipalpia“ u ovom radu kao i u Kjer i sur. (2016) potkrepljenom s više molekularnih biljega. Podjela porodica unutar podreda Integripalpia na Brevitentoria i Plenitentoria istovjetna je kao i u (Kjer i sur. 2016). Iste rezultate za više taksonomske razine kao i ovom radu dobili su Zhou i sur. (2016) koji su filogeniju tulara temeljili isključivo na DNA barkod regiji, a pri tome su koristili velik set podataka (16 000 jedinstvenih haplotipova; 38 999 primjeraka koji čine 3 280 vrsta; Zhou i sur. 2016). Prije njih Hogg i sur. (2009) su testirali hoće li filogenija novozelandskih tulara, temeljena samo na *COI* genu, pokazati više taksonomske razine kao što su nadporodice i podredovi. Rezultati su ukazali samo na djelomično podudarenje s važećom filogenijom, no kako sami autori navode jedan od razloga je i mali broj uzoraka (105 primjeraka koji čine 61 vrstu).

U rezultatima filogenije iz ovog rada rodovi *Agapetus* i *Synagapetus* se odvajaju dok su u BOLD bazi grupirani zajedno. Grupiranje rodova *Synagapetus* i *Agapetus* u BOLD bazi posljedica je upotrebe krive nomenklature DNA sekvenci. Ukoliko se navedenim DNA sekvencama dodjeli ispravna taksonomska oznaka prema Morse (2019) rodovi *Synagapetus* i *Agapetus* se dobro razdvajaju (npr. vrsta *Agapetus krawanyi* je taksonomski ispravno *Synagapetus krawanyi*, *Agapetus dubitans* je taksonomski ispravno *Synagapetus dubitans*).

Grupiranje roda *Ecclisopteryx* s rodom *Drusus* u skladu je s dosadašnjim istraživanjima. Pauls i sur. (2008) bilježe grupiranje vrsta *E. dalecarlica*, *E. guttata*, *E. madida* s vrstama *D. discophorum*, *D. botosaneanui*, *D. balcanus*. Također, vrste *E. asterix*, *E. malicky* grupiraju se

s nekoliko vrsta rodova *Drusus* i *Metanoea* koristeći molekularne biljege 3' *COI*, *LSU*, wg. Previšić i sur. (2009) bilježe grupiranje *E. dalecarlica* s *D. schmidi* na temelju mitohondrijskih gena (3' *COI*, *16S* rRNA). Morfološke karakteristike vrsta rodova *Ecclisopteryx* i *Drusus* u podržavaju podjelu na dva roda, ali ne prema trenutno važećoj podjeli, dok se na temelju molekularnih rezultata ne bi mogli smatrati pravim rodovima. Dva sestrinska roda *Grammotaulius* i *Glyphotaelius* pokazala su se srodnima određenim vrstama roda *Limnephilus* što je u skladu s Vshivkova i sur. (2009), koja ih svrstava u tzv. grupu roda *Limnephilus* unutar podplemena *Limnephilina*, plemena *Limnephilini*. Vshivkova i sur. (2009) su filogeniju porodice *Limnephilidae* temeljili na morfologiji odraslih. Vshivkova i sur. (2009) smješta rod *Anabolia* unutar plemena *Limnephilini* dok se u rezultatima ovog rada pokazao srodniji rodu *Chaetopteryx*, koji pripada plemenu *Chaetopterygini*. Kolenati (1848) rod *Halesus* prikazuje sestrinskim rodu *Chaetopteryx* što je u skladu s rezultatima ovog rada.

Primjerci morfološki određeni kao vrsta *Halesus tessellatus* rezultirali su grupiranjem s vrstom *H. digitatus*. Razlog odstupanja određivanja putem DNA barkodiranja i morfologije pripisuje se pogrešci u morfološkom određivanju. Primjerci THTES\_4, THTES\_3, THTES\_1 pripadaju vrsti *H. digitatus*.

U ovom radu porodica *Goeridae* se pokazala monofiletska kao i u radu Holzenthal i sur. (2007). Odrasli primjerak TSIL\_1 morfološki određen kao *Silo pallipes* iz izvora Vrelo u Konavlima izdvaja se u zasebnu genetsku liniju od ostalih primjeraka vrste *S. pallipes*, što ukazuje na potrebu za daljnjim istraživanjem. Na navedenoj lokaciji je prikupljena ličinka koju nije bilo moguće odrediti, s obzirom da morfološki ne odgovara ni jednoj vrsti iz rodova *Silo* ili *Litax* zabilježenih u fauni Hrvatske. Nažalost, amplifikacija fragmenta gena *COI* navedene ličinke nije bila uspješna.

Porodica *Brachycentridae* se grupirala s porodicom *Phryganeidae*. Ovaj rezultat je u skladu s važećom filogenijom s obzirom da obje porodice pripadaju natporodici *Phryganeoidea* Leach, 1815 (Morse 2019).

Filogenija porodice *Phryganeidae* odgovara važećoj taksonomiji. Rezultat filogenetske bliskosti s porodicom *Lepidostomatidae* odgovara njihovoj pripadnosti natporodici *Phryganeoidea* Leach, 1815 (Morse 2019).

Porodica Sericostomatidae u ovoj filogenetskoj analizi ne grupira se s porodicom Beraeidae s kojom pripada u nadporodicu Sericostomatoidea Stephens, 1836. Mogući razlog je upotreba samo jednog molekularnog biljega. Suprotno ovim rezultatima, Holzenthal i sur. (2007) dobili su grupiranje porodica Sericostomatidae i Beraeidae u filogenetskoj analizi koja je uključila morfologiju i molekularne biljege *28S rRNA*, *EF-1 $\alpha$* , *COI 5P*.

Grupiranja rodova unutar porodice Leptoceridae (*Setodes* sa *Mystacides*; *Ceraclea* sa *Athripsodes*; *Triaenodes* sa *Adicella*; *Oecetis*; Slika 59, 3. i 4. dio ) u skladu je s rezultatima filogenije Malm i Johanson (2011) temeljene na nekoliko molekularnih biljega (*COI 5P*, *CAD*, *POL*, *IDH*).

Porodice Beraeidae i Odontoceridae su se pokazale sestrinskim što nije u skladu s važećom taksonomijom gdje porodica Odontoceridae pripada nadporodici Leptoceroidea Leach, 1815, a Beraeidae, kao što je već navedeno, nadporodici Sericostomatoidea (Morse 2019).

Rezultati filogenetske analize u ovom radu u skladu su s filogenetskom analizom temeljenoj na genima *COI* i *28S rRNA* koja je potvrdila je Rhyacophilidae monofiletska porodica (McLaughlin i sur. 2019).

Filogenija porodice Hydropsichidae, te podporodice Hydropsychinae, pokazala se monofiletskom, jednako kao u prethodnom istraživanju temeljenom na morfološkim značajkama i različitim molekularnim biljezima (*COI*, *EF-1 $\alpha$* , *18S* i *28S rRNA*; Geraci i sur. 2005). Za razliku od ovog rada, rod *Diplectrona* se nije pokazao monofiletskim u Geraci i sur. (2005). Sami autori navode da rezultati nisu konačni i da je potrebna daljnja provjera s obzirom da je pojedino grananje slabo podržano (*bootstrap* vrijednost od 24-44).

Rezultati filogenetske analize u ovom radu pokazuju da je porodica Ecnomidae monofiletska što su pokazali i Johanson i Espeli (2010) koristeći nekoliko molekularnih biljega (*COI*, *CAD*, *EF-1 $\alpha$*  i *POL-II*) kako bi proučili filogenetske odnose navedene porodice. Kao i u ovom radu, tako i u radu Johanson i Espeli (2010) porodica Polycentropodidae se pokazala sestrinskom grupom porodici Ecnomidae. Kao i u ovom radu, filogenetska analiza Johanson i sur. (2012) na temelju molekularnih biljega (*COI 5P*, *CAD*, *IDH*) rezultirala je monofiletskim rodovima *Neureclipsis*, *Cyrnus* porodice Polycentropodidae. No, dok su se ovom radu pokazali monofiletskim, prema istraživanju Johanson i sur. (2010) rodovi *Polycentropus* i *Plectrocnemia* su polifiletski. Johanson i sur. (2012) koristili su veći broj vrsta rodova

*Polycentropus* i *Plectrocnemia* prikupljenih na nekoliko kontinenata stoga oprečni rezultati nisu iznenađujući.

Treba naglasiti da gen *COI* nije optimalan molekularni biljeg za duboku filogeniju niti je metoda DNA barkodiranja namijenjena tome. Nije pouzdano temeljenje zaključaka o odnosima unutar pojedine skupine na bilo kojem pojedinačnom genu. Također, rezultati nisu pouzdani zbog kratkoće promatranog odsječka DNA. Ipak određene studije pokazuju sukladnost filogenetskih rezultata nastalih na temelju *COI* i drugih molekularnih biljega (npr. Kjer i sur. 2014, 2016.). Rezultati ovog filogenetskog stabla (Slika 59. 1. dio, 2. dio, 3. dio, 4. dio, 5. dio) kao i u radu Zhou i sur. (2016) trebali bi usmjeriti fokus znanstvenika na određene skupine koje se ističu kao što su odudaranje od poznate taksonomije ili ukazati na skrivenu bioraznolikost (kriptične vrste). Primjer takve upotrebe je istraživanje Frandsen i sur. (2016), u kojem su neslaganja u tzv. stablu života tulara (eng. tree of life) temeljenom na *COI* genu, DNA barkod regije provjerili i riješili u suradnji s taksonomima. DNA barkodiranje je postalo često korištena metoda u taksonomskim istraživanjima i stoga često izaziva bojazan taksonoma da će molekularna metoda zamijeniti klasične metode opisivanja svojti. No odvajanje pojedinih genetskih linija ili veće genetske razlike na temelju DNA barkod metode nisu dovoljni za opisivanje novih svoti. Opisi novih svojti idu u smjeru integriranog taksonomskog pristupa, nikako na definiranju vrsta prema jednom molekularnom biljegu (npr. Vitecek i sur. 2017). Sama BOLD baza svoju uspješnost temelji na velikom broju taksonoma koji su morfološki odredili vrste. Navedeni specijalisti olakšali su rad znanstvenicima i stručnjacima koji možda ne posjeduju toliku razinu poznavanja morfologije da određuju vrste.

## 6. ZAKLJUČAK

Na temelju rezultata određivanje bioraznolikosti faune tulara (Insecta, Trichoptera) Hrvatske metodom DNA barkodiranja može se zaključiti sljedeće:

- Metoda DNA barkodiranja pokazala se uspješnom u određivanju faune tulara Hrvatske. Uspješno je DNA barkodirano 85% poznatih vrsta tulara, odnosno 89% poznatih rodova u fauni Hrvatske iz svih 17 porodica. DNA barkod sekvence s pripadajućim podacima pohranjene su u svjetsku bazu BOLD - The Barcode of Life Data System dok su prikupljeni primjerci i izolirana DNA pohranjene kao dokazni muzejski primjerak u HPMu.
- Rezultati DNA barkodiranja upotpunili su spoznaje o biološkoj raznolikosti tulara u Hrvatskoj i potvrdili nove vrste u fauni Hrvatske. DNA barkod metoda potvrdila je nalaze deset do sada nezabilježenih vrsta na teritoriju Hrvatske: *Tinodes antonioi*, *Adicella cremisa*, *Adicella balcanica*, *Hydroptila simulans*, *Hydroptila phaon*, *Hydroptila martini*, *Orthotrichia costalis*, *Oxyethira flavicornis*, *Hydropsyche bulbifera*.
- Metodom DNA barkodiranja otkrivena je prisutnost do sada ne zabilježenih kriptičnih vrsta unutar roda *Diplectrona* i to čak 5 novih vrsta (od kojih su dvije nove na području Hrvatske). Ovi rezultati predstavljaju važan doprinos poznavanju biološke raznolikosti na zapadnom Balkanu te potvrđuju da je ovo područje vruća točka bioraznolikosti.
- Rezultati sustavnog DNA barkodiranja faune tulara pridonijeli su postojećim saznanjima o učinkovitosti i mogućnosti metode DNA barkodiranja u taksonomiji tulara. Nadalje, s DNA barkodom rijetkih vrsta dana je sigurnost taksonomskom popisu tulara u Hrvatskoj, ali i vrijedan podatak u svjetskoj bazi DNA barkod sekvenci. Tako je metodom DNA barkodiranja potvrđena prisutnost vrsta: *Micropterna wagneri*, *Micropterna fissa* i *Trichostegia minor*.

- Nekoliko rezultata ovog rada ukazuje da je metoda DNA barkodiranja efikasan i pouzdan alat u integrativnoj taksonomiji. I) Metoda se pokazala se pouzdanom i brzom u identifikaciji na razini vrste za problematične vrste mikrotulara iz porodice Hydroptilidae koje nije bilo moguće morfološki odrediti do razine vrste. II) Velika genetska udaljenost između dvije podvrste *Triaenodes ochreellus* predstavlja dodatni argument u korist statusa vrste za podvrstu *Triaenodes ochreellus lefkas*. III) Rezultati ukazuju na potencijalnu novu vrstu za znanost koja je s nesigurnošću određena kao *Agapetus cf. fuscipes* na temelju morfoloških značajki.
- Metoda DNA barkodiranja omogućila je povezivanje različitih razvojnih stadija, te spolova kod vrsta kod kojih nisu opisane morfološke dijagnostičke značajke, npr. povezivanje adulta i ličinki kod vrste *Glossosoma discophorum*, te mužjaka i ženki kod vrsta *Lepidostoma basale*, *Rhyacophila schmidinarica*, *Hydropsyche angustipennis*. Na taj način, rezultati ovog istraživanja doprinose unaprjeđenju analize makrozoobentosa kroz pružanje osnove za izradu determinacijskih ključeva pouzdano povezanih životnih stadija, odnosno spolova. U tom svjetlu, rad daje doprinos razvoju praktične primjene DNA metodologije u praćenju stanja slatkovodnih ekosustava, odnosno monitoringa sljedeće generacije.
- Filogenetskom analizom DNA barkod sekvenci tulara Hrvatske s javno dostupnim DNA barkod sekvencama istaknuti su taksonomski značajni primjerci unutar poznatih vrsta (npr. s velikom genetskom udaljenosti, dubokom divergentnom linijom, podijeljeni u više ABGD grupa), što omogućava usmjeravanje budućih istraživanja prema rješavanju daljnjih taksonomskih i filogenetskih problema (npr. određene vrste iz porodica *Potamophylax*, *Rhyacophila*).
- Iako gen *COI* nije optimalan molekularni biljeg za duboku filogeniju, niti je metoda DNA barkodiranja namijenjena tome, rezultati filogenetske analize tulara Hrvatske temeljeni na DNA barkod regiji pokazali su se sukladni važećoj filogeniji reda Trichoptera.

## 7. LITERATURA

Astrin J.J., Zhou X. i Misof B., 2013. The importance of biobanking in molecular taxonomy, with proposed definitions for vouchers in a molecular context. *ZooKeys*, (365), p.67.

Baker A. M., Williams S. A. i Hughes J. M. 2003. Patterns of spatial genetic structuring in a hydroptychid caddisfly (*Cheumatopsyche* sp. AV1) from southeastern Australia. *Molecular Ecology*, 12(12), 3313-3324.

Baird D. J., Pascoe T. J. Zhou, X., i Hajibabaei M. 2011. Building freshwater macroinvertebrate DNA-barcode libraries from reference collection material: formalin preservation vs specimen age. *Journal of the North American Benthological Society*, 30(1), 125-130.

Banarescu P.M. 2004. Distribution pattern of the aquatic fauna of the Balkan Peninsula. In: *Balkan Biodiversity Pattern and Process in the European Hotspot* (eds Griffith HI, Kryštufek B, Reed JM), pp. 203–219. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

Barbour M.T., Gerritsen J., Snyder B.D. i Stribling J.B., 1999. *Rapid Bioassessment Protocols for Use in Wadeable streams and Rivers: Periphyton, Benthic Macroinvertebrates and Fish*, second ed., EPA 841-B-99-002. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C.

Barcelos-Silva P., Pes, A.M., Andrade-Souza V. i Holzenthal R.W., 2018. Associating larvae and adults of the Neotropical caddisfly genus *Synoestropsis* Ulmer (Trichoptera: Hydroptychidae) using morphology and DNA mitochondrial sequences. *Zoologischer Anzeiger*, 277, pp.169-189.

Bertić I., Lampek Pavčnik I. i Radovinović R. 2001. *Satelitski atlas Hrvatske*. Naklada Ljevak i Gisdata, Zagreb, 360.

Biondić B., Rubinić J., Meaški H., Kapelj S. i Tepeš P., 2009. Ocjena stanja i rizika cjelina podzemnih voda na krškom području u Republici Hrvatskoj. *Završno izvješće*. Građevinski fakultet Sveučilišta u Rijeci.



Bohan D.A., Vacher C., Tamaddoni-Nezhad A., Raybould A., Dumbrell A.J. i Woodward G., 2017. Next-generation global biomonitoring: large-scale, automated reconstruction of ecological networks. *Trends in Ecology & Evolution*, 32(7), pp.477-487.

Botosaneanu L. i Giudicelli J., 2004. Contributions to the knowledge of the fauna of Caddisflies (Insecta: Trichoptera) from southeast France, with description of new taxa. *Annales de Limnologie– International Journal of Limnology* 40 (1), 15–32.

Bogutskaya N.G., Zupančič P., Bogut I. i Naseka A.M., 2012. Two new freshwater fish species of the genus *Telestes* (Actinopterygii, Cyprinidae) from karst poljes in Eastern Herzegovina and Dubrovnik littoral (Bosnia and Herzegovina and Croatia). *ZooKeys*, (180), p.53.

Botosaneanu L. i Malicky H. 1978. Trichoptera. In J. Illies (Ed.), *Limnofauna Europea* (pp. 333–359). Stuttgart.

Buj I., Šanda R., Marčić Z., Čaleta M. i Mrakovčić M. 2014. Combining morphology and genetics in resolving taxonomy—a systematic revision of spined loaches (genus *Cobitis*; Cypriniformes, Actinopterygii) in the Adriatic watershed. *Plos One*, 9(6), p.e99833.

Buj I., Marčić Z., Čaleta M., Šanda R., Geiger M.F., Freyhof J., Machordom A. i Vukić, J. 2017. Ancient connections among the European rivers and watersheds revealed from the evolutionary history of the genus *Telestes* (Actinopterygii; Cypriniformes). *PloS one*, 12(12), p.e0187366.

Bouckaert R.R. 2010. DensiTree: making sense of sets of Phylogenetic trees. *Bioinformatics* 26:1372-1373.

Bouckaert R., Heled J., Kühnert D., Vaughan T., Wu C.H., Xie D., Suchard M.A., Rambaut A. i Drummond A.J., 2014. BEAST 2: a software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS computational biology*, 10(4), p.e1003537.

Burington Z. 2011. Larval taxonomy, phylogeny and historical biogeography of the genus *Cheumatopsyche* (Trichoptera: Hydropsychidae) in North America. Master thesis. Graduate School of Clemson University. All Theses. 1077.

Cerjanec D. 2012. Ekološke i biogeografske značajke tulara (Trichoptera, Insecta) u različitim staništima porječja rijeke Dobre (Ecological and biogeographical features of caddisflies (Insecta: Trichoptera) in different types of habitats in drainage of the Dobra River). PhD Thesis). Doktorska disertacija, Zagreb, Hrvatska. Sveučilište u Zagrebu, 1–139.

Chertoprud M.V. i Palatov D.M. 2017. Stream macrozoobenthic communities of the Eastern Balkans. *Inland Water Biology*, 10(3), pp.286-295.

Cianficconi F. i Moretti G.P. 1987. 'Tricotteri del Friuli-Venezia Giulia', *Biogeographia*, 13, 663–689.

Cianficconi F., 2002. The third list of Italian Trichoptera (1990–2000). *Proceedings of the 10th International Symposium on Trichoptera* (Ed. W. Mey). *Nova Supplementa Entomologica* 15, 349–358.

Cianficconi F., Corallini C. i Todini B. 2008. The genus *Rhyacophila* Pictet, 1834 in Italy, *Ferrantia*, 55, 22–32.

Cianficconi, F. i Corallini, C., 2010. Trichopteran fauna in a region of central-southern Italy: Molise. *Denisia*, 29, pp.81-104.

Collier K.J. i Smith B.J. 1997. Dispersal of adult caddisflies (Trichoptera) into forests alongside three New Zealand streams. *Hydrobiologia*, 361(1-3), pp.53-65.

Corbet P.S. 1964. Temporal Patterns of Emergence in Aquatic Insects. *The Canadian Entomologist*, 96:264-279.

Cordero R.D., Sánchez-Ramírez S. i Currie D.C. 2017. DNA barcoding of aquatic insects reveals unforeseen diversity i recurrent population divergence patterns through broad-scale sampling in northern Canada. *Polar Biology*, 40(8), pp.1687-1695.

Ćuk R. i Vučković I. 2010. *Ironoquia dubia* Stephens, 1837 (Insecta: Trichoptera), a caddisfly species new for Croatia. *Natura Croatica* 19 (1): 231-237.

Ćuk R. i Vučković I. 2014. The first record of caddisfly *Setodes viridis* (Fourcroy, 1875) (Insecta: Trichoptera) in Croatia. *Natura Croatica*.23 (2): 407-413.

Ćuk R., Vučković I., Kučinić M., Valić D i Waringer J. 2015. First record of *Beraea dira* McLachlan 1875 (Insecta, Trichoptera, Beraeidae) in Croatia. *Natura Croatica*.24 (2): 311-316.

Ćukušić A., Ćuk R., Previšić A., Podnar M., Delić A. i Kučinić M., 2017. DNA barcoding and first records of two rare *Adicella* species (Trichoptera: Leptoceridae) in Croatia. *Biologia*, 72(7), pp.796-806.

Darriba D., Taboada G. L., Doallo R., Posada D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9, 772.

Daries I.J. 1984. Sampling aquatic insect emergence. U: Downing, J.A. i Rigler F.H. (ur.) A manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh waters. Blackwell scientific publications, Oxford, 161-227.

Dayrat B. 2005. Towards integrative taxonomy. *Biological journal of the Linnean society*, 85(3), pp.407-417.

De Queiroz K. 2005. Ernst Mayr and the modern concept of species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(suppl 1), pp.6600-6607

Edington J.M. i Hildrew A.G. 1995. Caseless caddis larvae of the British Isles: a key with ecological notes. *Freshwater Biological Association. Scientific Publication*, 53, 1-134.

Ekrem T., Stur E. i Hebert, P.D., 2010. Females do count: Documenting Chironomidae (Diptera) species diversity using DNA barcoding. *Organisms Diversity & Evolution*, 10(5), pp.397-408.

Elbrecht V., Feld C.K., Gies M., Hering D., Sondermann, Tollrian R. i Leese F. 2014. Genetic diversity and dispersal potential of the stonefly *Dinocras cephalotes* in a central European low mountain range. *Freshwater Sci.* 33: 181-192.

Elbrecht V. i Leese F. 2015. Can DNA-based ecosystem assessments quantify species abundance? Testing primer bias and biomass—sekvenca relationships with an innovative metabarcoding protocol. *PloS one*, 10(7), e0130324.

Erasmus D.J., Yurkowski E.A. i Huber D.P. 2018. DNA barcode-based survey of Trichoptera in the Crooked River reveals three new species records for British Columbia. *PeerJ*, 6, p.e4221.

Espeland M., Johanson K. A. i Hovmöller R. 2008. Early *Xanthochorema* (Trichoptera, Insecta) radiations in New Caledonia originated on ultrabasic rocks. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48(3), 904-917.

Espeland M. i Johanson K. A. 2010a. The effect of environmental diversification on species diversification in New Caledonian caddisflies (Insecta: Trichoptera: Hydropsychidae). *Journal of Biogeography*, 37(5), 879-890.

Espeland M. i Johanson K. A. 2010b. The diversity and radiation of the largest monophyletic animal group on New Caledonia (Trichoptera: Ecnomidae: *Agmina*). *Journal of evolutionary biology*, 23(10), 2112-2122.

Flint, O. S. i Kjer, K. M. 2011. A new species of *Neophylax* from northern Virginia, USA (Trichoptera: Uenoidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 113(1), 7-14.

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

Frandsen P.B., Zhou X., Flint Jr i Kjer K.M., 2016. Using DNA barcode data to add leaves to the Trichoptera of life. *Zoosymposia*, 10(1), pp.193-199

Frankham R., Brook B.W., Bradshaw C.J., Traill L.W. i Spielman, D, 2013. 50/500 rule and minimum viable populations: response to Jamieson and Allendorf. *Trends Ecol. Evol*, 28(4-187).

- Frانيا H. E. i Wiggins. G. B. 1997. Analysis of morphological and behavioral evidence for the Phylogeny and higher classification of Trichoptera (Insecta). Royal Ontario Museum, Life Sciences Contributions, 160, 1–67
- Frisen P.B., Zhou X., Flint Jr, O. i Kjer K.M. 2016. Using DNA barcode data to add leaves to the Trichoptera tree of life. *Zoosymposia*, 10(1), pp.193-199.
- Geraci C.J., Kjer K.M., Morse J.C. i Blahnik R.J., 2005. Phylogenetic relationships of Hydropsychidae subfamilies based on morphology and DNA sequence data. In Proceedings of the 11th International Symposium on Trichoptera. Tokai University Press, Kanagawa, Japan (pp. 131-136).
- Geraci C. J. 2007. Phylogeny and classification of Hydropsychidae subfamilies in the genera of the World (Insecta: Trichoptera). Doctoral dissertation. Clemson University.
- Geraci C. J., Zhou X., Morse J. C. i Kjer K. M. 2010. Defining the genus *Hydropsyche* (Trichoptera: Hydropsychidae) based on DNA and morphological evidence. *Journal of the North American Benthological Society*, 29(3), 918-933.
- Geraci C. J., Al-Saffar M. A., i Zhou X. 2011. DNA barcoding facilitates description of unknown faunas: a case study on Trichoptera in the headwaters of the Tigris River, Iraq. *Journal of the North American Benthological Society*, 30(1), 163-173.
- Georgijev, S., 2003. Saprobiological state of the river vardar–upper part/1987–1990 (Republic of Macedonia). *Croatian Journal of Fisheries: Ribarstvo*, 61(1), pp.1-16.
- Gibson J. F., Shokralla S., Curry C., Baird D. J., Monk W. A., King I., i Hajibabaei M. 2015. Large-scale biomonitoring of remote and threatened ecosystems via high-throughput sequencing. *PloS one*, 10(10), e0138432.
- Gill B. A., Harrington R. A., Kondratieff B. C., Zamudio K. R., LeRoy Poff N., i Chris Funk W. 2013. Morphological taxonomy, DNA barcoding, and species diversity in southern Rocky Mountain headwater streams. *Freshwater Science*, 33(1), 288-301.

Gíslason G. M., Hannesdóttir E. R., Munoz S. S., i Pálsson S. 2015. Origin and dispersal of *Potamophylax cingulatus* (Trichoptera: Limnephilidae) in Iceli. *Freshwater Biology*, 60(2), 387-394.

Godoy B.S., Camargos L.M. i Lodi S., 2018. When phylogeny and ecology meet: Modeling the occurrence of Trichoptera with environmental and phylogenetic data. *Ecology and evolution*, 8(11), pp.5313-5322.

Gottstein-Matočec S., Bakran-Petricoli T., Bedek J., Bukovec D., Buzjak S., Franičević M., Jalžić B., Kerovec M, Kletečki E., Kovačić M., Kralj J., Kružić P., Kučinić M., Kuhta M., Matočec N., Ozimec R., Rađa T., Štamol V., Ternjej I., i Trvtković N., 2002. An overview of the cave and interstitial biota of Croatia. *Natura Croatica* 11 (Suppl. 1), 1-112

Grabowski M., Mamos T., Baćela-Spychalska K., Rewicz T. i Wattier, R.A., 2017. Neogene paleogeography provides context for understanding the origin and spatial distribution of cryptic diversity in a widespread Balkan freshwater amphipod. *PeerJ*, 5, p.e3016.

Graf W., Lubini V. i Pauls S., 2005. Larval description of *Drusus muelleri* McLachlan, 1868 (Trichoptera: Limnephilidae) with some notes on its ecology and systematic position within the genus *Drusus*. In *Annales de Limnologie-International Journal of Limnology* (Vol. 41, No. 2, pp. 93-98). EDP Sciences

Graf W., Murphy J., Dahl J., Zamora-Munoz C. i Lopez-Rodriguez M.J. 2008. Distribution and ecological preferences of European freshwater organisms. Volume 1. Trichoptera (Vol. 1). Pensoft Publishing.

Graf W., Vitecek S., Previšić A. i Malicky H., 2015. New species of Limnephilidae (Insecta: Trichoptera) from Europe: Alps and Pyrenees as harbours of unknown biodiversity. *Zootaxa*, 3911(3), pp.381-395.

Graf W., Murphy J., Dahl J., Zamora-Muñoz C., López-Rodríguez M.J. i Schmidt-Kloiber., A.: Dataset "Trichoptera". [www.freshwaterecology.info](http://www.freshwaterecology.info) - the taxa and autecology database for freshwater organisms, version 7.0 (accessed 2019)

Hajibabaei M., Shokralla S., Zhou X., Singer G. A. i Baird D. J. 2011. Environmental barcoding: a next-generation sequencing approach for biomonitoring applications using river benthos. *PLoS one*, 6(4), e17497.

Hall T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sekvenca alignment editor and analysis program for Windows 96/98/NT, *Nucleic Acids Symposium Series* 41:95-98.

Harvey L. 2010. A re-examination of *Diplectrona modesta* Banks 1908 (Trichoptera: Hydropsychidae) using morphological and molecular techniques. Clemson University, ProQuest Dissertations Publishing. All Theses. 1031.

Harvey L. E., Geraci C. J., Robinson J. L., Morse J. C., Kjer K. M., i Zhou X. 2012. Diversity of mitochondrial and larval morphology characters in the genus *Diplectrona* (Trichoptera: Hydropsychidae) in the eastern Sjedinjene Američke Države. *Terrestrial Arthropod Reviews*, 5(3-4), 191-211.

Hebert P.D.N. 2003a. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*. 270:313–321.

Hebert P.D.N. 2003b Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*.;270:S596–S599.

Heled J. i Drummond A.J. 2009. Bayesian inference of species trees from multilocus data. *Molecular biology and evolution*, 27(3), pp.570-580.

Herbeck J.T. i Novembre J. 2003. Codon usage patterns in cytochrome oxidase I across multiple insect orders. *Journal of molecular evolution*, 56(6), 691-701.

Hernández-Triana L.M., Prosser S.W. 2014. Rodríguez-Perez M.A., Chaverri L.G., Hebert P.D.N., Gregory T.R.: Recovery of DNA barcodes from blackfly museum specimens (Diptera: Simuliidae) using primer sets that target a variety of sekvenca lengths. *Molecular Ecology Resources*, 14:508–518.

Hickin N. E., 1967. Caddis larvae (Larvae of British Trichoptera). Hutchinson i Co.London, 476.

Hjalmarsson A.E., Graf W., Jähnig S.C., Vitecek S. i Pauls S.U. 2018. Molecular association and morphological characterisation of *Himalopsyche* larval types (Trichoptera, Rhyacophilidae). ZooKeys, (773), 79.

Hoemsen B. M., Phillips I. D., Parker D. W., Bell A. J., Bergsveinson J. A., Armstrong J. S. i Chivers D. P. 2015. Extended family: a caddisfly new to Saskatchewan, Canada with notes on the life history of *Neophylax splendens* (Trichoptera: Thremmatidae). The Canadian Entomologist, 147(4), 425-431.

Hogg I. D., Smith B. J., Banks J. C., Dewaard J. R. i Hebert P. D. 2009. Testing use of mitochondrial COI sekvensas for the identification and phylogenetic analysis of New Zeland caddisflies (Trichoptera). New Zeali Journal of Marine i Freshwater Research, 43(5), 1137-1146.

Holzenthal R. W., Blahnik R. J., Prather A. L. i Kjer K.M. 2007. Order Trichoptera Kirby, 1813 (Insecta), Caddisflies. U: Zhang, Z.Q. i Shear, W.A. (eds.), Linnaeus Tercentenary: Progress in Invertebrate Taxonomy. Zootaxa 1668: 639-698

Holzenthal R.W., Morse J.C. i Kjer K.M. 2011. Order Trichoptera Kirby, 1813. In: Zhang, Z.-Q. (Ed.) Animal biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness. Zootaxa 3148: 209–211.

Holzenthal R.W., Thomson R.E. i Ríos-Touma B., 2014. Order Trichoptera. In Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates. Academic Press. 965-1002.

Hoppeler F., Tachamo Shah R.D., Shah D.N., Jähnig S.C., Tonkin J.D., Sharma S. i Pauls S.U. 2016. Environmental and spatial characterisation of an unknown fauna using DNA sequencing— an example with Himalayan Hydropsychidae (Insecta: Trichoptera). Freshwater Biology, 61(11), 1905-1920.

Hrvatske vode. 2015. Metodologiju uzorkovanja, laboratorijskih analiza i određivanja omjera ekološke kakvoće bioloških elemenata kakvoće



[https://www.voda.hr/sites/default/files/dokumenti/metodologija\\_uzorkovanja\\_laboratorijskih\\_analiza\\_i\\_odredivanja\\_omjera\\_ekoloske\\_kakvoce\\_bioloskih\\_elementa\\_kakvoce\\_1.pdf](https://www.voda.hr/sites/default/files/dokumenti/metodologija_uzorkovanja_laboratorijskih_analiza_i_odredivanja_omjera_ekoloske_kakvoce_bioloskih_elementa_kakvoce_1.pdf)

Hubert N. i Hanner R., 2015. DNA barcoding, species delineation and taxonomy: a historical perspective. *DNA barcodes*, 3(1), pp.44-58.

Humpesch U. i Fesl, C., 2005. Biodiversity of macrozoobenthos in a large river, the Austrian Danube, including quantitative studies in a free-flowing stretch below Vienna: a short review. In *Freshwater Forum* (Vol. 24, pp. 3-23).

Ibrahimi H., Kučinić M., Gashi A., Grapci-Kotori, L., Vučković I. i Cerjanec D., 2012a. The genus *Rhyacophila* Pictet, 1834 (Insecta: Trichoptera) in Kosovo. *Aquatic Insects*, 34(sup1), pp.23-31.

Ibrahimi H., Kučinić M., Gashi A. i Grapci-Kotori, L., 2012b. The caddisfly fauna (Insecta, Trichoptera) of the rivers of the Black Sea basin in Kosovo with distributional data for some rare species. *ZooKeys*, (182), p.71.

Ibrahimi H., Gashi A., Grapci-Kotori L. i Kučinić M., 2013. Prvi nalazi roda *Micropterna* Stein, 1873 (Insecta: Trichoptera) na Kosovu s podacima o rasprostranjenosti i ekološkim značajkama. *Natura Croatica: Periodicum Musei Historiae Naturalis Croatici*, 22(1), pp.147-155.

Ibrahimi H., Kučinić M., Vitecek S., Waringer J., Graf W., Previšić A., Balint M., Keresztes L. i Pauls S.U. 2015. New records for the Kosovo caddisfly fauna with the description of a new species, *Drusus dardanicus* sp. nov. (Trichoptera: Limnephilidae). *Zootaxa*, 4032(5), 551.

Ibrahimi, H., Vitecek, S., Previšić, A., Kučinić, M., Waringer, J., Graf, W., Balint, M., Keresztes, L. i Pauls, S.U., 2016a. *Drusus sharrensis* sp. n. (Trichoptera, Limnephilidae), a new species from Sharr National Park in Kosovo, with molecular and ecological notes. *ZooKeys*, (559), 107.

Ibrahimi H., Gashi A. i Kotori L.G., 2016b. First records of three rare species of the genus *Glossosoma* Curtis, 1834 (Insecta: Trichoptera) from the Republic of Kosovo. *Journal of the Entomological Research Society*, 18(2), pp.79-83.

Illies J. (ed.) 1967. Limnofauna Europaea. Eine Zusammenstellung aller die europäischen Binnengewässer bewohnenden mehrzelligen Tierarten m. Angaben über d. Verbreitung u. Ökologie. 1st Edition. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. 474pp.

Illies, J. (ed.) 1978. Limnofauna Europaea. A Checklist of the Animals Inhabiting European Inli Waters, with an Account of their Distribution and Ecology. 2nd Edition. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. 552.

Ivanov V. D. 1997. Rhyacophiloidea, a paraphyletic taxon. In: R. W. Holzenthal i O. S. Flint, Jr (Eds) Proceedings of the 8th International Symposium on Trichoptera. Columbus, OH: Ohio Biological Survey. 189–193.

Ivanov V.D. 2002. Contribution to the Trichoptera Phylogeny: New family tree with consideration of Trichoptera-Lepidoptera relations. Nova Supplementa Entomologica, 15,277-292.

Ivković M., Miliša M., Previšić A., Popijač A. i Mihaljević Z. 2013. Environmental control of emergence patterns: Case study of change in hourly and daily emergence of aquatic insects at constant and variable water temperatures. International Review of Hydrobiology, 98: 104-115.

Ivković M. i Plant A., 2015. Aquatic insects in the Dinarides: identifying hotspots of endemism and species richness shaped by geological and hydrological history using Empididae (Diptera). Insect Conservation and Diversity, 8(4), pp.302-312.

Jackson J. K., Battle J. M., White B. P., Pilgrim E. M., Stein E. D., Miller P. E., i Sweeney B. W. 2014. Cryptic biodiversity in streams: a comparison of macroinvertebrate communities based on morphological and DNA barcode identifications. Freshwater Science, 33(1), 312-324.

Jelić D. i Jelić M. 2015. *Telestes miloradi* Bogutskaya, Zupancic, Bogut & Naseka, 2012 and *Delminichthys ghetaldii* (Steindachner, 1882) re-discovered in Croatia, requiring urgent protection. Journal of applied ichthyology, 31(6), pp.1133-1136.

Jelić M., Klobučar G.I., Grandjean F., Puillandre N., Franjević D., Futo M., Amouret J. i Maguire I., 2016. Insights into the molecular phylogeny and historical biogeography of the white-clawed crayfish (Decapoda, Astacidae). *Molecular phylogenetics and evolution*, 103, pp.26-40.

Jiggins, F.M., 2003. Male-killing *Wolbachia* and mitochondrial DNA: selective sweeps, hybrid introgression and parasite population dynamics. *Genetics*, 164(1), pp.5-12.

Jiang X. 2010. Gene Flow and Dispersal of the Caddisfly, *Neothremma alicia*, in the Rocky Mountains of Utah: A Multiscale Analysis. Master Thessiss. Faculty of Brigham Young University All Theses & Dissertations. 2508.

Jinbo U., Kato T. i Ito M., 2011. Current progress in DNA barcoding and future implications for entomology. *Entomological Science*, 14(2), pp.107-124.

Johanson K. A. 2007. Association and description of males, females and larvae of two New Caledonian *Xanthochorema* species (Trichoptera: Hydrobiosidae) based on mitochondrial 16S and COI sekvensas. *Entomological Science*, 10(2), 179-199.

Johanson K. A., i Keijsner, M. 2008. Phylogeny of the Helicophidae (Trichoptera), with emphasis on the New Caledonian species of Helicopha. *Systematic entomology*, 33(3), 451-483.

Johanson K. A., i Malm T. 2010. Testing the monophyly of Calocidae (Insecta: Trichoptera) based on multiple molecular data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 54(2), 535-541.

Johanson K. A., i Espeli M. 2010. Phylogeny of the Ecnomidae (Insecta: Trichoptera). *Cladistics*, 26(1), 36-48.

Johanson K. A., Malm T., Espeli M. i Weingartner E. 2012. Phylogeny of the Polycentropodidae (Insecta: Trichoptera) based on protein-coding genes reveal non-monophyletic genera. *Molecular Phylogenetics and evolution*, 65(1), 126-135.

Johanson K.A., Malm T. i Espeli M. 2017. Molecular Phylogeny of Sericostomatoidea (Trichoptera) with the establishment of three new families. *Systematic entomology*, 42(1), 240-266.

Karaouzas I., Ibrahimi H. i Waringer J., 2018. The larva of *Rhyacophila palmeni* McLachlan 1879 (Trichoptera: Rhyacophilidae) from Greece and Kosovo with notes on ecology and zoogeography including a key to the known Greek Rhyacophila larvae. *Zootaxa*, 4514(1), pp.97-106.

Karaouzas I, Zawal A, Michoński G, Pešić V. 2019. Contribution to the knowledge of the caddisfly fauna of Montenegro—New data and records from the karstic springs of Lake Skadar basin. *Ecologica Montenegrina*. 6;22:34-9.

Kaur S. 2015. DNA Barcoding and Its Applications. *International Journal of Engineering Research and General Science* Volume 3, Issue 2, Part 2

Kjer K. M., Blahnik R. J., i Holzenthal R. W. 2001. Phylogeny of Trichoptera (caddisflies): characterization of signal and noise within multiple datasets. *Systematic Biology*, 50(6), 781-816.

Kjer K. M., Blahnik R. J. i Holzenthal R. W. 2002. Phylogeny of caddisflies (Insecta, Trichoptera). *Zoologica Scripta*, 31(1), 83-91.

Kjer K.M., Zhou X., Frisen P.B., Thomas J.A. i Blahnik R.J. 2014. Moving toward species-level Phylogeny using ribosomal DNA and COI barcodes: an example from the diverse caddisfly genus *Chimarra* (Trichoptera: Philopotamidae). *Arthropod Systematics and Phylogeny*, 72(3), 345-354.

Kjer K. M., Thomas J. A., Zhou X., Frisen P. B., Prendini E. i Holzenthal R. W. 2016. Progress on the Phylogeny of caddisflies (Trichoptera). *Zoosymposia*, 10(1), 248-256.

Klobučar G.I., Podnar M., Jelić M., Franjević D., Faller M., Štambuk A., Gottstein S., Simić V. i Maguire I., 2013. Role of the Dinaric Karst (western Balkans) in shaping the phylogeographic

structure of the threatened crayfish *Austropotamobius torrentium*. *Freshwater Biology*, 58(6), pp.1089-1105.

Konar, V. 1997. Beschreibung der Larve von *Rhyacophila palmeni* McLachlan (Rhyacophilidae, Trichoptera), *Carinthia II*, 187, 499–501.

Krijgsman, W., Hilgen, F.J., Raffi, I., Sierro, F., Wilson, D.S., 1999. Chronology, causes and progression of the Messinian salinity crisis. *Nature* 400, 652–655. doi: 10.1038/23231

Krušnik C. i Urbanič G., 2002. Preliminary List of Slovenian Trichoptera. *Proceedings of the 10th International Symposium on Trichoptera* (Ed. W. Mey). *Nova Supplementa Entomologica* 15, 359–364.

Kubow K. B., Robinson C. T., Shama L. N., i Jokela J. 2010. Spatial scaling in the Phylogeography of an alpine caddisfly, *Allogamus uncatatus*, within the central European Alps. *Journal of the North American Benthological Society*, 29(3), 1089-1099.

Kučinić, M. i Ilić, D., 1993. *Micropterna testacea* Gmelin 1789 (Insecta, Trichoptera) nova vrsta u fauni tulara Republike Hrvatske. *Rad HAZU* 26, 125-131.

Kučinić M. 2002. Raznolikost i rasprostranjenost tulara (Trichoptera, Insecta) u staništima Plitvičkih jezera (Biodiversity and distribution of caddisflies (Trichoptera, Insecta) of Plitvice Lakes. PhD Thesis). *Doktorska disertacija, Zagreb, Hrvatska. Sveučilište u Zagrebu*, 1–139.

Kučinić M. i Malicky H., 2002. *Rhyacophila dorsalis plitvicensis* new subspecies from Croatia. *Proceedings of the 10 th International Symposium on Trichoptera* (Ed. Wolfram Mey. *Nova Supplementa Entomologica*, 15: 145-147.

Kučinić M., Previšić A., Stanić-Koštroman S., Franjević M., Šerić Jelaska L., Delić A. i Posilović H. 2010. Description of the larvae of *Drusus ramae* Marinković-Gospodnetić and *Drusus medianus* Marinković-Gospodnetić (Trichoptera: Limnephilidae) with some genetic, distributional, ecological, faunal and conservation notes. *Zootaxa*, 2484(1), 1-24.

Kučinić M., Previšić A., Graf W., Šerić Jelaska L., Stanić-Koštroman S. i Waringer J., 2011. Larval description, genetic and ecological features of *Drusus radovanovici radovanovici* Marinković-Gospodnetić, 1971 (Trichoptera, Limnephilidae) with some phylogenetic and taxonomic data on the bosnicus group in the Balkan Peninsula. Deutsche entomologische zeitschrift, 58(1), pp.135-153.

Kučinić M., Malicky H., Previšić A., Vučković I., Cerjanec D., Kutnjak H., Živić I. i Wolfram G. 2012. First Check List of Caddisflies (Insecta: Trichoptera) of Croatia. XIV International Symposium on Trichoptera, Vladivostok, 75 pp.

Kučinić M., Szivák I., Pauls S. U., Bálint M., Delić A. i Vučković I. 2013. *Chaetopteryx bucar* sp. n., a new species from the *Chaetopteryx rugulosa* group from Hrvatska (Insecta, Trichoptera, Limnephilidae) with molecular, taxonomic and ecological notes on the group. ZooKeys, (320), 1.

Kučinić M., Delić A., Ćuk R., Previšić A., Mihoci I., Žganec K., Cerjanec D. i Vučković I. 2014. The first finding of *Drusus bosnicus* Group (Insecta, Trichoptera, Limnephilidae) in Croatia with some notes on diversity, distribution and ecology of genus *Drusus* in Croatia and in Dinaric karst of the Balkan Peninsula. Natura Croatica. 23 (2): 265-377.

Kučinić M., Previšić A., Graf W., Mihoci I., Šoufek M., Stanić-Koštroman S., Lelo S., Vitecek S. i Waringer J. 2015a. Larval description of *Drusus bosnicus* (Trichoptera: Limnephilidae), with distributional, molecular and ecological features. Zootaxa, 3957(1), 85.

Kučinić M., Cerjanec D., Vučković I., Mihoci I., Perović F., Kutnjak H., Ibrahimović H., Pelić Fixa, D., Žalac S., Mrnjavčić Vojvoda A. i Plantak M. 2015b. Some new and interesting species of caddisflies (Insecta, Trichoptera) found in Croatia. Natura Croatica 24 (2): 293–310.

Kučinić M., Previšić A., Mihoci I., Krpač V., Živić I., Stojanović K., Vojvoda A.M. i Katušić L. 2016. Morphological features of larvae of *Drusus plicatus* Radovanović (Insecta, Trichoptera) from the Republic of Macedonia with molecular, ecological, ethological, and distributional notes. ZooKeys, 598, 75.

Kumanski K., 1985. Trichoptera, Annulipalpia. Fauna Bulgarica 15, Bulgarska Akademi na Naukite, Sofia, 243 pp.

Kumanski, K., 2007. Second addition to volume 15 (Trichoptera: Annulipalpia) and volume 19 (Trichoptera: Integripalpia) of Fauna bulgarica. Hist. Nat. Bulgar, 18, pp.81-94.

Langhoffer, A., 1915: Fauna hrvatskih pećina (spila). II. (Fauna cavernarum Croatiae, II). Prirodoslovna istraživanja Hrvatske i Slavonije 7, 3-22.

Larkin M. A., Blackshields G., Brown N. P., Chenna R., McGettigan P. R., McWilliam H., Valentin F., Wallace I. M., Wilm A., Lopez R., Thompson J. D., Gibbison T. J., Higgins D. G. 2007. ClustalW ad ClustalX version 2. Bioinformatics 23, 2947-2948.

Lecaudey L. A. 2013. The origin of *Apatania zonella* in Island: A study based on molecular and morphological variation (Master's thesis). Faculty of Life and Environmental Sciences, University of Island, 75.

Lee S. J., Hur J. M. i Bae Y. J. 2011. Four Caddisfly Species of *Oecetis* (Trichoptera: Leptoceridae) New to Korea. Entomological Research, 41(6), 278-279.

Leese F. i Wagner R. 2004. Molecular genetic, chemotaxonomic, and autecological investigations of European Sericostomatidae (Insecta: Trichoptera). Doctoral dissertation, Ruhr-Universität Bochum.

Leese F., Altermatt F., Bouchez A., Ekrem T., Hering D., Meissner K., Mergen P., Pawlowski J., Piggott J., Rimet F., Steinke D., Taberlet P., Weigand A., Abarenkov K., Beja P., Bervoets L., Björnsdóttir S., Boets P., Boggero A., Bones A., Borja Á., Bruce K., Bursić V., Carlsson J., Čiampor F., Čiamporová-Zatovičová Z., Coissac E., Costa F., Costache M., Creer S., Csabai Z., Deiner K., DelValls Á., Drakare S., Duarte S., Eleršek T., Fazi S., Fišer C., Flot J., Fonseca V., Fontaneto D., Grabowski M., Graf W., Guðbrandsson J., Hellström M., Hershkovitz Y., Hollingsworth P., Japoshvili B., Jones J., Kahlert M., Kalamujic Stroil B., Kasapidis P., Kelly M., Kelly-Quinn M., Keskin E., Kõljalg U., Ljubešić Z., Maček I., Mächler E., Mahon A., Marečková M., Mejdandzic M., Mircheva G., Montagna M., Moritz C., Mulk V., Naumoski A.,

Navodaru I., Padisák J., Pálsson S., Panksep K., Penev L., Petrusek A., Pfannkuchen M., Primmer C., Rinkevich B., Rotter A., Schmidt-Kloiber A., Segurado P., Speksnijder A., Stoev P., Strand M., Šulčius S., Sundberg P., Traugott M., Tsigenopoulos C., Turon X., Valentini A., van der Hoorn B., Várbiro G., Vasquez Hadjilyra M., Viguri J., Vitonyté I., Vogler A., Vrålstad T., Wägele W., Wenne R., Winding A., Woodward G., Zegura B., Zimmermann J. 2016. DNAqua-Net: Developing new genetic tools for bioassessment and monitoring of aquatic ecosystems in Europe. *Research Ideas and Outcomes*, 2, p.e11321.

Lehrian S., Pauls S. U. i Haase P. 2009. Contrasting patterns of population structure in the montane caddisflies *Hydropsyche tenuis* and *Drusus discolor* in the Central European highlis. *Freshwater Biology*, 54(2), 283-295.

Lehrian S., Bálint M., Haase P. i Pauls S. U. 2010. Genetic population structure of an autumn-emerging caddisfly with inherently low dispersal capacity and insights into its Phylogeography. *Journal of the North American Benthological Society*, 29(3), 1100-1118.

Lepneva, S.G. 1966. Fauna SSSR, Rucheiniki, Lichinki i kukolki podotryada tse'noshchupikovykh [Fauna of the U.S.S.R., Trichoptera, larvae and pupae of Integripalpia], volume II, No. 2 . *Trudy Zoologicheskogo Instituta Akademii Nauk SSSR, Moscow/Leningrad (N.S.)*, 95, 1–560

Liu, H., 1993. Molecular evolution among several orders of insects based on mitochondrial DNA analysis Doctoral dissertation, Science: Biological Sciences Department.

Lodovici O. i Valle M. 2013a. La Tricotterofauna della Liguria. XXXIX. Congresso della Società Italiana di biogeografia. Rapallo.

Lodovici O., Valle M. 2013b. La Tricotterofauna Ligure. *BMIB-Bollettino dei Musei e degli Istituti Biologici*, 75.

Lunt D.H., Zhang D.–X., Szymura J.M. i Hewitt, G.M. 1996. The insect cytochrome oxidase I gene: evolutionary patterns and conserved primers for Phylogenetic studies. *Insect Molecular Biology* 5: 153-165.



- Macher J.N., Weiss M., Beermann A. i Leese F. 2016. Diversity of Sericostomatidae (Trichoptera) caddisflies in the Montseny mountain range. bioRxiv, 057844.
- Malicky, H., 1971: Eine neue Micropterna (trichoptera, limnephilidae) aus Italien - mit einem überblick über die gattungen Stenophylax, Micropterna und Mesophylax? Die Höhle (wien) 22 (1), 15-1
- Mackay J. R. i Wiggins B. G. 1979. Ecological diversity in Trichoptera. Annual Reviews of Entomology 24: 185-208.
- Malicky H. 1987. Anflugdistanz und Fallenfangbarkeit von Köcherfliegen (Trichoptera) bei Lichtfallen. Jber. Biol. Stn. Lunz 10: 140-157.
- Malicky H. 2004. Atlas of European Trichoptera. Springer. Dordrecht. 360.
- Malicky H. 2005. Ein kommentiertes Verzeichnis der Köcherfliegen (Trichoptera) Europas und des Mediter- rangebietes. — Linzer Biologische Beiträge 37: 533– 596.
- Malicky H., Previšić A. i Kučinić M., 2007. *Rhyacophila cabrankensis* nov. spec, from Croatia. Braueria, 34, p.14.
- Malicky, H., 2009. Die Köcherfliegen (Insecta, Trichoptera) der Sammlung von Franjo Koščec im Museum Varaždin, Kroatien. Natura Croatica: Periodicum Musei Historiae Naturalis Croatici, 18(1), pp.129-134.
- Malicky H. 2013. Trichoptera. Fauna Europaea version 2017.06, <https://fauna-eu.org> (2019).
- Malicky H., 2014. Comments on two recently published papers on *Cheumatopsyche* (Hydropsychidae) and *Chaetopteryx* (Limnephilidae). Baueria 41: 51–53.
- Malm T. i Johanson K. A. 2007. Three new species of *Symphitoneuria* Ulmer (Trichoptera: Leptoceridae) from New Caledonia. Proceedings of the XIIth International Symposium on Trichoptera, 2007, 181-19.

Malm T. i Johanson K. A. 2008. Revision of the New Caledonian endemic genus *Gracilipsodes* (Trichoptera: Leptoceridae: Grumichellini). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 153(3), 425-452.

Malm T. i Johanson K. A. 2011. A new classification of the long-horned caddisflies (Trichoptera: Leptoceridae) based on molecular data. *BMC evolutionary Biology*, 11(1), 10.

Malm T., Johanson K.A., Wahlberg N. 2013. The evolutionary history of Trichoptera (Insecta): A case of successful adaptation to life in freshwater. *Systematic Entomology* 38, 459–473 doi: 10.1111/syen.12016.

Marcus J.M. 2018. Our love-hate relationship with DNA barcodes, the Y2K problem, and the search for next generation barcodes. *AIMS Genet*, 5, 1-23.

Marinković-Gospodnetić M., 1979. Trichoptera (Insecta) velikih karstnih izvora u Dinaridima. In: Rauš, Đ. (ed.), *Second Congress of Ecologists of Yugoslavia*. Savez društava ekologa Jugoslavije. Zagreb, pp. 1837–1849.

Martínez, J., Martín, L. i González, M.A., 2016. A new species of *Potamophylax* from Spain with a key to the Iberian species (Trichoptera: Limnephilidae). *Acta Entomologica Musei Nationalis Pragae*, 56(2), pp.837-844.

Mclaughlin J.E., Frandsen P.B., Mey W. i Pauls S.U., 2019. A Preliminary Phylogeny of Rhyacophilidae with Reference to Fansipangana and the Monophyly of Rhyacophila. *Zoosymposia*, 14(1), pp.189-192.

Meier R. 2008. DNA sekvenca in taxonomy, opportunities and challenges. In: Wheeler QD (ed.) *The New Taxonomy*, pp 65–127. CRC Press, Boca Raton, FL.

Mirmoayedi A. i Malicky H. 2002. An updated check-list of Caddisflies (Insecta, Trichoptera) from Iran, with new records. *Zoology in the Middle East* 26:163–168.

Mitterboeck T. F. i Adamowicz S. J. 2013. Flight loss linked to faster molecular evolution in insects. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1767), 20131128.

Mladinov, L., 1980. Lepidoptera iz doline gornjeg toka rijeke Kupe. IV. Geometridae. *Acta entomologica Jugoslavica*

Molina C.I., Gibon F.M., Dominguez E., Pape T. i Ronsted N. 2017. Associating immatures and adults of aquatic insects using DNA barcoding in high lean streams *Ecología en Bolivia* 52(2): 88-99.

Moog O. 2002. *Fauna Aquatica Austriaca, Edition 2002, Wasserwirtschaftskataster, Bundesministerium für Land und Forstwirtschaft. Umwelt und Wasserwirtschaft, Vienna.*

Moretti G., 1981. New Trichoptera Species and Subspecies Found in Italy. *Proceedings of the Third International Symposium on Trichoptera* (ed. Moretti, G.), *Seria Entomologica* 20, 1-14.

Moretti, G.P. i Gianotti, F.S. 1964. Considerazioni biogeografiche sul popolamento cavernicolo dei Tricotteri. *Arch. bot. biogeogr. ital.* XL 4 serie, 9(IV), pp.341-348

Moretti G., 1988. Tricotteri del Museo Civico di Scienze Naturali „Enrico Caffi“ di Bergamo. *Riv. del Museo Civico di Scienze Naturali „Enrico Caffi“ di Bergamo* 13, 1-19.

Moretti G., Szczesny G. i Tobias W. 1994. Systematische Differenzierung innerhalb der *Potamophyla cingulatus*-Gruppe (Insecta: Trichoptera: Limnephilidae). *Senckenbergiana Biologica*, 74, 91–102.

Morinière J., Hendrich L., Balke M., Beermann A.J., König, T., Hess, M., Koch, S., Müller, R., Leese, F., Hebert, P.D. and Hausmann, A., 2017. A DNA barcode library for Njemačka' s mayflies, stoneflies and caddisflies (Ephemeroptera, Plecoptera and Trichoptera). *Molecular Ecology Resources*, 17(6), pp.1293-1307.

Morse J.C. (Ed.) 2019. *Trichoptera World Checklist*. <http://entweb.clemson.edu/database/trichopt/index.htm> (accessed 2019)

Myers M.J., Sperling F.A.H. i Resh V.H. 2001. Dispersal of two species of Trichoptera from desert springs. Conservation implications for isolated vs connected populations. *J. Insect Cons.*, 5, 207-215

Narodne novine.2018. Zakon o vodama. Zagreb: Narodne novine d.d., br. 46

Narodne novine.2018. Uredbu o standardu kakvoće vode. Zagreb: Narodne novine d.d., br. 80

Neu P.J. i Tobias W. 2004. Die Bestimmung der in Deutschland vorkommenden Hydropsychidae (Insecta: Trichoptera) *Lauterbornia*, 51, pp. 1-68

Nijboer R., 2004. The ecological requirements of *Agapetus fuscipes* Curtis (Glossosomatidae), a characteristic species in unimpacted streams. *Limnologica*, 34(3), pp.213-223.

Novák K. i Sehnal F., 1963. The development cycle of some species of the genus *Limnephilus* (Trichoptera). *Časopis Československe Společnosti Entomologické* 60 (1-2), 68-80.

Oikonomou A., Leprieur F. i Leonardos, I.D., 2014. Biogeography of freshwater fishes of the Balkan Peninsula. *Hydrobiologia*, 738(1), pp.205-220.

Oláh J. 2010. New species and new records of Palearctic Trichoptera in the material of the Hungary Natural History Museum. *Annales Historico-Naturales Musei Nationalis Hungarici*. 2010;102:65–117.

Oláh J., Kovács T., Sivec I., Szivák I. i Urbanic G., 2012. Seven new species in the *Chaetopteryx rugulosa* species group: applying the phylogenetic species concept and the sexual selection theory (Trichoptera, Limnephilidae). *Folia Historico Naturalia Musei Matraensis*, 36, pp.51-79.

Oláh J. i Kovács T. 2013. New species and new records of Balkan Trichoptera II. *Folia Historico Naturalia Musei Matraensis*, 37:109–121.

Oláh J., Andersen T., Chvojka P., Coppa, G., Graf, W., Ibrahimi, H., Lodovici, O., Previšić, A. i Valle, M., 2013. The *Potamophylax nigricornis* group (Trichoptera, Limnephilidae): resolution

of phylogenetic species by fine structure analysis. *Opuscula Zoologica Instituti Zoosystematici et Oecologici Universitatis Budapestinensis*, 44(2).

Oláh J., Chvojka P., Coppa G., Godunko R.J. i Lodovici O., 2015. Limnephilid taxa revised by speciation traits: *Rhadicoleptus*, *Isogamus*, *Melampophylax* genera, *Chaetopteryx rugulosa*, *Psilopteryx psorosa* species groups, *Drusus bolivari*, *Annitella kosciuszki* species complexes (Trichoptera: Limnephilidae). *Opuscula Zoologica (Budapest)*, 46(1), pp.3-117.

Oláh J., Andersen T., Beshkov S., Ciubuc C., Coppa G., Kovács T. i Oláh J., 2018. Unified phylogenetic species concept: taking subspecies and race out of science: postmodern theory applied to the *Potamophylax cingulatus* group (Trichoptera, Limnephilidae). *Opuscula Zoologica (Budapest)*, 49(1), pp.33-70.

Pálsson S., Lecaudey L.A. i Gíslason G.M. 2016. Phylogeographic origin of *Apatania zonella* (Trichoptera) in Island. *Freshwater Science*, 35(1), 65-79.

Papadopoulou A., Anastasiou I., Vogler A.P. 2010. Revisiting the insect mitochondrial molecular clock: the mid-Aegean trench calibration. *Molecular Biology and Evolution* 27:1659–1672.

Pauls S., Lumbsch H.T., Haase P. 2003. Genetische isolation von *Drusus discolor* Rambur 1842 (Trichoptera: Limnephilidae) in montanen Mittelgebirgen Mitteleuropas — Erste Ergebnisse. *Deutsche Gesellschaft für Limnologie–Tagungsbericht*, 2002, 378–379.

Pauls S. U., Lumbsch H. T. i Haase P. 2006. Phylogeography of the montane caddisfly *Drusus discolor*: evidence for multiple refugia and periglacial survival. *Molecular Ecology*, 15(8), 2153-2169.

Pauls S. U., Graf W., Haase P., Lumbsch H. T. i Waringer J. 2008. Grazers, shredders and filtering carnivores—the evolution of feeding ecology in Drusinae (Trichoptera: Limnephilidae): insights from a molecular Phylogeny. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 46(2), 776-791.

Pauls S. U., Theissinger K., Ujvarosi L., Balint M. i Haase P. 2009. Patterns of population structure in two closely related, partially sympatric caddisflies in Eastern Europe: historic introgression, limited dispersal, and cryptic diversity. *Journal of the North American Benthological Society*, 28(3), 517-536.

Pauls S. U., Blahnik R. J., Zhou X., Wardwell C. T. i Holzenthal R. W. 2010. DNA barcode data confirm new species and reveal cryptic diversity in Chilean *Smicridea* (*Smicridea*) (Trichoptera: Hydropsychidae). *Journal of the North American Benthological Society*, 29(3), 1058-1074.

Pavelić, D., Kovacic M., Miknic M., Avanic R., Vrsaljko D., Bakrac K., Tisljar J., Galovic I. i Bortek Z. 2003. The evolution of the Miocene environments in the Slavonian Mts. area (northern Croatia). In *Evolution of Depositional Environments from the Palaeozoic to the Quaternary in the Karst Dinarides and the Pannonian Basin*. 22nd IAS Meeting of Sedimentology, Opatija-September, pp. 17-19.

Pavelić D. i Belak M., 2008. Dinarids in north Croatia and Bosnia. In: McCann, T. (Ed.), *The Geology of Central Europe Volume 2 Mesozoic and Cenozoic*. Geological Society, London, United Kingdom, pp. 1102–1116.

Petersson E. i Hasselrot A. T. 1994. Mating and nectar feeding in the psychomyiid caddis fly *Tinodes waeneri*. *Aquatic Insects*, 16(3), 177-187.

Pilgrim E. M., Jackson S. A., Swenson S., Turcsanyi I., Friedman E., Weigt L. i Bagley M. J. 2011. Incorporation of DNA barcoding into a large-scale biomonitoring program: opportunities and pitfalls. *Journal of the North American Benthological Society*, 30(1), 217-231.

Pinho C., Harris D.J., Ferrand N., 2008. Non-equilibrium estimates of gene flow inferred from nuclear genealogies suggest that Iberian and North African wall lizards (*Podarcis* spp.) are an assemblage of incipient species. *BMC Evol. Biol.* 8, 63.

Pitsch T. 1993. Zur Larvaltaxonomie, Faunistik und Ökologie mitteleuropäischer Fließwasser-Köcherfliegen (Insecta: Trichoptera). Dissertation, Freie Universität Berlin.

Posada D., Crandall K. A. 2001. Intraspecific gene genealogies: trees grafting into networks. *Trends in Ecology & Evolution* 16, 37-45.

Previšić A., Mihaljević Z. i Kerovec M., 2007. Caddisfly (Insecta: Trichoptera) fauna of altered and man-made habitats in the Drava River, NW Croatia. *Natura Croatica: Periodicum Musei Historiae Naturalis Croatici*, 16(3), pp.181-187.

Previšić A., Walton C., Kučinić M., Mitrikeski P. T. i Kerovec M. 2009. Pleistocene divergence of Dinaric *Drusus* endemics (Trichoptera, Limnephilidae) in multiple microrefugia within the Balkan Peninsula. *Molecular Ecology*, 18(4), 634-647.

Previšić A. i Popijač A. 2010. Caddisfly (Insecta: Trichoptera) fauna of Kupa and Čabranka rivers and their tributaries, Gorski kotar, W Croatia, *Natura Croatica*, 19, 357–368.

Previšić A., Graf W. i Kučinić M., 2010. Caddisfly (Trichoptera) fauna of the Plitvice Lakes National Park, Croatia. *Denisia*, 29, pp.287-294.

Previšić A., Ivković M., Miliša M. i Kerovec, M., 2013a. Caddisfly (Insecta: Trichoptera) fauna of Papuk Nature Park, Croatia. *Natura Croatica*, 22(1)

Previšić A., Brigić A., Sedlar Z. i Šoštarić R., 2013b. First data on caddisfly (Insecta, Trichoptera) fauna of peatlands in Croatia. *Natura Croatica*, 22 (2): 235-242.

Previšić A., Graf W., Vitecek S., Kučinić M., Bálint M., Keresztes L., Pauls S.U. i Waringer J., 2014a. Cryptic diversity of caddisflies in the Balkans: the curious case of *Ecclisopteryx* species (Trichoptera: Limnephilidae). *Arthropod systematics & phylogeny*, 72(3), p.309.

Previšić, A., Schnitzler, J., Kučinić, M., Graf, W., Ibrahim, H., Kerovec, M. i U. Pauls, S., 2014b. Microscale vicariance and diversification of Western Balkan caddisflies linked to karstification. *Freshwater Science*, 33(1), pp.250-262.

Previšić A., Gelemanović A., Urbanič G. i Ternjej I. 2016. Cryptic diversity in the Western Balkan endemic copepod: Four species in one?. *Molecular phylogenetics and evolution*, 100, pp.124-134.

Puillandre N., Lambert A., Brouillet S., Achaz G. 2012. ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular Ecology* 21(8):1864-1877.

QGIS Development Team, 2014. QGIS Geographic Information System. 2.2.0 Valmiera. Open Source Geospatial Foundation Project. <http://qgis.osgeo.org>.

Radovanović M., 1935. Trioptere Jugoslavije. *Glasnik Zemaljskog Muzeja u Bosni i Hercegovini* 47, 73–84.

Rambaut A., Suchard M.A., Xie D., Drummond A.J. 2014. Tracer v1.6, <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>

Ratnasingham S. i Hebert P. D. 2007. BOLD: The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). *Molecular ecology notes*, 7(3), 355-364.

Ratnasingham S. i Hebert P.D., 2013. A DNA-based registry for all animal species: the Barcode Index Number (BIN) system. *PloS one*, 8(7), p.e66213.

Recuero E., Buckley D., García-París M., Arntzen J.W., Cogălniceanu D. i Martínez-Solano I., 2014. Evolutionary history of *Ichthyosaura alpestris* (Caudata, Salamandridae) inferred from the combined analysis of nuclear and mitochondrial markers. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 81, pp.207-220.

Resh V. H. i Rosenberg D. M. (Eds), 1984. *The Ecology of Aquatic Insects*. New York: Praeger

Ride W.D.J.L., 1999. International code of zoological nomenclature. International Trust for Zoological Nomenclature. <https://www.iczn.org/the-code/the-international-code-of-zoological-nomenclature/the-code-online/>



Robertson-Thompson D. R. 2010. Systematic studies of the caddisfly subfamily Protoptilinae (Trichoptera: Glossosomatidae). Doctoral dissertation. Faculty of the graduate school of the University of Minnesota.

Robertson, D. R. i Holzenthal R. W. 2013. Revision and Phylogeny of the caddisfly subfamily Protoptilinae (Trichoptera: Glossosomatidae) inferred from adult morphology and mitochondrial DNA. Magnolia Press.

Roehbdanz R. i Degrugillier M. 1998. Long Sections of Mitochondrial DNA Amplified from Fourteen Orders of Insects Using Conserved Polymerase Chain Reaction Primers. *Annals of the Entomological Society of America*, 91(6), 771-778.

Roe A. D. i Sperling F. A. 2007. Patterns of evolution of mitochondrial cytochrome c oxidase I i II DNA and implications for DNA barcoding. *Molecular Phylogenetics and evolution*, 44(1), 325-345.

Ronquist F. i Huelsenbeck, J.P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19(12), pp.1572-1574.

Rosenberg D.M., Resh V.H.. 1993. Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates, Chapman and Hall, New York. 488.

Rögl F., 1998. Palaeogeographic considerations for Mediterranean and Paratethys seaways (Oligocene to Miocene). *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien. Serie A für Mineralogie und Petrographie, Geologie und Paläontologie, Anthropologie und Prähistorie*, pp.279-310.

Ruiter D. E., Boyle E. E. i Zhou X. 2013. DNA barcoding facilitates associations and diagnoses for Trichoptera larvae of the Churchill (Manitoba, Canada) area. *BMC ecology*, 13(1), 5.

Saito R., Kato S., Kuranishi R.B., Nozaki T., Fujino T. i Tojo K. 2018. Phylogeographic analyses of the *Stenopsyche* caddisflies (Trichoptera: Stenopsychidae) of the Asian Region. *Freshwater Science*, 37(3), 562-572.

Salokannel J., Rantala M.J. i Wahlberg N., 2010. DNA-barcoding clarifies species definitions of Finnish *Apatania* (Trichoptera: Apataniidae). *Entomologica Fennica*, 21, pp.1-11.

Salokannel J., Wahlberg N., Vesterinen E., Martinez J. i González M., 2012. A taxonomic study of the caddisfly *Oxyethira falcata* Morton, 1893 (Trichoptera: Hydroptilidae) using genital morphology and DNA barcoding. *Entomologica Fennica*, 23(4), pp.199-205.

Sandrock F. 1978. Vergleichende Emergenzmessung an zwei Bächen des Schlitzerlandes (Breitenbach und Rohrwiesenbach 1970-1971) *Archiv für Hydrobiologie, Suppl*, 54, pp. 328-408.

Santos A.P., Nessimian J.L. i Takiya D.M. 2016a. Revised classification and evolution of leucotrichiine microcaddisflies (Trichoptera: Hydroptilidae) based on morphological and molecular data. *Systematic Entomology*, 41(2), 458-480.

Santos A.P., Takiya D.M. i Nessimian J.L. 2016b. Integrative taxonomy of *Metrichia* Ross (Trichoptera: Hydroptilidae: Ochrotrichiinae) microcaddisflies from Brazil: descriptions of twenty new species. *PeerJ*, 4, p.e2009.

Sanz Muñoz S. 2010. Mitochondrial variation of the caddisflies *Apatania zonella* and *Potamophylax cingulatus* (Doctoral dissertation). University of Iceli Life and Environmental Sciences.

Sarkar G. i Sommer SS. 1990. Shedding light on PCR contamination. *Nature* 343, 27pp.

Sazama E.J., Bosch M.J., Shouldis C.S., Ouellette S.P. i Wesner, J.S., 2017. Incidence of *Wolbachia* in aquatic insects. *Ecology and evolution*, 7(4), pp.1165-1169.

Schultheis A. S. i Hughes J. M. 2005. Spatial patterns of genetic structure among populations of a stonecaddis (Trichoptera: Tasimiidae) in southeast Queensland, Australia. *Freshwater Biology*, 50(12), 2002-2010.

Schultheis, A. S., Marchant, R., i Hughes, J. M. 2008. Contrasting patterns of genetic structure and disequilibrium in populations of a stone-cased caddisfly (Tasimiidae) from northern and southern Australia. *Marine and Freshwater Research*, 59(3), 235-245.

Shackleton M. E. i Webb J. M. 2013. A new description and association of a larva with the adult male of *Pliocaloca fidesria* Shackleton (Insecta: Trichoptera: Calocidae) from Australia. *Memoirs of the Queensli Museum – Nature* 56(2): 593-600. Brisbane. ISSN 0079-8835.

Shackleton M. E. i Webb J. M. 2014. Two new species of *Calocoides* Neboiss 1984 (Trichoptera: Calocidae) from eastern Australia, with descriptions of the immature stages. *Austral Entomology*, 53(4), 444-457.

Shackleton M.E. i Webb J.M. 2015. Revision of the genus *Caenota* Mosely (Trichoptera: Calocidae), with descriptions of 2 new species and the larva of *C. nemorosa* Neboiss. *Zootaxa*, 3972(4), 451-481.

Simon C., Frati F., Beckenbach A., Crespi B., Liu H., Flook P. 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sekvensas and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America* 87(6): 651-701.

Smith P. J., McVeagh S. M. i Collier K. J. 2006. Population genetic structure in the New Zeali caddisfly *Orthopsyche fimbriata* revealed with mitochondrial DNA. *New Zeali Journal of Marine and Freshwater Research*, 40(1), 141-148.

Sode A. i Wiberg-Larsen P. 1993. Dispersal of adult Trichoptera at a Danish forest brook. *Freshwater Biology*, 30, 439-446  
Solem J. O., Gullerfors B. 1996: Trichoptera: Caddisflies. In *aquatic Insects of North Europea Taxonomic Hibook* (eds.Nilsson), 224-255.

Solem J. O i Gullerfors B., 1996. Trichoptera: Caddisflies. In *aquatic Insects of North Europe-a Taxonomic Handbook* (eds.Nilsson): 224-255.

Statzner B. 1978. The effects of flight behaviour on the larval abundance of Trichoptera in the Schierenseebrooks (North Germani). In Proceedings of the 2nd International Symposium on Trichoptera. Springer, Dordrecht. 121-134.

Statzner B., Douady C. J., Konecny L. i Doledec S. 2010. Unravelling phylogenetic relationships among regionally co-existing species: *Hydropsyche* species (Trichoptera: Hydropsychidae) in the Loire River. Zootaxa, 2556(1), 51-68.

Stanić-Koštroman, S., Previšić, A., Planinić, A., Kučinić, M., Škobić, D., Dedić, A. and Durbešić, P., 2015. Environmental determinants of contrasting caddisfly (Insecta, Trichoptera) biodiversity in the Neretva and Bosna river basins (Bosnia and Herzegovina) under temperate and mediterranean climates. International review of hydrobiology, 100(2), pp.79-95.

Striberg J. i Johanson K. A. 2011. The historical biogeography of *Apsilochorema* (Trichoptera, Hydrobiosidae) revised, following molecular studies. Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research, 49(2), 110-118.

Stroil B.K., Lasić L., Hanjalić J., Mačar S. i Vesnić A. 2018. The first DNA barcode record for *Rhyacophila bosnica* Schmid, 1970 and pairing of adult and larval life stages. Genetics and Applications, 2(2), 20-27.

Sweeney B. W., Battle J. M., Jackson J. K. i Dapkey T. 2011. Can DNA barcodes of stream macroinvertebrates improve descriptions of community structure and water quality?. Journal of the North American Benthological Society, 30(1), 195-216.

Szivák I., Mikes T., Szalontai B., Kučinić M., Vučković I., Vadkerti E., Kisfali P., Pauls S.U. i Bálint M. 2017. Ecological divergence of *Chaetopteryx rugulosa* species complex (Insecta, Trichoptera) linked to climatic niche diversification. Hydrobiologia, 794(1), 31-47.

Tamura K., Glen S., Daniel P., Alan F. i Sudhir K. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Molecular biology and evolution 30, no. 12. 2725-2729.

Tobias W. i Tobias D. 2008. A catalogue of illustrations for the identification of the caddisflies (Insecta: Trichoptera) known to occur in Norway, Sweden and Finland – adults. <http://trichoptera.insects-online.de> (accessed on 28.07.2019).

Toews D.P. i Brelsford A., 2012. The biogeography of mitochondrial and nuclear discordance in animals. *Molecular Ecology*, 21(16), pp.3907-3930.

Torii T. i Nakamura M. 2016. DNA identification and morphological description of the larva of *Eoneureclipsis montanus* (Trichoptera, Psychomyiidae). *Zoosymposia*, 10(1), 424-431.

Triboy T.I., Nepokrytykh A.V., Rozhkova N.A., Bukin Y.S. i Sherbakov D.Y. 2017. Molecular evolution of the Lake Baikal endemic caddisflies (Trichoptera). *Rusijan Journal of Genetics*, 53(4), 509-513.

Ujvárosi L., Robert S.C., Neu P. i Robert B., 2008. First revision of the Romanian caddisflies (Insecta: Trichoptera). *Ferrantia*, 55, pp.110-124.

Urbanič G., Krusnik C. i Malicky H., 2000. *Rhyacophila schmidinarica*, a new species of the philopotamoides group (Trichoptera: Rhyacophilidae) from the northern Balkan Peninsula. *Braueria*, 27, pp.17-18.

Urbanič G., 2004. Ecology and distribution of caddisflies (Insecta: Trichoptera) in some watercourses in Slovenia, Ph.D. Thesis, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana.

Valentini A., Pompanon F. i Taberlet P., 2009. DNA barcoding for ecologists. *Trends in ecology & evolution*, 24 (2), pp.110-117.

Van der Hoek W.F. i Cuppen J.G.M., 1989. Life cycle and growth of *Trichostegia minor* (Curtis) in temporary woodland pools (Trichoptera: Phryganeidae). *Hydrobiological Bulletin*, 23(2), pp.161-168.

Villesen P. 2007. FaBox: an online toolbox for fasta sekvencas. *Molecular Ecology Notes* 7, 965-968.

Vitecek S., Previšić A., Kučinić M., Bálint M., Keresztes L., Waringer J., Pauls S.U., Malicky H. i Graf W., 2015a. Description of a new species of *Wormaldia* from Sardinia and a new *Drusus* species from the Western Balkans (Trichoptera, Philopotamidae, Limnephilidae). *ZooKeys*, (496), p.85.

Vitecek S., Graf W., Previšić A., Kučinić M., Oláh J., Bálint M., Keresztes L., Pauls S.U. i Waringer J., 2015b. A hairy case: The evolution of filtering carnivorous Drusinae (Limnephilidae, Trichoptera). *Molecular phylogenetics and evolution*, 93, pp.249-260.

Vitecek S., Kučinić M., Previšić A., Živić I., Stojanović K., Keresztes L., Bálint M., Hoppeler F., Waringer J., Graf W. i Pauls, S.U., 2017. Integrative taxonomy by molecular species delimitation: multi-locus data corroborate a new species of Balkan Drusinae micro-endemics. *Bmc evolutionary biology*, 17(1), p.129.

Vrućina I., Previšić A. i Merdić E., 2016. First record of *Oecetis furva* (Rambur, 1842) and *Orthotrichia tragetti* (Mosely, 1930)(Insecta, Trichoptera) for the Croatian fauna. *Natura Croatica: Periodicum Musei Historiae Naturalis Croatici*, 25(1), pp.109-118.

Vshivkova, T.S., Morse J.C. i Ruiter D., 2007. Phylogeny of Limnephilidae and composition of the genus *Limnephilus* (Limnephilidae: Limnephilinae, Limnephilini). In *Proceedings of the 12th International Symposium on Trichoptera. The Caddis Press, Columbus, Ohio* (pp. 309-319).

Vučković 2011. Faunističke, taksonomske i ekološke značajke tulara (Insecta: Trichoptera) sliva rijeke Cetine. Faunistic, taxonomic and ecological characteristics of caddisflies (Insecta: Trichoptera) on the catchment area of the river Cetina. PhD Thesis (on Croatian), Zagreb, Croatia: University of Zagreb pp. 138

Vučković I., Previšić A., Graf W. i Kučinić, M., 2011. Description of the female and new data on distribution of *Annitella apfelbecki* Klapálek, 1899 (Insecta: Trichoptera). *Aquatic Insects* 33 (4): 381-389.

Vučković I. Ćuk R., Cerjanec D., Vidaković I., Plantak M., Srebočan, M. i Kučinić M., 2016. Rod *Ecclisopteryx* (Insecta: Trichoptera: Limnephilidae) u Hrvatskoj: rasprostranjenost i aspekti zaštite. *Natura Croatica: Periodicum Musei Historiae Naturalis Croatici*, 25(2), pp.267-278.

Wahlberg E. i Johanson K.A. 2014. The age, ancestral distribution and radiation of *Chimarra* (Trichoptera: Philopotamidae) using molecular methods. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 79, 433-442.

Wagner R. i Schmidt H.H. 2004. Yearly discharge patterns determine species abundance and community diversity: Analysis of a 25 year record from the Breitenbach *Archiv für Hydrobiologie*, 161, pp. 511-540.

Waringer, J., Graf, W., Pauls, S.U., Vicentini, H. i Lubini, V., 2008. DNA based association and description of the larval stage of *Drusus melanchaetes* McLachlan, 1876 (Trichoptera: Limnephilidae: Drusinae) with notes on ecology and zoogeography. *Limnologica*, 38(1), pp.34-42.

Waringer, J. i Graf, W., 2011. Atlas der mitteleuropäischen Köcherfliegenlarven—Atlas of Central European Trichoptera Larvae. Erik Mauch Verlag, Dinkelscherben, Germany, 468 pp.

Waringer J., Graf W., Balint M., Kučinić M., Pauls S. U., Previšić A., Keresztes L. i Vitecek S. 2013. The larvae of *Drusus franzressli* Malicky 1974 and *Drusus spelaeus* (Ulmer 1920 (Trichoptera: Limnephilidae: Drusinae) with notes on ecology and zoogeography. *Zootaxa*, 3637(1), 1.

Waringer J., Graf W., Balint M., Kučinić M., Pauls S.U., Previšić A., Keresztes L., Ibrahim H., Živić I., Bjelanović K. i Krpač V., 2015. Larval morphology and phylogenetic position of *Drusus balcanicus*, *Drusus botosaneanui*, *Drusus serbicus* and *Drusus tenellus* (Trichoptera: Limnephilidae: Drusinae). *European journal of entomology*, 112(2), p.344.

Waringer J., Previšić A., Kučinić M., Graf W., Vitecek S., Keresztes L., Balint M. i Pauls S.U., 2016. Larval morphology of the Western Balkans endemic caddisflies *Drusus krusniki* Malicky

1981, *D. vernonensis* Malicky 1989, and *D. vespertinus* Marinković 1976 (Trichoptera, Limnephilidae, Drusinae). Zootaxa, 4083(4), p.483.

Waterton C., Ellis R., Wynne B. 2013. Barcoding nature: shifting cultures of taxonomy in an age of biodiversity loss. Abingdon: Routledge.

Weaver J. S. III 1984. The evolution and classification of Trichoptera, Part 1: the groundplan of Trichoptera. In: J. C. Morse (Ed.) Proceedings of the 4th International Symposium on Trichoptera. The Hague: Junk. 413–419.

Weaver J. W. III i Morse, J. C. 1986. Evolution of feeding and case-making behavior in Trichoptera. Journal of the North American Benthological Society, 5, 150–158.

Weaver J. S. III 1992a. Remarks on the evolution of Trichoptera: a critique of Wiggins and Wichard's classification. Cladistics, 8, 171–180.

Weaver J. S. III 1992b. Further remarks on the evolution of Trichoptera: a reply to Wiggins. Cladistics, 8, 187–190.

Weaver III, J. S., 2002. A synonymy of the caddisfly genus *Lepidostoma* Rambur (Trichoptera: Lepidostomatidae), including a species checklist. Tijdschrift voor Entomologie, 145(2), pp.173-192.

Weigand, H., Weiss, M., Cai, H., Li, Y., Yu, L., Zhang, C. and Leese, F., 2017. Deciphering the origin of mito-nuclear discordance in two sibling caddisfly species. Molecular ecology, 26(20), pp.5705-5715.

Weigand H., Beermann A.J., Čiampor F., Costa F.O., Csabai Z., Duarte, S., Geiger, M.F., Grabowski M., Rimet F., Rulik B. i Strand M. 2019. DNA barcode reference libraries for the monitoring of aquatic biota in Europe: Gap-analysis and recommendations for future work. BioRxiv, p.576553.



- Werren JH, Baldo L, Clark ME. 2008. Wolbachia: master manipulators of invertebrate biology. *Nat Rev Microbiol.* 6(10):741–51. doi:10.1038/nrmicro1969
- Wickson S. J., Chester E. T., Valenzuela I., Halliday B., Lester R. E., Matthews T. G. i Miller, A. D. 2014. Population genetic structure of the Australian caddisfly *Lectrides varians* Mosely (Trichoptera: Leptoceridae) and the -ification of cryptic species in south-eastern Australia. *Journal of insect conservation*, 18(6), 1037-1046.
- Wiggins G. B. 1973. A contribution to the biology of Caddisflies (Trichoptera) in temporary pools. *Life sciences contributions. Royal Ontario Museum* 88: 1-28.
- Wiggins G.B. 1977. Larvae of the north american caddisfly genera (Trichoptera) Univ. Toronto Press, Toronto, 401.
- Wiggins G. B. i Wichard W. 1989. Phylogeny of pupation in Trichoptera, with proposals on the origin and higher classification of the order. *Journal of the North American Benthological Society*, 8, 260–276.
- Wiggins G.B. 2004. *Caddisflies The underwater architects.* University of Toronto Press, Toronto, Buffalo, London.
- Wilcock H.R., Bruford M.W., Nichols R.A. i Hildrew A.G., 2007. Landscape, habitat characteristics and the genetic population structure of two caddisflies. *Freshwater Biology*, 52(10), pp.1907-1929.
- Wilson C.C. i Bernatchez,L., 1998. The ghost of hybrids past: fixation of artic charr (*Salvelinus alpinus*) mitochondrial DNA in an introgressed population of lake trout (*S. namaycush*). *Molecular Ecolution* 7, 127–132.
- Wolf B., Angersbach R., Hans-Joachim F. 2013. Plecoptera and Trichoptera in the tagliamento flood plains and in some tributaries in Friuli Venezia Giulia (Italy). *Gortania, Botanica, Zoologia* 34. 2038-0402.

Wolstenholme D.R. 1992. Animal mitochondrial DNA: structure and evolution. In: Mitochondrial genomes. (u Wolstenholme, D.R. i Jeon, K.W., ur.) International Review of Cytology. vol. 141. ed. Academic Press, New York, 173-216.

Zakharov E.V., Lobo N.F., Nowak C. i Hellmann J.J., 2009. Introgression as a likely cause of mtDNA paraphyly in two allopatric skippers (Lepidoptera: Hesperidae). *Heredity*, 102(6), p.590.

Zamora-Muñoz C., Múrria C., Bonada N. i González M.A., 2017. The *Hydropsyche instabilis* group (Trichoptera: Hydropsychidae) on the Iberian Peninsula: evolutionary relationships, new species, taxonomical controversies, and a key to larvae. *Arthropod systematics & phylogeny*, 75(1), pp.159-172.

Zhou X., Kjer K. M. i Morse J. C. 2007. Associating larvae and adults of Chinese Hydropsychidae caddisflies (Insecta: Trichoptera) using DNA sekvenkas. *Journal of the North American Benthological Society*, 26(4), 719-742.

Zhou X., Adamowicz S. J., Jacobus L. M., DeWalt R. E. i Hebert P. D. 2009a. Towards a comprehensive barcode library for arctic life-Ephemeroptera, Plecoptera, and Trichoptera of Churchill, Manitoba, Canada. *Frontiers in zoology*, 6(1), 30.

Zhou, X., 2009b. The larvae of Chinese Hydropsychidae (Insecta: Trichoptera), part I: *Arctopsyche shimianensis*, *Parapsyche* sp. A, and *Diplectronea obscura*. *Zootaxa*, 2174(1), p.17.

Zhou X., Jacobus L. M., DeWalt R. E., Adamowicz S. J. i Hebert P. D. 2010. Ephemeroptera, Plecoptera and Trichoptera fauna of Churchill (Manitoba, Canada): insights into biodiversity patterns from DNA barcoding. *Journal of the North American Benthological Society*, 29(3), 814-837.

Zhou X., Robinson J. L., Geraci C. J., Parker C. R., Flint Jr O. S., Etnier D. A., Ruiter D., DeWalt R.E., Jacobus L.M. i Hebert, P. D. 2011. Accelerated construction of a regional DNA-barcode reference library: caddisflies (Trichoptera) in the Great Smoky Mountains National Park. *Journal of the North American Benthological Society*, 30(1), 131-162.

Zhou X., Frisen P.B., Holzenthal R.W., Beet C.R., Bennett K.R., Blahnik R.J., Bonada N., Cartwright D., Chuluunbat S., Cocks G.V. i Collins G.E. 2016. The Trichoptera barcode initiative: a strategy for generating a species-level Tree of Life. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 371(1702), 20160025.

Zug R i Hammerstein P. 2012. Still a host of hosts for Wolbachia: Analysis of recent data suggests that 40 % of terrestrial arthropod species are infected. *Plos One*. 7(6). doi:10.1371/journal.pone.0038544.

Živić I., Marković Z. i Brajković M., 2002. First check list of Serbian Trichoptera. *Folia historico-naturalia Musei matraensis*, 26, pp.269-277.

## 8. PRILOZI

PRILOG 1. Popis primjeraka tulara iz kojih je izolirana DNA ovim radom. Kod naziva vrste naznačeno je kojoj osobi ili instituciji pripadaju vaučeri (AP –Ane Previšić, DC – Darko Cerjanec, HI- Halil Ibrahim, MK - Mladen Kučinić). BCD = Barcode zbirka DNA.

CroBar Fauna kod	DNA kod	VRSTA (prema morfološkoj identifikaciji)	LOKALITET	BCD	BCD-mjesto u kutiji
/	TEKER_1	<i>Ecclisopteryx keroveci</i>	rijeka Dretulja (srednji tok) - Plaški	BCD 1	BC1-01
/	TAFUR_1	<i>Anabolia furcata</i>	potok Jankovac (gornji tok) - zapadno od Orahovca, Papuk	BCD 2	BC1-02
/	TCSCH_1	<i>Chaetopteryx schmidi</i>	potok Jankovac (gornji tok) - zapadno od Orahovca, Papuk	BCD 3	BC1-03
/	TLFLU_1	<i>Limnephilus flavicornis</i>	rijeka Odra (donji tok) - livade Selce	BCD 4	BC1-04
/	THCON_1	<i>Hydropsyche conturbenalis</i>	rijeka Sava (srednji tok) - Orle	BCD 5	BC1-05
/	THBUB_1	<i>Hydropsyche bulbifera</i>	potok Bistra (srednji tok) - Bistra, Medvednica	BCD 6	BC1-06
/	TEKER_1	<i>Ecclisopteryx cf. keroveci</i>	rijeka Dretulja (srednji tok) - Plaški	BCD 7	BC1-07
/	TAFUR_1a	<i>Anabolia furcata</i>	potok Jankovac	BCD 8	BC1-08
/	TCSCH_1a	<i>Chaetopteryx schmidi</i>	potok Jankovac	BCD 9	BC1-09
/	TLFLU_1a	<i>Limnephilus flavicornis</i>		BCD 10	BC1-10
/	THBUB_1a	<i>Hydropsyche bulbifera</i>	potok Bistra	BCD 12	BC1-12
/	THCON_1a	<i>Hydropsyche conturbenalis</i>		BCD 11	BC1-11
/	TLFLU_2	<i>Limnephilus flavicornis</i>	rijeka Kupa (donji tok) - Brest	BCD 13	BC1-13
/	TRTOR_1	<i>Rhyacophila torrentium</i>	potok Zeleni Vir (izvor)	BCD 14	BC1-14
/	TGDIS_1	<i>Glossosoma discophorum</i>	rijeka Tounjčica (izvor)	BCD 15	BC1-15
/	TCL EP_1	<i>Cheumatopsyche lepida</i>	rijeka Drava (srednji tok) - Gornji Hrašćan	BCD 16	BC1-16
/	TRFAS_1	<i>Rhyacophila fasciata</i>	potok Zeleni Vir (izvor)	BCD 17	BC1-17
/	TMYS_1	<i>Mystacides sp.</i>	rijeka Drava (srednji tok) - Gornji Hrašćan	BCD 18	BC1-18
/	TPIRR_1	<i>Polycentropus irroratus</i>	rijeka Mrežnica – Belavići	BCD 19	BC1-19
/	TGBIF_1	<i>Glossosoma bifidum</i>	rijeka Kupčina (izvor, gornji tok) - Žumberak	BCD 20	BC1-20
/	TOALB_1	<i>Odontocerum albicorne</i>	rijeka Kupa (gornji tok) - Brod na Kupi	BCD 21	BC1-21
/	TACIN_1	<i>Athripsodes cinereus</i>	rijeka Mrežnica – Belavići	BCD 22	BC1-22
/	TMNYC_1	<i>Micropterna nycterobia</i>	rijeka Krupa (donji tok) - Manastir	BCD 23	BC1-23
/	THDIG_1	<i>Halesus digitatus</i>	rijeka Zrmanja (izvor)	BCD 24	BC1-24
/	TRFAS_1	<i>Rhyacophila fasciata</i>	potok Zeleni Vir (izvor)	BCD 25	BC1-25
/	TMYS_1a	<i>Mystacides sp.</i>	ponovljena izolacija, rijeka Drava (srednji tok) - Gornji Hrašćan	BCD 26	BC1-26
/	THDIG_1a	<i>Halesus digitatus</i>	rijeka Zrmanja (izvor)	BCD 27	BC1-27
/	TRTOR_1a	<i>Rhyacophila torrentium</i>	ponovljena izolacija, potok Zeleni Vir (izvor)	BCD 28	BC1-28
/	TMNYC_1a	<i>Micropterna nycterobia</i>	rijeka Krupa (donji tok) - Manastir	BCD 29	BC1-29
/	TRBAL_1	<i>Rhyacophila balcanica</i>	rijeka Una (izvor)	BCD 30	BC1-30
/	TLRED_1	<i>Lype reducta</i>	rijeka Krupa (donji tok) - Manastir	BCD 31	BC1-31
/	TLIGN_1	<i>Limnephilus ignavus</i>	rijeka Dretulja (srednji tok) - Plaški	BCD 32	BC1-32
/	TPROT_1	<i>Potamophylax rotundipennis</i>	rijeka Sava - Drenje Brdovečko	BCD 33	BC1-33

PRILOG 1. Popis primjeraka tulara iz kojih je izolirana DNA ovim radom. Kod naziva vrste naznačeno je kojoj osobi ili instituciji pripadaju vaučeri (AP –Ane Previšić, DC – Darko Cerjanec, HI- Halil Ibrahim, MK - Mladen Kučinić). BCD = Barcode zbirka DNA.

CroBar Fauna kod	DNA kod	VRSTA (prema morfološkoj identifikaciji)	LOKALITET	BCD	BCD-mjesto u kutiji
/	TMSEQ_1	<i>Micropterna sequax</i>	potok Roč-Marusić - srednji tok kod Mosta	BCD 34	BC1-34
/	TAALB_1	<i>Athripsodes albifrons</i>	rijeka Una (donji tok) - Hrvatska Dubica	BCD 35	BC1-35
/	TAVAR_1	<i>Agrypnia varia</i>	rijeka Mura (donji tok) - Goričan	BCD 36	BC1-36
/	TABIL_1	<i>Athripsodes bilineatus</i>	Pašina vrela - iznad sela Mečenčani	BCD 37	BC1-37
/	TPSCH_1	<i>Polycentropus schmidi</i>	rijeka Žirovnica (gornji tok) - Gvozdansko	BCD 38	BC1-38
/	TALAN_1	<i>Agapetus laniger</i>	rijeka Mura (donji tok) - Goričan	BCD 39	BC1-39
/	TAOCH_1	<i>Agapetus ochripes</i>	rijeka Kupa (gornji tok) - Brod na Kupi	BCD 40	BC1-40
/	TRDOP_1	<i>Rhyacophila dorsalis persimilis</i>	rijeka Kupa (gornji tok) - Brod na Kupi	BCD 41	BC1-41
/	TTWAE_1	<i>Tinodes waeneri</i>	potok Roč (izvor) - Marušići	BCD 42	BC1-42
/	TTBRA_1	<i>Tinodes braueri</i>	rijeka Krupa (donji tok) - Manastir	BCD 43	BC1-43
/	TMSET_1	<i>Micrasema setiferum</i>	rijeka Kupa (gornji tok) - Brod na Kupi	BCD 44	BC1-44
/	TWSUB_1	<i>Wormaldia subnigra</i>	rijeka Mrežnica – Belavići	BCD 45	BC1-45
/	TPPAL_1	<i>Potamophylax pallidulus</i>	potok Rakov potok (izvor) - Medvednica	BCD 46	BC1-46
/	THTES_1	<i>Halesus tessellatus</i>	rijeka Bosut (donji tok) - lokacija na cesti Rokovci - Andrijaševci	BCD 47	BC1-47
/	TRDOP_2	<i>Rhyacophila dorsalis persimilis</i>	rijeka Kupa (srednji tok) - Pribanjci	BCD 48	BC1-48
/	TRPAL_1	<i>Rhyacophila palmeni</i> - HI	Trigona (MKZ), Village, Kardista, Grčka	BCD 49	BC1-49
/	TAAUR_1	<i>Allogamus auricollis</i>	rijeka Una (izvor)	BCD 50	BC1-50
/	TRPAL_2	<i>Rhyacophila palmeni</i> - HI	Evritanias, Karpension, Grčka	BCD 51	BC1-51
/	TLAUR_1	<i>Limnephilus auricula</i>	rijeka Una (gornji tok) - Srb	BCD 52	BC1-52
/	TRPAL_3	<i>Rhyacophila palmeni</i> - HI	KM 10 Manastir: Pejë Municipality	BCD 53	BC1-53
/	TMAZU_1	<i>Mystacides azurea</i>	rijeka Korana (srednji tok) - Veljun	BCD 54	BC1-54
/	TRPAL_4	<i>Rhyacophila palmeni</i> - HI	Fthiotida, Iti-Geb, Pervoli, Grčka	BCD 55	BC1-55
/	TLBAS_1	<i>Lepidostoma basale</i>	Pašina vrela - iznad sela Mečenčani	BCD 56	BC1-56
/	TRPAL_5	<i>Rhyacophila palmeni</i> - HI	rijeka Aroanios, Achaias (Achaea), Krinofita	BCD 57	BC1-57
/	TLBAS_2	<i>Lepidostoma basale</i>	Pašina vrela - iznad sela Mečenčani	BCD 58	BC1-58
/	TCLEP_2	<i>Cheumatopsyche lepida</i>	rijeka Mirna - Livade	BCD 59	BC1-59
/	TRPAL_6	<i>Rhyacophila palmeni</i> - HI	Pika 2, Kosovo	BCD 60	BC1-60
/	TDVES_1	<i>Drusus vespertinus</i>	rijeka Una (izvor)	BCD 61	BC1-61
/	TRPAL_7	<i>Rhyacophila palmeni</i>	rijeka Kupa (srednji tok) - Pribanjci	BCD 62	BC1-62
/	TPLAT_1	<i>Potamophylax latipennis</i>	rijeka Una (gornji tok) - Srb	BCD 63	BC1-63
/	TRVUL_1	<i>Rhyacophila vulgaris</i>	rijeka Kupčina (izvor, gornji tok) - Žumberak, Vrabac	BCD 64	BC1-64
/	TPLAT_2	<i>Potamophylax latipennis</i>	rijeka Dretulja (izvor)	BCD 65	BC1-65
/	TRAUR_1	<i>Rhyacophila aurata</i>	rijeka Kupa (gornji tok) - Brod na Kupi	BCD 66	BC1-66
/	TDSCH_1	<i>Drusus schmidi</i> ,	potok Jankovac (izvor) - zapadno od Orahovca, Papuk	BCD 67	BC1-67
/	TIDUB_1	<i>Irinoqua dubia</i>	rijeka Drava (srednji tok) - Terezino Polje	BCD 68	BC1-68

PRILOG 1. Popis primjeraka tulara iz kojih je izolirana DNA ovim radom. Kod naziva vrste naznačeno je kojoj osobi ili instituciji pripadaju vaučeri (AP –Ane Previšić, DC – Darko Cerjanec, HI- Halil Ibrahim, MK - Mladen Kučinić). BCD = Barcode zbirka DNA.

CroBar Fauna kod	DNA kod	VRSTA (prema morfološkoj identifikaciji)	LOKALITET	BCD	BCD-mjesto u kutiji
/	TPPUS_1	<i>Psychomyia pusilla</i>	rijeka Kupa (srednji tok) - Pribanjci	BCD 69	BC1-69
/	TTDIV_1	<i>Tinodes dives</i>	rijeka Una (izvor)	BCD 70	BC1-70
/	TPPUS_2	<i>Psychomyia pusilla</i>	rijeka Mura (skela) - Sveti Martin na Muri	BCD 71	BC1-71
/	TPLE_1	<i>Plectrocnemia sp.</i>	potok Mlini (izvor)	BCD 72	BC1-72
/	THYD_1	<i>Hydropsyche sp.</i>	jezero Crna Mlaka	BCD 73	BC1-73
/	TAATE_1	<i>Athripsodes aterrimus</i>	rijeka Mura (donji tok) - Goričan	BCD 74	BC1-74
/	TCDIS_1	<i>Ceraclea dissimilis</i>	rijeka Kupa (donji tok) - Jamnička Kiselica	BCD 75	BC1-75
/	THINS_1	<i>Hydropsyche instabilis</i>	rijeka Vitunjčica (izvor) - Vitunj	BCD 76	BC1-76
/	TPBIN_1	<i>Phryganea bipunctata</i>	rijeka Drava (srednji tok) - Gornji Hrašćan	BCD 77	BC1-77
/	TSFLA_1	<i>Sericostoma flavicorne</i>	rijeka Tounjčica (izvor)	BCD 78	BC1-78
/	TDCRO_1	<i>Drusus croaticus</i>	rijeka Vitunjčica (izvor) - Vitunj	BCD 79	BC2-01
/	TGDIS_2	<i>Glossosoma discophorum</i>	rijeka Slunjčica (izvor)	BCD 80	BC2-02
/	TRHIT_1	<i>Rhyacophila hirticornis</i>	potok Šumi (izvor) – Ivančica	BCD 81	BC2-03
/	TGDIS_3	<i>Glossosoma discophorum</i>	rijeka Vitunjčica (izvor) - Vitunj	BCD 82	BC2-04
/	TRLAE_1	<i>Rhyacophila laevis</i>	potok Šumi (izvor) – Ivančica	BCD 83	BC2-05
/	TGDIS_4	<i>Glossosoma discophorum</i>	rijeka Una (izvor)	BCD 84	BC2-06
/	TPOL_1	<i>Polycentropus sp.</i>	jezero Crna Mlaka	BCD 85	BC2-07
/	TOEC_1	<i>Oecetis sp.</i>	jezero Crna Mlaka	BCD 86	BC2-08
/	TPKLA_1	<i>Psychomyia cf. klapaleki</i>	rijeka Vitunjčica (izvor) - Vitunj	BCD 87	BC2-09
/	TLAFL_1	<i>Limnephilus affinis</i>	rijeka Kupa (donji tok) - Brest	BCD 88	BC2-10
/	THMOD_1	<i>Hydropsyche modesta</i>	rijeka Sava - Drenje Brdovečko	BCD 89	BC2-11
/	THINC_1	<i>Hydropsyche incognita</i>	rijeka Mirna - Livade	BCD 90	BC2-12
/	TOFLA_1	<i>Oxyethira flavicornis</i>	rijeka Sava - Drenje Brdovečko	BCD 91	BC2-13
/	THINC_2	<i>Hydropsyche incognita</i>	rijeka Sava - Drenje Brdovečko	BCD 92	BC2-14
/	TGCON_1	<i>Glossosoma conformis</i>	potok Bliznec (srednji tok) - javna ustanova PP Medvednica	BCD 93	BC2-15
/	TRPAL_8	<i>Rhyacophila palmeni</i> - HI	izvor Sveta voda, Mavrovo, Makedonija	BCD 94	BC2-16
/	TRBAL_2	<i>Rhyacophila balcanica</i>	Belička reka, Makedonija	BCD 95	BC2-17
/	TPAMA_1	<i>Potamophylax alpestris macedonicus</i>	Šarplanina, Karu bunar, Makedonija	BCD 96	BC2-18
/	TPPAL_2	<i>Potamophylax pallidulus</i>	Reč, Mavrovo, Makedonija	BCD 97	BC2-19
/	TGPIL_1	<i>Goera pilosa</i>	rijeka Kupa (srednji tok) - Pribanjci	BCD 98	BC2-20
/	TLGRA_1	<i>Limnephilus graecus</i>	jezero Kutu -Badžule	BCD 99	BC2-21
/	TSPIC_1	<i>Silo piceus</i>	rijeka Kupa (srednji tok) - Pribanjci	BCD 100	BC2-22
/	TWPUL_1	<i>Wormaldia pulla</i>	potok Bliznec (srednji tok) - javna ustanova PP Medvednica	BCD 101	BC2-23
/	TWOCI_1	<i>Wormaldia occipitalis</i>	potok Bliznec (srednji tok) - javna ustanova PP Medvednica	BCD 102	BC2-24
/	TPLUC_1	<i>Potamophylax luctuosus</i>	selo Nikiforovo, Mavrovo, Makedonija	BCD 103	BC2-25
/	TPKES_1	<i>Potamophylax cf. kesken</i>	potok Bogdanov, Mavrovo, Makedonija	BCD 104	BC2-26
/	TGKLO_1	<i>Glossosoma cf. klotho</i>	Mala reka, Mavrovo, Makedonija	BCD 105	BC2-27

PRILOG 1. Popis primjeraka tulara iz kojih je izolirana DNA ovim radom. Kod naziva vrste naznačeno je kojoj osobi ili instituciji pripadaju vaučeri (AP –Ane Previšić, DC – Darko Cerjanec, HI- Halil Ibrahim, MK - Mladen Kučinić). BCD = Barcode zbirka DNA.

CroBar Fauna kod	DNA kod	VRSTA (prema morfološkoj identifikaciji)	LOKALITET	BCD	BCD-mjesto u kutiji
/	TPGEN_1	<i>Plectronemia geniculata</i>	izvor Sveta voda, Mavrovo, Makedonija	BCD 106	BC2-28
/	TGKLO_2	<i>Glossosoma klotho</i> - HI	Brod II, Kosovo	BCD 107	BC2-29
/	TTANO_1	<i>Thremna anomalum</i>	izvor Strežimirske reke, NP Mavrovo, Makedonija	BCD 108	BC2-30
/	TPGEN_2	<i>Plectrocnemia geniculata</i> - HI	Brod II, Kosovo	BCD 109	BC2-31
/	TEKER_2	<i>Ecclisopteryx keroveci</i> - HI	Pika 2, Dečan, Kosovo	BCD 110	BC2-32
/	TRTRI_1	<i>Rhyacophila tristis</i> - HI	Pika 6, Dečan, Kosovo	BCD 111	BC2-33
/	TWOCI_2	<i>Wormaldia occipitalis</i> - HI	Mushtisht, Kosovo	BCD 112	BC2-34
/	TMMIN_1	<i>Micrasema minimum</i> - HI	Manastir, Kosovo	BCD 113	BC2-35
/	TGKLO_3	<i>Glossosoma klotho</i> - HI	Te manastiri, Kosovo	BCD 114	BC2-36
/	TATRI_1	<i>Annitella triloba</i> - HI	Guriikuq, Kosovo	BCD 115	BC2-37
/	TRTRI_2	<i>Rhyacophila tristis</i> - HI	Kujavqe, Kosovo	BCD 116	BC2-38
/	TRTRI_3	<i>Rhyacophila tristis</i> - HI	Kaqandoll, Kosovo	BCD 117	BC2-39
/	TRLOX_1	<i>Rhyacophila loxias</i>	NP Mavrovo, Sastav reka/svete vode, most, Makedonija	BCD 118	BC2-40
/	TRARM_1	<i>Rhyacophila armenica</i>	NP Mavrovo, Sastav reka/svete vode, Makedonija	BCD 119	BC2-41
/	TPJUL_1	<i>Potamophylax juliani</i> - HI	Brezovicë, Kosovo	BCD 120	BC2-42
/	TCKOS_1	<i>Chaetopteroidea kosovarorum</i> - HI	Bajgore, Kosovo	BCD 121	BC2-43
/	TCBOS_1	<i>Crunoecia bosniaca</i>	Kaqandoll, Kosovo	BCD 122	BC2-44
/	TCKOS_2	<i>Chaetopteroidea kosovarorum</i> - HI	Bresanë, Kosovo	BCD 123	BC2-45
/	THBAC_1	<i>Helicopsyche bacescui</i> - HI	Blinajë, Kosovo	BCD 124	BC2-46
/	TRPOL_1	<i>Rhyacophila polonica</i> - HI	Mushtisht, Kosovo	BCD 125	BC2-47
/	TROBI_1	<i>Rhyacophila oblitterata</i> - HI	Guriikuq, Kosovo	BCD 126	BC2-48
/	TRDOR_1	<i>Rhyacophila dorsalis</i>	rijeka Sutla (srednji tok) - Zelenjak, Kumrovec	BCD 127	BC2-49
/	TATRI_2	<i>Annitella cf triloba</i>	Izvor Strežimirske reke, NP Mavrovo, Makedonija	BCD 128	BC2-50
/	THBUL_1	<i>Hydropsyche cf. bulgaroromanorum</i>	rijeka Dunav - Zlatna Greda	BCD 129	BC2-51
/	TTIN_1	<i>Tinodes sp.</i>	potok Roč (izvor) - Marušići	BCD 130	BC2-52
/	THBUL_2	<i>Hydropsyche cf. bulgaroromanorum</i>	rijeka Dunav - Zlatna Greda	BCD 131	BC2-53
/	TTPAL_1	<i>Tinodes pallidulus</i>	potok Roč (izvor) - Marušići	BCD 132	BC2-54
/	TSFLA_2	<i>Sericostoma cf. flavicorne, M</i>	rijeka Krupa (donji tok) - Manastir	BCD 133	BC2-55
/	THBUL_3	<i>Hydropsyche cf. bulgaroromanorum</i>	rijeka Dunav - Zlatna Greda	BCD 134	BC2-56
/	TTANT_1	<i>Tinodes antonioi</i>	potok Roč (izvor) - Marušići	BCD 135	BC2-57
/	TATRI_3	<i>Annitella triloba</i> - HI	Restelicë, Kosovo	BCD 136	BC2-58
/	TTIN_2	<i>Tinodes sp.</i>	potok Roč (izvor) - Marušići	BCD 137	BC2-59
/	TASYR_1	<i>Adicella syriaca, m</i>	rijeka Krapina (srednji tok) - Krapina Selo	BCD 138	BC2-60
/	TAFUS_1	<i>Agapetus cf. fuscipes</i>	rijeka Ljuta (izvor) - Konavle	BCD 139	BC2-61
/	TCHE_1	<i>Cheumatopsyche sp.</i>	rijeka Mura (donji tok) - Goričan	BCD 140	BC2-62

PRILOG 1. Popis primjeraka tulara iz kojih je izolirana DNA ovim radom. Kod naziva vrste naznačeno je kojoj osobi ili instituciji pripadaju vaučeri (AP –Ane Previšić, DC – Darko Cerjanec, HI- Halil Ibrahimi, MK - Mladen Kučinić). BCD = Barcode zbirka DNA.

CroBar Fauna kod	DNA kod	VRSTA (prema morfološkoj identifikaciji)	LOKALITET	BCD	BCD-mjesto u kutiji
/	TCTRI_1	<i>Cyrnus trimaculatus</i>	rijeka Lika (srednji tok) - Bilaj	BCD 141	BC2-63
/	TPJUL_1a	<i>Potamophylax juliani</i> - HI	Brezovicë, Kosovo	BCD 142	BC2-64
/	TCKOS_1a	<i>Chaetopteroides kosovarorum</i> - HI	Restelicë, Kosovo	BCD 143	BC2-65
/	TRTRI_3a	<i>Rhyacophila tristis</i> - HI	Kaqandoll, Kosovo	BCD 144	BC2-66
/	TBMON_1	<i>Brachycentrus cf. montanus</i>	rijeka Čabranka (donji tok, ušće)	BCD 145	BC2-67
/	TED_1	<i>Eccisopteryx /Drusus sp.</i>	rijeka Veličanka - uzvodno od Požege	BCD 146	BC2-68
/	THSAX_1	<i>Hydropsyche saxonica</i>	potok Vrba (izvor) - Muć	BCD 147	BC2-69
/	TPLAT_3	<i>Potamophylax latipennis</i>	rijeka Zrmanja (izvor)	BCD 148	BC2-70
/	TRDOR_2*	<i>Rhyacophila dorsalis</i>	rijeka Čabranka (izvor) - Čabar	BCD 149	BC2-71
/	TADAL_1	<i>Athripsodes dalmatinus</i>	rijeka Cetina, kanal Brkljača - Sinjsko polje	BCD 150	BC2-72
/	TPLAT_4	<i>Potamophylax latipennis</i>	rijeka Riječina (izvor)	BCD 151	BC2-73
/	TRALP_1	<i>Rhadicoleptus alpestris</i>	potok Peratovica (srednji tok) - Bilogora	BCD 152	BC2-74
/	TMIC_1	<i>Micrasema sp.</i>	rijeka Čabranka (donji tok, ušće)	BCD 153	BC2-75
/	TETEN_1	<i>Ecnomus tenellus</i>	Vransko jezero - otok Cres	BCD 154	BC2-76
/	TPVAR_1	<i>Philopotamus variegatus</i>	rijeka Velika rijeka (Kutjevačka rijeka) (izvor) - Krndija	BCD 155	BC2-77
/	TASYR_2	<i>Adicella syriaca</i> - RČ	rijeka Krapina (srednji tok) - Krapina Selo	BCD 156	BC2-78
/	TSPER_1	<i>Stenophylax permistus</i>	rijeka Una (izvor)	BCD 157	BC2-79
/	TGDIS_5	<i>Glossosoma discophorum</i> - RČ	rijeka Cetina - Vrilo, Mali Rumin	BCD 158	BC2-80
/	TSDUB_1	<i>Synagapetus cf. dubitans</i> - RČ	potok Vrklješće, izvor - Velika Rakovica, Samoborsko gorje	BCD 159	BC2-81
/	TGKLO_2a	<i>Glossosoma klotho</i> - HI	Brod II, Kosovo	BCD 161	BC3-02
/	TRPOL_1a	<i>Rhyacophila polonica</i> - HI	Mushtisht, Kosovo	BCD 162	BC3-03
/	TGKLO_3a	<i>Glossosoma klotho</i> - HI	Te Manastir, Kosovo	BCD 163	BC3-04
/	TSMIT_1	<i>Stenophylax mitis</i>	rijeka Zrmanja (izvor)	BCD 164	BC3-05
/	TPLEM_1	<i>Potamophylax lemenzis</i>	izvor Galičke reke, Mavrovo, Makedonija	BCD 165	BC3-06
/	TRBAL_2a	<i>Rhyacophila balcanica</i>	Belička reka, Makedonija	BCD 166	BC3-07
/	TPKES_1a	<i>Potamophylax cf. kesken</i>	Bogdanov stream, Mavrovo, Makedonija	BCD 167	BC3-08
/	TPLE_1a	<i>Plectrocnemia sp.</i>	potok Mlini (izvor)	BCD 168	BC3-09
/	TPOL_1	<i>Polycentropus sp.</i>	jezero Crna Mlaka	BCD 169	BC3-10
/	TGPIL_1a	<i>Goera pilosa</i>	ponovljena izolacija, rijeka Kupa (srednji tok) - Pribanjci	BCD 170	BC3-11
/	TGNIG_1	<i>Grammotaulius nigropunctatus</i>	rijeka Mirna - Kotli	BCD 171	BC3-12
/	TETEN_2	<i>Ecnomus tenellus</i>	jezero Kuti -Badžule	BCD 172	BC3-13
/	TTOCL_1	<i>Triaenodes ochrellus lefkas</i>	rijeka Neretva (donji tok) - Opuzen	BCD 173	BC3-14
/	TERN_1	<i>Ernodes sp., foto:32,32a,32b</i>	potok Vrutak (izvor) - Gornja Podgora	BCD 174	BC3-15
/	TSMOS_1	<i>Synagapetus moselyi</i>	potok Crkveni jarak (srednji tok)	BCD 175	BC3-16
/	THPHA_1	<i>Hydroptila phaon</i>	potok Roč (izvor) - Marušići	BCD 176	BC3-17



PRILOG 1. Popis primjeraka tulara iz kojih je izolirana DNA ovim radom. Kod naziva vrste naznačeno je kojoj osobi ili instituciji pripadaju vaučeri (AP –Ane Previšić, DC – Darko Cerjanec, HI- Halil Ibrahim, MK - Mladen Kučinić). BCD = Barcode zbirka DNA.

CroBar Fauna kod	DNA kod	VRSTA (prema morfološkoj identifikaciji)	LOKALITET	BCD	BCD-mjesto u kutiji
/	TRPAL_2a	<i>Rhyacophila palmeni</i> - HI	Evritanias, Karpension, Grčka	BCD 177	BC3-18
/	TLIT_1	<i>Lithax sp.</i> ,	rijeka Ljuta (izvor) - Konavle	BCD 178	BC3-19
/	THYP_1	<i>Hydroptila sp</i>	rijeka Kupa (donji tok) - Jamnička Kiselica	BCD 179	BC3-20
/	TOTRA_1	<i>Orthotrichia tragetti</i>	jezero Kutu -Badžule	BCD 180	BC3-21
/	TILAM_1	<i>Ithytrichia lamellaris</i>	rijeka Raša (srednji tok) - dolina Raše	BCD 181	BC3-22
/	TCMAJ_1	<i>Chaetopteryx major</i>	potok Šumetlice, izvor - Pšunj	BCD 226	BC3-67
/	TRCAB_1	<i>Rhyacophila cabrankensis</i>	rijeka Čabranka (izvor) - Čabar	BCD 227	BC3-68
/	TCSCH_2	<i>Chaetopteryx schmidi</i>	izvor Škodinovac - Bastaji	BCD 228	BC3-69
/	TPLUC_2	<i>Potamophylax luctuosus</i>	rijeka Velika rijeka (Kutjevačka rijeka) (izvor) - Krndija	BCD 229	BC3-70
/	THANG_1	<i>Hydropsyche angustipennis</i>	rijeka Baranjska Karašica (donji tok) - Popovac	BCD 230	BC3-71
/	TPMON_1	<i>Philopotamus montanus</i>	rijeka Velika rijeka (Kutjevačka rijeka) (izvor) - Krndija	BCD 231	BC3-72
/	TLGRA_2	<i>Limnephilus graecus</i>	rijeka Neretva (donji tok) - Opuzen	BCD 232	BC3-73
/	TMASP_1	<i>Mesophylax cf. aspersus</i>	potok Peratovica (izvor) - V. Peratovica, Bilogora	BCD 233	BC3-74
/	THINC_3	<i>Hydropsyche incognita</i>	rijeka Toplica - Batinjani, Papuk	BCD 234	BC3-75
/	TSFLA_3	<i>Sericostoma flavicorne</i>	rijeka Pakra - Kusunje	BCD 235	BC3-76
/	TLPHA_1	<i>Lype cf. phaepa</i>	potok Vrba (izvor) - Muć	BCD 236	BC4-01
/	TPFLA_1	<i>Polycentropus flavomaculatus</i>	rijeka Butišnica (srednji tok) - Golubić (uzvodno)	BCD 237	BC4-02
/	TLINC_1	<i>Limnephilus cf. incisus</i>	potok Vrba (izvor) - Muć	BCD 238	BC4-03
/	TBDIR_1	<i>Beraea dira</i>	rijeka Butišnica (srednji tok) - Golubić (uzvodno)	BCD 239	BC4-04
/	TPCON_1	<i>Plectrocnemia conspresa</i>	rijeka Zrmanja (izvor)	BCD 240	BC4-05
/	TAAPF_1	<i>Annitella sp.</i>	rijeka Zrmanja (izvor)	BCD 241	BC4-06
/	TMIC_1	<i>Micropterna sp.</i>	rijeka Zrmanja (izvor)	BCD 242	BC4-07
/	TRBAL_2b	<i>Rhyacophila balcanica</i>	Belička reka, Makedonija	BCD 243	BC4-08
/	TMIC_2	<i>Micropterna sp.</i>	rijeka Una (izvor)	BCD 244	BC4-09
/	TACRE_1	<i>Adicella cremisa</i>	rijeka Zrmanja (srednji tok) - Palanka	BCD 245	BC4-10
/	TOCOS_1	<i>Orthotrichia costalis</i>	rijeka Drava (srednji tok) - Gornji Hrašćan	BCD 246	BC4-11
/	TLIM_2	<i>Limnephilidae,</i>	rijeka Dretulja (srednji tok) - Plaški	BCD 247	BC4-12
/	TABAL_1	<i>Adicella cf. balcanica</i>	rijeka Krupa (donji tok) - Manastir	BCD 248	BC4-13
/	TRHY_1	<i>Rhyacophila sp.</i>	potok Zeleni Vir (izvor)	BCD 249	BC4-14
/	TMIC_2	<i>Micrasema sp.</i>	rijeka Korana (srednji tok) - Veljun	BCD 250	BC4-15
/	TCFUS_1	<i>Chaetopteryx fusca</i>	rijeka Zagorska Mrežnica, izvor - Desmerice	BCD 251	BC4-16
/	TLINT_1	<i>Leptocerus interruptus</i>	rijeka Dobra - Trošmarija	BCD 252	BC4-17
/	TCALB_1	<i>Ceraclea albimacula, F</i>	rijeka Dobra - Novigrad na Dobri	BCD 253	BC4-18
/	TWCOP_1	<i>Wormaldia copiosa</i>	rijeka Dobra - Kamičnik	BCD 254	BC4-19
/	TDRU_1	<i>Drusus sp.</i>	izvor na Keljevo brdo - Korenica	BCD 255	BC4-20
/	TLTIN_1	<i>Leptocerus tineiformis</i>	rijeka Bednja - Ivanečka Železnica, Ivanec	BCD 256	BC4-21

PRILOG 1. Popis primjeraka tulara iz kojih je izolirana DNA ovim radom. Kod naziva vrste naznačeno je kojoj osobi ili instituciji pripadaju vaučeri (AP – Ane Previšić, DC – Darko Cerjanec, HI- Halil Ibrahim, MK - Mladen Kučinić). BCD = Barcode zbirka DNA.

CroBar Fauna kod	DNA kod	VRSTA (prema morfološkoj identifikaciji)	LOKALITET	BCD	BCD-mjesto u kutiji
/	TPCIN_1	<i>Potamophylax cf. cingulatus</i>	potok Šumi (izvor) – Ivančica	BCD 257	BC4-22
/	TTUNI_1	<i>Tinodes unicolor</i>	potok Šumi (izvor) – Ivančica	BCD 258	BC4-23
/	TAAPF_2	<i>Annitella aphelfecki</i>	rijeka Četina - izvor Glavaš	BCD 259	BC4-24
/	THVEC_1	<i>Hydroptila vectis</i>	rijeka Bednja - Ivanečka Železnica, Ivanec	BCD 260	BC4-25
/	TSVIB_1	<i>Stenophylax cf. vibex</i>	rijeka Mirna - Kotli	BCD 261	BC4-26
/	TMNIG_1	<i>Mystacides nigra</i>	rijeka Petrinjčica - Prnjavor Čuntički	BCD 262	BC4-27
/	TATES_1	<i>Allogamus tessellatus</i>	rijeka Krapina (srednji tok) - Krapina Selo	BCD 263	BC4-28
/	TRDOP_1	<i>Rhyacophila sp.</i>	rijeka Petrinjčica - Prnjavor Čuntički	BCD 264	BC4-29
/	TRTRI_4	<i>Rhyacophila tristis</i>	potok Konavočica (izvor) - Vodovode, Palje, Konavle	BCD 265	BC4-30
/	TGNIG_2	<i>Grammotaulius nigropunctatus</i>	rijeka Raša - izvor Grdak	BCD 266	BC4-31
/	TMTES_1	<i>Micropterna testacea</i>	rijeka Lika (srednji tok) - Bilaj	BCD 267	BC4-32
/	TPWAG_1	<i>Potamophylax wagneri</i>	potok Konavočica (izvor) - Vodovode, Palje, Konavle	BCD 268	BC4-33
/	TMWAG_1	<i>Micropterna wagneri</i>	potok Konavočica (srednji tok) - Palje, Konavle	BCD 269	BC4-34
/	THYD_1	<i>Hydroptilidae</i>	rijeka Lika (srednji tok) - Bilaj	BCD 270	BC4-35
/	TLRHO_1	<i>Limnephilus rhombicus</i>	rijeka Gacka (srednji tok) - Otočac	BCD 271	BC4-36
/	THSAX_2	<i>Hydropsyche saxonica</i>	potok Vrba (izvor) - Muć	BCD 272	BC4-37
/	TWSUB_1	<i>Wormaldia subterranea</i>	potok Konavočica (srednji tok) - Palje, Konavle	BCD 273	BC4-38
/	THFOR_1	<i>Hydroptila forcipata</i>	rijeka Čabranka (donji tok, ušće)	BCD 274	BC4-39
/	TROBL_2	<i>Rhyacophila obliterata</i>	rijeka Velika rijeka (Kutjevačka rijeka) (izvor) - Krndija	BCD 275	BC4-40
/	THMAR_1	<i>Hydroptila cf. martini</i>	rijeka Gacka (srednji tok) - Otočac	BCD 276	BC4-41
/	TAPAL_1	<i>Allotrichia pallicornis</i>	rijeka Čabranka (donji tok, ušće)	BCD 277	BC4-42
/	TIRO_1	<i>Ironoquia sp.</i>	potok Peratovica (izvor) - V. Peratovica, Bilogora	BCD 278	BC4-43
/	TRLOX_2	<i>Rhyacophila loxias</i>	rijeka Veličanka - uzvodno od Požege	BCD 279	BC4-44
/	THANG_2	<i>Hydropsyche cf. angustipenni</i>	potok Dubračina (donji tok)-Tribalj	BCD 280	BC4-45
/	THTES_2	<i>Halesus tessellatus</i>	rijeka Velika rijeka (Kutjevačka rijeka) (izvor) - Krndija	BCD 281	BC4-46
/	THANG_3	<i>Hydropsyche angustipennis,</i>	potok Dubračina (donji tok)-Tribalj	BCD 282	BC4-47
/	TPKLA_2	<i>Psychomyia klapaleki</i>	rijeka Gacka (srednji tok) - Otočac	BCD 283	BC4-48
/	TPEXC_1	<i>Polycentropus excisus</i>	rijeka Ljuta (izvor) - Konavle	BCD 284	BC4-49
/	TDATR_1	<i>Diplectrona cf. atra (felix)</i>	rijeka Ljuta (izvor) - Konavle	BCD 285	BC4-50
/	TDATR_2	<i>Diplectrona cf. atra (felix)</i>	rijeka Ljuta (izvor) - Konavle	BCD 286	BC4-51
/	DIPL_1	<i>Diplectrona cf. atra (felix)</i>	rijeka Ljuta (izvor) - Konavle	BCD 637	BC9-01
/	DSPH_2	<i>Diplectrona cf. atra (felix)</i>	rijeka Ljuta (izvor) - Konavle	BCD 638	BC9-02
/	DSPH_4	<i>Diplectrona cf. atra (felix)</i>	rijeka Ljuta (izvor) - Konavle	BCD 639	BC9-03
/	DATH_1	<i>Diplectrona cf. atra (felix) - MK</i>	Gospin potok - Šumarska kuća Duboka, Velika, Papuk	BCD 640	BC9-04
/	DATH_3	<i>Diplectrona cf. atra (felix) -</i>	Gospin potok - Šumarska kuća Duboka,	BCD 641	BC9-05

PRILOG 1. Popis primjeraka tulara iz kojih je izolirana DNA ovim radom. Kod naziva vrste naznačeno je kojoj osobi ili instituciji pripadaju vaučeri (AP – Ane Previšić, DC – Darko Cerjanec, HI- Halil Ibrahim, MK - Mladen Kučinić). BCD = Barcode zbirka DNA.

CroBar Fauna kod	DNA kod	VRSTA (prema morfološkoj identifikaciji)	LOKALITET	BCD	BCD-mjesto u kutiji
		MK	Velika, Papuk		
/	DATH_4	<i>Diplectrona cf. atra (felix)</i> - MK	Gospin potok - Šumarska kuća Duboka, Velika, Papuk	BCD 642	BC9-06
/	DATH_6	<i>Diplectrona cf. atra (felix)</i> - AP	potok Dubočanka - Papuk	BCD 643	BC9-07
/	DATH_8	<i>Diplectrona cf. atra (felix)</i> - AP	potok Dubočanka - Papuk	BCD 644	BC9-08
	DATH_8	<i>Diplectrona cf. atra (felix)</i> - AP	potok Dubočanka - Papuk	BCD 645	BC9-09
	DATH_10	<i>Diplectrona cf. atra (felix)</i> - AP	potok Dubočanka - Papuk	BCD 646	BC9-10
	DATBH_1	<i>Diplectrona cf. atra</i> - AP	Sutjeska, NP utjeska, Jabučica sastavci, Bosna i Hercegovina	BCD 647	BC9-11
	DATKO_1	<i>Diplectrona cf. atra</i> - HI	odujevë Municipality, selo Murgull izvor rijeke Llap kod glavne ceste, Kosovo	BCD 648	BC9-12
	DATKO_2	<i>Diplectrona cf. atra</i> - HI	odujevë Municipality, selo Murgull izvor rijeke Llap kod glavne ceste, Kosovo	BCD 649	BC9-13
	DATKO_4	<i>Diplectrona cf. atra</i> - HI	odujevë Municipality, selo Murgull izvor rijeke Llap kod glavne ceste, Kosovo	BCD 650	BC9-14
	DATKO_5	<i>Diplectrona cf. atra</i> - HI	Drini burim, Pejë Municipality, selo Radac, izvorišno područje rijeka Drini i Bardhë, Kosovo	BCD 651	BC9-15
	DATKO_6	<i>Diplectrona cf. atra</i> - HI	Bajgorë, Mitrovicë Municipality, izvor rijeke Kaçandoll River kod glavne ceste, Kosovo	BCD 652	BC9-16
	DATMK_1	<i>Diplectrona cf. atra</i> - HI	Mavrovo, Rosočki livadi, Kalin izvor, rijeka Rosočka, Makedonija	BCD 653	BC9-17
	DATMK_2	<i>Diplectrona cf. atra</i> - HI	Mavrovo, Rosočki livadi, Kalin izvor, rijeka Rosočka, Makedonija	BCD 654	BC9-18
	DATMN_1	<i>Diplectrona cf. atra</i> - MK	Aksov potok, Andrijevića, Crna Gora	BCD 655	BC9-19
	DATMN_3	<i>Diplectrona cf. atra</i> - MK	Desni pritok Zlorečice, Andrijevića, Crna Gora	BCD 656	BC9-20
	DATMN_4	<i>Diplectrona cf. atra</i> - MK	Rajeva rijeka, Andrijevića, Crna Gora	BCD 657	BC9-21
	DATMN_5	<i>Diplectrona cf. atra</i> - MK	Murinska rijeka, izvor, Crna Gora	BCD 658	BC9-22
	DATMN_6	<i>Diplectrona cf. atra</i> - MK	Murinska rijeka, izvor, Crna Gora	BCD 659	BC9-23
	DVAAL_1	<i>Diplectrona cf. atra</i> - MK	potok u selu Moglicë, Korçë, Opari Albanija	BCD 660	BC9-24
	DVAAL_2	<i>Diplectrona cf. atra</i> - MK	potok u selu Moglicë, Korçë, Opari Albanija	BCD 661	BC9-25
	DVAAL_3	<i>Diplectrona cf. atra</i> - MK	potok u selu Moglicë, Korçë, Opari Albanija	BCD 662	BC9-26
	DVAAL_4	<i>Diplectrona cf. atra</i> - MK	potok u selu Moglicë, Korçë, Opari Albanija	BCD 663	BC9-27
	DVAAL_5	<i>Diplectrona cf. atra</i> - MK	potok u selu Moglicë, Korçë, Opari Albanija	BCD 664	BC9-28
	DFEFR_1	<i>Diplectrona felix</i> - MK	Leoinassiere, Francuska	BCD 665	BC9-29
	DFEFR_2	<i>Diplectrona felix</i> - MK	Leoinassiere, Francuska	BCD 666	BC9-30
	DFEFR_3	<i>Diplectrona felix</i> - MK	Leoinassiere, Francuska	BCD 667	BC9-31
	DFEFR_4	<i>Diplectrona felix</i> - MK	Leoinassiere, Francuska	BCD 668	BC9-32
	DATFR_1	<i>Diplectrona atra</i> - MK	Belvoeer, Doubs, Francuska	BCD 669	BC9-33

PRILOG 1. Popis primjeraka tulara iz kojih je izolirana DNA ovim radom. Kod naziva vrste naznačeno je kojoj osobi ili instituciji pripadaju vaučeri (AP – Ane Previšić, DC – Darko Cerjanec, HI- Halil Ibrahim, MK - Mladen Kučinić). BCD = Barcode zbirka DNA.

CroBar Fauna kod	DNA kod	VRSTA (prema morfološkoj identifikaciji)	LOKALITET	BCD	BCD-mjesto u kutiji
	DATFR_2	<i>Diplectrona atra</i> - MK	Belvoeer, Doubs, Francuska	BCD 670	BC9-34
	DATFR_3	<i>Diplectrona atra</i> - MK	Belvoeer, Doubs, Francuska	BCD 671	BC9-35
	DATFR_4	<i>Diplectrona atra</i> - MK	Belvoeer, Doubs, Francuska	BCD 672	BC9-36
/	TBEM_1	<i>Beremyia sp.</i>	rijeka Cetina - Radmanove Mlinice	BCD 287	BC4-52
/	TAGA_1	<i>Agapetinae</i>	potok Vrklišće, izvor - Velika Rakovic, Samoborsko gorje	BCD 288	BC4-53
/	TLEP_2	<i>Leptoceridae</i>	rijeka Kupčina - Lazina	BCD 289	BC4-54
/	TLIM_1	<i>Limnephilidae</i>	rijeka Kupa - izvor	BCD 290	BC4-55
/	TBER_1	<i>Beraeidae</i>	rijeka Čabranka (donji tok, ušće)	BCD 291	BC4-56
/	TPOT_1	<i>Potamophylax sp.</i>	rijeka Korana - Plitvička jezera	BCD 292	BC4-57
/	TLISI_1	<i>Lithax sp./Silo sp.</i>	rijeka Ljuta (izvor) - Konavle	BCD 293	BC4-58
/	TSET_1	<i>Setodes viridis/bulgaricus</i>	rijeka Korana - Bogovolja	BCD 294	BC4-59
/	TPHA_1	<i>Psychomia sp.</i>	rijeka Norin, ušće - Metković	BCD 295	BC4-60
/	TPOT_2	<i>Potamophylax sp.</i>	rijeka Gacka (izvor) - Tonkovića vrilo	BCD 296	BC4-61
/	TEARI_1	<i>Ernodes aricularis</i> - AP	potok Dubočanka - Papuk	BCD 297	BC4-62
/	TDCHR_1	<i>Drusus chrysotus</i> - AP	rijeka Dobra - izvor	BCD 298	BC4-63
/	TEIVK_1	<i>Ecclisopteryx ivkae</i> - AP	rijeka Cetina - izvor Glavaš	BCD 299	BC4-64
/	TSNIG_1	<i>Silo nigricornis</i> - AP	potok Križ - Lazac Lokvarski	BCD 300	BC4-65
/	THDIN_1	<i>Hydropsyche dinarica</i> - AP	rijeka Čabranka - most nizvodno od Čabra	BCD 301	BC4-66
/	TEVIC_1	<i>Ernodes vicinus</i> - AP	potok Zeleni Vir (izvor)	BCD 302	BC4-67
/	TBSUB_1	<i>Brachycentrus subnubilus</i> - AP	rijeka Čabranka - nizvodno od Mandli	BCD 303	BC4-68
/	TBSCH_1	<i>Beremyia schmidi</i> - AP	jezero Ciganovac - NP Plitvička jezera	BCD 304	BC4-69
/	TAGA_2	<i>Chaetopteryx sp.</i>	potok Vrklišće, izvor - Velika Rakovic, Samoborsko gorje	BCD 308	BC4-73
/	TONOT_1	<i>Oecetis notata</i>	rijeka Raša - izvor Grdak	BCD 309	BC4-74
/	TSPAL_1	<i>Silo cf. pallipes</i>	potok Mlini (izvor)	BCD 310	BC4-75
/	TPFLA_2	<i>Polycentropus flavomaculatus</i>	rijeka Lika (srednji tok) - Bilaj	BCD 311	BC4-76
/	TLHIT_1	<i>Lepidostoma hirtum</i>	rijeka Kupa (srednji tok) - Pribanjci	BCD 312	BC4-77
/	TSIL_1	<i>Silo sp.</i> - RČ	Konavle izvor Vrelo	BCD 313	BC4-78
/	THSPA_1	<i>Hydroptila sparsa</i>	rijeka Neretva (donji tok) - Opuzen	BCD 314	BC4-79
/	TPLAT_5	<i>Potamophylax latipennis</i>	Vevčani-Makedonija	BCD 315	BC4-80
/	TRHIT_2	<i>Rhyacophila hirticornis</i>	potok Crkveni jarak (srednji tok)	BCD 316	BC4-81
/	THSPA_2	<i>Hydroptila sparsa</i>	rijeka Neretva (donji tok) - Opuzen	BCD 317	BC4-82
/	TAGA_3	<i>Agapetus sp.</i>	potok Vrklišće, izvor - Velika Rakovic, Samoborsko gorje	BCD 318	BC5-01
/	TLGRI_1	<i>Limnephilus griseus</i>	rijeka Krapina (srednji tok) - Krapina Selo	BCD 319	BC5-02
/	TCALB_2	<i>Ceraclea albimacula</i> -DC	rijeka Dobra - Novigrad na Dobri	BCD 320	BC5-03
/	TPROT_2	<i>Potamophylax rotundipennis</i>	izvor Škodinovac - Bastaji	BCD 321	BC5-04
/	TRLOX_3	<i>Rhyacophila loxias</i>	Reč, Mavrovo, Makedonija	BCD 322	BC5-05
/	THBUB_2	<i>Hydropsyche bulbifera</i>	rijeka Bednja - Ivanečka Železnica, Ivanec	BCD 323	BC5-06

PRILOG 1. Popis primjeraka tulara iz kojih je izolirana DNA ovim radom. Kod naziva vrste naznačeno je kojoj osobi ili instituciji pripadaju vaučeri (AP – Ane Previšić, DC – Darko Cerjanec, HI- Halil Ibrahim, MK - Mladen Kučinić). BCD = Barcode zbirka DNA.

CroBar Fauna kod	DNA kod	VRSTA (prema morfološkoj identifikaciji)	LOKALITET	BCD	BCD-mjesto u kutiji
/	TLINT_2	<i>Leptocerus interruptus</i>	rijeka Cetina - Radmanove Mlinice	BCD 324	BC5-07
/	TWCOP_2	<i>Wormaldia copiosa</i>	rijeka Čabranka (izvor) - Čabar	BCD 325	BC5-08
/	THINC_1a	<i>Hydropsyche incognita</i>	rijeka Mirna - Livade	BCD 326	BC5-09
/	TPLAT_6	<i>Potamophylax latipennis</i>	rijeka Gacka (izvor) - Tonkovića vrilo	BCD 327	BC5-10
/	TSFLA_4	<i>Sericostoma cf. flavicorne</i>	rijeka Voćnska (izvor) - Voćin	BCD 328	BC5-11
/	TAFUR_2	<i>Anabolia furcata</i>	potok Jelinska-Gornja Jelinska	BCD 329	BC5-12
/	TPMON_2	<i>Philopotamus montanus</i>	potok Šumi (izvor) – Ivančica	BCD 330	BC5-13
/	TSFLA_5	<i>Sericostoma cf. flavicorne</i>	potok Konavočica (srednji tok) - Palje, Konavle	BCD 331	BC5-14
/	TOALB_2	<i>Odontocerum albicorne</i>	rijeka Dretulja (srednji tok) - Plaški	BCD 332	BC5-15
/	TAOCH_1a	<i>Agapetus ochripes</i>	rijeka Kupa (gornji tok) - Brod na Kupi	BCD 333	BC5-16
/	TRDOR_1a	<i>Rhyacophila dorsalis</i>	rijeka Sutla (srednji tok) - Zelenjak, Kumrovec	BCD 334	BC5-17
/	TGKLO_1a	<i>Glossosoma cf. klotho</i>	Mala reka, Mavrovo, Makedonija	BCD 335	BC5-18
/	TTANO_1a	<i>Thremna anomalum</i>	izvor Strežimirske reke, NP Mavrovo, Makedonija	BCD 336	BC5-19
AC_1	TLSPA_1	<i>Limnephilus sparsus</i>	rijeka Lika - izvor	BCD 337	BC5-1
AC_2	TMLAT_1	<i>Micropterna lateralis</i>	rijeka Lika - izvor	BCD 338	BC5-21
AC_3	TLEXT_1	<i>Limnephilus extricatus</i>	rijeka Lika - izvor	BCD 339	BC5-22
AC_4	TGNIG_3	<i>Grammotaulius nigropunctatus</i>	Bijeli potoci - Kamensko, Korenica	BCD 340	BC5-23
AC_5	TGPEL_1	<i>Glyphotaelius pellucidus</i>	Bijeli potoci - Kamensko, Korenica	BCD 341	BC5-24
AC_6	TLVIT_1	<i>Limnephilus vittatus</i>	izvor na Keljevo brdo - Korenica	BCD 342	BC5-25
AC_7	TRSCH_1	<i>Rhyacophila schmidinarca</i>	izvor na Bjelolasici	BCD 343	BC5-26
AC_8	TPCON_2	<i>Plectrocnemia cospresa</i>	izvor na Bjelolasici	BCD 344	BC5-27
AC_9	TLLUN_1	<i>Limnephilus lunatus</i>	izvor na Keljevo brdo - Korenica	BCD 345	BC5-28
AC_10	TNCIL_1	<i>Notobia ciliaris</i>	izvor Škodinovac - Bastaji	BCD 346	BC5-29
AC_11	TTMIN_1	<i>Trichostegia minor</i>	rijeka Gacka (izvor) - Mejerovo vrilo	BCD 347	BC5-30
AC_12	TAOCH_2	<i>Agapetus ochripes</i>	Gospin potok - Šumarska kuća Duboka, Velika, Papuk	BCD 348	BC5-31
AC_13	TRTRI_5	<i>Rhyacophila tristis</i>	potok Konavočica (izvor) - Vodovode, Palje, Konavle	BCD 349	BC5-32
AC_14	TMASP_2	<i>Mesophylax cf. aspersus</i>	potok Peratovica (srednji tok) - Bilogora	BCD 350	BC5-33
AC_15	THINC_4	<i>Hydropsyche cf. incognita</i>	rijeka Butišnica (srednji tok) - Golubić (uzvodno)	BCD 351	BC5-34
AC_16	TSMIT_2	<i>Stenophylax cf. mitis</i>	lokva Beli - otok Cres	BCD 352	BC5-35
AC_17	TGCON_2	<i>Glossosoma conformis</i>	potok Bliznec (srednji tok) - javna ustanova PP Medvednica	BCD 353	BC5-36
AC_18	TTOCL_2	<i>Triaenodes ochrellus lefkas</i>	rijeka Mislina (donji tok) - Mlinište	BCD 354	BC5-37
AC_19	TSKRA_1	<i>Synagapetus krawanyi</i>	izvor Škodinovac - Bastaji	BCD 355	BC5-38
AC_20	TCFUS_2	<i>Chaetopteryx fusca</i> - DC	rijeka Dobra - kanjon	BCD 356	BC5-39
AC_21	POL_2	<i>Polycentropus sp.</i>	Gospin potok - Šumarska kuća Duboka, Velika, Papuk	BCD 357	BC5-40
AC_22	TMNYC_2	<i>Micropterna nycterobia</i>	izvor na Keljevo brdo - Korenica	BCD 358	BC5-41
AC_23	TDCRO_2	<i>Drusus croaticus</i>	izvor na Bjelolasici	BCD 359	BC5-42

PRILOG 1. Popis primjeraka tulara iz kojih je izolirana DNA ovim radom. Kod naziva vrste naznačeno je kojoj osobi ili instituciji pripadaju vaučeri (AP –Ane Previšić, DC – Darko Cerjanec, HI- Halil Ibrahim, MK - Mladen Kučinić). BCD = Barcode zbirka DNA.

CroBar Fauna kod	DNA kod	VRSTA (prema morfološkoj identifikaciji)	LOKALITET	BCD	BCD-mjesto u kutiji
AC_24	TRTRI_6	<i>Rhyacophila tristis</i>	izvor Škodinovac - Bastaji	BCD 360	BC5-43
AC_25	TDCRO_3	<i>Drusus croaticus</i>	rijeka Gacka (izvor) - Mejerovo vrilo	BCD 361	BC5-44
AC_26	TRLOX_4	<i>Rhyacophila loxias</i>	Gospin potok - Šumarska kuća Duboka, Velika, Papuk	BCD 362	BC5-45
AC_27	TDDIS_1	<i>Drusus discolor</i>	rijeka Čabranka (izvor) - Čabar	BCD 363	BC5-46
AC_28	TCMAJ_2	<i>Chaetopteryx major</i>	potok Bliznec (srednji tok) - javna ustanova PP Medvednica	BCD 364	BC5-47
AC_29	TMLAT_2	<i>Micropterna lateralis</i>	potok Peratovica (srednji tok) - Bilogora	BCD 365	BC5-48
AC_30	TLTIN_2	<i>Leptocerus tineiformis</i>	jezero Ponikve - otok Krk	BCD 366	BC5-49
AC_31	TPNIG_1	<i>Potamophylax nigricornis</i>	rijeka Velika rijeka (Kutjevačka rijeka) (izvor) - Krndija	BCD 367	BC5-50
AC_32	TPGRA_1	<i>Phryganea grandis</i>	rijeka Dunav - Zlatna Greda	BCD 368	BC5-51
AC_33	TSPUN_1	<i>Setodes punctatus</i>	rijeka Kupa (srednji tok) - Pribanjci	BCD 369	BC5-52
AC_34	TLRHO_2	<i>Limnephilus rhombicus</i>	potok Štirovača (gornji tok, izvor) - srednji Velebit	BCD 370	BC5-53
AC_35	TOLAC_1	<i>Oecetis lacustris</i>	potok Peratovica (srednji tok) - Bilogora	BCD 371	BC5-54
AC_36	TLSPA_2	<i>Limnephilus sparsus</i>	rijeka Dretulja (srednji tok) - Plaški	BCD 372	BC5-55
AC_37	TMTES_2	<i>Micropterna testacea</i>	rijeka Lika	BCD 373	BC5-56
AC_38	TOTES_1	<i>Oecetis testacea</i>	rijeka Mrežnica – Belavići	BCD 374	BC5-57
AC_39	TGPEL_2	<i>Glyptotaelius pellucidus</i>	potok Jelenska (gornji tok) - Gornja Jelenska	BCD 375	BC5-58
AC_40	TLBIN_1	<i>Limnephilus bipunctatus</i>	rijeka Dunav - Zlatna Greda	BCD 376	BC5-59
AC_41	TGLOS_1	<i>Glossosoma sp.</i>	rijeka Grab, izvor - Sinj	BCD 377	BC5-60
AC_42	TBDIR_2	<i>Beraea dira</i>	potok Mlini (srednji tok) - Ugrini	BCD 378	BC5-61
AC_43	TMTES_3	<i>Micropterna testacea</i>	rijeka Gacka (izvor) - Mejerovo vrilo	BCD 379	BC5-62
AC_44	TRSCH_2	<i>Rhyacophila schmidinarca</i>	rijeka Kupčina - Žumberak	BCD 380	BC5-63
AC_45	TCGON_1	<i>Chaetopteryx gonospina</i>	Pašina vrela - iznad sela Mečenčani	BCD 381	BC5-64
AC_46	THSAX_3	<i>Hydropsyche saxonica</i>	potok Mlini (srednji tok) - Ugrini	BCD 382	BC5-65
AC_47	TLING_1	<i>Limnephilus hirsutus</i>	izvor na Keljevo brdo - Korenica	BCD 383	BC5-66
AC_48	TOFUR_2	<i>Oecetis furva</i>	rijeka Mislina (donji tok) - Mlinište	BCD 384	BC5-67
AC_49	TRDOP_3	<i>Rhyacophila dorsalis persimilis</i>	rijeka Mirna - Kotli	BCD 385	BC5-68
AC_50	TPLUC_3	<i>Potamophylax .luctuosus</i>	Pašina vrela - iznad sela Mečenčani	BCD 386	BC5-69
AC_51	TRTRI_7	<i>Rhyacophila tristis</i>	potok Konavočica (izvor) - Vodovode, Palje, Konavle	BCD 387	BC5-70
AC_52	TTDIV_2	<i>Tinodes dives</i>	potok Trsteno - Trsteno	BCD 388	BC5-71
AC_53	TACIN_2	<i>Athripsodes cinereus</i>	rijeka Lika-Gornji Kosinj	BCD 389	BC5-72
AC_54	TLAFL_2	<i>Limnephilus affinis</i>	jezero Ponikve - otok Krk	BCD 390	BC5-73
AC_55	TTWAE_2	<i>Tinodes waeneri</i>	Vransko jezero-otok Cres	BCD 391	BC5-74
AC_56	THDIG_2	<i>Halesus digitatus</i>	rijeka Riječina (izvor)	BCD 392	BC5-75
AC_57	THINC_5	<i>Hydropsyche incognita</i>	rijeka Voćnska (izvor) - Voćin	BCD 393	BC5-76
AC_58	TPKLA_3	<i>Psychomyia klapaleki</i>	rijeka Zrmanja (donji tok) - most kod Kaštel Žegarskog	BCD 395	BC5-78
AC_59	TAETE_2	<i>Athripsodes aterrimus</i>	rijeka Cetina, kanal Brkljača - Sinjsko	BCD 394	BC5-77

PRILOG 1. Popis primjeraka tulara iz kojih je izolirana DNA ovim radom. Kod naziva vrste naznačeno je kojoj osobi ili instituciji pripadaju vaučeri (AP –Ane Previšić, DC – Darko Cerjanec, HI- Halil Ibrahim, MK - Mladen Kučinić). BCD = Barcode zbirka DNA.

CroBar Fauna kod	DNA kod	VRSTA (prema morfološkoj identifikaciji)	LOKALITET	BCD	BCD-mjesto u kutiji
			polje		
AC_60	THINS_2	<i>Hydropsyche instabilis</i>	potok Velika Paklenica-Anića kuk	BCD 396	BC5-79
AC_61	TTPAL_2	<i>Tinodes pallidulus</i>	potok Trsteno - Trsteno	BCD 397	BC6-80
AC_62	THDIG_3	<i>Halesus digitatus</i>	rijeka Veličanka - uzvodno od Požege	BCD 398	BC5-81
AC_63	THBUB_3	<i>Hydropsyche bulbifera</i>	rijeka Gacka (srednji tok) - Otočac	BCD 399	BC5-01
AC_64	TLING_2	<i>Limnephilus ignavus</i>	izvor na Keljevo brdo - Korenica	BCD 400	BC5-02
AC_65	THMOD_2	<i>Hydropsyche modesta</i>	rijeka Mirna - Livade	BCD 401	BC5-03
AC_66	TEKER_3	<i>Ecclisopteryx keroveci</i>	rijeka Kupa (gornji tok) - Brod na Kupu	BCD 402	BC5-04
AC_67	TRINS_3	<i>Hydropsyche instabilis</i>	Gospin potok - Šumarska kuća Duboka, Velika, Papuk	BCD 403	BC5-05
AC_68	THTES_3	<i>Halesus tessellatus</i>	rijeka Rijeka - Bastaji, Papuk	BCD 404	BC5-06
AC_69	TDCRO_4	<i>Drusus croaticus</i>	rijeka Gacka (izvor) - Mejerovo vrilo	BCD 405	BC5-07
AC_70	TLIM_3	<i>Limnephilidae., F</i>	jama pod sv. Jurom - Biokovo	BCD 406	BC6-08
AC_71	TTUNI_2	<i>Tinodes unicolor</i>	potok Vrba (izvor) - Muć	BCD 407	BC6-09
AC_72	TPCON_3	<i>Plectrocnemia conspersa</i>	potok Plitvice, izvor - Plitvica Selo	BCD 408	BC6-10
AC_73	TMIC_3m	<i>Micropterna fissa</i>	Mokre noge, jama - Biokovo	BCD 409	BC6-11
AC_74	TSPAL_2	<i>Silo pallipes</i>	Gospin potok - Šumarska kuća Duboka, Velika, Papuk	BCD 410	BC6-12
AC_75	TPIRR_2	<i>Polycentropus irroratus,</i>	rijeka Rudnica, izvor - Ožanići	BCD 411	BC6-13
AC_76	TOALB_3	<i>Odontocerum albicorne</i>	rijeka Rudnica, izvor - Ožanići	BCD 412	BC6-14
AC_77	TCLEP_3f	<i>Cheumatopsyche lepida</i>	rijeka Mura (donji tok) - Goričan	BCD 413	BC6-15
AC_78	TSPER_2	<i>Stenophylax permistus</i>	izvor na Keljevo brdo - Korenica	BCD 414	BC6-16
AC_79	TACIN_3	<i>Athripsodes cinereus</i>	rijeka Lika - izvor	BCD 415	BC6-17
AC_80	THINS_4	<i>Hydropsyche instabilis</i>	rijeka Riječina (izvor)	BCD 416	BC6-18
AC_81	TMIC_3f	<i>Micropterna fissa</i>	Mokre noge, jama - Biokovo	BCD 417	BC6-19
AC_82	TTUNI_1a	<i>Tinodes unicolor</i>	potok Šumi (izvor) – Ivančica	BCD 418	BC6-20
AC_83	TMSEQ_2	<i>Micropterna sequax</i>	Mokre noge, jama - Biokovo	BCD 419	BC6-21
AC_84	TGNER_1	<i>Glossosoma neretvae</i>	rijeka Neretva - Žitomislić, BiH	BCD 420	BC6-22
AC_85	TLHIT_2	<i>Lepidostoma hirtum</i>	rijeka Rudnica, izvor - Ožanići	BCD 421	BC6-23
AC_86	TLIM_4	<i>Limnephilidae.</i>	Jama Vjetrova - Crnopac	BCD 422	BC6-24
AC_87	TMWAG_2	<i>Micropterna wagneri</i>	Jama pod sv. Jurom - Biokovo	BCD 423	BC6-25
AC_88	TGBUN_1	<i>Glossosoma bunae</i>	rijeka Buna - Mostar, BiH	BCD 424	BC6-26
AC_89	THANG_1	<i>Hydroptila angulata</i>	rijeka Bednja - Ivanečka Železnica, Ivanec	BCD 425	BC6-27
AC_90	TGDIS_6	<i>Glossosoma discophorum</i>	potok Plitvice, izvor - Plitvica Selo	BCD 426	BC6-28
AC_91	TRPRAE_1	<i>Rhyacophila cf.praemosa</i>	potok Jankovac (gornji tok) - zapadno od Orahovca, Papuk	BCD 427	BC6-29
AC_92	TTROS_1	<i>Tinodes rostocki</i>	potok Jankovac (gornji tok) - zapadno od Orahovca, Papuk	BCD 428	BC6-30
AC_93	TGNER_2	<i>Glossosoma neretvae</i>	rijeka Neretva - Žitomislić, BiH	BCD 429	BC6-31
AC_94	THCON_2	<i>Hydropsyche conturbenalis,</i>	potok Bistra (srednji tok) - Bistra, Medvednica	BCD 430	BC6-32
AC_95	TACIN_4	<i>Athripsodes cinereus,</i>	rijeka Korana (srednji tok) - Veljun	BCD 431	BC6-33

PRILOG 1. Popis primjeraka tulara iz kojih je izolirana DNA ovim radom. Kod naziva vrste naznačeno je kojoj osobi ili instituciji pripadaju vaučeri (AP –Ane Previšić, DC – Darko Cerjanec, HI- Halil Ibrahim, MK - Mladen Kučinić). BCD = Barcode zbirka DNA.

CroBar Fauna kod	DNA kod	VRSTA (prema morfološkoj identifikaciji)	LOKALITET	BCD	BCD-mjesto u kutiji
AC_96	TILAM_2	<i>Ithytrichia lamellaris</i>	rijeka Krapina	BCD 432	BC6-34
AC_97	TWOC_3	<i>Wormaldia occipitalis</i>	izvor Škodinovac - Bastaji	BCD 433	BC6-35
AC_98	TOFLA_2	<i>Oxyethira flavicornis</i>	rijeka Lika (srednji tok) - Bilaj	BCD 434	BC6-36
AC_99	THSPA_3	<i>Hydroptila sparsa</i>	rijeka Bednja - Ivanečka Železnica, Ivanec	BCD 435	BC6-37
AC_100	TRAUR_3	<i>Rhyacophila cf. aurata</i>	rijeka Petrinjčica - Prnjavor Čuntićki	BCD 436	BC6-38
AC_101	TASYR_3	<i>Adicella syriaca</i>	rijeka Krapina (srednji tok) - Krapina Selo	BCD 437	BC6-39
AC_102	TDSCH_2	<i>Drusus schmidi</i>	rijeka Velika rijeka (Kutjevačka rijeka) (izvor) - Krndija	BCD 438	BC6-40
AC_103	TLRED_2	<i>Lype reducta/phaeopa</i>	rijeka Krapina (srednji tok) - Krapina Selo	BCD 439	BC6-41
AC_104	TGDIS_7	<i>Glossosoma discophorum</i>	rijeka Cetina - Vrilo, Mali Rumin	BCD 440	BC6-42
AC_105	TRBAL_3	<i>Glyphotaelius pellucidus</i>	potok pritok Cetine (izvor Nela) - Cijljane	BCD 441	BC6-43
AC_106	TCTRI_2	<i>Cyrnus trimaculatus</i>	rijeka Bednja - Ivanečka Železnica, Ivanec	BCD 442	BC6-44
AC_107	TPPAL_3	<i>Potamophylax pallidulus</i>	pritok rijeke Maje, Banovina	BCD 443	BC6-45
AC_108	TSPAL_3	<i>Silo pallipes</i>	rijeka Slunjčica (izvor)	BCD 444	BC6-46
AC_109	THTES_4	<i>Halesus tessellatus</i>	potok Peratovica (srednji tok) - Bilogora	BCD 445	BC6-47
AC_110	TDSCH_3	<i>Drusus schmidi</i>	rijeka Veličanka - uzvodno od Požege	BCD 446	BC6-48
AC_111	TPIRR_3	<i>Polycentropus irroratus</i> ,	rijeka Lika-Kosinj	BCD 447	BC6-49
AC_112	TLRHO_3	<i>Limnephilus rhombicus</i> ,	izvor Česma - Vrlika	BCD 448	BC6-50
AC_113	TCMAJ_3	<i>Chaetopteryx major</i>	rijeka Rijeka - Bastaji, Papuk	BCD 449	BC6-51
AC_114	TOTES_2	<i>Oecetis testacea</i>	rijeka Mrežnica – Belavići	BCD 450	BC6-52
AC_115	TAOCH_3	<i>Agapetus ochripes</i>	rijeka Lika - izvor	BCD 451	BC6-53
AC_116	TDBOT_1	<i>Drusus botosaneanu</i>	NP Mavrovo, Mavrovska reka, Makedonija	BCD 452	BC6-54
AC_117	TSFLA_6	<i>Sericostoma flavicorne</i>	Gospin potok - Šumarska kuća Duboka, Velika, Papuk	BCD 453	BC6-55
AC_118	TDPLI_1	<i>Drusus plicatus</i>	izvor Galičke reke, Mavrovo, Makedonija	BCD 454	BC6-56
AC_119	TWOCI_4	<i>Wormaldia occipitalis</i>	izvor Napojište - Plitvički Ljeskovac	BCD 455	BC6-57
AC_120	TGPEL_4	<i>Glyphotaelius pellucidus</i>	izvor Napojište - Plitvički Ljeskovac	BCD 456	BC6-58
AC_121	TRSCH_3	<i>Rhyacophila schmidinarca</i>	izvor Napojište - Plitvički Ljeskovac	BCD 457	BC6-59
AC_122	TLLUN_2	<i>Limnephilus lunatus</i>	potok Plitvice, izvor - Plitvica Selo	BCD 458	BC6-60
AC_123	TONOT_2	<i>Oecetis notata</i>	rijeka Gacka (izvor) - Mejerovo vrilo	BCD 459	BC6-61
AC_124	TPFLA_3	<i>Polycentropus flavomaculatus</i> - DC	rijeka Dobra - Lešće	BCD 460	BC6-62
AC_125	THBUL_4	<i>Hydropsyche bulgaroromanorum</i>	rijeka Gacka (izvor) - Majerovo vrilo	BCD 461	BC6-63
AC_126	TLFLA_1	<i>Limnephilus flavomaculatus</i>	rijeka Gacka (izvor) - Majerovo vrilo	BCD 462	BC6-64
AC_127	TPPAL_4	<i>Potamophylax pallidulus</i>	izvor Napojište - Plitvički Ljeskovac	BCD 463	BC6-65
AC_128	TCKEM_1	<i>Crunoecia kempyi</i>	izvor Napojište - Plitvički Ljeskovac	BCD 464	BC6-66
AC_129	TCTRI_3	<i>Cyrnus trimaculatus</i>	rijeka Dobra - Lešće	BCD 465	BC6-67
AC_130	TPCON_4	<i>Plectrocnemia conspersa</i>	izvor Drakulić rijeke	BCD 466	BC6-68



PRILOG 1. Popis primjeraka tulara iz kojih je izolirana DNA ovim radom. Kod naziva vrste naznačeno je kojoj osobi ili instituciji pripadaju vaučeri (AP –Ane Previšić, DC – Darko Cerjanec, HI- Halil Ibrahim, MK - Mladen Kučinić). BCD = Barcode zbirka DNA.

CroBar Fauna kod	DNA kod	VRSTA (prema morfološkoj identifikaciji)	LOKALITET	BCD	BCD-mjesto u kutiji
AC_131	THINC_6	<i>Hydropsyche incognita</i>	rijeka Dobra - Lešće	BCD 467	BC6-69
AC_132	TONOT_3	<i>Oecetis notata</i>	rijeka Dobra - Lešće	BCD 468	BC6-70
AC_133	TMAZU_2	<i>Mystacides azurea</i>	Biokovo, Zagvozd	BCD 469	BC6-71
AC_134	TETEN_3	<i>Enomus tenellus</i>	rijeka Dobra - Trošmrija	BCD 470	BC6-72
AC_135	THINS_5	<i>Hydropsyche instabilis</i>	potok Plitvice, izvor - Plitvica Selo	BCD 471	BC6-73
AC_136	TAVAR_2	<i>Agrypnia varia</i>	izvor Grude	BCD 473	BC6-75
AC_137	TMYS_3	<i>Mystacides sp.</i>	rijeka Cetina - Čikotina lada	BCD 472	BC6-74
AC_138	TMASP_3	<i>Mesophylax aspersus</i>	izvor Rabac	BCD 474	BC6-76
AC_139	TTUNI_3	<i>Tinodes unicolor</i>	izvor Čerišnjevac - Pazin	BCD 475	BC6-77
AC_140	TPKLA_4	<i>Psychomyia klapaleki</i>	rijeka Zrmanja (srednji tok) - Palanka	BCD 476	BC6-78
AC_141	TGDIS_8	<i>Glossosoma discophorum</i>	rijeka Grab, izvor - Sinj	BCD 477	BC6-79
AC_142	THINS_6	<i>Hydropsyche instabilis</i>	rijeka Grab, izvor - Sinj	BCD 478	BC6-80
AC_143	TBPUL_1	<i>Beraea pullata</i>	izvor Napojište - Plitvički Ljeskovac	BCD 478	BC7-01
AC_144	TLRED_3	<i>Lype cf. reducta</i>	izvor Čerišnjevac - Pazin	BCD 479	BC7-02
AC_145	TTUNI_4	<i>Tinodes unicolor</i>	izvor Rabac	BCD 480	BC7-03
AC_146	TPCON_5	<i>Plectrocnemia conspersa</i>	potok Plitvice, izvor - Plitvica Selo	BCD 481	BC7-04
AC_147	THINC_7	<i>Hydropsyche cf. incognita</i>	rijeka Grab, izvor - Sinj	BCD 482	BC7-05
AC_148	TOALB_4	<i>Odontocerum albicorne</i>	rijeka Zrmanja (srednji tok) - Palanka	BCD 483	BC7-06
AC_149	TMASP_4	<i>Mesophylax aspersus, F</i>	izvor Rabac	BCD 484	BC7-07
AC_150	TRSCH_4	<i>Rhyacophila schmidinarca</i>	izvor Napojište - Plitvički Ljeskovac	BCD 485	BC7-08
AC_151	THYP_2	<i>Hydroptila sp.</i>	rijeka Cetina - Čikotina lada	BCD 486	BC7-09
AC_152	TAPAL_2	<i>Allotrichia cf. pallicornis</i>	rijeka Cetina - Čikotina lada	BCD 487	BC7-10
AC_153	TRIC_1	<i>Trichoptera</i>	rijeka Cetina - Čikotina lada	BCD 488	BC7-11
AC_154	THYP_3	<i>Hydroptila sp.</i>	izvor Čerišnjevac - Pazin	BCD 489	BC7-12
AC_155	TLIM_4	<i>Limnephilidae</i>	izvor Ružicov	BCD 490	BC7-13
AC_156	THFOR_2	<i>Hydroptila forcipata</i>	rijeka Cetina - Čikotina lada	BCD 491	BC7-14
AC_157	TTWAE_3	<i>Tinodes waeneri</i>	rijeka Krka - NP Krka, desna obala, pristanište za brodove	BCD 492	BC7-15
AC_158	TLMAR_1	<i>Limnephilus marmoratus</i>	rijeka Krka - NP Krka, desna obala, pristanište za brodove	BCD 493	BC7-16
AC_159	TPPUS_3	<i>Psychomyia pusilla</i>	rijeka Rijeka - Bastaji, Papuk	BCD 494	BC7-17
AC_160	TTWAE_4	<i>Tinodes waeneri</i>	rijeka Krka - NP Krka, desna obala, pristanište za brodove	BCD 495	BC7-18
AC_161	TRLOX_5	<i>Rhyacophila loxias</i>	potok Jankovac (gornji tok) - zapadno od Orahovca, Papuk	BCD 496	BC7-19
AC_162	TPPUS_4	<i>Psychomyia pusilla</i>	potok Dubračina (donji tok)-Tribalj	BCD 497	BC7-20
AC_163	TLMAR_2	<i>Limnephilus marmoratus</i>	rijeka Krka - NP Krka, desna obala, pristanište za brodove	BCD 498	BC7-21
AC_164	TPPUS_5	<i>Psychomyia pusilla</i>	rijeka Žirovnica (gornji tok) - Gvozdansko	BCD 499	BC7-22
AC_165	TCTRI_4	<i>Cyrnus trimaculatus</i>	rijeka Krka - NP Krka, desna obala, pristanište za brodove	BCD 500	BC7-23
AC_166	TPPUS_6	<i>Psychomyia pusilla</i>	rijeka Kupa (gornji tok) - Brod na Kupi	BCD 501	BC7-24
AC_167	TCTRI_5	<i>Cyrnus trimaculatus</i>	rijeka Krka - NP Krka, desna obala,	BCD 502	BC7-25

PRILOG 1. Popis primjeraka tulara iz kojih je izolirana DNA ovim radom. Kod naziva vrste naznačeno je kojoj osobi ili instituciji pripadaju vaučeri (AP – Ane Previšić, DC – Darko Cerjanec, HI- Halil Ibrahim, MK - Mladen Kučinić). BCD = Barcode zbirka DNA.

CroBar Fauna kod	DNA kod	VRSTA (prema morfološkoj identifikaciji)	LOKALITET	BCD	BCD-mjesto u kutiji
			pristanište za brodove		
AC_168	TLIM_5	<i>Micropterna testacea</i>	Nova velika, jama - Biokovo	BCD 503	BC7-26
AC_169	TWSUB_2	<i>Wormaldia subnigra</i>	izvor Čerišnjevac - Pazin	BCD 504	BC7-27
AC_170	TSPIC_2	<i>Silo piceus</i>	rijeka Cetina - selo Totići	BCD 505	BC7-28
AC_171	THINS_7	<i>Hydropsyche instabilis</i>	rijeka Cetina - Čikotina lada	BCD 506	BC7-29
AC_172	TLIM_6	<i>Limnephilidae</i>	Baške Oštarije	BCD 507	BC7-30
AC_173	TSPIC_3	<i>Silo piceus</i>	rijeka Cetina - selo Totići	BCD 508	BC7-31
AC_174	TLIM_7	<i>Silo piceus</i>	Lazac - Risnjak	BCD 509	BC7-32
AC_175	THYD_2	<i>Hydroptilidae</i>	rijeka Dobra - Lešće	BCD 510	BC7-33
AC_176	TDATR_3	<i>Diplectrona cf. atra (felix)</i>	potok Konavočica (izvor) - Vodovode, Palje, Konavle	BCD 511	BC7-34
AC_177	THYD_3	<i>Hydroptilidae</i>	rijeka Rudnica, izvor - Ožanići	BCD 512	BC7-35
AC_178	THINC_8	<i>Hydropsyche incognita</i>	rijeka Dobra - Lešće	BCD 513	BC7-36
AC_179	TOXY_1	<i>Oxyethira sp</i>	rijeka Dobra - Trošmarija	BCD 514	BC7-37
AC_180	TRIC_2	<i>Ecclisopteryx sp.</i>	Bačkovo, mali potok, Osogovo	BCD 515	BC7-38
AC_181	TRIC_3	<i>Ecclisopteryx dalecarlica</i>	Maleševska planina, Čengino kolo, izvorišno područje, Bregalnice, 1400 m.n.m. Makedonija	BCD 516	BC7-39
AC_182	THANL_1	<i>Hydroptila angulata</i>	rijeka Bednja - Ivanečka Železnica, Ivanec	BCD 517	BC7-40
AC_183	TRIC_4	<i>Ecclisopteryx dalecarlica</i>	Maleševska planina, Čengino kolo, izvorišno područje, Bregalnice, 1400 m.n.m. Makedonija	BCD 518	BC7-41
AC_184	TPKLA_5	<i>Psychomia klapaleki</i>	rijeka Rudnica, izvor - Ožanići	BCD 519	BC7-42
AC_185	TRIC_5	<i>Tinodes sp.</i>	Albanija	BCD 520	BC7-43
AC_186	TSFLA_7	<i>Psychomia sp.</i>	Albanija	BCD 521	BC7-44
AC_187	TRIC_6	<i>Drusus sp.</i>	Kozuuf, Makedonija	BCD 522	BC7-45
AC_188	THINS_8	<i>Hydropsyche instabilis</i>	potok Konavočica (srednji tok) - Palje, Konavle	BCD 523	BC7-46
AC_189	TRIC_7	<i>Drusus osogovicus</i>	izvor na Duračka reka, Osogovo Mt, Kosovo	BCD 524	BC7-47
AC_190	TLRHO_4	<i>Limnephilus rhombicus</i>	rijeka Gacka (izvor) - Majerovo vrilo	BCD 525	BC7-48
AC_191	TDRUS_1	<i>Drusus sp.</i>	Kozuuf, Makedonija	BCD 526	BC7-49
AC_192	TRIC_8	<i>Drusus plicatus</i>	Pelister, Makedonija	BCD 527	BC7-50
AC_193	TRIC_12	<i>Limniphilidae</i>	Mahovina, Sozina, Limljani, Virpazzan, Crna Gora	BCD 528	BC7-51
AC_194	TRIC_9	<i>Limniphilidae</i>	izvor na Duračka reka, Osogovo Mt, Kosovo	BCD 529	BC7-52
AC_195	TRIC_10	<i>Micropterna nycterobia</i>	Velika Čulimova pećina, špilja - Kijevo	BCD 530	BC7-53
AC_196	TRIC_11	<i>Stenophylax permistus</i>	Bukovac špilja - Delnice	BCD 531	BC7-54
AC_197	TRIC_13	<i>Micropterna wagneri</i>	Spelaeaelicokave, Bridash massif, Albanija, 1840 m.n.m.	BCD 532	BC7-55
AC_198	TEKER_4	<i>Ecclisopteryx keroveci</i>	ušće Radovanske reke u Crni timok, Srbija	BCD 534	BC7-57
AC_200	TEKER_5	<i>Ecclisopteryx keroveci</i>	izvor Radovanske reke, Srbija	BCD 536	BC7-59
AC_201	THTIN_1	<i>Hydroptila cf. tinoides</i>	rijeka Dobra - Jarče polje	BCD 537	BC7-60

PRILOG 1. Popis primjeraka tulara iz kojih je izolirana DNA ovim radom. Kod naziva vrste naznačeno je kojoj osobi ili instituciji pripadaju vaučeri (AP – Ane Previšić, DC – Darko Cerjanec, HI- Halil Ibrahim, MK - Mladen Kučinić). BCD = Barcode zbirka DNA.

CroBar Fauna kod	DNA kod	VRSTA (prema morfološkoj identifikaciji)	LOKALITET	BCD	BCD-mjesto u kutiji
AC_202	TCPSU_1	<i>Chaopteryx psunjensis</i>	potok Šumetlica - Psunj	BCD 538	BC7-61
AC_203	THYD_4	<i>Hydroptilidae</i>	rijeka Rudnica, izvor - Ožanići	BCD 539	BC7-62
AC_204	TSBUL_1	<i>Setodes bulgaricus</i>	rijeka Dobra - Jarče polje	BCD 540	BC7-63
AC_205	TILAM_3	<i>Ithytrichia cf. lamellaris</i>	rijeka Dobra - Jarče polje	BCD 541	BC7-64
AC_206	THMOS_1	<i>Hydropsyche mostarensis</i>	rijeka Krka - HE Miljacka	BCD 542	BC7-65
AC_207	THYD_5	<i>Hydroptilidae</i>	rijeka Rudnica, izvor - Ožanići	BCD 543	BC7-66
AC_208	TCPSU_2	<i>Chaopteryx psunjensis</i>	potok Šumetlica - Psunj	BCD 544	BC7-67
AC_209	THYD_6	<i>Hydroptilidae</i>	rijeka Rudnica, izvor - Ožanići	BCD 545	BC7-68
AC_210	THINC_9	<i>Hydropsyche incognita</i>	rijeka Dobra izvor - Mala Dobra	BCD 546	BC7-69
AC_211	TCRIP_1	<i>Ceraclea riparia</i>	rijeka Dobra - Jarče polje	BCD 547	BC7-70
AC_212	TPBRE_1	<i>Plectrocnemia brevis</i>	rijeka Dobra izvor - Mala Dobra	BCD 548	BC7-71
AC_213	THINC_10	<i>Hydropsyche incognita</i>	rijeka Dobra - Lešće	BCD 549	BC7-72
AC_214	THYD_7	<i>Hydroptilidae</i>	rijeka Rudnica, izvor - Ožanići	BCD 550	BC7-73
AC_215	TCRIP_2	<i>Ceraclea riparia</i>	rijeka Dobra - Jarče polje	BCD 551	BC7-74
AC_216	THYD_8	<i>Hydroptilidae</i>	rijeka Rudnica, izvor - Ožanići	BCD 552	BC7-75
AC_217	THINS_9	<i>Hydropsyche instabilis</i>	rijeka Dobra izvor - Mala Dobra	BCD 553	BC7-76
AC_218	TITH_1	<i>Ithytrichia sp.</i>	rijeka Dobra - Jarče polje	BCD 554	BC7-77
AC_219	THYD_9	<i>Hydroptilidae</i>	rijeka Rudnica, izvor - Ožanići	BCD 555	BC7-78
AC_220	TPCON_6	<i>Plectrocnemia conspresa</i>	rijeka Dobra izvor - Mala Dobra	BCD 556	BC7-79
AC_221	THYD_10	<i>Hydroptilidae</i>	rijeka Krka - Visovac, pristanište na desnoj obali	BCD 557	BC7-80
AC_222	TWOCI_5	<i>Wormaldia occipitalis</i>	rijeka Dobra izvor - Mala Dobra	BCD 558	BC7-81
AC_223	TSET_1	<i>Ceraclea sp.</i>	rijeka Dobra - Novigrad na Dobri	BCD 559	BC8-1
AC_224	TLEP_1	<i>Leptoceridae</i>	rijeka Mrežnica – Belavići	BCD 560	BC8-2
AC_225	TRAUR_2	<i>Rhyacophila aurata</i>	rijeka Mrežnica – Belavići	BCD 561	BC8-3
AC_226	TACIN_5	<i>Athripsodes cinereus</i>	rijeka Mrežnica – Belavići	BCD 562	BC8-4
AC_227	TONOT_4	<i>Oecetis notata</i>	rijeka Mrežnica – Belavići	BCD 563	BC8-5
AC_228	TRFAS_2	<i>Rhyacophila fasciata</i>	rijeka Mrežnica – Belavići	BCD 564	BC8-6
AC_229	THTIG_1	<i>Hydroptila tigurina</i>	rijeka Mrežnica – Belavići	BCD 565	BC8-7
AC_230	TSBUL_2	<i>Setodes bulgaricus</i>	rijeka Dobra - Novigrad na Dobri	BCD 566	BC8-8
AC_231	TSPUN_2	<i>Setodes punctatus</i>	rijeka Dobra, ušće - Priselci	BCD 567	BC8-9
AC_232	TGPIL_2	<i>Goera pilosa</i>	rijeka Dobra, ušće - Priselci	BCD 568	BC8-10
AC_233	THINC_11	<i>Hydropsyche incognita</i>	rijeka Dobra, ušće - Priselci	BCD 569	BC8-11
AC_234	TACIN_6	<i>Athripsodes cinereus</i>	rijeka Mrežnica – Belavići	BCD 570	BC8-12
AC_235	TLIM_4	<i>Limnephilidae</i>	potok Šumetlica - Psunj	BCD 571	BC8-13
AC_236	THFOR_3	<i>Hydroptila forcipata</i>	rijeka Dobra, ušće - Priselci	BCD 571	BC8-13
AC_237	TLBAS_3	<i>Lepidostoma basale</i>	rijeka Grab, izvor - Sinj	BCD 572	BC8-14
AC_238	TAALB_2	<i>Athripsodes albifrons</i>	rijeka Krka - Roški slap	BCD 573	BC8-15
AC_239	THSPA_4	<i>Hydroptila sparsa</i>	rijeka Krka - Roški slap	BCD 574	BC8-16
AC_240	TCALB_3	<i>Ceraclea cf. albumacula</i>	rijeka Cetina - Radmanove Mlinice	BCD 575	BC8-17

PRILOG 1. Popis primjeraka tulara iz kojih je izolirana DNA ovim radom. Kod naziva vrste naznačeno je kojoj osobi ili instituciji pripadaju vaučeri (AP – Ane Previšić, DC – Darko Cerjanec, HI- Halil Ibrahim, MK - Mladen Kučinić). BCD = Barcode zbirka DNA.

CroBar Fauna kod	DNA kod	VRSTA (prema morfološkoj identifikaciji)	LOKALITET	BCD	BCD-mjesto u kutiji
AC_241	TSPIC_4	<i>Silo cf. piceus</i>	rijeka Grab, izvor - Sinj	BCD 576	BC8-18
AC_242	TTBRA_2	<i>Tinodes braueri</i>	rijeka Krka - Roški slap	BCD 577	BC8-19
AC_243	THTIG_2	<i>Hydroptila tigurina</i>	rijeka Dobra, ušće - Priselci	BCD 578	BC8-20
AC_244	TMAZU_3	<i>Mystacides azurea</i>	rijeka Cetina - Radmanove Mlinice	BCD 579	BC8-21
AC_245	THFOR_4	<i>Hydroptila forcipata</i>	rijeka Cetina - Radmanove Mlinice	BCD 580	BC8-22
AC_246	TCRIP_3	<i>Ceraclea riparia</i>	rijeka Dobra, ušće - Priselci	BCD 581	BC8-23
AC_247	THSIM_1	<i>Hydroptila cf. simulans</i>	rijeka Krka - Roški slap	BCD 582	BC8-24
AC_248	TONOT_5	<i>Oecetis cf. notata</i>	rijeka Krka - Roški slap	BCD 583	BC8-25
AC_249	TRHY_2	<i>Rhyacophila dorsalis persimilis/palmeni</i>	rijeka Mrežnica – Belavići	BCD 584	BC8-26
AC_250	THTIG_3	<i>Hydroptila tigurina</i>	rijeka Dobra, ušće - Priselci	BCD 585	BC8-27
AC_251	THYPS_1	<i>Hydropsyche sp.</i>	rijeka Cetina - Radmanove Mlinice	BCD 586	BC8-28
AC_252	TCDIS_2	<i>Ceraclea dissimilis</i>	rijeka Cetina - Radmanove Mlinice	BCD 587	BC8-29
AC_253	THFOR_5	<i>Hydroptila forcipata</i>	rijeka Krka - Roški slap	BCD 588	BC8-30
AC_254	TLHIT_3	<i>Lepidostoma hirtum</i>	rijeka Krka - Roški slap	BCD 589	BC8-31
AC_255	TPPUS_7	<i>Psychomia pusilla</i>	rijeka Dobra, ušće - Priselci	BCD 590	BC8-32
AC_256	TSPUN_3	<i>Setodes punctatus</i>	rijeka Dobra, ušće - Priselci	BCD 591	BC8-33
AC_257	TNBIM_1	<i>Neureclipsis bimaculata</i>	rijeka Mrežnica – Belavići	BCD 592	BC8-34
AC_258	TONOT_6	<i>Oecetis notata</i>	rijeka Cetina - Radmanove Mlinice	BCD 593	BC8-35
AC_259	THINC_12	<i>Hydropsyche incognita</i>	rijeka Grab, izvor - Sinj	BCD 594	BC8-36
AC_260	THYD_11	<i>Hydroptilidae</i>	rijeka Krka - Visovac, pristanište na desnoj obali	BCD 595	BC8-37
AC_261	THCON_3	<i>Hydropsyche conturbenalis</i>	rijeka Sunja - Kukuruzari	BCD 596	BC8-38
AC_262	TLRED_4	<i>Lype reducta</i>	jezero Milanovac - NP Plitvička jezera	BCD 597	BC8-39
AC_263	TPPUS_8	<i>Psychomia pusilla</i>	Proščansko jezero, most - NP Plitvička jezera	BCD 598	BC8-40
AC_264	TETEN_5	<i>Ecnomus tenellus</i>	rijeka Krka - Visovac, pristanište na desnoj obali	BCD 599	BC8-41
AC_265	TRDP_1	<i>Rhyacophila dorsalis plitvicensis</i>	jezero Gavanovac - NP Plitvička jezera	BCD 600	BC8-42
AC_266	TAVAR_3	<i>Agrypnia varia</i>	jezero Kozjak, pristanište - NP Plitvička jezera	BCD 601	BC8-43
AC_267	TSFLA_7	<i>Sericostoma flavicorne</i>	rijeka Grab, izvor - Sinj	BCD 602	BC8-44
AC_268	TPFLA_4	<i>Polycentropus flavomaculatus</i>	rijeka Grab, izvor - Sinj	BCD 603	BC8-45
AC_269	THYD_12	<i>Hydroptilidae</i>	rijeka Krka - Visovac, pristanište na desnoj obali	BCD 604	BC8-46
AC_270	TASEX_1	<i>Agraylea sexamaculata</i>	rijeka Sunja - Kukuruzari	BCD 605	BC8-47
AC_271	TOALB_5	<i>Odontocerum albicorne</i>	rijeka Krka - HE Miljacka	BCD 606	BC8-48
AC_272	TRTRI_8	<i>Rhyacophila tristis</i>	slap Labudovac - NP Plitvička jezera	BCD 607	BC8-49
AC_273	TASEX_2	<i>Agraylea sexamaculata</i>	rijeka Sunja - Kukuruzari	BCD 608	BC8-50
AC_274	TGPIL_3	<i>Goera pilosa</i>	rijeka Sunja - Kukuruzari	BCD 609	BC8-51
AC_275	THYD_13	<i>Hydroptilidae</i>	rijeka Krka - Visovac, pristanište na desnoj obali	BCD 610	BC8-52
AC_276	THSPA_5	<i>Hydroptila sparsa</i>	rijeka Krka - Roški slap	BCD 611	BC8-53

PRILOG 1. Popis primjeraka tulara iz kojih je izolirana DNA ovim radom. Kod naziva vrste naznačeno je kojoj osobi ili instituciji pripadaju vaučeri (AP –Ane Previšić, DC – Darko Cerjanec, HI- Halil Ibrahim, MK - Mladen Kučinić). BCD = Barcode zbirka DNA.

CroBar Fauna kod	DNA kod	VRSTA (prema morfološkoj identifikaciji)	LOKALITET	BCD	BCD-mjesto u kutiji
AC_277	THSAX_4	<i>Hydropsyche saxonica</i>	rijeka Milka Trnina	BCD 612	BC8-54
AC_278	TRFAS_3	<i>Rhyacophila fasciata</i>	rijeka Krka - Roški slap	BCD 613	BC8-55
AC_279	TLHIT_4	<i>Lepidostoma hirtum</i>	rijeka Krka - HE Miljacka, zavoj prije centra	BCD 614	BC8-56
AC_280	TPROT_3	<i>Potamophylax rotundipennis</i>	jezero Gavanovac - NP Plitvička jezera	BCD 615	BC8-57
AC_281	TDSCH_4	<i>Drusus schmidi</i>	rijeka Sturba, topole - Livno, BiH	BCD 616	BC8-58
AC_282	TWSUB_3	<i>Wormaldia subnigra</i>	jezero Milanovac - NP Plitvička jezera	BCD 617	BC8-59
AC_283	THYD_14	<i>Hydroptilidae</i>	rijeka Utinja, vodocrpilište Banovina - Pečki	BCD 618	BC8-60
AC_284	TOTES_3	<i>Oecetis testacea</i>	rijeka Sunja - Kukuruzari	BCD 619	BC8-61
AC_285	TSFLA_8	<i>Sericostoma flavicorne</i>	Proščansko jezero, most - NP Plitvička jezera	BCD 620	BC8-62
AC_286	TGPEL_5	<i>Glyphotaelius pellucidus</i>	izvor Bijela stijena - Petrovec, Petrinja	BCD 621	BC8-63
AC_287	TLLUN_3	<i>Limnephilus lunatus</i>	rijeka Grab, izvor - Sinj	BCD 622	BC8-64
AC_288	TTWAE_5	<i>Tinodes waeneri</i>	rijeka Krka - Visovac, pristanište na desnoj obali	BCD 623	BC8-65
AC_289	TRDP_2	<i>Rhyacophila dorsalis plitvicensis</i>	jezero Gavanovac - NP Plitvička jezera	BCD 624	BC8-66
AC_290	TMSEQ_3	<i>Micropterna sequax</i>	jezero Kozjak, most - NP Plitvička jezera	BCD 625	BC8-67
AC_291	TOTES_4	<i>Oecetis testacea</i>	rijeka Sunja - Kukuruzari	BCD 626	BC8-68
AC_292	TWOCI_6	<i>Wormaldia occipitalis</i>	izvor Bijela stijena - Petrovec, Petrinja	BCD 627	BC8-69
AC_293	TASEX_3	<i>Agraylea sexamaculata</i>	rijeka Sunja - Kukuruzari	BCD 628	BC8-70
AC_294	THYP_4	<i>Hydroptila sp.</i>	potok u selu Pridvorje - Konavle	BCD 637	BC9-1
AC_295	TCDIS_3	<i>Ceraclea dissimilis</i>	jezero Brljan - NP Krka	BCD 638	BC9-2
AC_296	TRDP_3	<i>Rhyacophila dorsalis plitvicensis</i>	slap Labudovac - NP Plitvička jezera	BCD 639	BC9-3
AC_297	THANG_4	<i>Hydropsyche angustipennis</i>	Konavle, Lovorno	BCD 640	BC9-4
AC_298	TAFUS_2	<i>Agapetus cf. fuscipes</i>	rijeka Ljuta (izvor) - Konavle	BCD 641	BC9-5
AC_299	THYP_5	<i>Hydroptila sp.</i>	potok u selu Pridvorje - Konavle	BCD 642	BC9-6
AC_300	TRFAS_4	<i>Rhyacophila fasciata</i>	jezero Brljan - NP Krka	BCD 643	BC9-7
AC_301	TAFUS_3	<i>Agapetus cf. fuscipes</i>	rijeka Ljuta (izvor) - Konavle	BCD 644	BC9-8
AC_302	THYP_6	<i>Hydroptila sp.</i>	potok u selu Pridvorje - Konavle	BCD 645	BC9-9
AC_303	THVEC_2	<i>Hydroptila cf. vectis</i>	potok u selu Pridvorje - Konavle	BCD 646	BC9-10
AC_304	TRTRI_9	<i>Rhyacophila tristis</i>	slap Labudovac - NP Plitvička jezera	BCD 647	BC9-11
AC_305	THINS_10	<i>Hydropsyche instabilis</i>	jezero Brljan - NP Krka	BCD 648	BC9-12
AC_306	THYD_15	<i>Hydroptilidae</i>	jezero Brljan - NP Krka	BCD 649	BC9-13
AC_307	TDSCH_5	<i>Drusus schmidi, F</i>	rijeka Sturba, most - Livno, BiH	BCD 650	BC9-14
AC_308	TDATR_4	<i>Dipletrona cf. felix (atra)</i>	rijeka Ljuta (izvor) - Konavle	BCD 651	BC9-15
AC_309	THYP_7	<i>Hydroptila sp.</i>	Konavle, Pridvorje	BCD 652	BC9-16
AC_310	TRFAS_5	<i>Rhyacophila fasciata</i>	rijeka Cetina - izvor Glavaš	BCD 653	BC9-17
AC_311	THLOT_1	<i>Hydroptila lotensis</i>	rijeka Petrinjčica - Hrvatski Čuntićki	BCD 654	BC9-18
AC_312	TRDOP_4	<i>Rhyacophila dorsalis persimilis</i>	slap Labudovac - NP Plitvička jezera	BCD 655	BC9-19

PRILOG 1. Popis primjeraka tulara iz kojih je izolirana DNA ovim radom. Kod naziva vrste naznačeno je kojoj osobi ili instituciji pripadaju vaučeri (AP – Ane Previšić, DC – Darko Cerjanec, HI- Halil Ibrahim, MK - Mladen Kučinić). BCD = Barcode zbirka DNA.

CroBar Fauna kod	DNA kod	VRSTA (prema morfološkoj identifikaciji)	LOKALITET	BCD	BCD-mjesto u kutiji
AC_313	TDSCH_6	<i>Drusus schmidi</i> - MK	rijeka Sturba, most - Livno, BiH	BCD 656	BC9-20
AC_314	THDIG_4	<i>Halesus digitatus</i>	izvor Crne rijeke - Plitvička jezera	BCD 657	BC9-21
AC_315	THYP_8	<i>Hydroptila sp.</i>	Konavle, Pridvorje	BCD 658	BC9-22
AC_316	TPPAL_5	<i>Potamophylax pallidulus</i>	izvor Crne rijeke - Plitvička jezera	BCD 659	BC9-23
AC_317	TSFLA_9	<i>Sericostoma flavicorne</i>	potok Konavočica (izvor) - Vodovode, Palje, Konavle	BCD 660	BC9-24
AC_318	TMSEQ_4	<i>Micropterna sequax</i>	jezero Kozjak, pristanište - NP Plitvička jezera	BCD 629	BC8-71
AC_319	TAFUS_4	<i>Agapetus cf. fuscipes</i>	rijeka Ljuta (izvor) - Konavle	BCD 630	BC8-72
AC_320	TRDP_4	<i>Rhyacophila dorsalis plitvicensis</i>	slap Labudovac - NP Plitvička jezera	BCD 631	BC8-73
AC_321	THTIN_2	<i>Hydroptila tineoides</i>	rijeka Petrinjčica - Hrvatski Čuntićki	BCD 632	BC8-74
AC_322	TCTRI_6	<i>Cynus trimaculatus</i>	izvor Čerišnjevac - Pazin	BCD 633	BC8-75
AC_323	TLHIT_5	<i>Lepidostoma hirtum</i>	slap Labudovac - NP Plitvička jezera	BCD 634	BC8-76
AC_324	TCDIS_4	<i>Ceraclea dissimilis</i>	rijeka Petrinjčica - Hrvatski Čuntićki	BCD 635	BC8-77
AC_325	TGPIL_4	<i>Goera pilosa</i>	rijeka Petrinjčica - Hrvatski Čuntićki	BCD 636	BC8-78

PRILOG 2. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta roda *Tinodes*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država iz koje je prikupljen uzorak te radi li se o unikatnom haplotipu ili više primjeraka dijeli isti haplotip. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorka označeni su uzorci dobiveni ovim radom.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Država nalaza	Lokacija nalaza	mt DNA haplotip
	<i>Tinodes antonioi</i> Botosaneanu & Taticchi-Vigano, 1974 (od rednog br. 1-3)				
1.	<b>TTANT_1</b>	NIP002-16	Hrvatska	potok Roč (izvor) - Marušići	1
2.	<b>TTIN_1</b>	NIP003-16	Hrvatska	potok Roč (izvor) - Marušići	
3.	<b>TTIN_2</b>	NIP004-16	Hrvatska	potok Roč (izvor) - Marušići	
	<i>Tinodes turanicus</i> Martynov, 1927 (redni br. 4)				
4.	10HMCAD-021	HMKKT021-10	Kirgistan	Bozbu-Geb., Umgeb. Bosppek	3
	<i>Tinodes n. sp. nr. turanicus</i> (od rednog br. 5-18)				
5.	IQCAD135-09	IQCAD135-09	Irak	Sulaymaniyah, Kurdistan	5
6.	IQCAD144-09	IQCAD144-09	Irak	Zalm, Ahmed Awa	
7.	IQCAD145-09	IQCAD145-09	Irak	Zalm, Ahmed Awa	
8.	IQCAD146-09	IQCAD146-09	Irak	Zalm, Ahmed Awa	
9.	IQCAD147-09	IQCAD147-09	Irak	Zalm, Ahmed Awa	
10.	IQCAD148-09	IQCAD148-09	Irak	Zalm, Ahmed Awa	
11.	IQCAD149-09	IQCAD149-09	Irak	Zalm, Ahmed Awa	
12.	12IQTRA-0034	TRIRA034-13	Irak	Zalm, 800 m E Zalm Village	
13.	12IQTRA-0035	TRIRA035-13	Irak	Zalm, 800 m E Zalm Village	

PRILOG 2. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta roda *Tinodes*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država iz koje je prikupljen uzorak te radi li se o unikatnom haplotipu ili više primjeraka dijeli isti haplotip. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorka označeni su uzorci dobiveni ovim radom.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Država nalaza	Lokacija nalaza	mt DNA haplotip
14.	12IQTRA-0036	TRIRA036-13	Irak	Zalm, 800 m E Zalm Village	
15.	12IQTRA-0037	TRIRA037-13	Irak	Zalm, Ahmad	
16.	12IQTRA-0039	TRIRA039-13	Irak	Zalm, Ahmad	
17.	12IQTRA-0033	TRIRA033-13	Irak	Zalm, 800 m E Zalm Village	
18.	12IQTRA-0038	TRIRA038-13	Irak	Zalm, 800 m E Zalm Village	
<i>Tinodes unicolor</i> (Pictet, 1934) (od rednog br. 10-25)					
19.	<b>TTUNI_1</b>	CROAA120-18	Hrvatska	izvor Šumi	8
20.	<b>TTUNI_2</b>	CROTR205-19	Hrvatska	Vrba, Muć	9
21.	<b>TTUNI_3</b>	CROTR206-19	Hrvatska	izvor Čerišnjevica	10
22.	10HMCAD-493	HMKKT493-10	Austrija	E v Merkenstetten	11
23.	TFLAN218-11	UA-SG-TRICH- D83	Belgija	Limburg, Noorbeek	12
24.	TFLAN219-11	UA-SG-TRICH- D84	Belgija	Limburg, Noorbeek	
25.	TFLAN219-11	BIOUG16521-D08	Njemačka	Rhineland-Palatinate, Kreis Ahrweiler	
<i>Tinodes waeneri</i> (Linnaeus, 1758) (od rednog br. 26-32)					
26.	<b>TTWAE_1</b>	NIP001-16	Hrvatska	potok Roč (izvor) - Marušići	14
27.	<b>TTWAE_3</b>	CROTR034-19	Hrvatska	rijeka Krka, NP Krka, desna obala, pristanište za brodove	15
28.	<b>TTWAE_4</b>	CROTR159-19	Hrvatska	rijeka Krka, NP Krka, desna obala, pristanište za brodove	16
29.	<b>TTWAE_5</b>	CROTR164-19	Hrvatska	jezero Gavanovac - NP Plitvička jezera	17
30.	TFLAN171-11	UA-SG-TRICH-D86	Belgija	Antwerpen (Antwerp), Bospolder	18
31.	12HMCAD-62	KJTRI057-13	Austrija	Lunz am See, Seeausrinn	19
32.	GBMIN40244-13	FN179050	Belgija	-	20
<i>Tinodes braueri</i> McLachlan, 1878 (od rednog br. 33-35)					
33.	<b>TTBRA_1</b>	NIP005-16	Hrvatska	rijeka Krupa, Manastir	21
34.	<b>TTPAL_1</b>	NIP006-16	Hrvatska	potok Roč (izvor), Marušići	22
35.	12HMCAD-068	BHMKK235-12	Austrija	St. Konrad-Hausern	23
<i>Tinodes rostocki</i> McLachlan, 1878 (redni br. 36)					
36.	12HMCAD-76	KJTRI071-13	Austrija	Lunz, Muehlgraben	24
<i>Tinodes dives</i> (Pictet, 1834) (rednog br. 37)					
37.	<b>TTDIV_1</b>	NIP007-16	Hrvatska	rijeka Una (izvor)	25
<i>Tinodes dives consiglioi</i> Botosaneanu, 1980 (od rednog br. 38-42)					
38.	07HMCAD-0357	HMCAD357-08	Italija	Liguria, Imperia	26
39.	07HMCAD-0359	HMCAD359-08	Italija	Liguria, Imperia	27
40.	07HMCAD-0361	HMCAD361-08	Italija	Liguria, Imperia	28
41.	07HMCAD-0360	HMCAD360-08	Italija	Liguria, Imperia	
42.	07HMCAD-0358	HMCAD358-08	Italija	Liguria, Imperia	29
<i>Tinodes higashiyamanus</i> Tsuda, 1942 (redni br. 43)					
43.	AB764093	GBMIN17824-13	Japan	Shizuoka	30
<i>Tinodes provo</i> Ross & Merkley, 1950 (redni br. 44-46)					
44.	08OFCAD-1186	NECAD331-08	Sjedinjene Američke Države	Arizona, Yavapai Co	31
45.	08OFCAD-1187	NECAD332-08	Sjedinjene Američke Države	Arizona, Yavapai Co	32
46.	08OFCAD-1188	NECAD333-08	Sjedinjene	Arizona, Yavapai Co	33

PRILOG 2. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta roda *Tinodes*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država iz koje je prikupljen uzorak te radi li se o unikatnom haplotipu ili više primjeraka dijeli isti haplotip. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorka označeni su uzorci dobiveni ovim radom.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Država nalaza	Lokacija nalaza	mt DNA haplotip
			Američke Države		
	<i>Psychomyia flavida</i> Hagen, 1861 (redni br. 47)				
47.	07EVCAD-0528	EVCAD528-07	Kanada	Quebec	34
	<i>Psychomyia morisitai</i> Tsuda, 1942 (redni br. 48)				
48.	AB764095	GBMIN17823-13	Japan	Shizuoka	35
	<i>Lype diversa</i> (Banks, 1914) (redni br. 49)				
49.	08DRCAD-049	DRCAD049-08	Sjedinjene Američke Države	New York, Montgomery Co	36
	<i>Lype excisa</i> Mey, 1991 (redni br. 50)				
50.	AB764091	GBMIN17825-13	Japan	Shizuoka	37
	<i>Eoneureclipsis montanus</i> Torii & Nishimoto, 2011 (redni br. 51)				
51.	AB744044	GBMIN21069-13	Japan	Ibaraki	38
	<i>Eoneureclipsis yaeyamaensis</i> Torii & Nishimoto, 2011 (redni br. 52)				
52.	AB764090	GBMIN17793-13	Japan	Okinawa, Okinawa, Ishigaki island, rijeka Miyara	39
	<i>Eoneureclipsis okinawaensis</i> Torii & Nishimoto, 2011 (redni br. 53)				
53.	AB764089	GBMIN17826-13	Japan	Okinawa, Okinawa, rijeka Bumi	40

PRILOG 3. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta *Adicella balcanica* i *Adicella cremisa*. Uz svaki primjerak navedena je vrsta, država iz koje je prikupljen uzorak, Sample ID, BOLD Sekvenca ID. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Država nalaza	Lokacija nalaza	mt DNA haplotip
	<i>A. balcanica</i> Botosaneanu & Novak 1965 (redni br. 1)				
1.	<b>TABAL_1</b>	NIP010-16	Hrvatska		1
	<i>A. cremisa</i> Malicky 1972 (od rednog br. 2-10)				
2.	<b>TACRE_1</b>	NIP009-16	Hrvatska	rijeka Krupa, Manastir	2
3.	<b>TASYR_1</b>	NIP008-16	Hrvatska	rijeka Krapina, Krapina Selo	3
4.		KKCAD417-07	Mađarska	-	
5.	KKCAD-0425	HMTRI149-08	Italija	Friuli-Venezia Giulia, Pordenone	
6.	08HMCAD-149	HMTRI176-08	Italija	Friuli-Venezia Giulia, Pordenone	4
7.	08HMCAD-176	HMTRI153-08	Italija	Friuli-Venezia Giulia, Pordenone	5
8.	08HMCAD-153	HMTRI152-08	Italija	Friuli-Venezia Giulia, Pordenone	6
9.	08HMCAD-152	HMTRI151-08	Italija	Friuli-Venezia Giulia, Pordenone	7
10.	08HMCAD-151	HMTRI150-08	Italija	Friuli-Venezia Giulia, Pordenone	8
	<i>A. filicornis</i> (Pictet, 1834) (od rednog br. 11-13)				
11.	08HMCAD-150	BHMKK222-12	Austrija	Lower Austria, Gaming	9
12.	12HMCAD-059	OFTRI186-10	Francuska	Occitanie, Midi-Pyrenees	
13.	10OFSI-0187	FBAQU1141-12	Njemačka	Bavaria, Ammer-Loisach-Huegelland	10



PRILOG 3. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta *Adicella balcanica* i *Adicella cremisa*. Uz svaki primjerak navedena je vrsta, država iz koje je prikupljen uzorak, Sample ID, BOLD Sekvenca ID. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Država nalaza	Lokacija nalaza	mt DNA haplotip
<i>A. reducta</i> (McLachlan, 1865) (od rednog br. 14-17)					
14.	BCZSMAQU00856	FBAQU1142-12	Njemačka	Bavaria, Muenchener Ebene	11
15.	BCZSMAQU00857	HMKKT630-10	Portugal	Serra do Estrela	12
16.	HMCAD0810-3	KKUMN419-10	Španjolska	Galicia	13
17.	09MNKK0411	TFLAN061-11	Belgija	Limburg, Abeek-Lossing	14
<i>A. syriaca</i> Ulmer, 1907 (od redni br. 18)					
18.	UA-SG-TRICH-C18	OFTRI187-10	Mađarska	Somogy	15

PRILOG 4. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrste *Trichostegia minor*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak te radi li se o unikatnom haplotipu ili više primjeraka dijeli isti haplotip. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom. Životni stadij se odnosi na A= A (odrasli), I=imago, L=ličinka te oznake spola M=mužjak, F=ženka.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Spol	Stadij	Država nalaza	Lokacija	mt DNA haplotip
<i>Trichostegia minor</i> Curtis, 1834 (od rednog br. 1-11)							
1	<b>TTMIN_1</b>	CROAA133-18	M	A	Hrvatska	Rijeka Gacka, izvor Majerovo vrilo	1
2	PE310	INTAP263-17	M	I	Austrija	Franstanz, Giessen	2
3	PE311	INTAP264-17	M	I	Austrija	Franstanz, Giessen	
4	HMCAD13-36	KJTRI226-13	M	A	Austrija	Tumpel bei Wehranlage	3
5	09OFKMK-0082	OFKMK082-09		A	Njemačka	Karinchensee nr. Ferch	4
6	UA-SG-TRICH-D80	TFLAN188-11	F	A	Belgija	Hobokense Polder, Hoboken	5
7	UA-SG-TRICH-D94	TFLAN262-11		A	Belgija	Hobokense Polder, Hoboken	6
8	UA-SG-TRICH-D95	TFLAN263-11		A	Belgija	Bospolder, Ekeren	7
9	JSIk-2011F045	TRIFI585-11	F	A	Finska	Kalkkimaeki	8
10	RBCAD-2323	UMNEC454-08	M	A	Norveška	Tjome, Mostrand	
11	JSIk-2011F046	TRIFI586-11	F	A	Finska	Kalkkimaeki	9
<i>Agrypnia varia</i> , Fabricius, 1793 (od rednog br. 12-36)							
12	<b>TAVAR_1</b>	CROAA013-18			Hrvatska	Rijeka Mura, Goričan	10
13	BCZSMAQU00864	FBAQU1149-12	M		Njemačka	Donauaue 350 m W Giesenau, Donau Fkm 2436,125 [rec	11

PRILOG 4. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrste *Trichostegia minor*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak te radi li se o unikatnom haplotipu ili više primjeraka dijeli isti haplotip. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom. Životni stadij se odnosi na A= A (odrasli), I=imago, L=ličinka te oznake spola M=mužjak, F=ženka.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Spol	Stadij	Država nalaza	Lokacija	mt DNA haplotip
14	GBOL04390	GBEPT776-14	M		Njemačka	Gutendorf/Weimar, Klosterholz	
15	07HMCAD-0320	HMCAD320-08	F		Austrija	A-Salzburg, St. Georgen, Waidmoos	
16	PE143	INTAP120-17	M		Austrija	Stutz	
17	UA-SG-TRICH-D75	TFLAN172-11	M		Belgija	Genk	
18	UA-SG-TRICH-D76	TFLAN173-11	F		Belgija	Dilsen-Stokkem	
19	UA-SG-TRICH-D74	TFLAN252-11		L	Belgija	Gammelelva naturreservat	
20	BC ZSM AQU 00251	FBAQU251-09	M		Njemačka	Tegernsee, Ufer unterhalb Kaltenbrunn (Gde. Gmund)	12
21	GBOL04395	GBEPT781-14	M		Njemačka	Zehdennick, Eichlerstich, Waldrand	13
22	07HMCAD-0321	HMCAD321-08	F		Austrija	A-Salzburg, St. Georgen, Waidmoos	14
23	08HMCAD-032	HMTRI032-08	M		Austrija	Mayrgraben, Lunz am See	15
24	08HMCAD-271	HMTRI271-09	M		Austrija	Zell/Ybbs	16
25	HMCAD13-9	KJTRI199-13	M		Republika Češka	Blatenska slat` pod	17
26	TRD-TRI88	TRDTR009-14	M		Norveška	Gammelelva naturreservat	18
27	TRD-TRI89	TRDTR010-14	M		Norveška	Gammelelva naturreservat	
28	TRD-TRI90	TRDTR011-14	M		Norveška	Gammelelva naturreservat	
29	TRD-TRI91	TRDTR012-14	M		Norveška	Gammelelva naturreservat	
30	TRD-TRI87	TRDTR041-14	M		Norveška	Gammelelva	
31	TRD-TRI190	TRDTR113-15	F		Norveška	Genk	
32	TRD-TRI189	TRDTR112-15	F		Norveška	Gammelelva	19
33	JSIk-20110108	TRIFI456-11	M		Latvia	rijeka Gauja	20
34	ARin-2012F312	TRIFI842-13		L	Finska	Loeyttynsuo lampi	21
35	ARin-2012F314	TRIFI844-13		L	Finska	Virkkala	22
36	ARin-2012F334	TRIFI864-13	M		Finska	Loeyttynsuo lampi	23
<i>Hagenella clathrate</i> Kolenati, 1848 (od rednog br. 37-47)							
37	BC ZSM NEU 176	FBNE176-13		A	Njemačka	Bodenwoehr, Breitenbrucker Weiher	24
38	GBOL03362	GBEPT332-14			Njemačka	Ueberacker	
39	GBOL03364	GBEPT334-14			Njemačka	Ueberacker	
40	PE194	INTAP167-17	M		Austrija	Bizauer Moos/Bach daneben	25
41	JSIk-2011F044	TRIFI584-11	M		Finska	Ahamsuonlampi	26
42	ARin-2012F291	TRIFI826-12		L	Finska	Tappunen	27
43	BCZSMAQU00935	FBAQU1220-12	M		Njemačka	Erlenbruch im Leutstettener Moos, 400 m N Heimaths	28

PRILOG 4. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrste *Trichostegia minor*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak te radi li se o unikatnom haplotipu ili više primjeraka dijeli isti haplotip. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom. Životni stadij se odnosi na A= A (odrasli), I=imago, L=ličinka te oznake spola M=mužjak, F=ženka.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Spol	Stadij	Država nalaza	Lokacija	mt DNA haplotip
44	BC ZSM AQU 00629	FBCAD059-10	M		Njemačka	Grabenartiger Bach zum Randlagg/Bruchwald S Knuapp	29
45	FinnCAD-041	FINNT031-12	M		Norveška	Tormajavri	30
46	JSIk-2012F215	TRIFI750-12	F		Estonia	Nomme	31
47	ARin-2012F287	TRIFI822-12		L	Finska	Jeesioenjoki	32
<i>Phryganea bipunctata</i> Retzius, 1783 (od rednog br. 48-62)							
48	BC ZSM AQU 00273	FBAQU273-09	F		Njemačka	Tegernsee, Ufer unterhalb Kaltenbrunn (Gde. Gmund)	33
49	HMCAD1211-170	BHMKK170-12	M		Republika Češka	Plesne jezero	34
50	07HMCAD-0322	HMCAD322-08	M		Austrija	A-Salzburg, St. Georgen, Waidmoos	
51	07HMCAD-0323	HMCAD323-08	M		Austrija	A-Salzburg, St. Georgen, Waidmoos	
52	07HMCAD-0331	HMCAD331-08		A	Austrija	Kogelsbach	
53	GGCAD909-06	KKCAD550-09			Norveška	Morstadstolen	
54	TRD-TRI145	TRDTR068-14	M		Norveška	Storaastjoenna	36
55	TRD-TRI146	TRDTR069-14	M		Norveška	Dam ved Engelsaastroea	
56	TRD-TRI235	TRDTR158-15	M		Norveška	Store Skeistjern	
57	TRD-TRI232	TRDTR155-15	M		Norveška	Store Skeistjern	
58	TRD-TRI234	TRDTR157-15	M		Norveška	Store Skeistjern	37
59	TRD-TRI233	TRDTR156-15	F		Norveška	Aasen	38
60	JSIk-20100117	TRIFI277-11		L	Finska	Jeesioejoki	39
61	ARin-20100151	TRIFI305-11		L	Finska		40
62	JSIk-20110139	TRIFI487-11	M		Finska	Ahmasuonlampi	41
<i>Phryganea grandis</i> Linnaeus, 1758 (od rednog br. 63-82)							
63	<b>TPGRA_1</b>	CROAA134-18	M	A	Hrvatska	Rijeka Dunav, Zlatna greda	42
64	MM24011	COLFH083-14		A	Finska	Bagaskaer	
65	BCZSMAQU00939	FBAQU1224-12	F		Njemačka	Donauaue 350 m W Giesenau, Donau Fkm 2436,125 [rec	
66	BC ZSM AQU 00274	FBAQU274-09	M		Njemačka	Grosser Ostersee, Suedufer bei Mdg. Verbindungsbac	
67	BC ZSM AQU 00275	FBAQU275-09	F		Njemačka	Tegernsee, Ufer unterhalb Kaltenbrunn (Gde. Gmund)	
68	UA-SG-TRICH-NA53	TFLAN036-11		L	Belgija	Geel	
69	UA-SG-TRICH-NA54	TFLAN037-11		L	Belgija	Geel	
70	UA-SG-TRICH-NA52	TFLAN116-11		L	Belgija	Mol	
71	UA-SG-TRICH-D77	TFLAN124-11		L	Belgija	Knokke-Heist	

PRILOG 4. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrste *Trichostegia minor*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak te radi li se o unikatnom haplotipu ili više primjeraka dijeli isti haplotip. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom. Životni stadij se odnosi na A= A (odrasli), I=imago, L=ličinka te oznake spola M=mužjak, F=ženka.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Spol	Stadij	Država nalaza	Lokacija	mt DNA haplotip
72	UA-SG-TRICH-D79	TFLAN140-11		L	Belgija	Kasterlee	
73	UA-SG-TRICH-X32	TFLAN279-11		L	Belgija	Ekeren	
74	Kurs2015-SR2	ZMBN036-15		A	Norveška	Rambjora	
75	FN600940	GBMIN35667-13					43
76	10HMCAD-280	HMKKT280-10		A	Austrija	St. Konrad - Hausern	44
77	08HMCAD-041	HMTRI041-08	M		Austrija	Mayrgraben, Lunz am See	45
78	08HMCAD-254	HMTRI254-09	F		Austrija	Salzburg, Astenschmeide	46
79	UA-SG-TRICH-B42	TFLAN028-11		L	Belgija	Ranst	47
80	UA-SG-TRICH-D78	TFLAN130-11		L	Belgija	Kortrijk	48
81	JSIk-20110132	TRIFI480-11	M		Finska	Siikalahti	49
82	JSIk-20110133	TRIFI481-11	M		Finska	Siikalahti	50
<i>Phryganea grandis rotundata</i> Ulmer, 1905 (od rednog br. 83-87)							
83	ID-10340	MGCAD523-09	M		Mongolija	Arhangay, Ogiy nuur	51
84	ID-10341	MGCAD524-09	M		Mongolija	Arhangay, Ogiy nuur	52
85	ID-10342	MGCAD525-09	M		Mongolija	Arhangay, Ogiy nuur	53
86	ID-10343	MGCAD526-09	M		Mongolija	Arhangay, Ogiy nuur	54
87	ID-10344	MGCAD527-09	M		Mongolija	Arhangay, Ogiy nuur	
<i>Lepidostoma hirtum</i> (Fabricius, 1775) (redni br. 88)							
88	<b>TLHIT_1</b>	CROAA126-18	M		Hrvatska	Rijeka Kupa, Pribanjci	55

PRILOG 5. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Hydroptila*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom. Životni stadij se odnosi na A= odrasli, L=ličinka te oznake spola M=mužjak, F=ženka.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	stadij	spol	Država	Lokacija nalaza	mt DNA haplotip
<i>Hydroptila angulata</i> Mosely, 1922 (od rednog br. 1-2)							
1	BIOUG16521-D07	GMGMC788-14			Njemačka	Landskrone	1
2	10HMCAD-434	HMKKT434-10	A		Italija	Lago di Garda San Felice di Benaco	
<i>Hydroptila forcipata</i> Eaton, 1873 (od rednog br. 3-14)							
3	<b>THFOR_1</b>	CROAA093-18			Hrvatska	rijeka Čabranka, ušće	2
4	<b>THFOR_3</b>	CROTR121-19			Hrvatska	rijeka Dobra, Priselci	
5	<b>THFOR_2</b>	CROTR095-19			Hrvatska	rijeka Cetina, Čikotina lađa	3
6	<b>THFOR_5</b>	CROTR131-19			Hrvatska	rijeka Krka, Roški slap	4
7	<b>THFOR_4</b>	CROTR127-19			Hrvatska	rijeka Cetina, Radmanove mlinice	5

PRILOG 5. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Hydroptila*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom. Životni stadij se odnosi na A= odrasli, L=ličinka te oznake spola M=mužjak, F=ženka.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	stadij	spol	Država	Lokacija nalaza	mt DNA haplotip
8	BC ZSM AQU 00002	FBAQU002-09	A	M	Njemačka	Kleine Isar` Hoehe Volksbad, von Ludwigsbruecke bi	
9	BIOUG15421-D07	GMBUE3214-14			Bugarska	Godech, Sofiya	6
10	BIOUG16554-A12	GMNWL2475-14			Norveška	Sommerlystvegen 22	7
11	PE181	INTAP154-17	A	M	Austrija	Bregenzer Ache	8
12	HLC-25383	LIMC243-08			Australia	Lizard Island, Queensland	9
13	TRD-TRI156	TRDTR079-14	A	M	Norveška	Gaula ved Kvaal	
14	JSIk-2011F124	TRIFI664-12	A	M	Finska	Kukkolankoski, Tornio	10
<i>Hydroptila lotensis</i> Mosely, 1930 (od rednog br. 15-19)							
15	<b>THANG_1</b>	CROAA119-18	A	F	Hrvatska	rijeka Bednja, Ivanečka Železnica	11
16	<b>THANL_1</b>	CROAA108-18	A	M	Hrvatska	rijeka Bednja, Ivanečka Železnica	12
17	<b>THYD_13</b>	CROTR185-19	A		Hrvatska	potok Pecki, Banovina	
18	<b>THLOT_1</b>	CROTR255-19	A		Hrvatska	rijeka Petrinjčica, Hrvatski Čuntić	
19	JSIk-2011F106	TRIFI646-12			Finska	Kukkolankoski	13
<i>Hydroptila martini</i> Marshall, 1977 (od rednog br. 20-29)							
20	<b>THMAR_1</b>	CROAA094-18			Hrvatska	rijeka Gacka, Otičac	14
21	<b>THYD_5</b>	CROTR087-19			Hrvatska	rijeka Rudnica	15
22	<b>THYD_7</b>	CROTR088-19			Hrvatska	rijeka Rudnica	
23	<b>THYD_8</b>	CROTR141-19			Hrvatska	rijeka Rudnica	
24	<b>THYP_8</b>	CROTR170-19			Hrvatska	Konavle, Pridvorje	
25	10HMCAD-148	HMKKT148-10	A		Crna Gora	Podgorica	16
26	PE302	INTAP256-17	A	M	Austrija	Franstanz, Giessen	17
27	PE303	INTAP257-17	A	M	Austrija	Franstanz, Giessen	18
28	PE304	INTAP258-17	A	M	Austrija	Franstanz, Giessen	19
29	12HMCAD-83	KJTRI078-13	A	M	Austrija	Lunz, Seehof	20
<i>Hydroptila phaon</i> Malicky, 1976 (od rednog br. 30-31)							
30	<b>THPHA_1</b>	CROTR232-19	A	M	Hrvatska	potok Marušići, izvor	21
31	<b>TPHAK_1</b>		A		Hrvatska	rijeka Vitunjčica, izvor	22
<i>Hydroptila simulans</i> Mosely, 1920 (od rednog br. 32-40)							
32	<b>THSIM_1</b>	CROTR129-19	A	M	Hrvatska	rijeka Krka, Roški slap	23
33	JSIk-2011F103	TRIFI643-12	A	M	Finska	Kukkolankoski, Tornio	
34	KC559532	GBA20482-14					24
35	GBOL11654	GBEPT2171-15	A		Njemačka	Ahrweiler, Niederzissen, Bausenberg, horseshoe crater	25
36	FM998352	GBMH7851-10					26
37	10HMCAD-214	HMKKT214-10	A		Austrija	Zell bei Waidhofen/Ybbs	27
38	JSIk-2011F104	TRIFI644-12	A	M	Finska	Kukkolankoski, Tornio	28
39	JSIk-2011F105	TRIFI645-12	A	M	Finska	Kukkolankoski, Tornio	29
40	JSIk-2011F108	TRIFI648-12	A	F	Finska	Kukkolankoski, Tornio	30
<i>Hydroptila sparsa</i> Curtis, 1834 (od rednog br. 41-54)							
41	<b>THSPA_1</b>	CROAA124-18	A	F	Hrvatska	rijeka Neretva, Opuzen	31
42	<b>THYP_6</b>	CROTR196-19			Hrvatska	Konavle, Pridvorje	32
43	<b>THYD_12</b>	CROTR184-19			Hrvatska	rijeka Krka, Visovac	33
44	<b>THSPA_4</b>	CROTR156-19			Hrvatska	rijeka Krka, Roški slap	
45	GBOL13136	GBMIX1986-15	A		Njemačka	Mayen-Koblenz, Winingen, Moesltal, Blumslay, Wald	
46	UA-SG-TRICH-C65	TFLAN137-11	L		Belgija	Maaseik	

PRILOG 5. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Hydroptila*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom. Životni stadij se odnosi na A= odrasli, L=ličinka te oznake spola M=mužjak, F=ženka.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	stadij	spol	Država	Lokacija nalaza	mt DNA haplotip
47	UA-SG-TRICH-C13	TFLAN141-11	L		Belgija	Kasterlee	
48	ARin-2014F086	TRIFI1104-14	L		Finska	Vanhankaupunginkosk	
49	BC ZSM AQU 00606	FBCAD036-10	A	M	Njemačka	Isar oh Muendung Schleipferbach	
50	BC ZSM AQU 00607	FBCAD037-10	A	M	Njemačka	Weisse Laaber `Walk`, Suedrand Dietfurt a.d. Altmu	
51	KY225428	GBMIN91666-1			Velika Britanija		34
52	12HMCAD-36	KJTRI031-13	A	M	Italija	Risorgive del Vinchiaruzzo	35
53	JSIk-2011F101	TRIFI641-12	A	M	Finska	Liuhanvuolle	36
54	KY225427	GBMH18003-19					37
<i>Hydroptila tigurina</i> Ris, 1894 (od rednog br. 55-57)							
55	<b>THTIG_1</b>	CROTR146-19	A	M	Hrvatska	rijeka Mrežnica, Belavići	38
56	<b>THTIG_2</b>	CROTR182-19	A	F	Hrvatska	rijeka Dobra, Priselci	39
57	<b>THTIG_3</b>	CROTR183-19	A	M	Hrvatska	rijeka Dobra, Priselci	40
<i>Hydroptila tineoides</i> Dalman, 1819 (od rednog br. 58-66)							
58	<b>TH TIN_1</b>	CROTR085-19	A	M	Hrvatska	rijeka Dobra, Jarče	41
59	<b>THID_3</b>	CROTR102-19	A	M	Hrvatska	rijeka Rudnica, izvor	42
60	<b>THID_6</b>	CROTR139-19	A	F	Hrvatska	rijeka Rudnica, izvor	
61	<b>TH TIN_2</b>	CROTR231-19	A	M	Hrvatska	rijeka Petrinjčica, Prnjavor Čuntićki	43
62	BCZSMAQU00903	FBAQU1188-12	A	F	Njemačka	Vorflutgraben Nord uh Muendung Ableitungsraben No	44
63	FinnCAD-084	FINNT054-12	A	M	Norveška	Sametijohka ved Sameti Malaise trap 8	45
64	10HMCAD-177	HMKKT177-10	A		Italija	Lago di Garda San Felice di Benaco	46
65	12HMCAD-69	KJTRI064-13	A	M	Austrija	Lunz am See, Seeausrinn	47
66	JSIk-2011F117	TRIFI657-12	A	M	Finska	Kokonkoski	48
<i>Hydroptila vectis</i> Curtis, 1834 (od rednog br. 67-77)							
67	<b>THVEC_1</b>	CROAA091-18	A	M	Hrvatska	rijeka Bednja, Ivanečka Železnica	49
68	<b>THVEC_2</b>	CROTR168-19	A	M	Hrvatska	Potok u Konavlima, Pridvorje	50
69	<b>THYD_3</b>	CROTR215-19	A		Hrvatska	potok Čerišnjevac, izvor, Pazin	51
70	KY225466	GBMH18025-19	A		-		52
71	10HMCAD-178	HMKKT178-10	A		Italija	Lago di Garda San Felice di Benaco	53
72	08HMCAD-036	HMTRI036-08	A		Libanon	Tasse	54
73	12HMCAD-39	KJTRI034-13	A	M	Italija	Vivaro, Pordenone	
74	12HMCAD-85	KJTRI080-13	A	M	Austrija	Ewixangraben, S. of Wang	55
75	JSIk-2011F113	TRIFI653-12	A	M	Estonia	Odalaetsi, Kihelkonna	56
76	JSIk-2011F114	TRIFI654-12	A	M	Estonia	Odalaetsi, Kihelkonna	
77	JSIk-2011F115	TRIFI655-12	A	F	Estonia	Odalaetsi, Kihelkonna	57
<i>Glossosoma conformis</i> Neboiss, 1963 (redni br. 78)							
78	CROTR210-19	<b>TGCON_2</b>	A	F	Hrvatska	potok Bliznec, Medvednica	58

PRILOG 6. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Orthotrichia*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak te radi li se o unikatnom haplotipu ili više primjeraka dijeli isti haplotip. Životni stadij se odnosi na A= odrasli, L=ličinka te oznake spola M=mužjak, F=ženka.

Redni Br.	BOLD Sekvenca ID	ID uzorka	stadij	spol	Država	Lokacija nalaza	mt DNA haplotip
<i>Orthotrichia angustella</i> (McLachlan, 1865) (od rednog br. 1-2)							
1	THYP_1	CROAA068-18	A		Hrvatska	rijeka Kupa, Jamnička Kiselica	1
2	JSIk-2013F055	TRIFI980-13	A	M	Rusija	Stenki, Belgorod	2
<i>Orthotrichia costalis</i> Curtis, 1834 (od rednog br. 3-13)							
3	THSPA_5	CROTR184-19	A	M	Hrvatska	rijeka Krka, Roški slap	3
4	THYD_10	CROTR224-19	A	M	Hrvatska	rijeka Krka, Visovac	4
5	THYD_11	CROTR184-19	A	F	Hrvatska	rijeka Krka, Visovac	5
6	BC ZSM AQU 00065	FBAQU065-09	A	M	Njemačka	Kiesweiher W Steigsee, SO Irgertsheim	6
7	UA-SG-TRICH-C15	TFLAN146-11	L		Belgija	De Panne, De 3 Vijvers	7
8	UA-SG-TRICH-C67	TFLAN147-11	A		Belgija	De Panne, De 3 Vijvers	8
9	UA-SG-TRICH-C17	TFLAN150-11	A		Belgija	De Panne, De 3 Vijvers	9
10	UA-SG-TRICH-X14	TFLAN248-11	A		Belgija	Oudenaarde, Oude Scheldearm	10
11	ARin-2014F089	TRIFI1107-14	L		Finska	Vanhankaupunginkoski, Helsinki	11
12	JSIk-2011F129	TRIFI669-12	A	F	Finska	Huuma, Kotka	12
13	JSIk-2011F130	TRIFI670-12	A	M	Finska	Mellijaervi, Juupajoki	13
<i>Orthotrichia tragetti</i> Mosely, 1930 (od rednog br. 14-19)							
14	TOTRA_1	CROAA069-18	A	M	Hrvatska	jezero Kuti, Badžule	14
15	12HMCAD-38	KJTRI033-13	A	M	Italija	Vivaro, Pordenone	15
16	TVTRI0062-A	RUSST134-12	A	F	Rusija	Lotos Lake, Khasanskyi	16
17	JSIk-2013F088	TRIFI1013-13	A	M	Finska	Matalajaervi, Espoo	17
18	JSIk-2013F057	TRIFI982-13	A	F	Rusija	Stenki, Belgorod	18
19	JSIk-2013F058	TRIFI983-13	A	F	Rusija	Stenki, Belgorod	
<i>Orthotrichia aegerfasciella</i> Chambers, 1873 (od rednog br. 20-21)							
20	10USCAD-070	USCAD070-10			Sjedinjene Američke Države	Little Manatee River SP	19
21	BIOUG35052-H03	OPPQG2724-17	A		Kanada	Frontenac Provincial Park	20
<i>Orthotrichia baldufi</i> Kingsolver & Ross, 1961 (redni br. 22)							
22	OPPQE2986-17	BIOUG34738-H09			Kanada	Frontenac Provincial Park	21
<i>Orthotrichia shawkah</i> Malicky & Chantaramongkol, 2007 (redni br. 23)							
23	HMTRI009-08	HMTRI009-08	A				22
<i>Orthotrichia</i> sp. (od rednog br. 24- 25)							
24	04INCAD-240	INCAD240-10	A		Indonezija	Marawas pritok rijeke Tondono, across from hydroe	23
25	EPAVT9	LTUT1340-14	L		Australija	VXH Macalister R at Glencairn, Kick	24
<i>Glossosoma conformis</i> Neboiss, 1963 (redni br. 26)							
26	CROTR210-19	TGCON_2	A	F	Hrvatska	potokBliznec, Medvednica	25

PRILOG 7. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Ithytrichia*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak te radi li se o unikatnom haplotipu ili više primjeraka dijeli isti haplotip. Životni stadij se odnosi na A= odrasli, L=ličinka te oznake spola M=mužjak, F=ženka.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	stadij	spol	Država	Lokacija nalaza	mt DNA haplotip
<i>Ithytrichia lamellaris</i> Eaton, 1873 (od rednog br. 1- 22)							
1	TILAM_1	CROAA067-18	A	M	Hrvatska	rijeka Raša, dolina	1
2	TILAM_2	CROTR200-19	A	M	Hrvatska	rijeka Krapina	2
3	TILAM_3	CROTR138-19	A	M	Hrvatska	rijeka Dobra, poljeJarče	3
4	TITH_1	CROTR143-19	A	F	Hrvatska	rijeka Dobra, polje Jarče	4
5	BCZSMAQU00904	FBAQU1189-12	A	M	Njemačka	Donauaue 350 m W Giesenu, Donau Fkm 2436,125 [rec	5
6	FinnCAD-055	FINNT005-12	A	M	Norveška	Smaerijohka ved Sameri, Malaise trap 8	6
7	TRD-TRI172	TRDTR095-14	A	M	Norveška	Nidelva ved Tiller bru	7
8	10HMCAD-218	HMKKT218-10	A		Austrija	Seeausrinn bei Lunz	8
9	KM225305	GBA20494-14					9
10	GBOL03917	GBEPT588-14	L		Njemačka	Passade	10
11	GBOL03918	GBEPT589-14	L		Njemačka	Passade	
12	GBOL03921	GBEPT592-14	L		Njemačka	Passade	
13	JQ239821	GBMIN18621-13					12
14	12HMCAD-33	KJTRI028-13	A	M	Italija	Risorgive del Vinchiaruzzo	13
15	NIVA_TER_64	BARCO064-14			Norveška		14
16	TRD-TRI172	TRDTR095-14		M	Norveška	Nidelva ved Tiller bru	15
17	JSik-20090068	TRIFI173-10		M	Finska	Neulajoki	16
18	JSik-20090069	TRIFI174-10		M	Finska	Neulajoki	
19	JSik-20090070	TRIFI175-10		M	Finska	Vanhankaupunginkoski	
20	10HMCAD-517	HMKKT517-10	A		Austrija	Seeausrinn bei Lunz	18
21	10HMCAD-519	HMKKT519-10	A		Austrija	Seeausrinn bei Lunz	19
22	10HMCAD-518	HMKKT518-10	A		Austrija	Seeausrinn bei Lunz	20
<i>Ithytrichia clavata</i> Morton, 1905 (redni br.23)							
23	JSik-2014F169	TRIFI1184-15			Finska	Vehkakoski, Tampere	21
<i>Ithytrichia</i> sp. Eaton, 1873 (redni br.24)							
24	10BBEPT-0262	BBEPT263-10			Kanada	Red Deer Trail Red Loop, Prince Albert NP	22
<i>Glossosoma conformis</i> Neboiss, 1963 (redni br.25)							
25	TGCON_2	CROTR210-19	A	F	Hrvatska	potok Bliznec, Medvednica	23

PRILOG 8. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Oxyethira*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID number, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak te radi li se o unikatnom haplotipu ili više primjeraka dijeli isti haplotip. Životni stadij se odnosi na A= odrasli, L=ličinka te oznake spola M=mužjak, F=ženka



Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	stadij	spol	Država	Lokacija	mt DNA haplotip
<i>Oxyethira flavicornis</i> Pictet, 1834 (od rednog br. 1- 14)							
1	<b>TOFLA_1</b>	CROAA050-18			Hrvatska	rijeka Sava, Drenje Brdovečko	1
2	<b>THYD_1</b>	CROAA095-18			Hrvatska	rijeka Lika, Bilaj	2
3	<b>TOFLA_2</b>	CROTR062-19			Hrvatska	rijeka Lika, Bilaj	3
4	<b>TOXY_1</b>	CROTR103-19			Hrvatska	rijeka Dobra, Trošmarija	4
5	GBOL11602	GBEPT2119-15	A		Njemačka	Laacher See	5
6	TRD-TRI141	TRDTR064-14	A	M	Norveška	Nidelva ved Tiller bru	6
7	GBOL11616	GBEPT2133-15	A		Njemačka	Laacher See	7
8	BCZSMAQU00936	FBAQU1221-12		M	Njemačka	Starnberger See, Ostufer 1 km NNW Pischetsried (Gd)	8
9	KY225389	GBMH17998-19					9
10	TRD-TRI138	TRDTR037-14	A	M	Norveška	Jonsvatnet ved Flaten	10
11	TRD-TRI140	TRDTR039-14	A	F	Norveška	Jonsvatnet ved Flaten	
12	TRD-TRI139	TRDTR038-14	A	M	Norveška	Jonsvatnet ved Flaten	
13	JSIk-20090054	TRIFI159-10	A	M	Finska	Osmankajaervi	12
14	JSIk-20090055	TRIFI160-10	A	M	Finska	Partakko	13
<i>Oxyethira falcata</i> Morton, 1893 (od rednog br. 15- 28)							
15	<b>THYP_4</b>	CROTR166-19	A		Hrvatska	Konavle, Pridvorje	14
16	<b>THYP_5</b>	CROTR167-19	A		Hrvatska	Konavle, Pridvorje	15
17	<b>THYP_7</b>	CROTR169-19	A		Hrvatska	Konavle, Pridvorje	16
18	08HMCAD-133	HMTRI133-08	A	M	Italija	SW of Vivaro	17
19	JSIk-20090009	TRIFI114-10	A	M	Finska	Askasiok puro	18
20	JSIk-20090020	TRIFI125-10	A	M	Finska	Vaeinoenlammen puro	19
21	JSIk-20100002	TRIFI206-10	A	M	Finska	Tomuttirova 2	20
22	JSIk-20100005	TRIFI209-10	A	M	Finska	Veitikielas	
23	JSIk-20100013	TRIFI213-10	A	M	Finska	Skalvejavri	
24	JSIk-20100014	TRIFI214-10	A	M	Finska	Skalvejavri	
25	MGon-2010-0002	TRIFI344-11	A	M	Španjolska	River Cuerpo del Hombre	
26	MGon-2010-0001	TRIFI345-11	A	M	Španjolska	River Cuerpo del Hombre	23
27	JSIk-20110193	TRIFI636-11	A	F	Finska	Ruostesuo (M2)	24
28	JSIk-20110194	TRIFI637-11	A	F	Finska	Ruostesuo (M2)	25
<i>Oxyethira simplex</i> Ris, 1897 (redni br. 29)							
29	10HMCAD-147	HMKKT147-10	S		Crna Gora	Podgorica	26
<i>Oxyethira tristella</i> Klapalek, 1895 (redni br. 30)							
30	JSIk-20100021	TRIFI348-11	A	M	Finska	Kisko	27
<i>Glossosoma conformis</i> Neboiss, 1963 (redni br. 31)							
31	<b>TGCON_2</b>	CROTR210-19	A	F	Hrvatska	Bliznec, Medvednica	28

PRILOG 9. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Micropterna*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak. Zadebljanim slovima označene su DNA sekvence dobivene ovim radom. Životni stadij se odnosi na A= odrasli, I=imago, L=ličinka te oznake spola M=mužjak, F=ženka.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Stadij	Spol	Država nalaza	Lokacija nalaza	mt DNA haplotip
<i>Micropterna wagneri</i> Malicky, 1971 (od rednog br. 1- 3)							
1.	<b>TMWAG_1</b>	NIPM001-17	A	M	Hrvatska	Potok u selu Palje, Konavle	1
2.	<b>TPWAG_1</b>	NIPM002-17	A	F	Hrvatska	Potok u selu Palje, Konavle	2

PRILOG 9. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Micropterna*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak. Zadebljanim slovima označene su DNA sekvence dobivene ovim radom. Životni stadij se odnosi na A= odrasli, I=imago, L=ličinka te oznake spola M=mužjak, F=ženka.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Stadij	Spol	Država nalaza	Lokacija nalaza	mt DNA haplotip
3.	<b>TRIC_13</b>	CROTR108-19	A	M	Albanija	Spelaeacelicokave, jama, Bridash massif, 1840 m.n.m, Albanija	3
<i>M. nycterobia</i> McLachlan, 1875 (od rednog br. 4- 25)							
4.	<b>TMIC_1</b>	NIPM003-17	A	M	Hrvatska	Rijeka Zrmanja - izvor	4
5.	<b>TMNYC_1</b>	NIPM006-17	A	M	Hrvatska	Rijeka Krupa - Manastir	5
6.	<b>TMNYC_2</b>	CROTR016-19	A	M	Hrvatska	izvor na Keljevo brdo - Korenica	
7.	<b>TRIC_10</b>	CROTR174-19	A	F	Hrvatska	Velika Čulimova pećina, špilja - Kijevo	
8.	<b>TLIM_3</b>	CROTR055-19	A	F	Hrvatska	jama pod sv. Jurom, Biokovo	6
9.	<b>TMSEQ_4</b>	CROTR226-19	A	M	Hrvatska	Mokre noge, jama, Biokovo	7
10.	07HMCAD-0172	HMCAD172-08	A	M	Grčka	Passhoehé NE Karies	8
11.	07HMCAD-0174	HMCAD174-08	A	M	Grčka	Passhoehé NE Karies	
12.	07HMCAD-0175	HMCAD175-08	A	M	Grčka	Passhoehé NE Karies Lakonien Parnon, Peloponnese	
13.	08HMCAD-107	HMTRI107-08	A	M	Grčka	Konitsa, N. Grčka, Near Albania	
14.	07HMCAD-0173	HMCAD173-08	A	M	Grčka	Passhoehé NE Karies Lakonien Parnon, Peloponnese	9
15.	07HMCAD-0171	HMCAD171-08	A	M	Grčka	Passhoehé NE Karies	10
16.	10HMCAD-113	HMKKT113-10	A		Grčka	Kastorias	11
17.	<b>TMWAG_2</b>	CROTR055-19	A	M	Hrvatska	Jama pod sv. Jurom, jama, Biokovo	12
18.	BIOUG17228-F01	GMGML065-14	?	?	Njemačka	Landskrone, Kreis Ahrweiler	13
19.	10HMCAD-572	HMKKT572-10	A		Austrija	St. Konrad - Hausern	14
20.	10HMCAD-268	HMKKT268-10	A		Austrija	St. Konrad - Hausern	15
21.	HMCAD0111-107	HMKKT924-11	A	M	Italija	Valle della Rovina, Entraque, Piedmont	16
22.	BCZSMAQU00923	FBAQU1208-12	L	?	Njemačka	Einsiedelbach oberhalb Einmuendung Eichelbach, am, Bavaria	17
23.	10ESCAD-010	ESCAD010-10	A	F	Španjolska	Rio Guadalquivir, Nacimiento	18
24.	10ESCAD-006	ESCAD006-10	A	M	Španjolska	Rio Guadalquivir, Nacimiento	19
25.	HMCAD0810-13	HMKKT640-10	A	M	Portugal	Tras-os-Montes, Milhao	20
<i>M. testacea</i> (Gmelin, 1789) (od rednog br. 26- 38)							
26.	<b>TMTES_2</b>	CROTR026-19			Hrvatska	Rijeka Lika	21
27.	12HMCAD-052	BHMKK233-12	A	M	Italija	Abruzzi, Rieti, Mte Terminillo	22
28.	HMCAD0111-108	HMKKT925-11	A	M	Italija	Valle della Rovina, Entraque, Cuneo, Piedmont	23
29.	<b>TLIM_5</b>	CROTR098-19			Hrvatska	Nova velika, jama, Biokovo	24
30.	10ESCAD-011	ESCAD011-10	A	M	Španjolska	Nacimiento, Rio Guadalquivir, Jaen, Andalusia	
31.	10ESCAD-012	ESCAD012-10	A	M	Španjolska	Nacimiento, Rio Guadalquivir, Jaen, Andalusia	
32.	10ESCAD-013	ESCAD013-10	A	M	Španjolska	Nacimiento, Rio Guadalquivir, Jaen, Andalusia	
33.	10ESCAD-015	ESCAD015-10	A	M	Španjolska	Nacimiento, Rio Segura, Jaen, Andalusia	
34.	<b>TMTES_3</b>	CROTR028-19	A		Hrvatska	Rijeka Gacka, izvor, Mejervo vrilo	25
35.	<b>TMTES_1</b>	NIPM008-17	A	F	Hrvatska	Rijeka Lika, Bilaj, Gospić	
36.	10HMCAD-077	HMKKT077-10	A	?	Republika	Sumava, Horni Plana Olsina village	

PRILOG 9. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Micropterna*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak. Zadebljanim slovima označene su DNA sekvence dobivene ovim radom. Životni stadij se odnosi na A= odrasli, I=imago, L=ličinka te oznake spola M=mužjak, F=ženka.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Stadij	Spol	Država nalaza	Lokacija nalaza	mt DNA haplotip
					Češka	(Langebrucke)	
37.	10ESCAD-014	ESCAD014-10	A	M	Španjolska	Nacimiento, Rio Segura, Jaen, Andalusia	
38.	12HMCAD-143	KJTRI133-13	A	M	Švicarska	Chalet de la Dole, Cheserex	26
<i>M. lateralis</i> (Stephens, 1837) (od rednog br. 39- 47)							
39.	<b>TMLAT_1</b>	CROTR002-19	A	M	Hrvatska	Rijeka Lika, izvor	27
40.	R358-4 Micro. lat.	AILG044-10	L		Rumunjska	Nera: Babii	28
41.	GBEPT617-14	KX294231	L	?	Njemačka	Lower Saxony, Schierpkebach	29
42.	10HMCAD-063	HMKKT063-10	A		Češka	Sumava, Churanov Wetterstation	30
43.	10HMCAD-084	HMKKT084-10	A		Češka	Sumava, Horni Plana Olsina village (Langebrucke)	31
44.	<b>TLIM_2</b>	NIPM005-17	A	M	Hrvatska	Dretulja- Plaški	
45.	10HMCAD-035	HMKKT035-10	A	?	Hrvatska	Exit from motorway, Ogulin	
46.	10HMCAD-306	HMKKT306-10	A	?	Hrvatska	Exit from motorway, Ogulin	
47.	10HMCAD-307	HMKKT307-10	A	?	Hrvatska	Exit from motorway, Ogulin	32
48.	GBOL03947	GBEPT618-14	L	?	Njemačka	Schierpkebach, Lower Saxony	
49.	MI_BBT130724_01	GST398-15	A	?	Njemačka	Breitenbach (first order stream), Hesse	
50.	12HMCAD-77	KJTRI072-13	A	M	Austrija	Lunz Pressireith,	
<i>M. sequax</i> McLachlan, 1875 (od rednog br. 48- 77)							
51.	<b>TMLAT_2</b>		A	M	Hrvatska	Potok Peratovica	33
52.	ID-07901	MGCAD378-08	A	M	Mongolija	Gantigiin Cold Spring 26.5 km NW of Moron	34
53.	HMCAD1211-164	BHMKK164-12	A	?	Republika Češka	Maly Polec, Churanov, Sumava	35
54.	<b>TMSEQ_3</b>	CROTR239-19	A	M	Hrvatska	jezero Kozjak, prstanište - NP Plitvička jezera	
55.	<b>TMSEQ_2</b>	CROTR051-19	A	M	Hrvatska	jezero Kozjak, most - NP Plitvička jezera	36
56.	<b>TMSEQ_1</b>	NIPM007-17	A	M	Hrvatska	Potok Marušić, izvor, Roč, Istra	37
57.	07HMCAD-0122	HMCAD122-08	A	F	Grčka	Passhoeh NE Karies	
58.	07HMCAD-0124	HMCAD124-08	A	M	Grčka	Passhoeh NE Karies	38
59.	07HMCAD-0125	HMCAD125-08	A	M	Grčka	Passhoeh NE Karies	
60.	<b>TRIC_12</b>		A	M	Crna Gora		39
61.	08HMCAD-109	HMTRI109-08	A	F	Grčka	N. Grčka, Near Albania, Konitsa	40
62.	<b>TMIC_2</b>	NIPM004-17	A	F	Hrvatska	Rijeka Una, izvor	41
63.	07HMCAD-0123	HMCAD123-08	A	F	Grčka	Passhoeh NE Karies, Lakonien Parmon, Peloponnese	42
64.	10HMCAD-112	HMKKT112-10	A		Grčka	Kozani	43
65.	07HMCAD-0126	HMCAD126-08	A	M	Grčka	Passhoeh NE Karies	44
66.	07HMCAD-0127	HMCAD127-08	A	M	Grčka	Passhoeh NE Karies	45
67.	JSIk-2011F091	TRIFI631-11	M	A	Finska	Rapola	46
68.	ARin-2012F261	TRIFI796-12		L	Finska	Myllykylae	47
69.	ARin-2013F004	TRIFI929-13		L	Finska	Isolaehde	48

PRILOG 9. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Micropterna*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak. Zadebljanim slovima označene su DNA sekvence dobivene ovim radom. Životni stadij se odnosi na A= odrasli, I=imago, L=ličinka te oznake spola M=mužjak, F=ženka.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Stadij	Spol	Država nalaza	Lokacija nalaza	mt DNA haplotip
70.	NIVA_TER_13	BARCO013-14			Norveška		49
71.	ARin-2012F346	TRIFI876-13	A		Finska	Melko pumppaamo	50
72.	FinnCAD-008	FINNT018-12	A	M	Norveška	Gargia Fjellstue	51
73.	HMCAD0111-97	HMKKT914-11	A	M	San Marino	Rio delta Fratta	52
74.	09HMCAD-0123	HMCAD488-09	A		Austrija	Tirol	53
75.	TRD-TRI68	ODTRI086-14	A	M	Norveška	Skei vestre nordre	54
76.	TRD-TRI69	ODTRI087-14	A	M	Norveška	Skei vestre nordre	55
<i>M. fissa</i> McLachlan, 1875 (od rednog br. 78- 80)							
77.	<b>TMIC_3m</b>	CROTR045-19	A	M	Hrvatska	Mokre noge, jama, Biokovo	56
78.	<b>TMIC_3f</b>	CROTR050-19	A	F	Hrvatska	<b>Mokre noge, jama, Biokovo</b>	57
79.	12HMCAD-049	BHMKK197-12	A	?	Italija	NW, MP Maremma, Grosseto, Orbetello	58
<i>Halesus tessellatus</i> (Rambur, 1842) (redni br. 81)							
80.	<b>THDIG_1</b>	NIPM009-17	A	M	Hrvatska	Rijek Zrmanja - izvor	59

PRILOG 10. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Rhyacophila* te *Anabolia furcata* kao vanjska vrsta. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom. Životni stadij se odnosi na A= odrasli, I=imago, L=ličinka te oznake spola M=mužjak, F=ženka.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Spol	Država nalaza	Lokacija nalaza	mtDNA haplotip
<i>Rhyacophila aurata</i> Brauer, 1857 (od rednog br. 1-21)						
1	<b>TRAUR_1</b>	CROTR144-19	M	Hrvatska	rijeka Kupa (gornji tok) - Brod na Kupi	1
2	<b>TRAUR_2</b>	CROTR145-19	M	Hrvatska	rijeka Mrežnica - Belavići	2
3	FBCAD072-10	BC ZSM AQU 00642	M	Njemačka	Arzbach a.d. Strassenquerung zwischen Sudelfeld un	3
4	HMKKT139-10	10HMCAD-139		Italija	Friuli (PN), Vivaro: Magredi	4
5	HMKKT145-10	10HMCAD-145		Austrija	Zell/Ybbs (Waidhofen)	5
6	HMKKT198-10	10HMCAD-198		Austrija	Ybbs bei Lunz	
7	HMKKT413-10	10HMCAD-413		Austrija	Zell/Ybbs (Waidhofen)	
8	HMKKT484-10	10HMCAD-484		Austrija	Ybbs bei Lunz	
9	HMKKT486-10	10HMCAD-486		Austrija	Ybbs bei Lunz	
10	HMKKT607-10	10HMCAD-607		Austrija	Ybbs bei Lunz	
11	HMKKT941-11	HMCAD0111-124	M	Austrija	St. Konrad-Hausern	
12	HMTRI348-09	08HMCAD-348	M	Austrija	Zell/Ybbs	
13	HMKKT410-10	10HMCAD-410		Italija	Friuli (PN), Vivaro: Magredi	6

PRILOG 10. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Rhyacophila* te *Anobolia furcata* kao vanjska vrsta. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom. Životni stadij se odnosi na A= odrasli, I=imago, L=ličinka te oznake spola M=mužjak, F=ženka.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Spol	Država nalaza	Lokacija nalaza	mtDNA haplotipi
14	HMKKT412-10	10HMCAD-412		Austrija	Zell/Ybbs (Waidhofen)	7
15	HMKKT483-10	10HMCAD-483		Austrija	Ybbs bei Lunz	8
16	HMKKT485-10	10HMCAD-485		Austrija	Ybbs bei Lunz	9
17	HMTRI141-08	08HMCAD-141	M	Italija	SW of Vivaro, Friuli-Venezia Giulia	10
18	HMTRI270-09	08HMCAD-270	F	Austrija	Zell/Ybbs	
19	HMTRI140-08	08HMCAD-140	M	Italija	SW of Vivaro, Friuli-Venezia Giulia	11
20	HMTRI142-08	08HMCAD-142	M	Italija	SW of Vivaro, Friuli-Venezia Giulia	12
21	HMTRI143-08	08HMCAD-143	F	Italija	SW of Vivaro, Friuli-Venezia Giulia	
<i>Rhyacophila balcanica</i> Radovanović, 1953 (od rednog br. 22-23)						
22	<b>TRBAL_1</b>	-	M	Hrvatska	rijeka Una (izvor)	13
23	08HMCAD-031	HMTRI031-08	M	Hrvatska	izvor rijeke Rike, Krka, Knin	14
<i>Rhyacophila cabrankensis</i> Malicky, Previšić & Kučinić, 2007 (redni br. 24)						
24	<b>TRCAB_1</b>	CROAA089-18	M	Hrvatska	rijeka Čabranka (izvor) - Čabar	15
<i>Rhyacophila dorsalis</i> Curtis, 1834 (od rednog br. 25-71)						
25	GBMIN91774-17	KY225465		Velika Britanija		16
26	HMKKT199-10	10HMCAD-199		Austrija	Solling Schlarassingbach bei Gaisberg	17
27						18
28	HMTRI156-08	08HMCAD-156	M	Italija	SW of Vivaro	19
29	KJTRI130-13	12HMCAD-140	M	San Marino	Ca Chiavella	20
30	KKCAD502-09	ESCAD909-22		Španjolska	Ter Sant Pau	21
31	KKCAD595-09	GGCAD909-51		Faeroe Islands	Dalsa, Vidareidi, Vidoy	22
32	KKCAD596-09	GGCAD909-52	M	Faeroe Islands	Dalsa, Vidareidi, Vidoy	
33	BHMKK219-12	12HMCAD-035	M	Italija	Maira torrent	23
34	BHMKK246-12	12HMCAD-061	M	Francuska	Mercantour, Saorge S.	
35	HMTRI450-09	HM09Rh4a		Italija	Casalgrasso CN	
36	HMKKT775-10	HMCAD0810-148	M	Italija	Sangone torrent	
37	INTAP087-17	PE104	M	Austrija	Vorarlberg, Stutz	24
38	INTAP088-17	PE105	M	Austrija	Vorarlberg, Stutz	25
39	<b>TRDOR_1</b>	CROTR257-19	M	Hrvatska	Sutla - Zelenjak, Kumrovec	26
40	<b>TRDOR_2</b>	CROAA060-18	M	Hrvatska	izvor Čabranke	27
41	<b>TRDOP_4</b>	CROTR262-19	M	Hrvatska	Labudovac, Plitvička jezera	
42	<b>TRHY_2</b>	CROTR263-19	F	Hrvatska	rijeka Mrežnica - Belavići	
43	<b>TRDOP_1</b>	CROAA033-18	M	Hrvatska	rijeka Kupa, Brod na Kupi	
44	<b>TRDOP_2</b>	CROAA034-18	M	Hrvatska	rijeka Kupa, Pribanji	
45	FBAQU067-09	BC ZSM AQU 00067	M	Njemačka	Donau bei Fkm 2469,8 rechts, UW Staustufe	

PRILOG 10. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Rhyacophila* te *Anobolia furcata* kao vanjska vrsta. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom. Životni stadij se odnosi na A= odrasli, I=imago, L=ličinka te oznake spola M=mužjak, F=ženka.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Spol	Država nalaza	Lokacija nalaza	mtDNA haplotipi
					Bergheim	
46	FBCAD073-10	BC ZSM AQU 00643	M	Njemačka	Alz an Wehranlage mit Ausleitung bei Bruecke der B	
47	GBEPT1469-14	GBOL08671		Njemačka	Breitmaehderbach, Erkheim	
48	HMKKT088-10	10HMCAD-088		Češka	Modrava, Zidovsky les Judenwald, Kameralni slat	
49	HMKKT200-10	10HMCAD-200		Austrija	Turrach, Mayerbruggersiedlung	
50	HMKKT492-10	10HMCAD-492		Austrija	Turrach, Mayerbruggersiedlung	
51	HMTRI154-08	08HMCAD-154	M	Italija	SW of Vivaro	
52	HMTRI157-08	08HMCAD-157	M	Italija	SW of Vivaro	
53	HMTRI253-09	08HMCAD-253	M	Italija	Friuli, Vivaro	
54	HMTRI265-09	08HMCAD-265	M	Austrija	Zell/Ybbs	
55	HMTRI338-09	08HMCAD-338	M	Austrija	Zell/Ybbs	
56	HMTRI339-09	08HMCAD-339	M	Austrija	Zell/Ybbs	
57	HMTRI340-09	08HMCAD-340	M	Austrija	Zell/Ybbs	
58	TFLAN089-11	UA-SG-TRICH-A14		Belgija	Voeren	
59	TFLAN090-11	UA-SG-TRICH-A15		Belgija	Voeren	
60	HMKKT146-10	10HMCAD-146		Austrija	Zell/Ybbs (Waidhofen)	
61	HMKKT487-10	10HMCAD-487		Austrija	Solling Schlarassingbach bei Gaisberg	
62	HMKKT488-10	10HMCAD-488		Austrija	Solling Schlarassingbach bei Gaisberg	
63	HMKKT490-10	10HMCAD-490		Austrija	Solling Schlarassingbach bei Gaisberg	
64	HMKKT491-10	10HMCAD-491		Austrija	Turrach, Mayerbruggersiedlung	
65	HMKKT969-11	HMCAD0111-152	M	Austrija	St. Konrad-Hausern	
66	HMTRI155-08	08HMCAD-155	M	Italija	SW of Vivaro	
67	HMTRI158-08	08HMCAD-158	F	Italija	SW of Vivaro	
68	<b>TRDP_2</b>	CROTR258-19	M	Hrvatska	rijeka Sunja - Kukuruzari	28
69	<b>TRDP_3</b>	CROTR259-19	M	Hrvatska	jezero Labudovac - Plitvička jazera	29
70	<b>TRDP_1</b>	CROTR259-19	M	Hrvatska	jezero Gavanovac, Plitvička jezera	30
71	<b>TRDP_4</b>	CROTR261-19	M	Hrvatska	Labudovac, Plitvička jazera	31
<i>Rhyacophila fasciata</i> Hagen, 1859 (od rednog br. 72-129)						
72	<b>TRFAS_1</b>	CROTR264-19		Hrvatska	potok Zeleni Vir (izvor)	32
73	<b>TRFAS_2</b>	CROTR116-19		Hrvatska	Mrežnica, Belavići	33
74	BARCO030-14	NIVA_TER_30		Norveška		34
75	BARCO082-14	NIVA_TER_82		Norveška		35
76	GST460-15	Rf_BBU130618		Njemačka	Breitenbach (first order)	

PRILOG 10. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Rhyacophila* te *Anobolia furcata* kao vanjska vrsta. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom. Životni stadij se odnosi na A= odrasli, I=imago, L=ličinka te oznake spola M=mužjak, F=ženka.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Spol	Država nalaza	Lokacija nalaza	mDNA haplotipi
		_03			stream)	
77	TFLAN017-11	UA-SG-TRICH-A16		Belgija	Beersel	
78	BARCO017-14	NIVA_TER_17		Norveška		
79	GST457-15	Rf_BBT130828_01		Njemačka	Breitenbach (first order stream)	
80	GST459-15	Rf_BBU130618_01		Njemačka	Breitenbach (first order stream)	
81	GST461-15	Rf_BBU130618_04		Njemačka	Breitenbach (first order stream)	
82	HMKKT086-10	10HMCAD-086		Češka	Modrava, Zidovsky les Judenwald, Kameralni slat	
83	TFLAN018-11	UA-SG-TRICH-A17		Belgija	Beersel	
84	BGMAY355-11	CCDB-09363-B11		Bugarska	Iskar River, upstream Dolni Pasarel village, Rapid	36
85	BGMAY356-11	CCDB-09363-B12		Bugarska	Iskar River, upstream Dolni Pasarel village, Rapid	37
86	FBAQU371-09	BC ZSM AQU 00371	F	Njemačka	Moorgraben/Bach, Ostrand Wendlinger Filze/Nordteil	38
87	FBCAD074-10	BC ZSM AQU 00644	F	Njemačka	Westlicher Quellarm des Morsbachs mit Quellteich,	39
88	FINNT042-12	FinnCAD-058	F	Norveška	Gargiaveien, Gargiaelvsnev ved Storeng, Malaise trap 2	40
89	GBA21694-14	KM225308				41
90	GBEPT337-14	GBOL03367		Njemačka	Ueberacker	42
91	GBEPT496-14	GBOL03607		Njemačka	Breitenbach (First-order stream)	43
92	GBEPT499-14	GBOL03610		Njemačka	Breitenbach (First-order stream)	
93	GBEPT500-14	GBOL03611		Njemačka	Breitenbach (First-order stream)	
94	GBEPT497-14	GBOL03608		Njemačka	Breitenbach (First-order stream)	44
95	GBEPT498-14	GBOL03609		Njemačka	Breitenbach (First-order stream)	45
96	GBMH18001-19	KY225476				46
97	GBMH18611-19	MF347395				47
98	GBMH18612-19	MF347396				48
99	GBMH18613-19	MF347397				49
100	GBMIN18619-13	JQ239825				50
101	GST454-15	Rf_BBT130616_01		Njemačka	Breitenbach (first order stream)	51

PRILOG 10. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Rhyacophila* te *Anabolia furcata* kao vanjska vrsta. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom. Životni stadij se odnosi na A= odrasli, I=imago, L=ličinka te oznake spola M=mužjak, F=ženka.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Spol	Država nalaza	Lokacija nalaza	mDNA haplotipi
102	GST455-15	Rf_BBT130720_01		Njemačka	Breitenbach (first order stream)	52
103	GST456-15	Rf_BBT130728_01		Njemačka	Breitenbach (first order stream)	53
104	GST458-15	Rf_BBT130828_02		Njemačka	Breitenbach (first order stream)	54
105	HMKKT197-10	10HMCAD-197		Austrija	Solling Schlarassingbach bei Gaisberg	55
106	HMKKT480-10	10HMCAD-480		Austrija	Solling Schlarassingbach bei Gaisberg	
107	HMKKT287-10	10HMCAD-287		Austrija	St. Konrad - Hausern	
108	HMKKT479-10	10HMCAD-479		Austrija	Solling Schlarassingbach bei Gaisberg	
109	HMKKT595-10	10HMCAD-595		Austrija	St. Konrad - Hausern	
110	HMKKT606-10	10HMCAD-606		Austrija	Solling Schlarassingbach bei Gaisberg	
111	HMKKT481-10	10HMCAD-481		Austrija	Solling Schlarassingbach bei Gaisberg	
112	HMKKT594-10	10HMCAD-594		Austrija	St. Konrad - Hausern	
113	HMKKT597-10	10HMCAD-597		Austrija	St. Konrad - Hausern	57
114	HMKKT598-10	10HMCAD-598		Austrija	St. Konrad - Hausern	58
115	HMKKT482-10	10HMCAD-482		Austrija	Solling Schlarassingbach bei Gaisberg	59
116	HMKKT825-11	HMCAD0111-8	M	Francuska	St. Pancrasse	60
117	KKUMN469-10	09MNKK0461	M	Španjolska	Rio Vernal, Valle de Anso, N of Anso at picnic area, rt. HU-V-2024	61
118	OFTRI336-10	10OFCAD-002		Francuska	Garonne nr.Benque, 6km NW. Bagneres de Luchon	62
119	TFLAN070-11	UA-SG-TRICH-A01		Belgija	Voeren	63
120	TFLAN072-11	UA-SG-TRICH-A06		Belgija	Voeren	
121	TFLAN074-11	UA-SG-TRICH-A08		Belgija	Voeren	
122	TMIX037-15	fw46		Njemačka	North Rhine-Westphalia	65
123	TRDTR059-14	TRD-TRI122	M	Norveška		66
124	TRDTR026-14	TRD-TRI123	F	Norveška		
125	TRIFI254-10	JSIk-20100068		Finska	Vaarainjoki	67
126	TRIFI852-13	ARin-2012F322		Finska	Purkuputaanoja	
127	TRIFI255-10	JSIk-20100072		Finska	Vaarainjoki	68
128	TRIFI701-12	ARin-2011F161		Finska	Sorsaoja	69
129	TRIFI853-13	ARin-2012F323		Estonia	Moeldrioja	70
<i>Rhyacophila hirticornis</i> McLachlan, 1879 (od rednog br. 130-139)						
130	<b>TRHIT_1</b>	CROTR265-19	M	Hrvatska	potok Šumi, Izvor	71
131	FBCAD076-10	BC ZSM AQU 00646	F	Njemačka	Quellablauf Hubertusbrunnen beim	72



PRILOG 10. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Rhyacophila* te *Anabolia furcata* kao vanjska vrsta. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom. Životni stadij se odnosi na A= odrasli, I=imago, L=ličinka te oznake spola M=mužjak, F=ženka.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Spol	Država nalaza	Lokacija nalaza	mtDNA haplotipi
					Breirtenau-/Geiss	
132	HMKKT195-10	10HMCAD-195		Austrija	Solling Schlarassingbach bei Gaisberg	73
133	HMKKT478-10	10HMCAD-478		Austrija	Solling Schlarassingbach bei Gaisberg	
134	HMKKT782-10	HMCAD0810-155	M	Austrija	Dunkelsteiner Wald Halterbach, 1.6 km SE. Paltmul	
135	INTAP075-17	PE087		Austrija	Riedbach	74
136	INTAP080-17	PE096	M	Austrija	Stutz	75
137	INTAP102-17	PE121	M	Austrija	Stutz	76
138	KJTRI190-13	12HMCAD-200	M	Austrija	Purgstall	77
139	FBCAD076-10	BC ZSM AQU 00646	F	Njemačka	Quellablauf Hubertusbrunnen beim Breirtenau-/Geiss	78
<i>Rhyacophila laevis</i> Pictet, 1834 (od rednog br. 140-147)						
140	FBAQU373-09	BC ZSM AQU 00373		Njemačka	Quellbach vom Kogelkopf-Nordhang, 3,2 km NNO Marie	79
141	HMKKT278-10	10HMCAD-278		Austrija	St. Konrad - Hausern	80
142	HMKKT772-10	HMCAD0810-145	M	Grčka	Vironia. Ramna site	81
143	HMKKT780-10	HMCAD0810-153	M	Austrija	Seebergsattel	82
144	HMTRI018-08	08HMCAD-018	M	Austrija	Mayrgraben, Lunz am See	83
145	KJTRI065-13	12HMCAD-70	M	Austrija	Lunz, Gstetten	84
146	HMTRI030-08	08HMCAD-030	M	Rumunjska	Apuseni Mountains, Rimetea	85
147	KKUMN452-10	09MNKK0444	M	Španjolska	Barranco del Asieso, ca. 2 km E rt A-136, N of Biescas	86
<i>Rhyacophila loxias</i> Schmid, 1970 (od rednog br. 148-152)						
148	<b>TRLOX_2</b>	-	M	Hrvatska	rijeka Veličanka - uzvodno od Požege	87
149	<b>TRARM_1</b>	-	M	Makedonija	NP Mavrovo, Sastav reke, Makedonija	88
150	HMTRI204-09	08HMCAD-204		Grčka	Serron, Vironia Ramna	89
151	HMTRI300-09	08HMCAD-300	M	Grčka	Serron	90
152	HMTRI397-09	HM09RH40		Grčka	Serron	91
<i>Rhyacophila nubila</i> Zetterstedt, 1840 (od rednog br. 153-187)						
153	<b>TRDP_1</b>	CROTR267-19	M	Hrvatska	rijeka Petrinjčica - Prnjavor Čuntićki	92
154	<b>TRAUR_3</b>	CROTR198-19	M	Hrvatska	rijeka Petrinjčica - Prnjavor Čuntićki	93
155	BARCO059-14	NIVA_TER_59		Norveška		94
156	FBAQU1455-13	GBOL00299	F	Njemačka	`Apfelstaedt` bei Ingersleben	
157	NWCAD010-08	08NWCAD-010	F	Norveška	NWCAD010-08	
158	NWCAD049-10	09TECAD-015		Norveška	Skanglehaugen	

PRILOG 10. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Rhyacophila* te *Anabolia furcata* kao vanjska vrsta. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom. Životni stadij se odnosi na A= odrasli, I=imago, L=ličinka te oznake spola M=mužjak, F=ženka.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Spol	Država nalaza	Lokacija nalaza	mtDNA haplotipi
159	FBAQU1409-13	BCZSM_EPH_0174	M	Njemačka	Emse bei Winterstein	95
160	FBAQU1451-13	GBOL00295	M	Njemačka	`Apfelstaedt` bei Ingersleben	96
161	FBAQU1453-13	GBOL00297	M	Njemačka	`Apfelstaedt` bei Ingersleben	
162	GBEPT1453-14	GBOL08655		Njemačka	Lohbach	
163	FBAQU1454-13	GBOL00298	M	Njemačka	`Apfelstaedt` bei Ingersleben	
164	FBCAD078-10	BC ZSM AQU 00648	M	Njemačka	Altmuehl oberhalb Bruecke Groesdorf, 1,2 km N Kipf	
165	GBEPT1457-14	GBOL08659		Njemačka	Vils bei Trasslberg	
166	GBEPT1646-14	GBOL-08753		Njemačka	Otterbach Pegelhaus, Kart. Lfh	97
167	HMKKT028-10	10HMCAD-028		Rumunjska	Geb. Monti Mare Sud	98
168	IQCAD065-09	IQCAD-0065		Irak	Ahmed Awa	99
169	IQCAD066-09	IQCAD-0066		Irak	Ahmed Awa	100
170	IQCAD068-09	IQCAD-0068		Irak	Chami Razan Area	101
171	IQCAD067-09	IQCAD-0067		Irak	Ahmed Awa	102
172	KJTRI314-13	VARCAD-29	M	Rusija	Mostovskii District, 4 km upstream at the Bystryi	103
173	KKNEA036-09	ESCAD909-78	M	SAD	Logan Creek	104
174	NWCAD038-10	09TECAD-004		Norveška	Skanglehaugen (P2)	105
175	NWCAD065-10	09TECAD-031		Norveška	Skanglehaugen (P1)	106
176	ODTRI019-14	TRD-TRI1	M	Norveška		107
177	ODTRI020-14	TRD-TRI2	M	Norveška		108
178	TRDTR076-14	TRD-TRI153	M	Norveška		109
179	TRDTR138-15	TRD-TRI215	F	Norveška	near Tiller bridge	110
180	TRDTR139-15	TRD-TRI216	M	Norveška		111
181	TRDTR140-15	TRD-TRI217	M	Norveška	near Kvaal	112
182	TRIFI1016-13	JSIk-2013F091	M	Finska	Tyrynvirta	113
183	TRIFI1017-13	JSIk-2013F092	M	Finska	Tyrynvirta	114
184	TRIFI1018-13	JSIk-2013F093	F	Finska	Tyrynvirta	115
185	TRIFI256-10	JSIk-20100075	M	Finska	Konttakoengaes	116
186	TRIFI732-12	ARin-2011F192		Finska	Oulanka, Merenoja	117
187	TRIFI848-13	ARin-2012F318		Finska	Ylaekoengaes, Borssejokisuu	118
<i>Rhyacophila obliterata</i> McLachlan, 1863 (od rednog br. 188-198)						
188	<b>TROBL_1</b>		M	Kosovo	Guriikuq, Kosovo	119
189	<b>TROBL_2</b>		M	Hrvatska	Kutjevačka rijeka, gornji tok	120
190	FINNT061-12	FinnCAD-060	M	Norveška	Kautokeinoelva at Maze	121
191	TRIFI703-12	ARin-2011F163	L	Finska	Oulanka, Merenoja	
192	TRIFI965-13	ARin-2013F040	L	Finska	Caarajaeervih	
193	GBEPT794-14	GBOL04408	M	Njemačka	Friedrichchroda, Kuhles Tal, Schilfwasser	122
194	GBEPT795-14	GBOL04409		Njemačka	Friedrichchroda, Kuhles Tal, Schilfwasser	123
195	GBEPT796-14	GBOL04410	M	Njemačka	Friedrichchroda, Kuhles Tal, Schilfwasser	124

PRILOG 10. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Rhyacophila* te *Anobolia furcata* kao vanjska vrsta. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom. Životni stadij se odnosi na A= odrasli, I=imago, L=ličinka te oznake spola M=mužjak, F=ženka.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Spol	Država nalaza	Lokacija nalaza	mtDNA haplotipi
196	GBEPT797-14	GBOL04411	M	Njemačka	Friedrichchroda, Kuhles Tal, Schilfwasser	
197	GBEPT798-14	GBOL04412	M	Njemačka	Friedrichchroda, Kuhles Tal, Schilfwasser	
198	HMTRI415-09	HM09Rh43	A	Grčka	Ramna site	125
<i>Rhyacophila palmeni</i> McLachlan, 1879 (od rednog br. 199-206)						
199	<b>TRPAL_1</b>	-	M	Grčka	Trigona (MKZ), Village, Kardista	126
200	<b>TRPAL_3</b>	-	M	Kosovo	KM 10 Manastir: Pejë Municipality	127
201	<b>TRPAL_4</b>	-	M	Grčka	Fthiotida, Iti-Geb, Pervoli	128
202	<b>TRPAL_5</b>	-	M	Grčka	rijeka Aroanios, Achaias (Achaea), Krinofita	129
203	<b>TRPAL_6</b>	-	M	Kosovo	Pika 2	130
204	<b>TRPAL_7</b>	CROAA030-18	M	Hrvatska	rijeka Kupa, Pribanjci	131
205	08HMCAD-183	HMTRI183-08	M	Grčka	Kastori, Peloponnese	132
206	12HMCAD-99	KJTRI094-13	M	Grčka	Metsovo	133
<i>Rhyacophila polonica</i> McLachlan, 1879 (od rednog br. 207-210)						
207	<b>TRHY_1</b>		M	Hrvatska	Zeleni vir	134
208	<b>TRPOL_1a</b>		M	Kosovo	Mushtisht	135
209	08HMCAD-033	HMTRI033-08	M	Austrija	Mayrgraben, Lunz am See	136
210	HMKKT856-11	HMCAD0111-39	M	Austrija	Praemorsa-Bach hinter Presslireith	
<i>Rhyacophila praemorsa</i> McLachlan, 1879 (od rednog br. 211-214)						
211	<b>TRPRAE_1</b>	CROTR058-19	M	Hrvatska	potok Jankovac (gornji tok) - zapadno od Orahovca, Papuk	137
212	FBAQU280-09	BC ZSM AQU 00280	L	Njemačka	Quellen Hohlbauernwaldbach 1,5 km SW Oberbreitenau	138
213	GBMIX1702-15	GBOL12187	A	Njemačka	Oberallgaeu: Baeche oh Grasgehren-A zw. Balderschw	139
214	INTAP243-17	PE288	M	Austrija		140
<i>Rhyacophila schmidinarica</i> Urbanič, Krušnik & Malicky, 2000 (od rednog br. 215-218)						
215	HMTRI029-08	08HMCAD-029	M	Hrvatska	Bužim, Velebit	141
216	<b>TRSCH_1</b>	CROTR007-19	M	Hrvatska	izvor na Bjelolasici	142
217	<b>TRSCH_3</b>	CROTR070-19	M	Hrvatska	izvor Napojište – Plitvički Ljeskovac	143
218	<b>TRSCH_4</b>	CROTR084-19	F	Hrvatska	izvor Napojište – Plitvički Ljeskovac	
<i>Rhyacophila simulatrix</i> McLachlan, 1879 (od rednog br. 219-228)						
219	BHMKK208-12	12HMCAD-042	M	Austrija	Rohrwiesteich	144
220	HMKKT281-10	10HMCAD-281	A	Austrija	St. Konrad - Hausern	
221	HMKKT585-10	10HMCAD-585		Austrija	St. Konrad - Hausern	
222	HMKKT586-10	10HMCAD-586		Austrija	St. Konrad - Hausern	
223	HMKKT587-10	10HMCAD-587		Austrija	St. Konrad - Hausern	
224	HMKKT155-10	10HMCAD-155	A	Francuska	Mercantour NP, Saorge E	145

PRILOG 10. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Rhyacophila* te *Anabolia furcata* kao vanjska vrsta. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom. Životni stadij se odnosi na A= odrasli, I=imago, L=ličinka te oznake spola M=mužjak, F=ženka.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Spol	Država nalaza	Lokacija nalaza	mtDNA haplotipi
225	HMKKT726-10	HMCAD0810-99	M	Italija	Squaneto, Valla torrent	
226	HMKKT584-10	10HMCAD-584		Austrija	St. Konrad - Hausern	146
227	HMKKT922-11	HMCAD0111-105	M	Francuska	Maurioun N	147
228	HMKKT964-11	HMCAD0111-147	M	Austrija	St. Konrad-Hausern	148
<i>Rhyacophila torrentium</i> FJ Pictet, 1834 (od rednog br. 229-246)						
229	<b>TRTOR_1</b>	-	F	Hrvatska	potok Zeleni Vir (izvor)	149
230	BHMKK159-12	HMCAD1211-159	M	Austrija	Teischnitzbach bei	150
231	HMKKT474-10	10HMCAD-474		Austrija	Ybbs bei Lunz	
232	INTAP156-17	PE183	M	Austrija	Brandnertal, vic. Brand, Schattenlaganterhuette	
233	HMKKT193-10	10HMCAD-193	A	Austrija	Ybbs bei Lunz	151
234	HMKKT473-10	10HMCAD-473		Austrija	Ybbs bei Lunz	152
235	HMKKT475-10	10HMCAD-475		Austrija	Ybbs bei Lunz	153
236	HMTRI173-08	08HMCAD-173	M	Austrija		
237	HMTRI174-08	08HMCAD-174	M	Austrija		
238	HMKKT951-11	HMCAD0111-134	M	Austrija	St. Konrad-Hausern	154
239	HMTRI172-08	08HMCAD-172	F	Austrija		155
240	HMTRI195-09	08HMCAD-195	M	Austrija		156
241	HMTRI196-09	08HMCAD-196	F	Austrija		
242	INTAP115-17	PE137	M	Austrija	Stutz	157
243	INTAP116-17	PE138	M	Austrija	Stutz	158
244	INTAP117-17	PE139	F	Austrija	Stutz	
245	INTAP157-17	PE184	M	Austrija	Brandnertal, vic. Brand, Schattenlaganterhuette	
246	KJTRI037-13	12HMCAD-42	M	Austrija	Hollersbachtal	159
<i>Rhyacophila tristis</i> Pictet, 1834 (od rednog br. 247-263)						
247	<b>TRTRI_1</b>		M	Kosovo	Pika 6, Deçan	160
248	<b>TRTRI_2</b>		M	Kosovo	Kujavqe	161
249	<b>TRTRI_4</b>	CROAA098-18	M	Hrvatska	izvor potoka vodov, Konavle	162
250	<b>TRTRI_5</b>	CROTR011-19	F	Hrvatska	izvor potoka vodov, Konavle	163
251	BHMKK229-12	12HMCAD-020	M	Austrija	Lunz am See	
252	FBAQU1394-13	BCZSM_EPH_0159	A	Njemačka	oh Woebbel, Napte	
253	FBAQU375-09	BC ZSM AQU 00375	I	Njemačka	Isar Fkm 252, oberhalb Kruener Wehr, zwischen Stau	
254	TRTRI_6	CROTR018-19	M	Hrvatska	Škodinovac, izvor, Papuk	164
255	TRTRI_7	CROTR031-19	M	Hrvatska	zvor potoka u selu Vodovođa, Konavle	165
256	TRTRI_8	CROTR250-19	M	Hrvatska	Labudovac, Plitvička jazera	166
257	TRTRI_9	CROTR236-19	F	Hrvatska	Labudovac, Plitvička jazera	167
258	FBAQU130-09	BC ZSM AQU	M	Njemačka	Mitternacher Ohe N	168

PRILOG 10. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Rhyacophila* te *Anabolia furcata* kao vanjska vrsta. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom. Životni stadij se odnosi na A= odrasli, I=imago, L=ličinka te oznake spola M=mužjak, F=ženka.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Spol	Država nalaza	Lokacija nalaza	mtDNA haplotipi
		00130			Zehrmuehle (Gde. Schoenberg),	
259	FBCAD081-10	BC ZSM AQU 00651	M	Njemačka	Arzbach a.d. Strassenquerung zwischen Sudelfeld un	169
260	HMKKT843-11	HMCAD0111-26	M	Portugal	Covao da Ponte	170
261	HMTRI463-09	HM09Rh22a	A	Italija	Borro Stream	171
262	KKCAD194-07	KKCAD-0229		Italija	ex-Molino Tais, Lavesio Stream	172
263	KKUMN428-10	09MNKK0420	M	Španjolska	Rio Toxa, Fervenza do Toxa	173
<i>Rhyacophila vulgaris</i> Pictet, 1834 (od rednog br. 264-281)						
264	<b>TRVUL_1</b>	CROAA031-18	M	Hrvatska	Kupčina, gornji tok, Vrabac	174
265	FBAQU377-09	BC ZSM AQU 00377	M	Njemačka	Isar Fkm 247, Hoehe Wallgau	175
266	GBMIX1704-15	GBOL12189	A	Njemačka	Oberallgaeu: Baeche oh Grasgehren-A zw. Balderschw	176
267	HMKKT054-10	10HMCAD-054	A	Austrija	Rankweil: Weitried/Landesforstgarten	177
268	HMKKT331-10	10HMCAD-331		Austrija	Rankweil: Weitried/Landesforstgarten	
269	HMKKT332-10	10HMCAD-332		Austrija	Rankweil: Weitried/Landesforstgarten	
270	HMTRI448-09	HM09Rh23a	A	Italija	Re, Prato Nuovo stream	
271	HMKKT128-10	10HMCAD-128	A	Austrija	Klostertal, Nenzigast Alpe	178
272	HMKKT194-10	10HMCAD-194	A	Austrija	Seeausrinn bei Lunz	179
273	HMKKT329-10	10HMCAD-329		Austrija	Rankweil: Weitried/Landesforstgarten	180
274	HMKKT330-10	10HMCAD-330		Austrija	Rankweil: Weitried/Landesforstgarten	181
275	HMKKT476-10	10HMCAD-476		Austrija	Seeausrinn bei Lunz	182
276	HMKKT477-10	10HMCAD-477		Austrija	Seeausrinn bei Lunz	183
277	KKCAD218-07	KKCAD-0232		Austrija	Kogelsbach	
278	HMKKT938-11	HMCAD0111-121	M	Austrija	St. Konrad-Hausern	184
279	INTAP065-17	PE077	F	Austrija	Sonntag	
280	INTAP217-17	PE256	M	Austrija	Flexenpass	185
281	KJTRI121-13	12HMCAD-131	M	Austrija	Salzburg City, Thumegger Bezirk	186
<i>Anabolia furcata</i> Brauer, 1857 (redni br. 282)						
282	<b>TAFUR_1</b>	CROAA002-18	M	Hrvatska	potok Jankovac (gornji tok) - zapadno od Orahovca, Papuk	187

PRILOG 11. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Chaetopteryx* te *Eclysopteryx keroveci* kao vanjske vrste. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, morfološka identifikacija, država i točna lokacija iz koje je prikupljen. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Država nalaza	Lokacija nalaza	mtDNA localities
<i>C. fusca</i> Brauer, 1857 (od rednog br. 1-2)					
1.	<b>TCFUS_1</b>	CROAA082-18	Hrvatska	izvor Zagorske Mrežnice	1
2.	08HMCAD-333	HMTRI333-09	Austrija	Lower Austrija, Rohrwiesteich	2
<i>C. villosa</i> (Fabricius, 1798) (redni br. 3)					
3.	07HMCAD-0134	HMCAD134-08	Austrija	Lower Austrija, Sarleinsbac	3
<i>C. bosniaca</i> Marinkovic-Gospodnetić, 1959 (od rednog br. 4-5)					
4.	<b>TAAPF_2</b>	CROAA081-18	Hrvatska	Cetina, izvor Glavaš	4
5.	CBxED0104		Bosna i Hercegovina	Livno, rijeka Sturba	5
<i>C. gessneri</i> McLachlan, 1876 (redni br. 6)					
6.	07HMCAD- 0177	HMCAD177-08	Italija	Umbria, Perugia, Fium Nera above Visso	6
<i>C. moretii</i> Lodovici and Valle 2007 (rednog br. 7)					
7.	HM09Cm7	HMTRI421-09	Italija	Belluno, Val Canzoi, Veneto	7
<i>Chaetopterygopsis maclachlani</i> (Stein,1874) (redni br. 8)					
8.	08HMCAD-331	HMTRI331-09	Austrija	Lower Austrija, Rohrwiesteich	8
<i>C. rugulosa</i> Kolenati, 1848 (od rednog br. 9-27)					
9.	<b>TCSCH_2</b>	CROAA077-18	Hrvatska	izvor Škodinovac, Bastaji	9
10.	<b>TCSCH_1</b>	CROAA003-18	Hrvatska	Jankovac (izvor) - zapadno od Orahovca, Papuk	10
11.	<b>TCPSU_1f</b>	CROTR110-19	Hrvatska	Šumetlica, izvor, Psunj	
12.	<b>TCPSU_2m</b>	CROTR111-19	Hrvatska	Šumetlica, izvor, Psunj	
13.	CRRDG0103	HGCAD036-10	Slovenija	Pohorje Mts., vodotok kod Lukanja	11
14.	CRREE0102	HGCAD068-10	Hrvatska	Medvecina izvor Mrzлак kod Sljemena	
15.	CRREE0301	HGCAD069-10	Hrvatska	Medvecina potok Bliznac Podsljeme	
16.	CRREE0201	HGCAD071-10	Hrvatska	Kraljičin Zdenac, izvor	
17.	CRRDG0101	HGCAD074-10	Slovenija	Planina Pohorje., vodotok kod Lukanj	
18.	CRREE0101	HGCAD035-10	Hrvatska	Medvecina izvor Mrzлак kod Sljemena	12
19.	CRRDG0102	HGCAD073-10	Hrvatska	Planina Pohorje., vodotok kod Lukanj	13
20.	CRRDJ0602	HGCAD063-10	Austrija	potok u regiji Ausserneuwald, Unterber	14
21.	CRRDJ0601	HGCAD065-10	Austrija	potok u regiji Ausserneuwald, Unterber	
22.	CRRDJ0502	HGCAD067-10	Austrija	potok u regiji Ausserneuwald, Unterber	
23.	CRRDJ0501	HGCAD032-10	Austrija	potok u regiji Ausserneuwald, Unterber	
24.	CRRDJ0603	HGCAD033-10	Austrija	Pflenzengreith, gornji tok vodotoka Schöcklbac	
25.	CRRDJ0302	HGCAD072-10	Austrija	Sommeralm, potok Mixnitzbach	15
26.	CRREF0101	HGCAD070-10	Hrvatska	Žumberak, Ribička kuca, Slapnica	16
27.	<b>TAGA_3</b>	CROAA122-18	Hrvatska	Potok Vrklješće, Samoborsko gorje	17
<i>C. noricum</i> Malicky, 1976 (od rednog br. 28-36)					
28.	CRNDI0204	HGCAD078-10	Austrija	Saualpe, springs of the Klippitzbach stream near Klippitztörl	18
29.	CRNDI0203	HGCAD039-10	Austrija	Saualpe, izvor potoka Klippitzbach,	19
30.	CRNDI0301		Austrija	Klippitztörl	
31.	CRNDI0202		Austrija	Saualpe,potok Klieningbach, Klienin	
32.	CRNDI0201		Austrija	Saualpe,potok Klieningbach, Klienin	

PRILOG 11. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Chaetopteryx* te *Eclysopteryx keroveci* kao vanjske vrste. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, morfološka identifikacija, država i točna lokacija iz koje je prikupljen. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Država nalaza	Lokacija nalaza	mt DNA bazilacija
33.	CRNDI0304	HGCAD076-10	Austrija	Saulape, izvor potoka Löllingbach,	20
34.	CRNDI0303	HGCAD041-10	Austrija	Stranac	
35.	CRNDI0302		Austrija	Saulape, potok Klieningbach, Klienin	
36.	CRNDI0101		Austrija	Saulape, potok Klieningbach, Klienin	
<i>C. mecsekensis</i> Nógrádi, 1986 (od rednog br. 37-40)					
37.	CRMKB0401		Mađarska	Planina MecsekVár valley, Pásztor izvor	22
38.	CRMKB0301	HGCAD027-10	Mađarska	Planina MecsekVár valley, Pásztor izvor	23
39.	CRMKB0101	HGCAD060-10			
40.	CRMKB0201		Mađarska	Planina MecsekVár valley, Pásztor izvor	24
<i>C. clara</i> McLachlan, 1876 (od rednog br. 41-45)					
41.	CCxEA0105	HGCAD011-10	Slovenija	Ljubljana, Mostec park, Przanec strea	25
42.	CCxEA0104	HGCAD015-10	Slovenija	Ljubljana, Mostec park, Przanec strea	
43.	CCxEA0103	HGCAD012-10	Slovenija	Ljubljana, Mostec park, Przanec strea	
44.	CCxEA0102	HGCAD013-10	Slovenija	Ljubljana, Mostec park, Przanec strea	
45.	CCxEA0101	HGCAD014-10	Slovenija	Ljubljana, Mostec park, Przanec strea	
<i>C. goricensis</i> Malicky and Krušnik, 1986 (od rednog br. 46-50)					
46.	CGREG0304	HGCAD003-10	Slovenija	izvor kod mjesta Čekovnik	26
47.	CGREG0303	HGCAD004-10	Slovenija	izvor kod mjesta Čekovnik	
48.	CGREG0302	HGCAD005-10	Slovenija	izvor kod mjesta Čekovnik	
49.	CGREG0301	HGCAD007-10	Slovenija	izvor kod mjesta Čekovnik	
50.	CGREG0105	HGCAD010-10	Slovenija	izvor potoka Lokavscek, Predmeja	27
<i>C. irinae</i> Krušnik & Malicky, 1986 (od rednog br. 51-55)					
51.	CIxEI0105	HGCAD018-10	Slovenija	potok Susica, Misliče	28
52.	CIxEI0103	HGCAD021-10	Slovenija	potok Susica, Misliče	
53.	CIxEI0102	HGCAD019-10	Slovenija	potok Susica, Misliče	
54.	CIxEI0104	HGCAD020-10	Slovenija	potok Susica, Misliče	29
55.	CIxEI0101	HGCAD017-10	Slovenija	potok Susica, Misliče	
<i>C. bucaru</i> Kučinić, Szivák & Delić, 2013 (od rednog br. 56-63)					
56.	CxxEC0503	HGCAD085-10	Hrvatska	potok kod mjesta Pecki	30
57.	CxxEC0502	HGCAD086-10	Hrvatska	potok kod mjesta Pecki	
58.	CxxEC0501	HGCAD087-10	Hrvatska	potok kod mjesta Pecki	
59.	CxxEC0701	HGCAD046-10	Hrvatska	Mečencani, izvor Pašina vrela	
60.	CxxEC0601	HGCAD042-10	Hrvatska	Gora, izvor kod Gor	31
61.	CxxEC0202	HGCAD043-10	Hrvatska	Hrvatski Čuntic, Marica tocak, izvor	32
62.			Hrvatska	potok Križ (izvor) - Petrinja	33
63.	CxxEC0401	HGCAD045-10	Hrvatska	Šuplji Kamen, Slabinja, izvor	34
<i>C. papukensis</i> Oláh & Szivák, 2012 (od rednog br. 64-67)					
64.	CRMEB0104		Hrvatska	potok Jankovac Slatinski Drenovac, Papuk	35
65.	det. <i>C. rugulosa mecsekensis</i>	HGCAD056-10	Hrvatska	potok Jankovac Slatinski Drenovac, Papuk	
66.	CRMEB0102		Hrvatska	potok Jankovac Slatinski Drenovac, Papuk	36
67.	det. <i>C. rugulosa mecsekensis</i>	HGCAD055-10	Hrvatska	potok Jankovac Slatinski Drenovac, Papuk	37
<i>C. schmidi</i> Botosaneanu, 1957 (od rednog br. 68-78)					

PRILOG 11. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Chaetopteryx* te *Eclysopteryx keroveci* kao vanjske vrste. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, morfološka identifikacija, država i točna lokacija iz koje je prikupljen. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Država nalaza	Lokacija nalaza	mtDNA localities
68.	CRSGE0101		Srbija	Planina Derdapotok u dolini sjeverno od Golubinij	38
69.	CRSGE0102		Srbija	Derdap Mts., stream valley N of Golubinij	
70.	det. <i>C. rugulosa mecsekensis</i>	HGCAD054-10	Hrvatska	potok Jankovac, izvor Slatinski Drenovac, Papuk	
71.	det. <i>C. rugulosa mecsekensis</i>	HGCAD029-10	Hrvatska	potok Jankovac, izvor Slatinski Drenovac, Papuk	
72.	CRMEB0103	det. <i>C. papukensis</i>	Hrvatska	potok Jankovac Slatinski Drenovac, Papuk	
73.	CRMEB0101	det. <i>C. papukensis</i>	Hrvatska	potok Jankovac Slatinski Drenovac, Papuk	
74.	CMREI0105	HGCAD022-10	Hrvatska	Kompanj	39
75.	CRSGE0201		Srbija	Planina Derdap, Donji Milankovac, izvor Grgeci	40
76.	CRSJF0101		Rumunjska	Izvor u dolini Cerna kod Tatu	41
77.	CRSGE0203		Srbija	Derdap Mts., Donji Milankovac, Grgeci , izvor	42
<i>C. aproka</i> Olah, 2011 (od rednog br. 79-80)					
78.	CAXJC0101		Rumunjska	Ignis Mts., springs near Desesti-Statiunea Izvoar	43
79.	CAXJC0103		Rumunjska	Ignis Mts., springs near Desesti-Statiunea Izvor	44
<i>C. major</i> McLachlan, 1876 (od rednog br. 81-85)					
80.	<b>TCMAJ 1</b>	CROAA103-18	Hrvatska	potok Šumetlice, izvor - Pšunj	45
81.	CMJDJ0101	HGCAD092-10	Austrija	Aspang Markt, Hottmannsgraben valle	46
82.	CMJKB0101	HGCAD091-10	Mađarska	Planina Mecsek,, Vár valley, izvor Pásztor	47
83.	CMJKB0102		Mađarska	Planina Mecsek,, Vár valley, izvor Pásztor	
84.	CMJKB0104		Mađarska	Planina Mecsek,, Vár valley, izvor Pásztor	48
<i>C. gonospina</i> Marinković-Gospodnetić, 1966 (od rednog br. 86-87)					
85.	MKGo_01	HGCAD053-10	Hrvatska	Petrinja, izvor Križ	49
86.	MKGo_02	HGCAD052-10	Hrvatska	Petrinja, izvor Križ	50
<i>Eclysopteryx keroveci</i> Previšić, Graf & Vitecek, 2014 (od rednog br. 88-89)					
87.	<b>TED_1</b>	CROAA059-18	Hrvatska	Rijeka Veličanka	51
88.	<b>TEKER 1</b>	CROTR041-19	Hrvatska	rijeka Dretulja - Plaški	52

PRILOG 12. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Potamophylax* te *Limnephilus sparsus* kao vanjske vrste. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom.



Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Država nalaza	Lokacija nalaza	mDNA haplotip
<i>Potamophylax cingulatus</i> Stephens, 1837 (od rednog br. 1-61)					
1	TPCIN_1	CROAA087-18	Hrvatska	potok Šumi (izvor) – Ivančica	1
2	BHMKK238-12	12HMCAD-092	Češka		2
3	FBAQU1402-13	BCZSM_EPH_0167	Njemačka	e Hummersen, Lonaubach	3
4	FBAQU1512-13	GBOL00356	Njemačka	Strassenbruecke B 68, Aabach	4
5	GBA28643-15	KM411441	Norveška		5
6	GBA28644-15	KM411442	Velika Britanija		6
7	GBA28645-15	KM411443	Velika Britanija		7
8	GBA28646-15	KM411444	Velika Britanija		8
9	GBA28647-15	KM411445	Velika Britanija		9
10	GBA28648-15	KM411446	Velika Britanija		10
11	GBA28649-15	KM411447	Velika Britanija		11
12	GBA28650-15	KM411448	Island		12
13	GBA28651-15	KM411449	Norveška		13
14	GBEPT1410-14	GBOL08612	Njemačka	Wirlbach bei Umelsdorf, Kart. Lhf	14
15	GBEPT583-14	GBOL03912	Njemačka	Holzminde	
16	GBEPT584-14	GBOL03913	Njemačka	Holzminde	15
17	GST416-15	Pci_BBT130828_01	Njemačka	Emergence Trap T2	16
18	HMKKT091-10	10HMCAD-091	Češka	Sumava, Churanov Wetterstation	17
19	HMKKT093-10	10HMCAD-093	Češka	Sumava, Zelezna Ruda Svaroh / Zwercheck	18
20	GBEPT287-14	GBOL03317	Njemačka	Nationalpark Bayerischer Wald	
21	HMKKT246-10	10HMCAD-246	Češka	Sumava, Jezerni slat (det <i>P. cingulatus alpinus</i> )	
22	HMKKT362-10	10HMCAD-362	Češka	Sumava, Churanov Wetterstation	
23	HMKKT094-10	10HMCAD-094	Austrija	Tirol, 5 km N Otz Fuchswiesen Filz	19
24	HMKKT150-10	10HMCAD-150	Austrija	Salzburg, Koppl, Guggenthal	20
25	HMKKT151-10	10HMCAD-151	Austrija	Carinthia, NP Hohe Tauern Dosedental bei Mallnitz, P	21
26	KKCAD394-07	KKCAD-0422			
27	HMKKT167-10	10HMCAD-167	Francuska	Mercantour NP, Saorge E	22
28	HMKKT168-10	10HMCAD-168	Francuska	Mercantour NP, Saorge E	
29	HMKKT422-10	10HMCAD-422	Francuska	Mercantour NP, Saorge E	
30	HMKKT363-10	10HMCAD-363	Češka	Sumava, Churanov Wetterstation	23
31	HMKKT421-10	10HMCAD-421	Francuska	Mercantour NP, Saorge E	24
32	HMKKT921-11	HMCAD0111-104	Italija	Valle della Rovina	25
33	HMKKT930-11	HMCAD0111-113	Austrija	St. Konrad-Hausern	26
34	HMKKT931-11	HMCAD0111-114	Austrija	St. Konrad-Hausern	27
35	INTAP095-17	PE114	Austrija	Stutz	28
36	INTAP113-17	PE135	Austrija	Stutz	29
37	INTAP114-17	PE136	Austrija	Stutz	30
38	INTAP128-17	PE151	Austrija	Naturfreundehaus	31
39	KKCAD494-09	ESCAD909-14	Španjolska		32
40	KKCAD580-09	GGCAD909-36	Island		33
41	KKCAD581-09	GGCAD909-37	Island		
42	KKCAD587-09	GGCAD909-43	Island		

PRILOG 12. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Potamophylax* te *Limnephilus sparsus* kao vanjske vrste. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Država nalaza	Lokacija nalaza	mtDNA haplotip
43	KKNEA041-09	ESCAD909-83	Sjedinjene Američke Države	Reynolds Creek, Logan Pass	34
44	TRDTR073-14	TRD-TRI150	Norveška	TRDTR073-14	
45	TRDTR146-15	TRD-TRI223	Norveška	near Bjoerkly	
46	ZMBN011-15	Kurs2015-AF5	Norveška	ZMBN011-15	
47	KKCAD563-09	GGCAD909-19	Norveška	Natlandsfjellet	
48	NWCAD006-08	08NWCAD-006	Norveška	NWCAD006-08 (det <i>P. latipennis</i> )	
49	KKNEA043-09	ESCAD909-85	Sjedinjene Američke Države	Inlet to N. Twin Lake	35
50	NWCAD054-10	09TECAD-020	Norveška	Skanglehaugen	36
51	NWCAD055-10	09TECAD-021	Norveška	Skanglehaugen	37
52	TFLAN073-11	UA-SG-TRICH-A20	Belgija		38
53	TRDTR147-15	TRD-TRI224	Norveška	near Tiller bridge	39
54	TRDTR148-15	TRD-TRI225	Norveška	near Tiller bridge	40
55	TRDTR149-15	TRD-TRI226	Norveška	near Tiller bridge	41
56	TRDTR150-15	TRD-TRI227	Norveška		42
57	TRDTR151-15	TRD-TRI228	Norveška		
58	TRIFI566-11	JSIk-2011F026	Finska	Melkonieni	43
59	TRIFI567-11	JSIk-2011F027	Finska	Melkonieni	44
60	TRIFI912-13	ARin-2012F382	Finska	Vaerrioe	45
61	KKCAD586-09	GGCAD909-42	Island		46
<i>Potamophylax cingulatus alpinus</i> Tobias, 1994 (od rednog br. 62-67)					
62	FBAQU1228-12	BCZSMAQU00943	Njemačka	Sport Scheck Allwetteranlage, Krafraum (weitere I	47
63	FBCAD066-10	BC ZSM AQU 00636	Njemačka	Jachen bei Muehle, 1 km SSW Jachenau	48
64	FBCAD067-10	BC ZSM AQU 00637	Njemačka	Arberbach zum Teufelsbach, oh Arberhuetten, 3,4 km	49
65	GBEPT1412-14	GBOL08614	Njemačka	Wenzenbach Zuechmuehl, Kart. Lfh	50
66	GBEPT1715-14	GBOL09297	Njemačka	Wenzenbach Zuechmuehl	51
67	GBEPT1743-14	GBOL09325	Njemačka	Geltnach	52
<i>Potamophylax latipennis</i> (Curtis, 1834) (od rednog br. 68-97)					
68	<b>TPLAT_1</b>	CROAA027-18	Hrvatska	rijeka Una, Srb	53
69	<b>TPLAT_2</b>	CROAA028-18	Hrvatska	rijeka Dretulja (izvor)	54
70	<b>TPLAT_3</b>	CROAA078-18	Hrvatska	rijeka Zrmanja (izvor)	55
71	<b>TPLAT_4</b>	CROAA079-18	Hrvatska	rijeka Riječina (izvor)	56
72	<b>TPROT_2</b>	CROTR207-19	Hrvatska	rijeka Gacka, izvor Tonkovića vrilo	57
73	BHMKK185-12	HMCAD1211-185	Austrija		58
74	INTAP094-17	PE113	Austrija	Stutz	
75	BHMKK188-12	HMCAD1211-188	Austrija	Zollner See NW	59
76	BHMKK226-12	12HMCAD-091	Češka		60
77	CZCAD064-10	CZCAD0810-64	Španjolska	Vega de la Penouta-Sta Maria del Puerto Somiedo	61

PRILOG 12. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Potamophylax* te *Limnephilus sparsus* kao vanjske vrste. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Država nalaza	Lokacija nalaza	mtDNA haplotip
78	GBA21660-14	KC559564			62
79	GBEPT1408-14	GBOL08610	Njemačka	Schwarze Laaber, Kart. Lfh	63
80	GBEPT1409-14	GBOL08611	Njemačka	Elsas	64
81	GBMH17808-19	KY225399			65
82	GBMIN91741-17	KY225398	Velika Britanija		66
83	HMCAD264-08	07HMCAD-0264	Njemačka	Truppenubungsplatz Wildflecken	67
84	HMKKT092-10	10HMCAD-092	Češka	Sumava, Churanov Wetterstation	68
85	HMKKT364-10	10HMCAD-364	Češka	Sumava, Churanov Wetterstation	69
86	KKUMN271-10	09MNKK0271	Švedska		70
87	TRDTR145-15	TRD-TRI222	Norveška	near Tiller bridge	
88	NWCAD034-08	08NWCAD-034	Norveška	det. <i>P. cingulatus</i>	71
89	NWCAD050-10	09TECAD-016	Norveška	Skanglehaugen (P5)	72
90	TRDTR074-14	TRD-TRI151	Norveška		73
91	TRDTR075-14	TRD-TRI152	Norveška		
92	TRDTR144-15	TRD-TRI221	Norveška	near Tiller bridge	74
93	TRIFI1058-14	ARin-2014F040	Finska	Rommaeno	75
94	TRIFI1059-14	ARin-2014F041	Finska	Rommaeno	76
95	TRIFI647-12	JSik-2011F107	Finska		77
96	TRIFI728-12	ARin-2011F188	Finska	Peerajoki	78
97	TRIFI862-13	ARin-2012F332	Finska	Katlankoski	79
<i>Potamophylax luctuosus</i> Piller & Mitterpacher, 1783 (od rednog br. 98-127)					
98	<b>TPLUC_1</b>	CROTR282-19	Hrvatska	Kupa - Pribanjci	80
99	<b>TPLUC_2</b>	CROAA113-18	Hrvatska	Kutjevačka rijeka, gornji tok	81
100	AILG035-10	R364-3 Pot. luc.	Rumunjska	Barzava: Secu	82
101	AILG036-10	R367-4 Pot. luc.	Rumunjska	Nera: Poneasca	83
102	AILG037-10	R357-6 Pot. luc.	Rumunjska	Nera: Babii	
103	BHMKK212-12	12HMCAD-074	Rumunjska	Judetul Alba	84
104	GST417-15	Plu_BBT130525_01	Njemačka	Emergence Trap T2	85
105	GST418-15	Plu_BBU130616_01	Njemačka	Emergence Trap Lower Reach	
106	GST424-15	Plu_BBT130511_01	Njemačka	Emergence Trap T2	
107	GST425-15	Plu_BBT130511_02	Njemačka	Emergence Trap T2	
108	GST426-15	Plu_BBT130521_01	Njemačka	Emergence Trap T2	
109	GST428-15	Plu_BBT130521_03	Njemačka	Emergence Trap T2	
110	GST429-15	Plu_BBT130523_02	Njemačka	Emergence Trap T2	
111	GST431-15	Plu_BBT130530_01	Njemačka	Emergence Trap T2	
112	GST432-15	Plu_BBT130530_02	Njemačka	Emergence Trap T2	
113	GST436-15	Plu_BBT130622_01	Njemačka	Emergence Trap T2	
114	GST420-15	Plu_BBT130513_02	Njemačka	Emergence Trap T2	86
115	GST419-15	Plu_BBT130513_01	Njemačka	Emergence Trap T2	87
116	GST433-15	Plu_BBT130530_03	Njemačka	Emergence Trap T2	
117	GST434-15	Plu_BBT130604_01	Njemačka	Emergence Trap T2	
118	GST435-15	Plu_BBT130606_01	Njemačka	Emergence Trap T2	
119	GST437-15	Plu_BBT130704_01	Njemačka	Emergence Trap T2	
120	GST421-15	Plu_BBT130513_03	Njemačka	Emergence Trap T2	

PRILOG 12. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Potamophylax* te *Limnephilus sparsus* kao vanjske vrste. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Država nalaza	Lokacija nalaza	mtDNA haplotip
121	GST422-15	Plu_BBT130513_04	Njemačka	Emergence Trap T2	
122	GST423-15	Plu_BBT130513_05	Njemačka	Emergence Trap T2	
123	GST427-15	Plu_BBT130521_02	Njemačka	Emergence Trap T2	
124	GST430-15	Plu_BBT130525_02	Njemačka	Emergence Trap T2	
125	HMKKT253-10	10HMCAD-253	Austrija	Solling Schlarassingbach bei Gaisberg	88
126	HMKKT734-10	HMCAD0810-107	Austrija	Dunkelsteiner Wald Halterbach, 1 km S. Paltmul	89
127	HMKKT944-11	HMCAD0111-127	Austrija	St. Konrad-Hausern	90
<i>Potamophylax nigricornis</i> (Pictet, 1834) (od rednog br. 128-155)					
128	<b>TPNIG_1</b>	CROTR022-19	Hrvatska	rijeka Kutjevačka, gornji tok	91
129	BHMKK198-12	12HMCAD-057	Austrija	Tirol NP Hohe Tauern, E. Lucknerhaus	92
130	BHMKK223-12	12HMCAD-067	Austrija	St. Konrad-Hausern	93
131	DRCAD573-10	DRCAD0810-159	Austrija	Dunkelsteiner Wald Halterbach, 1 km N. Paltmul	94
132	GBEPT336-14	GBOL03366	Njemačka	Nationalpark Bayerischer Wald	
133	HMKKT080-10	10HMCAD-080	Češka	Modrava, Zidovsky les Judenwald, Kameralni slat	
134	KJTRI203-13	HMCAD13-13	Češka	Kameralni slat	
135	FBAQU1387-13	BCZSM_EPH_0152	Njemačka	Treuenbrietzen, Wendewasser	95
136	HMKKT067-10	10HMCAD-067	Češka	Sumava, Churanov Wetterstation	96
137	HMTRI167-08	08HMCAD-167	Austrija		97
138	JPCAD484-08	08JPCAD-484	Norveška	Lomtjern (bog)	98
139	TRIFI1132-15	ARin-2014F117	Finska	Toskaljaervi	
140	JPCAD485-08	08JPCAD-485	Norveška	Lomtjern (bog)	99
141	TRIFI1131-15	ARin-2014F116	Finska	Vongoivanraeystaes	
142	TRIFI1133-15	ARin-2014F118	Finska	Vongoivanraeystaes	
143	TRIFI1134-15	ARin-2014F119	Finska	Tyyroja, Palustriella L.	
144	TRIFI1136-15	ARin-2014F121	Finska	Pisavaara, Sorvanulkki	
145	TRIFI1206-15	JSIk-2014F191	Finska	Tyyroja	
146	TRIFI1207-15	JSIk-2014F192	Finska	Tyyroja	
147	TRIFI1135-15	ARin-2014F120	Finska	Pisavaara, Sorvanulkki	100
148	TRIFI1137-15	ARin-2014F122	Finska	Huttuoja	101
149	TRIFI1138-15	ARin-2014F123	Finska	Huttuoja	102
150	TRIFI257-10	JSIk-20100077	Estonia	Hinni Kanjon	103
151	TRIFI258-10	JSIk-20100078	Estonia	Hinni Kanjon	104
152	TRIFI635-11	JSIk-2011F095	Finska	Uopajanpuro	105
153	TRIFI797-12	ARin-2012F262	Finska	Ailigas	106
154	TRIFI798-12	ARin-2012F263	Finska	Kiljavan lahteikkoe	107
155	TFLAN015-11	UA-SG-TRICH-B54	Belgija		108
<i>Potamophylax pallidulus</i> (Klapalek, 1899) (od rednog br. 156-159)					
156	<b>TPPAL_1</b>	CROAA114-18	Hrvatska	Rakov potok, Medvednica	109
157	<b>TPPAL_4</b>	CROTR136-19	Hrvatska	izvor Napojište	110
158	<b>TPPAL_5</b>	CROTR171-19	Hrvatska	izvor Crne rijeke, Plitvice	111
159	HM09Ppa8	HMTRI418-09	Grčka	Biabies site, Serron	112

PRILOG 12. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Potamophylax* te *Limnephilus sparsus* kao vanjske vrste. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Država nalaza	Lokacija nalaza	mDNA haplotip
<i>Potamophylax rotundipennis</i> (Brauer, 1857) (od rednog br. 160-169)					
160	<b>TPROT_1</b>	CROAA016-18	Hrvatska	rijeka Sava - Drenje Brdovečko	113
161	<b>TPROT_3</b>	CROTR186-19	Hrvatska	jezero Gavanovac - NP Plitvička jezera	114
162	FBAQU1229-12	BCZSMAQU00944	Njemačka	Einsiedelbach oberhalb Einmuendung Eichelbach, am	115
163	HMKKT234-10	10HMCAD-234	Austrija	Solling Schlarassingbach bei Gaisberg	116
164	HMKKT541-10	10HMCAD-541	Austrija	Solling Schlarassingbach bei Gaisberg	
165	HMKKT859-11	HMCAD0111-42	Njemačka	Bad Koenigshofen im Grabfeld	117
166	TRIFI458-11	JSIk-20110110	Finska	Myllyjoki	118
167	TRIFI800-12	ARin-2012F265	Finska	Kaijanpuro	119
168	TRIFI859-13	ARin-2012F329	Finska	Katlankoski	120
169	TRIFI863-13	ARin-2012F333	Finska	Katlankoski	
<i>Limnephilus sparsus</i> Curtis, 1834 (redni br. 170)					
170	<b>TLSPA_2</b>	CROTR025-19	Hrvatska	Dretulja, Plaški	121

PRILOG 13. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Triaenodes* te *Mystacides longicornis* kao vanjske vrste. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom. Kratice označavaju F= ženka, M= mužjak, A=adult i L=ličinka

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Spol	Stadij	Država nalaza	Lokacija nalaza	mDNA haplotip
<i>Triaenodes ochreellus lefkas</i> (od rednog br. 1-2)							
1.	<b>TTOCL_1</b>	NIPTR001-17	M	A	Hrvatska	Rijeka Neretva Opuzen	1
2.	<b>TTOCL_2</b>	CROTR015-19	F	A	Hrvatska	rijeka Mislina (donji tok) - Mlinište	2
<i>Triaenodes ochreellus ochreellus</i> McLachlan, 1877 (od rednog br. 3-4)							
3.	09MNKK0409	KKUMN417-10	M	A	Španjolska	Galicia	3
4.	09MNKK0410	KKUMN418-10	M	A	Španjolska	Galicia	
<i>Triaenodes bicolor</i> (Curtis, 1834) (od rednog br. 5-22)							
5.	JSIk-20090076	TRIFI181-10	M	A	Finska	Lapland	4
6.	ARin-20100174	TRIFI319-11	/	L	Finska	Uusimaa	5
7.	NIVA_TER_39	BARCO039-14	?	?	Norveška		6
8.	07HMCAD-0237	HMCAD237-08	?	?	Austrija		
9.	07HMCAD-0238	HMCAD238-08	?	?	Austrija		

PRILOG 13. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Triaenodes* te *Mystacides longicornis* kao vanjske vrste. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom. Kratice označavaju F= ženka, M= mužjak, A=adult i L=ličinka

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Spol	Stadij	Država nalaza	Lokacija nalaza	mtDNA haploip
10.	NZCAD909-85	KKCAD701-09	M	A	Poljska		8
11.	NZCAD909-86	KKCAD702-09	M	A	Poljska		
12.	NZCAD909-93	KKCAD709-09	M	A	Poljska		
13.	TRD-TRI76	ODTRI094-14	M	A	Norveška	Nord-Trondelag	9
14.	TRD-TRI77	ODTRI095-14	F	A	Norveška	Nord-Trondelag	10
15.	ARin-20100170	TRIFI317-11	/	L	Finska	Southern Savonia	11
16.	JSIk-20090080	TRIFI185-10	/	L	Finska	Kymenlaakso	12
17.	JSIk-20090078	TRIFI183-10	/	L	Finska	Kymenlaakso	13
18.	JSIk-20090079	TRIFI184-10	/	L	Finska	Kymenlaakso	14
19.	ARin-20100171	TRIFI318-11	/	L	Finska	Southern Savonia	15
20.	ARin-20100168	TRIFI342-11	/	L	Finska	Southern Savonia	16
21.	JSIk-20100093	TRIFI271-10; GBMIN35596-13	/	L	Finska	Kymenlaakso	17
22.	UA-SG-TRICH-C50	TFLAN117-11	/	L	Belgija	Mol, Antwerpen (Antwerp)	18
<i>Triaenodes detruncatus</i> Martynov, 1924 (od rednog br. 23-26)							
23.	ARin-2011F165	TRIFI705-12	/	L	Finska	Nylandia, Vanhankaupunginkoski	19
24.	ARin-2011F170	TRIFI710-12	/	L	Finska	Tavastia australis, Tainionvirta	20
25.	JSIk-20100206	TRIFI332-11	M	A	Finska	Kajaani, Nuasjaervi	21
26.	FN600955	GBMIN35594-13	?	?	?	?	22
<i>Triaenodes pellectus</i> Ulmer, 1908 (od rednog br. 27-31)							
27.	TVTRI0036	RUSST107-12	M	A	Rusija	Vinogradovka River, under bridge, Khasanskyi	23
28.	11TVCAD-170	KJTRI653-13	M	A	Rusija	Kuchelinovo, Maksimov`s Campground, Pond, Primorye, Shkotovsky Dist.	24
29.	10OFSI-0238	OFTRI237-10	?	A	Japan	L. Akan-panke, Hokkaido	25
30.	09HMCAD-0245	HMCAD610-09	?	A	Tajland	Muang Pai Resort	26
31.	10OFSI-0236	OFTRI235-10	?	A	Japan	Saiwai Bridge, Eniwa, Hokkaido	27
<i>Triaenodes reuteri</i> McLachlan, 1880 (od rednog br. 32-33)							
32.	JSIk-20110157	TRIFI505-11	F	A	Estonija	Austla, Saaremaa	28
33.	11TVCAD-169	KJTRI665-13	M	A	Rusija	Primorye, Nakhodka Dist., Volchanets Lake	29
<i>Triaenodes simulans</i> Tjeder, 1929 (od rednog br. 34-46)							
34.	JSIk-20110158	TRIFI506-11	M	A	Latvija	river Gauja	30
35.	GBOL06252	GBEPT1017-14	?	?	Njemačka	Spree bei Doebbrick	31
36.	HMCAD0111-35	HMKKT852-11	M	A	Austrija	Waidhofen an der Ybbs	
37.	10HMCAD-036	HMKKT036-10	?	A	Rumunjska	Hunedoara, SW 2am, NE Salciva, am Mores,	32

PRILOG 13. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Triaenodes* te *Mystacides longicornis* kao vanjske vrste. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom. Kratice označavaju F= ženka, M= mužjak, A=adult i L=ličinka

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Spol	Stadij	Država nalaza	Lokacija nalaza	mDNA haploip
						Transylvania	
38.	ARin-2014F043	TRIFI1061-14	?	A	Finska	Laesaekoski, Itae-Suomi, Savonia australis	33
39.	ARin-20100180	TRIFI322-11	/	L	Finska	Ilomantsi	34
40.	ID-05004	MGCAD266-08	M	A	Mongolija	Delger Moron Gol, 12.0 km W of Moron, Hovsgol	35
41.	ID-04603	MGCAD238-08	F	A	Mongolija	Egiin gol 12.7 km SW of Teshig	36
42.	ID-05003	MGCAD265-08	F	A	Mongolija	Delger Moron Gol, 12.0 km W of Moron, Hovsgol	37
43.	ID-05005	MGCAD267-08	M	A	Mongolija	Delger Moron Gol, 12.0 km W of Moron, Hovsgol	38
44.	ID-05006	MGCAD268-08	M	A	Mongolija	Delger Moron Gol, 12.0 km W of Moron, Hovsgol	39
45.	ID-05007	MGCAD269-08	M	A	Mongolija	Delger Moron Gol, 12.0 km W of Moron, Hovsgol	40
46.	ID-05008	MGCAD270-08	F	A	Mongolija	Delger Moron Gol, 12.0 km W of Moron, Hovsgol	41
	<i>Triaenodes unanimitis</i> McLachlan, 1877 (od rednog br. 47-61)						
47.	10OFSI-0240	OFTRI239-10	?	A	Švedskaden	10km W Bollstabruk	42
48.	11TVCAD-001	RUSST001-12	M	A	Rusija	Lotos lake in Khasan	43
49.	TVTRI0025	RUSST096-12	M	A	Rusija	Utinoye Lake at Andreevka Village	
50.	11TVCAD-014	RUSST014-12	M	A	Rusija	Perevoznaya wet meadow & small stream	44
51.	TVTRI0126	RUSST200-12	M	A	Rusija	marshes of Perevoznaya Village, at Tyurneva`s hous	
52.	10OFSI-0241	OFTRI240-10	?	A	Švedska	An. Forsed, Vasternorrland	45
53.	TVTRI0072	RUSST147-12	M	A	Rusija	Lotos Lake	46
54.	TVTRI0088	RUSST156-12	M	A	Rusija	Lotos Lake	47
55.	TVTRI0145	RUSST219-12	M	A	Rusija	Artyomovka River, lower part	48
56.	TVTRI0227	RUSST301-12	F	A	Rusija	eastern shore, kordon Vostochnyi	49
57.	JSIk-20090081	TRIFI186-10	F	A	Finska	Osmankajaervi	50
58.	JSIk-20090082	TRIFI187-10	M	A	Finska	Osmankajaervi	51
59.	10OFSI-0242	OFTRI241-10	?	A	Japan	Chitose Lake, Hokkaido	52
60.	10OFSI-0243	OFTRI242-10	?	A	Japan	W Asajino, Hokkaido	53
61.	10OFSI-0244	OFTRI243-10	?	A	Japan	Daiichi-usakuma Bridge, Hokkaido	54
	<i>Mystacides longicornis</i> (Linnaeus, 1758) (redni br. 62)						
62.	<b>TMYS_1</b>	CROAA015-18	F	A	Hrvatska	rijeka Drava – Gornji	55

PRILOG 13. Popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Triaenodes* te *Mystacides longicornis* kao vanjske vrste. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom. Kratice označavaju F= ženka, M= mužjak, A=adult i L=ličinka

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Spol	Stadij	Država nalaza	Lokacija nalaza	mtDNA haplotip
						Hrašćan	

PRILOG 14. Taksonomski popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Agapetus* i *Synagpetus* te *Glossosoma bifidum* kao vanjske vrste. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom. Kratice označavaju F= ženka, M= mužjak, A=adult i L=ličinka.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	spol	Država	Lokacija	mtDNA haplotip
<i>Agapetus cf. fuscipes</i> (od rednog br. 1-4)						
1	<b>TAFUS_1</b>	NIP011-17	M	Hrvatska	izvor Ljute, Konavle	1
2	<b>TAFUS_2</b>	CROTR225-19	M	Hrvatska	izvor Ljute, Konavle	2
3	<b>TAFUS_3</b>	CROTR230-19	F	Hrvatska	izvor Ljute, Konavle	3
4	<b>TAFUS_4</b>	CROTR216-19	M	Hrvatska	izvor Ljute, Konavle	4
<i>Agapetus fuscipes</i> Curtis, 1834 (od rednog br. 5-41)						
5		GST336-15	A	Njemačka	Hesse, Breitenbach (first order stream)	5
6		GST339-15	A	Njemačka	Hesse, Breitenbach (first order stream)	6
7	Afu_BBT130616_04	GST343-15	A	Njemačka	Hesse, Breitenbach (first order stream)	7
8	09MNKK0437	KKUMN445-10	M	Španjolska	Aragon, small calcareous river, 1.8 km E Barbenuta	8
9	GBOL03938	GBEPT609-14	-	Njemačka	Saxony-Anhalt	9
10	Afu_BBT130616_03	GST342-15	A	Njemačka	Hesse, Aragon, small calcareous river, 1.8 km E Barbenuta	10
11	GBOL03601	GBEPT490-14	A	Njemačka	Hesse, Schlitz	11
12	GBOL03937	GBEPT608-14	A	Njemačka	Saxony-Anhalt	12
13	GBOL03939	GBEPT610-14	A	Njemačka	Saxony-Anhalt	13
14	GBOL03940	GBEPT611-14	A	Njemačka	Saxony-Anhalt	14
15	GBOL03597	GBEPT486-14		Njemačka	Hesse, Schlitz	15
16	Afu_BBT130525_03	GST337-15	A	Njemačka	Hesse, Breitenbach (first order stream)	16
17	Afu_BBT130525_04	GST338-15	A	Njemačka	Breitenbach (first order stream)	17
18	Afu_BBT130616_02	GST341-15	A	Njemačka	Breitenbach (first order stream)	18



PRILOG 14. Taksonomski popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Agapetus* i *Synagpetus* te *Glossosoma bifidum* kao vanjske vrste. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom. Kratice označavaju F= ženka, M= mužjak, A=adult i L=ličinka.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	spol	Država	Lokacija	mtDNA haploip
19	PE286	INTAP241-17	M	Austria	Vorarlberg	19
20	UA-SG-TRICH-D04	TFLAN243-11	-	Belgija	Oost-Vlaanderen (East Flanders), Sassegembeer, Brakel	20
21	BCZSMAQU00859	FBAQU1144-12	M	Njemačka	Bavaria, Muenchener Ebene (T/S), Muenchen	21
22	GBOL03936	GBEPT607-14	-	Njemačka	Saxony-Anhalt	22
23	Afu_BBT130525_01	GST335-15	A	Njemačka	Hesse,Breitenbach (first order stream)	23
24	Afu_BBT130616_06	GST345-15	A	Njemačka	Hesse,Breitenbach (first order stream)	24
25	Afu_BBQ130729_02	GST347-15	A	Njemačka	Hesse,Breitenbach (first order stream)	25
26	Afu_BBQ130729_04	GST349-15	A	Njemačka	Hesse,Breitenbach (first order stream)	26
27	Afu_BBQ130729_05	GST350-15	A	Njemačka	Hesse,Breitenbach (first order stream)	27
28	fw50	TMIX040-15		Njemačka	North Rhine-Westphalia	28
29	GBOL03599	GBEPT488-14	A	Njemačka	Hesse, Schlitz	29
30	GBOL03600	GBEPT489-14	A	Njemačka	Hesse, Schlitz	30
31	Afu_BBQ130729_03	GST348-15	A	Njemačka	Hesse,Breitenbach (first order stream)	31
32	UA-SG-TRICH-D03	TFLAN242-11	L	Belgija	Oost-Vlaanderen (East Flanders), Sassegembeer	32
33	DRCAD0810-164	DRCAD578-10	M	Portugal	Serra do Estrela, Erada	33
34	GBOL12163	GBMIX1678-15		Njemačka	Bavaria	34
35	Afu_BBQ130729_01	GST346-15		Njemačka	Hesse,Breitenbach (first order stream)	35
36	HMCAD0111-7	HMKKT824-11	M	Austria	Lower Austria	36
37	UA-SG-TRICH-D05	TFLAN244-11	-	Belgija	Oost-Vlaanderen (East Flanders), Sassegembeer, Brakel	37
38	GBOL03598	GBEPT487-14	A	Njemačka	Hesse, Schlitz	38
39	Afu_BBT130616_01	GST340-15	A	Njemačka	Hesse,Breitenbach (first order stream)	39
40	Afu_BBT130616_05	GST344-15	A	Njemačka	Hesse,Breitenbach (first order stream)	40
41	PE287	INTAP242-17	M	Austria	Vorarlberg	41
<i>Agapetus ochripes</i> Curtis, 1834 (od rednog br. 42-68)						
42	<b>TAOCH_2</b>	CROTR010-19	A	Hrvatska	Gospin potok, Papuk	42
43	<b>TAOCH_3</b>	CROTR199-19	A	Hrvatska	rijeka Lika, izvor	
44	BC ZSM AQU 00005	FBAQU005-09	A	Njemačka	Kleine Isar` Hoehe Volksbad, von Ludwigsbruecke bi	
45	GBOL03966	GBEPT637-14		Njemačka	Saxony-Anhalt, Saxony-Anhalt, Freiberger Mulde	43
46	BIOUG16205-E12	GMNWJ2946-14	A	Norveška	Sor-Trondelag, Trondheim, Sor-Trondelag, Trondheim,	44

PRILOG 14. Taksonomski popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Agapetus* i *Synagpetus* te *Glossosoma bifidum* kao vanjske vrste. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom. Kratice označavaju F= ženka, M= mužjak, A=adult i L=ličinka.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	spol	Država	Lokacija	mtDNA haploitip
					Sommerlystvegen 22	
47	07HMCAD-0162	HMCAD162-08	-	Austrija	Fischa-Ursprung bei Haschendorf	45
48	10HMCAD-463	HMKKT463-10	-	Austrija	Seeausrinn bei Lunz	46
49	10HMCAD-464	HMKKT464-10	-	Austrija	Seeausrinn bei Lunz	47
50	JSIk-2011F030	TRIFI570-11	A	Finska	Karhunkoski	48
51	ARin-2012F229	TRIFI764-12	A	Finska	Peranganjoki	49
52	10HMCAD-190	HMKKT190-10	-	Austrija	Seeausrinn bei Lunz	50
53	10HMCAD-461	HMKKT461-10	-	Austrija	Seeausrinn bei Lunz	51
54	10HMCAD-625	HMKKT625-10	M	Austrija	Seeausrinn bei Lunz	52
55	GBOL03963	GBEPT634-14	M	Njemačka	Saxony-Anhalt, Freiburger Mulde	53
56	07HMCAD-0170	HMCAD170-08	M	Austrija	Fischa-Ursprung bei Haschendorf	54
57	GBOL03964	GBEPT635-14	M	Njemačka	Saxony-Anhalt, Freiburger Mulde	55
58	BIOUG16205-F01	GMNWJ2947-14	M	Norveška	Sor-Trondelag, Trondheim, Sommerlystvegen 22	56
59	BIOUG16622-A11	GMNWM738-14	F	Norveška	Sor-Trondelag, Trondheim, Sommerlystvegen 22	57
60	TRD-TRI202	TRDTR125-15	F	Norveška	near Tiller bridge	58
61	ARin-2012F228	TRIFI763-12	F	Finska	Peranganjoki	59
62	BC ZSM AQU 00249	FBAQU249-09	A	Njemačka	Grosser Ostersee, Suedufer bei Mdg. Verbind ungsbac	60
63	GBOL03962	GBEPT633-14	A	Njemačka	Saxony-Anhalt, Freiburger Mulde	61
64	GBOL03967	GBEPT638-14	-	Njemačka	Saxony-Anhalt, Freiburger Mulde	62
65	07HMCAD-0164	HMCAD164-08	-	Austrija	Fischa-Ursprung bei Haschendorf	63
66	BIOUG16205-G02	GMNWJ2960-14	A	Norveška	Sor-Trondelag, Trondheim, Sommerlystvegen 22	64
67	BIOUG16553-D09	GMNWL2413-14	A	Norveška	Sor-Trondelag, Trondheim, Sommerlystvegen 22	65
68	BIOUG16553-D11	GMNWL2415-14	A	Norveška	Sor-Trondelag, Trondheim, Sommerlystvegen 22	66
<i>Agapetus nimbulus</i> McLachlan, 1879 (od rednog br. 69-76)						
69	GBOL12937	GBMIX1882-15	A	Njemačka	Bavaria, Buchenhain, Isarufer - E.ON Buchenhain	67
70	HMCAD0111-101	HMKKT918-11	M	Italija	Piedmont, Cuneo, Valdieri N, Vallone Scumbes	68
71	08HMCAD-252	HMTRI252-09	M	Italija	Friuli, Vivaro	69
72	PE317	INTAP270-17	F	Austrija	Vorarlberg, Franstanz, Giessen	70
73	BC ZSM AQU 00345	FBAQU345-09		Njemačka	Bavaria, Karwendelgebirge (Vorkarwendel) (Av/A), Bad Toelz-Wolfratshausen	71
74	12HMCAD-35	KJTRI030-13	M	Italija	Pordenone, Cordenons, Risorgive del Vinchiaruzzo	72
75	BCZSMAQU008 61	FBAQU1146-12	M	Njemačka	Bavaria, Muenchener Ebene (T/S), Muenchen, Kernbach, Unterlauf bis Muendung in den Seebach, s	73

PRILOG 14. Taksonomski popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Agapetus* i *Synagpetus* te *Glossosoma bifidum* kao vanjske vrste. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom. Kratice označavaju F= ženka, M= mužjak, A=adult i L=ličinka.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	spol	Država	Lokacija	mtDNA haploip
76	12HMCAD-78	KJTRI073-13	M	Austria	Inferior, Lunz, Seeausrinn	74
<i>Agapetus slavorum</i> Botosaneanu, 1960 (od rednog br. 77-82)						
77	07HMCAD-0291	HMCAD291-08	M	Grčka	Peloponnese, CR Peloponnes, Lakonien Parnon, Passhoehe NE Karies	75
78	07HMCAD-0292	HMCAD292-08				76
79	KKCAD-0407	KKCAD466-07	M	Grčka	Peloponnese, CR Peloponnes, Lakonien Parnon, Passhoehe NE Karies	77
80	07HMCAD-0294	HMCAD294-08	M	Grčka	Peloponnese, CR Peloponnes, Lakonien Parnon, Passhoehe NE Karies	78
81	07HMCAD-0295	HMCAD295-08	M	Grčka	Peloponnese, CR Peloponnes, Lakonien Parnon, Passhoehe NE Karies	79
82	07HMCAD-0293	HMCAD293-08	M	Grčka	Peloponnese, CR Peloponnes, Lakonien Parnon, Passhoehe NE Karies	80
<i>Agapetus delicatulus</i> McLachlan, 1884 (od rednog br. 83-87)						
83	09HMCAD-0195	HMCAD560-09	L	Francuska	Aude, Albieres	81
84	09HMCAD-0196	HMCAD561-09	L	Francuska	Aude, Albieres	82
85	09HMCAD-0197	HMCAD562-09	L	Francuska	Aude, Albieres	83
86	10HMCAD-188	HMKKT188-10	A	Austria	Solling Schlarassingbach bei Gaisberg	84
87	HM09Adel8	HMTRI467-09	A	Italija	Cairo Montenotte SV, Ferrania, Ferranietta stream	85
<i>Agapetus laniger</i> Pictet, 1834 (od rednog br. 88-91)						
88	<b>TALAN_1</b>	NIPAG001-17	M		rijeka Drava, Goričan	86
89	BC ZSM AQU 00069	FBAQU069-09	F	Njemačka	Bavaria, Donaumoos (T/S), Neuburg-Schrobenhausen, Donau bei Fkm 2469,8 rechts, UW Staustufe Bergheim	87
90	BCZSMAQU00860	FBAQU1145-12	M	Njemačka	Bavaria, Suedliche Frankenalb (SL), Eichstaett, Sulz [Altmuehl-Ausleitung] in Beilngries, unterer	88
91	10HMCAD-104	HMKKT104-10	A	Italija	Casalgrasso (CN), Po river at bridge prov. Road nd	89
<i>Synagapetus moselyi</i> (Ulmer, 1938) (redni br. 92)						
92	<b>TSMOS_1</b>	NIPAG003-17		Hrvatska	potok Crkveni jarak (srednji tok)	90
<i>Synagapetus krawanyi</i> Ulmer, 1939 (od rednog br. 93-99)						
93	<b>TSKRA_1</b>	CROTR153-19		Hrvatska	izvor Škodinovac - Bastaji	91
94	<b>TAGA_1</b>	CROTR213-19		Hrvatska	potok Vrklješće, izvor - Velika Rakovic, Samoborsko gorje	
95	<b>TAGA_2</b>	NIPAG002-17		Hrvatska	potok Vrklješće, izvor - Velika Rakovic, Samoborsko gorje	92
96	10HMCAD-460	HMKKT460-10	M	Austria	Solling Schlarassingbach bei	93

PRILOG 14. Taksonomski popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Agapetus* i *Synagpetus* te *Glossosoma bifidum* kao vanjske vrste. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak. Zadebljanim slovima u koloni ID uzorak označeni su uzorci dobiveni ovim radom. Kratice označavaju F= ženka, M= mužjak, A=adult i L=ličinka.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	spol	Država	Lokacija	mtDNA haplotip
					Gaisberg	
97	10HMCAD-187	HMKKT187-10		Austrija	Solling Schlarassingbach bei Gaisberg	94
98	HMCAD0810-189	HMKKT816-10	A	Austrija	Carinthia, Seebergsattel	95
99	10HMCAD-459	HMKKT459-10	A	Austrija	Solling Schlarassingbach bei Gaisberg	96
<i>Synagapetus padanus</i> (Bertuetti, Lodovici, & Valle, 2004) (od rednog br.100 -101)						
100	09HMCAD-0238	HMCAD603-09	L	Italija	Val Ronchi, Sorg Picolotta	97
101	09HMCAD-0240	HMCAD605-09	L	Italija	Val Ronchi, Sorg Picolotta	98
<i>Synagapetus dubitans</i> (McLachlan, 1879) (redni br. 102)						
102	BC ZSM AQU 00658	FBCAD088-10	L	Njemačka	Bavaria, Suedliche Frankenalb (SL), Quellbach zur Altmuehl bei Strassenbruecke Groesdo	99
<i>Glossosoma bifidum</i> (redni br. 103)						
103	<b>TGBIF_1</b>	NIPAG004-17	M	Hrvatska	rijeka Kupčina (izvor, gornji tok) - Žumberak	100

PRILOG 15. Taksonomski popis korištenih DNA barkod sekvenci za filogenetsku analizu vrsta iz roda *Lepidostoma* te *Crunoecia kempnyi* kao vanjske vrste. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, spol (oznaka F za ženku i M za mužjaka), država i točna lokacija iz koje je prikupljen. Zadebljanim slovima ID uzorka označeni su haplotipovi dobiveni ovim radom.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Spol	Država nalaza	Lokacija
<i>Lepidostoma basale</i> Kolenati 1848 (od rednog br.1-8)					
1	<b>TLBAS_1</b>	CROAA024-18	F	Hrvatska	Pašina vrela - iznad sela Mečenčani
2	<b>TLBAS_2</b>	CROAA025-18	M	Hrvatska	Pašina vrela - iznad sela Mečenčani
3	<b>TLBAS_3</b>	CROTR122-19	M	Hrvatska	rijeka Grab, izvor - Sinj
4	ARin-2012F243	TRIFI778-12	M	Estonija	Piusa, Orava
5	12HMCAD-094	BHMKK262-12		Ceška	Volary, Mala niva Lenora
6	12HMCAD-070	BHMKK259-12	F	Austrija	St. Konrad-Hausern
7	BC ZSM AQU 00039	FBAQU039-09		Njemačka	Straubing-Bogen

8	10ESCAD-021	ESCAD021-10		Šanjolska	Rio Monachil
<i>Lepidostoma hirtum</i> Fabricius, 1775 (od rednog br.9-19)					
9	TLHIT_1	CROAA126-18		Hrvatska	rijeka Kupa, Pribanji
10	TLHIT_2	CROTR053-19		Hrvatska	rijeka Rudnica, izvor
11	TLHIT_3	CROTR132-19		Hrvatska	rijeka Krka, Roški slap
12	TLHIT_4	CROTR235-19		Hrvatska	rijeka Krka, HE Miljacka
13	TLHIT_5	CROTR218-19		Hrvatska	slap Labudovac, NP Plitvička jazera
14	BC ZSM AQU 00123	FBAQU123-09		Njemačka	Muehlbach 1,9 km SO Isarmuend
15	BIOUG16591- F11	GMNWL2943- 14		Norveška	Trondheim
16	BHMKK182-12	HMCAD1211- 182	M	Austrija	Tschachoritsch
17	12HMCAD-093	BHMKK250-12		Češka	Volary, Mala niva Lenora
18	10HMCAD-138	HMKKT138-10		Italija	
19	KY225421	GBMIN91694- 17		Velika Britanija	
<i>Crunoecia kempnyi</i> Morton, 1901 (redni br.20)					
20	TCKEM_1	CROTR074-19	M	Hrvatska	Cetina, selo Totići

PRILOG 16. Taksonomski popis korištenih DNA barkod sekvenci prilikom povezivanja mužjaka i ženki vrste *Rhyacophila schmidinarica*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak te radi li se o unikatnom haplotipu ili više primjeraka dijeli isti haplotip. Životni stadij se odnosi na A= odrasli, L=ličinka te oznake spola M=mužjak, F=ženka. Zadebljanim slovima ID uzorka označeni su haplotipovi dobiveni ovim radom.

Redni br.	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Stadij	Spol	Država nalaza	Lokacija
<i>Rhyacophila schmidinarica</i> Urbanič, Krušnik & Malicky, 2000 (od rednog br.1 -4)						
1	HMTRI029-08	08HMCAD-029	A	M	Hrvatska	Bužim, Velebit
2	<b>TRSCH_1</b>	CROTR007-19	A	M	Hrvatska	izvor na Bjelolasici
3	<b>TRSCH_3</b>	CROTR070-19	A	M	Hrvatska	izvor Napojište – Plitvički Ljeskovac
4	<b>TRSCH_4</b>	CROTR084-19	A	F	Hrvatska	izvor Napojište – Plitvički Ljeskovac
<i>Rhyacophila hirticornis</i> McLachlan, 1879 (od rednog br.5 -12)						
5	FBCAD076-10	BC ZSM AQU 00646	A	F	Njemačka	Quellablauf Hubertusbrunnen beim Breirtenau-/Geiss
6	HMKKT195-10	10HMCAD-195	A		Austrija	Solling Schlarassingbach bei Gaisberg
7	HMKKT478-10	10HMCAD-478			Austrija	Solling Schlarassingbach bei Gaisberg
8	HMKKT782-10	HMCAD0810-155	A	M	Austrija	Dunkelsteiner Wald Halterbach, 1.6 km SE. Palmul
9	INTAP075-17	PE087	L		Austrija	Riedbach
10	INTAP080-17	PE096	A	M	Austrija	Stutz
11	INTAP102-17	PE121	A	M	Austrija	Stutz
12	KJTRI190-13	12HMCAD-200	A	M	Austrija	Purgstall
<i>Plectrocnemia conspersa</i> (Curtis, 1834) (redni br.13)						
13	<b>TPCON_2</b>	CROTR008-19		M	Hrvatska	izvor na Bjelolasici

PRILOG 17. Taksonomski popis korištenih DNA barkod sekvenci prilikom povezivanja mužjaka i ženki vrste *Hydropsyche angustipennis*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID number, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak. Zadebljanim slovima označene su DNA barkod sekvence dobivene ovim radom.

	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Država nalaza	Lokacija nalaza
<i>Hydropsyche angustipennis</i> (Curtis, 1834) (od rednog br.1 -5)				
1	<b>THANG_1</b>	CROAA119-18	Hrvatska	Baranjska Karašica, Popovac
2	<b>THANG_2</b> , ženka	CROAA108-18	Hrvatska	potok Dubračina, Tribalj
3	<b>THANG_3</b> , mužjak	CROAA109-18	Hrvatska	potok Dubračina, Tribalj
4		HMTRI453-09	Italija	
5		HMKKT531-10	Poljska	
<i>Hydropsyche bulbifera</i> McLachlan, 1878 (od rednog br.6 -7)				
6	<b>THBUB_1</b>	CROAA005-18	Hrvatska	potok Bistra, Medvednica
7	<b>THBUB_3</b>	CROTR039-19	Hrvatska	Gacka-Otočac
<i>Hydropsyche bulgaromanorum</i> Malicky, 1977 (od rednog br.8 -10)				
8	<b>THBUL_1</b>	CROAA056-18	Hrvatska	rijeka Dunav - Zlatna Greda
9	<b>THBUL_2</b>	CROAA055-18	Hrvatska	rijeka Dunav - Zlatna Greda
10		HMCAD009-07		
<i>Hydropsyche contubernalis</i> McLachlan, 1865 (od rednog br.11 -14)				
11	<b>TCHE_1</b>	CROAA076-18	Hrvatska	Drava, Goričan
12	<b>THCON_2</b>	CROTR269-19	Hrvatska	potok Bistra
13	<b>THCON_1</b>	CROAA006-18	Hrvatska	rijeka Sava (srednji tok) - Orle
14	<b>THCON_3</b>	CROTR219-19	Hrvatska	Sunja, Kukuruzari
<i>Hydropsyche dinarica</i> Marinkovic-Gospodnetić, 1979 (redni br.15)				
15	<b>THDIN_1</b>	CROTR150-19	Hrvatska	Čabranka, most nizvodno od Čabra
<i>Hydropsyche fulvipes</i> (Curtis, 1834) (redni br.16)				
16	<b>THINS_8</b>	CROTR163-19	Hrvatska	Palje brdo-Konavle
<i>Hydropsyche guttata</i> Pictet, 1834 (od rednog br.17 -19)				
17	GBOL12175	GBMIX1690-15	Njemačka	Lkr. Muehldorf am Inn: Inn bei Muehldorf Fkm etwa
18	07HMCAD-0008	HMCAD008-07	Austrija	Kleinpochlarn,Rindfleischberg
19	UA-SG-TRICH-X03	TFLAN228-11	Belgija	Voeren
<i>Hydropsyche incognita</i> Pitsch, 1993 (od rednog br.20-22)				
20	<b>THINC_3</b>	CROAA123-18	Hrvatska	rijeka Toplica - Batinjani, Papuk
21	<b>THINC_5</b>	CROTR036-19	Hrvatska	rijeka Voćinska
22	<b>THINC_11</b>	CROTR119-19	Hrvatska	Dobra - Priselci, ušće
<i>Hydropsyche instabilis</i> (Curtis, 1834) (od rednog br.23 -31)				
23	<b>THINS_2</b>	CROTR238-19	Hrvatska	potok Velika Paklenica-Anića kuk
24	<b>THINS_5</b>	CROTR270-19	Hrvatska	Plitvička jezera, potok Plitvice
25	<b>THINS_6</b>	CROTR091-19	Hrvatska	izvor Grab
26	<b>THINS_7</b>	CROTR151-19	Hrvatska	Cetina, Čikotina lađa
27	<b>THINS_3</b>	CROTR162-19	Hrvatska	Gospin potok, Papuk
28	<b>THINS_9</b>	CROTR142-19	Hrvatska	Dobra - izvor
29	<b>THINS_10</b>	CROTR242-19	Hrvatska	Krka - Miljacka
30	<b>THINS_4</b>	CROTR201-19	Hrvatska	izvor Rječine
31	<b>THYD_1</b>	CROAA053-18	Hrvatska	Crna Mlaka
<i>Hydropsyche modesta</i> Navas, 1925 (od rednog br.32 -33)				
32	<b>THMOD_1</b>	CROAA046-18	Hrvatska	Sava-Drenje Brdovečko
33		HMKKT224-10		

PRILOG 17. Taksonomski popis korištenih DNA barkod sekvenci prilikom povezivanja mužjaka i ženki vrste *Hydropsyche angustipennis*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID number, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak. Zadebljanim slovima označene su DNA barkod sekvence dobivene ovim radom.

	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Država nalaza	Lokacija nalaza
<i>Hydropsyche mostarensis</i> Klapalek, 1898 (od rednog br.34 -35)				
34	<b>THMOS_1</b>	CROTR086-19	Hrvatska	Krka - Miljacka
35		HMTRI106-08		
<i>Hydropsyche ornatula</i> McLachlan, 1878 (od rednog br.36 -38)				
36	08JPCAD-441	JPCAD441-08	Mađarska	Belavar
37	ID-02104	MGCAD119-08	Mongolija	Selenge gol 7.8 km NW Zuunburen
38		XJDQD365-18	Kina	Bashibaiyi
<i>Hydropsyche pellucidula</i> (Curtis, 1834) (od rednog br. 39 -41)				
39	<b>THYD_1</b>	CROTR271-19	Hrvatska	Crna Mlaka
40	<b>THPEL_2</b>	CROTR155-19	Hrvatska	Ponikve- otok Krk
41	<b>THINC_1a</b>	CROTR194-19	Hrvatska	Mirna- Livade
<i>Hydropsyche saxonica</i> McLachlan, 1884 (od rednog br.42 -46)				
42	<b>THSAX_1</b>	CROAA070-18	Hrvatska	potok Vrba, Muć
43	<b>THSAX_2</b>	CROTR149-19	Hrvatska	potok Vrba, Muć
44	<b>THSAX_3</b>	CROTR202-19	Hrvatska	potok Mlini, Ugrini
45	<b>THINC_3</b>	CROAA123-18	Hrvatska	rijeka Toplica - Batinjani, Papuk
46	<b>THSAX_4</b>	CROTR229-19	Hrvatska	rijeka Milka Trnina
<i>Plectrocnemia conspersa</i> (Curtis, 1834) (redni br. 47)				
47	<b>TPCON_2</b>	CROTR008-19	Hrvatska	Bjelolasica izvor

PRILOG 18. Taksonomski popis korištenih DNA barkod sekvenci prilikom povezivanja ličinke i odraslog primjerka vrste *Glossosoma discophorum*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID number, naziv vrste prema morfološkoj identifikaciji, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak. Zadebljanim slovima označene su DNA barkod sekvence dobivene ovim radom.

	ID uzorka	BOLD Sekvenca ID	Država nalaza	Lokacija
<i>G. bifidum</i> McLachlan, 1879 (od rednog br. 1 -2)				
1.	<b>TGBIF_1</b>	NIPAG004-17	Hrvatska	rijeka Kupčina, izvor, Žumberak
2.	12HMCAD-34	KJTRI029-13	Italija	Risorgive del Vinchiaruzzo
<i>G. conformis</i> Neboiss, 1963 (od rednog br. 3 -8)				
3.	<b>TGCON_1</b>	CROTR210-19	Hrvatska	potok Bliznec, Medvednica
4.	<b>TGCON_2</b>	CROTR014-19	Hrvatska	potok Bliznec, Medvednica
5.		GBEPT574-14	Njemačka	Freiberger Mulde
6.	GBOL03905	GBEPT576-14	Njemačka	Freiberger Mulde
7.	HM09Glco8	HMTRI422-09	Španjolska	vic.Pontaut, Val de Rio Toran
8.	10HMCAD-189	HMKKT189-10	Austrija	Solling Schlarassingbach bei Gaisberg
<i>G. discophorum</i> Klapalek, 1902 (od rednog br. 9 -16)				
9.	<b>TGDIS_1</b>	CROAA004-18	Hrvatska	rijeka Tounjčica (izvor)
10.	<b>TGDIS_2</b>	CROAA035-18	Hrvatska	izvor Vitunjčice
11.	<b>TGDIS_3</b>	CROAA036-18	Hrvatska	izvor Slunjčice
12.	<b>TGDIS_4</b>	CROAA036-18	Hrvatska	izvor Une
13.	<b>TGDIS_5</b>	CROAA064-18	Hrvatska	Mali Rumin
14.	<b>TGDIS_6</b>	CROTR057-19	Hrvatska	izvor potoka Plitvice

PRILOG 18. Taksonomski popis korištenih DNA barkod sekvenci prilikom povezivanja ličinke i odraslog primjerka vrste *Glossosoma discophorum*. Uz svaki primjerak navedeno je ID uzorka, BOLD Sekvenca ID number, naziv vrste prema morfološkoj identifikaciji, država i točna lokacija iz koje je prikupljen uzorak. Zadebljanim slovima označene su DNA barkod sekvence dobivene ovim radom.

	<b>ID uzorka</b>	<b>BOLD Sekvenca ID</b>	<b>Država nalaza</b>	<b>Lokacija</b>
15.	<b>TGDIS_7</b>	CROTR063-19	Hrvatska	Mali Rumin
16.	<b>TGDIS_8</b>	CROTR090-19	Hrvatska	izvor Grab
<i>G. neretvae</i> Marinković, 1988 (od rednog br. 17 -19)				
17.	HMCAD1211-157	BHMKK157-12	Crna Gora	Alipasini izvori
18.	<b>TGNER_1</b>	CROTR052-19	Bosna i Hercegovina	rijeka Neretva - Žitomislčić
19.	<b>TGNER_2</b>	CROTR059-19	Bosna i Hercegovina	rijeka Neretva - Žitomislčić
<i>G. klotho</i> Malicky, 2003 (od rednog br. 20 -21)				
20.	<b>TGKLO_3a</b>	CROTR093-19	Kosovo	rijeka Bistrica, Te Manastir Mulla, Pejë,
21.	12HMCAD-120	KJTRI110-13	Bugarska	Pirin, Gotse Deltschev
<i>Agapetus ochripes</i> (redni br. 22)				
22.	<b>TAOCH_2</b>	CROTR010-19	Hrvatska	Gospin potok - Šumarska kuća Duboka, Velika, Papuk



PRILOG 19. Popis primjeraka tulara iz Hrvatske koji su DNA barkodirani. Uz svaki primjerak s jedinstvenim DNA kodom navedena je morfološki određena svojta i svojta određena korištenjem alata BOLD baze (BOLD Id Engine). Br. OTU-sa i BIN-ova kojima pripada pojedini uzorak. Zadebljanim slovima označen je novi unos svojte u BOLD bazu.

Br. uzorka	Br. OTU	DNA kod	Vrsta (određena morfološki)	Lokalitet	Taksonomska oznaka i postotak genetske sličnosti s najrodnijom sekvencom u BOLD bazi (%)	Br. BIN
1.	1.	TRAUR_1	<i>Rhyacophila aurata</i>	rijeka Kupa (gornji tok) - Brod na Kupi	<i>Rhyacophila aurata</i> 97.87	1
2.		TRAUR_2	<i>Rhyacophila aurata</i>	rijeka Mrežnica – Belavići	<i>Rhyacophila aurata</i> 98.72	
3.	2.	TRBAL_1	<i>Rhyacophila balcanica</i>	rijeka Una (izvor)	<i>Rhyacophila balcanica</i> 96.24	2
4.	3.	TRCAB_1	<b><i>Rhyacophila cabrankensis</i></b>	rijeka Čabranka (izvor) - Čabar	<i>Rhyacophila vulgaris</i> 97.61	3
5.	4.	TRDOR_2	<i>Rhyacophila dorsalis</i>	rijeka Čabranka (izvor) - Čabar	<i>Rhyacophila dorsalis</i> 100	4
6.		TRDPL_2	<i>Rhyacophila dorsalis</i>	rijeka Sunja - Kukuruzari	<i>Rhyacophila dorsalis</i> 100	
7.		TRDOP_1	<i>Rhyacophila dorsalis persimilis</i>	rijeka Kupa (gornji tok) - Brod na Kupi	<i>Rhyacophila dorsalis</i> 99.68	
8.		TRHY_2	<i>Rhyacophila dorsalis persimilis</i>	rijeka Mrežnica – Belavići	<i>Rhyacophila dorsalis persimilis</i> 98.4	
9.		TRDOP_2	<i>Rhyacophila dorsalis persimilis</i>	rijeka Kupa (srednji tok) - Pribanjci	<i>Rhyacophila dorsalis</i> 100	
10.		TRDPL_3	<b><i>Rhyacophila dorsalis plitvicensis</i></b>	slap Labudovac - NP Plitvička jezera	<i>Rhyacophila dorsalis persimilis</i> 99.8	
11.		TRDPL_1	<i>Rhyacophila dorsalis plitvicensis</i>	jezero Gavanovac –NP Plitvička jezera	<i>Rhyacophila dorsalis</i> 100	
12.		TRDPL_5	<i>Rhyacophila dorsalis plitvicensis</i>	slap Labudovac - NP Plitvička jezera	<i>Rhyacophila dorsalis</i> 100	
13.		TRDPL_4	<i>Rhyacophila dorsalis plitvicensis</i>	slap Labudovac - NP Plitvička jezera	<i>Rhyacophila dorsalis persimilis</i> 98.91	
14.		5.	TRDP_1	<i>Rhyacophila nubila</i>	rijeka Petrinjčica - Prnjavor Čuntićki	
15.	TRAUR_3		<i>Rhyacophila nubila</i>	rijeka Petrinjčica - Prnjavor Čuntićki	<i>Rhyacophila nubila</i> 99.69	
16.	6.	TRFAS_1	<i>Rhyacophila fasciata</i>	potok Zeleni Vir (izvor)	<i>Rhyacophila fasciata</i> 97.33	6
17.		TRFAS_2	<i>Rhyacophila fasciata</i>	rijeka Mrežnica – Belavići	<i>Rhyacophila fasciata</i> 96.62	
18.	7.	TRHIT_1	<i>Rhyacophila hirticornis</i>	potok Šumi (izvor) – Ivančica	<i>Rhyacophila hirticornis</i> 83.22	7
19.	8.	TRLAE_1	<i>Rhyacophila laevis</i>	potok Šumi (izvor) – Ivančica	<i>Rhyacophila laevis</i> 97.76	8
20.	9.	TRDOR_1	<i>Rhyacophila loxias</i>	rijeka Sutla - Zelenjak, Kumrovec	<i>Rhyacophila loxias</i> 97.07	9
21.		TRLOX_2	<i>Rhyacophila loxias</i>	rijeka Veličanka - uzvodno od Požege	<i>Rhyacophila loxias</i> 86.84	10
22.	10.	TRPAL_7	<i>Rhyacophila palmeni</i>	rijeka Kupa (srednji tok) - Pribanjci	<i>Rhyacophila palmeni</i> 96.39	11
23.	11.	TRHY_1	<i>Rhyacophila polonica</i>	potok Zeleni Vir (izvor)	<i>Rhyacophila polonica</i> 99.21	12
24.	12.	TRPRAE_1	<i>Rhyacophila praemosa</i>	potok Jankovac (gornji tok) - zapadno od Orahovca, Papuk	<i>Rhyacophila praemosa</i> 98.72	
25.	13.	TRSCH_1	<i>Rhyacophila schmidinarica</i>	izvor na Bjelolasici	<i>Rhyacophila schmidinarica</i> 94.04	13
26.		TRSCH_3	<i>Rhyacophila schmidinarica</i>	izvor Napojište – Plitvički Ljeskovac	<i>Rhyacophila schmidinarica</i> 95.14	
27.		TRSCH_4	<i>Rhyacophila schmidinarica</i>	izvor Napojište – Plitvički Ljeskovac	<i>Rhyacophila schmidinarica</i> 96.13	
28.	14.	TRTOR_1	<i>Rhyacophila torrentium</i>	potok Zeleni Vir (izvor)	<i>Rhyacophila torrentium</i> - 99.54	14

PRILOG 19. Popis primjeraka tulara iz Hrvatske koji su DNA barkodirani. Uz svaki primjerak s jedinstvenim DNA kodom navedena je morfološki određena svojta i svojta određena korištenjem alata BOLD baze (BOLD Id Engine). Br. OTU-sa i BIN-ova kojima pripada pojedini uzorak. Zadebljanim slovima označen je novi unos svojte u BOLD bazu.

Br. uzorka	Br. OTU	DNA kod	Vrsta (određena morfološki)	Lokalitet	Taksonomska oznaka i postotak genetske sličnosti s najrodnijom sekvencom u BOLD bazi (%)	Br. BIN
29.	15.	TRTRI_4	<i>Rhyacophila tristis</i>	potok Konavočica (izvor) – Vodovođe, Palje, Konavle	<i>Rhyacophila tristis</i> 97.15	15
30.		TRTRI_7	<i>Rhyacophila tristis</i>	potok Konavočica (izvor) – Vodovođe, Palje, Konavle	<i>Rhyacophila tristis</i> 97.71	
31.		TRTRI_6	<i>Rhyacophila tristis</i>	izvor Škodinovac - Bastaji	<i>Rhyacophila tristis</i> 100	
32.		TRTRI_8	<i>Rhyacophila tristis</i>	slap Labudovac - NP Plitvička jezera	<i>Rhyacophila tristis</i> 99.53	16
33.		TRTRI_9	<i>Rhyacophila tristis</i>	slap Labudovac - NP Plitvička jezera	<i>Rhyacophila tristis</i> 99.52	
34.		TRTRI_5	<i>Rhyacophila tristis</i>	potok Konavočica (izvor) – Vodovođe, Palje, Konavle	<i>Rhyacophila tristis</i> 99.47	
35.		TRTRI_6	<i>Rhyacophila tristis</i>	izvor Škodinovac - Bastaji	<i>Rhyacophila tristis</i> 100	
36.	16.	TAFUS_1	<b><i>Agapetus cf. fuscipes</i></b>	rijeka Ljuta (izvor) - Konavle	<i>Agapetus slavorum</i> 87.56	17
37.		TAFUS_4	<i>Agapetus cf. fuscipes</i>	rijeka Ljuta (izvor) - Konavle	<i>Agapetus slavorum</i> 87.87	
38.		TAFUS_2	<i>Agapetus cf. fuscipes</i>	rijeka Ljuta (izvor) - Konavle	<i>Agapetus slavorum</i> 87.73	
39.		TAFUS_3	<i>Agapetus cf. fuscipes</i>	rijeka Ljuta (izvor) - Konavle	<i>Agapetus slavorum</i> 88.24	
40.	17.	TALAN_1	<i>Agapetus laniger</i>	rijeka Mura (donji tok) - Goričan	<i>Agapetus laniger</i> 99.85	18
41.	18.	TAOCH_2	<i>Agapetus ochripes</i>	Gospin potok - Šumarska kuća Duboka, Velika, Papuk	<i>Agapetus ochripes</i> 100	19
42.		TAOCH_3	<i>Agapetus ochripes</i>	rijeka Lika - izvor	<i>Agapetus ochripes</i> 100	
	19.	TSKRA_1	<i>Synagapetus krawanyi</i>	izvor Škodinovac - Bastaji	<i>Agapetus krawanyi</i> 99.35	20
43.		TAGA_1	<i>Synagapetus krawanyi</i>	potok Vrkljišće, izvor - Velika Rakovic, Samoborsko gorje	<i>Agapetus krawanyi</i> 99.03	
44.	20.	TSMOS_1	<b><i>Synagapetus moselyi</i></b>	potok Crkveni jarak - gornji tok	<i>Synagapetus lusitanicus</i> 86.42	21
45.	21.	TGBIF_1	<i>Glossosoma bifidum</i>	rijeka Kupčina (izvor, gornji tok) - Žumberak	<i>Glossosoma bifidum</i> 98.32	22
46.	22.	TGCON_1	<i>Glossosoma conformis</i>	potok Bliznec (srednji tok) - javna ustanova PP Medvednica	<i>Glossosoma conformis</i> 99.84	23
47.		TGCON_2	<i>Glossosoma conformis</i>	potok Bliznec (srednji tok) - javna ustanova PP Medvednica	<i>Glossosoma conformis</i> 100	
48.	23.	TGDIS_1	<b><i>Glossosoma discophorum</i></b>	rijeka Tounjčica (izvor)	<i>Glossosoma neretvae</i> 99.08	24
49.		TGDIS_2	<i>Glossosoma discophorum</i>	rijeka Vitunjčica (izvor)	<i>Glossosoma neretvae</i> 98.88	
50.		TGDIS_3	<i>Glossosoma discophorum</i>	rijeka Slunjčica (izvor)	<i>Glossosoma neretvae</i> 98.88	
51.		TGDIS_4	<i>Glossosoma discophorum</i>	rijeka Una (izvor)	<i>Glossosoma neretvae</i> 98.49	
52.		TGDIS_5	<i>Glossosoma discophorum</i>	rijeka Cetina - Vrilo, Mali Rumin	<i>Glossosoma neretvae</i> 99.54	
53.		TGDIS_6	<i>Glossosoma discophorum</i>	potok Plitvice, izvor - Plitvica Selo	<i>Glossosoma neretvae</i> 99.67	
54.		TGDIS_7	<i>Glossosoma discophorum</i>	rijeka Cetina - Vrilo, Mali Rumin	<i>Glossosoma neretvae</i> 99.84	

PRILOG 19. Popis primjeraka tulara iz Hrvatske koji su DNA barkodirani. Uz svaki primjerak s jedinstvenim DNA kodom navedena je morfološki određena svojta i svojta određena korištenjem alata BOLD baze (BOLD Id Engine). Br. OTU-sa i BIN-ova kojima pripada pojedini uzorak. Zadebljanim slovima označen je novi unos svojte u BOLD bazu.

Br. uzorka	Br. OTU	DNA kod	Vrsta (određena morfološki)	Lokalitet	Taksonomska oznaka i postotak genetske sličnosti s najrodnijom sekvencom u BOLD bazi (%)	Br. BIN
55.		TGDIS_8	<i>Glossosoma discophorum</i>	rijeka Grab, izvor - Sinj	<i>Glossosoma neretvae</i> 100	
56.	24.	TRIC_1	<i>Agraylea sexmaculata</i>	rijeka Cetina - Čikotina lađa	<i>Agraylea sexmaculata</i> 99.2	25
57.		TASEX_2	<i>Agraylea sexmaculata</i>	rijeka Sunja - Kukuruzari	<i>Agraylea sexmaculata</i> 99.37	
58.		TASEX_3	<i>Agraylea sexmaculata</i>	rijeka Sunja - Kukuruzari	<i>Agraylea sexmaculata</i> 100	
59.	25.	TAPAL_1	<i>Allotrichia pallicornis</i>	rijeka Čabranka (donji tok, ušće)	<i>Allotrichia pallicornis</i> 99.68	26
60.		TAPAL_2	<i>Allotrichia pallicornis</i>	rijeka Cetina - Čikotina lađa	<i>Allotrichia pallicornis</i> 99.68	
61.	26.	THANL_1	<i>Hydroptila lotensis</i>	rijeka Bednja - Ivanečka Železnica, Ivanec	<i>Hydroptila lotensis</i> 99.84	27
62.		THANL_2	<i>Hydroptila lotensis</i>	rijeka Bednja - Ivanečka Železnica, Ivanec	<i>Hydroptila lotensis</i> 98.87	
63.		THYD_14	<i>Hydroptila lotensis</i>	rijeka Utinja, Pecki, vodocrpilište Banovina	<i>Hydroptila lotensis</i> 99.84	
64.		THLOT_1	<i>Hydroptila lotensis</i>	rijeka Petrinjčica - Hrvatski Čuntički	<i>Hydroptila lotensis</i> 99.68	
65.	27.	THFOR_1	<i>Hydroptila forcipata</i>	rijeka Čabranka (donji tok, ušće)	<i>Hydroptila forcipata</i> 100	28
66.		THFOR_2	<i>Hydroptila forcipata</i>	rijeka Cetina - Čikotina lađa	<i>Hydroptila forcipata</i> 99.82	
67.		THFOR_3	<i>Hydroptila forcipata</i>	rijeka Dobra, ušće - Priselci	<i>Hydroptila forcipata</i> 100	
68.		THFOR_4	<i>Hydroptila forcipata</i>	rijeka Cetina - Radmanove Mlinice	<i>Hydroptila forcipata</i> 100	
69.		THFOR_5	<i>Hydroptila forcipata</i>	rijeka Krka - Roški slap	<i>Hydroptila forcipata</i> 100	
70.	28.	THMAR_1	<i>Hydroptila martini</i>	rijeka Gacka (srednji tok) - Otočac	<i>Hydroptila martini</i> 99.51	29
71.		THYD_5	<i>Hydroptila martini</i>	rijeka Rudnica, izvor - Ožanići	<i>Hydroptila martini</i> 100	
72.		THYD_7	<i>Hydroptila martini</i>	rijeka Rudnica, izvor - Ožanići	<i>Hydroptila martini</i> 100	
73.		THYD_8	<i>Hydroptila martini</i>	rijeka Rudnica, izvor - Ožanići	<i>Hydroptila martini</i> 99.84	
74.		THYP_8	<i>Hydroptila martini</i>	potok u selu Pridvorje - Konavle	<i>Hydroptila martini</i> 98.55	
75.	29.	THPHA_1	<b><i>Hydroptila phaon</i></b>	potok Roč (izvor) - Marušići	<i>Hydroptila occulta</i> 85.51	30
76.		TPKL_1	<i>Hydroptila phaon</i>	rijeka Vitunjčica (izvor)	<i>Hydroptila occulta</i> 85.41	
77.		TPHA_1	<i>Hydroptila phaon</i>	rijeka Norin, ušće - Metković	<i>Hydroptila occulta</i> 84.95	
78.	30.	THSIM_1	<i>Hydroptila simulans</i>	rijeka Krka - Roški slap	<i>Hydroptila simulans</i> 99.53	31
79.	31.	THSPA_1	<i>Hydroptila sparsa</i>	rijeka Neretva (donji tok) - Opuzen	<i>Hydroptila sparsa</i> 99.38	32
80.		THSPA_4	<i>Hydroptila sparsa</i>	rijeka Krka - Roški slap	<i>Hydroptila sparsa</i> 99.52	
81.		THYD_13	<i>Hydroptila sparsa</i>	rijeka Krka - Visovac, pristanište na desnoj obali	<i>Hydroptila sparsa</i> 100	
82.		THYP_6	<i>Hydroptila sparsa</i>	potok u selu Pridvorje - Konavle	<i>Hydroptila sparsa</i> 99.33	
83.	32.	THTIG_1	<b><i>Hydroptila tigurina</i></b>	rijeka Mrežnica – Belavići	<i>Hydroptila sp.</i> 85.38	33

PRILOG 19. Popis primjeraka tulara iz Hrvatske koji su DNA barkodirani. Uz svaki primjerak s jedinstvenim DNA kodom navedena je morfološki određena svojta i svojta određena korištenjem alata BOLD baze (BOLD Id Engine). Br. OTU-sa i BIN-ova kojima pripada pojedini uzorak. Zadebljanim slovima označen je novi unos svojte u BOLD bazu.

Br. uzorka	Br. OTU	DNA kod	Vrsta (određena morfološki)	Lokalitet	Taksonomska oznaka i postotak genetske sličnosti s najrodnijom sekvencom u BOLD bazi (%)	Br. BIN
84.		THTIG_2	<i>Hydroptila tigurina</i>	rijeka Dobra, ušće - Priselci	<i>Hydroptila sp.</i> 85.38	
85.		THTIG_3	<i>Hydroptila tigurina</i>	rijeka Dobra, ušće - Priselci	<i>Hydroptila sp.</i> 85.38	
86.	33.	THTIN_1	<i>Hydroptila tineoides</i>	rijeka Dobra - Jarče polje	<i>Hydroptila tineoides</i> 99.52	34
87.		THTIN_3	<i>Hydroptila tineoides</i>	rijeka Rudnica, izvor - Ožanići	<i>Hydroptila tineoides</i> 98.54	
88.		THYD_6	<i>Hydroptila tineoides</i>	rijeka Rudnica, izvor - Ožanići	<i>Hydroptila tineoides</i> 100	
89.		THTIN_2	<i>Hydroptila tineoides</i>	rijeka Petrinjčica - Hrvatski Čuntički	<i>Hydroptila tineoides</i> 99.64	
90.	34.	THVEC_1	<i>Hydroptila vectis</i>	rijeka Bednja - Ivanečka Železnica, Ivanec	<i>Hydroptila vectis</i> 99.52	35
91.		THVEC_2	<i>Hydroptila vectis</i>	potok u selu Pridvorje - Konavle	<i>Hydroptila vectis</i> 97.16	36
92.		THYD_3	<i>Hydroptila vectis</i>	izvor Čerišnjevac - Pazin	<i>Hydroptila vectis</i> 94.94	37
93.		THYP_3	<i>Hydroptila vectis</i>	izvor Čerišnjevac - Pazin	<i>Hydroptila vectis</i> 94.05	
94.	35.	TILAM_1	<i>Ithytrichia lamellaris</i>	rijeka Raša (srednji tok) - dolina Raše	<i>Ithytrichia lamellaris</i> 100	38
95.		TILAM_2	<i>Ithytrichia lamellaris</i>	rijeka Krapina (srednji tok) - Krapina Selo	<i>Ithytrichia lamellaris</i> 100	
96.		TILAM_3	<i>Ithytrichia lamellaris</i>	rijeka Dobra - Jarče polje	<i>Ithytrichia lamellaris</i> 100	
97.		TITH_1	<i>Ithytrichia lamellaris</i>	rijeka Dobra - Jarče polje	<i>Ithytrichia lamellaris</i> 100	
98.	36.	THYP_1	<i>Orthotrichia angustella</i>	rijeka Kupa (donji tok) - Jamnička Kiselica	<i>Orthotrichia angustella</i> 100	39
99.	37.	THYD_12	<i>Orthotrichia costalis</i>	rijeka Krka - Visovac, pristanište na desnoj obali	<i>Orthotrichia costalis</i> 99.84	40
100.		THSPA_5	<i>Orthotrichia costalis</i>	rijeka Krka - Roški slap	<i>Orthotrichia costalis</i> 100	
101.		THYD_11	<i>Orthotrichia costalis</i>	rijeka Krka - Visovac, pristanište na desnoj obali	<i>Orthotrichia costalis</i> 100	
102.	38.	TOTRA_1	<i>Orthotrichia tragetti</i>	jezero Kuti -Badžule	<i>Orthotrichia tragetti</i> 99.85	41
103.	39.	THYP_4	<i>Oxyethira falcata</i>	potok u selu Pridvorje - Konavle	<i>Oxyethira falcata</i> 99.4	42
104.		THYP_5	<i>Oxyethira falcata</i>	potok u selu Pridvorje - Konavle	<i>Oxyethira falcata</i> 98.38	
105.		THYP_7	<i>Oxyethira falcata</i>	potok u selu Pridvorje - Konavle	<i>Oxyethira falcata</i> 98.8	
106.	40.	TOFLA_1	<i>Oxyethira flavicornis</i>	rijeka Sava - Durenje Brdovečko	<i>Oxyethira flavicornis</i> 98.88	43
107.		THID_1	<i>Oxyethira flavicornis</i>	rijeka Lika (srednji tok) - Bilaj	<i>Oxyethira flavicornis</i> 99.84	
108.		TOFLA_2	<i>Oxyethira flavicornis</i>	rijeka Lika (srednji tok) - Bilaj	<i>Oxyethira flavicornis</i> 99.68	
109.		TOXY_1	<i>Oxyethira flavicornis</i>	rijeka Dobra - Trošmarija	<i>Oxyethira flavicornis</i> 100	
110.	41.	TPMON_1	<i>Philopotamus montanus</i>	rijeka Velika rijeka (Kutjevačka rijeka) (izvor) - Krndija	<i>Philopotamus montanus</i> 91.52	44
111.		TPMON_2	<i>Philopotamus montanus</i>	potok Šumi (izvor) – Ivančica, Ivančica	<i>Philopotamus montanus</i> 99.84	
112.	42.	TPVAR_1	<i>Philopotamus variegatus</i>	rijeka Velika rijeka (Kutjevačka rijeka) (izvor) - Krndija	<i>Philopotamus variegatus</i> 98.91	45

PRILOG 19. Popis primjeraka tulara iz Hrvatske koji su DNA barkodirani. Uz svaki primjerak s jedinstvenim DNA kodom navedena je morfološki određena svojta i svojta određena korištenjem alata BOLD baze (BOLD Id Engine). Br. OTU-sa i BIN-ova kojima pripada pojedini uzorak. Zadebljanim slovima označen je novi unos svojte u BOLD bazu.

Br. uzorka	Br. OTU	DNA kod	Vrsta (određena morfološki)	Lokalitet	Taksonomska oznaka i postotak genetske sličnosti s najrodnijom sekvencom u BOLD bazi (%)	Br. BIN
113.	43.	TWCOP_2	<i>Wormaldia copiosa</i>	rijeka Čabranka (izvor) - Čabar	<i>Wormaldia copiosa</i> 99.84	46
114.	44.	TWOCI_1	<i>Wormaldia occipitalis</i>	potok Bliznec (srednji tok) - javna ustanova PP Medvednica	<i>Wormaldia occipitalis</i> 99.23	47
115.		TWOCI_4	<i>Wormaldia occipitalis</i>	izvor Napojište – Plitvički Ljeskovac	<i>Wormaldia occipitalis</i> 99.20	
116.		TWOC_3	<i>Wormaldia occipitalis</i>	izvor Škodinovac - Bastaji	<i>Wormaldia occipitalis</i> 99.67	
117.		TWOCI_6	<i>Wormaldia occipitalis</i>	izvor Bijela stijena, Petrovac, Petrinja	<i>Wormaldia occipitalis</i> 99.37	
118.	45.	TWPUL_1	<i>Wormalidia pulla</i>	potok Bliznec (srednji tok) - javna ustanova PP Medvednica	<i>Wormalidia pulla</i> 98.92%	48
119.	46.	TWSUB_1	<i>Wormaldia subnigra</i>	rijeka Mrežnica – Belavići	<i>Wormaldia subnigra</i> - 99.39	49
120.		TWSUP_2	<i>Wormaldia subnigra</i>	izvor Čerišnjevac - Pazin	<i>Wormaldia subnigra</i> 99.52	
121.		TWSUB_3	<i>Wormaldia subnigra</i>	jezero Milanovac - NP Plitvička jezera	<i>Wormaldia subnigra</i> 99.61	
122.	47.	TWSUB_2	<b><i>Wormaldia subterranea</i></b>	potok Konavočica (srednji tok) - Palje, Konavle	<i>Wormaldia subnigra</i> 98.56	50
123.	48.	TCLEP_2	<i>Cheumatopsyche lepida</i>	rijeka Mirna - Livade	<i>Cheumatopsyche lepida</i> 100	51
124.	49.	TDATR_1	<b><i>Diplectrona sp. nov 1</i></b>	potok Kopačica (izvor) - Palje, Konavle	<i>Diplectrona atra</i> 90.85	52
125.		TDATR_2	<i>Diplectrona sp. nov 1</i>	potok Kopačica (izvor) –Vodovođe, Palje, Konavle	<i>Diplectrona atra</i> 90.98	
126.		TDATR_3	<i>Diplectrona sp. nov 1</i>	rijeka Ljuta (izvor) - Konavle	<i>Diplectrona atra</i> 90.98	
127.		TDATR_4	<i>Diplectrona sp. nov 1</i>	rijeka Ljuta (izvor) - Konavle	<i>Diplectrona atra</i> 90.75	
128.	50.	DATH_1	<b><i>Diplectrona sp. nov. 2</i></b>	Gospin potok - Šumarska kuća Duboka, Velika, Papuk	<i>Diplectrona atra</i> : 88.76	53
129.		DATH_3	<i>Diplectrona sp. nov. 2</i>	Gospin potok - Šumarska kuća Duboka, Velika, Papuk	<i>Diplectrona atra</i> : 88.76	
130.		DATH_4	<i>Diplectrona sp. nov. 2</i>	Gospin potok - Šumarska kuća Duboka, Velika, Papuk	<i>Diplectrona atra</i> : 88.76	
131.		DATH_6	<i>Diplectrona sp. nov. 2</i>	potok Dubočanka - Papuk	<i>Diplectrona atra</i> : 88.7	
132.		DATH_8	<i>Diplectrona sp. nov. 2</i>	potok Dubočanka - Papuk	<i>Diplectrona atra</i> : 88.76	
133.		DATH_9	<i>Diplectrona sp. nov. 2</i>	potok Dubočanka - Papuk	<i>Diplectrona atra</i> : 88.76	
134.		DATH_10	<i>Diplectrona sp. nov. 2</i>	potok Dubočanka - Papuk	<i>Diplectrona atra</i> : 89.36	
135.	51.	THANG_1	<i>Hydropsyche angustipennis</i>	rijeka Baranjska Karašica (donji tok) - Popovac	<i>Hydropsyche angustipennis</i> 100	54
136.		THANG_2	<i>Hydropsyche angustipennis</i>	potok Dubračina, Tribalj	<i>Hydropsyche angustipennis</i> 99.16	
137.		THANG_3	<i>Hydropsyche angustipennis</i>	potok Dubračina, Tribalj	<i>Hydropsyche angustipennis</i> 99.13	
138.	52.	THBUL_1	<i>Hydropsyche bulbifera</i>	potok Bistra (srednji tok) - Bistra, Medvednica	<i>Hydropsyche bulbifera</i> - 98.31	55
139.		THBUL_3	<i>Hydropsyche bulbifera</i>	rijeka Gacka (srednji tok) - Otočac	<i>Hydropsyche bulbifera</i> 100	56

PRILOG 19. Popis primjeraka tulara iz Hrvatske koji su DNA barkodirani. Uz svaki primjerak s jedinstvenim DNA kodom navedena je morfološki određena svojta i svojta određena korištenjem alata BOLD baze (BOLD Id Engine). Br. OTU-sa i BIN-ova kojima pripada pojedini uzorak. Zadebljanim slovima označen je novi unos svojte u BOLD bazu.

Br. uzorka	Br. OTU	DNA kod	Vrsta (određena morfološki)	Lokalitet	Taksonomska oznaka i postotak genetske sličnosti s najrodnijom sekvencom u BOLD bazi (%)	Br. BIN
140.	53.	THBUL_1a	<i>Hydropsyche bulgaromanorum</i>	rijeka Dunav - Zlatna Greda	<i>Hydropsyche bulgaromanorum</i> 99.84	57
141.		THBUL_2	<i>Hydropsyche bulgaromanorum</i>	rijeka Dunav - Zlatna Greda	<i>Hydropsyche bulgaromanorum</i> 98.59	
142.	54.	THCON_1	<i>Hydropsyche conturbenalis</i>	rijeka Sava (srednji tok) - Orle	<i>Hydropsyche conturbenalis</i> - 100	58
143.		TCHE_1	<i>Hydropsyche conturbenalis</i>	rijeka Mura (donji tok) - Goričan	<i>Hydropsyche contubernalis</i> 99.84	
144.		THCON_2	<i>Hydropsyche conturbenalis</i>	potok Bistra (srednji tok) - Bistra, Medvednica	<i>Hydropsyche contubernalis</i> 99.52	
145.		THCON_3	<i>Hydropsyche conturbenalis</i>	Rijeka Sunja - Kukuruzari	<i>Hydropsyche contubernalis</i> 100	
146.	55.	THDIN_1	<i>Hydropsyche dinarica</i>	rijeka Čabranka (izvor) - most nizvodno od Čabra	<i>Hydropsyche dinarica</i> 93.5	59
147.	56.	THINS_8	<i>Hydropsyche fulvipes</i>	potok Konavočica (srednji tok) - Palje, Konavle	<i>Hydropsyche fulvipes</i> 98.15	60
148.	57.	THINC_5	<i>Hydropsyche incognita</i>	rijeka Voćnska (izvor) - Voćin	<i>Hydropsyche incognita</i> 100	61
149.		THINC_3	<i>Hydropsyche incognita</i>	rijeka Toplica - Batinjani, Papuk	<i>Hydropsyche incognita</i> 99.25	
150.		THINC_11	<i>Hydropsyche incognita</i>	rijeka Dobra, ušće - Priselci	<i>Hydropsyche incognita</i> 99.84	
151.	58.	THINS_3	<i>Hydropsyche instabilis</i>	rijeka Cetina - Čikotina lađa	<i>Hydropsyche instabilis</i> 100	62
152.		THINS_2	<i>Hydropsyche instabilis</i>	potok Velika Paklenica-Anića kuk	<i>Hydropsyche instabilis</i> 100	
153.		THINS_4	<i>Hydropsyche instabilis</i>	rijeka Riječina (izvor)	<i>Hydropsyche instabilis</i> 100	
154.		THINS_5	<i>Hydropsyche instabilis</i>	potok Plitvice, izvor - Plitvica Selo	<i>Hydropsyche instabilis</i> 99.84	
155.		THINS_6	<i>Hydropsyche instabilis</i>	rijeka Grab, izvor - Sinj	<i>Hydropsyche instabilis</i> 100	
156.		THINS_7	<i>Hydropsyche instabilis</i>	rijeka Cetina - Čikotina lađa	<i>Hydropsyche instabilis</i> 99.98	
157.		THINS_9	<i>Hydropsyche instabilis</i>	rijeka Dobra -izvor	<i>Hydropsyche instabilis</i> 100	
158.		THINS_10	<i>Hydropsyche instabilis</i>	jezero Brljan – NP Krka	<i>Hydropsyche instabilis</i> 100	
159.		THINS_11	<i>Hydropsyche instabilis</i>	jezero Crna Mlaka	<i>Hydropsyche instabilis</i> 99.58	
160.		THYD_1	<i>Hydropsyche instabilis</i>	jezero Crna Mlaka	<i>Hydropsyche instabilis</i> 100	
161.		59.	THMOD_1	<i>Hydropsyche modesta</i>	rijeka Sava - Drenje Brdovečko	
162.	60.	THMOS_1	<i>Hydropsyche mostarensis</i>	rijeka Krka - HE Miljacka	<i>Hydropsyche mostarensis</i> 99.34	64
163.	61.	THINC_1a	<i>Hydropsyche pellucidula pellucidula</i>	jezero Crna Mlaka	<i>Hydropsyche pellucidula</i> 100	65
164.		THINS_1	<i>Hydropsyche pellucidula</i>	izvor Vitunjčice	<i>Hydropsyche pellucidula</i> 100	
165.		THPEL_2	<i>Hydropsyche pellucidula</i>	jezero Ponikve - otok Krk	<i>Hydropsyche pellucidula</i> 98.2	
166.		THPEL_1	<i>Hydropsyche pellucidula</i>	rijeka Mirna - Livade	<i>Hydropsyche pellucidula</i> 99.82	
167.	62.	THSAX_2	<i>Hydropsyche saxonica</i>	potok Vrba (izvor) - Muć	<i>Hydropsyche saxonica</i> 100	66

PRILOG 19. Popis primjeraka tulara iz Hrvatske koji su DNA barkodirani. Uz svaki primjerak s jedinstvenim DNA kodom navedena je morfološki određena svojta i svojta određena korištenjem alata BOLD baze (BOLD Id Engine). Br. OTU-sa i BIN-ova kojima pripada pojedini uzorak. Zadebljanim slovima označen je novi unos svojte u BOLD bazu.

Br. uzorka	Br. OTU	DNA kod	Vrsta (određena morfološki)	Lokalitet	Taksonomska oznaka i postotak genetske sličnosti s najrodnijom sekvencom u BOLD bazi (%)	Br. BIN
168.		THSAX_3	<i>Hydropsyche saxonica</i>	potok Mlini (srednji tok) – Ugrini	<i>Hydropsyche saxonica</i> 100	
169.		THSAX_4	<i>Hydropsyche saxonica</i>	rijeka Milka Trnina	<i>Hydropsyche saxonica</i> 100	
170.		THSAX_1	<i>Hydropsyche saxonica</i>	rijeka Toplica - Batinjani, Papuk	<i>Hydropsyche saxonica</i> 99.84	
171.	63.	TCTRI_1	<i>Cyrnus trimaculatus</i>	rijeka Lika (srednji tok) - Bilaj	<i>Cyrnus trimaculatus</i> 99.84	67
172.		TPFLA_2	<i>Cyrnus trimaculatus</i>	rijeka Lika (srednji tok) - Bilaj	<i>Cyrnus trimaculatus</i> 99.84	
173.		TCTRI_3	<i>Cyrnus trimaculatus</i>	rijeka Dobra - Lešće	<i>Cyrnus trimaculatus</i> 100	
174.		TCTRI_4	<i>Cyrnus trimaculatus</i>	rijeka Bednja - Ivanečka Železnica, Ivanec	<i>Cyrnus trimaculatus</i> 100	
175.		TCTRI_5	<i>Cyrnus trimaculatus</i>	rijeka Krka - NP Krka, desna obala, pristanište za brodove	<i>Cyrnus trimaculatus</i> 99.68	
176.		TCTRI_6	<i>Cyrnus trimaculatus</i>	izvor Čerišnjevac - Pazin	<i>Cyrnus trimaculatus</i> 99.84	
177.	64.	TPOL_1a	<i>Neureclipsis bimaculata</i>	jezero Crna Mlaka	<i>Neureclipsis bimaculata</i> 100	68
178.	65.	TPBRE_1	<i>Plectrocnemia brevis</i>	rijeka Dobra izvor - Mala Dobra	<i>Plectrocnemia brevis</i> 98.39	69
179.	66.	TPCON_2	<i>Plectrocnemia conspersa</i>	izvor na Bjelolasci	<i>Plectrocnemia conspersa</i> 100	70
180.		TPCON_4	<i>Plectrocnemia conspersa</i>	izvor Drakulić rijeke	<i>Plectrocnemia conspersa</i> 100	
181.		TPCON_5	<i>Plectrocnemia conspersa</i>	izvor potoka Plitvice	<i>Plectrocnemia conspersa</i> 99.75	
182.		TPCON_6	<i>Plectrocnemia conspersa</i>	rijeka Dobra izvor - Mala Dobra	<i>Plectrocnemia conspersa</i> 99.83	
183.	67.	TPEXC_1	<i>Polycentropus excisus</i>	rijeka Ljuta (srednji tok) - Konavle	<i>Polycentropus excisus</i> (99.67%)	71
184.		POL_2	<i>Polycentropus excisus</i>	Gospin potok - Šumarska kuća Duboka, Velika, Papuk	<i>Polycentropus excisus</i> 99.67	
185.	68.	TPFLA_3	<i>Polycentropus flavomaculatus</i>	rijeka Dobra - Lešće	<i>Polycentropus flavomaculatus</i> 99.84	72
186.		TPCON_1	<i>Polycentropus flavomaculatus</i>	rijeka Zrmanja (izvor)	<i>Polycentropus flavomaculatus</i> 99.67	
187.		TPLE_1	<i>Polycentropus flavomaculatus</i>	potok Mlini (izvor)	<i>Polycentropus flavomaculatus</i> 99.83	
188.	69.	TPIRR_1	<i>Polycentropus irroratus</i>	rijeka Mrežnica – Belavići	<i>Polycentropus irroratus</i> 99.85	73
189.		TPIRR_2	<i>Polycentropus irroratus</i>	rijeka Rudnica, izvor - Ožanići	<i>Polycentropus irroratus</i> , 99.84	
190.		TPFLA_1	<i>Polycentropus irroratus</i>	rijeka Butišnica (srednji tok) - Golubić (uzvodno)	<i>Polycentropus irroratus</i> 99.35	
191.	70.	TPSCH_1	<i>Polycentropus schmidi</i>	potok između Gvozdenskog i Rujevca	<i>Polycentropus schmidi</i> - 99.69	74
192.	71.	TETEN_1	<i>Ecnomus tenellus</i>	Vransko jezero-otok Cres	<i>Ecnomus tenellus</i> 100	75
193.		TETEN_2	<i>Ecnomus tenellus</i>	jezero Kutina-Badžule	<i>Ecnomus tenellus</i> 99.69	
194.		TETEN_3	<i>Ecnomus tenellus</i>	rijeka Dobra - Trošmarija	<i>Ecnomus tenellus</i> 100	
195.		TETEN_5	<i>Ecnomus tenellus</i>	rijeka Krka - Visovac, pristanište na desnoj obali	<i>Ecnomus tenellus</i> 99.69	

PRILOG 19. Popis primjeraka tulara iz Hrvatske koji su DNA barkodirani. Uz svaki primjerak s jedinstvenim DNA kodom navedena je morfološki određena svojta i svojta određena korištenjem alata BOLD baze (BOLD Id Engine). Br. OTU-sa i BIN-ova kojima pripada pojedini uzorak. Zadebljanim slovima označen je novi unos svojte u BOLD bazu.

Br. uzorka	Br. OTU	DNA kod	Vrsta (određena morfološki)	Lokalitet	Taksonomska oznaka i postotak genetske sličnosti s najrodnijom sekvencom u BOLD bazi (%)	Br. BIN
196.	72.	TLRED_1	<i>Lype reducta</i>	rijeka Krupa (donji tok) - Manastir	<i>Lype reducta</i> 100	76
197.		TLRED_3	<i>Lype reducta</i>	izvor Čerišnjevac - Pazin	<i>Lype reducta</i> 97.97	
198.		TLRED_4	<i>Lype reducta</i>	jezero Milanovac - NP Plitvička jezera	<i>Lype reducta</i> 99.07	
199.	73.	TPKLA_1	<b><i>Psychomyia klapaleki</i></b>	rijeka Vitunjčica (izvor)	<i>Psychomyia morisitai</i> 86.41, <i>Paduniella sp.</i> 86.41	77
200.		TPKLA_2	<i>Psychomyia klapaleki</i>	rijeka Gacka (srednji tok) - Otočac	<i>Psychomyia morisitai</i> 85.69	
201.	74.	TPPUS_2	<i>Psychomyia pusilla</i>	Mura, Martin na Muri	<i>Psychomyia pusilla</i> 100	78
202.		TPPUS_3	<i>Psychomyia pusilla</i>	rijeka Rijeka - Bastaji, Papuk	<i>Psychomyia pusilla</i> 100	
203.		TPPUS_5	<i>Psychomyia pusilla</i>	potok između Gvozdenskog i Rujavica	<i>Psychomyia pusilla</i> 100	
204.		TPPUS_6	<i>Psychomyia pusilla</i>	rijeka Kupa (gornji tok) - Brod na Kupi	<i>Psychomyia pusilla</i> 98.21	
205.		TPPUS_7	<i>Psychomyia pusilla</i>	rijeka Dobra, ušće - Priselci	<i>Psychomyia pusilla</i> 100	
206.		TPPUS_8	<i>Psychomyia pusilla</i>	Prošćansko jezero, most - NP Plitvička jezera	<i>Psychomyia pusilla</i> 100	
207.	75.	TPPUS_4	<i>Psychomyia sp.</i>	potok Dubračina, Tribalj	<i>Psychomyia pusilla</i> 90.32	79
208.		TPPUS_1	<i>Psychomyia sp.</i>	rijeka Kupa (srednji tok) - Pribanjci	<i>Psychomyia pusilla</i> 90.55	
209.	76.	TTANT_1	<b><i>Tinodes antonioi</i></b>	potok Roč (izvor) - Marušići	<i>Tinodes n. sp. nr. turanicus</i> 89.1	80
210.		TTIN_1	<i>Tinodes antonioi</i>	potok Roč (izvor) - Marušići	<i>Tinodes n. sp. nr. turanicus</i> 89.1	
211.		TTIN_2	<i>Tinodes antonioi</i>	potok Roč (izvor) - Marušići	<i>Tinodes n. sp. nr. turanicus</i> 88.75	
212.	77.	TTBRA_1	<i>Tinodes braueri</i>	rijeka Krupa (donji tok) - Manastir	<i>Tinodes braueri</i> 98.59	81
213.		TTBRA_2	<i>Tinodes braueri</i>	rijeka Krka - Roški slap	<i>Tinodes braueri</i> 99.84	
214.	78.	TTDIV_1	<i>Tinodes dives</i>	rijeka Una (izvor)	<i>Tinodes dives</i> 98.37	82
215.	79.	TTPAL_1	<i>Tinodes pallidulus</i>	potok Roč (izvor) - Marušići	<i>Tinodes pallidulus</i> 97.82	83
216.		TTPAL_2	<i>Tinodes pallidulus</i>	potok Trsteno - Trsteno	<i>Tinodes pallidulus</i> 99.68	
217.		TRIC_5	<i>Tinodes pallidulus</i>	rijeka Krka - HE Miljacka	<i>Tinodes pallidulus</i> 99.52	
218.	80.	TTROS_1	<i>Tinodes rostocki</i>	potok Jankovac (gornji tok) - zapadno od Orahovca, Papuk	<i>Tinodes rostocki</i> 100	84
219.	81.	TTUNI_1a	<i>Tinodes unicolor</i>	potok Šumi (izvor) – Ivančica	<i>Tinodes unicolor</i> 100	85
220.		TTUNI_2	<i>Tinodes unicolor</i>	potok Vrba (izvor) - Muć	<i>Tinodes unicolor</i> 98.94	
221.		TTUNI_3	<i>Tinodes unicolor</i>	izvor Čerišnjevac - Pazin	<i>Tinodes unicolor</i> 99.82	
222.		TTUNI_4	<i>Tinodes unicolor</i>	izvor Rabac	<i>Tinodes unicolor</i> 99.52	



PRILOG 19. Popis primjeraka tulara iz Hrvatske koji su DNA barkodirani. Uz svaki primjerak s jedinstvenim DNA kodom navedena je morfološki određena svojta i svojta određena korištenjem alata BOLD baze (BOLD Id Engine). Br. OTU-sa i BIN-ova kojima pripada pojedini uzorak. Zadebljanim slovima označen je novi unos svojte u BOLD bazu.

Br. uzorak	Br. OTU	DNA kod	Vrsta (određena morfološki)	Lokalitet	Taksonomska oznaka i postotak genetske sličnosti s najrodnijom sekvencom u BOLD bazi (%)	Br. BIN
223.		TPKLA_4	<i>Tinodes unicolor</i>	izvor Rabac	<i>Tinodes unicolor</i> 99.55	
224.	82.	TTWAE_1	<i>Tinodes waeneri</i>	potok Roč (izvor) - Marušići	<i>Tinodes waeneri</i> 99.69	86
225.		TTWAE_3	<i>Tinodes waeneri</i>	rijeka Krka - NP Krka, desna obala, pristanište za brodove	<i>Tinodes waeneri</i> 98.71	
226.		TTWAE_4	<i>Tinodes waeneri</i>	rijeka Krka - NP Krka, desna obala, pristanište za brodove	<i>Tinodes waeneri</i> 98.71	
227.		TTWAE_5	<i>Tinodes waeneri</i>	jezero Gavanovac, Plitvička jezera	<i>Tinodes waeneri</i> 98.21	
228.		TTWAE_2	<i>Tinodes waeneri</i>	Vransko jezero, otok Cres	<i>Tinodes waeneri</i> 98.37	
229.		83.	TAVAR_1	<i>Agrypnia varia</i>	rijeka Mura (donji tok) - Goričan	
230.	TAVAR_2		<i>Agrypnia varia</i>	izvor Grude	<i>Agrypnia varia</i> 99.84	
231.	TAVAR_3		<i>Agrypnia varia</i>	jezero Kozjak, pristanište - NP Plitvička jezera	<i>Agrypnia varia</i> 99.81	
232.	84.	TPBIN_1	<i>Phryganea bipunctata</i>	Drava, Gornji Hrašćan	<i>Phryganea bipunctata</i> 100	88
233.	85.	TPGRA_1	<i>Phryganea grandis</i>	rijeka Dunav - Zlatna Greda	<i>Phryganea grandis</i> 99.05	89
234.	86.	TTMIN_1	<i>Trichostegia minor</i>	Gacka izvor, Mejervo vrilo	<i>Trichostegia minor</i> 98.93	90
235.	87.	TMSET_1	<i>Micrasema setiferum</i>	rijeka Kupa (gornji tok) - Brod na Kupi	<i>Micrasema setiferum</i> 100	91
236.		TMICRA_1	<i>Micrasema setiferum</i>	rijeka Čabranka (donji tok, ušće)	<i>Micrasema setiferum</i> 99.62	
237.		TMICA_2	<i>Micrasema setiferum</i>	rijeka Korana (srednji tok) - Veljun	<i>Micrasema setiferum</i> 99.84	
238.	88.	TBMON_1	<i>Brachycentrus montanus</i>	rijeka Čabranka (donji tok, ušće)	<i>Brachycentrus montanus</i> 99.05	92
239.		TBSUB_1	<i>Brachycentrus subnubilus</i>	rijeka Čabranka - nizvodno od Mandli	<i>Brachycentrus montanus</i> 100	
240.	89.	TAAUR_1	<i>Allogamus auricollis</i>	rijeka Una (izvor)	<i>Allogamus auricollis</i> 96.83	93
241.	90.	TAFUR_1	<i>Anabolia furcata</i>	potok Jankovac (gornji tok) - zapadno od Orahovca, Papuk	<i>Anabolia furcata</i> 99.85%, <i>Anabolia laevis</i> 99.39 %	94
242.	91.	TAAPF_1	<i>Annitella apfelbecki</i>	rijeka Zrmanja (izvor)	<i>Annitella esparraguera</i> 95.69	95
243.	92.	TAAPF_2	<i>Chaetopteryx bosniaca</i>	rijeka Cetina (izvor) - Glavaš	<i>Chaetopteryx sp.</i> 98.87	96
244.	93.	TCFUS_1	<i>Chaetopteryx fusca</i>	izvor Žagorske Mrežnice	<i>Chaetopteryx villosa x sahlbergi</i> 99.68	
245.	94.	TCMAJ_1	<i>Chaetopteryx major</i>	potok Šumetlica (izvor) - Psunj	<i>Chaetopteryx major</i> 99.35	97
246.	95.	TCSCH_1	<i>Chaetopteryx rugulosa</i>	potok Jankovac (izvor) - zapadno od Orahovca, Papuk	<i>Chaetopteryx rugulosa</i> 99.08	98
247.		TCSCH_2	<i>Chaetopteryx rugulosa</i>	izvor Škodinovac - Bastaji.	<i>Chaetopteryx rugulosa rugulosa</i> 98.58	
248.		TCPSU_1f	<i>Chaetopteryx rugulosa</i>	potok Šumetlica - Psunj	<i>Chaetopteryx sp iz HR</i> ) 97.97	
249.		TCPSU_2m	<i>Chaetopteryx rugulosa</i>	potok Šumetlica - Psunj	<i>Chaetopteryx sp iz HR rugulosa</i> ) 99.85	

PRILOG 19. Popis primjeraka tulara iz Hrvatske koji su DNA barkodirani. Uz svaki primjerak s jedinstvenim DNA kodom navedena je morfološki određena svojta i svojta određena korištenjem alata BOLD baze (BOLD Id Engine). Br. OTU-sa i BIN-ova kojima pripada pojedini uzorak. Zadebljanim slovima označen je novi unos svojte u BOLD bazu.

Br. uzorak	Br. OTU	DNA kod	Vrsta (određena morfološki)	Lokalitet	Taksonomska oznaka i postotak genetske sličnosti s najrodnijom sekvencom u BOLD bazi (%)	Br. BIN
250.		TAGA_3	<i>Chaetopteryx rugulosa</i>	potok Vrklješće, izvor - Velika Rakovic, Samoborsko gorje	<i>Chaetopteryx rugulosa rugulosa</i> 100	99
251.		TAGA_2	<i>Chaetopteryx rugulosa</i>	potok Vrklješće, izvor - Velika Rakovic, Samoborsko gorje	<i>Chaetopteryx rugulosa rugulos</i> 99.08	
252.	96.	TDCRO_1	<b><i>Drusus croaticus</i></b>	rijeka Vitunjčica (izvor)	<i>Drusus monticola</i> 92.9	100
253.		TDRU_1	<i>Drusus croaticus</i>	izvor na Keljevo brdo - Korenica	<i>Drusus monticola</i> 93.40	
254.		TDCRO_2	<i>Drusus croaticus</i>	izvor na Bjelolasici	<i>Drusus monticola</i> 93.69	
255.		TDCRO_3	<i>Drusus croaticus</i>	Gacka izvor, Mejervo vrilo	<i>Drusus monticola</i> 93.63	
256.		TDCRO_4	<i>Drusus croaticus</i>	Gacka izvor, Mejervo vrilo	<i>Drusus monticola</i> 93.43	
257.	97.	TDCHR_1	<i>Drusus chrysotus</i>	izvor Dobre	<i>Drusus chrysotus</i> 94.28	101
258.	98.	TDDIS_1	<i>Drusus discolor</i>	rijeka Čabranka (izvor) - Čabar	<i>Drusus discolor</i> 98.87	102
259.	99.	TDSCH_1	<i>Drusus schmidi</i>	potok Jankovac (izvor) - zapadno od Orahovca, Papuk	<i>Drusus schmidi</i> 100	103
260.		TDSCH_3	<i>Drusus schmidi</i>	rijeka Veličanka - uzvodno od Požege	<i>Drusus schmidi</i> 99.67	
261.	100.	TDVES_1	<i>Drusus vespertinus</i>	rijeka Una (izvor)	<i>Drusus vespertinus</i> 97.99	104
262.	101.	TEIVK_1	<i>Ecclisopteryx ivkae</i>	rijeka Cetina (izvor) - Glavaš	<i>Ecclisopteryx ivkae</i> 100	105
263.	102.	TEKER_1	<i>Ecclisopteryx keroveci</i>	rijeka Dretulja (srednji tok) - Plaški	<i>Ecclisopteryx keroveci</i> 98.93%	106
264.		TED_1	<i>Ecclisopteryx keroveci</i>	rijeka Veličanka - uzvodno od Požege	<i>Ecclisopteryx keroveci</i> 98.91	
265.		TEKER_3	<i>Ecclisopteryx keroveci</i>	rijeka Kupa (gornji tok) - Brod na Kupi	<i>Ecclisopteryx keroveci</i> 99.05	
266.	103.	TGPEL_1	<i>Glyphotaelius pellucidus</i>	Bijeli potoci - Kamensko, Korenica	<i>Glyphotaelius pellucidus</i> 99.52	107
267.		TGPEL_2	<i>Glyphotaelius pellucidus</i>	potok Jelinska-Gornja Jelinska	<i>Glyphotaelius pellucidus</i> 99.81	
268.		TRBAL_3	<i>Glyphotaelius pellucidus</i>	potok pritok Cetine (izvor Nela) - Civljane	<i>Glyphotaelius pellucidus</i> 99.36	
269.		TGPAL_4	<i>Glyphotaelius pellucidus</i>	izvor Napojište – Plitvički Ljeskovac	<i>Glyphotaelius pellucidus</i> 100	
270.		TGPEL_5	<i>Glyphotaelius pellucidus</i>	izvor Bijela stijena, Petrovac, Petrinja	<i>Glyphotaelius pellucidus</i> 99.22	
271.	104.	TGNIG_3	<i>Grammotaulius nigropunctatus</i>	Bijeli potoci - Kamensko, Korenica	<i>Grammotaulius nigropunctatus</i> 99.84	108
272.	105.	THDIG_1	<i>Halesus digitatus</i>	rijeka Zrmanja (izvor)	<i>Halesus digitatus</i> 100	109
273.		THDIG_3	<i>Halesus digitatus</i>	rijeka Veličanka - uzvodno od Požege	<i>Halesus digitatus</i> 99.68	
274.		THDIG_2	<i>Halesus digitatus</i>	rijeka Riječina (izvor)	<i>Halesus digitatus</i> 99.68	
275.		THDIG_4	<i>Halesus digitatus</i>	izvor Crne rijeke - Plitvička jezera	<i>Halesus digitatus</i> 99.84	
276.			THTES_1	<i>Halesus digitatus</i>	rijeka Bosut (donji tok) - lokacija na cesti Rokovci - Andrijaševci	
277.		THTES_2	<i>Halesus digitatus</i>	rijeka Velika rijeka (Kutjevačka rijeka) (izvor) - Krndija	<i>Halesus digitatus</i> 99.36	

PRILOG 19. Popis primjeraka tulara iz Hrvatske koji su DNA barkodirani. Uz svaki primjerak s jedinstvenim DNA kodom navedena je morfološki određena svojta i svojta određena korištenjem alata BOLD baze (BOLD Id Engine). Br. OTU-sa i BIN-ova kojima pripada pojedini uzorak. Zadebljanim slovima označen je novi unos svojte u BOLD bazu.

Br. uzorka	Br. OTU	DNA kod	Vrsta (određena morfološki)	Lokalitet	Taksonomska oznaka i postotak genetske sličnosti s najrodnijom sekvencom u BOLD bazi (%)	Br. BIN
278.		THTES_3	<i>Halesus digitatus</i>	rijeka Rijeka - Bastaji, Papuk	<i>Halesus digitatus</i> 99.68	
279.		THTES_4	<i>Halesus digitatus</i>	potok Peratovica (srednji tok) - Bilogora	<i>Halesus digitatus</i> 99.52	
280.	106.	TATES_1	<i>Halesus tessellatus</i>	rijeka Krapina (srednji tok) - Krapina Selo	<i>Halesus tessellatus</i> 99.84	110
281.	107.	TIDUB_1	<i>Ironoquia dubia</i>	rijeka Drava (srednji tok) - Terezino Polje	<i>Ironoquia dubia</i> 99.23	111
282.		TIRO_1	<i>Ironoquia dubia</i>	potok Peratovica (izvor) - V. Peratovica, Bilogora	<i>Ironoquia dubia</i> 99.16	
283.	108.	TLAFI_1	<i>Limnephilus affinis</i>	rijeka Kupa (donji tok) - Brest	<i>Limnephilus affinis</i> 100	112
284.	109.	TLAUR_1	<i>Limnephilus auricula</i>	rijeka Una (gornji tok) - Srb	<i>Limnephilus auricula</i> 100	113
285.	110.	TLBIN_1	<i>Limnephilus bipunctatus</i>	rijeka Dunav - Zlatna Greda	<i>Limnephilus bipunctatus</i> 99.24	114
286.	111.	TLEXT_1	<i>Limnephilus extricatus</i>	rijeka Lika (izvor)	<i>Limnephilus extricatus</i> 99.84	115
287.	112.	TLFLU_1	<i>Limnephilus flavicornis</i>	rijeka Odra (donji tok) - livade Selce	<i>Limnephilus flavicornis</i> 100	116
288.		TLFLU_2	<i>Limnephilus flavicornis</i>	rijeka Kupa (donji tok) - Brest	<i>Limnephilus flavicornis</i> 100	
289.		TLFLA_1	<i>Limnephilus flavomaculatus</i>	rijeka Gacka (izvor) - Mejerovo vrilo	<i>Limnephilus flavicornis</i> 99.19	
290.	113.	TLGRA_1	<i>Limnephilus graecus</i>	jezero Kuti - Komin	<i>Limnephilus graecus</i> 99.85	117
291.		TLGRA_2	<i>Limnephilus graecus</i>	Neretva, Opuzen	<i>Limnephilus graecus</i> 99.85	
292.	114.	TLGRI_1	<i>Limnephilus griseus</i>	rijeka Krapina (srednji tok) - Krapina Selo	<i>Limnephilus griseus</i> 100	118
293.	115.	TLIGN_1	<i>Limnephilus ignavus</i>	rijeka Dretulja (srednji tok) - Plaški	<i>Limnephilus ignavus</i> 99.07	119
294.		TLING_2	<i>Limnephilus ignavus</i>	izvor na Keljevo brdo - Korenica	<i>Limnephilus ignavus</i> 99.21	
295.	116.	TLINC_2	<i>Limnephilus hirsutus</i>	potok Vrba (izvor) - Muć	<i>Limnephilus hirsutus</i> 98.7	120
296.		TLHIR_1	<i>Limnephilus hirsutus</i>	izvor na Keljevo brdo - Korenica	<i>Limnephilus hirsutus</i> 99.68	
297.		TLIM_6	<i>Limnephilus hirsutus</i>	izvor Ružicov	<i>Limnephilus hirsutus</i> (99.36%)	
298.	117.	TLLUN_1	<i>Limnephilus lunatus</i>	izvor na Keljevo brdo - Korenica	<i>Limnephilus lunatus</i> 99.51	121
299.		TLLUN_2	<i>Limnephilus lunatus</i>	potoka Plitvice, izvor - Plitvica Selo	<i>Limnephilus lunatus</i> 100	
300.		TLLUN_3	<i>Limnephilus lunatus</i>	rijeka Grab, izvor - Sinj	<i>Limnephilus lunatus</i> 99.84	
301.	118.	TGNIG_1	<i>Limnephilus marmoratus</i>	rijeka Mirna - Kotli	<i>Limnephilus marmoratus</i> 99.85	122
302.		TGNIG_2	<i>Limnephilus marmoratus</i>	rijeka Raša - izvor Grdak	<i>Limnephilus marmoratus</i> 98.9	
303.		TLMAR_1	<i>Limnephilus marmoratus</i>	rijeka Krka - NP Krka, desna obala, pristanište za brodove	<i>Limnephilus marmoratus</i> 99.84	
304.		TLMAR_2	<i>Limnephilus marmoratus</i>	rijeka Krka - NP Krka, desna obala, pristanište za brodove	<i>Limnephilus marmoratus</i> 99.84	
305.	119.	TLROM_1	<i>Limnephilus rhombicus</i>	rijeka Gacka (srednji tok) - Otočac	<i>Limnephilus rhombicus</i> 99.84	123

PRILOG 19. Popis primjeraka tulara iz Hrvatske koji su DNA barkodirani. Uz svaki primjerak s jedinstvenim DNA kodom navedena je morfološki određena svojta i svojta određena korištenjem alata BOLD baze (BOLD Id Engine). Br. OTU-sa i BIN-ova kojima pripada pojedini uzorak. Zadebljanim slovima označen je novi unos svojte u BOLD bazu.

Br. uzorak	Br. OTU	DNA kod	Vrsta (određena morfološki)	Lokalitet	Taksonomska oznaka i postotak genetske sličnosti s najrodnijom sekvencom u BOLD bazi (%)	Br. BIN
306.		TLRHO_2	<i>Limnephilus rhombicus</i>	potok Štirovača (gornji tok, izvor) - srednji Velebit	<i>Limnephilus rhombicus</i> 99.84	
307.		TLRHO_5	<i>Limnephilus rhombicus</i>	rijeka Gacka (izvor) - Mejerovo vrilo	<i>Limnephilus rhombicus</i> 99.36	
308.		TLIM_8	<i>Limnephilus rhombicus</i>	Baške Oštarije	<i>Limnephilus rhombicus</i> 99.84	
309.	120.	TLSPA_1	<i>Limnephilus sparsus</i>	rijeka Lika (izvor)	<i>Limnephilus sparsus</i> 100	124
310.		TLSPA_2	<i>Limnephilus sparsus</i>	rijeka Dretulja (srednji tok) - Plaški	<i>Limnephilus sparsus</i> 100	
311.	121.	TLVIT_1	<i>Limnephilus vittatus</i>	izvor na Keljevo brdo - Korenica	<i>Limnephilus vittatus</i> 99.84	125
312.	122.	TMASP_3	<i>Mesophylax aspersus</i>	izvor Rabac	<i>Mesophylax aspersus</i> 99.38	126
313.		TMASP_4	<i>Mesophylax aspersus</i>	izvor Rabac	<i>Mesophylax aspersus</i> 100	
314.		TMLAT_1	<i>Micropterna lateralis</i>	rijeka Lika (izvor)	<i>Stenophylax lateralis</i> 98.46	
315.	123.	TMLAT_1f	<i>Micropterna lateralis</i>	rijeka Lika (izvor)	<i>Stenophylax lateralis</i> 100	127
316.		TMLAT_2	<i>Micropterna lateralis</i>	potok Peratovica (srednji tok) - Bilogora	<i>Stenophylax lateralis</i> 99.84	
317.		TLIM_2	<i>Micropterna lateralis</i>	rijeka Dretulja (srednji tok) - Plaški	<i>Stenophylax lateralis</i> 100	
318.	124.	TMIC_3m	<i>Micropterna fissa</i>	jama Mokre noge, Biokovo	<i>Micropterna fissa</i> 99.68	128
319.		TMIC_3f	<i>Micropterna fissa</i>	jama Mokre noge, Biokovo	<i>Micropterna fissa</i> 99.37	
320.		TMIC_1	<i>Micropterna nycterobia</i>	izvor Zrmanje	<i>Stenophylax nycterobius</i> 98.89	
321.		TMNYC_1	<i>Micropterna nycterobia</i>	rijeka Krupa (donji tok) - Manastir	<i>Stenophylax nycterobius</i> - 99.23	
322.		TMNYC_2	<i>Micropterna nycterobia</i>	izvor na Keljevo brdo - Korenica	<i>Stenophylax nycterobius</i> 100	
323.	125.	TMWAG_2	<i>Micropterna nycterobia</i>	jama pod sv. Jurom, Biokovo	<i>Stenophylax nycterobius</i> 99.52	
324.		TLIM_3	<i>Micropterna nycterobia</i>	jama pod sv. Jurom, Biokovo	<i>Stenophylax nycterobius</i> 99.19	
325.		TMSEQ_2	<i>Micropterna nycterobia</i>	jama Amfora, Biokovo	<i>Stenophylax nycterobius</i> 99.84	
326.		TRIC_10	<i>Micropterna nycterobia</i>	Velika Čulimova pećina, špilja - Kijevo	<i>Stenophylax nycterobius</i> 98.76	
327.		TMWAG_2	<i>Micropterna nycterobia</i>	Jama pod sv. Jurom - Biokovo	<i>Stenophylax nycterobius</i> 99,52	129
328.		TMIC_2	<i>Micropterna sequax</i>	rijeka Una (izvor)	<i>Stenophylax sequax</i> 98.51	
329.	126.	TMSEQ_1	<i>Micropterna sequax</i>	potok Roč-Marušić - srednji tok kod Mosta	<i>Stenophylax sequax</i> - 99.85	130
330.		TMSEQ_3	<i>Micropterna sequax</i>	jezero Kozjak, most- NP Plitvička jezera	<i>Stenophylax sequax</i> 99.54	
331.		TMSEQ_4	<i>Micropterna sequax</i>	jezero Kozjak, pristanište - NP Plitvička jezera	<i>Stenophylax sequax</i> 98.9	
332.	127.	TMTES_1	<i>Micropterna testacea</i>	rijeka Lika (srednji tok) - Bilaj	<i>Stenophylax testaceus</i> 99.52	131
333.		TMTES_2	<i>Micropterna testacea</i>	rijeka Lika	<i>Stenophylax testaceus</i> 99.53	
334.		TMTES_3	<i>Micropterna testacea</i>	rijeka Gacka (izvor) - Majerovo vrilo	<i>Stenophylax testaceus</i> 100	

PRILOG 19. Popis primjeraka tulara iz Hrvatske koji su DNA barkodirani. Uz svaki primjerak s jedinstvenim DNA kodom navedena je morfološki određena svojta i svojta određena korištenjem alata BOLD baze (BOLD Id Engine). Br. OTU-sa i BIN-ova kojima pripada pojedini uzorak. Zadebljanim slovima označen je novi unos svojte u BOLD bazu.

Br. uzorka	Br. OTU	DNA kod	Vrsta (određena morfološki)	Lokalitet	Taksonomska oznaka i postotak genetske sličnosti s najrodnijom sekvencom u BOLD bazi (%)	Br. BIN
335.		TLIM_5	<i>Micropterna testacea</i> .	jama Nova velika, Biokovo	<i>Stenophylax testaceus</i> 99.2	
336.	128.	TMWAG_1	<b><i>Micropterna wagneri</i></b>	potok Konavočica (srednji tok) - Palje, Konavle	<i>Stenophylax sequax</i> 90.38	132
337.		TPWAG_1	<i>Micropterna wagneri</i>	izvor potoka u selu Vodovođe, Konavle	<i>Stenophylax sequax</i> 90.94	
338.	129.	TPCIN_1	<i>Potamophylax cingulatus</i>	potok Šumi (izvor) – Ivančica	<i>Potamophylax cingulatus alpinus</i> 98.17	133
339.	130.	TPLAT_1	<i>Potamophylax latipennis</i>	rijeka Una (gornji tok) - Srb	<i>Potamophylax cingulatus</i> 94.33	134
340.		TPLAT_2	<i>Potamophylax latipennis</i>	rijeka Dretulja (izvor)	<i>Potamophylax cingulatus</i> 93.81	
341.		TPLAT_3	<i>Potamophylax latipennis</i>	rijeka Zrmanja (izvor)	<i>Potamophylax cingulatus</i> 94.53	
342.		TPLAT_4	<i>Potamophylax latipennis</i>	rijeka Riječina (izvor)	<i>Potamophylax cingulatus</i> 94.44	
343.		TPROT_2	<i>Potamophylax latipennis</i>	rijeka Rijeka - Bastaji, Papuk	<i>Potamophylax latipennis</i> 99.68	
344.	131.	TPLUC_1	<i>Potamophylax luctuosus</i>	rijeka Kupa (srednji tok) - Pribanji	<i>Potamophylax luctuosus</i> 97.8	135
345.		TPLUC_2	<i>Potamophylax luctuosus</i>	rijeka Velika rijeka (Kutjevačka rijeka) (izvor) - Krndija	<i>Potamophylax luctuosus</i> 99.2	
346.	132.	TPNIG_1	<i>Potamophylax nigricornis</i>	rijeka Velika rijeka (Kutjevačka rijeka) (izvor) - Krndija	<i>Potamophylax nigricornis</i> 99.52	136
347.	133.	TPPAL_1	<i>Potamophylax pallidus</i>	potok Rakov potok (izvor) - Medvednica	<i>Potamophylax pallidus</i> 90.64	137
348.		TPPAL_4	<i>Potamophylax pallidus</i>	izvor Napojište – Plitvički Ljeskovac	<i>Potamophylax pallidus</i> 97.88	138
349.		TPPAL_5	<i>Potamophylax pallidus</i>	izvor Crne rijeke - Plitvička jezera	<i>Potamophylax pallidus</i> 98.6	
350.	134.	TPROT_1	<i>Potamophylax rotundipennis</i>	rijeka Sava - Drenje Brdovečko	<i>Potamophylax rotundipennis</i> - 97.45	139
351.		TPROT_3	<i>Potamophylax rotundipennis</i>	jezero Gavanovac, Plitvička jezera	<i>Potamophylax rotundipennis</i> 99.2	
352.	135.	TRALP_1	<i>Rhadicleptus alpestris</i>	potok Peratovica (srednji tok) - Bilogora	<i>Rhadicleptus alpestris</i> 99.05	140
353.		TMAS_1	<i>Rhadicleptus alpestris</i>	potok Peratovica (srednji tok) - Bilogora	<i>Rhadicleptus alpestris</i> 99.19	
354.		TMAS_2	<i>Rhadicleptus alpestris</i>	potok Peratovica (srednji tok) - Bilogora	<i>Rhadicleptus alpestris</i> 99.20	
355.		TMASP_1	<i>Rhadicleptus alpestris</i>	potok Peratovica (srednji tok) - Bilogora	<i>Rhadicleptus alpestris</i> 99.53	
356.	136.	TSMIT_1	<i>Stenophylax mitis</i>	rijeka Zrmanja (izvor)	<i>Stenophylax mitis</i> 99.69	141
357.		TSMIT_2	<i>Stenophylax mitis</i>	lokva Beli - otok Cres	<i>Stenophylax mitis</i> 99.67	
358.	137.	TSPER_1	<i>Stenophylax permistus</i>	rijeka Una (izvor)	<i>Stenophylax permistus</i> 99.85	142
359.		TSPER_2	<i>Stenophylax permistus</i>	izvor na Keljevo brdo - Korenica	<i>Stenophylax permistus</i> 100	
360.		TLIM_4	<i>Stenophylax permistus</i> .	Jama Vjetrova, Crnopac	<i>Stenophylax permistus</i> 100	
361.		TRIC_11	<i>Stenophylax permistus</i>	Bukovac špilja - Delnice	<i>Stenophylax permistus</i> 100	
362.	138.	TSVIB_1	<i>Stenophylax vibex</i>	rijeka Mirna - Kotli	<i>Stenophylax vibex</i> 94.28	143

PRILOG 19. Popis primjeraka tulara iz Hrvatske koji su DNA barkodirani. Uz svaki primjerak s jedinstvenim DNA kodom navedena je morfološki određena svojta i svojta određena korištenjem alata BOLD baze (BOLD Id Engine). Br. OTU-sa i BIN-ova kojima pripada pojedini uzorak. Zadebljanim slovima označen je novi unos svojte u BOLD bazu.

Br. uzorak	Br. OTU	DNA kod	Vrsta (određena morfološki)	Lokalitet	Taksonomska oznaka i postotak genetske sličnosti s najrodnijom sekvencom u BOLD bazi (%)	Br. BIN
363.	139.	TGPIL_1a	<i>Goera pilosa</i>	rijeka Kupa (srednji tok) - Pribanjci	<i>Goera pilosa</i> 100	144
364.		TSNIG_1	<i>Goera pilosa</i>	potok Križ - Petrinja	<i>Goera pilosa</i> 100	
365.		TGPIL_2	<i>Goera pilosa</i>	rijeka Dobra, ušće - Priselci	<i>Goera pilosa</i> 99.68	
366.		TGPIL_3	<i>Goera pilosa</i>	Rijeka Sunja - Kukuruzari	<i>Goera pilosa</i> 99.53	
367.		TGPIL_4	<i>Goera pilosa</i>	rijeka Petrinjčica - Hrvatski Čuntićki	<i>Goera pilosa</i> 99.84	
368.	140.	TSIL_1	<i>Silo sp.</i>	potok Konavočica (izvor) - Palje, Konavle	<i>Lithax obscurus</i> 90.48	145
369.	141.	TSPAL_1	<i>Silo pallipes</i>	potok Mlini (izvor)	<i>Silo pallipes</i> 98.83	146
370.		TSPAL_2	<i>Silo pallipes</i>	Gospin potok - Šumarska kuća Duboka, Velika, Papuk	<i>Silo pallipes</i> 100	
371.		TSPAL_3	<i>Silo pallipes</i>	rijeka Slunjčica (izvor)	<i>Silo pallipes</i> 98.87	
372.	142.	TSPIC_1	<i>Silo piceus</i>	rijeka Kupa (srednji tok) - Pribanjci	<i>Silo piceus</i> 99.54	147
373.		TSPIC_2	<i>Silo piceus</i>	Cetina, selo Totići	<i>Silo piceus</i> 96.13	
374.		TSPIC_3	<i>Silo piceus</i>	Cetina, selo Totići	<i>Silo piceus</i> 96.42	
375.		TLIM_7	<i>Silo piceus</i>	Cetina, selo Totići	<i>Silo piceus</i> 96.15	
376.	143.	TCKEM_1	<i>Crunoecia kempnyi</i>	izvor Napojište – Plitvički Ljeskovac	<i>Crunoecia kempnyi</i> 96.67	148
377.	144.	TLBAS_2	<i>Lepidostoma basale</i>	Pašina vrela - iznad sela Mečenčani	<i>Lepidostoma basale</i> 99.66	149
378.		TLBAS_1	<i>Lepidostoma basale</i>	Pašina vrela - iznad sela Mečenčani	<i>Lepidostoma basale</i> 99.84	
379.		TLBAS_3	<i>Lepidostoma basale</i>	rijeka Grab, izvor - Sinj	<i>Lepidostoma basale</i> 99.22	
380.	145.	TLHIT_1	<i>Lepidostoma hirtum</i>	rijeka Kupa (srednji tok) - Pribanjci	<i>Lepidostoma hirtum</i> 99.84	150
381.		TLHIT_2	<i>Lepidostoma hirtum</i>	rijeka Rudnica, izvor - Ožanići	<i>Lepidostoma hirtum</i> 100	
382.		TLHIT_3	<i>Lepidostoma hirtum</i>	rijeka Krka - Roški slap	<i>Lepidostoma hirtum</i> 100	
383.		TLHIT_4	<i>Lepidostoma hirtum</i>	rijeka Krka - HE Miljacka	<i>Lepidostoma hirtum</i> 99.29	
384.		TLHIT_5	<i>Lepidostoma hirtum</i>	jezero Labudovac - Plitvička jezera	<i>Lepidostoma hirtum</i> 99.2	
385.		TLHIT_5	<i>Lepidostoma hirtum</i>	rijeka Cetina - Radmanove Mlinice	<i>Lepidostoma hirtum</i> 98.80	
386.		TCALB_3	<i>Lepidostoma hirtum</i>	rijeka Cetina - Radmanove Mlinice	<i>Lepidostoma hirtum</i> 98.52	
387.	146.	TABAL_1	<b><i>Adicella balcanica</i></b>	rijeka Krupa (donji tok) - Manastir	<i>Adicella cremisa</i> 88.07	151
388.	147.	TASYR_1	<i>Adicella cremisa</i>	rijeka Krapina (srednji tok) - Krapina Selo	<i>Adicella cremisa</i> 100	152
389.		TACRE_1	<i>Adicella cremisa</i>	rijeka Zrmanja (srednji tok) - Palanka	<i>Adicella cremisa</i> 99.6	
390.	148.	TAALB_1	<i>Athripsodes albifrons</i>	rijeka Una (donji tok) - Hrvatska Dubica	<i>Athripsodes albifrons</i> 100	153

PRILOG 19. Popis primjeraka tulara iz Hrvatske koji su DNA barkodirani. Uz svaki primjerak s jedinstvenim DNA kodom navedena je morfološki određena svojta i svojta određena korištenjem alata BOLD baze (BOLD Id Engine). Br. OTU-sa i BIN-ova kojima pripada pojedini uzorak. Zadebljanim slovima označen je novi unos svojte u BOLD bazu.

Br. uzorka	Br. OTU	DNA kod	Vrsta (određena morfološki)	Lokalitet	Taksonomska oznaka i postotak genetske sličnosti s najrodnijom sekvencom u BOLD bazi (%)	Br. BIN
391.		TAALB_2	<i>Athripsodes albifrons</i>	rijeka Krka - Roški slap	<i>Athripsodes albifrons</i> 99.22	
392.	149.	TAATE_1	<i>Athripsodes aterrimus</i>	rijeka Mura (donji tok) - Goričan	<i>Athripsodes aterrimus</i> 99.1	154
393.		TAETE_2	<i>Athripsodes aterrimus</i>	kanal Brkljača, Sinjsko polje	<i>Athripsodes aterrimus</i> 100	
394.	150.	TABIL_1	<i>Athripsodes bilineatus</i>	Pašina vrela - iznad sela Mečenčani	<i>Athripsodes bilineatus</i> 100	155
395.	151.	TACIN_1	<i>Athripsodes cinereus</i>	rijeka Mrežnica – Belavići	<i>Athripsodes cinereus</i> - 99.85	156
396.		TACIN_2	<i>Athripsodes cinereus</i>	rijeka Lika - Kosinj	<i>Athripsodes cinereus</i> 99.64	
397.		TACIN_3	<i>Athripsodes cinereus</i>	vrelo Lika	<i>Athripsodes cinereus</i> 99.63	
398.		TACIN_4	<i>Athripsodes cinereus</i>	rijeka Korana - Veljun	<i>Athripsodes cinereus</i> 99.84	
399.		TACIN_5	<i>Athripsodes cinereus</i>	rijeka Mrežnica – Belavići	<i>Athripsodes cinereus</i> 98.56	
400.		TACIN_5	<i>Athripsodes cinereus</i>	rijeka Mrežnica – Belavići	<i>Athripsodes cinereus</i> 98.36	
401.	152.	TADAL_1	<b><i>Athripsodes dalmatinus</i></b>	rijeka Cetina, kanal Brkljača - Sinjsko polje	<i>Athripsodes bilineatus</i> 88.33	157
402.	153.	TCDIS_1	<i>Ceraclea dissimilis</i>	rijeka Kupa (donji tok) - Jamnička Kiselica	<i>Ceraclea dissimilis</i> 100	158
403.		TCDIS_3	<i>Ceraclea dissimilis</i>	jezero Brljan, NP Krka	<i>Ceraclea dissimilis</i> 99.69	
404.		TCDIS_4	<i>Ceraclea dissimilis</i>	rijeka Petrinjčica - Hrvatski Čuntićki	<i>Ceraclea dissimilis</i> 99.36	
405.	154.	TCRIP_3	<i>Ceraclea riparia</i>	rijeka Dobra, ušće - Priselci	<i>Ceraclea riparia</i> 99.51	159
406.		TSET_1	<i>Ceraclea riparia</i>	rijeka Dobra - Novigrad na Dobri	<i>Ceraclea riparia</i> 99.35	
407.	155.	TLTIN_1	<i>Leptocerus tineiformis</i>	rijeka Bednja - Ivanečka Železnica, Ivanec	<i>Leptocerus tineiformis</i> 100	160
408.	156.	TMAZU_1	<i>Mystacides azurea</i>	rijeka Korana (srednji tok) - Veljun	<i>Mystacides azurea</i> 99.49	161
409.		TMAZU_2	<i>Mystacides azurea</i>	Biokovo, Zagvozd	<i>Mystacides azurea</i> 99.21	
410.		TMAZU_3	<i>Mystacides azurea</i>	rijeka Cetina - Radmanove Mlinice	<i>Mystacides azurea</i> 99.53	
411.		TMNIG_1	<i>Mystacides azurea</i>	rijeka Petrinjčica - Prnjavor Čuntićki	<i>Mystacides azurea</i> 99.17	
412.	157.	TMYS_3	<i>Mystacides niger</i>	rijeka Cetina - Čikotina lađa	<i>Mystacides niger</i> 99.61	162
413.	158.	TMYS_1	<i>Mystacides longicornis</i>	rijeka Drava (srednji tok) - Gornji Hrašćan	<i>Mystacides longicornis</i> - 99.85	163
414.	159.	TOEC_1	<i>Oecetis furva</i>	jezero Crna Mlaka	<i>Oecetis furva</i> 100	164
415.		TOFUR_2	<i>Oecetis furva</i>	rijeka Mislina-Mlinište	<i>Oecetis furva</i> 98.87	
416.	160.	TOLAC_1	<i>Oecetis lacustris</i>	potok Peratovica (srednji tok) - Bilogora	<i>Oecetis lacustris</i> 99.68	165
417.	161.	TONOT_2	<i>Oecetis notata</i>	rijeka Gacka (izvor) - Mejerovo vrilo	<i>Oecetis notata</i> 99.84	166
418.		TONOT_3	<i>Oecetis notata</i>	rijeka Dobra - Lešće	<i>Oecetis notata</i> 100	
419.	162.	TONOT_5	<i>Oecetis notata</i>	rijeka Krka - Roški slap	<i>Oecetis notata</i> 94.2	167

PRILOG 19. Popis primjeraka tulara iz Hrvatske koji su DNA barkodirani. Uz svaki primjerak s jedinstvenim DNA kodom navedena je morfološki određena svojta i svojta određena korištenjem alata BOLD baze (BOLD Id Engine). Br. OTU-sa i BIN-ova kojima pripada pojedini uzorak. Zadebljanim slovima označen je novi unos svojte u BOLD bazu.

Br. uzorak	Br. OTU	DNA kod	Vrsta (određena morfološki)	Lokalitet	Taksonomska oznaka i postotak genetske sličnosti s najrodnijom sekvencom u BOLD bazi (%)	Br. BIN
420.	163.	TONOT_4	<i>Oecetis testacea</i>	rijeka Mrežnica – Belavići	<i>Oecetis testacea</i> 100	168
421.		TONOT_6	<i>Oecetis testacea</i>	rijeka Cetina - Radmanove Mlinice	<i>Oecetis testacea</i> 100	
422.		TOTES_1	<i>Oecetis testacea</i>	rijeka Mrežnica – Belavići	<i>Oecetis testacea</i> 100	
423.		TOTES_2	<i>Oecetis testacea</i>	rijeka Mrežnica – Belavići	<i>Oecetis testacea</i> 100	
424.		TOTES_4	<i>Oecetis testacea</i>	potok Zeleni Vir (izvor)	<i>Oecetis testacea</i> 99.37	
425.		TLEP_1	<i>Oecetis testacea</i>	rijeka Mrežnica – Belavići	<i>Oecetis testacea</i> 100	
426.	164.	TSBUL_1	<i>Setodes bulgaricus</i>	rijeka Dobra - Jarče polje	<i>Setodes viridis</i> 99.84	169
427.		TSBUL_2	<i>Setodes bulgaricus</i>	rijeka Dobra - Novigrad na Dobri	<i>Setodes viridis</i> 99.67	
428.	165.	TSPUN_3	<i>Setodes punctatus</i>	rijeka Dobra, ušće - Priselci	<i>Setodes punctatus</i> 100	170
429.	166.	TTOCL_1	<i>Triaenodes ochrellus lefkas</i>	rijeka Neretva (donji tok) - Opuzen	<i>Triaenodes ochrellus</i> 90.48	171
430.		TTOCL_2	<i>Triaenodes ochrellus lefkas</i>	rijeka Mislina-Mlinište	<i>Triaenodes ochrellus</i> 90.63	
431.	167.	TOALB_1	<i>Odontocerum albicorne</i>	rijeka Kupa (gornji tok) - Brod na Kupi	<i>Odontocerum albicorne</i> 97.24	172
432.		TOALB_2	<i>Odontocerum albicorne</i>	rijeka Dretulja (srednji tok) - Plaški	<i>Odontocerum albicorne</i> 96.81	
433.		TOALB_3	<i>Odontocerum albicorne</i>	rijeka Rudnica, izvor - Ožanići	<i>Odontocerum albicorne</i> 97.4	
434.	168.	TSFLA_1	<i>Sericostoma flavicorne</i>	rijeka Tounjčica, izvor	<i>Sericostoma flavicorne</i> 99.72	173
435.		TSFLA_2	<i>Sericostoma flavicorne</i>	rijeka Krupa - Manastir	<i>Sericostoma flavicorne</i> 99.69	
436.		TSFLA_3	<i>Sericostoma flavicorne</i>	rijeka Pakra - Kusunje	<i>Sericostoma flavicorne</i> 99.37	
437.	169.	TBPUL_1	<i>Beraea pullata</i>	izvor Napojište – Plitvički Ljeskovac	<i>Beraea pullata</i> 99.84	174
438.	170.	TBSCH_1	<b><i>Beraemyia schmidi</i></b>	jezero Ciganovac - NP Plitvička jezera	<i>Beraemyia hrabei</i> 95.52	175
439.	171.	TERN_1	<i>Ernodes articularis</i>	Biokovo selo, Gornja podgora	<i>Ernodes articularis</i> 99.08	176
440.		TEARI_1	<i>Ernodes articularis</i>	potok Dubočanka - Papuk	<i>Ernodes articularis</i> 99.69	



## 9. ŽIVOTOPIS

Ime i prezime: **Andela Ćukušić**

Mjesto i datum rođenja: Split, 22. srpnja 1986. godine

Adresa stanovanja: Pujanke 30, 21 000 Split (boravište: Odvojak Kopačevskog puta 34 , 10 000 Zagreb)

e-mail: andela.cukusic2@gmail.com

### Obrazovanje:

2013. - danas	<b>Poslijediplomski doktorski studij biologije</b> Sveučilište u Zagrebu, PMF
2008. - 2011.	<b>Diplomski sveučilišni studij ekologije i zaštite prirode (Magistra ekologije i zaštite prirode)</b> Sveučilište u Zagrebu, PMF, Biološki odsjek, Naslov diplomskog rada: „Faunističke, ekološke i biogeografske značajke špiljskih pauka iz porodica Agelenidae i Nesticidae (Araneae) na području Hrvatske“
2005. - 2008.	<b>Preddiplomski sveučilišni studij znanosti o okolišu (Prvostupnica znanosti o okolišu)</b> Sveučilište u Zagrebu, PMF, Biološki odsjek, Rooseveltov trg 6, Zagreb
2001.- 2005.	<b>IV. Gimnazija Marko Marulić, Split</b>

### Radno iskustvo:

siječanj 2019.- danas	<b>Ministarstvo zaštite okoliša i energetike, Zagreb</b> Stručna suradnica u Zavodu za zaštitu okoliša i prirode
siječanj 2018. – prosinac 2018.	<b>Hrvatska agencija za okoliš i prirodu , Zagreb</b> Stručna suradnica u Odjela za ocjenu prihvatljivosti zahvata za prirodu
studeni 2013.- prosinac 2017.	<b>Geonatura d.o.o. za stručne poslove zaštite prirode, Zagreb</b> Stručna suradnica za slatkovodnu faunu beskraljješnjaka te faunu šišmiša
listopad 2012. - listopad 2013.	<b>Hrvatski prirodoslovni muzej (HPM), Zagreb</b> Kustos pripravnik u Zoologijskom odjelu
listopad 2013. – listopad 2016.	<b>Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu</b> Asistentica na Zoologijskom zavodu Biološkog odsjeka PMF-a

**Stručno usavršavanje:**

rujan 2016.	<b>Radionica „Determination course for Hydrobiologists – Caddisflies (Trichoptera)“</b> Water Research Institute (WRI), Bratislava, Slovačka
svibanj 2015.	<b>Radionica „Workshop of Molecular Techniques for the study of Trichoptera</b> Rutgers University, New Brunswick, SAD
prosinac 2014.	<b>Položen stručni ispit za muzejsko zvanje kustosa</b> Muzejski dokumentacijski centar, Zagreb, Hrvatska
2010.-2012.	<b>Stručni seminar</b> o zaštiti špilja i podzemne faune, <b>Stručni seminar</b> o speleološkom katastru, <b>Stručni seminar</b> o izradi topografskih nacрта u speleološkim objektima
travanj 2007.	<b>položen ispit za; Speleolog pripravnik</b> SO PDS „Velebit“, Komisija za speleologiju HPS

**Znanstveno-stručni projekti:**

prosinac 2018. - u trajanju	<b>DNA barkodiranje bioindikatorskih vrsta slatkovodnih ekosustava – povezivanje ABOL-CROBOL inicijativa</b>
2017 – u trajanju	<b>DNA barkodiranje bioraznolikosti hrvatske faune</b> Projekt Hrvatske zaklade za znanost, Nositelj: Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet
2017.-2018.	<b>Aktivni nadzor bjesnoće u šišmiša-bitan faktor za procjenu buduće prijetnje</b> Projekt Hrvatske zaklade za znanost, Nositelj: Veterinarski institut u Zagrebu
2014.-2016.	<b>Projekt integracije u EU Natura 2000 (NIP)</b> Terensko istraživanje i laboratorijska analiza novoprikupljenih inventarizacijskih podataka za taksonomsku skupinu Trichoptera

**Popis radova:**Knjige:

- Čuković T., **Ćukušić A.**, Rnjak D. 2017. **Biospelologija**. U: G. Rnjak (ur.) **Spelologija**. Planinarsko društvo sveučilišta Velebit, Hrvatski planinarski savez, Hrvatska gorska služba spašavanja, Speleološko društvo Velebit, Zagreb 622-673.
- Jalžić B., Bedek J., Bilandžija H., Bregović P., Cvitanović H., Čuković, T., **Ćukušić A.**, Dražina T., Đud L., Gottstein S., Hmura D., Kljaković-Gašpić F., Komerički A., Kutleša P., Lukić M., Malenica M., Miculinić K., Ozimec R., Pavlek M., Raguž N., Slapnik R., Štamol V. 2013. **The Cave Type Localities Atlas of Croatian Fauna VOLUME II**. Hrvatsko biospelološko društvo, Zagreb.

Znanstveni radovi:

- Šimić I., Lojkić I., Krešić N., Cliquet F., Picard-Meyer E., Wasniewski M., **Ćukušić A.**, Zrnčić V., Bedeković T. 2018: **Molecular and serological survey of lyssaviruses in Croatian bat populations**. BMC Veterinary Research (14) 274; 1 doi:10.1186/s12917-018-1592-z
- **Ćukušić A.**, Ćuk R., Previšić A., Podnar M., Delić A., Kučinić M. 2017. **DNA barcoding and first records of two rare Adicella species (Trichoptera, Leptoceridae) in Croatia**. Biologia, Section Zoology 72/7: 796—806. DOI: 10.1515/biolog-2017-0087
- Kučinić M., **Ćukušić A.**, Žalac S., Podnar M., Akimbekova N., Kambarovich Akhmetov K., Moldazhanovna Zhumadina S., Vučković I. 2017. **First DNA barcoding and new records of Mediterranean caddisfly species *Micropterna wagneri* Mal. (Trichoptera, Limnephilidae) in Croatia with note on DNA barcoding and diversity of genus *Micropterna* in Croatia**. Natura Croatica 26, 1; 81-98.
- Kučinić M., **Ćukušić A.**, Podnar M., Landeka M., Plavec H., Plantak M., Akimbekova N., Žalac S. 2016. **The first record of *Tinodes antonioi* Botosaneanu & Taticchi-Viganò, 1974 (Insecta, Trichoptera) in Croatia with DNA barcoding and ecological data and notice of biodiversity and distribution of the genus *Tinodes* in Croatia**. Natura Croatica., Vol. 25, No. 1., 131–149, Zagreb.

Priopćenja na kongresima

- **Ćukušić A.** Podnar Lešić M., Kučinić M. **First steps of systematically DNA barcoding in Croatia - example of caddisfly fauna (Trichoptera)**. 2019. Book of Abstracts ABOL meeting, Wiena.

- **Ćukušić A.**, Podnar Lešić M., Kučinić M. 2017. **Why DNA barcoding?** - The example of the caddisfly fauna (Trichoptera) of Croatia. Zbornik sažetaka / Book of Abstracts 2. Simpozij o biologiji slatkih voda / 2nd Symposium on Freshwater Biology, Zagreb (Hrvatska).
- Kučinić M., **Ćukušić A.**, Ćuk R., Cerijanec D., Vučković I., Crnčan P., Mihoci I., Plavec H., Previšić A., Landeka M., Delić A., Žalac S., Podnar M, Bučar M., Gjuršin B. 2016. **Trichoptera research within project “EU Natura 2000 Integration Project – NIP“ after two years.** Book of Abstracts Central European Symposium for Aquatic Macroinvertebrate (CESAMIR). Pecs, Mađarska, 102.
- **Ćukušić A.**, Podnar Lešić M., Kučinić M., 2016. **DNA barcoding caddisflies (Trichoptera) fauna in Croatia.** Book of Abstracts Central European Symposium for Aquatic Macroinvertebrate (CESAMIR). Pecs, Mađarska, 98.
- Jalžić B., Bregović P., Čuković T., **Ćukušić A.**, Hmura D., Kutleša P., Pavlek M. 2016. **Comprehensive Database of the Cave Type Localities of Croatian Fauna,** Zbornik sažetaka/Book of Abstracts 1. Dinarski biospeleološki simpozij (1st Dinaric Symposium on Subterranean Biology), Zagreb, Hrvatska.
- **Ćukušić A.**, Ćuk R., Vučković I., Cerijanec D., Mihoci I., Crnčan P., Delić A., Bučar M., Landeka M., Gjurašin B., Kučinić M. 2015. **Trichoptera research within project “EU Natura 2000 Integration Project - NIP”.** Book of abstracts of The 15th International Symposium on Trichoptera, New Brunswick, USA.
- **Ćukušić A.**, Đud L. 2013. **Atlas špiljskih tipskih lokaliteta Republike Hrvatske, Svezak 2, Knjiga sažetaka,** Skupspeleologa hrvatske – Momjan, Hrvatska.
- **Ćukušić A.**, Pavlek M, Ozimec 2012. **Raspodjela i raznolikost špiljskih pauka iz porodica Agelenidae i Nesticidae (Araneae) u podzemnim objektima Hrvatske.** Skup speleologa Hrvatske, Drežnik grad, Rakovica, Hrvatska.