

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy

katedra zoologie

zaměření ekologie a etologie

DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Fylogenetické vztahy bodlinatých myší rodu *Acomys* z Předního  
Východu a severovýchodní Afriky**

Klára Průšová

Vedoucí diplomové práce: Doc. RNDr. Daniel Frynta, Dr.

Konzultant: Mgr. Erica Bellinvia PhD.

Praha 2007

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně pouze s použitím citované literatury.

Klára Průšová

Klára Průšová

## **Poděkování**

Na tomto místě bych především ráda poděkovala Doc. RNDr. Danielu Fryntovi, Dr. za zadání velmi zajímavých témat, cenné rady, ochotu, obětavost, dodávání optimizmu během chvilíh nezdaru a nemalou trpělivost při vedení mé diplomové práce.

Rovněž velmi děkuji Mgr. Erica Bellinvia, PhD. za uvedení do problematiky spojené s molekulární biologií. Davidu Modrýmu, Petru Bendovi, Radimu Šumberovi a ZOO Plzeň za poskytnutí cenných vzorků bodlinatých myší, které si dovezli ze zahraničních cest po Africe a Blízkém východu. Doc. RNDr. Jaroslavu Flegrovi, CSc. za poskytnutí laboratorního zázemí.

Dále děkuji Hance Kutalové za pomoc při péči o myši v chovech. Mgr. Pavlu Hulvovi PhD. a Mgr. Zuzaně Starostové za poskytnuté rady při zpracování molekulárních dat. RNDr. Vladimíru Vohralíkovi za zapůjčení literatury.

V neposlední řadě děkuji svým rodičům Ireně a Mgr. Josefu Průšovým za velkou podporu v průběhu celého studia. Bratrům Martinovi a Ing. Danielovi Průšovým za pomoc při technických potížích.

# Obsah

<b>1</b>	<b>ÚVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>CÍLE.....</b>	<b>2</b>
<b>3</b>	<b>LITERÁRNÍ PŘEHLED.....</b>	<b>3</b>
3.1	BIOLOGIE RODU <i>ACOMYS</i> .....	3
3.1.1	Rozšíření .....	3
3.1.2	Charakteristika .....	3
3.1.3	Ekologie .....	3
3.1.4	Sociální vztahy.....	4
3.1.5	Období rozmnožování.....	5
3.1.6	Samčí rodičovská péče.....	5
3.2	FYLOGENETICKÉ VZTAHY .....	6
3.3	ROZPOZNÁVÁNÍ .....	16
3.3.1	Rodičovské rozpoznávání .....	16
3.3.2	Rozpoznávání mezi mlád'aty .....	17
3.3.2.1	<b>Souhrn</b> .....	19
<b>4</b>	<b>METODIKA.....</b>	<b>20</b>
4.1	REKONSTRUKCE FYLOGENEZE NA ZÁKLADĚ SEKVENČNÍCH DAT.....	20
4.1.1	Materiál .....	20
4.1.2	Izolace DNA .....	25
4.1.3	PCR a sekvenace DNA .....	25
4.1.4	Vyhodnocení chromatogramu a tvorba alignmentu.....	28
4.1.5	Alignment pro MCR .....	28
4.1.6	Alignment pro cytochrom b.....	28
4.2	FYLOGENETICKÉ ANALÝZY .....	29
4.2.1	Distanční metoda (Neighbor-joining, NJ).....	29
4.2.2	Metoda maximální úspornosti (Maximum parsimony, MP).....	29
4.2.3	Metoda maximální pravděpodobnosti (Maximum likelihood, ML).....	30
4.2.4	Bayesovská analýza (Bayesian analysis, BA) .....	30
4.3	GRAFICKÁ ÚPRAVA STROMŮ .....	30
4.4	ANALÝZA BEHAVIORÁLNÍCH DAT .....	31
4.4.1	Materiál.....	31
4.4.2	Záznam jednotlivých mezidruhových rozpoznávání .....	31
4.4.3	Sledované chování .....	32
<b>5</b>	<b>VÝSLEDKY .....</b>	<b>34</b>
5.1	STRUKTURA MCR .....	36
5.2	PARCIÁLNÍ ANALÝZA SKUPINY <i>CAHIRINUS-DIMIDIATUS</i> .....	38

5.3	PARCIÁLNÍ ANALÝZA VZORKŮ ZE SEVERNÍ KENI .....	44
5.4	CELKOVÁ ANALÝZA SEKVENCÍ OBLASTI MCR .....	48
5.5	ANALÝZA SEKVENCÍ GENU PRO CYTOCHROM B.....	53
5.6	VÝSLEDKY MEZIDRUHOVÉHO ROZPOZNÁVÁNÍ.....	60
<b>6</b>	<b>DISKUSE.....</b>	<b>61</b>
6.1	SKUPINA <i>CAHIRINUS-DIMIDIATUS</i> .....	61
6.2	SEVERNÍ KEŇA .....	63
6.3	BAZÁLNÍ SKUPINY RODU <i>ACOMYS</i> . .....	66
6.4	DRUHOVÉ ROZPOZNÁVÁNÍ.....	67
<b>7</b>	<b>ZÁVĚR.....</b>	<b>69</b>
<b>8</b>	<b>LITERATURA.....</b>	<b>70</b>
<b>9</b>	<b>PŘÍLOHY.....</b>	<b>85</b>
9.1	PŘÍLOHA 1: MATICE NEKORIGOVANÝCH GETICKÝCH VZDÁLENOSTÍ (P DISTANCE) PRO SKUPINU <i>CAHIRINUS-DIMIDIATUS</i> . .....	86
9.2	PŘÍLOHA 2 - MATICE NEKORIGOVANÝCH GENETICKÝCH VZDÁLENOSTÍ (P-DISTANCE) PRO ALIGNMENT CYTBND6.....	87
9.3	PŘÍLOHA 3: FYLOGENETICKÝ STROM SESTAVENÝ NA ZÁKLADĚ VSTUPNÍHO ALIGNMENTU CYTB3 METODOU NJ .....	87
9.4	PŘÍLOHA 4: .....	88
	PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS WITHIN <i>CAHIRINUS-DIMIDIATUS</i> GROUP OF THE GENUS <i>ACOMYS</i> (RODENTIA: MURIDAE): NEW MITOCHONDRIAL LINEAGES FROM SAHARA, IRAN AND ARABIAN PENINNSULA .....	88
9.5	PŘÍLOHA 5 (CD) .....	110

# 1 Úvod

Do dnešní doby bylo popsáno velké množství druhů bodlinatých myší rodu *Acomys* z Afriky a východního Středomoří. Nejnovější údaje svědčí o existenci 19 druhů bodlinatých myší (Wilson & Reeder 2005), avšak jejich vzájemné vztahy se nadále revidují. S novými vzorky pocházejících z nových lokalit by byla možná jejich alespoň částečná revize.

Během posledních expedic pracovníků naší katedry a dalších českých zoologických pracovišť do Jordánska, Egypta, Keni, Libye, Malawi, Jemenu, Kypru, Íránu a Turecka se podařilo shromáždit množství vzorků DNA bodlinatých myší a založit laboratorní populace hned několika z nich. Tento materiál, doplněný posléze vzorky ze zoologických zahrad a zahraničních výzkumných institucí, se stal základem pro tuto diplomovou práci, mající za cíl upřesnit fylogenetické vztahy v rámci rodu *Acomys* na základě kombinace molekulárních dat (viz rukopis článku Příloha 4) a behaviorálních experimentů.

Zvláště některé lokality, kde byly odchyceny živé myši bodlinaté či alespoň získány vzorky DNA, jsou velmi zajímavé. Sinaj (typová lokalita *A. dimidiatus* Cretzschmar, 1826), Jemen, Írán a Spojené Arabské Emiráty dobře pokrývají asijskou část areálu. Egypt *A. cahirinus* (Desmarest 1819) a dva vzorky, jeden z populace chované v ZOO Plzeň původem ze severního Čadu a zjevně mylně označovaný jako *A. seurati*, druhý z hor střední Libye, pocházely již z oblasti, kde by mimo bodlinatých myší ze skupiny *cahirinus-dimidiatus* mohl přicházet v úvahu i jihosaharský druh *A. airensis*. Jinou zajímavou a zcela neprobádanou oblastí je severní Keňa. V minulosti byly z Keni (převážně ovšem jižní) popsány nejméně čtyři nové druhy rodu *Acomys* (*A. ignitus*, *A. kempfi*, *A. percivali*, *A. wilsoni*). V neposlední řadě vzorky z Malawi, kde žije *A. spinosissimus*, umožnily srovnání s patrně velmi bazální formou rodu *Acomys*.

Nejkontroverznější skupinou v rámci rodu *Acomys* je *cahirinus-dimidiatus*. Karyotypové studie u linie *cahirinus* naznačují jejich blízkou příbuznost (Zima et al. 1999, Macholán et al. 1995), která byla podpořena odchovem hybridního potomstva (Holečková 2000, Frynta & Sádlová 1998). Naopak, při pokusech odchovat hybridní potomstvo mezi *A. cahirinus* a *A. dimidiatus* nebylo zatím dosaženo úspěchu (Frynta & Sádlová 1998, Holečková 2000), ačkoli je *A. dimidiatus* dodnes řadou autorů nerozlišována od *A. cahirinus* či uváděna jen jako poddruh tohoto druhu. Etologické pokusy v této práci jsou zaměřené na zkoumání druhového rozpoznávání mezi *A. cilicicus*, reprezentující skupinu *A. cahirinus*, a populace z Íránu, reprezentující skupinu *A. dimidiatus* sensu lato.

## 2 Cíle

Cílem této práce o bodlinatých myších rodu *Acomys* je:

1. Shromáždit a zpracovat nové vzorky z předtím téměř nestudovaných oblastí jihozápadní Sahary, Kréty, Kypru, Turecka, Jemenu, Perského zálivu, Keňi a Malawi.
2. Vytvořit databázi sekvencí dvou genů mitochondriální DNA: z rychle se vyvíjejícího genu D-loop, poskytujícího vysoké rozlišení pro nedávnou evoluční historii a o něco pomaleji vyvíjejícího se genu cytochromu b, který umožní celkový pohled na danou problematiku.
3. Zrekonstruovat fylogenetické vztahy uvnitř skupiny *cahirinus-dimidiatus*.
4. Pokusit se rozřešit kolik druhů rodu *Acomys* obývá severní Keňu a zjistit, zda se tyto formy vyskytují v sympatrii.
5. Určit, zda již existuje druhové rozpoznávání a prekopulační reprodukčně izolační mechanismy (RIM) mezi zástupci hlavních linií uvnitř skupiny *cahirinus-dimidiatus*. Potvrdit či vyvrátit druhový status těchto forem z hlediska prekopulačních bariér.

## 3 Literární přehled

### 3.1 Biologie rodu *Acomys*

#### 3.1.1 Rozšíření

Jednotlivé druhy bodlinatých myši rodu *Acomys* obývají aridní kamenité i písčité pouštní a polopouštní biotopy především v Africe. Dále se vyskytují na poloostrově Sinaj, v Izraeli, Jordánsku, Sýrii, na Arabském poloostrově, pobřeží Perského a Ománského zálivu (Írán, Pákistán), na mediteránních ostrovech Kypr, Kréta a jim přilehlém pobřeží Turecké Kilikie (Bates 1994).

#### 3.1.2 Charakteristika

Bodlinaté myši jsou malí hlodavci s dorzální částí těla pokrytou tvrdými bodlinami. Jako dospělí jedinci dosahují délky těla 70-175 mm a váhy 11-90 g (Nowak 1999). Schopnost autotomie ocasu je považována za fyziologickou adaptaci, vzniklou jako antipredační obranný mechanismus (Shargal et al. 1999). Zbarvení srsti je světle načervenalé, rezavě hnědé a spodní části těla jsou bílé (Nowak 1999, Osborn & Helmy 1980). Přinejmenším u tří druhů se vyskytují i melanické formy.

#### 3.1.3 Ekologie

Bodlinaté myši jsou primárně noční hlodavci, ale někteří mají svou aktivní dobu flexibilní, závislou na přírodních podmínkách (Cohen & Kronfeld-Schor 2006, Scantlebury et al. 2004, Demas et al. 2001, El-Bakry et al. 1998, Haim et al. 1994) a sympatricky žijících jedincích (Gutman & Dayan 2005, Jones et al. 2001, Zisapel et al. 1999, Haim & Rozenfeld 1993). Protože obývají pouštní prostředí, které je charakterické svou nestálou potravní nabídkou během roku, staly se všežravými hlodavci. Živí se plži (Broza & Nevo 1994), hmyzem, semeny a dalším rostlinným materiálem (Nowak 1999, Osborn & Helmy 1980). Na nedostatek potravy myši odpovídají dvojitým způsobem, jedni začnou častěji vyhledávat novou potravu a ztrácet tak svou tělesnou hmotnost, zatímco druzí naopak sníží svou aktivitu a tím přizpůsobí svůj výdej energie jejímu příjmu bez významné ztráty tělesné hmotnosti (Gutman et al. 2007, Gutman et al. 2006). Vody je zde stálý nedostatek a tak ji musí získávat



z potravy. Pokud je jim předkládána pouze suchá strava (semena), ztrácejí svou tělesnou hmotnost (Degen & Kam 1992). V období sucha je voda získávána požíváním živočišné potravy (Kronfeld-Schor & Dayan 1999, Broza & Nevo 1994, Kam & Degen 1993, Neal 1984) a stává se tak více zastoupenou složkou v přijímané stravě (Broza & Nevo 1994). Pro přežití v aridním prostředí si vyvinuly různé adaptace. Při nedostatku potravy snižují rychlost metabolismu a teplotu těla (Ehrhardt et al. 2005, Merkt & Taylor 1994, Perrin & Downs 1994, Weissenberg & Shkolnik 1994), vytváří si zásoby tělesného tuku (Ehrhardt et al. 2005) a vylučují koncentrovanější moč (Weissenberg & Shkolnik 1994). Při dehydrataci je krevní plasma schopna konzervace snížením vypouštění proteinů (Horowitz & Borut 1994). Také bodliny se přizpůsobují pobytu v tropickém a subtropickém podnebí, mají hluboké rýhy ke shromažďování vody, která následným odpařováním ochlazuje organismus (Chernova & Kuznetsov 2001). Dospělí jedinci *A. russatus* jsou zřejmě nejlépe adaptováni na horké pouštní podmínky (Haim et al. 2006, Kronfeld-Schor et al. 2000, Elvert et al. 1999), nejenže mají nejnižší klidový metabolismus v rámci rodu *Acomys* (Degen 1994), ale i v rámci čeledi Gerbillinae (Degen et al. 1986).

Zástupci rodu *Acomys* podléhají predaci, jak ze strany vzdušných (Edut & Eilam 2003, Eilam et al. 1999, Mandelik et al. 1999, Hendric et al. 1998), tak i pozemních predátorů (Jones & Dayan 2000). Během svého života se učí rozpoznávat a následně se i vyhýbat podnětům signalizujícím přítomnost predátora (Jones & Dayan 2000, Carere et al. 1999).

### 3.1.4 Sociální vztahy

Bodlinaté myši žijí sociálním způsobem, tvoří skupiny skládající se z několik samců a samic s mláďaty. Složení a vzájemné vztahy ve skupinách žijících ve volné přírodě nejsou prozatím podrobněji prozkoumány. Z laboratorního pozorování se na základě míry pohlavního dimorfismu a analýzy kopulačního chování zdá, že reprodukční systém je pravděpodobně polygynní (Dewsbury & Hodges 1987). V laboratorních chovech samice projevují větší míru agrese než-li samci, pokládají se tedy za dominantní členy skupiny, avšak v období laktace jsou samice agresivní i vůči sobě navzájem (Vašáková 2004, Porter 1976). Samice považují sexuálně nezkušené samce převážně za vetřelce, a proto je zvýšená agresivita zaměřena právě na ně. Agresivita proti zkušeným samcům byla slabší (Andres & Deni 1982), což je možná obrana proti infanticidě (Vašáková 2004).

### 3.1.5 Období rozmnožování

Období rozmnožování je závislé na podmínkách prostředí, ve kterém se jednotlivé druhy bodlinatých myší rodu *Acomys* nacházejí. Za dobrých podmínek se samice druhů *A. percivali* a *A. wilsoni*, žijící v Tanzanii, mohou množit téměř po celý rok (Neal 1983). Ke snížení plodnosti dochází u některých druhů v zimních měsících, v méně příznivém období dochází k poklesu fertility (Nováková 2005, Shargal et al. 2000, Vodičková 2000, Sicard & Fuminier 1996, Young 1976). Délka březosti je také neobvykle dlouhá a pohybuje mezi 36 a 42 dny (Peitz 1981), protože velkou část vývoje mláďata prodělávají v prenatalním vývoji (Brunjes 1990). Počet mláďat ve vrhu se pohybuje mezi 1 až 5, nejčastěji se však rodí 2 mláďata (Nováková 2005, Vodičková 2000, Dempster et al. 1992, Dewsbury & Hodges 1987, Neal 1983, Young 1976). Počet mláďat ve vrzích je u *A. dimidiatus* a *A. cahirinus* pozitivně korelován s počtem jedinců ve skupině a s pořadím vrhu matky (Charvátová 2005, Nováková 2005). Estrální cyklus trvá 11 dní, je tedy docela dlouhý (Peitz 1981), po porodu dochází k estru postpartum (Peitz 1981). Průměrná porodní váha mláďat je 5,6-6,4 g (Nováková 2005, Vodičková 2000, Dewsbury & Hodges 1987), dospělí jedinci dosahují hmotností v průměru 33,7-43,4 g (Dewsbury & Hodges 1987). Mláďata se rodí většinou osrstěná (Dieterlen 1963), avšak novorozeňata *A. subspinosus* se rodí holá, chloupky jsou viditelné následující den po porodu (Dempster et al. 1992). Den po porodu otevírají oči (Dewsbury & Hodges 1987) a jsou schopna pohybu na krátké vzdálenosti (Dieterlen 1963). Ušní boltce jsou volné a prsty u nohou oddělené od druhého dne, řezáky se začínají prořezávat sedmý den (Dempster et al. 1992). Patří tedy mezi prekociální druhy, což je v rámci myšovitých hlodavců *sensu lato* neobvyklé a jde zjevně o odvozený (apomorfní) stav. Pohlavní dospělost nastává u samců ve věku 55-65 dní a samic ve věku 45 dní (Peitz 1981), svá první mláďata rodí ve stáří okolo 100 dní (Nováková 2005, Peitz 1981). Nováková (2005) zaznamenala pohlavní dimorfismus ve velikosti těla. Samci jsou od narození signifikantně větší než samice a v ontogenezi se tento rozdíl nezvyšuje. Samice tedy během prenatalního vývoje investuje více do samců (Nováková 2005). Sekundární poměr pohlaví se u bodlinatých myší neliší od poměru 1:1 (Nováková 2005).

### 3.1.6 Samčí rodičovská péče

Fyziologický vývoj a růst mláďat u hlodavců může být ovlivněn přítomností samce (Elwood & Broom 1978 ex Makin & Porter 1984). Samci bodlinatých myší se účastní péče o potomky. Při porodu olizují částečně vytlačený plod, přidržují jej a tím zřejmě usnadňují jeho

narození (Dieterlen 1962 ex Makin & Porter 1984). Důležitou roli v rozvoji paternálního rodičovského chování hraje předchozí zkušenost. Samci jsou velice tolerantní ke svým mládřatům a dokáží rozeznávat mezi vlastními a cizími mládřaty (Makin & Porter 1984). Čas strávený se svými potomky je soustředěn na dobu nepřítomnosti samice, s věkem mládřat se tato doba prodlužuje (Szjiarto et al. 1985, Makin & Porter 1984, Porter et al. 1980). Svým chováním přispívá k termoregulaci a ochraně mládřat.

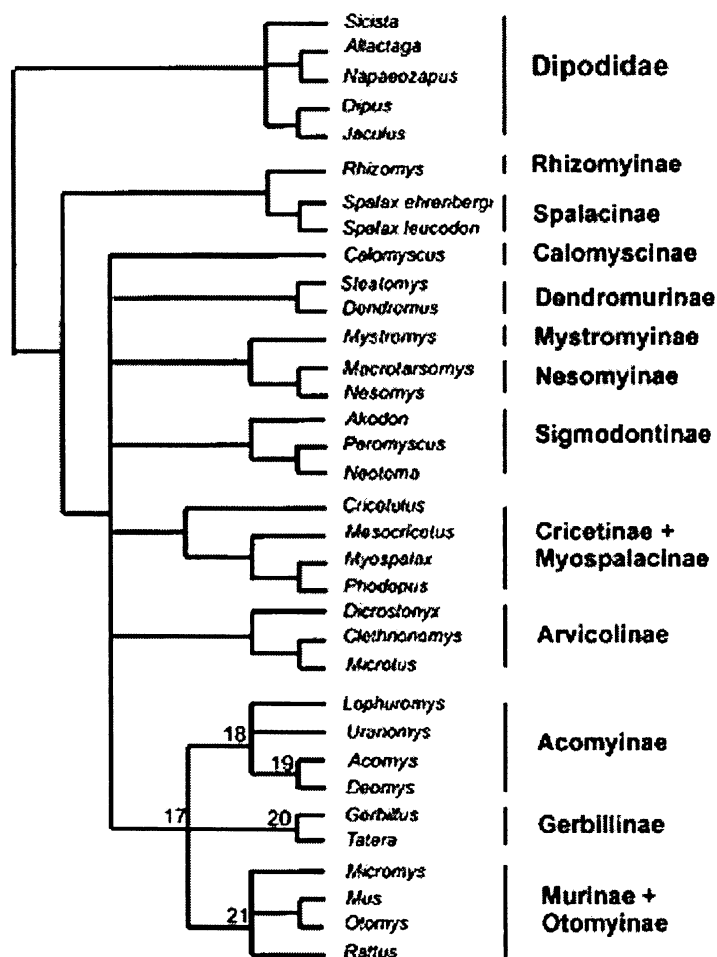
### 3.2 Fylogenetické vztahy

Myšovití hlodavci rodu *Acomys* byli do roku 1999 neoficiálně nazýváni „acomyine“ (Hänni et al. 1995). Dubois et al. (1999) napsal, že *Acomys* a *Uranomys* tvoří monofyletický klad na úrovni podčeledi a pojmenoval jej „Acomyinae“. Později Michaux & Catzeflis (2000) označili Acomyinae (podle Hänni et al. 1995) jako klad zahrnující rody *Acomys*, *Deomys*, *Lophuromys* a *Uranomys*.

Do roku 1909, kdy Dollmann popsal rod *Uranomys*, byly nashromážděny podrobnosti o rozlišné morfologii mezi *Acomys* a *Lophuromys*, zvláště patrné ve stavbě srsti a vzoru okluzních stoliček (Denys et al. 1992). Časem přibývaly nemorfologické práce, které společně dokazovaly monofyletické postavení výše zmíněných tří rodů a jejich fylogenetické izolace od zbytku Murinae. Imunologické studie (Fraguedakis-Tsolis et al. 1993, Sarich 1985 ex Fraguadakis-Tsolis et al. 1993) a analýzy aminokyselinových sekvencí inzulínu (Graur 1994) označily *Acomys* za stejně vzdálenou linii od Murinae jako jsou i další podčeledi patřící do Muridae. DNA-DNA hybridizace studovaná Chevret et al. (1993) začlenila *Acomys*, *Uranomys* a *Lophuromys* jako monofyletický klad. Fylogenetické analýzy sekvencí mitochondriálního 12S a rRNA (Hänni et al. 1995) a pankreatického genu pro ribonukleázu A (Dubois et al. 1999) dodatečně přidali molekulární data podporující existenci tohoto kladu. Analýzou často se opakujících sekvencí v jaderném genomu (LINES) byla zjištěna totožnost DNA elementu, pojmenovaném *Lx*, který je specifický pro Murinae, ale chybí u *Acomys*, *Uranomys* a *Lophuromys* (Pascale et al. 1990). Zástupci *Deomys* byli nakonec přidáni ke zbylým třem rodům a zahrnuty do fylogenetických analýz jaderného proteinu, kódující gen LCAT (Lecithin Cholesterol Acyl Transferase) (Michaux and Catzeflis 2000), také LCAT v kombinaci s genem vWF (von Willebrand Factor) (Michaux et al. 2001). Výsledky jasně potvrdily dávný vztah *Acomys*, *Uranomys* a *Lophuromys* ke zbytku myšovitým hlodavcům a demonstrují jednoznačně jejich fylogenetické spojení s *Deomys*, na rozdíl od stanoviska

založeného na fylogenetické analýze celého cytochromu b Martin et al. (2000), která nevyřešila postavení *Acomys* k ostatním rodům myši.

Systematici souhlasili s vyřazením *Acomys* a ostatních Deomyinae z Murinae, ale neměli určenou její sesterskou skupinu (Dubois et al. 1999, Chevret a Hanni 1994). DNA/DNA hybridizační experimenty (Chevret et al. 1993) a analýzy sekvencí DNA z pátého exonu genu KBP (kallikrein-binding protein) (Agulnik a Silver 1996) naznačují, že *Acomys*, *Uranomys* a *Lophuromys* si jsou fylogeneticky bližší s podčeledí Gerbillinae, než s vlastními Murinae. Michaux a Catzeflis (2000) svými molekulárními výsledky přechodně potvrdili sesterský vztah mezi skupinami Gerbillinae, Acomyinae a Murinae (viz obr. 1).

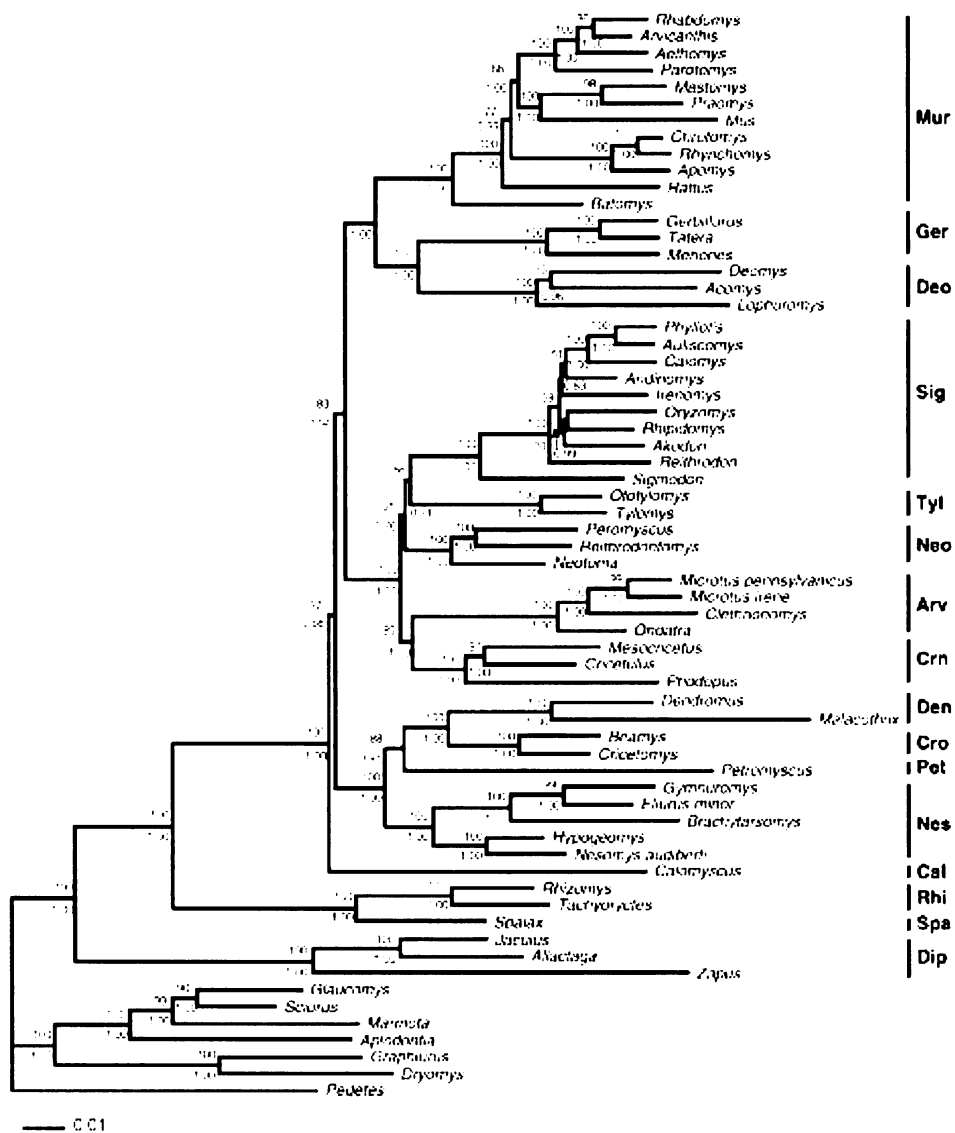


Obr. 1: Syntetický strom shrnující výsledky ze tří přístupů MP, NJ, ML sekvenováním genu LCAT. Hodnoty bootstrapu označených nodů jsou (v závorce jsou uvedeny v pořadí MP, NJ, ML) následující: 17 (65, 59, 25), 18 (98, 99, 68), 19 (94, 89, 72), 20 (100, 100, 95), 21 (99, 100, 77). Strom je zakořeněn pěti sekvencemi Dipodidae (převzato z Michaux & Catzeflis 2000).

Rekonstrukce fylogenetických vztahů na základě analýz kombinujících sekvence dvou jaderných genů LCAT a vWF (Michaux et al. 2001) poskytují silně podpořený výsledek, sesterskou skupinou Acomyinae je Gerbillinae a klad tvořený těmito dvěma liniemi je sesterský k Murinae.

Podle molekulárních hodin došlo k první radiační události mezi těmito třemi skupinami asi před 17,9-20,8 miliony lety (Michaux et al. 2001). Tento odhad se trochu liší od těch, jež byly získány z jiných molekulárních dat před 15,5-17 miliony (Michaux a Catzefflis 2000) a před 14 miliony lety (Chevret et al. 1993). Ke druhé radiační události dochází asi před 16,5-18,5 miliony lety. Toto vedlo k oddělení Acomyinae a Gerbillinae, ale také došlo k radiaci skupiny "křečků" (Arvicolinae, Sigmodontinae, Cricetinae, Myospalacinae) a „Afrického“ kladu (Nesomyinae, Mystromyinae, Cricetomyinae, Dendromurinae). Podle Aguilat et al. (1996) je toto období (konec časného Miocénu) charakteristické svými klimatickými změnami, které podporovaly šíření v Evropě a Africe.

Vztah mezi sesterskými skupinami Gerbillinae a Acomyinae (resp. Deomyinae) a jejich zařazení s Murinae do monofyletickém kladu je odůvodněno analýzami sekvencí jaderných genů IRBP (Jansa a Weksler 2004) a dalších čtyř jaderných genů (GHR, BRCA1, RAG1 a c-mos) (Steppan et al. 2004) (viz obr. 2).



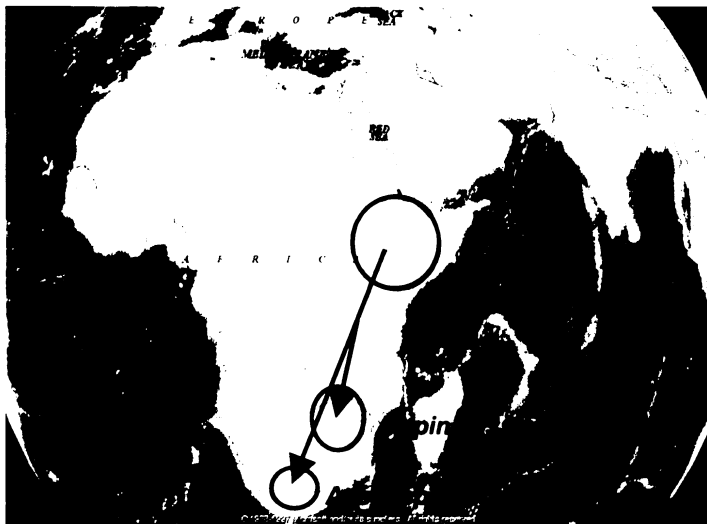
Obr. 2: Strom sestavený metodou Maximum-likelihood (ML) (model GTR+I+ $\Gamma$ ). Čísla nad větvemi ukazují podporu bootstrappingu pro jednotlivé nody metodou ML a čísla pod větvemi ukazují Bayesianké posteriorní pravděpodobnosti. Jména jednotlivých kladů jsou zkratky z prvních třech písmen podčeledi nebo čeledi. Dipodidae společně s neoznačenými taxony jsou „outgroup“. Měřítko je rovno 0.01 (převzato z Steppan et al.2004).

Přestože jsou výše zmíněné studie nejednotné v určení příbuzenských vztahů rodu *Acomys*, v poslední době převládá názor, že Deomyinae jsou sesterskou skupinou pískomilů (Gerbillinae) (Pennello et al. 2006, Jansa & Weksler 2004, Steppan et al. 2004, Michaux et al. 2001, Agulnik & Silver 1996, Chevret et al. 1993).

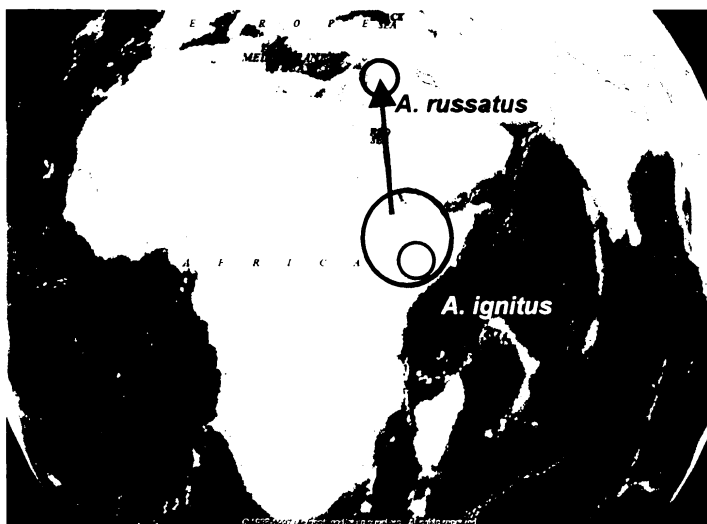
Barome et al. (2000) se pokusili načrtnout možný fylogeografický scénář jednotlivých linií bodlinatých myší rodu *Acomys*. Ačkoli centrum radiace je stále sporné, bylo přihlédnuto k práci Matthey (1968 ex Barome et al. 2001b), který navrhuje jako centrum vzniku východní Afriku. Jedním z dalších možných míst je udávána jižní Afrika.

První migrační vlna směřovala na jih kontinentu během středního Miocenu (9,7-13,7 milion let), kde vznikají rody *A. subspinosus* a *A. spinosissimus* (obr. 3 A). Dalšími liniemi, které se osamostatňovaly ve svrchním Miocenu (před 5,9-8,3 miliony lety), byly jak *A. russatus* (obr. 6a) migrující směrem na Blízký Východ, tak *A. wilsoni* (obr. 3 B), která vzniká fyzickým oddělením od zbytku stávajících populací ve východní Africe. Pokračující vikariancí dále vzniká také rod *A. ignitus* (obr. 3 B), který mohl speciovat na stejném území jako předcházející *A. wilsoni* v době rozmezí mezi Miocenem a Pliocenem (před 4,7-6,6 miliony let; Barome et al. 2000).

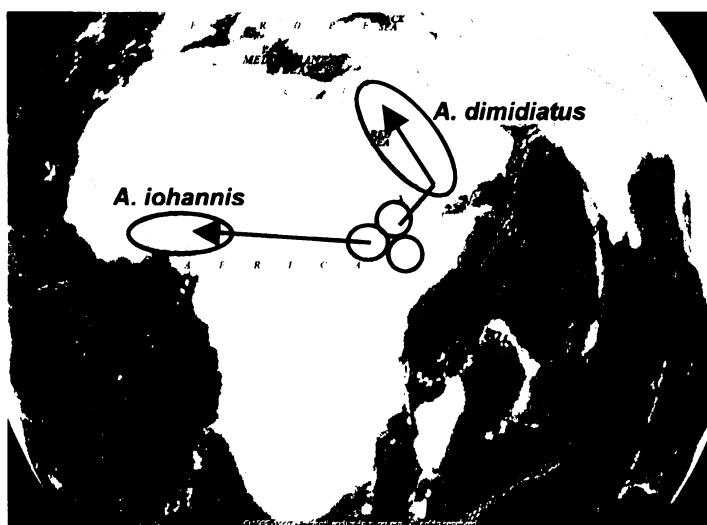
Skupina *cahirinus-dimidiatus* (obr. 4-5) vznikající na konci Pliocenu (před 2-2,8 miliony let) sdílela při šíření na západ společnou historii, a proto má velmi složité vnitřní uspořádání, které není do dnešního dne rozřešené. Linie patřící do kladu *dimidiatus* (jako je *A. dimidiatus*) se šířila směrem na sever k Blízkému Východu, přes Rudé moře a jih Arabského poloostrova, na západ kontinentu do známé lokality Burkina Faso, kde vzniká druh *A. johannis* (obr. 3 C). Pátá vlna, která se pravděpodobně udála někdy před 0,7-1 miliony let, se skládala ze dvou migračních událostí. Jedna směřovala na západ Afriky a vedla ke vzniku druhu *A. airensis* a druhá, šířící se na sever, dala vzniknout *A. cahirinus* (obr. 3 D). Poslední fáze, odehrávající se ve Starověku, je poznamenána činností člověka, jež pravděpodobně zavlékla bodlinaté myši z Egypta nejen na přilehlé ostrovy jako je Kypr, Kréta (Kunze et al. 1999), ale také na jižní pobřeží Turecka, kde byly později popsány jako rody *A. nesiotis*, *A. minous* a *A. cilicicus* (Barome et al. 2000) (obr. 3 E).



A) První vlna migrace: 13,7-9,7 mil. let

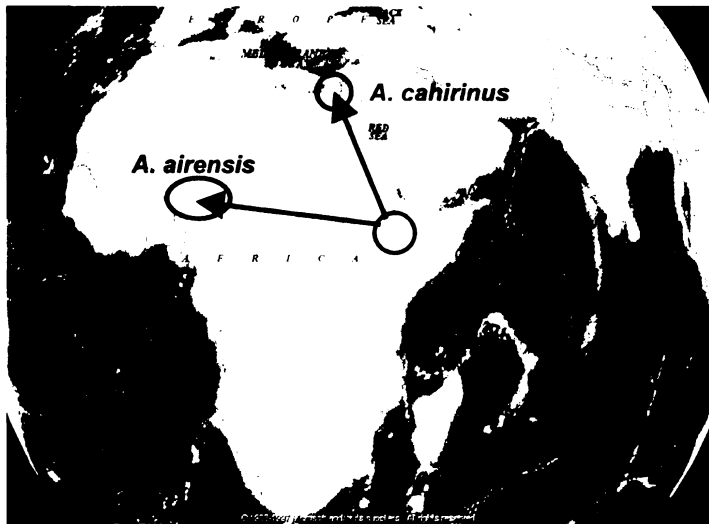


B) Druhá a třetí vlna migrace: 8.3-5.9 mil. let resp. 6.6-4.7 mil. let

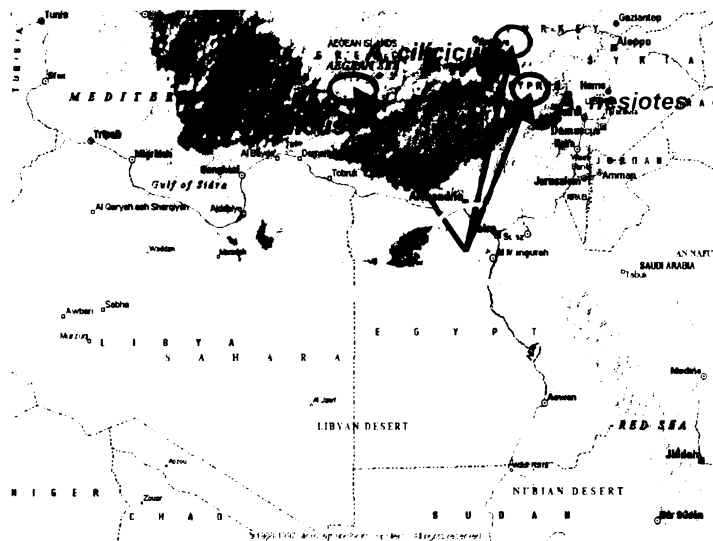


C) Čtvrtá vlna migrace: 2.8-2 mil. let



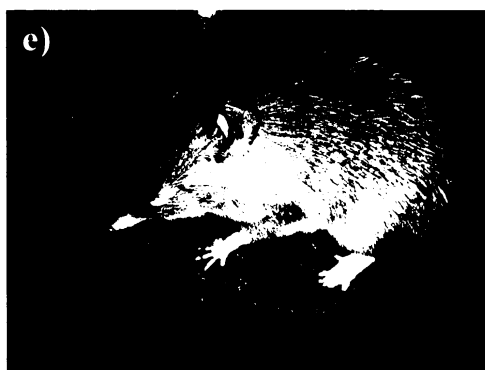


D) Pátá vlna migrace: 1-0.7 mil. let



E) Šestá vlna migrace: Starověk

Obr. 3: Fylogeografický scénář disperze bodlinatých myší rodu *Acomys*, založený na sekvencích cytochromu b (podle Barome et al. 2000).



Obr. 4: Chované populace skupiny *cahirinus* pocházející z (a) Abu Simbel - Egypt, (b) Káhira - Egypt, (c) pobřeží Kilikie - Turecko, (d) pohoří Akakus - Libye, (e) Cinarli - Kypr, (f) Tibesti - Čad.



Obr. 5: Chované populace skupiny *dimidiatus* pocházející z (a) Wadi Ramm - Jordánsko, (b) Bandar Abbas - Írán.



Obr.6: Chovaná populace (a) skupiny *russatus* pocházející z laboratorních kolonií v Německu a (b) *A. sp* pocházející z Keni.

Bodlinaté myši rodu *Acomys* patřící do komplexu *cahirinus-dimidiatus* se staly široce užívaným modelem pro fyziologické (např. Dickinson et al. 2007, Degen 1994, Haim & Zisapel 1999, Heffner et al. 2001, Shanas et al. 2002, Scantlebury et al. 2003, 2004), behaviorální (např. Porter et al. 1989, Friedman et al. 1997, Eilam et al. 1999, Jones a Dayan 2000, Edut a Eilam 2003, Eilam 2004, Pinter-Wollman et al. 2006) a evoluční (např. Nevo 1985, Krasnov et al. 2005) studie (pro bibliografii Van der Straeten 1994). Ačkoli je tato skupina morfologicky odlišná (Denys et al. 1994), pokud jde o vztahy mezi jednotlivými populacemi/druhy, neexistuje dosud žádná shoda mezi tradičními systematiky (Wilson a Reader 2005). Následkem toho téměř všechna studovaná zvířata pocházejí z blízkosti regionu Jordánsko, Izrael, Sinaj - Egypt, kde byly popsány jako *A.cahirinus* (Demarest, 1819), bez ohledu k jejich preciznímu systematickému stavu (Carere et al 1999, Heffner et al. 2001, Weber & Hohn 2005).

Barome et al. (1998, 2000, 2001a) analyzoval část sekvencí mtDNA (cytochrom b) u 14 druhů *Acomys* a upozornil na existenci dvou odlišných kladů uvnitř skupiny *dimidiatus-cahirinus*. První zahrnuje *A. dimidiatus* (Cretzschmar, 1826) z oblastí od Sinaje, Izraele, Jordánska až po Saudskou Arábii a jeho sesterskou větev včetně dosud nepojmenovaných forem z Kamerunu a Burkina Faso v západní Africe. Druhá linie obsahuje *A. airensis* Thomas & Hinton (1921) z Nigeru a Mali a *A. cahirinus* (É. Geoffroy, 1803) z Egypta.

Překvapivě mají dva středomořské druhy *A. nesiotetes* Bate (1903) z Kypru a *A. minous* Bate (1906) z Kréty téměř identické sekvence cyt b s *A.cahirinus* z typové lokality v Káhiře. Zbývající druhy ze Středomořské oblasti, *A.cilicicus* Spitzenberger (1978) z Kilikie (JV pobřeží Anatolie, Turecko) a s *A.minous*, sdílejí trochu odlišný haplotyp (označený B) neznámého původu, ale přesto jednoznačně blízce příbuzný s *A.cahirinus* (Barome et al. 2001a, 2000). Z výše uvedených údajů je možné usoudit, že Středomořské druhy bodlinatých myši nejsou pozůstatky po endemické třetihorní fauně, ale spíše potomci nedávného, nejpravděpodobněji komenzálního spojení s lidmi, kteří se přepravovali za obchodem v této oblasti.

Nedávno Volobouev et al. (2007) formálně povýšil *dimidiatus* na dobrý druh. Přezkoumané karyologické (Volobouev et al. 2002, 1996a,b, Kunze et al. 1999, Zima et al. 1999, Kivanc et al. 1997, Macholán et al. 1995, Sokolov et al. 1993, Nevo 1985), morfologické (Denys et al. 1994) a biogeografické poznatky ukazují zřetelné rozdíly mezi *A.cahirinus* z Afriky (zahrnující Egypt) a *A.dimidiatus* z Asijské části zahrnující také Sinaj. Existují také fylogeografické scénáře zahrnující imigraci *dimidiatus* z Afriky na jih Arabského poloostrova přes Rudé moře. Navzdory rozsáhlé distribuci *A.dimidiatus* v Asii

(Bates 1994), táhnoucí se od Sinaje, celým Arabským poloostrovem, Iránským pobřežím Perského a Ománského zálivu k západnímu Pákistánu (Bobrov a Neronov 1998), byly doposud molekulárními metodami zkoumány pouze populace ze Sinaje, Izraele a Jordánska.

Zařazení *A. dimidiatus* mezi druhy může být také podporováno faktem, že dosud ještě nebyli v přírodě ani v zajetí popsáni žádní plodní hybridi mezi *A. dimidiatus* a *A. cahirinus*. Nicméně Jordan (2000) poukazuje na existenci sterilních hybridů mezi komenzální tmavou formou populace *A. cahirinus* z Káhiry a velkou světlou formou z Gízy (předměstí Káhiry), uváděné jako *A. dimidiatus megalodus* Setzer (1959). Jako typová lokalita *A. dimidiatus megalodus* je udávána Suezská oblast (Wadi Sayal), avšak druhové zařazení populace nebylo prokázáno molekulárními metodami, a podle Volobuev et al. (2007) se v místě položeném v africké části Egypta očekává výskyt spíše *A. cahirinus* než *A. dimidiatus*.

### 3.3 Rozpoznávání

#### 3.3.1 Rodičovské rozpoznávání

Samice bodlinatých myší jsou schopny rozeznat vlastní mláďata od cizích (Porter et al. 1980). Kritérium, podle kterého matky poznají vlastní potomky, je pravděpodobně „značka“, která je na mláďata přenesena prostřednictvím mateřské péče, což představuje olizování, kojení a choulení (Porter 1986). Tato „značka“ může být charakteristická pro každou populaci, protože složení stravy se v každé z lokalit liší v relativním zastoupení jednotlivých i když podobných složek (Porter 1986). U bodlinatých myší (*A. cahirinus*) (McFadyen-Ketchum & Porter 1989) a pískomilů (*Meriones unguiculatus*) (Valsecchi et al. 1996) bylo popsáno, že blízké příbuzní jedinci (rodiče a další členové skupiny) hrají významnou roli ve vývoji potravní preference mláďat.

Samci bodlinatých myší mají také schopnost rozeznávat mezi vlastními a cizími mláďaty (Makin & Porter 1984). Jiný druh hlodavce a sice křeččík *Peromyscus maniculatus* vyžaduje přítomnost známé samice (El-Haddad et al. 1988) pro správné rozpoznání známého pachu z mláďete. Clark et al. (2003) popsal u samců pískomilů (*Meriones unguiculatus*) schopnost rozpoznat samčí a samičí novorozence podle pachu, který je produkován pouze samci.

Kojící samice bodlinatých myší produkují mateřský feromon, který mláďata následují od prvního dne narození (Porter & Ruttle 1975), avšak jeho atraktivita se snižuje s rostoucím

věkem mlád'at, ve věku mezi 20. - 25. dnem přestává být preferován (Janus 1988, Porter & Doane 1979, Porter et al. 1978a).

### 3.3.2 Rozpoznávání mezi mlád'aty

Seznamování mlád'at patřících do jednoho vrhu se děje prostřednictvím fyzického kontaktu (choulení), během kojení a po celou dobu dospívání (Porter & Wyrick 1979), pomocí něhož si vyvíjejí schopnost rozpoznat jednotlivé členy vlastního druhu (Porter 1988, Porter & Wyrick 1979, Porter et al. 1978b). Choulení není preferováno mezi pohlavími (Deni et al. 1983).

U prvních experimentů *A. cahirinus* se čtyřčlennou skupinou (dva páry biologických sourozenců), kdy byla mlád'ata ponechána až do začátku testu se svými rodiči, se testovalo zda preference „huddling“ choulení poskytuje obraz určující sociální vztahy mezi blízkými příbuznými (Porter & Doane 1979, Porter & Wirick 1979, Porter et al. 1978b). Skupina čtyř mlád'at mladších 14 dnů se choulila dohromady (Porter et al. 1982, Porter & Wyrick 1979), ale počínaje 15. dnem se projevila sourozenecká preference (Porter & Wyrick 1979, Porter et al. 1978b). Jedním z dalších pokusů bylo označení mlád'at umělými pachy (dva typy pachů). Nepříbuzná mlád'ata se stejným pachem se vzájemně preferovala a tudíž i rozpoznávala na základě shody fenotypického standardu (Porter et al. 1983). Toto bylo také popsáno u hraboše *Microtus ochrogaster*, kdy i po 21 denní izolaci (přerušované každý třetí den) mlád'ata rozpoznávala své biologické sourozence (Paz y Miño & Tang-Martínez 1999). Stejný výsledek byl zaznamenán i u hraboše *Microtus arvalis* po 35 denní izolaci (Bolhuis et al. 1998).

Přímý kontakt má významný vliv na vývoj sociálních interakcí. Pokusy, při kterých byla mlád'ata *A. cahirinus* vychovávána u nepříbuzných adoptivních samic, byly využity pro testování různých kombinací mlád'at, lišících se v délce adopce. Mlád'ata jsou vychovávána jako normální členové adoptivní rodiny, zatímco biologičtí sourozenci jsou odděleni až do začátku testu. Výsledky ukázaly, že nezáleží na délce adopce. Mlád'ata, která společně vyrůstala, se při následných testech i signifikantně více párovala, a to nezávisle na genetické příbuznosti (Porter et al. 1981). Ovšem pokusy provedené Kareem (1983) tyto výsledky nepotvrzují. Heth et al. (2003) prokázal v obdobném pokusu mezi *Mus musculus* a *Mus spicilegus* (adoptováni byli vždy dva biologičtí sourozenci najednou), že pokud mlád'ata mají stálý kontakt s vlastním sourozencem, dokáží si zapamatovat charakteristickou rodinnou „značku“.

Schopnost rozpoznávat své sourozence nemusí být trvalá. Vyplývá to z pokusů, při kterých byla jednotlivá mláďata *A. cahirinus* izolována po dobu 8 dnů (Porter & Wyrick 1979). Avšak pokud jsou izolováni dva sourozenci společně (Porter et al. 1986, Porter et al. 1983), nebo dojde ke krátkému přerušení izolace, dochází k opětovnému rozpoznání mezi sourozenci (Porter et al. 1986, Porter et al. 1983, Porter & Wyrick 1979). V případě prvního setkání nevlastních mláďat u bodlinatých myší *A. cahirinus* docházelo k oboustrannému rozpoznání (Skolnick et al. 1992), což bylo také popsáno u myší (*Mus musculus*) (Kareem & Bernard 1982). Ztráta schopnosti rodinného rozpoznávání se také objevuje u *Microtus arvalis* (Lambin & Mathers 1997).

Porter et al. (1984) se zaměřil na vzájemně si cizí mláďata *A. cahirinus*. Páry, které byly umístěny společně či odděleny mřížkou, si vytvořily vzájemnou preferenci nezávisle na světelném cyklu (tma po celou dobu testu nebo světlo/tma opakující se v cyklech). U pokusů s rozdílnou stravou mezi oddělenými biologickými sourozenci, kteří byly chováni s cizími vrstevníky, byla výsledná frekvence párování shodná, jak mezi biologickými sourozenci, tak mezi jedinci udržovanými na stejné stravě (Porter et al. 1989).

U několika druhů hlodavců dochází ke snaze vyhnout se příbuzenskému křížení, zdá se, že je to následek přepubertálních asociací (Porter 1988). Vytvořené páry hrabošů (*Microtus canicaudus*), které společně vyrostly, měly následně menší počet vrhů, než vzájemně si neznámé páry (Boyd & Blaustein 1985 ex Porter 1988). U pískomilů a bodlinatých myší byla pozorována zpožděná reprodukce (Agren 1984, vlastní pozorování). K opačné situaci dochází u hraboše *Micronus pennsylvanicus* (Pugh & Tamarin 1988). Ke snížení reprodukce docházelo také u dvou druhů křečků (*Peromyscus leucopus* a *Peromyscus maniculatus*), pokud byli rodiče mezidruhově adoptováni (Hawkins & Cranford 1992). Při studiu prekopulačních mechanismů u dvou blízce příbuzných druhů myší *Mus musculus* a *Mus hortulanus* se zjistila schopnost rozpoznání pouze na základě olfaktorického testu moči (Kotenkova et al. 1989). Frynta et al. (1995) se zabýval populacemi myšice *Apodemus agrarius* z Evropy a Dálného východu. Z pozorování vyplynulo, že myšice preferují pach cizí, leč ne zcela vzdálené populace. Evropské populace preferují jinou evropskou populaci před dálnévýchodní a obě jmenované před populací vlastní.

Další práce se zaměřily na zdroj informace o pohlaví a reprodukčním stavu. Hraboši (*Microtus pennsylvanicus*) mají pět zdrojů pachů, jmenovitě: výkaly, anogenitální oblast, zadoboční část těla, tlama a moč. První tři zmíněné zdroje jsou zcela pod vlivem gonadotropních hormonů, ale zbylé dva ne, a proto mohou být důležité v komunikaci (Drickamer 2001) a rozlišení pohlaví (Ferkin & Johnston 1993, 1995a). Dominantní samci

myši (*Mus musculus domesticus*) dávají najevo své postavení před submisivními jedinci zvýšeným značením močí (Drickamer 2001). Některé pachy se mění v průběhu reprodukčního cyklu samice (Ferkin & Johnston 1995b). Souhrnně řečeno, každý zdroj pachu poskytuje mnoho rozmanitých typů informací (Johnston 2003, Ferkin & Johnston 1995a, 1995b, 1993, Smith & Block 1991).

### 3.3.2.1 Souhrn

Hlodavci jsou schopni zaznamenávat nepatrné rozdíly mezi pachy a přizpůsobit tak své chování podle získané informace. Pachy mohou odrážet měnící se biologický stav jedince jako je strava (např. Porter et al. 1989, McFadyen-Ketchum & Porter 1989, Valsecchi et al. 1996), sociální postavení (Drickamer 2001) nebo zdravotní stav (Penn et al. 1998). Prostřednictvím pachu mohou také získat důležitou informaci o neměnném znaku, jakým je genetická příbuznost. (např. Busquet & Baudoin 2005, Mateo 2003), což se zvláště uplatňuje u testů, umožňujících zkoumat rozdílné chování k příbuzným a nepříbuzným jedincům. Tato schopnost byla demonstrována u několika druhů hlodavců: *Acomys cahirinus* (např. Janus 1988, Kareem 1983, Porter et al. 1983, Porter et al. 1981, Porter & Wyrick 1979), *Mus spicilegus* (Busquet & Baudoin 2005), *Spermophilus heldingi* (Holmes 1986) nebo *Mesocricetus auratus* (Heth et al. 1998).



## 4 Metodika

### 4.1 Rekonstrukce fylogeneze na základě sekvenčních dat

#### 4.1.1 Materiál

Tato práce zahrnuje analýzu vzorků od 57 jedinců bodlinatých myší rodu *Acomys*. Jedinci pocházející z Egypta, Libye, Čadu, Kypru, Turecka a Íránu byli odchyceni Danielem Fryntou a kolektivem z volně žijících populací. Každému živému zvířeti byl sterilními nůžkami odstrižen kousek ocásku, který byl zafixován v mikroskopu s 96% etanolem. Další vzorky pocházejí z mrtvých zvířat, která byla získána během expedic do volné přírody, nám byly poskytnuty Milošem Macholánem (Kypr), Petrem Bendou (poloostrov Sinaj, Jemen a Írán), Davidem Modrým (Jordánsko, Keňa) a Zoo Plzeň (Kréta, Arabské Emiráty a laboratorní populace *A. dimidiatus* z Bronxu). Slezina, ledviny, játra, svalovina nebo špička ocásku byly z každého jedince také odebrány sterilními nůžkami, ihned po jeho smrti a dány do mikroskopu s 96% etanolem. Lokality studovaných jedinců jsou uvedeny v tabulce 1.

Tab. 1: Seznam lokalit a zdrojů analyzovaných vzorků

No.	Species	Lokalita	Geografický původ
NES1	<i>A. nesiototes</i>	Agirdağ, Kypr (kol. M. Macholán)	35° 18' N 33° 15' E
NES2	<i>A. nesiototes</i>	Cinarlı 4km JV, SV Kypr (kol. D. Frynta)	35° 19' 06 N 33° 47' 26 E
CAIR	<i>A. cahirinus</i>	Káhira, Egypt, laboratorní kol. Karlova Univerzita, Praha (chyceno O. Barome)	30° 04' N 31° 14' E
SIM1,SIM2	<i>A. cahirinus</i>	Abu Simbel, Egypt, (chyceno Jan Borek)	22° 22' N 31° 38' E
LJB	<i>A. cahirinus</i>	Mts Akakus, Libye (chyceno D.Frynta a L.Schwarzová)	25° 44' 562 N 12° 08' 211 E
CHAD	<i>A. cahirinus</i>	Tibesti, Čad, laboratorní kol. ze ZOO Plzeň	-
CIL	<i>A. cilicicus</i>	V Silifke, Turecko, 2 vzorky laboratorní kol. Karlovy Univerzity, Praha (chyceno J. Sadlova)	36° 26' N 34° 06' E
MIN	<i>A. minous</i>	Kréta, laboratorní kol. ze ZOO Plzeň	-
EMIR	<i>A. sp.</i>	Jabal Hafit, Spojené Arabské Emiráty, laboratorní kolonie ze ZOO Plzeň (populace pochází z Breeding centre for endangered arabian wildlife, Sharjah, UAE, chyceno Peter Arras, Al Ain)	24° 04' N 55° 47' E
IRA1	<i>A. sp.</i>	Khos Hangan, S Bandar Abbas, Iran; 500 m nad mořem (chyceno D.Frynta, L.Schwarzová a P.Kunzová)	27° 38' 362 N 56° 13' 226 E
IRA2	<i>A. sp.</i>	Zagros, Írán (chyceno D.Frynta, L.Schwarzová a P.Kunzová)	28° 55' 892 N 52° 31' 770 E
IRA3	<i>A. sp.</i>	Dehbarez, Írán (kol. P. Benda a P. Nová)	27° 27' 745 N 57° 19' 197 E
YEM1	<i>A. sp.</i>	Hawf, Jemen (kol. P. Benda)	16° 39' N 53° 03' E

No.	Species	Lokalita	Geografický původ
YEM2	<i>A.sp.</i>	Hawf, Jemen (kol. P. Benda)	16° 39' N 53° 03' E
SIN1	<i>A. dimidiatus</i>	Wadi Gharandal, Sinaj, Egypt (kol. P. Benda)	29° 08' N 31° 51' E
SIN2	<i>A. dimidiatus</i>	Wadi Gharandal, Sinaj, Egypt (kol. P. Benda)	29° 08' N 31° 51' E
JOR3	<i>A. dimidiatus</i>	Wadi Ramm, Jordánsko (chyceno D. Modrý)	29° 36' N 35° 24' E
JOR4	<i>A. dimidiatus</i>	Wadi Ramm, Jordánsko, ZOO Plzeň (chyceno D.Modrý a Peš)	-
JOR1	<i>A. dimidiatus</i>	Wadi Ramm, Harab Antar, Jordánsko (kol. D. Modrý)	29° 36' N 35° 24' E
JOR2	<i>A. dimidiatus</i>	Wadi Ramm, Lawrence spring, Jordánsko (kol. D. Modrý)	29° 36' N 35° 24' E
BRONX	<i>A. dimidiatus</i>	Lab. kolonie, 2 samples, ZOO Bronx and ZOO Praha	-
RUS1	<i>A. russatus</i>	Lab. kolonie., Karlova Univerzita, Praha	-
RUS2	<i>A. russatus</i>	Wadi Ramm, Harab Antar, Jordánsko (kol. D. Modrý)	29° 36' N 35° 24' E
LEW	<i>A. russatus</i> „lewisii“	lab. kolonie, Jordánsko (kol. D. Modrý)	-
Ken2-95	<i>A.sp.</i>	Keňa (kol. D. Modrý)	03° 18' N 37° 39' E
Ken2-107	<i>A.sp.</i>	Huri, Keňa (kol. D. Modrý)	03° 22' N 37° 44' E
Ken2-108	<i>A.sp.</i>	Huri, Keňa (kol. D. Modrý)	03° 22' N 37° 44' E
Ken2-110	<i>A.sp.</i>	Huri, Keňa (kol. D. Modrý)	03° 22' N 37° 44' E
Ken3-113	<i>A.sp.</i>	Keňa (kol. D. Modrý)	03° 32' N 37° 47' E
Ken2-137	<i>A.sp.</i>	Forole, Keňa (kol. D. Modrý)	03° 42' N 37° 58' E

No.	Species	Lokalita	Geografický původ
Ken2-139	<i>A.sp.</i>	Forole, Keňa (kol. D. Modrý)	03° 42' N 37° 58' E
Ken2-152	<i>A.sp.</i>	Keňa (kol. D. Modrý)	03° 33' N 37° 48' E
Ken2-156	<i>A.sp.</i>	Keňa (kol. D. Modrý)	03° 33' N 37° 48' E
Ken1-172	<i>A.sp.</i>	Kalacha, Keňa (kol. D. Modrý)	03° 08' N 37° 25' E
Ken1-173	<i>A.sp.</i>	Kalacha, Keňa (kol. D. Modrý)	03° 08' N 37° 25' E
Ken3-174	<i>Acomys "dark"</i>	Keňa (kol. D. Modrý)	03° 16' N 37° 32' E
Ken1-208	<i>A.sp.</i>	Kalacha, Keňa (kol. D. Modrý)	03° 08' N 37° 25' E
Ken1-210	<i>A.sp.</i>	North Horr, Keňa (kol. D. Modrý)	03° 19' N 37° 03' E
Ken1-211	<i>A.sp.</i>	North Horr, Keňa (kol. D. Modrý)	03° 19' N 37° 03' E
Ken1-215	<i>A.sp.</i>	Road to Gusi, Keňa (kol. D. Modrý)	-
Ken1-222	<i>A.sp.</i>	Keňa (kol. D. Modrý)	03° 11' N 36° 56' E
Ken1-223	<i>A.sp.</i>	Keňa (kol. D. Modrý)	03° 11' N 36° 56' E
Ken3-231	<i>Acomys "dark"</i>	Loyangalani, Keňa (kol. D. Modrý)	02° 43' N 36° 42' E
Ken3-235	<i>Acomys "dark"</i>	El Molo, Keňa (kol. D. Modrý)	02° 51' N 36° 41' E
Ken3-237	<i>Acomys "dark"</i>	Keňa (kol. D. Modrý)	02° 31' N 36° 49' E
Ken3-240	<i>Acomys "dark"</i>	Keňa (kol. D. Modrý)	02° 31' N 36° 49' E

No.	Species	Lokalita	Geografický původ
Ken3-246	<i>Acomys "dark"</i>	Keňa (kol. D. Modrý)	02° 31' N 36° 49' E
Ken3-247	<i>Acomys "dark"</i>	Keňa (kol. D. Modrý)	02° 31' N 36° 49' E
Ken2-255	<i>A.sp.</i>	South Horr, Keňa (kol. D. Modrý)	02° 05' N 36° 54' E
Kenya	<i>A.sp.</i>	laboratorní kol. D. Modrý	-
WS 1	<i>A.sp.</i>	laboratorní kol. Zoo Plzeň	-
WS 2	<i>A.sp.</i>	laboratorní kol. Zoo Plzeň	-
Tan-Spi	<i>A.sp.</i>	Tanzanie, laboratorní kol. Zoo Plzeň	-
Spi2	<i>A.sp.</i>	laboratorní kol. Německo	-
Malawi-40	<i>A. spinosissimus</i>	Malawi	-

#### 4.1.2 Izolace DNA

Celková DNA byla izolována z ledvin, svaloviny a špiček ocásků uchovávaných v 96% etanolu. Nejprve byly ze vzorků osušením na filtračním papíře odstraněny zbytky etanolu. Použitím komerčně dodávané sady DNAeasy® Tissue Kit (Qiagen) byla provedena samotná izolace s použitím i dodaného protokolu. Úspěšnost izolace DNA z jednotlivých vzorků byla posléze ověřena pomocí elektroforetické analýzy nanesením 8 µl izolátu na 1% agarózový gel (0,3 mg agarózy, 30 ml 1x TBE, 1 µl ethidiumbromidu (EtBr) 10 mg/ml). Následně byly všechny vzorky označeny a uskladněny při -18 °C.

#### 4.1.3 PCR a sekvenace DNA

Pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR, Sambrook et al. 1989) byly amplifikovány požadované úseky mtDNA na termocycleru TECHNE (TC-312). Celý Mitochondriální Kontrolní Region (dále jen MCR) s postraními částmi genů tRNA byl postupně amplifikován dvěma navzájem se překrývajícími segmenty o celkové délce pohybující se mezi 986 – 996bp. Pro získání PCR produktů MCR prvního a druhého segmentu o délce 530 bp respektive 470 bp byly použity primery podle Bellinvia (2004) viz obr. 7. Označení primerů se shoduje s označením autorky (1 a 2 pro první segment, 3 a 4 pro druhý):

1L	5'-ATAAA CATT A CTCTG GTCTT GTAAA C-3'
2H	5'-CACAG TTATG TTGRT CATGG-3'
3L	5'-CGTTC CCCTA AATAA GACA-3'
4H	5'-TAATT ATAAG GCCAG GACCA-3'

Pro amplifikace alespoň části genu pro cytochrom b byly použity primery podle Barome et al. (1998). Označení primerů se shoduje s označením autora.

ND6-2 L	5'-ATATC CAAAC ACAAC CAACA T-3'
cytb30H	5'-GATCC ATAGT AGATG CCTCG TCC-3'
cytb8L	5'-CCCCA TCCAA CATCT CTGCT TGATG AAA-3'
thr3H	5'-CTCCA TTCCT GGCTT ACAAG AC-3'

Složení PCR reakčních směsí je uvedeno v tabulce 2 a programy PCR reakcí v tabulce 3.

Tabulka 2: Složení směsi pro PCR

reakční směs	na 1 reakci (μl)	výrobce
10× PCR buffer (Fermentas)	5	Fermentas
MgCl <sub>2</sub> (50 mM)	2,5	Fermentas
dNTP (10mM)	5	Fermentas
forward primer (10 μM)	2,5	Generi-Biotech
revers primer (10 μM)	2,5	Generi-Biotech
Tag polymeráza (5 U/ml Fermentas)	0,5	Fermentas
dd H <sub>2</sub> O	27	
DNA	5	
celkem	50	

Tabulka 3: Programy pro PCR reakce

MCR:

krok programu	Teplota (°C)	doba trvání
1-počáteční denaturace	95 °C	180 s
2-denaturace	95 °C	30 s
3-nasednutí primeru	50 °C	60 s
4-polymerace	72 °C	60 s
5	go to step 2	30x
6-závěrečná polymerace	72 °C	15 min
7- zchlazení	15 °C	∞

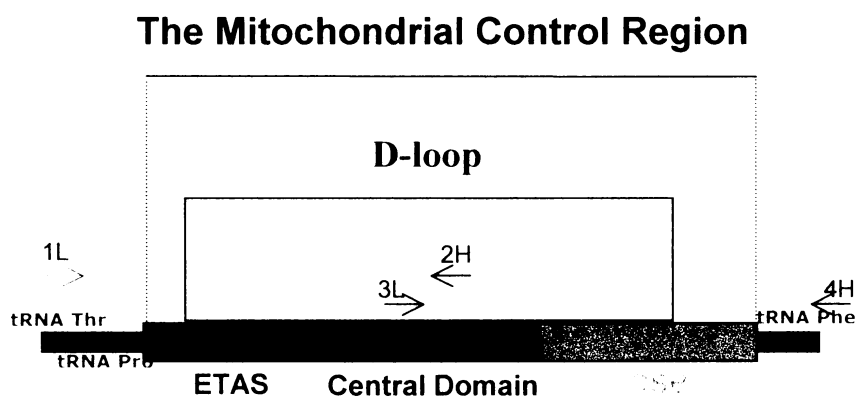
cytochrom b:

krok programu	Teplota (°C)	doba trvání
1-počáteční denaturace	93 °C	120 s
2-denaturace	93 °C	60 s
3-nasednutí primeru	52 °C	60 s
4-polymerace	72 °C	60 s
5	go to step 2	35x
6-závěrečná polymerace	72 °C	120 s
7- zchlazení	15 °C	∞

Koncentrace a složení směsi pro PCR bylo stejné u všech párů primerů (MCR, cytochrom b). Teplotní program pro MCR společně se složením směsi byl převzat od Bellinvia (2004) a Barome (1998) pro cytochrom b. U některých vzorků musela být pro optimalizaci konečného produktu PCR snížena teplota pro nasedání primerů, pro MCR na 47 °C a u cytochromu b na 52 °C.

Celý produkt PCR reakce byl nanášen na 1% agarózový gel společně s délkovým standardem (GeneRuler™ 100bp DNA Ladder, Fermentas). Pomocí elektroforetické analýzy byla porovnávána délka amplifikovaného fragmentu s délkovým standardem. Některé PCR produkty byly purifikovány pomocí komerčně prodávaného kitu Qiaquick® PCR purification kit (Qiagen, Hilden, Germany), avšak u produktů, které obsahovaly více namnožených fragmentů DNA, musel být námi požadovaný fragment vyříznut z agarózového gelu a purifikován pomocí kitu QIAquick® Gel Extraction Kit (Qiagen). U obou kitů se postupovalo podle protokolu výrobce. Kvalita a koncentrace putifikovaného PCR produktu byla kontrolována na nanodropu v sekvenační laboratoři biologické sekce PřF UK.

Následná sekvenační analýza byla provedena s totožnými primery jako primární PCR (pro MCR: 1L, 3L a pro cytochrom b: ND6-2 L, cyt b8 L) a samotná sekvenace byla provedena v zahraniční laboratoři Macrogen, Korea.



Obr. 7: Grafické znázornění rozložení primerů na MCR.



#### 4.1.4 Vyhodnocení chromatogramu a tvorba alignmentu

Zkoumané úseky DNA byly pro oba geny sekvenovány ve dvou navzájem se překrývajících úsecích. Originální chromatogramy byly zkontrolovány pro možné sekvenační chyby pomocí programu Chromas 2.01 (<http://www.technelysium.com.au/chromas.html>) a následně exportovány ve formátu FASTA. Pro navázání sekvencí byl použit program BioEdit 5.0.0. (Hall 1999). Pomocí programů GENEDOC 2.6.2003 (Nicholas and Nicholas 1997) a ClustalX 1.81 (Chenna et al. 2003, Thompson et al. 1997) byly zhotoveny všechny alignmenty.

#### 4.1.5 Alignment pro MCR

Jednotlivé alignmenty zhotovené pro MCR byly rozděleny do skupin podle již známých příbuzenských vztahů nebo v případě vzorků pocházejících ze severní Keni podle lokalit. Alignment zahrnující skupinu *cahirinu-dimidiatus* byl označen jako MCRDim (viz. Příloha 5 CD, tab. 12), označení MCRKenya (viz. Příloha 5 CD, tab. 13) bylo používáno pro skupinu všech vzorků pocházejících ze severní Keni. Analýza zahrnující haplotypy obou výše jmenovaných skupin byla označena jako MCRCom (viz. Příloha 5 CD, tab. 14). Všechny sekvence pro MCR byly na obou koncích zkráceny tak, aby začínaly a končily ve stejné pozici.

#### 4.1.6 Alignment pro cytochrom b

Ověření, zda sekvence genu cytochromu b (cyt b) neobsahují stop kodon (přeložením alignmentu sekvencí cytochromu b na protein), bylo zkontrolováno pomocí programu GENEDOC 2.6.2003. Pro další analýzy byly vytvořeny tři alignmenty, pro první analýzu byla použita sekvence o délce 530 bp, která obsahovala i cytochromu b předcházející tRNA (NADH dehydrogenase 6), tento alignment byl označen jako cyt bND6 (viz. Příloha 5 CD, tab. 15). Druhý alignment označen jako cyt bBar (viz. Příloha 5 CD, tab. 16) byl zkrácen tak, aby došlo k homologii mezi jednotlivými sekvencemi a zároveň s první pozicí kodonu. Délka alignmentu cyt bBar byla 794 bp a také obsahoval sekvence pocházejících z prací Barome et al. (1998) a Barome et al. (2001a,b). Třetí alignment označen jako cyt b3 (viz. Příloha 5 CD, tab. 17) byl velmi krátký (162 bp) a také obsahoval sekvence pocházejících z prací Barome et al. (1998) a Barome et al. (2001a,b).

## 4.2 Fylogenetické analýzy

Metody použity pro vyhledání optimálních fylogenetických stromů byly maximální parsimonie (Maximum Parsimony - MP), maximální věrohodnosti (Maximum likelihood - ML), distanční metodou (Neighbor-joining - NJ) a metodou Monte Carlo (Bayesovská analýza - BA).

### 4.2.1 Distanční metoda (Neighbor-joining, NJ)

S pomocí programu PAUP\* 4.0b10 (Swofford 2002) byly vypočteny a zhotoveny všechny stromy pro MCR distanční metodu neighbor-joining (Saitou & Nei 1987). Tato metoda využívá vstupní data podle matice genetických podobností. V tomto případě jsem použila vzdálenosti vypočtené pomocí modelu Jukes – Cantorova. Pro odhad relevantní topologie větví byla užitá metoda 1000 bootstrap pseudoreplicates (Felsenstein 1985). Pro výpočet distanční metody NJ pro všechny alignmety cytochromu b užitím metody 1000 bootstrap replicates s Kimurovou dvouparametrovou distancí (Kimura 1980) byl použit program MEGA 3.1 (Kumar et al. 2004). Chí-kvadrát test na homogenitu frekvence bází mezi jednotlivými taxony nevyšel statisticky průkazný ( $p = 0.99$ ) a proto mohla být použita Kimurova dvouparametrová distance.

### 4.2.2 Metoda maximální úspornosti (Maximum parsimony, MP)

Také pro vyhodnocení fylogenetických stromů metodou maximální parsimonie byl využit program PAUP\* 4.0b10 (Swofford 2002). Principem této metody je vybrat strom (stromy) s minimálním počtem evolučních kroků pro objasnění vstupního alignmentu. Pro maximální parsimonii bylo využito analýzy heuristického hledání se 100.000 náhodnými přidáními sekvencí (hsearch addseq = random nreps = 100.000; algoritmus swap = TBR). Podpora jednotlivých nodů byla vyhodnocena užitím 1000 (resp. 10.000) pseudo-replikací (Felsenstein 1985). Znaky nebyly váženy, nicméně nejdříve byly vyzkoušeny různé váhy transversí a transicí a tak bylo prověřeno, že tento parametr nemá podstatný vliv na výsledky.

### 4.2.3 Metoda maximální pravděpodobnosti (Maximum likelihood, ML)

Vhodný evoluční model pro studované mtDNA sekvence byl zvolen hierarchickým testem věrohodností v programu Modeltest 3.7 (Posada & Crandall 1998). Metoda maximální pravděpodobnosti posuzuje jednotlivé hypotézy o evoluční historii zkoumaných taxonů z hlediska pravděpodobnosti, že jsou v souladu se získanými daty. Navržený model byl následně přidán do vstupního souboru dat. Na fylogenetické stromy vypočtené metodou maximální pravděpodobnosti byl opět použit program PAUP\* 4.0b10 (Swofford 2002). Užitím heuristického vyhledávání s 300 náhodně přidanými sekvencemi (Příkaz: criterion=likelihood; hsearch addseq=random nrep=300 swap=TBR). Podpora získané topologie byla zjištěna pomocí 750 pseudoreplikací (bootstrap) s počtem náhodných přidání sekvence redukováným na 10 v každé pseudoreplikaci.

### 4.2.4 Bayesovská analýza (Bayesian analysis, BA)

Bayesovská metoda počítaná programem MrBayes 3.1 (Huesenbeck and Ronquist 2001) je založena na vyhledávání nejvhodnějších stromů pomocí Markov chain Monte Carlo algoritmu (Larget & Simon 1999). Tato metoda nám dovolila rozdělit alignment MCR do tří částí podle rychlosti jednotlivě se vyvíjejících úseků: (1) tRNA, (2) CD a (3) ETAS s CSB (viz níže). Program Modeltest 3.7 (Posada & Crandall 1998) vybral vhodné evoluční modely pro každou studovanou část MCR zvlášť, a ty byly následně dodány do vstupního datového souboru. Příkaz: lset applyto=(1) nst=6 rates=equal; lset applyto=(2) nst=6 rates=equal; lset applyto=(3) nst=2 rates=invgamma; unlink revmat=(all) statefreq=(all) shape=(all) pinvar=(all); prset ratepr=variable; mcmc ngen=6000000 printfreq=100 samplefreq=100 nchains=4 savebrlens=yes. Analýza byla ukončena po proběhnutí  $6 \times 10^6$  generací s ukládaným stromem každých 100 generací. Po zkontrolování ustálené frakvence stromů mohlo dojít k odstranění prvních 1 500 000 generací (15 000 stromů) a vytvoření konsenzuálního stromu. Příkaz: sumt filename=xx contype=allcompat burnin=xx.

### 4.3 Grafická úprava stromů

Veškeré získané stromy z výše popsanych postupů byly vizualizovány v programu TreeView 1.6.5 (Page 1996) a následně graficky upravovány v programu MS PowerPoint.

## 4.4 Analýza behaviorálních dat

### 4.4.1 Materiál

V behaviorální části byly použity bodlinaté myši patřící do skupiny *cahirinus-dimidiatus* (*A.cilicicus* a *A. sp.* Írán) viz tab. 4. Zakládající jedinci těchto populací byli získáni odchycem ve volné přírodě na pobřeží Kilikie v Turecku (*A. cilicicus*) a Bandar Abbas v Íránu (*Acomys sp.* Írán). Jednotlivé populace byly založeny z malého počtu jedinců, ale poté byly drženy dlouhodobě ve velkém počtu. Z tohoto důvodu se neočekává, že by mezi jedinci byla nulová genetická variabilita. Studované druhy byly chované v 47 skleněných akváriích o velikosti 60 x 50 x 40 cm za standardních laboratorních podmínek. V každém akváriu byla podestýlka z hoblin, úkryty z květináče a krabiček. Potrava (standardní krmivo pro potkany a myši ST1, pšenice, chléb, sezónně jablka a čerstvá tráva) i voda byly poskytovány ad libitum.

Tab. 4: Počet samic v estru natočených při pokusech.

Druh	Počet samic
<i>A. cilicicus</i>	13
<i>A. sp</i> z Íránu	8

### Struktura skupin

Zakládající skupina jedinců se skládala ze dvou blízké si příbuzných samic a jednoho nepřibuzného samce. Toto seskupení je důležité z hlediska reprodukce (Young 1976). Pohlavní dospělost je dosažena okolo 90 dnů, což je příznivá doba pro založení nové skupiny. V dalších měsících se jedinci ve skupině nechali volně množit. V případě vysoké denzity nebo agresivního chování ve skupině docházelo k umělé manipulaci (umělá disperze jedinců).

### 4.4.2 Záznam jednotlivých mezidruhových rozpoznávání

Experimentální skupina byla složena ze dvou samců a samice v estru. Jeden ze samců patřil ke stejnému druhu jako testovaná samice, avšak pocházel z jiné skupiny. Druhý samec patřil k jinému druhu než testovaná samice. Testovací akvárium o velikosti 100 x 40 x 40 cm a dvě plastické krabičky o velikosti 17,5 x 10,5 x 10,5 cm, byly důkladně odpachované před

každým testem. Nejprve byly otřeny jarovým přípravkem a poté ještě 96% etanolem, aby se zamezilo zanechání pachových stop a následně nesprávným výsledkům. Natáčení probíhalo po setmění, což je pro myši bodlinaté období aktivity.

Samci byli vybíráni pro každý pokus podle dominantního postavení, které zaujímali ve své skupině, což se dalo odhadnout podle velikosti testes a celkového vzhledu zvířete. Po odchytu byli umístěni do plastických krabiček s mřížkou na jedné straně. Jednotlivé krabičky byly umístěny doprostřed experimentálního akvária (obr. 8). Samice v estru byly snadno vyhledávány na základě pozorování zvířat ve skupině. Estrální samice je totiž intenzivně následována samcem, který usiluje o spáření. Odchyt myši pro každý pokus byl velmi opatrný a rychlý, aby se předešlo stresové situaci. Vpuštěním samice do testovacího akvária byl započat pokus.

Pro získání náhrávek behaviorálních pokusů byla použita tato technika: kamera, infračervené světlo (změřená intenzita světla byla 4 luxy), televizor a video. Po uplynutí 50-ti minutového pokusu se jednotlivé myši zvažily (váhy značky OHAUS LS 200 s přesností 0,1g) a následně byly navráceny do svých domovských akvárií.



Obr. 8: Testovací akvárium s plastickými krabičkami pro umístění samců

#### 4.4.3 Sledované chování

Po vpuštění samice do akvária se samci, kteří byli umístěni v krabičkách, bylo natáčeno chování samice. Mezi druhové rozpoznávání bylo vyhodnoceno v programu ACTIVITY (Vrba & Donát 1993). U jednotlivých prvků chování byl zaznamenán počet a doba trvání.

Hodnoceny byly tyto prvky:

- výskyt v pravé polovině akvária
- výskyt v levé polovině akvária
- čichání k pravému vnějšímu okraji krabičky
- čichání k levému vnějšímu okraji krabičky
- sezení u samce v pravé krabičce
- sezení u samce v levé krabičce
- čichání přímo k samci uvnitř pravé krabičky
- čichání přímo k samci uvnitř levé krabičky
- panáček na pravé straně
- panáček na levé straně
- čištění se na pravé straně
- čištění se na levé straně

Pro statistické výpočty byly některé aktivity sloučeny do následujících kategorií:

- OUT left/right - výskyt v levé/pravé polovině akvária, panáček v levé/pravé polovině akvária a čištění na levé/pravé polovině akvária
- IN left/right - sezení u samce v levé/pravé krabičce a čichání přímo k samci uvnitř levé/pravé krabičky

Po zpracování jednotlivých nahrávek v programu ACTIVITY (Vrba & Donát 1993) se vypočetla celková doba, kterou samice strávila danou aktivitou (viz výše). Pomocí neparametrického dvouvýběrového Wilcoxonova testu v programu STATISTICA (Statsoft 2001).

## 5 Výsledky

První fragment, amplifikovaný pomocí primerů 1L a 2H, byla část skládajícího se z části tRNA<sup>Thr</sup> (2 bp), celého genu tRNA<sup>Pro</sup> (68 bp) a MCR v rozmezí od 529 bp do 553 bp obsahujícího také první polovinu Centrální Domény (CD). Druhý amplifikovaný úsek dlouhý od 463 bp do 471 bp, zahrnuje také polovinu Centrální Domény a sahá až do oblasti začátku regionu 12S tRNA, zahrnujícího gen tRNA<sup>Phe</sup> (86 bp). Délka analyzovaných sekvencí MCR včetně tRNA byla v rozmezí 986 - 995 bp. Jednotlivé části MCR jsou znázorněny na obr. 7 (viz výše) a jejich délky v tab. 5.

První amplifikovaný úsek cytochromu b se skládal z NADH dehydrogenaze 6 a asi poloviny cyt b o délce v rozmezí 530 bp až 850 bp, druhý úsek o délce 850 bp, obsahující jak necelý cyt b, tak také tRNA<sup>Thr</sup>. Délka jednotlivých amplifikovaných fragmentů genu pro cytochrom b nebyla stejná, a proto se přistoupilo k rozdělení alignmentu do tří souborů tak aby bylo dosaženo homologie mezi jednotlivými haplotypy. První alignment označen jako cytND6 byl dlouhý 530 bp (obsahoval také tRNA), druhý označen cytBar po zkrácení pro dosažení homologie s první pozicí kodonu, byl dlouhý 794 bp a byl doplněn o sekvence získané z genové banky (GenBank, NCBI) viz tab. 6. Třetí alignment označen jako cyt3 se skládal z našich sekvencí cyt b a současně byl doplněn o sekvence získané z genové banky (GenBank, NCBI) viz tab. 6. Délka alignmentu byla pouze 162 bp (strom viz. Příloha 3).

Programem Modeltest 3.7 (Posada & Crandall 1998) byly navrženy evoluční modely sekvencí jež se značně lišily pro jednotlivé části z kterých se skládá MCR. Některé modely byly rozšířeny o „gama“ ( $\Gamma$ , jehož parametr  $\alpha$  charakterizuje tvar gama rozložení), případně „invariantní“ (I, parametr určující proporci invariantních pozic v sekvenci) korekci na heterogenitu substitučních frekvencí v různých částech nukleotidové sekvence. Navržené evoluční modely sekvencí a jejich parametry shrnují tabulky 8-10.

Tab. 5: Seznam alignmentů vytvořených pro jednotlivé analýzy a délky získaných sekvencí.

název alignmentu	MCRCom	MCRDim	MCRKenya	cytND6	cytBar	cyt3
délka sekvence MCR	986-995 bp	993-995 bp	986-994 bp			
délka sekvence cyt b				530 bp	794 bp	162 bp

Tab. 6: Přehled sekvencí získaných z GenBank.

druh	délka sekvence (cytochrom b) (bp)	GenBank Accession No.	citace
<i>Gerbillus nigeriae</i>	1081	AF141226	Ducroz et al. 2001
<i>Gerbillus gerbillus</i>	1081	AJ851269	Chevret & Dobigny 2005
<i>Acomys spinosissimus</i> (Tanzánie)	1141	AJ010559	Barome et al. 2001b
<i>Acomys spinosissimus</i> (Malawi)	1141	Z96067	Barome et al. 1998
<i>Acomys ignitus</i> (Kwale District)	1141	Z96063	Barome et al. 1998
<i>Acomys ignitus</i> (Bushwhackers)	1141	Z96064	Barome et al. 1998
<i>Acomys wilsoni</i> (Shinba Hills)	961	AJ010560	Barome et al. 2001b
<i>Acomys wilsoni</i> (Bushwhackers)	1021	AJ010561	Barome et al. 2001b
<i>Acomys sp.</i> (Wayen BF)	1141	Z96055	Barome et al. 1998
<i>Acomys sp.</i> (Kaya BF)	1141	AJ010564	Barome Direct Submission
<i>Acomys sp.</i> (Camerun)	1141	Z96058	Barome et al. 1998
<i>Acomys sp.</i> (Oursi-BelDiaka)	1141	AJ012022	Barome Direct Submission
<i>Acomys johannis</i>	1141	AJ010567	Barome & Tranier 2005 Unpublished
<i>Acomys dimidiatus</i> (Taf)	1141	Z96061	Barome et al. 1998
<i>Acomys dimidiatus</i> (Mt Sinai)	1141	Z96060	Barome et al. 1998
<i>Acomys airensis</i> (Hamdara)	1141	X96996	Barome et al. 1998
<i>Acomys airensis</i> (Dazinga)	1121	AJ012021	Barome Direct Submission
<i>Acomys minous</i> (Vai)	1141	AJ233955	Barome et al. 2001a
<i>Acomys minous</i> (Elafonisos)	1141	AJ233951	Barome et al. 2001a
<i>Acomys cilicicus</i>	1141	AJ233957	Barome et al. 2001a
<i>Acomys cahirinus</i>	1141	Z96051	Barome et al. 1998
<i>Acomys nesiotetes</i>	1141	AJ233952	Barome et al. 2001a



## 5.1 Struktura MCR

Část mitochondriálního genomu, která byla sekvenována u bodlinatých myší rodu *Acomys*, se lišila ve své délce od 986 bp (Ken3-247, Ken3-113, Ken3-174, Ken3-231, Ken3-240, Ken3-237) do 995 bp (SIN2, JOR4, JOR1). Alignment zahrnuje celou oblast MCR a po stranách ležící geny tRNA: část tRNA<sup>Thr</sup> a celý tRNA<sup>Pro</sup> na 5' konci, část tRNA<sup>Phe</sup> na 3' konci. Oblast samotného MCR se pohybovala v rozmezí 833 bp - 840 bp (viz tab. 7). Vzorky patřící do skupiny *cahirinus-dimidiatus*, *A. russatus* a Kenya1 měly nejdelší oblast domény MCR s délkou v rozmezí 838-840 bp. U skupiny Kenya2 byla oblast MCR dlouhá v rozmezí 836-837 bp, zatímco skupina Kenya3 měla nejkratší sekvence v rozmezí 833-834 bp. Domény ETAS a CSB jsou oblastmi s velkou nukleotidovou variabilitou. Studie provedené u jiných druhů ukazují velkou variabilitu mezi doménami, ale typický vzor frekvence bazí (A + T) > (C + G), který byl popsán pro savčí MCR byl zachován (Sbisá et al. 1997). Průměrná frekvence jednotlivých bází pro celý MCR byla 33,15 % A, 32,62 % T, 23,60 % C, 10,63 % G.

### ETAS Extended terminal-associated sequence domain

ETAS doména byla uvnitř skupin až na Kenya3 konstantní a dosahovala délky 264 bp: *cahirinus-dimidiatus*, Kenya1; 261 bp: Kenya2; 257-258 bp: Kenya3 a 260 bp: *A. russatus* viz tab 7. Alignment dosahoval délky 267 nukleotidových pozic, ve kterých bylo 115 (50,6 %) pozic variabilních. Největší variabilita se nacházela v jedné oblasti o délce 50 bp, která začínala 113. nukleotidovou pozicí. Tato oblast byla, jak velmi hypervariabilní, tak bohatá na krátké inserce a delece. Před a za touto hypervariabilní oblastí se nacházejí dvě velmi málo variabilní oblasti, které byly popsány Sbisá et al. (1997) a Larizza et al. (2002) u dosud analyzovaných hlodavců. Složení bazí u všech analyzovaných vzorků v ETAS doméně bylo následující A > T > C > G .

### CD Central domain

Centrální doména dosahovala stejné délky u všech vzorků 305 bp (viz tab. 7), z nichž 51 (16,7%) nukleotidových pozic bylo variabilní. CD je nejkonzervovanější částí v oblasti D-loop, neobsahuje inserce ani delece a projevuje velkou stabilitu nukleotidové sekvence. Přes svou velkou stabilitu zde není obsaženo mnoho fylogenetické informace. Frekvence bazí všech vzorků byla T > C > A > G.

### CSB Conserved sequence block domain

V alignmentu CSB bylo včetně veškerých inzercí a delecí obsaženo 280 nukleotidových pozic, z nichž 143 (51%) bylo variabilní. Tento úsek se lišil ve své délce od 268 bp do 273 bp (viz tab. 7). V doméně CSB bylo možné rozpoznat tři motivy (CSB1, CSB2 a CSB3) (Larizza et al. 2002), které jsou relativně dobře konzervované u rodu *Acomys*. Avšak pouze CSB1 a CSB2 byly dobře rozpoznatelné. Nejvíce nukleotidové variability bylo zaznamenáno v oblasti mezi CSB1 a CSB2 motivy a v poslední 50 bp na 3' konci. Frekvence bazí byla následná A > T > C > G.

Tab. 7: Délky sekvencí jednotlivých oblastí MCR

Druh (počet vzorků)	ETAS (bp)	CD (bp)	CSB (bp)	Celý MCR (bp)
<i>A. dimidiatus</i> (7)	264	306	269-270	839-840
<i>A. sp.</i> Írán, Jemen (5)	264	306	268	838
<i>A. cahirinus</i> (9)	264	306	268-269	838-839
Kenya1 (7)	264-265	306	269-270	839-840
Kenya2 (12)	261	306	269-270	836-837
SPI2	257	306	272	834
Kenya3 (10)	257-258	306	270	833-834
<i>A. russatus</i> (3)	260	306	273	839

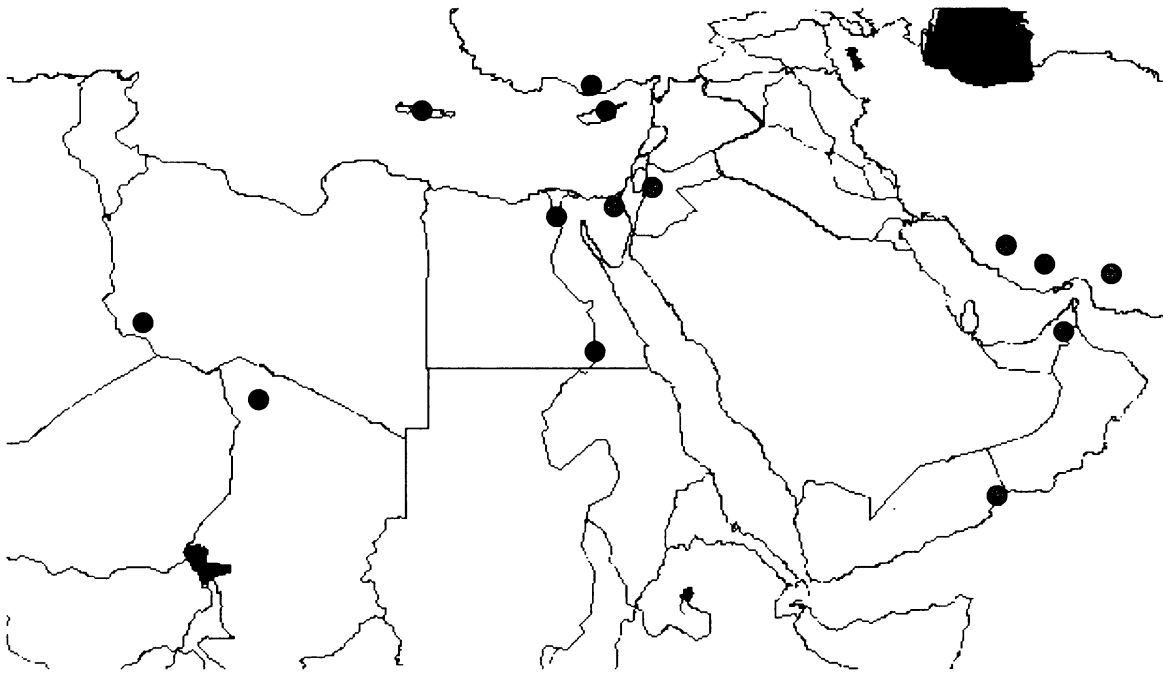
## 5.2 Parciální analýza skupiny *cahirinus-dimidiatus*

Alignment (MCRCom) byl vytvořen z 24 vzorků, které reprezentují 22 haplotypů. Tři vzorky patřící do skupiny *A. russatus* byly použity jako outgroup. Úseky mtDNA sekvencí MCR o délce 993 – 995 bp (viz tab. 5) (1006 nukleotidových pozic), ze kterých bylo 219 míst variabilních a 195 parsimoně informativních. Známé lokality haplotypů jsou zobrazeny na obr. 9.

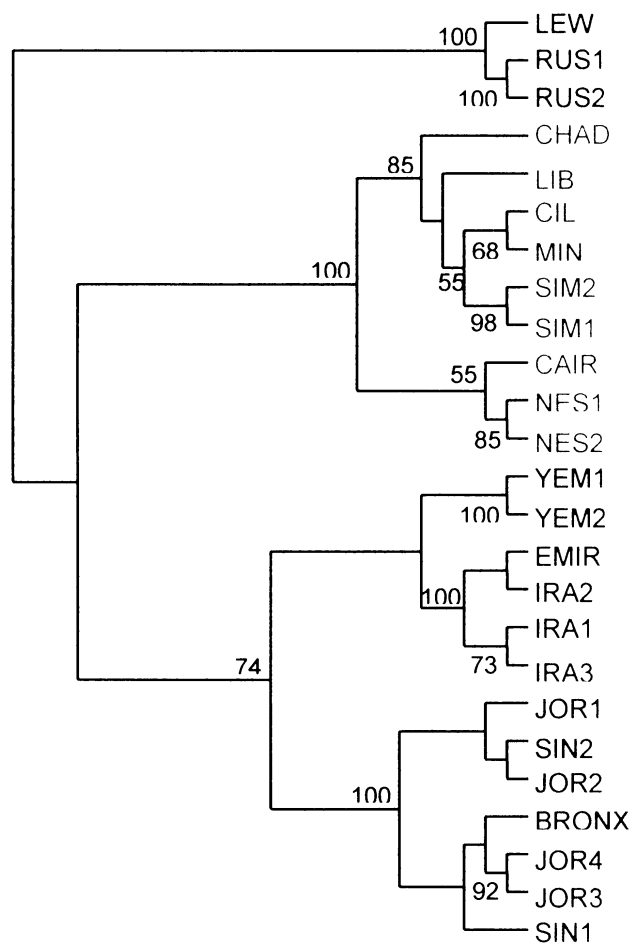
Jednotlivé topologie stromů, které byly zrekonstruovány metodami MP, NJ a BA si byly velmi podobné až na ML, která se trochu lišila. Hodnoty bootstrapu jednotlivých analýz MP, NJ, ML a posteriorní pravděpodobnost pro BA jsou uvedeny v závorkách. MP, NJ a BA stromy obsahují bazální větvení, které vedlo k rozlišení na dvě jasně odlišné skupiny. První je Afro-Mediteránní skupina (100, 100, 65, 1.00), která obsahuje haplotypy ze Severní Afriky, Kréty, Kypru a Turecka. Druhá skupina, nazvaná Asijská (74, 89, -, 0.67), obsahovala haplotypy ze Sinaje, Jordánska, Arabského poloostrova a Íránu. Nekorigovaná p distance mezi haplotypy patřící do Afro-Mediteránní a Asijské skupiny se pohybovala v rozmezí 6.0-8.1 % (viz. Příloha 1).

Haplotypy patřící k Afro-Mediteránní skupině si byly navzájem velmi podobné (nekorigovaná p distance se pohybovala v rozmezí 0.2-2.2%), avšak lze je rozdělit na slabě podpořenou linii zahrnující vzorky z Káhiry a Kypru (55, 73, -, 0.69) a druhou, o něco lépe podpořenou linii zahrnující zbylé haplotypy z jižní Sahary (J Egypt, J Libye, S Čad), Turecka a ostrovní Kréty (85, 89, 64, 0.77).

Asijský klad je výrazně méně homogenní než Afro-Mediteránní (uvnitř skupiny nekorigované p distance 0.3-5.6%) a lze jej rozdělit do tří jasně odlišných a geograficky lokalizovaných linií: (1) Sinaj-Jordánsko (100, 100, 93, 1.00), (2) Jemen (100, 100, 97, 1.00), (3) Írán-Arab. Emiráty (100, 100, 57, 1.00). Vzájemné postavení těchto linií je zpravidla nerozřešené. Přehled fylogenetických stromů získaných jednotlivými metodami ukazují obrázky 10-13.

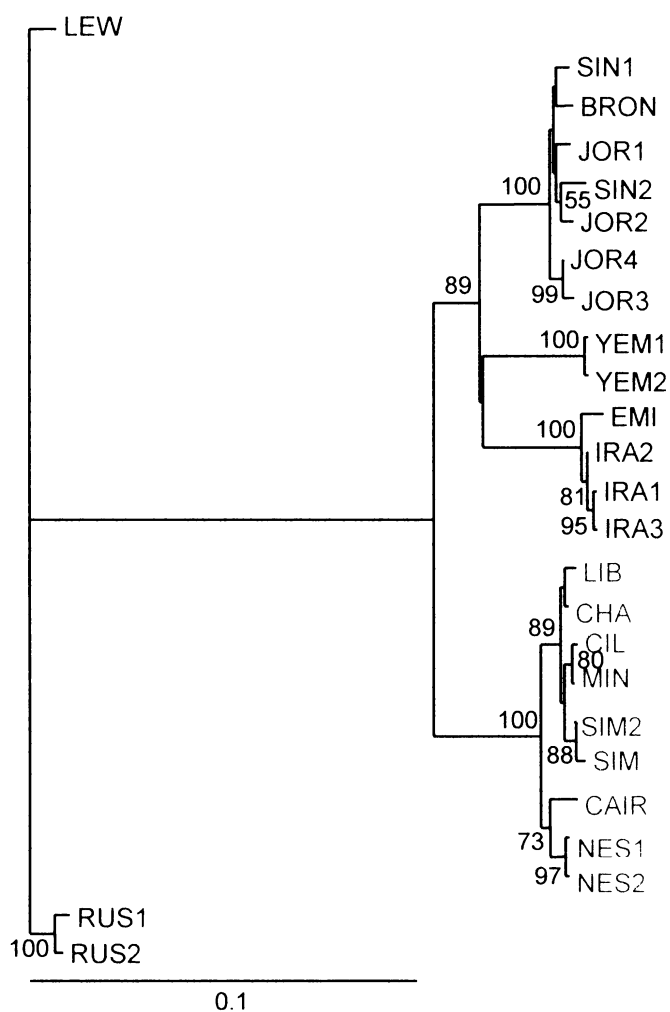


Obr. 9: Lokality haplotypů skupiny *cahirinus-dimidiatus*. Označní skupin: *cahirinus* – červená a *dimidiatus* – zelená.



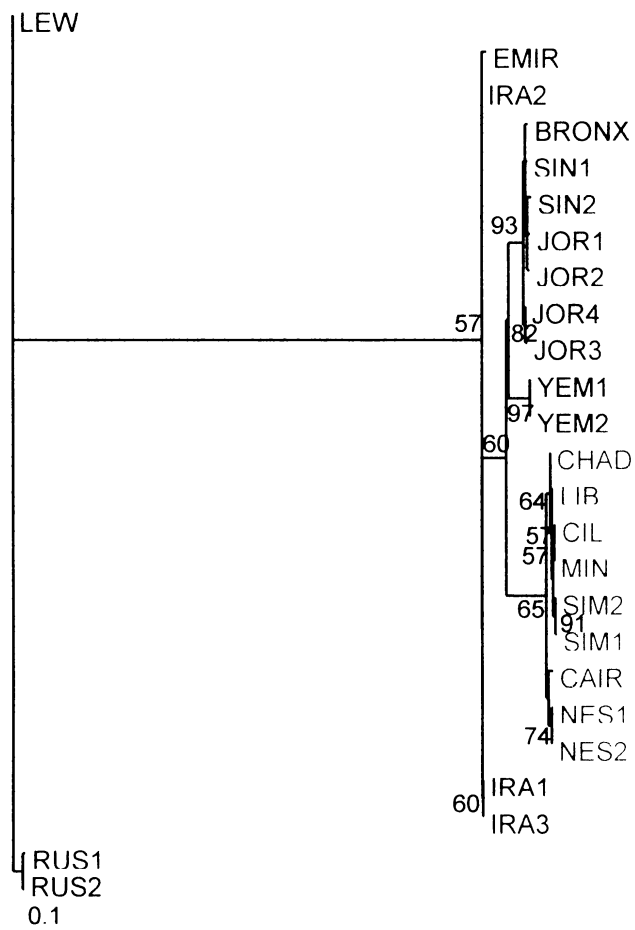
Obr. 10: Fylogenetický strom sestavený na základě vstupního alignmentu MCRDim metodou MP (čísla udávají hodnotu bootstrapu).

Označní skupin: skupina *cahirinus* – červená, skupina *dimidiatus* – zelená, skupina *russatus* – hnědá.



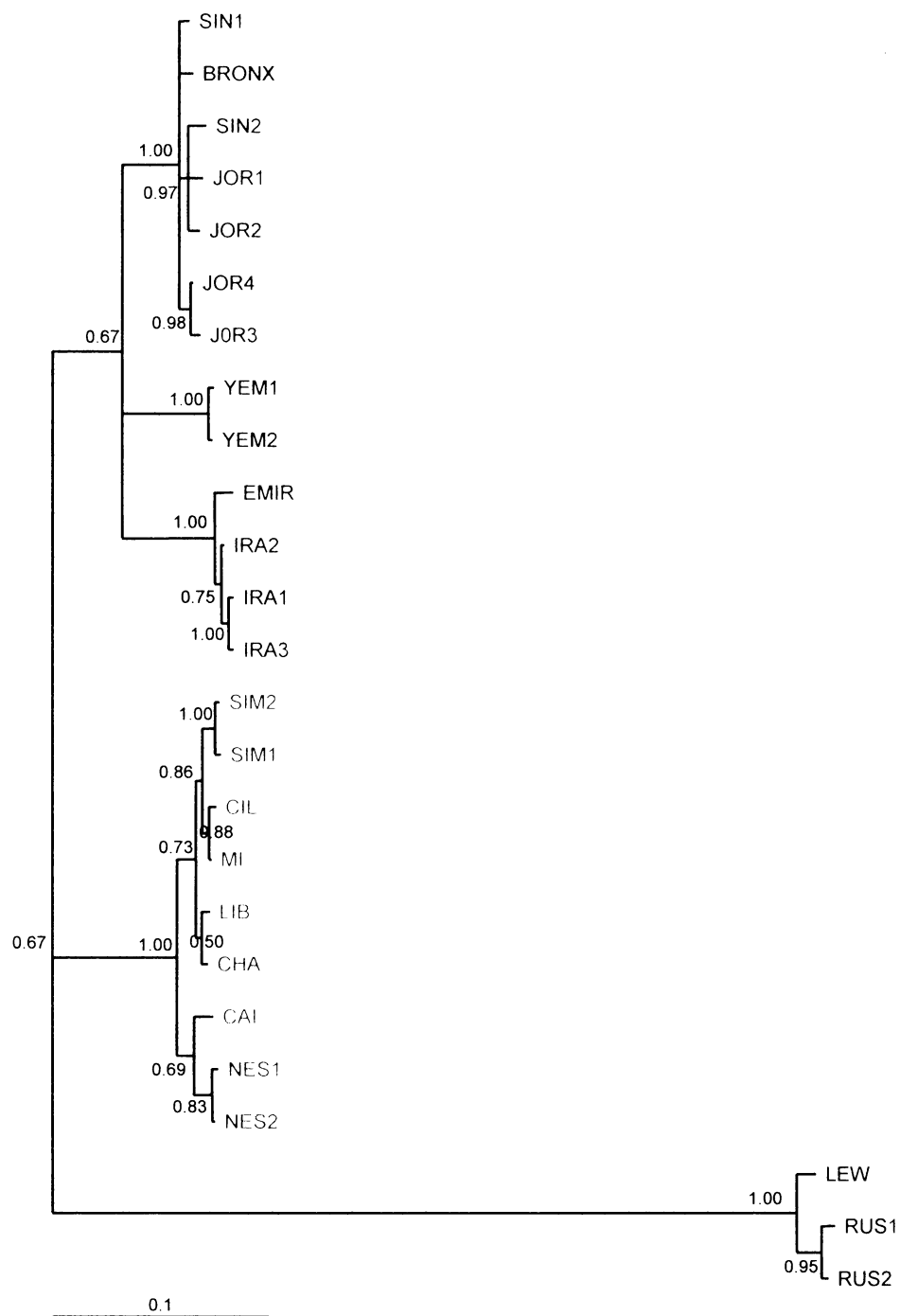
Obr. 11: Fylogenetický strom sestavený na základě vstupního alignmentu MCRDim metodou NJ (čísla udávají hodnotu bootstrapu).

Označdní skupin: skupina *cahirinus* – červená, skupina *dimidiatus* – zelená, skupina *russatus* – hnědá.



Obr. 12: Fylogenetický strom sestavený na základě vstupního alignmentu MCRDim metodou ML (čísla představují hodnotu bootstrapu).

Označební skupin: skupina *cahirinus* – červená, skupina *dimidiatus* – zelená, skupina *russatus* – hnědá.



Obr. 13: Fylogenetický strom sestavený na základě vstupního alignmentu MCRDim metodou Bayesovské analýzy (čísla ukazují hodnoty posteriorních pravděpodobností správné topologie).

Označní skupin: skupina *cahirinus* – červená, skupina *dimidiatus* – zelená, skupina *russatus* – hnědá.



### 5.3 Parciální analýza vzorků ze severní Keni

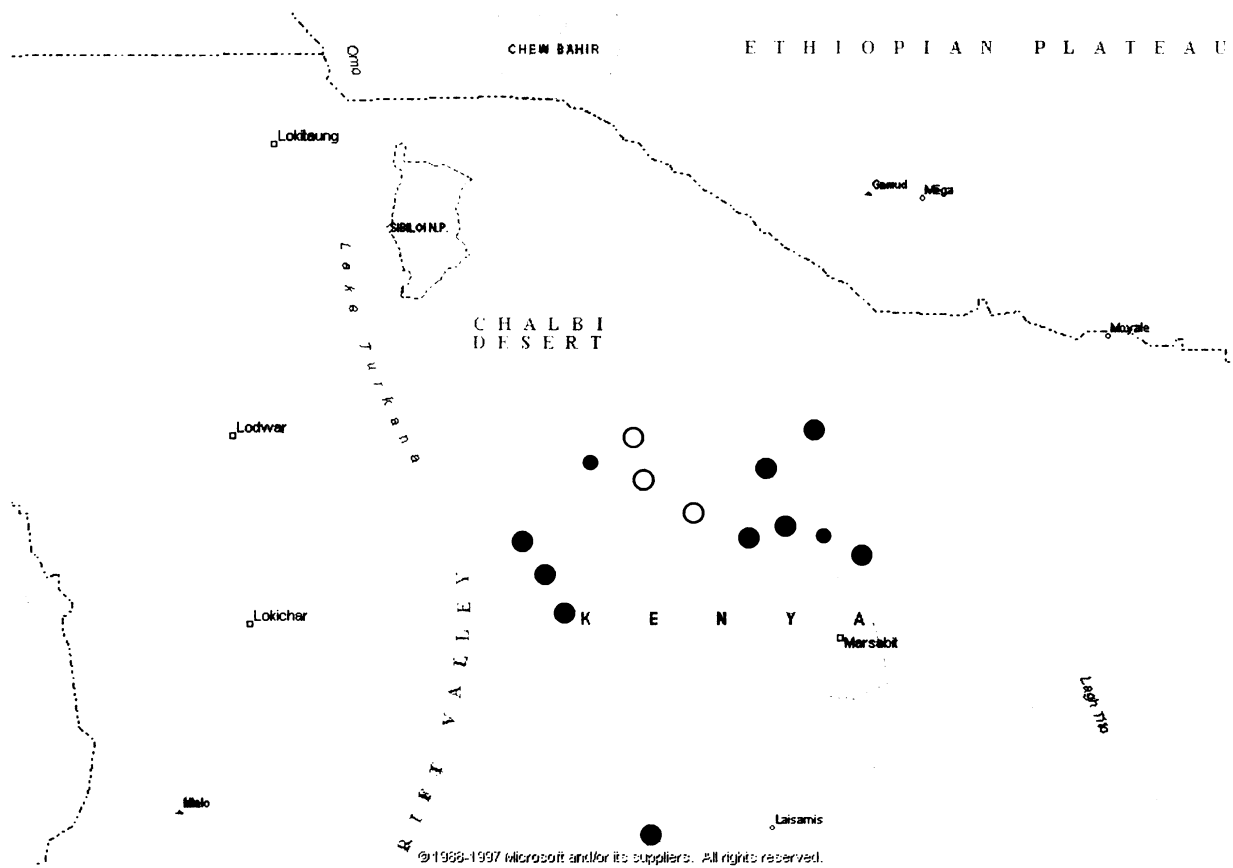
Alignment sestaven z 34 vzorků reprezentujících 31 haplotypů. Tři vzorky patřící do kladu *A. russatus* byly použity jako outgroup. Délka amplifikovaných sekvencí byla v rozmezí 986 – 994 bp (viz tab. 5) 1014 nukleotidových pozic. Parsimoně informativních znaků bylo 244 z celkových 285 variabilních znaků.

Topologie stromů vytvořené metodami MP a NJ si byly velmi podobné viz obr. 15 a 16. Hodnoty bootstrapu jednotlivých analýz MP a NJ jsou uvedeny v závorkách. Bazální větvení vedlo k rozlišení dvou skupin. První linie označená Kenya3 (67, 67) obsahuje haplotypy ze šesti lokalit severní Keni, z nichž na dvou se objevuje světlá forma a na zbylých čtyřech lokalitách, ležících převážně v blízkosti Rudolfova jezera (Turkana lake), se nachází populace tmavé melanické formy. Druhá skupina (72, 89) obsahovala haplotypy pouze světlých forem z osmi lokalit v severní Keni. Nekorigovaná p distance mezi haplotypy, patřícími do výše zmíněných třech skupin, se pohybovala v rozmezí 11.2-14.8 % (viz. Příloha 5 CD, tab. 18).

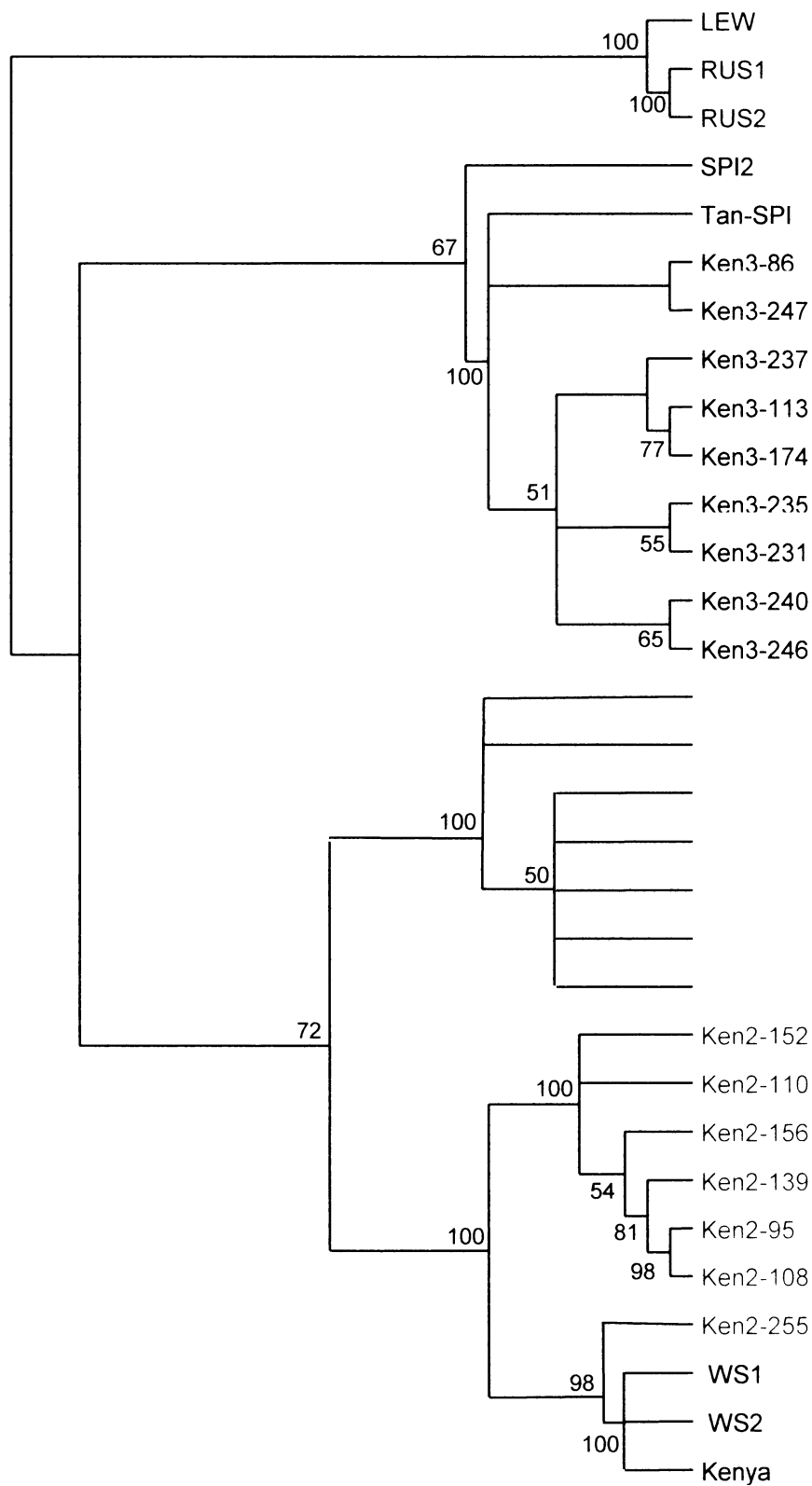
Haplotypy, patřící do linie Kenya3, si byly navzájem velmi podobné (nekorigovaná p distance se pohybovala v rozmezí 0.5-2.4 %) a tato skupina, zahrnující jedince dvou barevných forem, byla tudíž dobře podpořena (100, 100). Její sesterskou skupinou (podpora: 67, 67) je haplotyp SPI2, pocházející z laboratorní kolonie v Německu, mylně považovaný za *A. spinosissimus*.

Druhá skupina, jež vznikla bazálním větvením, je méně homogenní než již zmíněná Kenya3, nekorigované p distance uvnitř této skupiny jsou v rozmezí 9.6-10.4 %. Lze ji rozdělit do dvou jasně odlišných kladů, z nichž je první pojmenovaný jako Kenya1 (100, 100) a druhý jako Kenya2 (100, 100). Haplotypy patřící do kladu Kenya1 tvoří jedinou dobře podpořenou skupinu. Nekorigované p distance v rámci linie Kenya1 se pohybovaly v rozmezí 0.2-0.9 %.

Zbývající haplotypy náleží do linie Kenya2. Byly také velmi podobné (nekorigované p distance 0.1-1.2 %), avšak je lze rozdělit do dvou velmi dobře podpořených linií: (1) haplotyp pocházející z nejnižnější části zkoumané oblasti společně s haplotypy z lab. linií Zoo Plzeň (96, 100), (2) zbylé čtyři lokality (100, 100). Přehled fylogenetických stromů získaných metodami MP a NJ ukazují obr. 15 a 16.

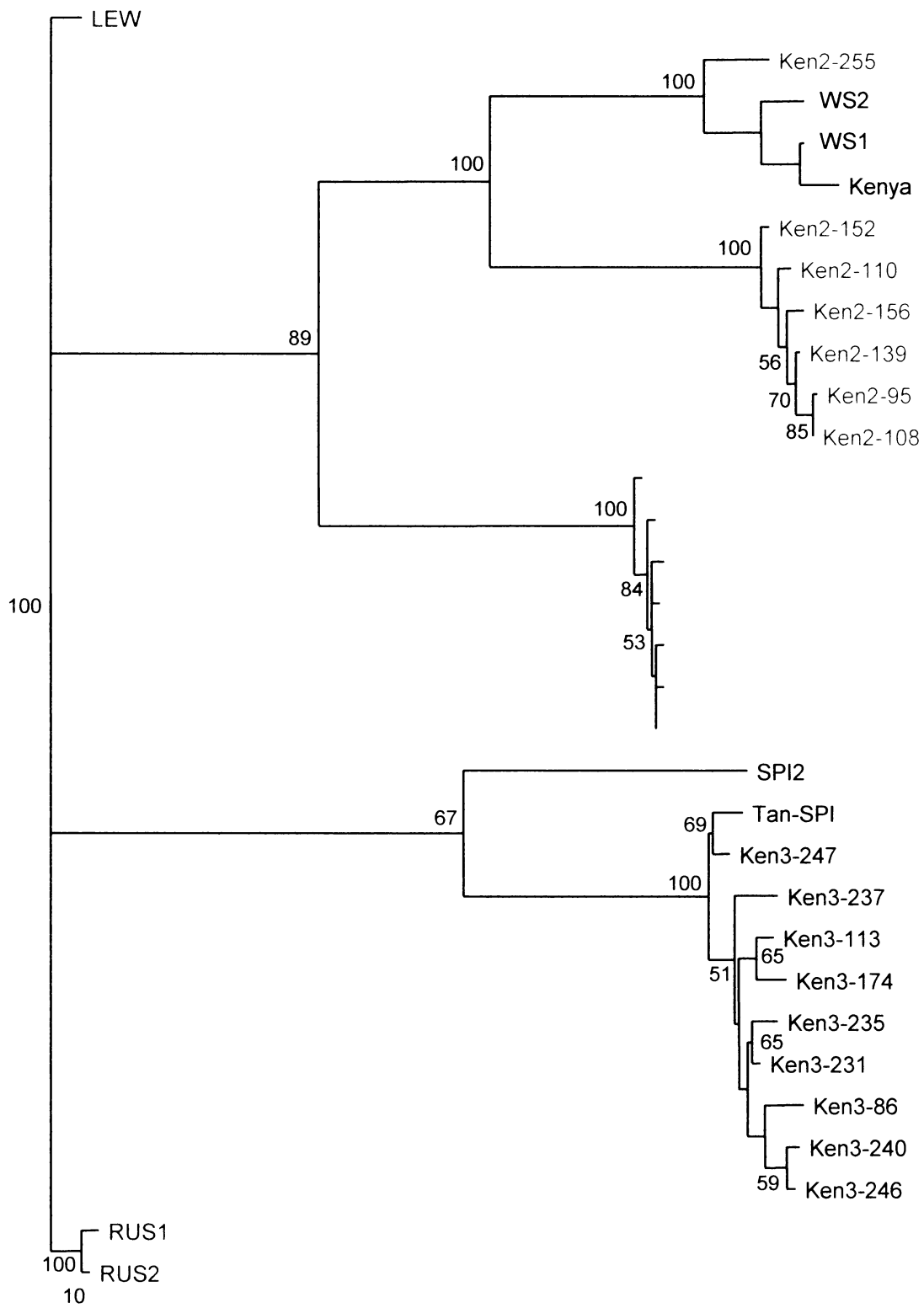


Obr. 14: Lokality haplotypů pocházejících ze severní Keni. Tmavě modré kolečko značí jedince tmavé (melanické) formy a společně s tmavě modrým kolečkem s žlutým okrajem značí jedince světlé formy patřící do linie Kenya3. Světle modré kolečko značí světlé formy patřící do linie Kenya1 a fialové patří linii Kenya2.



Obr. 15: Fylogenetický strom sestavený na základě vstupního alignmentu MCRKenya metodou MP (čísla představují hodnotu bootstrapu).

Označní skupin: skupina Kenya1 – světle modrá, skupina Kenya2 – fialová, skupina Kenya3 tvavě modrá, skupina *russatus* – hnědá.



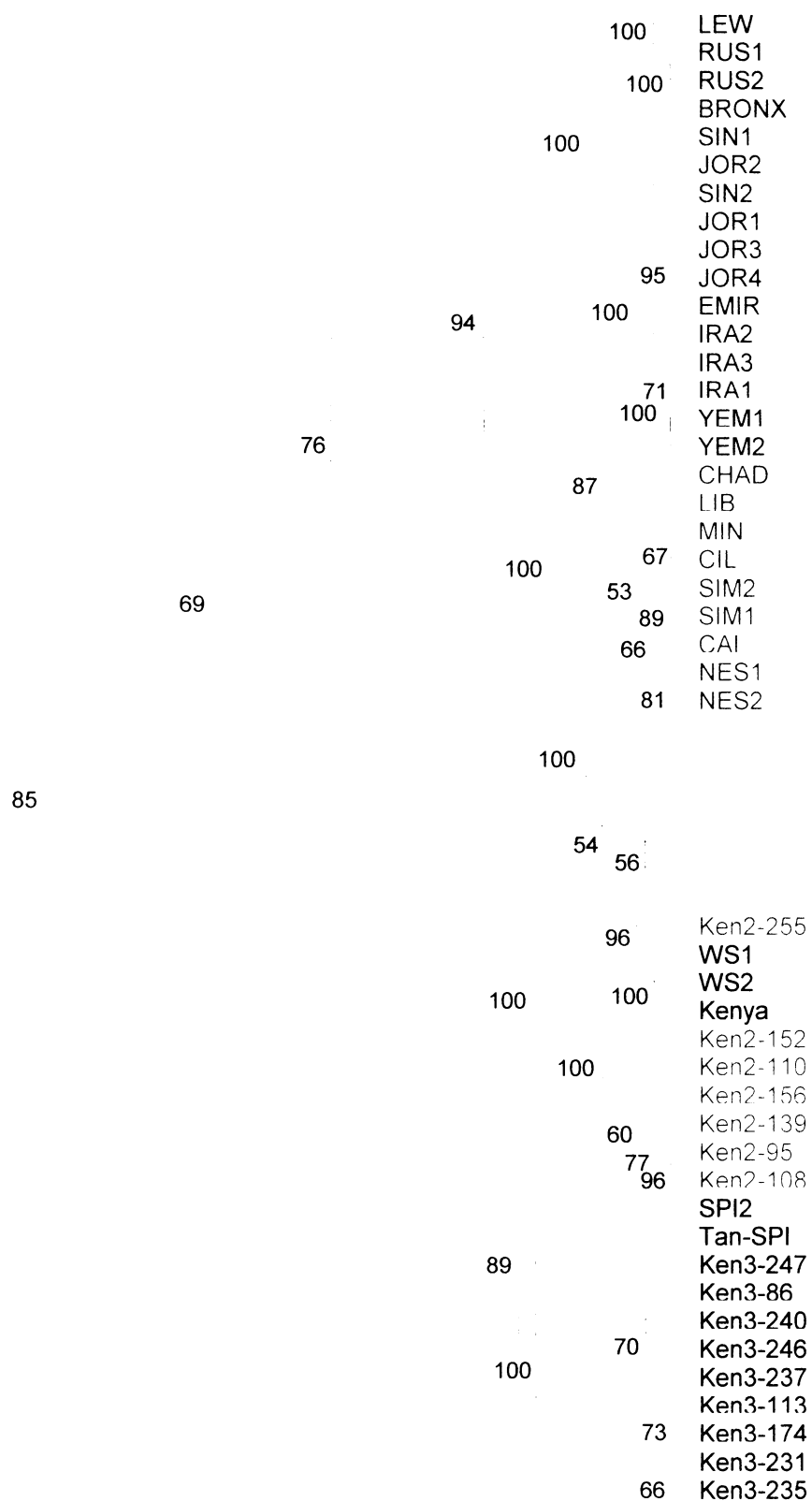
Obr. 16: Fylogenetický strom sestavený na základě vstupního alignmentu MCRKenya metodou NJ (čísla představují hodnotu bootstrapu).

Označní skupin: skupina Kenya1 – světle modrá, skupina Kenya2 – fialová, skupina Kenya3 tmavě modrá, skupina *russatus* – hnědá.

#### 5.4 Celková analýza sekvencí oblasti MCR

Z celkového počtu 58 vzorků bylo identifikováno 53 haplotypů, 317 znaků bylo variabilních, z toho 277 znaků bylo parsimoně informativních.

Výsledné topologie stromů, získané z analýzy sloučením všech sekvencí MCR, se v hlavních rysech neodlišují od topologií stromů z jednotlivých parciálních analýz skupin. Zůstává zachována monofylie všech skupin. Přesné příbuzenské vztahy mezi jednotlivými skupinami nejsou jednoznačné, ale je zcela zřejmé, že skupina Kenya3 má výrazně bazálnější pozici nežli zbylé skupiny vyjma linie *russatus*. Přehled fylogenetických stromů získaných jednotlivými metodami ukazují obr. 17-20.



Obr. 17: Fylogenetický strom sestavený na základě vstupního alignmentu MCRCCom metodou MP (čísla představují hodnotu bootstrapu).

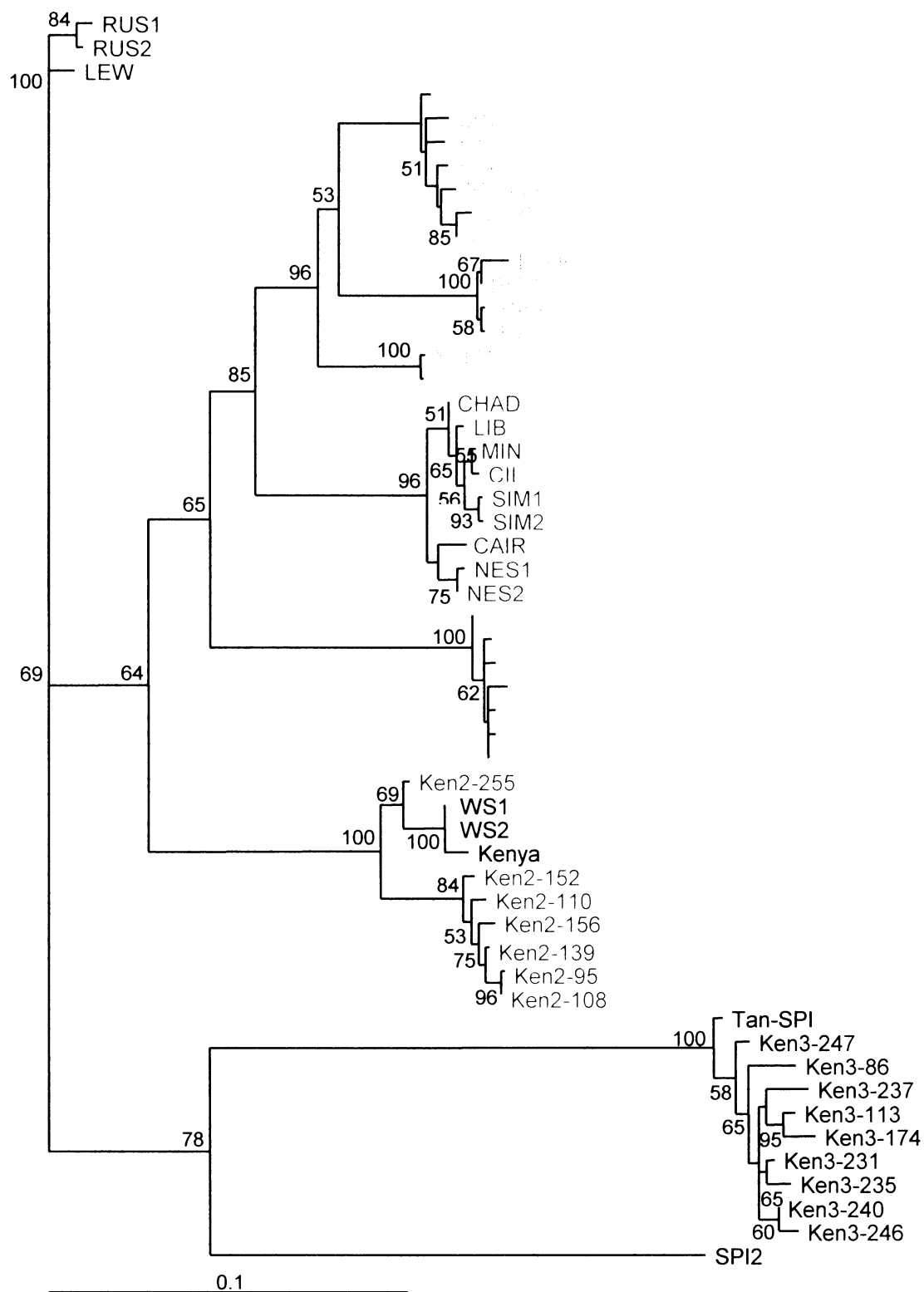
Označní skupin: skupina *cahirinus* – červená, skupina *dimidiatus* – zelená, skupina Kenya1 – světle modrá, skupina Kenya2 – fialová, skupina Kenya3 tvavě modrá, skupina *russatus* – hnědá.

LEW



Obr. 18: Fylogenetický strom sestavený na základě vstupního alignmentu MCRCom metodou NJ (čísla představují hodnotu bootstrapu).

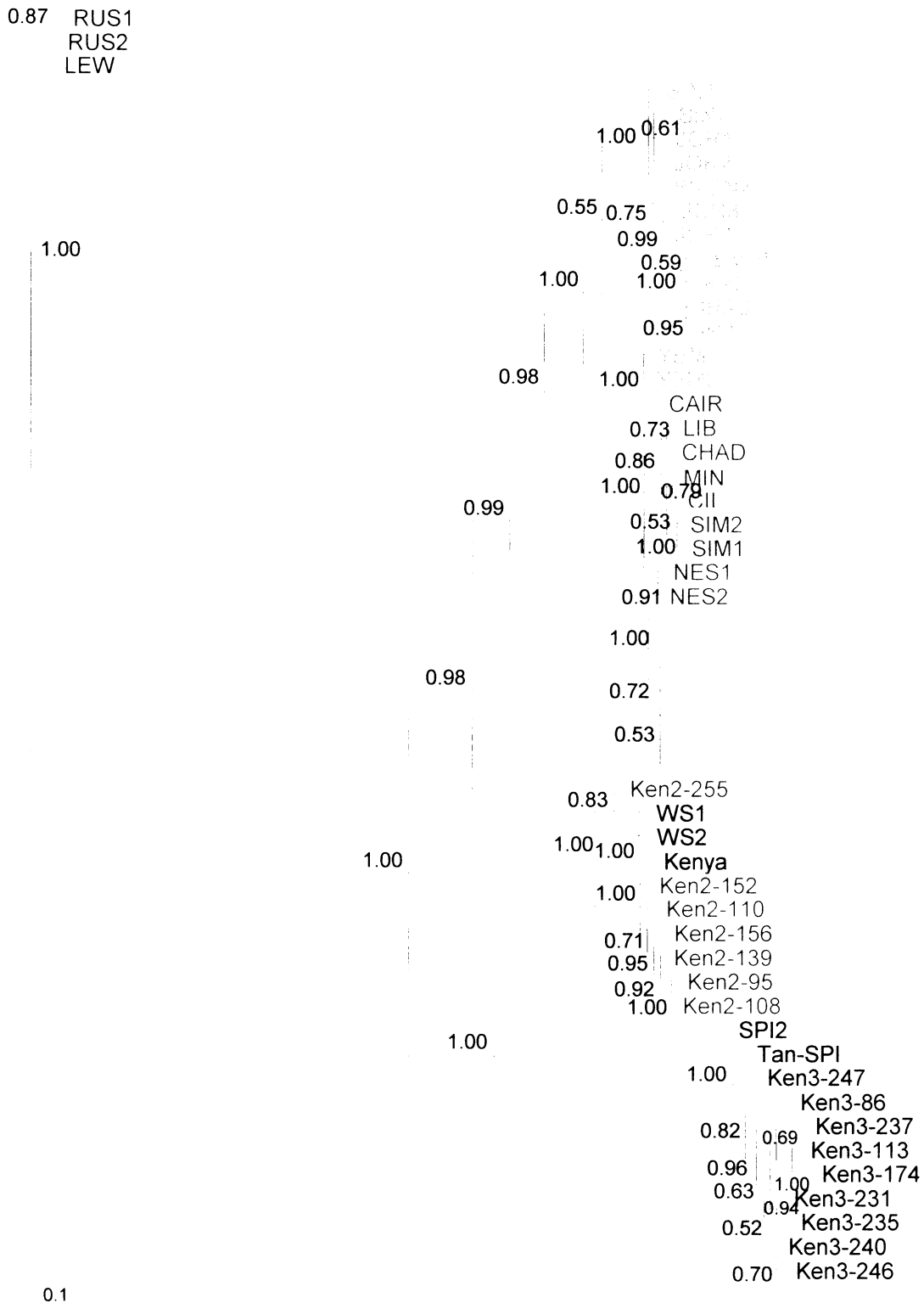
Označební skupin: skupina *cahirinus* – červená, skupina *dimidiatus* – zelená, skupina Kenya1 – světle modrá, skupina Kenya2 – fialová, skupina Kenya3 – tmavě modrá, skupina *russatus* – hnědá.



Obr. 19: Fylogenetický strom sestavený na základě vstupního alignmentu MCRCom metodou ML (čísla představují hodnotu bootstrapu).

Označní skupin: skupina *cahirinus* – červená, skupina *dimidiatus* – zelená, skupina Kenya1 – světle modrá, skupina Kenya2 – fialová, skupina Kenya3 tvavě modrá, skupina *russatus* – hnědá.





Obr. 20: Fylogenetický strom sestavený na základě vstupního alignmentu MCRCom metodou Bayesovské analýzy (čísla ukazují hodnoty posteriorních pravděpodobností správné topologie).

Označní skupin: skupina *cahirinus* – červená, skupina *dimidiatus* – zelená, skupina Kenya1 – světle modrá, skupina Kenya2 – fialová, skupina Kenya3 tvavě modrá, skupina *russatus* – hnědá.

## 5.5 Analýza sekvencí genu pro cytochrom b

Alignment označen jako cytBar byl sestaven z 12ti nově sekvenovaných vzorků a 22 blízce příbuzných sekvencí, převzatých z genové banky. Tři sekvence patřící do skupiny Gerbillidae byly použity jako outgroup. Délka amplifikovaných sekvencí byla 794 bp (viz tab. 5). Parsimoně informativních znaků bylo 297 z celkových 338 variabilních znaků. Hodnoty bootstrapu jednotlivých analýz MP a NJ jsou uvedeny v závorkách.

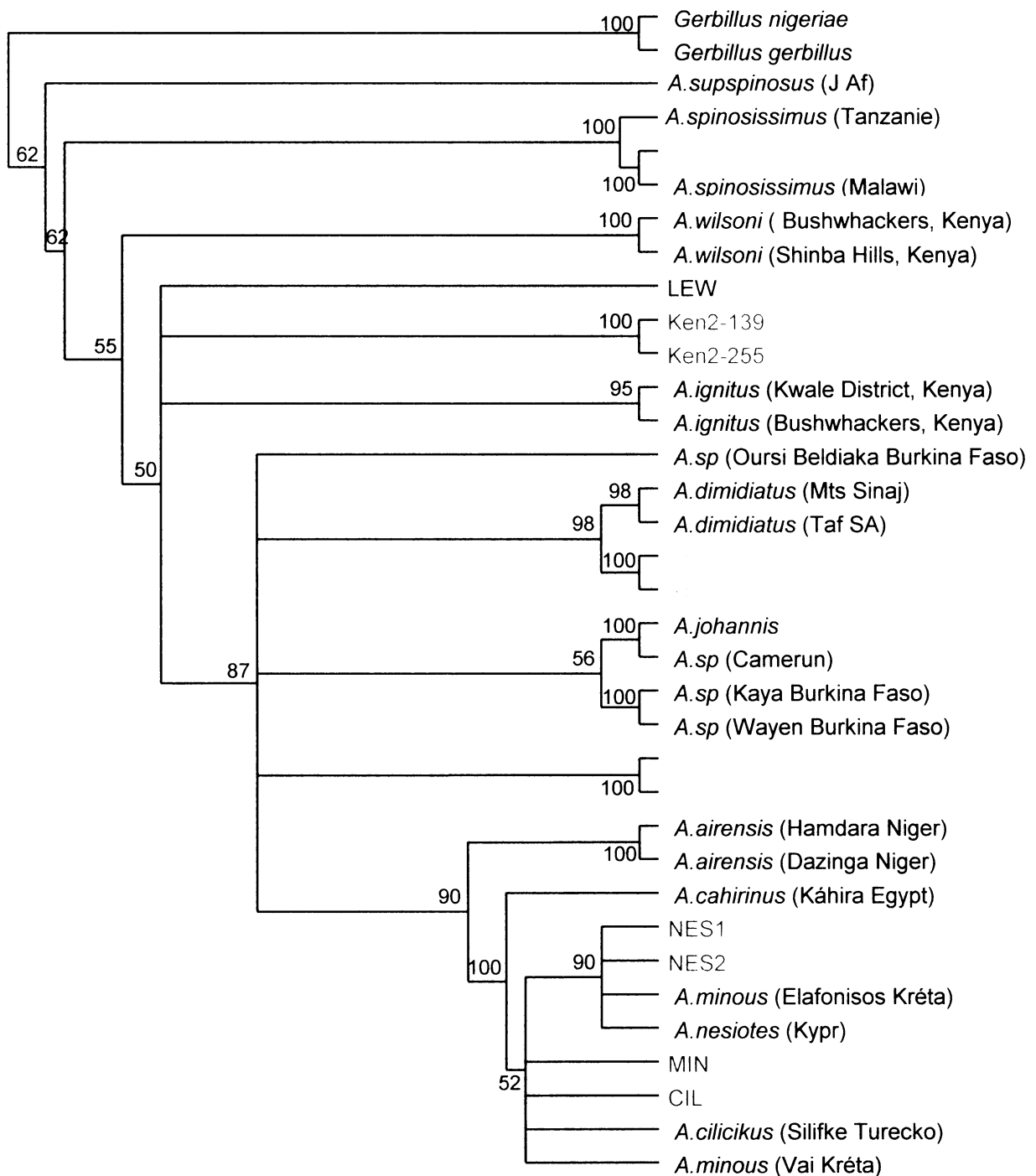
Výsledky potvrdily monofylii skupiny *cahirinus* (100, 100) i skupiny *dimidiatus* (98, 98), která se ještě jasně rozděluje na dvě linie, z nichž první obsahuje haplotypy z Íránu (100, 100) a druhá ze Sinaje a Saudské Arábie. Postavení skupiny označené jako Kenya1 není zřetelné, ale zdá se být nejpríbuznější s *A. sp.* ze západní Afriky (oblast Burkina Faso) (-, 48), p distance jsou v rozmezí 9.6-12.1% (viz. Příloha 5 CD tab. 19). Skupina prozatímne označená jako Kenya2 se naopak zdá být nejpríbuznější s *A. ignitus* (-, 67), p distance jsou v rozmezí 11.0-14.4 % . Vzorek pocházející z Malawi tvoří monofyletickou skupinu s *A. spinosissimus* (100, 100) na bázi kladogramu. Přehled fylogenetických stromů získaných jednotlivými metodami ukazují obr. 21-24.

Druhý alignment, označen cytBND6, byl sestaven pouze z 12ti našich nově sekvenovaných vzorků o délce 540 bp (viz tab. 5). Parsimoně informativních znaků bylo pouze 85 z celkových 146ti variabilních znaků. Hodnoty bootstrapu jednotlivých analýz MP a NJ jsou uvedeny v závorkách.

Výsledky opět potvrzují monofyletické skupiny *cahirinus* (100, 100) a *dimidiatus* (81, 96). Kenya1 se staví jako sesterská linie skupině *cahirinus-dimidiatus* (70, 82). Dále se odděluje linie označená jako Kenya2 a na bázi kladogramu leží Kenya3 společně s *A. lewisi* (označeno LEW). Strom vypočten metodou NJ řadí Kenya3 a LEW do společné skupiny (nekorogovaná p distance 14.1% viz. Příloha 2) což nesevědí o jejich blízké příbuznosti.

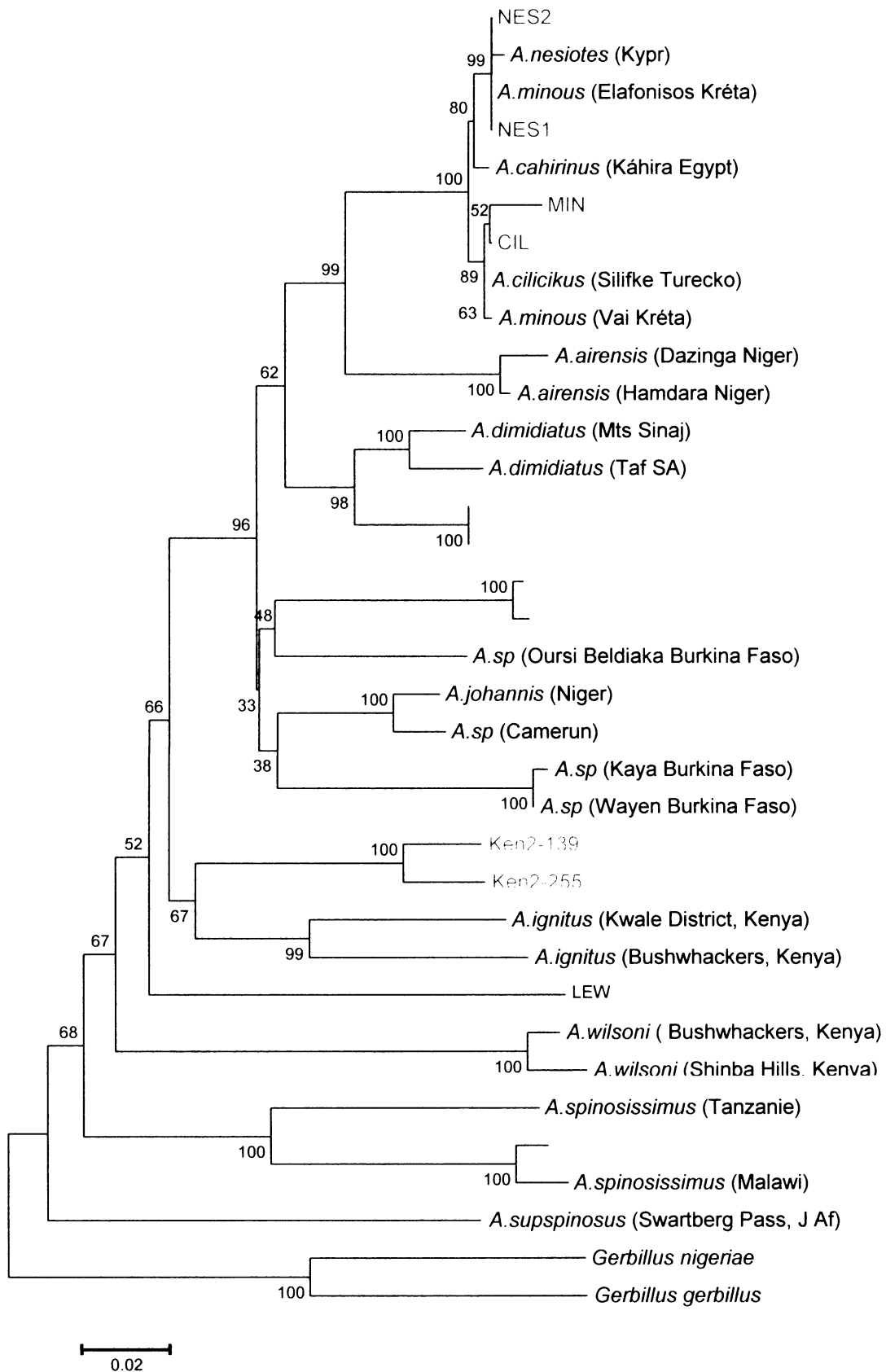
Třetí alignment označen cytB3 byl sestaven z 13ti nově sekvenovaných vzorků a 6 blízce příbuzných sekvencí, převzatých z genové banky. Délka sekvencí byla pouze 162 bp z nichž 47 znaků bylo parsimoně informativních z celkového počtu 62 variabilních znaků.

Výsledný strom (viz. Příloha 3) vyvrací možné příbuzenské spojení Kenya3 s *A. wilsoni* (nekorogovaná p distance 17.3-17.8 % viz. Příloha 5 CD tab. 17).



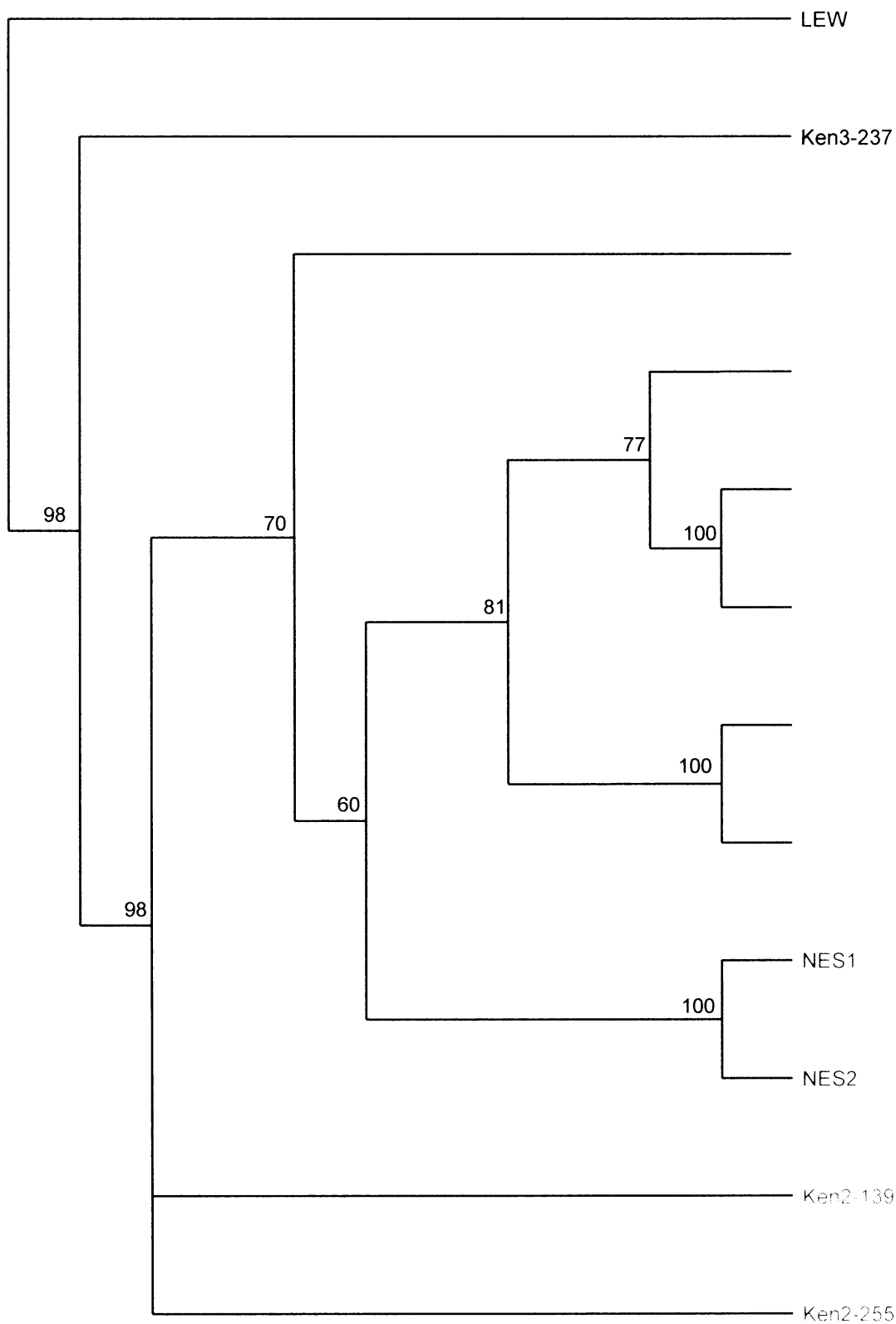
Obr. 21: Fylogenetický strom sestavený na základě vstupního alignmentu cyt**b**Bar metodou MP (čísla představují hodnotu bootstrapu).

Označní skupin: skupina *cahirinus* – červená, skupina *dimidiatus* – zelená, skupina Kenya1 – světle modrá, skupina Kenya2 – fialová, skupina Kenya3 tvavě modrá, skupina *russatus* – hnědá a skupina *spinosissimus* – oranžová.



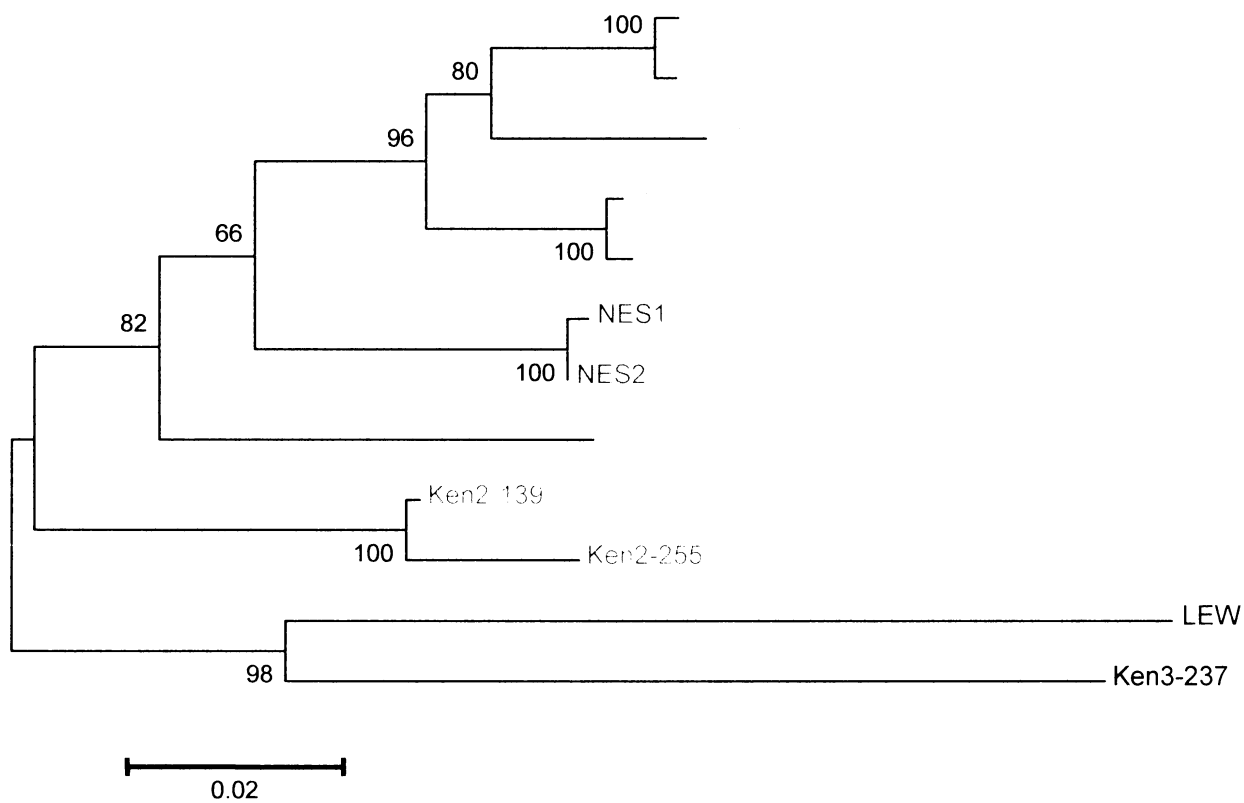
Obr. 22: Fylogenetický strom sestavený na základě vstupního alignmentu cyt**b**Bar metodou NJ (čísla představují hodnotu bootstrapu).

Označní skupin: skupina *cahirinus* – červená, skupina *dimidiatus* – zelená, skupina Kenya1 – světle modrá, skupina Kenya2 – fialová, skupina Kenya3 tvavě modrá, skupina *russatus* – hnědá a skupina *spinosissimus* – oranžová.



Obr. 23: Fylogenetický strom sestavený na základě vstupního alignmentu *cytbND6* metodou MP (čísla představují hodnotu bootstrapu).

Označní skupin: skupina *cahirinus* – červená, skupina *dimidiatus* – zelená, skupina Kenya1 – světle modrá, skupina Kenya2 – fialová, skupina Kenya3 tvavě modrá, skupina *russatus* – hnědá.



Obr. 24: Fylogenetický strom sestavený na základě vstupního alignmentu cytbND6 metodou NJ (čísla představují hodnotu bootstrapu).

Označní skupin: skupina *cahirinus* – červená, skupina *dimidiatus* – zelená, skupina Kenya1 – světle modrá, skupina Kenya2 – fialová, skupina Kenya3 tvavě modrá, skupina *russatus* – hnědá.

Tab. 8: Evoluční modely sekvencí MCR a jeho jednotlivé části pro všechny vzorky a jejich parametry navržené programem Modeltest 3.7. (MCR- mitochondriální kontrolní region, který se skládá z dvou hypervariabilních částí ETAS, CSB a konzervativní části CD, po obou stranách MCR se nachází části tRNA).

datový soubor (alignment)	navržený evoluční model	-lnL	frekvence bází				substituční tempo						I	Γ
			A	T	G	C	A↔C	A↔G	A↔T	C↔G	C↔T	G↔T		
			MCR	TVM+I+Γ	5174.9565	0.3317	0.3184	0.1123	0.2376	0.8576	8.8698	1.6775		
ETAS+CSB	HKY+I+Γ	3531.9810	0.3738	0.3357	0.0823	0.2083	1.0000	8.8130	1.0381	1.0381	8.8130	1.0000	0.3567	0.7060
CD	K81uf+I+Γ	926.6933	0.2673	0.2930	0.1681	0.2715	1.0000	7.3304	3.0518	3.0518	7.3304	1.0000	0.6856	0.6261
tRNA	K81uf+I+Γ	533.8763	0.3570	0.2689	0.1417	0.2324	1.0000	50.3687	8.5377	8.5377	50.3687	1.0000	0.7080	0.7491

Tab. 9: Evoluční modely sekvencí MCR a jeho jednotlivé části pro skupinu *cahirinus-dimidatus* a jejich parametry navržené programem Modeltest 3.7. (MCR- mitochondriální kontrolní region, který se skládá z dvou hypervariabilních částí ETAS, CSB a konzervativní části CD, po obou stranách MCR se nachází části tRNA).

datový soubor (alignment)	navržený evoluční model	-lnL	frekvence bází				substituční tempo						I	Γ
			A	T	G	C	A↔C	A↔G	A↔T	C↔G	C↔T	G↔T		
			MCR	HKY+Γ	3045.2759	0.3231	0.3130	0.1162	0.2476					
ETAS + CSB	HKY+Γ	1925.3650	0.3522	0.3320	0.0811	0.2347							0	0.1944
CD	K81uf+I	647.3873	0.2532	0.2860	0.1767	0.2841	1.0000	15.6614	8.2806	8.2806	15.6614	1.0000	0.8364	-
tRNA	TtN+I	370.9034	0.3486	0.2663	0.1579	0.2272	1.0000	56.2549	1.0000	1.0000	83.4720	1.0000	0.7939	-

Tab. 10: Evoluční modely sekvencí MCR a jeho jednotlivé části pro skupiny Kenya1, Kenya2, Kenya3 a jejich parametry navržené programem Modeltest 3.7. (MCR- mitochondriální kontrolní region, který se skládá z dvou hypervariabilních částí ETAS, CSB a konzervativní části CD, po obou stranách MCR se nachází části tRNA).

datový soubor (alignment)	navržený evoluční model	-lnL	frekvence bází				substituční tempo						I	Γ
			A	T	G	C	A↔C	A↔G	A↔T	C↔G	C↔T	G↔T		
MCR	TVM+I+Γ	3975.2891	0.3231	0.3101	0.1205	0.2463	0.9648	8.2492	2.8196	0.7397	8.2492	1.000	0.5314	0.8610
ETAS + CSB	K81uf+Γ	2623.3088	0.3620	0.3287	0.0870	0.2224	1.0000	8.3411	1.8587	1.8587	8.3411	1.000	0.2819	0.6215
CD	TVM+I+Γ	805.9362	0.2571	0.2828	0.1810	0.2791	1.1145	6.8486	5.1205	0.4879	6.8486	1.000	0.7095	0.7908
tRNA	K81uf+I	420.8575	0.3465	0.2656	0.1450	0.2429	1.0000	251012.90	89592.24	89592.24	251012.90	1.000	0.8027	



## 5.6 Výsledky mezidruhového rozpoznávání

Do analýzy bylo zahrnuto 5 parametrů chování, u kterých se předpokládalo, že nejpravděpodobněji vyvrátí nulovou hypotézu. Výsledky všech sledovaných parametrů chování jsou uvedeny v Příloze 5 CD, tab. 20. V tabulce 11 jsou uvedeny průměrné doby (sec) analyzovaných parametrů chování společně s výsledky neparametrického dvoustranného Wilcoxonova testu. Hodnoty jsou uvedeny pro situaci, kdy je samec *A. cilicicus* vždy umístěn v levé krabici. Signifikantně prokazatelný výsledek byl zaznamenán pouze v případě, kdy samice očichávaly vnější otvor krabčky. Samice obou druhů trávily více času očichávání vnějšího otvoru krabčky samce vlastního druhu, „OPENING“ ( $z = 2,311$ ,  $P = 0,020$ ). U ostatních sledovaných faktorů nebyl nalezen rozdíl mezi časem, který samice strávila v levé a pravé polovině akvária (tzn. u samce vlastního/cizího druhu): „OUT“ zahrnující výskyt a sledovanou činnost (panáček, grooming) v pravé či levé části akvária a „IN“ zahrnující čichání přímo k samci a výskyt samice uvnitř krabčky s mřížkou. V případě použití jednostranného testu dostaneme signifikantní výsledek u faktoru „SNIFF“, kdy samice čichala přímo k samci odděleného mřížkou ( $z = 1.650$ , jednostranný:  $P = 0.049$ , dvoustranný:  $P = 0.098$ ).

Tab. 11: Průměrná doba, kterou samice strávily danou aktivitou. Signifikantní hodnota je vyznačena tučně.

	<i>A.sp</i> Írán	<i>A.cilicicus</i>	Z	p-level
OUT-left	1614,7 s	928,3 s	0,191	0,848
OUT-right	958,5 s	837,6 s		
IN-left	572,3 s	288,6 s	1,060	0,289
IN-right	236,1 s	394,0 s		
OPENING-left	280,6 s	342,8 s	2,311	<b>0,020</b>
OPENING-right	144,9 s	208,5 s		
SNIFF-left	232,8 s	215,8 s	1,650	0,098
SNIFF-right	153,7 s	261,0 s		

## 6 Diskuse

### 6.1 Skupina *cahirinus-dimidiatus*

U všech třech vzorků pocházejících z jižní části Saharské pouště: Abu Simbel (archeologické místo v J Egyptě), pohoří Akakus (JZ Libye; sousedící s pohořím Tassili N' Ajjer v Alžírsku), a pohoří Tibesti (S Čad) se nacházejí MCR sekvence, které bezpochyby patří k *A. cahirinus* sensu stricto. Navzdory vzdálenosti 2200 km, mezi pohořím Akakus a Abu Simbel, byly na výše jmenovaných třech lokalitách nalezeny haplotypy, které jsou téměř identické (MCR p vzdálenost 0.3 %). Z toho vyplývá, že rozšíření tohoto druhu zahrnuje také většinu centrálního Saharského regionu. Typová lokalita *A. airensis*, nacházející se na plošině Air, je další jiho-saharská horská oblast, sdílí s výše zmíněnými místy téměř stejné ekologické podmínky. Plošina Air, která je situovaná "jen" 700 km od pohoří Akakus a 800 km od náhorní plošiny Tibesti, vznáší otázku o druhové identitě holotypu *A. airensis*. Jediné geneticky prozkoumané populace, označované jako *A. airensis*, jsou sice jasně odlišné od *A. cahirinus*, ale pocházejí nikoli z horských oblastí Airu, ale z nížiných oblastí dále na západ v Nigeru a zejména v Mali (Barome et al. 2001, 2000, 1998). Ačkoli byly provedeny podrobné morfologické analýzy poněkud rozsáhlejšího materiálu *A. airensis* (Sicard & Tranier 1996, Denys et al. 1994), není z nich čtenáři zcela jasné, zda lze tento druh spolehlivě rozeznat od jihosaharských *A. cahirinus* jen na základě morfologických znaků.

Výsledky analýzy sekvencí MCR jasně podporují předchozí studie, jež ukazují na parafyletické postavení druhu *A. cahirinus*, žijící v severní Africe, vzhledem k druhům rodu *Acomys*, pocházejícím ze severních středomořských ostrovů a pobřeží Turecka (*A. nesiotés*, *A. minous* a *A. cilicicus*). Výsledky poskytují další důkaz o nedávné imigraci bodlinatých myší do severo-východního Mediteránního regionu. MCR není kódující sekvence, má rychlejší vývoj než cytochrom b a proto poskytuje citlivější analýzu pro potvrzení resp. vyvrácení antropogenního původu středozemních druhů bodlinatých myší. Značná podobnost mezi jednotlivými haplotypy z pevninské Afriky a ze severo-východního Středomoří naznačuje, že předci *A. nesiotés*, *A. cilicicus* a *A. minous* se nejspíše šířili jako komenzálové s obchodníky ve Starověku. Jejich postavení jako platných druhů je proto sporné, pokud nepřijmeme koncept evolučního druhu.

Barome et al. (2001) sekvenoval cytochrom b u ostrovní populací *A. minous* z Kréty a popsal dvě skupiny, které mají jasně odlišné mitochondriální sekvence, označil je A a B. Také se zmiňuje o haplotypech *A. nesiotés* z Kypru a *A. cahirinus*, který pochází z typové

lokality v Káhiře a patří do skupiny A, zatímco *A. cilicicus* z pobřeží Turecké Kilikie do skupiny B. Sekvence MCR poskytly podobný obraz jako sekvence genu pro cytochrom b. Haplotypy z Kypru a Káhiry tudíž zjevně odpovídají skupině A, zatímco haplotypy z Kréty a Turecké Kilikie, skupině B. Další haplotypy patřící do skupiny B byly objeveny na výše uvedených třech místech jižní Sahary. Můžeme si domyslet, že nositelé haplotypové skupiny B, kteří kolonizovali Krétu a Tureckou Kilikii ve Starověku, byli možná převezeni egyptskými nebo fénickými obchodními loděmi z jižního Egypta. Nicméně provzorkování severní Afriky je stále natolik nedostatečné, že není možno vyloučit žádnou oblast severní Afriky jako možný zdroj ostrovních haplotypů skupiny B.

Vzájemná hybridizace forem s haplotypy skupin A a B potvrzuje skutečnost, že obě skupiny přispěly ke vzniku současné *A. minous* (Barome et al. 2001). Navíc jak *A. cilicicus* tak *A. cahirinus* z Abu Simbel (patřící do B skupiny) se v laboratorních podmínkách volně kříží s *A. nesiotus* z Kypru a *A. cahirinus* z Káhiry, patřící do skupiny A (Frynta a Sádlová 1998, vlastní poznatky).

Relativně velká divergence mezi Afro-Mediterránním a Asijským kladem podporuje názor (Volobuev et al. 2007), že africká *A. cahirinus* a asijská *A. dimidiatus* jsou jasně odlišné druhy. Nicméně podle sekvencí cytochromu b analyzovaných Barome et al. (2001a, 2000) má i *A. dimidiatus* své nejbližší příbuzné na africkém kontinentu, a to konkrétně v západní Africe (Kamerun, Burkina Faso).

Značná podobnost byla nalezena mezi haplotypy *A. dimidiatus* ze Sinaje a Jordánska, tj. oblastí známých výskytem odlišných chromozómových forem (Nevo 1985). To podporuje současné poznatky svědčící o volném křížení mezi dvěma chromozomálními formami (36 a 38 chromozómové), a tedy o tom, že nositelé těchto karyotypů velmi pravděpodobně patří k jedinému druhu (Volobuev et al. 2007).

Podobnost iránských haplotypů s haplotypy pocházejících z Arabských Emirátů, ležících na druhé straně Perského a Ománského zálivu, může být snadno vysvětlena nedávnou geologickou historií. Během poslední doby ledové se v místě dnešního Perského zálivu vytvořil pevninský most, umožňující volné šíření fauny z jihu Arabského poloostrova na severovýchod směrem k Íránu (Anderson 1999).

Jedním z významných poznatků učiněných při zpracování sekvencí je objevení značné divergence uvnitř Asijského kladu. Část jižního Arabského poloostrova je tedy teritorium s vysokou haplotypovou rozmanitostí, a proto to nemůže být pouze oblast periferního šíření rodu *Acomys*. Je málo pravděpodobné, že by docházelo ke kolonizaci Arabského poloostrova ze severovýchodní Afriky přes Sinajský poloostrov a Jordánsko. Více

pravděpodobná kolonizační událost vyplývá z dávného poklesnutí hladiny Rudého moře a následným vznikem pevninského mostu, spojujícího východní Afriku s jižním Arabským poloostrovem, jak již bylo navrženo Volobouev (2007) a Barome et al. (2000).

Asijský klad není pravděpodobně zastoupen pouze jedním druhem. Výsledky naznačují, že haplotypy z Íránu a Arabských Emirátů a stejně tak i haplotypy z Jemenu jsou jen vzdáleně příbuzné s haplotypy pocházejícími ze Sinaje a Jordánska. Morfologické studie, která byla provedena na skeletech *A. dimidiatus* a *A. sp.* Írán, potvrzují jasnou odlišnost mezi Sinajsko-Jordánskou a Íránsko-Emirátskou linií (Benkovičová 2006). Protože *A. dimidiatus* (Cretzschmar, 1826) byl popsán ze Sinaje, Sinajsko-Jordánská linie bez pochyby odpovídá nominotypickému poddruhu tohoto druhu. Naproti tomu vědecká jména nositelů Jemenských a Íránských haplotypových linií (pokud by byla jejich druhová či poddruhová odlišnost prokázána) by měla být hledána mezi staršími popisy ze stejné zeměpisné oblasti. *A. whitei* Harrison, 1980 z Ománu a *A. d. homericus* Thomas, 1923 z Jemenu (typová lokalita Aden) možná odpovídají naší Íránsko-Emirátské linii. Avšak oba popisy se zmiňují o holotypech s melanickým zbarvením, což by mohlo naznačit možnou záměnu s komenzální tmavě zbarvenou formou *A. cahirinus*. Kromě toho existují ještě dva starší popisy z blíže neurčené Arábie: *hispidus* (Brant, 1827) a *megalotis* (Lichtenstein, 1829). Správná pojmenování pro námi studované a sekvenované formy tedy nelze bez další revize typového materiálu jednoznačně stanovit.

## 6.2 Severní Keňa

**Druhová příslušnost keňských populací rodu *Acomys*.** V Keni byly do dnešní doby popsány nejméně čtyři druhy: *A. ignitus* Dollman (1910) – terra typica: Voi, Keňa, *A. kempi* Dollman (1911) – terra typica: Chanler Falls, N Guaso Nyiro, Keňa, *A. percivali* Dollman (1911) – terra typica: Chanler Falls, Nyiro, Keňa, a *A. wilsoni* Thomas (1892) – terra typica: Chanler Falls, Mombasa, Keňa. Práce, které se zabývají situací v Keni obsahují vzorky, které byly získány jižně od Rudolfova jezera. Honacki et al. (1982) zařadil *A. ignitus* Dollman (1910) a *A. percivali* Dollman (1911) jako synonymum pro *A. cahirinus* Desmarest (1819), ale podle pozdějších genetických výsledků se ukázalo, že *A. ignitus* je samostatný druh sesterský ke skupině *cahirinus-dimidiatus* (Barome et al. 2001a, b, 2000, 1998, Janecek et al. 1991). Stejně tak *A. percivali* je zjevně odlišný od *A. ignitus* i *A. cahirinus* (respektive *A.*

*dimidiatus* - Volobouev et al. 2007, 1996a), ale jeho přesné postavení není dosud známo (Janecek et al. 1991).

Všechny naše vzorky pocházející ze severní Keni byly získány v „Eastern province“, ve vzdálenosti do 150 km od Rudolfova jezera. Navzdory velmi malé geografické vzdálenosti mezi lokalitami odchyty je lze rozdělit do tří samostatných a geneticky výrazně odlišných linií, dále provizorně označované jako Kenya1, Kenya 2 a Kenya 3.

**Vzájemné vztahy mezi formami z Keni.** Jednotlivé mitochondriální linie ze severní Keni se navzájem zřetelně odlišují: mezi Kenya3 a Kenya2 je nekorigovaná p distance vypočtená z MCR největší a pohybuje se v rozmezí 12.4-14.8 %, Kenya3 a Kenya1 12.3-13.1 % a mezi Kenya2 a Kenya1 je divergence nejnižší, ale stále velká 9.6-10.4 %, pro cytochrom b je nekorigovaná p distance vypočtená pouze mezi skupinou Kenya1 a Kenya2 v rozmezí 13.1-14.1 %. Protože je pětiprocentní divergence v sekvenci pro cytochrom b považována mnohými autory za arbitrární hranici pro diferenciaci druhu, můžeme bez váhání mluvit o třech různých druzích obývajících studovanou oblast v severní Keni.

**Keňa 3.** Na třech lokalitách ležících nejbližce Rudolfovu jezeru a jedné ležící asi o 100 km dále na východ v poušti Charbi, žijí populace bodlinatých myší s tmavým (melanickým) zbarvením srsti. Na jiných dvou lokalitách se vyskytují světlé formy, z nichž první se nachází také v blízkosti Rudolfova jezera, do 40 km od výše zmíněných třech lokalit a druhá leží asi 20 km od výše zmíněné lokality nacházející se v poušti Charbi. U obou barevných forem z těchto lokalit byly zjištěny sekvence MCR a cytochromu b, které patří do jediné mitochondriální linie prozatímne označené jako Kenya3 (p vzdálenost 0.5-2.4%). Z toho vyplývá, že melanické zbarvení není druhovým znakem a nejspíše jen reflektuje životní prostředí, ve kterém se daná populace nachází. Uvnitř rodu *Acomys* byl barevný polymorfismus popsán opakovaně. *A. lewisi* popsáná Atallahem (1967) má tmavé zbarvení a byla zprvu považována za samostatný druh jen na základě melanického zbarvení. Až později byla podle morfologických (Harrison & Bates 1991) a genetických (Janecek et al. 1991) dat zařazena do druhu *A. russatus* (Wagner 1840), která má jinak světle zlatavé zbarvení. *A. lewisi* žije na černých čedičových svazích v Jordánsku (Atallah 1967), tudíž tmavé zbarvení pozitivně koreluje s prostředím. K popisu nové formy bodlinaté myši na základě odlišného zbarvení než u již popsaných exemplářů došlo v historii již několikrát, např. Thomas (1923) popsal *A. d. homericus*, což je patrně pouze tmavá forma *A. dimidiatus* (Cretzschmar 1826) žijící na jihu Arabského poloostrova (Harrison & Bates 1991). Další ukázkou dvou

melanických forem v rámci jedné linie je skupina *A. cahirinus* (Desmarest 1819). Komenzální populace žijící v Káhiře je tmavá (melanická) forma a naopak populace z Abu Simbel (J Egypt), pohoří Akakus (JZ Libye), pohoří Tibesti (Čad), přilehlých Středomořských ostrovů Kypr, Kréta a Tureckého pobřeží Kilikie jsou světlé formy patřící k *A. cahirinus* sensu stricto viz výše.

Bohužel se nepodařilo získat sekvence genu pro cytochrom b této linie (Kenya 3), a proto je těžké určit její bližší postavení v rámci rodu *Acomys*, popřípadě identifikovat s některým z popsanych druhů (jmen). Fragment sekvence, který se podařilo získat, obsahoval především úsek genu pro tRNA a jen malou část genu pro cytochrom b. Podle distanční metody NJ se tato linie Kenya3 připojila ke skupině *A. russatus* i když nekorigovaná p distance mezi těmito dvěma skupinami je 14.1 %, tudíž se jedná o dvě velmi odlišné linie. Tento výsledek se potvrdil i při snaze porovnat pouhých 165 znaků patřících pouze genu pro cytochrom b s dalšími druhy patřící do rodu *Acomys*. Zcela určitě se jedná o samostatnou linii, ale bez prodloužení stávajícího úseku cytochromu b a získání nových vzorků od dalších druhů z této oblasti nelze vyloučit identitu s některým již známým druhem. Mohlo by se jednat o *A. wilsoni* (ale i na krátkém srovnávaném úseku bylo 17.3-17.8 % rozdílů) nebo *A. percivali*, u kterého ještě nebyl cytochrom b sekvenován.

**Keňa 2.** Na pěti lokalitách ležících nejseverněji, nejvýchodněji a nejjižněji ze všech odchytových lokalit (vzdálenost mezi severní a jižní populací je asi 200 km) byly nalezeny sekvence genu pro cytochrom b a MCR náležící do jedné linie prozatímně označené jako Kenya2 (MCR p distance 0.1-1.2 %). Podle sekvence genu pro cytochrom b byla nalezena malá podobnost této linie Kenya2 s *A. ignitus*, avšak p distastance se nachází v rozmezí 11.0-14.4 % což svědčí o dvou velmi odlišných druzích. Tyto výsledky podporují názor Janecka et al. (1991) a Barome et al. (2001a,b, 2000, 1998) o samostatném postavení *A. ignitus* jako druhu, avšak její postavení jako sesterské skupiny *cahirinus-dimidiatus* musí být vyvráceno nalezením nových dvou linií v severní Keni.

**Keňa 1.** Značná podobnost sekvencí genů pro MCR a cytochrom b (MCR p distance 0.2-0.9 %) byla nalezena také u zbylých třech lokalit ležících od sebe jen pár kilometrů v pomyslném středu mezi liniemi Kenya3 a Kenya2. Prozatímně byla tato skupina označena jako Kenya1 a z nově objevených severokeňských linií si je nejvíce příbuzná s Kenya2. Sekvence cytochromu b ukazují na vzdálenou příbuznost mezi Kenya1 s *A. sp.* Burkina Faso, avšak nekorigovaná p distance je v rozmezí 9.6-12.1%. Vysoké hodnoty p

distancí jasně ukazují, že se jedná o dvě diferencované linie (druhy). Již výše bylo zmíněno, že haplotypy z lokality Burkina Faso jsou podle sekvencí cytochromu b nejbližšími příbuznými se skupinou *A. dimidiatus* (Barome et al. 2000, 2001) a tudíž i s Kenyál. Podrobnější rozřešení o možném postavení haplotypů patřících do skupiny Kenyál není v této chvíli možno lépe určit.

**Vyloučení přítomnosti *A. ignitus*.** Podle nových výsledků prezentovaných v této práci není *A. ignitus* identická s žádnou námi studovaných forem a nelze ani jednoznačně prohlásit, že je sesterským druhem k celé skupině *cahirinus-dimidiatus*. V případě forem Kenya 1 a 2 lze identitu s *A. ignitus* zamítnout z důvodu jednoznačných rozdílů v sekvencích cyt b, v případě formy Kenya 3 na základě rozdílné (výrazně bazálnější) pozice této formy na kladogramu získaného z MCR.

**Biogeografické zhodnocení situace v Keni.** Severní Keňa je zjevně oblastí s překvapivě velkou rozmanitostí bodlinatých myší. V této práci jsou prezentovány tři haplotypové linie bodlinatých myší rodu *Acomys*, a sice na 14 lokalitách ležících v okruhu pouhých 200 km. Přinejmenším dvě z nich jsou dosud neznámé. Není zcela vyloučeno, že patří k dosud neznámým druhům. Druhová pestrost by mohla souviset s tím, že území na kterém byly provedeny odchyty, prodělalo v minulosti velmi složitou geologickou historii (Denys 1999 ex Barome et al. 2001b). Z jižní části Keni jsou popsány čtyři druhy bodlinatých myší, tato velmi vysoká diferenciace na tak malém území je v souladu s hypotézou Baroma et al. (2001b, 2000) o vzniku a následném šíření bodlinatých myší z východní Afriky.

### 6.3 Bazální skupiny rodu *Acomys*.

Skupina *A. russatus* zahrnující také tmavou (melanickou) formu, původně považovanou za samostatný druh *A. lewisi*, tvoří podle sekvencí MCR samostatný druh (p distance 0.6-1.7 %), a tím podporuje názor o monofyletičnosti těchto dvou barevných forem (Harrison & Bates 1991, Janecek et al. 1991). Postavení této skupiny není zcela jednoznačné. Podle Janecek et al. (1991) je *A. lewisi* více příbuzný s *A. subspinosus*, avšak podle sekvencí cytochromu b tyto dvě skupiny spolu netvoří shluk (cluster), což také ukazuje práce Barome et al. (2001b). Náš strom je zakořeněný skupinou Gerbillidae, Janecek et al. (1991) použil pro detailní analýzu celé skupiny *Acomys* nezakořeněný strom, tudíž mohlo dojít ke zkreslení výsledků.

Již tradičně se *A. spinosissimus* řadí mezi skupiny ležící na bázi kladogramu. Sekvence cytochromu b pocházející z Malawi se shodují s těmi, jež byly sekvenovány Barome et al. (2001b).

#### 6.4 Druhové rozpoznávání

Výsledky etologických pokusů zaměřených na druhové rozpoznávání mezi *A. cilicicus*, reprezentující skupinu *A. cahirinus*, a populace z Íránu, reprezentující skupinu *A. dimidiatus* sensu lato, nejsou zcela jednoznačné. Samice v estru signifikantně více očichávaly vnější otvor krabíčky se samcem, patřící do stejného druhu (jednostranný Wilcoxonův test:  $p=0.0104$ ). Preference samce vlastního druhu byla prokazatelná (pouze jednostranným testem) i při testování přímé doby kontaktu mezi samicí a samcem, kdy samice čichá přímo k samci umístěného za mřížkou v krabíčce ( $p=0.0493$ ). Naproti tomu porovnání časových úseků, které samice strávila na jednotlivých polovinách testovaného akvária, či v blízkosti samce, nebylo signifikantní.

Design tohoto experimentu byl korektní, vyvážený z hlediska dalších faktorů. Navíc samice volily mezi dvěma cizími samci, z nichž jeden patří ke stejnému druhu a druhý k blízkce příbuznému druhu, tudíž ani s jedním samcem nepřišla v minulosti do kontaktu a nemohlo tak dojít ke zkreslení výsledků.

Statisticky průkazné preference týkající se očichávání jak vnějšího otvoru, tak i samce naznačují, že samice jsou schopny rozpoznat samce vlastního druhu. Přinejmenším v případě, že jeden ze srovnávaných samců patří do jiné linie v rámci skupiny *cahirinus-dimidiatus*. Zjištěné preference jsou však nepříliš výrazné, a tak neposkytují jasnou odpověď na to, zda mezi *A. cahirinus* a *A. dimidiatus* již existuje efektivní prekopulační reprodukčně izolační mechanismus (RIM). Na zodpovězení této otázky bude zapotřebí nových etologických pokusů, umožňujících přímý kontakt a tedy páření, jakož i nových hybridizačních experimentů. Dosavadní výsledky pokusů odchovat hybridní potomstvo mezi *A. cahirinus* a *A. dimidiatus* byly převážně negativní. Podle Frynty & Sádlové (1998) a Holečkové (2000) nedochází k úspěšnému odchovu těchto dvou linií. Jordan (2000) však uvádí existenci sterilních hybridů mezi komezálí tmavou formou populace *A. cahirinus* z Káhiry a velkou světlou formou označovanou jako *A. dimidiatus megalodus* z Gízy. Posledně jmenovanou formu však dosud nikdo molekulárně nestudoval, a tak není v nejmenším jisté, že skutečně patří do kladu *dimidiatus*. Podle molekulárních studií je známo, že linie asijská (*dimidiatus*) a africko-mediteránní (*cahirinus-cilicicus-nesiotes-minous*) si jsou blízkce příbuzné, leč jasně



odlišené (Barome et al. 1998, 2000, 2001a, 2001b, vlastní poznatky). Uvnitř afro-mediterránní skupiny silná prekopulační izolace zjevně neexistuje (Frynta & Sádlová 1998, Holečková 2000). Výsledky této práce měly odpovědět na otázku, zda již došlo k vytvoření reprodukčních bariér mezi touto a asijskou linií.

## 7 Závěr

Výsledky této práce lze shrnout do několika bodů:

- Rozšíření druhu *A. cahirinus* zahrnuje většinu centrálního Saharského regionu.
- Bylo potvrzeno, že druh *A. cahirinus* žijící v severní Africe má parafyletické postavení vzhledem k druhům rodu *Acomys*, pocházejícím ze severních středomořských ostrovů a pobřeží Turecka (*A. nesiotis*, *A. minous* a *A. cilicicus*).
- Africká *A. cahirinus* a asijská *A. dimidiatus* jsou výrazně geneticky rozdílné a patrně se jedná o dobré druhy.
- Na základě zjištěných genetických vzdáleností uvnitř Asijského kladu, můžeme říci, že tato linie není pravděpodobně zastoupena pouze druhem *A. dimidiatus*. Haplotypy z Íránu a Arabských Emirátů, jakož i haplotypy z Jemenu jsou jen vzdáleně příbuzné s haplotypy pocházejícími ze Sinaje a Jordánska a jejich nositelé mohou patřit k samostatným druhům (poddruhům).
- V severní Keni se nacházejí tři různé druhy obývající oblast v okruhu do 200 km. Identita těchto druhů s některou z dosud známých forem studovaných jinými autory pomocí molekulárních metod nebyla prokázána.
- Bylo potvrzeno, že tmavá forma *A. lewisi* a světlá forma *A. russatus* tvoří podle sekvencí MCR monofyletickou skupinu a jde patrně o jediný druh.
- Na základě etologických pokusů se nedá s jistotou určit, zda se již vyvinuly efektivní prekopulační RIM mezi skupinou *cahirinus-dimidiatus*. Pravděpodobně dochází k druhovému rozpoznávání s preferencí sexuálních partnerů (samců) téhož druhu.

## 8 Literatura

1. Agren G. 1984. Incest avoidance and bonding between siblings in gerbils. *Behavioral Ecology & Sociobiology* **14**: 161-169.
2. Agulnik S. I. & Silver L. M. 1996. The Cairo spiny mouse *Acomys cahirinus* shows a strong affinity to the Mongolian gerbil *Meriones unguiculatus*. *Molecular Biology and Evolution* **13**(1): 3-6.
3. Anderson S. C. 1999. The Lizards of Iran. In: Adler K. & Perry T. D. (eds). *Society for the Study of Amphibians and Reptiles*. New York: Ithaca.
4. Andres S. L. & Deni R. 1982. Social and individual behavior of female spiny mice (*Acomys cahirinus*) paired with sexually experienced and inexperienced males. *Bulletin of the Psychonomic Society* **19**(5): 311-314.
5. Atallah S. I. 1967. A new species of spiny mouse (*Acomys*) from Jordan. *Journal of Mammalogy* **48** (2): 258-262.
6. Barome P.-O., Lymberakis P., Monnerot M. & Gautun J.-C. 2001a. Cytochrome *b* sequences reveal *Acomys minous* (Rodentia, Muridae) paraphyly and answer the question about the ancestral karyotype of *Acomys dimidiatus*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **18**(1): 37-46.
7. Barome P.-O., Monnerot M. & Gautun J.-C. 1998. Intrageneric phylogeny of *Acomys* (Rodentia, Muridae) using mitochondrial gene cytochrome *b*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **9**(3): 560-566.
8. Barome P.-O., Monnerot M. & Gautun J.-C. 2000. Phylogeny of the genus *Acomys* (Rodentia, Muridae) based on the cytochrome *b* mitochondrial gene: implications on taxonomy and phylogeography. *Mammalia* **64**(4): 423-438.
9. Barome P.-O., Volobouev V., Monnerot M., Mfunne J. K., Chitaukali W., Gautun J.-C. & Denys Ch. 2001b. Phylogeny of *Acomys spinosissimus* (Rodentia, Muridae) from north Malawi and Tanzania: evidence from morphological and molecular analysis. *Biological Journal of the Linnean Society* **73**: 321-340.
10. Bates P. J. J. 1994. The distribution of *Acomys* (Rodentia: Muridae) in Africa and Asia. *Israel Journal of Zoology* **40**: 199-214.
11. Bellinvia E. 2004. A phylogenetic study of the genus *Apodemus* by sequencing the mitochondrial DNA control region. *Journal of Zoological Systematic Evolution Research* **42**: 289-297.

12. Benkovičová K. 2006. Morfológické a behaviorálne znaky komenzálnej populácie *Acomys cahirinus* z Egypta (Rodentia: Muridae). Magisterská diplomová práce, UK PŕF Praha, 154 stran.
13. Bobrov V. V. & Neronov V. M. 1998. On boundary between the palaeartic and indomalayan faunal realms in India and Pakistan (from data on distribution of Rodentia). *Zoologicheskij Zhurnal* **77**: 1162-1167.
14. Bolhuis J. J., Strijkstra A. M., Moor E. & Van Der Lende K. 1988. Preferences for Odours of Conspecific Non-siblings in the Common Vole, *Microtus Arvalis*. *Animal Behaviour* **36**: 1551-1553.
15. Boyd S. K. & Blaustein A. R. 1985. Familiarity and inbreeding avoidance in the gray-tailed vole (*Microtus canicaudus*). *Journal of Mammalogy* **66**: 348-352.
16. Broza M. & Nevo E. 1994. Selective land snail predation by the spiny mouse *Acomys cahirinus*, in Nahal Oren, Mt. Camel Israel. *Israel Journal of Zoology* **40**: 173-176.
17. Brunjes P. C. 1990. The precocial mouse, *Acomys cahirinus*. *Psychobiology* **18**(3): 339-350.
18. Busquet N. & Baudoin C. 2005. Odour similarities as a basis for discriminating degrees of kinship in rodents: evidence from *Mus spicilegus*. *Animal Behaviour* **70**: 997-1002.
19. Carere C., Casetti R., de Acetis L., Parretta G., Cirulli F. & Alleva E. 1999. Behavioural and nociceptive response in male and female spiny mice (*Acomys cahirinus*) upon exposure to snake odour. *Behavioural Processes* **47**:1-10.
20. Charvátová V. 2005. Poměr pohlaví a velikost vrhu u myši sinajské (*Acomys dimidiatus*). Bakalářská práce. JčU BF České Budějovice, 25 stran.
21. Chenna R., Sugawara H., Koike T., Lopet R., Gibson T. J., Higgins D. G. & Thompson J. D. 2003. Multiple sequence alignment with the Clustal series of programs. *Nucleic Acids Research* **31**: 3497-3500.
22. Chernova O. F. & Kuznetsov G. V. 2001. Structural features of spines in some rodents (Rodentia: Myomorpha, Hystricomorpha). *Biology Bulletin* **28**: 371-382.
23. Chevret P. & Dobigny G. 2005. Systematics and evolution of the subfamily Gerbillinae (Mammalia, Rodentia, Muridae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **35**: 674-688.
24. Chevret P. & Hänni C. 1994. Systematics of the spiny mouse (*Acomys*: Muroidea): Molecular and biochemical evidence. *Israel Journal of Zoology* **40**: 247-254.
25. Chevret P., Denys C., Jaeger J.-J., Michaux J. & Catzefelis F. M. 1993. Molecular evidence that the spiny mouse (*Acomys*) is more closely related to gerbils (Gerbillinae)

- than to true mice (Murinae). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **90**: 3433-3436.
26. Chromas 2.01. <http://www.technelysium.com.au/chromas.html>.
27. Clark M. M., Whiskin E. E. & Galef B. G., Jr. 2003. Mongolian gerbil fathers avoid newborn male pups, but not newborn female pups: olfactory control of early paternal behaviour. *Animal Behaviour* **66**: 441-447.
28. Cohen R. & Kronfeld-Schor N. 2006. Individual variability and photic entrainment of circadian rhythms in golden spiny mice. *Physiology & Behavior* **87**: 563-574.
29. Degen A. A. & Kam M. 1992. Water intake in two coexisting desert rodents, *Acomys cahirinus* and *Gerbillus dasyurus*. *Journal of Mammalogy* **73**(1): 201-205.
30. Degen A. A. 1994. Field metabolic rates of *Acomys russatus* and *Acomys cahirinus*, and a comparison with other rodents. *Israel Journal of Zoology* **40**: 127-134.
31. Degen A. A., Kam M., Hazan A. & Nagy K. A. 1986. Energy expenditure and water flux in three sympatric desert rodents. *Journal of Animal Ecology* **55**: 421-429.
32. Demas G. E., El-Bakry H. A., Mintz E. M., Zarhan W. M. & Bartness T. J. 2001. Wheel-running activity patterns of five species of desert rodents. *Biological Rhythm Research* **32**: 1-16.
33. Dempster E. R., Perrin M. R. & Nuttall R. J. 1992. Postnatal development of three sympatric small mammal species of southern Africa. *Zeitschrift für Säugetierkunde* **57**: 103-111.
34. Deni R., Wilson S. & Reisert D. 1983. The approach and proximity behavior of spiny mouse pups (*Acomys cahirinus*) toward strange neonates: effects of gender and species of stimulus pup. *Bulletin of the Psychonomic Society* **21**: 239-242.
35. Denys C. 1999. Of mice and men evolution in East and South Africa during Plio-Pleistocene times. In: Bromage TG, Schrenk F. (eds). *African biogeography, climate change and human evolution*. Oxford: Oxford University Press. 226-252.
36. Denys C., Gautun J.-C., Tranier M. & Volobouev V. 1994. Evolution of the genus *Acomys* (Rodentia, Muridae) from dental and chromosomal patterns. Israel. *Israel Journal of Zoology* **40**: 215-246.
37. Denys C., Michaux J., Petter F., Aguilar J. P. & Jaeger J. J. 1992. Molar morphology as a clue to the phylogenetic relationship of *Acomys* to the Murinae. *Israel Journal of Zoology* **38**: 253-262.

38. Dewsbury D. A. & Hodges A. W. 1987. Copulatory behavior and related phenomena in spiny mice (*Acomys cahirinus*) and hopping mice (*Notomys alexis*). *Journal of Mammalogy* **68**(1): 49-57.
39. Dickinson H., Walker D. W., Wintour E. M. & Moritz K. 2007. Maternal dexamethasone treatment at midgestation reduces nephron number and alters renal gene expression in the fetal spiny mouse. *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* **292**: 453-461.
40. Dieterlen F. 1962. Geburt und Geburtschilfe bei der Stachelmaus (*Acomys cahirinus*). *Zeitschrift für Tierpsychologie* **19**: 191-222.
41. Dieterlen F. 1963. Vergleichende Untersuchungen zur Ontogenese von Stachelmaus (*Acomys*) und Wanderratte (*Rattus norvegicus*) Beiträge zum Nesthocker-Nestflüchter-Problem bei Nagetieren. *Zeitschrift für Säugetierkunde* **28**: 193-227.
42. Drickamer L. C. 2001. Urine marking and social dominance in male house mice (*Mus musculus domesticus*). *Behavioural Processes* **53**: 113-120.
43. Dubois J.-Y. F., Catzeflis F. M. & Beintema J. J. 1999. The phylogenetic position of “Acomyinae” (Rodentia, Mammalia) as sister group of a Murinae + Gerbillinae clade: evidence from the nuclear ribonuclease gene. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **13**(1): 181-192.
44. Ducroz J.F., Volobouev V. & Granjon, L. 2001. An assessment of the systematics of arvicanthine rodents using mitochondrial DNA sequences: evolutionary and biogeographical implications. *Journal of Mammalian Evolution* **8**: 173-206.
45. Edut S. & Eilam D. 2003. Rodents in open space adjust their behavioral response to the different risk levels during barn-owl attack. *BMC Ecology* **3**: 10-26.
46. Ehrhardt N., Heldmaier G. & Exner C. 2005. Adaptive mechanisms during food restriction in *Acomys russatus*: the use of torpor for desert survival. *Journal of Comparative Psychology B* **175**: 193-200.
47. Eilam D. 2004. Locomotor activity in common spiny mice (*Acomys cahirinus*): The effect of light and environmental complexity. *BioMed Central Ecology* **4**: 16-41.
48. Eilam D., Dayan T., Ben-Eliyahu S., Schulman I., Shafer G. & Hendrie C. A. 1999. Differential behavioural and hormonal responses of voles and spiny mice to owl calls. *Animal Behaviour* **58**: 1085-1093.
49. El-Bakry H. A., Zahran W. M. & Bartness T. J. 1998. Photoperiodic responses of four wild-trapped desert rodent species. *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* **275**: 2012-2022.

50. El-Haddad M., Millar J. S. & Xia X. 1988. Offspring recognition by male *Peromyscus maniculatus*. *Journal of Mammalogy* **69**: 811-813.
51. Elvert R., Kronfeld N., Dayan T., Haim A., Zisapel N. & Heldmaier G. 1999. Telemetric field studies of body temperature and activity rhythms of *Acomys russatus* and *A. cahirinus* in the Judean Desert of Israel. *Oecologia* **119**: 484-492.
52. Elwood R. W. & Broom J. M. 1978. The influence of litter size and parental behaviour on the development of Mongolian gerbil pups. *Animal Behaviour* **26**: 438-54.
53. Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogeny: an approach using the bootstrap. *Evolution* **39**: 783-789.
54. Ferkin M. H. & Johnston R. E. 1993. Roles of gonadal hormones in control of five sexual attractive odors of meadow voles (*Microtus pennsylvanicus*). *Hormones & Behavior* **27**: 523-538.
55. Ferkin M. H. & Johnston R. E. 1995a. Meadow voles, *Microtus pennsylvanicus*, use multiple sources of scent for sex recognition. *Animal Behaviour* **49**: 37-44.
56. Ferkin M. H. & Johnston R. E. 1995b. Effects of pregnancy, lactation and postpartum oestrus on odour signals and the attraction to odours in female meadow voles, *Microtus pennsylvanicus*. *Animal Behaviour* **49**: 1211-1217.
57. Fragedakis-Tsolis S. E., Chondropoulos B. P. & Nikolettopoulos N. P. 1993. On the phylogeny of the genus *Acomys* (Mammalia: Rodentia). *Zeitschrift für Säugetierkunde* **58**: 240-243.
58. Friedman D., Haim A. & Zisapel N. 1997. Temporal segregation in coexisting spiny mice (genus *Acomys*): role of photoperiod and heterospecific odor. *Physiology & Behavior* **62**: 407-411.
59. Frynta D. & Sádlová J. 1998. Hybridisation experiments in spiny-mice from the Eastern Mediterranean: systematic position of *Acomys cilicicus* revisited. *Zeitschrift für Säugetierkunde* **63** (Supplementum): 18.
60. Frynta D., Exnerová A. & Čiháková J. 1995. Odour-based discrimination among populations of Striped field mice (*Apodemus agrarius*). *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae* **59**: 41-52.
61. Graur D. 1994. Molecular evidence concerning the phylogenetic integrity of the Murinae. *Israel Journal of Zoology* **40**: 255-264.
62. Gutman R. & Dayan T. 2005. Temporal partitioning: an experiment with two species of spiny mice. *Ecology* **86**: 164-173.

63. Gutman R., Choshniak I. & Kronfeld-Schor N. 2006. Defending body mass during food restriction in *Acomys russatus*: a desert rodent that does not store food. *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* **290**: 881-891.
64. Gutman R., Yosha D., Choshniak I. & Dronfeld-Schor N. 2007. Two strategies for coping with food shortage in desert golden spiny mice. *Physiology & Behavior* **90**: 95-102.
65. Haim A. & Rozenfeld F. M. 1993. Temporal segregation in coexisting *Acomys* species: the role of odour. *Physiology & Behavior* **54**: 1159-1161.
66. Haim A. & Zisapel N. 1999. Daily rhythms of nonshivering thermogenesis in common spiny mice *Acomys cahirinus* under short and long photoperiods. *Journal of Thermal Biology* **24**: 455-459.
67. Haim A., Alma A. & Neuman A. 2006. Body mass is a thermoregulatory adaptation of diurnal rodents to the desert environment. *Journal of Thermal Biology* **31**: 168-171.
68. Haim A., Yedidia I., Haim D. & Zisapel N. 1994. Photoperiodicity in daily rhythms of body temperature, food and energy intake of the golden spiny mouse (*Acomys russatus*). *Israel Journal of Zoology* **40**: 145-150.
69. Hall T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp. Series* **41**: 95-98.
70. Hänni C., Laudet V., Barriel V. & Catzeflis F. M. 1995. Evolutionary relationships of *Acomys* and other murids (Rodentia, Mammalia) based on complete 12S rRNA mitochondrial gene sequences. *Israel Journal of Zoology* **41**: 131-146.
71. Harrison D. L. & Bates P. J. J. 1991. *The Mammals of Arabia*. Sevenoaks, Kent: Harrison Zoological Museum, pp 354.
72. Hawkins L. K. & Cranford J. A. 1992. Long-term effects of intraspecific and interspecific cross-fostering on two species of *Peromyscus*. *Journal of Mammalogy* **73**: 802-807.
73. Heffner R. S., Koay G. & Heffner H. E. 2001. Audiograms of five species of rodents: implications for the evolution of hearing and the perception of pitch. *Hearing Research* **157**: 138-152.
74. Hendrie C. A., Weiss S. M. & Eilam D. 1998. Behavioural response of wild rodents to the calls of an owl: a comparative study. *Journal of Zoology* **245**: 439-446.
75. Heth G., Todrank J. & Johnston R. E. 1998. Kin recognition in golden hamsters: evidence for phenotype matching. *Animal Behaviour* **56**: 409-417.



76. Heth G., Todrank J., Busquet N. & Baudoin C. 2003. Genetic relatedness assessment through individual odour similarities in mice. *Biological Journal of the Linnean Society* **78**: 595-603.
77. Holečková D. 2000. Umělá hybridizace *Acomys cilicicus* s egyptskými formami *Acomys cahirinus*. Diplomová práce, PřF UK Praha, 68 stran.
78. Holmes W. G. 1986. Kin recognition by phenotype matching in female Belding's ground squirrels. *Animal Behaviour* **34**: 38-47.
79. Honacki J. H., Kinman K. E. & Koepl J. W. 1982. *Mammal species of the world*. New York: Allen Press.
80. Horowitz M. & Borut A. 1994. The spiny mouse (*Acomys cahirinus*) – a rodent prototype for studying plasma volume regulation during thermal dehydration. *Israel Journal of Zoology* **40**: 117-125.
81. Janecek L. J., Schlitter A. & Rautenbach I. L. 1991. A genic comparison of spiny mice, genus *Acomys*. *Journal of Mammalogy* **72**(3): 542-552.
82. Jansa S. A. & Weksler M. 2004. Phylogeny of murid rodents: relationships within and among major lineages as determined by IRBP gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **31**: 256-276.
83. Janus CH. 1988. The development of responses to naturally occurring odours in spiny mice *Acomys cahirinus*. *Animal Behaviour* **36**: 1400-1406.
84. Johnston R. E. 2003. Chemical communication in rodents: from pheromones to individual recognition. *Journal of Mammalogy* **84**: 1141-1162.
85. Jones M. & Dayan T. 2000. Foraging behavior and microhabitat use by spiny mice, *Acomys cahirinus* and *A. russatus*, in the presence of blanford's fox (*Vulpes cana*) odor. *Journal of Chemical Ecology* **26**: 455-469.
86. Jones M., Mandelik Y. & Dayan T. 2001. Coexistence of temporally partitioned spiny mice: roles of habitat structure and foraging behavior. *Ecology* **82**: 2164-2176.
87. Jordan M. J. R. 2000. Hybridisation research into the specific status of Egyptian spiny mouse (*Acomys cahirinus*) and Arabian spiny mouse (*Acomys dimidiatus*). *Federation Research Newsletter*. The Federation of Zoological Gardens of Great Britain and Ireland. Paignton. **4** (Supplementum): 1.
88. Kam M. & Degen A. A. 1993. Effect of dietary preformed water on energy and water budgets of two sympatric desert rodents, *Acomys russatus* and *Acomys cahirinus*. *Journal of Zoology* **231**: 51-59.

89. Kareem A. M. & Barnard C. J. 1982. The importance of kinship and familiarity in social interactions between mice. *Animal Behaviour* **30**: 594-601.
90. Kareem A. M. 1983. Effect of increasing periods of familiarity on social interactions between male sibling mice. *Animal Behaviour* **31**: 919-926.
91. Kimura M. 1980. A simple model for estimating evolutionary rates of base substitution through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* **16**: 111-120.
92. Kivanc E., Sözen M., Colak E. & Yigit N. 1997. Karyological and phallic aspects of the spiny mouse *Acomys cilicicus* Spitzenberger, 1978 (Rodentia: Muridae) in Turkey. *Tropical Journal of Zoology* **21**:167-169.
93. Kotenkova E. V., Osadchuk A. V. & Lyalyukhina S. I. 1989. Precopulatory isolating mechanisms between the house and mound-building mouse. *Acta Theriologica* **34**: 315-324.
94. Krasnov B. R., Morand S., Hawlena H., Khokhlova I. S. & Shenbrot G. I. 2005. Sex-biased parasitism, seasonality and sexual size dimorphism in desert rodents. *Oecologia* **146**: 209-217.
95. Kronfeld-Schor N. & Dayan T. 1999. The dietary basis for temporal partitioning: food habits of coexisting *Acomys* species. *Oecologia* **121**: 123-128.
96. Kronfeld-Schor N., Haim A., Dayan T., Zisapel N., Klingenspor M. & Heldmaier G. 2000. Seasonal thermogenic acclimation of diurnally and nocturnally active desert spiny mice. *Physiological & Biochemical Zoology* **73**: 37-44.
97. Kumar S., Tamura K. & Nei M. 2004. Mega 3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* **5**: 150-163.
98. Kunze B., Dieterlen F., Traut W. & Winking H. 1999. Karyotype relationship among four species of spiny mice (*Acomys*, Rodentia). *Zeitschrift für Säugetierkunde* **64**: 220-229.
99. Lambin X. & Mathers C. 1997. Dissipation of kin discrimination in Orkney voles, *Microtus arvalis orcadensis*: a laboratory study. *Annales Zoologici Fennici* **34**: 23-30.
100. Larget B. & Simon D.L. 1999. Markov chain Monte Carlo algorithms for the Bayesian analysis of phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* **16**: 750-759.

101. Larizza A., Pesole G., Reyes A., Sbisá E. & Saccone C. 2002. Lineage specificity of the evolutionary dynamics of the mtDNA D-loop region in Rodents. *Journal of Molecular Evolution* **54**: 145-155.
102. Macholán M., Zima J., Červená A. & Červený J. 1995. Karyotype of *Acomys cilicicus* Spitzenberger, 1978 (Rodentia: Muridae). *Mammalia* **59**(3): 397-402.
103. Makin J. W. & Porter R. H. 1984. Paternal behavior in the spiny mouse (*Acomys cahirinus*). *Behavioral and Neural Biology* **41**: 135-151.
104. Mandelik Y., Jones M. E. & Dayan T. 1999. The effect of moonlight on foraging behavior and habitat use of the common spiny mouse, *Acomys cahirinus*. *Israel Journal of Zoology* **45**: 314-315.
105. Martin Y., Gerlach G., Schlötterer Ch. & Meyer A. 2000. Molecular phylogeny of European muroid rodents based on complete cytochrome *b* sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **16**(1): 37-47.
106. Mateo J. M. 2003. Kin recognition in ground squirrels and other rodents. *Journal of Mammalogy* **84**: 1163-1181.
107. Matthey R. 1968. Cytogénétique et Taxonomie du genre *Acomys* – *A. percivali* Dollmann et *A. wilsoni* Thomas, espèces d'Abyssinie. *Mammalia* **32**: 621-627.
108. McFadyen-Ketchum S. A. & Porter R. H. 1989. Transimission of food preferences in spiny mice (*Acomys cahirinus*) via nose-mouth interaction between mothers and weanlings. *Behavioral Ecology & Sociobiology* **24**: 59-62.
109. Merkt J. R. & Taylor C. R. 1994. „Metabolic switch“ for desert survival. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **91**: 12313-12316.
110. Michaux J. & Catzeflis F. 2000. The bushlike radiation of muroid rodents is exemplified by the molecular phylogeny of the LCAT nuclear gene. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **17**(2): 280-293.
111. Michaux J., Reyes A. & Catzeflis F. 2001. Evolutionary history of the most speciose mammals: molecular phylogeny of muroid rodents. *Molecular Biology and Evolution* **18**(11): 2017-2031.
112. Neal B. R. 1983. The breeding pattern of two species of spiny mice, *Acomys percivali* and *A. wilsoni* (Muridae: Rodentia), in central Kenya. *Mammalia* **47**(3): 311-321.
113. Neal B. R. 1984. Seasonal feeding habits of small mammals in Kenya. *Zeitschrift für Säugetierkunde* **49**: 226-234.

114. Nevo E. 1985. Genetic differentiation and speciation in spiny mice, *Acomys*. *Acta Zoologica Fennica* **170**: 131-136.
115. Nicholas K. B. & Nicholas H. B., Jr 1997: GENEDOC: a tool for editing and annotating multiple sequence alignments, 2.5.000 edn. Distributed by the authors.
116. Nováková M. 2005. Sekundární poměr pohlaví u myši bodlinaté (*Acomys cahirinus*) v laboratorních podmínkách. Diplomová práce, PŘF UK Praha, 69 stran.
117. Nowak R. M. (ed.) 1999. *Walker's mammals of the world vol. 2*. Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press, pp. 1590-1592.
118. Osborn D. J. & Helmy I. 1980. The contemporary land mammals of Egypt (including Sinai). No. 5 *Fieldiana Zoology*. Published by Field Museum of Natural History. Pp 285-309.
119. Page R. D. M. 1996. TreeView: an application to display phylogenetic trees on personal computers. *Comparative and Applications in the Biosciences* **12**: 357-358.
120. Pascale E., Valle E. & Furano A. V. 1990. Amplification of an ancestral mammalian L1 family of long interspersed repeated DNA occurred just before the murine radiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **87**: 9481-9485.
121. Paz y Miño G. C. & Tang-Martínez Z. 1999. Effects of exposures to siblings or sibling odors on sibling recognition in prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Canadian Journal of Zoology* **77**: 118-123.
122. Peitz B. 1981. The oestrous cycle of spiny mouse (*Acomys cahirinus*). *Journal of Reproduction and Fertility* **61**: 453-459.
123. Penn D., Schneider G., White K., Slev P. & Potts W. 1998. Influenza infection neutralizes the attractiveness of male odour to female mice (*Mus musculus*). *Ethology* **104**: 685-694.
124. Pennello A., Taylor J., Matlack R., Karp J. & Riggs J. 2006. Spiny mice (*Acomys cahirinus*) do not respond to thymus-independent type 2 antigens. *Developmental and Comparative Immunology* **30**: 1181-1190.
125. Perrin M. R. & Downs C. T. 1994. Comparative aspects of the thermal biology of the cape spiny mouse, *Acomys subspinosus*, and the common spiny mouse, *A. spinosissimus*. *Israel Journal of Zoology* **40**: 151-160.
126. Pinter-Wollman N., Dayan T., Eilam D. & Kronferd-Schor N. 2006. Can aggression be the force driving temporal separation between competing common and golden spiny mice? *Journal of Mammalogy* **87**: 48-53.

127. Porter R. H. & Doane H. M. 1979. Responses of spiny mouse weanlings to conspecific chemical cues. *Physiology & Behavior* **23**: 75-78.
128. Porter R. H., Tepper V. J., Baumeister A. A., Cernoch J. M. & Matochik J. A. 1982. Interactions among unfamiliar spiny mouse (*Acomys cahirinus*) weanlings. *Behavioral and Neural Biology* **34**: 190-200.
129. Porter R. H. & Ruttle K. 1975. The responses of one-day old *Acomys cahirinus* pups to naturally occurring chemical stimuli. *Zeitschrift für Tierpsychologie* **38**:154-162.
130. Porter R. H. & Wirick M. 1979. Sibling recognition in spiny mice (*Acomys cahirinus*): influence of age and isolation. *Animal Behaviour* **27**: 761-766.
131. Porter R. H. 1976. Sex-differences in the agonistic behavior of spiny-mice (*Acomys cahirinus*). *Zeitschrift für Tierpsychologie* **40**: 100-108.
132. Porter R. H. 1986. Chemical signals and kin recognition in spiny mice (*Acomys cahirinus*). In: Chemical signals in Vertebrates 4 (Eds. by D. Duvall, D. Muller-Schwarze and R. M. Silverstein). New York: Plenum Press, pp. 397-411.
133. Porter R. H. 1988. The ontogeny of sibling recognition in rodents: superfamily Muroidea. *Behavior Genetics* **18**: 483-494.
134. Porter R. H., Cavallaro S. A. & Moore J. D. 1980. Developmental parameters of mother-offspring interactions in *Acomys cahirinus*. *Zeitschrift für Tierpsychologie* **53**: 153-170.
135. Porter R. H., Doane H. M. & Cavallaro S. A. 1978a. Temporal parameters of responsiveness to maternal pheromone in *Acomys cahirinus*. *Physiology & Behavior* **21**: 563-566.
136. Porter R. H., Makin J. W. & Matochik J. A. 1986. Physical and behavioral sequelae of low birthweight in spiny mice (*Acomys cahirinus*). *Developmental Psychobiology* **19**(5): 463-472.
137. Porter R. H., Matochik J. A. & Makin J. W. 1983. Evidence for phenotype matching in spiny mice (*Acomys cahirinus*). *Animal Behaviour* **31**: 978-984.
138. Porter R. H., Matochik J. A. & Makin J. W. 1984. The role of familiarity in the development of social preferences in spiny mice. *Behavioural Processes* **9**: 241-254.
139. Porter R. H., McFadyen-Ketchum S. & King G. A. 1989. Underlying bases of recognition signatures in spiny mice, *Acomys cahirinus*. *Animal Behaviour* **37**: 638-644.

140. Porter R. H., Tepper V. J. & White D. M. 1981. Experiential influences on the development of huddling preferences and “sibling” recognition in spiny mice. *Developmental Psychobiology* **14**(4): 375-382.
141. Porter R. H., Wyrick M. & Pankey J. 1978b. Sibling recognition in spiny mice (*Acomys cahirinus*). *Behavioral Ecology & Sociobiology* **3**: 61-68.
142. Posada D. & Crandall K. A. 1998. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* **14**: 817-818.
143. Pugh S. R. & Tamarin R. H. 1988. Inbreeding in a population of meadow voles, *Microtus pennsylvanicus*. *Canadian Journal of Zoology* **66**: 1831-1834.
144. Ronquist F. & Huelsenbeck J. P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* **19**: 1572-1574.
145. Saitou N. & Nei M. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* **4**: 406-425.
146. Sambrook J., Fritsch E. F. & Maniatis T. 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual. Second edition*. Cold Spring Harbor: Laboratory Press.
147. Sarich V. M. 1985. Rodent macromolecular systematics. Pp. 423-452. In: Lockett W. P. & Hartenberger J.-L. (eds), *Evolutionary relationships among rodents, a multidisciplinary analysis*. New York: Plenum Press.
148. Sbisá E., Tanzariello F., Reyes A., Pesole G. & Saccone C. 1997. Mammalian mitochondrial D-loop region structural analysis: identification of new conserved sequences and their functional and evolutionary implications. *Gene* **205**: 125-140.
149. Scantlebury M., Shanas U., Kupshtein H., Afik D. & Haim A. 2003. Non-shivering thermogenesis in common spiny mice *Acomys cahirinus* from adjacent habitats: response to seasonal acclimatization and salinity acclimation. *Journal of Thermal Biology* **28**: 287-293.
150. Scantlebury M., Shanas U., Kupshtein H., Speakman J. R. & Haim A. 2004. Differential energy costs of winter acclimatized common spiny mice *Acomys cahirinus* from two adjacent habitats. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* **137**: 419-423.
151. Shanas U., Afik D., Scantlebury M. & Haim A. 2002. The effects of season and dietary salt content on body temperature daily rhythms of common spiny mice from different micro-habitats. *Comparative Biochemistry and Physiology, part A* **132**: 287-295.

152. Shargal E., Kronfeld-Schor N. & Dayan T. 2000. Population biology and spatial relationships of coexisting spiny mice (*Acomys*) in Israel. *Journal of Mammalogy* **81**(4): 1046-1052.
153. Shargal E., Kronfeld-Schor N. & Dayan T. 1999. Ecological and histological aspects of tail loss in spiny mice (Rodentia: Muridae, *Acomys*) with a review of its occurrence in rodents. *Journal of Zoology* **249**: 187-193.
154. Sicard B. & Fuminier F. 1996. Environmental cues and seasonal breeding patterns in Sahelian rodents. *Mammalia* **60**(4): 667-675.
155. Sicard B. & Tranier M. 1996. Caractères et répartition de trois phénotypes d'*Acomys* (Rodentia, Muridae) au Burkina Faso. *Mammalia* **60**:53-68.
156. Skolnick A. J., Goldman M. & Tobach E. 1992. Approaches of *Acomys cahirinus* to conspecifics of varying consanguinity. *The Psychological Record* **42**: 565-573.
157. Smith B. A. & Block M. L. 1991. Male saliva cues and female social choice in Mongolian gerbils. *Physiology & Behavior* **50**: 379-384.
158. Sokolov V. E., Orlov V. N., Baskevich M. I., Bekele A. & Mebrate A. 1993. A caryological study of the spiny mouse *Acomys* Geoffroy 1838 (Rodentia Muridae) along the Ethiopian Rift Valley. *Tropical Zoology* **6**: 227-235.
159. Statsoft Inc. (2001). STATISTICA (data analysis software system), version 6. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).
160. Steppan S. J., Adkins R. M. & Anderson J. 2004. Phylogeny and divergence-date estimates of rapid radiations in muroid rodents based on multiple nuclear genes. *Systematic Biologists* **53**(4): 533–553.
161. Swofford D. L. 2002 *PAUP\**. *Phylogenetic analysis using parsimony*. Version 4.0b10. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
162. Szjiarto K., Coffee R. J., Boyle C., Bailey D., Mulé M., Iacovone D. & Deni R. 1985. Postpartum social interactions in families of spiny mice (*Acomys cahirinus*) observed in a laboratory environment. *Bulletin of the Psychonomic Society* **23**(3): 253-255.
163. Thompson D. J., Gibson T. J., Plewniak F., Jeanmougin F. & Higgins D. G. 1997. The CLUSTALX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignments aided by quality analysis tool. *Nucleic Acids Research* **24**: 4876-4882.
164. Valsecchi P., Choleris E., Moles A., Guo C. & Mainardi M. 1996. Kinship and familiarity as factors affecting social transfer of food preferences in adult

- mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Journal of Comparative Psychology* **110**: 243-251.
165. Van der Straeten E. 1994. A species- and subject-coded bibliography of *Acomys* from Africa and the Middle East. *Israel Journal of Zoology* **40**: 265-289.
166. Vodičková I. 2000. Postnatální vývoj dvou druhů rodu *Acomys* z východního Středomoří. Bakalářská práce, JČU BF České Budějovice, 32 stran.
167. Volobouev V., Aniskin V. M., Lecompte E. & Ducroz J.-F. 2002. Patterns of karyotype evolution in complexes of sibling species within three genera of African murid rodents inferred from the comparison of cytogenetic and molecular data. *Cytogenetic and Genome Research* **96**: 261-275.
168. Volobouev V., Auffray J. C., Debat V., Denys C., Gautun J. C. & Tranier M. 2007. Species delimitation in the *Acomys cahirinus-dimidiatus* complex (Rodentia, Muridae) inferred from chromosomal and morphological analyses. *Biological Journal of the Linnean Society* **91**: 203-214.
169. Volobouev V., Gautun J.-C. & Tranier M. 1996a. Chromosome evolution in the genus *Acomys* (Rodentia, Muridae): Chromosome banding analysis of *Acomys cahirinus*. *Mammalia* **60**(2): 217-222.
170. Volobouev V., Gautun J.-C., Sicard B. & Tranier M. 1996b. The chromosome complement of *Acomys* sp. (Rodentia, Muridae) from Oursi, Burkina Faso - the ancestral karyotype of the *cahirinus-dimidiatus* group? *Chromosome Research* **4**: 526-530.
171. Vrba I. & Donát P. 1993. Activities version 2.1. Computer programme for behavioural studies.
172. Weissenberg S. & Shkolnik A. 1994. Metabolic rate and water economy in the desert and mediterranean populations of the common spiny mouse (*Acomys cahirinus*) in Israel. *Israel Journal of Zoology* **40**: 135-143.
173. Wilson D. E. & Reeder D. M. (ed.) 2005. *Mammal species of the world vol. 2*. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, pp. 1191-1210.
174. Young D. A. B. 1976. Breeding and fertility of the egyptian spiny mouse, *Acomys cahirinus*: Effect of different environments. *Laboratory Animals* **10**: 15-24.
175. Zima J., Macholán M., Piálek J., Slivková L. & Suchomelová E. 1999. Chromosomal banding pattern in the Cyprus spiny mouse, *Acomys nesiotis*. *Folia Zoologica* **48**(2): 149-152.



176. Zisapel N., Barnea E., Izhaki I., Anis Y. & Haim A. 1999. Daily scheduling of the golden spiny mouse under photoperiodic and social cues. *Journal of Experimental Zoology* **284**: 100-106.

## 9 Přílohy

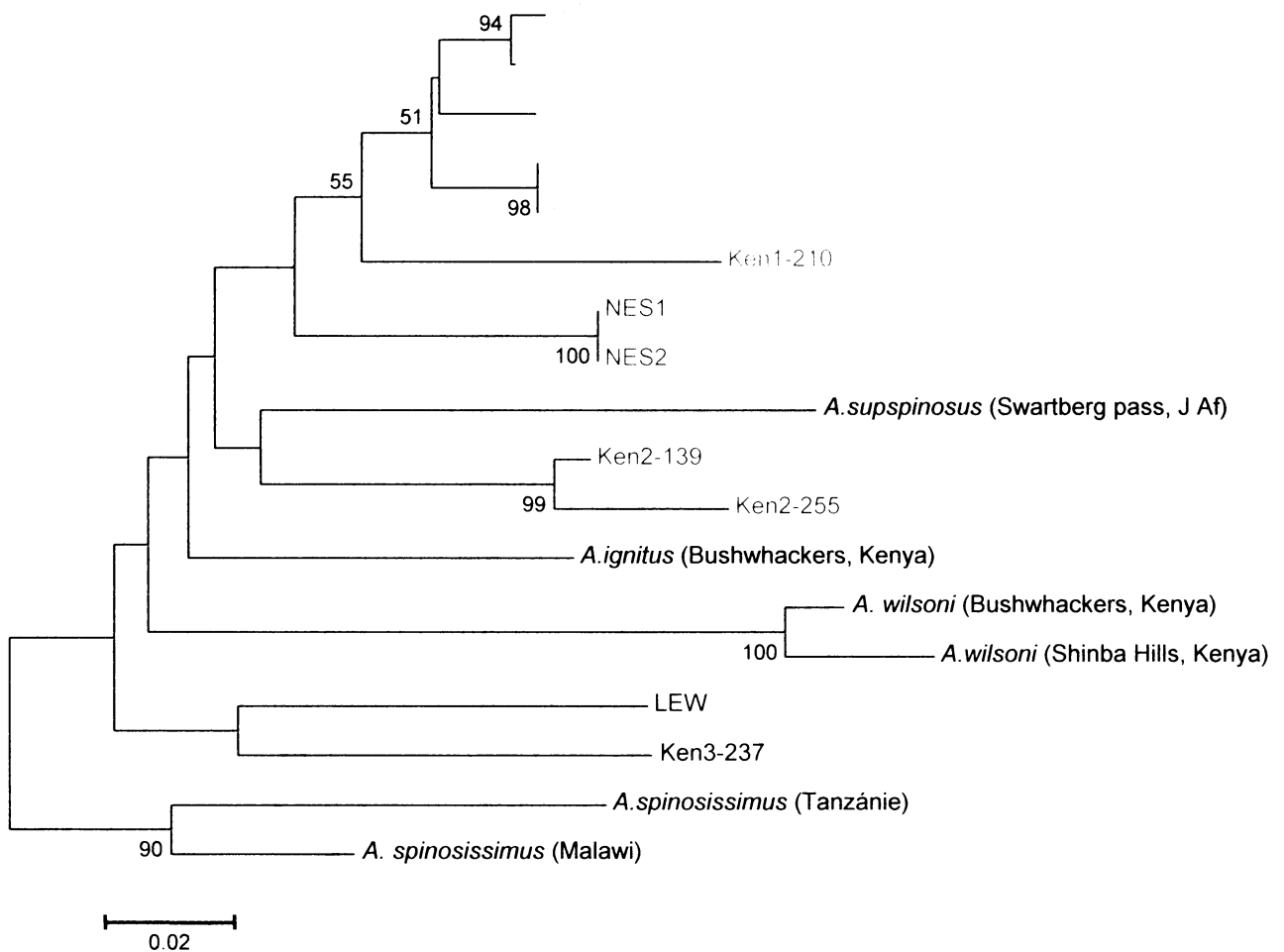
9.1 Příloha 1: Matice nekorigovaných getických vzdáleností (p distance) pro skupinu *cahirinus-dimidiatus*.

	SIN1	SIN2	JOR1	JOR2	BRONX	JOR4	JOR3	YEM1	YEM2	EMIR	IRA1	IRA2	IRA3	LIB	CHAD	CIL	MIN	SIM2	SIM1	NES1	NES2	CAIR	RUS1	LEW	RUS2
SIN1	0,000	0,012	0,009	0,008	0,008	0,007	0,010	0,051	0,051	0,052	0,048	0,047	0,048	0,070	0,068	0,069	0,070	0,069	0,073	0,065	0,067	0,069	0,140	0,137	0,138
SIN2	0,012	0,000	0,011	0,010	0,013	0,014	0,017	0,053	0,054	0,059	0,056	0,054	0,057	0,073	0,071	0,074	0,073	0,072	0,076	0,068	0,070	0,072	0,141	0,136	0,139
JOR1	0,009	0,011	0,000	0,009	0,013	0,011	0,014	0,051	0,051	0,053	0,049	0,048	0,049	0,069	0,067	0,068	0,069	0,066	0,070	0,066	0,068	0,070	0,138	0,138	0,135
JOR2	0,008	0,010	0,009	0,000	0,010	0,009	0,012	0,049	0,049	0,055	0,051	0,050	0,051	0,071	0,069	0,072	0,071	0,070	0,074	0,066	0,068	0,070	0,139	0,134	0,137
BRONX	0,008	0,013	0,013	0,010	0,000	0,008	0,011	0,052	0,052	0,055	0,053	0,050	0,053	0,069	0,067	0,070	0,069	0,068	0,072	0,064	0,066	0,068	0,141	0,136	0,139
JOR4	0,007	0,014	0,011	0,009	0,008	0,000	0,003	0,050	0,050	0,055	0,051	0,050	0,051	0,065	0,063	0,066	0,065	0,064	0,068	0,060	0,062	0,064	0,140	0,137	0,138
JOR3	0,010	0,017	0,014	0,012	0,011	0,003	0,000	0,053	0,053	0,056	0,052	0,051	0,052	0,068	0,066	0,069	0,068	0,067	0,071	0,063	0,065	0,067	0,143	0,140	0,141
YEM1	0,051	0,053	0,051	0,049	0,052	0,050	0,053	0,000	0,002	0,059	0,053	0,052	0,054	0,070	0,070	0,073	0,072	0,072	0,075	0,073	0,071	0,073	0,141	0,138	0,139
YEM2	0,051	0,054	0,051	0,049	0,052	0,050	0,053	0,002	0,000	0,059	0,053	0,052	0,054	0,070	0,070	0,073	0,072	0,072	0,075	0,073	0,071	0,073	0,141	0,138	0,139
EMIR	0,052	0,059	0,053	0,055	0,055	0,055	0,056	0,059	0,059	0,000	0,010	0,007	0,010	0,078	0,076	0,077	0,078	0,075	0,079	0,077	0,077	0,079	0,138	0,134	0,136
IRA1	0,048	0,056	0,049	0,051	0,053	0,051	0,052	0,053	0,053	0,010	0,000	0,003	0,002	0,080	0,078	0,079	0,080	0,077	0,079	0,077	0,077	0,081	0,135	0,131	0,133
IRA2	0,047	0,054	0,048	0,050	0,050	0,050	0,051	0,052	0,052	0,007	0,003	0,000	0,003	0,077	0,075	0,076	0,077	0,074	0,078	0,074	0,074	0,078	0,134	0,130	0,132
IRA3	0,048	0,057	0,049	0,051	0,053	0,051	0,052	0,054	0,054	0,010	0,002	0,003	0,000	0,080	0,078	0,079	0,080	0,077	0,079	0,077	0,077	0,081	0,136	0,132	0,134
LIB	0,070	0,073	0,069	0,071	0,069	0,065	0,068	0,070	0,070	0,078	0,080	0,077	0,080	0,000	0,004	0,008	0,006	0,008	0,009	0,019	0,017	0,017	0,136	0,135	0,136
CHAD	0,068	0,071	0,067	0,069	0,067	0,063	0,066	0,070	0,070	0,076	0,078	0,075	0,078	0,004	0,000	0,008	0,006	0,008	0,009	0,015	0,013	0,015	0,134	0,131	0,134
CIL	0,069	0,074	0,068	0,072	0,070	0,066	0,069	0,073	0,073	0,077	0,079	0,076	0,079	0,008	0,008	0,000	0,002	0,007	0,009	0,019	0,017	0,015	0,135	0,136	0,135
MIN	0,070	0,073	0,069	0,071	0,069	0,065	0,068	0,072	0,072	0,078	0,080	0,077	0,080	0,006	0,006	0,002	0,000	0,005	0,007	0,017	0,015	0,013	0,135	0,134	0,135
SIM2	0,069	0,072	0,066	0,070	0,068	0,064	0,067	0,072	0,072	0,075	0,077	0,074	0,077	0,008	0,008	0,007	0,005	0,000	0,002	0,018	0,016	0,016	0,135	0,135	0,134
SIM1	0,073	0,076	0,070	0,074	0,072	0,068	0,071	0,075	0,075	0,079	0,079	0,078	0,079	0,008	0,009	0,009	0,007	0,002	0,000	0,022	0,020	0,020	0,136	0,137	0,136
NES1	0,065	0,068	0,066	0,066	0,064	0,060	0,063	0,073	0,073	0,077	0,077	0,074	0,077	0,019	0,015	0,019	0,017	0,018	0,022	0,000	0,002	0,012	0,137	0,132	0,137
NES2	0,067	0,070	0,068	0,068	0,066	0,062	0,065	0,071	0,071	0,077	0,077	0,074	0,077	0,017	0,013	0,017	0,015	0,016	0,020	0,002	0,000	0,012	0,137	0,132	0,137
CAIR	0,069	0,072	0,070	0,070	0,068	0,064	0,067	0,073	0,073	0,079	0,081	0,078	0,081	0,017	0,015	0,015	0,013	0,016	0,020	0,012	0,012	0,000	0,140	0,137	0,140
RUS1	0,140	0,141	0,138	0,139	0,141	0,140	0,143	0,141	0,141	0,138	0,135	0,134	0,136	0,136	0,134	0,135	0,135	0,135	0,136	0,137	0,137	0,140	0,000	0,017	0,006
LEW	0,137	0,136	0,138	0,134	0,136	0,137	0,140	0,138	0,138	0,134	0,131	0,130	0,132	0,135	0,131	0,136	0,134	0,135	0,137	0,132	0,132	0,137	0,017	0,000	0,015
RUS2	0,138	0,139	0,135	0,137	0,139	0,138	0,141	0,139	0,139	0,136	0,133	0,132	0,134	0,136	0,134	0,135	0,135	0,134	0,136	0,137	0,137	0,140	0,006	0,015	0,000

**9.2 Příloha 2 - Matice nekorigovaných genetických vzdáleností (p-distance) pro alignment cyt**b**ND6. Žlutě vyznačené políčko značí p-distanci mezi Ken3 a LEW.**

	Ken2-139	Ken1-210	LEW	YEM2	YEM1	SIN2	Ken3-237	JOR4	NES1	IRA3	NES2	Ken2-255
Ken2-139	0,000											
Ken1-210	0,082	0,000										
LEW	0,127	0,143	0,000									
YEM2	0,088	0,079	0,159	0,000								
YEM1	0,087	0,079	0,158	0,004	0,000							
SIN2	0,089	0,074	0,140	0,045	0,043	0,000						
Ken3-237	0,126	0,133	0,141	0,147	0,146	0,131	0,000					
JOR4	0,089	0,074	0,143	0,045	0,043	0,004	0,135	0,000				
NES1	0,074	0,091	0,134	0,066	0,068	0,062	0,144	0,062	0,000			
IRA3	0,091	0,079	0,153	0,040	0,040	0,042	0,146	0,042	0,068	0,000		
NES2	0,072	0,089	0,132	0,066	0,066	0,060	0,142	0,060	0,002	0,066	0,000	
Ken2-255	0,017	0,096	0,134	0,104	0,104	0,102	0,144	0,102	0,083	0,104	0,081	0,000

**9.3 Příloha 3: Fylogenetický strom sestavený na základě vstupního alignmentu cyt**b**3 metodou NJ (čísla představují hodnotu bootstrapu nad 50%).**



#### **9.4 Příloha 4:**

**Phylogenetic relationships within *cahirinus-dimidiatus* group of the genus *Acomys* (Rodentia: Muridae): new mitochondrial lineages from Sahara, Iran and Arabian Peninsula**

Rukopis článku vznikl na základě této diplomové práce a není její přímou součástí, je přikládán pro dokreslení výstupu daného projektu.

**Phylogenetic relationships within *cahirinus-dimidiatus* group of the genus *Acomys* (Rodentia: Muridae): new mitochondrial lineages from Sahara, Iran and Arabian Peninsula**

***Daniel Frynta<sup>1,6</sup>, Klára Průšová<sup>1</sup>, Erica Bellinva<sup>2</sup>, Petr Benda<sup>1,3</sup>, Hana Kutalová<sup>1</sup>, Lucie Schwarzová<sup>1,4</sup>, David Modrý<sup>5</sup>***

<sup>1</sup> *Department of Zoology, Faculty of Natural Sciences, Charles University, Viničná 7, CZ-128 44 Praha 2, Czech Republic*

<sup>2</sup> *Department of Plant Physiology, Faculty of Natural Sciences, Charles University, Viničná 7, CZ-128 44 Praha 2, Czech Republic*

<sup>3</sup> *National Museum, Department of Zoology, CZ-115 79, Praha 1, Czech Republic*

<sup>4</sup> *present address: National Institute of Public Health, Šrobárova 48, Praha 10, CZ-100 42, Czech Republic*

<sup>5</sup> *Institute of Parasitology, Veterinary University, Palackého 1/3, CZ- 612 42, Brno, Czech Republic*

<sup>6</sup> *Corresponding author*

**Running title:** Phylogeny of *Acomys* from Near East

**Abstract.**

Spiny mice belonging to *cahirinus-dimidiatus* group of the genus *Acomys* have become a widely used model in physiology and behaviour. To improve current knowledge concerning phylogeny of this taxon, we analysed 24 samples from Libya, Chad, Egypt, Jordan, Cyprus, Turkey, Yemen and Iran. We sequenced two segments of mitochondrial D-loop of total length from 986 to 996 bp (1007 nucleotide positions) and described 22 haplotypes.

The results confirmed considerable differences between Afro-Mediterranean and Asian clades. The former clade corresponds to *A. cahirinus* which is paraphyletic with respect to Cretean *A. minous*, Cypriot *A. nesiotis* and Turkish *A. cilicicus*. Most probably, these three species colonised NE Mediterranean area only recently. *A. cahirinus* haplotypes from SE Sahara (S Egypt, SW Libya, S Chad) resembled those of *A. cilicicus* and *A. minous*, while haplotypes of *A. nesiotis* were close to that found in commensal *A. cahirinus* from Cairo.

Most surprising finding was a considerable genetic variation within Asia. Moreover to a clear haplotype group belonging to *A. dimidiatus* sensu stricto from Sinai

Peninsula and Jordan, we detected two previously unknown haplotype groups, one from Yemen, and the other from Iran and United Arab Emirates. These clades are fairly distinct and separate species/subspecies status of their bears should be considered.

**Key words:** spiny mice, mitochondrial DNA, D-loop, phylogeography, commensalism, Yemen, Libya, Cyprus, Persian Gulf

## Introduction

Spiny mice belonging to *cahirinus-dimidiatus* group of the genus *Acomys* have become a widely used model for physiological (e.g., Degen 1994, Heffner et al. 2001, Shanas et al. 2002, Scantlebury et al. 2003, 2004), behavioural (e. g., Porter et al. 1989, Friedman et al. 1997, Eilam et al. 1999, Jones and Dayan 2000, Edut and Eilam 2003, Eilam 2004, Pinter-Wollman et al. 2006) and evolutionary (e.g., Nevo 1985, Krasnov et al. 2005) studies (for bibliography see Van der Straeten 1994). Although this group is morphologically distinct (Denys et al. 1994), there is no agreement among traditional taxonomists as concerned the relationships among individual populations/species (Wilson and Reader 2005). Consequently, nearly all experimental animals coming somewhere from the region of Fertile Crescent were reported as *A.cahirinus* (Demarest, 1819), irrespective to their precise taxonomic status (e.g., Carere et al 1999, Hefner et al. 2001, Weber and Hohn 2005).

Barome et al. (1998, 2000, 2001) who analysed variation in mtDNA sequences for cytochrom b in 14 *Acomys* species revealed existence of two distinct clades within *dimidiatus-cahirinus* clade. The first one comprises *A. dimidiatus* (Cretzschmar, 1826) from Sinai, Israel, Jordan and Saudi Arabia, and its sister branch including unnamed forms from Cameroon and Burkina Faso. The latter clade includes *A. airensis* Thomas et Hinton, 1921 from Niger and Mali and *A. cahirinus* (É.Geoffroy, 1803) from Egypt.

Surprisingly, two Mediterranean species *A.nesiotes* Bate, 1903 from Cyprus, and *A.minous* Bate, 1906 from Crete, had cyt b sequences almost identical to those of *A.cahirinus* from type locality in Cairo. The remaining species of the Mediterranean area, *A.cilicicus* Spitzenberger, 1978 from Cilicia (SE coast of Anatolia, Turkey) as well as some *A.minous* shared somewhat different haplotype lineage {labeled B) of unknown origin, but still unequivocally closely related to those of *A.cahirinus* (Barome et al. 2000, 2001). The above findings may suggest that these Mediterranean species are not survivors of endemic Tertiary fauna, but rather descendants of recent, most probably

originally commensal, colonists transferred to this area by humans. Nevertheless, this likely scenario needs an additional support based on DNA sequences evolving even more rapidly than do cyt b.

Recently, Volobouev et al. (2007) formally elevated *dimidiatus* to the species rank and reviewed karyological (cf. Nevo 1985, Sokolov et al. 1993, Macholán et al. 1995, Volobouev et al. 1996a,b, 2002, Kivanc et al. 1997, Kunze et al. 1999, Zima et al. 1999), morphological and biogeographical evidence suggesting clear differences between *A.cahirinus* from Africa (including Egypt) and *A.dimidiatus* from Asian part of the range including Sinai. They also hypothesised phylogeographic scenario including immigration of *dimidiatus* from Africa to South of Arabian Peninsula through the Red Sea. Nevertheless, in spite of extensive distribution of *A.dimidiatus* in Asia (Bates 1994), ranging from Sinai, throughout Arabian Peninsula, Iranian coast of Persian Gulf and the Gulf of Oman to W Pakistan (Bobrov and Neronov 1998), only populations from Sinai, Israel and Jordan have been examined by molecular methods, so far.

Species rank of *A.dimidiatus* may be supported also by fact that fertile hybrids between *A.dimidiatus* and *A.cahirinus*, neither natural nor artificial, have been described, yet. Jordan (2000), however, reported sterile hybrids between dark commensal population of *A.cahirinus* from Cairo and a large pale form from Giza (suburb of Cairo) referred as *A.dimidiatus megalodus* Setzer, 1959. As the type locality of the latter taxon is Suez region (Wadi Sayal), species identity of the latter population was not proved by molecular methods, and according to Volobuev et al. (2007), not *A.dimidiatus* but rather *A.cahirinus* have to be expected at the locality situated in the African part of Egypt, we treat this report with caution.

The aim of this paper was (1) to collect additional samples from previously nearly unstudied regions of SW Sahara, Cyprus, Yemen and the Persian Gulf; (2) to sequence fragments of rapidly evolving mitochondrial gene providing high resolution for recent evolutionary history; (3) to reconstruct phylogenetic relationships within cahirinus-dimidiatus group; (4) to briefly discuss taxonomic implication; and finally (5) to evaluate existing phylogeographic scenarios.



## Material and methods

### Specimens

For the present study, 24 individuals belonging to *cahirinus-dimidiatus* group of the genus *Acomys* were analysed. Our specimens or their maternal ancestors were live trapped from natural populations in Egypt (2 samples), Libya (1), Cyprus (2), Crete (1), Turkey (1), Sinai Peninsula (4), Jordan (3), Yemen (2), Arab Emirates (1), and Iran (3). Other samples come from laboratory populations originating in Egypt (1), Chad (1), and ZOOs (2) in Bronx and Prague (original localities unknown). Tip of tail was taken from each sampled animal and stored in ependorf tube with 96% ethanol. Origin of the specimens is given in Table 1.

### DNA extraction

Total genomic DNA was isolated from kidney, muscle, finger or tail tips preserved in absolute ethanol. Samples were treated according to the protocol for DNA extraction present in commercial DNAeasy Tissue Kit (Qiagen).

### DNA sequencing

The entire Mitochondrial Control Region (MCR) and the flanking tRNA genes were amplified in two overlapping segments by polymerase chain reaction (PCR) for a total length of about 1007 bp. PCR products of about 530 bp, were obtained from all samples using primers 1 (5'-ATAAACATTACTCTGGTCTTGTAAC-3') and

2 (5'-CACAGTTATGTTGRTCATGG-3'); PCR products of about 470 bp were obtained using primers 3 (5'-CGTCCCCTAAATAAGACA-3') and

4 (5'-TAATTATAAGGCCAGGACCA-3'). Those are the same primers used in Bellinva (2004). The first amplified region included part of tRNA<sup>Thr</sup>, the entire gene for the tRNA<sup>Pro</sup> and from 529 to 553 bp of the MCR up to about one half of the Central Domain. The second amplified region extended from about one half of the MCR conserved central domain to the beginning of 12S tRNA region included the gene tRNA<sup>Phe</sup> (86 bp) and from 463 to 471 bp of the MCR up to about too one half of the Central Domain. PCR reactions were carried out in 50 µl volumes including 2.5 µl of each 10 µM primer, 5 µl of 10× PCR buffer (Fermentas) 5 µl of 10 mM dNTP, 2.5 µl of 50 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.5 µl of 5 U/ml Fermentas Taq DNA polymerase and about 200 ng of DNA. The PCR amplification protocol consisted of 31 cycles of denaturation at 95°C for 30 s, annealing at 50°C for 1 min, and extension at 72°C for 1 min; a further 15 min

elongation step at 72°C followed the last cycle. Concentration and composition of the reaction mix were similar for both the pairs primer. The protocol used was according to Bellinvia (2004). For some of the samples the temperature of annealing had to be decreased to 47°C to obtain an usable PCR product. All PCR products were purified with the help of Qiaquick® purification kit (Qiagen, Hilden, Germany) and directly sequenced using the same primers used for amplification.

### **Sequence analysis**

Sequences were aligned and manually checked using programmes Clustal X (Thompson et al. 1997) and GENEDOC version 2.6.003 (Nicholas and Nicholas 1997).

Distance neighbor-joining (NJ), maximum parsimony (MP) and maximum likelihood (ML) analyses were performed in PAUP\* version 4.0b10 (Swofford 2002) and Bayesian analysis (BA) was conducted with MrBayes 3.1 (Huesenbeck and Ronquist 2001). For MP we conducted heuristic search analyses with 100,000 random taxon addition replicates using tree-bisection and reconnection (TBR) branch swapping. The branch support was evaluated using 1000 bootstrap pseudoreplicates (Felsenstein 1985). All characters were equally weighted and unordered. Nevertheless, various weight schemes regarding transitions and transversions were tried but with no clear effect on the inferred topologies. Tree search with NJ algorithm was done with Jukes – Cantor distance and 1000 replicates and the final topology was supported by 1000 bootstrap pseudoreplicates.

Optimal model of studied mtDNA sequence evolution was selected by AIC in Modeltest 3.7 (Posada and Crandall, 1998). For ML analysis we used heuristic search with 300 random taxon addition replicates and the TBR branch swapping. Support for the ML tree topology was assessed by bootstrap analysis with 750 pseudoreplicates (in each 10 random addition replicates only).

Bayesian method allowed us to partition studied sequence into three segments: (1) tRNA, (2) CD and (3) ETAS plus CSB (see below). Two independent runs of analyses were conducted with a random starting tree and run for  $6 \times 10^6$  generations and the trees were sampled every 100<sup>th</sup> generation. The burn-in command was used to discard first 15000 trees (1,500,000 generations).

## Results

We analysed 24 samples representing 22 haplotypes. In addition, three samples of *A. russatus* were included as an outgroup. We obtained aligned sequences consisting of 1006 nucleotide positions, of which 219 sites were variable and 195 were parsimony-informative.

### D-loop structure

The segment of mitochondrial genome sequenced in this study for 27 specimens of *Acomys* is about 995 bp. It covered the entire D-loop region and flanking tRNA genes: part of the tRNA<sup>Thr</sup> and the entire tRNA<sup>Pro</sup> at 5', part of the tRNA<sup>Phe</sup> at 3'. The D-loop region itself ranged in length from 837 to 839 bp. All studied species have very similar length of each part D-loop region. The ETAS and the CSB domains accounted for most of the nucleotide variation.

Extended terminal-associated sequence (ETAS) domain as nearly invariantly 263 bp long, the only exceptions were all *A. russatus* (259 bp) and one *A. dimidiatus* (JOR1: 264 bp) haplotypes. The alignments measured 270 nucleotide positions, of which 88 (32.5%) were variable. Most of the sequence variability was concentrated in one region of about 40 bp starting approximately at nucleotide 101. This region appeared both hypervariable and rich in short insertions and deletions, only eleven nucleotide positions were preserved in all sequences.

The length of the Central domain (CD) was invariantly 305 bp of which 32 nucleotide sites (10.5%) were variable. The CD is the most preserved region in the D-loop.

Conserved sequence block domain (CSB) alignments measured, including all insertion and deletions, 277 nucleotide positions of which 105 (37.9%) were variable. The length of CSB domain was usually 268 bp, however, it consists of 269 bp in *A. nesiotes*, *A. cahirinus* from Cairo, *A. cilicicus*, four *A. dimidiatus* haplotypes (JOR1, JOR2, JOR3, JOR4); 270 bp in two *A. dimidiatus* haplotypes (SIN2, BRONX), and even 273 bp in *A. russatus*. The CSB was possible to divide into three groups according to their CSB length and structure (Larizza et al. 2002). The three CSB motifs are relatively well conserved in *Acomys*. In all samples, CSB1 and CSB2 were well recognizable. Most of the domain nucleotide variability was concentrated in the region between CSB1 and CSB2 and in the 56 bp at the 3' end of the domain.

All the recovered topologies agreed substantially, MP, NJ and BA produced nearly the same trees, while ML somewhat differs. Thus only two contrasting trees, i.e., MP and ML are shown in Fig. 2 and Fig. 3. Bootstrap support for MP, NJ and ML trees, and posterior probabilities of BA, are given in parentheses, respectively. MP, NJ and BA revealed that the basal branching resulted in following two clearly distinct clades. The former one further referred as an Afro-Mediterranean clade (100, 100, 65, 1.00) contained haplotypes from North Africa, Crete, Cyprus and Turkey. The latter clade further referred as an Asian (74, 89, -, 0.67) contained haplotypes from Sinai, Jordan, Arabian Peninsula as well as those from Iran *dimidiatus*. Uncorrected p distance between haplotypes belonging to Afro-Mediterranean and Asian clades varied within the range 6.0-8.1 % (Table 2).

Haplotypes belonging to the Afro-Mediterranean clade are very similar to each other (uncorrected p distance varied within the range 0.2-2.2 %.), nevertheless, weakly supported lineage including samples from Cairo and Cyprus (55, 73, -, 0.69) may be distinguished from that one (85, 89, 64, 0.77) comprising remaining haplotypes from Southern Sahara (S Egypt, S Libya, N Chad), Turkey and Crete Island.

The Asian clade is less homogenous than the Afro-Mediterranean one (within-group uncorrected p distances 0.3-5.6 %.). It splits into three distinct and geographically localised lineages: (1) Sinai-Jordan (100, 100, 93, 1.00), (2) Yemen (100, 100, 97, 1.00), (3) Iran-Emirates (100, 100, 57, 1.00). The relative position of these lineages in the tree was not resolved. Some procedures placed Yemenite haplotypes together with those from Iran and Emirates (NJ, BA) while the other ones (MP, ML) rather with haplotypes from Sinai and Jordan, statistical support was nevertheless rather poor.

## Discussion

Surprisingly, we found D-loop sequences belonging without any doubt to *A. cahirinus* sensu stricto in all our three samples coming from Southern part of Sahara Desert: Abu Simbel archaeological site (S. Egypt), Akakus Mts (SW Libya; neighbouring to Tassili N' Ajjer Mts in Algeria), and Tibesti Mts. (N Chad). In spite of 2200 km distance between Akakus Mts and Abu simbel the haplotypes found in these three sites are nearly identical (p distance 0.3 %). This may suggest that the range of this species encompass also most of the Central Sahara region. Because the type locality of *A. airensis* in Air, i.e., another south Saharan mountain region sharing with our localities almost the same ecological conditions, is situated "only" 700 km from Akakus

and 800 km from Tibesti, it raises the question about species identity of *A. airensis* holotype (but see Denys et al. 1994, Sicard and Tranier 1996). The only genetically examined populations labeled as *A. airensis*, which are distinct from *A. cahirinus*, come from lowlands of Mali and Niger (e.g., Barome et al. 1998, 2000, 2001).

As expected, our results also clearly supported results of previous studies suggesting paraphyletic status of the *Acomys* species coming from North Mediterranean islands and coast (*A. nesiotus*, *A. cilicicus* and *A. minous*) with the respect of North African species *A. cahirinus*. Our data provide further evidence supporting recent immigration of spiny mice on NE Mediterranean region. As D-loop is non-coding sequence evolving even faster than cyt b, it provides somewhat more sensitive test to disprove anthropogenous origin Mediterranean species of spiny-mice. Close similarity among particular haplotypes from mainland Africa and those from NE Mediterranean suggest that ancestors of *A. nesiotus*, *A. cilicicus* and *A. minous* dispersed most probably as commensals with ancient trade, and their status as valid species is rather questionable without adoption of evolutionary species concept.

Barome et al. (2001) who sequenced cytochrom b identified two clearly distinct mitochondrial sequence groups labeled as A and B within populations of *A. minous* on Crete Island. They also reported that haplotypes of *A. nesiotus* from Cyprus and *A. cahirinus* from the type locality in Cairo belong without any doubt to group A, while those of *A. cilicicus* from Cilicia coast to group B. Although, we sequenced another mitochondrial gene, exactly the same pattern emerged. Consequently we may tentatively conclude that our haplotype lineages from Cyprus and Cairo correspond to A group, while those from Crete and Cilicia to B group. We found haplotypes belonging apparently to the B group also in above mentioned three localities of the Southern Sahara. We can speculate that bearers of B group haplotypes that colonized Crete and Cilicia in antiquity were transferred by Egyptian and/or Phoenician trade ships from Southern Egypt. Nevertheless, sampling in North Africa is still too poor to allow exclusion of any mainland region as a potential source area of island haplotypes of B group.

As populations bearers of both A and B haplotype group contributed to contemporary *A. minous* (Barome et al. 2001), and both *A. cilicicus* and *A. cahirinus* from Abu Simbel (belonging to B group) hybridized in our laboratory freely with *A. nesiotus* and *A. cahirinus* from Cairo belonging to A group (Frynta and Sádlová 1998 and new

data), we warn against premature taxonomic splitting of mainland populations of *A.cahirinus* according to haplotype group.

Relatively deep divergence between Afro-Mediterranean and Asiatic clades supports the view of Volobuev et al. {2007} about clear distinctness between African *A. cahirinus* and Asian *A. dimidiatus*. Nevertheless, *A. dimidiatus* has closest relatives in Western Africa (Cameroon, Burkina Faso) according cyt b sequences analysed by Barome et al. (2000, 2001).

A close similarity that we found between *A.dimidiatus* haplotypes from Sinai and Jordan, i.e., regions known to be inhabited by different chromosomal forms of this species (Nevo 1985), also supports the current results that 36 and 38 chromosome forms interbreed freely and thus obviously belong to a single species (Volobouyev et al. 2007).

Similarity of Iranian haplotypes with that from Emirates on the opposite side of Persian Gulf and the Gulf of Oman may be easily explained by recent geological history. There was a land bridge in place of the contemporary Persian Gulf that allowed free faunal dispersion from the South of the Arabian Peninsula toward North-East to Iran during the Ice Ages (Anderson 1999).

Considerable sequence divergence that we found within Asian clade is probably the most surprising finding of this paper. Obviously, southern part of the Arabian Peninsula is a territory with high haplotype diversity and not just a peripheral area of *Acomys* expansion. Thus, it is unlikely that Arabian Peninsula was colonized by *Acomys* from Northeasternmost Africa via Sinai and Jordan. More probably, the colonisation event resulted from prehistoric marine transgression and corresponding lanbridge through Red Sea as suggested by Barome et al. (2000) and Volobouev (2007).

Asian clade may not represent just a single species. Our results suggest that haplotypes from Iran and Emirates as well as those from Yemen are only distantly related to those from Sinai and Jordan. As *A.dimidiatus* (Cretzschmar, 1826) was described from Sinai, Sinai-Jordan lineage corresponds without any doubt to nominotypic subspecies. Scientific names for bearers of Yemenite and Iranian haplotype lineages (if their taxonomic distinctness would be proved) should be searched among older geographically congruous descriptions. There are *A.whitei* Harrison, 1980 from Oman supposedly matching our Iran-Emirates lineage, and *A.d.homericus* Thomas, 1923 from Yemen (type locality Aden). Both these descriptions, however, report holotypes as dark coloured that may suggest possible confusion with commensal

*A.cahirinus*. In addition, there are two older descriptions from unspecified Arabia: *hispidus* (Brants, 1827) and *megalotis* (Lichtenstein, 1829). Nevertheless, for any taxonomic decision morphological, hybridization and behavioural data supporting specific or subspecific status of these populations are indispensable. Moreover, D-loop sequences their African relatives are needed to evaluate sequence variation.

### **Acknowledgements**

We thank Jovana Sádlová, Miloš Macholán, Tomáš Peš and Jan Borek for providing us the tissue samples and/or breeding stock, and Ivan Čepička, Pavel Hulva, Zuzana Starostová and Vladimír Vohralík for advice. We are indebted to Ivan Horáček, Pavel Hulva, Eva Landová, Radek Lúčan, Pavlína Kuncová, Milan Kaftan, Alena Pazderová, Kateřina Rexová, Radka Volfová and other participants of the expeditions for their kind help in the field. The research was supported by Grant Agency of the Czech Republic (projects No. 206/05/2334 and 206/05/2655) and Grant Agency of Academy of Sciences of the Czech Republic (project No. 6111410).

## Literature

Anderson S. C. 1999. The Lizards of Iran. In: Adler K. & Perry T. D. (eds), *Society for the Study of Amphibians and Reptiles*. New York: Ithaca.

Anderson S. C. 1999. The Lizards of Iran. In: Adler K. & Perry T. D. (eds), *Society for the Study of Amphibians and Reptiles*. New York: Ithaca.

Barome P.-O., Lymberakis P., Monnerot M. & Gautun J.-C. 2001. Cytochrome b sequences reveal *Acomys minous* (Rodentia, Muridae) paraphyly and answer the question about the ancestral karyotype of *Acomys dimidiatus*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **18**(1): 37-46.

Barome P.-O., Monnerot M. & Gautun J.-C. 1998. Intrageneric phylogeny of *Acomys* (Rodentia, Muridae) using mitochondrial gene cytochrome b. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **9**(3): 560-566.

Barome P.-O., Monnerot M. & Gautun J.-C. 2000. Phylogeny of the genus *Acomys* (Rodentia, Muridae) based on the cytochrome b mitochondrial gene: implications on taxonomy and phylogeography. *Mammalia* **64**(4): 423-438.

Bates P. J. J. 1994. The distribution of *Acomys* (Rodentia: Muridae) in Africa and Asia. *Israel Journal of Zoology* **40**: 199-214.

Bellinvia E. 2004. A phylogenetic study of the genus *Apodemus* by sequencing the mitochondrial DNA control region. *Journal of Zoological Systematic Evolution Research* **42**: 289-297.

Bobrov V. V. & Neronov V. M. 1998. On boundary between the palaeartic and indo-malayan faunal realms in India and Pakistan (from data on distribution of Rodentia). *Zoologicheskij Zhurnal* **77**: 1162-1167.

Carere C., Casetti R., de Acetis L., Parretta G., Cirulli F. & Alleva E. 1999. Behavioural and nociceptive response in male and female spiny mice (*Acomys cahirinus*) upon exposure to snake odour. *Behavioural Processes* **47**:1-10.

Degen A. A. 1994. Field metabolic rates of *Acomys russatus* and *Acomys cahirinus*, and a comparison with other rodents. *Israel Journal of Zoology* **40**: 127-134.

Denys C., Gautun J.-C., Tranier M. & Volobouev V. 1994. Evolution of the genus *Acomys* (Rodentia, Muridae) from dental and chromosomal patterns. Israel. *Israel Journal of Zoology* **40**: 215-246.

Edut S. & Eilam D. 2003. Rodents in open space adjust their behavioral response to the different risk levels during barn-owl attack. *BMC Ecology* **3**: 10-26.



- Eilam D. 2004. Locomotor activity in common spiny mice (*Acomys cahirinus*): The effect of light and environmental complexity. *BioMed Central Ecology* **4**: 16-41.
- Eilam D., Dayan T., Ben-Eliyahu S., Schulman I., Shafer G. & Hendrie C. A. 1999. Differential behavioural and hormonal responses of voles and spiny mice to owl calls. *Animal Behaviour* **58**: 1085-1093.
- Ellerman J. R. 1941. *The families and genera of living rodents*. Vol. 2. British Museum (Natural History), London
- Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogeny: an approach using the bootstrap. *Evolution* **39**: 783-789.
- Friedman D., Haim A. & Zisapel N. 1997. Temporal segregation in coexisting spiny mice (genus *Acomys*): role of photoperiod and heterospecific odor. *Physiology & Behavior* **62**: 407-411.
- Frynta D. & Sádlová J. 1998. Hybridisation experiments in spiny-mice from the Eastern Mediterranean: systematic position of *Acomys cilicicus* revisited. *Zeitschrift für Säugetierkunde* **63** (Supplementum): 18.
- Hall T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp. Series* **41**: 95-98.
- Heffner R. S., Koay G. & Heffner H. E. 2001. Audiograms of five species of rodents: implications for the evolution of hearing and the perception of pitch. *Hearing Research* **157**: 138-152.
- Huelsenbeck J. P. & Ronquist F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* **17**: 754-755.
- Jones M. & Dayan T. 2000. Foraging behavior and microhabitat use by spiny mice, *Acomys cahirinus* and *A. russatus*, in the presence of blanford's fox (*Vulpes cana*) odor. *Journal of Chemical Ecology* **26**: 455-469.
- Jordan M. J. R. 2000. Hybridisation research into the specific status of Egyptian spiny mouse (*Acomys cahirinus*) and Arabian spiny mouse (*Acomys dimidiatus*). *Federation Research Newsletter*. The Federation of Zoological Gardens of Great Britain and Ireland. Paignton. **4** (Supplementum): 1.
- Kivanc E., Sözen M., Colak E. & Yigit N. 1997. Karyological and phallic aspects of the spiny mouse *Acomys cilicicus* Spitzenberger, 1978 (Rodentia: Muridae) in Turkey. *Tropical Journal of Zoology* **21**:167-169.

Krasnov B. R., Morand S., Hawlena H., Khokhlova I. S. & Shenbrot G. I. 2005. Sex-biased parasitism, seasonality and sexual size dimorphism in desert rodents. *Oecologia* **146**: 209-217.

Kunze B., Dieterlen F., Traut W. & Winking H. 1999. Karyotype relationship among four species of spiny mice (Acomys, Rodentia). *Zeitschrift für Säugetierkunde* **64**: 220-229.

Larizza A., Pesole G., Reyes A., Sbisá E. & Saccone C. 2002. Lineage specificity of the evolutionary dynamics of the mtDNA D-loop region in Rodents. *Journal of Molecular Evolution* **54**: 145-155.

Macholán M., Zima J., Červená A. & Červený J. 1995. Karyotype of *Acomys cilicicus* Spitzenberger, 1978 (Rodentia: Muridae). *Mammalia* **59**(3): 397-402.

Nevo E. 1985. Genetic differentiation and speciation in spiny mice, *Acomys*. *Acta Zoologica Fennica* **170**: 131-136.

Nicholas K. B. & Nicholas H. B., Jr 1997: GENEDOC: a tool for editing and annotating multiple sequence alignments, 2.5.000 edn. Distributed by the authors.

Pinter-Wollman N., Dayan T., Eilam D. & Kronferd-Schor N. 2006. Can aggression be the force driving temporal separation between competing common and golden spiny mice? *Journal of Mammalogy* **87**: 48-53.

Porter R. H., McFadyen-Ketchum S. & King G. A. 1989. Underlying bases of recognition signatures in spiny mice, *Acomys cahirinus*. *Animal Behaviour* **37**: 638-644.

Posada D. & Crandall K. A. 1998. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* **14**: 817-818.

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

Scantlebury M., Shanas U., Kupshtein H., Afik D. & Haim A. 2003. Non-shivering thermogenesis in common spiny mice *Acomys cahirinus* from adjacent habitats: response to seasonal acclimatization and salinity acclimation. *Journal of Thermal Biology* **28**: 287-293.

Scantlebury M., Shanas U., Kupshtein H., Speakman J. R. & Haim A. 2004. Differential energy costs of winter acclimatized common spiny mice *Acomys cahirinus* from two adjacent habitats. *Comparative Biochemistry and Physiology, part A* **137**: 419-423.

Shanas U., Afik D., Scantlebury M. & Haim A. 2002. The effects of season and dietary salt content on body temperature daily rhythms of common spiny mice from

different micro-habitats. *Comparative Biochemistry and Physiology, part A* 132: 287-295.

Sicard B. & Tranier M. 1996. Caractères et répartition de trois phénotypes d'Acomys (Rodentia, Muridae) au Burkina Faso. *Mammalia* 60:53-68.

Sokolov V. E., Orlov V. N., Baskevich M. I., Bekele A. & Mebrate A. 1993. A caryological study of the spiny mouse Acomys Geoffroy 1838 (Rodentia Muridae) along the Ethiopian Rift Valley. *Tropical Zoology* 6: 227-235.

Swofford D. L. 2002 *PAUP\**. *Phylogenetic analysis using parsimony*. Version 4.0b10. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Thompson D. J., Gibson T. J., Plewniak F., Jeanmougin F. & Higgins D. G. 1997. The CLUSTALX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignments aided by quality analysis tool. *Nucleic Acids Research* 24: 4876-4882.

Van der Straeten E. 1994. A species- and subject-coded bibliography of Acomys from Africa and the Middle East. *Israel Journal of Zoology* 40: 265-289.

Volobouev V., Aniskin V. M., Lecompte E. & Ducroz J.-F. 2002. Patterns of karyotype evolution in complexes of sibling species within three genera of African murid rodents inferred from the comparison of cytogenetic and molecular data. *Cytogenetic and Genome Research* 96: 261-275.

Volobouev V., Auffray J. C., Debat V., Denys C., Gautun J. C. & Tranier M. 2007. Species delimitation in the Acomys cahirinus-dimidiatus complex (Rodentia, Muridae) inferred from chromosomal and morphological analyses. *Biological Journal of the Linnean Society* 91: 203-214.

Volobouev V., Gautun J.-C. & Tranier M. 1996a. Chromosome evolution in the genus Acomys (Rodentia, Muridae): Chromosome banding analysis of Acomys cahirinus. *Mammalia* 60(2): 217-222.

Volobouev V., Gautun J.-C., Sicard B. & Tranier M. 1996b. The chromosome complement of Acomys spp. (Rodentia, Muridae) from Oursi, Burkina Faso - the ancestral karyotype of the cahirinus-dimidiatus group? *Chromosome Research* 4: 526-530.

Weber E. T. & Hohm V. M. 2005. Circadian activity rhythms in the piny mouse, Acomys cahirinus. *Physiology and Behavior* 86: 427-433.

Wilson D. E. & Reeder D. M. (ed.) 2005. *Mammal species of the world vol. 2*. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, pp. 1191-1210.

Zima J., Macholán M., Piálek J., Slivková L. & Suchomelová E. 1999. Chromosomal banding pattern in the Cyprus spiny mouse, *Acomys nesiotis*. *Folia Zoologica* **48**(2): 149-152.

Table 1. Samples utilized in D-loop analysis

No.	Species	Locality	Geographic origin
NES1	<i>A. nesiotus</i>	Ağirdağ, Cyprus (leg. M. Macholán)	35° 18' N 33° 15' E
NES2	<i>A. nesiotus</i>	Cinarli 4km SE, NE Cyprus (leg. D. Frynta)	35° 19' 06 N 33° 47' 26 E
CAIR	<i>A. cahirinus</i>	Cairo, Egypt, laboratory colony at Charles University, Praha (founders provided by O. Barome)	30° 04' N 31° 14' E
SIM1,SIM2	<i>A. cahirinus</i>	Abu Simbel archaeological site, Egypt, (founders captured by Jan Borek)	22° 22' N 31° 38' E
LIB	<i>A. cahirinus</i>	Mts Akakus, Libya (colony founders captured by D.Frynta and L.Schwarzová)	25° 44' 562 N 12° 08' 211 E
CHAD	<i>A. cahirinus</i>	Tibesti, Chad, laboratory colony in ZOO Plzeň	-
CIL	<i>A. cilicicus</i>	E of Silifke, Turkey, 2 samples laboratory colony at Charles University, Praha	36° 26' N 34° 06' E
MIN	<i>A. minous</i>	(colony founders captured by J. Sadlova)	34° 06' E
EMIR	<i>A. sp.</i>	Crete, laboratory colony in ZOO Plzen Jabal Hafit, United Arab Emirates, laboratory colony in ZOO Plzeň (colony provided through Breeding centre for endangered arabian wildlife, Sharjah, UAE, founders captured by Peter Arras, Al Ain)	- 24° 04' N 55° 47' E
IRA1	<i>A. sp.</i>	Khos Hangan, N of Bandar Abbas, Iran; 500 m a.s.l. (colony founders captured by D.Frynta, L.Schwarzová and P.Kunzová)	27° 38' 362 N 56° 13' 226 E
IRA2	<i>A. sp.</i>	Zagros, Iran (colony founders captured by D.Frynta, L.Schwarzová and P.Kunzová)	28° 55' 892 N 52° 31' 770 E
IRA3	<i>A. sp.</i>	Dehbarez, Iran (leg. P. Benda and P. Nová)	27° 27' 745 N 57° 19' 197 E
YEM1	<i>A.sp.</i>	Hawf, Jemen (leg. P. Benda)	16° 39' N 53° 03' E
YEM2	<i>A.sp.</i>	Hawf, Jemen (leg. P. Benda)	16° 39' N 53° 03' E
SIN1	<i>A. dimidiatus</i>	Wadi Gharandal, Sinai, Egypt (leg. P. Benda)	29° 08' N 31° 51' E
SIN2	<i>A. dimidiatus</i>	Wadi Gharandal, Sinai, Egypt (leg. P. Benda)	29° 08' N 31° 51' E
JOR3	<i>A. dimidiatus</i>	Wadi Ramm, Jordan (colony founders captured by D. Modrý) Wadi Ramm, Jordan, ZOO Plzeň	29° 36' N 35° 24' E
JOR4	<i>A. dimidiatus</i>	(founders captured by D.Modrý a Peš)	-
JOR1	<i>A. dimidiatus</i>	Wadi Ramm, Harab Antar, Jordan (leg. D. Modrý)	29° 36' N 35° 24' E

JOR2	<i>A. dimidiatus</i>	Wadi Ramm, Lawrence spring, Jordan (leg. D. Modrý)	29° 36' N 35° 24' E
BRONX	<i>A. dimidiatus</i>	Lab. Strains, 2 samples, ZOO Bronx and ZOO Prague	-
RUS1	<i>A. russatus</i>	Lab. Strain, Charles University, Prague	-
RUS2	<i>A. russatus</i> <i>A. russatus</i>	Wadi Ramm, Harab Antar, Jordan (leg. D. Modrý)	29° 36' N 35° 24' E
LEW	„lewisii“	laboratory colony, Jordan (leg. D. Modrý)	-

Appendix 1. Uncorrected p-distances between studied haplotypes.

	SIN1	SIN2	JOR1	JOR2	BRONX	JOR4	JOR3	YEM1	YEM2	EMIR	IRA1	IRA2	IRA3	LIB	CHAD	CIL	MIN	SIM2	SIM1	NES1	NES2	CAIR	RUS1	LEW	RUS2
SIN1	0,000	0,012	0,009	0,008	0,008	0,007	0,010	0,051	0,051	0,052	0,048	0,047	0,048	0,070	0,068	0,069	0,070	0,069	0,073	0,065	0,067	0,069	0,140	0,137	0,138
SIN2	0,012	0,000	0,011	0,010	0,013	0,014	0,017	0,053	0,054	0,059	0,056	0,054	0,057	0,073	0,071	0,074	0,073	0,072	0,076	0,068	0,070	0,072	0,141	0,136	0,139
JOR1	0,009	0,011	0,000	0,009	0,013	0,011	0,014	0,051	0,051	0,053	0,049	0,048	0,049	0,069	0,067	0,068	0,069	0,066	0,070	0,066	0,068	0,070	0,138	0,138	0,135
JOR2	0,008	0,010	0,009	0,000	0,010	0,009	0,012	0,049	0,049	0,055	0,051	0,050	0,051	0,071	0,069	0,072	0,071	0,070	0,074	0,066	0,068	0,070	0,139	0,134	0,137
BRONX	0,008	0,013	0,013	0,010	0,000	0,008	0,011	0,052	0,052	0,055	0,053	0,050	0,053	0,069	0,067	0,070	0,069	0,068	0,072	0,064	0,066	0,068	0,141	0,136	0,139
JOR4	0,007	0,014	0,011	0,009	0,008	0,000	0,003	0,050	0,050	0,055	0,051	0,050	0,051	0,065	0,063	0,066	0,065	0,064	0,068	0,060	0,062	0,064	0,140	0,137	0,138
JOR3	0,010	0,017	0,014	0,012	0,011	0,003	0,000	0,053	0,053	0,056	0,052	0,051	0,052	0,068	0,066	0,069	0,068	0,067	0,071	0,063	0,065	0,067	0,143	0,140	0,141
YEM1	0,051	0,053	0,051	0,049	0,052	0,050	0,053	0,000	0,002	0,059	0,053	0,052	0,054	0,070	0,070	0,073	0,072	0,072	0,075	0,073	0,071	0,073	0,141	0,138	0,139
YEM2	0,051	0,054	0,051	0,049	0,052	0,050	0,053	0,002	0,000	0,059	0,053	0,052	0,054	0,070	0,070	0,073	0,072	0,072	0,075	0,073	0,071	0,073	0,141	0,138	0,139
EMIR	0,052	0,059	0,053	0,055	0,055	0,055	0,056	0,059	0,059	0,000	0,010	0,007	0,010	0,078	0,076	0,077	0,078	0,075	0,079	0,077	0,077	0,079	0,138	0,134	0,136
IRA1	0,048	0,056	0,049	0,051	0,053	0,051	0,052	0,053	0,053	0,010	0,000	0,003	0,002	0,080	0,078	0,079	0,080	0,077	0,079	0,077	0,077	0,081	0,135	0,131	0,133
IRA2	0,047	0,054	0,048	0,050	0,050	0,050	0,051	0,052	0,052	0,007	0,003	0,000	0,003	0,077	0,075	0,076	0,077	0,074	0,078	0,074	0,074	0,078	0,134	0,130	0,132
IRA3	0,048	0,057	0,049	0,051	0,053	0,051	0,052	0,054	0,054	0,010	0,002	0,003	0,000	0,080	0,078	0,079	0,080	0,077	0,079	0,077	0,077	0,081	0,136	0,132	0,134
LIB	0,070	0,073	0,069	0,071	0,069	0,065	0,068	0,070	0,070	0,078	0,080	0,077	0,080	0,000	0,004	0,008	0,006	0,008	0,009	0,019	0,017	0,017	0,136	0,135	0,136
CHAD	0,068	0,071	0,067	0,069	0,067	0,063	0,066	0,070	0,070	0,076	0,078	0,075	0,078	0,004	0,000	0,008	0,006	0,008	0,009	0,015	0,013	0,015	0,134	0,131	0,134
CIL	0,069	0,074	0,068	0,072	0,070	0,066	0,069	0,073	0,073	0,077	0,079	0,076	0,079	0,008	0,008	0,000	0,002	0,007	0,009	0,019	0,017	0,015	0,135	0,136	0,135
MIN	0,070	0,073	0,069	0,071	0,069	0,065	0,068	0,072	0,072	0,078	0,080	0,077	0,080	0,000	0,006	0,002	0,000	0,005	0,007	0,017	0,015	0,013	0,135	0,134	0,135
SIM2	0,069	0,072	0,066	0,070	0,068	0,064	0,067	0,072	0,072	0,075	0,077	0,074	0,077	0,008	0,008	0,007	0,005	0,000	0,002	0,018	0,016	0,016	0,135	0,135	0,134
SIM1	0,073	0,076	0,070	0,074	0,072	0,068	0,071	0,075	0,075	0,079	0,079	0,078	0,079	0,009	0,009	0,009	0,007	0,002	0,000	0,022	0,020	0,020	0,136	0,137	0,136
NES1	0,065	0,068	0,066	0,066	0,064	0,060	0,063	0,073	0,073	0,077	0,077	0,074	0,077	0,019	0,015	0,019	0,017	0,018	0,022	0,000	0,002	0,012	0,137	0,132	0,137
NES2	0,067	0,070	0,068	0,068	0,066	0,062	0,065	0,071	0,071	0,077	0,077	0,074	0,077	0,017	0,013	0,017	0,015	0,016	0,020	0,002	0,000	0,012	0,137	0,132	0,137
CAIR	0,069	0,072	0,070	0,070	0,068	0,064	0,067	0,073	0,073	0,079	0,081	0,078	0,081	0,017	0,015	0,015	0,013	0,016	0,020	0,012	0,012	0,000	0,140	0,137	0,140
RUS1	0,140	0,141	0,138	0,139	0,141	0,140	0,143	0,141	0,141	0,138	0,135	0,134	0,136	0,136	0,134	0,135	0,135	0,135	0,136	0,137	0,137	0,140	0,000	0,017	0,006
LEW	0,137	0,136	0,138	0,134	0,136	0,137	0,140	0,138	0,138	0,134	0,131	0,130	0,132	0,135	0,131	0,136	0,134	0,135	0,137	0,132	0,132	0,137	0,017	0,000	0,015
RUS2	0,138	0,139	0,135	0,137	0,139	0,138	0,141	0,139	0,139	0,136	0,133	0,132	0,134	0,136	0,134	0,135	0,135	0,134	0,136	0,137	0,137	0,140	0,006	0,015	0,000

Fig. 1. Map of studied localities.

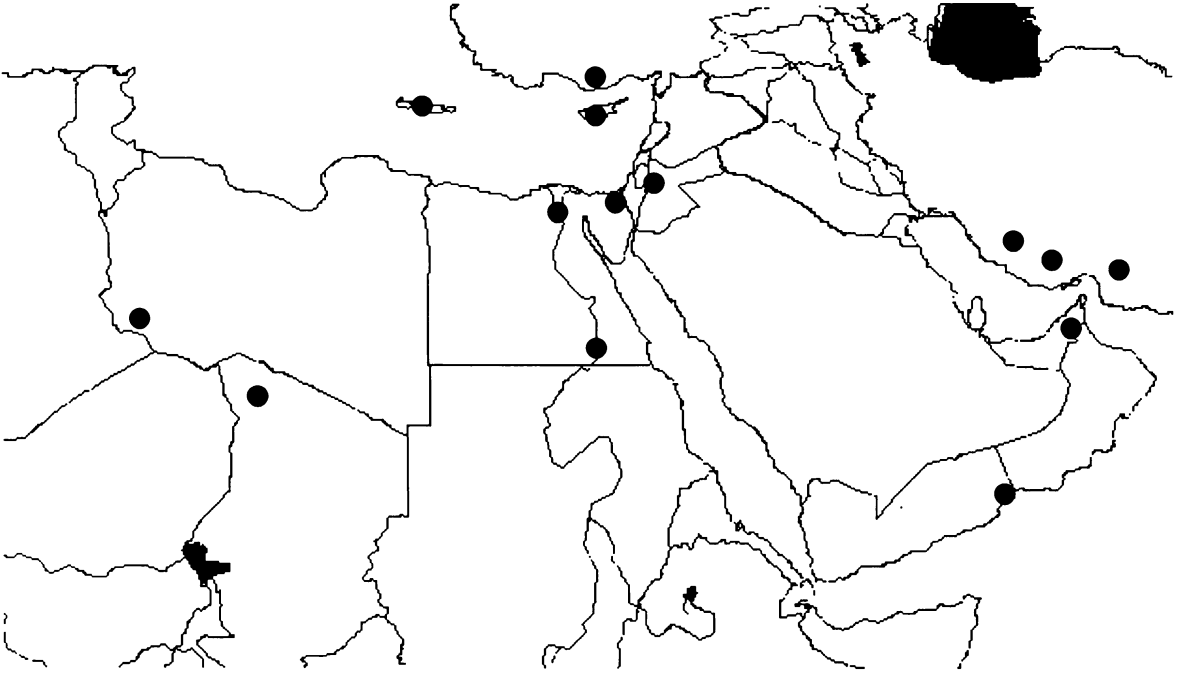




Fig. 2. Strict consensus of 22 maximum parsimony trees. Tree length = 326, CI = 0.7761 (when parsimony uninformative characters are excluded CI = 0.7583), RI = 0.9189, RC = 0.7131. The robustness of each node is indicated by bootstrapping values (in percent) that were obtained by 1000 pseudoreplicates.

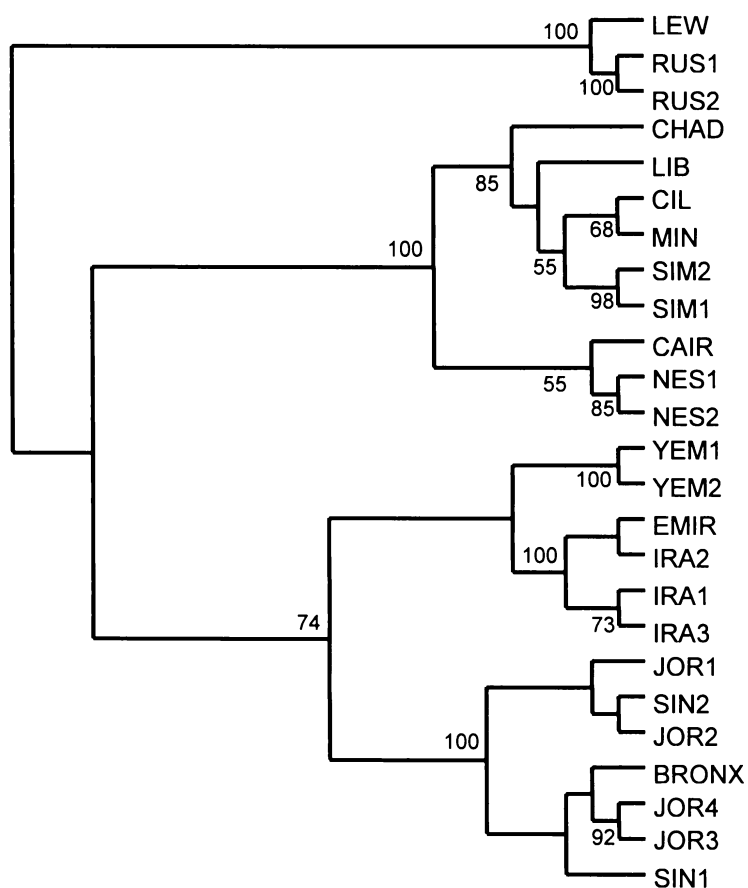
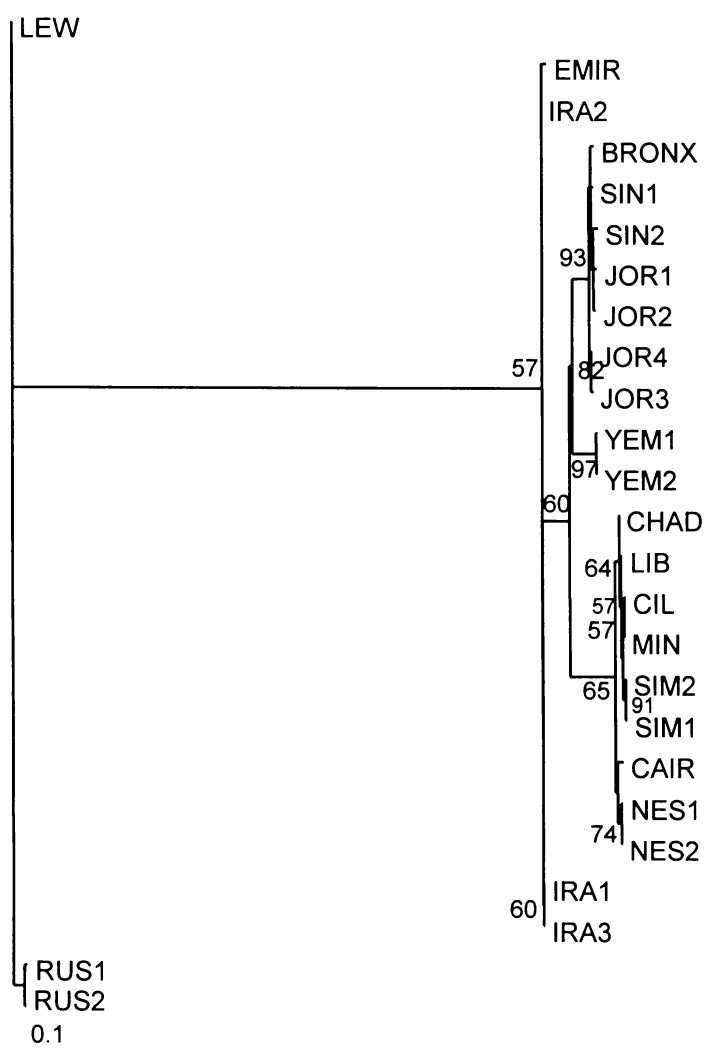


Fig 3. Maximum likelihood tree. 100 random additions. The total number of rearrangements tried was 14129 and the score of the best tree found was 3040.46902. The robustness of each node is indicated by bootstrapping values (in percent) that were obtained by 300 pseudoreplicates with 10 random additions. The HKY+G model parameters chosen by Modeltest were: base frequency A= 0.32310, C= 0.2476, G= 0.1162, T=0.3131; Transition/transversion ratio = 7.0843 (kappa = 15.16474); proportion of invariable site = none; gamma distribution shape parameters = 0.0853.



## 9.5 Příloha 5 (CD)

- Tabulka 12: Alignment MCRDim (FASTA).
- Tabulka 13: Alignment MCRKen (FASTA).
- Tabulka 14: Alignment MCTCom (FASTA).
- Tabulka 15: Alignment cytbND6 (FASTA).
- Tabulka 16: Alignment cytbBar (FASTA).
- Tabulka 17: Alignment cytb3 (FASTA).
- Tabulka 18: Matice nekorigovaných genetických vzdáleností (p-distance) pro alignment MCRKen.
- Tabulka 19: Matice nekorigovaných genetických vzdáleností (p-distance) pro alignment cytbBar.
- Tabulka 20: Výstupní hodnoty z programu ACTIVITY