

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE  
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA  
KATEDRA ZOOLOGIE**

**Historie rodu *Apodemus*  
(Mammalia, Rodentia)  
ve střední Evropě**

**Bakalářská práce**

**Markéta Knitlová**

**Vedoucí práce: Prof. RNDr. Ivan Horáček, CSc.**

**Praha 2006**

# Obsah

<b>Abstrakt</b>	<b>3</b>
<b>Úvod - myšice rodu <i>Apodemus</i> v Evropě</b>	<b>4</b>
<b>Areálová historie rodu <i>Apodemus</i> ve světle molekulární fylogeografie</b>	<b>10</b>
<b>Shrnutí : současné představy o historii rodu</b>	<b>26</b>
<b>Seznam citované literatury</b>	Chyba! Záložka není definována.
<b>Přílohy</b>	<b>34</b>

# Abstrakt

Tato bakalářská práce je literárním přehledem poznatků o minulosti rodu *Apodemus*, zohledňujícím jak fosilní záznam skupiny, tak neontologická data, její těžiště je však soustředěno na výsledky molekulárně fylogeografických analýz této skupiny a názory o historii evropských populací, z těchto výsledků se odvíjejících.

Molekulárně fylogeografické studie naznačují, že *A. flavicollis* je východomediteránním elementem, který přežil kvarterní zalednění ve dvou hlavních oblastech: (i) Balkánský polostrov a (ii) Turecko a Blízký východ, přičemž současné středoevropské populace jsou pokládány za produkt postglaciální migrace z Balkánského refugia. Naproti tomu, opakované fylogeografické analýzy celkem jednoznačně ukazují, že glaciálním refugiem *A. sylvaticus* byla oblast Pyrenejského polostrova a jižní Francie a tento druh je tedy jednoznačně západomediteránním elementem. Situace dalších druhů rodu je již méně zřetelná – v první řadě to platí o *A. uralensis* a formách s endemními mikroareály (*A. alpicola* atd.).

# Úvod - myšice rodu *Apodemus* v Evropě

Myšice rodu *Apodemus* Kaup, 1829 jsou drobní noční hlodavci z čeledi Muridae, vyznačující se dlouhým ocasem a končetinami, velkýma očima i ušními boltci, které vyčnívají ze srsti hlavy. Žijí hlavně na zemi a ve vegetaci, většina druhů dobře šplhá a skáče (Mendelssohn & Yom-Tov, 1999, Anděra & Horáček, 2005). Jsou omnivorní, živíci se nejrůznějšími semeny a plody, bezobratlými, ale i drobnými obratlovci a ptačími vejci (Mendelssohn & Yom-Tov, 1999).

Myšice rodu *Apodemus* představují dominantní prvek společenstev drobných zemních savců v celé Palearktické oblasti, včetně střední Evropy. Vyskytují se po celé Evropě i na přilehlých ostrovech, kromě severní Skandinávie, a v temperátních oblastech Asie až po Japonsko (Mendelssohn & Yom-Tov, 1999) (viz. Přílohy obr. 1-3). Obývají také ostrovy v mediteránu a jeden druh pronikl i do severní Afriky (Mitchell-Jones et al., 1999). V současnosti je rod *Apodemus* rozdělován do 3 – 4 podrodů: západopalearktický *Sylvaemus*, východoasijský *Apodemus*, *Argenteus* a *Gurkha* (Serizawa et al., 2000; Suzuki et al., 2003; Liu et al., 2004). A zahrnuje více než 20 druhů myšic (Musser & Carleton, 1993)

V Evropě je rod *Apodemus* reprezentován 6 druhy: *A. agrarius* Pallas, 1771; *A. alpicola* Heinrich, 1952; *A. flavicollis* Melchior, 1834; *A. mystacinus*, Danford & Alston, 1877; *A. sylvaticus* Linnaeus, 1758 a *A. uralensis* Pallas, 1811. Všechny evropské druhy kromě *A. agrarius*, jsou řazeny do podrodu *Sylvaemus*. *A. agrarius*, jediný evropský zástupce podrodu *Apodemus*, se vyznačuje rozsáhlým nesouvislým euroasijským rozšířením, které zasahuje až do Orientální oblasti (Mitchell-Jones et al., 1999). Vyskytuje se ve dvou izolovaných oblastech – na Dálném východě (Korea, Čína, Tajwan) a dále od Střední Asie a Kavkazu po střední Evropu (Anděra & Horáček, 2005). V Evropě žije od středního Německa a jižního Finska po severovýchodní Itálii Balkánský poloostrov (Makedonie, Řecko) (Mitchell-Jones et al., 1999) (viz. Přílohy obr. 4a). V České republice je rozšířená především na Moravě a ve Slezsku a v severním pohraničí (Anděra & Horáček, 2005). Evropského endemita představuje *A. alpicola*, která má svůj areál omezen na Alpy Francie, Švýcarska, Německa, Itálie a Rakouska (Mitchell-Jones et al., 1999) (viz. Přílohy obr. 4b). *A. flavicollis* na evropském kontinentu zasahuje ve Švédsku a Finsku severněji než *A. sylvaticus* až k 64° s. š. (Mitchell-Jones et al., 1999). Je rozšířená od východní Francie, Itálie a jižní Skandinávie po Ural, Kavkaz, Malou Asii a Blízký východ,

ostrůvkovitě se vyskytuje v jižní Anglii a Pyrenejích (Anděra & Horáček, 2005). Obývá také několik ostrovů v Jaderském a Egejském moři (Mitchell-Jones et al., 1999). Chybí v západní Francii, na většině území Pyrenejského poloostrova a na přilehlých ostrovech (Island, Irsko, Sardinie, Korsika, Sicílie, Kréta, Kypr) (Mitchell-Jones et al., 1999) (viz. Přílohy obr. 4c). *A. mystacinus* je rozšířená na Balkánském poloostrově, Malé Asii a Středním východě (Mitchell-Jones et al., 1999). Osídluje také ostrovy v Egejském a Jónském moři, v Jaderském moři je omezena pouze na ostrovy Korčula a Mljet (Niethammer, 1978; Mitchell-Jones et al., 1999) (viz. Přílohy obr. 4d). Nejrozšířenějším evropským druhem je *A. sylvaticus*, která obývá téměř celou Evropu (včetně Islandu) s výjimkou severní Skandinávie, (Anděra & Horáček, 2005). Jako jeden z nejběžnějších drobných savců žije po celém území České republiky stejně jako *A. flavicollis*. (Anděra & Horáček, 2005). Hojně je také rozšířená na hlavních mediteránních ostrovech (Sardinie, Korsika, Sicílie a Kréta) a jako jediný druh rodu *Apodemus* zasahuje až do severozápadní Afriky (Mitchell-Jones et al., 1999) (viz. Přílohy obr. 4e). *A. uralensis* má těžiště svého rozšíření ve východní části západního Palearktu (Anděra & Horáček, 2005). Areál *Apodemus uralensis* zahrnuje Českou republiku, Slovensko, jižní Polsko, severovýchodní Rakousko, Ukrajinu a zbývající část jihovýchodní Evropy a Blízký východ a pravděpodobně zasahuje až do severozápadní Číny a Mongolska (Mitchell-Jones et al., 1999, Anděra & Horáček, 2005). V České republice je rozšířená především na jižní Moravě a ve Slezku (Anděra & Horáček, 2005) (viz. Přílohy obr. 4).

V posledních dvaceti letech se studie zabývající se rodem *Apodemus* zaměřily na řešení fylogenetických vztahů, na určení počtu druhů v rámci rodu a na fylogeografickou historii rodu i jednotlivých druhů. Protože si je většina druhů velmi fenotypově podobná, především druhy z podrodu *Sylvaemus*, byly k řešení těchto otázek použity alternativní taxonomické metody. Tradiční morfometrii nahradila cytogenetika (Hirning et al., 1989; Bulatova et al., 1991; Zima & Macholán, 1995), proteinová elektroforéza (Filippucci et al., 1989; Mezhzherin & Zagorodnyuk 1989; Mezhzherin, 1990; Mezhzherin & Zykov, 1991; Vorontsov et al., 1992; Filippucci, 1992; Filippucci et al., 1996; Macholán et al., 2001; Filippucci et al., 2002), restriční analýza mtDNA (metoda RFLP) (Michaux et al., 1996, 1998a, 1998b; Chelomina, 1998; Libois et al., 2001), metoda RAPD (random amplified polymorphic DNA) (Bellinvia et al., 1999) a sekvenace mitochondriálních nebo jaderných genů (Serizawa et al., 2000; Martin et al. 2000; Michaux et al., 2002; Reutter et al., 2003; Suzuki et al., 2003; Bellinvia, 2004; Liu et al., 2004; Suzuki et al., 2004, Michaux et al., 2004; Michaux et al., 2005a, 2005b).

Původně Zimmermann (1962) rozdělil rod *Apodemus* do tří podrodů : *Apodemus* (*A. agrarius*), *Sylvaemus* (*A. mystacinus*, *A. flavicollis*, *A. sylvaticus*, *A. microps* / *uralensis*) a *Alsomys* (*A. speciosus*, *A. latronum*, *A. peninsulae*, *A. gurkha*, *A. draco* a *A. argenteus*). Později Musser et al. (1996) po důkladné revizi druhů rozhodli také o existenci tří podrodů, ale *Alsomys* zahrnuli do *Apodemus* (*A. agrarius*, *A. chevrieri*, *A. speciosus*, *A. peninsulae*, *A. latronum*, *A. draco*, *A. semotus*, *A. gurkha*), *Sylvaemus* ponechali (*A. sylvaticus*, *A. flavicollis*, *A. uralensis*, *A. mystacinus*, *A. fulvipectus*, *A. hermonensis*, *A. alpicola*, *A. arianus*, *A. hyrcanicus*, *A. pontius*, *A. rusiges*, *A. wardi*) a vyčlenili nový podrod *Argenteus* (zahrnující endemický druh Japonska *A. argenteus*).

Současné molekulárně fylogenetické studie založené na sekvenační analýze mitochondriálních a jaderných genů se shodují na existenci 3-4 podrodů (Serizawa et al., 2000; Suzuki et al., 2003; Liu et al., 2004). Suzuki et al. (2003), rozdělili rod *Apodemus* do třech podrodů, jak navrhl Musser et al. (1996), ale do podrodu *Argenteus* zahrnuli ještě asijského endemita z Nepálu, *A. gurkha*. Serizawa et al. (2000) a Liu et al. (2004) naznačují, že *A. gurka* představuje čtvrtý podrod (*Gurkha*) v rámci rodu *Apodemus* (viz. Přílohy obr. 5)

Z taxonomického hlediska je problematickým druhem *A. mystacinus*, postavení tohoto druhu je stále nejasné. Původně byly pro *A. mystacinus* popsány dva poddruhy: *A. m. mystacinus* Danford & Alston, 1877, obývající Malou Asii, Střední východ, ostrovy v Egejském moři a Krétu a *A. mystacinus epimales* Nehring, 1902 žijící na Balkánském poloostrově (Felten et al., 1973). Na základě morfologických a molekulárních dat se ukázalo, že jedinci z Balkánského poloostrova a Blízkého východu jsou skutečně odlišní a pravděpodobně se jedná o dva rozdílné druhy – *A. epimales* a *A. mystacinus* (Storch, 1977; Filippucci et al. 2002; Michaux et al. 2002; Vohralík et al. 2002; Bellinvia, 2004; Michaux et al., 2005b).

*A. mystacinus* byla zpočátku na základě morfologických odlišností zařazena do samostatného podrodu *Karstomys* Martino, 1939 (Storch, 1975). Někteří autoři ji, ale řadili mezi *Sylvaemus* a platnost tohoto podrodu neuznali (Niethammer 1978, Musser et al., 1996). Podle současných genetických dat *A. mystacinus* a *A. epimales* jsou pravděpodobně sesterské taxony k ostatním *Sylvaemus* druhům, ale opodstatněnost jejich vyčlenění do samostatného podrodu (*Karstomys*) zůstává nejasná (Michaux et al., 2002; Filippucci et al., 2002, Bellinvia et al., 2004).

Především na základě aplikací alternativních taxonomických kritérií, ale i tradičními morfometrickými metodami byly v Evropě a nejbližším okolí identifikované

nové taxony. Mezi nové evropské druhy patří *A. alpicola* Heinrich, 1952, která byla původně popsána jako horský poddruh *A. flavicollis*, později morfologické (Storch & Lütt, 1989) a genetické (Filippucci, 1992) studie ukázaly, že se jedná o samostatný druh. *A. microps* Kratochvíl & Rosický, 1952 vyskytující ve střední Evropě a *A. uralensis* Pallas, 1811 z Blízkého východu jsou nyní zařazovány do stejného druhu (Vorontsov et al., 1992; Filippucci et al., 1996; Bellinvia et al., 1999; Macholán et al., 2001; Filippucci et al., 2002). Názvosloví tohoto taxonu je v současnosti nejasné a často bývá uváděna pod oběma jmény. Na severozápadě České republiky (Žatecko) byla objevena izolovaná populace *A. microps* (*A. uralensis*), kterou Vohralík (2002) popsal jako nový poddruh - *A. microps cimrmani*. Tato populace představuje nejzápadnější rozšíření tohoto druhu v Evropě (Vohralík, 2002). Bývalé poddruhy *A. sylvaticus* – *charkovensis* (Ukrajina), *mosquensis* (Rusko), *ciscaucasicus* (severní Kavkaz) a *tscherga* (Altaj) se přiřadily (Mezhzherin 1990; Mezhzherin & Mikhailenko 1990) k *A. uralensis*. Orlov et al. (1996) taxony *mosquensis* a *ciscaucasicus* považují za samostatné druhy – *A. mosquensis* Ognev, 1913 a *A. ciscaucasicus* Ognev, 1924.

Vorontsov et al. (1992) zvýšili druhovou diverzitu na Kavkazu a Zakavkazsku. V těchto oblastech popsali tři nové druhy: *A. hyrcanicus* Vorontsov, Boyeskorov & Mezhzherin, 1992; *A. fulvipectus* Mezhzherin, Boyeskorov & Vorontsov, 1992 a *A. ponticus* Sviridenko, 1936, která byla dříve řazena k poddruhům *A. flavicollis*. A také zde doložili výskyt *A. uralensis* (Vorontsov et al. 1992). Vorontsov et al. (1992) uvedli, že *A. falzfeini*, která byla původně považovaná za nový druh Ukrajiny (Mezhzherin & Zagorodnyuk, 1989), je synonymem nově popsané *A. fulvipectus*. V současnosti je výskyt *A. fulvipectus* zaznamenán i v jižním Německu (Reutter et al., 2003) a pravděpodobně areál tohoto druhu není omezen pouze na Ukrajinu, Rusko a Kavkaz, jak původně Musser & Carleton (1993) předpokládali.

Druhovou identifikaci v Malé Asii, na Blízkém a Středním východě provedli Filippucci et al., (1989, 1996) a Macholán (2001). Překvapivým zjištěním tu byla skutečnost, že *A. sylvaticus* se v této oblasti nevyskytuje (Filippucci et al., 1996; Macholán et al., 2001). Filippucci et al. (1996), objevili pouze dvě malé lokality na západě Turecka při pobřeží Černého moře. Naopak běžně rozšířeným druhem po celém Turecku, Blízkém a Středním východě je *A. flavicollis*, jejíž výskyt byl předtím zaznamenán pouze na Kavkazu a Východní Anatolii (Filippucci et al., 1989, 1996; Macholán., 2001). V Íránu při pobřeží Kaspického moře Macholán et al. (2001) identifikovali neznámý taxon, který provizorně nazvali *A. cf. hyrcanicus*. Na území Izraele Filippucci et al. (1989) rozpoznali nový druh -

*A. hermonensis* Filippucci, Simson & Nevo, 1989. Později Filippucci (1996) a Macholán (2001) doložili, že tento druh se nevyskytuje pouze v Izraeli, ale je hojně rozšířený po celé Malé Asii, na Blízkém a Středním východě. V současnosti byl výskyt tohoto druhu také prokázán na evropských ostrovech Rhodos a Bozcaada v Egejském moři (Kryštufek & Mozetič Francky, 2005). Podle Kryštufka (2002) pro *A. hermonensis*, existuje platné staré synonymum - *Apodemus ionicus*, které by se mělo pro tento druh používat.

Jako jedni z nejhojnějších evropských savců se myšice rodu *Apodemus* staly také tradičním modelovým objektem ekologických studií (Holišová, 1960, 1967; Holišová et al., 1962; Pelikán 1964, 1965, 1966; Obrtel, 1973; Storch 1977). Mnohé z těchto studií poskytují podrobné informace o mezidruhových odlišnostech a specifických habitatových preferencích jednotlivých druhů (Zejda 1965, 1967; Mirić, 1966; Spitzenberger, 1973).

Všechna získaná data se shodují na tom, že myšice jsou typickou součástí lesních a interglaciálních společenstev, v glaciálních společenstvech chybí (Horáček & Ložek, 1988). Lesní stanoviště všech typů obývá *A. flavicollis*, přednost však dává listnatým a smíšeným lesům (Niethammer, 1978; Mitchell-Jones et al., 1999; Anděra & Horáček, 2005). Osídluje také chladnější místa na březích vodních toků, sady nebo polní remízky (Anděra & Horáček, 2005). *A. sylvaticus* žije především v otevřené krajině, v níž se soustřeďuje při okrajích lesních porostů, v hájích, sadech, na křovinatých stráních a mezích, v polích, rákosinách a podél vodních toků, ale vyskytuje se i v lesích (včetně smrkových monokultur) (Anděra & Horáček, 2005). Původně stepním druhem je *A. uralensis/microps* (Anděra & Horáček, 2005). Preferuje převážně suché bezlesé oblasti, v menší míře obsazuje vlhčí místa při březích potoků a řek, louky, neobdělávané plochy, řídké prosvětlené listnaté lesíky a křovinaté paseky (Mitchell-Jones et al., 1999; Anděra & Horáček, 2005). Obyvatelem otevřené krajiny je také *A. agrarius*, která vyhledává vlhčí stanoviště s bujnou vegetací, včetně rákosin (Anděra & Horáček, 2005). Osídluje také pole, meze, pastviny a okraje menších lesů (Mitchell-Jones et al., 1999; Anděra & Horáček, 2005). Rozlehlejším lesním porostům se vyhýbá (Anděra & Horáček, 2005). *A. mystacinus* je obyvatelem skalních a kamenitých stanovišť s řídkým travnatým a křovinatým porostem (Niethammer, 1978; Mitchell-Jones et al., 1999). Horským druhem je *A. alpicola*, která obývá skalnatá a suťovitá místa v zalesněných oblastech Alp (Mitchell-Jones et al., 1999).

Ale otevřenou otázkou stále zůstává historie výskytu jednotlivých druhů na našem území a průběh utváření současného obrazu jejich rozšíření. Přestože je ze střední Evropy k dispozici poměrně velké množství fosilních dokladů, včetně početných nálezů ze souvislých stratigrafických sledů pokrývajících úsek posledního glaciálu a holocénu.

Druhové určení většiny dokladů chybí. Fosilní záznam poskytuje orientační informace týkající se celého rodu. Z fosilních dokladů je zřejmé, že myšice se objevují teprve v průběhu holocénu, vyššího zastoupení dosahují však poměrně pozdě – až od středního holocénu.

I přes poměrně bohatý fosilní záznam, konkrétní informace týkající se historie výskytu jednotlivých druhů na území České republiky a Slovenska, nejsou zatím jasné, protože odpovídající zhodnocení tohoto fosilního materiálu nebylo dosud provedeno. Tyto otázky by měly být řešeny v rámci magisterské práce. Jejím cílem by měla být (i) druhová identifikace fosilních dokladů, (ii) časové vymezení výskytu jednotlivých druhů rodu na území České republiky a Slovenska a (iii) morfometrická charakteristika jednotlivých fosilních populací, případně identifikace možných vývojových trendů.

Tématem bakalářské práce je shrnutí poznatků o areálové historii rodu *Apodemus*, tak jak je poskytují současné molekulárně fylogeografické analýzy.

# Areálová historie rodu *Apodemus* ve světle molekulární fylogeografie

Areálová historie myšic rodu *Apodemus* se stala v posledních letech předmětem celé série podrobných molekulárně fylogeografických studií. Výsledky těchto studií ukázaly význam molekulárně genetických dat k porozumění efektů kvartérních klimatických změn na vnitrodruhovou diverzitu evropské fauny a poskytly zřetelný obraz vlivu kvartérního zalednění na genetickou a geografickou strukturu rodu *Apodemus* (Michaux et al., 2003).

Zpočátku byla fylogeografická problematika zohledňována analýzou allozymové proměnlivosti a restrikční analýzou mtDNA (metoda RFLP). Objektem těchto studií (Michaux et al. 1996, 1998 a,b; Libois et al., 2001) byl druh *A. sylvaticus*, reprezentovaný seriemi jedinců z různých lokalit západní Evropy a středozevní oblasti včetně severní Afriky. Získaná data o alelických frekvencích allozymů resp. zastoupení zkoumaných restrikčních fragmentů mtDNA (restriction patterns) v jednotlivých lokálních populacích byla souborně hodnocena technikami podobnostní analýzy (UPGMA, neighbour-joining). Tyto studie nepotvrdily počáteční představu (Britton-Davidian et al. 1991) o strukturaci *A. sylvaticus*, která rozdělovala populace tohoto druhu do dvou skupin: (i) Francie a Itálie a (ii) Řecko a Španělsko (viz. Přílohy obr. 6).

V první studii se Michaux et al. (1996) zaměřili na otázku genetické homogenity *A. sylvaticus* v západní Evropě a na vztahy mezi ostrovními a kontinentálními populacemi tohoto druhu v centrálním mediteránu. Celkově analyzovali 258 vzorků pocházejících z 24 lokalit (Belgie, Francie, Itálie, Sardinie, Korsika a Elba). Na základě výsledků získaných elektroforézou 33 allozymů a 57 restrikčních fragmentů mtDNA vytvořili UPGMA dendrogramy. Dendrogram založený na restrikčních fragmentech ukázal dvě hlavní skupiny, které byly od sebe oddělené poměrně vysokou hladinou genetické divergence ( $p$ ) : 3.5%. Dvě získané skupiny byly následující: (i) Populace od Pyrenejí po Belgii (přiřazeny do nominálního poddruhu *A. sylvaticus sylvaticus*) ; (ii) Populace pocházející z Apeninského poloostrova a Korsiky, geneticky homogenní avšak odlišné od ostatních populací na úrovni samostatného poddruhu, pro něž je použitelné jméno *A. sylvaticus milleri* de Beaux, 1926 (Michaux et al., 1996). Specifičnost této formy je interpretována

jako důsledek izolujícího efektu Alp, které v areálové historii skupiny hrály roli zásadní biogeografické bariéry (Michaux et al., 1996). Podle Michaux et al. (1996) fosilní nálezy dokládají, že druh *A. sylvaticus* nebyl přítomen na Korsice a Sardinii ještě začátkem 3000 BP a objevil se zde až během pozdního neolitu (Sanges & Alcover, 1980; Vigne, 1983) – velmi pravděpodobný je tedy antropogenní původ současných populací *A. sylvaticus* na Korsice a Sardinii. Michaux et al. (1996) naznačili, že Sardinie byla pravděpodobně kolonizována přímo z Itálie, zatímco populace na Korsice pocházejí z Eltruria přes Elbu. Kolonizace Korsiky z Eltruria přes Elbu byla později potvrzena Filippucci et al. (2002), přítomností alely Got-2<sup>92</sup> na posledních dvou ostrovech.

Výsledné hodnoty vnitrodruhové divergence Michaux et al. (1996) porovnali s hodnotami, které již byly získány předchozí fází výzkumu pro *A. sylvaticus* ze Skandinávie (Tegelström & Jaarola, 1989). Na základě tohoto srovnání Michaux et al. (1996) *A. sylvaticus* ze Skandinávie, Velké Británie a Irska přiřadili do jedné geneticky příbuzné linie s francouzskými a belgickými populacemi.

Předmětem výzkumu následující studie Michaux et al. (1998a), se staly populace *A. sylvaticus* obývajících Sicílii. Hlavním cílem této studie bylo objasnění taxonomického postavení těchto populací. Za účelem vyřešit tuto otázku, Michaux et al. (1998a) analyzovali na základě metody RFLP 85 *A. sylvaticus* ze západního mediteránu (jižní Francie, Korsika, Sardinie, Itálie, Sicílie, Marettimo) a jeden vzorek *A. flavicollis* z Itálie, který použili ve fylogenetické analýze jako outgroup. Z 86 analyzovaných jedinců získali 45 odlišných mtDNA haplotypů, které vyhodnotili technikou neighbour-joining. Výsledky ukázaly, že *A. flavicollis* byla zřetelně oddělená od *A. sylvaticus* (průměrná hladina genetické divergence (p) : 5.9%; bootstrap value (BP) : 100%). Analýza rozdělila všechny haplotypy *A. sylvaticus* do třech skupin: (i) jedinci z Itálie, Korsiky a Sardinie ; (ii) jižní Francie ; (iii) Sicílie a Marettimo. Tyto tři skupiny byly charakterizované poměrně vysokou hladinou genetické divergence (p : 2.6 – 3.8%). Hypotéza rozdělující *A. sylvaticus* do třech skupin byla také vysoce podporována (BP : 97% pro oddělení sicilských populací od zbývajících dvou skupin a BP : 92% mezi jedinci z Itálie a Francie) (viz. Přílohy obr. 7).

K izolaci sicilských populací od ostatních dvou linií došlo pravděpodobně před 750 000 lety (Michaux et al., 1998 a). Paleontologická data dokládají, že přítomnost *A. sylvaticus* na Sicílii je následek holocenní antropogenní introdukce (Michaux et al., 1998a).

Zásadním poznatkem v uvedené studii je existence třetí mtDNA linie *A. sylvaticus*. Výskyt nově objevené linie je omezený na dva ostrovy - Sicílii a Marettimo (Michaux et

al., 1998 a). *A. sylvaticus* obývající tyto dva ostrovy Michaux et al. (1998a) přiřazují k poddruhu *A. sylvaticus dichrurus* Rafinesque, 1814.

V předchozích studiích (Michaux et al., 1996; Michaux et al., 1998a), byla identifikována přítomnost tří hlavních mtDNA linií *A. sylvaticus* v Evropě. Avšak stále zůstala řada otázek nezodpovězených především týkající se postavení *A. sylvaticus* na Pyrenejském poloostrově a role Pyrenejí při postglaciální kolonizaci (Michaux et al. 1998b).

Touto problematikou se zabývali Michaux et al. (1998b). Analyzovali 158 jedinců ze 30 lokalit, odchycených na území Portugalska, Španělska, Francie, Itálie, Sicílie a na třech Baleárských ostrovech (Ibisa, Malorka, Menorka).

Celkově získali 79 odlišných mtDNA haplotypů, které porovnali mezi sebou a s jedním vzorkem *A. flavicollis* pomocí techniky neighbour-joining. Výsledky ukázaly, že *A. flavicollis* se velice odlišovala od všech ostatních *A. sylvaticus* vzorků (průměrná hladina genetické divergence ( $p$ ) : 6.27% ; BP: 100%) (Michaux et al., 1998b). Restrikční fragmenty *A. sylvaticus* z Pyrenejského poloostrova se velice podobaly linii, která je rozšířená od Pyrenejí po Skandinávii a s menšími odchylkami rovněž s jedinci, kteří pocházeli z jižní Francie. Ukázalo se tedy, že *A. sylvaticus* na Pyrenejském poloostrově jsou součástí této linie. Zatímco vzorky z Itálie a Sicílie tvořily dvě samostatné skupiny. Mezi těmito třemi liniemi našli relativně vysokou divergenci ( $p = 2.6-3.7%$  ; BP: 97% pro oddělení italské linie od sicilské a 90% pro separaci Itálie od zbytku Evropy) (viz. Přílohy obr. 8). Divergence uvnitř španělsko-francouzské skupiny byla nízká ( $p = 1,1%$ ), podobná té, kterou získali Michaux et al. (1996) ( $p = 0.8%$ ).

Tyto výsledky naznačily, že Pyreneje nepředstavovaly biogeografickou bariéru pro *A. sylvaticus* a že postglaciální rekolonizace západní Evropy má původ v populacích, které během poslední doby ledové obývaly refugia situovaná v jižní Francii nebo na Pyrenejském poloostrově (Michaux et al., 1998b).

Jedinci, kteří byli odchyceni na Baleárských ostrovech vykazovali velmi nízkou hladinu genetické divergence ( $p = 0.3%$ ) (Michaux et al., 1998b). Jejich restrikční fragmenty byly nejpodobnější poměrem u španělských a francouzských populací a tyto restrikční fragmenty nejsou přítomné v severní Africe (Michaux et al., 1998b). Z toho vyplynulo, že populace *A. sylvaticus* na Baleárských ostrovech jsou také součástí linie, která má severozápadoevropské rozšíření a velmi pravděpodobně byly introdukovány ze Španělska či z jižní Francie (Michaux et al., 1998). Podle Michaux et al. (1998b),

genetická podobnost mezi populacemi sousedních ostrovů a jejich seskupení do samostatné větve v kladogramu, nasvědčuje o malé zakladatelské populaci.

Dále Michaux et al. (1998b) vyloučili přítomnost dvou podruhů *A. sylvaticus* (*A. sylvaticus dichrurus* a *A. s. callipides*) na Pyrenejském poloostrově, předpokládanou v dřívějších shrnutích (Saint Girons 1966), protože restriční fragmenty mtDNA všech populací z celého Pyrenejského poloostrova jsou do značné míry homogenní. *A. sylvaticus* vyskytující se na Pyrejském poloostrově přiřazují Michaux et al. (1998b) do poddruhu *A. sylvaticus sylvaticus*.

Uvedená studie (Michaux et al. 1998b) potvrdila dosavadní představu o přítomnosti tří geograficky a geneticky odlišných linií *A. sylvaticus* v Evropě. První linie je rozšířená od Pyrenejského poloostrova po Skandinávii, druhá se vyskytuje na Apeninském poloostrově, Korsice, Elbě a Sardinii, třetí linie je omezená na Sicílii a Maretimo (Michaux et al., 1996; Michaux et al., 1998a,b). Důležitým zjištěním tu je i fakt, že populace z Pyrenejského poloostrova jsou součástí severozápadoevropské linie a tedy, že Pyreneje nehrály roli biogeografické bariéry při postglaciální kolonizaci.

V návazné studii Libois et al. (2001) řeší původ severoafrických populací *A. sylvaticus*. Srovnali genetickou variabilitu mtDNA získanou z 28 severoafrických jedinců odchycených v Maroku a Tunisu s evropskými jedinci z Portugalska, Španělska, Francie, Baleárských ostrovů, Itálie, Korsiky, Sicílie a Sardinie, kteří již byli analyzováni v předchozích studiích (Michaux et al., 1996; Michaux et al., 1998 a,b). Do analýzy zahrnuli 1 jedince reprezentující Balkánský poloostrov (Bulharsko). Jako outgroup použili 2 vzorky *A. flavicollis*. Získali 53 odlišných haplotypů ze 130 zkoumaných jedinců. Analýzy ukázaly, že oba vzorky *A. flavicollis* byly zřetelně oddělené od ostatních živočichů ( $p > 7\%$ ; BP: 100%). Opět potvrdili existenci tří genetických linií *A. sylvaticus* na základě odlišných restričních fragmentů mtDNA, jako v předchozích studiích (Michaux et al, 1996; Michaux et al 1998 a,b), ale italskou linii rozšířili o Balkánský poloostrov (viz. Přílohy obr. 9).

Severoafrické *A. sylvaticus* tvořili vysoce podporovanou podskupinu uvnitř západoevropské linie (BP: 93%). Mezi 28 severoafrickými živočichy získali pouze 4 odlišné haplotypy, které se vyznačovali velice nízkou hladinou genetické divergence ( $p = 0.76\%$ ). Tato divergence byla významně nižší než, ta kterou našli u fylogeneticky příbuzných kontinentálních skupin (Francie: 1.19%, Španělsko: 0.96%). Objevili relativně nízkou genetickou divergenci ( $p = 1.44\%$ ) mezi mtDNA haplotypy ze Španělska a severní

Afriky, takové hodnoty jsou obvykle získávány mezi jedinci, kteří byli odchyceni na stejných lokalitách (Libois et al., 2001).

Výsledky z fylogenetické analýzy potvrdily, že všichni jedinci ze severní Afriky patří k druhu *A. sylvaticus* (Libois et al., 2001). Novým poznatkem zde bylo, že severoafrické *A. sylvaticus* jsou součástí severozápadoevropské linie (Libois et al., 2001). Severoafrické populace mají pravděpodobně původ v jihozápadní Evropě (Pyrenejský poloostrov), protože zde byly nalezeny fylogeneticky nejpříbuznější haplotypy (Libois et al., 2001). Libois et al. (2001), naznačili, že jejich přítomnost v severní Africe je recentní a antropogenní introdukce pravděpodobně nastala přes Gibraltar. Podle Libois et al. (2001) tato hypotéza odpovídá i paleontologickým datům (Jaeger 1975).

Libois et al. (2001), nenalezli na základě mtDNA restričních fragmentů žádné genetické odlišnosti mezi severoafrickými *A. sylvaticus*. Touto skutečností vyvrátili představu (Saint Girons & Van Bree, 1963) o přítomnosti třech poddruhů *A. sylvaticus* v severní Africe: *A. sylvaticus hayi* Waterhouse, 1837; *A. s. ifranensis* Saint Girons & Van Bree, 1963 a *A. s. rufescens* Saint Girons & Van Bree 1963. Libois et al. (2001) přiřadili veškeré severoafrické populace do poddruhu *A. s. hayi*. Homogenitu severoafrických populací později ověřili také Filippucci et al. (2002).

Novými poznatky z výše uvedených studií (Michaux et al., 1996, 1998a, 1998b ; Libois et al., 2001) je přítomnost tří geneticky a geograficky odlišných linií *A. sylvaticus*. První linie se vyznačuje rozsáhlým severozápadoevropským rozšířením. Všechny populace z těchto oblastí reprezentují poddruh *A. s. sylvaticus*. Podskupinu této linie tvoří introdukované severoafrické populace, které jsou přiřazeny k poddruhu *A. s. hayi*. Rozšíření druhé linie je omezeno na dva ostrovy Sicílie a Marettimo. Jedinci obývající tyto dva ostrovy představují poddruh *A. s. dichrurus*. Poslední třetí linie se vyskytuje na Apeninském a Balkánském poloostrově a na ostrovech Korsika, Sardinie a Elba. *A. sylvaticus* obývající tyto oblasti jsou zahrnuty do poddruhu *A. s. milleri*.

Další etapu fylogeografických studií rodu *Apodemus* předznamenává aplikace sekvenační analýzy a kladistických technik fylogeografických srovnání. Tyto studie (Michaux et al., 2003, 2004, 2005a, 2005b) se nesoustředily pouze na *A. sylvaticus*, ale i na *A. flavicollis* a *A. mystacinus*.

Zásadní studií důsledně využívající tohoto přístupu byla práce Michauxe et al. (2003). Jejím objektem byl opět druh *A. sylvaticus*, operačním molekulárním markerem pak mitochondriální gen cytochrom b (965 bp). Do analýzy byl zahrnut materiál *A. sylvaticus* ze 40 lokalit z celého evropského rozšíření (Španělsko, Portugalsko, Francie,

Itálie, Sicílie, Belgie, Holandsko, Německo, Česká republika, Švédsko, Jugoslávie, Slovinsko, Ukrajina, Řecko, Rumunsko, Turecko) včetně mediteránu a severní Afriky (Tunis, Maroko). Použili tři odlišné techniky fylogenetické analýzy: neighbour-joining (NJ), maximum parsimony (MP) a minimum spanning networks. Jako outgroup zvolili dva vzorky *A. flavicollis* a *A. mystacinus*.

U celkového počtu 102 jedinců *A. sylvaticus* bylo identifikováno 99 haplotypů. Fylogenetické analýzy ukázaly (NJ a MP), že 99 haplotypů bylo rozděleno do dvou hlavních skupin: (i) populace z Itálie, Balkánu a Sicílie (BP : 97% NJ/ 93% MP), tato skupina byla tvořena dvěma zřetelnými podskupinami: 1) Sicílie (BP : 100/100%) a 2) oblast Balkánu a Apeninského poloostrova (BP : 97/81%) ; (ii) Severní Afrika a západní, severní a střední Evropa (BP=88/76%), i tato skupina se rozdělovala na dvě podskupiny : 3 ) Severní Afrika (BP : 100/100%) a 4) oblast severní, západní a střední Evropy. Doklady další geografické strukturace nebyly nalezeny s výjimkou slabě podporované malé podskupiny (BP : 51%), odpovídající španělským a jihofrancouzským populacím. I třetí provedená analýza (minimum spanning network) shodně rozdělila populace *A. sylvaticus* do čtyřech genetických linií (viz. Přílohy obr. 10). Z fylogeografického hlediska lze výsledky provedených analýz interpretovat jako doklad hlubokého rozštěpení evropské kontinentální populace *A. sylvaticus* do dvou divergentních genetických linií, které se nepřekrývají ve svém geografickém rozšíření a jsou od sebe oddělené vysokou hladinou genetické divergence (5.4% K2P genetic distance), dále strukturovaných do čtyř hlavních genetických linií (Michaux et al. 2003). Toto geografické členění může být vysvětleno izolací dvou *A. sylvaticus* skupin ve dvou odlišných refugiích (Pyrenejský poloostrov a Apeninský/Balkánský poloostrov) (Michaux et al., 2003). Hewitt (1996) předpokládali, že rychle expandující populace z refugií trpěly efektem hrdla lahve, který je spojený se ztrátou alelické diversity a jeho důsledek je menší genetická diverzita v nově kolonizovaných oblastech. Na rozdíl od toho se očekává, že populace žijící v mediteránních refugiálních oblastech byly méně ovlivněny klimatickými změnami a jsou geneticky heterogenní (Michaux et al., 2003).

Analýza nukleotidové diverzity potvrdila, že zásadní refugiální oblastí *A. sylvaticus* byla jihozápadní Evropa (Pyrenejský poloostrov a jižní Francie). Populace z této oblasti charakterizuje významně vyšší genetická diverzita než v severních populacích ( $P < 0.05$ ). Proto tedy, je pravděpodobné, že druh *A. sylvaticus* rekolonizoval celou západní část Palearktické oblasti z jihozápadní Evropy na konci poslední doby ledové (Michaux et al., 2003). Tento scénář expanze Michaux et al. (2003) potvrdili i pro všechny čtyři genetické

linie permutačními testy. Tento závěr je v dobrém souladu rovněž se skutečností, že Pyreneje nebyly efektivní bariérou pro severní expanzi *A. sylvaticus*, zjištěnou v dřívějších studiích (Michaux et al. 1998b). Důležitým poznatkem je i nízká genetická diverzita v populacích z Itálie a Balkánu, kterou Michaux et al. (2003) vysvětlují genetickým efektem hrdla lahve, který předběžně situují do některé z posledních ledových dob, kdy radikální zmenšení velikosti mohlo být důsledkem klimatických podmínek glaciálu. Genetický efekt hrdla láhve by mohl také vysvětlit proč Italsko-Balkánské populace nepřispívaly k postglaciální kolonizaci severské Evropy, protože expanze mohla nastat pouze po populačním vzrůstu (Michaux et al., 2003).

Michaux et al. (2003) také odhadli doby divergence pro získané *A. sylvaticus* linie na základě dvou paleontologických kalibračních bodů (*A. mystacinus/Sylvaemus* 7 mil let (Aguilar & Michaux, 1996; Michaux et al., 1997) a *A. sylvaticus/A. flavicollis* 4 mil let (Michaux & Pasquier, 1974)): 1.5 – 1.6 mil let BP mezi původními haplotypy, které vedly ke dvěma evropským liniím (italsko-balkánská a severní, západní a střední Evropa), 0.8 – 0.9 mil let BP pro oddělení sicilských populací od italsko-balkánské skupiny a 0.4 mil let BP pro oddělení severoafrických populací. Z toho vyplývá, že vnitrodruhová fylogeografická strukturace uvnitř *A. sylvaticus* se vyvinula během kvartéru (Michaux et al. 2003). Podle Michaux et al. (2003) tento výsledek se shoduje s hypotézami Seddon et al. (2001) a Hewitt (2001).

Populace na Sicílii se zdají být velmi odlišné a mají velmi vysokou hladinu nukleotidové diverzity. To zdůrazňuje významnost tohoto ostrova jako „hot spot“ pro vnitrodruhovou genetickou diverzitu *A. sylvaticus*.

Odhadnutá doba divergence (0.4 mil let: střední pleistocén) pro oddělení severoafrických populací od evropských se shodovala s předchozí studií (Libois et al., 2001), která byla založená na metodě RFLP (Michaux et al., 2003). Permutační testy, koalescenční analýza, nízká hodnota nukleotidové diverzity a vysoký počet haplotypů, ale nasvědčují o recentní (ca 10 000 let) kolonizaci severní Afriky (Michaux et al. 2003). Podle Michaux et al. (2003) tato hypotéza je také podpořena paleontologickými daty (Jaeger, 1975). Z těchto důvodů Michaux et al. (2003) shrnují, že *A. sylvaticus* v severní Africe pocházejí z jihozápadní Evropy, nejpravděpodobněji jako výsledek antropogenní introdukce.

Výsledky z této studie ukázaly významnost vlivu kvartérního zalednění na genetickou a geografickou strukturaci *A. sylvaticus* (Michaux et al., 2003). Analýzy ukázaly nejvyšší genetickou variabilitu na Pyrenejském poloostrově a jižní Francii ve

srovnání s ostatními evropskými oblastmi a z těchto oblastí *A. sylvaticus* rekolonizovala téměř celou Evropu (Michaux et al., 2003).

V další fázi fylogeografického výzkumu, který využívá sekvenační analýzu se Michaux et al. (2004), zaměřili na areálovou historii druhu *A. flavicollis*. Jako marker opět zvolili mtDNA cytochromu b (cyt b) (972bp). Analyzovali 124 jedinců odchycených na 53 lokalitách (Belgie, Bělorusko, Česká republika, Estonsko, Francie, Holandsko, Itálie, Íran, Israel, Jugoslávie, Litva, Maďarsko, Makedonie, Německo, Rakousko, Rumunsko, Rusko, Řecko, Slovensko, Španělsko, Švédsko, Švýcarsko, Turecko, Ukrajina), které pokrývají celé geografické rozšíření tohoto druhu. Mezi 124 sekvencemi cyt b identifikovali 95 odlišných haplotypů. Jako outgroup použili ve fylogenetických analýzách vzorky *A. mystacinus* (Sýrie, Řecko) a *A. sylvaticus* (Itálie, Řecko). Souběžně aplikovali tři odlišné techniky fylogenetické analýzy - neighbour-joining (NJ), maximum parsimony (MP) a minimum spanning networks. Všechny tři analýzy rozdělily populace *A. flavicollis* do dvou hlavních skupin: (i) všechny populace z Evropy a Ruska.; (ii) jedinci z Turecka a Blízkého a Středního východu. Tyto dvě hlavní skupiny se nepřekrývají ve svém geografickém rozšíření a jsou od sebe oddělené vysokou hladinou genetické divergence (7.2% K2P genetic distance) a jsou vysoce podporované (BP: 100% NJ/100% MP). První skupina se dále rozpadala na 3 podskupiny, které se překrývají ve svém geografickém rozšíření : 1) Celá západní Palearktická oblast (západní, severní (Švédsko), východní Evropa a všechny tři mediteránní poloostrovy (Pyrenejský, Apeninský a Balkánský)) (BP: 61/53%) ; 2) Severní Evropa (Rusko, Estonsko, Litva, Bělorusko, Švédsko), oblast Balkánu (Řecko, Rumunsko) a západní Turecko, (BP: 82/70%) ; 3) Jižní Rusko, Rumunsko a bývalá Jugoslávie (viz. Přílohy obr. 11). Genetická divergence mezi těmito třemi podskupinami byla nízká 1.3% K2P distance mezi 1) a 2) a 1.9% mezi 1), 2) a 3).

Výsledky ukázaly, že oblast Itálie a Balkánu měla nejvyšší nukleotidovou diverzitu ( $\pi = 0.015$ ) ( $p < 0,05$ ) v porovnání s ostatními evropskými oblastmi. Naopak populace *A. flavicollis* z potenciálního refugia na jihozápadě Evropy (Pyrenejský poloostrov a jižní Francie) měly nejmenší nukleotidovou diverzitu ( $\pi = 0.0054$ ) a nezahrnovaly zde ani žádné specifické haplotypy. Z analýzy nukleotidové diverzity vyplynulo, že oblast Itálie a Balkánu byla refugiem pro *A. flavicollis* (Michaux et al., 2004). Všechny tři podskupiny pravděpodobně přežily poslední kvartérní zalednění ve třech nezávislých refugiích na Balkánském poloostrově, kde se také odděleně rozcházely (Michaux et al., 2004). Během holocénu rekolonizovali celou Palearktickou oblast (Michaux et al., 2004). Tento scénář expanze také potvrzen permutačními testy pro všechny genetické podskupiny (Michaux et

al., 2004). Ke shodnému závěru postglaciální kolonizace také dospěli Filippucci et al. (2002)

Na základě dvou kalibračních bodů (*A. mystacinus/Sylvaemus* 7 mil let (Aguilar & Michaux, 1996; Michaux et al., 1997) a *A. sylvaticus/A. flavicollis* 4 mil let (Michaux & Pasquier, 1974)), které byly odvozeny z paleontologických dat vypočítali dobu divergence jednotlivých genetických linií *A. flavicollis*. Doba divergence mezi dvěmi hlavními skupinami byla 2.2-2.4 mil let; mezi podskupinami 1), 2) a 3) byla 0.5-0.6 mil let a mezi 1) a 2) 0.4 mil let (Michaux et al., 2004).

Získanou geografickou strukturu Michaux et al. (2004), vysvětlují izolací *A. flavicollis* ve dvou odlišných refugiích (oblast Itálie a Balkánu, Turecko a Blízký východ). K této izolaci došlo na přelomu terciéru a kvartéru (2.2-2.4 mil let), jak naznačila odhadnutá doba divergence (Michaux et al., 2004). Během období 0.4-0.6 mil let BP došlo k oddělení ancestrálních haplotypů, které vedly ke třem odlišným podskupinám *A. flavicollis* (Michaux et al., 2004). Z toho vyplývá, že vnitrodruhová strukturace *A. flavicollis* se vyvíjela v průběhu středního a pozdního kvartéru (Michaux et al., 2004).

Populace z Turecka a Blízkého východu byly zřetelně oddělené od evropských a z tohoto důvodu se předpokládá, že tyto oblasti až do nedávné doby nebyly kolonizovány evropskými formami a sloužily jako dlouhodobá refugia pro tento druh (Michaux et al., 2004). To se shoduje s hypotézou Hewitt, (1999), která naznačovala, že Turecko bylo významné refugium pro evropské druhy I s výsledky shrnutými v přehledové práci Biltona et al. (1998), ukazující, že oblast Balkánu a Turecka představuje významnou refugiální oblast palaeoendemismu a místní populace drobných savců jsou od dnešních středoevropských populací vesměs značně odlišné. Výsledky, které Michaux et al. (2004), získali permutačními testy a koalescenční analýzou, nasvědčují, že severní populace *A. flavicollis* jsou produktem poměrně nedávné expanze a jejich genetická diverzita je výrazně ovlivněna efektem hrdla lahve. Recentní expanze *A. flavicollis* v Turecku a na Blízkém východě je pravděpodobně spojená s významnými vegetačními změnami, které jsou charakteristické pro tento region v posledních 20 000 letech (Michaux et al., 2004).

Výsledky Michauxe et al. (2004), nasvědčily, že populace z Turecka a Blízkého východu nerekolonizovaly severní Evropu a Rusko. Tuto skutečnost vysvětlili přítomností významných biogeografických bariér - Černé moře a Kavkaz, které zabránili kontaktu mezi evropskými a asijskými živočichy. Tyto populace nekolonizovaly ani oblast Balkánu, pravděpodobně protože residentní populace *A. flavicollis*, osídlující Balkán, představovaly bariéru pro jejich šíření (Michaux et al., 2004).

Výsledky této studie naznačily, že Pyrenejský poloostrov nepředstavoval refugium pro *A. flavicollis* během posledního zalednění (Michaux et al., 2004). Podle Michaux et al. (2004) tato skutečnost je potvrzena i paleontologickými daty, které dokládají přítomnost tohoto druhu pouze z konce spodního a začátkem svrchního Pleistocénu (Sese, 1994). *A. flavicollis* nepřežila poslední glaciál ani v oblasti západní, východní a severní Evropy (Michaux et al., 2004). Podle Michaux et al. (2004) tato hypotéza je také doložena paleontologickými nálezy (Cordy, 1984). Refugia pro *A. flavicollis* byla situovaná ve dvou hlavních oblastech: (i) Itálie a Balkán a (ii) Turecko a Blízký východ (Michaux et al., 2004). Populace z Balkánu rekolonizovali celou západní Palearktickou oblast (Michaux et al., 2004). Populace z Turecka a Blízkého východu jsou odlišné od evropských a nekolonizovali do Evropy. Populace z Turecka a Blízkého východu jsou odlišné od evropských a ruských a mohou být popsány jako zvláštní poddruh, ale pro definitivní závěr vztahující se k taxonomickému postavení je nutné tuto skutečnost ověřit dalšími markery (jaderné geny) (Michaux et al., 2004).

V následující studii Michaux et al. (2005a), srovnali fylogeografické struktury *A. flavicollis* a *A. sylvaticus* na základě sekvencí mtDNA cytochromu b (965bp). Celkově analyzovali 98 *A. flavicollis* ze 39 lokalit z celého evropského rozšíření, které porovnali se 102 *A. sylvaticus* ze 40 lokalit, které již zhodnotili Michaux et al. (2003).

Identifikovali 79 haplotypů mezi 98 *A. flavicollis* sekvencemi cyt b. Jako outgroup použili *A. sylvaticus* a *A. mystacinus*. Fylogenetická analýza (NJ, MP) rozdělila *A. flavicollis* do třech skupin: (i) severní Evropa (Rusko, Estonsko, Litva, Bělorusko, Švédsko) a Balkánský poloostrov (Řecko, Rumunsko a evropské Turecko) (BP: 82%); (ii) jižní Rusko, Rumunsko, Jugoslávie (BP: 99%); (iii) celá západní Palearktická oblast (BP: 61%) (viz. Přílohy obr. 12). Druhá skupina se zdála být blíže příbuzná k první než ke třetí. Genetická divergence mezi těmito skupinami byla nízká (mezi 1.3% a 1.9% K2P distance). Minimum spanning network analysis ukázala podobné výsledky.

Zhodnocení nukleotidové diverzity ukázalo, že oblast Itálie a Balkánu měla nejvyšší nukleotidovou diverzitu ( $P < 0,05$ , t-test) ve srovnání s populacemi ze všech ostatních oblastí, zatímco nejnižší diverzita byla konstatována v jihozápadní Evropě. Populace z Ruska jsou charakterizovány vyšší hladinou nukleotidové a haplotypové diversity, korespondující s přítomností dvou odlišných skupin, které se v této oblasti vyskytují syntopicky.

Vypočítali přibližnou dobu divergence mezi získanými mtDNA liniemi. Pro analýzu byl použit postup 2 kalibračních bodů odvozených z paleontologických dat: doba

divergence mezi *A. mystacinus* a *A. flavicollis/A. sylvaticus* je 7 mil let. Mezi *A. flavicollis* a *A. sylvaticus* je 4 mil let (Michaux & Pasquier, 1974; Aguilar & Michaux, 1996; Michaux et al., 1997). Doba divergence mezi jednotlivými genetickými skupinami byla 0.6-0,5 mil let pro oddělení populací z Balkánu a severní Evropy od ostatních západopalearktických jedinců a 0,4 mil let pro oddělení populací z Balkánu od severoevropských (Michaux et al., 2005a).

Porovnání získaných výsledků zřetelně ukázalo, že ačkoli *A. sylvaticus* a *A. flavicollis* jsou blízce příbuzné z taxonomického a hlediska a mají velmi podobnou morfologii a rozšíření, reagovali na klimatické změny nejmladší geologické minulosti odlišným způsobem a kvartérní zalednění přežili v odlišných oblastech (Michaux et al., 2005a). Podle Michaux et al. (2005a) paleontologická (Michaux a Pasquier, 1974) i genetická data se shodují na skutečnosti, že *A. flavicollis* nepřežila při nejmenším poslední glaciál (22 000 – 16 000 let BP) na Pyrenejském poloostrově. Naopak *A. sylvaticus* z této oblasti rekolonizovala téměř do celé Evropy na konci poslední doby ledové (Michaux et al., 2005 a). Refugiální oblasti, ze kterých kolonizovala *A. flavicollis* byli situované na Balkánském poloostrově, kde *A. sylvaticus* pravděpodobně trpěla genetickým efektem hrdla láhve (Michaux et al., 2005 a). Diferenciace mezi *A. flavicollis* a *A. sylvaticus* je pravděpodobně výsledek allopatrické speciace: předci *A. sylvaticus* byly izolovány ve Španělsku a jižní Francii, zatímco *A. flavicollis* žila spíše ve střední Evropě a na Balkáně (Michaux et al., 2005 a).

Předmětem výzkumu následují studie Michauxe et al. (2005 b), se stal problematickým taxon *A. mystacinus*. Zabývali se evoluční historií, biogeografií a taxonomickým postavením tohoto druhu, které je stále nejasné. K objasnění této problematiky využili sekvenaci jaderného genu IRBP (736 bp) a dvou mitochondriálních oblastí: cytochrom b (976 bp) a D-loop (1063 bp). Celkově analyzovali 21 jedinců z 15 lokalit (Řecko, Kréta, Bulharsko, Sýrie, Gruzie, Turecko), které byly rozmístěny po celém areálu tohoto druhu. Jako outgroup ve fylogenetických analýzách použili *A. agrarius* (ČR) a *A. peninsulae* (Rusko). 21 zkoumaných jedinců *A. mystacinus* poskytlo 16 odlišných haplotypů.

Uvedení autoři nejprve provedli nezávislé fylogenetické analýzy, pro každý studovaný gen: ve všech případech byl vzorek *A. mystacinus* shodně strukturován na dvě hlavní skupiny: (i) oblast Balkánu ; (ii) Turecko, Sýrie, Gruzie a Kréta. Hypotéza rozdělující populace *A. mystacinus* do dvou skupin byla silně podporovaná pro D-loop a cytochrom b (BP: 99-100%), ale výrazně méně podložená pro IRBP (BP: 49-87%). Druhá

skupina byla rozdělena na dvě podskupiny (BP: 85-98% pro cyt b; BP: (BP: 36-62% pro D-loop a IRBP) : 1) severozápadní a východní Turecko, Sýrie a Gruzie ; 2) Kréta a jihozápadní Turecko (s výjimkou analýzy pro IRPB, která do této podskupiny zahrnuje pouze živočichy z Kréty).

Cyt b, D-loop a IRBP sekvence ukázaly, že Balkánské populace jsou vysoce oddělené od populací z Blízkého východu s významnou průměrnou hladinou genetické divergence (13.3% pro cyt b, 10.7% pro D-loop a 1.7% K2P distance pro IRBP). Uvnitř druhé podskupiny cyt b a D-loop naznačili, že *A. mystacinus* z jihozápadního Turecka jsou oddělené od populací z Blízkého východu (2.9% a 1.7% K2P distance) a jsou velmi podobné jedincům z Kréty (0.9% a 0.85% K2P distance). Výsledky pro IRBP ukázaly bližší vztah mezi tureckými a krétskými živočichy.

Tyto tři fylogenetické analýzy sloučili, pro všechny markery. Opět získali dvě hlavní skupiny silně podporované (BP: 100%). Ale dvě podskupiny byly mnohem více podloženy (BP: 67-100%). Druhá podskupina byla tvořena *A. mystacinus* z jihozápadního Turecka a Kréty, jako u fylogenetických analýz pro cyt b a D-loop (viz. Přílohy obr. 13).

Na základě molekulárního datování získali doby divergence mezi jednotlivými genetickými liniemi *A. mystacinus*: 4.2-5.1 mil let pro oddělení mezi živočichy z Balkánu a Blízkého a Středního východu, 1.0-0.9 mil let mezi živočichy z Kréty/jihozápadního Turecka a ostatními populacemi na Středním východě.

Fylogenetické analýzy ukázaly významnou hladinu genetické divergence mezi populacemi *A. mystacinus* na Balkánském poloostrově a Blízkém a Středním východě (13.3% K2P distance). Takto vysoké hodnoty genetické divergence jsou obvykle získávány mezi odlišnými druhy (např. 10-12% K2P distance mezi *A. sylvaticus*, *A. flavicollis*, *A. alpicola* a *A. uralensis* (Michaux et al., 2002, 2003, 2004, 2005a)) (Michaux et al., 2005b). Výsledky Michauxe et al. (2005b) potvrdily specifické postavení pro evropské (*A. epimales*) a asijské (*A. mystacinus*) populace, které již navrhovali Storch (1977), Vohralík et al. (2002), Filippucci et al. (2002) a Bellinvia (2004).

Ale *A. mystacinus* z jihozápadního Turecka jsou blíže příbuzné s jedinci na Krétě a odlišují se od ostatních populací na Blízkém a Středním východě (Michaux et al., 2005b). Mezi těmito dvěma populacemi byla zjištěna významná hladina genetické divergence (3% K2P distance pro cyt b), která nasvědčuje, že se jedná o odlišný poddruh, *A. mystacinus rhodius* Ondrias, 1966, ale Vohralík et al. (2002) nenalezli žádné morfometrické odlišnosti mezi *A. m. rhodius* a *A. mystacinus* (Michaux et al., 2005b).

Z biogeografického hlediska se předpokládá, že pozdní pliocenní nebo časné pleistocenní ochlazení (4.2-5.1 mil let), vedlo k izolaci dvou hlavních skupin *A. mystacinus* (Michaux et al., 2005b). Jedna skupina byla izolovaná na Balkánském poloostrově (*A. epimales*) a druhá v Turecku a na Blízkém východě (*A. mystacinus*) (Michaux et al., 2005b). I když Marmarské moře během glaciálů opakovaně tvořilo pevninský most mezi Evropou a Asií, nezdá se, že evropské linie invadovaly na Blízký východ a naopak (Vohralík et al., 2002). Během kvartéru byli *A. mystacinus* linie pravděpodobně už dávno ustavené na Balkáně a Blízkém a Středním východě (Michaux & Pasquier, 1974) a dlouhodobá přítomnost těchto *A. mystacinus* linií, si bránila v jejich vzájemné expanzi (Michaux et al., 2005b).

Podle molekulárního datování pravděpodobně v úseku 1.0-0,9 mil let došlo k izolaci populací *A. mystacinus* na Krétě a způsobilo objevení dvou odlišných genetických podskupin *A. mystacinus* ve východním mediteránu (Michaux et al., 2005b). Jedna je rozšířená na Krétě a v jihozápadním Turecku a výskyt druhé je po celém Blízkém východě, severním a východním Turecku a (Michaux et al., 2005b). Michaux et al. (2005b) usuzují, že populace z Kréty a jihozápadního Turecka recentně sekundárně kolonizovaly ostrovy při pobřeží Turecka bez zásahu člověka.

Fylogeografické analýzy provedli také Reutter et al. (2003) a Filippucci et al. (2002). K překvapivému závěru dospěli Reutter et al. (2003), když identifikovali na základě sekvenční analýzy mtDNA odlišné výsledky o strukturaci *A. sylvaticus* a získali ze sekvenční analýzy cyt b (732 bp). Analyzovali 14 vzorků *A. sylvaticus*, které odchytili ve střední Evropě (východní Francie, Švýcarsko, jižní Německo a západní Rakousko). Mezi vzorky *A. sylvaticus* identifikovali *A. fulvipectus*, která až dosud nebyla na území střední Evropy zaznamenána. I po vyřazení tohoto vzorku z fylogenetické analýzy pozorovali mezi *A. sylvaticus*, vysokou hladinu vnitrodruhové genetické divergence (5.1%), protože jeden jedinec, který pocházel ze stejné lokality jako *A. fulvipectus* se významně odlišoval od všech ostatních. Podle hypotézy Michauxe (2003, 2005a), by všichni jedinci z této oblasti měli patřit do shodné linie, která je rozšířená od jižního Španělska přes celou střední Evropu a zasahuje až na Ukrajinu a od druhé kontinentální linie (Apeninský a Balkánský poloostrov) ji odděluje genetická divergence 5.4%. Na základě srovnání se vzorky z genové banky Reutter (2003) naznačili, že tento problematický jedinec se odlišuje i od italských *A. sylvaticus*. Z toho vyplynulo, že se na tomto území (jižní Německo) vyskytují syntopicky dvě linie *A. sylvaticus* (Reutter et al., 2003). Podle Reutter et al. (2003), ale nelze vyloučit, že zde dochází k hybridizaci mezi *A.*

*sylvaticus* a *A. fulvipectus*. Tato skutečnost zůstává nejasná (Reutter et al. 2003) (viz. Přílohy obr. 14).

Reutter et al. (2003) se také zaměřili na druh *A. alpicola*. Mezi 4 jedinci ze 4 lokalit (Rakousko, Francie, Švýcarsko) získali velmi nízkou hladinu vnitrodruhové genetické divergence (0.5%). Tato skutečnost by mohla nasvědčovat tomu, že *A. alpicola* přežila poslední zalednění v jediném refugiu (Reutter et al., 2003). Podle Reutter et al. (2003), pro tento druh Alpy pravděpodobně nepředstavovaly biogeografickou bariéru při postglaciální kolonizaci z jižního refugia, protože *A. alpicola* je adaptovaná spíše na chladnější klimatické podmínky. Ale také nemůže být vyloučena možnost, že populace, které přežily ještě v dalších refugiálních oblastech byly eliminované kompeticí mezi druhy rodu *Apodemus* (Reutter et al., 2003).

Strukturaci pro *A. uralensis* získali Fillippucci et al. (2002). Na základě fylogenetické analýzy rozdělili 107 vzorků ze 14 lokalit (Česká republika, Turecko, Jugoslávie) do dvou skupin: (i) Jugoslávie a (ii) Turecko a Česká republika. Není, ale jasné zda odlišné umístění jugoslávských populací není způsobeno malým počtem vzorků (2) (Fillippucci et al., 2002). Areálová historie pro *A. uralensis* není na základě fylogeografických analýz není doposud dořešena.

Neméně důležité poznatky o fylogeografii rodu *Apodemus* byly získány rovněž v asijské části areálu rodu. Zásadní informace o tomto předmětu přináší Serizawa et al., 2000 ; Suzuki et al., 2003 ; Liu et al., 2004 ; Suzuki et al., 2004, vycházející z výsledků fylogenetické analýzy sekvenačních dat kompletního mtDNA genu pro cytochromu b (1140 bp) a jaderného genu IRBP (1152 bp). Tyto studie ukazují, že evoluční historie asijských druhů rodu *Apodemus* sahá od pozdního terciéru do současnosti (Suzuki et al., 2003) a v průběhu tohoto období rod *Apodemus* podstoupil různé radiace, během kterých vznikly rovněž druhy rodu (Serizawa et al 2000; Suzuki et al 2003).

Výsledky ukazují, že speciace *Apodemus* zahrnovala tři hlavní radiace v Evropě a Asii: (i) divergence *A. argenteus* (endemit Japonska), *A. gurkha* (endemit Nepálu) a zbývajících asijských druhů v současnosti řazených do podrodu *Apodemus* (ii) rozštěpení podrodu *Apodemus* na jednotlivé druhy (iii) vznik evropských druhů podrodu *Sylvaemus* (Serizawa et al., 2000) (viz. Přílohy obr. 15). Podle Serizawa et al. (2000), asijské druhy tedy mají dlouhou evoluční historii, zatímco evropské druhy pocházejí z recentních radiačních událostí.

Podle Suzuki et al.(2003), všechny asijské druhy, které analyzovali (*A. argenteus*, *A. gurkha*, *A. agrarius*, *A. peninsulae*, *A. semotus* , *A. speciosus*, *A. latronum*, *A. chevrieri*,

*A.draco*) se vyvinuly v Asii, kromě nepálského druhu *A. wardi*, který se zdá být příbuzný k evropské linii. Fylogenetické analýzy naznačily, že *A. wardi* je sesterskou skupinou *A. uralensis/microps*. *A. agrarius*, která má v současnosti rozsáhlé euroasijské rozšíření se podle Suzuki et al. (2003), rozšířila z Asie do Evropy během poměrně nedávné invase (0.23 mil let BP).

Použitím molekulárních hodin založených na dvou kalibračních bodech *Mus-Rattus* (12-14 mil let) byla odhadnuta doba divergence mezi čtyřmi podrody *Apodemus*: 8-10 mil let, pro podrod *Apodemus* 7-8 mil let a pro *Sylvaemus* 2-4 mil let (Serizawa et al. 2000). Odhady nejsou konečné, ale předpokládá se, že se tyto události se stali během pozdního terciéru spíše než během pleistocénu (Serizawa et al. 2000). Podle Serizawa et al. (2000) tato skutečnost také odpovídá paleontologickým datům, které dokládají, že rod *Apodemus* má dlouhou evoluční historii od časného Vallesianu (9-12 mil let) (střední miocén) (Martin-Suarez & Mein, 1998). Na základě výsledků molekulárního datování je evoluční historie rodu *Apodemus* spojována s globálními klimatickými a vegetačními změnami na konci terciéru (Serizawa et al., 2000).

K podobným závěrům o fylogeografii rodu *Apodemus* dospěli také Bellinvia et al. (1999); Filippucci et al., (2002); Michaux et al., (2002) a Bellinvia, (2004). Všechny fylogenetické analýzy nasvědčují, že druhy řazené do podrodu *Sylvaemus* si jsou geneticky blíže příbuzné (Bellinvia et al., 1999; Filippucci et al., 2002; Michaux et al., 2002; Bellinvia, 2004), protože mezi těmito druhy jsou získávány nízké hodnoty genetické divergence (menší než 10%) (Bellinvia, 2004). Tato skutečnost je interpretována jako důsledek rychlé adaptivní radiální události, během které vznikl v západní části Palearktické oblasti paralelně velký počet druhů, v průběhu poměrně krátkého časového intervalu (Filippucci et al., 2002; Michaux et al., 2002; Bellinvia et al., 2004). Z tohoto důvodu se fylogenetické vztahy mezi jednotlivými druhy z podrodu *Sylvaemus* obtížně odvozují a odlišné metody získávají nesouhlasné výsledky (Filippucci et al., 2002; Bellinvia, 2004).

Hypotézu dokládající poměrně nedávné oddělení podrodu *Sylvaemus* od ostatních fylogenetických linií potvrdili také Michaux et al. (2002) molekulárním datováním. Na základě dvou kalibračních bodů (*Mus - Rattus* 12 mil let) odhadli dobu divergence pro oddělení *Apodemus*, *A. mystacinus* a *Sylvaemus* od společného předka do období konce třetihor 7-8 mil let BP. Podrod *Apodemus* se od této linie oddělil ca 5.4-6 mil let BP a doba divergence pro *Sylvaemus* a *A.mystacinus* pravděpodobně nastala v úseku 2.2-3.5 mil let BP (Michaux et al., 2002). Odhadnuté doby divergence jsou ve shodě s výsledky, které

získali Serizawa et al. 2000 a potvrzují představu (Serizawa et al., 2000; Liu et al., 2004), že evropské druhy v současnosti řazené do podrodu *Sylvaemus* se vyznačují kratší evoluční historií ve srovnání s asijským podrodem *Apodemus*.

Podle Michaux et al. (2002) všechna uvedená data získaná na základě molekulárního datování nasvědčují, že speciační události rodu *Apodemus* jsou pravděpodobně spojené s významnými klimatickými a vegetačními změnami, které nastaly na konci miocénu a během pliocénu. Za předpokladu, že předci recentních fylogenetických linií (*Apodemus*, *mystacinus*, *Sylvaemus*) měli stejné ekologické preference jako současné druhy, pravděpodobně byli v průběhu tohoto období izolováni v zalesněných refugiálních oblastech (Michaux et al. 2002). Tato izolace pravděpodobně vedla v mnoha případech k allopatrické speciaci, během které vznikly odlišné podrody rodu *Apodemus* (Michaux et al. 2002). Na základě podobných procesů poté dalšími speciačními událostmi vznikly jednotlivé druhy (Michaux et al. 2002). Michaux et al. (2002) usuzují, že západní Palearktická oblast pravděpodobně hrála významnou roli ve speciaci rodu *Apodemus* (Michaux et al., 2002), protože byla lépe chráněná před klimatickými změnami než východní část území, a byla částečně pokryta lesy (Cerling et al., 1997). Podle Michaux et al. (2002) tato hypotéza je podložena i paleontologickými daty, které dokládají, že právě *Apodemus* druhy se v Evropě objevily během svrchního miocénu (Michaux & Pasquier, 1974; Michaux et al. 1997; Martin-Suarez & Mein, 1998).

## Shrnutí : současné představy o historii rodu

Dosavadní představy o *A. sylvaticus* :

- 1) Evropské kontinentální populace *A. sylvaticus* jsou rozštěpeny do dvou divergentních linií, které se nepřekrývají ve svém geografickém rozšíření a jsou od sebe odděleny vysokou hladinou genetické divergence.
- 2) Toto členění je vysvětlováno izolací dvou populací v odlišných refugiálních oblastech: (i) Pyrenejský poloostrov a jižní Francie; (ii) Apeninský a Balkánský poloostrov.
- 3) Tato izolace posílena efektem souvislého zalednění Alp.
- 4) Podle molekulárního datování k divergenci původních haplotypů došlo během časného a středního pleistocénu (1.5-1.6 mil let BP), v průběhu tohoto období se vyvinula vnitrodruhová strukturace *A. sylvaticus* – čtyři geneticky odlišné linie.
- 5) Tento druh rekolonizoval Evropu pravděpodobně z Pyrenejského poloostrova a jižní Francie, populace na Apeninském a Balkánském poloostrově charakterisuje redukce genetické diverzity efektem hrdla lahve.
- 6) Pyreneje nepředstavovaly biogeografickou bariéru při postglaciální kolonizaci.
- 7) Výskyt *A. sylvaticus* v severní Africe je důsledek antropenní introdukce.

Areálová historie *A. flavicollis*:

- 1) *A. flavicollis* přežila kvartérní zalednění ve dvou hlavních oblastech: (i) Apeninský a Balkánský poloostrov a (ii) Turecko a Blízký východ.
- 2) Evropské populace *A. flavicollis* jsou rozštěpeny na dvě hlavní linie: (i) celá Evropa a Rusko (ii) Turecko a Blízký východ. Evropské populace se dále rozdělují do třech hlavních genetických linií, které jsou od sebe oddělené nízkou hladinou nukletidové diverzity a překrývají se ve svém geografickém rozšíření.
- 3) Doba divergence mezi původními haplotypy, který vedl k třem evropským liniím je datována do úseku 0.6-0.5 mil let BP.
- 4) Populace z Turecka a Blízkého východu nerekolonizovali Evropu a naopak.
- 5) Všechny tři genetické linie pravděpodobně přežili na území Balkánského poloostrova, v nezávislých refugiích a na konci poslední doby ledové invadovaly do Evropy.
- 6) Pyrenejský poloostrov nepředstavoval refugium pro tento druh, doloženo paleontologickými daty, které dokládají, že *A. flavicollis* nepřežila poslední glaciál v západní, severní a východní Evropě.

Získané výsledky pro *A. mystacinus*:

- 1) Populace *A. mystacinus* jsou rozdělené do dvou hlavních linií: (i) Balkánský poloostrov (ii) Blízký východ a Střední východ.
- 2) Mezi těmito populacemi vysoká genetická divergence na úrovni druhů – *A. epimales* na Balkánském poloostrově, *A. mystacinus* – Turecko a Blízký východ.
- 3) Populace na Blízkém východě se dále rozštěpují do dvou skupin (i) severozápadní a východní Turecko, Sýrie a Gruzie ; (ii) Kréta a jihozápadní Turecko.
- 4) *A. mystacinus* z Kréty a Turecka jsou vyčleňovány jako samostatný poddruh *A. mystacinus rhodius*.
- 5) *A. mystacinus* nekolonizovala do Evropy a ani *A. epimales* nekolonizovala do Asie.

Všechny studie se shodují na tom, že:

- 1) Rod *Apodemus* se vyznačuje dlouhou evoluční historií.
- 2) Evoluční historie rodu je spojována s klimatickými a vegetačními změnami, které nastaly ke konci terciéru.
- 3) V průběhu tohoto období rod *Apodemus* podstoupil různé radiace v Asii a Evropě, během kterých vznikly druhy rodu.
- 4) Asijské druhy mají delší evoluční historii než evropské.
- 5) Západopalearktické druhy dnes řazené do podrodu *Sylvaemus*, vznikly na základě adaptivní radiální události, během které vznikl paralelně velký počet druhů, v průběhu poměrně krátkého časového intervalu.
- 6) V důsledku rychlé adaptivní události si jsou všechny druhy z podrodu *Sylvaemus* geneticky velice příbuzné.
- 7) Kvartérní zalednění mělo významný vliv na genetickou a geografickou strukturu druhů.

Mnohé z otázek zůstávají i dosud nezodpovězeny (např. přežívání v průběhu glaciálních úseků, postup kolonisace v průběhu interglaciálů, změny v uplatnění v reálných společenstvech v průběhu glaciálních cyklů, morfometrická specifika fosilních populací a fenotypové posuny v průběhu areálové historie apod.). K objasnění těchto otázek bude třeba soustředit pozornost na detailní analýzu fosilního záznamu, která bude hlavním předmětem magisterské práce.

## Seznam citované literatury

- Anděra, M., Horáček, I., 2005: *Poznáváme naše savce*. Praha: Sobotáles, 326 pp.
- Anguilar, J.P., Michaux, J., 1996: The beginning of the age of Murinae (Mammalia: Rodentia) in southern France. *Act. Zool. Cracoviensa* 39, 35-45.
- Bellinvia, E., Munclinger, P., Flegr, J., 1999: Application of the RAPD technique for a study of the phylogenetic relationships among eight species of the genus *Apodemus*. *Folia Zool.* 48: 241-248.
- Bellinvia, E., 2004: A phylogenetic study of the genus *Apodemus* by sequencing the mitochondrial DNA control region. *J. Zool. Syst. Evol. Research* 42: 1-9.
- Bilton, D.T., Mirol, P.M., Mascheretti, S., Freda, K., Zima, J., Searle J.B., 1998: Mediterranean Europe as an area of endemism for small mammals rather than a source for northwards postglacial colonization. *Proc. R. Soc. Lond. B* 265: 1219-1226.
- Britton-Davidian, J., Vahdati, M., Benmehdi, F., Gros, P., Nancé, V., Croset, H., Guerassimov, S., Triantaphyllidis, C., 1991: Genetic differentiation in four species of *Apodemus* from Southern Europe: *A. sylvaticus*, *A. flavicollis*, *A. agrarius* a *A. mystacinus* (Muridae, Rodentia). *Z. Säugetierkd.* 56: 25-33.
- Bulatova, N. Sh., Nadjafova, R. S., Kozlovsky, A. I., 1991: Cytotaxonomic analysis of species of genera *Mus*, *Apodemus* and *Rattus* in Azerbaijan. *Z. Zool. Syst. Evol.* 29: 139-153.
- Cerling, T.E., Harris, J.M., MacFadden, B.J., Leakeys, M.G., Quade, Eisenmann, V., Ehleringer, J.R., 1997: Global vegetation change through the Miocene/Pliocene boundary. *Nature* 389, 153-157.
- Cordy, J.M., 1984: Evolution des faunes quaternaires en Belgique. In: Cahen, D., Haesaerts, P. (Eds.), *Peuples chasseurs de la Belgique préhistorique dans leur cadre naturel*. Bruxelles. Belgium, 67- 77.
- Felten, H., Spitzenberger, F., Storch, G., 1973: Zur Kleinsäugetafauna West-Anatolies. Teil II. *Senckenberg. Biol.* 54: 227-290.
- Filippucci, M.G., 1992: Allozyme variation and divergence among European, Middle-Eastern, and North African species of the genus *Apodemus* (Rodentia, Muridae). *Israel J. zool.* 38: 193-218.
- Filippucci, M.G., Macholán, M., Michaux, J.R., 2002: Genetic variation and evolution in the genus *Apodemus* (Muridae: Rodentia). *Biol. J. Linn. Soc. Lon.* 75: 395-419.

- Filippucci M.G, Simson S., Nevo E., 1989: Evolutionary biology of the genus *Apodemus* Kaup, 1829 in Izrael – allozymic and biometric analyse with description of new species – *Apodemus hermonensis* (Rodentia, Muridae). *Boll. Zool.* 56: 361-375.
- Filippucci, M.G., Storch, G., Macholán, M., 1996: Taxonomy of the genus *Sylvaemus* in western Anatolia - morphological and electrophoretic evidence (Mammalia: Rodentia: Muridae). *Senckenberg. Biol.* 75: 1-14.
- Hewitt, G.M., 1996: Some genetic consequences of ice agens and their role in divergence and speciation. *Biol. J. Linn. Soc.Lon.* 58: 247-276.
- Hewitt, G.M., 1999: Post-glacial recolonization of European biota. *Biol. J. Linn. Soc. Lond.* 58: 87-112.
- Hewitt, G.M., 2001: Speciation, hybrid zones and phylogeography-or seeing genes in space and time. *Mol. Ecol.* 10: 537-549.
- Hirning, U., Schulz, W. A., Just, W., Adolph, S., Vogel, W., 1989: A comparative study of the heterochromatin of the *Apodemus sylvaticus* and *Apodemus flavicollis*. *Chromosoma*, 98: 450-455.
- Holišová, V., 1960: Die Nahrung der Waldmaus *Apodemus sylvaticus* L. im Böhmischmährischen Höhenzug. *Zool. listy* 9: 135-158.
- Holišová V., 1967: The food of *Apodemus agrarius* (Pall.). *Zool. listy* 16: 1-14.
- Holišová, V., Pelikán, J., Zejda, J., 1962: Ecology and population dynamics in *Apodemus microps* Kratochvíl & Rosický 1952 (Mammalia: Muridae). *Pr. Brněn. Zákł. ČSAV* 34: 493-540.
- Horáček, I. & Ložek, V. 1988: Paleozoology and the Mid-European Quaternary past: scope of the approach and selected results. *Rozpravy ČSAV, ř. MPV*, 98(4): 1-106.
- Chelomina, G.N., 1998: Molecular phylogeny of forest and field mice of the genus *Apodemus* (Muridae, Rodentia) based on the data on restriction analysis of total nuclear DNA. *Genetika* 34: 1286-1292 (in Russian, with summary English).
- Chelomina, G.N., Suzuki, H., Tsuchiya, K., Moriwaki, K., Lyapunova, E.A., Vorontsov N.N., 1998: Sequencing of the mt DNA cytochrome b gene and reconstruction of the maternal relationship of wood and field mice of the genus *Apodemus* (Muridae, Rodentia). *Genetika* 34: 529-539 (in Russian, with summary English).
- Jaeger, J.J., 1975: Les Rongeurs, du Miocene a l'actuel, en Afrique nordoccidentale. PhD Thesis, Université des Science et Techniques du Languedoc, Montpellier.
- Kryštufek, B., 2002: Identity of four *Apodemus* (*Sylvaemus*) types from the eastern Mediterranean and the Middle East. *Mammalia* 66: 43-51.
- Kryštufek, B., Mozetič Francky, B., 2005: Mt. Hermon field mouse *Apodemus ionicus* is a member of the European mammal fauna. *Folia zool.* 54: 69-74.

Libois, R., Michaux, J.R., Ramalhinho, M.G., Maurois, C., Sara, M., 2001: On the origin and systematics of the northern African wood mouse (*Apodemus sylvaticus*) populations: a comparative study of mtDNA restriction patterns. *Can. J. Zool.* 79: 1503-1511.

Liu, X., Wei, F., Li, M., Jiang, X., Feng, Z., Hu, J., 2004: Molecular phylogeny and taxonomy of wood mice (genus *Apodemus* Kaup, 1829) based on complete mt DNA cytochrome b sequences, with emphasis on Chinese species. *Mol. Phylogenet. Evol.* 33: 1-15.

Macholán, M., Filippucci, M. G., Benda, P., Frynta, D., Sádlová, J., 2001: Allozyme variation and systematics of the genus *Apodemus* (Rodentia: Muridae) in Asia Minor and Iran. *J. Mammal.*, 82: 799-813.

Martin, Y., Gerlach, G., Schlotterer, C., Meyer, A., 2000: Molecular phylogeny of European muroid rodents based on complete cytochrom b sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 6: 37-47.

Martin-Suarez, E., Mein, P., 1998: Revision of the genera *Parapodemus*, *Apodemus*, *Rhagamys* and *Rhagapodemus* (Rodentia, Mammalia). *Geobios* 31: 87-97.

Mendelssohn, H., Yom-Tov, Y., 1999: *Mammalia of Israel*. Jerusalem: The Israel Academy of Science and Humanities, 439 pp.

Mezhzherin, S. V., 1990: Allozyme variation and genetic divergence of wood mice of the subgenus *Sylvaemus* (Ognev et Vorobiev). *Genetika* 26: 1046-1054 (in Russian, with a summary English).

Mezhzherin, S. V., Mikhailenko, A. G., 1991: On the species identity of *Apodemus sylvaticus tscherga* (Rodentia, Muridae). *Vest. Zool.* 4: 55-59 (in Russian, with a summary English)

Mezhzherin, S. V., Zagorodnyuk, I. V., 1989: A new species of wood mouse of the genus *Apodemus* (Rodentia, Muridae). *Vest. Zool.* 4: 55-59 (in Russian, with a summary in English).

Michaux, J.R., Anguilar, J.P., Montuire, S., Wolff, A., Legendre, S., 1997: Les Murinae (Rodentia, Mammalia) néogènes du Sud de la France: évolution et paléoenvironnements. *Geobios* 20: 379-385.

Michaux, J.R., Bellinva, E., Lymberakis, P., 2005b: Taxonomy, evolutionary and biogeography of the broad-toothed field mouse (*Apodemus mystacinus*) in the eastern Mediterranean area based on mitochondrial and nuclear genes. *Biol. J. Linn. Soc. Lon.* 85: 53-63.

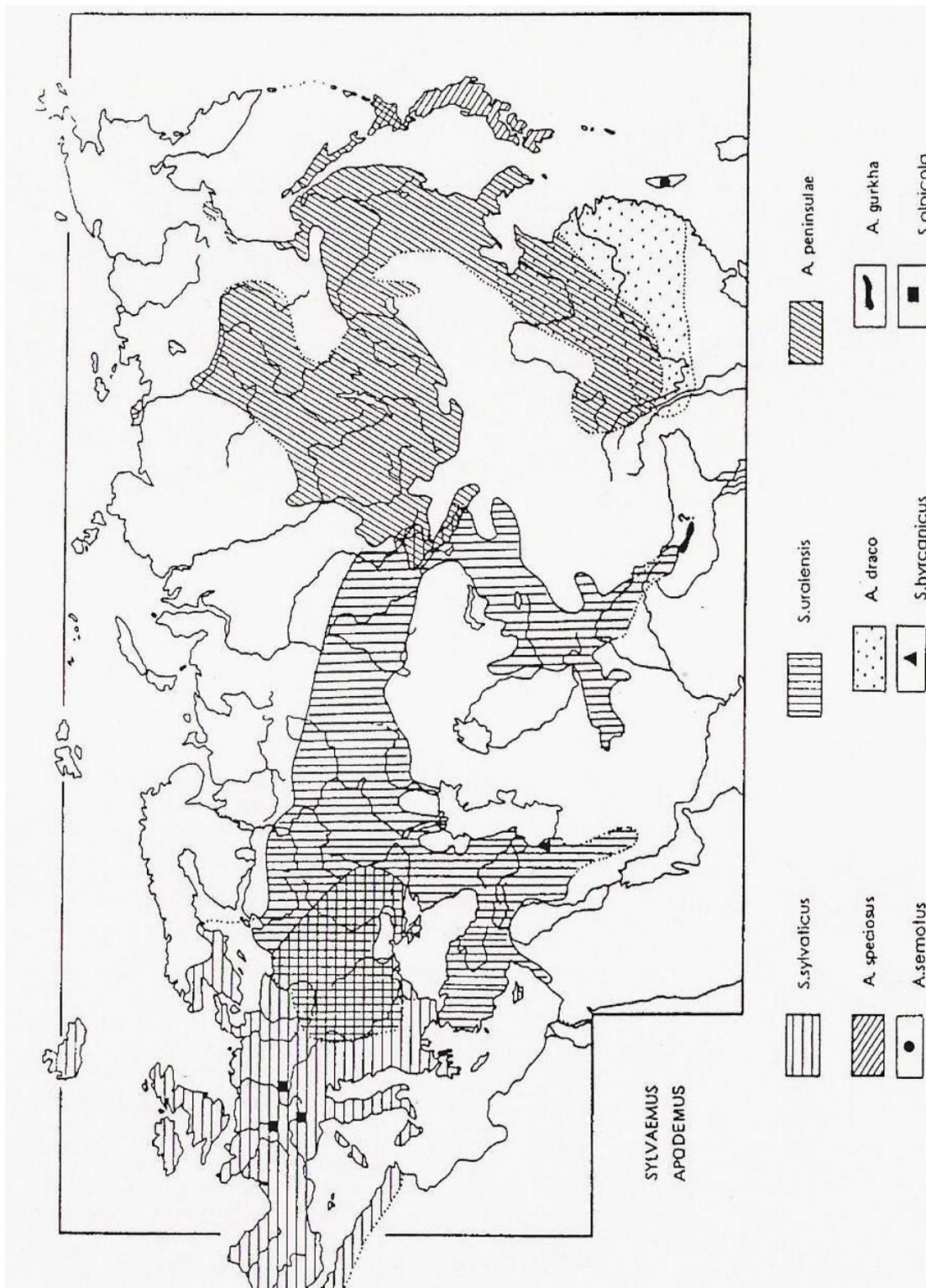
Michaux, J.R., Filippucci, M.G., Libois, R.M., Fons R., Matagnes R.F., 1996: Biogeography and taxonomy of *Apodemus sylvaticus* (the woodmouse) in the Tyrrhenian region: enzymatic variations and mitochondrial DNA restriction pattern analysis. *Heredity* 76: 267-277.

- Michaux, J.R., Chevret, P., Filippucci, M.G., Macholán, M., 2002: Phylogeny of the genus *Apodemus* with a special emphasis on the subgenus *Sylvaemus* using the nuclear IRBP gene and two mitochondrial markers: cytochrome b and 12S rRNA. *Mol. Phylogenet. Evol.* 23: 123-136.
- Michaux, J.R., Libois, R., Filippucci, M.G., 2005a: So close and so different: comparative phylogeography of two small mammal species, the Yellow-necked fieldmouse (*Apodemus flavicollis*) and the Woodmouse (*Apodemus sylvaticus*) in the Western Palearctic region. *Heredity* 94: 52-63.
- Michaux, J.R., Libois, R., Paradis, E., Filippucci, M.G., 2004: Phylogeographic history of the yellow-necked fieldmouse (*Apodemus flavicollis*) in Europe and in the Near and modele East. *Mol. Phylogenet. Evol.* 32: 788-789.
- Michaux, J.R., Libois, R., Ramalhinho, M.G., Maurois, C., 1998b: On the mtDNA restriction patterns variation of the Iberian wood mouse (*Apodemus sylvaticus*). Comparison with other west Mediterranean populations. *Hederitas* 129: 187-194.
- Michaux, J.R., Magnanou, E., Paradis, E., Nieberding, C., Libois, R., 2003: Mitochondrial phylogeography of the Woodmouse (*Apodemus sylvaticus*) in the Western Palearctic region. *Mol. Ecol.* 12: 685-697.
- Michaux, J.R., Pasquier, L., 1974: Dynamique des populations de mulots (Rodentia, Apodemus) en Europe durant le Quaternaire. Premieres données. *Bull. Soc. Geol. France* 7: 431-439.
- Michaux, J.R., Sara, M., Libois, R.M., Matagne, R., 1998a: Is the woodmouse (*Apodemus sylvaticus*) of Sicily really a „separate“ species? *Belg. J. Zool.* 128: 211-214.
- Mitchell-Jones, A.J., Amori, G., Bogdanowicz, W., Kryštufek, B., Reijnders, P.J.H., Spitzenberger, F., Stubbe, M., Thissen, J.B.M., Vohralík, V., Zima, J., 1999: *The atlas of European mammals*. London: Academic Press, 496 pp.
- Mirić, D., 1966: Die Felsenmaus (*Apodemus mystacinus* Danford und Alston, 1877-Rodentia, Mammalia) als Glied der Nagetierfauna Jugoslawiens. *Z. Säugetierkd.* 31, 417-440.
- Musser, G.G., Brothers, E.M., Charleton, M.D., Hutterer, R., 1996: Taxonomy and distributional records of Oriental and European *Apodemus*, with a review of the *Apodemus-Sylvaemus* problem. *Bonn. zool. Beitr.* 46: 143-190.
- Musser., G.G., Carleton, M.D., 1993: Family Muridae. In: Wilson, D.E., Reeder, D.A.M. (eds), *Mammal Species of the World*, 2nd end. Washington and London: Smithsonian Institution Press, 501-755 pp.
- Niethammer, J., 1978: *Apodemus mystacinus* (Danford & Alston, 1877) - Felsenmaus. Pp: 306-324. *Apodemus flavicollis* (Melchior, 1834) – Gelbhalsmaus Pp: .325-336. In: Niethammer, J., Krapp, F., (eds): *Handbuch der Säugetiere Europas*. Band 1. Nagetiere 1. Wiesbaden: Akademische Verlagsgesellschaft, 476 pp.

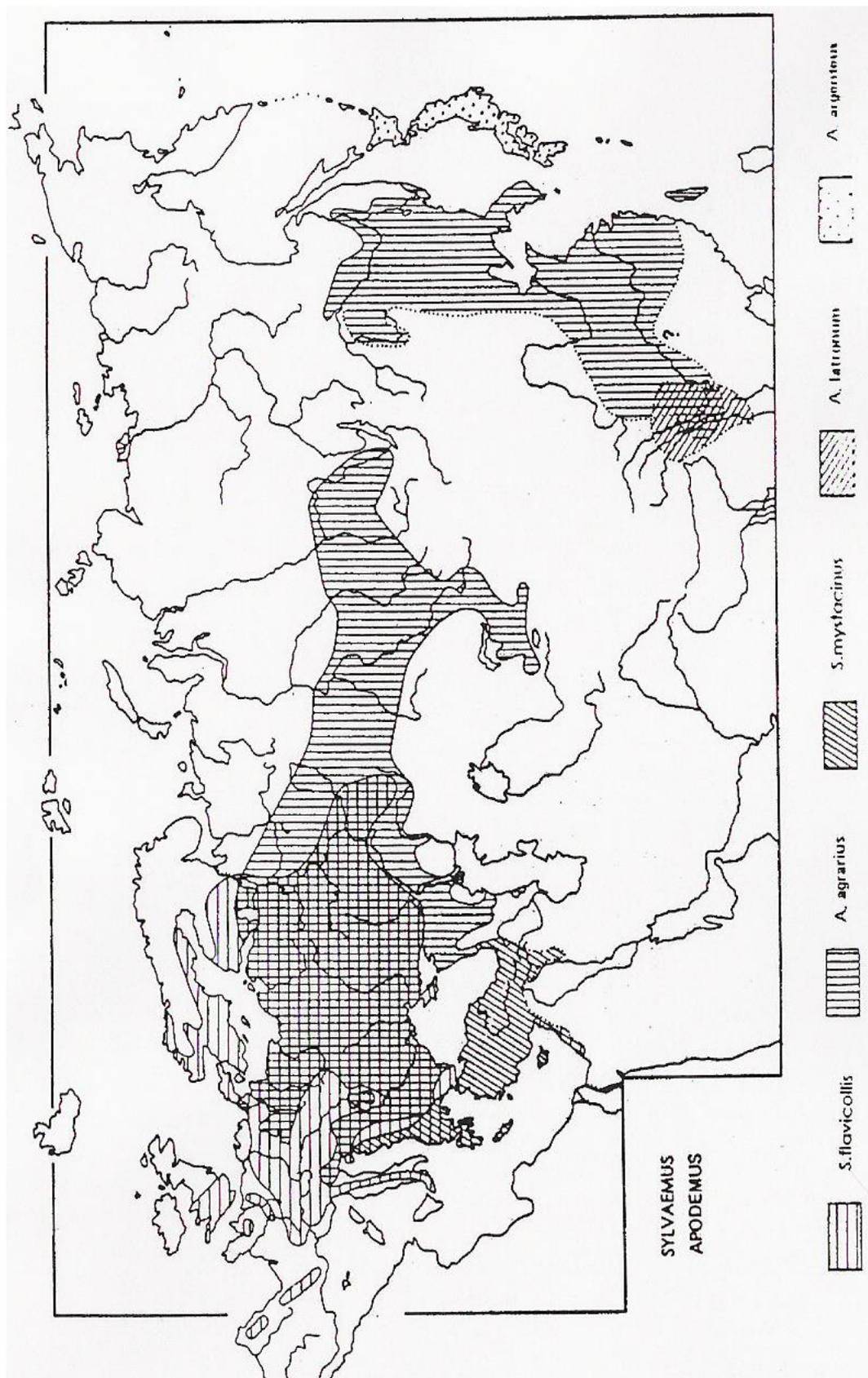
- Obrtel, R., 1973: Animal food of *Apodemus flavicollis* in a Lowland Forest. *Zool. Listy* 22, 1973: 15-29.
- Orlov, V.N., Bulatova, N.Sh., Nadjafova, R.N., Kozlovsky, A.I., 1996: Evolutionary classification of European wood mice of the subgenus *Sylvaemus* based on allozyme and chromosome data. *Bonn. Zool. Beitr.* 46: 191-202.
- Panteleyev, P.A., 1998: *The rodents of the Palaearctic*. Moskow: Russian Academy of Sciences, 116 pp.
- Pelikán, J., 1964: Vergleich einiger populationsdynamischer Faktoren bei *Apodemus sylvaticus* (L.) und *A. microps* Kr. und Ros. *Z. Säugetierkd.* 29: 242-253.
- Pelikán, J., 1965: Reproduction, population structure and elimination of males in *Apodemus agrarius* (Pall.). *Zool. listy* 14, 317-322.
- Pelikán, J., 1966: Analyse von drei populationsdynamischen Faktoren bei *Apodemus flavicollis* (Mehl.). *Z. Säugetierkd.* 31: 31-37.
- Reutter, B.A., Petit, E., Brünner, H., Vogel, P., 2003: Cytochrome b haplotype divergences in West European *Apodemus*. *Mamm. Biol.* 68: 153-164.
- Saint Girons, M. C., 1966: Étude du genre *Apodemus* Kaup, 1829, en France I. *Mammalia* 30: 547-600.
- Saint Girons, M. C., Van Bree, P.J.H., 1963: Recherches sur la repartition et la systématique de *Apodemus sylvaticus* (Linnaeus 1758) en Afrique du Nord. *Mammalia*, 26: 478-488.
- Sanges, M., Alcover, J.A., 1980: Noticia sobre la microfauna vertebrada holocénica de la Rotta Su Guanu o Gonagosula (Olina, Sandenya). *Endins*, 7: 57-62.
- Seddon, J.M., Santucci, F., Reeve, N.J. Hewitt, G.M., 2001: DNA footprints of European hedgehogs, *Erinaceus europaeus* and *E. concolor*: Pleistocene refugia, postglacial expansion and colonization routes. *Mol. Ecol.* 10: 2187-2198.
- Serizawa, K., Suzuki, H., Tsuchiya, K., 2000: A phylogenetic view on species radiation in *Apodemus* inferred from variation of nuclear and mitochondrial genes. *Biochem Genet.* 38: 27-40.
- Sese, C., 1994: Paleoclimatical interpretation of the Quaternary small mammals of Spain. *Geobios* 27, 753-767.
- Spitzenberger, F. 1973. Zur Kleinsäugerfauna West-Anatolies, In: Felten, H., Spitzenberger, F., Storch, G., eds. *Senckenberg. Biol.* 54: 227-290.
- Storch, G., 1975. Eine Mittelpleistozäne Nager-Fauna von der Insel Chios, Ägäis (Mammalia, Rodentia). *Senckenberg. Biol.* 56: 165-189.

- Storch, G., 1977: Die Ausbreitung der Felsenmaus (*Apodemus mystacinus*): Zur Problematik der Inselbesiedlung und Tiergeographie in der Ägäis. *Nat. Mus.* 107: 174-182.
- Storch, G., Lütt O.: 1989: Artstatus der Alpenwaldmaus, *Apodemus alpicola*, Heinrich, 1952. *Z. Säugetierkd.* 54: 337-346.
- Suzuki, H., Sato, J.J., Tsuchiya, K., Luo, J., Zhang, Y.-P., Wang, Y.-X., Jiang, X.-L., 2003: Molecular phylogeny of wood mice (*Apodemus*, Muridae) in East Asia. *Biol. J. Linn. Soc. Lond.* 80: 469-481.
- Suzuki, H., Yasuda, S.P., Sakaizumi, M., Wakana, S., Motokawa, M., Tsuchiya, K., 2004: Differential geographic patterns of mitochondrial DNA variation in two sympatric species of Japanese wood mice, *Apodemus speciosus* and *A. Argenteus*. *Genes Genet. Syst.* 79: 165-176.
- Tegelstöm, H., Jaarola, M., (1989): Genetic divergence in mitochondrial DNA between the wood mouse (*Apodemus sylvaticus*) and the yellow necked mouse (*Apodemus flavicolis*). *Heredita* 111: 49-60.
- Vigne, J. D., 1983: Le remplacement des faunes de petits mammifères en Corse, lors de l'arrivée de l'homme. *C. R. Soc. Biogéogr.*, 59, 41-51.
- Vohralík, V., 2002: Distribution, skull morphometrics and systematic status of an isolated population of *Apodemus microps* (Mammalia: Rodentia) in NW Bohemia, Czech Republic. *Acta Soc. Zool. Bohem.* 66: 67-80.
- Vohralík, V., Frynta, D., Mikulová, P., Benda, P., Nová, P., 2002: Multivariate morphometrics of *Apodemus mystacinus* in the near east and its divergence from European *A. m. epimales* (Mammalia: Rodentia). *Israel J. Zool.* 48, 135-148.
- Vorontsov, N.N., Boyeskorov, G.G., Mezhzherin, S.V., Lyapunova, E.A, Kandaurov, A.S., 1992: Systematics of the Caucasian wood mice of the subgenus *Sylvaemus* (Mammalia, Rodentia, *Apodemus*). *Zool. Zh.* 71: 119-131 (in Russian, with a summary in English).
- Zejda, J., 1965: Zur Variabilität der Molarenwurzeln des Oberkiefers von vier *Apodemus*-arten (Mammalia). *Z. Morphol. Ökol. Tiere* 54: 699-706.
- Zejda, J., 1967: Habitat selection in *Apodemus agrarius* (Pallas, 1771) (Mammalia: Muridae) on the border of the area of its distribution. *Zool. listy* 16: 15-30.
- Zima, J., Macholán, M., 1995: B chromosomes in the wood mice (genus *Apodemus*). *Acta Theriol.*, Suppl. 3: 75-86.
- Zimmermann, K., 1962: Die Untergattungen der Gattung *Apodemus* Kaup. *Bonn. Zool. Beitr.* 13: 198-208.

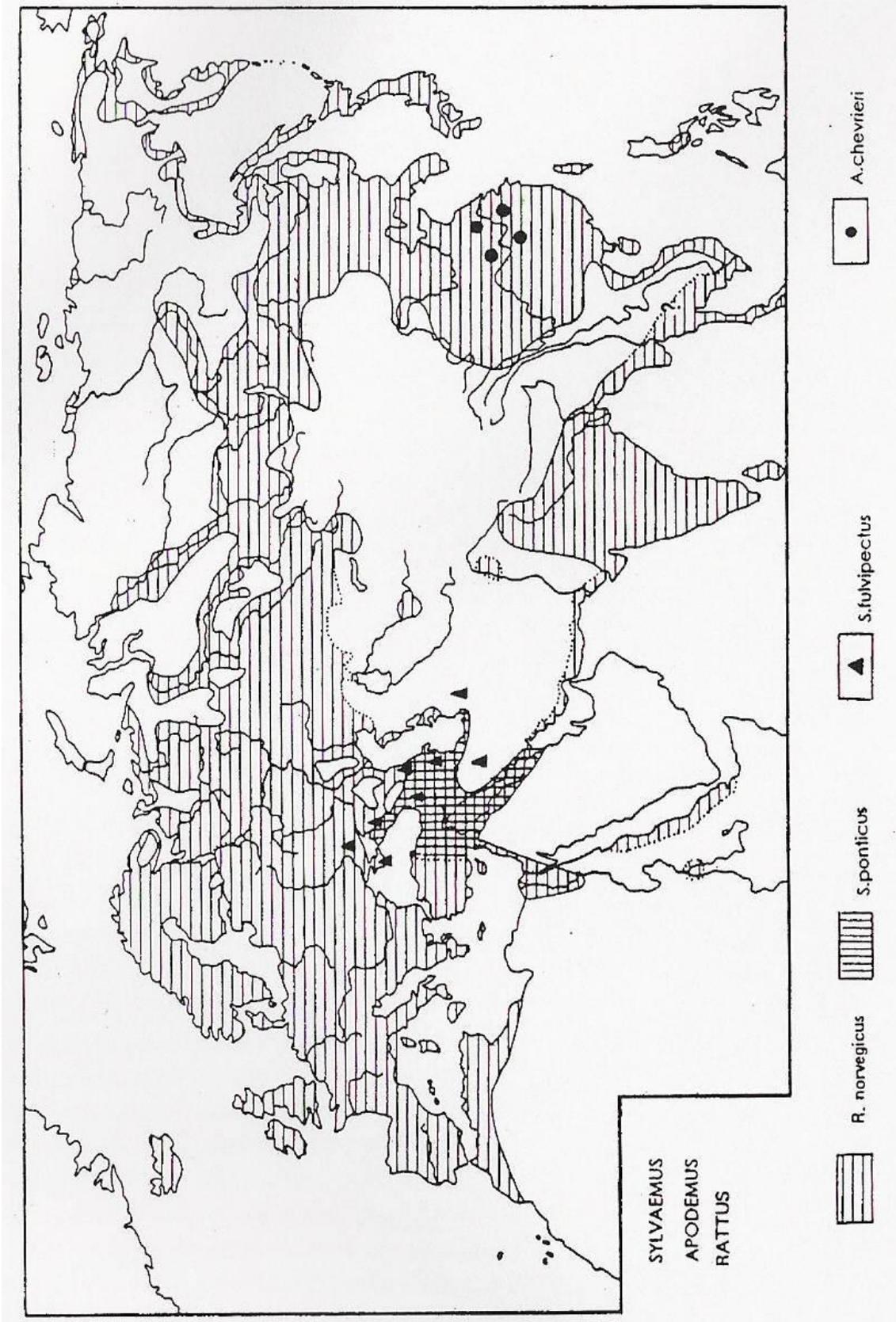
# Přílohy



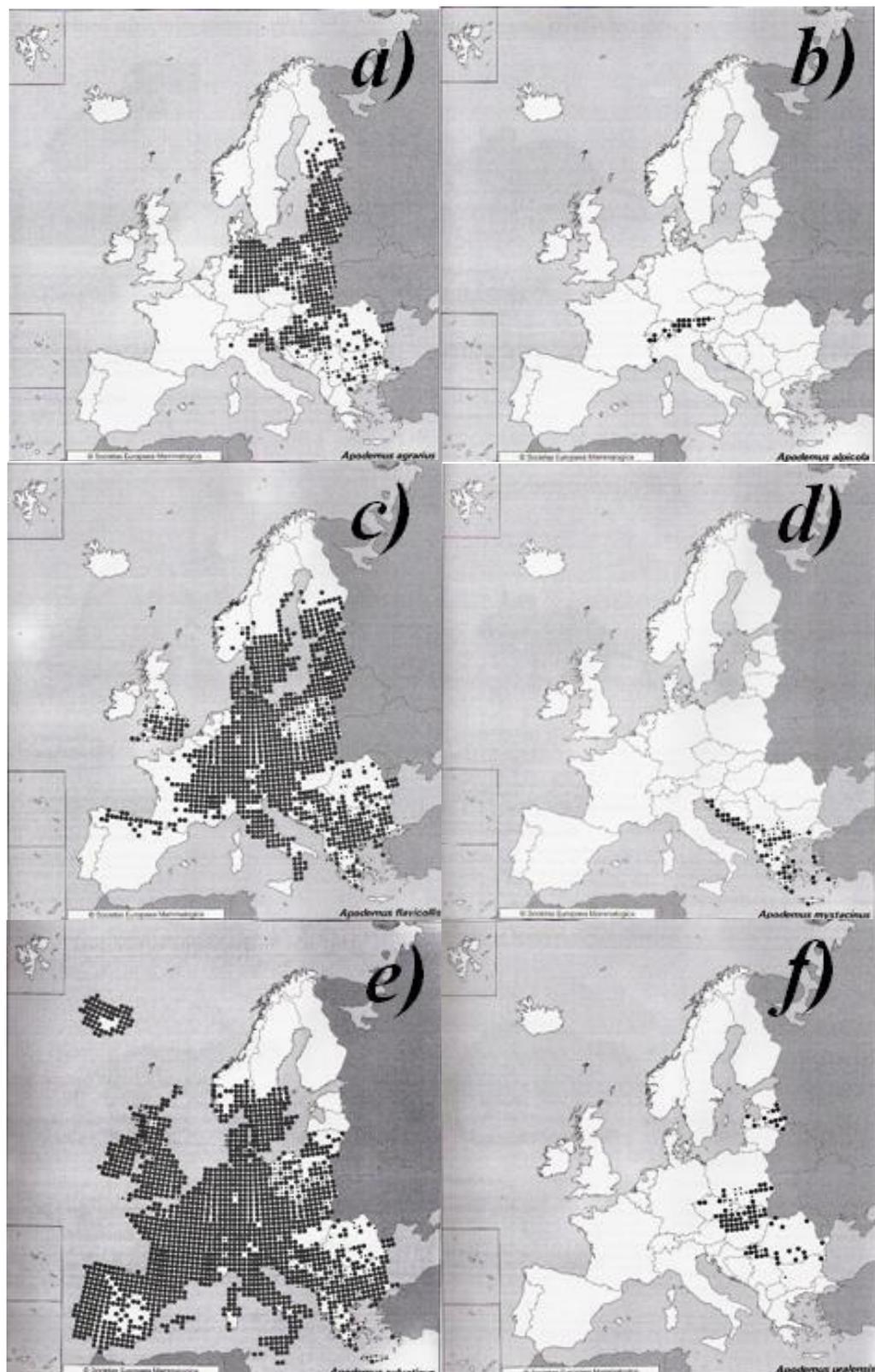
**Obr. 1:** Geografické rozšíření *A. sylvaticus*, *A. uralensis*, *A. peninsulae*, *A. speciosus*, *A. draco*, *A. gurkha*, *A. semotus*, *A. hyrcanicus* a *A. alpicola*.  
Převzato z: Panteleyev (1998).



**Obr. 2:** Geografické rozšíření *A. flavicollis*, *A. agrarius*, *A. mystacinus*, *A. latronum* a *A. agrarius*,  
 Převzato z: Panteleyev (1998).

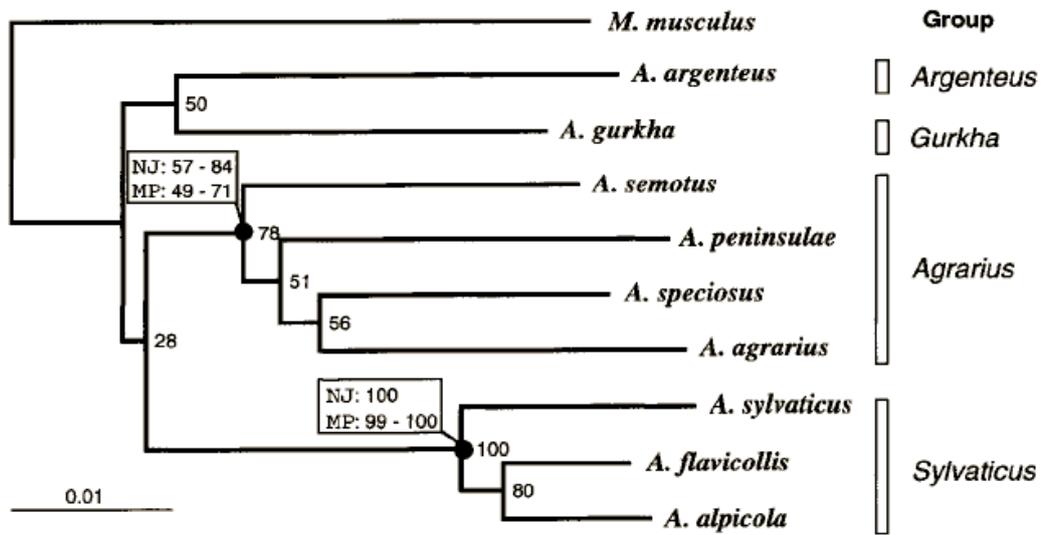


**Obr. 3:** Geografické rozšíření *A. Pontius*, *A. fulvipectus*, *A. chevrieri*.  
 :Převzato z: Panteleyev (1998).

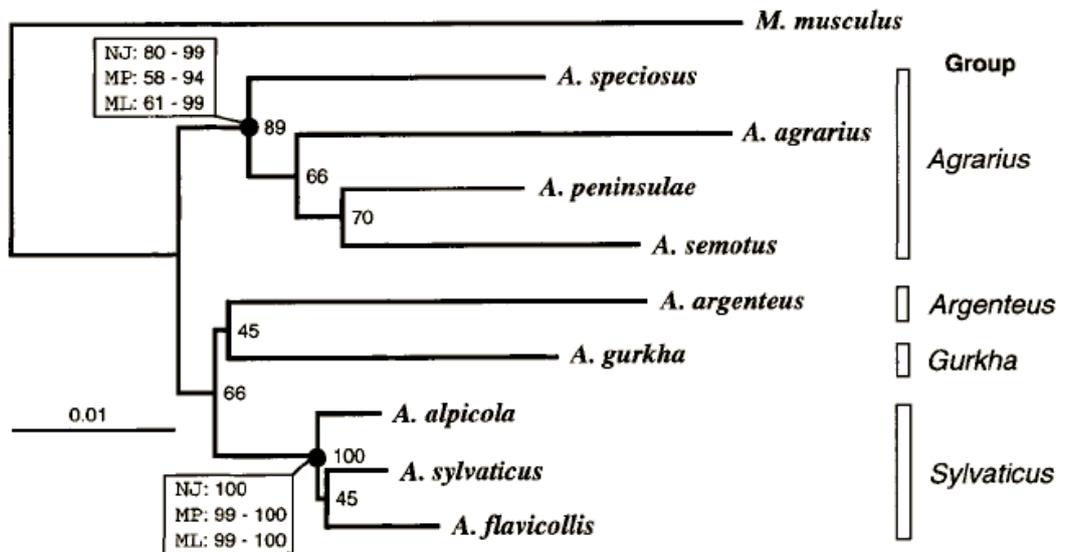


**Obr. 4:** Výskyt druhů rodu *Apodemus* v Evropě : a) *A. agrarius*; b) *A. alpicola*; c) *A. flavicollis* d) *A. mystacinus*; e) *A. sylvaticus*; f) *A. uralensis*.  
 Převzato z : Mitchell-Jones et al. (1999).

a *cyt b*

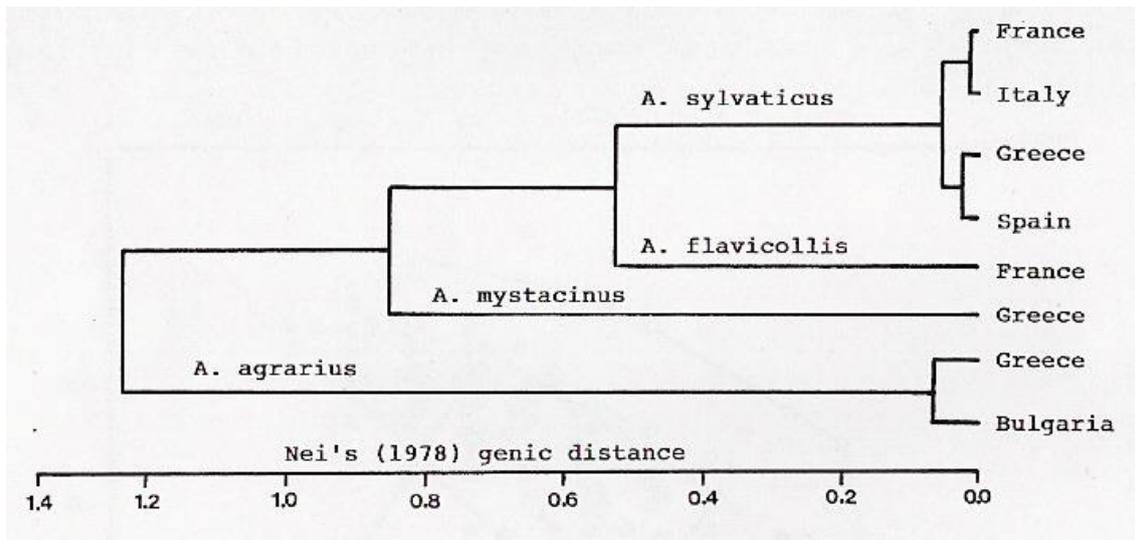


b *IRBP*

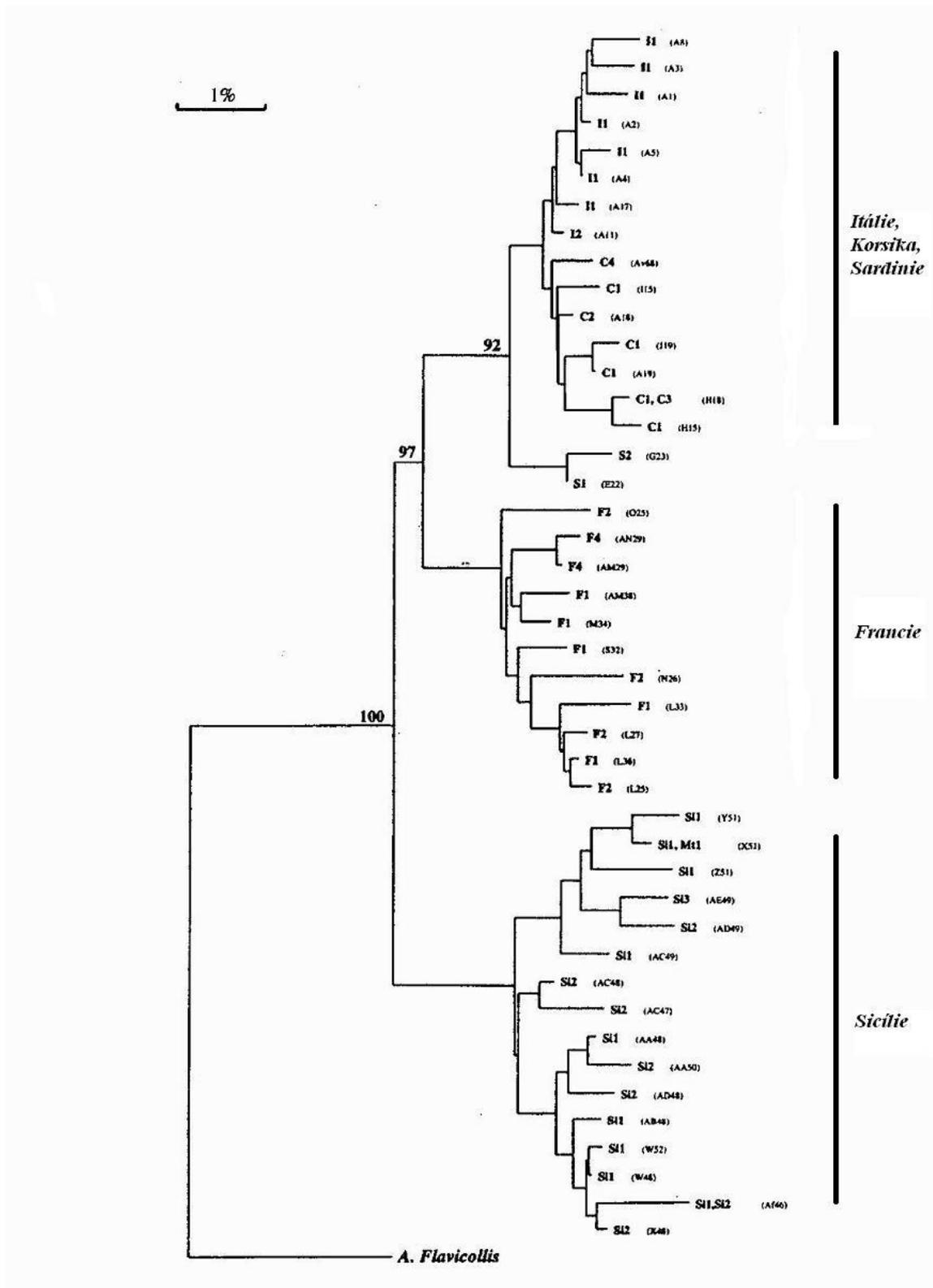


**Obr. 5:** Fylogenetické analýzy (NJ, MP, ML) dokládající současnou představu o existenci čtyř podrodů (*Sylvaemus* (zde uveden jako *Sylvaticus*), *Apodemus* (uveden jako *Agrarius*), *Argenteus*, *Gurkha*) uvnitř rodu *Apodemus*. Jako operační molekulární marker byl použit *cyt b* (a) a *IRBP* (b).

Převzato z: Serizawa et al. (2000).



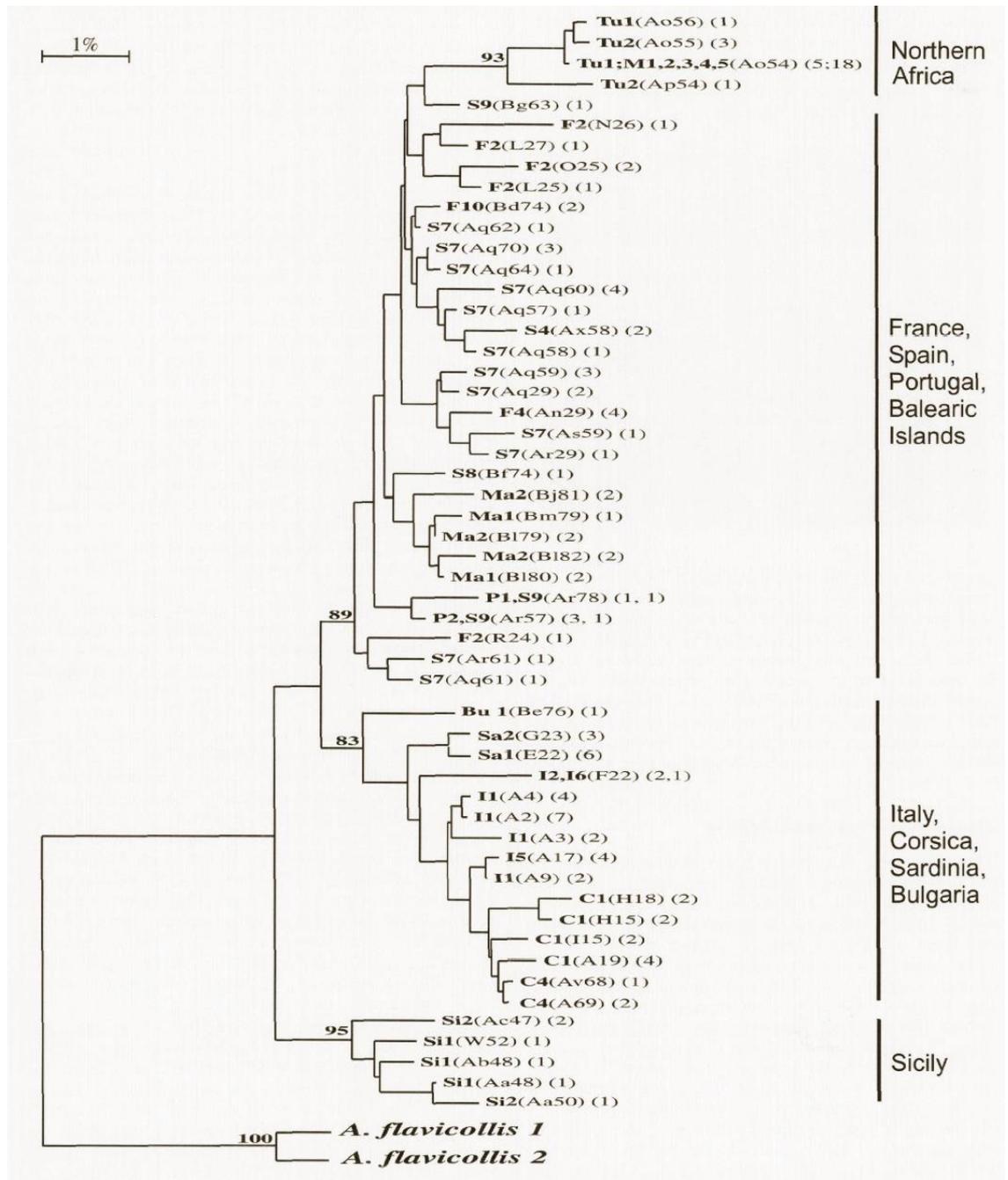
**Obr. 6:** Počáteční představa o strukturaci *A. sylvaticus*. UPGMA fenogram získaný na základě proteinové elektroforézy 20 allozymů rozdělil populace *A. sylvaticus* do dvou skupin: (i) Francie a Itálie; (ii) Řecko a Španělsko. Převzato z: Britton-Davidian et al. (1991).



**Obr. 7:** Fylogenetická analýza dokládající existenci tří geneticky odlišných linií *A. sylvaticus*: (i) Itálie, Korsika, Sardinie; (ii) Francie a (iii) Sicílie. Upraveno podle: Michaux et al. (1998a).

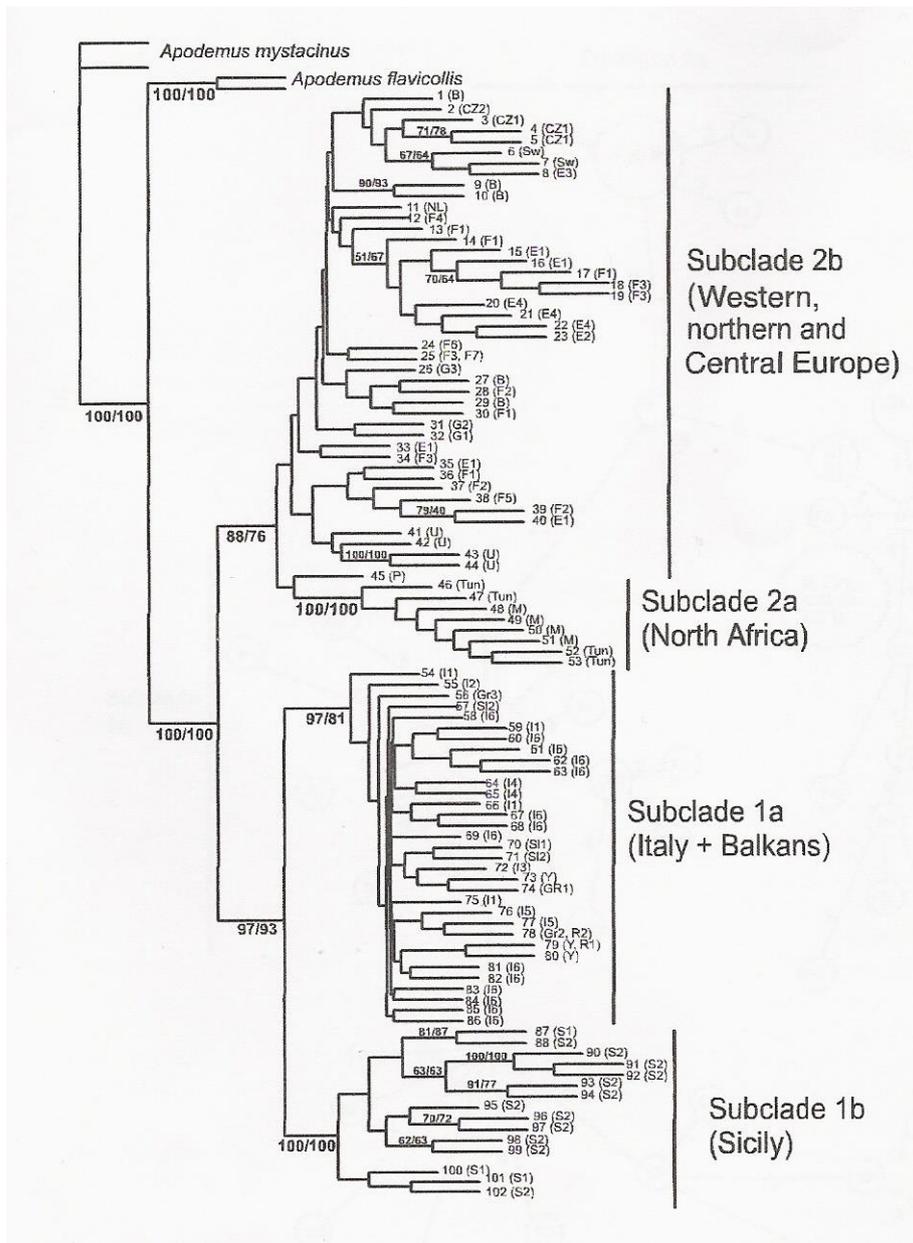


**Obr. 8:** Fylogenetická analýza rozdělila všechny analyzované vzorky do třech skupin: (i) Sicílie, (ii) Itálie a (iii) Portugalsko, Španělsko, Francie a Baleárské ostrovy. Populace *A. sylvaticus* z Pyrenejského poloostrova jsou tedy součástí severozápadoevropské linie. Převzato z: Michaux et al. (1998b).

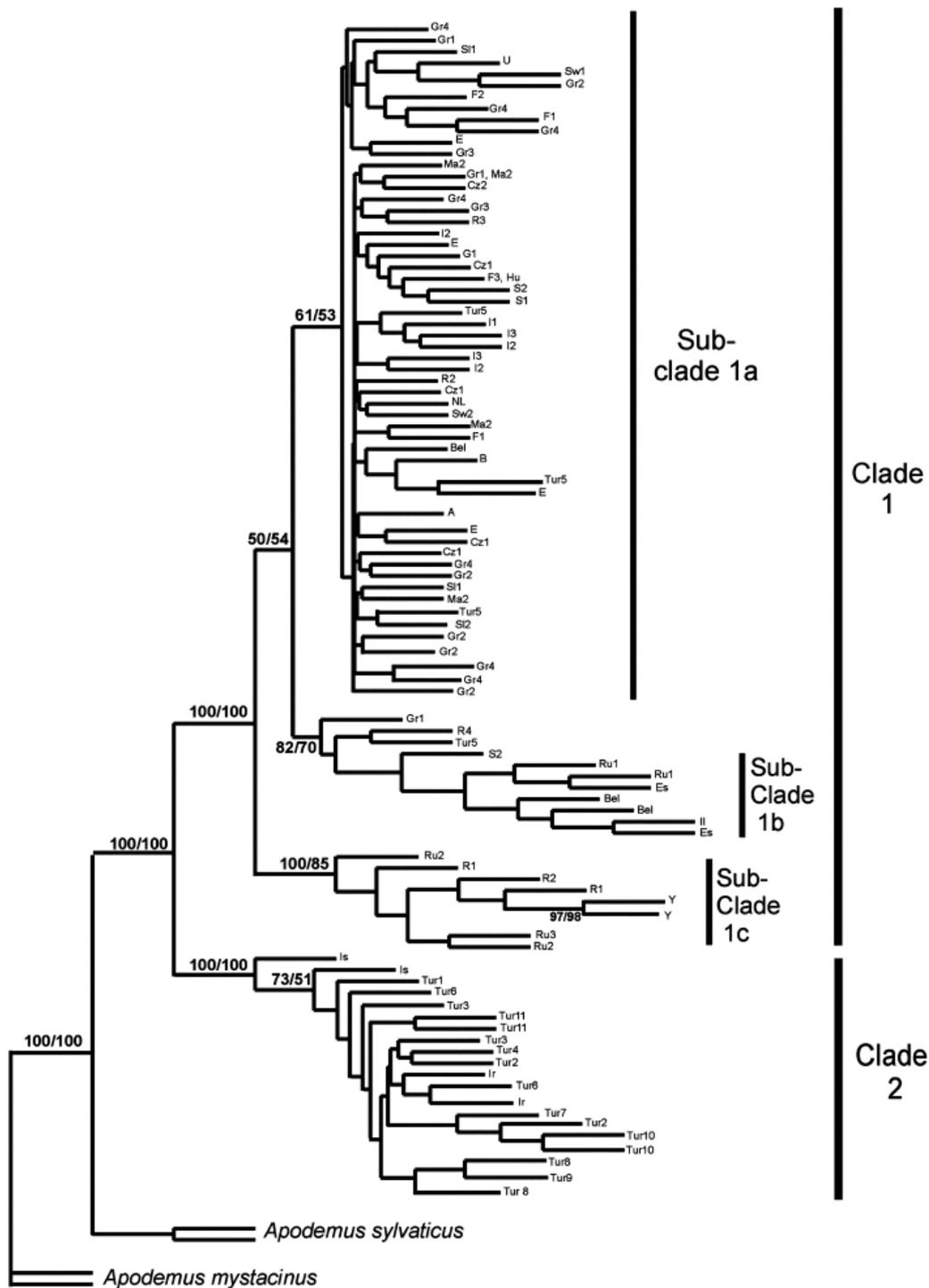


**Obr. 9:** Fylogenetická analýza dokládá, že *A. sylvaticus* ze severní Afriky tvoří zřetelně odlišnou podskupinu uvnitř severozápadoevropské linie. *A. sylvaticus* z Balkánského poloostrova patří do stejné skupiny italskými populacemi.

Převzato z: Libois et al. (2001).

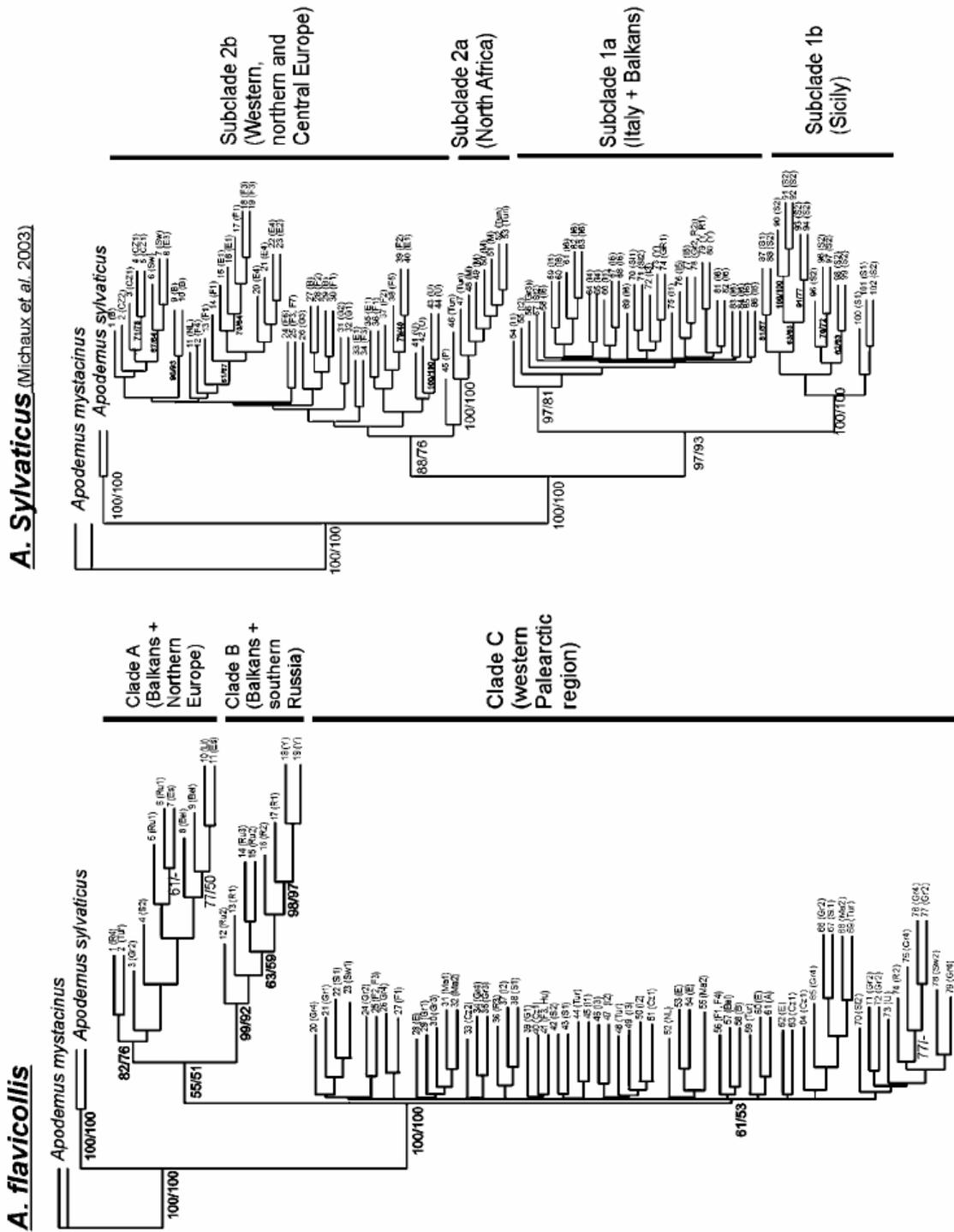


**Obr. 10:** Současná představa o strukturači *A. sylvaticus*. Populace *A. sylvaticus* jsou rozdělené do čtyř geneticky a geograficky odlišných linií: (i) Sicílie (subclade 1b); (ii) Apeninský a Balkánský poloostrov (subclade 1a); (iii) severní Afrika (subclade 2a) a (iiii) západní, severní a střední Evropa (subclade 2b).  
Převzato z: Michaux et al. (2003).

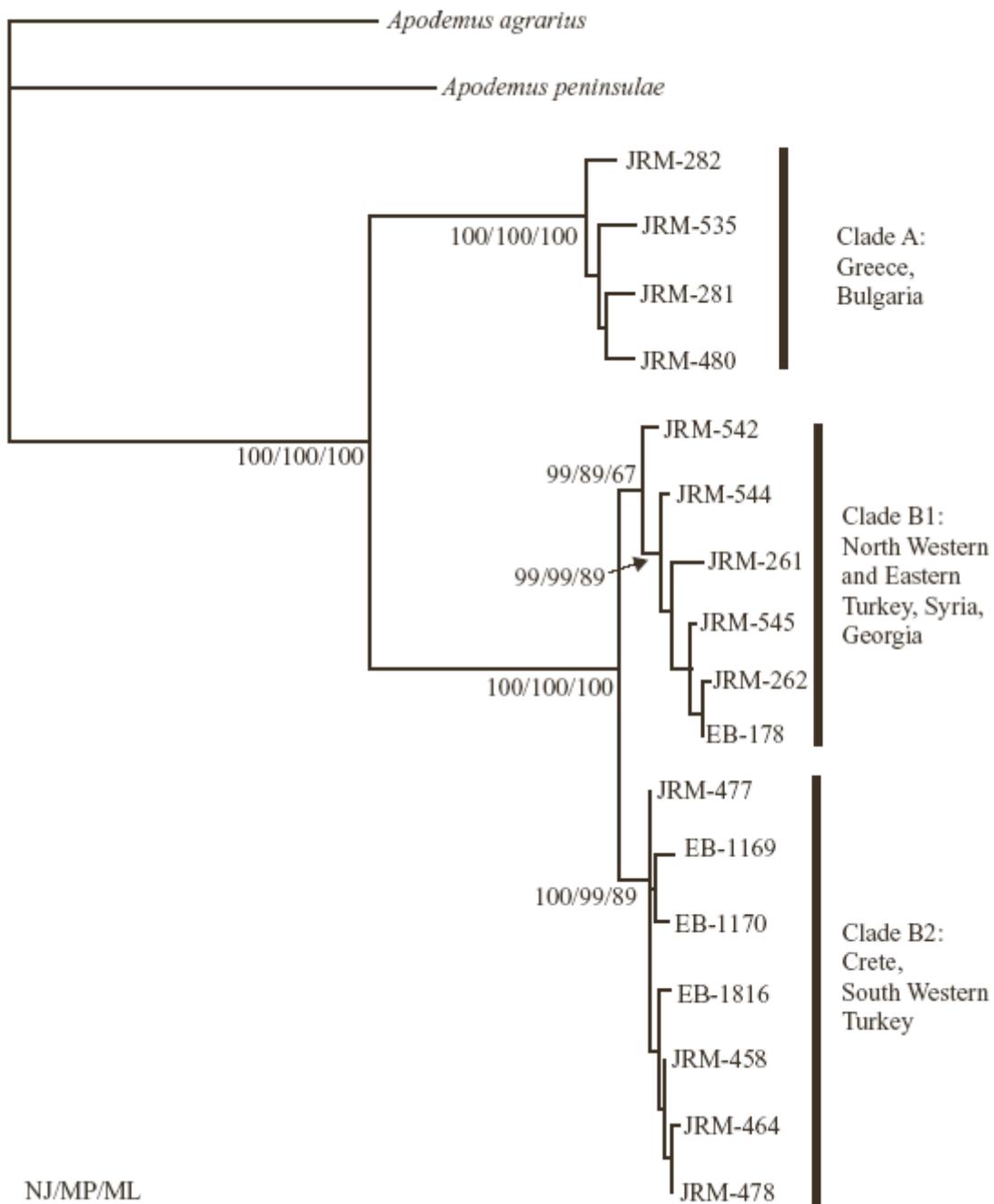


**Obr. 11:** Současná představa o strukturaci *A. flavicollis*. Populace *A. flavicollis* jsou rozdělené do dvou hlavních linií, které se nepřekrývají ve svém geografickém rozšíření: (i) Evropa (clade 1) - a (ii) Turecko a Blízký východ (clade 2). Evropská linie (clade 1) se dále rozděluje do tří hlavních skupin (subclade), které se překrývají ve svém geografickém rozšíření: 1) západní, severní (Švédsko) a východní Evropa a tři mediteránní poloostrovy 2) severní Evropa (Rusko, Estonsko, Litva, Bělorusko a Švédsko); 3) Rusko, Rumusko a Jugoslávie.

Převzato z: Michaux et al. (2004).

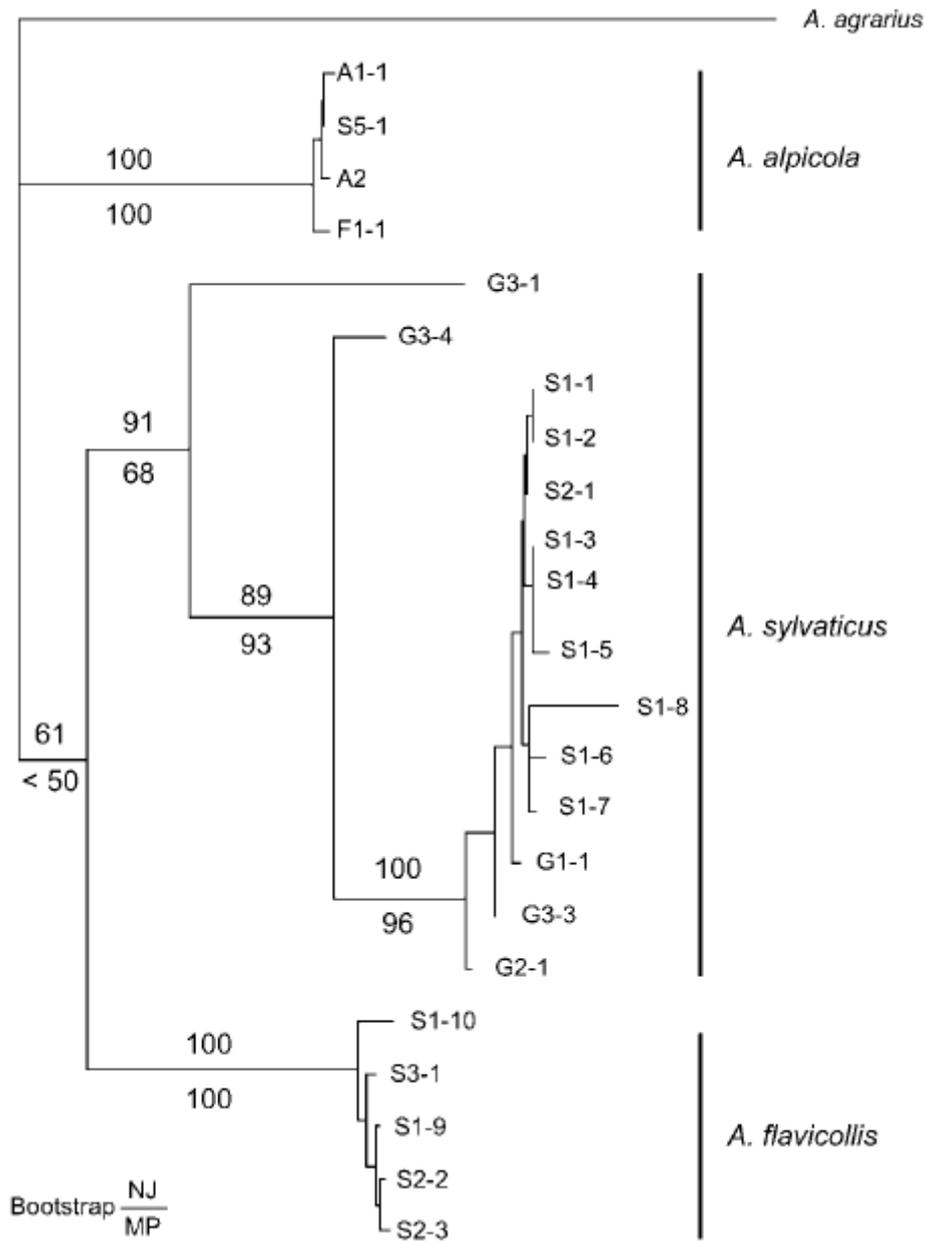


Obr. 12: Srovnání struktury evropských populací *A. flavicollis* a *A. sylvaticus*. Michaux et al., (2005a).

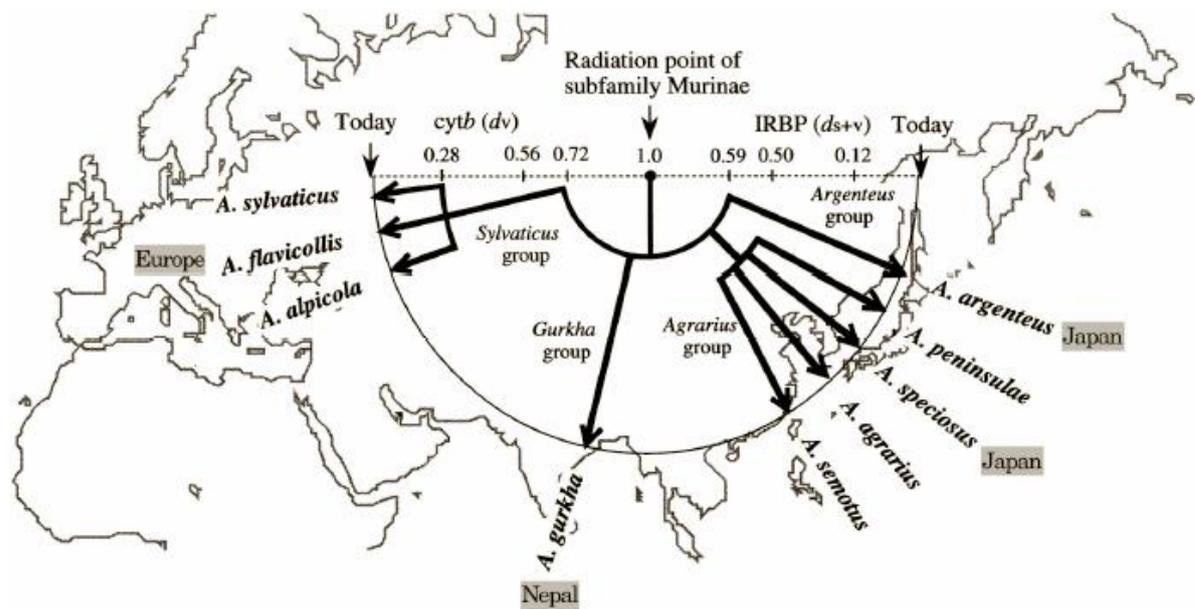


**Obr. 13:** Současná představa o strukturači *A. mystacinus*. Populace *A. mystacinus* se rozdělují do dvou geneticky velmi odlišných linií: (i) Balkánský poloostrov (clade A); (ii) Turecko a Blízký Východ (clade B1+B2). Druhá linie (clade B1+B2) se dále rozpadá na dvě skupiny: 1) SZ a V Turecko, Sýrie, Gruzie (clade B1) a 2) Kréta, JZ Turecko (clade B2).

Převzato z : Michaux et al. (2005b).



**Obr. 14:** Problematický vzorek G3-1 pocházející z jižního Německa určen jako *A. fulvipectus*. Identifikace druhého problematického vzorku (G3-4) zůstává nejasná. Převzato z : Reutter et al. (2003).



**Obr. 15:** Schéma znázorňující tři hlavní radiace, během kterých vznikly čtyři hlavní fylogenetické linie v rámci rodu *Apodemus* (*Argenteus*, *Apodemus* (zde uvedeno jako *Agrarius group*), *Gurkha*, *Sylvaemus* (*Sylvaticus group*))  
Převzato z: Sezizawa et al. (2000).