



NÁRODNÍ
MUZEUM

Katalog k výstavě
Doba genová

MOLEKULÁRNĚ FYLOGENETICKÝ VÝZKUM V NÁRODNÍM MUZEU

Dominik Vondráček, Tatiana Aghová,
Petr Benda, Jindřich Brejcha,
Martin Fikáček, Jiří Moravec,
Radek Šanda, Jan Štundl



MOLEKULÁRNĚ FYLOGENETICKÝ VÝZKUM V NÁRODNÍM MUZEU

Katalog k výstavě Doba genová

Dominik Vondráček, Tatiana Aghová, Petr Benda, Jindřich Brejcha,
Martin Fikáček, Jiří Moravec, Radek Šanda, Jan Štundl

Národní muzeum
Praha 2019

Molekulárně fylogenetický výzkum v Národním muzeu

Katalog k výstavě Doba genová

Autorský tým

Dominik Vondráček, Tatiana Aghová, Petr Benda, Jindřich Brejcha, Martin Fikáček, Jiří Moravec, Radek Šanda, Jan Štundl

Editor

Mgr. Dominik Vondráček

Překlad

MEDIA MARKET s.r.o., Stuart Roberts

Recenze

Mgr. Petr Janšta, Ph.D.

Poděkování

Předložený kritický katalog vznikl za finanční podpory Ministerstva kultury České republiky v rámci programu aplikovaného výzkumu a vývoje národní a kulturní identity (NAKI II). Tato publikace je jedním z výsledků projektu „Metodika determinace zoologického sbírkového materiálu na základě analýzy DNA a správy a evidence tkáňové zoologické sbírky“ (DG16P02B038, roky 2016–2019).

This critical catalogue was financially supported by the Ministry of Culture of the Czech Republic within the program of applied research and development of national and cultural identity (NAKI II). This publication is one of the results of the project “A methodology for the determination of zoological collection specimens on the basis of DNA analysis and the management of tissue samples collection” (DG16P02B038, years 2016–2019).

Dále bychom rádi poděkovali všem kurátorům Přírodovědeckého muzea, kteří se podíleli na sepsání kratších pasáží za jednotlivá oddělení či přispěli k doplnění informací v samotném katalogu exponátů. Taktéž děkujeme všem, kdo darovali či zapůjčili exponáty nebo fotografie do výstavních prostor expozice Doba genová. Velký dík patří našemu kolegovi Petru Dolejšovi za jeho cenné připomínky v průběhu celé tvorby této publikace.

Text © Mgr. Dominik Vondráček; Mgr. Tatiana Aghová, Ph.D.; doc. RNDr. Petr Benda, Ph.D.; Mgr. Jindřich Brejcha, Ph.D.; Mgr. Martin Fikáček, Ph.D.; RNDr. Jiří Moravec, CSc.; Mgr. Radek Šanda, Ph.D.; Mgr. Jan Štundl, Ph.D., 2019

Foto © Mgr. Jindřich Brejcha, Ph.D.; Mgr. Jiří Hájek, Ph.D.; Tomáš Hejzlar; RNDr. Jiří Moravec, CSc.; Ing. Jan Šumpich; Mgr. Dominik Vondráček, 2019

Grafické zpracování a ilustrace © Lukáš Matouš, 2019

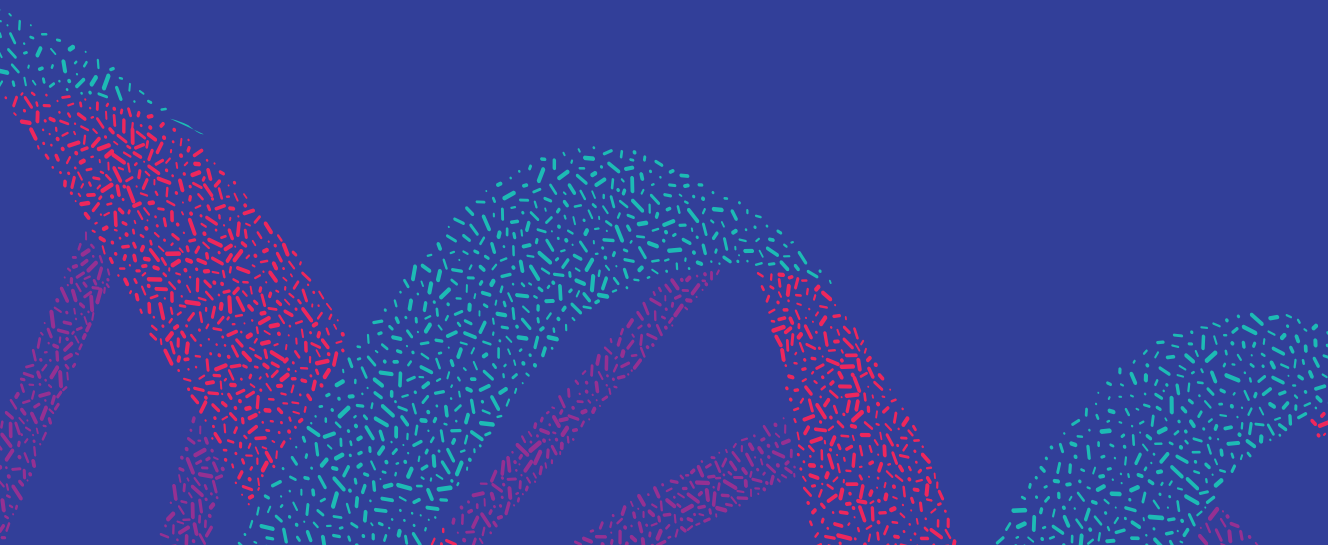
© Národní muzeum, 2019

1. vydání

ISBN 978-80-7036-624-0

**MOLEKULÁRNĚ FYLOGENETICKÝ
VÝZKUM V NÁRODNÍM MUZEU**

OBSAH



ÚVOD

6

MOLEKULA DNA A HISTORIE
JEJÍHO VÝZKUMU

10

MOLEKULÁRNĚ FYLOGENETICKÝ VÝZKUM
V PŘÍRODOVĚDECKÉM MUZEU

22

KATALOG VÝSTAVY

70

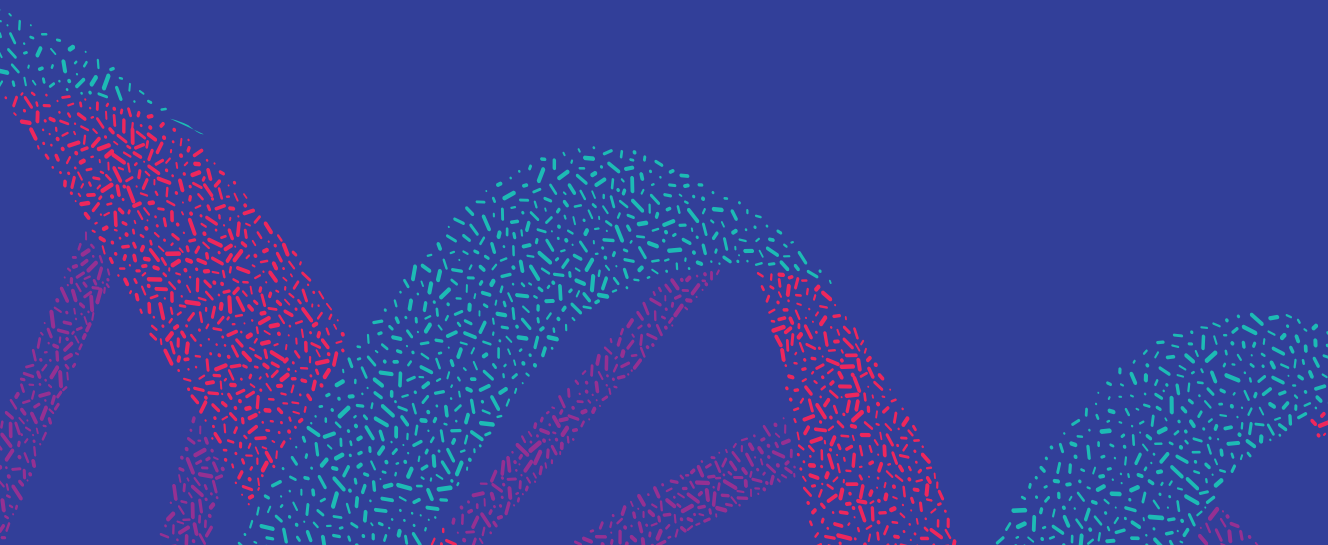
VÝSTAVA

98

RESUMÉ

102

ÚVOD



Sbírky Přírodovědeckého muzea dnes čítají více než 16 milionů sbírkových předmětů a spolu s typovými kolekcemi tvoří zásadní část fondu kulturního dědictví České republiky, které spravuje Národní muzeum. Přírodovědecké muzeum, ve kterém najdeme větší část tohoto dědictví, tvoří osm různých oddělení: antropologické, botanické, entomologické, mineralogicko-petrologické, mykologické, paleontologické, zoologické a kroužkovací stanice. Nedílnou součástí práce těchto oddělení je kromě péče o rozsáhlé sbírky také vědecký výzkum financovaný z různorodých zdrojů. Předně jde o institucionální prostředky na vědu (DKRVO), účelové finanční prostředky z rozpočtu Ministerstva kultury ČR (NAKI) nebo z rozpočtu EU (program Synthesis). Taktéž sem patří finanční podpora lokálních i zahraničních grantových agentur či financování ze soukromého sektoru. I díky těmto zdrojům mohl být a neustále je rozvíjen výzkumný potenciál Přírodovědeckého muzea a s ním spjatá výstavba a provozování různých specializovaných laboratoří a dále i získávání stále nového sbírkového materiálu.

V areálu pracoviště v Horních Počernicích, které vzniklo na sklonku 20. století a kam se postupně přestěhovala téměř všechna zmíněná oddělení z jiných, již nevyhovujících budov, nalezneme tedy kromě moderních depozitárních prostor i široké spektrum laboratoří spolu se špičkovým přístrojovým vybavením. Přírodovědecké muzeum tak má k dispozici například mikroskopickou laboratoř vybavenou rastrovacím elektronovým mikroskopem (SEM) a mikrotomografickým výpočetním zařízením (microCT) spravovanou paleontologickým oddělením, laboratoř instrumentální analýzy vybavenou mikrosondou, rentgenem a Ramanovým spektrometrem spravovanou mineralogicko-petrologickým oddělením či molekulárně genetickou laboratoř spravovanou zoologickým a entomologickým oddělením.

A právě molekulárně fylogenetický a taxonomický výzkum spjatý s poslední zmíněnou laboratoří patří mezi stěžejní pomocné prvky v tvorbě aktuálních publikačních výstupů zaměstnanců obou oddělení za posledních 17 let. Podobně zaměřený výzkum je okrajově prováděn i na antropologickém, botanickém a mykologickém oddělení, která však využívají přizpůsobených laboratoří jiných tuzemských i zahraničních pracovišť, se kterými intenzivně spolupracují. Molekulárně fylogenetický a taxonomický výzkum Přírodovědeckého muzea se opírá především o možnosti získávání nukleových kyselin, v tomto případě sekvencí DNA, s pomocí molekulárně genetických laboratorních metod a jejich následnou analýzu za pomoci specializovaných počítačových programů.

Nukleové kyseliny spolu s bílkovinami, sacharidy a lipidy patří mezi základní molekuly organismů naší planety a právě nukleové kyseliny nebo bílkoviny stály s velkou pravděpodobností u zrodu vůbec prvního života na Zemi zhruba před čtyřmi až čtyřmi a půl miliardami let. Samotné nukleové kyseliny dělíme na tzv. DNA a RNA, tedy deoxyribonukleovou a ribonukleovou kyselinu, přičemž DNA slouží jako primární zdroj genetické informace téměř u všech nám známých organismů. Viry bývají někdy vyčleňovány mimo organismy, popřípadě se jim říká neživé organismy. Ať už se přikloníme k jakékoliv variantě, existuje v rámci této skupiny právě ona výjimka. Jde o tzv. RNA viry, které nemají žádnou DNA, a naopak fungují pouze a jenom díky svým RNA molekulám.

Vzhledem k tomu, že DNA je tedy informativní makromolekulou, lze ji využít velmi efektivně v taxonomických, systematických či evolučních studiích. Tedy využít ji v případě hledání nových druhů, řešení jejich taxonomie a systematického zařazení, nebo zjišťování, jakým způsobem jsou jednotlivé organismy fylogeneticky příbuzné a jaká je jejich evoluční historie, ať už na úrovni populací jednoho druhu, nebo i celých čeledí či řádů. Právě tyto možnosti v podobě tzv. molekulární taxonomie a molekulární fylogenetiky otevřely zoologickému a entomologickému oddělení po etablování molekulárně genetické laboratoře přístup k novým typům výzkumů se zacílením na analýzu DNA sekvencí ze sbírkových předmětů. Jde především o nově sbírané vzorky, ať už z výjezdů do terénu v rámci České republiky a střední



↑ Hlavní budova Přírodovědeckého muzea v areálu Národního muzea v Horních Počernicích s depozitáři a částí laboratorních prostor. © Dominik Vondráček

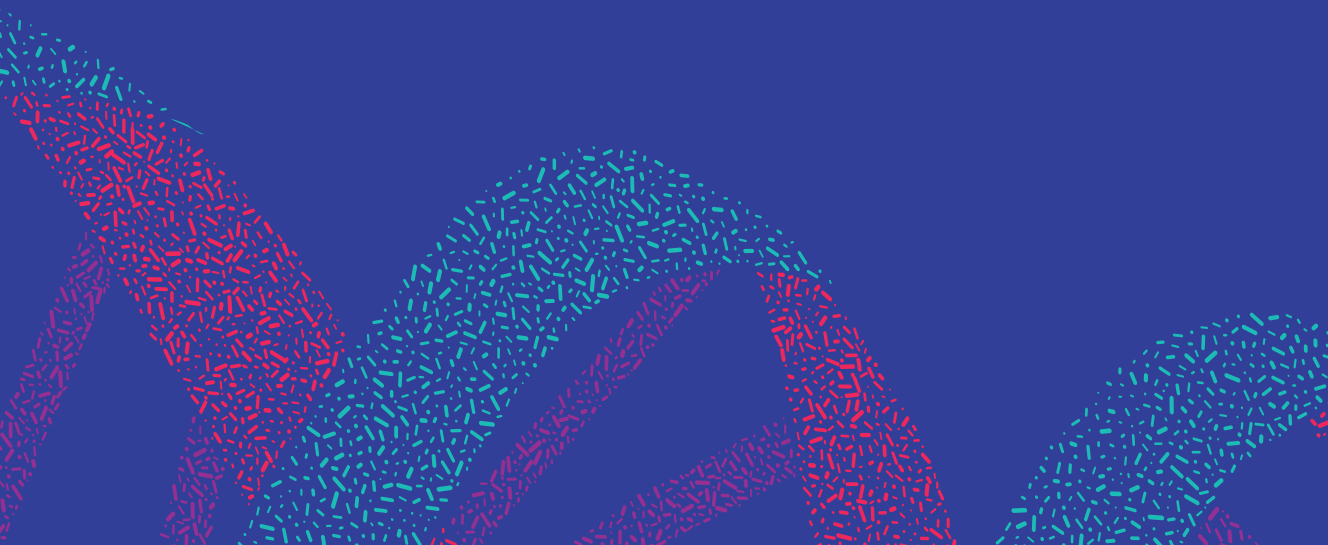


↑ Vedlejší budova Přírodovědeckého muzea, ve které se nachází převážná část molekulárně genetických laboratoří. © Dominik Vondráček

Evropy, nebo i z expedic, které jsou každoročně prováděny oběma odděleními do různých částí světa. Získat DNA je totiž mnohem snazší z čerstvě nasbíraných vzorků než z historických kusů uložených desetiletí až staletí v depozitářích. I z nich lze však DNA získat, jelikož jde o poměrně stabilní molekulu, která může odolat okolním vlivům i stovky let (v určitých případech i stovky tisíc let). Laboratorní procesy ovšem bývají v těchto případech daleko náročnější, časově i finančně, nehledě na nejistý výsledek. Přesto se tomuto tématu zaměstnanci Přírodovědeckého muzea v posledních letech pilně věnují a bylo i snahou v rámci získaného projektu NAKI II například standardizovat postupy fixace a uskladnění muzejních typů vzorků, tak aby byly dále využitelné pro potřeby DNA analýz. Přírodovědecká muzea v celé ČR totiž často disponují unikátními dokladovými exempláři lokální i světové fauny, jež však mohou díky nevhodnému typu fixace a následného uskladnění svoji DNA rychle a nenávratně ztratit.

Samotné sbírky zoologického a entomologického oddělení čítají v současné době miliony položek a každoroční přírůstky přesahují až 60 tisíc exemplářů, do čehož nejsou zahrnuty až statisícové přírůstky ze soukromých sbírek, které se pravidelně dostávají do muzea darem, odkazem z pozůstalosti nebo výkupem. Součástí sbírek je také několik desítek tisíc typových exemplářů z celého světa (exempláře, podle nichž byl popsán druh nebo poddruh). A právě v nich se skrývá obrovské bohatství, jelikož mohou stále obsahovat a většinou stále obsahují svoji DNA, jejíž využití může být zásadní pro mnoho typů studií, kdy je častokrát zapotřebí prověřit i taxony, či jejich populace, které například na dané (typové) lokalitě již nežijí, nebo vyhynuly úplně. Zaměstnanci zoologického a entomologického oddělení každým rokem popíší i několik desítek nových taxonů, převážně druhů a poddruhů. U těchto studií byly molekulárně fylogenetické a taxonomické metody často stěžejním, nebo alespoň silně podpůrným prvkem, který napomohl k rozšíření již známé biodiverzity napříč celým světem.

MOLEKULA DNA A HISTORIE JEJÍHO VÝZKUMU



Historie výzkumu v oblasti genetiky a DNA

Počátky výzkumu zabývajících se DNA, respektive dědičností, která je s ní spjatá, započaly již ve druhé polovině 19. století na území dřívějšího Rakouska-Uherska. Johann Gregor Mendel, syn německy mluvících rodičů a rodák z Hynčic (část obce Vražné v dnešním Moravskoslezském kraji), se po vysokoškolských studiích ve Vídni přesunul do Brna, kde se později v letech 1856–1863 věnoval pokusům křížení hrachu setého (*Pisum sativum*) a stal se tak zakladatelem genetiky. Získané znalosti z matematiky a statistiky využil při popisování a vysvětlování přírodních jevů, přičemž se zaměřil právě na zmíněné křížení rostlin hrachu a následné sledování potomstva. Díky tisícovkám křížení mohl poté vyhodnotit obrovské množství dat, což vyústilo v definování tří základních pravidel, tzv. Mendelových zákonů dědičnosti. Sám Mendel jejich podobu, tak jak ji známe dnes, výslovně neformuloval. K tomu došlo až později, kdy byly jeho data a výsledky několikrát ověřovány či doplněny, a pravidla následně upravena. Svoji studii publikoval v roce 1866 v práci „Pokusy s rostlinnými hybridy“, v němčině „Versuche über Pflanzen-Hybriden“ (MENDEL 1866). Mendelův obrovský přínos v rámci biologie a v následném genetickém výzkumu byl naplno akceptován a využit až o několik desítek let později.

Mezitím fyziolog a lékař Johannes Friedrich Miescher, který studoval lidské leukocyty získané z hnisu, v roce 1869 izoloval z jader bílých krvinek sraženinu bohatou na fosfor a dusík. Složení sraženiny prokázal pomocí enzymatických pokusů a následně ji pojmenoval jako nukleín, tedy dnes již známé nukleové kyseliny včetně DNA (MIESCHER 1871). Miescher je tedy považován za objevitele DNA, i když mu nebyla známa funkce této směsi ani její detailnější struktury. Jednu chvíli se však domníval, že by mohla hrát roli v dědičnosti. Důležitost tohoto objevu se opět projevila až později.

Na práci Johannese Friedricha Mieschera navázal Richard Altmann, který poprvé použil termín nukleové kyseliny (1889), poté co zjistil, že se jedná o látky kyselého charakteru (ALTMANN 1889). V podobném období Albrecht Kossel postupně získal pět základních složek nukleových kyselin (v letech 1885–1901), dnes známých jako nukleové báze, a dal jim jména: adenin, cytosin, guanin, thymin a uracil. Na přelomu 19. a 20. století byly čtyřmi různými vědci nezávisle na sobě znovuobjeveny či znovupotvrzeny Mendelovy zákony dědičnosti (CORRENS 1900; TSCHERMAK 1900; VRIES 1900; SPILLMAN 1902). Byli jimi Carl Erich Correns,



Johann Gregor Mendel (1822–1884), zakladatel genetiky a strůjce tří základních zákonů dědičnosti.



Johannes Friedrich Miescher (1844–1895), objevitel nukleových kyselin, tedy i DNA.

Erich von Tschermak-Seysenegg, Hugo de Vries a William Jasper Spillman. Hugo de Vries byl zároveň první, kdo vyslovil hypotézu tzv. pangenů (1889), dnes známých jako geny, jelikož se domníval, že dědičné rysy musejí mít své nositele, které tak nazval právě pangeny. Zmínění autoři studii spolu s Williamem Batesonem postupně zpřesnili Mendelovu práci a samotné zákony tak získaly dnešní podobu. William Bateson byl první, kdo použil v letech 1905–1906 termín genetika.

V roce 1909 a 1929 Phoebus Levene objevil poslední složky RNA a DNA, kterými byly fosfát a jeden z cukrů. V případě RNA šlo o ribózu a u DNA o deoxyribózu. V roce 1938 zveřejnili William Astbury a Florence Bell první nepřímé zobrazení molekuly DNA pomocí rentgenové difrakční krystalografie. Autoři poukázali na pravidelnou strukturu této molekuly. Oswald Avery, Colin MacLeod a Maclyn McCarty provedli v roce 1944 pokus, kterým jako první prokázali, že v přenosu genetické informace hraje roli právě DNA (AVERY et al. 1944). Samotný pokus vešel do povědomí jako tzv. Averyho-MacLeodův-McCartyho experiment, což následně potvrdili v roce 1952 Alfred Hershey a Martha Cowles Chaseová. Těm se podařilo prokázat, že virům slouží k přenosu genetické informace DNA, nikoliv jejich bílkovinné schránky (HERSHEY & CHASE 1952).

Zásadním milníkem ve výzkumu DNA byl počátek 50. let 20. století, kdy souběžně několik týmů pracovalo na vyřešení samotné struktury DNA. V roce 1951 Rosalind Elsie Franklinová představila zásadní objev v rámci studie struktury DNA. Díky detailním krystalografickým snímkům zjistila, že má tato molekula helikální, tedy šroubovicovou strukturu. Mezitím se James Dewey Watson a Francis Harry Compton Crick snažili postavit model DNA dvoušroubovice a až díky spatření zmíněných snímků Franklinové se jim to podařilo, sestavili tak první 3D model DNA (WATSON & CRICK 1953). Snímky se jim dostaly do ruky, aniž by o tom Franklinová věděla. V roce 1962 si Watson a Crick odnesli Nobelovu cenu za tento objev spolu s Mauricem H. F. Wilkinsem, který byl tou osobou, jež jim ukázala ony snímky. Franklinová by ocenění taktéž získala, ale bohužel se toho nedožila.

V roce 1956 Arthur Kornberg objevil mechanismus kopírování DNA, tedy například i existenci enzymu DNA polymerázy, který získal z bakterií *Escherichia coli* (KORNBERG et al. 1956). Francis Crick v roce 1958 poprvé použil pojem molekulárního centrálního dogmatu (i když se domníval, že slovo dogma znamená něco jiného) a o deset let později objevili Marshall Niren-



Hugo de Vries (1848–1935), jeden ze znovuobjevitelů Mendelových zákonů dědičnosti.



Rosalind Elsie Franklin (1920–1958), objevitelka helikální struktury molekuly DNA.

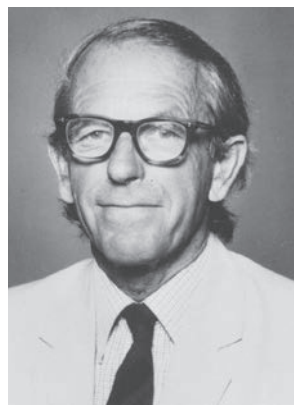


James Dewey Watson (*1928), Francis Harry Compton Crick (1916–2004) a jejich první 3D model DNA dvoušroubovice (1953).

berg, Severo Ochoa a Har Khorana principy a průběh jeho procesu (viz strany 18–19). Rozluštili tedy samotný genetický kód. Spolu s Robertem Holleym objasnili proces přepisu DNA do RNA (transkripce) a následný překlad RNA do řetězců aminokyselin (translace), tedy tvorbu bílkovin.

V 70. letech minulého století došlo k průlomům na poli metod sekvenování DNA, tedy čtení jednotlivých po sobě jdoucích nukleových bází v jednom ze dvou vláken dvoušroubovice. Na konci 60. let byly totiž tyto metody velice komplikované a sekvenování DNA velmi obtížné. První krátká sekvence o pouhých 12 nukleových bázích byla získána v roce 1968 (WU & KASIER 1968). Sekvenci z okrajových regionů genomu bakteriofágního viru lambda (napadajícího *Escherichia coli*) trvalo získat tři roky. Zásadní průlom nastal v roce 1975, kdy relativně rychlou sekvenační metodu vyvinuli Frederick Sanger a Allan R. Coulson (SANGER & COULSON 1975). O dva roky později vyvinuli Allan Maxam a Walter Gilbert metodu tzv. chemického sekvenování (MAXAM & GILBERT 1977). Přestože Sanger i Gilbert získali za své objevy Nobelovu cenu, od Maxamova-Gilbertova sekvenování se v podstatě téměř upustilo, jednak kvůli vyšší náročnosti, jednak kvůli využívání radioaktivního značení. Naopak Sangerovo sekvenování, i když v modernějším pojetí, se stále řadí ke zlatému standardu a využívá se naprosto běžně i dnes v různých typech výzkumů, včetně těch, které se provádějí na půdě Národního muzea.

Další zásadní milník se udál v roce 1983, kdy Kary Banks Mullis jel se svojí přítelkyní v automobilu a dostal revoluční nápad. Tím byla jednoduchá realizace namnožení krátkého úseku DNA za pomoci DNA polymerázy a primerů (značek), které ohraňují zmíněný úsek v molekule z obou stran. V té době již byly k dostání všechny důležité složky pro tuto metodu, včetně tzv. Taq polymerázy, kterou získal tým Chien v roce 1976 z bakterie *Thermus aquaticus* (CHIEN et al. 1976). Jde o teplomilné bakterie schopné žít v extrémně horké vodě vřidel, a tudíž je jejich polymeráza odolná vůči vysokým teplotám, což je důležitá vlastnost pro Mullisovu metodu. Tehdy nikdo netušil, že se tzv. polymerázová řetězová reakce (PCR) stane přelomovou metodou na poli nejen molekulární biologie po celém světě (SAIKI et al. 1985). Kary B. Mullis si odnesl 10 tisíc amerických dolarů jako odměnu od firmy, která o pár let později celý nápad prodala za 300 milionů amerických dolarů. Mullis byl oceněn Nobelovou cenou za chemii v roce 1993. Samotný proces PCR je založen na cyklickém střídání teplot, což následně výrazně usnadnil přístroj zvaný



Frederick Sanger (1918–2013), jeden ze strůjců metody tzv. Sangerova sekvenování.



Kary Banks Mullis (1944–2019), tvůrce metody polymerázové řetězové reakce (PCR).

termocyklér. První prototyp termocykléru vznikl v roce 1986 pod názvem „Baby Blue“ a dnes jsou moderní verze termocyklérů používány po celém světě nejen v molekulárně genetických laboratořích.

Díky PCR metodě a Sangerově sekvenování mohly postupně započít různé projekty zaměřené na osekvenování kompletního genomu. Prvním takovým organismem byla volně žijící gram negativní bakterie druhu *Haemophilus influenzae*. V roce 1995 zkompletovali její genom Robert Fleischmann, Craig Venter a jejich tým. Genom bakterie se skládá celkem z 1830130 nukleových bází v jedné kruhové molekule DNA a obsahuje 1740 genů, které kódují bílkoviny (FLEISCHMANN et al. 1995).

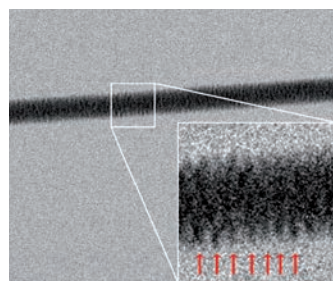
V roce 1990 byl zahájen projekt prvního přečtení lidského genomu (HGP = Human Genome Project). Po celých 13 letech práce na dvaceti nejmodernějších pracovištích v USA, Německu, Velké Británii, Číně a Japonsku konsorcium vědců kompletně přečetlo první lidský genom s přibližně třemi miliardami nukleových bází a více než 22500 geny (INTERNATIONAL HUMAN GENOME SEQUENCING CONSORTIUM 2004). K dnešnímu dni byl lidský genom přečten z dalšího zhruba jednoho milionu lidí, a to díky nové generaci sekvenačních přístrojů, které zajistily velmi efektivní čtení DNA za mnohem příznivější ceny. První přečtení lidského genomu v roce 2003 finančně vyšlo podle odhadů na neuvěřitelných 500 až 1000 milionů amerických dolarů. Dnes lze přečíst jeden lidský genom za přibližně 20 až 25 tisíc korun v řádech několika dní.

V novém tisíciletí se také podařilo vytvořit první přímou fotografii DNA. Francesco Gentile, Enzo di Fabrizio a jejich tým v roce 2012 zveřejnili první fotografický snímek DNA dvoušroubovice získaný pomocí transmisního elektronového mikroskopu, který je schopen zachytit objekty v řádech nanometrů (GENTILE et al. 2012). Ze snímku byla patrná šroubovicová struktura, jednotlivé žlábkové ve vinutí dvoušroubovice nebo již dříve změřené či přesně odhadnuté rozměry molekuly za pomoci jiných metod.



První prototyp termocykléru „Baby Blue“ z roku 1986, který zautomatizoval proces PCR. © John Cummings, CC BY-SA 2.0

[https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Baby_Blue_-_a_prototype_polymerase_chain_reaction_\(PCR\),_c_1986._\(9663810586\).jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Baby_Blue_-_a_prototype_polymerase_chain_reaction_(PCR),_c_1986._(9663810586).jpg)



První transmisní elektronový snímek dvoušroubovice DNA. V přibližném výřezu jsou viditelné žlábkové dvoušroubovice. Převzato a upraveno se svolením z práce GENTILE et al. 2012.

Struktura DNA a její uložení

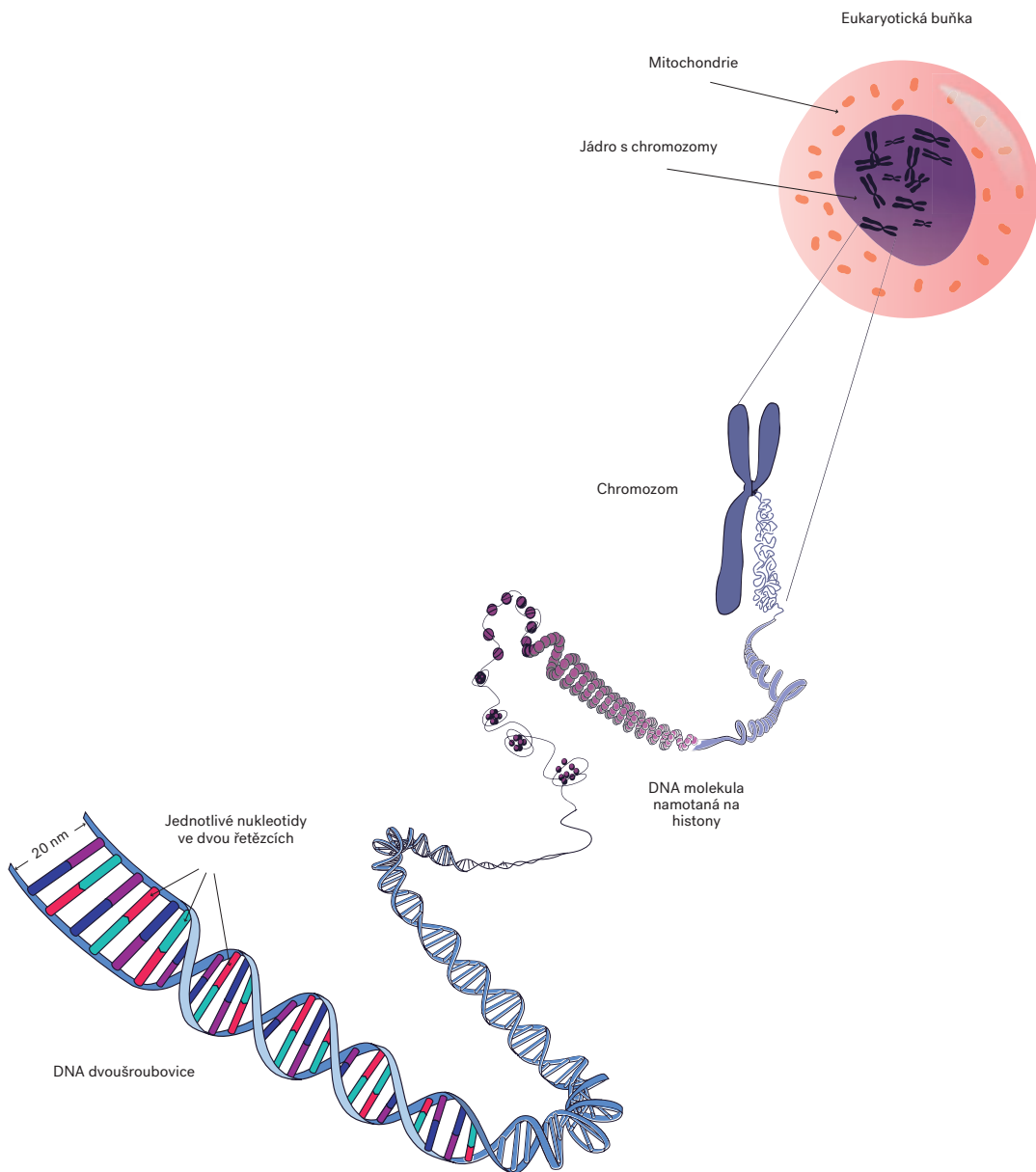
Deoxyribonukleová kyselina (z anglického DeoxyriboNucleic Acid, tedy DNA) je uložená v buňkách organismů a v celé její délce ji označujeme jako genom organismu. V případě jednobuněčných bakterií a Archea je jejich genom volně uložen v buňce většinou ve formě jednoho kruhového chromozomu, tzv. nukleoidu, který obsahuje dále RNA a bílkoviny. Část genetického materiálu (1–5 %) může být uložena i v plazmidech, což jsou malé, většinou kruhové molekuly DNA, které jsou rovněž volně v cytoplazmě organismu.

U eukaryotických organismů, kam patří i živočichové, rostliny či houby, je genom uložen především v jádře buňky. Pokud je organismus mnohobuněčný, je tento genom téměř ve všech jeho buňkách identický. V buňkách eukaryotických organismů je dále kromě jádra, kde je jaderná DNA ve formě lineárních chromozomů, mnoho dalších funkčních útvarů (organel), které zajišťují látkovou výměnu, dorozumívání či dělení buňky. Některé z nich mají také vlastní DNA. Jsou to tzv. semiautonomní organely, které nazýváme mitochondrie a plastidy. V těchto organelách se vyskytuje mimojaderná DNA, která je také dědičná, i když za pomoci dosti odlišných principů, než které jsou využity při dědění DNA jaderné. DNA v mitochondriích a plastidech se vyskytuje v podobě kruhové molekuly, nikoliv chromozomu, a díky svým vlastnostem se hojně využívá i v molekulárně fylogenetickém a taxonomickém výzkumu. Její studium ve zmíněných oborech je výhodné především díky její četnosti, jelikož v jedné buňce častokrát narazíme na velký počet zmíněných organel. Ve svalových buňkách bývají stovky mitochondrií a každá má identickou DNA. Výhodou je i její výrazně kratší délka, což zvyšuje její stabilitu v čase a usnadňuje její získávání i ze starších vzorků. V tomto typu DNA navíc dochází poměrně rychle ke změnám nukleotidů neboli mutacím, a tudíž se sekvence z této DNA hodí třeba k rozlišení příbuzných druhů od sebe a v dalších podobných úlohách.

V jádře eukaryotických buněk je DNA velmi důmyslně namotaná na tzv. histony, což jsou malé kuličkovité bílkoviny, a dále se pak formuje do zmíněných chromozomů. Počet, velikosti i tvary chromozomů jsou v rámci druhu stálé. Jde o tzv. karyotyp. Člověk má ve svém karyotypu 46 chromozomů, respektive 23 párů, které tak tvoří dvě sady (označujeme $2n$). Jednu z nich získává od matky, druhou pak od otce. Jeden z těchto chromozomových párů je pohlavní. U mužů jsou pohlavní chromozomy v kombinaci XY a u žen XX.

DNA je polymer, tedy dlouhá molekula složená z pravidelně se opakujících částí, který je tvořen ze dvou řetězců. Základní opakující se složkou řetězce je nukleotid. Ten se skládá z fosfátu (vazebný zbytek kyseliny fosforečné), deoxyribózy (pětiuhlíkatý cukr) a nukleové báze (dusíkatá heterocyklická sloučenina). Fosfát a deoxyribóza se střídají a tvoří páteřní cukr-fosfátové řetězce, na cukru je pak vždy v základní formě DNA napojena jedna ze čtyř nukleových bází – adenin, cytosin, guanin nebo thymín. Pořadí nukleových bází v řetězci označujeme jako primární strukturu DNA a jinými slovy jde o DNA sekvence, které přímo mohou něco kódovat. V rámci molekulárně fylogenetických a taxonomických výzkumů dochází v laboratořích právě ke čtení těchto sekvencí a jejich následnému analyzování.

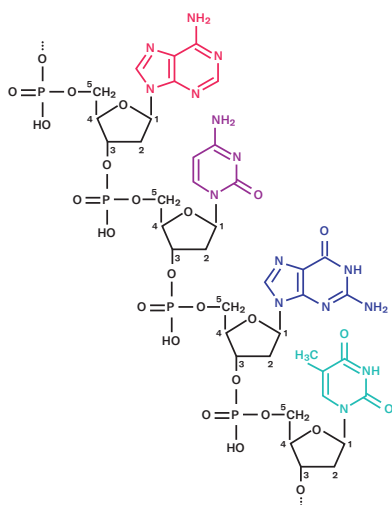
Řetězce DNA se spojují do již zmíněné dvoušroubovice, která se označuje jako sekundární struktura DNA. Ta je u DNA pravotočivá a v průměru má pouhých 20 nanometrů, což je zhruba 2000–4000× méně, než je tloušťka lidského vlasu (42–95 mikrometrů). Vzdálenost mezi jednotlivými nukleotidy je 3,4 nanometru. Na molekule DNA lze také pozorovat tzv. malé a velké žlábký, které jsou dány samotnou strukturou a velikostí jednotlivých složek. DNA řetězce se do dvoušroubovice spojují pomocí nukleových bází. Tvoří se mezi nimi vodíkové můstky, avšak adenin takto páruje pouze s thyminem, kdežto



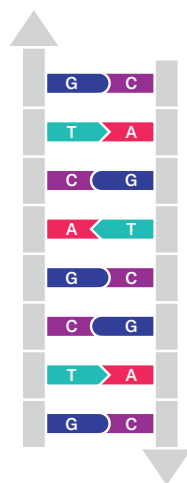
↑ Uložení DNA v eukaryotické buňce, včetně vyobrazení chromozomu a samotného vlákna DNA.

guanin páruje pouze s cytosinem. Tomuto jevu se říká komplementarita bází a díky tomu lze podle jednoho řetězce DNA přesně říci, jak bude vypadat řetězec protější. Pokud je tedy zapotřebí v DNA přečíst zakódovanou informaci (např. gen), stačí k tomu pouze jedno vlákno, ale je nutné znát směr jeho čtení. Směr čtení se dá velmi snadno rozpoznat díky orientaci deoxyribózy ve vláknech a je standardně označován jako směr čtení od 5' konce ke konci 3'. Vzhledem k výše uvedeným pravidlům tak ve dvoušroubovici DNA rozeznáváme pozitivní vlákno a negativní vlákno s opačným směrem čtení. Tento jev se nazývá antiparalelismus. Příkladem pozitivního vlákna může být sekvence řetězce 5' GGCTAA 3'. Protější negativní řetězec vypadá takto 5' TTAGCC 3'. Pokud chceme z negativního vlákna vytvořit pozitivní, je potřeba upravit na základě komplementarity bází negativní vlákno na 5' AATCGG 3' a následně otočit směr čtení a dopracovat se tak zpátky k sekvenci pozitivního vlákna DNA, tedy 5' GGCTAA 3'.

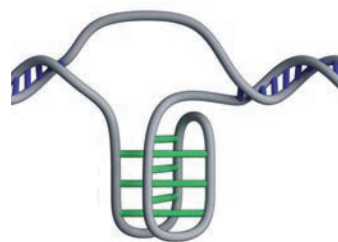
Ne vždy se DNA vyskytuje v podobě dvoušroubovice. Nacházení odlišných struktur DNA je doménou výzkumů posledních let. Například v roce 2018 objevil tým vědců pod vedením Daniela Christa novou strukturu této molekuly v lidských buňkách (ZEERATI et al. 2018). Jde o tzv. i-motiv. O jeho existenci se vědělo už v devadesátých letech minulého století. Šlo ale o experimentální pozorování v laboratoři mimo živé buňky. Až v roce 2018 byl i-motiv nalezen v živých lidských buňkách.



↑ Strukturní vzorec čtyř nukleových bází, které jsou seřazeny v řetězci molekuly DNA. Adenin (A), cytosin (C), guanin (G) a thymin (T). Na řetězci je patrné střídání fosfátu a cukru, na němž je báze vždy připojena.



↑ Zjednodušené schéma párování (komplementarity) nukleových bází v DNA dvoušroubovici a protichůdný směr obou vláken.



↑ Zjednodušené schéma i-motivu, který byl nalezen v lidské DNA v roce 2018 Danielem Christem a jeho týmem. Převzato a upraveno se svolením z práce ZEERATI et al. (2018).

Centrální dogma molekulární biologie

Centrální dogma molekulární biologie popisuje možné postupy čtení a přenosu informace mezi informačními polymery, tedy mezi DNA, RNA a bílkovinami. Molekula DNA jako taková totiž nemá stavební funkci a je nutné ji nejprve přechíst a podle ní poskládat aminokyseliny do řetězců, které se mohou složit do složitějších bílkovin. Mezi obvyklé přenosy informací patří replikace DNA, tedy její zkopírování. Poté může následovat například její přenos do dalších buněk či do dalších generací organismu. Dále jde o transkripci, tedy přepis DNA do jednovláknové molekuly RNA, která v případě přepisu jaderné DNA opouští jádro a putuje do cytoplazmy buňky. Hlavním rozlišovacím znakem mezi vláknem DNA a RNA je záměna thyminu za uracil. Tedy ve všech pozicích v DNA, kde se vyskytuje thymin, se bude v nově vytvořené RNA vyskytovat uracil. A dále je to záměna typu cukru v páteři řetězce, která byla zmíněna již dříve. Posledním běžným přenosem je translace, tedy překlad RNA řetězce do jednotlivých aminokyselin, jež se řetězí a mohou vytvořit bílkovinu, která již má stavební, enzymatickou či jinou funkci. K tomu dochází na ribozomech, kde jsou překládány tzv. kodony v RNA od 5' konce k 3' konci vlákna. Kodon je tvořen třemi po sobě jdoucími nukleovými bázemi, které přímo kódují jednu z 20 možných aminokyselin. Popřípadě může jít o tzv. start kodon či stop kodon, což jsou specifické kombinace tří nukleových bází, které zahajují či ukončují tvorbu aminokyselinového řetězce, jinak řečeno ohraničují

AMINOKYSELINA	KODONY	AMINOKYSELINA	KODONY
Alanin	GCU, GCC, GCA, GCG	Lysin	AAA, AAG
Arginin	CGU, CGC, CGA, CGG, AGA, AGG	Metionin	AUG
Asparagin	AAU, AAC	Fenylalanin	UUU, UUC
Kys. asparagová	GAU, GAC	Prolin	CCU, CCC, CCA, CCG
Cystein	UGU, UGC	Serin	UCU, UCC, UCA, UCG, AGU, AGC
Glutamin	CAA, CAG	Treonin	ACU, ACC, ACA, ACG
Kys. glutamová	GAA, GAG	Tryptofan	UGG
Glycin	GGU, GGC, GGA, GGG	Tyrosin	UAU, UAC
Histidin	CAU, CAC	Valin	GUU, GUC, GUA, GUG
Izoleucin	AUU, AUC, AUA	START	AUG
Leucin	UUA, UUG, CUU, CUC, CUA, CUG	STOP	UAA, UGA, UAG

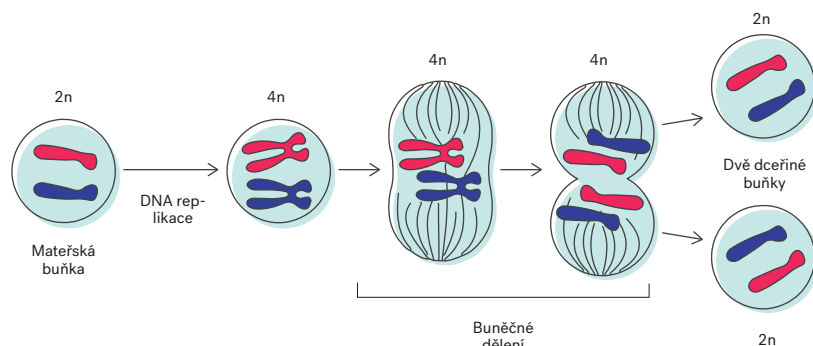
↑ Tabulka představující kompletní standardní genetický kód, tedy jakými triplety nukleových bází jsou jednotlivé aminokyseliny kódovány.

začátek a konec genu. Seznam všech těchto kódujících jednotek nazýváme genetický kód (viz tabulku). Dnes je v genetickém kódu známa celá řada výjimek, a dokonce byly objeveny další dvě aminokyseliny, které se do něj dříve neřadily. Mezi další přenosy informací řadíme reverzní transkripci, při které retroviry dokážou svoji RNA přepsat do DNA a začlenit tuto informaci do genomu svého hostitele, popřípadě přepis RNA na další RNA, což dokážou některé RNA viry, díky čemuž množí svoji RNA v buňkách hostitele. V laboratorních podmínkách se podařilo vytvořit proces přímého přepisu DNA na bílkovinu. Tento jev však nebyl u volně žijících organismů nikdy pozorován. Dnes je známa i řada procesů, které nejsou zahrnuty v centrálním dogmatu, a přesto zásadně ovlivňují způsoby čtení informace v DNA a výsledné projevy v organismu. Některé tyto procesy řadíme do oboru epigenetiky a jde například o metylaci DNA, modifikace histonových bílkovin atd.

Dědičnost DNA

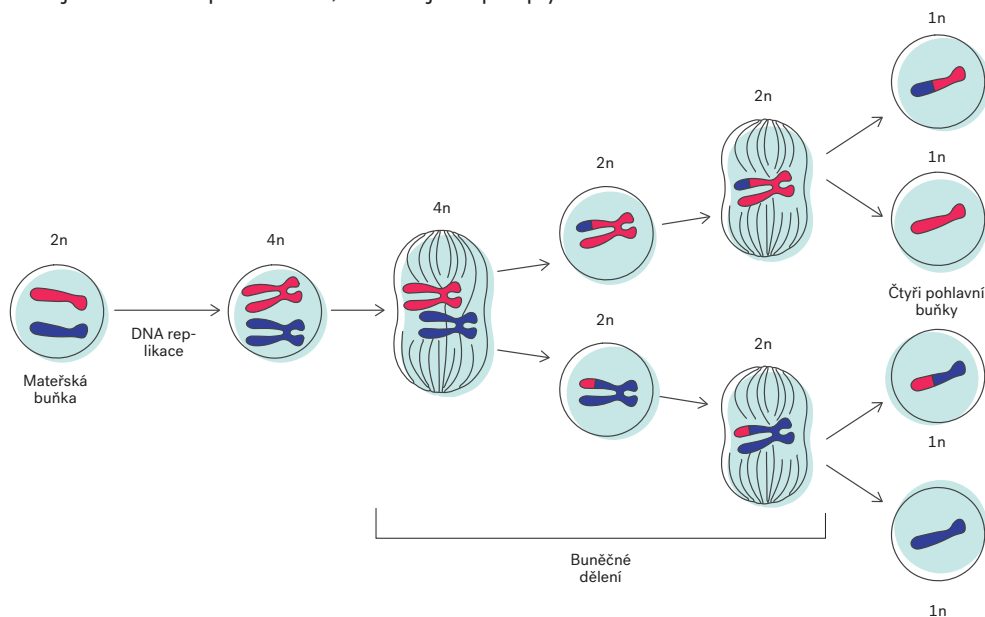
Zásadní vlastností DNA je její dědičnost, tedy schopnost přenést se do další generace organismu, nebo do nově vzniklých buněk mnohobuněčného organismu. Aby se mohla DNA předat z jedné buňky do druhé, je potřeba ji nejprve nakopírovat. Proces replikace DNA provádí enzym, což je tzv. aktivní protein (bílkovina), který je označován jako DNA polymeráza. Ta čte jednotlivé nukleotidy v DNA řetězci a přiřazuje nové komplementární nukleotidy. Tato polymeráza je však schopna číst pouze rozbalenou DNA (tedy neuspořádanou do podoby chromozomů). Pro proces replikace je tedy opět nutné molekuly DNA vybalit z chromozomů a následně komplementární řetězce dvoušroubovice od sebe oddělit tak, aby DNA polymeráza mohla tvořit nové kopie. K oddělení obou řetězců slouží jiný enzym, který se nazývá DNA helikáza.

Pokud se DNA v buňce zkopíruje kompletně, dojde ke zdvojení celého genomu, respektive všech párů chromozomů v buňce. Genetickou informaci v buňce už neoznačujeme $2n$ (dvě sady chromozomů), ale $4n$ (čtyři sady chromozomů). Nyní může započít dělení buňky. V případě tzv. mitotického (standardního) dělení vzniknou z jedné buňky dvě dceřiné a v každé z nich se bude nacházet shodná kopie celého genomu (opět $2n$). K tomuto dělení dochází například, pokud potřebuje mnohobuněčný organismus zvýšit počet buněk ve svém těle. U jednobuněčných organismů je to běžná metoda rozmnožování. V tomto případě jde o nepohlavní rozmnožování, kdy z jednoho organismu vzniknou dva shodné.



↑ Zjednodušený proces mitotického dělení, kdy z jedné buňky vzniknou dvě dceřiné s identickou a stejně velkou DNA.

Pokud má dojít k předání genetické informace z generace na generaci u mnohobuněčných organismů, děje se tak u většiny druhů za pomoci pohlavního rozmnožování. Při něm dochází ke splnutí pohlavní buňky samce a samice a vzniku potomka. Pohlavní buňky se vytvářejí v organismech za pomoci tzv. meiotického dělení. V tomto případě mají pohlavní buňky zredukované počty chromozomů pouze na jednu sadu (označujeme $1n$). Chromozomy už tedy nejsou v párech, ale pouze po jednom. Při splnutí pohlavních buněk vznikne potomek opět se standardním počtem chromozomů ($2n$), tedy ve dvou sadách, tak jako je mají jeho rodiče ve všech svých buňkách, krom pohlavních. Potomek tedy zdědí polovinu jaderné genetické informace od matky a druhou polovinu této informace od otce. Důležitým jevem v průběhu meiózy je pak tzv. crossing-over. Jde o proces náhodných výměn homologních (shodných) částí DNA (celých alel) mezi namnoženými chromozomy, což zapříčiní výrazně vyšší rozmanitost potomstva. Zajímavostí je, že například mitochondriální DNA se dědí pouze po matce. Potomek tedy získá tuto DNA z mitochondrií, které jsou umístěné v cytoplazmě vajíčka matky, kdežto mitochondrie, které jsou v bičíku spermie otce, se do vajíčka při splnutí vůbec nedostanou.



↑ Zjednodušené schéma meiotického dělení buněk, kdy z jedné buňky vzniknou čtyři pohlavní buňky se sníženým počtem chromozomů, tedy pouze s jednou sadou ($1n$). Na schématu je zvláště zřetelný i crossing-over.

Použitá literatura

- ALTMANN R. 1889: Ueber Nucleinsäuren. *Archiv für Anatomie und Physiologie* **8**: 568–739.
- AVERY O. T., MACLEOD C. M. & MCCARTY M. 1944: Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types: induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from *Pneumococcus* type III. *Journal of Experimental Medicine* **79** (2): 137–158.
- CHIEN A., EDGAR D. B. & TRELA J. M. 1976: Deoxyribonucleic acid polymerase from the extreme

thermophile *Thermus aquaticus*. *Journal of Bacteriology* **127** (3): 1550–1557.

CORRENS C. E. 1900: G. Mendel's Regel über das Verhalten der Nachkommenschaft der Rassenbastarde. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* **18**: 158–168.

FLEISCHMANN R. D., ADAMS M. D., WHITE O., CLAYTON R. A., KIRKNESS E. F., KERLAVAGE A. R., BULT C. J., TOMB J.-F., DOUGHERTY B. A., MERRICK J. M., MCKENNEY K., SUTTON G., FITZHUGH W., FIELDS C., GOCAYNE J. D., SCOTT J., SHIRLEY R., LIU L.-I., GLODEK A., KELLEY J. M., WEIDMAN J. F., PHILIPS C. A., SPRIGGS T., HEDBLUM E., COTTON M. D., UTTERBACK T. R., HANNA M. C., NGUYEN D. T., SAUDEK D. M., BRANDON R. C., FINE L. D., FRITCHMAN J. L., FUHRMANN J. L., GEOGHAGEN N. S. M., GNEHM C. L., McDONALD L. A., SMALL K. V., FRASER C. M., SMITH H. O. & VENTER J. C. 1995: Whole-genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae* Rd. *Science* **269** (5223): 496–512.

GENTILE F., MORETTI M., LIMONGI T., FALQUI A., BERTONI G., SCARPELLINI A., SANTORIELLO S., MARAGLIANO L., ZACCARIA R. M. & FABRIZIO DI E. 2012: Direct imaging of DNA fibers: The visage of double helix. *Nano Letters* **12** (12): 6453–6458.

HERSHEY A. D. & CHASE M. 1952: Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. *The Journal of General Physiology* **36** (1): 39–56.

INTERNATIONAL HUMAN GENOME SEQUENCING CONSORTIUM 2004: Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature* **431**: 931–945.

KORNBERG A., LEHMAN I. R. & SIMMS E. S. 1956: Enzymic synthesis of deoxyribonucleic acid. *Biochimica et Biophysica Acta* **21** (1): 197–198.

MAXAM A. M. & GILBERT W. 1977: A new method for sequencing DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **74** (2): 560–564.

MENDEL J. G. 1866: Versuche über Pflanzen-Hybriden. *Verhandlungen des naturforschenden Vereines in Brünn* **4**: 3–47.

MIESCHER J. F. 1871: Ueber die chemische Zusammensetzung der Eiterzellen. *Medicinisch-chemische Untersuchungen* **4**: 441–460.

SAIKI R. K., SCHARF S., FALOONA F., MULLIS K. B., HORN G. T., ERLICH H. A. & ARNHEIM N. 1985: Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* **230** (4732): 1350–1354.

SANGER F. & COULSON A. D. 1975: A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *Journal of Molecular Biology* **94** (3): 441–446.

SPILLMAN W. J. 1902: Quantitative studies on the transmission of parental characters to hybrid offspring. *U. S. Department of Agriculture* **115**: 88–98.

TSCHERMAK E. 1900: Über künstliche Kreuzung bei *Pisum sativum*. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* **18**: 232–239.

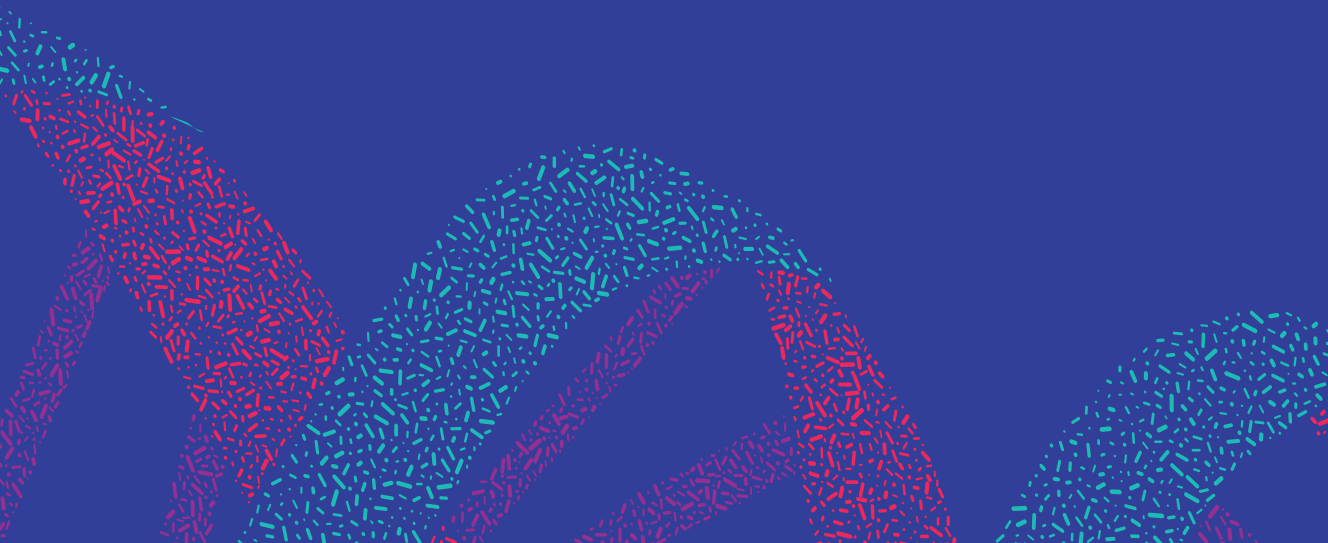
VRIES DE H. 1900: Das Spaltungsgesetz der Bastarde. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* **18**: 83–90.

WATSON J. D. & CRICK F. H. C. 1953: Molecular structure of nucleic acids: A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* **171**: 737–738.

WU R. & KAISER A. D. 1968: Structure and base sequence in the cohesive ends of bacteriophage lambda DNA. *Journal of Molecular Biology* **35** (3): 523–537.

ZERAATI M., LANGLEY D. B., SCHOFIELD P., MOYE A. L., ROUET R., HUGHES W. E., BRYAN T. M., DINGER M. E. & CHRIST D. 2018: I-motif DNA structures are formed in the nuclei of human cells. *Nature Chemistry* **10** (6): 631–637.

MOLEKULÁRNĚ
FYLOGENETICKÝ VÝZKUM
V PŘÍRODOVĚDECKÉM
MUZEU



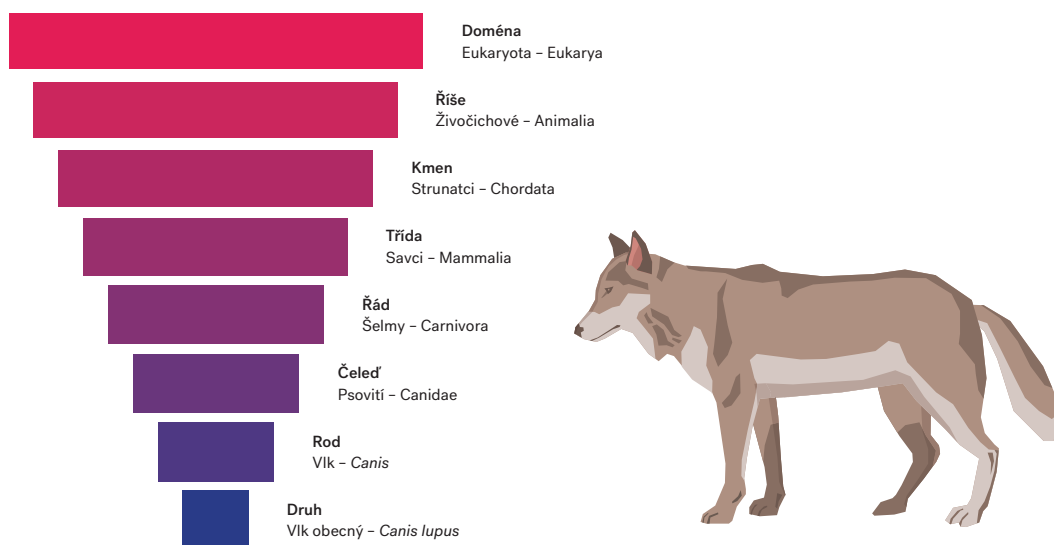
Využití DNA v muzejnictví

Člověk již od pradávna poznává a zkoumá přírodu, která ho obklopuje a které je součástí. Jedni z průkopníků ve studiu přírodních věd byli jistě i Carl von Linné nebo Georges Cuvier, kteří se zabývali systematickou biologii. Součástí jejich výzkumů bylo tedy pozorování a porovnávání anatomických rysů různých organismů, na základě kterých je sdružovali do skupin s určitou hierarchií (zkráceně tzv. systematika). Metody, které v minulosti měli badatelé k dispozici, přinesly dostatek poznání umožňující právě Linnému, Cuvierovi i jejich následovníkům podrobně popsat systematiku organismů. K určování a třídění jednotlivých druhů byly tedy využívány znaky, které bylo možné změřit či spočítat na povrchu těla studovaných živočichů. Důležitou váhu měly také znaky anatomické (např. u obratlovců znaky na kostře) a velká pozornost se věnovala zbarvení. U některých skupin se vedle morfologických metod významněji uplatňovaly i výsledky získané studiem hlasů (např. u rovnokřídlého hmyzu, ptáků nebo u žab). S postupem času a s prohlubováním znalostí systematiky a variability jednotlivých druhů se ale začalo ukazovat, že výše uvedené metody často přestávají stačit na vysvětlení či zhodnocení rozdílů mezi některými podobnými, a jak se pak později ukázalo, blízké příbuznými druhy. Morfologické metody tedy neumožňovaly s jistotou zjistit, zda jde jen o velkou variabilitu tvaru těla a zbarvení v rámci jednoho široce rozšířeného druhu, nebo zda jde o existenci více podobných blízké příbuzných druhů, které byly dosud zjednodušeně považovány za druh jediný.

Až objev DNA, tedy deoxyribonukleové kyseliny, a studium molekulární genetiky, které započalo teprve v druhé polovině 20. století, umožnily posunout tento výzkum významně kupředu a nahlédnout do zcela nové roviny poznání. K tomuto razantnímu posunu však došlo až poté, co byla vynalezena a zdokonalena metoda Sangerova sekvenování a Mullisova převratná metoda polymerázové řetězové reakce (PCR). Využívání těchto přístupů se stalo v 90. letech a v nadcházejícím 21. století rutinní záležitostí v mnoha oborech včetně zoologie a postupně se tak vytvořila nová odvětví, jakými jsou například molekulární fylogenetika a molekulární taxonomie. Tato odvětví jsou běžná i ve výzkumech prováděných v muzejních institucích, které častokrát mohou nakládat s enormně rozsáhlým materiálem ke studiu (viz úvodní kapitolu). Tyto metodické postupy využívající molekulární znaky uložené v sekvencích informačních makromolekul DNA a RNA se významným způsobem uplatnily ve výzkumu evoluce organismů a jejich fylogenetické příbuznosti, systematiky a taxonomie obecně a samozřejmě i ve studiu populací organismů a jejich vzájemných vztahů.



Carl von Linné (1707–1778) byl švédský přírodovědec a lékař, který položil základy botanického i zoologického názvosloví, tedy latinského dvouslovného pojmenovávání organismů. Zároveň tyto organismy třídil do skupin s určitým hierarchickým systémem.



↑ Ukázka hierarchického systematického zařazení vlka obecného spolu s jeho latinským dvouslovným pojmenováním složeným z rodového (*Canis*) a druhového (*lupus*) jména.

Jedno z nejjednodušších využití těchto metod v zoologii slouží k samotnému určení jedince na druhové nebo poddruhové úrovni, jelikož přesné určení materiálu do zmíněných taxonomických jednotek je základním předpokladem dobré správy jakékoli zoologické sbírky (nejen těch v muzeích). Přítomnost chybně určených předmětů v evidenci sbírky značně snižuje její kulturní, historickou i vědeckou hodnotu. Do sbírek se také často dostávají jedinci poškození nebo fragmentovaní nebo nedospělá vývojová stadia (vejčička, larvy, kukly), která mohou často postrádat pro člověka snadno uchopitelné rozlišující znaky, a jejichž určování může být problematické i pro odborníky úzce specializované na danou skupinu.

Pro tyto účely byla postupem času navržena metodika tzv. DNA barcodingu, tedy určování jedinců na základě čtení krátkého fragmentu DNA (např. TOWNSON et al. 1999; HAJIBABAEI et al. 2006; SONET et al. 2011; MILLER et al. 2013). Základní myšlenkou tohoto přístupu je, že každý biologický druh obsahuje ve svém genomu krátkou nukleotidovou sekvenci, která je pro něj naprosto unikátní a na jejímž základě je možné každého jedince jakéhokoli vývojového stadia k danému druhu přiřadit. Pro svou obdobu s unikátními čárovými kódy (bar codes) na výrobcích, podle kterých se dá zboží přesně identifikovat, se pro tuto metodu vžil termín DNA barcoding (HEBERT et al. 2003). Jako cílový úsek DNA (tzv. marker) se používají krátké úseky mitochondriálních genů, jejichž namnožení za účelem čtení sekvence je zpravidla jednodušší. Nejčastějším markerem je mitochondriální gen pro podjednotku I cytochrom c oxidázy (HEBERT et al. 2003) nebo gen pro cytochrom b (SHEN et al. 2013). Dále to mohou být geny kódující tzv. ribozomální RNA, které jsou také uloženy v mitochondriální DNA (12S rRNA, 16S rRNA; VENCES et al. 2005; LUO et al. 2011). Všechny zmíněné markery se již prokázaly jako vysoce efektivní při identifikaci savců, ptáků, plazů, obojživelníků, ryb, hmyzu, pavouků, korýšů a mnoha dalších skupin živočichů (MEIER et al. 2006; COSTA et al. 2007; KERR et al. 2007; WARD et al. 2009; MURPHY et al. 2013). Dnes

již existují rozsáhlé databáze, do kterých se „barcode“ jednotlivých organismů ukládají a jež obsahují k dnešnímu dni desítky milionů takovýchto sekvencí, se kterými lze nově získané sekvence porovnávat. Jde o databáze schraňující veškeré DNA sekvence (GenBank, EMBL, DDBJ) nebo databáze zaměřené přímo na barcodes (BOLD), jež jsou přizpůsobeny i na ukládání doplňkových údajů k barcodovanému jedinci (lokalita včetně GPS souřadnic, fotografie apod.). Všeobecně se tyto postupy neaplikují pouze k determinaci vybraného vzorku, ale i k hledání či potvrzování zcela nových druhů, které ještě nebyly popsány. V těchto případech se takto získané sekvence s žádnými dosud existujícími neshodují, a pokud takto osekvenovaný vzorek nemá již existující latinské jméno, jde o taxon nový, a lze ho tedy následně popsat.

V případech složitějších studií, jakými jsou například vyšší systematika organismů, nebo fylogenetické vztahy jednotlivých druhů a skupin, do kterých patří, je většinou zapotřebí získat vícero různých markerů a tato data kombinovat do větších analýz. V minulosti byly takovéto otázky řešeny s pomocí jednoho markeru, a přestože nám tyto práce ukázaly zajímavé a dosud neznámé výsledky, postupně bylo zjišťováno, že pro komplikovanější studie to nemusí být dostačující. Například první studie evolučních vztahů hlavních skupin hmyzu byla založena na jediném jaderném genu 18S kódující ribozomální RNA (WHEELER 1989). V této práci bylo například zjištěno, že termity jsou vnitřní skupinou sociálně žijících a silně pozměněných švábů, což platí dodnes. Molekulární fylogenetika hmyzu se pak začala rychle rozvíjet a následovaly studie, jejichž datasety obsahovaly více markerů (KJER et al. 2006; CAMERON 2014). V posledních letech se objevují i studie celogenomové (MISOF et al. 2014). Takovýto trend je viditelný i ve výzkumech zaměřených na jiné skupiny živočichů či v pracích, které řeší fylogenezi celých živočichů na kmenové úrovni (FIELD et al. 1988; ZRZAVÝ et al. 1998; ERICSON 2008; PRUM et al. 2015; SHARMA et al. 2015; KAYAL et al. 2018).

Zmíněné celogenomové sekvenování se stalo dostupnou metodou po vynalezení odlišných sekvenačních principů, než je tomu u Sangerova sekvenování. Jde o tzv. sekvenování nové generace (Next Generation Sequencing, tedy NGS), které je v základu založené na relativně levném a vysoce efektivním paralelním sekvenování, přičemž v jednom momentu produkuje tisíce až miliony dat (HALL 2007; GRADA & WEINBRECHT 2013). Aktuálně je dostupných několik NGS technologií navázaných na specifické přístroje. Jde o technologie Illumina, Ion Torrent, Nanopore, SMRT PacBio nebo SOLiD. Krom celogenomového sekvenování, k němuž jsou tyto metody vhodné, se dá NGS přístup využít i při sekvenování starších muzejních vzorků. Ty jsou ve sbírkách ukládány tak, aby odolaly různorodým vlivům, ale ne vždy tak tomu je i ve smyslu dobré konzervace DNA, která je v buňkách vzorku. V průběhu času se totiž DNA rozpadá (fragmentuje) a rozkládá (degraduje). Starší práce poukazují na vztah mezi stářím vzorku a kvalitou DNA, tedy čím starší je vzorek, tím horší je kvalita jeho DNA (PÄÄBO et al. 1990; HERRMANN & HUMMEL 1994). Novější studie upozorňují, že správné skladování vzorků hraje významnou roli při uchování kvality DNA (WANDELER et al. 2007; MASON et al. 2011; MCCORMACK et al. 2016). V posledních letech bylo navrženo několik metod práce s muzejní DNA, na které se Přírodovědecké muzeum začalo taktéž soustředit. Mezi základní přístupy dnes patří amplikonové sekvenování (GALAN et al. 2012, 2018), celogenomové „shotgun“ sekvenování (TILAK et al. 2015) a „target enrichment“ spolu s jeho upravenou variantou sekvenování ultrakonzervativních elementů (MASON et al. 2011; MCCORMACK et al. 2016).

Použitá literatura

- CAMERON S. L. 2014: Insect mitochondrial genomics: Implications for evolution and phylogeny. *Annual Review of Entomology* **59**: 95–117.
- COSTA F. O., DEWAARD J. R., BOUTILLIER J., RATNASINGHAM S., DOOH R. T., HAJIBABAEI M. & HEBERT P. D. 2007: Biological identifications through DNA barcodes: the case of the Crustacea. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **64**: 272–295.
- ERICSON P. G. P. 2008: Current perspectives on the evolution of birds. *Contributions to Zoology* **77**: 109–116.
- FIELD K. G., OLSEN G. J., LANE D. J., GIOVANNONI S. J., GHISELIN M. T., RAFF E. C., PACE N. R. & RAFF R. A. 1988: Molecular phylogeny of the animal kingdom. *Science* **239**: 748–753.
- GALAN M., PAGÈS M. & COSSON J. F. 2012: Next-generation sequencing for rodent barcoding: species identification from fresh, degraded and environmental samples. *PLoS ONE* **7** (11).
- GALAN M., PONS J.-B., TOURNAYRE O., PIERRE É., LEUCHTMANN M., PONTIER D. & CHARBONNEL N. 2018: Metabarcoding for the parallel identification of several hundred predators and their prey: Application to bat species diet analysis. *Molecular Ecology Resources* **18** (3): 474–489.
- GRADA A. & WEINBRECHT K. 2013: Next-generation sequencing: methodology and application. *The Journal of Investigative Dermatology* **133** (8): 1–4.
- HAJIBABAEI M., SMITH M., JANZEN D. H., RODRIGUEZ J. J., WHITFIELD J. B. & HEBERT P. D. 2006: A minimalist barcode can identify a specimen whose DNA is degraded. *Molecular Ecology Notes* **6**: 959–964.
- HALL N. 2007: Advanced sequencing technologies and their wider impact in microbiology. *Journal of Experimental Biology* **210** (9): 1518–1525.
- HEBERT P. D., RATNASINGHAM S. & DEWAARD J. R. 2003: Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* **270**: S96–S99.
- HERRMANN B. & HUMMEL S. (eds) 1994: *Ancient DNA*. Springer, New York, 263 pp.
- KAYAL E., BENTLAGE B., PANKEY M. S., OHDERA A. H., MEDINA M., PLACHETZKI D. C., COLLINS A. G. & RYAN J. F. 2018: Phylogenomics provides a robust topology of the major cnidarian lineages and insights on the origins of key organismal traits. *BMC Evolutionary Biology* **18**: 68.
- KERR K. C., STOECKLE M. Y., DOVE C. J., WEIGT L. A., FRANCIS C. M. & HEBERT P. D. 2007: Comprehensive DNA barcode coverage of North American birds. *Molecular Ecology Notes* **7**: 535–543.
- KJER K. M., CARLE F. L., LITMAN J. & WARE J. 2006: A Molecular Phylogeny of Hexapoda. *Arthropod Systematic & Phylogeny* **64** (1): 35–44.
- LUO J., YAN D., ZHANG D., HAN Y., DONG X., YANG Y., DENG K. & XIAO X. 2011: Application of 12S rRNA Barcodes for the Identification of Animal-Derived Drugs. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences* **14**: 358–367.
- MASON V. C., LI G., HELGEN K. M. & MURPHY W. J. 2011: Efficient cross-species capture hybridization and next-generation sequencing of mitochondrial genomes from noninvasively sampled museum specimens. *Genome Research* **21** (10): 1695–1704.
- MCCORMACK J. E., TSAI W. L. E. & FAIRCLOTH B. C. 2016: Sequence capture of ultraconserved elements from bird museum specimens. *Molecular Ecology Resources* **16** (5): 1189–1203.
- MEIER R., SHIYANG K., VAIDYA G. & NG P. K. L. 2006: DNA barcoding and taxonomy in Diptera: a tale of

high intraspecific variability and low identification success. *Systematic Biology* **55**: 715–728.

MILLER J. A., BEENTJES K. K., VAN HELSDINGEN P. & IJLAND S. 2013: Which specimens from a museum collection will yield DNA barcodes? A time series study of spiders in alcohol. *ZooKeys* **365**: 245–261.

MISOF B., LIU S., MEUSEMANN K., PETERS R. S., DONATH A., MAYER C., FRANDSEN P. B., WARE J., FLOURI T., BEUTEL R. G., NIEHUIS O., PETERSEN M., IZQUIERDO-CARRASCO F., WAPPLER T., RUST J., ABERER A. J., ASPÖCK U., ASPÖCK H., BARTEL D., BLANKE A., BERGER S., BÖHM A., BUCKLEY T. R., CALCOTT B., CHEN J., FRIEDRICH F., FUKUI M., FUJITA M., GREVE C., GROBE P., GU S., HUANG Y., JERMIIN L. S., KAWAHARA A. Y., KROGMANN L., KUBIAK M., LANFEAR R., LETSCH H., LI Y., LI Z., LI J., LU H., MACHIDA R., MASHIMO Y., KAPLI P., MCKENNA D. D., MENG G., NAKAGAKI Y., NAVARRETE-HEREDIA J. L., OTT M., OU Y., PASS G., PODSIADLOWSKI L., POHL H., VON REUMONT B. M., SCHÜTTE K., SEKIYA K., SHIMIZU S., SLIPINSKI A., STAMATAKIS A., SONG W., SU X., SZUCSICH N. U., TAN M., TAN X., TANG M., TANG J., TIMELTHALER G., TOMIZUKA S., TRAUTWEIN M., TONG X., UCHFUNE T., WALZL M. G., WIEGMANN B. M., WILBRANDT J., WIPFLER B., WONG T. K. F., WU Q., WU G., XIE Y., YANG S., YANG Q., YEATES D. K., YOSHIZAWA K., ZHANG Q., ZHANG R., ZHANG W., ZHANG Y., ZHAO J., ZHOU C., ZHOU L., ZIESMANN T., ZOU S., LI Y., XU X., ZHANG Y., YANG H., WANG J., WANG J., KJER K. M. & ZHOU X. 2014: Phylogenomics resolves the timing and pattern of insect evolution. *Science* **346**: 763–767.

MURPHY R. W., CRAWFORD A. J., BAUER A. M., CHE J., DONNELLAN S. C., FRITZ U., HADDAD C. F., NAGY Z. T., POYARKOV N. A. & VENCES M. 2013: Cold Code: the global initiative to DNA barcode amphibians and nonavian reptiles. *Molecular Ecology Resources* **13**: 161–167.

PÄÄBO S., IRWIN D. M. & WILSON A. C. 1990: DNA damage promotes jumping between templates during enzymatic amplification. *The Journal of Biological Chemistry* **265** (8): 4718–4721.

PRUM R. O., BERV J. S., DORNBURG A., FIELD D. J., TOWNSEND J. P., LEMMON E. M. & LEMMON A. R. 2015: A comprehensive phylogeny of birds (Aves) using targeted next-generation DNA sequencing. *Nature* **526**: 569–573.

SHARMA P. P., FERNÁNDEZ R., ESPOSITO L. A., GONZÁLEZ-SANTILLÁN E. & MONOD L. 2015: Phylogenomic resolution of scorpions reveals multilevel discordance with morphological phylogenetic signal. *Proceedings of the Royal Society B* **282**: 20142953.

SHEN Y.-Y., CHEN X. & MURPHY R. W. 2013: Assessing DNA barcoding as a tool for species identification and data quality control. *PLoS ONE* **8** (2): e57125.

SONET G., BREMAN F. C., LENGLET G., LOUETTE M., MONTAÑÉS G., NAGY Z. T., VAN HOUTT J. & VERHEYEN E. 2011: Applicability of DNA barcoding to museum specimens of birds from the Democratic Republic of the Congo. Pp. 117–132 in: SCHUCHMANN K.-L. (Ed): *Tropical Vertebrates in a Changing World*. Bonn, 208 pp.

TILAK M. K., JUSTY F., DEBIAIS-THIBAUD M., BOTERO-CASTRO F., DELSUC F. & DOUZERY E. J. P. 2015: A cost-effective straightforward protocol for shotgun Illumina libraries designed to assemble complete mitogenomes from non-model species. *Conservation Genetics Resources* **7** (1): 37–40.

TOWNSON H., HARBACH R. E. & CALLAN T. A. 1999: DNA identification of museum specimens of the *Anopheles gambiae* complex: an evaluation of PCR as a tool for resolving the formal taxonomy of sibling species complexes. *Systematic Entomology* **24**: 95–100.

VENCES M., THOMAS M., VAN DER MEIJDEN A., CHIARI Y. & VIEITES D. R. 2005: Comparative performance of the 16S rRNA gene in DNA barcoding of amphibians. *Frontiers in Zoology* **2**: 5.

WANDELER P., HOECK P. E. A. & KELLER L. F. 2007: Back to the future: museum specimens in population genetics. *Trends in Ecology and Evolution* **22** (12): 634–642.

- WARD R. D., HANNER R. & HEBERT P. D. 2009: The campaign to DNA barcode all fishes, FISH-BOL. *Journal of Fish Biology* **74**: 329–356.
- WHEELER W. C. 1989: The systematics of insect ribosomal DNA. Pp. 307–321 in: FERNHOLM K. B. B., BREMER K., BRUNDIN L. & JÖRNVALL H. (eds): *The Hierarchy of Life Molecules and Morphology in Phylogenetic Analysis*. Amsterdam, Elsevier, 499 pp.
- ZRZAVÝ J., MIHULKA S., KEPKA P., BEZDĚK A. & TIETZ D. 1998: Phylogeny of the metazoan based on morphological and 18S ribosomal DNA evidence. *Cladistics* **14**: 249–285.

Molekulárně genetické laboratoře Přírodovědeckého muzea

Na tomto místě je třeba zdůraznit, že právě zajímavé vědecké otázky vzešlé ze studia muzejních sbírek a možnost najít na ně odpovědi přivedly zaměstnance Přírodovědeckého muzea k rozhodnutí vybudovat zde moderní molekulárně genetickou laboratoř. Budování laboratoře začalo v roce 2003 na zoologickém oddělení, na novém pracovišti Přírodovědeckého muzea v Horních Počernicích. Laboratoř se během několika let podařilo vybavit veškerým potřebným vybavením a stala se významným centrem výzkumu živočichů. V roce 2016 byla vytvořena další, menší molekulárně genetická laboratoř na entomologickém oddělení, která navýšila kapacity přístrojů a zároveň byla přizpůsobena k práci s odlišnými typy vzorků, jaké se využívají při práci s hmyzem.

Díky komplexnímu přístrojovému vybavení jsme tak schopni vykonávat dnes již běžné laboratorní kroky, např. izolaci DNA, což je proces, při kterém z tkáně získáme čistou DNA organismu v její plné délce za pomoci kombinace fyzikálních, chemických a biochemických metod. Přesněji řečeno jde o lyzi buněk, kdy dochází k rozrušení buněk v tkáni a vylití DNA volně do roztoku. K tomu dochází mechanicky za pomoci rozbití tkáně homogenizátorem, nebo enzymaticky, tedy za pomoci enzymu proteinázy, která zajistí rozpad buněk. Častokrát se oba přístupy kombinují. Následně je zapotřebí roztok přefiltrat, tj. odstranit z něj veškeré zbytky buněk, solí, detergentů a enzymů. K tomu využíváme speciální zkuřavky s filtrem, centrifugy a další chemikálie. Následujícím krokem je polymerázová řetězová reakce (PCR), při které dojde k namnožení námi vybraného úseku (markeru) v DNA, což je nutné pro vlastní sekvenční analýzu. Pro tyto účely jsou laboratoře Přírodovědeckého muzea vybaveny hned několika termocykléry kvůli nutnému navýšení kapacit, jelikož s nimi pracuje každý den několik výzkumných týmů. Úspěšnost PCR reakcí jsme schopni ověřovat díky gelové elektroforéze a transluminačnímu zařízení, kdy dochází k obarvení namnožených markerů speciální barvou a následnému zviditelnění při prosvícení UV světlem. Úspěšně namnožené PCR produkty jsou poté přečištěny a připraveny k zaslání na sekvenaci. K těmto účelům využíváme služby externí firmy Macrogen (Nizozemsko, Amsterdam), jelikož je to časově i ekonomicky výrazně výhodnější.

Laboratoře byly vystavěny tak, abychom minimalizovali riziko kontaminace. Tudíž jsou fyzicky oddělené místnosti, ve kterých je izolována DNA a připravována PCR reakce, od místností, ve kterých pak probíhá PCR reakce samotná, a následně jsou vzorky kontrolovány s pomocí gelové elektroforézy, popřípadě dále přečišťovány a připravovány k odeslání pro sekvenaci. Díky autoklávům jsme schopni veškerý spotřební materiál (plastik apod.) a preparační nástroje taktéž sterilizovat, což je důležitý proces, který rovněž zamezí případným kontaminacím. Více informací o specifickém sběru a uskladnění vzorků pro potřeby zpracování v molekulárně genetických laboratořích a přesných metodických po-

stupech i protokolech se dozvíte více v metodice speciálně sepsané zaměstnanci Přírodovědeckého muzea v rámci již zmíněného projektu NAKI II:

AGHOVÁ T., VONDRÁČEK D., KYRALOVÁ E., DOLEJŠ P (ed.), BENDA P., BREJCHA J., MLÍKOVSKÝ J., MORAVEC J., ŠANDA R., ŠTUNDL M. & TKOČ M. 2019: *Metodika správy a evidence tkáňové zoologické sbírky a determinace zoologického sbírkového materiálu na základě analýzy DNA*. Praha, Národní Muzeum, 111 pp.

Následuje několik fotografií prostor molekulárně genetických laboratoří Přírodovědeckého muzea a poté v několika dalších oddílech přiblížíme zajímavé výsledky, kterých jsme dosáhli za pomoci využití moderních molekulárně taxonomických a fylogenetických přístupů.



↑ Laboratoř zoologického oddělení.
Místnost, kde se izoluje DNA
a připravují PCR reakce.
© Dominik Vondráček



↑ Laboratoř zoologického oddělení.
Místnost s termocykléry a dalšími
přístroji. © Dominik Vondráček



↑ Laboratoř zoologického oddělení.
Vybavení sloužící ke kontrole PCR
produktů s pomocí gelové elektroforézy.
© Dominik Vondráček



↑ Laboratoř entomologického oddělení.
Prostory sloužící k izolaci DNA
a přípravě PCR reakcí.
© Dominik Vondráček

Molekulárně fylogenetický výzkum entomologického oddělení

Entomologické oddělení Národního muzea začalo molekulárně genetické metody častěji používat v posledních čtyřech letech po svém přestěhování ze zámku v Kunraticích do areálu v Horních Počernicích. Zde se připojilo k laboratoři dříve založené zoologickým oddělením a postupně si vybudovalo potřebné zázemí a přístrojové vybavení pro základní laboratorní kroky. Výhodou hmyzu je, že celý proces izolace DNA lze provést bez zničení použitého exempláře. Jeho tělní tkáň se sice během izolace DNA rozpustí, ale jeho tvrdá chitínová vnější kostra zůstane výborně zachována. Zatímco DNA tohoto exempláře je použita pro molekulárně fylogenetické analýzy nebo uložena v mrazu v genetické sbírce, jeho nepoškozená vnější kostra může být tedy vypreparována stejně jako každý jiný vzorek hmyzu a uložena jako dokladový kus (tzv. voucher) do sbírek. V entomologickém oddělení používáme molekulárně genetické zpracování vzorků v laboratořích a následné molekulárně fylogenetické a taxonomické analýzy pro studium diverzity hmyzu. Pomáhají nám v situacích, kdy jsou jiné metody pomalé, těžkopádné nebo nám nemohou pomoci vůbec. K tomu dochází například v následujících případech.

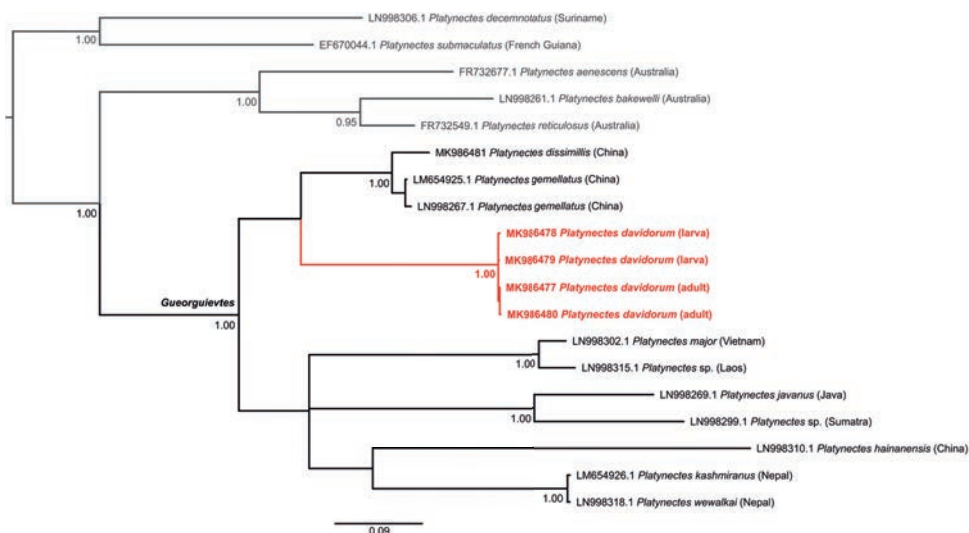
U mnoha skupin hmyzu se stává, že jednotlivé druhy jsou si navzájem velmi podobné a je těžké je rozeznat a správně určit. Případně se jedná o druhy variabilní, které by entomolog bez zkušeností podle vzhledu rozdělil na více druhů, ale toto řešení nesouhlasí s dalšími poznatky (například s tím, že různé vypadající „druhy“ se mohou vzájemně pářit, nebo se vyvíjejí na stejné rostlině). V těchto případech nám může molekulárně taxonomický přístup pomoci určit, kde je hranice mezi druhy. Jedinci jednoho druhu jsou si totiž na úrovni DNA sekvencí obvykle velmi podobní a výrazně se liší od jiných příbuzných druhů. Tento postup nám pomohl rozřešit záhadu potápníků rodu *Copelatus* z ostrova Hispaniola (MANUEL et al. 2018). Ti byli nalezeni v roce 2014 na dvou lokalitách tohoto ostrova, na každé lokalitě ale vypadali jinak a podle vnější morfologie se jednalo o dva druhy. Samčí pohlavní orgány, které se obvykle liší i mezi velmi podobnými druhy, však žádný rozdíl neukázaly. Molekulárně taxonomická analýza ukázala, že jedinci z obou lokalit jsou téměř identičtí, a potvrdila, že samčí pohlavní orgány nelhaly, zato vnější vzhled mátl. Jednalo se o morfologicky variabilní druh. Opačnou situaci jsme řešili u drobných motýlků makadlovek z rodu *Gnorimoschema*. Zde to vypadalo, že před sebou máme několik málo široce rozšířených variabilních druhů, na jejichž rozlišení se navíc odborníci nedovedli shodnout. Analýza DNA sekvencí (BIDZILYA et al. 2019) ukázala, že se ve skutečnosti jedná o komplex zhruba 30 druhů, z nichž několik sbíraných během expedice našeho oddělení do ruského pohoří Altaj bylo dokonce nových pro vědu. Jakmile genetická data pomohla určit, kde jsou hranice mezi druhy, dokázali jsme mezi nimi navíc najít spolehlivé morfologické rozdíly. Příště už bude tyto motýly tedy možné určit i bez DNA sekvencí.

Další možností využití těchto metod v entomologii je přiřazování larválních stadií k dospělcům. Larvy hmyzu, zejména toho s proměnou dokonalou (např. brouci, mouchy, motýli), jsou téměř vždy naprosto nepodobné dospělcům a jejich určení podle morfologie není obvykle možné. Dříve bylo nutné tyto kusy dochovat do dospělosti a potom je určit, což je časově náročné a častokrát zcela nemožné, jelikož nejsme schopni z různých důvodů larvy dochovat. Všechna vývojová stadia jednoho druhu však nesou ve svých buňkách identickou DNA. S pomocí molekulárně taxonomických metod jsme tedy schopni přiřadit larvu k dospělci i přesto, že si nejsou vůbec podobní. To je důležité zejména proto, že larva je u hmyzu stadiem, které má za úkol se co nejvíce nasytit a narůst, často ovšem pojídá něco jiného a žije jiným způsobem než dospělec. U mnoha druhů hmyzu lze pochopit jejich bionomii, vazbu na prostředí, nebo třeba důvod, proč se přemnožily nebo naopak z přírody mizí, jen pokud známe je-

jich larvu. Analýza DNA sekvencí nám tedy pomohla například odhalit, že podivní novozélandští brouci z rodu *Rygmodes*, které lze najít na květech, mají dravé vodní larvy (MINOSHIMA et al. 2018). Podobně překvapivé bylo zjištění, že asijské brouci vodomilové z rodu *Protosternum* jsou celým svým vývojem vázány na odumírající kmínky banánovníků. Byli jsme to schopni dokázat díky larvám a kuklám nalezeným přímo v terénu a určeným do druhů s pomocí jednoduchého porovnání sekvencí DNA (FIKÁČEK et al. 2018). Jeden z posledních objevů tohoto typu v rámci našeho oddělení se týkal drobných potápníků rodu *Platynectes* nalezených na skalních stěnách smáčených vodou v Číně (HÁJEK et al. 2019). Během expedice do Číny se podařilo najít nový druh tohoto rodu, který se odlišoval od nejbližších příbuzných celkovým klenutím těla, jinou strukturou krovek a tvarem samčích pohlavních orgánů. Spolu s dospělci byly nalezeny i larvy, u kterých však nebylo jisté, zdali patří k tomuto novému druhu, nebo k již známému a velmi podobnému druhu *Platynectes dissimilis*. Ten byl totiž nalezen na stejném místě spolu s novým druhem rodu *Platynectes*. Molekulárně fylogenetická analýza nejenže potvrdila hypotézu nového taxonu, ale především přiřadila i larvální stadia právě k dospělcům prozatím nepojmenovaného potápníka. V následné publikaci jsme tedy popsali nový druh potápníka i s jeho larvou nesoucí jméno *Platynectes davidorum*.

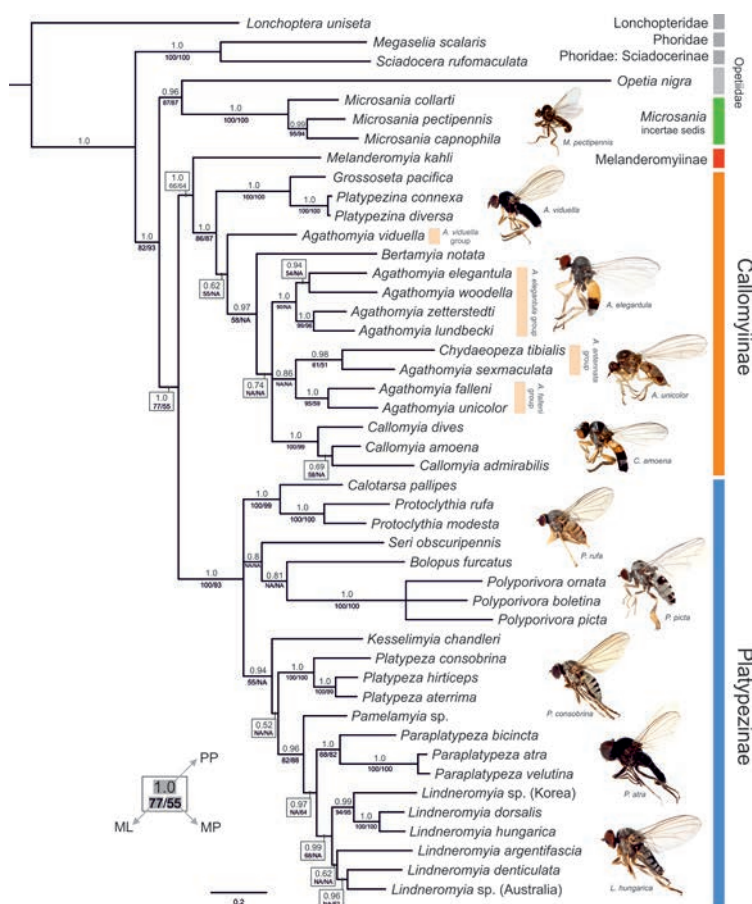


← Dospělec (5,1 mm) a larva (6,6 mm) posledního L3 stadia nově popsaného druhu potápníka *Platynectes davidorum*. Převzato a upraveno se svolením z práce HÁJEK et al. (2019).



↑ Fylogenetický strom, ze kterého je patrné jasné oddělení nového druhu *Platynectes davidorum* (červená větev) od zbylých druhů a zároveň je zřejmá asociace dospělců s larválními stadii. Převzato a upraveno se svolením z práce HÁJEK et al. (2019).

Na entomologickém oddělení používáme molekulární analýzy také pro studium příbuzenských vztahů uvnitř brouků, dvoukřídých a ploštic. Tyto studie např. ukázaly, že různorodě vypadající vodomilovití brouci z jižní polokoule měli společného předka a tvoří monofyletickou skupinu. Tedy takovou skupinu, do které je řazen společný předek a všichni jeho potomci (SHORT & FIKÁČEK 2013). Naopak asijský kovařík tribu Senodoniini takovouto skupinu netvoří, a molekulárně fylogenetická analýza ukázala na jejich příbuznost s druhy z Austrálie (KUNDRATA et al. 2019). Analýza sekvencí DNA nám pomohla potvrdit fylogenetickou pozici malé čeledi vodních brouků (Aspidytidae) žijící dneska jen v Jižní Africe a Číně (TOUSSAINT et al. 2016) nebo osvětlila vztahy mezi plošticemi čeledi štítovkovití (Scutelleridae), která zahrnuje množství nápadných dekorativně zbarvených druhů i zemědělských škůdců (WU et al. 2018). U mušek čeledi stlačenkovití (Platypezidae) žijících se houbami byl na základě molekulární fylogenetiky odhalen společný znak pro celou čeleď, což nám umožnilo z této čeledi vyřadit tzv. kouřové mušky (rod *Microsania*), které se houbami neživí (TKOČ et al. 2017).



↑ Fylogenetický strom znázorňující příbuzenské vztahy uvnitř čeledi stlačenkovití (Platypezidae) včetně vyčleněné skupiny kouřových mušek rodu *Microsania* (zeleně označeno). Převzato a upraveno se svolením z práce Tkoč et al. (2017).

Molekulární analýzy nám dokonce mohou pomoci odhalit, kdy a kde v historii hmyzu došlo k něčemu, co ovlivnilo jeho dnešní rozšíření. Lze je totiž v kombinaci s fosiliemi použít k hrubému datování historických událostí pomocí tzv. molekulárních hodin a k odhadu rozšíření dávnych, dnes již vymřelých předků. Analýza DNA sekvencí drobných vodních ploštic hladinatek rodu *Velia* (BERCHI et al. 2018) například ukázala, že náš hojný druh tohoto rodu kolonizoval Evropu velmi rychle po poslední době ledové. Variabilita jeho genetické informace je totiž velmi malá. Naopak příbuzné druhy z Balkánského poloostrova vykazují velkou genetickou variabilitu, která ukazuje, že během dob ledových byl areál těchto druhů rozdroben na malé oblasti, tzv. refugia. Podobná analýza drobných brouků vodomilů rodu *Phaenonotum* v Karibské oblasti (DELER-HERNÁNDEZ et al. 2018) odhalila, že dnešní endemické druhy kolonizovaly Karibské ostrovy před zhruba 33 miliony let, kdy byly tyto ostrovy spojeny s Jižní Amerikou, zatímco široce rozšířené druhy se na ostrovy dostaly mnohem později přes moře.

V neposlední řadě dochází ke specifickému využití molekulárních metod u čerstvě sbíraných hmyzích vzorků z celého světa, především pak ze sběrů ploštic. Jde však o analýzy sekvencí nukleových kyselin jednobuněčných organismů z obsahu střev zmíněných skupin hmyzu, dále z jejich krevomízy nebo například ze slinných žláz (např. KOZMINSKY et al. 2015; SEWARD et al. 2017; VOTÝPKA et al. 2019).

Sbírané vzorky pro potřeby zpracování v molekulárně genetické laboratoři je ideální uchovávat v chladu nebo mrazu, aby se zpomalilo následné poškození DNA, ke kterému i při správném způsobu sběru a uložení postupně dochází. Správně nasbírané a usmrcené kusy hmyzu uložené v tradiční sbírce (tj. vypreparované na špendlíku) jsou pro genetické metody také použitelné, ale nemusí to platit vždycky. Záleží na metodě smrcení hmyzu, rychlosti jeho vypreparování a následném uskladnění. Sbírky je navíc potřeba chránit před škůdci, a tudíž například v Národním muzeu dochází dvakrát do roka k tzv. plynování depozitářů. Studie provedená v rámci projektu NAKI II, který stojí i za vznikem tohoto katalogu, ukázala, že chemikálie, které se v Národním muzeu používají k eliminaci škůdců tohoto typu sbírek (kterým bývá paradoxně také hmyz), DNA nepoškozuji (VONDRÁČEK et al. 2018). Přesněji šlo o porovnání výtěžnosti DNA a kvality získaných sekvencí barcodového úseku genu cytochrom oxidázy 1 mezi 32 kusy zlatohlávka tmavého (*Oxythyrea funesta*) a 32 kusy švába hnědopruhého (*Supella longipalpa*), které nikdy nepřišly do styku s chemikáliemi používanými v muzeu, a stejným počtem kusů od obou druhů, které byly naopak přímo umístěny do chemicky ošetřených prostor. V Národním muzeu se plynují vybrané místnosti dýmovicemi Cytrol Super SG, jejichž aktivní insekticidní látkou je cypermethrin (konc. 6,25 %). S odstupem jednoho roku, a tedy po dvou chemických ošetřeních nebyly následně nalezeny v podstatě žádné směrodatné rozdíly mezi plynovanými a neplynovanými vzorky, a je tedy zřejmé, že minimálně v krátkodobém měřítku nemá cypermethrin vliv na kvalitu DNA v suchých preparátech hmyzu, uskladněných v našich depozitářích.

Použitá literatura včetně vybraných prací entomologického oddělení

- BERCHI G. V., COPILAS-CIOCIANU D., KMENT P., PETRUSEK A., RÁKOSY L., CIANFERONI F. & DAMGAARD J. 2018: Molecular phylogeny and biogeography of the West-Palaeartic *Velia* (Heteroptera: Gerromorpha: Veliidae). *Systematic Entomology* **43** (2): 262–276.
- BIDZILYA O., HUEMER P., NUPPONEN K. & ŠUMPICH J. 2019: A review of some new or little-known species of the genus *Gnorimoschema* (Lepidoptera, Gelechiidae) from the Palaeartic region. *ZooKeys* **857**: 105–138.

DELER-HERNÁNDEZ A., SÝKORA V., SEIDEL M., CALA-RIQUELME F., FIKÁČEK M. 2018: Multiple origins of the *Phaenonotum* beetles in the Greater Antilles (Coleoptera: Hydrophilidae): phylogeny, biogeography and systematics. *Zoological Journal of the Linnean Society* **183**: 97–120.

FIKÁČEK M., LIANG W.-R., HSIAO Y., JIA F.-L. & VONDRÁČEK D. 2018: Biology and morphology of immature stages of banana-associated *Protosternum* beetles, with comments on the status of Taiwanese endemic *P. abnormale* (Coleoptera: Hydrophilidae). *Zoologischer Anzeiger* **277**: 85–100.

HÁJEK J., ALARIE Y., ŠŤASTNÝ J. & VONDRÁČEK D. 2019: The first hygropetric *Platynectes* and its larva from eastern China (Coleoptera: Dytiscidae). *Acta Entomologica Musei Nationalis Pragae* **59**: 217–228.

KOZMINSKY E., KRAEVA N., ISHEMGULOVA A., DOBÁKOVÁ E., LUKEŠ J., KMENT P., YURCHENKO V., VOTÝPKA J. & MASLOV D. A. 2015: Host-specificity of monoxenous trypanosomatids: statistical analysis of the distribution and transmission patterns of the parasites from Neotropical Heteroptera. *Protist* **166**: 551–568.

KUNDRATA R., PROSVIROV S. A., VONDRACEK D. & SORMOVA E. 2019: Congruence Between molecular data and morphology: phylogenetic position of *Senodoniini* (Coleoptera: Elateridae). *Insects* **10** (8): 231.

MANUEL M., DELER-HERNÁNDEZ A., MEGNA Y. S. & HÁJEK J. 2018: *Copelatus* Erichson from the Dominican Republic, with the description of a new species, comments on elytral striation and faunistic notes on Antillean species (Coleoptera: Dytiscidae: Copelatinae). *Zootaxa* **4399**: 371–385.

MINOSHIMA Y. N., SEIDEL M., WOOD J. R., LESCHEN R. A. B., GUNTER M. & FIKÁČEK M. 2018: Morphology and biology of the flower-visiting water scavenger beetle genus *Rygmodus* (Coleoptera: Hydrophilidae). *Entomological Science* **21** (4): 363–384.

SEWARD E. A., VOTÝPKA J., KMENT P., LUKEŠ J. & KELLY S. 2017: Description of *Phytomonas oxycareni* n. sp. from the salivary glands of *Oxycareus lavatae*. *Protist* **168**: 71–79.

SHORT A. E. Z. & FIKÁČEK M. 2013: Molecular phylogeny, evolution, and classification of the Hydrophilidae (Coleoptera). *Systematic Entomology* **38**: 723–752.

TKOČ M., TOTHOVA A., STAHL G., CHANDLER P. J. & VAÑHARA J. 2017: Molecular phylogeny of flat-footed flies (Diptera: Platypezidae): main clades supported by new morphological evidence. *Zoologica Scripta* **46** (4): 429–444.

TOUSSAINT E. F. A., BEUTEL R. G., MORINIÈRE J., JIA F., XU S., MICHAT M. C., ZHOU X., BILTON D. T., RIBERA I., HÁJEK J. & BALKE M. 2016: Molecular phylogeny of the highly disjunct cliff water beetles from South Africa and China (Coleoptera: Aspidytidae). *Zoological Journal of the Linnean Society* **176**: 537–546.

VONDRÁČEK D., TKOČ M. & FIKÁČEK M. 2018: Is repeated cypermethrin fumigation dangerous for the mitochondrial DNA in dry insect samples? *Acta Entomologica Musei Nationalis Pragae* **58** (2): 609–614.

VOTÝPKA J., KMENT P., KRIEHOVÁ E., VERMEIJ M. J. A., KEELING P. J., YURCHENKO V. & LUKEŠ J. 2019: High prevalence and endemism of trypanosomatids on a small Caribbean island. *Journal of Eukaryotic Microbiology* **66**: 600–607.

WU Y.-Z., REDEI D., EGER J. JR, WANG Y.-H., WU H.-Y., CARAPEZZA A., KMENT P., CAI B., SUN X.-Y., GUO P.-L., LUO J.-Y. & XIE Q. 2018: Phylogeny and the colourful history of jewel bugs (Insecta: Hemiptera: Scutelleridae). *Cladistics* **34**: 502–516.

Další práce entomologického oddělení, kde byla využita molekulární data

- ANGUS R. B., JIA F.-L., CHEN Z., ZHANG Y., VONDRÁČEK D. & FIKÁČEK M. 2016: Taxonomy, larval morphology and cytogenetics of *Lihelophorus*, the Tibetan endemic subgenus of *Helophorus* (Coleoptera: Hydrophiloidea). *Acta Entomologica Musei Nationalis Pragae* **56** (1): 109–148.
- ARRIAGA-VARELA E., SEIDEL M., DELER-HERNÁNDEZ A., SENDEROV V. & FIKÁČEK M. 2017: A review of *Cercyon* Leach (Coleoptera, Hydrophilidae, Sphaeridiinae) of the Greater Antilles. *ZooKeys* **681**: 39–93.
- BALKE M., TOUSSAINT E. F. A., HENDRICH L. & HÁJEK J. 2013: A new species of the Australian genus *Necterosoma* from Timor (Coleoptera: Dytiscidae: Hydroporini). *Acta Entomologica Musei Nationalis Pragae* **53**: 65–74.
- BALKE M., HÁJEK J., HENDRICH L. & WEWALKA G. 2014: *Exocelina nehoue* sp. nov. from New Caledonia, with a new synonym and new collecting records for other species in the genus (Coleoptera: Dytiscidae). Pp. 183–192 in: GUILBERT É., ROBILLARDT T., JOURDAN H. & GRANCOLAS P. (eds): Zoologia Neocaledonica 8. Biodiversity Studies in New Caledonia. Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle. *Zoology* **206**: 1–524.
- BERCHI G. M., KMENT P., COPILAS-CIOCIANU D., RÁKOSY L. & DAMGAARD J. 2016: Water treaders of Romania and adjacent countries and their phylogenetic relationships (Hemiptera: Heteroptera: Mesoveliidae). *Annales Zoologici* **66** (2): 193–212.
- BERGSTEN J., WEINGARTNER E. & HÁJEK J. 2017: Species delimitation analysis of the *Hyphydrus ovatus* complex in western Palaearctic with an update of species distributions (Coleoptera: Dytiscidae). *ZooKeys* **678**: 73–96.
- BLOOM D. D., FIKÁČEK M. & SHORT A. E. Z. 2014: Clade age and diversification rate variation explain disparity in species richness among water scavenger beetle (Hydrophilidae) lineages. *PLoS ONE* **9** (6): e98430.
- FIKÁČEK M. & SHORT A. E. Z. 2010: Taxonomic revision and phylogeny of the genus *Cetiocyron* and its discovery in the Neotropical region (Insecta: Coleoptera: Hydrophilidae). *Arthropod Systematics & Phylogeny* **68**: 309–329.
- FIKÁČEK M., MARUYAMA M., VONDRÁČEK D. & SHORT A. E. Z. 2013: *Chimaerocyron* gen. nov., a morphologically aberrant myrmecophilous genus of water scavenger beetle (Coleoptera: Hydrophilidae: Sphaeridiinae). *Zootaxa* **3716**: 277–288.
- FIKÁČEK M., MINOSHIMA Y., VONDRÁČEK D., GUNTER N. & LESCHEN R. A. B. 2013: Morphology of adults and larvae and integrative taxonomy of southern hemisphere genera *Tormus* and *Afrotormus* (Coleoptera: Hydrophilidae). *Acta Entomologica Musei Nationalis Pragae* **53**: 75–126.
- FIKÁČEK M. & VONDRÁČEK D. 2014: A review of *Pseudorygmodus* (Coleoptera: Hydrophilidae), with notes on the classification of the Anacaenini and on distribution of genera endemic to southern South America. *Acta Entomologica Musei Nationalis Pragae* **54**: 479–514.
- FIKÁČEK M., MARUYAMA M., KOMATSU T., VON BEEREN C., VONDRÁČEK D. & SHORT A. E. Z. 2015: Protosternini (Coleoptera: Hydrophilidae) corroborated as monophyletic and its larva described for the first time: a review of the myrmecophilous genus *Sphaerocetus*. *Invertebrate Systematics* **29**: 23–36.
- FIKÁČEK M., GUSTAFSON G. T. & SHORT A. E. Z. 2017: On wet rocks with snorkels: immature stages of *Tritonus* cascade beetles with unusual modification of spiracles (Coleoptera: Hydrophilidae: Laccobiini). *Annales Zoologici* **67** (1): 91–107.
- FIKÁČEK M., BEUTEL R. G., CAI C., LAWRENCE J. F., NEWTON A. F., SOLODOVNIKOV A., SLIPINSKI A., THAYER M. K. & YAMAMOTO S. 2019: Reliable placement of beetle fossils via phylogenetic analyses –

Triassic *Leehermania* as a case study (Staphylinidae or Myxophaga?). *Systematic Entomology* doi: 10.1111/syen.12386

FLINTE V., VIANA J. H., VALVERDE DE MACEDO M., WINDSOR D. & SEKERKA L. 2016: Revalidation and redescription of three distinct species synonymized as *Plagiometriona sahlbergi* (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae). *Acta Entomologica Musei Nationalis Pragae* **56** (2): 743–754.

HÁJEK J., HENDRICH L., HAWLITSCHKE O. & BALKE M. 2010: *Copelatus sibelaemontis* sp. nov. from the Moluccas with generic assignment based on morphology and DNA sequence data (Coleoptera: Dytiscidae). *Acta Entomologica Musei Nationalis Pragae* **50**: 437–443.

KUNDRATA R., BLANK S. M., PROSVIROV A. S., SORMOVA E., GIMMEL M. L., VONDRÁČEK D. & KRAMP K. 2019: One less mystery in Coleoptera systematics: the position of Cydistinae (Elateriformia incertae sedis) resolved by multigene phylogenetic analysis. *Zoological Journal of the Linnean Society* **187** (4): 1259–1277.

MEN Y., KMENT P., ŠTÁHLAVSKÝ F., YE F., WANG Y.-H. & XIE Q. 2019: The mitochondrial genomes of *Macrocheraia grandis grandis* and *Myrmoplasta mira* (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomomorpha) and the unique mitogenome rearrangement in Pyrrhocoroidea. *Entomotaxonomia* **41** (2): 96–113.

MINOSHIMA Y. N., FIKÁČEK M., GUNTER N. & LESCHEN R. A. B. 2015: Larval morphology and biology of the New Zealand-Chilean genera *Cylomissus* Broun and *Anticura* Spangler (Coleoptera: Hydrophilidae: Rygmodinae). *Coleopterists Bulletin* **69**: 687–712.

PIVARCIOVA L., VANECKOVA H., PROVAZNIK J., WU B. C.-H., PIVARCI M., PECKOVA O., BAZALOVA O., CADA S., KMENT P., KOTWICA-ROLINSKA J. & DOLEZEL D. 2016: Unexpected geographic variability of the free running period in the linden bug *Pyrrhocoris apterus*. *Journal of Biological Rhythms* **31**: 568–576.

SZCZEPANSKI W. T., VONDRÁČEK D., SEIDEL M., WARDHAUGH C. & FIKÁČEK M. 2018: High diversity of *Cetiocyron* beetles (Coleoptera: Hydrophilidae) along an elevational gradient on Mt. Wilhelm, New Guinea, with new records from the Bird's Head Peninsula. *Arthropod Systematics & Phylogeny* **76** (2): 323–347.

ŠUMPICH J. & HUEMER P. 2016: *Chrysoclista germanica* sp. nov. and *C. gabretica* stat. rev., with an updated checklist of the genus (Lepidoptera, Elachistidae). *Acta Entomologica Musei Nationalis Pragae* **54**: 785–788.

ŠUMPICH J. & JAROŠ J. 2019: *Chrysoclista karsholti* sp. n. from Turkey, and new record of *Ch. germanica* in central Europe (Lepidoptera: Elachistidae: Parametriotinae). *Zootaxa* **4568** (3): 587–592.

TOUSSAINT E. F. A., FIKÁČEK M. & SHORT A. E. Z. 2016: India-Madagascar vicariance explains cascade beetle biogeography. *Biological Journal of the Linnean Society* **118** (4): 982–991.

TOUSSAINT E. F. A., SEIDEL M., ARRIAGA-VARELA E., HÁJEK J., KRÁL D., SEKERKA L., SHORT A. E. Z. & FIKÁČEK M. 2017: The peril of dating beetles. *Systematic Entomology* **42** (1): 1–10.

TOUSSAINT E. F. A., HENDRICH L., HÁJEK J., MICHAT M. C., PANJAITAN R., SHORT A. E. Z. & BALKE M. 2017: Evolution of Pacific Rim diving beetles sheds light on Amphi-Pacific biogeography. *Ecography* **40**: 500–510.

VONDRÁČEK D., FUCHSOVÁ A., AHRENS D., KRÁL D. & ŠÍPEK P. 2018: Phylogeography and DNA-based species delimitation provide insight into the taxonomy of the polymorphic rose chafer *Protaetia* (*Potosia*) *cuprea* species complex (Coleoptera: Scarabaeidae: Cetoniinae) in the Western Palearctic. *PLoS ONE* **13** (2): e0192349.

VOTÝPKA J., KLEPETKOVÁ H., JIRKŮ M., KMENT P. & LUKEŠ J. 2012: Phylogenetic relationships of

trypanosomatids parasitising true bugs (Insecta: Heteroptera) in sub-Saharan Africa. *International Journal of Parasitology* 42: 489–500.

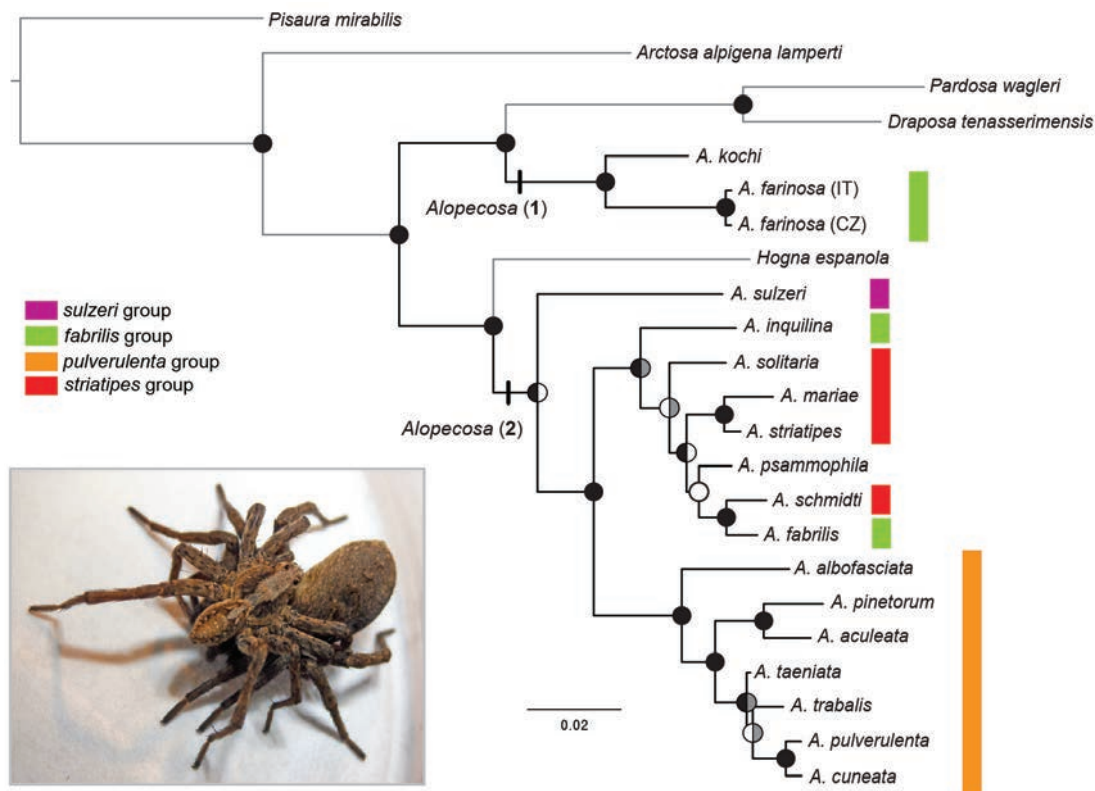
Molekulárně fylogenetický výzkum vybraných referátů zoologického oddělení

V rámci zoologického oddělení se rutinně využívá molekulárně fylogenetických a taxonomických metod v referátech ichtyologie, batrachologie a herpetologie a dále mammaliologie. Ve výzkumech evertebratologického referátu se objevují tyto metody pouze okrajově a v případě ornitologického referátu prozatím vůbec. Zaměstnanci posledních dvou zmíněných referátů se však snaží v případě nových sběrů a ukládání nově získaných vzorků postupovat tak, aby byly v budoucnu bez problému použitelné v molekulárně genetických laboratořích v případě potřeby analýz DNA sekvencí. Na půdě zoologického oddělení byla v rámci řešení projektu NAKI II provedena také metodologická studie srovnávající 12 různých DNA izolačních kitů, sloužících k získávání DNA ze vzorků (MARTINCOVÁ & AGHOVÁ in press). V současnosti je totiž na trhu velké množství těchto komerčně vyráběných kitů, které mají různorodou výtěžnost a především při izolaci DNA z historických vzorků je zapotřebí využít ten nejvhodnější. Kvalita a kvantita DNA je v těchto vzorcích velmi nízká a ne každý kit je pro tyto účely vhodný. Ve zmíněné studii autorky porovnaly 11 kitů založených na zkumavkách s křemičitými filtry a jeden tzv. „HotSHOT“ protokol. Ve srovnávacím experimentu byly použity standardní vzorky a zcela identické postupy. Porovnávaly se časy izolace, kvalita i kvantita získané DNA nebo cena izolace jednoho vzorku. Z vyhodnocení plyne, že nejvhodnějším izolačním kitem je JetQuick® Genomic DNA Purification Kit (Genomed) a NucleoSpin® Tissue (Macherey-Nagel). Autorky však doporučují vyzkoušet vícero izolačních kitů pro specifické vzorky, aby bylo dosaženo optimálního času, kvality a ceny pro vymezený projekt.

MARTINCOVÁ I. & AGHOVÁ T. 2019: Comparison of 12 DNA extraction kits for vertebrate samples. *Animal Biodiversity and Conservation* in press.

Referát evertibratologie

Referát evertibratologie v posledních letech publikoval několik molekulárně zaměřených prací, včetně několika multioborových studií využívajících tato data jakožto podpůrný bod pro výstupy získané z dalších metodických přístupů. V následujících řádcích bude krátce vysvětlen přínos molekulární fylogenetiky a taxonomie pro studium bezobratlých na příkladu tří prací opublikovaných v rámci referátu evertibratologie. První z nich je práce ŠTUNDLOVÁ a kol. (2019), ve které autoři studovali tři druhy štírů podrodu *Euscorpium* (*Alpiscorpium*) vyskytující se ve vysokohorském systému Alp. Za použití cytogenetických a molekulárně fylogenetických analýz autoři této práce studovali proměnlivost a populační strukturu alpských druhů jak na úrovni chromozomální, tak i DNA sekvencí samotných. Molekulární fylogeneze založená na multigenové analýze i cytogenetická analýza nezávisle odhalily existenci deseti separátních linií, jež vykazují prvky lokálních endemitů. Díky kombinaci vícero metodických přístupů se tak autorům podařilo odhalit nebývalou skrytou genetickou rozmanitost a zároveň



↑ Fylogenetický strom zahrnující středoevropské slíďáky rodu *Alopecosa*. Molekulární fylogeneze spolu s rozбором průběhu námluv a páření v některých případech potvrdila, a v jiných vyvrátila původní rozčlenění jednotlivých druhů do skupin podle morfologických znaků. Vlevo dole slíďák bradavčitý (*Alopecosa solitaria*) během páření. Samec (nahore) vkládá své pravé makadlo do pohlavního otvoru samice. Převzato a upraveno se svolením z práce Just et al. (2019 ["2018"]).

rozkličovat vzájemné příbuzenské vztahy mezi jednotlivými populacemi alpských štírů. V návaznosti na tuto studii vznikla taxonomická revize štírů z Alp zahrnující popisy kryptických linií jakožto nových druhů (Kovařík et al. 2019).

Druhou prací využívající molekulární data byla práce zabývající se rozmnožovacími strategiemi evropských slíďáků rodu *Alopecosa* (Just et al. 2019 ["2018"]). Námluvní chování slíďáků jsou často využívána jakožto determinační charakteristika a u rodu *Alopecosa* se vyskytuje celkem 17 prvků námluv. Středoevropské druhy slíďáků se tradičně rozdělují do čtyř skupin na základě morfologie genitálií. Autoři této práce použili data z multigenové fylogenetické analýzy pro rekonstrukci příbuzenských vztahů studovaných druhů a tato data porovnali s daty z etologických experimentů. Získaná etologická data korespondovala s molekulárními daty a podařilo se tak potvrdit monofylii jedné skupiny slíďáků a zbývajících dvě determinovat jako parafyletické, respektive polyfyletické skupiny.

Posledním příkladem je práce využívající DNA barcoding při studiu rozšíření sladkovodních krevet čeledi Atyidae z jižního Balkánu (Jabloňská et al. 2018). Krevetky rodu *Atyaephyra* jsou rozšířené v Evropě, na Blízkém východě a severní Africe, z toho čtyři druhy se vyskytují na balkánském poloostrově. Autorům této práce se díky DNA barcodingu podařilo popsat první výskyt krevety *Atyaephyra thymisensis* v Albánii a Makedonii, přestože byla považována za endemita jónského regionu. Výše zmíněné práce představují příklady využití molekulárně fylogenetických a taxonomických přístupů pro rozličné typy studií a zároveň poukazují na klíčový aspekt multidisciplinarity.

Použitá literatura včetně vybraných prací evertibratologického referátu

- JABLOŇSKÁ A., VUKIĆ J., ŠANDA R., ZAWAL A. & GRABOWSKI M. 2018: First report of *Atyaephyra thymisensis* Christodoulou, Antoniou, Magoulas & Koukouras, 2012 (Decapoda, Caridea, Atyidae) from Albania and the Republic of Macedonia confirmed by DNA barcodes. *Crustaceana* **91**: 599–610.
- JUST P., OPATOVA V. & DOLEJŠ P. 2019 ["2018"]: Does reproductive behaviour reflect phylogenetic relationships? An example from Central European *Alopecosa* wolf spiders (Araneae: Lycosidae). *Zoological Journal of the Linnean Society* **185** (4): 1039–1056.
- KOVAŘÍK F., ŠTUNDLOVÁ J., FET V. & ŠŤÁHLAVSKÝ F. 2019: Seven new Alpine species of the genus *Alpiscorpius* Gantenbein et al. 1999, stat. n. (Scorpiones: Euscorpiidae). *Euscorpius* **287**: 1–29.
- ŠTUNDLOVÁ J., ŠMÍD J., NGUYEN P. & ŠŤÁHLAVSKÝ F. 2019: Cryptic diversity and dynamics chromosome evolution in Alpine scorpions (Euscorpiidae: *Euscorpius*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **134**: 152–163.

Další práce evertibratologického referátu, kde byla využita molekulární data

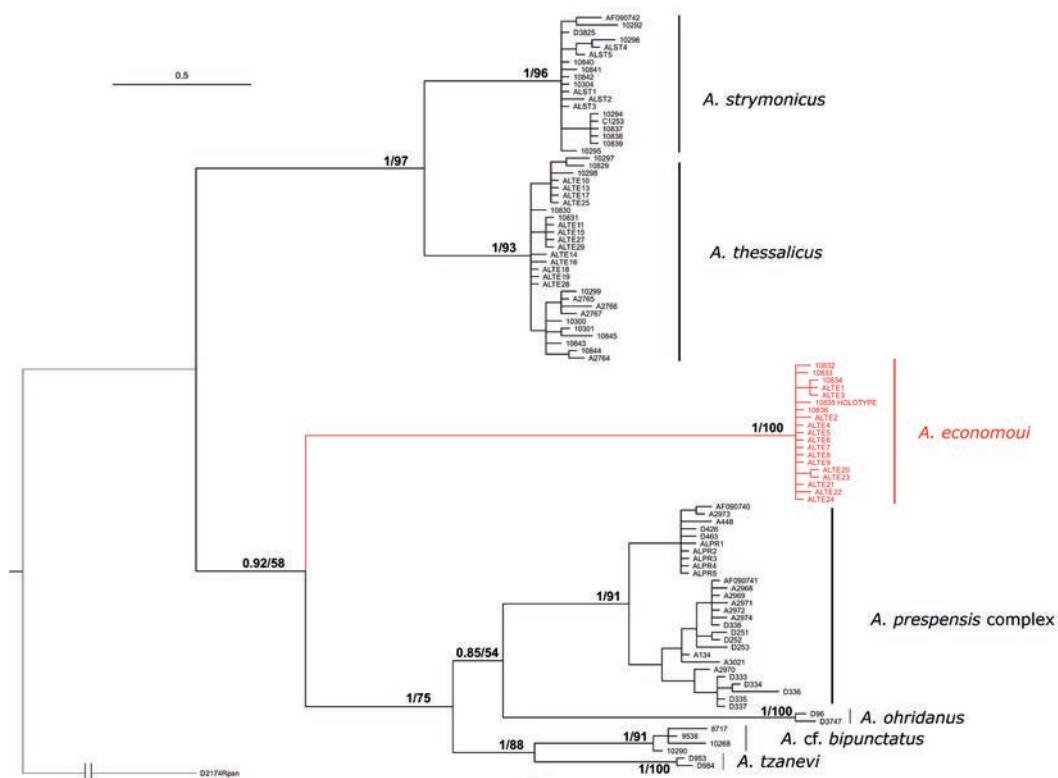
- MRUGAŁA A., ŠANDA R., PETRUSEK A., MARIĆ D. & VUKIĆ J. 2017: Recent acute crayfish mortality reveals *Aphanomyces astaci* presence in Bosnia and Herzegovina. *Journal of Invertebrate Pathology* **150**: 73–75.
- MRUGAŁA A., ŠANDA R., SHUMKA S. & VUKIĆ J. 2017: Filling the blank spot: first report on the freshwater crayfish distribution in Albania. *Knowledge & Management of Aquatic Ecosystems* **418**: 34.

Referát ichtyologie

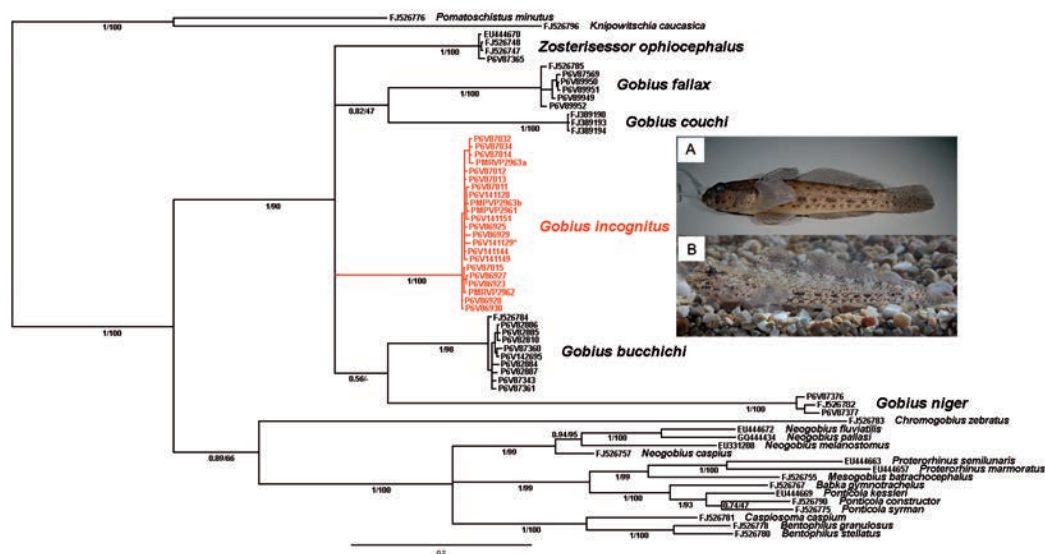
Tak jako v jiných oborech zoologie, využívá i výzkum ryb (ichtyologie) v posledních dvou desetiletích molekulárně fylogenetické a taxonomické metody, které se hojně objevují v mnoha studiích. Rovněž v Národním muzeu se využití molekulárních dat stalo běžnou součástí ichtyologického výzkumu. Tyto moderní přístupy jsou využívány především při analýzách evolučních a fylogenetických vztahů, v systematice a taxonomii ryb nebo ve fylogeografických a populačních studiích ryb. Ichtyologický výzkum v Národním muzeu je zaměřen především na oblast Evropy, která patří k jedné z nejlépe prostudovaných oblastí na světě a ve srovnání s tropickými oblastmi je domovem značně menšího počtu druhů ryb. Přesto druhová rozmanitost u řady skupin není stále dostatečně známa, jak ukazují současné práce. Jde především o skupiny, jejichž jednotlivé druhy jsou si morfologicky velmi podobné, a je tedy těžké od sebe tyto druhy odlišit.

Například u střevlí rodu *Phoxinus* se ještě nedávno předpokládalo, že se v Evropě vyskytuje jeden široce rozšířený druh střevle potoční (*Phoxinus phoxinus*). Zlom nastal v roce 2007, kdy byly popsány tři nové druhy a další tři druhy, dříve synonymizované se střevlí potoční, byly rozpoznány jako druhy samostatné (KOTTELAT 2007). V této době se do výzkumu střevlí zapojilo i Národní muzeum ve spolupráci s dalšími kolegy z ČR i zahraničí. Výsledkem této spolupráce byla v roce 2012 publikovaná studie tzv. barcodingu ryb ČR, která poukázala na skutečnost, že na území ČR se vyskytují velmi pravděpodobně dva druhy střevlí, avšak nebylo jasné, o jaké druhy se jedná (MENDEL et al. 2012). V roce 2015 pak byla publikována přelomová práce o střevlích z oblastí západního Balkánu založená na molekulárně genetických datech (PALANDAČIĆ et al. 2015), která prokázala v této oblasti výskyt nikoliv dvou předpokládaných druhů, ale hned osmi různých vysoce rozdílných evolučních linií, reprezentujících s vysokou pravděpodobností různé druhy. Také na této studii se aktivně podílelo Národní muzeum. Výzkum střevlí v Evropě dále intenzivně pokračuje. V tuto chvíli se předpokládá existence přibližně 20 druhů (PALANDAČIĆ et al. 2017; CORRAL-LOU et al. 2019) a toto číslo velmi pravděpodobně není konečné, jak naznačují dosud nepublikované výsledky, prezentované v roce 2019 na mezinárodních konferencích. Tento výzkum má i přímý dopad pro Českou republiku, neboť se zdá jisté, že střevle potoční se zde vůbec nevyskytuje. Na našem území ve skutečnosti žijí druhy, které ještě nemají ani české jméno. Jejich rozšíření v České republice není přesně známo, ale jako pravděpodobné se jeví, že oblast severomořského a snad i baltského úmoří obývá druh *Phoxinus morella*, kdežto černomořské úmoří obývá druh *Phoxinus marsilii*.

Taxonomické práce využívající molekulární data přispěly i k objevu několika nových druhů ryb z Evropy. V roce 2010 byl popsán nový druh oukleje z povodí řeky Neretvy v Bosně a Hercegovině a Chorvatsku, nazvaný *Alburnus neretvae* (BUJ et al. 2010). V roce 2014 byl taktéž z povodí řeky Neretvy popsán nový druh sekavce, nazvaný *Cobitis herzegoviniensis* (BUJ et al. 2014) a v roce 2017 byl popsán nový druh ouklejky, nazvaný *Alburnoides economoui*, z povodí řeky Sperchios v Řecku (BARBIERI et al. 2017). Nový druh byl objeven ale i v evropském mořském prostředí. V roce 2016 byl popsán hlaváč nazvaný *Gobius incognitus* (KOVAČIĆ & ŠANDA 2016). Také další fylogenetické a populačně genetické výzkumy prokázaly existenci dosud neznámých evolučních linií, které představují dosud neznámé a nepopsané druhy, například u parem rodu *Barbus* v Albánii (MARKOVÁ et al. 2010), jelců rodu *Telestes* v západním Řecku v oblasti jónského úmoří či hořavek rodu *Rhodeus* z oblasti východního Řecka (BARTÁKOVÁ et al. 2019).



↑ Fylogenetický strom vykreslující příbuzenské vztahy ouklejek (rod *Alburnoides*) včetně výrazně oddělené větve (červeně), do které patří jedinci nově popsaného druhu *A. economoui* (na fotografii) z povodí řeky Sperchios v Řecku. Převzato a upraveno se svolením z práce BARBIERI et al. (2017).



↑ *Fylogenetický strom znázorňující příbuzenské vztahy hlaváčů rodu *Gobius*. Červeně zvýrazněná, velmi dobře oddělená větev obsahuje jedince nového druhu *Gobius incognitus* (na fotografii A = fixovaný jedinec, B = živý exemplář). Převzato a upraveno se svolením z práce Kovačič & Šanda (2016).*

V rámci studia evoluce a fylogenetických vztahů ryb se Národní muzeum také podílelo aktivně na několika významných studiích. V roce 2008 byla publikována studie o hrouzcích rodů *Gobio* z Evropy (MENDEL et al. 2008) a o sekavcovitých rybách (rodů *Cobitis* a *Barbatula*) z Albánie (ŠANDA et al. 2008). V roce 2010 byla publikována význačná práce o evolučních vztazích sladkovodních ryb ze skupiny jelcovitých (Leuciscinae) z oblasti okolo Středozemního moře (PEREA et al. 2010); v roce 2014 pak rozsáhlá studie zaměřená na barcodování sladkovodních ryb z území okolo Středozemního moře (GEIGER et al. 2014). Výzkumy evoluce jelců rodu *Telestes* byly publikovány v roce 2017 a 2019 (BUJ et al. 2017, 2019) a konečně v roce 2018 byla publikována přelomová studie o vyšší systematice kaprovitých ryb, zaměřená na skupinu jelcovitých (Leuciscidae) v rámci celosvětového výskytu (SCHÖNHUTH et al. 2018). Tato studie rozdělila kaprovité ryby na několik samostatných čeledí, které byly dříve považovány za podčeledi. V České republice tak již nemáme pouze zástupce čeledi kaprovití (Cyprinidae), kam patřily všechny „kaprovité“ ryby, ale vyskytují se zde zástupci čeledi kaprovití (Cyprinidae), v dnešním pojetí zahrnující z našich druhů kapra, karase a parmu; dále jelcovití (Leuciscidae), zahrnující většinu našich druhů dříve řazených do kaprovitých (např. ouklej, ouklejka, všichni cejni, bolen, všichni jelci, plotice či střevle); poté hrouzkovití (Gobionidae) zahrnující hrouzky nebo línovití (Tincidae) s jediným zástupcem línem obecným či hořavkovití (Acheilognathidae) u nás s jediným druhem hořavkou duhovou a konečně zástupci čeledi Xenocyprididae, kteří jsou v naší fauně zastoupeni druhem introdukovaným z Dálného východu, tolstolobikou a amurem bílým.

Výzkumné aktivity Národního muzea se týkají také využití genetických dat v dalších oblastech. Probíhají práce na populační genetice ryb, které jsou zaměřeny na poznání detailní struktury genetické variability populací vybraných skupin a aplikaci pro jejich ochranu. Pozornost byla dosud zaměřena na

blatňáka tmavého (*Umbra krameri*) (MARIĆ et al. 2015, 2017, 2019), sekavcovité ryby rodů *Cobitis* (BUJ et al. 2015) a *Sabanejewia* (MAREŠOVÁ et al. 2011) a mřenky rodu *Oxynoemacheilus* (ŠEDIVÁ et al. 2008). Populačně genetická data byla také využita při studiu hlaváčovitých ryb z oblasti jónského úmoří v Řecku a Albánii, kde bylo dokázáno, že domněle vyhynulý druh *Knipowitschia goerneri* ve skutečnosti stále obývá jak původní oblast výskytu, kde byl jen dlouhodobě přehlížen (VUKIĆ et al. 2016), tak i okolní oblasti v Albánii a Řecku (VUKIĆ et al. 2017). Jiným typem populační studie bylo prokázáno dávné křížení mezi velmi odlišnými druhy jelců rodu *Squalius* z řeckého poloostrova Peloponés (PEREA et al. 2016).

Genetická data jsou také úspěšně využívána ve výzkumu nepůvodních druhů ryb, především u skupin, kde je obtížné morfologicky určit, o jaký druh se přesně jedná. Tímto způsobem byl prokázán výskyt japonského karase ginbuna (*Carassius langsdorfi*) v několika evropských oblastech (KALOUS et al. 2013). Dále byl určen přesný druh ouklejky rodu *Alburnoides* a území, odkud byla introdukována do nepůvodní oblasti výskytu v Bosně a Hercegovině (VUKIĆ et al. 2019). Poslední oblastí, kde se využívají genetická data, je v poslední době výzkum koevoluce ryb a jejich parazitů. Tento výzkum je zaměřen na ryby kaprovité a jelcovité a jejich specifické parazity žábrolísty rodu *Dactylogyrus* (BENOVICS et al. 2018, 2019).

Použitá literatura včetně všech prací ichthyologického referátu, kde byla využita molekulární data

- BARBIERI R., VUKIĆ J., ŠANDA R., KAPAKOS Y. & ZOGARIS S. 2017: *Alburnoides economoui*, a new species of spirlin from Central Greece and redescription of *Alburnoides thessalicus* (Actinopterygii, Cyprinidae). *Biologia* 72 (9): 1075–1088.
- BARTÁKOVÁ V., BRYJA J., ŠANDA R., BEKTAS Y., STEFANOV T., CHOLEVA L., SMITH C. & REICHARD M. 2019: High cryptic diversity of bitterling fish in the southern West Palearctic. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 133: 1–11.
- BENOVICS M., DESDEVICES Y., VUKIĆ J., ŠANDA R. & ŠIMKOVÁ A. 2018: The phylogenetic relationships and species richness of host-specific *Dactylogyrus* parasites shaped by the biogeography of Balkan cyprinids. *Scientific Reports* 8: 13006.
- BENOVICS M., DESDEVICES Y., ŠANDA R., VUKIĆ J. & ŠIMKOVÁ A. 2019: Cophylogenetic relationships between *Dactylogyrus* (Monogenea) ectoparasites and endemic cyprinoids of the north-eastern European peri-Mediterranean region. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research in press*.
- BUJ I., VUKIĆ J., ŠANDA R., PEREA S., ČALET M., MARČIĆ Z., BOGUT I., POVŽ M. & MRAKOVČIĆ M. 2010: Morphological comparison of bleaks (*Alburnus*, Cyprinidae) from the Adriatic Basin with the description of a new species. *Folia Zoologica* 59 (2): 129–141.
- BUJ I., ŠANDA R., MARČIĆ Z., ČALET M. & MRAKOVČIĆ M. 2014: Combining morphology and genetics in resolving taxonomy – a systematic revision of spined loaches (Genus *Cobitis*; Cypriniformes, Actinopterygii) in the Adriatic watershed. *PLoS ONE* 9 (6): e99833.
- BUJ I., ČALET M., MARČIĆ Z., ŠANDA R., VUKIĆ J. & MRAKOVČIĆ M. 2015: Different histories, different destinies: Impact of evolutionary history and population genetic structure on extinction risk of the Adriatic spined loaches (genus *Cobitis*; Cypriniformes, Actinopterygii). *PLoS ONE* 10 (7): e0131580.
- BUJ I., MARČIĆ Z., ČALET M., ŠANDA R., GEIGER M. F., FREYHOF J., MACHORDOM A. & VUKIĆ J. 2017:

Ancient connections among the European rivers and watersheds revealed from the evolutionary history of the genus *Telestes* (Actinopterygii; Cypriniformes). *PLoS ONE* 12 (12): e0187366.

BUJ I., ŠANDA R., ZOGARIS S., FREYHOF J., GEIGER M. F. & VUKIĆ J. 2019: Cryptic diversity in *Telestes pleurobipunctatus* (Actinopterygii; Leuciscidae), as a consequence of historical biogeography in the Ionian Freshwater Ecoregion (Greece, Albania). *Hydrobiologia* 835: 147–163.

CORRAL-LOU A., PEREA S., APARICIO E. & DOADRIO I. 2019: Phylogeography and species delineation of the genus *Phoxinus* Rafinesque, 1820 (Actinopterygii: Leuciscidae) in the Iberian Peninsula. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* in press.

GEIGER M. F., HERDER F., MONAGHAN M. T., ALMADA V., BARBIERI R., BARICHE M., BERREBI P., BOHLEN J., CASAL-LOPEZ M., DELMASTRO G. B., DENYS G. P. J., DETTAI A., DOADRIO I., KALOGIANNI E., KÄRST H., KOTTELAT M., KOVAČIĆ M., LAPORTE M., LORENZONI M., MARČIĆ Z., ÖZULUG M., PERDICES A., PEREA S., PERSAT H., PORCELOTTI S., PUZZI C., ROBALO J., ŠANDA R., SCHNEIDER M., ŠLECHTOVÁ V., STUMBOUDI M., WALTER S. & FREYHOF J. 2014: Spatial heterogeneity in the Mediterranean Biodiversity Hotspot affects barcoding accuracy of its freshwater fishes. *Molecular Ecology Resources* 14 (6): 1210–1221.

KALOUS L., RYLKOVÁ K., BOHLEN J., ŠANDA R. & PETRÝL M. 2013: New mtDNA data reveal a wide distribution of the Japanese ginbuna (*Carassius langsdorfii*; Cyprinidae) in Europe. *Journal of Fish Biology* 82 (2): 703–707.

KOTTELAT M. 2007: Three new speceis of *Phoxinus* from Greece and southern France (Teleostei: Cyprinidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters* 18 (2): 145–162.

KOVAČIĆ M. & ŠANDA R. 2016: A new species of *Gobius* (Perciformes: Gobiidae) from the Mediterranean Sea and the redescription of *Gobius bucchichi* Steindachner, 1870. *Journal of Fish Biology* 88 (3): 1104–1124.

MAREŠOVÁ E., DELIĆ A., KOSTOV V., MARIĆ S. & ŠANDA R. 2011: Genetic diversity of *Sabanejewia balcanica* in the West Balkan and its comparison with other regions. *Folia Zoologica* 60 (4): 332–339.

MARIĆ S., SNOJ A., SEKULIĆ N., KRPO-ČETKOVIĆ J., ŠANDA R. & JOJIĆ V. 2015: Genetic and morphological variability of the European mudminnow *Umbra krameri* (Teleostei, Umbridae) in Serbia and in Bosnia and Herzegovina, a basis for future conservation activities. *Journal of Fish Biology* 86: 1534–1548.

MARIĆ S., STANKOVIĆ D., WANZENBÖCK J., ŠANDA R., ERŐS T., TAKÁCS P., SPECZIÁR A., SEKULIĆ S., BĂNĂDUC D., ČAleta M., TROMBITSKY I., GALAMBOS L., SIPOS S. & SNOJ A. 2017: Phylogeography and population genetics of the European mudminnow (*Umbra krameri*) with a time-calibrated phylogeny for the family Umbridae. *Hydrobiologia* 792: 151–168.

MARIĆ S., STANKOVIĆ D., ŠANDA R., ČAleta M., ČOLIĆ S., ŠUKALO G., D. & SNOJ A. 2019: Genetic characterisation of European mudminnow (*Umbra krameri*) populations from the Sava River system. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 420 (46): 1–9.

MARKOVÁ S., ŠANDA R., CRIVELLI A., SHUMKA S., WILSON I. F., VUKIĆ J., BERREBI P. & KOTLÍK P. 2010: Nuclear and mitochondrial DNA sequence data reveal the evolutionary history of *Barbus* (Cyprinidae) in the ancient lake systems of the Balkans. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 55: 488–500.

MENDEL J., LUSK S., VASIL'eva E. D., VASIL'EV V. P., LUSKOVÁ V., ERK'AKAN F., RUCHIN A., KOŠČO J., VETEŠNÍK L., HALAČKA K., ŠANDA R., PASHKOV A. N. & RESHETNIKOV S. I. 2008: Molecular phylogeny of the genus *Gobio* Cuvier, 1816 (Teleostei: Cyprinidae) and its contribution to taxonomy. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 47: 1061–1075.

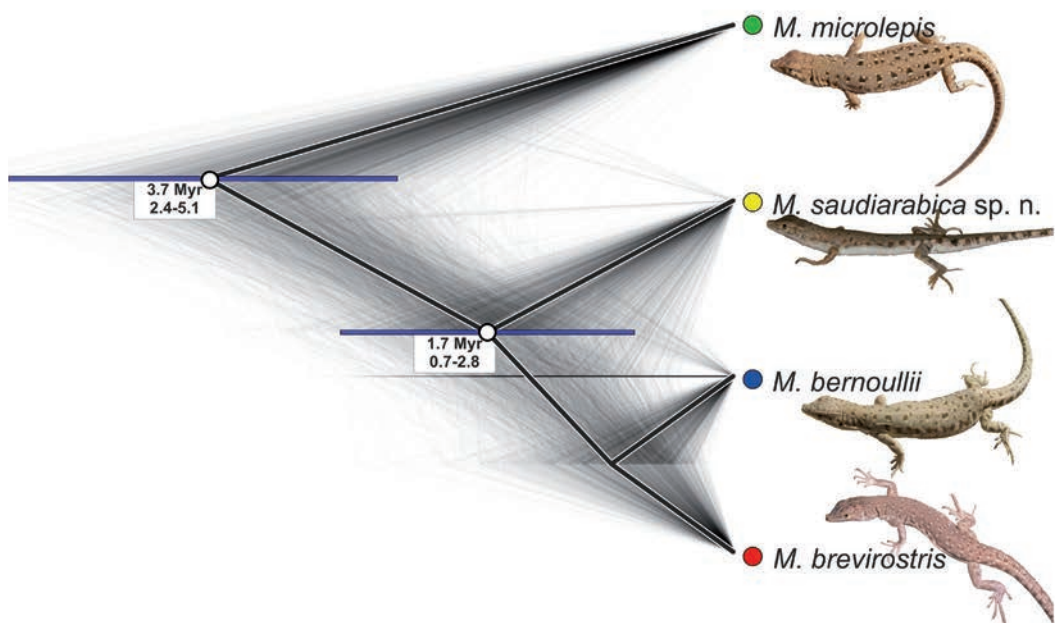
MENDEL J., MAREŠOVÁ E., PAPOUŠEK I., HALAČKA K., VETEŠNÍK L., ŠANDA R., KONÍČKOVÁ M. & URBÁNKOVÁ S. 2012: Molecular biodiversity inventory of the ichthyofauna of the Czech Republic. Pp. 287–314 in:

- CALISKAN M. (ed): *Analysis of Genetic Variations in Animals*. Rijeka InTech, 360 pp.
- PALANDAČIĆ A., BRAVNIČAR J., ZUPANČIČ P., ŠANDA R. & SNOJ A. 2015: Molecular data suggest a multispecies complex of *Phoxinus* (Cyprinidae) in the Western Balkan Peninsula. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **92**: 118–123.
- PALANDAČIĆ A., NASEKA A., RAMLER D. & AHNELT A. 2017: Contrasting morphology with molecular data: an approach to revision of species complexes based on the example of European *Phoxinus* (Cyprinidae). *BMC Evolutionary Biology* **17**: 184.
- PEREA S., BOHME M., ZUPANČIČ P., FREYHOF J., ŠANDA R., OZULUG M., ABDOLI A. & DOADRIO I. 2010: Phylogenetic relationships and biogeographical patterns in Circum-Mediterranean subfamily Leuciscinae (Teleostei, Cyprinidae) inferred from both mitochondrial and nuclear data. *BMC Evolutionary Biology* **10**: 265.
- PEREA S., VUKIĆ J., ŠANDA R. & DOADRIO I. 2016: Ancient mitochondrial capture as factor promoting mitonuclear discordance in freshwater fishes: A case study in the genus *Squalius* (Actinopterygii, Cyprinidae) in Greece. *PLoS ONE* **11** (12): e0166292.
- SCHÖNHUTH S., VUKIĆ J., ŠANDA R., YANG L. & MAYDEN R. L. 2018: Phylogenetic relationships and classification of the Holarctic family Leuciscidae (Cypriniformes: Cyprinoidei). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **127**: 781–799.
- ŠANDA R., VUKIĆ J., CHOLEVA L., KRÍŽEK J., ŠEDIVÁ A., SHUMKA S. & WILSON I. F. 2008: Distribution of loach fishes (Cobitidae, Nemacheilidae) in Albania, with genetic analysis of populations of *Cobitis ohridana*. *Folia Zoologica* **57** (1–2): 42–50.
- ŠEDIVÁ A., APOSTOLOU A., JANKO K., KOHOUT J., KOSTOV V. & ŠANDA R. 2008: Genetic structure and distribution of *Barbatula bureschi* (Balitoridae, Nemacheilinae) and its phylogenetic position with respect to other European stone loaches. *Folia Zoologica* **57** (1–2): 111–119.
- VUKIĆ J., KOVAČIĆ M., ZOGARIS S. & ŠANDA R. 2016: Rediscovery of *Knipowitschia goerneri* and its molecular relationships with other European northern Mediterranean *Knipowitschia* species (Teleostei: Gobiidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters* **26** (4): 363–372.
- VUKIĆ J., ULQINI D. & ŠANDA R. 2017: Occurrence of *Knipowitschia goerneri* (Gobiidae) in southern Albania confirmed by molecular tools. *Journal of Applied Ichthyology* **33**: 284–290.
- VUKIĆ J., ELIÁŠOVÁ K., MARIĆ D. & ŠANDA R. 2019: Occurrence of alien spirin (*Alburnoides* sp.) in the Neretva river basin. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* **420** (15): 1–6.

Referát batrachologie a herpetologie

Výzkum obojživelníků a plazů byl v Národním muzeu tradičně založen převážně na morfologicko-anatomických metodách. U žab se vedle morfologických metod významněji uplatňovaly i výsledky získané studiem jejich hlasů. Po výstavbě molekulárně genetické laboratoře však bylo možné využít pro taxonomický a fylogenetický výzkum vybraných druhů a skupin i analýzy molekulárních dat. V případě evropských druhů šlo například o rosničky zelené, mloky skvrnité a slepýše křehké. U asijských a afrických druhů jsme se zaměřili na početné a vzájemně velmi podobné gekony rodu *Hemidactylus* a polopouštní až pouštní ještěrky rodů *Acanthodactylus* a *Mesalina*. Při studiu jihoamerických sbírek jsme narazili na problémy s určováním amazonských rosníček rodu *Scinax*, *Dendropsophus* a *Osteocephalus*, pralesních ropuch rodu *Rhinella*, andských drobných žab bezblanek (rod *Pristimantis*) a v případě plazů i rozmanitých amazonských tejoyčkovitých ještěrů (čeleď *Gymnophthalmidae*). V následujících odstavcích se pokusíme přiblížit několik vybraných zajímavých výsledků, kterých jsme s použitím kombinace tradičních morfologických a moderních molekulárně fylogenetických a taxonomických metod při výzkumu obojživelníků a plazů dosáhli.

Prvním případem, kdy nám morfologické metody výzkumu přestaly stačit, byly drobné ještěrky rodu *Mesalina*. Tyto ještěrky jsou široce rozšířeny v oblasti Blízkého až Středního východu a v severní Africe. V početných sběrech, které jsme měli v Národním muzeu a které jsme sami získali při výzkumných cestách do Sýrie a Libanonu, jsme odlišili několik morfologických forem, o kterých jsme nevěděli, zda představují samostatné dosud neznámé druhy, či jen poddruhy nebo takzvané morfotypy již známého druhu *Mesalina brevirostris*. Potíž byla v tom, že tyto ještěrky jsou v závislosti na charakteru obývaného biotopu morfologicky značně proměnlivé a že tato proměnlivost vedla v minulosti výzkumníky k popisu řady druhů a poddruhů, jejichž diagnóza byla založena na málo významných proměnlivých znacích. Jména pro jednotlivé druhy tu tedy byla, problém byl ale v jejich správném použití. Mohli jsme například uplatnit latinské jméno *brevirostris* (krátkonosá) používané pro nížinné populace s krátkým čenichem i pro „dlouhonosé“ mesaliny z horských poloh? Pro tyto ještěrky bylo sice k dispozici latinské jméno *microlepis* (mající drobné šupiny), některé naše „dlouhonosé“ ještěrky ale neměly šupiny výrazněji drobnější než mesaliny z nížiny. Navíc jméno *microlepis* bylo zavedeno v r. 1936 jen na základě jediného exempláře. K vyřešení problému jsme se tedy spojili v r. 2001 s kolegy z vídeňského přírodovědeckého muzea, kteří již měli s genetickým výzkumem zkušenosti. První genetické výsledky však přinesly velké překvapení (MAYER et al. 2006). Ukázaly, že máme v rukou sice dva odlišné druhy, ale že jsou to druhy morfologicky téměř neodlišitelné. Navíc vyšlo najevo, že areály daných druhů se v poslední době zřejmě v důsledku rozšiřování pouštních biotopů změnily, a nelze se tudíž spoléhat na dříve publikované lokality výskytu jednotlivých forem daných mesalin. K rozřešení problému jsme potřebovali ještě řadu let, dodatečný materiál a daleko důkladnější fylogenetické analýzy provedené nyní již v naší molekulárně genetické laboratoři. Konečné výsledky jsme publikovali až v roce 2017 (ŠMÍD et al. 2017). Podrobné genetické vyšetření ještěrek z celého areálu jejich rozšíření nám ale umožnilo přesně vymezit jednotlivé druhy, zmapovat jejich výskyt a přiřadit jim správná jména. Oprášili jsme tak dvě ze starých, dříve nepoužívaných jmen (*Mesalina bernoullii* a *M. microlepis*) a použili je pro druhy ze Sýrie, Iráku a přilehlých oblastí. Dále jsme zavedli nové jméno (*Mesalina saudiarabica*) pro nově vymezený druh ze Saúdské Arábie. Fylogenetické výsledky tedy ukázaly, že místo jediného široce rozšířeného druhu *Mesalina brevirostris* tu máme hned čtyři druhy s menšími areály výskytu. Současně vyšla najevo důležitá skutečnost, že areály některých z těchto druhů jsou tak malé, že je třeba dotyčné druhy začít účinně chránit.



↑ Fylogenetický strom znázorňující vzájemnou příbuznost mezi ještěrkami rodu *Mesalina* na Středním východě (nahore) spolu s mapou rozšíření jednotlivých druhů (dole).
Převzato a upraveno se svolením z práce Šmíd et al. (2017).

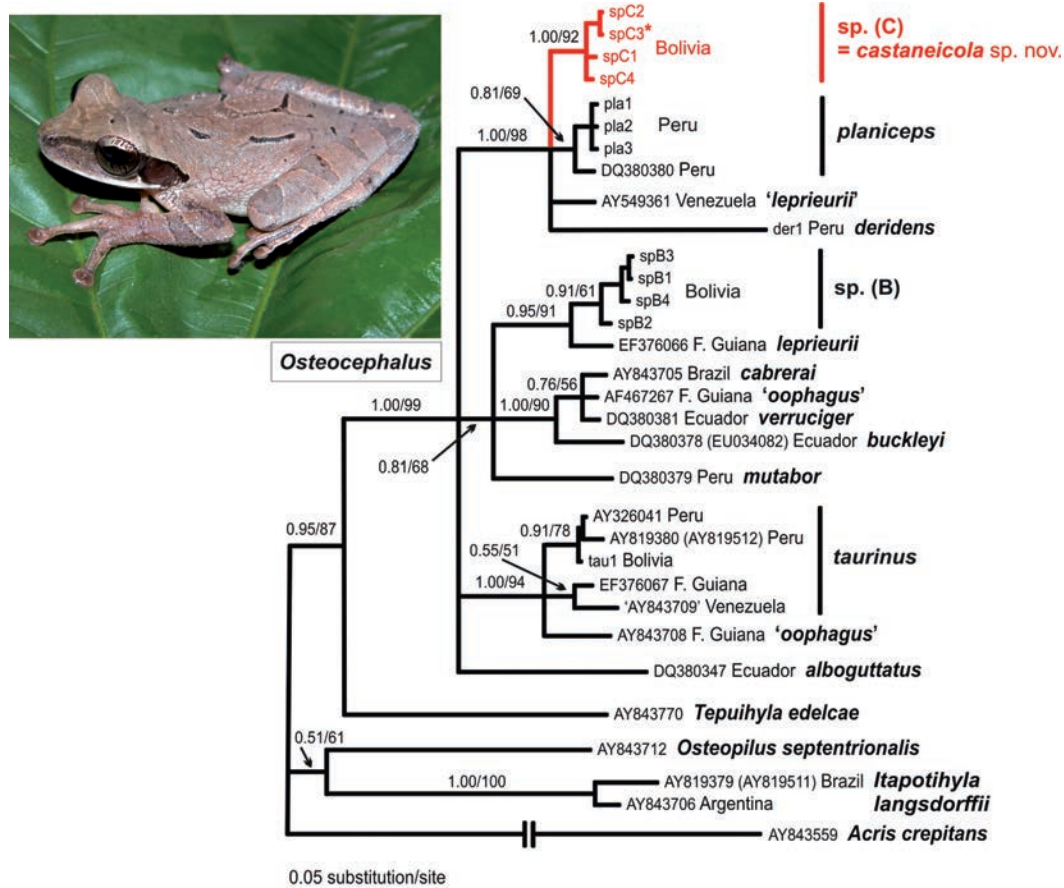
Podobný charakter měl i náš výzkum rosníček Evropy a Středního východu. Zde byly na začátku dva druhy. První byla rosníčka zelená (*Hyla arborea*), o které se věřilo, že v rámci svého velkého areálu rozšíření vytváří v Evropě a západní Asii několik morfologicky odlišných poddruhů. Druhým druhem byla rosníčka levantská (*Hyla savignyi*), rozšířená na Blízkém až Středním východě. Opět jsme museli geneticky vyšetřit co největší množství rosníček z celých areálů rozšíření obou výše uvedených druhů. Získané výsledky pak ukázaly (GVOŽDÍK et al. 2010, 2015), že některé dosud uznávané poddruhy rosníčky zelené se na genetické úrovni neliší od typických populací a jejich poddruhovou úroveň je třeba zrušit. Na druhou stranu ale vyšlo najevo, že jiné z přijímaných poddruhů rosníčky jsou natolik geneticky odlišné, že musejí být povýšeny na úroveň samostatných druhů – např. rosníčka východní (*Hyla orientalis*) či rosníčka italská (*Hyla intermedia*). Fauna Evropy se tak rozrostla o několik nových druhů. Nejzajímavějším zjištěním ale bylo, že v Jemenu, Saúdské Arábii, Jordánsku a jižní Sýrii žije další, dosud nepojmenovaný druh rosníčky, který je od rosníčky levantské dostatečně geneticky odlišný. Tento druh jsme tedy nově popsali a dali mu jméno rosníčka arabská (*Hyla felixarabica*). Jistě není třeba zdůrazňovat, že upřesnění areálů a pojmenování dosud přehlížených druhů má velký význam pro ochranářskou praxi.

Snad nejzajímavější výsledky přinesl genetický výzkum slepýšů, na kterém dosud intenzivně pracujeme. Nenápadně vyhlížející, široce rozšířené a všem dobře známé druhy mohou totiž někdy úspěšně mást celé generace zoologů. Kdo by ostatně čekal, že třeba populace morfologicky velmi podobných slepýšů přiřazované dlouhodobě k „obyčejnému“ slepýši křehkému by ve skutečnosti mohly představovat skupinu vzájemně odlišných taxonů? Výzkum našich, ale i dalších evropských a asijských slepýšů však ukázal, že pod jménem slepýš křehký se opravdu ukrývá několik donedávna nerozpoznaných druhů.

Po dlouhou dobu evropští zoologové pracovali s představou, že v Evropě žijí dva druhy slepýšů – slepýš peloponéský (*Anguis cephalonica*), omezený svým rozšířením na Peloponés, Kefalonii, Zakynthos a Ithaku, a slepýš křehký (*Anguis fragilis*), který obývá prakticky celou Evropu a na východě zasahuje až na západní Sibiř a do severního Íránu. Nerozřešenou otázkou zůstávalo, zda slepýš křehký vytváří poddruhy, či ne. Zde morfologické metody využívající takové znaky, jako je pozice prefrontálních štítků na hlavě, počet podélných řad šupin kolem středu těla nebo přítomnost či nepřítomnost ušního otvoru, jasnou odpověď nedávaly. Některé zahraniční studie sice koncept dvou poddruhů přijaly, přesný obraz rozšíření daných poddruhů však podat nedokázaly. Uvedly, že mezi na západě rozšířeným poddruhem *Anguis fragilis fragilis* a na východě se vyskytujícím poddruhem *A. f. colchica* se nachází severojižně orientovaná zóna, ve které žijí slepýši s přechodnými znaky mezi oběma poddruhy. Tuto relativně úzkou zónu vedly přibližně od severovýchodního pobřeží Polska, přes východní Slovensko a střední Maďarsko na jih až po severní Albánii. Blíží pohled na výskyt jedinců se znaky typickými pro jeden či druhý poddruh však ukazoval, že tato zóna je zjevně nepřesná, a především na severu a na jihu nevysvětluje dobře dosud známé poznatky o rozšíření diskriminačních znaků mezi doposavad studovanými populacemi slepýšů. Bylo zřejmé, že bez použití molekulárně fylogenetických metod se problém vyřešit nepodaří.

V našich studiích jsme použili nukleotidové sekvence jednoho genu z mitochondriální DNA a dvou jaderných genů kódující bílkoviny. Různorodost těchto úseků DNA jasně ukázala na existenci většího počtu evolučních linií slepýšů. Vedle morfologicky a rovněž geneticky dobře odlišeného slepýše peloponéského jsme nejprve v první studii zjistili tři hluboce odlišené evoluční linie v rámci slepýše „křehkého“ (GVOŽDÍK et al. 2010). Dvě linie svým rozšířením zhruba odpovídaly dřívějším představám

o rozšíření domnělých poddruhů *Anguis fragilis fragilis* na východě a *A. f. colchica* na západě. Jejich styk jsme pak doložili mimo jiné i na našem území v oblasti Moravy a Slezska. Třetí linie, o jejíž existenci dříve nikdo nevěděl, byla zjištěna v jižní části Balkánského poloostrova. Všechny tyto tři evoluční linie slepýšů jsme navrhli hodnotit jako samostatné druhy: slepýš křehký (*Anguis fragilis* sensu stricto), slepýš východní (*Anguis colchica*) a slepýš řecký (*Anguis graeca*). Naše původní vyšetření areálu slepýšů bylo poměrně omezené, proto jsme pokračovali dále a zaměřili se zejména na oblasti dosud opomíjené, jako byl Apeninský poloostrov. V navazující studii (GVOŽDÍK et al. 2013) jsme zjistili, že slepýši z území Itálie a jihovýchodní Francie patří k další zřetelně diverzifikované evoluční linii. Oprášili jsme pro ně opět staré, ale dostupné latinské jméno *Anguis veronensis* a zavedli pro něj české jméno slepýš italský. Studium slepýšů tedy ukázalo, že žádný druh není tak „obyčejný“, abychom jej mohli přehlížet a upozadit ve výzkumu. Zkoumání skryté druhové diverzity má zásadní význam pro poznání skutečné druhové



↑ Fylogenetický strom ukazující samostatné postavení rosničky ořechové *Osteocephalus castaneicola* (na fotografii, červená větev) mezi ostatními rosničkami rodu *Osteocephalus*. Hvězdička označuje vzorek získaný z pulce nalezeného v plodové kapsli juvie ztepilé. Převzato a upraveno se svolením z práce MORAVEC et al. (2009).

skladby fauny i tak probádaných oblastí, jako je střední Evropa. Rozpoznání skrytých (kryptických) druhů, které pro svoji morfologickou podobnost dosud unikaly pozornosti, má velký přínos především pro účinnou ochranu rozmanitosti fauny.

Srovnávání sekvencí DNA může být dobrým nástrojem i pro určování larválních stadií obojživelníků. Larvy čolků a mloků a pulci žab mají totiž jiný vzhled než dospělá zvířata. Při výzkumu málo probádaných oblastí, jako je například Amazonie, se nám proto často stává, že nalovíme různé pulce žab a nedokážeme určit, ke kterému druhu patří. Přicházíme tak o cenné informace týkající se jak výskytu, tak i chování a způsobu rozmnožování příslušných druhů. Jedním ze zajímavých případů, kdy nám genetické vyšetření pulců amazonských žab umožnilo popsat pozoruhodný způsob rozmnožování, bylo prozkoumání pulců, které jsme nacházeli v plodových kapsulích velkého amazonského stromu juvie ztepilé. Juvie plodů známé para ořechy, které jsou uzavřeny uvnitř pevných dřevitých kapsulí kulovitěho tvaru. Zralé plody padají na zem v okolí stromu. Para ořechy se pak s oblibou živí hlodavci zvaní aguti. Aby se k ořechům dostali, musejí ale vyhlodat do uzavřené kapsle dostatečně velký otvor. Prázdné vyhlodané kapsule leží na zemi, a jsou-li otočené otvorem nahoru, zachytí se v nich dešťová voda. Uvnitř pralesa může být o vodní nádrže potřebné pro vývin pulců nouze, proto se některé druhy žab naučily k rozmnožování využívat právě i vodou naplněné kapsule juvie ztepilé. V našem případě jsme genetickým srovnáním pulců z kapsulí s žábami žijícími v okolí zjistili, že daní pulci patří k dosud neznámému severobolivijskému druhu velké stromové rosničky rodu *Osteocephalus*. U rosniček takový způsob rozmnožování zatím nebyl dříve dokumentován. Podařilo se nám tak najednou objevit nejen novou velkou rosničku, ale doložit i pozoruhodný způsob jejího rozmnožování. S výběrem jména pro novou žabu jsme problém neměli. Nazvali jsme ji rosnička ořechová (*Osteocephalus castaneicola*, viz MORAVEC et al. 2009).

Na výstavě Doba genová je jako jeden z příkladů využití srovnávání sekvencí DNA uvedena problematika mloků skvrnitých na území České republiky. Mlok skvrnitý (*Salamandra salamandra*) je ohroženým druhem ocasatého obojživelníka, který se u nás vyskytuje zejména ve smíšených lesích od 200 do 1000 m n. m. Na těchto biotopech je zcela závislý a monokulturní lesy nebo otevřená krajina mu neumožňují přežít a rozmnožovat se. Aktuálně rozlišujeme dvě na první pohled morfologicky dobře



↑ Zástupce východní linie mloka skvrnitého (*Salamandra salamandra salamandra*) s typickým skvrnitým zbarvením (vlevo) a zástupce západní linie (*S. s. terrestris*) téhož druhu s pruhatým zbarvením (vpravo). © Jindřich Brejcha a Jiří Moravec

odlišné genetické linie. Západní linie mloků skvrnitých (*S. s. terrestris*) obývá areál od Pyrenejí až po východní Německo a její zástupci se vyznačují zejména nápadnými podélnými žlutými pruhy na hřbetu. Východní linie mloků skvrnitých (*S. s. salamandra*) obývá areál od Německa až po Balkánský poloostrov a tito jedinci nesou na hřbetu nepravidelně rozmístěné izolované žluté skvrny. Obě linie jsou v oblasti střední Evropy v současné době v těsném kontaktu. Naším populacím mloka skvrnitého na území České republiky (tradičně řazeným k nominotypickému poddruhu *S. s. salamandra*) se ale po genetické stránce na území ČR nikdo nevěnoval.

Pruhovaný západní poddruh mloka (*S. s. terrestris*) se vyskytuje v sousedním Bavorsku, zasahuje do okolí Míšně, Drážďan a Žitavy. Právě pár kilometrů od Žitavy byl popsán výskyt pruhovaných jedinců tohoto mloka (BENDA 2015). Rozhodli jsme se proto, že za využití molekulárních metod srovnáme populace z území Čech s populacemi v Německu a na Balkáně. Výsledky ukazují, že v rámci námi sledovaných úseků DNA náleží naši mloci spíše k balkánské východní linii, přestože se od ní morfologicky liší právě pruhovaným zbarvením.

Jak je možné, že morfologicky dobře odlišné linie se v místech setkávání připodobňují sobě navzájem? Zřejmě se budou linie mezi sebou křížit, a jejich zbarvení se bude tedy v populaci také mísit. Otázkou je, jak k tomu dochází a proč. Zbarvení živočichů může mít v přírodě různé funkce. Chrání před slunečním zářením, maskuje v okolním prostředí, umožňuje živočichům rozpoznávat se navzájem, může sloužit při komunikaci pro zvýraznění gest nebo se prostě jen líbí ostatním příslušníkům druhu. Pokud zbarvení přináší nějakou výhodu (např. lépe maskuje), může se stát, že různé genetické linie mohou za stejných podmínek dospět ke stejnému zbarvení. Ke sdílení zbarvení může ale také dojít proto, že je jeden typ zbarvení zkrátka z pohledu zvířat „hezčí“ než druhý typ zbarvení. Ke stejnému zbarvení mohou ale genetické linie dospět i náhodou. Každý z možných scénářů by nám o biologii mloků pověděl něco nového. V jednom případě bychom se dozvěděli, jak mloci reagují na životní prostředí, ve druhém případě bychom se dozvěděli, jaké mají mloci „estetické vnímání“, a třetí případ by nám ukázal, jakou roli v biologii mloků hrají „neviditelné“ náhodné procesy na pozadí. Jak to tedy s mloky doopravdy je, ukáže budoucí výzkum.

Použitá literatura včetně vybraných prací batrachologického a herpetologického referátu

- BENDA P. 2015: K otázce poddruhů mloka skvrnitého v oblasti Českého a Saského Švýcarska. *Živa* 6: 309–310.
- GVOŽDÍK V., JANDZIK D., LYMBERAKIS P., JABLONSKI D. & MORAVEC J. 2010: Slow worm, *Anguis fragilis* (Reptilia: Anguidae) as a species complex: Genetic structure reveals deep divergences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 55: 460–472.
- GVOŽDÍK V., MORAVEC J., KLÜTSCH C. & KOTLÍK P. 2010: Phylogeography of the Middle Eastern tree frogs (*Hyla*, Hylidae, Amphibia) as inferred from nuclear and mitochondrial DNA variation, with a description of a new species. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 55: 1146–1166.
- GVOŽDÍK V., BENKOVSKÝ N., CROTTINI A., BELLATI A., MORAVEC J., ROMANO A., SACCHI R. & JANDZIK D. 2013: An ancient lineage of slow worms, genus *Anguis* (Squamata: Anguidae), survived in the Italian Peninsula. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 69: 1077–1092.
- GVOŽDÍK V., CANESTRELLI D., GARCÍA-PARÍS. M., MORAVEC J., NASCETTI G., RECUERO E., TEIXEIRA J. &

- KOTLÍK P. 2015: Speciation history and widespread introgression in the European short-call tree frogs (*Hyla arborea* sensu lato, *H. intermedia* and *H. sarda*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **82**: 143–155.
- MAYER W., MORAVEC J. & PAVLIČEV M. 2006: Differentiation within Syrian populations of the lizard *Mesalina brevirostris*. Pp. 125–131 in CORTI C., LO CASCIO P. & BIAGGINI M. (eds.): *Mainland and Insular Lacertid Lizards: a Mediterranean Perspective*. Firenze University Press, Firenze, 218 pp.
- MORAVEC J., APARICIO J., GUERRERO-REINHARD M., CALDERÓN G., JUNGFER K.-H. & GVOŽDÍK V. 2009: A new species of *Osteocephalus* (Anura: Hylidae) from Amazonian Bolivia: first evidence of tree frog breeding in fruit capsules of the Brazil nut tree. *Zootaxa* **2215**: 37–54.
- ŠMÍD J., MORAVEC J., GVOŽDÍK V., ŠTUNDL J., FRYNTA D., LYMBERAKIS P., KAPLI P., WILMS T., SCHMITZ A., SHOBRAK M., YOUSEFKHANI S. H., RASTEGAR-POUYANI E., CASTILLA A. M., ELS J. & MAYER W. 2017: Cutting the Gordian Knot: Phylogenetic and ecological diversification of the *Mesalina brevirostris* species complex (Squamata, Lacertidae). *Zoologica Scripta* **46**: 649–663.

Další práce batrachologického a herpetologického referátu, kde byla využita molekulární data

- BAREJ M. F., RÖDEL M.-O., LOADER S. P., MENEGON M., GONWOUO N. L., PENNER J., GVOŽDÍK V., GÜNTHER R., BELL R. C., NAGEL P. & SCHMITZ A. 2014: Light shines through the spindrift – Phylogeny of African torrent frogs (Amphibia, Anura, Petropedetidae). *Molecular Phylogenetics And Evolution* **71**: 261–273.
- BELL R. C., DREWES R. C., CHANNING A., GVOŽDÍK V., KIELGAST J., LÖTTERS S., STUART B. L. & ZAMUDIO K. R. 2015: Overseas dispersal of *Hyperolius* reed frogs from Central Africa to the oceanic islands of São Tomé and Príncipe. *Journal of Biogeography* **42**: 65–75.
- BELL R. C., PARRA J., BADJEDJEA G., BAREJ M., BLACKBURN D., BURGER M., CHANNING A., DEHLING J., GREENBAUM E., GVOŽDÍK V., KIELGAST J., KUSAMBA C., LÖTTERS S., MCLAUGHLIN P., NAGY Z., RÖDEL M.-O., PORTIK D., STUART B., VANDERWAL J., ZASSI-BOULOU A. & ZAMUDIO K. 2017: Idiosyncratic responses to climate-driven forest fragmentation and marine incursions in reed frogs from Central Africa and the Gulf of Guinea Islands. *Molecular Ecology* **26**: 5223–5244.
- BLACKBURN D. C., GVOŽDÍK V. & LEACHÉ A. D. 2010: A new squeaker frog (Arthroleptidae: *Arthroleptis*) from the mountains of Cameroon and Nigeria. *Herpetologica* **66**: 335–348.
- BÖHME M. U. & MORAVEC J. 2011: Conservation genetics of *Lacerta viridis* populations in the Czech Republic (Reptilia: Lacertidae). *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae* **75**: 7–21.
- CASTROVIEJO-FISHER S., MORAVEC J., APARICIO J., GUERRERO-REINHARD M. & CALDERON G. 2011: DNA taxonomy reveals two new species records of *Hyalinobatrachium* (Anura: Centrolenidae) for Bolivia. *Zootaxa* **2798**: 64–68.
- CHARLES K. C., BELL R. C., BLACKBURN D. C., BURGER M., FUJITA M. K., GVOŽDÍK V., JONGSMA G. F. M., KOUETE M. T., LEACHÉ A. D. & PORTIK D. M. 2018: Sky, sea, and forest islands: Diversification in the African leaf-folding frog *Afraxalus paradorsalis* (Anura: Hyperoliidae) of the Lower Guineo-Congolian rain forest. *Journal of Biogeography* **45**: 1781–1794.
- CHRISTOPH LIEDTKE H., MÜLLER H., RÖDEL M.-O., MENEGON M., GONWOUO L. N., BAREJ M. F., GVOŽDÍK V., SCHMITZ A., CHANNING A., NAGEL P. & LOADER S. P. 2016: No ecological opportunity signal on a continental scale? Diversification and life-history evolution of African true toads (Anura: Bufonidae). *Evolution* **70** (8): 1717–1733.

- CUSI J. C., **MORAVEC J.**, LEHR E. & **GVOŽDÍK V.** 2017: A new species of semiarboreal toad of the *Rhinella festae* group (Anura, Bufonidae) from the Cordillera Azul National Park, Peru. *ZooKeys* **673**: 21–47.
- EVANS B. J., CARTER T. F., GREENBAUM E., **GVOŽDÍK V.**, KELLEY D. B., McLAUGHLIN P. J., PAUWELS O. S. G., PORTIK D. M., STANLEY E. L., TINSLEY R. C., TOBIAS M. L. & BLACKBURN D. C. 2015: Genetics, morphology, advertisement calls, and historical records distinguish six new polyploid species of African clawed frog (*Xenopus*, Pipidae) from West and Central Africa. *PLoS ONE* **10** (12): e0142823.
- FERRÃO M., COLATRELI O., DE FRAGA R., KAEFER I. L., **MORAVEC J.** & LIMA A. P. 2016: High species richness of *Scinax* treefrogs (Hylidae) in a threatened Amazonian landscape revealed by an integrative approach. *Public Library of Science One* **11**: e0165679.
- FERRÃO M., **MORAVEC J.**, DE FRAGA R., DE ALMEIDA A. P., KAEFER I. L. & LIMA A. P. 2017: A new species of *Scinax* from the Purus-Madeira interfluvium, Brazilian Amazonia (Anura, Hylidae). *ZooKeys* **706**: 137–162.
- FERRÃO M., DE FRAGA R., **MORAVEC J.**, KAEFER I. L. & LIMA A. P. 2018: A new species of Amazonian snouted treefrog (Hylidae: *Scinax*) with description of a novel species-habitat association for an aquatic breeding frog. *PeerJ* **6**: e4321.
- FERRÃO M., **MORAVEC J.**, KAEFER I. L., DE FRAGA R. & LIMA A. P. 2018: New species of *Scinax* (Anura: Hylidae) with red-striped eyes from Brazilian Amazonia. *Journal of Herpetology* **52**: 473–486.
- FURMAN B. L. S., BEWICK A. J., HARRISON T. L., GREENBAUM E., **GVOŽDÍK V.**, KUSAMBA C. & EVANS B. J. 2015: Pan-African phylogeography of a model organism, the African clawed frog '*Xenopus laevis*'. *Molecular Ecology* **24**: 909–925.
- GEHARA M., CRAWFORD A. J., ORRICO V. G. D., RODRÍGUEZ A., LÖTTERS S., FOUQUET A., BARRIENTOS L. S., BRUSQUETTI F., DE LA RIVA I., ERNST R., URRUTIA G. G., GLAW F., GUAYASAMIN J. M., HÖLTING M., JANSEN M., KOK P. J. R., KWET A., LINGNAU R., LYRA M., **MORAVEC J.**, POMBAL J. P. JR., ROJAS-RUNJAIC F. J. M., SCHULZE A., SEÑARIS J. C., SOLÉ M., RODRIGUES M. T., TWOMEY E., HADDAD C. F. B., VENCES M. & KÖHLER J. 2014: High levels of diversity uncovered in a widespread nominal taxon: continental phylogeography of the Neotropical tree frog *Dendropsophus minutus*. *Public Library of Science One* **9**: e103958.
- GVOŽDÍK V.**, JANDZIK D., CORDOS B., REHÁK I. & KOTLÍK P. 2012: A mitochondrial DNA phylogeny of the endangered vipers of the *Vipera ursinii* complex. *Molecular Phylogenetics And Evolution* **62**: 1019–1024.
- JABLONSKI D., JANDZIK D., MIKULÍČEK P., DŽUKIĆ G., LJUBISAVLJEVIĆ K., TZANKOV N., JELIĆ D., THANOU E., **MORAVEC J.** & **GVOŽDÍK V.** 2016: Contrasting evolutionary histories of the legless lizards slow worms (*Anguis*) shaped by the topography of the Balkan Peninsula. *BioMedCentral Evolutionary Biology* **16**: 99.
- JABLONSKI D., NAJBAR B., GROCHOWALSKA R., **GVOŽDÍK V.** & STRZAŁA T. 2017: Phylogeography and postglacial colonization of Central Europe by *Anguis fragilis* and *Anguis colchica*. *Amphibia-Reptilia* **38**: 562–569.
- JABLONSKI D., **GVOŽDÍK V.**, CHOLEVA L., JANDZIK D., **MORAVEC J.**, MAČÁT Z. & VESELÝ M. 2019: Tracing the maternal origin of the common wall lizard (*Podarcis muralis*) on the northern range margin in Central Europe. *Mitochondrion* **46**: 149–157.
- JANDZIK D., AVCI A. & **GVOŽDÍK V.** 2013: Incongruence between taxonomy and genetics: three divergent lineages within two subspecies of the rare Transcaucasian rat snake (*Zamenis hohenackeri*). *Amphibia-Reptilia* **34**: 579–584.
- JANDZIK D., JABLONSKI D., ZINENKO O., KUKUSHKIN O. V., **MORAVEC J.** & **GVOŽDÍK V.** 2018: Pleistocene extinctions and recent expansions in an anguillid lizard of the genus *Pseudopus*. *Zoologica Scripta* **47**: 21–32.
- JUNGFER K.-H., FAIVOVICH J., PADIAL J. M., CASTROVIEJO-FISHER S., LYRA M. M., BERNECK B., IGLESIAS P. P., KOK P. J. R., MACCULLOCH R. D., RODRIGUES M. T., VERDADE V. K., TORRES GASTELLO C. P., CHAPARRO J. C.,

- VALDUJO P. H., REICHLÉ S., **MORAVEC J.**, **GVOŽDÍK V.**, GAGLIARDI-URRUTIA G., ERNST R., RIVA I., MEANS D. B., LIMA A. P., SEÑARIS J. C., WHEELER W. C. & HADDAD C. 2013: Systematics of spiny-backed treefrogs (Hylidae: *Osteocephalus*): an Amazonian puzzle. *Zoologica Scripta* **42**: 351–380.
- KINDLER C., BÖHME W., CORTI C., **GVOŽDÍK V.**, JABLONSKI D., JANDZIK D., METALLINO M., ŠIROKÝ P. & FRITZ U. 2013: Mitochondrial phylogeography, contact zones and taxonomy of grass snakes (*Natrix natrix*, *N. megalocephala*). *Zoologica Scripta* **42**: 458–472.
- KORNILIOS P., ILGAZ Ç., KUMLUTAS Y., LYMBERAKIS P., **MORAVEC J.**, SINDACO R., RASTEGAR-POUYANI N., AFROOSHEH M., GIOKAS S., FRAGUEDAKIS-TSOLIS S. & CHONDROPOULOS B. 2012: Neogene climatic oscillations shape the biogeography and evolutionary history of the Eurasian blindsnake. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **62**: 856–873.
- KOTSAKIOZIS P., JABLONSKI D., ILGAZ C., KUMLUTAS Y., AVCI A., MEIRI S., ITESCU Y., KUKUSHKIN O., **GVOŽDÍK V.**, SCILLITANI G., ROUSSOS S. A., JANDZIK D., KASAPIDIS P., LYMBERAKIS P. & POULAKAKIS N. 2018: Multilocus phylogeny and coalescent species delimitation in Kotschy's gecko, *Mediodactylus kotschy*: Hidden diversity and cryptic species. *Molecular Phylogenetics And Evolution* **125**: 177–187.
- KYRIAZI P., POULAKAKIS N., PARMAKELIS A., CROCHET P. A., **MORAVEC J.**, RASTEGAR-POUYANI N., TSIGENOPOULOS C. S., MAGOULAS A., MYLONAS M. & LYMBERAKIS P. 2008: Mitochondrial DNA reveals the genealogical history of the snake-eyed lizards (*Ophisops elegans* and *O. occidentalis*) (Sauria: Lacertidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **49**: 795–805.
- LEHR E., **MORAVEC J.**, CUSI J. C. & **GVOŽDÍK V.** 2017: A new minute species of *Pristimantis* (Amphibia: Anura: Craugastoridae) with a large head from the Yanachaga-Chemillén National Park in central Peru, with comments on the phylogenetic diversity of *Pristimantis* occurring in the Cordillera Yanachaga. *European Journal of Taxonomy* **2017**: 1–22.
- LEHR E., VON MAY R., **MORAVEC J.** & CUSI J. C. 2017: A new species of *Phrynopus* (Amphibia, Anura, Craugastoridae) from upper montane forests and high Andean grasslands of the Pui Pui Protected Forest in central Peru. *ZooKeys* **713**: 131–157.
- LEHR E., VON MAY R., **MORAVEC J.** & CUSI J. C. 2017: Three new species of *Pristimantis* (Amphibia, Anura, Craugastoridae) from upper montane forests and high Andean grasslands of the Pui Pui Protected Forest in central Peru. *Zootaxa* **4299**: 301–336.
- MIKULÍČEK P., JABLONSKI D., PÁLENÍK M., **GVOŽDÍK V.** & JANDZIK D. 2018: Characterization of microsatellite markers in the genera *Anguis* and *Pseudopus* (Reptilia: Anguidae). *Salamandra* **54**: 158–162.
- MORAVEC J.**, APARICIO J., GUERRERO-REINHARD M., CALDERON G., JUNGFER K.-H. & **GVOŽDÍK V.** 2009: A new species of *Osteocephalus* (Anura: Hylidae) from Amazonian Bolivia: first evidence of tree frog breeding in fruit capsules of the Brazil nut tree. *Zootaxa* **2215**: 37–54.
- MORAVEC J.**, KRATOCHVÍL L., AMR Z. S., JANDZIK D., ŠMÍD J. & **GVOŽDÍK V.** 2011: High genetic differentiation within the *Hemidactylus turcicus* complex (Reptilia: Gekkonidae) in the Levant, with comments on the phylogeny and systematics of the genus. *Zootaxa* **2894**: 21–38.
- MORAVEC J.**, LEHR E., CUSI J. C., CORDOVA J. H. & **GVOŽDÍK V.** 2014: A new species of the *Rhinella margaritifera* species group (Anura, Bufonidae) from the montane forest of the Selva Central, Peru. *ZooKeys* **371**: 35–56.
- MORAVEC J.**, ŠMÍD J., ŠTUNDL J. & LEHR E. 2018: Systematics of Neotropical microteiid lizards (Gymnophthalmidae, Cercosaurinae), with the description of a new genus and species from the Andean montane forests. *ZooKeys* **774**: 105–139.
- NAGY Z. T., VAN RIET S., SONET G., GREENBAUM E. B., KUSAMBA C., **GVOŽDÍK V.**, MATTHYSSEN S., BODONGOLA A. & VERHEYEN E. 2015: DNA barcoding Congolese snakes. *Genome* **58**: 260–261.

- PENSKE S., GVOŽDÍK V., MENEGON M., LOADER S. P. & MÜLLER H. 2015: Description of the tadpole of *Leptopelis* cf. *grandiceps* (Amphibia: Anura: Arthroleptidae) from the Uluguru Mountains, Tanzania. *Herpetological Journal* **25**: 61–64.
- ROVATSOS M., VUKIĆ J., ALTMANOVÁ M., JOHNSON POKORNÁ M., MORAVEC J. & KRATOCHVÍL L. 2016: Conservation of sex chromosomes in lacertid lizards. *Molecular Ecology* **25**: 3120–3126.
- ŠMÍD J., CARRANZA S., KRATOCHVÍL L., GVOŽDÍK V., NASHER A. K. & MORAVEC J. 2013: Out of Arabia: A complex biogeographic history of multiple vicariance and dispersal events in the gecko genus *Hemidactylus* (Reptilia: Gekkonidae). *Public Library of Science One* **8**: e64018.
- ŠMÍD J., MORAVEC J., KRATOCHVÍL L., GVOŽDÍK V., NASHER A. K., BUSAIS S., WILMS T., SHOBRAC M. & CARRANZA S. 2013: Two newly recognized species of *Hemidactylus* (Squamata, Gekkonidae) from the Arabian Peninsula and Sinai, Egypt. *ZooKeys* **355**: 79–107.
- ŠMÍD J., MARTÍNEZ G., GEBHART J., AZNAR J., GÁLLEGO J., GÖÇMEN B., DE POUS P., TAMAR K. & CARRANZA S. 2015: Phylogeny of the genus *Rhynchocalamus* (Reptilia: Colubridae) with a first record from the Sultanate of Oman. *Zootaxa* **4033**: 380–392.
- ŠMÍD J., MORAVEC J., KRATOCHVÍL L., NASHER A. K., MAZUCH T., GVOŽDÍK V. & CARRANZA S. 2015: Multilocus phylogeny and taxonomic revision of the *Hemidactylus robustus* species group (Reptilia, Gekkonidae) with descriptions of three new species from Yemen and Ethiopia. *Systematics and Biodiversity* **13**: 346–368.
- ŠMÍD J., MORAVEC J., ZAWADZKI M. & VAN DEN BERG M. 2015: One subspecies less for the European herpetofauna: the taxonomic and nomenclatural status of *Hemidactylus turcicus spinalis* (Reptilia: Gekkonidae). *Zootaxa* **3911**: 443–446.
- ŠMÍD J., SHOBRAC M., WILMS T., JOGER U. & CARRANZA S. 2017: Endemic diversification in the mountains: genetic, morphological, and geographical differentiation of the *Hemidactylus* geckos in southwestern Arabia. *Organisms Diversity & Evolution* **17** (1): 267–285.
- ŠMÍD J., GÖÇMEN B., CROCHET P.-A., TRAPE J.-F., MAZUCH T., UVIZL M. & NAGY Z. 2019: Ancient diversification, biogeography, and the role of climatic niche evolution in the Old World cat snakes (Colubridae, *Telescopus*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **134**: 35–49.
- TAMAR K., CARRANZA S., SINDACO R., MORAVEC J. & MEIRI S. 2014: Systematics and phylogeography of *Acanthodactylus schreiberi* and its relationships with *Acanthodactylus boskianus* (Reptilia: Squamata: Lacertidae). *Zoological Journal of the Linnean Society* **172**: 720–739.
- TAMAR K., CARRANZA S., IN DEN BOSCH H., SINDACO R., MORAVEC J. & MEIRI S. 2015: Hidden relationships and genetic diversity: Molecular phylogeny and phylogeography of the Levantine lizards of the genus *Phoenicolacerta* (Squamata: Lacertidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **91**: 86–97.
- TAMAR K., CARRANZA S., SINDACO R., MORAVEC J., TRAPE J.-F. & MEIRI S. 2016: Out of Africa: phylogeny and biogeography of the widespread genus *Acanthodactylus* (Reptilia: Lacertidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **103**: 6–18.
- ZIMKUS B. M. & GVOŽDÍK V. 2013: Sky Islands of the Cameroon Volcanic Line: a diversification hot spot for puddle frogs (Phrynobatrachidae: *Phrynobatrachus*). *Zoologica Scripta* **42**: 591–611.
- ZIMKUS B. M., LAWSON L. P., BAREJ M. F., BARRATT C. D., CHANNING A., DASH K. M., DEHLING J. M., DU PREEZ L., GEHRING P.-S., GREENBAUM E., GVOŽDÍK V., HARVEY J., KIELGAST J., KUSAMBA C., NAGY Z. T., PABIJAN M., PENNER J., RÖDEL M.-O., VENCES M. & LÖTTERS S. 2017: Leapfrogging into new territory: How Mascarene ridged frogs diversified across Africa and Madagascar to maintain their ecological niche. *Molecular Phylogenetics And Evolution* **106**: 254–269.

Referát mammaliologie

S několika málo výjimkami se molekulárně fylogenetický a taxonomický výzkum v rámci mammaliologického referátu vždy týkal netopýrů. Poznání druhové bohatosti netopýrů, stejně jako ostatních organismů, prodělává v posledních třech dekádách extrémní rozvoj. S rutinním zavedením analýz molekulárních dat, které následovalo jen krátce po zavedení počítačově zpracovávané statistiky dat morfologických, došlo k odhalení skrytých forem v mnoha netopýřích taxonech, o jejichž „úplnosti“ a „vyčerpanosti“ nepanovaly žádné pochyby. To například dokládá pokrok zaznamenaný v Evropě a západní Palearktidě vůbec, kde lze považovat faunu netopýrů a její různorodost za jednu z nejprozkoumanějších na světě. Zatímco před 20 lety bylo ze západní Palearktidy uváděno 74 známých druhů netopýrů ve 24 rodech a 8 čeledích (HORÁČEK et al. 2000), dnes je známo (na základě publikovaných údajů) ze stejné oblasti – ať již formálně popsanych, či v několika případech dosud taxonomicky nevypořádaných – 111 druhů ve 30 rodech a 9 čeledích. V případě počtu uznávaných druhů to představuje nárůst o rovných 50 %. Část této netušené a překvapivě vysoké rozmanitosti byla odhalena i za přispění výzkumů v Národním muzeu v Praze.

Několik menších projektů směřovalo k popisu či ověření areálu rozšíření nově objevených druhů netopýrů, a to jak na území České republiky, tak v dalších zemích. Tedy druhů, které ve své době zůstávaly známy jen podle několika jedinců a jejichž areál výskytu byl neznámý a jeho rozsah jen tušený. To především platí pro dva druhy netopýrů, které byly objeveny v Evropě na přelomu století, netopýra Alkathoe (*Myotis alcathoe*) a netopýra nejmenšího (*Pipistrellus pygmaeus*). I tyto dvě původně jednoduché „mapovací“ akce postupně přerostly v širší výzkumné projekty, které byly nakonec završeny popisy nových druhů.

Mimo tyto dvě problematiky, týkající se svým záběrem i české fauny, byly ovšem v Národním muzeu řešeny v posledních zhruba patnácti letech i molekulárně fylogenetické studie a taxonomické revize, při nichž byly genetické metody uplatněny ať už jako primární výzkumný přístup, tedy jeden ze dvou nezávislých typů evidence údajů pro hodnocení vztahů ve studovaných skupinách, anebo jako výzkumný přístup, který jen potvrzoval a dovršoval detailní morfologický výzkum. V následujících odstavcích přinášíme nikoliv vyčerpávající přehled, ale jen podstatné či zajímavé příklady tohoto výzkumu a jeho výsledků, ukazující záběr a směřování molekulárně fylogenetického a taxonomického studia savců v Národním muzeu.

Netopýr Alkathoe (*Myotis alcathoe*) je netopýr morfologicky velmi blízký netopýru vousatému (*Myotis mystacinus*), běžnému evropskému druhu, který se v mnoha znacích podobá i netopýru Brandtovu (*Myotis brandtii*). Tyto tři druhy, fylogeneticky nepříbuzné, ale morfologicky velmi podobné, jsou dnes technicky řazeny do tzv. morfoskupiny *Myotis mystacinus* (BENDA & KARATAŞ 2005), ve které je určení druhu s jistotou možné jen s pomocí velmi detailního morfologického srovnání různých znaků, včetně jemných znaků na lebce a zubech, anebo s použitím genetické analýzy, jež je tak mnohem méně invazivní metodou. Z netopýrů lze totiž výhodně získat genetický vzorek z 2–3 mm velkého terčíku křidelní blány, jenž nezpůsobí žádné poranění, netopýra neomezuje a velmi rychle se zahojí.

Netopýr Alkathoe byl popsán na základě jedinců sebraných v Řecku a Maďarsku (VON HELVERSEN et al. 2001), jeho širší výskyt byl tedy předpokládán v dalších částech jihovýchodní Evropy, nejasný ovšem zůstával jeho další areál. Vzhledem k jeho nálezům v listnatých lesích nižších poloh se soudilo, že by snad mohl být nalezen v biotopově odpovídajících oblastech evropského Středomoří, zejména v jeho východních částech. V jiných partiích Evropy či přilehlých oblastech západní Palearktidy však o jeho výskytu nepanovaly žádné představy. Vzhledem k jen nepatrným morfologickým odlišnostem nebylo

zpočátku předem možné definovat netopýra Alkathoe, a jeho určení tak zůstávalo plně na genetické analýze. Postupně, jak přibývalo ve sbírkách geneticky definovaných jedinců tohoto druhu, počala být teprve zřejmá i jeho definice morfologická.

Netopýr Alkathoe je dnes už znám z velké části mírného pásu Evropy, z areálu od Velké Británie a Španělska po jižní Švédsko a Balkánský poloostrov (DIETZ et al. 2016). Ovšem tento obraz byl skládán postupnými kroky více než desetiletí. Mimo země původu jeho typové série, tzn. Řecka a Maďarska, byl tento netopýr poprvé dokumentován ve Francii (RUEDI et al. 2002) a hned poté, na základě genetického studia materiálu jedinců ze sbírky Národního muzea v Praze, na Slovensku (BENDA et al. 2003a). Ačkoliv tento údaj mírně rozšířil známý areál rozšíření tohoto druhu na sever, nejednalo se o příliš překvapivý nález, neboť pocházel z dubových lesů Cerové vrchoviny, oblasti geograficky a hlavně ekologicky velmi blízké maďarským lokalitám v Bukových horách (VON HELVERSEN et al. 2001). V následujícím roce bylo hlášeno potvrzení výskytu netopýra Alkathoe ve Španělsku, Švýcarsku a Bulharsku (AGIRRE-MENDI et al. 2004; SCHUNGER et al. 2004; STADELMANN et al. 2004) a areál jeho rozšíření v Evropě postupně získával jasnou hranici. Jako v jedné z posledních evropských zemí byl netopýr Alkathoe potvrzen na Ukrajině, tentokrát opět s přispěním výzkumu v Národním muzeu (BASHTA et al. 2010).

Samostatnou kapitolu představuje pak definitivní potvrzení výskytu netopýra Alkathoe v České republice (LUČAN et al. 2009). Na jeho počátku také stálo molekulárně taxonomické určení vzorků z podezřelých jedinců pocházejících z několika míst středních Čech a střední a jižní Moravy. Výsledek – existence netopýra Alkathoe na devíti lokalitách středoevropského státu, v jehož okolí byl již tento druh znám – byl však ve své době už natolik triviální, že byl publikován až později, obohacený o ekologické údaje (biotopové lovecké a úkrytové preference, složení potravy) a také o údaje o genetické rozmanitosti. V práci bylo konstatováno, že druh v Evropě vytváří dvě poměrně hluboce oddělené linie v rámci mitochondriálního genomu (představující rozdíl až 2 % genetické vzdálenosti), které však v některých částech kontinentu, včetně Česka, žijí pospolu bez dělicího vlivu na dotyčné populace, a tudíž se nejedná o zvláštní taxony.

Ovšem vymezením evropského areálu rozšíření netopýra Alkathoe genetické studium této skupiny netopýrů v Národním muzeu neskončilo. V rámci revize netopýrů morfoskupiny *Myotis mystacinus* z Íránu (BENDA et al. 2012) byl za pomoci molekulárně fylogenetické analýzy objeven nový druh netopýra, sesterský evropskému netopýrovi Alkathoe (s genetickou vzdáleností 9,6–10,4 % na mitochondriálním genu pro cytochrom b), pojmenovaný jako netopýr hyrkánský (*Myotis hyrcanicus*). Obývá totiž listnaté lesy hyrkánské oblasti na severu Íránu, na severních svazích hor podél jižního pobřeží Kaspického moře. Další navazující výzkum této skupiny proběhl na Kavkaze (BENDA et al. 2016), kde byla objevena unikátní endemická populace netopýra Alkathoe, představující samostatnou fylogenetickou linii vzdálenou 4,6–5,2 % genetické vzdálenosti na stejném mitochondriálním genu a interpretovanou jako poddruh zmíněného druhu, neboť celkem výrazné genetické odlišení nebylo podpořeno odpovídajícím morfologickým rozdílem. Této populaci bylo dáno jméno netopýr čerkeský (*Myotis alcathoe circassicus*) podle oblasti sběru typové série. Tento poddruh byl doložen v západní části kavkazské oblasti, v Adygeji, Krasnodarské oblasti, Severní Osetii a v severovýchodním Turecku a nahrazuje zde tak formu evropské nominotypické populace. Obě tyto orientální formy, netopýr čerkeský i netopýr hyrkánský, jsou morfologicky neodlišitelné od evropských populací netopýra Alkathoe a jejich taxonomická vymezení, tedy pozice poddruhu a pozice sesterského druhu, byla možná jen s pomocí analýzy molekulárních dat. Ta jediná byla schopna určit, zda se jedná o poddruh, o samostatný druh či o populaci evropského nominotypického druhu.

Netopýří skupina druhu netopýra hvízdavého (*Pipistrellus pipistrellus*), do které patří i netopýr nejmenší (*Pipistrellus pygmaeus*), je široce rozšířena v západní části Eurasie a ve středomořské části severní Afriky. Jedná se o jednu z nejběžnějších netopýrů většiny prostředí s výjimkou výrazně suchých oblastí a severské tajgy a tundry. Několik studií již v první polovině 90. let dvacátého století ukázalo, že skupina by mohla být tvořena dvěma druhy, neboť v pospolitém výskytu byly dokumentovány dvě zvukové formy, lišící se koncovými frekvencemi svých echolokačních hlasů o rozdílu zhruba 10 kHz. Později bylo zjištěno, že se tyto formy liší i ekologicky, nepatrně morfologicky a ovšem významně geneticky. Posledním zmíněným znakem byla existence obou druhů potvrzena, vedle netopýra hvízdavého byl stanoven další druh, pro nějž vhodné jméno, *P. pygmaeus*, již existovalo v synonymice skupiny. Vzhledem k ne zcela detailně poznané geografické proměnlivosti jednotlivých typů znaků stále zůstává nejspolehlivější určovací metodou analýza DNA (HULVA et al. 2004; KAŇUCH et al. 2007), ačkoliv ve většině Evropy lze tento druh již spolehlivě odlišit od netopýra hvízdavého podle několika vnějších znaků.

V rámci zpřesňování areálů rozšíření a studia geografické proměnlivosti nově vymezených forem skupiny *P. pipistrellus*, tzn. netopýra hvízdavého *sensu stricto* a netopýra nejmenšího, byly zkoumány populace obývající různé části Středomoří, mimo jiné také Levantu a severní Afriku. V Levantě byl nalezen pouze netopýr hvízdavý, poprvé byla tato skutečnost potvrzena molekulární analýzou netopýrů ze sbírky Národního muzea pocházející ze Sýrie (BENDA et al. 2003b), později bylo toto určení potvrzeno i analýzou vzorků sebraných v Libanonu, Jordánsku a asijském Turecku (HULVA et al. 2007a; BENDA et al. 2010). V jižní části Blízkého východu tak nikdy nebyl nalezen netopýr nejmenší (s výjimkou speciální situace na Kypru). Současně byl také zaznamenán genetickou analýzou kusů ze sbírek Národního muzea výskyt netopýra nejmenšího v Turecku, ovšem jednalo se o nález v evropské části země, což vzhledem k již známému rozšíření v jiných balkánských státech nebylo překvapivé (BENDA et al. 2003b).

Na Kypru byl ovšem zaznamenán pouze výskyt netopýra nejmenšího (BENDA et al. 2007). Jednalo se tak o populaci značně izolovanou, a to jednak svým výskytem na ostrově a jednak výraznou geografickou vzdáleností od ostatních populací druhu, známých nejbližší na Balkánském poloostrově a na severním Kavkazu. Detailnější genetickou a morfologickou analýzou bylo ukázáno, že tato populace je vzdálená i fylogeneticky od všech ostatních populací druhu a zasluhuje vymezení jako samostatný poddruh netopýra nejmenšího, jenž byl nazván netopýr kyperský (*Pipistrellus pygmaeus cyprius*).

Zajímavé výsledky také přinesla analýza – jak molekulárně fylogenetická, tak i morfologická – populací skupiny *Pipistrellus pipistrellus* severní Afriky (BENDA et al. 2004; HULVA et al. 2004). Tou bylo zjištěno, že oblasti se středomořským klimatem a vegetací, jež reprezentují dvě území oddělená více než 1000 km pouštních území podél Velké Syrty v Libyi, jsou obývaná dvěma nepřibuznými populacemi, a navíc tyto populace jsou pro daná území výlučné. Zatímco Maghreb je od Maroka po Tunisko osídlen pouze populací, která se morfologicky a geneticky velmi blíží evropským populacím netopýra hvízdavého (a je jako tento druh hodnocena), zeměpisně velmi omezené území Kyrenaiky v severovýchodní Libyi je osídleno populací, která je fylogeneticky sesterská evropskému netopýru nejmenšímu (genetická vzdálenost činila 6–7 %), avšak morfologicky – ve velikosti těla, tvaru lebky a ve znacích na jednohrotých zubech – se zcela vymyká situacím známým z jiných populací celé druhové skupiny (BENDA et al. 2004). Kyrénská populace tak zcela nepochybně představuje samostatný druh, pro nějž navíc nebylo k dispozici jméno v synonymice skupiny, a proto byl druh popsán jako netopýr kyrénský (*P. hanaki*). Tento druh byl později překvapivě nalezen ještě na Krétě (což je oblast středomořských biotopů geograficky nejbližší Kyrenaice). Krétská populace však jevila morfologické i genetické rozdíly (BENDA et al. 2009a), a byla tedy popsána jako samostatný poddruh, netopýr krétský (*Pipistrellus hanaki creticus*).

Analýza afrických a východomediteránních populací (včetně ostrovních) netopýrů skupiny *P. pipistrellus* tedy ukázala obraz odlišný od situace známé v Evropě, kde se vyskytují dva druhy v široké zóně společného výskytu, totiž mozaiku monotypických, geograficky oddělených populací, z nichž některé se ukázaly být do té míry odlišné, že představují samostatné taxony.

Čeleď víkonosů (Rhinopomatidae) zahrnuje jediný rod *Rhinopoma* obývající pouštní oblasti jižní Palearktidy, východní Afriky a západní Asie, a jehož všichni příslušníci jsou si velice podobní. Mají typický malý nosní lístek či „víčko“. Až do počátku 20. století byli chápáni jako jediný, byť variabilní druh *R. microphyllum*. Poslední taxonomická revize čeledi, založená na morfometrickém srovnání (VAN CAKENBERGHE & DE VREE 1994), rozlišila v tomto rodě čtyři druhy, víkonosa velkého (*R. microphyllum*), víkonosa indického (*R. hardwickii*), víkonosa arabského (*R. muscatellum*) a víkonosa východoafrického (*R. macinnesi*), což bylo následně obecně uznáváno (SIMMONS 2005). S výjimkou posledního druhu, omezeného rozšířením na suché oblasti východní Afriky, se areály všech druhů stýkají v jihovýchodní části Blízkého východu. Na jihu arabského poloostrova se však plošně vyskytuje jediný druh, dnes označován jako víkonos africký (*R. cystops*). Před nedávnem ale KOCK et al. (2001) popsali nález několika kusů dalšího druhu v jihovýchodním Jemenu, které označili jako víkonosa arabského, tedy druh, jenž byl dosud znám jen ze severovýchodního Ománu a jižního Íránu a Pákistánu. Přestože tyto jedinci byli mírně větší než příslušníci nominotypického poddruhu z Ománu, KOCK et al. (2001) je označili jako *R. m. muscatellum*, poněvčí ze zeměpisných důvodů. Avšak molekulárně fylogenetická analýza, která vůbec poprvé zkoumala netopýry této čeledi (HULVA et al. 2007b), porovnávala dílčí sekvence jedinců pocházejících z různých částí Blízkého východu a mezi jiným rozlišila dvě sublinie v rámci druhu *R. muscatellum*. Šlo o sublinii z Íránu, která morfologicky odpovídala nominotypické formě z Ománu (VAN CAKENBERGHE & DE VREE 1994), a dále sublinii z pobřeží Hadramautu v Jemenu, která pocházela z jedinců popsaných KOCKEM et al. (2001) také jako příslušníků nominotypické formy. Jelikož tyto dvě sublinie byly vzájemně geneticky dosti vzdálené (8,2–9,0 %), a tím více od ostatních linií rodu – tj. *R. microphyllum* a *R. hardwickii* s. l. (11,9–15,3 %), HULVA et al. (2007b) navrhli považovat jemenskou sublinii za samostatný druh a nikoli za součást druhu *R. muscatellum*, jak soudili KOCK et al. (2001). Mimoto, HULVA et al. (2007b) také navrhli rozdělit druhový status *R. hardwickii* (s. l., tj. sensu VAN CAKENBERGHE & DE VREE 1994) na druhy dva, afroarabský *R. cystops* a íránoindický *R. hardwickii* s. str., mezi nimiž našli významnou genetickou vzdálenost 8,2–9,2 %.

Během expedice do Jemenu v říjnu 2007 byla pro Národní muzeum cíleně vzorkována série jedinců rodu *Rhinopoma* z kolonie v Aš Šeheru, z níž pocházeli i jedinci publikovaní KOCKEM et al. (2001) a HULVOU et al. (2007b). Tento materiál umožnil morfologicky definovat dotyčnou populaci a ověřit její taxonomický status (BENDA et al. 2009b). U hadramautských netopýrů byly zjištěny unikátní morfologické znaky: relativně krátký ocas; extrémně vyduť nosní výduť neobvyklého tvaru kosočtverce (v dorzálním pohledu), relativně největší v celém rodě *Rhinopoma*, přerušené velmi úzkým pruhem nosní kosti; ve zbarvení dospělých jedinců byl překvapivě přítomný žlutavý límec na hrdle a horní části hrudi, znak neznámý u jiných druhů rodu; relativně malé bubínkové výduť; malá relativní délka rostra ve srovnání s *R. muscatellum*.

V souhrnu, hadramautští netopýři připomínali řadou svých znaků skutečně *R. muscatellum*, jak uvedli KOCK et al. (2001), což nakonec odpovídá tomu, že populace tvoří sublinii v linii *muscatellum* (sensu HULVA et al. 2007b). Na druhou stranu, hadramautská populace slyne jedinečnou kombinací znaků, včetně metrických, které podpořily předešlé mínění HULVY et al. (2007b) o vymezení populace jako samostatného druhu. Jelikož nebylo k dispozici žádné jméno v synonymice rodu pro dotyčnou

populaci, byla popsána jako víkonos jemenský (*R. hadramauticum*). Vzhledem k unikátní morfologické jednotě v rámci rodu *Rhinopoma* se analýza molekulárních dat ukázala jediným objektivizujícím nástrojem pro revizi taxonomie celé čeledi. V budoucnu není vyloučeno, že po náležitém plošném shromáždění vzorků z celého areálu čeledi může být vymezena některá další populace rodu jako samostatný taxon.

Pavrápenci rodu *Asellia* jsou typičtí úpravou nosního lístku, jenž má tři krátké zahrocené výběžky na svém horním okraji a dva postranní lístečky po obou stranách hlavního lístku (tzv. podkovy). Tento rod je saharno-sindským faunovým prvkem obývajícím pouště a suché stepi severní a severovýchodní Afriky a jihozápadní Asie. V rodě byly dlouhodobě rozlišovány dva druhy, velký pavrápenec trojzubcový (*A. tridens*) a drobný pavrápenec eritrejský (*A. patrizii*) (SIMMONS 2005). Menší druh byl považován za monotypický, žijící na omezeném území severovýchodní Etiopie, Eritreje a několika rudomořských ostrovů, zatímco větší druh za polytypický a obývajícím ve dvou až pěti poddruzích rozsáhlý areál od Senegalu po Pákistán. S výjimkou DE BEAUXE (1931), jenž se zabýval taxonomickou situací rodu a popsal dvě formy z Eritreje a Somálska, se všechny studie orientovaly jen na geografickou různorodost *A. tridens*. Většina autorů se shodovala na existenci dvou či tří poddruhů tohoto druhu, všichni přitom poukazovali na tělesnou a lebeční velikost jakožto ústřední kritéria odlišující jednotlivé formy. Za nejmenšího zástupce rodu byl považován druh *A. patrizii*, za středně velkou formu *A. t. tridens* a za největší *A. t. murraiana* (viz přehledy KOCK 1969; BENDA et al. 2006). Zatímco se však většina autorů shodla na taxonomické příslušnosti populací rodu žijících v Horním Egyptě a severní části Blízkého východu, neshodla se již na příslušnosti populací obývajících více než polovinu areálu rozšíření rodu, tedy jižní Arábii, Africký roh, západní Afriku či Maghreb. Z tohoto důvodu byla provedena standardní taxonomická revize rodu (BENDA et al. 2011) mísící výsledky přístupu morfologického a molekulárně fylogenetického. Morfologicky bylo vyšetřeno zhruba 370 jedinců z celého jeho areálu, reprezentativní část z nich byla podrobena genetickému srovnání.

Výsledky této podrobné analýzy ukázaly, že koncepce dvou druhů v rodě *Asellia*, monotypického *A. patrizii* a polytypického *A. tridens*, není podporována ani morfologicky, ani geneticky. Morfologická analýza oddělila čtyři základní morfotypy lišící se velikostí těla a velikostí i tvarem lebky a penisové kosti. Jedinečnost těchto tří morfotypů byla podpořena výsledky molekulárně fylogenetické analýzy (ze čtvrtého morfotypu se nepodařilo získat analyzovatelné sekvence), což ukazuje, že nejméně tři tyto populační soubory představují samostatné evoluční jednotky. Čtvrtý morfotyp z Eritreje a Etiopie nebyl sice geneticky vyšetřen, ovšem zcela jasně představuje odlišný druh, *A. patrizii*. Jeho opodstatnění formálně potvrzuje jeho společný výskyt s dalším morfotypem stejně jako velký velikostní rozdíl od ostatních morfotypů (které se vzájemně alespoň trochu překrývají svými metrickými parametry), a ostatně také převládající názor předcházejících autorů. Zbývající tři morfotypy/genetické linie nepochybně představují také samostatné druhy. Nejvíce rozšířený a také nejvíce rozmanitý, největší morfotyp, vyskytující se podél celého jižního eremiálního okraje Palearktidy, představuje typový druh rodu *A. tridens*. Zatímco morfologické srovnání nenaznačilo žádný výrazný trend v rámci celého areálu, který by opodstatnil dělení na nižší než druhové úrovni, genetické znaky naznačily existenci čtyř sublinií v rámci celého druhu, lišících se 2,1–3,4 % genetické vzdálenosti. Dvě dvojice těchto sublinií, související se zeměpisným původem (Afrika vs. Asie), naznačují možné dělení na dva základní poddruhy, africký *A. t. tridens* a asijský *A. t. murraiana*. Středně velký morfotyp rodu *Asellia* byl nalezen na Sokotře a v Somálsku, v rámci srovnávaných sekvencí rodu byl nejvzdálenější, lišil se 12,3–13,7 % genetické vzdálenosti. Při popisu druhu z jižního Somálska bylo použito jméno *italosomalia* (pavrápenec somálský), které je použitelné pro druh tohoto morfotypu/linie (typová série byla součástí studovaného materiálu). Jiný

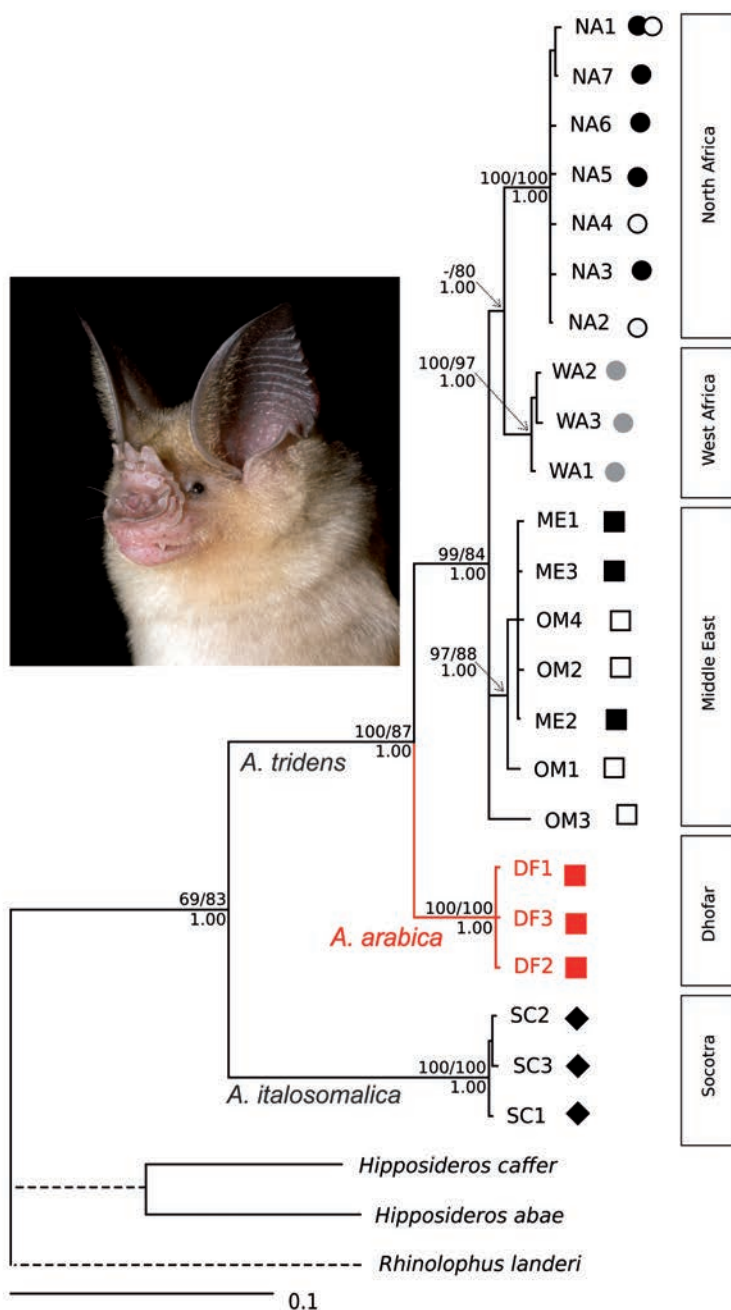
středně velký morfotyp, velikostí podobný *A. italosomalica*, lišící se však od tohoto druhu tvarem lebky a penisové kosti, byl zjištěn na jedincích z jihovýchodního Jemenu a jihozápadního Ománu. Geneticky je tento morfotyp/linie vzdálen 5,3–5,8 % genetické vzdálenosti od *A. tridens* s. str. a 12,4–12,8 % od sokotránské populace *A. italosomalica*. Vzhledem k morfologickým a genetickým rozdílům a také vzhledem k zeměpisným souvislostem (populace žije odděleně od *A. tridens* v jižním Ománu) morfotyp zjevně reprezentuje samostatný druh. Jelikož pro dotýčnou populaci neexistovalo použitelné jméno v synonymice rodu, byla popsána jako nový druh, pavrápenec arabský (*A. arabica*).

BRAY & BENDA (2016) doplnili tento obraz ještě drobnou analýzou vzorků pavrápence trojzubcového (*Asellia tridens*) z afro-arabského pomezí a ukázali přítomnost afrických haplotypů v západní části Saúdské Arábie. To ukazuje na rozptýlený a nikoliv ostrý geografický přechod mezi příslušníky či populacemi jednotlivých linií, neboť předtím byla Velká příkopová propadlina (resp. Rudé moře) považována za historickou hranici šíření linií/poddruhů v rámci tohoto druhu. Ta však byla zjevně některými jedinci či populacemi překonána (to se navíc ukázalo obecnějším jevem, přítomným i v jiných skupinách netopýrů, např. u víkonosů či kaloňů).

Taxonomie rodu *Asellia* se ukázala být složitější, než bylo souzeno předcházejícími autory (jak shrnula SIMMONS 2005). Namísto dvou rozlišovaných druhů byla v rodě navržena existence čtyř druhů, ovšem největší část areálu druhu obývá jediný druh, největší morfotyp pavrápence trojzubcového (*A. tridens*), zatímco trojice menších druhů, pavrápenec eritrejský (*A. patrizii*), pavrápenec somálský (*A. italosomalica*) a pavrápenec arabský (*A. arabica*), obývající sousedící oblasti geograficky velmi omezených areálů na afro-arabském pomezí. Komplexní studie s využitím kombinace dvou metodických přístupů velmi robustně revidovala dlouho udržovaný názor, a přepsala tak na pouhé morfologii založenou představu o taxonomickém uspořádání rodu.

Pustinní ušani (rod *Otonycteris*) jsou velcí a velkouší netopýři, náležející k saharno-sínským faunovým prvkům, obývajícím suché a polopouštní oblasti střední a jihozápadní části Palearktidy. Původně byl v rodě rozlišován jen jeden druh, ušan pustinný (*Otonycteris hemprichii*), v němž však bylo většinou rozlišováno několik poddruhů (SIMMONS 2005). Na druhou stranu, někteří autoři, např. KOCK (1969), nebyli schopni vymezit žádný poddruh v druhovém ranku *O. hemprichii*. HORÁČEK (1991) provedl dílčí morfometrickou analýzu geografické proměnlivosti tohoto druhu a našel evidenci spíše pro klinální variabilitu (postupnou změnu znaků podél zeměpisné osy) než pro přímé dělení do několika taxonů a navrhl nerozlišovat poddruhy v rámci druhu, což bylo následně akceptováno (SIMMONS 2005). BENDA et al. (2006) však provedli jednoduché srovnání souboru jedinců ušana pustinného z většiny areálu od severní Afriky po Blízký východ a vyšetřené jedince rozdělili do dvou skupin: (1) netopýři s malou lebkou, relativně dlouhým rostrem a relativně širokou mozkovnou ze severní Afriky a Levanty a (2) netopýři s velkou lebkou, ale s relativně krátkým rostrem a relativně úzkou mozkovnou, pocházející z Íránu. Existence těchto morfotypů spíše potvrzovala představu o kategoriálním dělení populací druhu *O. hemprichii* než jasnou klinální variabilitu. Z tohoto důvodu byla provedena zevrubná taxonomická revize rodu *Otonycteris* za využití jak morfologické, tak i molekulárně fylogenetické analýzy (BENDA & GVOŽDÍK 2010).

Tato revize přinesla ještě o něco překvapivější výsledky než jen podporu kategoriální variability druhu *O. hemprichii*, kterou by bylo vhodné řešit taxonomicky (BENDA et al. 2006). Výsledky analýzy DNA sekvencí jasně vymezily dvě skupiny populací, které se dále výrazně odlišovaly jak v morfologických znacích (tvar lebky, velikost bubínkových výdutí a tvar a velikost penisové kosti), tak především v mitochondriálním genomu – genetická vzdálenost mezi morfotypy činila 11,9–13,2 % u sekvencí mitochondriálního genu pro cytochrom b a genu pro ND1. Tyto skupiny, reprezentující velmi dobře oddě-



↑ Fylogenetický strom znázorňující příbuzenské vztahy u pavorpenců rodu *Asellia*. Jedinci v červeně vyznačené větvi byli zařazeni do nově popsáného druhu *A. arabica* (na fotografii). Převzato a upraveno se svolením z práce BENDA et al. (2011).

lené evoluční jednotky, jasně představují samostatné druhy. Populace severní Afriky a Blízkého východu zjevně náležejí klasickému druhu ušana pustinného (*O. hemprichii*), zatímco populace západního Turkestánu (včetně okrajů karakumské pouště v Íránu), Afghánistánu a Kašmíru náležejí druhu ušana středoasijského (*O. leucophaea*).

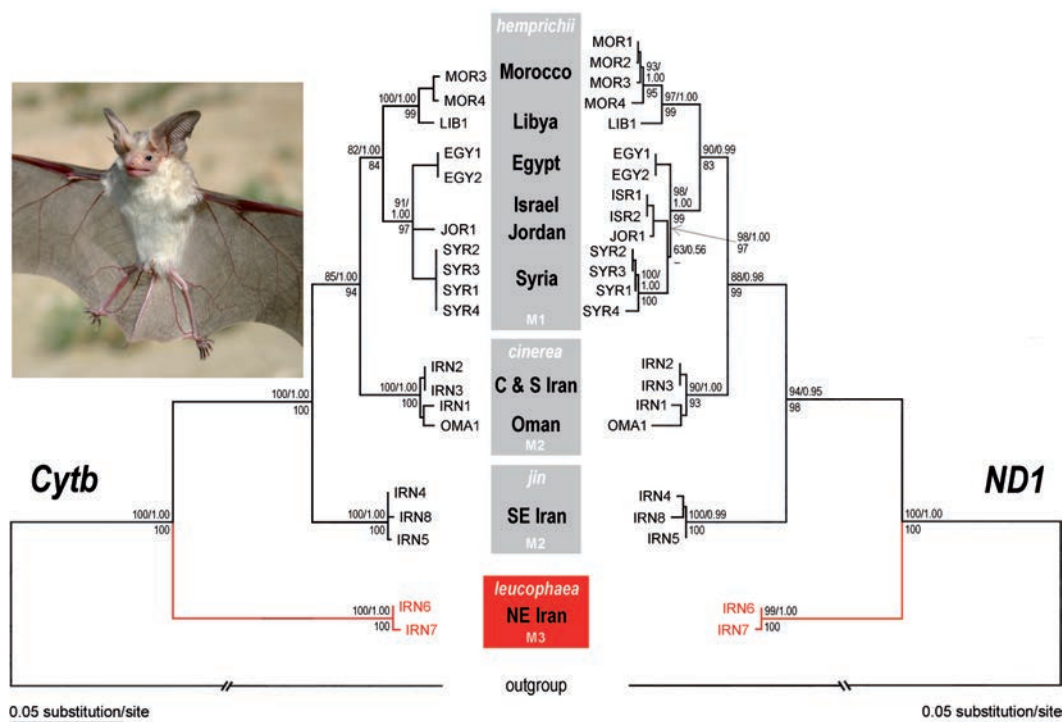
Ovšem poměrně velké genetické a morfologické rozdíly byly zjištěny i v rámci rozsáhlého areálu nově vymezeného druhu *O. hemprichii* s. str. Severoafrické a levantinské populace náležejí morfologicky shodnému typu a spadají do monofyletické linie, zatímco populace z východní části Blízkého východu (Írán, Arábie) náležejí odlišnému morfotypu, který se navíc dělí do dvou odlišných linií. V rámci tohoto druhu byly tudíž objeveny celkem tři evoluční jednotky, které je záhodno hodnotit jako tři samostatné poddruhy.

Forma obývající pás suchých území podél jižního a východního pobřeží Středozemního moře od Maroka po Mezopotámii je morfologicky jasně vymezená a geograficky nejrozšířenější. Netopýři této formy jsou nejmenší a mají relativně široké mozkovny a rostra v rámci srovnávaných populací. Genetická vzdálenost odlišující tyto populace od všech zbývajících je větší než 4 %. Nejstarším jménem připadajícím v úvahu pro tyto populace je *Otonycteris hemprichii*. Dotyčné populace, přestože nejednoznačnější, představují nominotypický poddruh.

Dvě blízkovýchodní formy shodného morfotypu, o velké tělesné velikosti, lebkách s relativně úzkými mozkovnami a rostry, byly nalezeny v Íránu a východní Arábii. Geneticky jsou tyto sublinie velmi vzdálené jak vzájemně (6,1–7,2 %), tak i od nominotypického poddruhu žijícího západně. I když materiál, který je k dispozici z těchto území, je početně velmi omezený, dostupná zjištění činí dojem, že obě formy/sublinie jsou rozšířeny v rámci oddělených blízkých areálů anebo v omezené míře pospolitě, v oblasti ústí Perského zálivu. Jedna sublinie byla dokumentována v horách středního a jižního Íránu a také poněkud překvapivě v horách severovýchodního Ománu. Kromě posledního geografického výběžku do Ománu areál pokrývá dvě náhorní pouště (Dašt Kavir a Dašt Lut) obklopené hřebeny Íránské vysočiny. Z tohoto území byl popsán horský taxon, pro který bylo nalezeno použitelné jméno *cinereus*. Netopýr byl tedy popsán jako *O. hemprichii cinerea*. Tato forma se zdá být endemická pro horské systémy východních území Blízkého východu, jak v Íránu, tak v Arábii.

Druhá genetická sublinie byla doložena z níže položených oblastí při pobřeží Ománského zálivu. Tito jedinci jsou morfologicky blízcí souboru jedinců z nížinných pouští východu Saúdské Arábie, který je tvořen mj. typovou sérií *Otonycteris jin*. BENDA & GVOŽDÍK (2010) tedy předběžně navrhli považovat nížinnou populaci Arábie a jižního Íránu za poddruh *O. h. jin*. Jelikož však tato předpokládaně nížinná pouštní forma byla nalezena v blízkém sousedství (vzdálena ca. 150 km v jihovýchodním Íránu) s horskou formou *O. h. cinerea*, od které se významně liší geneticky, nemůže být vyloučen ani status samostatného druhu *O. jin*.

Pro potvrzení či vyvrácení poslední možnosti je třeba získat a analyzovat mnohem rozsáhlejší materiál, než který byl k dispozici pro analýzu publikovanou dříve (BENDA & GVOŽDÍK 2010). Na druhou stranu taxonomická pozice populací, které žijí mimo blízkovýchodní centrum rozmanitosti rodu *Otonycteris*, tj. *O. h. hemprichii* v Africe a Levantě a *O. leucophaea* v Západním Turkestánu a navazujících územích, se jeví na základě výsledků jasná a obtížně zpochybnitelná. Každopádně situace rodu *Otonycteris* východní části Blízkého východu se ukázala být řešitelnou pouze s pomocí analýzy molekulárních dat mnohem většího počtu vzorků, než se dosud podařilo shromáždit.



↑ Phylogenetické stromy vykreslující příbuzenské vztahy ušánů rodu *Otomycteris*. Nově popsáný druh *O. leucophaea* (na fotografii) byl výrazně oddělen (červené větve), jak při použití úseku genu pro cytochrom b, tak i při využití sekvencí genu pro ND1. Převzato a upraveno se svolením z práce BENDA & GVOŽDÍK (2010).

Použitá literatura včetně vybraných prací mammaliologického referátu

- AGIRRE-MENDI P. T., GARCÍA-MUDARRA J. L., JUSTE J. & IBÁÑEZ C. 2004: Presence of *Myotis alcathoe* Helversen & Heller, 2001 (Chiroptera: Vespertilionidae) in the Iberian Peninsula. *Acta Chiropterologica* 6: 49–57.
- BASHTA A.-T., POKRYTIUK L. & BENDA P. 2010: Alcathoe's bat *Myotis alcathoe* – a new bat species (Chiroptera: Vespertilionidae) in Ukraine. *Vestnik Zoologii* 44: 552.
- BENDA P. & GVOŽDÍK V. 2010: Taxonomy of the genus *Otomycteris* (Chiroptera: Vespertilionidae: Plecotini) as inferred from morphological and mtDNA data. *Acta Chiropterologica* 12: 83–102.
- BENDA P. & KARATAŞ A. 2005: On some Mediterranean populations of bats of the *Myotis mystacinus* morpho-group (Chiroptera: Vespertilionidae). *Lynx*, n. s. 36: 9–38.
- BENDA P., RUEDI M. & UHRIN M. 2003a: First record of *Myotis alcathoe* (Mammalia: Chiroptera) in Slovakia. *Folia Zoologica* 52: 359–365.
- BENDA P., HULVA P., ANDREAS M. & UHRIN M. 2003b: Notes on the distribution of *Pipistrellus pipistrellus* complex in the Eastern Mediterranean: First records of *P. pipistrellus* for Syria and of *P. pygmaeus* for

Turkey. *Vespertilio* 7: 87–95.

BENDA P., HULVA P. & GAISLER J. 2004: Systematic status of African populations of *Pipistrellus pipistrellus* complex (Chiroptera: Vespertilionidae), with a description of a new species from Cyrenaica, Libya. *Acta Chiropterologica* 6: 193–217.

BENDA P., ANDREAS M., KOCK D., LUČAN R. K., MUNCLINGER P., NOVÁ P., OBUCH J., OCHMAN K., REITER A., UHRIN M. & WEINFURTOVÁ D. 2006: Bats (Mammalia: Chiroptera) of the Eastern Mediterranean. Part 4. Bat fauna of Syria: distribution, systematics, ecology. *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae* 70: 1–329.

BENDA P., HANÁK V., HORÁČEK I., HULVA P., LUČAN R. & RUEDI M. 2007: Bats (Mammalia: Chiroptera) of the Eastern Mediterranean. Part 5. Bat fauna of Cyprus: review of records with confirmation of six species new for the island and description of a new subspecies. *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae* 71: 71–130.

BENDA P., GEORGIAKAKIS P., DIETZ C., HANÁK V., GALANAKI K., MARKANTONATOU V., CHUDÁRKOVÁ A., HULVA P. & HORÁČEK I. 2009a: Bats (Mammalia: Chiroptera) of the Eastern Mediterranean and Middle East. Part 7. The bat fauna of Crete, Greece. *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae* 72: 105–190.

BENDA P., REITER A., AL-JUMAILY M., NASHER A. K. & HULVA P. 2009b: A new species of mouse-tailed bat (Chiroptera: Rhinopomatidae: *Rhinopoma*) from Yemen. *Journal of the National Museum (Prague), Natural History Series* 177: 53–68.

BENDA P., LUČAN R. K., OBUCH J., REITER A., ANDREAS M., BAČKOR P., BOHNENSTENGEL T., EID E. K., ŠEVČÍK M., VALLO P. & AMR Z. S. 2010: Bats (Mammalia: Chiroptera) of the Eastern Mediterranean and Middle East. Part 8. Bats of Jordan: fauna, ecology, echolocation, ectoparasites. *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae* 74: 185–353.

BENDA P., VALLO P. & REITER A. 2011: Taxonomic revision of the genus *Asellia* (Chiroptera: Hipposideridae) with a description of a new species from southern Arabia. *Acta Chiropterologica* 13: 245–270.

BENDA P., FAIZOLÂHI K., ANDREAS M., OBUCH J., REITER A., ŠEVČÍK M., UHRIN M., VALLO P. & ASHRAFI S. 2012: Bats (Mammalia: Chiroptera) of the Eastern Mediterranean and Middle East. Part 10. Bat fauna of Iran. *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae* 76: 163–582.

BENDA P., GAZARYAN S. & VALLO P. 2016: On the distribution and taxonomy of bats of the *Myotis mystacinus* morpho-group from the Caucasus region (Chiroptera: Vespertilionidae). *Turkish Journal of Zoology* 40: 842–863.

BRAY T. C. & BENDA P. 2016: Distribution of *Asellia tridens* (Chiroptera: Hipposideridae) lineages including representatives from Saudi Arabia. *Zoology in the Middle East* 62: 283–287.

VAN CAKENBERGHE V. & DE VREE F. 1994: A revision of the Rhinopomatidae Dobson 1872, with the description of a new subspecies (Mammalia: Chiroptera). *Senckenbergiana Biologica* 73: 1–24.

DE BEAUX O. 1931: Spedizione del barone Raimondo Franchetti in Dancalia. Mammiferi. *Annali del Museo Civico di Storia Naturale di Genova* 55: 183–217.

DIETZ C., NILL D. & VON HELVERSEN O. 2016: Handbuch der Fledermäuse. Europa und Nordwestafrika. [Druhé vydání]. Stuttgart: Franckh-Kosmos Verlags-GmbH & Co., 416 pp.

VON HELVERSEN O., HELLER K.-G., MAYER F., NEMETH A., VOLLETH M. & GOMBKÖTÖ P. 2001: Cryptic mammalian species: a new species of whiskered bat (*Myotis alcathoe* n. sp.) in Europe. *Naturwissenschaften* 88: 217–223.

HORÁČEK I. 1991: Enigma of *Otonycteris*: ecology, relationship, classification. *Myotis* 29: 17–30.

HORÁČEK I., HANÁK V. & GAISLER J. 2000: Bats of the Palearctic Region: a taxonomic and biogeographic

review. Pp. 11–157 in: WOŁOSZYN B. W. (ed.): *Proceedings of the VIIIth European Bat Research Symposium. Volume I. Approaches to Biogeography and Ecology of Bats*. Chiropterological Information Center, Institute of Systematics and Evolution of Animals PAS, Kraków, 273 pp.

HULVA P., HORÁČEK I., STRELKOV P. P. & BENDA P. 2004: Molecular architecture of *Pipistrellus pipistrellus* / *Pipistrellus pygmaeus* complex (Chiroptera: Vespertilionidae): further cryptic species and Mediterranean origin of the divergence. *Molecular Phylogenetic and Evolution* 32: 1023–1035.

HULVA P., BENDA P., HANÁK V., EVIN A. & HORÁČEK I. 2007a: New mitochondrial lineages within the *Pipistrellus pipistrellus* complex from Mediterranean Europe. *Folia Zoologica* 56: 378–388.

HULVA P., HORÁČEK I. & BENDA P. 2007b: Molecules, morphometrics and new fossils provide an integrated view of the evolutionary history of Rhinopomatidae (Mammalia: Chiroptera). *BioMedCentral Evolutionary Biology* 7: 165.

KAŇUCH P., HÁJKOVÁ P., ŘEHÁK Z. & BRYJA J. 2007: A rapid PCR-based test for species identification of two cryptic bats *Pipistrellus pipistrellus* and *P. pygmaeus* and its application on museum and dropping samples. *Acta Chiropterologica* 9: 277–282.

KOCK D. 1969: Die Fledermaus-Fauna des Sudan (Mammalia, Chiroptera). *Abhandlungen Senckenbergische Naturforschende Gesellschaft* 521: 1–238.

KOCK D., AL-JUMAILY M. & NASHER A. K. 2001: On the genus *Rhinopoma* E. Geoffroy 1818, and a record of *Rh. muscatellum* Thomas 1903 from Yemen (Mammalia, Chiroptera, Rhinopomatidae). *Senckenbergiana Biologica* 81: 285–287.

LUČAN R. K., ANDREAS M., BENDA P., BARTONIČKA T., BŘEZINOVÁ T., HOFFMANNOVÁ A., HULOVÁ Š., HULVA P., NECKÁŘOVÁ J., REITER A., SVAČINA T., ŠÁLEK M. & HORÁČEK I., 2009: Alcathe bat (*Myotis alcathoe*) in the Czech Republic: distributional status, roosting and feeding ecology. *Acta Chiropterologica* 11: 61–69.

RUEDI M., JOURDE P., GIOSA P., BARATAUD M. & ROUÉ S. Y. 2002: DNA reveals the existence of *Myotis alcathoe* in France (Chiroptera: Vespertilionidae). *Revue Suisse de Zoologie* 109: 643–652.

SCHUNGER I., DIETZ C., MERDSCHANOVA D., MERDSCHANOV S., CHRISTOV K., BORISSOV I., STANEVA S. & PETROV B. 2004: Swarming of bats (Chiroptera, Mammalia) in the Vodnite Dupki Cave (Central Balkan National Park, Bulgaria). *Acta Zoologica Bulgarica* 56: 323–330.

SIMMONS N. 2005: Order Chiroptera. Pp. 312–529 in: WILSON D. E. & REEDER D. A. (eds.): *Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference. Third Edition. Volume 1*. The John Hopkins University Press, Baltimore, 2142 pp.

STADELMANN B., JACOBS D. S., SCHOEMAN C. & RUEDI M. 2004: Phylogeny of African *Myotis* (Chiroptera, Vespertilionidae) inferred from cytochrome b sequences. *Acta Chiropterologica* 6: 177–192.

Další práce mammaliologického referátu, kde byla využita molekulární data

Jsou zde zmíněny i práce, ve kterých byl využit genetický materiál ze sbírek savců Národního muzea bez začlenění zaměstnanců muzea v autorském týmu práce.

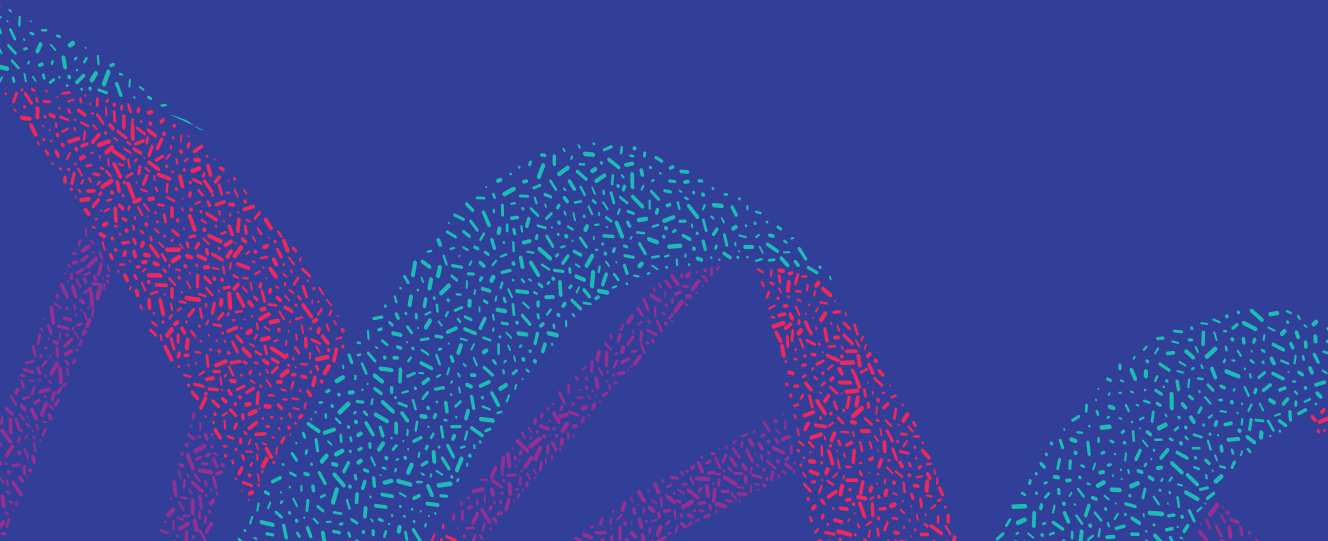
AGHOVÁ T., PALUPČÍKOVÁ K., ŠUMBERA R., FRYNTA D., LAVRENCHENKO L. A., MEHERETU Y., SÁDLOVÁ J., VOTÝPKA J., MBAU J. S., MODRÝ D. & BRYJA J. 2019: Multiple radiations of spiny mice (Rodentia: Acomys) in dry open habitats of Afro-Arabia: evidence from a multi-locus phylogeny. *BioMedCentral Evolutionary Biology* 19 (69): 1–22.

- BENDA P.** & VALLO P. 2009: Taxonomic revision of the genus *Triaenops* (Chiroptera: Hipposideridae) with description of a new species from southern Arabia and definitions of a new genus and tribe. *Folia Zoologica* **53** (Monograph 1): 1–45.
- BENDA P.** & VALLO P. 2012: New look on the geographical variation in *Rhinolophus clivosus* with description of a new horseshoe bat species from Cyrenaica, Libya. *Vespertilio* **16**: 69–96.
- BENDA P.**, KIEFER A., HANÁK V. & VEITH M. 2004: Systematic status of African populations of long-eared bats, genus *Plecotus* (Mammalia: Chiroptera). *Folia Zoologica* **53** (Monograph 1): 1–47.
- BENDA P.**, DIETZ C., ANDREAS M., HOTOVÝ J., LUČAN R. K., MALTBY A., MEAKIN K., TRUSCOTT J. & VALLO P. 2008: Bats (Mammalia: Chiroptera) of the Eastern Mediterranean and Middle East. Part 6. Bats of Sinai (Egypt) with some taxonomic, ecological and echolocation data on that fauna. *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae* **72**: 1–103.
- BENDA P.**, VALLO P., HULVA P. & HORÁČEK I. 2012: The Egyptian fruit bat *Rousettus aegyptiacus* (Chiroptera: Pteropodidae) in the Palaearctic: Geographical variation and taxonomic status. *Biologia, Bratislava* **67**: 1230–1244.
- BENDA P.**, SPITZENBERGER F., HANÁK V., ANDREAS M., REITER A., ŠEVČÍK M., ŠMÍD J. & UHRIN M. 2014: Bats (Mammalia: Chiroptera) of the Eastern Mediterranean and Middle East. Part 11. On the bat fauna of Libya II. *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae* **78**: 1–162.
- BENDA P.**, ANDRIOLLO T. & RUEDI M. 2015: Systematic position and taxonomy of *Pipistrellus deserti* (Chiroptera: Vespertilionidae). *Mammalia* **79**: 419–438.
- BENDA P.**, REITER A., UHRIN M. & VARADÍNOVÁ Z. 2016: A new species of pipistrelle bat (Chiroptera: Vespertilionidae) from southern Arabia. *Acta Chiropterologica* **18**: 301–323.
- BENDA P.**, NASHER A. K., VAN DAMME K., VALLO P. & REITER A. 2017: Bats (Mammalia: Chiroptera) of the Eastern Mediterranean and Middle East. Part 14. Bats of the Socotra Archipelago, Yemen. *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae* **81**: 99–169.
- BILGIN R., GÜRÜN K., REBELO H., PUECHMAILLE S. J., MARACI Ö., PRESETNIK P., **BENDA P.**, HULVA P., IBÁÑEZ C., HAMIDOVIC D., FRESSSEL N., HORÁČEK I., KARATAŞ A., KARATAŞ A., ALLEGRI B., GEORGIAKAKIS P., GAZARYAN S., NAGY Z. I., ABI-SAID M., LUČAN R. K., BARTONIČKA T., NICOLAOU H., SCARAVELLI D., KARAPANDŽA B., UHRIN M., PAUNOVIĆ M. & JUSTE J. 2016: Circum-Mediterranean phylogeography of a bat coupled with past environmental niche modelling: a new paradigm for the recolonization of Europe? *Molecular Phylogenetics and Evolution* **99**: 323–336.
- CENTENO-CUADROS A., HULVA P., ROMPORTL D., SANTORO S., STŘÍBNÁ T., SHOHAMI D., EVIN A., TSOAR A., **BENDA P.**, HORÁČEK I. & NATHAN R. 2017: Habitat use, but not gene flow, is influenced by human activities in two ecotypes of Egyptian fruit bat (*Rousettus aegyptiacus*). *Molecular Ecology* **26** (22): 6224–6237.
- DUBEY S., COSSON J.-F., MAGNANOU E., VOHRALÍK V., **BENDA P.**, FRYNTA D., HUTTERER R., VOGEL V. & VOGEL P. 2007: Mediterranean populations of the lesser white-toothed shrew (*Crocodyrus suaveolens* group): an unexpected puzzle of Pleistocene survivors and prehistoric introductions. *Molecular Ecology* **16**: 3438–3452.
- FARKAŠOVÁ H., HRON T., PAČES J., HULVA P., **BENDA P.**, GIFFORD R. & ELLEDER D. 2017: Discovery of an endogenous *Deltaretrovirus* in the genome of long-fingered bats (Chiroptera: Miniopteridae). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **114**: 3145–3150.
- FLANDERS J., JONES G., **BENDA P.**, DIETZ C., ZHANG S., LI G., SHARIFI M. & ROSSITER S. J. 2009: Phylogeography of the greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum*: contrasting results from mitochondrial and microsatellite data. *Molecular Ecology* **18**: 306–318.

- FRYNTA D., PALUPČÍKOVÁ K., BELLINIA E., **BENDA P.**, SKARLANTOVÁ H., SCHWARZOVÁ L. & MODRÝ D. 2010: Phylogenetic relationships within the *cahirinus-dimidiatus* group of the genus *Acomys* (Rodentia: Muridae): new mitochondrial lineages from Sahara, Iran and the Arabian Peninsula. *Zootaxa* **2660**: 46–56.
- HRON T., FARKAŠOVÁ H., GIFFORD R. J., **BENDA P.**, HULVA P., GÖRFÖL T., PAČES J. & ELLEDER D. 2018: Remnants of an ancient *Deltaretrovirus* in the genomes of horseshoe bats (Rhinolophidae). *Viruses* **10** (4): 185.
- HULVA P., FORNŮSKOVÁ A., CHUDÁRKOVÁ A., EVIN A., ALLEGRI B., **BENDA P.** & BRYJA J. 2010: Mechanisms of radiation in a bat group of the genus *Pipistrellus* inferred by phylogeography, demography and population genetics. *Molecular Ecology* **19**: 5417–5431.
- HULVA P., MAREŠOVÁ T., DUNDAROVA H., BILGIN R., **BENDA P.**, BARTONIČKA T. & HORÁČEK I. 2012: Environmental margin and island evolution in Middle Eastern populations of the Egyptian fruit bat. *Molecular Ecology* **21**: 6104–6116.
- JIANG T., WANG J., WU H., CSORBA G., PUECHMAILLE S. J., **BENDA P.**, BOIREAU J., TOFFOLI R., COURTOIS J.-Y., NYSSSEN P., COLOMBO R. & FENG J. 2019: The patterns and possible causes of global geographical variation in the body size of the greater horseshoe bat (*Rhinolophus ferrumequinum*). *Journal of Biogeography* **46** (10): 2363–2377.
- JONES G., PARSONS S., ZHANG S., STADELMANN B., **BENDA P.** & RUEDI M. 2006: Echolocation calls, wing shape, diet and phylogenetic diagnosis of the endemic Chinese bat *Myotis pequinus*. *Acta Chiropterologica* **8**: 451–463.
- JUSTE J., IBÁÑEZ C., MUÑOZ J., TRUJILLO D., **BENDA P.**, KARATAŞ A. & RUEDI M. 2004: Mitochondrial phylogeography of the long-eared bats (*Plecotus*) in the Mediterranean Palaearctic and Atlantic Islands. *Molecular Phylogenetic and Evolution* **31**: 1114–1126.
- JUSTE J., **BENDA P.**, GARCIA-MUDARRA J. L. & IBÁÑEZ C. 2013: Phylogeny and systematics of Old World serotine bats (genus *Eptesicus*, Vespertilionidae, Chiroptera): an integrative approach. *Zoologica Scripta* **42**: 441–457.
- KAŇUCH P., AGHOVÁ T., MEHERETU Y., ŠUMBERA R. & BRYJA J. 2015: New discoveries on the ecology and echolocation of the heart-nosed bat *Cardioderma cor* with a contribution to the phylogeny of Megadermatidae. *African Zoology* **50**: 53–57.
- LAMB J. M., RALPH T. M. C., GOODMAN S. M., BOGDANOWICZ W., FAHR J., GAJEWSKA M., BATES P. J. J., EGER J., **BENDA P.** & TAYLOR P. 2008: Phylogeography and predicted distribution of African-Arabian and Malagasy populations of giant mastiff bats, *Otomops* spp. (Chiroptera: Molossidae). *Acta Chiropterologica* **10**: 21–40.
- PUECHMAILLE S. L., ALLEGRI B., **BENDA P.**, GÜRÜN K., ŠRÁMEK J., IBÁÑEZ C., JUSTE J. & BILGIN R. 2014: A new species of the *Miniopterus schreibersii* species complex (Chiroptera: Miniopteridae) from the Maghreb Region, North Africa. *Zootaxa* **3794**: 108–124.
- ROSSITER S., **BENDA P.**, DIETZ C., ZHANG S. & JONES G. 2007: Rangewide phylogeography in the greater horseshoe bat inferred from microsatellites: implications for population history, taxonomy and conservation. *Molecular Ecology* **16**: 4699–4714.
- ŠRÁMEK J., GVOŽDÍK V. & **BENDA P.** 2013: Hidden diversity in bent-winged bats (Chiroptera: Miniopteridae) of the Western Palaearctic and adjacent regions: implications for taxonomy. *Zoological Journal of the Linnean Society* **167**: 165–190.
- STRIBRNA T., ROMPORTL D., DEMJANOVIČ J., VOGELER A., TSCHAPKA M., **BENDA P.**, HORÁČEK I., JUSTE J.,

- GOODMAN S. M. & HULVA P. 2019: Pan African phylogeography and paleodistribution of rousettine fruit bats: Ecogeographic correlation with Pleistocene climate vegetation cycles. *Journal of Biogeography* **46** (10): 2336–2349.
- UVIZL M., ŠMÍD J., AGHOVÁ T., KOTYKOVÁ VARADÍNOVÁ Z. & BENDA P., 2019: Molecular phylogeny and systematics of the sheath-tailed bats from the Middle East (Emballonuridae: *Taphozous* and *Coleura*). *Acta Chiropterologica* **21**: 23–34.
- VALLO P., GUILLÉN-SERVENT A., BENDA P., PIRES D. B. & KOUBEK P. 2008: Variation of mitochondrial DNA in the *Hipposideros caffer* complex (Chiroptera: Hipposideridae) and its taxonomic implications. *Acta Chiropterologica* **10**: 193–206.
- VALLO P., BENDA P. & REITER A. 2011: Yellow-bellied or white-bellied? Identity of Arabian house bats (Vespertilionidae: *Scotophilus*) revealed from mitochondrial DNA and morphology. *African Zoology* **46**: 350–361.
- VALLO P., BENDA P., ČERVENÝ J. & KOUBEK P. 2013: Conflicting mitochondrial and nuclear parphyly in small-sized West African house bats (Vespertilionidae). *Zoologica Scripta* **42**: 1–12.
- VALLO P., BENDA P., ČERVENÝ J. & KOUBEK P. 2015: Phylogenetic position of the giant house bat *Scotophilus nigrita* (Chiroptera: Vespertilionidae). *Mammalia* **79**: 225–231.
- VALLO P., NKURUMAH E. E., TEHODA P., BENDA P., BADU E. K. & DECHER J. 2016: Nutlet is a little nut: Disclosure of the phylogenetic position of Robbins' house bat *Scotophilus nucella* (Vespertilionidae). *Folia Zoologica* **65**: 302–309.
- VALLO P., REEDER D. M., VODZAK M. E. & BENDA P. 2019: Resurrection of an East African house bat species, *Scotophilus altilis* Allen, 1914 (Chiroptera: Vespertilionidae). *Zootaxa* **4577**: 148–160.
- VALLO P., MOTSCH P., BENDA P., MAGANGA G. D. & BOURGAREL M. 2018: Mitochondrial phylogeny and morphological variation of the African sheath-tailed bat (*Coleura afra*, Emballonuridae). *Acta Chiropterologica* **20**: 73–84.

KATALOG VÝSTAVY





MAMUT SRSTNATÝ

Mammuthus primigenius

Lokalita: Čechy, Česká republika

Evidenční číslo: Rv 21356, podsírka
paleontologická

Původ: není znám

Foto: Dominik Vondráček

Stolička (m3 dex.) mamuta srstnatého z období svrchního pleistocénu o celkové délce 28 cm a délkou okluzní plochy 14,5 cm. Stáří jedince, kterému zub patřil, bylo odhadnuto na 35 let. Z podobných vzorků lze extrahovat DNA. Zub musí být ale navrtán a následně je odebrána část zuboviny, nebo dřevě, která je rozemleta na prášek. Ten poté vstupuje do izolačního procesu. Dnes je znám už kompletní genom tohoto druhu mamuta.

Fosilní exponát.



MNOHOŠTĚT

Aegilops speltoides

Lokalita: Praha–Ruzyně, Česká republika

Evidenční číslo: není evidováno, podsírka botanická

Původ: Don. Vojtěch Holubec (Genová banka Výzkumného ústavu rostlinné výroby)

Foto: Dominik Vondráček

Diploidní druh mnohoštětu s původním areálem rozšíření v jihovýchodní Evropě a jihozápadní Asii.

Herbářová položka.



PŠENICE

Triticum urartu

Lokalita: Praha–Ruzyně, Česká republika

Evidenční číslo: není evidováno, podsírka botanická

Původ: Don. Vojtěch Holubec (Genová banka Výzkumného ústavu rostlinné výroby)

Foto: Dominik Vondráček

Diploidní druh pšenice původem z tzv. oblasti úrodného půlměsíce, tedy z oblasti Levanty, Malé Asie, Iráku a Iránu.

Herbářová položka.



PŠENICE NADUŘELÁ

Triticum turgidum

Lokalita: Praha–Ruzyně, Česká republika

Evidenční číslo: není evidováno, podsběrka botanická

Původ: Don. Vojtěch Holubec (Genová banka Výzkumného ústavu rostlinné výroby)

Foto: Dominik Vondráček

Tetraploidní druh pšenice, který vznikl zkřížením dvou diploidních druhů *Triticum urartu* a *Aegilops speltoides* v oblasti úrodného půlměsíce zhruba před 500 tisíci lety.

Herbářová položka.



MNOHOŠTĚT TAUSCHŮV

Aegilops tauschii

Lokalita: Praha–Ruzyně, Česká republika

Evidenční číslo: není evidováno, podsběrka botanická

Původ: Don. Vojtěch Holubec (Genová banka Výzkumného ústavu rostlinné výroby)

Foto: Dominik Vondráček

Diploidní druh mnohoštetu s širším areálem rozšíření, který se rozprostírá od Ukrajiny a Kavkazu přes mírný pás Asie až do indického subkontinentu.

Herbářová položka.



PŠENICE SETÁ

Triticum aestivum

Lokalita: Praha–Ruzyně, Česká republika

Evidenční číslo: není evidováno, podsběrka botanická

Původ: Don. Vojtěch Holubec (Genová banka Výzkumného ústavu rostlinné výroby)

Foto: Dominik Vondráček

Hexaploidní druh jedné z nejrozšířenějších obilovin, který vznikl zkřížením tetraploida *Triticum turgidum* a diploida *Aegilops tauschii*. Ke zkřížení došlo v oblasti úrodného půlměsíce zhruba před osmi tisíci lety. Hexaploidie byla zjištěna díky analýze sekvencí DNA a umístění genů na jednotlivých chromozomech. V roce 2018 se podařilo osekvenovat a složit kompletní anotovaný genom této rostliny. Obsahuje přes 14,5 miliardy nukleových bází a více jak 107 tisíc kódujících genů. Na základě těchto informací mohou být v budoucnu snadno identifikovány geny, které odpovídají za kvalitu zrna, odolnost vůči patogenům nebo za výnos klasu.

Herbářová položka.



KŘÍDLATEC VELKÝ

Lobatus gigas

Lokalita: neznámá

Evidenční číslo: P.č. 61/1984, podsírka zoologická

Původ: neznámý

Foto: Dominik Vondráček

Pravotočivá ulita mořského plže z čeledi křídlatcovitých (Strombidae). Druh je začleněn do seznamu úmluvy CITES. Jde o jednoho z největších plžů, přičemž ulity mohou dorůstat až 30 cm a jedinec spolu se schránkou dosahuje hmotnosti až dvou kilogramů. Vyskytuje se na východním pobřeží Ameriky v tropických oblastech od Floridy (USA) až po ústí Amazonky (Brazílie).

Suchý preparát



HLAVATEC ŽALUDOVITÝ

Priapulus caudatus

Lokalita: Grónsko

Evidenční číslo: P6d-50/2003, podsírka zoologická

Původ: neznámý

Foto: Dominik Vondráček

Mořský živočich bez viditelného článkování těla patřící mezi hlavatce (Priapulida) s cirkumpolárním rozšířením. Na základě molekulárně fylogenetických analýz byla tato skupina zařazena do příbuznosti rypeček (Kinorhyncha) a korzetek (Loricifera) v rámci superkmene svlékavců (Ecdysozoa).

Lihový preparát.



ŠKRKAVKA DĚTSKÁ

Ascaris lumbricoides

Lokalita: neznámá

Evidenční číslo: P6d-22/2003, podsírka zoologická

Původ: z tenkého střeva (*intestinum tenuis*) prasete divokého (*Sus scrofa*)

Foto: Dominik Vondráček

Samec (vlevo) a samice (vpravo) celosvětově rozšířeného vnitřního cizopasníka lidí a lidoopů. Patří mezi nejběžnější parazity lidské populace vůbec. Pravděpodobně je infikováno až 1,4 miliardy lidí. Jde o zástupce kmene hlístic (Nematoda). Tento kmen byl také zařazen mezi svlékavce díky molekulárně fylogenetickým studiím.

Lihový preparát.



STRUNOVCI V SARANČÍCH

rod *Gordius* parazitující u rodu *Chrysochraon*

Lokalita: Vamberk, Česká republika

Evidenční číslo: P6d-22/2003/1173,

podsbírka zoologická

Původ: Leg. Antonín Novák

Foto: Dominik Vondráček

Strunovci (kmen Nematomorpha) jsou vodní živočichové s cizopasnými larvami, které se vyvíjejí v členovcích, především pak v různých skupinách hmyzu, jako jsou brouci, švábi, kudlanky a rovnokřídli. Morfologicky jsou podobní hlísticím (Nematoda). Jejich sesterský vztah byl potvrzen i molekulárně fylogenetickými metodami.

Lihový preparát.



DRÁPKOVEC NOVOZÉLANDSKÝ

Peripatoides novaezealandiae

Lokalita: Nový Zéland

Evidenční číslo: P6d-50/2003, podsbírka zoologická

Původ: neznámý

Foto: Dominik Vondráček

Zástupce samostatného kmene drápkovců (Onychophora), do kterého dnes patří zhruba 200 známých dravých druhů. Drobné bezobratlé loví s pomocí lepkavého sekretu, který na ně vystříknou. Spolu se želvuškami (Tardigrada) jsou řazeni do příbuznosti členovců, a to nejen na základě morfologických dat, ale i molekulárních.

Lihový preparát.



SKLÍPKAN FIALOVOLESKÝ

Phormictopus cancerides

Lokalita: Kuba (chov Praha, Česká republika, 1989–1991)

Evidenční číslo: P6d-3/2003, podsbírka zoologická

Původ: Leg. František Kovařík

Foto: Dominik Vondráček

Osm svleček představujících po sobě jdoucí instary tohoto sklípkanu. Pavouci patří mezi členovce. Ti se, stejně jako všichni další zástupci svlékavců (Ecdysozoa), alespoň jednou za život svléknou. Jde o společný znak, který byl pro svlékavce zpětně nalezen až poté, co byla tato skupina ustanovena s pomocí molekulárně fylogenetických metod.

Suché preparáty.



JAZYČNATKA

Linguatula recurvata

Lokalita: Latinská Amerika

Evidenční číslo: 19/1960/2606, podsběrka zoologická

Původ: Coll. Václav Frič, z hroznýše královského
(*Boa constrictor*)

Foto: Dominik Vondráček

Korýš, který je extrémně přizpůsobený k cizopasnému způsobu života. Právě silně pozměněná morfologie jazyčnatek, které cizopasí u různých savců, ptáků a plazů, znesnadňovala fylogenetické zařazení této skupiny. Díky molekulárním analýzám bylo zjištěno, že jde o vnitřní, silně modifikovanou skupinu korýšů (Crustacea).

Lihový preparát.



SVÍTILKA

Cathedra serrata

Lokalita: neznámá

Evidenční číslo: P5p/2018/3, podsběrka entomologická

Původ: neznámý

Foto: Jan Šumpich & Dominik Vondráček

Zástupce hmyzího řádu křísi (Auchenorrhyncha). Druh je znám pouze z Ekvádoru a Surinamu. Pro svítilky jsou typické duté výrůstky na hlavě.

Suchý preparát.



SVÍTILKA

Phrictus buchei

Lokalita: Peru

Evidenční číslo: P5p/2018/3, podsběrka entomologická

Původ: neznámý

Foto: Jan Šumpich & Dominik Vondráček

Zástupce hmyzího řádu křísi (Auchenorrhyncha).

Jde o endemický druh z Peru.

Suchý preparát.



SAMEC ŘASNÍKA

Stylops ater

Lokalita: Jívka, Česká republika

Evidenční číslo: P5/COL/99999, podsběrka entomologická

Původ: Don. Jakub Straka

Foto: Dominik Vondráček

Dospělý okřídlený samec (5 mm), který se vyhlíhl ze svého hostitele. Ve velmi krátké době se snaží najít samičku, která v hostiteli zůstává, a páří se s ní přímo na něm.

Fotografie exempláře fixovaného v lihu.



SAMICE ŘASNÍKA

Stylops ater

Lokalita: Jívka, Česká republika

Evidenční číslo: P5/COL/99999, podsběrka entomologická

Původ: Don. Jakub Straka

Foto: Dominik Vondráček

Dospělá samice (5 mm) se silně zjednodušeným tělem.

Samice řasníků nemají v dospělosti vyvinutá křídla, nohy ani další tělní struktury, které jsou pro hmyz typické, a nadále zůstávají v hostiteli. Tento jedinec byl vypreparovaný ze svého hostitele, včely pískorypky vrbové (*Andrena vaga*).

Fotografie exempláře uloženého v lihu.



DOSPĚLEC NOSOROŽÍKA

Chalcosoma atlas

Lokalita: neznámá

Evidenční číslo: P5p/2018/3, podsběrka entomologická

Původ: neznámý

Foto: Jan Šumpich & Dominik Vondráček

Pro nosorožíky druhu *Chalcosoma atlas* jsou typické tři dlouhé výrůstky na hlavě a štítě. Zástupci tohoto rodu se vyskytují v jihovýchodní Asii.

Suchý preparát.



LARVA NOSOROŽÍKA

Chalcosoma atlas

Lokalita: neznámá (zvíře z chovů)

Evidenční číslo: P5/COL/99999, podsbírka entomologická

Původ: Don. Miroslav Kuna

Foto: Dominik Vondráček

Poslední larvální stadium (L3). Larvy tohoto druhu bývají poměrně agresivní. Při uchopení do ruky se snaží aktivně a hbitě kousnout.

Lihový preparát.



DOSPĚLEC DLOUHONOŽCE

Cheirotonus gestroi

Lokalita: neznámá

Evidenční číslo: P5p/2018/3, podsbírka entomologická

Původ: neznámý

Foto: Dominik Vondráček

Brouk obývající jihovýchodní Asii. Zástupci této skupiny se někdy označují jako tzv. dlouhonožci (Euchirinae), jelikož samci mají nápadně protažený první pár nohou.

Suchý preparát.



LARVA DLOUHONOŽCE

Cheirotonus gestroi

Lokalita: neznámá (zvíře z chovů)

Evidenční číslo: P5/COL/99999, podsbírka entomologická

Původ: Don. Petr Šípek

Foto: Dominik Vondráček

Poslední larvální stadium (L3). O biologii asijských zástupců dlouhonožců se toho příliš neví. V chovech se vyskytují spíše zřídka, jelikož je jejich chov relativně náročný.

Lihový preparát.



DOSPĚLEC HERKULA ANTILSKÉHO

Dynastes hercules

Lokalita: neznámá

Evidenční číslo: P5p/2018/3, podsběrka entomologická

Původ: neznámý

Foto: Jan Šumpich & Dominik Vondráček

Nosorožík žijící na území Střední a Jižní Ameriky. Samci mohou dosahovat velikosti až 18 cm a uvádí se, že dokážou uzvednout 850× více, než sami váží. Hmotnost dospělce je přibližně 35–40 g.

Suchý preparát.



LARVA HERKULA ANTILSKÉHO

Dynastes hercules

Lokalita: neznámá (zvíře z chovů)

Evidenční číslo: P5/COL/99999, podsběrka entomologická

Původ: Don. Petr Šípek

Foto: Dominik Vondráček

Poslední larvální stadium (L3). Běžně chovaný druh nejen v České republice.

Lihový preparát.



DOSPĚLEC GOLIÁŠE KRÁLOVSKÉHO

Goliathus regius

Lokalita: neznámá

Evidenční číslo: P5p/2018/3, podsběrka entomologická

Původ: neznámý

Foto: Jan Šumpich & Dominik Vondráček

Goliáši patří mezi největší zlatohlávky světa. Vyskytují se v tropické Africe a samci goliáše královského mohou dorůstat až 11 cm.

Suchý preparát.



LARVA GOLIÁŠE KRÁLOVSKÉHO

Goliathus regius

Lokalita: neznámá (zvíře z chovů)

Evidenční číslo: P5/COL/99999, podsběrka entomologická

Původ: Don. Miroslav Kuna

Foto: Dominik Vondráček

Poslední larvální stadium (L3). Larvy goliášů potřebují ke svému vývoji vyšší přísun bílkovin a ve volné přírodě se zřejmě živí i malými bezobratlými, kteří se nacházejí v živném substrátu.

Lihový preparát.



DOSPĚLEC NOSOROŽÍKA SLONÍHO

Megasoma elephas

Lokalita: neznámá

Evidenční číslo: P5p/2018/3, podsběrka entomologická

Původ: neznámý

Foto: Jan Šumpich & Dominik Vondráček

Brouk Střední a Jižní Ameriky, který může dorůstat až 13 cm. Jak samci, tak i samice mají pokryté tělo jemným zlatavým ochlupením. Samice ho však mají pouze na krovkách. Zbytek těla má černou barvu.

Suchý preparát.



LARVA NOSOROŽÍKA SLONÍHO

Megasoma elephas

Lokalita: neznámá (zvíře z chovů)

Evidenční číslo: P5/COL/99999, podsběrka entomologická

Původ: Don. Dominik Vondráček

Foto: Dominik Vondráček

Poslední larvální stadium (L3) s hmotností 131 gramů.

Lihový preparát.



POTÁPNÍK

Platynectes (Agametrus) nitens

Lokalita: Pena Blanca, Panama

Evidenční číslo: Sharp coll. 1905-313

Původ: Natural History Museum, London

Foto: Jiří Hájek & Dominik Vondráček

Zástupce panamského druhu ze sbírek Britského přírodovědného muzea. Jde o typový kus, tedy konkrétního jedince, podle kterého byl druh v roce 1887 popsán.

Fotografie suchého preparátu.



POTÁPNÍK

Platynectes (Agametrus) sp.

Lokalita: San Miguel Chimalapa, Mexiko

Evidenční číslo: P5/COL/99999, podsběrka entomologická

Původ: Lgt. Alvarado, Arriaga, Ponce

Foto: Jiří Hájek & Dominik Vondráček

Budoucí typový exemplář mexického druhu, který ještě nemá své druhové jméno. Mexičtí brouci se od těch panamských liší nepatrně větší velikostí a jinou strukturou krovek. Hypotézu odlišného druhu podpořila i analýza

DNA sekvencí. Tento jedinec se od panamských populací liší o 6,5 % v rámci barcodového úseku genu cytochrom oxidázy I. Popis nového druhu je v současnosti připravován k publikaci.

Fotografie suchého preparátu.



BABOČKA

Agrias aedon

Lokalita: neznámá

Evidenční číslo: P5p/2018/3, podsběrka entomologická

Původ: neznámý

Foto: Jan Šumpich & Dominik Vondráček

Babočkovitý motýl (čeleď Nymphalidae) žijící v Mexiku, Střední Americe, Kolumbii a Venezuele.

Suchý preparát.



PTAKOKŘÍDLEC

Ornithoptera priamus

Lokalita: neznámá

Evidenční číslo: P5p/2018/3, podsběrka entomologická

Původ: neznámý

Foto: Jan Šumpich & Dominik Vondráček

Samec nápadného druhu motýla, který je řazen do seznamu úmluvy CITES stejně jako všichni další zástupci rodu *Ornithoptera*, který patří mezi otakárkovité (Papilionidae).

Suchý preparát.



BĚLÁSEK

Phoebis philea

Lokalita: neznámá

Evidenční číslo: P5p/2018/3, podsběrka entomologická

Původ: neznámý

Foto: Jan Šumpich & Dominik Vondráček

Žlutě zbarvený motýl patřící však do čeledi běláskovití (Pieridae) s rozsáhlým distribučním areálem. Motýl se vyskytuje od Spojených států amerických až po Brazílii. Dále žije na Kubě a Hispaniole.

Suchý preparát.



ÚHOŘ ŘÍČNÍ

Anguilla anguilla

Lokalita: Týnec nad Labem, Česká republika

Evidenční číslo: P6V 5035, podsbírka zoologická

Původ: Don. F. Perner, 1896

Foto: Dominik Vondráček

Zástupce čeledi úhořovití (Anguillidae) s typickým rozmnožovacím cyklem. Ke tření dospělců dochází v hlubinách Sargasového moře, které se nachází východně od Bahamských ostrovů, kam vždy tyto úhoři migrují. Jedná se o kriticky ohrožený druh, velikost populace úhoře říčního se v posledních desetiletích snížila o více než 95 %.

Kůže natažená na model těla zvířete (vycpanina/dermoplast).



CHŇAPAL ČERVENÝ

Lutjanus campechanus

Lokalita: neznámá

Evidenční číslo: P6p 43/2019, podsbírka zoologická

Původ: neznámý

Foto: Dominik Vondráček

Zástupce čeledi chňapalovití (Lutjanidae) žijící v mořích Mexického zálivu a východního pobřeží Spojených států amerických. Jde o ekonomicky významný druh, vyhledávaný pro chutné maso.

Kůže natažená na model těla zvířete (vycpanina/dermoplast).



TLAMOUN NILSKÝ

Oreochromis niloticus

Lokalita: neznámá

Evidenční číslo: P6p 43/2019, podsbírka zoologická

Původ: neznámý

Foto: Dominik Vondráček

Sladkovodní zástupce čeledi vrubozubcovití (Cichlidae) s původním areálem výskytu v Africe. Dnes se však vyskytuje i na jiných světadílech v tropických a subtropických oblastech, kde se intenzivně využívá v akvakultuře. Zajímavostí je, že vývoj jiker a líhnutí larev probíhá v ústech samice. Larvy zde zůstávají až do okamžiku, kdy spotřebují žloutkový váček, teprve pak je samice vypustí do vody.

Kůže natažená na model těla zvířete (vycpanina/dermoplast).



PANGAS SPODNOOKÝ

Pangasianodon hypophthalmus

Lokalita: neznámá

Evidenční číslo: P6p 43/2019, podsírka zoologická

Původ: neznámý

Foto: Dominik Vondráček

Sladkovodní zástupce čeledi pangasovití (Pangasiidae), jehož původní areál výskytu se nachází v řekách Mekong a Menam-Čao-Praja v jihovýchodní Asii. Pangas patří mezi nejprodávanější ryby v ČR a má celosvětově vysoký komerční význam.

Kůže natažená na model těla zvířete (vycpanina/dermoplast).



PLATÝS VELKÝ

Pleuronectes platessa

Lokalita: neznámá

Evidenční číslo: P6V 5113, podsírka zoologická

Původ: jedinec zakoupený na pražském rybím trhu, kam byl dovezen patrně ze severního Německa

Foto: Dominik Vondráček

Mořský zástupce čeledi platýsovití (Pleuronectidae) s výskytem v evropských vodách Atlantského oceánu a dále v Bílém, Baltském a Severním moři. Objevuje se i v západních částech Středozemního moře. Jde o hospodářsky významný druh.

Kůže natažená na model těla zvířete (vycpanina/dermoplast).



TUŇÁK OBECNÝ

Thunnus thynnus

Lokalita: neznámá

Evidenční číslo: P6V 5132, podsírka zoologická

Původ: zakoupen v roce 1895

Foto: Dominik Vondráček

Zástupce čeledi makrelovití (Scombridae) rozšířený v Atlantském oceánu, Černém a Středozemním moři. Největší jedinci dosahují délky až 4 m a hmotnosti několika set kilogramů. Jsou to velmi rychlí plavci, schopní vyvinout rychlost až 65 km/h. Je to jeden z mála „teplokrevných“ druhů ryb. Tuňák je totiž schopen udržovat si v určitých částech těla teplotu vyšší, než je teplota okolní vody, a to až o 21 °C. Jde o tzv. regionální endotermii. Tuňák obecný je v důsledku nadměrného lovu pro vysoce ceněné maso ohroženým druhem. V Japonsku se z něj vyrábí tradiční suši.

Kůže natažená na model těla zvířete (vycpanina/dermoplast).



MLOK SKVRNITÝ

Salamandra salamandra salamandra

Lokalita: Jugoslávie

Evidenční číslo: P6V 1928, podsbírka zoologická

Původ: neznámý

Foto: Dominik Vondráček

Jedinec s typickým skvrnitým zbarvením pro poddruh *Salamandra s. salamandra* sbíraný na území dřívější Jugoslávie dne 17. července 1977. Výskyt tohoto poddruhu je uváděn od Balkánského poloostrova až po východní Německo.

Lihový preparát.



MLOK SKVRNITÝ

Salamandra salamandra terrestris

Lokalita: Francie

Evidenční číslo: P6V 5340, podsbírka zoologická

Původ: neznámý

Foto: Dominik Vondráček

Jedinec s typickým pruhatým zbarvením pro poddruh *Salamandra s. terrestris*. Areál výskytu tohoto taxonu se rozprostírá od Pyrenejí až po východní Německo.

Lihový preparát.



MLOK SKVRNITÝ

Salamandra salamandra

Lokalita: Děčínsko, Česká republika

Evidenční číslo: P6V 5487, podsbírka zoologická

Původ: Coll. Bárta

Foto: Dominik Vondráček

Jedinec ze západních Čech sbíraný v roce 1958, který vykazuje přechodné zbarvení mezi oběma zmíněnými poddruhy. Vzhledem k aktuálním výsledkům molekulárních analýz na jiných podobných populacích je pravděpodobné, že by měl být tento jedinec řazen do východní linie, tedy poddruhu *Salamandra s. salamandra*.

Lihový preparát.



MLOK SKVRNITÝ

Salamandra atra

Lokalita: Čechy, Česká republika

Evidenční číslo: P6V 32376, podsírka zoologická

Původ: neznámý

Foto: Dominik Vondráček

Jedinec s přechodným zbarvením. Bez analýzy molekulárních dat nelze takového jedince přesně určit do poddruhu.

Lihový preparát.



MLOK SKVRNITÝ

Salamandra atra

Lokalita: Hrubá Vrbka, Česká republika

Evidenční číslo: P6V 75246, podsírka zoologická

Původ: Leg. Rehák

Foto: Dominik Vondráček

Jedinec sbíraný v roce 1978, který vykazuje ne zcela typické zbarvení. Na hřbetě jsou jednotlivé skvrny slité do větších celků.

Lihový preparát.



PÍSKOMIL

Gerbilliscus bayeri

Lokalita: Nassalot, Keňa

Evidenční číslo: KE683, Ústav biologie obratlovců AV ČR

Původ: Leg. Josef Bryja

Foto: Dominik Vondráček

Jeden ze tří exemplářů odchycených v Keni v roce 2011, ze kterého byla získána DNA. Díky molekulárně fylogenetickému výzkumu bylo zjištěno, že tito jedinci představují platný druh, i když tato populace byla v minulosti zoology považována za synonymum k již existujícímu pískomilu *Gerbilliscus nigricaudus*.

Preparovaná kůže (balk).



HRABÁČ KAPSKÝ

Orycteropus afer

Lokalita: neznámá

Evidenční číslo: neevidováno

Původ: zapůjčení exponátu Zoologickou zahradou hl. m. Prahy

Foto: Dominik Vondráček

Jediný dnes žijící druh řádu hrabáčů (Tubulidentata) obývajících rozsáhlé území savan v Africe. I díky molekulárním studiím byly vyvráceny názory o jeho příbuznosti s morfologicky podobnými mravenečnickými. Ti však patří do nepřibuzného řádu chudozobí (Xenarthra).

Kůže natažená na model těla zvířete (vycpanina/dermoplast).



DAMAN SKALNÍ

Procavia capensis

Lokalita: neznámá

Evidenční číslo: P6V-51963, podsbírka zoologická

Původ: Don. Zoologická zahrada hl. m. Prahy

Foto: Dominik Vondráček

Druh s velkým areálem rozšíření v savanách a stepích Afriky a Arabského poloostrova. Molekulárně fylogenetické přístupy potvrdily příbuznost damanů s ochechulemi a slony, což odpovídá i dřívějším názorům utvořených na základě morfologických srovnání.

Kůže natažená na model těla zvířete (vycpanina/dermoplast).



MOROŇ INDICKÝ

Dugong dugon

Lokalita: neznámá

Evidenční číslo: P6V-1047, podsbírka zoologická

Původ: neznámý

Foto: Dominik Vondráček

Vypreparovaná lebka zástupce řádu ochechulí (Sirenia). Tento druh se vyskytuje v tropických pobřežních vodách východního Indického oceánu a Pacifiku, od Egypta a Mosambiku po Austrálii a Novou Guineu.

Suchý kosterní preparát.



SLON INDICKÝ

Elephas maximus

Lokalita: neznámá

Evidenční číslo: P6V-40366, podsbírka zoologická

Původ: neznámý

Foto: Dominik Vondráček

Hlava slůněte je součástí sbírek Národního muzea zhruba 100 let. Dostala se do nich z Německa. Její předchozí historie je však neznámá.

Kůže natažená na model hlavy zvířete (vycpanina/dermoplast).



BÉRCOUN PETERSŮV

Rhynchocyon petersi

Lokalita: neznámá

Evidenční číslo: P6V-96301, podsbírka zoologická

Původ: Don. Zoologická zahrada hl. m. Prahy

Foto: Dominik Vondráček

Endemický druh bércouna z malé pralesní oblasti Tanzanie a Keni. Přestože mají bércouni některé znaky blízké hmyzožravcům (Eulipotyphla), molekulárně fylogenetickými metodami bylo prokázáno, že s hmyzožravci nejsou vůbec příbuzní a patří do skupiny Afrotheria.

Kůže natažená na model těla zvířete (vycpanina/dermoplast).



BODLÍN PÁSKOVANÝ

Hemicentetes semispinosus

Lokalita: neznámá, původ je však z přírody, tedy z Madagaskaru

Evidenční číslo: P6V-9704, podsbírka zoologická

Původ: zakoupeno v roce 1902 z tzv. Jirušova odkazu

Foto: Dominik Vondráček

Madagaskarský zástupce řádu Afrosoricida, tedy „afrických hmyzožravců“. Fylogeneticky jsou ale bodlíni (čeleď Tenrecidae) od podobně vyhlížejících ježků (řád Eulipotyphla, čeleď Erinaceidae) velmi vzdálení a nejsou nijak příbuzní. Takto shodná bodlinatost těla tak v historii savců nevznikla jen jednou.

Kůže natažená na model těla zvířete (vycpanina/dermoplast).



ZLATOKRT VELKÝ

Chrysospalax trevelyani

Lokalita: neznámá

Evidenční číslo: P6V-9690, podsbírka zoologická

Původ: zakoupeno od londýnské firmy Gerrard v roce 1910

Foto: Dominik Vondráček

Zástupce řádu Afrosoricida. Přes svoji morfologickou podobnost s krtky (čeleď Talpidae) jsou tyto skupiny fylogeneticky velmi vzdálené, vnější podobnost je způsobena jen obdobným podzemním způsobem života.

Kůže natažená na model těla zvířete (vycpanina/dermoplast).



VYDŘÍK HBITÝ

Potamogale velox

Lokalita: neznámá, původ z přírody, tedy z Konžské pánve

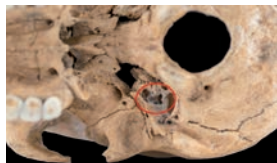
Evidenční číslo: P6V-9685, podsbírka zoologická

Původ: zakoupeno od londýnské firmy Gerrard v roce 1903

Foto: Dominik Vondráček

Obojživelný zástupce řádu Afrosoricida, který vzhledem i způsobem života připomíná malou vydru. Vydry jsou však příbuzné kunám a patří do fylogeneticky zcela vzdáleného řádu šelem (Carnivora).

Kůže natažená na model těla zvířete (vycpanina/dermoplast).



ČLOVĚK MOUDRÝ

Homo sapiens

Lokalita: Český Brod, Česká republika

Evidenční číslo: 32429, podsbírka antropologická

Původ: Archeologický ústav ČSAV

Foto: Dominik Vondráček

Lebka dospělého muže, který byl pochován společně se ženou v Českém Brodě. Hrob byl vykopán v roce 1959 J. Kudrnáčem z Archeologického ústavu ČSAV a je datován do období neolitu (cca 5–2,5 tisíce let př. n. l.). Z lebky byl odebrán vzorek pro izolaci DNA. Přesněji došlo k navrtání skalní kosti (viz červené označení na druhém snímku). Samotná DNA analýza zatím nebyla provedena.

Suchý kosterní preparát.



DROBNÉ EXPONÁTY

Sbírka drobných předmětů, na kterých byly v rámci výstavy demonstrovány možnosti izolace DNA. Předměty byly získány přímo pro účely expozice. Z důvodu velmi nízké, či nulové pořizovací ceny a následné nemožnosti dalšího sbírkotvorného využití nejsou evidovány a často není ani známa jejich lokalita a původ.

Foto: Dominik Vondráček

1) ropucha zelená *Bufo viridis* + část ocasu a přední končetiny myši domácí *Mus musculus*

Z jedinců (obratlovců) fixovaných v lihu se dá získat DNA velmi snadno. Do fixáže se nemusí ani vkládat celý jedinec, stačí pouze jeho drobná část.

2) srdce a slezina myši domácí *Mus musculus*

Vnitřní orgány (např. srdce, slezina) patří mezi nejvíce vhodné tkáně k izolaci DNA. Obsahují totiž vysoký počet buněk, a navíc s vyšším počtem mitochondrií.

3) zub paviána rodu *Papio* + zub hyeny z podčeledi Hyaeninae

Ze zubů se běžně izoluje DNA. Zub však musíme nejprve navrtat a poté z něj odebrat vzorek zuboviny nebo zubní dřevě.

4) javor mléč *Acer platanoides*

Lokalita: Horní Počernice, Česká republika

Původ: Leg. Dominik Vondráček

DNA z rostlinných pletiv lze získat z čerstvých, sušených i mražených vzorků.

5) krev myši domácí *Mus musculus*

Jako vhodný zdroj k izolaci DNA dobře slouží i zaschlá krev na filtračním papíru.

6) blíže neurčený štír řádu *Scorpionida*

Lokalita: Mt. Hamiguitan, Filipíny

Původ: Leg. Dominik Vondráček

U větších členovců fixovaných v lihu stačí k izolaci DNA kousek jedné nohy.

7) hnojník z podčeledi *Aphodiinae* + kněžice mlhovitá *Rhaphigaster nebulosa*

Lokalita: Jiřice, Česká republika (kněžice)

Původ: Leg. Petr Kment (kněžice)

Nasucho preparovaný hmyz lze většinou také použít k izolaci DNA. U drobných jedinců je někdy zapotřebí použít celý kus (hnojník). U větších jedinců (kněžice) stačí jedna noha, případně pouze její část. Zásadní vliv na kvalitu DNA ve vzorku má nejen samotné stáří vzorku, ale především metoda smrcení. Některé látky silně degradují DNA a zároveň narušují samotný proces izolace (např. ethylester kyseliny octové).

8) vatové tyčinky na bukální stěr

U lidí se nejčastěji DNA izoluje z buněk, které se získají ze stěru z ústní dutiny. K tomu slouží speciální vatové tyčinky.

9) králíčí trus *Oryctolagus cuniculus* f. *domesticus*

Lokalita: Kolta, Slovensko (zvíře z chovů)

Původ: Leg. Tatiana Aghová

Z trusu lze získat DNA nejen jeho původce, ale i potravy, kterou konzumoval. Lze tedy zjistit, jakou potravní dietu organismus preferuje, a dokonce i přímo identifikovat některé složky potravy do druhu.

10) roh tura domácího *Bos primigenius* f. *taurus*

Rohovinové části těl jsou v podstatě mrtvou tkání. Neobsahují tedy žádnou DNA a k izolaci se nehodí.

11) lidské nehty *Homo sapiens*

Lokalita: Čelákovice, Česká republika

Původ: Don. Dominik Vondráček

DNA jsme schopni získat například z nehtového lůžka, nikoliv však z ostříhaných nehtů.

12) ptačí skořápky

Zbytky skořápek mohou posloužit jako zdroj DNA. I po vylíhnutí jedince zůstává na vnitřním povrchu spousta buněk, které obsahují DNA jedince, který se ve vejci vyvíjel.

13) lidské vlasy *Homo sapiens*

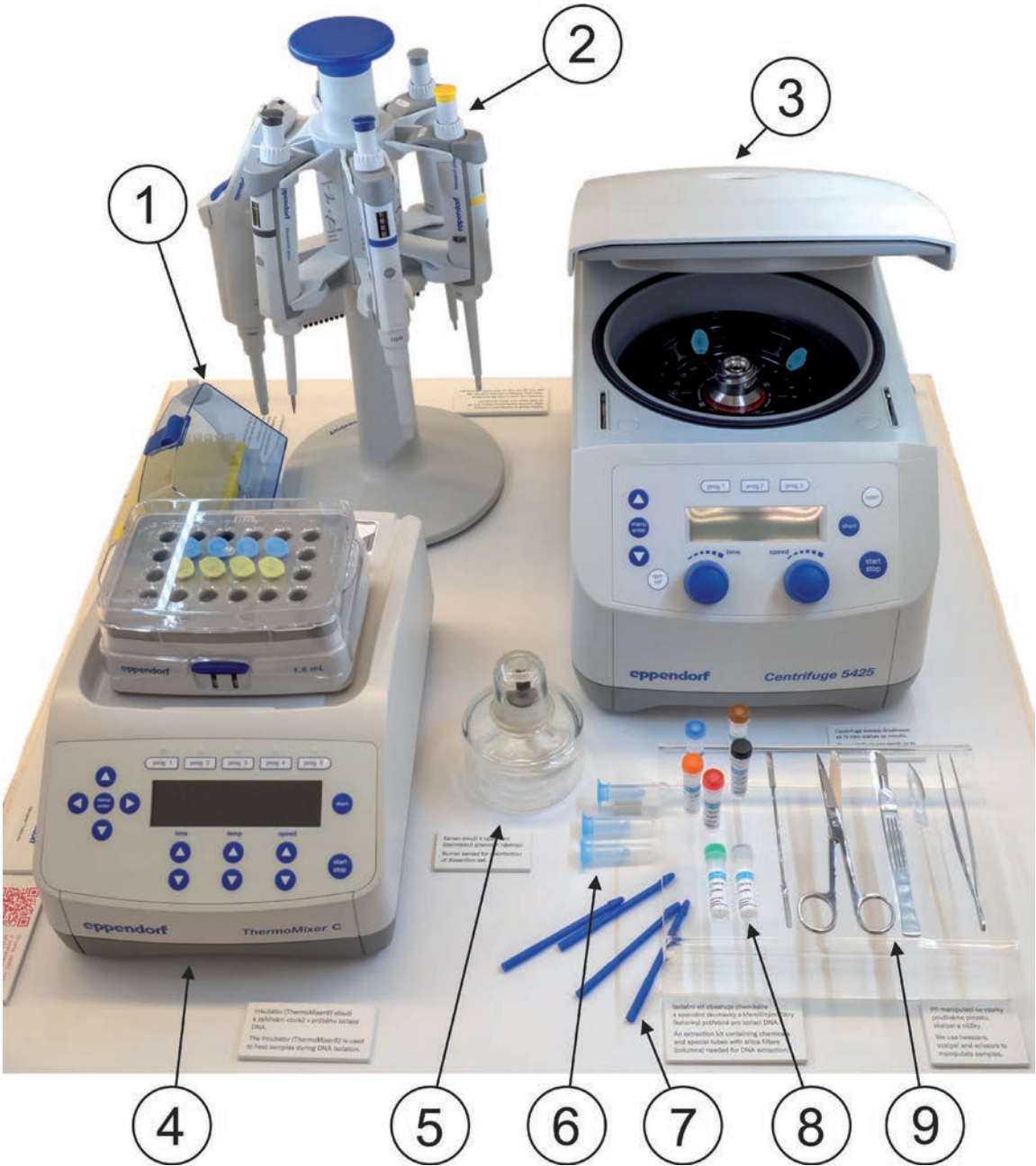
Lokalita: Praha, Česká republika

Původ: Don. Tatiana Aghová

Z lidských vlasů, nebo například ze srsti, lze DNA získat. Musí však stále obsahovat vlasové kořínky, ve kterých DNA najdeme. Ustřížené vlasy obsahují pouze keratin.

14) jantar se zástupci hmyžiho řádu *Diptera*

V kouscích jantaru běžně nalézáme různé druhy fosilizovaných organismů, nikdy však nebyla prokázána úspěšná izolace DNA z takto uvězněných jedinců, ať už bylo jejich stáří jakékoliv.



DNA IZOLACE

Nástroje, přístrojové vybavení, spotřební materiál a chemikálie využívané během procesu izolace DNA, při kterém dojde k rozpadu buněk ve vybraném vzorku, a tedy uvolnění DNA volně do roztoku. Roztok je následně přečištěn a zbývá tak čistý DNA izolát, který putuje do mrazničky.

Veškeré vybavení pochází z molekulárně genetických laboratoří Národního muzea, pokud není uvedeno jinak.

Foto: Dominik Vondráček

1) špičky k pipetám

Původ: zapůjčeno firmou Eppendorf

Při práci s tekutinami se používají speciální plastové špičky, které slouží k přímému kontaktu s roztokem.

Použitím vyměnitelných špiček zamezíme různým kontaminacím či promíchávání roztoků.

2) stojan s pipetami

Původ: zapůjčeno firmou Eppendorf

Pipety slouží k manipulaci s roztoky. Používají se jak během izolace DNA, tak v dalších krocích při získávání DNA sekvencí. Mohou mít různý objemový rozsah, který na nich lze nastavovat. Jde například o rozsahy 0,5–10, 10–100 nebo 100–1000 mikrolitrů. Na stojanu je umístěna i elektronická pipeta a multikanálová pipeta.

3) centrifuga

Původ: zapůjčeno firmou Eppendorf

Centrifuga patří mezi základní vybavení molekulární laboratoře. Při izolaci DNA se používá kvůli vysokým otáčkám (až 15 tisíc otáček za minutu) a vzniklé odstředivé síle. Ta zajistí čištění DNA od nepotřebných látek ve speciálních zkumavkách s křemičitými filtry, na kterých je DNA uchycena.

4) inkubátor

Původ: zapůjčeno firmou Eppendorf

Inkubátor slouží k zahřívání vzorků v průběhu izolace DNA. Při nastavených teplotách přibližně 56 °C je totiž enzym (např. proteináza K) aktivní, a zajistí tak rozpad buněk, tedy tzv. lyzi. Díky tomu se DNA dostane z buněk ven. Proces je podpořen konstantním promícháváním, které přístroj taktéž zvládne.

5) kahan

Plamen kahanu se používá při dezinfekci preparačních nástrojů, tak aby se zamezilo kontaminaci mezi jednotlivými vzorky.

6) izolační kolonky

Speciální zkumavky s křemičitým filtrem, které jsou schopny zadržet DNA a propustit ostatní složky směsi.

7) tyčinky k mechanickému rozrušení tkáně

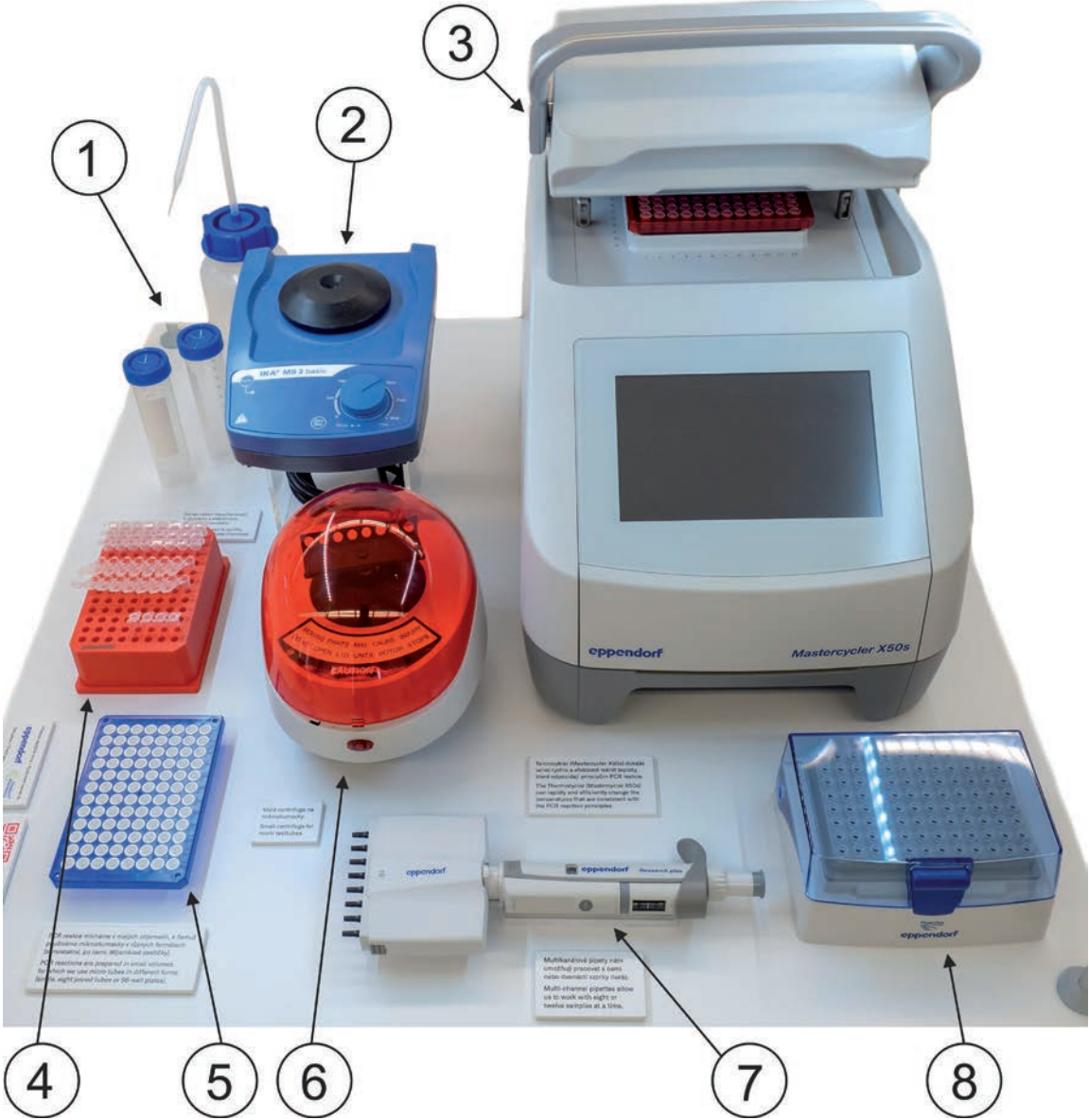
V případě použití tvrdé tkáně můžeme proces rozpadu buněk podpořit i prvotním mechanickým rozrušením.

8) izolační chemikálie

V rámci izolace je zapotřebí několika chemikálií, včetně aktivního enzymu (proteinázy), pufrů a etanolu.

9) preparační sada

Nůžky, skalpely či pinzety patří mezi standardní vybavení pro práci s tkáněmi a jinými typy vzorků vhodných pro izolaci DNA.



PCR

Nástroje, přístrojové vybavení a spotřební materiál využívaný během polymerázové řetězové reakce (PCR). Metoda PCR slouží k namnožení námi vybraného krátkého úseku z celkové a velmi dlouhé DNA, kterou jsme získali při její izolaci. Během PCR dochází k cyklickému množení zvoleného úseku do miliardových počtů kopií, což je důležité pro vlastní sekvenaci DNA.

Veškeré vybavení pochází z molekulárně genetických laboratoří Národního muzea, pokud není uvedeno jinak.

Foto: Dominik Vondráček

1) drobný plastik

Standardní vybavení laboratoře, které může být využito v různých krocích.

2) vortex

Původ: zapůjčeno firmou Elisabeth Pharmacon

Třepačka neboli vortex slouží k rychlému a efektivnímu protřepání chemikálií při přípravě PCR reakcí. Zde je nutné velmi dobře promíchat jednotlivé složky, které do reakce vkládáme, včetně DNA, již jsme vyizolovali z tkání.

3) termocyklér

Původ: zapůjčeno firmou Eppendorf

Termocyklér je dnes již standardním vybavením každé molekulární laboratoře. Jde o moderní přístroj s tzv. termoblokem. Ten je ovládán integrovaným počítačem s dotykovou obrazovkou, ve kterém můžeme upravovat veškerá nastavení pro rozličné potřeby. Termoblok, do kterého vkládáme vzorky, pak dokáže velmi rychle a efektivně měnit teploty, jež odpovídají principům PCR reakce. Z toho pak plyne namnožení námi vybraného úseku DNA do miliardového počtu kopií.

4) stojánek s mikrozukmavkami

Původ: zapůjčeno firmou Eppendorf

Běžný stojánek pro práci s mikrozukmavkami. Ty se využívají při PCR, jelikož se pracuje s menšími objemy než při izolaci DNA a pasují do termocyklérů.

5) 96jamková destička

Původ: zapůjčeno firmou Eppendorf

Při práci s větším množstvím vzorků můžeme přímo využít speciální destičku s 96 jamkami, která přesně pasuje do termocykléru. Takto lze zpracovat během jednoho běhu termocykléru všech 96 vzorků.

6) minicentrifuga

Původ: zapůjčeno firmou Elisabeth Pharmacon

Pokud je roztok na stěnách zkumavky či zespodu na víčku, můžeme využít minicentrifugy, která rychle a efektivně stáhne pomocí odstředivé síly veškerou tekutinu na dno zkumavky.

7) multikanálová pipeta

Původ: zapůjčeno firmou Eppendorf

Při přípravě PCR reakce taktéž používáme pipety. Kromě těch jednonábových, se kterými můžeme pracovat pouze s jedním vzorkem v jednom momentě, můžeme využívat i tzv. multikanálové pipety. Ty nám umožňují pracovat s osmi nebo dvanácti vzorky naráz, což koreluje s počty jamek v 96jamkových destičkách.

8) špičky

Původ: zapůjčeno firmou Eppendorf

Při přípravě PCR reakcí se neobejdeme bez speciálních špiček k pipetám.

ELEKTROFORÉZA

Vlastní sekvenace PCR produktů je finančně náročný krok, a je tedy zapotřebí nejprve ověřit, zdali se PCR reakce v termocykléru skutečně povedla. K tomu slouží tzv. gelová elektroforéza. Při ní vložíme malou část PCR produktu do speciálního agarózového gelu s barvou, která září pod UV světlem a zároveň se váže na DNA. Tento gel nejprve položíme do elektrického pole, a to zajistí pohyb DNA skrz gel. Při tomto pohybu se DNA obarví a následně můžeme gel prosvítit UV světlem a ověřit úspěšnost PCR reakcí.

Foto: Dominik Vondráček

1) UV transiluminátor

Původ: zapůjčeno firmou Elisabeth Pharmacon
Agarózový gel je vložen do UV transiluminátoru. Ten gel prosvítí UV zářením. Světlo nám rozzáří obarvenou DNA a my jsme schopni říct, u kterých vzorků se PCR reakce povedla a u kterých ne. Gel můžeme i vyfotografovat a následně obrázek gelu analyzovat na počítači.

2) TBA pufr

Jedna ze základních složek při výrobě agarózového gelu.

3) nitrilové rukavice

Původ: zapůjčeno firmou Biogen
Rukavice slouží k ochraně pracujícího a zároveň zamezují kontaminacím vzorků. V případě elektroforézy se používají speciální nitrilové rukavice kvůli zajištění vyšší bezpečnosti pracovníka.

4) pipety

Původ: zapůjčeno firmou Eppendorf
Standardní přístrojové vybavení, jaké je potřeba i při práci s elektroforézou.

5) elektroforéza

Původ: zapůjčeno firmou Elisabeth Pharmacon
V elektroforetické vaně probíhá samotný proces gelové elektroforézy. Gel je vložen dovnitř a zalit vodivým roztokem (TBA pufr). Elektrický proud pak zajistí pohyb nanesených vzorků skrz gel od záporné katody ke kladné anodě. DNA se tímto procesem obalí speciální UV barvou, která byla přidána do gelu při jeho výrobě.

6) vana na gel s hřebeny

Původ: zapůjčeno firmou Elisabeth Pharmacon
Vana slouží jako forma pro výrobu agarózového gelu. Vložené hřebeny zajistí vytvoření jamek v gelu. Do nich pak lze nanášet jednotlivé vzorky.

7) drobný plastik a sklo

Běžný spotřební materiál a sklo používané v laboratoři.

8) prášková agaróza

Základní složka při tvorbě agarózového gelu.



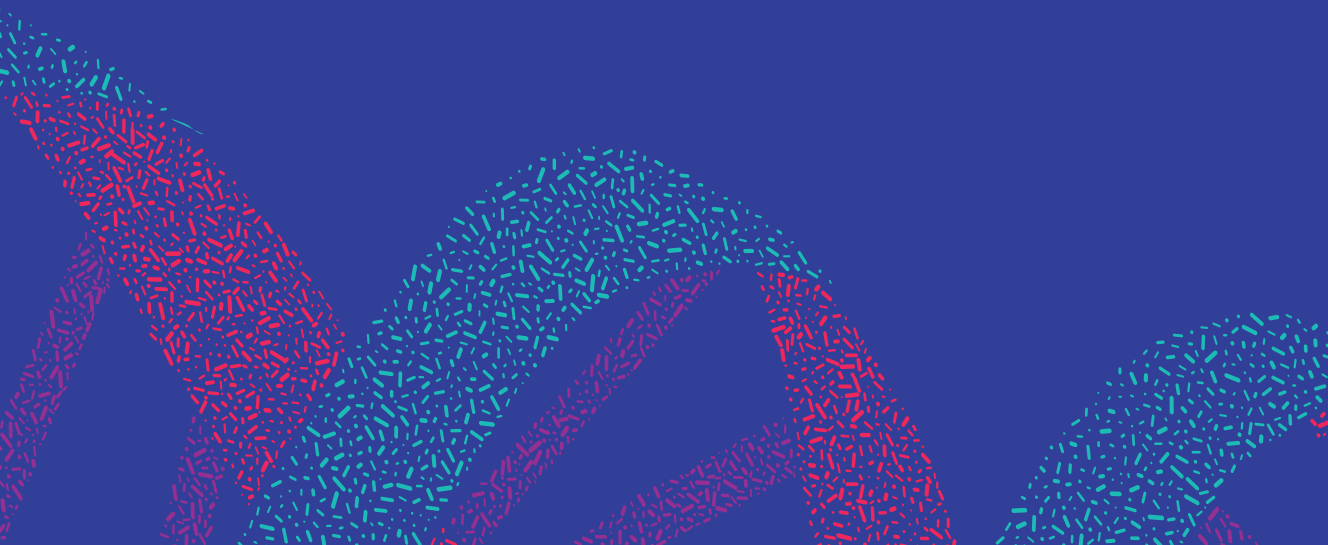
SEKVENÁTOR NOVÉ GENERACE S PŘÍSLUŠENSTVÍM

Původ: zapůjčeno firmou Roche

Foto: Dominik Vondráček

PCR produkty, jejichž správné namnožení bylo ověřeno na gelové elektroforéze, mohou být po přečištění sekvenovány. Dnes se používá celá řada nových sekvenačních metod, ke kterým existuje široké spektrum různých sekvenačních přístrojů. V expozici byl vystaven sekvenátor 454 GS Junior Roche. Jde o první přístroj z kategorie sekvenátorů nové generace, tedy Next Generation Sequencing. Tato platforma se začala používat v roce 2005, a přestože je již několik let nahrazována výkonnějšími sekvenátory, stále se používá v některých nemocnicích pro diagnostické účely.

VÝSTAVA



Výstava Doba genová se původně měla konat v období od 19. července do 18. září roku 2019. Její otevření proběhlo ve zmíněný den, ale díky enormnímu úspěchu bylo její trvání následně prodlouženo do konce roku, tedy do 29. prosince 2019. V průběhu října roku 2019 se začalo jednat o dalším prodloužení v rámci roku 2020. Expozice byly vystaveny firmou ACTPRO s.r.o. v prostorách sálu H a v jeho předsáli v Nové budově Národního muzea a výstava byla jedním z hlavních výstupů projektu „Metodika determinace zoologického sbírkového materiálu na základě analýzy DNA a správy a evidence tkáňové zoologické sbírky“ (DG16P02B038, roky 2016–2019). Vzhledem k tématu výstavy šlo o doplnění a následné rozvinutí již proběhlých výstav „Archa Noemova“ a „Jak se bude jmenovat?“ z pohledu molekulární biologie.

Výstava Doba genová atraktivní formou přiblížila vývoj zkoumání DNA a zároveň představila využití této molekuly na praktických příkladech. Návštěvníci se tak seznámili s prvními vědci, kteří se genetikou začali zabývat, dozvěděli se, že vzorek DNA lze izolovat i z takových materiálů, jako je třeba vaječná skořápka, nebo k čemu všemu se tento výzkum využívá v Národním muzeu. Pomocí interaktivních modelů byla vysvětlena podstata molekuly DNA a návštěvníci se také dozvěděli, z čeho je složená, jak se dá porovnávat mezi odlišnými organismy či jakým způsobem se dědí. K vidění byl také nadrozměrný model šroubovice DNA a na skládačce DNA řetězců si mohli návštěvníci procvičit základní pravidla struktury této molekuly. Prostřednictvím animací, ukázkových videí a vystaveného moderního přístrojového vybavení bylo možné přiblížit, jakým způsobem je dnes možné DNA získávat a následně zkoumat. Návštěvníkům se tedy naskytla jedinečná možnost seznámit se s prací výzkumníků Národního muzea.

Dále byla výstava doplněna o vlastní webovou stránku (www.doba-genova.cz), kde si zájemci mohli najít doplňující informace k jednotlivým tématům expozice, popřípadě zcela nová témata, která se svým rozsahem do výstavy nevešla. Návštěvníci mohli v průběhu výstavy využít komentovaných prohlídek, případně speciálních doprovodných programů s názvem „Alespoň na víkend zavítej do genetické laboratoře“, kde si autorský a produkční tým ve spolupráci s edukačním oddělením připravil zajímavé aktivity pro malé i velké hosty, které zahrnovaly například i izolaci vlastní DNA za použití centrifugy, pipety a dalších nástrojů a přístrojů.

Výstavu celkem navštívilo v období od 19. července do 22. října 21160 návštěvníků. Vzhledem k průměrné návštěvnosti zhruba 330 návštěvníků denně se předpokládá, že počet příchodů ke konci roku 2019 bude oscilovat kolem 50 000. Číslo však nemusí být konečné, neb bylo v jednání další prodloužení výstavy, viz výše.



Detail loga výstavy a speciálně vyrobených sedáků, které zároveň znázorňují základní pravidlo komplementarity bází v DNA.
© Tomáš Hejzlar



Záběr na celé předsálí včetně nadrozměrného modelu DNA šroubovice.
© Tomáš Hejzlar



Pohled do hlavního sálu s dominantou v podobě hlavy mláděte slona indického, největšího exponátu výstavy. © Tomáš Hejzlar



Detail na vitríny s přístrojovou technikou, která doplňovala multimediální stanoviště. © Tomáš Hejzlar



Záběr na několik tematických celků týkajících se například savčí skupiny Afrotheria nebo křížení různých druhů pšenic. © Tomáš Hejzlar



Pohled na opačnou stranu hlavního sálu. V pozadí pohyblivý model řazení DNA sekvencí pod sebou, tedy tvorba tzv. DNA alignmentu. © Tomáš Hejzlar

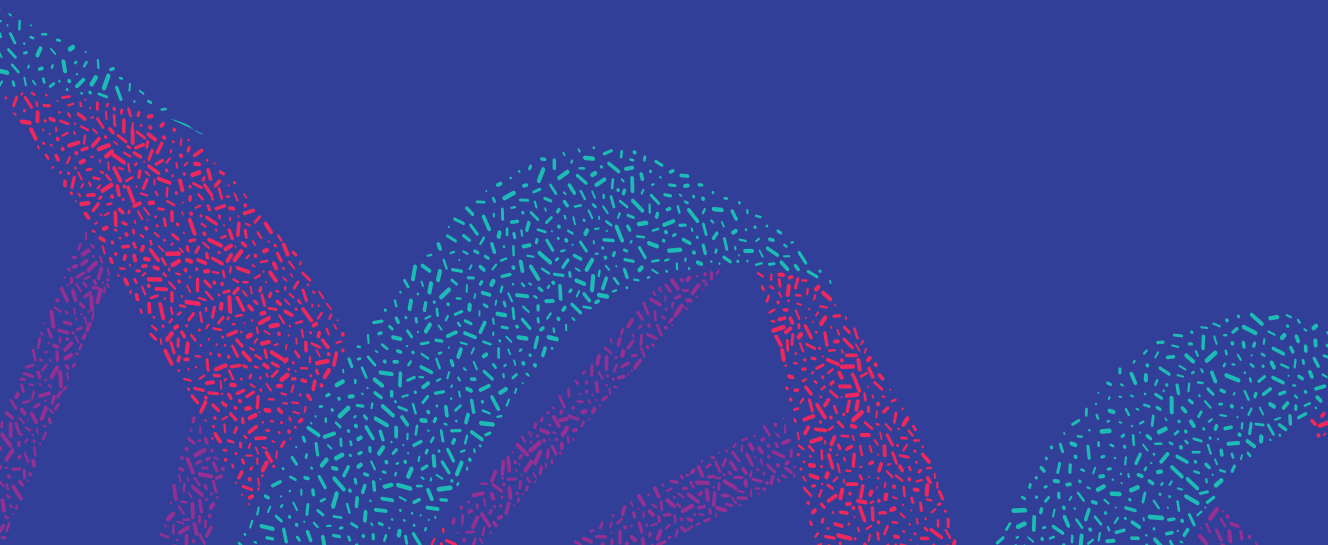


Detail vitríny se zaměřením na tzv. barcoding, tedy identifikaci organismu na základě krátké sekvence mitochondriální DNA. © Tomáš Hejzlar



Záběr na multimediální stanoviště, kde návštěvníci mohli sledovat na míru vytvořené animace a videa z laboratoří. © Tomáš Hejzlar

RESUMÉ



This critical catalogue from the “The Age of Genes” exhibition presents readers with the comprehensive development of molecular phylogenetic and taxonomic research conducted at the National Museum. The reader will thus become acquainted with the Natural History Museum, which is part of the National Museum, and within which modern molecular genetic laboratories were established in 2003 at the Zoological Department and in 2016 at the Entomological Department. To facilitate orientation in this type of research, a general introduction is provided to present in brief a global-scale general advances in the field of genetics as well as a research into the DNA molecule itself, in the form of a historical survey. From Mendel’s Laws of 1869 to the first real photo of the DNA helix taken by a transmission electron microscope in 2012. In addition, the actual structure of the DNA molecule, its placement, function and inheritance, which are among the basic attributes of this compound, are described in detail.

Certainly major milestones, and not just for zoology, were Sanger’s DNA sequencing, i.e. determining the order of the individual components (nucleotides) in the DNA obtained from an organism, and then the Mullis polymerase chain reaction, which serves to simply amplify a selected DNA segment taken from along its entire length. These two molecular genetic methods are now quite routinely used in zoology, and these approaches have opened up a whole new level of knowledge. In general, these methods are used in a major way in research into the evolution of organisms, of their phylogenetic relationships, systematics and taxonomy in general and, of course, in the study of organism populations and their interrelationships. In addition to new, hitherto unresolved questions, these methods have an impact on many already existing results, which have often been transformed into quite different forms.

The catalogue presents in essence the whole of the molecular taxonomic and phylogenetic research of the Natural History Museum. It is an up-to-date list of works making use of these methods and for selected studies such approaches are described in more detail for the lay public. The reader will thus learn more about the work of the Natural History Museum, which includes describing dozens of new species and subspecies from the world’s fauna every year. This type of research not only progressively reveals more fragments of the overall diversity of organisms on our planet, but can also be used very successfully in conservation practice. At the same time, research is pointed out that was directly funded by the NAKI II project, which also gave rise to The Age of Genes exhibition and this critical catalogue that accompanies it. The final part of the catalogue consists of individual exhibit photographs with details.

Molekulárně fylogenetický výzkum v Národním muzeu

Katalog k výstavě Doba genová

Dominik Vondráček, Tatiana Aghová, Petr Benda, Jindřich Brejcha, Martin Fikáček,
Jiří Moravec, Radek Šanda, Jan Štundl

Vydavatel

Národní muzeum / Václavské náměstí 68 / 115 79 Praha 1

vydání první / Praha 2019

104 stran

Tisk

Tisk Centrum s. r. o.

Náklad

200 kusů (publikace není určena k prodeji)

ISBN 978-80-7036-624-0



NÁRODNÍ
MUZEUM

Národní muzeum / Praha 2019

