

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Katedra zoologie

Oddělení Genetika volně žijících živočichů



Diplomová práce

**Rodičovské konflikty a speciace
u myši domácí**

Bc. Lucie Kropáčková

Školitel: RNDr. Radka Reifová, Ph.D.

Praha 2012

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne

Poděkování

Chtěla bych poděkovat hlavně své školitelce RNDr. Radce Reifové, Ph.D. za vedení práce a cenné rady při psaní. Prof. MUDr. Jiřímu Forejtovi, DrSc. za poskytnutí kmene PWD. RNDr. Jaroslavovi Piálkovi, CSc. za poskytnutí kmenů SCHEST a STUS a chovů pro křížení. Dále děkuji všem co pomáhali v chovech myší v Praze a ve Studenci, svým rodičům za podporu při studiu, sestře Mgr. Petře Rampírové a Bc. Verče Majerové za přečtení práce a připomínky.

Abstrakt

Hybridizace mezi blízkými příbuznými druhy savců je často provázena abnormálním růstem placent a plodů. Z pohledu evoluční biologie jsou naše znalosti o podílu takových mezidruhových nekompatibilit na speciaci stále nedostatečné. Ve své diplomové práci jsem zjišťovala, zda abnormální růst placent či plodů přispívá k reprodukční izolaci dvou poddruhů myši domácí, *Mus musculus musculus* a *M. m. domesticus*, které jsou v ranné fázi speciace a v přírodě se stále kříží. S využitím dvou inbredních kmenů odvozených od *M. m. musculus* (PWD/Ph, STUS) a dvou inbredních kmenů odvozených od *M. m. domesticus* (C57BL6/J, SCHEST) jsme provedli čtyři různé vnitropodruhové a čtyři různé mezipodruhové křížení. Zjistili jsme, že velikost placenty u hybridů je více ovlivněna otcem, zatímco velikost plodu matkou. Po odstranění vlivu hmotnosti matky a otce jsme nezaznamenali signifikantní rozdíl ve velikosti placent ani plodů u vnitropodruhových a mezipodruhových křížení. Naše výsledky ukazují, že při hybridizaci mezi poddruhy myši domácí nevznikají abnormality v prenatálním vývoji, jak bylo pozorováno u hybridů mezi vzdálenějšími druhy myši. Je tedy možné, že prenatální abnormality vzniklé v důsledku rodičovských konfliktů jsou spíše následkem speciace než její příčinou. Nemůžeme však vyloučit, že abnormální růst placent a plodů hrál důležitou roli alespoň v některých speciačních událostech, kde došlo ke změně reprodukčního systému.

Klíčová slova

Mus musculus musculus, *Mus musculus domesticus*, hybridní displázie placent, speciace, genomové konflikty, prenatální vývoj

Abstract

Hybridization between closely related species of mammals is often accompanied by abnormal growth of placentas and fetuses. From the perspective of evolutionary biology, our knowledge about the contribution of such interspecies incompatibilities in speciation is still insufficient. In my thesis, I was finding out if abnormal placental and fetal growth contributes to reproductive isolation of two subspecies of house mouse, *Mus musculus musculus* and *M. m. domesticus*, which are at an early phase of speciation and in nature they still hybridize. Using two inbred strains derived from *M. m. musculus* (PWD/Ph, STUS) and two inbred strains derived from *M. m. domesticus* (C57BL6/J, SCHEST) we performed four different intrasubspecies and four different intersubspecies crosses. We found out that the size of the placenta in hybrids is more influenced by father, while the size of the fetus is more influenced by mother. After elimination influence of weight of mother and father we have not recorded a significant difference in the size of placentas and fetuses in intrasubspecies and intersubspecies crosses. Our results show that hybridization between subspecies of house mouse does not produce abnormalities in prenatal development, as was observed in hybrids between distant species of mice. It is thus possible that prenatal abnormalities caused as a result of parental conflicts are the consequence of species divergence rather than its cause. We cannot, however, rule out that abnormal placental and fetal growth had played a role in at least some speciation events, where reproductive system had been changed.

Keywords

Mus musculus musculus, *Mus musculus domesticus*, hybrid placental displasia, speciation, genomic conflicts, prenatal development

Obsah

1	Úvod	7
1.1	Rodičovské konflikty a speciace.....	7
1.1.1	Hybridní displázie placent u hlodavců rodu <i>Peromyscus</i>	9
1.1.2	Hybridní displázie placent u hlodavců rodu <i>Mus</i>	11
1.1.3	Abnormality při vývoji endospermu u krytosemenných rostlin .	13
1.2	Myš domácí.....	13
2	Hypotézy a cíle	16
3	Materiál a metody	16
3.1	Zvířata a křížení.....	16
3.2	Určení hmotnosti plodu a placenty.....	17
3.3	Genetické určování pohlaví plodu.....	17
3.3.1	Izolace DNA.....	17
3.3.2	PCR a elektroforéza	18
3.4	Statistika	18
4	Výsledky.....	19
5	Diskuze	23
6	Závěr	27
7	Literární přehled.....	28
8	Příloha	39

1 Úvod

Speciace je evoluční proces, při kterém vznikají dva nové druhy vytvořením reprodukční bariéry mezi částmi populace jednoho druhu. Reprodukční bariéry se dělí na dva základní typy, prezygotické a postzygotické. Při prezygotické bariéře většinou nedochází k páření a vzniku hybridů (nevzniká zygota). Může to být například z důvodu, že druhy žijí na jiném území nebo mají jiné období páření. U postzygotické bariéry dochází ke vzniku hybridů, kteří se dále nerozmnožují, protože mohou být například neživotaschopní nebo sterilní. Zajímavou formou postzygotické bariéry, která se často vyskytuje u savců, je abnormální růst placenty a plodu u mezidruhových křížení. V některých případech mohou vzniklé abnormality způsobit až smrt plodu. Tyto abnormality prenatalního vývoje u mezidruhových křížení byly popsány u rodů *Peromyscus*, *Mus* a *Equus* (Rogers & Dawson 1970, Allen *et al.* 1993, Zechner *et al.* 1996). Zajímavé je, že podobné abnormality byly popsány i u krytosemenných rostlin v endospermu, což je extraembryonální triploidní (3n) pletivo vyživující embryo (Josefsson *et al.* 2006). Jak často abnormální růst placent a plodů u mezidruhových křížení přispívá ke vzniku reprodukční izolace u savců nebylo zatím dobře prozkoumáno. Touto otázkou jsem se zabývala v rámci své diplomové práce.

1.1 Rodičovské konflikty a speciace

Předpokládá se, že abnormální růst placent a plodů u savčích hybridů je důsledkem genomového konfliktu o přísun živin od matky do vyvíjejícího se embrya. Konflikt může nastat mezi genomem matky na jedné straně a genomem embrya nebo genomem otce na straně druhé. Embryo nese polovinu genetické informace od matky a druhou polovinu od otce a každý z nich může mít jiné zájmy ohledně výživy a růstu svého potomka. To souvisí i s tím, že u savců většinou samice investuje do potomka více než samec (u placentálních savců je samice březí i po několik týdnů či měsíců a po narození se o mládě stará a kojí ho) a často bývá samice vybíravější než samec. Samice většinou klade důraz na kvalitu, zatímco samec na kvantitu, tedy na co největší počet potomků. Každý, jak otec tak i matka, se snaží o něco jiného a mohou naprogramovat své geny tak, aby ovlivňovaly své potomky různým způsobem (Zeh & Zeh 1996).

U polyandrických druhů, kde mají potomci v jednom vrhu různé otce, je v zájmu matky, aby všichni její potomci (a platí to i pro budoucí potomky) obdrželi stejné množství zdrojů (živin), protože všichni její potomci mají 50 % její genetické informace. Naopak v zájmu otce je, aby jeho potomek získal co nejvíce zdrojů (co největší přísun živin) a nezajímá se o ostatní embrya (potomky ostatních samců). Tento druh genomových konfliktů se někdy také nazývá jako rodičovské konflikty.

Možný způsob, jak samci a samice u savců mohou naprogramovat své geny, aby ovlivnily růst plodů v děloze matky, je takzvaný genomový imprinting (Mochizuki *et al.* 1996, Fowden *et al.* 2006). Většina autozomálních genů je exprimována z obou alel - tedy od matky i otce, zatímco imprintované geny jsou u rodičovských druhů exprimovány jen z jedné alely, buď maternální nebo paternální. Genomový imprinting je založený na epigenetické modifikaci chromatinu, která se liší u maternálního a paternálního chromozomu (Morison *et al.* 2005). Epigenetická modifikace DNA spočívá v metylaci cytosinu v oblastech známých jako imprinting kontrolující oblasti (Bird & Wolffe 1999, Constancia *et al.* 2004), které jsou bohaté na CpG dinukleotidy (CpG islands; Paulsen *et al.* 2000). Metylace způsobí umlčení, tj. zastavení transkripce, příslušné alely (Li *et al.* 1993). Imprintované geny jsou tedy funkčně haploidní. V časně fázi vývoje germinálních buněk dochází nejprve k vymizení imprintingu, aby se mohl znovu přeprogramovat (Brandeis *et al.* 1993, Tada *et al.* 1998, Kafri *et al.* 1992, Reik & Walter 2001). Zdá se, že histony také hrají roli při aktivaci nebo umlčení imprintovaných genů (Pedone *et al.* 1999). Acetylovaná forma histonu je obvykle asociována s aktivním regionem chromatinu, zatímco umlčené alely jsou méně acetylovány nebo deacetylovány (Jones *et al.* 1998, Hu *et al.* 2000).

Imprintované geny hrají roli při vývoji a funkci placenty, která ovlivňuje růst a vývoj plodu (Coan *et al.* 2005). Placenta je orgán, který je tvořen z tkáně plodu a matky. Placenta se může dělit podle vzdálenosti krve matky od krve plodu na epitelochoriální, synepitelochoriální, endotelochoriální a hemochoriální (Enders & Carter 2004). U epitelochoriální placenty jsou mezi krví matky a plodu 4 vrstvy buněk (endoteliální buňky embrya, epiteliální buňky choria, epiteliální buňky endometria a endoteliální buňky dělohy). U synepitelochoriální a endotelochoriální placenty mizí vrstva epiteliálních buněk endometria. U hemochoriální placenty je chorium plodu přímo omýváno krví matky. Funkce placenty je přenášet živiny a energii mezi matkou a plodem, bariéra proti patogenům a imunitnímu systému matky, ale i produkce hormonů. Hormony mohou ovlivňovat metabolismus matky tak, aby se dostalo více

živin k plodu (Anthony *et al.* 1995; Haig 1996). Růst některých buněčných typů placenty může být ovlivněn imprintovanými geny. Porucha maternálně exprimovaných genů vede ke zvětšení placenty, zatímco porucha v expresi paternálně exprimovaných genů vede ke zmenšení placenty (Reik *et al.* 2003).

Evoluční závod mezi genomem matky a genomem embrya či otce by se dal přirovnat k závodu mezi parazity a jejich hostiteli (princip červené královny; Ridley 1999). Vnitrodruhově bývají jejich účinky vyladěny tak, aby svým nositelům nepůsobily potíže. Problém může nastat u populací, které byly nějakou dobu v alopatrii nebo mezi druhy, u kterých mohou vzniknout placentální abnormality způsobující zvýšený nebo snížený tok živin od matky do hybridního embrya. Takové abnormality ve vývoji placent a plodů u mezidruhových hybridů byly detailně studovány u hybridů rodu *Peromyscus* a *Mus* (Vrana *et al.* 1998, Zechner *et al.* 1996). Vedle nich byly abnormality u vyvíjejících se embryí, které vznikají v důsledku rodičovských konfliktů, pozorovány a studovány také u krytosemenných rostlin (Josefsson *et al.* 2006).

1.1.1 Hybridní displázie placent u hlodavců rodu *Peromyscus*

Abnormální vývoj placent a plodů byl studován u mezidruhových hybridů rodu *Peromyscus* (Vrana *et al.* 1998). *P. maniculatus* (křeček dlouhoocasý) je polyandrický druh vyskytující se téměř po celé Severní Americe, kdežto *P. polionotus* (křečík bělonohý) je monogamní a vyskytuje se jen na Floridě a na ostrově Santa Rosa (Blair 1950, Birdsall & Nash 1973, Foltz 1981). Tyto druhy žijí v alopatrii a byly odděleny zhruba před 100 000 lety (Blair 1950, Dice 1968). Druhy *P. maniculatus* a *P. polionotus* jsou zhruba stejně velké. Při křížení *P. polionotus* x *P. maniculatus* (vždy samice x samec) se rodí přerostlé hybridní plody, které většinou umírají. Plody, které přežívají jsou téměř výhradně samice se zvětšenou placentou. Při opačném křížení *P. maniculatus* x *P. polionotus* se rodí hybridní plody o 40% menší než plody vnitrodruhových křížení a s menší placentou (Rogers & Dawson 1970).

Bylo zjištěno, že abnormální růst placent a plodů u hybridů je způsoben poruchou genomového imprintingu u hybridů. U hybridů dochází často k bialelické expresi imprintovaných genů (Vrana *et al.* 1998, Wiley *et al.* 2008). Ve studii Vrana *et al.* (1998) byl porušen imprinting u tří genů (*Peg3*, *Snrpn* a *Mest*) ze čtyř genů. Wiley *et al.* (2008) se ve své studii zaměřili na expresi imprintovaných genů u hybridů

v placentální tkáni, v tkáni plodu a v mozku. Našli asi 7 genů, kde docházelo k poruše imprintingu v placentální tkáni a/nebo v tkáni plodu. Například u genů *Kcnqlot1*, *Peg3*, *Usp29*, *Mest* a *Snrpn* byla normální exprese při křížení *P. maniculatus* x *P. polionotus*, ale u hybridů *P. polionotus* x *P. maniculatus* byly geny exprimovány z obou alel (Vrana *et al.* 1998, Wiley *et al.* 2008). U genu *Peg10* byla pozorována porucha imprintingu pouze u tkáně plodu *P. polionotus* x *P. maniculatus*, ale ne v placentální tkáni (Wiley *et al.* 2008). Porucha genomového imprintingu u hybridů se tedy může lišit u recipročných křížení a mezi tkáněmi.

Na chromozomu X byl identifikován gen *Esx1* odpovědný za abnormální růst placent a plodů u hybridů *Peromyscus* (Loschiavo *et al.* 2007). *Esx1* kóduje protein, který je exprimován pouze v extraembryonální tkáni a v samčích germinálních buňkách (Li *et al.* 1997). *Esx1* funguje jako regulátor při vývoji placenty a tím zároveň ovlivňuje i růst plodu (Li & Behringer 1998, Loschiavo *et al.* 2007). Gen *Esx1* interaguje s autozomálním imprintovaným genem *Pw1/Peg3*, který je normálně exprimovaný pouze z paternální alely (Vrana *et al.* 2000). Interakce mezi maternálně exprimovaným genem *Esx1* na chromozomu X původem *P. polionotus* a paternálně exprimovaným autozomálním lokusem původem *P. maniculatus* je odpovědná za přerůstání placenty i plodu u hybridů.

Při křížení *P. polionotus* x *P. maniculatus* dochází k pohlavně specifické úmrtnosti plodů. Plody, které přežívají, jsou téměř výhradně samice, což je v souladu s Haldaneovým pravidlem (Haldane 1922). Podle Haldaneova pravidla je při sterilitě nebo neživotoschopnosti postižené vždy více pohlaví heterogametické, v našem případě tedy samci s chromozomy XY. K epigenetické inaktivaci chromozomu X dochází u samic savců ve všech tkáních, protože samice mají dva chromozomy X (jeden od matky a druhý od otce; Lyon 1961). Inaktivace chromozomu X je v somatické tkáni u savců náhodná kromě extraembryonálních tkání (placenta a žloutkový vak), kde dochází k preferenční inaktivaci paternálního chromozomu X (Harper *et al.* 1982). Hybridní samice vykazují částečně nenáhodnou somatickou inaktivaci chromozomu X ve prospěch exprese chromozomu X původem *P. maniculatus*, což může souviset s pohlavně specifickými rozdíly v úmrtnosti hybridních plodů (Vrana *et al.* 1998, 2000). Lze tedy shrnout, že u *Peromyscus* je hybridní displázie placent a s ní související abnormální růst plodů způsoben jak genetickými, tak epigenetickými změnami.

1.1.2 Hybridní displázie placent u hlodavců rodu *Mus*

Podobný placentální fenotyp jako u *Peromyscus* byl pozorován i u kříženců mezi různými druhy myší, *Mus musculus*, *M. spretus*, *M. macedonicus* a *M. spicilegus* (Rogers & Dawson 1970, Zechner *et al.* 1996). Při křížení samice *M. spretus*, *M. macedonicus* anebo *M. spicilegus* se samcem *M. musculus* dochází ke zvětšení placenty. Naopak při křížení samice *M. musculus* se samcem *M. spretus*, *M. macedonicus* anebo *M. spicilegus* dochází ke zmenšení placenty (Zechner *et al.* 1996). Změny ve velikosti placenty jsou způsobeny zvětšením anebo zmenšením spongiotrofoblastu. Spongiotrofoblast strukturně podporuje vývoj labyrintu, kde probíhá materiální výměna mezi krví plodu a matky, a tvoří kompaktní vrstvu mezi labyrintem a vnější vrstvou velkých buněk (Rossant & Cross 2001). Ve spongiotrofoblastu a velkých buňkách probíhá produkce mnoha specializovaných produktů jako jsou například hormony. U myších kříženců nebyla nalezena souvislost mezi hmotností placenty a hmotností plodu (Kurz *et al.* 1999). Zajímavé je, že velikost placenty u hybridů se liší mezi pohlavím; samičí placenty jsou větší než samčí, ale extrémně velké placenty jsou pouze u samců (Zechner *et al.* 1996). Rozdíly v hmotnosti placenty mezi samci a samicemi u mezidruhových hybridů jsou pravděpodobně způsobeny interakcemi s chromozomem Y (Hemberger *et al.* 2001).

Pomocí zpětného křížení byl identifikován lokus odpovědný za abnormální velikost placenty u hybridů. Tento lokus se nazývá *Interspecific hybrid placental displasia (Ihpd)* a nachází se na proximální části chromozomu X (Zechner *et al.* 1996). Zajímavé je, že stejná část chromozomu je zodpovědná za hybridní sterilitu samců, lokus zmapovaný do této oblasti byl nazván *Ihtw1 (Interspecific hybrid testis weight1;* Elliott *et al.* 2001). Uvažovalo se proto, že by oba dva fenotypy spolu mohly souviset a mohly by být způsobeny poruchou epigenetických modifikací chromozomu X v samčí spermatogenezi a placentě. Myší X chromozom je imprintovaný ve většině extraembryonálních tkání včetně trofoblastu, kde dochází k inaktivaci paternálního chromozomu X (Harper *et al.* 1982). Podobně dochází k epigenetické inaktivaci chromozomu X v samčí spermatogenezi (Turner *et al.* 2002, 2007). Protože jsou však abnormální placenty pozorované jak u hybridních samců tak u samic, nezdá se, že by porucha imprintingu chromozomu X u samic hrála klíčovou roli při vzniku hybridní displázie placent (Zechner *et al.* 1996, 1997). Hybridní placentální displázie u myší také není způsobena poruchou metylace chromozomu X u hybridů (Schütt *et al.* 2003).

U myší byla většina autozomálních genů imprintována u hybridů normálně (Zechner *et al.* 2004). Existují ale výjimky, například pozorovaná častá bialelická exprese genu *Peg1* (*Mest*) u hybridů, který je normálně exprimovaný pouze z paternální alely (Shi *et al.* 2004). Zároveň je ztráta imprintingu u *Peg1* často asociována se zvětšením těla a váhy orgánů. Ztráta paternální exprese *Peg1* u samice geneticky modifikovaných myší vede k abnormálnímu mateřskému chování jako je nedostatek maternální péče a absence placentophagie (pojídání placenty). Potomci nejsou ovlivněni a vyvíjejí se normálně, pokud jsou umístěni k divoké pěstounské matce (Lefebvre *et al.* 1998). Podobný fenotyp u geneticky modifikovaných myší lze pozorovat i při porušení exprese genu *Peg3*, který je normálně exprimovaný jen z paternální alely. Mutace genu *Peg3* vede k zanedbávání mateřské péče a problémům s tvorbou mateřského mléka (Li *et al.* 1999, Curley *et al.* 2004, Champagne *et al.* 2009). Bylo pozorováno, že gen *Peg1* kontroluje růst plodu a placenty a ovlivňuje chování matky (Lefebvre *et al.* 1998). K poruše imprintingu genu *Peg1* (i *Peg3*) dochází i u hybridů *P. polionotus* x *P. maniculatus*, kteří jsou větší než jejich rodičovské druhy (Vrana *et al.* 1998).

Abnormality ve vývoji placenty byly také pozorovány při křížení *M. musculus* a *M. caroli*. *M. musculus* a *M. caroli* se přirozeně nekříží, hybridy byli proto produkováni pomocí umělého oplodnění a většina embryí umírala v různých stádiích prenatalního vývoje (West *et al.* 1977). Přežívali jen někteří hybridy z křížení *M. musculus* x *M. caroli*, kteří ovšem byli zaostalí v porovnání s rodičovskými druhy ve všech stádiích vývoje (West *et al.* 1977). Na přežívání hybridů má největší vliv nekompatibilita genomů, ale šance na přežití může být také snížena selháním intrakce embrya s dělohou, tedy vnitřní bariérou placento-embryonální, protože i embrya *M. caroli* x *M. caroli* přenesená do samice *M. musculus* nepřežila (Frels *et al.* 1980). Rozdílně metylované retroelementy byly nalezeny u hybridů *M. musculus* x *M. caroli* a bylo prokázáno, že obklopují lokus na chromozomu 10 odpovědný za utváření „double minutes“ (extrachromozomální acentrické chromatinové fragmenty) chromozomu a amplifikaci onkogenu v karyotypu (Brown *et al.* 2002, Brown *et al.* 2008). Tyto výsledky byly získány z buněčných linií hybridních jedinců. Brown *et al.* (2012) pomocí umělého oplodnění vytvořili hybridní embrya, u kterých je hybridní placenta narušena demethylací a aktivací retroelementů. Při mezidruhové hybridizaci mezi vzdálenějšími druhy myší dochází tedy k poruše růstu placenty a prenatalního vývoje v důsledku neslučitelnosti mechanismů metylace dvou druhů (Brown *et al.* 2012).

1.1.3 Abnormality při vývoji endospermu u krytosemenných rostlin

U krytosemenných rostlin, podobně jako u savců, je embryo po delší dobu vyživováno pouze od matky a to z tkáně nazvané endosperm. Endosperm je extraembryonální triploidní (3n) pletivo vyživující embryo, které má dvě maternální kopie a jednu paternální kopii genomu. Endosperm vzniká tím, že je centrální buňka (2n) zárodečného vaku oplodněna spermií (1n); vajíčko je oplodněno jinou spermií a vzniká zygota. Endosperm je jediná tkáň u rostlin, kde dochází ke genomovému imprintingu. K umlčení alel u rostlin dochází metylací DNA a histonovou modifikací (Vielle-Calzada *et al.* 1999, Huh *et al.* 2008, Kinoshita *et al.* 2008, Jullien & Berger 2009). U hybridů mezi krytosemennými druhy rostlin bylo pozorováno přerůstání endospermu a zároveň došlo i k předčasnému ukončení vývoje semene. Toto bylo pozorováno například při mezidruhovém křížení *Arabidopsis thaliana* (diploidní, 2n) s *A. arenosa* (tetraploidní, 4n; Bushell *et al.* 2003). Josefsson *et al.* (2006) pozorovali, že normálně maternálně umlčený gen PHERS1 (PHE1) u hybridů v endospermu ztrácí imprinting a je exprimovaný i z maternální alely. Stejně tak byla pozorována ztráta paternálního imprintingu genu MEDEA (MEA). PHE1 overexprese signifikantně přispívá ke smrti hybridního semene (Josefsson *et al.* 2006). Zdá se tedy, že by porucha genomového imprintingu mohla hrát roli při tvorbě postzygotické bariéry i u rostlin.

1.2 Myš domácí

V rámci své diplomové práce jsem se zaměřila na studium hybridní dysplázie placent u dvou poddruhů myši domácí *M. musculus musculus* a *M. m. domesticus*. Myš domácí je významný biologický model, který se vyskytuje po celém světě. Rod *Mus* patří mezi hlodavce (*Rodentia*) a tedy placentální savce (*Placentalia*). Myši mají hemochoriální placentu, kde jsou placentální buňky plodu přímo v kontaktu s krví matky (Carter & Enders 2004). Podle rozložení klků je myší placenta diskoidální.

Myši domácí mohou žít komenzálně, tedy v blízkosti člověka (uvnitř budov, skladů), i volně v přírodě, kde obývají například pole, křoviny, písečné duny. Komenzální druhy žijí často v démech (Gray *et al.* 2000). Démy jsou rodinné skupiny, které fungují jako uzavřené kolonie a většinou se skládají z dominantního samce,

několika samic a mláďat narozených ve skupině (Gerlach 1998). Hierarchie samic je od nejstarší po nejmladší (Gerlach 1998, Rusu *et al.* 2004). Myš domácí je tedy sociálně polygynní. Byla ale zjištěna přítomnost relativně vysoké míry mimopárové paternity (asi 20%) a přítomnost mnohočetné paternity mláďat v rámci jednoho vrhu (Dean *et al.* 2006).

Myš domácí vznikla v severní části Indického subkontinentu (Boursot *et al.* 1993, Din *et al.* 1996). Postupně se rozdělila do několika poddruhů a dva z nich, *M. m. musculus* a *M. m. domesticus*, se rozšířily až do Evropy, kde vytvořily hybridní zónu (Sage *et al.* 1993). Tyto dva poddruhy se oddělily zhruba před 500 000 lety (Geraldés *et al.* 2008). Kolonizovaly Evropu každý jinou cestou. *M. m. domesticus* se šířil jižní cestou zatímco *M. m. musculus* severní (Auffray *et al.* 1990). *M. m. domesticus* je rozšířen v západní Evropě a ve středomoří (jižní Evropa) a *M. m. musculus* je rozšířen od střední Evropy až do severní Číny. Sekundární kontakt mezi *M. m. musculus* a *M. m. domesticus* nastal před 6000-2800 lety (Boursot *et al.* 1993, Sage *et al.* 1993). Hybridní zóna vede skrz Evropu od Dánska přes střední Evropu až do Bulharska k Černému moři (Boursot *et al.* 1993, Sage *et al.* 1993, Macholán *et al.* 2003). Je široká asi 20 km a je dlouhá 2500 km. Tato úzká hybridní zóna je tenzní, což znamená, že zóna balancuje mezi tokem genů a selekcí proti hybridům (Barton & Hewitt 1985).

Mezi oběma poddruhy myši domácí existuje částečná prezygotická a částečná postzygotická reprodukční bariéra. Bylo zjištěno, že myši *M. m. musculus* mají sklon si vybírat partnery vlastního poddruhu na základě močových signálů, zatímco *M. m. domesticus* nevykazovaly žádnou preferenci (Smadja & Ganem 2002, Smadja *et al.* 2004). I v dalších studiích bylo potvrzeno, že se *M. m. musculus* řídí víc MUPs (major urinary proteins), které přenáší feromony (substance, které spouští různé fyziologické odpovědi a jsou specifické pro každé pohlaví) než *M. m. domesticus* (Stopková *et al.* 2007). Další pachový signál, podle kterého by mohly myši poznávat jedince svého druhu, jsou sliny a v nich obsažené ABP (androgen-binding protein; Bímová *et al.* 2005, Talley *et al.* 2001). Bylo zjištěno, že v blízkosti hybridní zóny je preference pro signál větší než v allopatrii (Bímová *et al.* 2005, Bímová *et al.* 2011). Bímová *et al.* (2009) našli preferenci pro výkaly u kmene odvozeného od *M. m. domesticus*, zatímco kmény odvozené od *M. m. musculus* se nejvíc řídily podle moči. Nejsilnější preference pro rozlišení poddruhu byla nalezena u samců pro moč a u samic pro ABP (Bímová *et al.* 2011).

K postzygotické reprodukční izolaci pravděpodobně podstatně přispívá hybridní sterilita samců, která byla pozorována při křížení inbredních kmenů. Při křížení laboratorních (převážně *M. m. domesticus*) a divokých myší (*M. m. musculus*) byl identifikován lokus pro hybridní sterilitu, *Hst1* (Hybrid sterility 1), který leží na chromozomu 17 (Forejt 1996, Trachtulec *et al.* 1997, 2005). V těchto místech byl později nalezen gen *Prdm9* (PR-domain 9), který kóduje histon H3 lyzin-4 trimetyltransferázu (Mihola *et al.* 2009). Další lokusy, které přispívají k hybridní sterilitě samců byly identifikovány na chromozomu X (Storchová *et al.* 2004; Oka *et al.* 2004, Good *et al.* 2008a). Hybridní sterilita samců vázaná na chromozom X je spojena s redukcí váhy varlat, menším počtem spermií a morfologickými abnormalitami hlaviček spermií (Storchová *et al.* 2004). Při mapování genů odpovědných za hybridní sterilitu samců bylo zjištěno, že je způsobena více geny na chromozomu X. Zároveň byla prokázána i porucha inaktivace chromozomu X ve spermatogenezi (Good *et al.* 2010). Geny pro hybridní sterilitu nejsou v populaci ještě fixované a jsou často polymorfní a prostorově se liší ve frekvenci (Britton-Davidian *et al.* 2005, Vyskočilová *et al.* 2005, 2009, Good *et al.* 2008b). V přírodě je absolutní sterilita vzácná nebo není (Britton-Davidian *et al.* 2005, Vyskočilová *et al.* 2005, Good *et al.* 2008b), ale velké procento samců (30%) má počet spermií nebo relativní váhu varlat nižší než rozmezí u čistých poddruhů, a pravděpodobně trpí sníženou plodností (Good *et al.* 2008b, Turner *et al.* 2011). Jestli dochází u hybridů mezi myšimi poddruhy také k abnormálnímu vývoji placent, jako u vzdálenějších druhů myší, nebylo zatím zkoumáno.

V hybridní zóně myší se hodně studuje, v kterých lokusech dochází ke genové introgresi z jednoho poddruhu do druhého, a identifikovaly se lokusy odpovědné za reprodukční izolaci, u kterých ke genové introgresi nedochází (Macholán *et al.* 2007, Teeter *et al.* 2008, 2010). Bylo zjištěno, že geny na pohlavních chromozomech X a Y jsou více pod selekcí než geny na autozomech (Dod *et al.* 1993, Payseur *et al.* 2004, Macholán *et al.* 2007) a hrají tedy důležitou roli v reprodukční izolaci. Centrální část chromozomu X, která je odpovědná za hybridní sterilitu samců, je pod silnou selekcí (Payseur *et al.* 2004, Dufková *et al.* 2011, Macholán *et al.* 2011), což naznačuje, že by hybridní sterilita samců mohla hrát důležitou roli v reprodukční izolaci.

2 Hypotézy a cíle

Abnormality ve vývoji placent a s tím související poruchy růstu plodů byly pozorovány u mnoha savčích mezidruhových hybridů. U žádných ze studovaných druhů však v přírodě nedochází ke křížení a nebo se druhy kříží jen velmi vzácně. Není tedy jasné, zda se abnormality ve vývoji placent mezi druhy podílely na speciaci anebo jestli vznikly až po ukončení speciace (tj. po vytvoření kompletní reprodukční bariéry mezi druhy). Cílem mé diplomové práce bylo zjistit, zda se abnormální růst placent a plodů vyskytuje také u poddruhů myši domácí *Mus musculus musculus* a *M. m. domesticus*, které jsou v časně fázi speciace a v přírodě se kříží v oblasti úzké hybridní zóny. U kříženců mezi oběma poddruhy byla pozorovaná hybridní sterilita samců. Zjistíme tedy také, jestli hybridní sterilita samců a hybridní displázie placent spolu geneticky souvisí. Pokud ano měla by se hybridní displázie placent u hybridů mezi poddruhy myši domácí objevovat.

3 Materiál a metody

3.1 Zvířata a křížení

Pro svou práci jsem použila 4 inbrední kmeny myši domácí (*Mus musculus*). Konkrétně dva kmeny s genomem *Mus musculus domesticus* a dva kmeny s genomem *M. m. musculus*. Kmen PWD/Ph (dále jen PWD) je původem *M. m. musculus* (Gregorová & Forejt 2000). Původní pár byl odchycen blízko Prahy v Kunraticích (Česká republika) v roce 1972. Tento kmen je chován na Oddělení myši molekulární genetiky, Ústav molekulární genetiky AV ČR, Praha (Česká republika). Druhý kmen s genomem *M. m. musculus* je STUS (**StudenecSterile**). Rodičovský pár pochází ze Studence na Moravě (Česká republika) a odchycen byl v roce 2000 (Piálek *et al.* 2008). Kmen je chován na Oddělení populační biologie, Ústav biologie obratlovců, Studenec (Česká republika), stejně jako další kmen původem *M. m. domesticus* SCHEST (**SchwebenFertile**), jehož

rodičovský pár byl odchycen ve Schweben v Hassen (Německo) v roce 2007. Posledním použitým kmenem byl laboratorní kmen C57BL/6 (dále jen B6) s genomem převážně *M. m. domesticus*, který byl zakoupený od firmy Velaz.

Křížení PWD a B6 probíhala v chovech PřF UK Viničná 7. Ostatní křížení se odehrávala na oddělení populační biologie ve Studenci (Ústav biologie obratlovců Akademie věd ČR, Brno), kde se myši také pitvaly. Byly prováděny dva různé typy křížení: vnitropodruhové (B6 x SCHEST, SCHEST x B6, PWD x STUS, STUS x PWD) a mezipodruhové (B6 x PWD, PWD x B6, SCHEST x PWD, PWD x SCHEST). Vnitropodruhová křížení mezi dvěma kmeny stejného poddruhu byla prováděna, aby se vyloučil efekt inbrední deprese. U všech mezipodruhových křížení byla dříve zjištěna úplná sterilita F1 hybridních samců anebo alespoň snížená fertilita.

3.2 Určení hmotnosti plodu a placenty

Samice byly připouštěny ve stáří 2 – 10 měsíců a nikdy předtím nerodily. Samec byl k samici připouštěn vždy 1x týdně na 1 noc. Samice byla usmrcena dislokací páteře 18. den březosti. Při pitvě byly odstraněny plodové obaly a plod i placenta byly zváženy. Zároveň byl odebrán vzorek tkáně plodu pro analýzu pohlaví.

3.3 Genetické určování pohlaví plodu

3.3.1 Izolace DNA

Pro izolaci DNA byla použita metoda NaOH (Truett *et al.* 2000, Storchová *et al.* 2004). Malý kousek tkáně plodu byl přidán do 600 μ l 50 mM NaOH, poté zahříván po dobu 90 minut na 95°C, vortexován, stočen a neutralizován 50 μ l 1M Tris (pH=8). Po stočení na maximum po dobu 6 minut byla odebrána DNA a 10x naředěna pro následné použití na PCR.

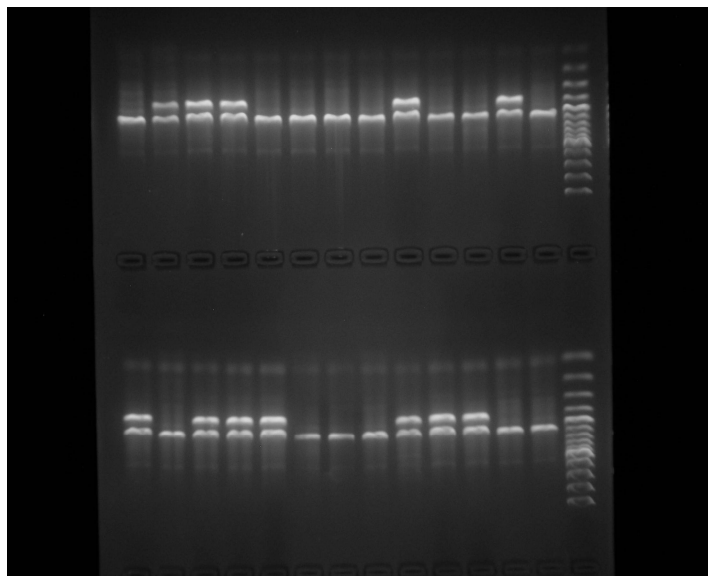
3.3.2 PCR a elektroforéza

Pro identifikaci pohlaví byla použita multiplex PCR amplifikace využívající dvou různých párů primerů. První pár primerů je specifický pro samce a amplifikuje gen Sry. Druhý pár primerů amplifikuje autozomální gen IL3 a sloužil jako kontrola PCR amplifikace pro všechny vzorky (Lambert *et al.* 2000). Celkový objem PCR pro 1 vzorek byl 20 μ l a reakce obsahovala 5 μ l 10x ředěné DNA, 0,01 μ l aTaq polymerázy (finální koncentrace 0,75 U), 0,8 μ l Sry primerů forward+reverse (finální koncentrace 0,2 μ M), 0,48 μ l primerů IL3 forward+reverse (finální koncentrace 0,12 μ M), 2 μ l dNTP (finální koncentrace 0,2 mM), 2 μ l 10x PCR pufru, 1,2 μ l MgCl₂ (finální koncentrace 1,5 mM) a 8,42 μ l PCR H₂O. Pro PCR amplifikaci byl použit termální cyklér (Biorad) s programem: 95°C na 4 min, pak následovalo 33 cyklů: 95°C na 35s, 50°C na 1 min a 72°C na 1 min. PCR cyklus produkt byl zakončen 75°C na 5 min. Produkt PCR se pouštěl na 1,5% agarózovém gelu. Pod UV světlem se poté zobrazoval buď jeden proužek pro samici a nebo dva proužky pro samce (*Obrázek 1*). Na gelu byl vždy jeden kontrolní samec a jedna kontrolní samice.

3.4 Statistika

Statistické analýzy a grafy byly dělány ve statistickém programu R. Pro statistické analýzy jsme použili lineární mixovaný model používající lmer funkci z R balíčku lme4 (R development core team 2005). Fixními efekty byly: typ křížení (vnitropodruhové a mezipodruhové), pohlaví každého plodu a průměrná hmotnost těla samců a samic jednotlivých kmenů. Průměrná hmotnost těla samců a samic pro každý kmen byla určována z 6-21 dospělých jedinců 3-7 měsíců starých s průměrným věkem 133-156 dní (*Tabulka 1*). Jako náhodný efekt byla použita identita vrhu, aby kontrolovala korelaci mezi vrhy. Pro zobrazení grafů byl využit balíček sciplot funkce bargraph.CI neboli sloupcový graf s konfidenčními intervaly.

Obrázek 1: Genetické určení pohlaví plodů. Na obrázku jsou PCR produkty pro samce specifického *Sry* genu a v obou pohlaví přítomného autozomálního genu *IL3*. Samci jsou tedy charakterizováni dvěma proužky, zatímco samice jen jedním.



Tabulka 1: Průměrné hmotnosti samců a samic u použitých inbredních kmenů.

Kmen	Druh	Pohlaví	Hmotnost těla (g)
B6	<i>M. m. domesticus</i>	samec	26.79
		samice	25.95
SCHEST	<i>M. m. domesticus</i>	samec	28.57
		samice	28.17
PWD	<i>M. m. musculus</i>	samec	17.72
		samice	17.46
STUS	<i>M. m. musculus</i>	samec	17.52
		samice	16.57

4 Výsledky

Abychom zjistili, zda dochází k abnormálnímu růstu plodů a abnormálnímu vývoji placent, vážili jsme plody a placenty o celkovém počtu 281 plodů patřících do 41 vrhů

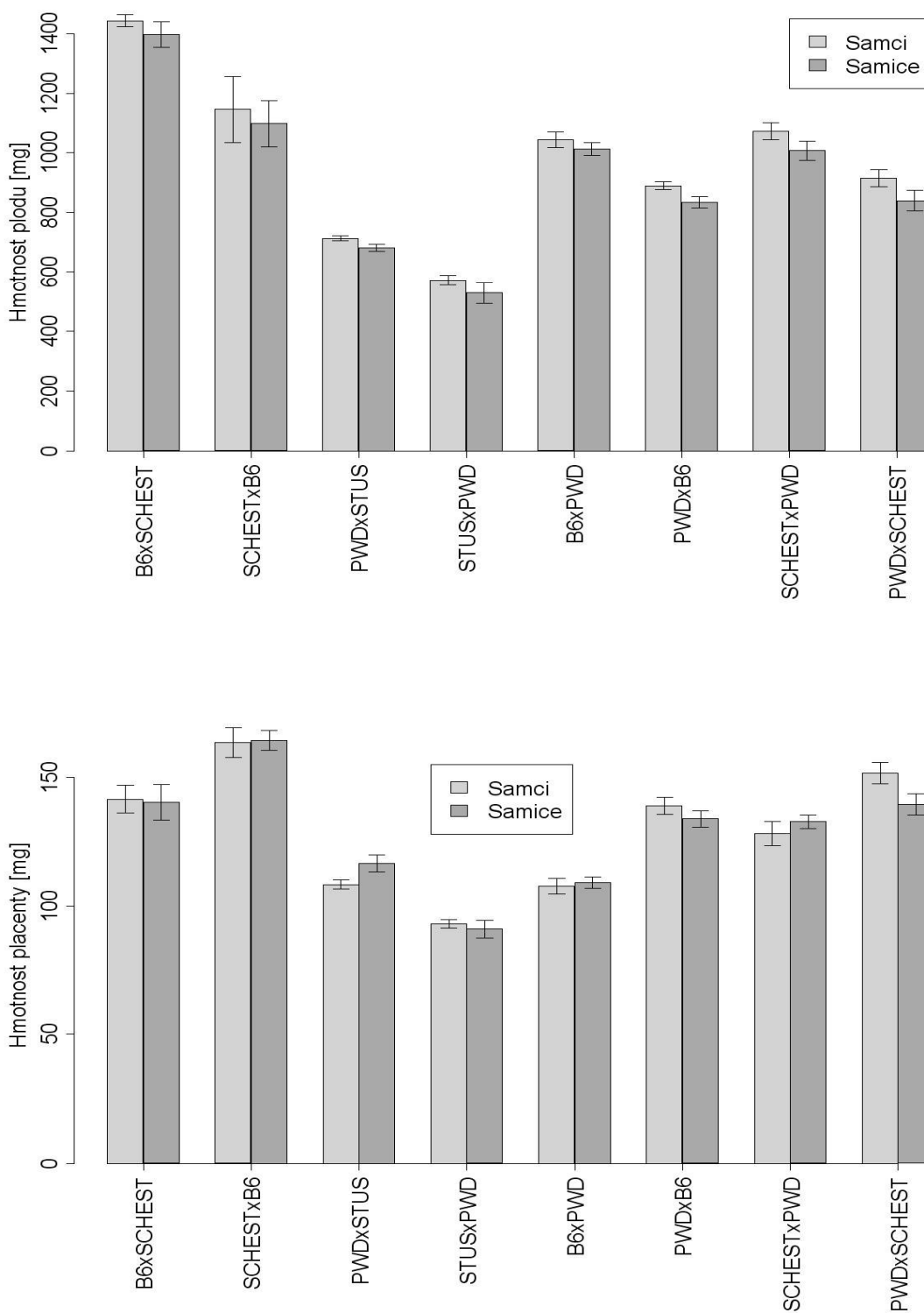
a dvou různých typů křížení (vnitropoddruhové a mezipoddruhové). Vyloučili jsme dva vrhy, které obsahovaly jen jeden plod, a 7 plodů, které byly značně menší a ukazovaly znaky resorpce a nebo měly výrazně abnormální placentu. Finální soubor dat obsahuje tedy 272 plodů patřících do 39 vrhů (*Tabulka 2, Příloha 1*). Genetické určení pohlaví

Tabulka 2: Počet vrhů, plodů a poměr pohlaví u provedených křížení. Odchylka od očekávaného poměru pohlaví 1:1 byla testována pomocí chi-square testu.

Křížení	Vrhy	Plody	Samci	Samice	Poměr samců a	
					samic	p value
B6 x SCHEST	5	33	16	17	0,94	0,9020
SCHEST x B6	4	16	8	8	1,00	1,0000
PWD x STUS	5	46	24	22	1,09	0,8348
STUS x PWD	5	26	18	8	2,25	0,1576
B6 x PWD	5	39	17	22	0,77	0,5705
PWD x B6	5	35	19	16	1,19	0,7197
SCHEST x PWD	5	38	20	18	1,11	0,8185
PWD x SCHEST	5	39	21	18	1,17	0,7339

plodů ukázalo, že 129 jedinců jsou samice a 143 jedinců samci. Poměr pohlaví nebyl signifikantně odlišný od poměru 1:1 v žádném z osmi křížení (chi-square test, $p > 0.05$, *Tabulka 2*). Srovnání hmotností plodů a placent mezi různými kříženími ukázalo, že vnitropoddruhové křížení mezi dvěma kmeny *M. m. domesticus* (B6xSCHEST, SCHESTxB6) mělo větší plody a placenty než vnitropoddruhová křížení mezi kmeny *M. m. musculus* (PWDxSTUS, STUSxPWD) (*Obrázek 2*). Tento trend je v souladu s tím, že kmeny odvozené od *M. m. domesticus* jsou větší než kmeny odvozené od *M. m. musculus* (*Tabulka 1*). Mezipoddruhová křížení byla charakteristická hmotnostmi plodů a placent v rozmezí mezi hodnotami pozorovanými u vnitrodruhových křížení (*Obrázek 2*). To ukazuje, že hybridy mezi myšimi poddruhy nevykazují abnormálně velké nebo malé placenty jako bylo pozorováno u hybridů mezi vzdálenějšími druhy myší (Zechner *et al.* 1996).

Obrázek 2: Hmotnost plodů a placent u provedených křížení. Fousky ukazují konfidenční intervaly. První čtyři křížení zleva jsou vnitropoddruhová (z toho první dvě pro *M. m. domesticus* a další dvě pro *M. m. musculus*), další čtyři křížení jsou mezipoddruhová.



Pro detekci méně výrazných změn v růstu plodu a placenty u mezipoddruhových křížení v porovnání s vnitropoddruhovými kříženími jsme použili lineární mixovaný model s random efektem identita vrhu a fixními efekty typ křížení (vnitropoddruhové nebo mezipoddruhové), pohlaví plodu (samci a samice) a průměrná hmotnost rodičovského kmene (hmotnost otce a hmotnost matky podle *Tabulky 1*). Zahrnutí průměrné hmotnosti rodičovských kmenů do modelů nám dovolí kontrolovat efekt váhy těla rodičů na hmotnost plodu a placenty. Výsledky statistických testů jsou shrnuty v *Tabulce 3* a *4*. Našli jsme signifikantní efekt hmotnosti maternálního kmene na hmotnost plodu ($P < 0,0001$) stejně tak i pro hmotnost placenty ($P = 0,0008$). Hmotnost otcovského kmene má také signifikantní efekt pro hmotnost plodu ($P < 0,0001$) i hmotnost placenty ($P < 0,0001$). Zajímavé je, že hmotnost plodu je více ovlivněna hmotností maternálního kmene než hmotností otcovského kmene (*Tabulka 3*). Naopak hmotnost placenty je více ovlivněna hmotností paternálního

Tabulka 3: Vliv hmotnosti rodičů, typu křížení a pohlaví plodu na hmotnost plodu. Výsledky byly získány pomocí lineárního mixovaného modelu s náhodným efektem identita vrhu v programu R.

	F	Df	P
hmotnost matky	68,88	1,267	<0,0001
hmotnost otce	30,36	1,267	<0,0001
typ křížení	0,11	1,267	0,7428
pohlaví plodu	7,48	1,267	0,0067

Tabulka 4: Vliv hmotnosti rodičů, typu křížení a pohlaví plodu na hmotnost placenty. Výsledky byly získány pomocí lineárního mixovaného modelu s náhodným efektem identita vrhu v programu R.

	F	Df	P
hmotnost matky	11,39	1,267	0,0008
hmotnost otce	63,20	1,267	<0,0001
typ křížení	1,32	1,267	0,2510
pohlaví plodu	2,53	1,267	0,1127

kmene než hmotností kmene matky (*Tabulka 4*). Nejistili jsme signifikantní efekt typu křížení na hmotnost plodu ($P=0,7428$) ani placenty ($P=0,2510$). Pohlaví plodu mělo vliv na hmotnost plodu ($P=0,0067$), ale nemělo vliv na hmotnost placenty ($P=0,1127$). Samčí plody jsou větší u všech křížení u vnitrodruhových i mezidruhových (*Obrázek 2*). Stejný výsledek nám vycházel, ať bylo pořadí proměnných v modelu jakékoliv.

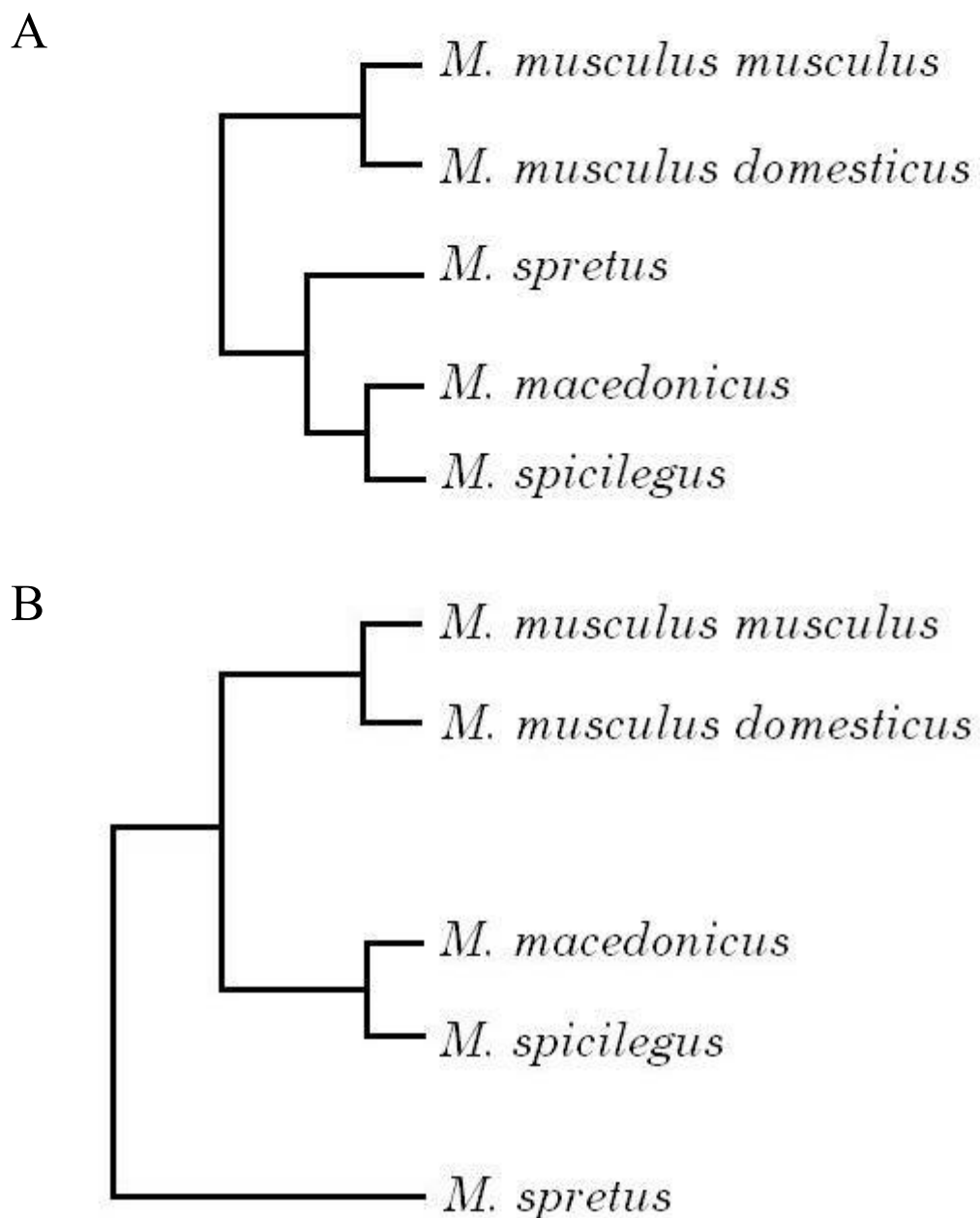
5 Diskuze

Při křížení mezi různými druhy myši rodu *Mus* bylo prokázáno, že dochází k poruchám při vývoji placenty a plodu (Zechner *et al.* 1996). Konkrétně tomu tak bylo při křížení druhu *M. musculus* s jedním z druhů *M. spretus*, *M. macedonicus* nebo *M. spicilegus*. Ve své diplomové práci jsem testovala, jestli k podobným abnormalitám dochází také při křížení mezi dvěma poddruhy myši domácí (*M. musculus musculus* a *M. m. domesticus*), které se v přírodě kříží v oblasti úzké hybridní zóny. Zjistila jsem, že po odfiltrování hmotnosti matky a otce není žádný průkazný rozdíl ve velikosti placenty ani plodů u mezipoddrhových a vnitropoddrhových křížení. Tyto výsledky ukazují, že abnormality ve vývoji placent nepřispívají ke vzniku reprodukční izolace mezi dvěma poddruhy myši domácí.

Otázkou zůstává, jestli hybridní displázie placent přispívá k jiným speciálním událostem v rodu *Mus*. Například tam, kde se měnil reprodukční systém. Poddruhy *M. m. musculus* a *M. m. domesticus* jsou oba sociálně polygynní (Patris & Baudoin 2000, Dobson & Baudoin 2002, Patris *et al.* 2002, Cassaing & Isaac 2007, Frynta *et al.* 2009, Cassaing *et al.* 2010) s relativně vysokou mírou mimopárové paternity (asi 20%) a přítomností mnohočetné paternity mláďat v rámci jednoho vrhu (Dean *et al.* 2006). Je u nich tedy možnost vzniku rodičovských konfliktů ohledně výživy jednotlivých plodů v rámci jednoho vrhu. Naopak, druhy *M. spretus*, *M. macedonicus* a *M. spicilegus* jsou považovány za sociálně monogamní (Patris & Baudoin 2000, Dobson & Baudoin 2002, Patris *et al.* 2002, Cassaing & Isaac 2007, Frynta *et al.* 2009, Cassaing *et al.* 2010). Abnormality ve vývoji placent byly pozorovány vždy při křížení mezi sociálně polygynním druhem s relativně vysokou mírou mimopárové paternity (tj. genetická polyandrie) a monogamním druhem. Je možné, že abnormality ve vývoji placent

přispívaly ke vzniku reprodukční izolace, alespoň při speciálních událostech, kde došlo ke změně reprodukčního systému. V současné době jsou dva uznávané fylogenetické stromy, které se liší v umístění *M. spretus*. *M. spretus* může být buď sesterský druh k *M. macedonicus* - *M. spicilegus* (Obrázek 3; Suzuki *et al.* 2004) nebo sesterský druh k *M. macedonicus* - *M. spicilegus* a *M. musculus* (Obrázek 3; Lundrigan *et al.* 2002, Chevret *et al.* 2005). Zdá se tedy, že k přechodu od monogamie k sociální polygynii

Obrázek 3: Fylogenetický strom vybraných druhů myši rodu *Mus* (A) podle Suzuki *et al.* (2004) (B) podle Lundrigan *et al.* (2002) a Chevret *et al.* (2005).



s relativně vysokou mírou mimopárové paternity mohlo dojít jen jednou při oddělení *M. musculus* od ostatních druhů myši. Je ale také možné, že abnormality ve vývoji placent vznikají u myši až po dokončení reprodukční izolace mezi druhy a ke speciaci nepřispívají. Bylo by zajímavé zjistit, jestli se hybridní displázie placent vyskytuje při křížení mezi monogamními druhy, tj. *M. macedonicus*, *M. spicilegus* a *M. spretus*.

I u *Peromyscus* byly abnormality ve vývoji placenty a plodu pozorované mezi monogamním *P. polionotus* a polyandrickým *P. maniculatus* (Rogers & Dawson 1970). U křížení, kde byl samec *P. maniculatus*, který je polyandrický, docházelo k přerůstání plodů a placent. U křížení, kde byl samec monogamní, docházelo ke zmenšení placenty a plodu. Také u myši při křížení, kde je samec *M. musculus*, u kterého je přítomna mnohočetná paternita mláďat v rámci jednoho vrhu, je pozorováno zvětšení placenty. Naopak při křížení, kde je samec *M. spretus*, *M. macedonicus* nebo *M. spicilegus* s monogamním způsobem rozmnožování, je placenta zmenšená (Zechner *et al.* 1996).

V kříženích mezi druhem *M. musculus* a jedním z druhů *M. macedonicus*, *M. spicilegus* a *M. spretus*, se kromě hybridní displázie placent objevuje také hybridní sterilita samců. Je zajímavé, že při vzniku obou fenotypů hraje klíčovou roli chromozom X. Navíc geny odpovědné za oba fenotypy mapují do stejných oblastí chromozomu X. Je tedy možné, že by hybridní sterilita samců a hybridní placentální displázie mohly mít stejnou či podobnou genetickou podstatu, která by mohla souviset s epigenetickou inaktivací chromozomu X ve spermatogenezi a placentě, kde je inaktivován vždy paternální chromozom X (Hemberger *et al.* 1999, Elliott *et al.* 2001). Při křížení poddruhů myši domácí *M. m. musculus* a *M. m. domesticus* byla také pozorována hybridní sterilita samců, která je způsobena geny na chromozomu X (Storchová *et al.* 2004; Good *et al.* 2008a, 2010). Naše výsledky, které ukazují, že mezi poddruhy myši domácí *M. m. musculus* a *M. m. domesticus* není hybridní displázie placent, naznačují, že oba fenotypy vznikají nezávisle a mají tedy také pravděpodobně jinou genetickou podstatu.

Pozorovali jsme, že existuje rozdíl ve velikosti mezi samčími a samičími plody již 18tý den prenatalního vývoje. Samci jsou v tomto stádiu signifikantně větší než samice. Již dříve bylo zjištěno, že samci po narození jsou signifikantně větší než samice (Haisová-Slábová *et al.* 2010). Tento jev ovšem začátkem postnatálního vývoje mizí. V dospělosti jsou samci opět větší než samice (Haisová-Slábová *et al.* 2010).

Rozdíl ve velikosti placenty v závislosti na pohlaví plodu nebyl v křížení mezi poddruhy myši domácí pozorován. Naopak, při křížení mezi *M. musculus* a *M. spretus*

bylo zjištěno, že se liší velikost placenty u hybridů mezi pohlavími (Zechner *et al.* 1996). Samičí placenty jsou větší než samčí, ale extrémně velké placenty jsou pouze u samců. Tyto rozdíly jsou pravděpodobně způsobeny interakcemi s chromozomem Y (Hemberger *et al.* 2001).

Statistické analýzy našich dat ukázaly, že zatímco hmotnost otce má větší vliv na hmotnost placenty, matka více ovlivňuje hmotnost plodu. Podobně vychází i výsledky pro gynogenetická a androgenetická embrya. Normálně obsahuje jádro buňky jednu sadu chromozomů od samice (matky) a druhou sadu od samce (otce). U myši bylo pozorováno, že když embryo nese dvě sady chromozomů maternálního původu (gynogenetické/partenogenetické) nebo dvě sady chromozomů paternálního původu (androgenetické), nedožije se narození (Mcgrath & Solter 1984, Surani *et al.* 1984). Androgenetické embryo je malé s přerostlou extraembryonální tkání (včetně abnormálně velké placenty). Preimplantační vývoj těchto embryí je více méně normální. Gynogenetické embryo je malé (růstová retardace) a extraembryonální tkáň je extrémně malá/nevyvinutá, a proto embrya umírají pár dní po implantaci. Maternálně exprimované geny tedy kontrolují hlavně vývoj embrya a geny exprimované z paternální alely kontrolují hlavně vývoj placenty a trofoblastu. To je v souladu s našimi výsledky. Bylo ukázáno, že za neživotaschopnost androgenetických a gynogenetických embryí jsou odpovědné imprintované geny, které jsou exprimované buď jen z maternální či paternální alely (Surani *et al.* 1984). Mnoho imprintovaných genů ovlivňuje růst, morfologii a kapacitu placenty pro transfer živin od matky k plodu a růst plodu (Miozzo & Simoni 2002, Tycko & Morison 2002, Piedrahita 2011). Zdá se, že maternálně exprimované geny většinou potlačují růst (tedy fungují jako růstové supresory) zatímco paternálně exprimované geny slouží jako promotory pro růst. Například pro růst plodu myši jsou důležité geny *Igf2* a *Igf2r* (Wang *et al.* 1994, Ludwig *et al.* 1996, Eggenschwiler *et al.* 1997, Tycko & Efstratiadis 2002, Fowden 2003). *Igf2* gen, který kóduje insuline-like growth faktor II, je normálně exprimovaný z paternální alely. Pokud není exprimován ani z jedné alely dochází k růstové retardaci. Naopak pokud není exprimován *Igf2r*, který je normálně maternálně exprimovaný, dochází k přerůstání. Tyto geny mají antagonistický účinek a proto se navzájem udržují v rovnováze. Dalšími imprintovanými geny které hrají roli při vývoji placenty a plodu jsou například *Peg3*, *Mest*, *Grb10* (Curley *et al.* 2004, Lefebvre *et al.* 1998, Charalambous *et al.* 2010). Dá se předpokládat, že za větší vliv matky na hmotnost plodu a otce na hmotnost placenty mohou být odpovědné také imprintované geny.

6 Závěr

Kříženci mezi poddruhy myši domácí (*Mus musculus musculus* a *M. m. domesticus*) nevykazují abnormality ve vývoji placenty ani plodu. Abnormality v prenatálním vývoji vzniklé v důsledku genomových konfliktů tedy nepřispívají ke speciaci u poddruhů *M. musculus*, které jsou v časně fázi speciace. Zajímavé by bylo zjistit jestli hybridní displázie placent přispívala k jiným speciálním událostem v rodu *Mus*. Například tam, kde se měnil reprodukční systém, tj. při oddělení myši domácí, *M. musculus*, která je sociálně polygynní s mimopárovou paternitou od ostatních druhů myši, *M. spretus*, *M. macedonicus*, *M. spicilegus*, které mají spíše monogamní způsob rozmnožování. Je ale také možné, že abnormality ve vývoji placent vznikají až po dokončení speciace jako důsledek genetické divergence druhů a nepřispívají ke speciaci. Zajímavé by bylo také zjistit jestli k abnormalitám v prenatálním vývoji dochází i při křížení monogamních druhů. Naše výsledky také ukazují, že genetická podstata hybridní sterility samců a hybridní displázie placent u myši vzniká nezávisle a má tedy pravděpodobně jinou genetickou podstatu. Samčí plody jsou 18tý den prenatálního vývoje větší než samičí. Hmotnost placenty se mezi pohlavími nelišila. Zajímavým výsledkem mé diplomové práce je zjištění, že hmotnost placenty u hybridů je více ovlivněna otcem, zatímco hmotnost plodu více ovlivňuje matka. Za tento jev by mohly být odpovědné imprintované geny. Zjištěný jev také naznačuje, že rodičovské konflikty ohledně výživy potomků jsou u myši domácí přítomny.

7 Literární přehled

- Allen, W. R., Skidmore, J. A., Stewart, F. and Antczak, D. F. 1993. Effect of fetal genotype and uterine environment on placental development in equids. *J Reprod Fert* **97**: 55-60
- Anthony, R. V., Pratt, S. L., Liang, R. and Holland, M. D. 1995. Placental-fetal hormonal interaction: impact on fetal growth. *J Anim Sci* **73**: 1861-1871
- Auffray J.-C., Vanlerberghe, F. and Britton-Davidian, J. 1990. The house mouse progression in Eurasia: a paleontological and archaeozoological approach. *Biol J Linn Soc* **41**: 13-25
- Barton, N. H. and Hewitt, G. M. 1985. Analysis of hybrid zones. *Ann Rev Ecol Syst* **16**: 113-148
- Bird, A. P. and Wolffe, A. P. 1999. Methylation-induced repression-belts, braces, and chromatin. *Cell* **99**: 451-454
- Birdsall, D. A. and Nash, D. 1973. Occurrence of successful multiple insemination of females in natural populations of deer mice (*Peromyscus maniculatus*). *Evolution* **27**: 106-110
- Bímová, B., Albrecht, T., Macholán, M. and Piálek, J. 2009. Signalling components of the house mouse mate recognition system. *Behav Process* **80**: 20-27
- Bímová, B., Karn, R. C. and Piálek, J. 2005. The role of salivary androgen-binding protein in reproductive isolation between two subspecies of house mouse: *Mus musculus musculus* and *Mus musculus domesticus*. *Biol J Linn Soc* **84**: 349-361
- Bímová, B. V., Macholán, M., Baird, S. J. E., Munclinger, P., Dufková, P., Laukaitis, C. M., Karn, R. C., Luzynski, K., Tucker, P. K. and Piálek, J. 2011. Reinforcement selection acting on the European house mouse hybrid zone. *Mol Ecol* **20**: 2403-2424
- Blair W. F. 1950. Ecological factors in speciation of *Peromyscus*. *Evolution* **4**: 253-275
- Boursot, P., Auffray J.-C., Britton-Davidian, J. and Bonhomme, F. 1993. The evolution of house mice. *Annu Rev Ecol Syst* **24**: 119-152
- Brandeis, M., Kafri, T., Ariel, M., Chaillet, J. R., McCarrey, J., Razin, A. and Cedar, H. 1993. The ontogeny of allele-specific methylation associated with imprinted genes in the mouse. *EMBO J* **12**: 3669-3677

- Britton-Davidian, J., Fel-Clair, F., Lopez, J., Alibert, P. and Boursot, P. 2005. Postzygotic isolation between the two European subspecies of the house mouse: estimates from fertility patterns in wild and laboratory-bred hybrids. *Biol J Linn Soc* **84**: 379-393
- Brown, J. D., Golden, D. and O'Neil, R. J. 2008. Methylation perturbations in retroelements within the genome of a *Mus* interspecific hybrid correlate with double minute chromosome formation. *Genomics* **91**: 267-273
- Brown, J. D., Piccuillo, V. and O'Neil, R. J. 2012. Retroelement demethylation associated with abnormal placentation in *Mus musculus* x *Mus caroli* hybrids. *Biol Reprod* **86** (3): 88
- Brown, J. D., Strbuncelj, M., Giardina, C. and O'Neil, R. J. 2002. Interspecific hybridization induced amplification of *Mdm2* on double minutes in a *Mus* hybrid. *Cytogenet Genome Res* **98**: 184-188
- Bushell, C., Spielman, M. and Scott, R. J. 2003. The basis of natural and artificial postzygotic hybridization barriers in *Arabidopsis* species. *Plant Cell* **15**: 1430-1442
- Carter, A. M. and Enders, A. C. 2004. Comparative aspects of trophoblast development and placentation. *Reproductive Biol Endocrinol* **2**: 46
- Cassaing, J., Cervera, S. and Isaac, F. 2010. Laboratory and field evidence of paternal care in the Algerian mouse (*Mus spretus*). *J Ethol* **28**: 7-13
- Cassaing, J. and Isaac, F. 2007. Pair bonding in the wild mouse *Mus spretus*: inference on the mating system. *C R Biol* **330**: 828-836
- Champagne, F. A., Curley, J. P., Swaney, W. T., Keverne, E. B. and Hasen, N. S. 2009. Paternal influence on female behavior: the role of *Peg3* in exploration, olfaction, and neuroendocrine regulation of maternal behavior of female mice. *Behav Neurosci* **123**: 469-480
- Charalambous, M., Cowley, M., Geoghegan, F., Smith, F. M., Radford, E. J., Marlow, B. P., Graham, C. F., Hurst, L. D. and Ward, A. 2010. Maternally-inherited *Grb10* reduces placental size and efficiency. *Dev Biol* **337**: 1-8
- Chevret, P., Veyrunes, F. and Britton-Davidian, J. 2005. Molecular phylogeny of the genus *Mus* (Rodentia: Murinae) based on mitochondrial and nuclear data. *Biol J Linn Soc* **84**: 417-427
- Coan, P. M., Burton, G. J. and Ferguson-Smith, A. C. 2005. Imprinted genes in the placenta – a review. *Placenta* **26 Suppl A**: S10-S20

- Constancia, M., Kelsey, G. And Reik, W. 2004. Resourceful imprinting. *Nature* **432**: 53-57
- Curley, J. P., Barton, S., Surani, A. and Keverne, E. B. 2004. Coadaptation in mother and infant regulated by a paternally expressed imprinted gene. *Proc Biol Sci* **271**: 1303-1309
- Dean, M. D., Ardlie, K. G. and Nachman, M. W. 2006. The frequency of multiple paternity suggests that sperm competition is common in house mice (*Mus domesticus*). *Mol Ecol* **15**: 4141-4151
- Dice, L. R. 1968. Speciation. In: *Biology of Peromyscus* (Ed. by J. A. King), pp. 75-97. Lawrence, Kansas: American Society of Mammalogists.
- Din, W., Anand, R., Boursot, P., Darviche, D., Dod, B., Jouvin-Marche, E., Orth, A., Talwar, G. P., Cazenave, P.-A., and Bonhomme, F. 1996. Origin and radiation of the house mouse: clues from nuclear genes. *J Evol Biol* **9**: 519-539
- Dobson, F. S. and Baudoin, C. 2002. Experimental tests of spatial association and kinship in monogamous mice (*Mus spicilegus*) and polygynous mice (*Mus musculus domesticus*). *Can J Zool* **80**: 980-986
- Dod, B., Jermiin, L. S., Boursot, P., Chapman, V. H., Nielsen, J. T. and Bonhomme, F. 1993. Counterselection on sex chromosomes in the *Mus musculus* European hybrid zone. *J Evol Biol* **6**: 529-546
- Dufková, P., Macholán, M. and Piálek, J. 2011. Inference of selection and stochastic effects in the house mouse hybrid zone. *Evolution* **65** (4): 993-1010
- Eggenchwiler, J., Ludwig, T., Fisher, P., Leighton, P. A., Tilghman, S. M. and Efstratiadis, A. 1997. Mouse mutant embryos overexpressing IGF-II exhibit phenotypic features of the Beckwith–Wiedemann and Simpson–Golabi–Behmel syndromes. *Genes Dev* **11**: 3128-3142
- Elliott, R. W., Miller, D. R., Pearsall, R. S., Hohman, C., Zhang, Y., Poslinski, D., Tabaczynski, D. A. and Chapman, V. M. 2001. Genetic analysis of testis weight and fertility in an interspecies hybrid congenic strain for chromosome X. *Mamm Genome* **12**: 45-51
- Enders, A. C. and Carter, A. M. 2004. What can comparative studies of placental structure tell us? A review. *Placenta* **25 Suppl A**: S3-S9
- Foltz, D. W. 1981. Genetic evidence for long-term monogamy in a small rodent, *Peromyscus polionotus*. *Amer Natur* **117**: 665-675
- Forejt, J. 1996. Hybrid sterility in the mouse. *Trends Genet* **12**: 412-417

- Fowden A. L. 2003. The insuline-like growth factors and fetoplacental growth. *Placenta* **24**: 803-812
- Fowden, A. L., Sibley, C., Reik, W. and Constancia, M. 2006. Imprinted genes, placental development and fetal growth. *Horm Res* **65 Suppl 3**: 50-58
- Frels, W. I., Rossant, J. and Chapman, V. M. 1980. Intrinsic and extrinsic factors affecting the viability of *Mus caroli* x *M. musculus* hybrid embryos. *J Reprod Fert* **59**: 387-392
- Frynta, D., Slábová, M. and Vohralík, V. 2009. Why do male house mice have such small testes? *Zool Sci* **26 (1)**: 17-23
- Geraldes, A., Basset, P., Gibson, B., Smith, K. L., Harr, B., Yu, H.-T., Bulatova, N., Ziv, Y. and Nachman, W. 2008. Inferring the history of speciation in house mice from autosomal, X-linked, Y-linked and mitochondrial genes. *Mol Ecol* **17**: 5349-5363
- Gerlach, G. 1998. Impact of social ties of dispersal, reproduction and dominance in feral house mice (*Mus musculus domesticus*). *Ethology* **104**: 487-499
- Good, J. M., Dean, M. D. and Nachman, M. W. 2008a. A complex genetic basis to X-linked hybrid male sterility between two species of house mice. *Genetics* **179**: 2213-2228
- Good, J. M., Giger, T., Dean, M. D. and Nachman, M. W. 2010. Widespread overexpression of the X chromosome in sterile F1 hybrid mice. *PLoS Genet* **6 (9)**: e1001148
- Good, J. M., Handel, M. A. and Nachman, M. W. 2008b. Asymmetry and polymorphism of hybrid male sterility during the early stages of speciation in house mice. *Evolution* **62 (1)**: 50-65
- Gray, S. J., Jensen, S. P. and Hurst, J. L. 2000. Structural complexity of territories: preference, use of space and defence in commensal house mice, *Mus domesticus*. *Anim Behav* **60**: 765-772
- Gregorová, S. and Forejt, J. 2000. PWD/Ph and PWK/Ph inbred mouse strains of *Mus m. musculus* subspecies – a valuable resource of phenotypic variations and genomic polymorphism. *Folia Biol (Praha)* **46**: 31-42
- Haig, D. 1996. Placental hormones, genomic imprinting, and maternal-fetal communication. *J Evol Biol* **9**: 357-380

- Haisová-Slábová, M., Munclinger, P. and Frynta, D. 2010. Sexual size dimorphism in free-living populations of *Mus musculus* are male house mice bigger? *Acta Zool Hung* **56** (2): 139-151
- Haldane, J. B. S. 1922. Sex ratio and unisexual sterility in hybrid animals. *J Genet* **12**: 101-109
- Harper, M. I., Fosten, M. and Monk, M. 1982. Preferential paternal X inactivation in extraembryonic tissues of early mouse embryos. *J Embryol Exp Morph* **67**: 127-135
- Hemberger, M., Kurz, H., Orth, A., Otto, S., Lüttges, A., Elliott R., Nagy, A., Tan, S.-S., Tam, P., Zechner, U. and Fundele, R. H. 2001. Genetic and developmental analysis of X-inactivation in interspecific hybrid mice suggests a role for the Y chromosome in placental dysplasia. *Genetics* **157**: 341-348
- Hemberger, M. C., Pearsall, R. S., Zechner, U., Orth, A., Otto, S., Rüschemdorf, F., Fundele, R. and Elliott R. 1999. Genetic dissection of X-linked interspecific hybrid placental dysplasia in congenic mouse strains. *Genetics* **153**: 383-390
- Hu, J.-F., Pham, J., Dey, I., Li, T., Vu, T. H. and Hoffman, A. R. 2000. Allele-specific histone acetylation accompanies genomic imprinting of the insulin-like growth factor II receptor gene. *Endocrinology* **141**: 4428-4435
- Huh, J. H., Bauer, M. J., Hsieh, T.-F. and Fischer, R. L. 2008. Cellular programming of plant gene imprinting. *Cell* **132**: 735-744
- Jones, P. L., Veenstra, G. J. C., Wade, P. A., Vermaak, D., Kass, S. U., Landsberger, N., Strouboulis, J. and Wolffe, A. P. 1998. Methylated DNA MeCP2 recruit histone deacetylase to repress transcription. *Nat Genet* **19**: 187-191
- Josefsson, C., Dilkes, B. and Comai, L. 2006. Parent-dependent loss of gene silencing during interspecies hybridization. *Curr Biol* **16**: 1322-1328
- Jullien, P. E. and Berger, F. 2009. Gamete-specific epigenetic mechanisms shape genomic imprinting. *Curr Opin Plant Biol* **12**: 637-642
- Kafri, T., Ariel, M., Brandeis, M., Shemer, R., Urven, L., McCarrey, J., Cedar, H. and Razin, A. 1992. Developmental pattern of gene-specific DNA methylation in the mouse embryo and germ line. *Genes Dev* **6**: 705-714
- Kinoshita, T., Ikeda, Y. and Ishiawa, R. 2008. Genomic imprinting: a balance between antagonistic roles of parental chromosomes. *Semin Cell Dev Biol* **19**: 574-579

- Kurz, H., Zechner, U., Orth, A. and Fundele R. 1999. Lack of correlation between placenta and offspring size in mouse interspecific crosses. *Anat Embryol* **200**: 335-343
- Lambert, J.-F., Benoit, B. O., Covin, G. A., Carlson, J., Delville, Y. and Quesenberry, P. J. 2000. Quick sex determination of mouse fetuses. *J Neurosci Methods* **95**: 127-132
- Lefebvre, L., Viville, S., Barton, S. C., Ishino, F., Keverne, E. B. and Surani, M. A. 1998. Abnormal maternal behaviour and growth retardation associated with loss of the imprinted gene *Mest*. *Nat Genet* **20**: 163-169
- Li, E., Beard, C. and Jaenisch, R. 1993. Role for DNA methylation in genomic imprinting. *Nature* **366**: 362-365
- Li, L.-L., Keverne, E. B., Aparicio, S. A., Ishino, F., Barton, S. C. and Surani, M. A. 1999. Regulation of maternal behavior and offspring growth by paternally expressed *Peg3*. *Science* **284**: 330-333
- Li, Y and Behringer, R. R. 1998. *Esx1* is an X-chromosome-imprinted regulator of placental development and fetal growth. *Nat Genet* **20**: 309-311
- Li, Y, Lemaire, P. and Behringer, R. R. 1997. *Esx1*, a novel X chromosome-linked homeobox gene expressed in mouse extraembryonic tissues and male germ cells. *Dev Biol* **188**: 85-95
- Loschiavo, M., Nguyen, Q. K., Duselis, A. R. and Vrana, P. B. 2007. Mapping and identification of candidate loci responsible for *Peromyscus* hybrid overgrowth. *Mamm Genome* **18**: 75-85
- Ludwig, T., Eggenschwiler, J., Fisher, P., D'Ercole, A. J., Davenport, M. L. and Efstratiadis, A. 1996. Mouse mutants lacking the type 2 IGF receptor (IGF2R) are rescued from perinatal lethality in *Igf2* and *Igf1r* null backgrounds. *Dev Biol* **177**: 517-535
- Lundrigan, B. L., Jansa, S. A. and Tucker, P. K. 2002. Phylogenetic relationships in the genus *Mus*, based on paternally, maternally, and biparentally inherited characters. *Syst Biol* **51** (3): 410-431
- Lyon, M. F. 1961. Sex chromatin and gene action in the mammalian X-chromosome. *Am J Hum Genet* **14**: 135-148
- Macholán, M., Baird, S. J. E., Dufková, P., Muclinger, P., Bímová, B. V. and Piálek, J. 2011. Assessing multilocus introgression patterns: a case study on the mouse X chromosome in central europe. *Evolution* **65** (5): 1428-1446

- Macholán, M., Kryštufek, B. and Vohralík, V. 2003. The location of the *Mus musculus/M. domesticus* hybrid zone in the Balkans: clues from morphology. *Acta Theriol* **48**: 177-188
- Macholán, M., Munclinger, P., Šugerková, M., Dufková, P., Bímová, B., Božíková, E., Zima, J. and Piálek, J. 2007. Genetic analysis of autosomal and X-linked markers across a mouse hybrid zone. *Evolution* **61** (4): 746-771
- McGrath, J. and Solter, D. 1984. Completion of mouse embryogenesis requires both the maternal and paternal genomes. *Cell* **37**: 179-183
- Mihola, O., Trachtulec, Z., Vlcek, C., Schimenti, J. C. and Forejt, J. 2009. A mouse speciation gene encodes a meiotic histone H3 methyltransferase. *Science* **323**: 373-375
- Miozzo, M. and Simoni, G. 2002. The role of imprinted genes in fetal growth. *Biol Neonate* **81**: 217-228
- Mochizuki, A., Takeda, Y. and Iwasa, Y. 1996. The evolution of genomic imprinting. *Genetics* **144**: 1283-1295
- Morison, I. M., Ramsay, J. P. and Spencer, H. G. 2005. A census of mammalian imprinting. *Trends Genet* **21**: 457-465
- Oka, A., Mita, A., Sakurai-Yamatani, N., Yamamoto, H., Takagi, N., Takano-Shimizu, T., Toshimori, K., Moriwaki, K. and Shiroishi, T. 2004. Hybrid breakdown caused by substitution of the X chromosome between two mouse subspecies. *Genetics* **166**: 913-924
- Patris, B. and Baudoin, C. 2000. A comparative study of parental care between two rodent species: implications for the mating system of the mound-building *Mus spicilegus*. *Behav Process* **51**: 35-43
- Patris, B., Gouat, P., Jacquot, C., Christophe, N. and Baudoin, C. 2002. Agonistic and sociable behaviors in the mound-building mice, *Mus spicilegus*: A comparative study with *Mus musculus domesticus*. *Aggress Behav* **28**: 75-84
- Paulsen, M., El-Maarri, O., Engelman, S., Strödicke, M., Franck, O., Davies, K., Reinhardt, R., Reik, W. and Walter, J. 2000. Sequence conservation and variability of imprinting in the Beckwith-Wiedemann syndrom gene cluster in human and mouse. *Hum Mol Genet* **9**: 1829-1841
- Payseur, B. A., Krenz, J. G. and Nachman, M. W. 2004. Differential patterns of introgression across the X chromosome in a hybrid zone between two species of house mice. *Evolution* **58** (9): 2064-2078

- Pedone, P. V., Pikaart, M. J., Cerrato, F., Vernucci, M., Ungaro, P., Bruni, C. B. and Riccio, A. 1999. Role of histone acetylation and DNA methylation in the maintenance of the imprinted expression of the *H19* and *Igf2* genes. *FEBS Lett* **458**: 45-50
- Piálek, J., Vyskočilová, M., Bimová, B., Havelková, D., Piálková, J., Dufková, P., Bencová, V., Ďureje, L., Albrecht, T., Hauffe, H. C., Macholán, M., Munclinger, P., Storchová, R., Zajícová, A., Holáň, V., Gregorová, S. and Forejt, J. 2008. Development of unique house mouse resources suitable for evolutionary studies of speciation. *J Hered* **99** (1): 34-44
- Piedrahita, J. A. 2011. The role of imprinted genes in fetal growth abnormalities. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* **91**: 682-692
- Reik, W., Constancia, M., Fowden, A., Anderson, N., Dean, W., Ferguson-Smith, A., Tycko, B. and Sibley, C. 2003. Regulation of supply and demand for maternal nutrients in mammals by imprinted genes. *J Physiol* **547**: 35-44
- Reik, W. and Walter, J. 2001. Genomic imprinting: parental influence on the genome. *Nat Rev Genet* **2**: 21-32
- Ridley, M. 1999. Červená královna, Sexualita a vývoj lidské přirozenosti. Mladá fronta
- Rogers, J. F. and Dawson, W. D. 1970. Foetal and placental size in a *Peromyscus* species cross. *J Reprod Fert* **21**: 255-262
- Rossant, J. and Cross, J. C. 2001. Placental development: lesson from mouse mutants. *Nat Rev Genet* **2**: 538-548
- Rusu, A. S., König, B. and Krackow, S. 2004. Pre-reproductive alliance formation in female wild house mice (*Mus domesticus*): the effects of familiarity and age disparity. *Acta Ethol* **6**: 53-58
- Sage, R. D., Atchley, W. R. and Capanna, E. 1993. House mice as models in systematic biology. *Syst Biol* **42** (4): 523-561
- Schütt, S., Florl, A. R., Hemberger, M., Orth, A., Otto, S., Schulz, W. A. and Fundele, R. H. 2003. DNA methylation in placentas of interspecies mouse hybrids. *Genetics* **165**: 223-228
- Shi, W., Lefebvre, L., Yu, Y., Otto, S., Krella, A., Orth, A. and Fundele, R. 2004. Loss-of-imprinting of *Peg1* in mouse interspecies hybrids is correlated with altered growth. *Genesis* **39**: 65-72

- Smadja, C., Catalan, J. and Ganem, G. 2004. Strong premating divergence in a unimodal hybrid zone between two subspecies of the house mouse. *J Evol Biol* **17**: 165-176
- Smadja, C. and Ganem, G. 2002. Subspecies recognition in the house mouse: a study of two populations from the border of a hybrid zone. *Behav Ecol* **13**: 312-320
- Stopková, R., Stopka, P., Janotová, K. and Jedelský, P. L. 2007. Species-specific expression of major urinary proteins in the house mice (*Mus musculus musculus* and *Mus musculus domesticus*). *J Chem Ecol* **33**: 861-869
- Storchová, R., Gregorová, S., Buckiová, D., Kyselová, V., Divina, P. and Forejt, J. 2004. Genetic analysis of X-linked hybrid sterility in the house mouse. *Mamm Genome* **15**: 515-524.
- Surani, M. A. H., Barton, S. C. and Norris, M. L. 1984. Development of reconstituted mouse eggs suggests imprinting of the genome during gametogenesis. *Nature* **308**: 548 – 550
- Suzuki, H., Shimada, T., Terashima, M., Tsuchiya, K. and Aplin, K. 2004. Temporal, spatial, and ecological modes of evolution of Eurasian *Mus* based on mitochondrial and nuclear gene sequences. *Mol Phylogenet Evol* **33**: 626-646
- Tada, T., Tada, M., Hilton, K., Barton, S. C., Sado, T., Takagi, N. and Surani, M. A. 1998. Epigenotype switching of imprintable loci in embryonic germ cells. *Dev Genes Evol* **207**: 551-561
- Talley, H. M., Laukaitis, C. M. and Karn, R. C. 2001. Female preference for male saliva: implications for sexual isolation of *Mus musculus* subspecies. *Evolution* **55** (3): 631-634
- Teeter, K. C., Payseur, B. A., Harris, L. W., Bakewell, M. A., Thibodeau, L. M., O'Brien, J. E., Krenz, J. G., Sans-Fuentes, M. A., Nachman, M. W. and Tucker, P. K. 2008. Genome-wide patterns of gene flow across a house mouse hybrid zone. *Genome Res* **18**: 67-76
- Teeter, K. C., Thibodeau, L. M., Gompert, Z., Buerkle, C. A., Nachman, M. W. and Tucker, P. K. 2010. The variable genomic architecture of isolation between hybridizing species of house mice. *Evolution* **64** (2): 472-485
- Trachtulec, Z., Mňuková-Fajdelová, M., Hamvas, R. M. J., Gregorová, S., Mayer, W. E., Lehrach, H. R., Vincek, V., Forejt, J. and Klein, J. 1997. Isolation of candidate hybrid sterility 1 genes by cDNA selection in a 1.1 megabase pair region on mouse chromosome 17. *Mamm Genome* **8**: 312-316

- Trachtulec, Z., Mihola, O., Vlcek, C., Himmelbauer, H., Pačes, V. and Forejt, J. 2005. Positional cloning of Hybrid sterility 1 gene: fine genetic mapping and evaluation of two candidate genes. *Biol J Linn Soc* **84**: 637-641
- Truett, G. E., Heeger, P., Mynatt, R. L., Truett, A. A., Walker, J. A. and Warman, M. L. 2000. Preparation of PCR-quality mouse genomic DNA with hot sodium hydroxide and tris (HotSHOT). *Biotechniques* **29** (1): 52-54
- Turner, J. M. A. 2007. Meiotic sex chromosome inactivation. *Development* **134**: 1823-1831
- Turner, J. M. A., Mahadevaiah, S. K., Elliott, D. J., Garchon, H.-J., Pehrson, J. R., Jeanisch, R. and Burgoyne, P. S. 2002. Meiotic sex chromosome inactivation in male mice with targeted disruptions of *Xist*. *J Cell Sci* **115**: 4097-4105
- Turner, L. M., Schwahn, D. J. and Harr, B. 2011. Reduced male fertility is common but highly variable in form and severity in a natural house mouse hybrid zone. *Evolution* **66** (2): 443-458
- Tycko, B. and Efstratiadis, A. 2002. Piece of cake. *Nature* **417**: 913-914
- Tycko, B. and Morison, I. M. 2002. Physiological functions of imprinted genes. *J Cell Physiol* **192**: 245-258
- Vielle-Calzada, J.-P., Thomas, J., Spillane, C., Coluccio, A., Hoepfner, M. A. and Grossniklaus, U. 1999. Maintenance of genomic imprinting at the *Arabidopsis medea* locus requires zygotic DDM1 activity. *Genes Dev* **13**: 2971-2982
- Vrana, P. B., Fossella, J. A., Matteson, P., del Rio, T., O'Neill, M. J. and Tilghman, S. M. 2000. Genetic and epigenetic incompatibilities underlie hybrid dysgenesis in *Peromyscus*. *Nat Genet* **25**: 120-124
- Vrana, P. B., Guan, X.-J., Ingram, R. S. and Tilghman, S. M. 1998. Genomic imprinting is disrupted in interspecific *Peromyscus* hybrids. *Nat Genet* **20**: 362-365
- Vyskočilová, M., Pražanová, G. and Piálek, J. 2009. Polymorphism in hybrid male sterility in wild derived *Mus musculus musculus* strains on proximal chromosome 17. *Mamm Genome* **20**: 83-91
- Vyskočilová, M., Trachtulec, Z., Forejt, J. and Piálek, J. 2005. Does geography matter in hybrid sterility in house mice? *Biol J Linn Soc* **84**: 663-674
- Wang, Z.-Q., Fung, M. R., Barlow, D. P. and Wagner, E. F. 1994. Regulation of embryonic growth and lysosomal targeting by the imprinted *Igf2/Mpr* gene. *Nature* **372**: 464-467

- West, J. D., Frels, W. I., Papaioannou, V. E., Karr, J. P. and Chapman, V. M. 1977. Development of interspecific hybrids of *Mus*. *J Embryol* **41**: 233-243
- Wiley, C. D., Matundan, H. H., Duselis, A. R., Isaacs, A. T. and Vrana, P. B. 2008. Patterns of hybrid loss of imprinting reveal tissue and cluster-specific regulation. *PlosOne* **3**: e3572
- Zechner, U., Reule, M., Burgoyne, P. S., Schubert, A., Orth, A., Hameister, H. and Fundele, R. 1997. Paternal transmission of X-linked placental dysplasia in mouse interspecific hybrids. *Genetics* **146**: 1399-1405
- Zechner, U., Reule, M., Orth, A., Bonhomme, F., Strack, B., Guénet, J.-L., Hameister, H. and Fundele, R. 1996. An X-chromosome linked locus contributes to abnormal placental development in mouse interspecific hybrids. *Nat Genet* **12**: 398-403
- Zechner, U., Shi, W., Hemberger, M., Himmelbauer, H., Otto, S., Orth, A., Kalscheuer, V., Fischer, U., Elango, R., Reis, A., Vogel, W., Ropers, H., Rüschenhoff, F. and Fundele, R. 2004. Divergent genetic and epigenetic post-zygotic isolation mechanisms in *Mus* and *Peromyscus*. *J Evol Biol* **17**: 453-460
- Zeh, J. A. and Zeh, D. W. 1996. The evolution of polyandry I: intragenomic conflict and genetic incompatibility. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* **263**: 1711-1717

8 Příloha

Příloha 1: Tabulka ukazující hmotnosti plodů a placent v jednotlivých kříženích.

číslo plodu	vrh	matka	otec	typ křížení	hmotnost plodu (mg)	hmotnost placenty (mg)	pohlaví
P003	L-003	B6	PWD	mezipoddruhové	1166	113	samice
P004	L-003	B6	PWD	mezipoddruhové	1105	123	samice
P005	L-003	B6	PWD	mezipoddruhové	1200	110	samec
P006	L-003	B6	PWD	mezipoddruhové	1097	97	samec
P007	L-003	B6	PWD	mezipoddruhové	1136	97	samice
P008	L-003	B6	PWD	mezipoddruhové	1022	103	samice
P024	L-006	PWD	B6	mezipoddruhové	856	135	samec
P025	L-006	PWD	B6	mezipoddruhové	898	120	samice
P026	L-006	PWD	B6	mezipoddruhové	869	134	samec
P027	L-006	PWD	B6	mezipoddruhové	821	136	samec
P028	L-006	PWD	B6	mezipoddruhové	846	129	samice
P029	L-006	PWD	B6	mezipoddruhové	817	133	samec
P030	L-006	PWD	B6	mezipoddruhové	835	125	samec
P040	L-008	PWD	B6	mezipoddruhové	771	149	samice
P042	L-008	PWD	B6	mezipoddruhové	792	137	samice
P043	L-008	PWD	B6	mezipoddruhové	620	128	samice
P044	L-008	PWD	B6	mezipoddruhové	816	148	samice
P045	L-008	PWD	B6	mezipoddruhové	775	149	samice
P064	L-007	PWD	B6	mezipoddruhové	965	173	samec
P065	L-007	PWD	B6	mezipoddruhové	796	130	samice
P066	L-007	PWD	B6	mezipoddruhové	920	150	samec
P067	L-007	PWD	B6	mezipoddruhové	871	142	samice
P068	L-007	PWD	B6	mezipoddruhové	867	145	samice
P077	L-015	B6	PWD	mezipoddruhové	1076	102	samice
P078	L-015	B6	PWD	mezipoddruhové	1052	106	samice
P079	L-015	B6	PWD	mezipoddruhové	1026	96	samec
P080	L-015	B6	PWD	mezipoddruhové	1099	95	samec
P081	L-015	B6	PWD	mezipoddruhové	913	92	samice
P082	L-015	B6	PWD	mezipoddruhové	1039	97	samice
P083	L-015	B6	PWD	mezipoddruhové	1118	105	samec
P084	L-015	B6	PWD	mezipoddruhové	1051	81	samec
P085	L-015	B6	PWD	mezipoddruhové	1047	105	samec
P086	L-015	B6	PWD	mezipoddruhové	1088	107	samice
P087	L-020	PWD	B6	mezipoddruhové	857	123	samec
P088	L-020	PWD	B6	mezipoddruhové	781	142	samec
P089	L-020	PWD	B6	mezipoddruhové	925	121	samice
P090	L-020	PWD	B6	mezipoddruhové	938	126	samec
P091	L-020	PWD	B6	mezipoddruhové	870	157	samec
P092	L-020	PWD	B6	mezipoddruhové	908	145	samice
P094	L-020	PWD	B6	mezipoddruhové	893	140	samice
P095	L-020	PWD	B6	mezipoddruhové	853	136	samec
P096	L-014	B6	PWD	mezipoddruhové	1086	113	samec

P097	L-014	B6	PWD	mezipoddruhové	1133	105	samec
P098	L-014	B6	PWD	mezipoddruhové	1075	101	samice
P099	L-014	B6	PWD	mezipoddruhové	1038	105	samice
P100	L-014	B6	PWD	mezipoddruhové	1068	110	samice
P101	L-014	B6	PWD	mezipoddruhové	1113	98	samec
P102	L-014	B6	PWD	mezipoddruhové	1074	122	samice
P103	L-014	B6	PWD	mezipoddruhové	1055	100	samec
P104	L-014	B6	PWD	mezipoddruhové	1049	116	samec
P105	L-018	PWD	B6	mezipoddruhové	962	130	samec
P106	L-018	PWD	B6	mezipoddruhové	859	127	samice
P107	L-018	PWD	B6	mezipoddruhové	868	139	samec
P108	L-018	PWD	B6	mezipoddruhové	895	148	samec
P109	L-018	PWD	B6	mezipoddruhové	975	112	samec
P110	L-018	PWD	B6	mezipoddruhové	914	107	samice
P111	L-018	PWD	B6	mezipoddruhové	886	132	samec
P112	L-018	PWD	B6	mezipoddruhové	987	149	samec
P113	L-018	PWD	B6	mezipoddruhové	804	125	samice
P114	L-018	PWD	B6	mezipoddruhové	952	160	samec
P141	L-017	B6	PWD	mezipoddruhové	1114	121	samice
P142	L-017	B6	PWD	mezipoddruhové	1104	113	samec
P143	L-017	B6	PWD	mezipoddruhové	977	132	samec
P144	L-017	B6	PWD	mezipoddruhové	805	125	samec
P145	L-017	B6	PWD	mezipoddruhové	987	103	samice
P146	L-017	B6	PWD	mezipoddruhové	1046	109	samice
P311	L-045	B6	PWD	mezipoddruhové	789	131	samice
P312	L-045	B6	PWD	mezipoddruhové	948	95	samice
P313	L-045	B6	PWD	mezipoddruhové	947	124	samice
P314	L-045	B6	PWD	mezipoddruhové	906	112	samice
P315	L-045	B6	PWD	mezipoddruhové	854	119	samice
P316	L-045	B6	PWD	mezipoddruhové	768	120	samec
P317	L-045	B6	PWD	mezipoddruhové	1009	121	samec
P318	L-045	B6	PWD	mezipoddruhové	856	111	samice
P559	L-073	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	779	128	samice
P560	L-073	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	778	118	samice
P561	L-073	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	764	111	samec
P562	L-073	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	851	157	samec
P563	L-073	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	805	153	samec
P564	L-073	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	832	137	samice
P565	L-073	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	860	132	samice
P566	L-073	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	752	114	samice
P567	L-073	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	925	170	samec
P568	L-073	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	906	150	samec
P569	L-074	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	964	204	samec
P570	L-074	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	934	138	samice
P571	L-074	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	959	125	samec
P572	L-074	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	825	135	samice
P573	L-074	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	948	124	samec
P574	L-074	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	827	125	samice
P575	L-075	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	1065	155	samice
P576	L-075	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	1012	116	samec
P577	L-075	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	962	133	samice
P578	L-075	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	1015	148	samice

P579	L-075	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	994	140	samice
P580	L-075	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	973	139	samec
P581	L-075	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	938	143	samice
P582	L-076	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1163	213	samice
P583	L-076	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1041	192	samice
P584	L-076	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1062	170	samice
P585	L-077	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1316	140	samec
P586	L-077	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1470	143	samice
P587	L-077	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1531	148	samec
P588	L-077	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1488	169	samec
P589	L-077	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1357	104	samice
P590	L-077	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1419	140	samice
P591	L-077	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1615	135	samice
P592	L-078	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	1007	161	samec
P593	L-078	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	1011	126	samec
P594	L-078	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	985	136	samec
P595	L-078	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	1015	144	samec
P596	L-078	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	1005	142	samec
P597	L-078	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	1008	133	samec
P598	L-078	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	958	138	samice
P599	L-078	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	872	133	samec
P600	L-078	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	1010	145	samice
P601	L-078	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	1042	166	samec
P602	L-079	PWD	STUS	vnitropoddruhové	692	122	samice
P603	L-079	PWD	STUS	vnitropoddruhové	696	110	samice
P604	L-079	PWD	STUS	vnitropoddruhové	692	113	samec
P605	L-079	PWD	STUS	vnitropoddruhové	723	108	samec
P606	L-079	PWD	STUS	vnitropoddruhové	625	102	samice
P607	L-079	PWD	STUS	vnitropoddruhové	706	101	samice
P608	L-079	PWD	STUS	vnitropoddruhové	696	114	samec
P609	L-079	PWD	STUS	vnitropoddruhové	634	93	samice
P610	L-079	PWD	STUS	vnitropoddruhové	622	108	samec
P611	L-080	SCHEST	B6	vnitropoddruhové	1497	184	samec
P612	L-080	SCHEST	B6	vnitropoddruhové	1258	151	samice
P613	L-080	SCHEST	B6	vnitropoddruhové	1570	154	samec
P614	L-081	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	900	117	samec
P615	L-081	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	1064	128	samec
P616	L-081	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	1015	119	samec
P617	L-081	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	1023	145	samec
P618	L-081	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	905	121	samice
P619	L-081	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	853	124	samec
P620	L-081	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	912	142	samice
P621	L-081	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	781	134	samice
P622	L-082	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1394	134	samice
P623	L-082	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1343	106	samice
P624	L-082	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1348	125	samice
P625	L-082	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1270	116	samec
P626	L-082	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1465	132	samec
P627	L-082	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1442	109	samice
P628	L-082	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1415	121	samec
P629	L-082	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1434	117	samec
P630	L-082	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1430	130	samice

P631	L-083	PWD	STUS	vnitropoddruhové	684	109	samice
P632	L-083	PWD	STUS	vnitropoddruhové	705	112	samec
P633	L-083	PWD	STUS	vnitropoddruhové	734	103	samec
P634	L-083	PWD	STUS	vnitropoddruhové	706	102	samec
P635	L-083	PWD	STUS	vnitropoddruhové	716	100	samec
P636	L-083	PWD	STUS	vnitropoddruhové	734	93	samec
P637	L-083	PWD	STUS	vnitropoddruhové	743	107	samec
P638	L-083	PWD	STUS	vnitropoddruhové	765	105	samice
P640	L-085	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1462	136	samice
P641	L-085	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1624	135	samice
P642	L-085	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1603	148	samice
P643	L-085	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1515	136	samec
P644	L-085	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1588	140	samice
P645	L-085	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1538	122	samec
P646	L-085	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1537	147	samec
P647	L-086	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1501	166	samec
P648	L-086	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1493	188	samec
P649	L-086	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1401	151	samec
P650	L-086	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1390	114	samec
P651	L-086	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1373	147	samec
P652	L-086	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1426	150	samec
P653	L-086	B6	SCHEST	vnitropoddruhové	1378	124	samice
P654	L-087	SCHEST	B6	vnitropoddruhové	1404	180	samec
P655	L-087	SCHEST	B6	vnitropoddruhové	1437	169	samice
P656	L-087	SCHEST	B6	vnitropoddruhové	1036	148	samec
P657	L-087	SCHEST	B6	vnitropoddruhové	1320	172	samice
P658	L-088	SCHEST	B6	vnitropoddruhové	1146	172	samec
P659	L-088	SCHEST	B6	vnitropoddruhové	1029	161	samice
P660	L-088	SCHEST	B6	vnitropoddruhové	863	167	samice
P661	L-088	SCHEST	B6	vnitropoddruhové	1075	155	samice
P662	L-089	PWD	STUS	vnitropoddruhové	618	123	samice
P663	L-089	PWD	STUS	vnitropoddruhové	576	117	samice
P664	L-089	PWD	STUS	vnitropoddruhové	635	125	samice
P665	L-089	PWD	STUS	vnitropoddruhové	672	110	samice
P666	L-089	PWD	STUS	vnitropoddruhové	679	102	samice
P667	L-089	PWD	STUS	vnitropoddruhové	703	129	samec
P668	L-089	PWD	STUS	vnitropoddruhové	706	95	samec
P669	L-089	PWD	STUS	vnitropoddruhové	727	108	samec
P670	L-089	PWD	STUS	vnitropoddruhové	721	142	samice
P671	L-090	PWD	STUS	vnitropoddruhové	656	123	samice
P672	L-090	PWD	STUS	vnitropoddruhové	652	105	samec
P673	L-090	PWD	STUS	vnitropoddruhové	573	129	samice
P674	L-090	PWD	STUS	vnitropoddruhové	654	142	samice
P675	L-090	PWD	STUS	vnitropoddruhové	717	121	samec
P676	L-090	PWD	STUS	vnitropoddruhové	708	126	samice
P677	L-090	PWD	STUS	vnitropoddruhové	828	147	samice
P678	L-090	PWD	STUS	vnitropoddruhové	710	130	samice
P679	L-090	PWD	STUS	vnitropoddruhové	767	116	samec
P680	L-090	PWD	STUS	vnitropoddruhové	729	119	samec
P681	L-091	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	1174	128	samice
P682	L-091	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	1074	115	samec
P683	L-091	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	1147	108	samice

P684	L-091	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	1165	123	samice
P685	L-091	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	1107	102	samec
P686	L-091	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	1220	120	samec
P687	L-091	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	1187	127	samice
P688	L-091	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	941	133	samice
P689	L-091	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	1099	107	samec
P690	L-091	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	1104	129	samec
P691	L-092	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	1267	129	samec
P692	L-092	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	1154	133	samice
P693	L-092	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	1154	116	samec
P694	L-092	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	1212	130	samec
P695	L-092	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	1265	133	samec
P696	L-092	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	1207	124	samice
P697	L-092	SCHEST	PWD	mezipoddruhové	1246	142	samec
P698	L-093	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	962	180	samec
P699	L-093	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	1079	175	samec
P700	L-093	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	1001	141	samice
P701	L-094	STUS	PWD	vnitropoddruhové	520	78	samec
P702	L-094	STUS	PWD	vnitropoddruhové	672	101	samec
P703	L-094	STUS	PWD	vnitropoddruhové	640	90	samec
P704	L-094	STUS	PWD	vnitropoddruhové	757	92	samec
P705	L-094	STUS	PWD	vnitropoddruhové	764	106	samice
P706	L-095	STUS	PWD	vnitropoddruhové	550	97	samice
P707	L-095	STUS	PWD	vnitropoddruhové	545	97	samec
P708	L-095	STUS	PWD	vnitropoddruhové	454	97	samec
P709	L-095	STUS	PWD	vnitropoddruhové	487	84	samice
P710	L-095	STUS	PWD	vnitropoddruhové	557	101	samec
P711	L-096	STUS	PWD	vnitropoddruhové	535	105	samec
P712	L-096	STUS	PWD	vnitropoddruhové	591	85	samec
P713	L-096	STUS	PWD	vnitropoddruhové	584	93	samec
P714	L-096	STUS	PWD	vnitropoddruhové	587	99	samec
P715	L-096	STUS	PWD	vnitropoddruhové	431	90	samice
P716	L-097	STUS	PWD	vnitropoddruhové	526	88	samec
P717	L-097	STUS	PWD	vnitropoddruhové	481	86	samice
P718	L-097	STUS	PWD	vnitropoddruhové	463	75	samice
P719	L-097	STUS	PWD	vnitropoddruhové	498	90	samice
P720	L-097	STUS	PWD	vnitropoddruhové	480	88	samec
P721	L-097	STUS	PWD	vnitropoddruhové	536	85	samec
P722	L-097	STUS	PWD	vnitropoddruhové	524	86	samec
P723	L-098	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	1008	173	samice
P724	L-098	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	978	127	samice
P726	L-098	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	876	161	samice
P727	L-098	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	909	170	samice
P728	L-098	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	1036	139	samec
P730	L-098	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	1095	145	samec
P731	L-098	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	1075	158	samice
P732	L-099	PWD	STUS	vnitropoddruhové	794	101	samec
P733	L-099	PWD	STUS	vnitropoddruhové	727	125	samec
P734	L-099	PWD	STUS	vnitropoddruhové	760	115	samice
P735	L-099	PWD	STUS	vnitropoddruhové	809	96	samec
P736	L-099	PWD	STUS	vnitropoddruhové	690	107	samec
P737	L-099	PWD	STUS	vnitropoddruhové	705	105	samec

P738	L-099	PWD	STUS	vnitropoddruhové	690	91	samice
P739	L-099	PWD	STUS	vnitropoddruhové	684	105	samec
P740	L-099	PWD	STUS	vnitropoddruhové	633	110	samec
P741	L-099	PWD	STUS	vnitropoddruhové	713	103	samice
P742	L-100	SCHEST	B6	vnitropoddruhové	979	184	samice
P743	L-100	SCHEST	B6	vnitropoddruhové	829	156	samice
P744	L-100	SCHEST	B6	vnitropoddruhové	814	138	samec
P745	L-100	SCHEST	B6	vnitropoddruhové	759	157	samec
P746	L-100	SCHEST	B6	vnitropoddruhové	941	174	samec
P747	L-101	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	794	176	samec
P748	L-101	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	730	172	samec
P749	L-101	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	724	167	samec
P750	L-101	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	708	157	samice
P751	L-101	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	671	133	samice
P752	L-101	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	633	119	samice
P754	L-101	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	640	129	samice
P755	L-101	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	616	148	samec
P756	L-101	PWD	SCHEST	mezipoddruhové	642	130	samice
P757	L-102	STUS	PWD	vnitropoddruhové	558	101	samice
P758	L-102	STUS	PWD	vnitropoddruhové	619	98	samec
P759	L-102	STUS	PWD	vnitropoddruhové	578	97	samec
P760	L-102	STUS	PWD	vnitropoddruhové	595	98	samec