

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Přírodovědecká fakulta

**Laboratorní test disasortativního párování u hraboše
polního – literární rešerše**

Bakalářská práce

Pavλίna Petrásková

Školitel: prof. RNDr. František Sedláček CSc.

České Budějovice 2020

Petrásková P. (2019): Laboratorní test disasortativního párování u hraboše polního – literární rešerše [Laboratory test of disassortative pairing in the common vole - literature search], Faculty of Sciences, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace:

Cílem práce je pomocí literární rešerše zmapovat současné znalosti o vlivu pachové preference na reprodukční úspěch u savců se zaměřením na hraboše. Jako asortativní párování je označována každá forma nenáhodného párování. Většinou je tím ale myšlena situace, při níž se častěji párují jedinci, kteří mají podobné fenotypy. Opakem je pak situace, kdy se častěji párují jedinci s odlišnými fenotypy. To je pak někdy označováno jako negativní assortativní nebo disasortativní párování. Tato studie se zabývá především párováním nenáhodným podle tělesných pachů. Ty jsou u živočichů spojené především s geny pro hlavní histokompatibilní komplex (MHC), který hraje klíčovou roli v imunitním systému. Produkty genů MHC, které se nacházejí v různých sekretech těla, spoluvytvářejí specifický pach každého jedince. V rešeršní části byly hledány odpovědi na následující otázky: Jak je vybírán partner k rozmnožování? Je častější asortativní nebo disasortativní párování? Jaké informace zprostředkovává tělesný pach? Jakými kanály je pachová informace vysílána a jakými přijímána? Jak je řešeno testování pachové preference v laboratorních podmínkách? V praktické části je představen plán vlastního experimentu, ve kterém bude hrát hlavní roli T-labyrint ke stanovení pachové preference. V laboratorních podmínkách budou mít hraboši na realizaci celého procesu dostatek času.

Annotation

The aim of this work is to use the literature research to map current knowledge about the effect of odour preference on reproductive success in mammals focusing on voles. Assortative pairing is referred to each form of non-random pairing. Most of the time is meant a situation in which individuals who have similar phenotypes pair more often. The opposite is the situation where individuals with different phenotypes pair more often. This is sometimes referred to as negative assortative or disassortative pairing. In particular, this study deals with non-random pairing among to body odour . These are mainly linked to genes for the major histocompatibility complex (MHC) in animals, which play a key role in the immune system. MHC gene products found in various body secretions form the specific odour of each individual. In the research part were searched question for following questions: How is the breeding partner chosen? Is Assortative or Disassortative Pairing More Frequent? What information does body odour convey? What channels is the odour information transmitted and received? How is odour preference testing solved in laboratory conditions? In the practical part, a plan of the experiment is presented in which T-labyrinth will play the main role in determining the odour preference. Under laboratory conditions, voles will have plenty of time to complete the process.

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

České Budějovice, 10. 12. 2019

Pavλίna Petrásková

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala svému školiteli prof. RNDr. Františku Sedláčkovi CSc. za jeho nápad na téma bakalářské práce, za pomoc a zpětnou vazbu při zpracování této práce, za jeho cenné rady a trpělivost.

Mé poděkování patří také rodině za morální i finanční podporu a to během celé doby studia.

Obsah

1. Úvod.....	1
2. Jak je vybírán partner k rozmnožování?	2
2.1 Pohlavní výběr.....	2
2.2 Biologická zdatnost	2
2.3 Složky pohlavního výběru	2
3. Do jakých interakcí se pohlavní partneři dostávají?.....	4
3.1 Párovací systémy	4
3.2 Asortativní párování	5
3.3 Negativní assortativní (disassortativní) párování	6
3.4 Disassortativní párování a hlavní histokompatibilní komplex (MHC).....	9
3.5 Je častější assortativní párování pozitivní nebo negativní?	10
4. Jaké informace zprostředkovává tělesný pach?	11
5. Jakými kanály je pachová informace vysílána a jakými přijímána?	14
5.1 Vysílání pachové informace.....	14
5.2 Příjem pachové informace	15
5.3 O čem informují feromony?	17
6. Test disassortativního párování podle pachové preference u hraboše polního.....	18
6.1 Hraboš polní (<i>Microtus arvalis</i>)	18
6.2 Návrh laboratorního testu.....	19
6.2.1 Situace při negativním assortativním párování u savců.....	28
6.2.2 Stanovení preference - testy pachové preference v laboratorních podmínkách	29
6.2.3 Podmínky pro realizaci laboratorního testu.....	33
6.2.4 Příprava testovaného materiálu	34
6.2.5 Zajištění vhodných chovných podmínek chovu	35
6.2.6 Vyhodnocení výsledků.....	35
7. Závěr	37
8. Literatura	38

1. Úvod

Impulsem pro vypracování předkládané bakalářské práce bylo zjištění doktorantek Mgr. Urbánkové a Mgr. Mladěnkové (nepublikováno), že u párů hraboše polního se úspěch v rozmnožování zvyšuje s růstem podobnosti behaviorálních osobnostních rysů. Z jiných studií je ale také známo, že u hlodavců při výběru partnera hraje naopak důležitou roli složení pachů. Znamená to tedy, že zcela převládly behaviorální parametry nad kvalitou tělesných pachů?

Jakékoliv nenáhodné párování je označováno jako asortativní párování. Většinou je tím ale myšlena situace, při níž se častěji párují jedinci, kteří mají podobné fenotypy. Opakem je pak situace, kdy se častěji párují jedinci s odlišnými fenotypy. To je pak někdy označováno jako negativní asortativní nebo disasortativní párování. Předkládaná rešeršní studie se zabývá především párováním nenáhodným podle tělesných pachů. Ty jsou u živočichů spojené především s geny pro hlavní histokompatibilní komplex (MHC), který hraje klíčovou roli v imunitním systému. Produkty genů MHC, které se nacházejí v různých sekretech těla, takto spoluvytvářejí specifický pach každého jedince.

Cílem této práce bylo vytvořit rešerši, která po teoretické stránce připraví experiment, ve které budou testovány pachové preference, kombinovány páry preferovaných jedinců a následně porovnány jejich produkce mláďat s páry z nepreferovaných jedinců. K naplnění uvedeného cíle byly vymezeny následující položky:

Jak je vybírán partner k rozmnožování?

Do jakých interakcí pohlavní partneři vstupují?

Jaké informace zprostředkovává tělesný pach?

Jakými kanály je pachová informace vysílána a jakými přijímána?

Test disasortativního párování podle pachové preference u hraboše polního

2. Jak je vybírán partner k rozmnožování?

2.1 Pohlavní výběr

U většiny druhů je vybírajícím pohlavím samice, zatímco samci často soupeří o jejich přízeň. Toto bývá často vysvětlováno tím, které pohlaví vkládá více energie do pohlavních buněk a následné péče. Rozdíly se nachází již v samotné produkci těchto buněk. Tvorba samičích pohlavních buněk neboli vajíček je náročnější než tvorba samčích pohlavních buněk neboli spermií. Tato náročnost se pak odráží i v počtu pohlavních buněk. Rozdíly mohou být velmi výrazné. Samci některých druhů mohou mít počet spermií v řádu několika miliard, zatímco samice některých druhů jen pár desítek (Ah-King & Ahnesjö 2013, Lehtonen et al. 2016). S pohlavním výběrem souvisí pojem fitness.

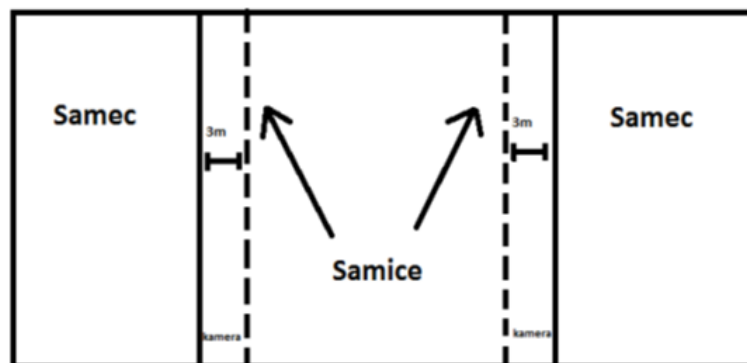
2.2 Biologická zdatnost

Asi nejjednodušší vysvětlení je, že se jedná o schopnost jedince předat své geny do další generace. Fitness lze měřit víceméně jen nepřímo, podle počtu potomků, který jedinec po sobě zanechá. Fitness rozlišujeme na inkluzivní (zdatnost včetně příbuzných) a exkluzivní (zdatnost samotného jedince). Samice většinou vloží více úsilí do rodičovské péče a jejich fitness je tedy závislá na schopnosti produkovat vajíčka a také na nákladech po oplození, zatímco fitness samců je závislá především na počtu sexuálních partnerek (Metz et al. 1992, Ah-King & Ahnesjö 2013).

2.3 Složky pohlavního výběru

U pohlavního výběru můžeme rozlišit složku intrasexuální a intersexuální. Intrasexuální představuje kompetici (např. souboje) mezi jedinci stejného pohlaví a intersexuální složkou je partnerský výběr podle epigamního chování (např. dvoření, tance atd.). Kompetice je často spojena s pohlavním dimorfismem (Emlen 2008). Například hřívá u lva pustinného (*Panthera leo*) nebo paroží u jelena evropského (*Cervus elaphus*). Z původních studií této problematiky je možno uvést jako příklad výzkum role paroží při výběru partnera u jelence viržinského (*Odocoileus virginianus*). Při studii měli badatelé k dispozici 25 samic, které si vybíraly mezi samci s velkým a malým parožím. Výsledky pak hodnotili podle dvou kritérií. Podle času stráveného chůzí a ležením do 3 m od každého samce (Obr. 1). 20 z 25 samic daly přednost samcům s velkými parohy na základě času stráveného chůzí a 11 ze 14 samic na základě času stráveného ležením. Badatelé tedy

prokázali, že samice u tohoto druhu preferují samce s větším parožím a že tedy paroží, jehož primární funkcí je obrana/útok (intrasexuální složka), poskytuje i výhodu v intersexuální složce pohlavního výběru (Morina et al. 2017).



Obr. 1 Schéma experimentálního prostoru pro studium samičího výběru u jelence viržinského (Morina et al. 2017)

U sociálních zvířat často záleží na postavení samce v societě, jestli bude preferovaný při výběru k páření (Clutton-Brock & Parker 1995). Přesněji řečeno jestli se jedná o alfa samce nebo ty další v hierarchii. Za zvláštní situaci partnerského výběru je možno považovat aktivní vyprovokování ovulace u samice. To je běžné nejen u králíka ale také u řady druhů od hlodavců, přes šelmy až po velbloudy (Adams & Ratto 2013).

3. Do jakých interakcí se pohlavní partneri dostávají?

3.1 Párovací systémy

V živočišné říši nalezneme několik výrazných párovacích systémů (Clutton-Brock 1989). Jedním z nich je monogamie, kdy reprodukční jednotku tvoří pár - jen jeden samec a jedna samice. Tyto svazky bývají často vytvořené na celý život partnerů. U savců však tento systém příliš početný není. Uvedený systém párování nalezneme např. u hraboše prériového (*Microtus ochrogaster*) (Ophir et al. 2008, Obr. 2). Dalším systémem, který je u savců mnohem častější, je polygynie, kdy se jeden samec páří s více samice. Samicím ale zůstává tento jediný samec během reprodukčního období. Takto se např. páruje u hlodavců psoun *Cynomys leucurus* (Hoogland et al. 2019). Podle uvedené studie však za určitých podmínek se u něho objevuje i pohlavně opačným systémem - polyandrie, kdy samice má více samců a samec má jen jednu partnerku (opět jen během reprodukčního období). U savců tento typ stabilně nalezneme například u hyeny žíhané (*Hyaena hyaena*) (Wagner et al. 2007). Posledním z jasně vyhraněných systémů je polygyndrie, kterou je také možno označit jako promiskuitu. Zde několik samců vytváří partnerské svazky s několika samicemi. Tento systém nalezneme například u některých druhů hrabošů (Boonstra et al. 1993). Je třeba ale ještě doplnit, že výše uvedené vyhraněné systémy párování jsou dosti závislé na populační hustotě, tedy na stavu nabídky partnerů v populaci (Lott et al. 1984).



Obr. 2 Hraboš prériový, tvořící monogamní svazek (www.zivagaia.cz)

3.2 Asortativní párování

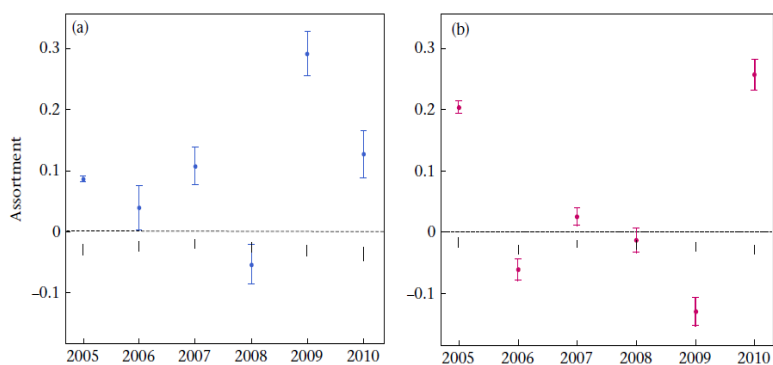
Na rozdíl od předchozích párovacích systémů se termín asortativní párování týká znaků na fenotypu, podle kterých je jedinec preferován pro rozmnožování. Mezi ně patří např. výška, barva, pach, styl chování, stáří a jiné. Rozlišujeme zde dvě formy párování či preference. Jedna z nich je pozitivní a druhá negativní, jež je také často označována jako disasortativní párování. Pokud mluvíme o pozitivním asortativním párování, párují se při něm především jedinci s podobnými znaky. Pozitivní asortativní párování zvyšuje homozygotnost v rámci lokusů, a snižuje naopak výskyt heterozygotů a podporuje vazebnou nerovnováhu mezi lokusy (Jiang et al. 2013). Nejen morfologické znaky, ale i sobě si podobné chování partnerů, umožňuje lépe pečovat o své potomstvo a tím zlepšovat kondici mláďat a celkovou úspěšnost rozmnožování.

Existují dvě hypotézy, které by mohly vysvětlit výskyt asortativního párování (Jiang et al. 2013). Ta první tvrdí, že síla asortativního párování se adaptivně vyvíjí v reakci na přímou nebo nepřímou selekci např. vyhledání partnera stejné velikosti. Asortativní párování se také může paradoxně vyvíjet v reakci na inbreeding. Rozdíly mezi pozitivním asortativním párováním a příbuzenským křížením závisí na rozsahu působení na lokusech. Asortativní párování má vliv jen na lokus/y s žádoucím fenotypem, zatímco inbreeding působí na všechny lokusy.

Podle druhé hypotézy vzniká asortativní párování jako důsledek určitých časoprostorových aspektů při párování. Jedním z takových aspektů je alochronická izolace. Například časová segregace způsobená rozdílnými daty příletu u pěnice černohlavé (*Sylvia atricapilla*) vedla k výběru jedinců s podobnou kondicí (Bearhop et al. 2005). Výběr také mohou dovytvářet dva souběžné procesy. U monogamního mořského koníka *Hippocampus guttulatus* vznikne sklon ke korelaci velikosti těla partnerů, vytvoří-li páry mladí a malí jedinci a společně budou pokračovat v růstu (Jones et al. 2003). Další mechanismus vzniká z prostorové segregace při výskytu vzájemné vazby mezi fenotypem a stanovištěm, ve kterém se jedinci párují. To zvyšuje pravděpodobnost setkání fenotypově podobných jedinců (Snowberg & Bolnick 2008). Poslední mechanismus vzniku asortativního párování je možno vysvětlit jako důsledek intrasexuální soutěže a intersexuální kompetice (Crespi 1989, Cézilly 2004, Henry 2008). Například když jsou větší samice více plodné, samci upřednostňují výběr těchto samic (Salthe & Duellman 1973, Kuramoto 1978, Bastos & Haddad 1996). Pokud jsou větší samci více úspěšnější v obraně těchto samic nebo v souboji o tyto samice,

menší samci nebudou k párování vybráni a bude zde převládat pozitivní asortativní párování podle velikosti (Arak 1983, Hume et al. 2002, Wogel et al. 2005).

Studii zkoumajících relaci mezi asortativním párováním a osobnostními rysy zvířat zatím není mnoho. Jedna z nich se konkrétně zabývala vlivem úrovně průzkumného chování na sociální interakce/strukturu u sýkory koňadry *Parus major* během rozmnožování (Johnson et al. 2017). Byla zde použita data sesbíraná během 6 let. Ptáci tohoto druhu tvoří od března do června monogamní svazky. Nejprve byly provedeny testy osobnostních rysů. Sýkory byly chyceny a přes noc nechány ve voliérách. Ráno byly vpuštěny do nové místnosti a zde byly zkoumány jejich osobnostní rysy. U průzkumného chování byli rozlišeni odvážní a rychle zkoumající jedinci od těch pomalejších a plašších. Pak byli ptáci vypuštěni a asociace mezi jedinci byla odvozena na základě jejich prostorové blízkosti. Výsledky studie sice neukázaly 100% pozitivní asortativní párování, ale ukazují mnohem větší sklony samců vybrat si samici se stejnou osobností, jako mají oni sami. Samice takové hodnoty nevykazovaly, ale v některých letech se i u nich tato preference vyskytla (Obr. 3).



Obr. 3 Graf ukazující sílu pozitivního asortativního párování u divoké populace sýkory koňadry (*Parus major*) v oblasti Marley – vlevo samci, vpravo samice (Johnson et al. 2017).

3.3 Negativní asortativní (disasortativní) párování

Když mluvíme o disasortativním párování myslíme tím párování jedinců, kteří mají odlišné fenotypy nebo genotypy. Je tedy opakem asortativního párování. Disasortativní párování zvyšuje počet heterozygotů, snižuje genetickou podobnost a zvýhodňuje alely, které se vyskytují vzácně. Tento typ párování se u živočichů vyskytuje méně častěji než asortativní párování pozitivní (Jiang et al. 2013).

Nejvyšší úroveň disasortativního párování u obratlovců byla pozorována u strnadce bělohrdlého *Zonotrichia albicollis*, u kterého se vyskytuje barevný polymorfismus (Hedrick et al. 2017). Hlavu mají buďto s černým a bílým pruhem tzv. „white-striped“ nebo s hnědým a bílým pruhem tzv. „tan-striped“. Z celkového počtu 1209 párů došlo k párování

(disasortativnímu) různobarevných jedinců u 98,2 % párů, u 1,8 % se párovaly stejnobarevné formy (Tab. 1).

Jedna z prvních studií vůbec, která zachytila negativní asortativní párování, sledovala vznik párů u chaluhy příživné (*Stercorarius parasiticus*) (Bengston & Owen 1973). Zde 20 z 28 párů vytvořilo páry mezi tmavou a světlou formou tohoto druhu. Očekávaný výskyt byl 13,4%, skutečný pak 71,4%. Stejně zaměřená studie sledovala frekvenci určitých vzorů na peří u holuba skalního (*Columba livia*) (Johnston & Johnson 1989). Během tří let ze 116 pozorovaných párů, bylo 90,5 % párů tvořeno jedinci s rozdílnými vzory na peří. Se zajímavou studií přišli Takahashi & Hori (2008), když zjistili, že u cichlid (*Perissodus microlepis*) mají jedinci nesymetricky stočenou tlamu (jedinci „righty“ nebo „lefty“), přičemž ale tvoří z tohoto hlediska hybridní páry. Zde 21 párů z celkového počtu 25 pozorovaných, byly páry tvořené jedním "righty" jedincem a druhým "lefty". V roce 2016 byla konečně publikována první studie o disasortativním párování u savců (Hedrick et al. 2016). V Yellowstonském národním parku bylo zkoumáno párování mezi vlky. Z 261 pozorovaných párů v letech 1995 – 2015 bylo 63,6 % párů složeno z černých a šedých jedinců.

Tab. 1 Roční počty 4 typů párování a celkový počet párů (N) v populaci strnadce bělohřdlého u Cranberry Lake, New York od roku 1988 do roku 2016 (Hedrick et al. 2017)

<u>Rok</u>	<u>T(M) x T</u> (F)	<u>T(M) x</u> <u>W(F)</u>	<u>W(M) x</u> <u>T(F)</u>	<u>W(M)</u> <u>xW(F)</u>	<u>N</u>
1988	0	1	3	0	4
1989	1	5	9	1	16
1990	0	5	6	0	11
1991	0	7	8	0	15
1992	0	7	8	0	15
1994	0	6	6	0	12
1995	0	10	9	0	19
1998	0	8	16	0	24
1999	0	14	22	1	37
2000	0	15	17	0	32
2001	0	19	19	0	38
2002	0	16	22	0	38
2003	0	23	19	0	43
2004	0	28	25	0	53
2005	0	22	34	0	56
2006	0	29	34	0	63
2007	0	49	59	0	108
2008	1	41	43	0	85
2009	1	41	48	1	91
2010	1	35	38	0	74
2011	2	32	37	4	75
2012	0	26	45	0	71
2013	1	29	41	0	71
2014	1	31	32	1	65
2015	1	21	14	0	36
2016	1	29	24	3	57
<u>Celkový</u> <u>počet</u>	10	549	638	12	1209

Z této tabulky lze vyčíst, že nejčastější páry u toho druhu jsou páry s rozdílným zbarvením hlavy, vysoce zde tedy převládá disasortativní párování. Dozvídáme se zde také, že častější je typ párování, kdy samec **M** má zbarvení bílo – černé **W** a samice **F** má zbarvení bílo-hnědé **T**

3.4 Disasortativní párování a hlavní histokompatibilní komplex (MHC)

Výše uvedené příklady disasortativního párování podle morfologických znaků jsou jedněmi z mála doposud zaznamenaných případů u obratlovců (Hedrick et al. 2017). Většina ostatních případů disasortativního párování se týká preference odlišnosti MHC genotypu, která se může projevit preferencí odlišnosti pachové, což se také týká této předkládané bakalářské práce.

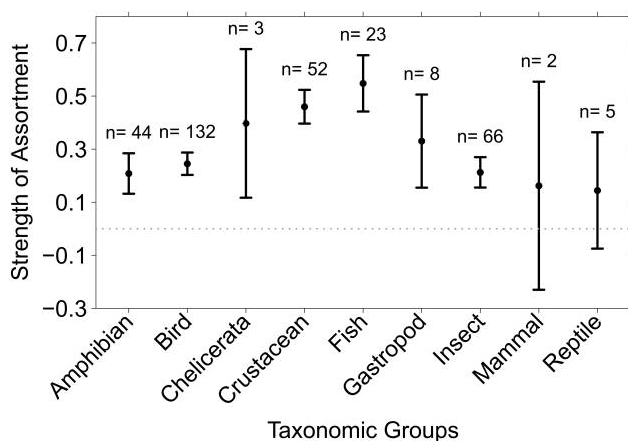
Jak ale souvisí geny MHC, které jsou ve službách imunitního systému, s produkcí určitého pachu? Leinders-Zufall et al. (2005) a poté Zufall a Boehm (2006) zjistili, že peptidové ligandy molekul MHC I. třídy jsou ideálním mechanismem pro signalizaci genotypu MHC, a to konkrétně ve vomeronasálním epitelu. Hlavní histokompatibilní komplex je součástí systémů na rozpoznávání různých antigenů a jejich odstraňování. Čím více rozmanité MHC je, tím se ubrání většímu počtu patogenních agens. Je tedy velice důležité tuto jeho rozmanitost udržovat. MHC geny dělíme do 3 skupin. Pro správnou funkci adaptivního imunitního systému jsou třeba především molekuly MHC I a MHC II. Na molekuly skupiny MHC I se vážou peptidy, které jsou dlouhé 8–9 aminokyselin. Tyto peptidy jsou tvořené z bílkovin, které jsou především endogenního původu. Molekuly MHC I je pak předkládají cytotoxickým T – lymfocytům. S molekulami MHC II se pojí peptidy o délce 11 a více aminokyselin. Tyto peptidy jsou exogenního původu a jsou tvořeny z toho, co buňka fagocytuje. Molekuly MHC II je pak předkládají především pomocným T – lymfocytům. Jejich odpovědí je vyvolání produkce protilátek. U molekul MHC skupiny III je známo, že proteiny, které jsou přenášeny, mohou pocházet z virového napadení nebo obecně ze stresové zátěže buňky (Milinski et al. 2013).

Produkty genů MHC najdeme mimo jiné v různých sekretech těla, kde samy o sobě, ale také díky bakteriálnímu rozkladu vytvářejí specifický pach. Tento pach potom zprostředkovává informace o jeho nositeli pro partnera při párování (Heath & Carbone, 2001). Komplex pachových látek je vnímán receptorovými neurony, které se nacházejí v čichovém epitelu jak hlavního, tak vomeronasálního čichového systému. Vnímání MHC peptidových ligandů u lidí by mohlo hrát roli při upřednostňování parfémů. To, že každému voní jiný parfém, může záviset na obsahu strukturně odlišných „žádoucích“ peptidů (Milinski et al. 2013).

3.5 Je častější asortativní párování pozitivní nebo negativní?

Na tuto otázku se snažili odpovědět Jiang et al. (2013) pomocí metaanalýzy párování na základě fenotypových znaků u volně žijících populací zvířat. Zpracovali 269 publikací, v nichž byly znaky korelovány celkově v 1116 případech u 360 druhů. Celkem 102 různých znaků, téměř všechny jejich hodnoty byly spojitě. Jednotlivé druhy rozdělili do 11 taxonomických skupin (protista, kroužkovci, plži, korýši, klepítkatci, hmyz, ryby, obojživelníky, plazi, ptáci, savci). Nejvíce zde byli zastoupeni korýši, hmyz, ptáci, obojživelníci a ryby. Z těchto údajů vykazovalo 89 % párování pozitivně asortativní a zbytek, tedy 11 %, párování negativně asortativní (Jiang et al. 2013).

Síla asortativního párování se výrazně lišila mezi sledovanými kategoriemi. Znaky zprostředkované vizuálně - věk a velikost - vykazaly větší korelaci než u kondičních a strukturních znaků. Síla výběru byla významně pozitivní u všech kategorií kromě chování, chemických vlastností a genotypu. Výskyt negativního asortativního párování zde autoři vysvětlují jako chybu typu I, což tedy podle nich znamená, že negativní preference byla u zkoumaných druhů minimálně vzácná. Je ale třeba zdůraznit, že autoři se vůbec nezabývali negativně asortativním párováním ve spojení s MHC, kde se vyskytuje nejčastěji. Také výše uvedené případy disasortativního párování z hlediska zbarvení či jiných morfologických znaků napovídají, že toto párování nebude tak vzácné, jak uvádí Jiang et al. (2013) (viz Obr. 4). Toto disasortativní párování evidentně přímočaře přispívá k udržení genetického polymorfismu (Hedrick et al. 2017).



Obr. 4 Porovnání síly výběru u jednotlivých taxonů, n je celkový počet (Jiang et al. 2013)

4. Jaké informace zprostředkovává tělesný pach?

Hlavní stránkou mé práce je pachová preference. K tomu je potřeba vědět, jaké informace může tělesný pach zprostředkovávat. Tyto informace jsou vlastně chemické látky, které jsou schopny ovlivnit u příjemce chování, a to buď jako informace nebo jako spouštěč (feromon) určité fyziologické reakce. Například prozradí pohlavní jedince, jeho stáří, jaký je jeho zdravotní nebo reprodukční stav (koncentrace hormonů) (Manzini et al. 2011). Pach je i dokonce schopný o jedinci říci, zda se nachází v klidovém nebo stresovém stavu (Cecchetto et al. 2019), a také tak nepřímo prozradit, jaké má postavení v societě (Manzini et al. 2011). Velká část těchto informací, včetně samozřejmě o pohlaví, je dána geneticky, což přispívá ke stálosti tělesného pachu (Penn et al. 2007).

Vedle toho umožňuje poznat také odlišnost genetickou na základě porovnání pachů z produktů MHC genů. Zachování diverzity MHC genů při párování, je důležitým aspektem pro zachování odolnosti u potomstva. To umožňuje potomkům vytvořit širší spektrum obranných látek především proti parazitům, ale i mikrobům. Kvalita MHC genů se může odrážet také např. ve výrazných, sekundárních pohlavních znacích samců, podle kterých jsou samicemi vybíráni. Tyto znaky mohou být dobrým indikátorem zdravotního stavu, protože pokud je jedinec oslabený či nemocný, nemůže si udržovat sekundární pohlavní znaky na vyšší úrovni (Zuk et al. 1995).

Jak již bylo zmíněno, samice bývají ty, které vybírají partnera, jelikož musí více investovat do vytvoření gamet, a i do následné péče o mláďata. Vybírají si tedy takové partnery, kteří jim poskytnou určité výhody. Buď to výhody přímé (vhodné „otcovské“ chování) nebo výhody nepřímé (dobré geny) (Kirkpatrick 1996). Tyto geny pak zdědí potomci, a pokud jsou špatné (jedinec díky nim případně onemocní), mají potomci oslabenou imunitu a díky tomu se u nich zvyšuje riziko, že onemocní. Řada studií ukazuje, že moč nakažených jedinců má odlišný zápach, který způsobuje spíše averzi, přičemž infikovaní jedinci (samci) značkují teritorium méně, což také snižuje zájem o tyto jedince samicemi. Například Hurst et al. (1990) u myši domácí (*Mus musculus domesticus*) zjistili, že když měly samice na očichání tři vzorky, moč z infikovaného samce (konkrétně infikován virem chřipky), čistou vodu (použit jako kontrolní vzorek) a moč zdravého neinfikovaného jedince, strávily samice nejvíce času v místech s močí neinfikovaného samce. U vzorku s vodou ale strávily stejně času jako u vzorku s infikovanou močí, což může svědčit o tom, že moč těchto jedinců ztrácí některé pachy, které zdravému jedinci dodávají na jeho atraktivitě (Penn et al., 1998). Zajímavé je, že při nákaze myši virem klíšťové encefalitidy se

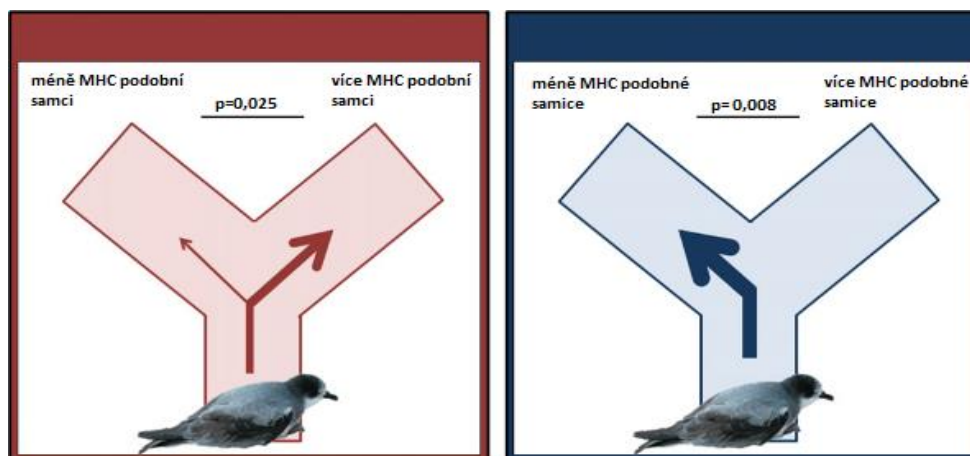
stali samci více vyhledávanými, jelikož u jedinců infikovaných tímto virem narůstá hladina testosteronu (Moshkin et al., 2002). Pach moči infikovaných jedinců ale může také obsahovat přímo produkty MHC genů či jejich vedlejších produktů, kterými odpovídají na infekci, nebo např. vedlejší produkty ze zánětlivých reakcí. Samozřejmě určité látky může také vylučovat sám parazit (Zala et al. 2015).

Podobné pokusy byly prováděné i u hrabošů, konkrétně u hraboše pensylvánského (*Microtus pennsylvanicus*) a hraboše prériového (*Microtus ochrogaster*). Samci byli nakaženi svalovcem stočeným (*Trichenella spiralis*), který ale není přenosný při kontaktu mezi jedinci. Výsledky byly velmi překvapivé. Hraboši pensylvánští dali očekávaně přednost zdravým jedincům, hraboši prérioví však nikoliv. Možným vysvětlením jsou odlišné párovací systémy u těchto dvou druhů hrabošů, jelikož hraboši prérioví vytváří monogamní svazky na rozdíl od hrabošů pensylvánských. Proto u nich nemusela hodnota zdravotního stavu hrát tak zásadní roli (Klein et al. 1999).

Setchell et al. (2010) zkoumali spojitost mezi chemickým složením pachu a MHC genotypem u mandrila rýholícího (*Mandrillus sphinx*). Samci i samice mandrila mají hrudní žlázu na rozdíl od většiny opic starého světa. Na těkavé pachy této žlázy mají vliv některé faktory, například věk, pohlaví a také dominance u samců. Jejich výsledky naznačují, že pach poskytuje také informaci o individuální genetické kvalitě. To poskytuje jakýsi mechanismus při výběru partnera pro genetickou rozmanitost a MHC (ne)podobnost. Samci s rozmanitějším MHC mají vyšší reprodukční úspěch a samice se reprodukují přednostně s MHC odlišnými samci. Mandrilové mají navíc i schopnost rozlišit otcovské geny. I přes jejich systém párování, který je u nich polygynandrie (dva nebo více samců se páří se dvěma či více samicema), umějí identifikovat neznámé příbuzné porovnáním jejich zápachu, buď to samostatně, nebo se známým příbuzným.

Leclaire et al. (2017) jako první zkoumali pachovou preferenci při párování také u ptáků, a to konkrétně u buřňáka modravého (*Halobaena caerulea*). Buřňák modravý je mořský pták vytvářející monogamní svazky, který má zvláště dobře vyvinutý čich. Pachy pocházely ze 14 samic a 14 samců. K testování použili plastové bludiště s „Y“ rameny, na jejichž konci byly umístěny tampónky s pachy (Obr. 5). Provedena byla také molekulární analýza MHC genů. Preference ramen byla odlišná pro samce a samice. Samice si jen v 25 % případů vybraly samce, kteří měli méně podobné MHC a tudíž v 75 % ty s více podobným MHC. Samci si ve 100 % případů vybrali samici s méně podobným MHC. Autoři studie poskytli tedy první důkaz o tom, že ptáci mohou detekovat MHC podobnost pouze na základě pachu. Důležité je určitě dodat, že jejich studie byla prováděna během inkubace

vajec, která je spojena s hormonálními změnami, včetně snížení hladiny progesteronu a estradiolu u samic. To může ovlivnit preferenci partnera, stejně jako u lidí menstruační cyklus ovlivňuje sociální vnímání a partnerské preference. Ženy často dávají přednost mužům s odlišným MHC, jejich preference se ale obrátí, když začnou používat orální antikoncepci, která napodobuje stav jako během těhotenství (Klapilova et al. 2014).



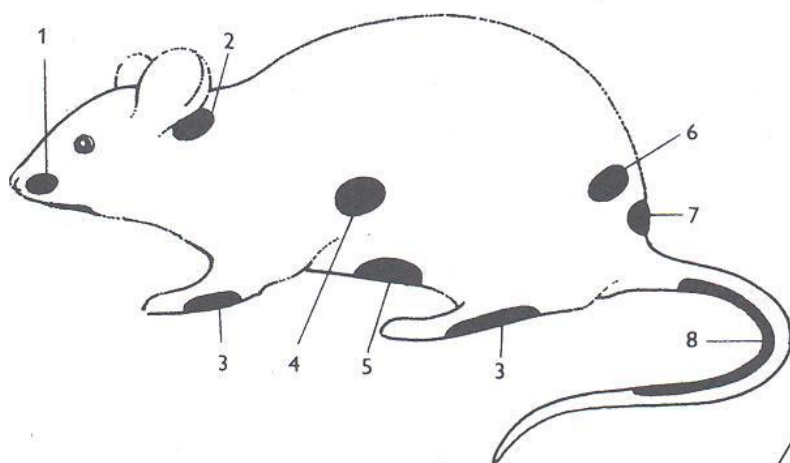
Obr. 5 Schéma testu v Y-labyrintu (Leclaire et al. 2016)

V současné době tedy existuje čím dál více důkazů o roli hlavního histokompatibilního komplexu při formování preferencí partnera. Neznamená to však, že by maximálně odlišní jedinci byli ti geneticky nejvhodnější. O nalezení vhodné odlišnosti MHC genů a vyhnutí se extrémní rozdílnosti těchto genů existují důkazy, že samice dokážou současně vyhodnotit i jiné dobré genové rysy a genetické podobnosti (Roberts 2009).

5. Jakými kanály je pachová informace vysílána a jakými přijímána?

5.1 Vysílání pachové informace

Co nám pachy sdělují, již bylo naznačeno. Je nutné ale také vědět, jak jsou pachové informace vysílány a jak jsou přijímány a následně i zpracovány. Informace chemického charakteru jsou vysílány především specializovanými pachovými žlázami. Na obrázku 6 jsou uvedeny jejich možné polohy na těle hlodavce. Jinak prakticky u všech savců, kromě kytovců a sirén, jsou ještě další velmi specifické žlázy vcelku ale s podobnými účinky sekretů („musth gland“ na tváři u slonů, či pachové žlázy „fíky“ za rohy u kamzíků) (Downer 2011). Kromě specializovaných pachových žláz jsou vysílány i celým povrchem těla, především potními žlázami (pokud jsou vyvinuty) a mazovými žlázami u chlupů. Tyto pachy tedy obsahují různé typy informací, jak jsem již zmiňovala v předchozí kapitole (např. pohlaví, stav pohlavní aktivity, stav stresu, úroveň dominance, agresivity). Tyto informace jsou pak většinou řízené produkcí pohlavních a/nebo stresových hormonů. Dalším častým kanálem pachových látek je moč. V ní jsou často přítomny feromony, pachové látky s fyziologickými účinky (Asaba et al. 2014). Vedle toho bylo zjištěno, že myši reagují také na močový MHC peptid označený jako SIINFEKL (Sturm et al. 2013).

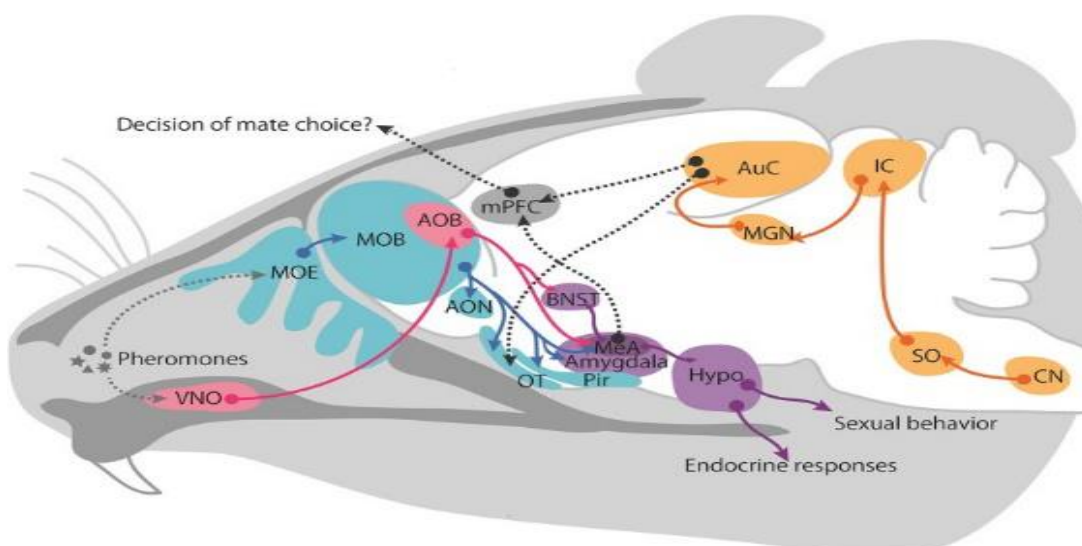


Obr. 6 Možné umístění pachových žláz na těle hlodavce (Gaisler & Zima 2007). Žlázy: 1 – retní, 2 – záušní, 3 – chodidlové, 4 – boční, 5 – břišní, 6 – zadohřbetní, 7 – nadocasní, 8 – podocasní

5.2 Příjem pachové informace

Chemické podněty jsou přijímány jednak hlavním/primárním čichovým orgánem (MOS), který zachycuje informace o okolí, potravě apod. MOS se skládá z čichového epitelu na stropu nosní dutiny, ve kterém jsou uloženy vlastní čichové receptorové neurony a z hlavního čichového bulbu, sloužícího jako primární mozkové centrum. Dále jsou pachové informace přijímány sekundárním Jacobsonovým vomeronasálním orgánem (VNO) s chemoreceptorovými buňkami ve spodní části nosní dutiny na rozhraní vomeru a patra. VNO je označován jako přídatný čichový systém, který se vyvinul pro specifické účely rozpoznávání látek při rozmnožování. Je schopný přijímat velmi širokou škálu jak těkavých, tak i netěkavých látek. Rozpoznává druhově specifické pachové látky feromony, které jsou produkovány jedním pohlavím a přijímány druhým. VNO se nevyskytuje u všech obratlovců. Například u ptáků se setkáváme pouze MOS, který je složením a stavbou podobný tomu u savců. Dále také chybí primárně vodním obratlovcům, kteří mají jen hlavní čichový orgán, ten má ale jiné složení a stavbu než mají savci (Taniguchi et al. 2014).

Funkce VNO je řízena pohlavními hormony a VNO je přímo napojen na jádra v limbickém systému. Naproti tomu u hlavního čichového systému existuje napojení především na čichovou kůru koncového mozku, nicméně také částečně na limbický systém, a to konkrétně na amygdalu. Toto schéma napojení obou systémů ukazuje, že prostřednictvím vomeronasálního orgánu dochází k nevědomé detekci a k aktivování instinktivního chování, zatímco prostřednictvím hlavního čichového orgánu dochází k napojení na oblasti, které jsou spojené s vědomým myšlením a učením (viz Obr. 7, Asaba et al. 2014, Taniguchi et al. 2014). Na kombinovanou roli hlavního čichového systému a vomeronasálního orgánu v sociální komunikaci u savců ukázal např. Kelliher (2007). U myši chemosenzorické podněty ovlivňují souběžně jak neuroendokrinní, tak behaviorální procesy, které jsou důležité pro sociální chování. Neuroendokrinní cesta vede k rozvoji puberty, blokování gravidity a sekreci luteinizačního hormonu (LH), přičemž stimuly (substance) jsou obsaženy v moči opačného pohlaví. S chemosenzorickými stimuly je spojené sociální chování jako je sociální agrese, sexuální přitažlivost a výběr sexuálních partnerů. Konečný reprodukční úspěch u myši je tedy závislý na detekci a zpracování všech těchto chemosenzorických podnětů dohromady.



Obr. 7 Schéma možných neurálních drah u samice pro samčí chemické a zvukové signály. VNO – vomeronazální orgán, MOE – hlavní čichový epitel, MOB – hlavní čichová bulbus, přídatný čichový bulbus, AON – přední čichové jádro, mPFC – mediální prefrontální kortex. Žlutá – sluchové dráhy, fialová – limbický systém (Asaba et al. 2014).

Jiné studie ukázaly, že individuální rozpoznávání založené na molekulách MHC také probíhá prostřednictvím hlavního čichového systému. Experimenty, které využívaly y-bludiště a olfaktometry, totiž ukázaly, že myši mohou rozlišovat mezi jedinci různých genotypů MHC také na základě těkavých látek. Naopak experimenty s ligandy MHC peptidů jasně ukázaly, že je nutný přímý fyzický kontakt. Když např. moč myšího kmene byla doplněna MHC peptidovým ligandem jiného kmene a byla umístěna za bariérou-mřížkou, myš nedokázala původní a modifikovaný vzorek rozlišit (Kelliher 2007).

Analýza více chemosenzorických podnětů nebo dokonce zapojení více sensorických systémů pro individuální rozpoznávání je tak asi mnohem pravděpodobnější. Reakce na geneticky (ne)příbuzné chemosenzorické podněty se často liší v závislosti na kontextu detekce. Zda probíhá při párování, mateřském nebo neonatální rozpoznávání, anebo za různých prostorových podmínek - při rozpoznávání jedince z dálky či při přímém fyzickém kontaktu. Proces individuálního rozpoznání vyžaduje mnohem více než jen jednu substanci nebo dokonce jediný chemosenzorický systém (Asaba et al. 2014).

5.3 O čem informují feromony?

Feromony patří mezi tzv. semiochemikálie a jak již bylo naznačeno, jsou to látky, které se účastní vnitrodruhové komunikace a mají přímý účinek na fyziologické procesy (Asaba et al. 2014). U hlodavců jsou to močové proteiny Major urinary proteins (MUPs), které patří mezi lipokaliny (Logan et al. 2008). Konkrétně hrají především velkou roli v sociálních interakcích. Účastní se mechanismů, které vyvolávají a udržují sexuální chování u samců i samic, a dále mechanismů ovlivňujících graviditu, estrální cyklus a i pubertu a dokonce někdy také při detekci potravy (Segovia & Guillamón, 1993, Pickett et al. 2014).

Jednu z prvních studií v tomto směru provedli Powers a Winans (1973). Pokus byl proveden u křečků, kteří byli dočasně zbaveni čichu síranem zinečnatým. Účinnost eliminace čichových schopností byla ověřena tréninkem na vnímání pachu. Jejich studie ukázala, že samci křečků, kterým byl čich dočasně odstraněn, vykazovali při páření významné nedostatky v chování a nedokázali poznat samici, která zrovna byla v říji. Tedy pravděpodobně nebylo spuštěno naprogramované instinktivní sexuální chování řízené limbickým systémem (viz předchozí kapitola).

6. Test disasortativního párování podle pachové preference u hraboše polního

6.1 Hraboš polní (*Microtus arvalis*)

Zde je třeba uvést základní poznatky o hraboši polním, u něhož jsem pachovou preferenci testovala. Hraboš polní *Microtus arvalis* je drobný zemní hlodavec podčeledi hrabošovití (Arvicolinae), čeledi myšovití (Muridae) (Obr. 8). Hmotnost dospělého jedince se pohybuje v rozmezí 15 až 40 g. Délka těla dospělého hraboše se pohybuje mezi 80 až 130 mm, ocas měří 21 až 51 mm (Anděra & Horáček 2005). Primárně osidluje stepní případně lesostepní habitaty. V kulturní krajině pak největších populačních hustot dosahuje v agrocenózách, a to zvláště s jetelem či vojtěškou. Hraboš polní je z hlediska potravní specializace striktně býložravý ale příležitostně zkonzumuje i drobnější hmyz (Pikula et al. 2001, Janova et al. 2015). Je rozšířen od pobřeží Atlantského oceánu ve Francii a s izolovanými populacemi na Iberském poloostrově až po centrální Rusko (Yigit et al. 2016)

Hraboši si hrabou v zemi nory v hloubce cca kolem 20-30 cm pod povrchem. Tyto často jednoduché nory, mívají jednu komoru ale několik východů. Na povrchu na ně navazují vykousané ochozy. Při orientaci v prostoru dávají ale přednost vnímání celkového směru před detailní pachovými stopami na těchto ochozech (Dobly 2001). Často vytvářejí kolonie, které tvoří příbuzné samice (Heise & Rozenfeld 2002). Samci žijí soliterně na několikanásobně větším domovském okrsku (řádově 1000 m²). Tento sociální systém je možno označit za promiskuitní, při němž se samci na výchově mláďat nepodílejí. Nicméně za určité situace, zřejmě při nízké populační hustotě, může mít hraboš polní i tendenci k monogamii (Corbet & Harris 1991). Což není až tak překvapivé, když jedinci při párování dávají přednost spíše známým jedincům před neznámými (Řičánková et al. 2007). Tyto složité sociální interakce činí z hraboše polního vhodný objekt pro testování pachové preference s následným ověřením produkce potomstva (fitness testovaných jedinců).

Doba březosti samice trvá většinou 19–21 dní, stejnou dobu samice i kojí. Pohlavní dospělost samic nastupuje v již velmi brzkém věku, a to sice již 13. den od jejich narození (Tkadlec & Krejčová 2001). Nejčastěji se počet mláďat ve vrhu pohybuje od 3 do 10, počet vrhů za rok se podle podmínek pohybuje od 3 do 7. Dožívají se jednoho až dvou let. Díky krátké době březosti, brzké vyspělosti a vysokému počtu mláďat ve vrhu dochází k cyklickým přemnožením hrabošů. K přemnožení dochází v 3–6letých intervalech. Po dosažení vrcholu, populace začnou kolabovat z důvodu nedostatku potravy a celkového

fyziologického vyčerpání organismu ze zvýšených interakcí a sdílení nejrůznějších onemocnění, ale i ze zvýšeného predatorního tlaku ze strany šelem, dravců a sov (Niethammer & Krapp 1982).



Obr. 8 Hraboš polní (*Microtus arvalis*) (www.nohelgarden.cz)

6.2 Návrh laboratorního testu

K přípravě vlastního experimentu byla učiněna literární rešerše přímo zaměřená především na disasortativní párování a laboratorní testy pachové preference u hlodavců (Tab. 2). Pokud byly získány důležité informace také u jiných taxonů, byly také do rešeršní tabulky zahrnuty. Z databáze „Web of Science“ byly do tabulky vybrány literární zdroje na základě hledání kombinací následujících hesel: assortative, disassortative, mating, odour, scent, smell, preference, mammal, rodent, mouse, vole.

Tab. 2 Přehled literárních zdrojů přiřazených k laboratornímu testu

Poř. č.	Citace	Druh	Vybírající pohlaví	Vybírané pohlaví	Poznatek
1	Yamazaki et al. 1979	myš laboratorní	F, M	M, F	užito podmiňování - odlišení MHC může být odděleno od pohlavních rozdílů a párování
2	Jerram et al. 1994	především primáti a hlodavci			chování, ohrožení nemocí a molekulární genetiku je možno propojit v kontextu evoluce a přirozeného výběru.
3	Meikle et al. 1995	myš domácí	F	M	pokus s výživou - těžší, dobře vyvinutý - preference podle pachu
4	Johnston et al. 1997	hraboš pensylvánský	F	M	preference jedince podle poslední (vrchní) značky moči preference známého více než neznámého pachu
5	Wedekind et Füre 1997	člověk	F, M	F, M	MHC tělesný pach ovlivňuje výběr partnera i u lidí. Pozorované preference by vedly ke zvýšení heterozygostnosti u potomků.
6	Penn & Potts 1998	myš domácí (<i>M. m. domesticus</i>)	F	M	cross-foster, MHC rodinný imprinting je efektivnější mechanismus vyhnout se inbreedingu než "self inspect"
7	Swaisgood et al. 2000	panda velká	M	F	preference v estru více než anestru - vokalizace, pach?
8	Pillay 2000	myš čtyřpruhá	F	M	preference celého jedince nebo pach, jen u samice v estru!
9	Dobly 2001	hraboš polní	M		volba cesty je založená spíše na obecném směru cíle než na čichových stopách konkrétní trasy.
10	Drickamer et al. 2001	myš domácí (<i>M.m.d.</i>)	F, M, M	M, F, M	preference větší ano-genitální distance (AGD) = agresivní jedinec, lepší rodič - podle pachu preference menší AGD = lepší matka, více mláďat - podle pachu vyhýbání se větší AGD - podle pachu

11	Henley et al. 2001	potkan laboratorní, myš laboratorní, fretka			při pohlavním výběru u myši, fretok a potkanů je důležitá role steroidních hormonů. Reagující oblasti mozku jsou zapojené do čichu a sexuálního chování.
12	Ehman & Scott 2002	myš laboratorní	F	M	preferovaný - neinfekční pach celého jedince
13	Heise a Rozenfeld 2002	hraboš polní	F	F	samice strávily více času v přítomnosti matky, sester, příbuzných jedinců a jedinců z domovské oblasti. Mají sklon zůstat u své matky a oddálit tím vlastní reprodukci.
14	Rolland et al. 2003	myš domácí (<i>M.m.d.</i>)	F	M	preference dominantního jedince podle pachu nebo celého jedince, F musí být v estru!
15	Roberts & Gosling 2003	myš laboratorní	F	M	preference odlišného MHC a dobrých genů (např. velikosti pachové značky) - výsledkem optimalizace
16	Schwanz & Lacey 2003	tukotuko (<i>Ctenomys sociabilis</i>)	M	F	samci reagovali (preferovali) více na samičí moč než na samčí
17	Woodley & Baum 2003	fretka	F, M	M, F	preference samce před samicí podle pachu anální žlázy preference F před samcem podle pachu anální žlázy
18	Heth et al. 2003	myš panonská (<i>M. spicilegus</i>) myš domácí (<i>M. musculus</i>)	M, F, M, F	M, F, M, F	čím více času je zkoumán anogenitální pach - tím více jsou jedinci podobní geneticky
19	Dudchenko 2004	laboratorní hlodavci			pracovní paměť je reprezentace předmětu, podnětu nebo prostorového umístění, které se obvykle používá v rámci jedné testovací relace ale ne mezi relacemi.
20	Busquet & Baudoin 2005	myš panonská	M	M	pomocí postupu „habituation–generalization“ bylo možné stanovit korelaci mezi pachem a geny u blízkých příbuzných.

21	Santos et al. 2005	člověk	F	M	pouze podle potu je odlišen MHC
22	Smadja & Ganem 2007	myš domácí (<i>M. m. m.</i>)	M	F	preference <i>M. m. musculus</i> před <i>M. m. domesticus</i> - podle pachu moče
23	Ricankova et al. 2007	hraboš polní	F	M	preference známého jedince před neznámým - podle celého jedince, jeho pachu?
24	Ganem et al. 2008	myš (<i>M. m. m.</i>) myš (<i>M. m. d.</i>)	M M	F F	preference vlastního druhu - podle pachu moče preference vlastního druhu - podle pachu moče
25	Nunes et al. 2009	myš (<i>M. m. d.</i>)	M, F	F, M	preference jedince z habitatu horší kvality - podle moče preference jedince z habitatu lepší kvality - podle moče
26	Tzur et al. 2009	slepec (<i>Spalax galili</i>)	F, M	M, F	preference geneticky příbuzných jedinců - pach byl vnímán jako podobnější (habituation-generalization test)
27	Derti et al. 2010	člověk	F, M	F, M	molekulárně-genetická data nepodporují vliv MHC na disasortativní párování
28	Hagemeyer et al. 2011	rypoš (<i>Fukomys cururo</i>) (<i>Spalacopus cyanus</i>), slepec (<i>Spalax galili</i>)	F, M F, M F, M	M, F M, F M, F	stanoven protein v moči podobný afrodisinu (major urinary proteins - Mups) MUP zde nebyl stanoven - někteří hlodavci nemusí mít Mups!
29	Vaughn Ferkin 2011	hraboš pensylvánský	M	F	preferovány F s více pachovými značkami nápadníků = s vyšší receptivitou?
30	Garratt et al. 2011	myš (<i>M. m. d.</i>)	F	M	preferování středně staří jedinci před starými - podle pachu moče
31	Setchell et al. 2011	mandril (<i>M. sphinx</i>)	F, M	F, M	podobnost pachová je silně korelovaná s podobností MHC
32	Raynaud et al. 2012	myš panonská	F	M	pachy bratrů jsou vnímány podobněji, než nepřibuzní na stejné

					potravě
33	Vaughn et al. 2012	hraboš pensylvánský	F "blond"	M	preferenze jedinců se světlou srstí "blond" genotypu - podle moče!
34	Gildersleeve et al. 2012	člověk	M	F	preferenze žen, které jsou v okamžiku kolem ovulace než mimo - podle pachu
35	Roberts et al. 2013	člověk	F	M	zkoumání preference tělesného pachu a zda – li je tato preference stabilní. Výsledky ukázaly stabilitu. Tělesný pach představuje smysluplnou náražku kvality, kterou lze použít při individuálním hodnocení během lidských interakcí.
36	Sabau & Ferkin 2013	hraboš pensylvánský	M	F	vyhýbání se samicím v post partum estru, které jsou podvyživené - podle ano-genitálního pachu
37	Sturm et al. 2013	myš laboratorní			Schopnost VNO detekovat SIINFEKL (MHC závislý peptid), základ pro hodnocení genotypu.
38	Kavaliars et al. 2014	myš domácí	F F	M M	moč neznámého samce stimulovala čich k rozpoznání parazitovaného samce podle pachu moč parazitovaného samce utlumila preferenci cizího samce podle pachu
39	Raveh et al. 2014	myš (<i>M. m. m.</i>)	F	M	spárování s preferovaným samcem zvyšuje odolnost (toleranci) potomstva proti infekci, nikoliv jeho imunitu!
40	Dougherty et al. 2015	živočichové	F, M	M, F	velký rozdíl mezi testováním s možností volby (T-labyrint, u FF preference přeceněna) a bez volby (seriální uspořádání, u FF podceněna).
41	Edward 2015	živočichové	F, M		návrh alternativního přístupu k popisu výběru partnera – co je preferováno a o kolik, to může napomáhat k porovnání napříč taxony. Různé deskriptory výběru partnera lze lépe pochopit porovnáním s nulovými očekáváním, tj. očekávanou variací

					ve znaku, když volba není přítomna.
42	Rangassamy et al. 2015	myš panonská	F, M	M, F	páry s podobným osobnostním skóre úzkosti měly vyšší pravděpodobnost rozmnožování a rychlejší nástup do něj. Mohl by to být jeden z mechanismů vedoucích k udržení osobnostních rysů v populaci.
42	Toor et al. 2015	rypoš lysý	F, M	M, F	hlavní čichový systém není nezbytný pro sociální interakce
43	Balthazart 2016	živočichové a člověk	F, M	F, M	pohlavní rozdíly jsou výsledkem kombinovaných vlivů steroidních hormonů (působící v rané fázi vývoje), nebo genetických rozdílů mezi pohlavími nebo rozdílně působících epigenetických mechanismů
44	Kromer et al. 2016	člověk	M, F	F, M	preferenze odlišnosti MHC (u člověka HLA) - podle pachu
45	Korgan et al. 2016	potkan laboratorní	F	M	M po konfrontaci s predátorem (jeho pachem) není preferován - podle pachu
46	Dingess et al. 2017	potkan laboratorní	F	M	sociální interakce, konstrukce testovací aparatury pro čichové experimenty až po kontakt zvířat
47	Mitchell et al. 2017	mangusta žíhaná	F, M	M, F	preferenze menší zátěže parazity - podle sekretu anální žlázy
48	Santos et al. 2017	mýval severní	M, F	M, M	starší vybírá do society mladšího nepříbuzného - podle pachu! preferenze odlišného MHC - podle pachu
49	Linnenbrink & von Merten 2017	myš (<i>M. m. d.</i>)	F	M	preferenze samce podle MHC odlišnosti svého otce, může se časem měnit
50	Hurst et al. 2017	myš (<i>M.m.d.</i>), (<i>M.m.m.</i>)	M, F, M, F	M, F, M, F	major urinary proteins (MUPs) jsou kandidáti pro semiochemickou bariéru proti hybridizaci
51	Kotenkova et al. 2017	rodents	F, M	M, F	u savců je vyvinuta schopnost posoudit stupeň příbuzenského vztahu na základě pachů vnímaných během raného postnatálního období.

					Prezentované výsledky ukazují čichový systém u savců jako vysoce flexibilní.
52	Noer et al. 2017	Neovison vison norek americký	F	M	testováno 18 samic ve dvou- výběrovém testu na preferenci samčího pachu moče a trusu. Potom měly samice možnost skutečné volby v páření se dvěma samci. 13 samice mělo mláďata s jedním z testovaných samců. 9 z nich předtím preferovali podle pachu. Výběr partnera je ovlivněn nejen pachem ale více aspekty.
53	Takahashi & Tsuboi 2017	myš laboratorní	F	M	konstrukce olfaktometru pro "habituation - dishabituation" test
54	Harmeier et al. 2018	myš laboratorní	M	F	změny v koncentraci IBA (isobutylamine) v moči představují jednoduchý čichový stimul pro receptory TAAR (trace amineassociated receptor) u samců k rozpoznání vnímavých samic.
55	Mossotti et al. 2018	gepard štíhlý	F	M	zkoumání zájmu samic ze vzorku moči samců různých genetických vzdáleností. Samice trávily více času v blízkosti pachu nejméně příbuzných samců. Vliv neměly koncentrace testosteronu, věk samice nebo estrální cyklus..
56	Melénde- Rosa et al. 2018	křeček kalifornský	F	M	populačně genetická analýza - žádné MHC disasortativní párování, spíše adaptace na infekční zátěž
57	Santos et al. 2018	mýval severní	F	M	zkoumání genů chemosensorických receptorů TAAR a OR umožňující samicím posoudit samčí geny pomocí pachů. Samice s více alelami TAAR nebo OR častěji vybíraly samce s odlišným MHC. Geny MHC třídy I větší vliv na výběr partnera než geny MHC třídy II.
58	Screven &	myš laboratorní	F	M	zkoumání preferencí samic pro akustické, čichové a současně

	Dent 2018				akustické+čichové signály samců. Předchozí zkušenost se samcem může hrát roli při výběru partnera, ukáže silnější preferenci podle pachových signálů.
59	Sonum et al. 2018	myš laboratorní	F, M		vyvinutí aparátu pro monitorování chování nose-poking u myši pro etologicky a neetologicky relevantní pachy. Preference pachů byly variabilní inter- i intraindividuálně.
60	Zhang et al. 2018	myš laboratorní	F		vyšší fyzická aktivita před graviditou (vyšší mitochondriální funkce, biogeneze) - vede k vyšší reprodukci!
61	Burton et al. 2019	myš laboratorní			dodávaný zápach z olfaktometru je dobře promíchaný a spolehlivý na koncentraci od pokusu k pokusu, to umožňuje rychlé změny v testu rozlišování zápachu
62	Parrott et al. 2019	vakomyš tvářopruhá Sminthopsis macroura	F	M	preferovaný samec – vyšší počet vrhů a kratší doba do dalšího porodu, znalost partnera – žádný vliv na preference, ale snížila agresivitu, věk – žádný vliv. Samice spárované se samcem vybraným jejich sestrami měl vysoký úspěch.

Tab. 3 Kvantitativní stránka vybraných aspektů studií zahrnutých do rešerše

druhy	počet	jedinec vybírající	počet
myš domácí	15	samice	51
myš laboratorní	13	samec	33
potkan laboratorní	6	celkem	84
člověk	5		
hraboš pensylvánský	4		
myš panonská	4		
hraboš polní	4		
fretka domácí	2		
mýval severní	2		
slepec (<i>S. galili</i>)	2		
kururo	1		
gepard štíhlý	1		
křeček kalifornský	1		
rypoš (<i>Fukomys</i>)	1	odhad genetické vzdálenosti, MHC	24
mandril rýholící	1	rozpoznání kondice	15
mangusta žíhaná	1	informace o pohlaví	14
myš čtyřpruhá	1	rozlišení známý-neznámý jedinec, soc. interakce	8
norek americký	1	preferenze pachu - rešerše	4
panda velká	1	rozlišení druhu, poddruhu	3
rypoš lysý	1	preferenze pachu - dotažení do rozmnožování	2
tukotuko	1	prostorová orientaci - role čichu	2
vakomyš tvářopruhá	1	technická řešení - olfactometer	2
		rozlišení relevantních a irrelevantních pachů	1
celkem	69	celkem	75

Jak ukazuje Tab. 3, převážná většina studií prověřuje roli čichu u hlodavců ale i lidí. Ostatní savci jsou zastoupeni víceméně ojediněle. Z hlodavců jsou vcelku nejvíce zastoupeny laboratorní formy (myš a potkan), nicméně volně žijící formy myši domácí (ať už jako subspecie nebo druhy *M. domesticus* nebo *M. musculus*) tvoří největší samostatnou položku (více než 1/5). Na hraboších bylo provedeno celkově 7 studií, přičemž přímo na hraboši polním tři studie, které se týkaly pachů a jejich role. Žádná studie však nespojovala pachovou preferenci s úspěšností při rozmnožování. Tedy již teď je možno předpovědět, že toto testování hraboše polního bude pro problematiku pachové preference v kontextu asortativního párování dosti přínosné, nehledě na to, že v plánu je také prověřit výsledek párování na základě počtu potomků ze spárovaných párů.

Při preferenci jednoho z pohlaví převládají jako vybírající jedinci samice a vybraní jedinci samci. Tento aspekt párování byl studován nejvíce. Tím druhým je získávání informace o pohlavní aktivitě samice, o odhadu fáze estrálního cyklu samcem. Tento aspekt byl studován poněkud méně často. Při těchto preferencích vstupovaly do hry pachy, které

byly dávány do souvislosti s produkty genů MHC. Tento typ studií zcela dominoval, tvořil prakticky 1/3 všech studií. Vedle tohoto propojení pachu a imunitního systému byla pozornost věnována také využití pachové informace k rozpoznání kondice případného partnera, podíl studií tvořil 1/5. Studie byly také relativně často zaměřeny na schopnost samců získat z moče samic náležitě informace o jejich receptivitě, ale v této skupině jsou zahrnuty i testy samic, které hodnotily kondici samců (cca 1/5). Poslední výraznou skupinu tvoří studie, které analyzují schopnosti zvířat pomocí pachu rozpoznat známého jedince od neznámého (cca 1/10). Z ostatních studií byly využity části, sloužící k inspiraci v konstrukci spíše technické stránky budoucího experimentu. Z rešerše uvedené v přehledu v Tab. 1. vyplynuly pro budoucí studii několik následujících bodů.

6.2.1 Situace při negativním asortativním párování u savců

Negativní asortativní (disasortativní) párování je spojeno prakticky především s variabilitou MHC genů, která přináší větší pravděpodobnost vypořádání se s různými mikrobními nebo parazitárními onemocněními a která je signalizována prostřednictvím tělesných pachů (Jerram et al. 1994, Setchell et al. 2011, Sturm et al. 2013, Santos et al. 2017, 2018, Linnenbrink & von Merten 2017, Meléndez-Rosa et al. 2018 aj.). Mechanismy, které přicházejí v úvahu, jsou buď rodinný pachový imprinting nebo tzv. "self inspection" – tedy porovnání s vlastním genotypem (Penn & Potts 1998). U hlodavců bylo zjištěno na základě tzv. „cross fostering“ pokusů, že vtištěn v raných fázích může být ale také pach geneticky vzdálenějších rodičů (Kotenkova et al. 2017).

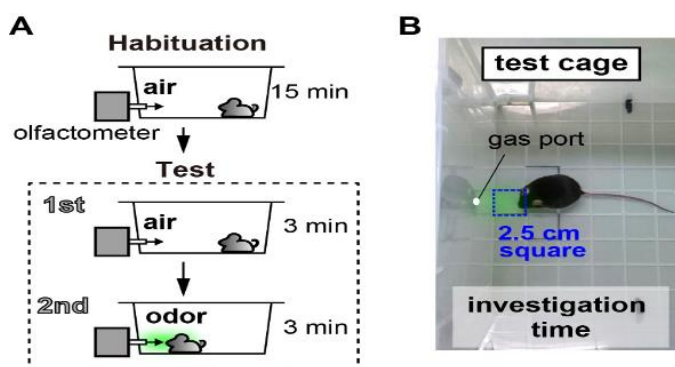
Vliv MHC a jeho účinku na výběr partnera byl prokázán i u lidí (Wedekind et Furi 1997, Santos et al. 2005, Roberts et al. 2013, Kromer et al. 2016). U člověka je ale ve hře více faktorů, které nemusí být asi vždy zcela pod kontrolou (Derti et al. 2010) a mohou pachovou preferenci narušit např. estrální cyklus (Gildersleeve et al. 2012). Asi nakonec vždy závisí na podmínkách prostředí, jestli se může mechanismus odlišného pachu pro kombinování odlišných MHC profilů prosadit, protože ve hře jsou i jiné „dobré geny“ a kromě pohlavního výběru probíhá také přírodní výběr, který může vytvářet specifické subpopulace (Roberts & Gosling 2003, Raveh et al. 2014, Meléndez-Rosa et al. 2018). Důležité bude proto ještě před vlastním pokusem sledovat v pilotním testu, jestli samice hrabošů budou rozlišovat samce dostatečně výrazně. To by mělo být zajištěno vlivem steroidních hormonů (Balthazart 2016, Henley et al. 2001), tedy bude nutné používat jen pohlavně aktivní samce a samice v estru (Pillay 2000, Rolland et al. 2003), což bude vyžadovat jejich kontrolu pomocí obarveného vaginálního stěru na podložním sklíčku.

6.2.2 Stanovení preference - testy pachové preference v laboratorních podmínkách

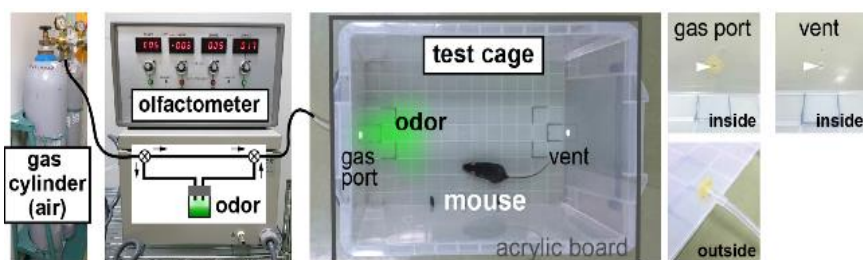
Preference partnerů/pachů je možné studovat i nepřímo prostřednictvím populačně-genetických metod na velkých vzorcích. K tomu je vhodná např. lidská populace (Derti et al. 2010). Pokud se preference opírá o hodnocení pachů v laboratorním testu, má preferenční dvou-výběrový labyrint většinou chodby sestaveny do tvaru písmena „T“ nebo „Y“ (Raveh et al. 2014). Účinnost může být navíc podpořena nuceným prouděním vzduchu v chodbách labyrintu (Yamazaki et al. 1979). Proudění vzduchu s pachem může být ale také konstruováno přímo prostřednictvím tzv. Olfaktometru (Takahashi & Tsuboi 2017, Sonum et al. 2018, Burton et al. 2019). Vlastní testování pak může být provedeno pomocí tzv. „habituation-generalization“ testu (Busquet & Baudoin 2005, Tzur et al. 2009). Zde ale větší pozornost vybudily příbuznější jedinci. Pomocí tohoto testu také bylo odhaleno, že MUP proteiny s feromonovým účinkem se nemusí vyskytovat u všech hlodavců (Hagemeyer et al. 2011). Uvedený „habituation-generalization“ testu je založen na stálém předkládání stejného pachu (např. vlastního, sestry, bratra) až dojde k habituaci, a pak je předložen nový pach, u kterého se může projevit různě intenzivní zájem podle odlišnosti. Tento postup by tak mohl být vhodným příkladem pro seriální stanovení pachové preference včetně olfaktometru podle Takahashi & Tsuboi (2017). Seriální stanovení, tedy testování vždy pouze jednoho jedince a hodnocení podle délky setrvání ve vymezeném prostoru, je důležitou alternativou k dvou-výběrovému testu. V tom prvním uspořádání je volba, ve srovnání s volně žijícími zvířaty, poněkud podceněna a naopak u dvou-výběrového testu je přeceněna (Dougherty et al. 2015). Toto dokládá také dvou-výběrový test u norka amerického, kde nakonec mláďata měla jen polovina preferovaných samců (Noer et al. 2017). V následujícím odstavci je metodika seriálního testování s použitím olfaktometru popsána poněkud podrobněji.

Pro charakteristiku schopnosti detekovat nějaký pach u laboratorních myší jsou pokusy většinou prováděné pomocí filtračního papíru, bavlněného tampónku nebo podestýlky s určitým zápachem. Metoda pomocí olfaktometru má výhodu v tom, že myši jsou vystaveny pachu při stálých koncentracích ve srovnání s filtračním papírem či podestýlkou. Konkrétní postup byl následující. Každá myš byla pro toto testování použita jen jednou, aby se zabránilo zkreslení reakce učení. Pět dní před testem si myši zvykaly na místní laboratorní podmínky. Každý den v testovací místnosti vždy stejný experimentátor uchopil myš v latexových rukavicích do ruky po dobu 10 minut. V den testování byla myš převedena z její domácí klece do klece testovací. Do této klece byl přiváděn vzduch po dobu 15 minut, aby se myš mohla habituovat. Vzhledem k tomu, že myši často během testování vylučovali

trus i moč, a to zejména na počátku habituace, tak každých pět minut byla v testovací kleci čištěna podlaha pomocí papírových ručníků, aby nedocházelo k rozšiřování zápachu z výkalů a moči. Během testování kontinuálně každé tři minuty jim byl dodáván vzduch pro navyknutí, pak byl spínač na proudění vzduchu přepnut a myši byly vystaveny po dobu tří minut testovacímu pachu. Testovací klec pak byla řádně vyčištěna a celý cyklus se opakoval s novou myší. Vše bylo zaznamenáváno digitální kamerou. Jejich výsledky ukázaly, že myši strávily mnohonásobně více času zkoumáním pachu, který jim byl do klece vpouštěn, než u čistého případně srovnávacího vzduchu. Pro takový experiment je třeba použít buď pouze samce myši, nebo samice v estru (Pillay 2000, Rolland et al. 2003). Také je třeba, aby experimentátor provádějící pokusy, byl stále stejně co možná nejvíce pachově neutrální, aby neovlivňoval testovanou pachovou látku (Takahashi & Tsuboi 2017).



Obr. 9 Schéma experimentálního uspořádání (A) a náhled do testovací klece (B) (Takahashi et al. 2017)



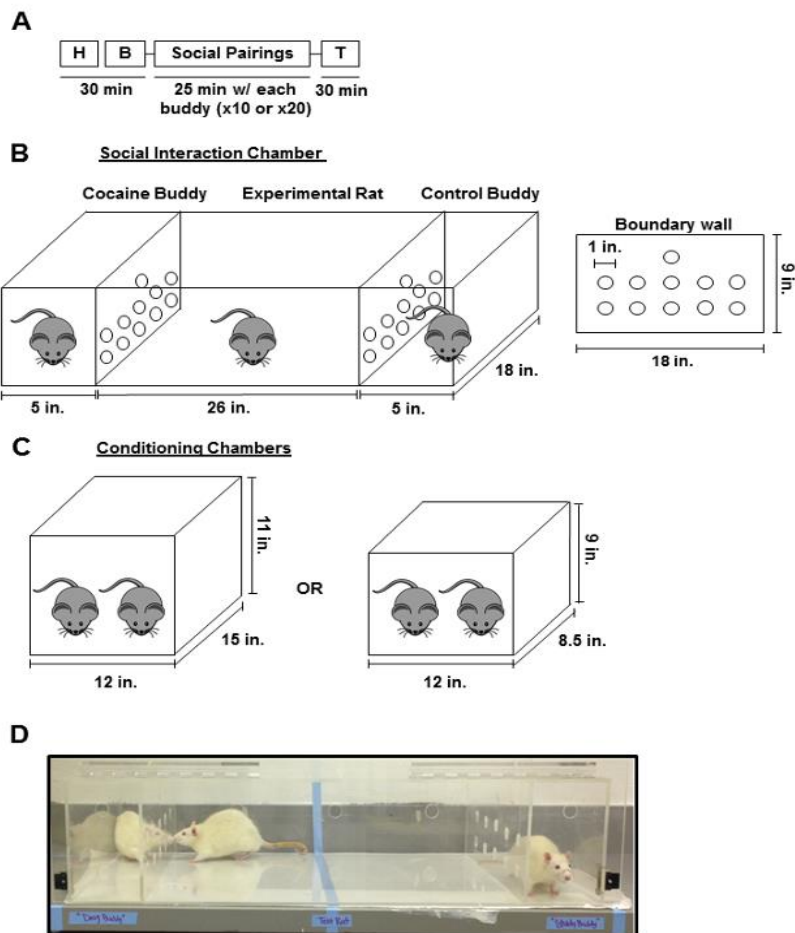
Obr. 10 Olfaktometr – zařízení na čichové testy „habituace – dishabituace“ (Takahashi et al. 2017).

Experimentální labyrint by měl ale také umožnit prezentaci jak pouhého pachu, tak živých zvířat nejprve mimo zrakový kontakt (Vaughn et al. 2012), ale posléze i kontakt dotykem čenichů (Dingess et al. 2017). Pokud jsou testováni celí živí jedinci, není možno

zcela vyloučit také ještě působení jiných informačních kanálů především zvukových v ultrazvukové oblasti (Swaigood et al. 2000), ale i produkce další pachů, které v okamžiku mohou být rozhodující (Pillay 2000, Rolland et al. 2003). Určité optické oddělení testovacích segmentů a zamezení přímého proudění vzduchu by tak mohlo být určitým kompromisem. Z tohoto hlediska je vhodné uvést poněkud podrobněji experiment Dingesse et al. (2017).

V této studii se potkani, kromě jiného, naučily rozlišovat zvíře injikované kokainem a druhé injikované pouze fyziologickým roztokem (kontrolní). K tomuto účelu byl sestaven testovací box z plexiskla – viz Obr. 9. Pro naše cíle je ovšem důležité jen konkrétní provedení experimentu, ve kterém hraje roli především vnímání pachu a také forma projevení preference. Ta je dána celkovou dobou strávenou u jednoho či druhého zvířete, ale také paletou chování, která ukazuje zájem detailněji. Sledováno bylo 1) Strkání čenichu do otvoru (nose pokes) – chování, kdy čenich testovaného potkana fyzicky pronikl skrz otvory ve stěně. 2) Umístění obou předních tlapek na stěnu (pawing) – chování, kdy potkan umístil obě své tlapy na stěnu boxu s jedním z obou porovnávaných zvířat. 3) Průzkumové chování (exploration) – pohyb podél boxu s porovnávaným zvířetem, přičemž je testována celá stěna (mimo předchozí dvě kategorie). 4) Bezprostřední interakce dvou potkanů (initiation events) – kontakt dvou zvířat tváří v tvář. Cílem této studie bylo zjistit, zda potkani mají větší preferenci pro jedince s kokainovou zkušeností či jedince se solnou zkušeností (s fyziologickým roztokem). Preference byla větší pro kokainové jedince. Toto uspořádání je tak vhodné pro paralelní testování preference ze dvou jedinců. Z výsledků uvedené studie je možno se nechat inspirovat kromě jiného také celkovým hodnocením chování. Nicméně asi nejcitlivějším měřítkem preference je nejspíše strkání nosu do otvoru ve stěně (Dingess et al., 2017).

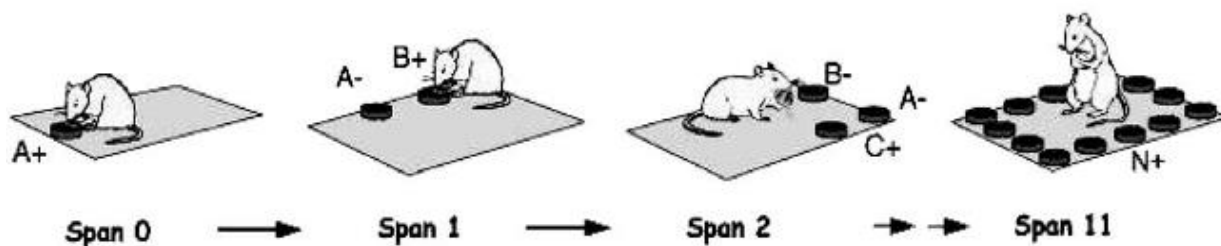
Pro realizaci pachových experimentů byla zdrojem vhodných konstrukčních podnětů také studie, ve které byla rozebrána role paměti u hlodavců testovaných v různých labyrintech (Dudchenko, 2004). Pracovní paměť u hlodavců je v této přehledové studii definována jako typ krátkodobé paměti pro objekt, místo nebo stimul, která najde uplatnění v rámci pokusu ale už ne ve více pokusech. Na druhé straně máme paměť referenční, dlouhodobou, která se získává opakovaným výcvikem a která by vytrvala několik dní nebo měsíců. S rolí paměti je třeba počítat při každém experimentu se zvířaty a bude třeba ji vzít v úvahu, samozřejmě, také při mém budoucím testování pachové preference.



Obr. 11 Schéma experimentálního uspořádání testu přítomnosti kokainu u potkanů podle Dingess et al. (2017). A – časové rozvržení testu, B – schéma interakční komory (vlevo) a hraniční stěna (vpravo), C – adaptace testovaných jedinců pro část pokusu, D – fotografie interakční komory s momentem interakce tváří v tvář.

V pokusu byla konkrétně prověřována schopnost potkana zapamatovat si soubor dříve prezentovaných podnětů – pachů proti novému pachu. Potkanovi byla nejprve předložena miska s pískem, která voněla kořením. Odměna byla získána vyhrabáním písku z misky. Po krátké pauze byla potkanovi opět předložena miska s vůní první vůně a miska s pískem vonícím novým pachem. Odměna byla k dispozici pouze v misce s pískem s novým pachem. Po další pauze byly potkanovi předloženy tři misky s pískem, z nichž dvě byly předtím předloženy, a jedna s novým pachem. Stejně jako dříve, odměna byla k dispozici pouze v misce s novým pachem. Potkani tento úkol snadno zvládli s dosti vysokou přesností, i když museli hodnotit 24 pachů. Tímto způsobem byla u potkanů hodnocena kapacita paměti pro více pachů (Obr. 10, Dudchenko 2004). Z tohoto experimentu kromě jiného vyplývá, že pokud to bude možné, je třeba se opakovanému kontaktu jedinců nejlépe zcela

vyhnout, neboť jedinci v opakovaných testech by mohli být považováni již za jedince známé.



Obr. 12 Schéma testu potkana pro zapamatování si více pachů (Dudchenko, 2004).

6.2.3 Podmínky pro realizaci laboratorního testu

Testovány jsou většinou samice, ať už se jedná o monogamní nebo polygamní či promiskuitní systémy. Konkrétně jsou samice sledovány, u kterého samce se zdrží déle. Jak již bylo uvedeno, dost záleží na tom, jestli se samice nachází v estru, neboť pak vyhledává samce s odlišným pachem, který více či méně koreluje s MHC (Pillay 2000, Rolland et al. 2003). Pokud ale samice není v estru, pak s dosti velkou pravděpodobností vyhledává naopak podobnějšího či známějšího jedince (Johnston et al. 1997, Heth et al. 2003, Ricankova et al. 2007). V některých případech může být preference opačného pohlaví celkově slabší, např. u tukotuko (Schwanz & Lacey 2003) nebo u fretky podle anální žlázy (Woodley & Baum 2003). V každém případě prověření estrálního cyklu u testovaných samic, jak již bylo uvedeno, bude zcela zásadní. Kdyby testování proběhlo obráceně a samec by si vybíral mezi dvěma samicemi, byl by tento výběr ještě choulostivější na přesnost stanovení estru u obou samic. Samec např. u laboratorní myši vybírá vnímavou samici dosti přímočaře podle koncentrace isobutylamine (IBA) v moči (Harmer et al. 2018). Aby se prosadil jiný faktor výběru, musely by být samice prakticky v přesně stejné fázi. Zcela jiný systém preference samic byl zjištěn u hraboše pensylvánského, kdy atraktivnější se stala samice s více pachovými značkami nápadníků (Vaughn & Ferkin 2011). Tento postup ale vypovídá o kvalitě samice již hodně zprostředkovaně a vyžaduje samce navíc.

6.2.4 Příprava testovaného materiálu

S jakými počty jedinců je třeba počítat? Pokud studie využívá behaviorální metody, soubory v publikovaných studiích obsahují několik desítek jedinců, pokud možno jen jednu testovaných. Protože je plánována také ještě další studie, ve které budou testovány osobnostní rysy těchto zvířat (Lantová et al. 2011), a je plánováno dotažení studie k logickému konci tj. stanovení počtu mláďat u sestavených párů, je plánována početnost souboru v počtu cca 40 párů hrabošů (viz např. Ganem et al. 2008).

K testování určení hraboši musejí být odchyceni na větším území, aby byla zajištěna jejich genetická odlišnost, ale všechny plochy musejí zajišťovat hrabošům stejnou výživu. Jinak jsou zvířata pravděpodobně schopna se soustředit na příznaky, které napovídají, z jakých podmínek pocházejí, a mezi pohlavími je pak v preferenci velký rozdíl. U myši domácí samci podle moče preferují samice z habitatu horší kvality a naopak samice podle moče zase samce z habitatů lepší kvality (Nunes et al. 2009). Nežádoucí rozdíly by mohly vzniknout i v případě, že odchytová místa by se lišila podle predačního tlaku, který by ale asi musel být velmi silný, aby zátěž zanechala v organismu hraboše výraznější stopy (Korgan et al. 2016). Případně by jedinci pocházeli z již tak vzdálených populací, že by již mohli vnímat určitou genetickou bariéru, jaká se např. projevuje mezi dvěma poddruhy myši (Smadja & Ganem 2007, Hurst et al. 2017).

Důležitá je také celková zdravotní kondice jedinců, protože je vybírajícími partnery dobře vnímáno onemocnění (parazitace) (Ehman & Scott 2002, Mitchell et al. 2017). Vyrovnané by mělo být také stáří zvířat a do pokusu by neměli vstupovat staří jedinci, kterým se samice vyhýbají (Garratt et al. 2011). Samozřejmým předpokladem je v chovech stejná potrava u všech jedinců a to ad libitum. Nevyrovnaná výživa by silně poznamenala výběr partnera (Meikle et al. 1995, Raynaud et al. 2012, Sabau & Ferkin 2013). Tato stránka by ale byla samozřejmě zajištěna standardním krmením granulemi pro myši a potkany „LD dieta“ spolu s granulemi pro morčata a králíky „MOK“ a navíc čerstvou zeleninou, nejčastěji mrkví.

6.2.5 Zajištění vhodných chovných podmínek chovu

Dále je důležité, aby hraboši v chovných nádobách měli možnost dostatečného pohybu, a tedy měli dostatečně členité prostředí. Obecně pohybová aktivita zvyšuje intenzitu metabolismu, mitochondriální funkce, biogenezi a ta je důležitá pro reprodukci. Tedy chovné nádoby musí dostatečně veliké, shodně vybavené členitým prostředím (Zhang et al. 2018). Je možné uvažovat o určité stimulaci vnímání nějakým pro hraboše zajímavým pachem, který naladí zvíře k čichání (Screven & Dent 2018). Výběr pachu ale musí být opatrný, protože může naopak vnímání čichem utlumit (Kavaliers et al. 2014). V našem případě by to pravděpodobně mohla být zdravá a geneticky/geograficky přiměřeně vzdálená samice.

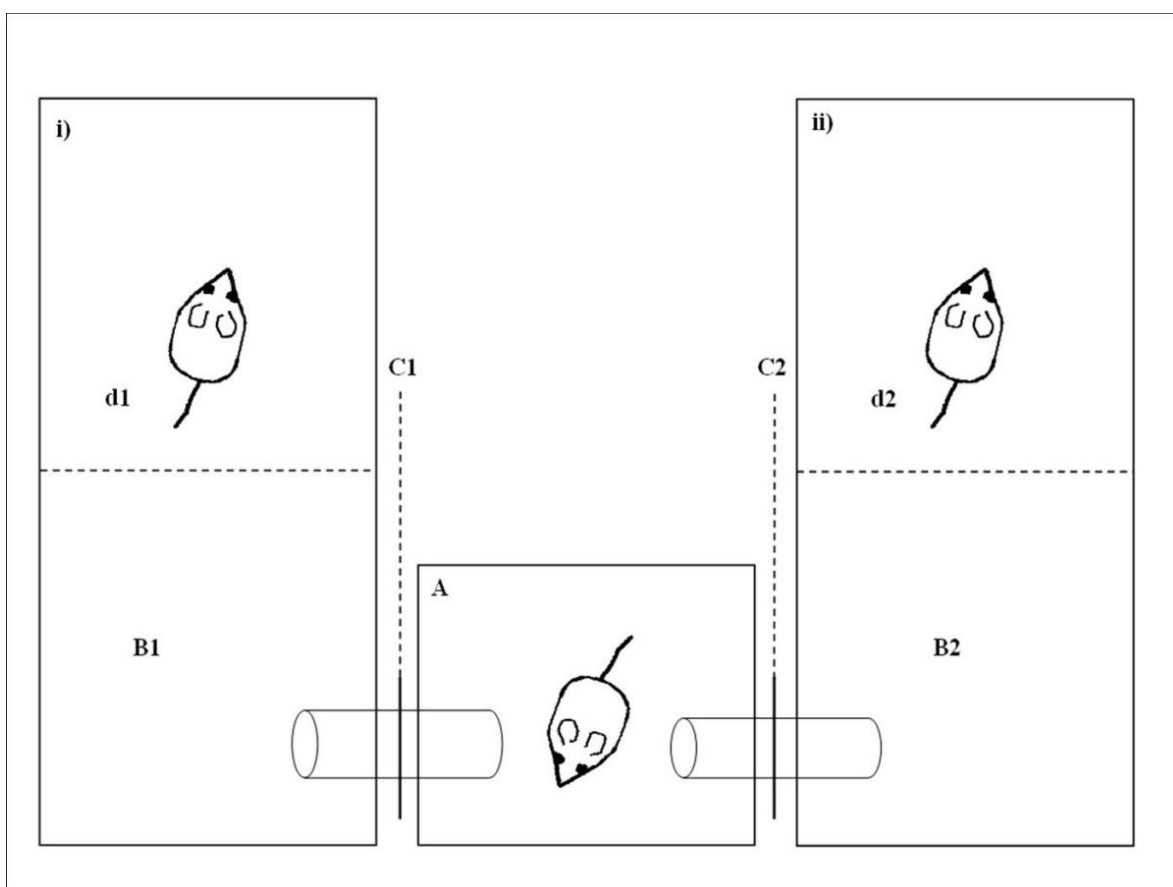
6.2.6 Vyhodnocení výsledků

I přesto, že budou zohledňovány výše uvedené body, bude při vyhodnocování nutné počítat s dosti velkou variabilitou. Jednou z příčin mohou být behaviorální osobnostní rysy, které již byly u hrabošů dokumentovány (Lantová et al. 2011), ale také určité rozdíly fyziologické a behaviorální v důsledku určité intrauterinní pozice embrya, jejíž důsledky je velmi těžké jednoznačně rozpoznat (Drickamer et al. 2001). Hlavním kritériem preference bude doba strávená ve vymezeném prostoru při sériovém uspořádání (Dougherty et al. 2015) a dále časový rozdíl strávený v jednom a druhém rameni labyrintu (viz např. Raveh et al. 2014). Jak by mohl vypadat univerzálnější testovací prostor, ukazuje obr. 11. Nicméně přispět by měla i paleta prezentovaného chování (Dingess et al. (2017)). Při srovnávání výsledků s literaturou by měla pomoci studie Edwarda (2015), která pracuje s termínem deskriptor výběru partnera a porovnává nález s tzv. nulovým stavem, když volba není přítomna. To může být užitečné, když literární údaje nabídnou překvapivé výsledky, např. že u rypose lysého čichový systém není nezbytný pro sociální interakce (Toor et al. 2015), jak vlastně by měl preferovaný znak vypadat. Z vykonané rešerše vyplynulo, že dosud existuje velmi málo studií, které by mohly být považovány za modelové pro náš případ laboratorního ověření disasortativního párování u hraboše polního. Jednou z nich je studie na vakomyši tvářopruhé (*Sminthopsis macroura*), ve které byla studována vazba preferovaného samce na reprodukční úspěch (Parrott et al. 2019). Druhou studií, kde byla pachová preference dotazena do úspěchu v rozmnožování, byla studie na norku americkém (Noer et al. 2017). K finálnímu porovnání fitness pak budou sestaveny dva soubory párů, jeden z kladných preferencí a druhý ze záporných (Raveh et al. 2014). Úspěch v rozmnožování bude pravděpodobně hodnocen podle podílů rozmnožených párů, délky gravidity od párování,

počtu mlád'at narozených, podílu mlád'at uhynulých a počtu mlád'at v době odstavu (Rangassamy et al. 2015, Noer et al. 2017, Parrott et al. 2019).

7. Závěr

Je jasné, že mezi zvířaty není vybírání partnera automatická, prostá věc, jak by se na první pohled mohlo zdát. Ve hře je velké množství parametrů a okolností, které jsou navzájem propojeny. Proto je důležité budoucí studii na hraboši polním zaměřit nejen na jednotlivé aspekty výběru partnera, ale i na jejich vzájemnou propojenost. K rozkrytí těchto interakcí by mohlo pomoci testování jak živých zvířat, tak materiálů s pachovými látkami a to jak seriálně tak v paralelním výběru.



Obr. 13 Plán hypotetického uspořádání testovacího prostoru

8. Literatura

1. Adams G. P., Ratto M. H., Ovulation- inducing factor in seminal plasma: A review (2013). *Animal Reproduction Science*, 136:148–156, [doi:10.1016/j.anireprosci.2012.10.004](https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.10.004)
2. Ah-King M., Ahnjeso I., "The Sex role" concept: An overview and and evaluation (2013). *Evolutionary biology* 40:461-470, [doi:10.1007/s11692-013-9226-7](https://doi.org/10.1007/s11692-013-9226-7)
3. Anděra, M., Horáček, I., *Poznáváme naše savce*, 2. vyd., Praha, MF, 2005, 327 s., ISBN:8086817083
4. Arak, A., Male-male competition and mate choice in anuran amphibians (1983). Pages 181–210 in P. Bateson, ed. *Mate choice*. Cambridge University Press, Cambridge.
5. Asaba A., Hattori T., Mogi K., Kikusui T., Sexual attractiveness of male chemical sand vocalizations in mice (2014). *Department of Animal Science and Biotechnology* 8:231, [doi:10.3389/fnins.2014.00231](https://doi.org/10.3389/fnins.2014.00231)
6. Balthazart J., Sex differences in partner preferences in humans and animals (2016). *Phil. Trans. R. Soc. B* 371: 20150118, [doi:10.1098/rstb.2015.0118](https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0118)
7. Bastos, R. P., and C. F. B. Haddad, Breeding activity of the Neotropical treefrog *Hyla elegans* (Anura, Hylidae) (1996). *Journal of Herpetology* 30:355–360, [doi:10.2307/1565172](https://doi.org/10.2307/1565172)
8. Bearhop, S., W. Fiedler, R. W. Furness, S. C. Votier, S. Waldron, J. Newton, G. J. Bowen, P. Berthold, and K. Farnsworth (2005). Assortative mating as a mechanism for rapid evolution of a migratory divide. *Science* 310:502–504, [doi:10.1126/science.1115661](https://doi.org/10.1126/science.1115661)
9. Bengtson S. A., Owen D. F., Polymorphism in arctic skua *stercorarius parasiticus* in iceland (1973). *Ibis*, 115:87-92, [doi: 10.1111/j.1474-919X.1973.tb02625.x](https://doi.org/10.1111/j.1474-919X.1973.tb02625.x)
10. Boehm T., Zufall F., MHC peptides and the sensory evaluation of genotype (2006). *Trends in neurosciences* 29:100-107, [doi:10.1016/j.tins.2005.11.006](https://doi.org/10.1016/j.tins.2005.11.006)
11. Boonstra R., Xia X. H., Pavone L., Mating systém of the meadow vole, *microtus pennsylvanicus* (1993). *Behavioral ecology* 4:83-89, [doi:10.1093/beheco/4.1.83](https://doi.org/10.1093/beheco/4.1.83)
12. Burton S.D., Wipfel M., Guo M., Eiting T.P., Wachowiak M., A novel olfactometer for efficient and flexible odorant delivery (2018). *Chemical senses* 44:173-188, [doi: 10.1101/461582](https://doi.org/10.1101/461582)

13. Busquet N., Baudoin C., Odour similarities as a basis for discriminating degrees of kinship in rodents: evidence from *Mus spicilegus* (2005). *Animal behaviour* 70:997–1002 [doi:10.1016/j.anbehav.2004.12.023](https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2004.12.023)
14. Cecchetto C., Lancini E., Buetti D., Rumiati R. I., Parma V., Body odors (even when masked) make you more emotional: behavioral and neural insights (2019). *Scientific reports* 9:5489, [doi: 10.1038/s41598-019-41937-0](https://doi.org/10.1038/s41598-019-41937-0)
15. Clutton-Brock T. H., Parker G. A., Punishment in animal societies (1995), *Nature* 373:209-216, [doi:10.1038/373209a0](https://doi.org/10.1038/373209a0)
16. Clutton-Brock T. H., Review Lecture: Mammalian mating systems (1989). *The royal society* 236:1285, [doi:10.1098/rspb.1989.0027](https://doi.org/10.1098/rspb.1989.0027)
17. Cézilly, F., Assortative mating (2004). Pages 876–881 in M. Bekoff, ed. *Encyclopedia of animal behavior*. Greenwood, Westport, CT
18. Corbet G. B., Harris S., *Handbook of British mammals*, Blackwell Scientific publications, 1991, 588 s.
19. Crespi, B. J., Causes of assortative mating in arthropods (1989). *Animal Behaviour* 38:980–1000
20. Derti A., Cenik C., Kraft P., Roth F. P., Absence of evidence for MHC-dependent mate selection within hapmap populations (2010). *Plos genetics* 6:e1000925, [doi:10.1371/journal.pgen.1000925](https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000925)
21. Dingess P. M., Deters M. J., Darling R. A., Yarborough E. A., Brown T. E., A method for evaluating cocaine-induced social preference in rats (2017). *Journal of Biological Methods* 4:e66, [doi:10.14440/jbm.2017.145](https://doi.org/10.14440/jbm.2017.145)
22. Dobby A., Movement patterns of male common voles (*Microtus arvalis*) in a network of Y junctions: role of distant visual cues and scent marks (2001). *Canadian Journal of Zoology-revue canadienne de zoologie* 79:2228-2238, [doi:10.1139/cjz-79-12-2228](https://doi.org/10.1139/cjz-79-12-2228)
23. Dougherty L.R., Shuker D.M., The effect of experimental design on the measurement of mate choice: a meta-analysis (2015). *Behavioral Ecology* 26:311–319, [doi:10.1093/beheco/aru125](https://doi.org/10.1093/beheco/aru125)
24. Downer A., *Elephant talk: the surprising science of elephant communication* (2011). Minneapolis: Twenty-First Century Books, 112 s., ISBN 978-0-7613-5766-7.
25. Drickamer L. C., Sessions Robinson A., Mossman C. A., Differential responses to same and opposite sex odors by adult house mice are associated with anogenital distance (2001). *Ethology* 107:509–519, [doi:10.1046/j.1439-0310.2001.00677.x](https://doi.org/10.1046/j.1439-0310.2001.00677.x)

26. Dudchenko P. A., An overview of the tasks used to test working memory in rodents (2004). Department of Psychology, University of Stirling, Neuroscience and Biobehavioral Reviews 28:699–709, [doi:10.1016/j.neubiorev.2004.09.002](https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2004.09.002)
27. Edward D.A., The description of mate choice (2015). Behavioral Ecology 26:301–310, [doi:10.1093/beheco/aru142](https://doi.org/10.1093/beheco/aru142)
28. Ehman K. D., Scott M. E., Female mice mate preferentially with non-parasitized males (2002). Parasitology 125:461-466, [doi:10.1017/S003118200200224X](https://doi.org/10.1017/S003118200200224X)
29. Emlen D. J., The evolution of animal weapons (2008). Annual review of ecology evolution and systematic 39:387-413, [doi:10.1146/annurev.39.110707.173502](https://doi.org/10.1146/annurev.39.110707.173502)
30. Gaisler J., Zima J. 2007: Zoologie obratlovců. Academia, Praha, 692 str., ISBN: 978-80-200-1484-9
31. Ganem G., Litel C., Lenormand T., Variation in mate preference across a house mouse hybrid zone (2008). Heredity 100:594-601, [doi: 10.1038/hdy.2008.20](https://doi.org/10.1038/hdy.2008.20)
32. Garrat M., Stockley P., Armstrong S. D., Beynon R. J., Hurst J. L., The scent of senescence: sexual signalling and female preference in house mice (2011). Journal of evolutionary biology 24:2398-2409, [doi:10.1111/j.1420-9101.2011.02367.x](https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2011.02367.x)
33. Gildersleeve K. A., Haselton M. G., Larson CH. M., Pillsworth E. G., Body odour attractiveness as a cue of impending ovulation in women: Evidence from a study using hormone-confirmed ovulation (2012). Hormones and behaviour 61:157-166, [doi:10.1016/j.yhbeh.2011.11.005](https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2011.11.005)
34. Hagemeyer P., Begall S., Janotova K., Todrank J., Heth G., Jedelsky P. L., Burda H., Stopka P., Searching for major urinary proteins (MUPs) as chemosignals in urine of subterranean rodents (2011). Journal of chemical ecology 37:687-694, [doi: 10.1007/s10886-011-9971-y](https://doi.org/10.1007/s10886-011-9971-y)
35. Harmeier A., Meyer C. A., Staempfli A., Casagrande F., Petrinovic M. M., Zhang Y-P., Künnecke B., Iglesias A., Höner O. P., Hoener M. C., How Female Mice Attract Males: A Urinary Volatile Amine Activates a Trace Amine-Associated Receptor That Induces Male Sexual Interest (2018). Frontiers in Pharmacology 9:924. [doi: 10.3389/fphar.2018.00924](https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00924)
36. Heath and Carbone, Cross-presentation, dendritic cells, tolerance and immunity (2001). Annual review of immunology 19:47-64, [doi: 10.1146/annurev.immunol.19.1.47](https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.19.1.47)

37. Hedrick P. W., Smith D. W., Stahler D. R., Negative-assortative mating for color in wolves (2016). *Evolution* 70:757-766, [doi:10.1111/evo.12906](https://doi.org/10.1111/evo.12906)
38. Hedrick P.W., Tuttle E.M., Gonser R.A., Negative-Assortative Mating in the White-Throated Sparrow (2017). From the school of life sciences, Arizona state university, 109:223-231, [doi:10.1093/jhered/esx086](https://doi.org/10.1093/jhered/esx086)
39. Heise S. R., Rozenfeld F. M., Effect of odour cues on the exploratory behaviour of female common voles living in matriarchal groups (2002). *Behaviour* 139:897-911, [doi:10.1163/156853902320387882](https://doi.org/10.1163/156853902320387882)
40. Henley C. L., Nunez A. A., Clemens L. G., Hormones of choice: The neuroendocrinology of partner preference in animals (2011). *Frontiers in Neuroendocrinology* 32:146–154, [doi:10.1016/j.yfrne.2011.02.010](https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2011.02.010)
41. Henry L., Assortative mating and the role of phenotypic plasticity in male competition: implications for gene flow among host-associated parasitoid populations (2008). *Biology Letters* 4:508–511, [doi:10.1098/rsbl.2008.0369](https://doi.org/10.1098/rsbl.2008.0369)
42. Heth G., Todrank J., Busquet N., Baudoin C., Genetic relatedness assessment through individual odour similarities in mice (2003). *Biological journal of the Linnean society* 78:595-603, [doi:10.1046/j.0024-4066.2002.00194.x](https://doi.org/10.1046/j.0024-4066.2002.00194.x)
43. Hoogland J. L., Trott R., Keller S. R., Polyandry and polygyny in social rodent: An integrative perspective based on social organization, copulations, and genetics (2019). *Frontiers in ecology and evolution* 7:3, [doi:10.3389/fevo.2019.00003](https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00003)
44. Hume, K., R. Elwood, J. Dick, K. Connaghan, Size-assortative pairing in *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda): a test of the timing hypothesis (2002). *Animal Behaviour* 64:239–244, [doi: 10.1006/anbe.2002.3045](https://doi.org/10.1006/anbe.2002.3045)
45. Hurst, J. L. Urine marking in populations of wild house mice *Mus domesticus* Rutt. III. Communication between the sexes (1990). *Animal Behaviour* 40:233-243, [doi:10.1016/S0003-3472](https://doi.org/10.1016/S0003-3472)
46. Hurst J. L., Beynon R. J., Armstrong S. D., Davidson A. J., Roberts S. A., Gómez-Baena G., Smadja C. M., Ganem G., Molecular heterogeneity in major urinary proteins of *Mus musculus* subspecies: potential candidates involved in speciation (2017). *Scientific reports* 7:44992, [doi:10.1038/srep44992](https://doi.org/10.1038/srep44992)

47. Janova E., Bryja J., Cizmar D., Cepelka L., Heroldova M., A new method for assessing food quality in common vole (*Microtus arvalis*) populations (2015), *European journal of wildlife research* 61:57-62, [doi:10.1007/s10344-014-0873-5](https://doi.org/10.1007/s10344-014-0873-5)
48. Jerram L. B., Eklund A., Kin recognition and the major histocompatibility complex: an integrative review (1994). *The American naturalist* 143:435-461
49. Jiang Y., Bolnick D. I., Kirkpatrick M., Assortative Mating in Animals (2013). Section of Integrative Biology, University of Texas, Austin, Texas 78712; 2. Howard Hughes Medical Institute and Section of Integrative Biology, University of Texas, Austin, Texas 78712, 181:E125-E138, [doi:10.5061/dryad.r706v](https://doi.org/10.5061/dryad.r706v).
50. Johnson K. V. A., Aplin L. M., Cole E.F., Farine D. R., Firth J. A., Patrick S. C., Sheldon B. C., Male great tits assort by personality during the breeding season (2017). *Department of Experimental Psychology* 128:21-32, [doi:10.1016/j.anbehav.2017.04.001](https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2017.04.001)
51. Johnston R. E., Sorokin E. S., Ferkin M. H., Female voles discriminate males' overmarks and prefer top-scent males (1997). *Animal behaviour* 54:679-692, [doi:10.1006/anbe.1997.0471](https://doi.org/10.1006/anbe.1997.0471)
52. Johnston S. G., Johnson R. F., A multifactorial study of variation in inter-clutch interval and annual reproductive success in the feral pigeon *Columba livia* (1989). 80:87-92, [doi: 10.1007/BF00789936](https://doi.org/10.1007/BF00789936)
53. Jones A. G., Moore G. I., Kvarnemo C., Walker D., Avise J. C., Sympatric speciation as a consequence of male pregnancy in seahorses (2003). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 100:6598–6603, [doi:10.1073/pnas.1131969100](https://doi.org/10.1073/pnas.1131969100)
54. Kavaliers M., Colwell D. D., Cloutier C. J., Ossenkopp K-P., Choleris E., Pathogen threat and unfamiliar males rapidly bias the social responses of female mice (2014). *Animal behaviour* 97:105-111, [doi:10.1016/j.anbehav.2014.09.006](https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2014.09.006)
55. Kelliher K. R., The Combined Role of the Main Olfactory and Vomeronasal Systems in Social Communication in Mammals (2007). *Department of Biological Sciences* 52:561–570, [doi:10.1016/j.yhbeh2007.08.012](https://doi.org/10.1016/j.yhbeh2007.08.012)
56. Kirkpatrick M., Good genes and direct selection in evolution of mating preferences (1996). *Evolution* 50:2125-2140, [doi:10.2307/2410684](https://doi.org/10.2307/2410684)
57. Klapilova K., Cobey K. D., Wells T., Current hormonal contraceptive use predicts female extra-pair and dyadic sexual behavior: Evidence based on Czech national survey data (2014). *Evolutionary psychology* 12:36-52, [doi:10.1177/147470491401200103](https://doi.org/10.1177/147470491401200103)

58. Klein S. L., Gamble H. R., Nelson R. J., *Trichinella spiralis* infection in voles alters female odor preference but not partner preference (1999). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 45:323-329, [doi:10.1007/s002650050567](https://doi.org/10.1007/s002650050567)
59. Korgan A. C., O'Leary E., Bauer J., Fortier A., Weaver I. C. G., Perrot T. S., Effects of paternal predation risk and rearing environment on maternal investment and development of defensive responses in the offspring (2016). *ENEURO* 3:UNSPe0231, [doi:10.1523/ENEURO.0231-16.2016](https://doi.org/10.1523/ENEURO.0231-16.2016)
60. Kotenkova, E. V., Maltsev A. N., Ambaryan A. V., Influence of early olfactory experience on mate choice in mammals: Evolutionary aspects (2017). *Zhurnal Obshchei Biologii* 78:21-39
61. Kromer J., Hummel T., Pietrowski D., Giani A. S., Sauter J., Ehninger G., Schmidt A. H., Croy I., Influence of HLA on human partnership and sexual satisfaction (2016). *Scientific reports* 6:32550, [doi:10.1038/srep32550](https://doi.org/10.1038/srep32550)
62. Kuramoto M., Correlations of quantitative parameters of fecundity in amphibians (1978). *Evolution* 32:287–296, [doi:10.2307/2407596](https://doi.org/10.2307/2407596)
63. Lantova P., Sichova K., Sedlacek F., Determining behavioural syndromes in voles – the effects of social environment (2011). *Ethology* 117:124-132, [doi:10.1111/j.1439-0310.2010.01860.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0310.2010.01860.x)
64. Leclaire S., Strandh M., Mardon J., Westerdahl H., Bonadonna F., Odour-based discrimination of similarity at the major histocompatibility complex in birds (2017). *Proc. R. Soc. B* 284:20162466, [doi:10.1098/rspb.2016.2466](https://doi.org/10.1098/rspb.2016.2466)
65. Leinders – Zufall, Zufall T., Ukhanov K., Lucas P., Neurobiology of TRPC2: from gene to behavior (2005). *Pflugers archiv – European journal of physiology* 451:61-71, [doi:10.1007/s00424-005-1432-4](https://doi.org/10.1007/s00424-005-1432-4)
66. Lehtonen J., Parker G. A., Charer L., Why anisogamy ancestral sex roles? (2016). *Evolution* 70:1129-1135, [doi:10.1111/evo.12926](https://doi.org/10.1111/evo.12926)
67. Linnenbrink M., Merten S., No speed dating please! Patterns of social preference in male and female house mice (2017). *Frontiers in zoology* 14:38, [doi:10.1186/s12983-017-0224-y](https://doi.org/10.1186/s12983-017-0224-y)
68. Logan D. W., Marton T. F., Stowers L., Species specificity in major urinary proteins by parallel evolution (2008). *Plos one* 3:e3280, [doi:10.1371/journal.pone.0003280](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003280)

69. Lott D.F., Intraspecific variation in the social systems of wild vertebrates (1984). *Behaviour* 88:266-325, [doi: 10.1163/156853984X00353](https://doi.org/10.1163/156853984X00353)
70. Manzini I., Korsching S., The peripheral olfactory system of vertebrates: molecular, structural and functional basics of the sense of smell (2011). *Neuroforum* 110-118, ISSN: 0947-0875
71. Meikle D. B., Thornton M. W., Premating and gestational effects of maternal nutrition on secondary sex ratio in house mice (1995). *Journal of reproduction and fertility* 105:193-196
72. Meléndez-Rosa J., Bi K., Lacey E. A., Genomic analysis of MHC-based mate choice in the monogamous California mouse (2018). *Behavioral ecology* 29:1167-1180, [doi:10.1093/beheco/ary096](https://doi.org/10.1093/beheco/ary096)
73. Metz J. A. J., Nisbet R. M., Geritz S. A. H., How should we define fitness for general ecological scenarios? (1992). *Trends in ecology and evolution* 7:198-202, [doi:10.1016/0169-5347\(92\)90073-K](https://doi.org/10.1016/0169-5347(92)90073-K)
74. Milinski M., Croy I., Hummel T., Boehm T., Major histocompatibility complex peptide ligands as olfactory cues in human body odour assessment (2013). *Proc R Soc B* 280: 20122889, [doi:10.1098/rspb.2012.2889](https://doi.org/10.1098/rspb.2012.2889)
75. Mitchell J., Cant M. A., Vitikainen E. I. K., Nichols H. J., Smelling fit:scent marking exposes parasitic infection status in the banded mongoose (2017). *Current zoology* 63:237-247, [doi:10.1093/cz/zox003](https://doi.org/10.1093/cz/zox003)
76. Morina et al., While males fight, females choose: male phenotypic quality informs female mate choice in mammals (2018). *Animal Behaviour* 138:69-74, doi.org/10.1016/j.anbehav.2018.02.004
77. Moshkin, M., Gerlinskaya, L., Morozova, O., Bakhvalova, V. & Evsikov V., Behaviour, chemosignals and endocrine functions in male mice infected with tick-borne encephalitis virus (2002). *Psychoneuroendocrinology* 27:603-608, [doi:10.1016/S0306-4530\(01\)00096-8](https://doi.org/10.1016/S0306-4530(01)00096-8)
78. Mossotti R. H., Baskir E. A., Kozlowski C. P., Franklin A. D., Feldhamer G. A., Asa C. S., Reactions of female cheetahs (*Acinonyx jubatus*) to urine volatiles from males of varying genetic distance (2018). *Zoo Biology* 37:229–235, [doi:10.1002/zoo.21420](https://doi.org/10.1002/zoo.21420)

79. Niethammer J., Krapp, F., Handbuch der Säugetiere Europas. Band 2/I Rodentia2:Cricetidae, Arvicolidae, Zapodidae, Spalacidae, Hystricidae, Capromyidae (1982). Akademische Verlagsgesellschaft, Wiesbaden, ISBN: 3-400-00459-6
80. Noer CH. L., Balsby T. J. S., Anistoroaei R., Stelvig M., Dabelsteen T., Mate choice screening in captive solitary carnivores: The role of male behavior and cues on mate preference and paternity in females of a model species, American mink (*Neovison vison*) (2017). *Zoo Biology* 36: 367–381, [doi:10.1002/zoo.21383](https://doi.org/10.1002/zoo.21383)
81. Nunes A. C., Mathias M. L., Ganemb G., Odor preference in house mice: influences of habitat heterogeneity and chromosomal incompatibility (2009). *Behavioral Ecology* 20:1252-1261, [doi:10.1093/beheco/arp122](https://doi.org/10.1093/beheco/arp122)
82. Ophir A. G., Phelps S. M., Sorin A. B., Social but not genetic monogamy is associated with greater breeding success in prairie voles (2008). *Animal behaviour* 75:1143-1154, [doi:10.1016/j.anbehav.2007.09.022](https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2007.09.022)
83. Parrott M. L., Nation A., Selwood L., Female mate choice significantly increases captive breeding success, and scents can be frozen to determine choice, in the stripe-faced dunnart (2019). *Applied Animal Behaviour Science* 214:95–101, [doi:10.1016/j.applanim.2019.03.006](https://doi.org/10.1016/j.applanim.2019.03.006)
84. Penn D., Potts W., MHC-disassortive mating preferences reversed by cross-fostering (1998). *Proceedings of the royal society B-Biological sciences* 265:1299-1306, [doi:10.1098/rspb.1998.0433](https://doi.org/10.1098/rspb.1998.0433)
85. Penn D., Potts W. K., Chemical signals and parasite-mediated sexual selection (1998). *Trends in Ecology & Evolution* 13: 391-396, [doi:10.1016/S0169-5347\(98\)01473-6](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(98)01473-6)
86. Pickett J. A., Barasa S., Birkett M. A., Vertebrate pheromones and other semiochemicals: the potential of accommodating complexity in signalling by volatile compounds for vertebrate management (2014). *Biochemical society transactions* 42:846-850, [doi:10.1042/BST20140134](https://doi.org/10.1042/BST20140134)
87. Pikula P., Beklová M., Pikula J., Obdržálková D., Zapletal M., Zejda J., Heroldová M. 2001: Hraboš polní *Microtus arvalis* (Pallas, 1779) v České republice. Akademické nakladatelství CERM, 128 str. ISBN 80-7204-192-4
88. Pillay N., Eborall J., Ganem G., Divergence of mate recognition in the African striped mouse (*Rhabdomys*) (2006). *Behavioral Ecology* 17: 757-764, [doi:10.1093/beheco/arl014](https://doi.org/10.1093/beheco/arl014)

89. Pillay N., Reproductive isolation in populations of the striped mouse *rhabdomys pumilio* (2000). *Behaviour* 137:1431-1441, [doi:10.1163/156853900502655](https://doi.org/10.1163/156853900502655)
90. Powers B. J., Winans S., Sexual behavior in peripherally anosmic male hamsters (1973). *Physiology and Behavior* 10:361-368, [doi:10.1016/0031-9384\(73\)90323-5](https://doi.org/10.1016/0031-9384(73)90323-5)
91. Rangassamy M., Dalmas M., Féron C., Gouat P., Rödel H.G., Similarity of personalities speeds up reproduction in pairs of a monogamous rodent (2015). *Animal Behaviour* 103: 7-15.
92. Raveh S., Sutalo S., Thonhauser K. E., Thoß M., Hettyey A., Winkelser F., Penn D. J., Female partner preferences enhance offspring ability to survive an infection (2014). *BMC Evolutionary Biology* 14, [doi:10.1186/1471-2148-14-14](https://doi.org/10.1186/1471-2148-14-14)
93. Raynaud J., Messaoudi F., Gouat P., Reliability of odour-genes covariance despite diet changes: a test in mound-building mice (2012). *Biological journal of the Linnean society*, 106:682-686, [doi:10.1111/j.1095-8312.2012.01888.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2012.01888.x)
94. Ricankova V., Sumbera R., Sedlacek F., Familiarity and partner preferences in female common voles *Microtus arvalis* (2007). *Journal of ethology* 25:95-98, [doi: 10.1007/s10164-006-0211-9](https://doi.org/10.1007/s10164-006-0211-9)
95. Roberts S. C., Complexity and context of MHC-correlated mating preferences in wild populations (2009). *Molecular Ecology* 18:3121–3123, [doi:10.1111/j.1365-294X.2009.04244.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04244.x)
96. Roberts S. C., Gosling L. M., Genetic similarity and quality interact in mate choice decisions by female mice (2003). *Nature genetics* 35:103-106, [doi:10.1038/ng1231](https://doi.org/10.1038/ng1231)
97. Roberts S. C., Havlicek J., Petrie M., Repeatability of odour preferences across time (2013). *Flavour and Fragrance Journal* 28:245–250, [doi:10.1002/ffj.3142](https://doi.org/10.1002/ffj.3142)
98. Rolland C., MacDonald D. W., De Fraipont M., Berdoy M., Free female choice in house mice: Leaving best for last (2003). *Behaviour* 140:1371-1388, [doi:10.1163/156853903771980639](https://doi.org/10.1163/156853903771980639)
99. Sabau R. M., Ferkin M. H., Food restriction affects the maternal behavior provided by female meadow voles (*Microtus pennsylvanicus*) (2013). *Journal of mammalogy* 94:1068-1076, [doi:10.1644/13-MAMM-A-060.1](https://doi.org/10.1644/13-MAMM-A-060.1)

- 100.** Salthe, S. N., Duellman W. E., Quantitative constraints associated with reproductive mode in anurans (1973). Pages 229–249 in J. Vial, ed. *Evolutionary biology of the anurans: contemporary research on major problems*. University of Missouri Press, Columbia
- 101.** Santos P. S. C., Schinemann J. A., Gabardo J., Bicalho M. G., New evidence that the MHC influences odor perception in humans: a study with 58 Southern Brazilian students (2005). *Hormones and behaviour* 47:384-388, [doi:10.1016/j.yhbeh.2004.11.005](https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2004.11.005)
- 102.** Santos P. S. C., Michler F.-U., Sommer S., Can MHC-assortative partner choice promote offspring diversity? A new combination of MHC-dependent behaviours among sexes in a highly successful invasive mammal (2017). *Molecular ecology* 26:2392-2404, [doi:10.1111/mec.14035](https://doi.org/10.1111/mec.14035)
- 103.** Santos P. S. C., Mezger M., Kolar M., Michler F.-U., Sommer S., The best smellers make the best choosers: mate choice is affected by female chemosensory receptor gene diversity in a mammal (2018). *Proceedings of the royal society B-Biological sciences* 285:20182426, [doi:10.1098/rspb.2018.2426](https://doi.org/10.1098/rspb.2018.2426)
- 104.** Schwanz L. E., Lacey E. A., Olfactory discrimination of gender by colonial tuco-tucos (*Ctenomys sociabilis*) (2003). *Mammalian biology* 68:53-60, [doi:10.1078/1616-5047-00062](https://doi.org/10.1078/1616-5047-00062)
- 105.** Screven L. A., Dent M. L., Preference in female laboratory mice is influenced by social experience (2018). *Behavioural Processes* 157: 171–179, [doi:10.1016/j.beproc.2018.09.011](https://doi.org/10.1016/j.beproc.2018.09.011)
- 106.** Segovia S., Guillamón A., Sexual dimorphism in the vomeronasal pathway and sex differences in reproductive behaviors (1993). *Brain Research Reviews*, 18:51-74., [doi:10.1016/0165-0173\(93\)90007-M](https://doi.org/10.1016/0165-0173(93)90007-M)
- 107.** Setchell J. M., Vaglio S., Abbott K. M., Jacopo Moggi-Cecchi, Boscaro F., Pieraccini G., L. A. Knapp, Odour signals major histocompatibility complex genotype in an Old World monkey (2010). *Proceedings of the royal society b-biological sciences*, 278:274–280 [doi:10.1098/rspb.2010.0571](https://doi.org/10.1098/rspb.2010.0571)
- 108.** Smadja C., Ganem G., Asymmetrical reproductive character displacement in the house mouse. *J Evol Biol* 18: 1485-1493, [doi:10.1111/j.1420-9101.2005.00944.x](https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2005.00944.x)
- 109.** Snowberg L. K., Bolnick D. I., Assortative mating by diet in a phenotypically unimodal but ecologically variable population of stickleback (2008). *American Naturalist* 172:733–739, [doi:10.1086/591692](https://doi.org/10.1086/591692)

- 110.** Sonum J., Milton A. J., Stetzik L. A., Liu S., Pai K., Arakawa K., Mandairon N., Wesson, D. W., Inter- and intra-mouse variability in odor preferences revealed in an olfactory multiple-choice test (2018). *Behavioral Neuroscience*, 132:88-98, [doi:10.1037/bne0000233](https://doi.org/10.1037/bne0000233)
- 111.** Sturm T., Zufall T., Macek B., Walzer M., Jung S., Pommerl B., Stevanovic S., Zufall F., Overath P., Hans-Georg Rammensee, Mouse urinary peptides provide a molecular basis for genotype discrimination by nasal sensory neurons genome available for chemosensory assessment by other individuals (2013), 4:1616, [doi: 10.1038/ncomms2610](https://doi.org/10.1038/ncomms2610)
- 112.** Swaisgood R. R., Lindburg D. G., Zhou X., Owen M. A., The effects of sex, reproductive condition and context on discrimination of conspecific odours by giant pandas (2000), *Animal Behaviour*, 60:227-237, [doi:10.1006/anbe.2000.1464](https://doi.org/10.1006/anbe.2000.1464)
- 113.** Takahashi T., Hori M., Evidence of disassortative mating in Tanganyikan cichlid fish and its role in the maintenance of intrapopulation dimorphism (2008). *Biology letters*, 4:497–499, [doi:10.1098/rsbl.2008.0244](https://doi.org/10.1098/rsbl.2008.0244)
- 114.** Takahashi H., Tsuboi A., Olfactory Habituation-dishabituation Test (Mouse) (2017). *Bio-protocol*, 7:e2154, [doi:10.21769/BioProtoc.2154](https://doi.org/10.21769/BioProtoc.2154)
- 115.** Taniguchi K., Taniguchi K., Phylogenic studies on the olfactory system in vertebrates (2014). *Journal of veterinary medical science* 76:781-788, [doi: 10.1292/jvms.13-0650](https://doi.org/10.1292/jvms.13-0650)
- 116.** Tkadlec E., Krejcová P., Age-specific effect of parity on litter size in the common vole (*Microtus arvalis*) (2001). *Journal of mammalogy* 82:545-550, [doi:10.1644/1545-1542\(2001\)082<0545:ASEOPO>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1644/1545-1542(2001)082<0545:ASEOPO>2.0.CO;2)
- 117.** Toor I., Clement D., Carlson E. N., Holmes M. M., Olfaction and social cognition in eusocial naked mole-rats, *Heterocephalus glaber* (2015). *Animal behaviour* 107:175-181, [doi:10.1016/j.anbehav.2015.06.015](https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2015.06.015)
- 118.** Tzur S., Todrank J., Juergens A., Nevo E., Heth G., Odour-genes covariance within a natural population of subterranean *Spalax galili* blind mole rats (2009). *Biological journal of the Linnean society* 96:483-790, [doi:10.1111/j.1095-8312.2008.01155.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2008.01155.x)
- 119.** Vaughn A. A., Ferkin D. A., Barco-trillo J., Ferkin M. H., The duration of sociosexual behaviors in male meadow voles *Microtus pennsylvanicus* varies before, during, and after copulation (2011). *Current zoology* 57:49-49. [doi:10.1093/czoolo/57.1.43](https://doi.org/10.1093/czoolo/57.1.43)

120. Vaughn A. A., Finger A. A., Gibbs P. E., Ferkin M. H., Coat color and its effect on preference for the scent marks of opposite-sex conspecifics in the meadow vole *Microtus pennsylvanicus* (2012). *Current zoology* 58:221-227, [doi: 10.1093/czpplo/58.2.221](https://doi.org/10.1093/czpplo/58.2.221)
121. Wagner A. P., Creel S., Frank L. G., Kalinowski S. T., Pattern of relatedness and parentage in an asocial, polyandrous striped hyena population (2007). *Molecular ecology* 16:4356-4369, [doi:10.1111/j.1365-294X.2007.03470.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03470.x)
122. Wedekind C., Furi S., Body odour preferences in men and women: do they aim for specific MHC combinations or simply heterozygosity? (1997) *Proc. R. Soc. Lond.* 264:1471-1479, [doi:10.1098/rspb.1997.0204](https://doi.org/10.1098/rspb.1997.0204)
123. Woodley S. K., Baum M. J., Effects of sex hormones and gender on attraction thresholds for volatile anal scent gland odors in ferrets (2003). *Hormones and Behaviour* 44:110-118, [doi:10.1016/S0018-506X\(03\)00126-0](https://doi.org/10.1016/S0018-506X(03)00126-0)
124. Wogel, H., Abrunhosa P. A., Pombal J. P., Breeding behaviour and mating success of *Phyllomedusa rohdei* (Anura, Hylidae) in south-eastern Brazil (2005). *Journal of Natural History* 39:2035– 2045, [doi:10.1080/00222930500044581](https://doi.org/10.1080/00222930500044581)
125. Yamazaki K., Yamaguchi M., Baranoski L., Bard J., Boyse E. A., Thomas L., Recognition among mice. Evidence from the use of a Y-maze differentially scented by congenic mice of different major histocompatibility types (1979). *The journal of experimental medicine* 150:755-760, [doi:10.1048/jem.150.4.755](https://doi.org/10.1048/jem.150.4.755)
126. Yigit, N., Hutterer, R., Kryštufek, B., Amori, G., *Microtus arvalis* (2016). The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T13488A22351133. <http://dx.doi.org/10.2305>
127. Zala S. M., Bilak A., Perkins M., Potts W. K., Penn D. J. Female house mice initially shun infected males, but do not avoid mating with them (2015). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 69:715-722, [doi:10.1007/s00265-015-1884-2](https://doi.org/10.1007/s00265-015-1884-2)
128. Zhang Y. F., Brasher A. L., Park N. R., Taylor H. A., Kavazis A. N., Hood W. R., High activity before breeding improves reproductive performance by enhancing mitochondrial function and biogenesis (2018). *Journal of experimental biology* 221:UNSP jeb177469, [doi:10.1242/jeb.177469](https://doi.org/10.1242/jeb.177469)
129. Zuk M., Popma S. L., Johnsen T. S., Male courtship displays, ornaments and female mate choice in captive red jungle fowl (1995). *Behaviour* 132:821-836, [doi:10.1163/156853995X00027](https://doi.org/10.1163/156853995X00027)