

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**  
**Přírodovědecká fakulta**

**Explorační chování samic dvou  
poddruhů myši domácí**  
**(*M. m. musculus* a *M. m. domesticus*)**

**Bakalářská práce**

**Jana Dosoudilová**

**Školitelka: Vošlajerová Bímová Barbora, RNDr., Ph.D.**

Ústav živočišné fyziologie a genetiky VAČR, v.v.i.

**Konzultantka: Hladlovská Zuzana, Mgr., Ph.D.**

Ústav živočišné fyziologie a genetiky VAČR, v.v.i.

**Garant: Sedláček František, prof., RNDr., Ph.D.**

**České Budějovice 2019**

Dosoudilová, J., 2019: Explorační chování samic dvou poddruhů myši domácí (*M. m. musculus* a *M. m. domesticus*). [Exploration behaviour in females of two house mouse subspecies (*M. m. musculus* a *M. m. domesticus*). Bc. Thesis, in Czech.] – 41 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Annotation:

In this study we employed a standard open-field test as an approximation of the first phase of dispersal, using females from wild-derived inbred strains representing two subspecies of the house mouse, *M. m. musculus* and *M. m. domesticus*. We tested the prediction that exploration of neutral area varies during different phases of the oestrus cycle and is different between the two subspecies. We also compared female's behaviour with male exploration tested in the same conditions.

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, 16. dubna 2019.

.....

Jana Dosoudilová

V rámci této práce jsem natáčela behaviorální experimenty, vyhodnocovala behaviorální záznamy, prováděla vaginální stěry samic, barvení preparátů a vyhodnocení fází estrálního cyklu, připravila data pro statistickou analýzu a následně zpracovala výsledky a sepsala předloženou práci. Statistické analýzy v R programu provedl kolega Dr. Ondřej Mikula a v práci jsou zveřejněny s jeho laskavým svolením. Výsledky práce byly publikovány v článku: Vošlajerová Bimová et al., 2016: Female house mice do not differ in their exploratory behaviour from males, *Ethology*, 122(44): 298 – 307. Na přípravě manuskriptu jsme se podílela jen okrajově, což autoři uvádějí v poděkování.

#### Poděkování:

Touto cestou bych ráda poděkovala lidem, bez kterých bych nikdy nedošla takto daleko. Jejich pomoc, porozumění a vstřícnost nejen umožnily vzniknout této práci, ale mnohému mě naučily a pomohly mi naplnit jeden z mých životních cílů.

Jmenovitě bych ráda poděkovala své školitelce Barboře Vošlajerové Bímové, a to především za trpělivost, pochopení a pomoc v oblasti odborné i osobní. Mé velké díky patří také konzultantce Zuzaně Hiadlovské za inspirativní vzor a mnoho hodin teoretické i praktické pomoci při vedení a vyhodnocování experimentů. Dále bych ráda poděkovala vedoucímu Ústavu biologie obratlovců Akademie věd České republiky ve Studenci u Třebíče Josefu Bryjovi za možnost být na chvíli součástí tohoto úspěšného, přesto stále přátelského týmu, Jaroslavu Piálkovi za vstřícnost a poskytnutí chovného materiálu, Kateřině Janotové za možnost nahlédnout do oblasti cytologie, Ondřeji Mikulkovi za pomoc se statistickým zpracováním dat a Janě Růžičkové a dalším pracovníkům a pracovnícím ÚBO AV ČR detašovaného pracoviště ve Studenci u Třebíče.

Velké poděkování patří i mému garantu z Přírodovědecké fakulty Jihočeské univerzity Františku Sedláčkovi za ochotu, povzbuzení a odborné vedení. A ačkoliv by si z Jihočeské univerzity nepochybně zasloužila velký dík řada skvělých profesorů, pracovníků a v neposlední řadě samozřejmě i samotné vedení Jihočeské univerzity, přece jen bych ráda jmenovitě poděkovala studijní proděkance Šárce Klementové za pochopení a podporu v rovině nejen studijní.

Na konec, ne však významem, bych ještě ráda vyjádřila vděčnost své rodině a přátelům za uši ochotné naslouchat, ramena umožňující oporu a ruce nabízející pomoc. Děkuji.

# Obsah

<b>1. Prolog.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Úvod.....</b>	<b>3</b>
2.1 Obecné principy.....	3
2.1.1 Speciace a hybridní zóny.....	3
2.1.2 Hybridní zóna myši domácí.....	4
2.1.3 Disperze.....	6
2.1.4 Disperze a explorační chování.....	7
2.2 Myš domácí.....	9
2.2.1 Myš jako modelový organismus.....	9
2.2.2 Sociální struktura.....	11
2.2.3 Strategie samic.....	12
<b>3. Cíle práce.....</b>	<b>15</b>
<b>4. Metodika.....</b>	<b>16</b>
4.1 Pokusná zvířata.....	16
4.2 Test estrálního cyklu.....	17
4.3 Test explorace.....	19
4.4 Vyhodnocení dat.....	21
4.5 Statistické analýzy.....	23
<b>5. Výsledky.....</b>	<b>24</b>
5.1 Explorace & estrální cyklus.....	24
5.2 Explorace & poddruhy.....	26
<b>6. Diskuze.....</b>	<b>29</b>
<b>7. Závěr.....</b>	<b>34</b>
<b>8. Reference.....</b>	<b>35</b>
<b>9. Přílohy.....</b>	<b>44</b>

# 1. Prolog

*„No, v našem kraji,“ řekla Alenka, dosud ještě trochu udýchaná, „se obyčejně dostaneme někam jinam – když takhle rychle a dlouho běžíte, jako jsme my běžely.“*

*„Nějaký pomalý kraj!“ řekla Královna. „Nu, zde, jak vidíte, potřebujete běžet, kolik dovedete, abyste zůstala na místě. Chcete-li se dostat někam jinam, musíte utíkat aspoň dvakrát tak rychle!“*

(výňatek z knihy L. Carrolla Alenčina dobrodružství v říši divů, přeložil J. Císař, 1999)

Evoluce je příběh, jakým si vysvětlujeme svět kolem nás, jeho fungování, neustálý vývoj, pestrost, ale i nestálost, složitost a křehkost. Mění se, druhy neustále vznikají a zanikají. Z jakých důvodů a s jakými následky, můžeme jen odhadovat ze stop zachovaných z minulosti a dílčích pozorování současnosti. Skládáme tu největší z hypotéz – hypotézu o životě na Zemi.

Vypravěči tohoto příběhu však nemají lehký úkol. Historie nám zanechala doslova jen střípky minulých světů sbírané paleontology. A současnost nám poskytuje velmi omezený čas krátkých lidských životů, který se tak úplně k pozorování celého příběhu trvajícího miliony let nehodí.

Naštěstí má náš druh neutuchající zvědavost po poznání - od antických filozofů, přes tvůrce významných evolučních konceptů (např. T. R. Malthus, Ch. Lyell, J. B. Lamarck, Ch. Darwin), až po současné vědce; neustále se zlepšující možnosti výzkumu (nové metody molekulární biologie a genetiky) a někdy snad i pomoc samotné přírody (kolonizace původně neosídlených souostroví, změny propojení afrických kráterových jezer, „okna do evoluce“ hybridních zón), jež urychlí proces speciace a dovolí nám tak pozorovat vznik nových druhů takřkajíc v přímém přenosu.

A máme-li jednu takovou „přírodní laboratoř“ pár hodin cesty vlakem, je pokus o aspoň malé nahlédnutí do některého z procesů evoluce nasnadě.

V mé bakalářské práci jsem se zabývala exploračním chováním, jež předchází samotné disperzi jedinců. Tato ovlivňuje genetickou variabilitu a dynamiku populací. Modelovým druhem se staly díky blízké hybridní zóně a zázemí Ústavu biologie obratlovců Akademie věd České republiky, detašovaného pracoviště ve Studenci u Třebíče dva poddruhy myši domácí *Mus musculus musculus* a *Mus m. domesticus*.

Ke konkrétnějšímu zaměření práce mě inspirovaly předchozí výzkumy na zmíněném pracovišti týkající se genetických, morfologických, fyziologických a behaviorálních rozdílů mezi těmito poddruhy. Obzvláště mě zaujal etologický výzkum pachových preferencí, agrese, behaviorální flexibility a explorační strategie.

Poslední jmenovaný se stal výchozím bodem mého zájmu. O exploračním chování samic myši domácí (možno říci obecněji samic polygynních savců) je toho známo méně, než o exploračním chování samců, jež jsou tradičně považováni za více dispergující pohlaví.

Vybrala jsem si jeden z možných faktorů potenciálně komplikující takový výzkum a to vliv estrálního cyklu na explorační chování samic. Tedy jestli se mění strategie explorační v receptivní a nereceptivní fázi.

Další část mé práce navazovala na ve Studenci již uskutečněný výzkum exploračního chování samců. Přesněji na rozdíly v exploraci samců mezi poddruhy *M. m. musculus* a *M. m. domesticus*. Otázka zněla, zda se prokáží obdobné rozdíly i u samic.

## 2 Úvod

### 2.1 Obecné principy

#### 2.1.1 Speciace a hybridní zóny

Ačkoliv je biologický druh definován jako soubor populací morfologicky podobných jedinců, jež se mohou plodně křížit mezi sebou, ne však s příslušníky populací jiných (Mayr, 1963), v přírodě k mezidruhové hybridizaci může dojít, dochází a to dokonce častěji, než se původně předpokládalo. Odhaduje se, že se jedná přinejmenším o 25% rostlinných a 10% živočišných druhů (Mallet, 2005).

Analýza DNA potvrdila mezidruhovou introgenesi dokonce i u lidí. V genomu současných populací nalézáme společné sekvence genů svědčící o vzájemném křížení moderního člověka (*Homo sapiens*) a člověka neandertálského (*Homo neanderthalensis*) před asi 47 000 – 65 000 lety (Sankararaman et al., 2012). Pravděpodobně šlo o vzájemnou výměnu genů, jež člověka moderního vybavila řadou užitečných adaptací (sekvence ovlivňující imunitní systém, metabolismus tuků, množství pigmentů či keratinu v kůži, aj.) a učinila ho konkurenceschopnějším. Možná i na úkor populací neandertálců (Sankararaman et al., 2012, Yange et al., 2012). Existují však další mezi sebou se křížící blízké příbuzné druhy představující vhodnější modelové organismy a umožňující nám nahlédnout do procesu speciace.

Vznik nových druhů neboli speciace je proces kontinuální a v podstatě logický. Prostředí se mění, organismy se vyvíjí, nové druhy vznikají. Rychlost a kulisy speciace mohou být různé. Ovšem za zlomový bod považujeme vznik reprodukčně-izolačních bariér, jež nový druh zafixují a udržují i přes potenciální reprodukční propustnost a tok genů (Baack et al., 2007, Coyne & Orr, 2004). Tyto zásadní izolační mechanismy lze rozdělit na prezygotické a postzygotické.

Prezygotické mohou být geografické, ekologické, fyziologické i behaviorální. Způsobují, že se jedinci buď rozmnožovat nemohou (izolace prostorová; časová, např. odlišná doba říje; fyzická, např. nekompatibilita pohlavních orgánů nebo fyziologická, např. nemožnost splynutí gamet) nebo „nechtějí“ (sexuální selekce dle vzhledu, např. zbarvení, tělní výrůstky; pachu; vokálních projevů, např. zpěv ptáků; etologie, např. ritualizované partnerské chování) (Coyne & Orr, 2004). Postzygotické způsobují, že se jedinci sice kříží



za vzniku potomků, ale potomků se zásadně sníženou reprodukční zdatností neboli fitness (hybridní sterilita, např. chromozomální přestavby; genová nekompatibilita; hybridní neživotoschopnost, např. nesprávný vývoj zygoty, náchylnost k parazitaci, atd.) (Coyne & Orr, 2004, Schumer et al., 2014).

Samotné mechanismy vzniku a udržení reprodukčně-izolačních bariér jsou však složité, komplexní a zatím ne zcela přesně známé. Stávají se tedy jednou ze základních otázek studia speciace, potažmo evoluční biologie (Mallet, 2005).

Unikátní možnost studovat speciaci nám dává existence hybridních zón. Ačkoliv experimenty ve snaze replikovat tyto procesy v laboratořích jsou možné a naprostou kontrolou podmínek i výhodné, nemusí tak úplně odpovídat dějům v přírodě (omezený počet generací křížení a zpětných křížení, vyloučení přirozeného výběru, atd.) (Hewitt, 1988). A jelikož nám dává studium hybridních zón skvělou příležitost pozorovat, popř. experimentálně rozvíjet výsledky speciace, jež příroda takřikajíc udělala za nás, věnuje se v posledních letech výzkumu hybridních zón řada prací (Canestrelli et al., 2016, Shurtliff, 2013).

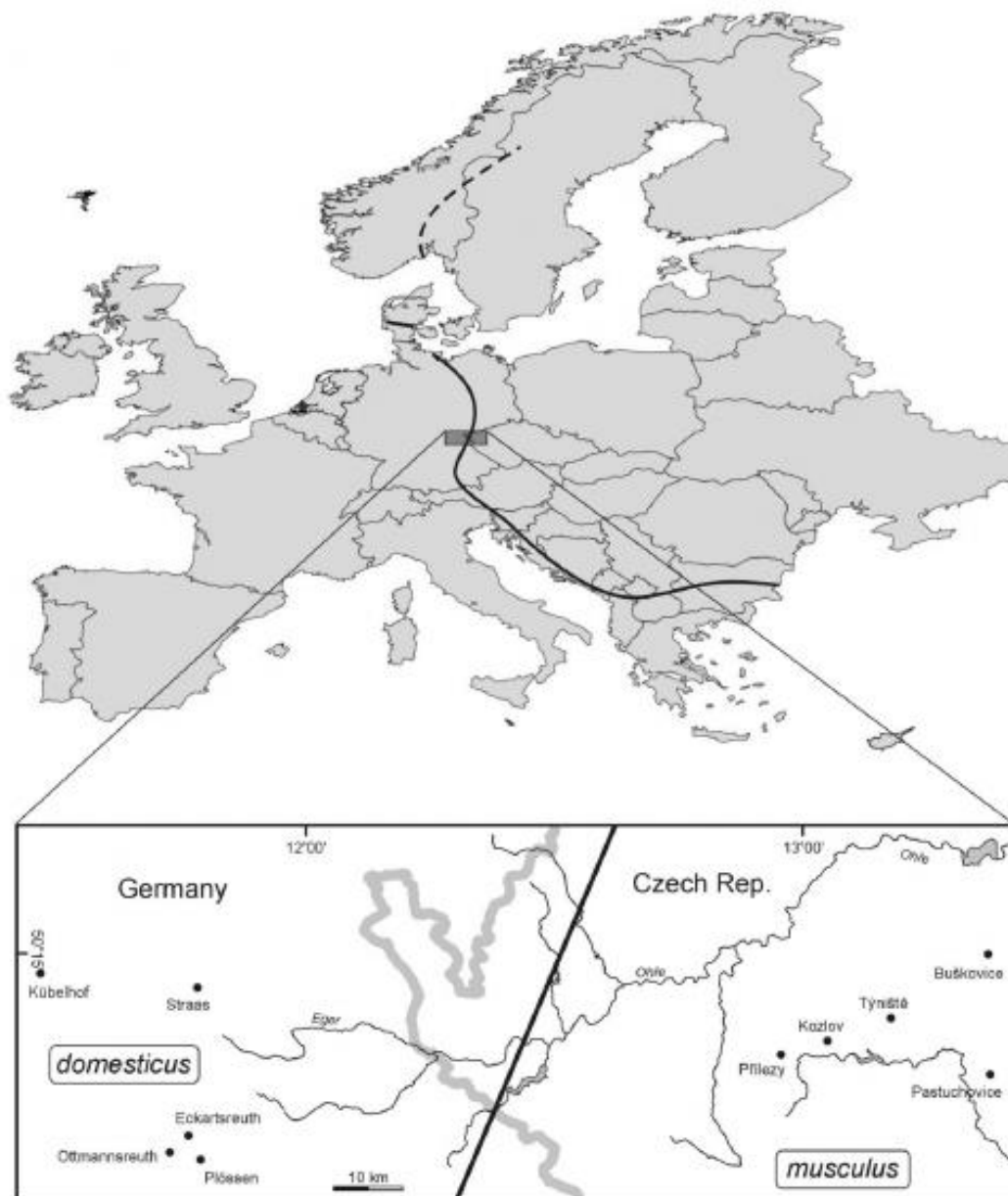
### 2.1.2 Hybridní zóna myši domácí

Hybridní zóna je označení oblasti, kde se dotýkají geografické areály dvou druhů či poddruhů a kde se tyto geneticky odlišné populace setkávají a kříží za vzniku hybridního potomstva (Barton & Hewitt, 1985, Hewitt, 1988). Hybridní zóny se obvykle formují jen několik kilometrů široké, ale stovky, až tisíce kilometrů dlouhé a objevují se u všech větších skupin vyšších organismů (Barton & Hewitt, 1985, 1989). Kromě nápadné podobnosti hybridních zón různých taxonů, jež je sama zajímavým jevem k bádání, vyvstává i základní otázka - proč se hybridní zóny dále nerozšiřují až do postupného promíchání obou druhů?

Tradiční představa považuje hybridy, popř. potomky hybridů za znevýhodněné sníženou fitness, např. narušením jejich ontogenetického vývoje, nižší plodností, geneticky podmíněnou citlivostí na parazitaci a podobně (Barton & Hewitt, 1989, Hewitt, 1988). Hybridní zóny by tak byly jen oblasti náhodného setkání dvou druhů, jež se dynamicky udržují na jedné straně jejich vzájemným křížením, na straně druhé nižší reprodukční fitness potomků takového křížení, kteří však v konkurenci původních parentálních taxonů nemají šanci na rozšíření (Barton & Hewitt, 1985). Některé studie ale naznačují, že hybridní jedinci

nejen že nemusí mít sníženou fitness, mohou mít stejnou nebo dokonce i vyšší reprodukční způsobilost než rodičovské druhy (Arnold & Hodges 1995).

Hybridní zóny jsou studovány u celé řady taxonů, od rostlin, až po obratlovce. Řada jich je i na území České republiky. Jedna z nejlépe prozkoumaných je hybridní zóna dvou poddruhů myši domácí *Mus musculus musculus* a *M. m. domesticus*. Tato zhruba 2 500 km dlouhá a 20 - 30 km široká hybridní zóna se táhne napříč Evropou od Skandinávie až k Černému moři. Českou republikou prochází v jejím nejzápadnějším výběžku, několik km od Chebu (Boursot et al., 1993, Macholán & Zima, 1994, Macholán et al., 2003), (Obr. 1).



Obrázek 1: Evropská hybridní zóna dvou poddruhů myši domácí *M. m. musculus* a *M. m. domesticus*. Převzato z Hladlovská et al., 2013.

Jde o sekundární hybridní zónu, jejíž stabilitu udržuje rovnováha mezi vnitřní selekcí a tokem genů proti ní. Vnitřní selekce hybridní zónu zužuje, penalizuje jedince se sníženou životaschopností nebo fertilitou, a tok genů, např. disperzí rodičovských genotypů do středu hybridní zóny, naproti tomu její šířku zvětšuje (Barton & Hewitt, 1985). Nově vzniklé druhy tedy fixují reprodukční bariéry, naopak disperze tyto bariéry překonává (Macholán et al., 2012, Prugnolle & de Meeus, 2002).

Fyzická disperze, tedy zjednodušeně pohyb zvířat v krajině, je jedním ze základních procesů umožňujících tok/pohyb genů v prostředí. Pochopení zákonitostí onoho fyzického pohybu na ekologické a behaviorální úrovni může pomoci objasnit její význam pro udržení nebo naopak narušení reprodukční izolace mezi blízkými příbuznými druhy (Hewitt, 1988, Macholán et al., 2012).

### 2.1.3 Disperze

Disperze je jednosměrný pohyb z domovské oblasti do oblasti nové, nepřekrývající se s původní (Stenseth & Lidicker, 1992). Dispergující jedinec opouští své původní území, ale na rozdíl od migrace už se do něj nevrací.

Pochopitelně jde o potenciálně riskantní chování. Zahrnuje opuštění dobře známého prostředí, u sociálních druhů i rodné skupiny a dále nebezpečí přesunu neprozkoumanou oblastí s možnými fyzickými překážkami nebo predací. Dispergující jedinec se také potýká s neznámou dostupností úkrytů, potravy nebo výskytu dalších příslušníků vlastního druhu, což často klade vysoké energetické nároky (Stenseth & Lidicker, 1992). Motivace k disperzi tedy musí být pro jedince silná a přínosná (nebo z evolučního hlediska aspoň ne významně nepřínosná).

Příčiny disperze pozorujeme různé. Z pohledu jedince např. nedostatek zdrojů (potravy, vhodných partnerů, úkrytů, hnízdních příležitostí, apod.), vysoká míra predace, střet s příslušníky vlastního druhu (u soliterně žijících živočichů např. vytlačení silnějším nově přichozím, u sociálně žijících organismů špatné hierarchické postavení, tlak na dospívající potomky k opuštění rodičů/rodné skupiny z důvodu sexuální/sourozenecké kompetice, přílišná hustota skupiny, atd.) (Greenwood, 1980, Pocock et al., 2005, Pusey, 1987, Stenseth & Lidicker, 1992). Na populační úrovni je pak významným faktorem třeba redukce inbridingu (příbuzenské křížení) nebo zajištění toku genů populací, jež dává

vzniknout stále novým genetickým kombinacím nutným k přizpůsobování se měnícím se podmínkám, koevoluci mezi predátory/parazity a kořistí/hostitelem, aj. (Stenseth & Lidicker, 1992).

Afinita k disperzi se během života jedince mění - věkem, aktuální fitness, podmínkami prostředí (Andreassen et al, 2002). Na základě toho si lze položit otázku, zda existuje obecný trend nebo charakteristika dispergujících individuí. Třeba je-li v sociálních skupinách typickým dispergujícím spíše člen slabý, na dolních příčkách hierarchie, který je vytlačen na okraj a disperze může být řešením takové situace (Bowler & Benton, 2005). Nebo naopak do jisté míry dobrovolně dispergují silní, odvážní jedinci hledající teritoria k převzetí nebo k založení vlastní skupiny (Sandnabba, 2010).

Další obdobou této otázky mohou být rozdíly v disperzi mezi pohlavími, tedy je-li typickým dispergujícím samec nebo spíše samice (Pusey, 1987). Tato úvaha úzce souvisí s reprodukčními systémy, tedy s investicí do rodičovské péče a s distribucí samic jako zpravidla těch více investujících. V polygynních společenstvích typických pro savce se právě samci tradičně považují za více dispergující pohlaví. V monogamních systémech (s přihlédnutím k zásadnímu zvýšení fitness potomků společnou péčí obou rodičů) obvyklých pro ptáky jsou naopak za více dispergující pohlaví považovány samice (Greenwood, 1980, Prugnolle & de Meeus, 2002).

Studium disperze tedy nabývá důležitosti nejen z pohledu zoologie dispergujících druhů nebo jejich populační genetiky. V širších souvislostech podmiňuje i pochopení mnoha evolučních procesů (Clobert, 2012, Stenseth & Lidicker, 1992).

#### 2.1.4 Disperze a explorační chování

Disperzi samotné předchází explorační chování neboli prozkoumávání prostředí (Bowler & Benton, 2005, Clobert et al., 2012, Stenseth & Lidicker, 1992). Explorace okolí jedincem je z evolučního hlediska velmi důležitá. Umožňuje hledání potravy, úkrytů, partnerů atd. Znalost okolí současně snižuje rizika při aktivitě, např. vyhnutím se fyzickým překážkám, predaci nebo nepřátelským střetům s vlastním druhem (Augustsson et al., 2005).

Explorační strategie ovlivňuje mnoho faktorů - celkový stav jedince, stres, jeho zkušenosti nebo sociální status (Bartolomucci et al., 2001, 2004). Také v personální rovině rozeznáváme dva hraniční typy – „bold“ a „shy“, které se mimo jiné projevují i způsobem

explorace. Jedinci typu „bold“ jsou popisováni jako proaktivní, odvážní, dominantní, často více agresivní a se sklony k aktivní, ale poněkud povrchní exploraci. Naopak zvířata „shy“ jsou reaktivní, opatrná, méně konfliktní. Vystavení se novým situacím se spíše vyhýbají, reagují pasivněji, někdy typickým strnutím. Explorují pomaleji, ale vnímavěji k detailům. (Koolhaas et al., 2010, Shih et al., 2004).

Reaktivní jedinci získávají výhodu v měnících se podmínkách, se zaměřením na detail se lépe přizpůsobují, pohotově reagují. Praktické potvrzení přinesla Hiadlovská et al. (2014) v Morrisově vodním testu, kdy samci *M. m. musculus* jako zástupci méně agresivní „shy“ personality dosáhli lepších výsledků a prokázali tak vyšší flexibilitu.

„Bold“ zvířata zase prosperují díky vyšší agresivitě v konkurenceschopnosti, kompetici o zdroje nebo při střetu s predátorem (Shih et al., 2004). Také se předpokládá, že jsou v stabilním prostředí reprodukčně úspěšnější a více dispergují (Koolhaas et al., 2010).

Studium disperze ve volné přírodě je velmi náročné. Přesných výsledků dosahuje radiotelemetrie (Stenseth & Lidicker, 1992), ale u drobných zvířat lze použít jen menší vysílače s kratším dosahem a výdrží. Navíc může ovlivnit chování sledovaných jedinců (Bowler & Benton, 2005). Fotopasti pokrývají jen malé území a vyžadují pravidelnou kontrolu. Přítomnost pachů člověka pak negativně působí na citlivá zvířata (Sanderson & Trolle, 2005). Nejčastěji používaná metoda zpětného odchyty Capture-Mark-Recapture (CMR) zase může živočichy stresovat. Další možností je studium disperze v polopřirozených uzavřených chovech (Gerlach 1996, 1998), popř. výzkum exploračního chování v nejrůznějších umělých arénách reprezentující zjednodušený model situace v přírodě.

Pozorování exploračního chování je tak standardně používáno jako ukazatel sklonu jedince k disperzi (Augustsson et al., 2005, Debeffe et al., 2013, Dingemanse et al., 2003, Pocock et al., 2005, Rusu & Krackow, 2005), umožňuje přenést a rozvíjet jinak složitý výzkum disperze do kontrolovaného prostředí laboratoří. Jedním z modelových druhů, který se k tomuto účelu skvěle hodí, je myš domácí.

## 2.2 Myš domácí

### 2.2.1 Myš jako modelový organismus

Zřejmě nejstarší dochované záznamy o využívání myši k vědeckým experimentům pochází ze 17. století, kdy všestranný anglický učenec Robert Hooke použil při jednom ze svých fyzikálních pokusů s účinky zvýšeného tlaku právě myš. Novodobá historie chovu a využívání laboratorních myši se však datuje až od počátku 20. století, kdy se se znovuobjevením Mendlových zákonů pustil do studia dědičnosti zbarvení srsti americký genetik Clarence Cook Little (Macholán, 2007 a, Macholán et al., 2012).

První laboratorní myši byly přivezeny do Evropy z Asie asi před 150 lety. Jednalo se především o jedince *M. molossinus* (kříženec *M. m. castaneus* a *M. m. musculus*), kteří byly podomácku chováni hlavně v Japonsku (Macholán et al., 2012). Dnešní laboratorní myši jsou ale potomky i západoevropských a amerických populací *M. domesticus* (Wade et al., 2002, Yang et al., 2011). Laboratorních kmenů je dnes nespočet (Beck et al., 2000), myš se stala jedním z nejužívanějších modelových organismů a po člověku prvním obratlovcem, u kterého byl sekvenován genom (Green, 1966).

Laboratorní myši mají ve vědě skutečně široké uplatnění, od lékařského výzkumu, studia genetiky, fyziologie, přes zoologii, etologii, až po zkoumání evolučních procesů (Berry & Scriven, 2005). Důvodů takové obliby myši je celá řada - ideální velikost, nenáročný chov, snadná manipulace, přizpůsobivost. Rozmnožují se celoročně, rychle dospívají, mají vysoký počet potomků a rychlý generační obrat (Guénet & Bonhomme, 2003). Známe téměř celý jejich genom, jenž je velmi podobný lidskému (Guénet, 2005), a celou řadu podrobných genetických map (Macholán et al. 2007 b, Piálek et al. 2008). Univerzálnost myši jako modelového organismu umožňuje propojovat výsledky experimentů z různých oblastí, navazovat na ně, dále je rozvíjet a dílčí poznatky spojovat v celkový obraz.

Co se týče studia zaměřeného na myši samotné – jejich fyziologii, ekologii nebo etologii, může být zevšeobecnování charakteristik „klasických“ laboratorních kmenů problematické a neodpovídající procesům v přírodních populacích. Vzhledem k historii jejich vzniku se totiž jedná o křížence různých myších poddruhů (Wade et al., 2002, Yang et al., 2011).

Také kvůli zmíněnému problematickému původu využívá v poslední době čím dál více vědeckých studií kromě klasických laboratorních inbredních linií (inbrední linie je vzniklá 20 a více generacemi systematického příbuzenského křížení) i linie odvozené od volně žijících populací. Paleta takových linií pak poskytuje větší diverzitu, genetickou identitu shodnou s jednotlivými poddruhy a má lepší vypovídající hodnotou o reálných ekologických a evolučních procesech v populacích volně žijících myši (Guénet & Bonhomme, 2003).

Jako příklad lze uvést inbrední linie udržované v chovném zařízení Ústavu biologie obratlovců Akademie věd České republiky detašovaného pracoviště ve Studenci u Třebíče (Piálek et al. 2008). I zde se však musí brát v úvahu rizika spojená s opakovaným příbuzenským křížením, např. omezená genetická variabilita v rámci konkrétního kmene nebo neúmyslná fixace netypických znaků. Vhodným výběrem kmenů nebo jejich kříženců lze tato rizika minimalizovat. Takoví jedinci pak spojují výhody kontrolovaného chovu pokusných zvířat v laboratořích se širší genetickou variabilitou a nezkraslenými znaky individuí odchycených v přírodě. Ač narození v umělých chovech, viditelně si zachovávají behaviorální projevy svých divokých příbuzných (vlastní pozorování), což může být skvělým předpokladem pro studium myši jako takových, specificky jejich etologie.

Další možnost skýtá testování jedinců přímo odchycených ve volné přírodě (Harper & Austad, 2001). Zde se však často potýkáme s nedostatečným počtem pokusných subjektů, jejich neznámou minulostí, odlišným věkem a kondicí nebo nepříznivou reakcí na zajetí, manipulaci, apod. Vše jmenované může zkreslit a jinak negativně ovlivnit výsledky experimentů.

„Zlatou střední cestou“ výzkumu zaměřeného na volně žijící živočichy může být použití v laboratorních podmínkách odchované první filiální (dceřiné) generace divokých jedinců (Garlanad & Adolph, 1991). Držení zvířat v kontrolovaných podmínkách umělých chovů nám umožňuje stanovit design experimentů tak, abychom měli k dispozici dostatečné množství zvířat odpovídajícího věku, kondice, shodné historie a případně mohli experimenty i v budoucnu opakovat nebo dále rozvíjet. A i s přihlédnutím k potenciálním komplikacím inbridingu zde lze očekávat vyšší stupeň diverzity, reprezentativnější genetické a fyziologické znaky i behaviorální projevy.

### 2.2.2 Sociální struktura

Myši domácí jsou drobní kosmopolitně rozšíření oportunisté s převážně soumráchnou a noční aktivitou. Díky své flexibilitě si osvojily širokou paletu způsobů života – od volně složených populací s nižší hustotou, až po poměrně stabilní hierarchicky uspořádané sociální skupiny, tzv. demy (Macholán et al., 2012, Gerlach, 1998, Lidicker, 1976).

Demy jsou malé více či méně reprodukčně izolované jednotky skládající se z dominantního samce, několika samců podřízených a samic s mláďaty (Crowcroft, 1955, Latham & Mason, 2004, Singleton, 1983). Vládce demy si agresivně brání všechny samice a je otcem většiny mláďat (Crowcroft, 1955, Lidicker, 1976, Singleton & Hay, 1983). Nevládne však absolutně, asi čtvrtina vrhů má smíšenou paternitu (Auclair et al., 2014, Firman & Simmons, 2008, Potts et al., 1991).

Myši patří mezi polyestrické živočichy (4 – 5 dnů dlouhý estrální cyklus se neustále opakuje), za příznivých podmínek se tedy mohou rozmnožovat po celý rok. V přírodě však samice obvykle neodchová víc než 3 – 4 vrhy za život (Pelikán, 1981). Po krátké březosti trvající 19 – 21 dnů rodí 4 – 9 mláďat (Green, 1966, Guénet & Bonhomme, 2003). Velikost demy tedy závisí na dostupnosti zdrojů, rychlosti reprodukce a fluktuaci jedinců (Barnard et al., 1991).

Juvenilní samci jsou zpravidla tolerováni až do nástupu pohlavní dospělosti (Hurst et al., 1997, Rusu & Krackow, 2005). Po té, nezařadí-li se mezi podřízené samce nebo nejsou-li schopni převzít pozici vládce demy, dochází ze strany dominantního samce ke stupňování nepřátelského chování. Častým výsledkem je disperze mladých samců (Crowcroft, 1955, Sandnabba, 2010).

U samic se naopak předpokládá, že po dosažení pohlavní dospělosti zůstanou v rodné skupině (Lidicker, 1976, Macholán et al., 2012, Gerlach, 1990, 1996). Některé studie ale ukazují, že se mezi dispergujícími zvířaty nachází i více samic než samců (Singleton, 1983, viz reference v Pocock et al., 2005). Objasnění samičí disperze ovšem není tak jednoduché.

I samice se v demu uspořádávají hierarchicky, ale dominantní samice je vůči podřízeným mnohem mírnější než její samčí protějšek (Hurst, 1987, 1990, Singleton & Hay, 1983). Navíc mezi samicemi nezdědka dochází ke společné stavbě a obraně hnízd a péči o mláďata (König & Lindholm, 2012, Palanza et al., 2005, Weidt et al., 2014, Harrison et al., 2018). Proč tedy samice překonávají na první pohled výhodnou filopatrii a opouští rodný okrsek?



### 2.2.3 Strategie samic

Zatímco u samců hierarchické postavení určuje spíše celková zdatnost a agresivita jedince, samicí hierarchie se přímo dovíjí od věku zvířat (mladší samice se podřizují starším), (Hurst, 1987, 1990, König & Lindholm, 2012). S tím souvisí i fakt, že ačkoliv se v demu nachází násobně více samic, rozmnožují se maximálně tři a to ty nejvýše postavené, čili nejstarší (Gerlach, 1990, 1998). Samice pomocí specifických feromonů v moči blokují dospívání a nástup estrálního cyklu svých mladších konkurentek (Drickamer, 1982, Hurst, 1987). Což může být, spolu s krátkověkostí a z ní plynoucím omezeným počtem vrhů za život, pro nerozmnožující se samice problém. Mohou tedy dispergovat za účelem uspíšení zahájení vlastní reprodukce (Gerlach 1990, 1996, King, 1983). Tomuto potenciálně nahrává i poměrně obvyklá situace, kdy cizí demy častěji a ochotněji přijímají nové nepříbuzné samice než samce, (Baker, 1981, Lidicker, 1976).

Další možností může být řekněme odlišná „představa samice o otci jejích mláďat“. I u myši platí, že pro do potomků více investující samice hraje výběr kvalitního partnera zcela zásadní roli. A proto jindy nevybíravé samice (cca. do 2 h před nástupem estrální fáze) začínají v receptivní fázi vykazovat signifikantní preference pro některé samce (Mossman & Drickamer, 1996), třeba takové s nepodobnou konstitucí MHC alel (major histocompatibility complex), atraktivní hladinou MUP (major urinary protein) (Thoß et al., 2019) nebo specifickými ABP (androgen binding protein) (Chung et al., 2017).

Zmíněné preference mají svůj adaptivní význam. Geny pro histokompatibilitu (MHC) jsou polymorfni a unikátní pro každého jedince. V průměrné myši populaci se vyskytuje kolem stovky jejich verzí. Samice myši aktivně vyhledávají za sexuální partnery jedince s odlišnou konstitucí MHC alel (Penn & Musolf, 2012, Potts, 1991). Důraz kladený na odlišnost MHC kombinace u partnera zajišťuje potomkům genetickou variabilitu (vyhnutí se imbridingu) a lepší odolnost vůči chorobám a parazitům (de Bellocq et al., 2012, Potts, 1991).

Hlavní močové proteiny (MUP) jsou taktéž polymorfni a podmíněné sadou 22 genů. Vyskytují se v moči samců i samic (některé jen specificky u samců). Váží se na feromony spojené s testosteronem a předávají tak značné množství informací o jedinci, jeho příslušnosti, celkovém stavu nebo hladině testosteronu související typicky s agresivitou aj. (Hurst et al., 1990, 2001, 2017, Thoß et al., 2019). Androgen vážící proteiny (ABP) nacházející se ve slinách taktéž prezentují steroidní hormony (zejména samčí) a slouží

k pachové komunikaci mezi jedinci (Bímová et al., 2005, Chung et al., 2017, Laukaitis, 1997, Vošlajerová Bímová et al., 2011). Samice myši, které se při výběru partnera řídí převážně čichem (Ganem et al., 2005), tedy dokáží rozeznat nejen příslušníka vlastního druhu, skupiny nebo rodiny, ale i jedince s kombinací (ne)žádoucích genů (Hurst et al., 2001, Potts, 1991 Vošlajerová Bímová et al., 2011).

Nicméně v demu přísně řízeném dominantním samcem mohou samice prosazovat své zájmy jen obtížně. Pro optimalizaci svých reprodukčních strategií využívají samice některé fyziologické změny vlastního těla, např. modulaci estrálního cyklu.

Estrální cyklus myši prochází čtyřmi fyziologicky odlišnými fázemi (proestrus, estrus, metestrus a diestrus). Eventuálně ještě může v době mezi dvěma periodami nastat klidové stádium (anestrus) (Byers et al., 2012). K oplození dochází obvykle během 25 h dlouhého estru. Ovulace nastupuje asi 10 h po jeho začátku (Paleček, 1994, Kelliher & Wersinger, 2009).

Estrální cyklus řídí pohlavní hormony produkované adenohipofýzou. Reprodukční cykly samic však ovlivňují i feromony vylučované ostatními jedinci (samci i samicemi) a může tak docházet k různým modulacím. Některé využívají samice myši ve svůj prospěch. Např. synchronizaci estrálního cyklu s ostatními samicemi ve skupině zkrácením (Whitten effect, Whitten, 1959 v Kelliher & Wersinger, 2009) či prodloužením (Lee-Boot effect, van der Lee & Boot, 1955 v Kelliher & Wersinger, 2009) reprodukční fáze nebo urychlení nástupu puberty (Vandenbergh effect, Vandenbergh, 1973 v Kelliher & Wersinger, 2009) v přítomnosti samce (Kelliher & Wersinger, 2009, Stopka et al., 2007, Wilson, 1975). Dalším, v mnohých publikacích popisovaným fyziologickým mechanismem, je spontánní potrat (Bruce effect, Bruce, 1959 v Kelliher & Wersinger, 2009) časných embryí (Kelliher & Wersinger, 2009). Z evolučního hlediska jde pravděpodobně o extrémní adaptaci na měnící se strukturu demu a časté střídání dominantních samců. Ti obvykle nevlastní mláďata zabijí, a tak je pro samici výhodnější obětovat nenarozený plod, v postpartum estru znovu zabřeznout a věnovat tak své zdroje mláďatům samce nového (Schwagmeyer, 1979).

Kromě vlastních fyziologických změn mohou samice ovlivňovat reprodukci i jinými způsoby, např. stimulací hladiny hormonů samců pomocí produkce feromonů (Kelliher & Wersinger, 2009) nebo promiskuitou, tedy aktivním hledáním mimopárových kopulací s jinými samci než s dominantním vládcem jejich demu (Firman & Simmons, 2008). Tuto strategii může podporovat i fakt, že samice se v rámci teritoria (částečně i mimo něj) mohou

pohybovat poměrně svobodně (Gerlach, 1996, Hurst, 1990) a že „vycestuje-li“ receptivní samice za hranice teritoria svého demu, samec ji nenásleduje (Potts et al., 1991).

V neposlední řadě je prosazením vlastního zájmu samic i dříve zmiňovaná disperze, tedy úplné opuštění rodného okrsku. O disperzních, potažmo exploračních strategiích samic toho však není známo mnoho. Složitý komplex sociálního prostředí a motivů samic (dominance, přímá kompetice, reprodukční překážky, společné hnízdění aj.) částečně známe (Ganem, 2012). Ale už tak variabilní systém může ještě komplikovat kolísání hladiny hormonů během estrálního cyklu (Meziane et al., 2007).

Disperzní aktivita samic jako reprodukční strategie tak může v širších souvislostech znamenat, že se nejen samci, ale i samice aktivně podílí na toku genů mezi populacemi, ovlivňují tak jejich dynamiku a v případě jedinců z okolí hybridních zón i druhotný kontakt mezi druhy či poddruhy (Augustsson et al., 2005). Také z těchto důvodů bylo naším cílem tuto problematiku prozkoumat.

### 3 Cíle práce

Mění se explorační chování samic během estrálního cyklu?

Synchronizací pachem samce (z podestýlky) navodit žádoucí fázi estrálního cyklu. Pomocí Open field testu provést pozorování explorační samic v receptivní a samic v nereceptivní fázi. Po skončení experimentu cytologicky potvrdit fázi estrálního cyklu. V daných parametrech vyhodnotit a porovnat způsob explorační receptivních a nereceptivních samic.

Liší se explorační chování mezi testovanými poddruhy?

Pomocí výsledků ze standardního Open field testu ve sledovaných parametrech srovnat explorační chování samic poddruhů *M. m. musculus* a *M. m. domesticus* a vyhodnotit možné rozdíly mezi poddruhy. Popř. srovnat explorační chování samic a samců předcházejícího experimentu Hiadlovské et al. (2013).

## 4 Metodika

### 4.1 Pokusná zvířata

Testovali jsme 64 samic první filiální generace (F1) vnitro poddruhových kříženců dvou podruhů myši domácí – *M. m. musculus* a *M. m. domesticus*. Kvůli potenciálnímu riziku snížení heterozygotnosti inbredních kmenů jsme zvolili vnitro poddruhové křížence, kteří jsou realističtější představitelé přirozených populací.

Vnitro poddruhová hybridní kříženci byli vždy kříženci jedinců ze dvou inbredních kmenů v rámci stejného poddruhu. Inbrední kmeny byly odvozeny od divokých populací a stále jsou udržovány v chovném zařízení Ústavu biologie obratlovců Akademie věd České republiky, detašované pracoviště Studenec u Třebíče (více informací o použitých inbredních kmenech viz Piálek et al., 2008).

Celkem 32 samic poddruhu *M. m. musculus* bylo odvozeno křížením kmenů STUF a BUSNA. Inbrední linie STUF je odvozená od divoce žijících předků odchycených v obci Studenec (Česká republika), cca. 250 km východně od hybridní zóny obou sledovaných podruhů. Linie BUSNA pochází z jedinců odchycených v obci Buškovice (Česká republika), cca. 50 km východně od hybridní zóny (Piálek et al., 2008).

Dalších 32 samic poddruhu *M. m. domesticus* bylo odvozeno křížením kmenů SCHUNT a STRA. Samice linie SCHUNT jsou potomky předků z obce Schweben (Německo), cca. 200 km západně od hybridní zóny. Zástupci SCHUNT byli 16 – 18 generací sourozenského křížení (ne zcela inbrední). Kmen STRA je odvozený z divokých jedinců odchycených u obce Strass (Německo), cca. 50 km západně od hybridní zóny (Piálek et al., 2008). Podrobnosti k testovaným jedincům jsou v tabulce pI v příloze.

Všichni testovaní jedinci byli chováni ve standardizovaných plastových klecích (16 cm x 28 cm x 15 cm), s podestýlkou z hoblin a obohacím z papírového hnízdního materiálu, pravidelně čistěných každých 5 dní, nepřetržitým přístupem ke granulovanému krmivu (ST1, VELAZ, Praha, Česká republika) a vodě, při průměrné teplotě 20 - 22 °C, ventilaci a umělém osvětlení (14 h světlo, 10 h tma) v chovném zařízení Ústavu biologie obratlovců Akademie věd České republiky, detašované pracoviště Studenec u Třebíče.

Pracoviště je řádně akreditováno pro chov drobných hlodavců (227203/2011-MZE-17214 2011-2016) a projekt jednotlivých pokusů (145/2010) byl schválen etickými komisemi Ústavu biologie obratlovců AV ČR a dodržuje směrnice EU 2010/63/EU.

## 4.2 Test estrálního cyklu

Pro určení vlivu estrálního cyklu na explorační chování samic bylo třeba navodit v každé na poddruzích založení skupině u poloviny samic receptivní (proestrus + estrus) a druhé poloviny nereceptivní (metestrus + diestrus, popř. anestrus) fázi. Ke sloučení čtyř jednotlivých fází na receptivní vs. nereceptivní došlo z důvodu, že tzv. behaviorální estrus, kdy samice prezentuje svou receptivitu a je tedy pro samce nejatraktivnější, předchází estru fyziologickému (Stopka et al., 2007). Pro objektivní zachycení chování samic v receptivní fázi tedy bylo třeba zahrnout mimo samotný cytologický estrus i proestrus.

Mladé samice byly odstaveny ve věku 20 dní a drženy jednotlivě nebo ve stejnopohlavních párech sourozenců ze stejného vrhu. Dospělé samice (min. 55 dní staré) byly izolovány do jednotlivých klecí a drženy samostatně po dobu alespoň 10 dní.

Požadovaná fáze estrálního cyklu byla navozena stimulací, tzv. synchronizací pachem samce na základě postupu Meziane et al. (2007). Do klece samice jsme jako stimul přidali cca. 50 g podestýlky z klece samce stejného poddruhu, starého minimálně 70 dní, chovaného izolovaně a bez čištění klece po dobu 10 dnů. Samice byly během synchronizace také v klidovém režimu – bez čištění klece, vážení atd. Předpokládali jsme nástup estrální fáze v rozmezí 48 – 72 h po synchronizaci (Meziane et al., 2007). Pilotní pokus ale prokázal, že naše divoké linie reagují jinak než standardní laboratorní kmeny použité v experimentu Meziane et al. (2007).

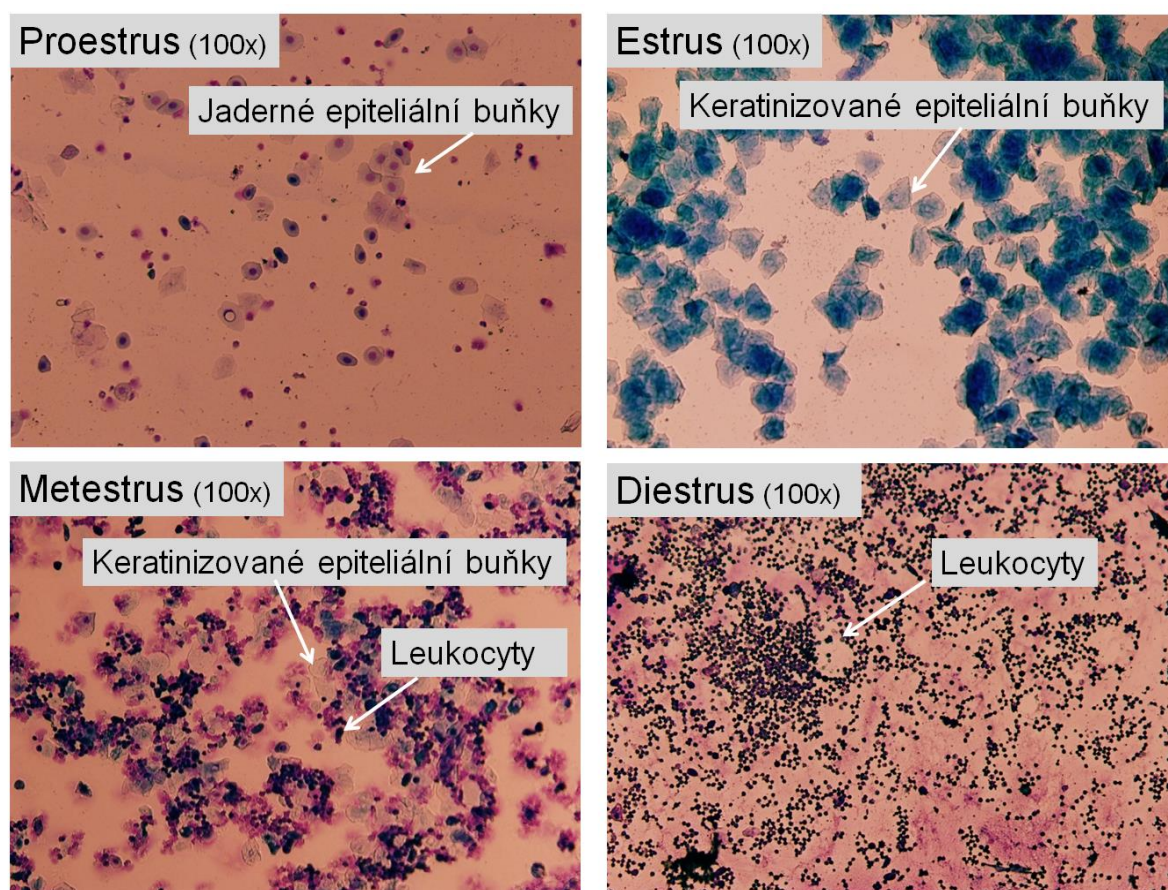
V pilotním pokusu jsme tak dále sledovali průběh estrálního cyklu po synchronizaci pachem pilin samce (metodika shodná jako v tomto experimentu) u imbredních linií samotných, 4 skupin F1 samic (STUF x BUSNA, BUSNA x STUF, CHUNT x STRA a STRA x SCHUNT) a také u divokých samic odchycených v přírodě po dobu 8 dnů. Vaginálním výtěrem každých 12 h jsme cytologicky určili a sledovali fáze estrálního cyklu.

Výsledky prokázaly, že u většiny samic dochází k posunu nástupu receptivní fáze (průměrně STUF x BUSNA 72 – 96 h, BUSNA x STUF 72 h, SCHUNT x STRA 72 h a STRA x SCHUNT 96 h), a proto jsme prodloužili délku synchronizace. Předpokládané receptivní samice jsme testovali do 72 h a nereceptivní po více než 72 h.

Fáze estrálního cyklu byla určena cytologicky, vaginálním výtěrem provedeným bezprostředně po skončení testování explorační. Stejně jako v pilotním pokusu jsme pomocí Pasteurovy pipety s 10 µl fyziologického roztoku několikrát propláchli vaginu samice,

zpětně nasátý roztok nanесли na čisté podložní sklíčko a nechali zaschnout (Dušek et al., 2012). Takto získané vzorky jsme barvili dle Pappenheima nanesením 1 ml barviva May Grünwald (eosin, metylová modř v metylalkoholu) a ponecháním 3 minuty působit. Po té jsme barvu na 1 minutu zředili stejným množstvím vody a vše slili. Dále jsme pokračovali nakapáním barviva Geimsa Romanowski (eosin, metylenový azur, violet, vodní modř, aceton) ředěného s destilovanou vodou v poměru 1:10, které jsme nechali působit 15 minut. Vše pak opatrně opláchli vodou a osušili (Paleček, 1996).

Hotové preparáty jsme pozorovali pod světelným mikroskopem (Olympus BX51) se 100 x zvětšením. Jednotlivé fáze estrálního cyklu jsme stanovili dle převažujícího počtu buněk (Obr. 2). Po té bylo zpětně ověřeno či opraveno správné zařazení receptivních a nereceptivních samic.



Obrázek 2: Fotografie preparátů vaginálních výtěrů jednotlivých fází estrálního cyklu s charakteristickými buňkami vaginální tekutiny (Olympus BX51, 100 x zvětšeno).

Během cyklu se charakteristicky mění buňky pozorovatelné ve vaginální tekutině (Allen, 1922). Receptivní fáze proestrus (P) se vyznačuje velkým množstvím jaderných epiteliálních buněk, často ve svazcích. Po obarvení je cytoplazma buněk zbarvena do růžova a jádra červeno- fialově. Estrus (E) - fáze ovulace se vyznačuje keratinizovanými epiteliálními buňkami. Pro nereceptivní fáze je typická přítomnost leukocytů, v metestrusu (M) nacházíme leukocyty a keratinizované epiteliální buňky a v diestrusu (D) leukocyty a jaderné buňky, často i šlem (Allen, 1922, Paleček, 1994, Byers et al., 2012) (Obr. 2).

Cytologické snímky byly fotodokumentovány a sklíčka s preparáty archivována.

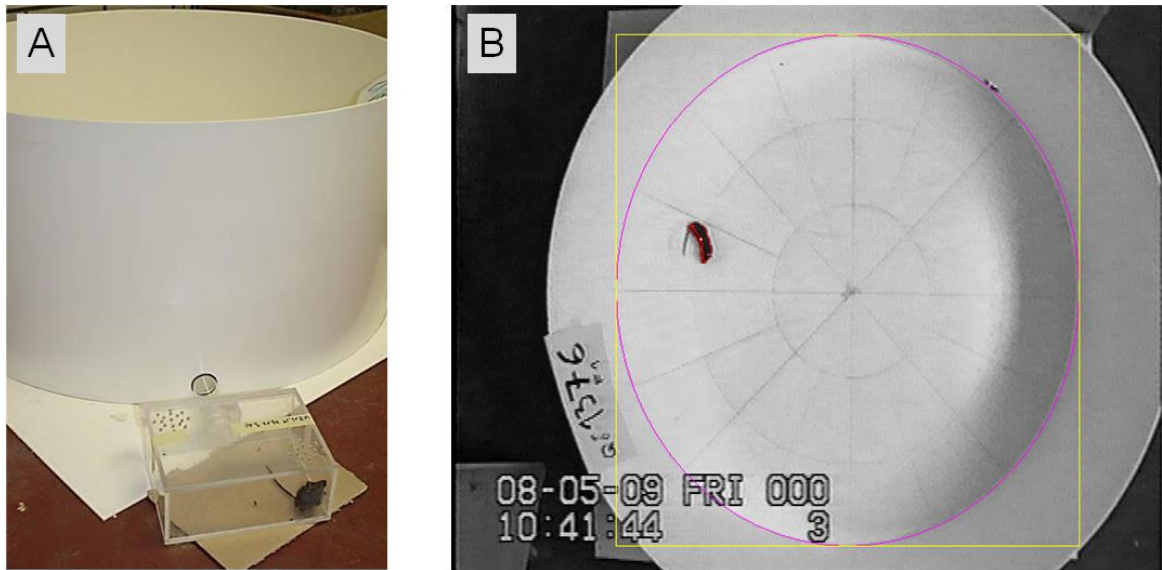
### 4.3 Test explorace

Pro testování exploračního chování byl použit Standard Open field test, který spočívá ve vypuštění pokusného zvířete za určených podmínek v přesně stanoveném prostředí, jeho sledování a následné vyhodnocení aktivity. Podmínky našeho Open field testu přesně odpovídaly předchozím experimentům samčí explorace (viz Hiadlovská et al., 2013) tak, abychom mohly srovnat výsledky obou pohlaví.

Testy probíhaly vždy ve světlé části dne (od 9:00 - 14:00 hod). Před experimentem byly samice zkontrolovány, zváženy a na 15 minut umístěny do habituačního boxu (průhledný plastový box o rozměrech 35 cm x 25 cm x 13 cm, s posuvnými dvířky) (Obr. 3A).

Testovací kruhová aréna (z bílého plastu, průměr 100 cm, výška stěn 50 cm) byla umístěna v odhlučněné místnosti (s konstantní teplotou 20 - 22 °C, pod stálým umělým osvětlením) a snímána digitální kamerou. V rámci dřívějších experimentů bylo dno arény opticky rozděleno na tři kruhové výseče (centrální, vnitřní a vnější), které byly dále děleny na 33 dílů, viz aréna z pohledu kamery (Obr. 3B). Z hlediska tady zpracovaných dat jsou tyto optické značky irelevantní. Plocha arény byla v digitálním prostředí programu, jež jsme použili, virtuálně členěna na jiné výseče.





Obrázek 3A: Myš v habituačním boxu připojenému k aréně. 3B: Ilustrační záběr – obraz kamery otevřený v prostředí programů, určený k analýze prostorové aktivity. Je zde vidět půdorys arény, v pravém horním rohu je vstupní otvor. Fialová kružnice vymezuje plochu, kterou program vyhodnocuje, červeně je patrné rozhraní světlého/tmavého povrchu. Toto rozhraní program užívá k identifikaci pokusného jedince, jehož těžiště pak promítá do karteziánské soustavy (žlutý čtverec).

Před experimentem byla aréna označena štítkem s identifikačním kódem testovaného jedince. Po té bylo připravené a habituované zvíře i s boxem připojeno pomocí průhledné skleněné trubice (průměr 5 cm, délka 10 cm) k aréně a odejmutím posuvných dvířek zahájen samotný pokus.

Myš vstupovala do arény dobrovolně. Sledovány proto byly hlavně dva parametry. Jednak okamžik, kdy se myš přiblížila k vchodu a nahlédla do arény, což bylo označeno jako *Start of trial*. Odtud byl odpočítáván stanovený maximální čas experimentu – 10 minut. Dále byl zaznamenán přesný čas, kdy myš vstoupila do arény (všechna čtyři chodidla na podlaze), jako *Enter arena*, odtud byly měřeny 3 minuty, během kterých se podrobně analyzoval pohyb jedince po aréně, včetně návratů do boxu.

Mezi pokusy byla celá aréna pečlivě čištěna 96% etanolem, habituační boxy s dvířky a spojovací trubicí roztokem NaClO<sub>4</sub> (< 5%), opláchnuty kohoutkovou vodou a usušeny.

Každá samice podstoupila experiment pouze jednou.

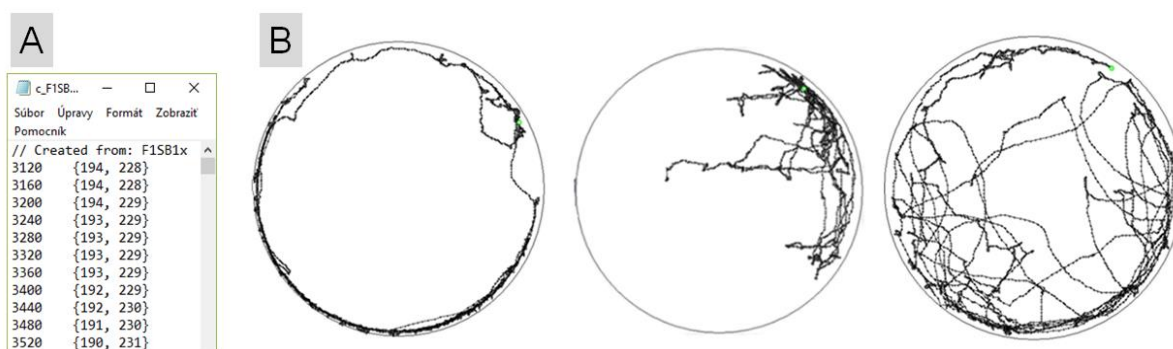
## 4.4 Vyhodnocení dat

Některé ze sledovaných parametrů jsme stanovili přímo pozorováním záznamu a jeho časové stopy. Jednalo se především o Latence vstupu do arény (*Latency*) a Vstupy do boxů (*Box entrances*). K podrobnější kvantifikaci prostorové aktivity jsme záznamy exploračního chování zpracovali speciálním počítačovým programem – MTS, Modular Tracking System (Obr. 3B, 4A), navrženým a zakoupeným Ing. M. Kučerou.

V prvním kroku bylo třeba sestříhat záznamy s maximální přesností na 3 minutový (180 s) záznam od okamžiku *Enter arena*. Pokud myš za celou dobu experimentu do arény nevstoupila, byla klasifikována jako neexplorující a kvantifikace nebyla možná. Hodnota *Latency* pak byla stanovena jako 600 s (10 minut).

Dále se videa konvertovala pro formát zpracovatelný programem MTS. Po nahrání videa do MTS se upravoval jejich jas, kontrast a další parametry tak, aby systém v každém záběru testovanou myš zaznamenal, a tak správně převedl celé video na přesná data o pohybu myši v aréně.

Výsledkem byla v prvním kroku přesně detekovaná trasa pohybu jedince. Jednak v podobě souborů ve formátu .csvs obsahujícím řadu koordinát – jeden koordinát pro každý záběr, tedy okénko záznamu (Obr. 4A), ale také jejich vizualizované formáty jako celkový obraz trasy (Obr. 4B).



Obrázek 4A: Ukázka výstupních souborů ve formátu .csvs. Každý řádek představuje jedno okénko záznamu – jeden časový okamžik. První sloupec uvádí, o které okénko se jedná, další dva reprezentují polohu, ve které se tehdy jedinec, resp. jeho těžiště nacházelo. Tato poloha je ve formátu koordinátů karteziánských souřadnic. 4B: Ukázky několika výsledných vizualizací záznamů exploračního chování, kde je ilustrována trasa, kterou jedinec po dobu tří minut překonal.

Soubory .cvs postupovaly do dalšího kroku zpracování MTS programem. Zde se plocha arény virtuálně rozčlenila na dvě části: vnější kruh *Outher circle* a vnitřní sekci *Inner circle*. Vnější kruh tvořil 5 cm široký pás podél zdi arény. Pokud se myš pohybovala v tomto úseku, byla se zdí v přímém kontaktu boky, vousy a podobně. MTS program pak z .cvs souboru stanovil kolik času a jakou dráhu jedinec dosáhl v té které části arény. Podíl času, který z celkové doby tří minut jedinec strávil v aréně, je definován jako parametr Čas strávený v aréně (*Time in arena*). Parametr Tigmotaxe (*Thigmotaxy*) je stanoven jako procentuální podíl  $Time\ in\ outhers\ circle / Time\ in\ arena$ . Souhrn všech parametrů stanovených přímo sledováním videa a kvantifikací v MTS programu uvádí následující tabulka (Tab. I).

Tabulka I: Všechny parametry zaznamenané při sledování exploračního chování. Ty, které podstoupily statistické zpracování, jsou zde zvýrazněny kurzívou.

<b>Název</b>	<b>Popis</b>
Start of trial [time]	přesný čas začátku pokusu, myš se přiblížila k vchodu do arény
Enter arena [time]	přesný čas vstupu do arény, myš vstoupila do arény, všechna čtyři chodidla na podlaze
<i>Latency</i> [s]	Latence vstupu do arény, doba „váhání“ testovaného jedince před vstupem do arény; výpočet ze (Start of trial) – (Enter arena)
Path in central circle [m]	vzdálenost, kterou myš urazila v centrální části arény
Time in central circle [ms]	čas strávený v centrální části arény
Path in outhers circle [m]	vzdálenost, kterou myš urazila ve vnější části arény
Time in outhers circle [ms]	čas strávený ve vnější části arény
Time in box [ms]	čas strávený v habituačním boxu
<i>Time in arena</i> [ms]	Čas strávený v aréně, tedy celkový čas mimo habituační box
Total path [m]	celková vzdálenost, kterou myš urazila v aréně
<i>Box entrances</i> [number]	Vstupy do boxů, kolikrát myš vstoupila zpět do habituačního boxu
End in box [yes/no]	myš byla v době konce pokusu v habituačním boxu

## 4.5 Statistické analýzy

Efekt estrální fáze, poddruhu a pohlaví na jednotlivé parametry exploračního chování jsme testovali pomocí lineárních modelů. Vzhledem k nenormálnímu rozdělení (Kolmogorov-Smirnov test,  $p < 0,05$ ) parametrů Latence vstupu do arény a Vstupu do boxů jsme příslušná data museli transformovat; logaritmicou transformací v případě latence vstupu do arény a odmocninové transformace v případě Vstupu do boxů.

Nejprve jsme testovali vliv estrální fáze a poddruhu na samičí exploraci v samostatných modelech. Vzhledem k nesignifikantním výsledkům (viz Výsledky) jsme data receptivních a nereceptivních samic mohli sloučit a následně v druhé sadě testů testovat vliv faktorů pohlaví a poddruhu na explorační chování samců a samic.

Nejlepší modely byly vybírány zpětnou eliminací, tedy postupným odebráním testovaných faktorů. V každé sérii jsme tedy nejprve začínali s plným modelem zahrnujícím oba testované faktory: fáze estrálního cyklu, poddruh (nebo pohlaví v případě zapojení samců) a jejich interakci. Pokud takový komplexní model nebyl podpořen, následně jsme pokračovali v aditivním modelu (testovány oba faktory, avšak bez vzájemných interakcí). Obdobně mohly následovat modely s jediným prediktorem (tedy testovaným faktorem buď fáze estrálního cyklu, nebo poddruh, resp. pohlaví) až po nejjednodušší nulový model zahrnující jen intercept.

F test se standardní hladinou významnosti  $p = 0,05$  tak posloužil k výběru nejlepšího modelu stanovením, zda má jednodušší model signifikantně nižší residuální sumu čtverců. Vzhledem k opakovanému testování stejné hypotézy na stejném souboru testovaných jedinců ve čtyřech porovnáních jsme použili sekvenciální Bonferroniho korekci (Holm, 1979) pro P hodnoty.

Další přístup, který jsme zvolili pro robustnější podporu výsledků, tedy výběru modelu, byl test Akaikeho kritérií pro všech pět porovnávaných modelů (Akaike, 1974). Akaikeho váhy jednotlivých posuzovaných modelů dávají v součtu vždy hodnotu jedna a příslušné váhy jednotlivých modelů naznačují pravděpodobnosti s jakými je daný model správným proložením dat za předpokladu, že je alespoň jeden model správným (Burnham & Anderson, 2004).

Všechny modely byly testovány v R 3.0.3 (R Core Team, 2014).

## 5 Výsledky

### 5.1 Explorace & estrální cyklus

Náš experiment neprokázal signifikantní vliv fáze estrálního cyklu na explorační chování samic u poddruhů *M. m. musculus*, ani u *M. m. domesticus* a to v žádném ze čtyř testovaných behaviorálních parametrů Open field testu (Tab. II, Obr. 5, Obr. 6).

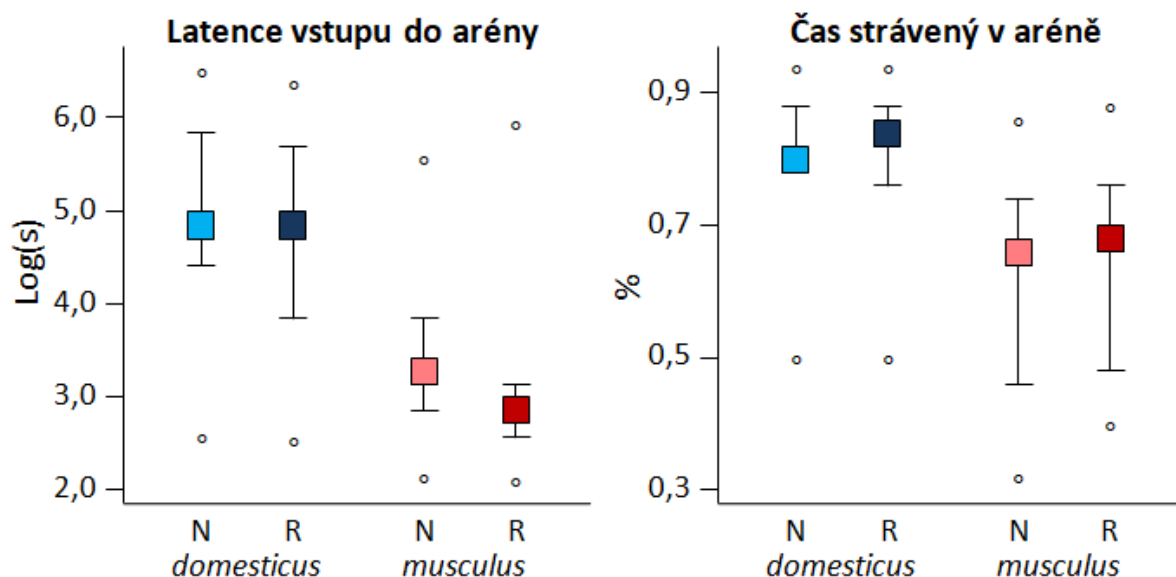
U obou podruhů se sice na první pohled zdá, že receptivní samice tráví delší čas v aréně (Obr. 5), což by mohlo odpovídat vyšší aktivitě receptivních samic. Ale obdobně také vykazují častější návraty do boxu (Obr. 6). Tyto rozdíly však nejsou signifikantní.

Díky nesignifikantnímu vlivu estrálního cyklu na explorační chování jsme mohli sloučit receptivní a nereceptivní samice a otestovat rozdíly mezi oběma poddruhy.

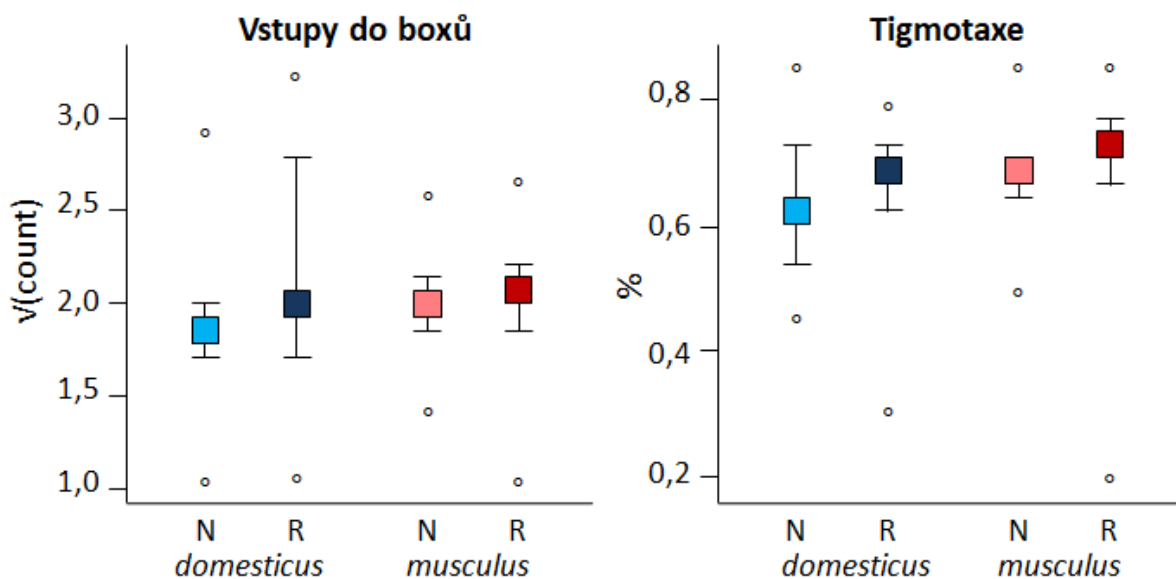
Tabulka II: V levé části jsou výsledky eliminačního postupu. Vliv podruhů (*M. m. musculus* a *M. m. domesticus*) a fáze estrálního cyklu (N - nereceptivní a R - receptivní) na exploraci samic: pro každou proměnnou je preferovaný model se statistikou F a p-hodnotou z testů proti nulovému modelu. V pravé části jsou Akaikeho váhy pro celou sadu pěti možných modelů, přičemž tam, kde lze některé váhy označit jako markantně vyšší, jsou označeny žlutě.

	Preferovaný			Akaikeho váhy (AIC)				
	model	F	p	Plný	Aditiv.	Poddruh	Fáze	Nulový
Latence vstupu do arény	Poddruh	32,44	< 0,001	0,16	0,43	0,40	0,00	0,00
Čas strávený v aréně	Poddruh	23,36	< 0,001	0,12	0,29	0,60	0,00	0,00
Tigmotaxe	Nulový	-	-	0,06	0,15	0,33	0,15	0,31
Vstupy do boxů	Nulový	-	-	0,18	0,20	0,19	0,24	0,20

Obrázek 5: Grafy vlivu podruhů (*M. m. musculus* a *M. m. domesticus*) a fáze estrálního cyklu (N - nereceptivní a R - receptivní) na exploraci samic v parametrech Latence vstupu do arény a Času stráveném v aréně Open field testu. Čtverce značí mediány, tzv. vousy horní a spodní kvartily a kroužky odlehlé hodnoty.



Obrázek 6: Grafy vlivu podruhů (*M. m. musculus* a *M. m. domesticus*) a fáze estrálního cyklu (N - nereceptivní a R - receptivní) na exploraci samic v parametrech Tigmotaxe a Vstupů do boxů Open field testu. Čtverce značí mediány, tzv. vousy horní a spodní kvartily a kroužky odlehlé hodnoty.



## 4.2 Explorace & poddruhy

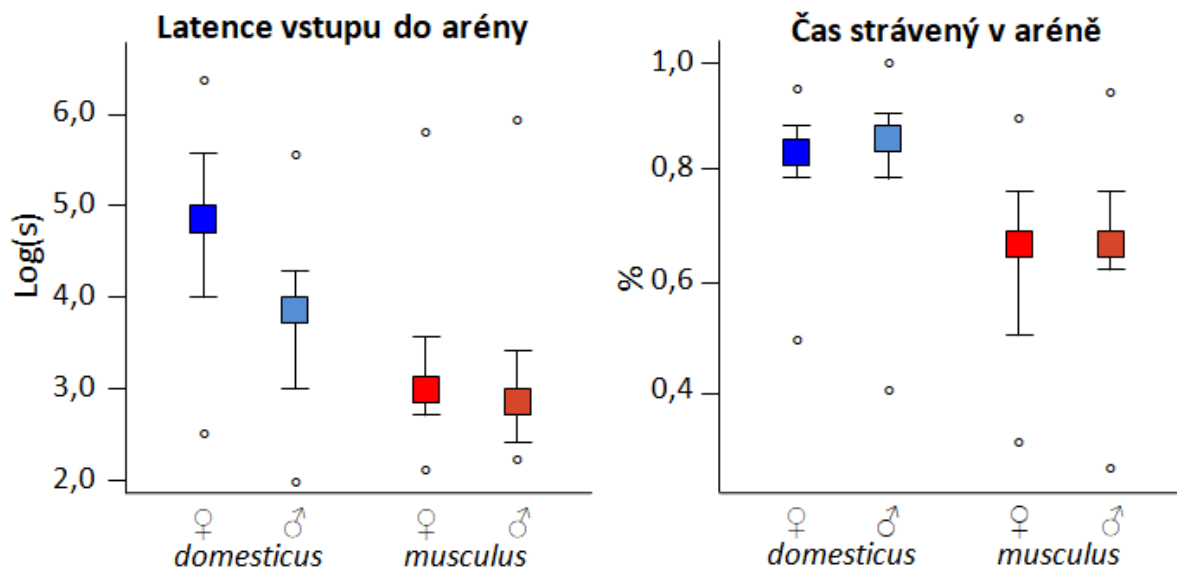
V eliminačním postupu vyšel jako nejlepší jediné jednoduchý model s faktorem Poddruh, to pro rozdíly v Latenci vstupu do arény a Času stráveném v aréně. Pro Čas strávený v aréně je tento výsledek také podpořen Akaikeho vahami, kde má tento model váhu 0,6 a je tak s 60% pravděpodobností správnosti výrazně lepší než následující model Aditivní (0,29; tedy 29% pravděpodobnost). Latence vstupu do arény tak silně podpořena není, zde má model s hlavním faktorem Poddruh téměř stejnou váhu jako Aditivní model (tedy 40% a 43% pravděpodobnosti). Samice poddruhu *M. m. domesticus* tedy váhají před vstupem do arény signifikantně delší dobu než samice *M. m. musculus* (121 s vs. 26 s), avšak jakmile jsou samice *M. m. domesticus* v aréně, zůstávají v ní průkazně déle, resp. proporcčně delší dobu než samice *M. m. musculus* (82% vs. 63%) (Obr. 5). Dále nebyla pozorována žádná známka signifikantního efektu. U Počtu vstupů do boxu eliminační procedura dospěla až k Nulovému modelu, který je dle Akaikeho vah srovnatelně správný, jako model Poddruh (pravděpodobnost 31% vs. 33%). Tigmataxe také v eliminaci dosáhla nulový model a Akaikeho váhy jsou všechny prakticky shodné (Tab. II).

Po vyloučení vlivu estrálního cyklu na explorační chování samic a následné fúzi receptivních a nereceptivních samic do skupin dle poddruhů jsme také mohli porovnat jejich explorační chování s exploračním chováním samců dříve testovaných kolegyní Z. Hiadlovskou (Hiadlovská et al., 2013) (Tab. III, Obr. 7, Obr. 8).

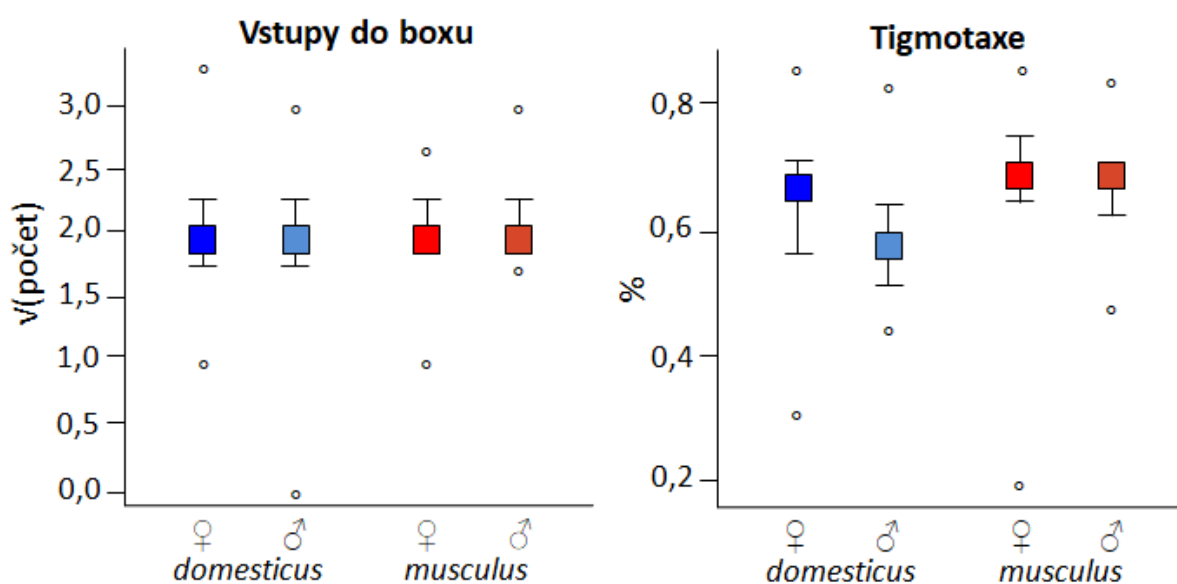
Tab. III: V levé části jsou výsledky eliminačního postupu. Vliv podruhů (*M. m. musculus* a *M. m. domesticus*) a pohlaví (♀ - samice a ♂ - samci) na exploraci v parametrech: pro každou proměnnou je preferovaný model se statistikou F a p-hodnotou z testů proti nulovému modelu. V pravé části jsou Akaikeho váhy pro celou sadu pěti možných modelů, přičemž tam, kde lze některé váhy označit jako markantně vyšší, jsou označeny žlutě.

	Preferovaný			Akaikeho váhy (AIC)				
	model	F	p	Plný	Aditiv.	Poddruh	Fáze	Nulový
Latence vstupu do arény	Plný	22,62	< 0,001	0,93	0,06	0,01	0,00	0,00
Čas strávený v aréně	Poddruh	29,05	< 0,001	0,16	0,25	0,59	0,00	0,00
Tigmataxe	Poddruh	8,24	0,010	0,21	0,44	0,30	0,03	0,01
Vstupy do boxů	Poddruh	4,47	0,037	0,10	0,26	0,45	0,07	0,13

Obrázek 7: Grafy vlivu podruhů (*M. m. musculus* a *M. m. domesticus*) a pohlaví (♀ - samice a ♂ - samci) na exploraci v parametrech Latence vstupu do arény a Času stráveném v aréně Open field testu. Čtverce značí mediány, tzv. vousy horní a spodní kvartily a kroužky odlehlé hodnoty.



Obrázek 8: Grafy vlivu podruhů (*M. m. musculus* a *M. m. domesticus*) a pohlaví (♀ - samice a ♂ - samci) na exploraci v parametrech Tigmotaxe a Vstupů do boxů Open field testu. Čtverce značí mediány, tzv. vousy horní a spodní kvartily a kroužky odlehlé hodnoty.





Vzhledem k u savců tradičně předpokládané vyšší disperzi samců jsme předpokládali i vyšší exploraci a významnější poddruhové rozdíly u samců, než u samic. Naše výsledky však očekávání nepotvrdily. Jediný parametr, u kterého dle eliminačního přístupu hrálo významnou roli pohlaví, byla Latence a to pouze v interakci s poddruhem, což také důrazně potvrzují Akaikeho váhy (93% pravděpodobnost že Model s interakcí je správný).

Objevili jsme tedy následovně signifikantní rozdíl: samice *M. m. domesticus* vykazují signifikantně vyšší latenci vstupu do arény než samci (121 s vs. 39 s) (Obr. 7). U poddruhu *M. m. musculus* však tyto rozdíly mezi pohlavími nebyly. Samice *M. m. musculus* váhaly před vstupem do arény téměř shodně jako samci téhož poddruhu (26 s vs. 27 s) (Obr. 7).

Zbylé tři parametry vykazovaly dle eliminačního přístupu jako určující faktor Poddruh, (Tab. III, Obr. 7, Obr. 8), přičemž u Času stráveného v aréně a Vstupů do boxu je tento výsledek také podpořen Akaikeho váhami – 59% pravděpodobnost pro správnost u Času stráveného v aréně a 45% pro Vstupy do boxů.

Druhé nejlépe podpořené modely mají oproti těmto poloviční pravděpodobnosti. Tigmotaxe je dle Akaikeho vah určena poddruhem, kde má model s faktorem Poddruh obdobnou pravděpodobnost (30%) jako Aditivní efekt Poddruhu a Pohlaví (44%). Obecně lze tedy říct, že u jak samic, tak samců tráví zvířata poddruhu *M. m. domesticus* delší dobu v aréně, méně vstupují do boxu a především samci méně vyhledávají blízkost zdi.

## 6 Diskuze

Od bez přehánění revoluce v nazírání na organismus a jeho motivy (potažmo „motiv“ jeho genů) v polovině 60. let chápeme, že se genetické a individuální zájmy jedince obvykle shodují, ne však vždy. Biologové G. Williams a W. Hamilton tehdy jako první zformulovali myšlenku (a R. Dawkins ji zpopularizoval pojmem „sobecký gen“), jež doslova otrásla vědeckou společností. Že za do té doby pro nás ne zcela pochopitelným, ale obdivovaným chováním některých individuí (rodinný altruismus, sociální hmyz aj.) nemusí stát jejich vlastní zájmy nebo zájmy jejich rodiny, společenství nebo snad druhu jako celku, ale může jít o projevy „zájmů“ jejich genů (Ridley, 2010).

Touto optikou se dá nahlížet i na v úvodu zmiňovaný rozpor dispergujících samic myši domácí. Ač jsou považovány obecně za více filopatrické než samci (Lidicker, 1976, Ganem, 2012, Gerlach, 1990, 1996), ač jim přináší setrvání v rodném demu nesporné výhody, např. v podobě společné péče o mláďata (Palanza et al., 2005), a ač sebou disperze nese mnohá rizika (Stenseth & Lidicker, 1992), přesto samice dispergují a to potenciálně v míře stejné, ne-li větší než samci (Singleton, 1983, viz reference v Pocock et al., 2005).

Uvědoměním, že hybatelem tohoto konfliktu mohou být geny, jež „nutí“ samici chovat se v rozporu s vlastní welfare nebo dokonce přežitím, ale ve shodě se „zájmem“ genů rozšířit se co nejvíce – uspíšení vlastní reprodukce (Gerlach 1990, 1996, King, 1983) nebo v co nejkvalitnější kombinaci – výběr lepšího partnera (Hurst et al., 2001, 2017, Ganem, 2012, Potts et al., 1991, Vošlajerová Bímová et al., 2011), nedostáváme zázračné řešení celé otázky, ale spíš vysvětlení existující komplikovanosti geneticko-behaviorálních vztahů a snad nový směr k jejich pochopení.

K testování vlivu receptivity na explorační chování nás přivedla úvaha, že „vedou-li“ geny samici k disperzi z důvodu hledání extrapárových, potažmo extrademových partnerů během receptivní fáze ve snaze ovlivnit svůj reprodukční úspěch výběrem kvalitního partnera, měla by se tato souvislost projevit ve způsobu explorační. Očekávali jsme zvýšenou explorační aktivitu v receptivní fázi estrálního cyklu.

Vliv estrálního cyklu na behaviorální aspekty spojené s reprodukcí prokazují různé studie, např. odlišné strategie explorační (Meziane et al., 2007), riskování nebo agresivitu variabilní dle fází estrálního cyklu, u samic březích nebo pečujících o mláďata (Augustsson et al., 2005); v úvodu zmiňovanou náhlou vybíravost samic preferujících v receptivní fázi dominantní samce (Mossman & Drickamer, 1996) nebo novější studie z roku 2013,

kteřá rovněž potvrzuje vliv receptivity na samičí preference a přístupnost, kdy samice v estrální části cyklu (časové rozmezí, ve kterém při případném páření s největší pravděpodobností dojde k zabřeznutí) prokazatelně častěji a opakovaně vyhledávaly samce (Zinck & Lima, 2013).

Nicméně v naší studii se neprokázal žádný vliv estrálního cyklu na explorační chování samic myši domácí. Nepozorovali jsme signifikantní rozdíly ve způsobu exploračního neznámého prostředí mezi receptivními a nereceptivními samicemi. Explorační, potažmo disperzní aktivita samic tedy může být vedena i jinými motivy než jen okamžitým hledáním kvalitnějších reprodukčních příležitostí za hranicemi teritoria, mimo hierarchií demu stanoveného partnera.

Jednou z možností může být výše zmiňovaná snaha o uspišení samotného zahájení vlastní reprodukce mladých samic, kterému starší výše postavené samice demu pomocí hormonálních supresorů různými způsoby brání, např. zpožděný nástup dospívání nebo neusazení oplozeného vajíčka (Drickamer, 1982, Hurst, 1987). V širším kontextu se tak dá nad touto situací uvažovat jako nad útekem z nízké hierarchické pozice obdobným tomu u dospívajících samců.

Tento pohled podporuje i fakt, že mladé nerodící samice v demu mohou trpět nepřátelským chováním nejen ze strany výše postavených samic, ale i od dominantního samce vynucujícího si reprodukci (Hurst, 1990). Dohromady tak vyvstává obraz tlaku působícího na odchod samic z rodné skupiny nejen podobného, ale možná i většího než tlaku ovlivňujícího samce. Rozhodně komplexnějšího a složitějšího.

Nastoupená cesta se dá rozvíjet testováním exploračního březích nebo kojících samic, přenesením laboratorních experimentů do polopřirozených uzavřených chovů, popř. zpřesněním (nejen) určení fáze estrálního cyklu měřením hladiny hormonů, např. imunoenzymatickou analýzou (ELISA), (Touma et al., 2003).

Jak druhy v přírodě vznikají, je jednou z klíčových otázek studia evoluční biologie a identifikace a odhalení způsobu fungování izolačních bariér zase základem pochopení procesu speciace (Mallet, 2005). Tyto bariéry mohou být různé - geografické, ekologické, fyziologické i behaviorální. Studium posledních jmenovaných považují za nejobtížnější v oblasti kvantifikace dat, tedy převádění pozorovaného chování na hmatatelné a objektivně srovnatelné důkazy.

S plným vědomím obtížnosti přímého propojení výsledků exploračních parametrů získaných v laboratoři se sklony jedinců dispergovat v přírodě jsme se přece jen pokusili

u samic dvou poddruhů myši domácí *Mus musculus musculus* a *Mus musculus domesticus* odhalit jisté poddruhově specifické vzorce chování a případné rozdíly mezi nimi, jež by mohly jednu z takových behaviorálních izolačních bariér tvořit.

Testování explorační je užíváno jako ukazatel sklonu jedince k disperzi u mnoha druhů (Debeffe et al., 2013, Dingemans et al., 2003). A to včetně myši (Augustsson et al., 2005, Pocock et al., 2005, Rusu & Krackow, 2005). I naše očekávané pozorování rozdílů mezi poddruhy podporují různé studie. Výzkum explorační několika druhů myšovitých (*Muridae*) v Open field aréně naznačil, že explorační chování je mezidruhově specifické a závislé na způsobu života (Frynta, 1992, 1994). Hiadlovská dále prohloubila tato pozorování i na rozdíly mezi poddruhy – v exploraci neznámého prostředí (Hiadlovská et al., 2013), podrobněji viz dále; nebo překonávání vodní bariéry (Hiadlovská et al., 2012). V testu vodní bariéry při 20 °C signifikantně dříve vstupovali do vody a častěji ji překonávali samci poddruhu *M. m. domesticus*. V režimu 10 °C byly pozorované rozdíly mezi poddruhy podobné, ale s opačnou tendencí. V chladnějším prostředí byli aktivnější naopak samci *M. m. musculus*.

U obou poddruhů se potvrdila i další behaviorální, fyziologická, genetická a jiná specifika. Zástupci poddruhu *M. m. musculus* např. vykazují silnější pachové preference k vlastnímu poddruhu (Vošlajerová - Bímová et al., 2011, Ganem, 2012), nižší agresivitu (Frynta et al., 2005, Piálek et al., 2008, Ďureje et al., 2011), vyšší flexibilitu v měnících se/stresových podmínkách Morrisova vodního testu (Hiadlovská et al., 2014), odlišnou hladinu i dynamiku hormonů (Pospíšilová, 2017) nebo lepší předpoklady pro anti-parazitární rezistenci (Bílková, 2014) oproti jedincům poddruhu *M. m. domesticus*.

Navzdory velmi blízké příbuznosti se oba poddruhy v mnoha faktorech liší a jejich chování a sociální struktura je tedy komplexnější než se dříve předpokládalo. Většina prací se však zabývá samci. Nás proto zajímalo, zda, popř. jak se v exploračním chování liší právě samice. Očekávali jsme pozorování poddruhově specifických exploračních strategií samic, avšak ve srovnání se samci obecně menší explorativní aktivitu a tedy i méně nápadné rozdíly mezi poddruhy.

V testování samic myši domácí jsme mezi poddruhy *M. m. musculus* a *M. m. domesticus* zaznamenali signifikantní rozdíly ve způsobu explorační neznámého prostředí. Samice poddruhu *M. m. domesticus* před prvním vstupem do arény váhaly delší dobu, než samice poddruhu *M. m. musculus*, ale jakmile byly jednou uvnitř, explorovaly více a odvážněji s nižším počtem ústupů do úkrytu v podobě habituačního boxu a s menší tigmotaxí, tedy

tendencí vyhledávat ochranu u zdi arény. Toto chování odpovídá i pozorovaným trendům explorace samců poddruhů *M. m. musculus* a *M. m. domesticus* (Hiadlovská et al., 2013). U samic *M. m. domesticus* je váhání před vstupem do arény dokonce ještě výraznější.

Delší latence vstupu do neznámého prostředí zástupců *M. m. domesticus* může souviset s vyšší mírou agrese typickou pro tento poddruh (Frynta et al., 2005, Piálek et al., 2008, Ďureje et al., 2011). Osvojení si opatrnějšího postupu s menší mírou rizika v první fázi explorace se tak může jevit jako výhodná adaptace.

Hiadlovská ve svém experimentu testovala explorační chování samců divokých, od divokých odvozených a F1 mezidruhových kříženců poddruhů *M. m. musculus* a *M. m. domesticus* (Hiadlovská et al., 2013). Vycházela z výše zmíněného předpokladu, že u samců může existovat vztah mezi mírou agresivity a způsobem explorace. Pročež ve své studii zvolila samce inbrední linie STRA (Strass + Aggressive) odvozené od jedinců z divoké populace *M. m. domesticus* a BUSNA (Buškovice + Non-Aggressive) odvozené od jedinců *M. m. musculus* taktéž odchycených v přírodě, více viz Piálek et al. (2008).

Samci inbredních linií odvozených od divokých skutečně vykazovali průkazně mezidruhově odlišné explorační strategie. Zástupci agresivní linie STRA explorovali déle a odvážněji s menším počtem ústupů do boxů. Jedinci neagresivní inbrední linie BUSNA měli signifikantně kratší latenci vstupu do arény, ale pohybovali se v ní více obezřetně s vyšší mírou tigmotaxe.

Testování divokých zástupců neprokázalo signifikantní rozdíly ve většině parametrů explorace, což bylo dáno vyšší variabilitou mezi jedinci uvnitř pokusných skupin, tedy nízkým počtem testovaných jedinců nutných k zachycení průkazných výsledků. Tendence a rozdíly mezi poddruhy však vyšly shodné. Tato data tedy potvrzují, že inbrední linie odvozené od divokých myši mohou být vhodnými zástupci pro experimenty (Ďureje et al., 2011, Piálek et al., 2008, Vošlajerová Bímová et al., 2011).

U F1 mezidruhových hybridů se objevil zajímavý fenomén, tzv. transgresivní fenotyp (nový fenotyp utvořený na základě rekombinace fenotypů rodičovských). Tito jedinci vykazovali buď chování podobné jednomu z rodičovských kmenů (např. tigmotaxe) nebo jeho ještě silnější projevy (např. latence vstupu do arény nebo čas strávený v aréně).

Tyto výsledky opakovaně ukazují signifikantní rozdíly ve vzorcích exploračního chování obou poddruhů. Žádný z nich nelze označit za vysloveně více nebo méně explorativní. Spíše každý přijal odlišnou strategii odvíjející se od celkové ontogeneze a fyziologie jedinců a společenského uspořádání skupin, jež se může mezi oběma poddruhy lišit (Hiadlovská et al., 2015).

Očekávaný pohlavní dimorfismus – potvrzení samců jako (u savců) více dispergujícího pohlaví, tedy pozorování vyšší explorační aktivity oproti samicím téhož poddruhu – se nepotvrdil. Samice vykazovaly vzorce explorační shodné nebo alespoň velmi podobné jako samci. Ze čtyř testovaných parametrů jen samice poddruhu *M. m. domesticus* signifikantně déle váhaly před vstupem do neznámého prostředí. Což nás opět přivádí k dříve zmíněným komplexním a složitým disperzním motivům samic (výhody filopatrie, výběr kvalitního partnera, snaha uspišit vlastní reprodukci, útek z nevýhodné hierarchické pozice, aj.), které si zřejmě ve své síle a významu nezdají s tlakem působícím na samce.

Je jisté na zvážení nakolik vypovídající může být aplikace výsledků exploračního chování zástupců linií odvozených od divokých, ale chovaných v laboratorním prostředí na reálnou disperzi populací v přírodě a je-li tento pozorovaný rozdíl natolik silný, aby v praxi působil jako jedna z behaviorálních izolačních bariér mezi poddruhy. Nicméně rozhodně považuji těmito výsledky naznačenou cestu za velmi zajímavou a hodnou dalšího zkoumání.

## 7 Závěr

Z našich výsledků vyplývá, že fáze estrálního cyklu nemá výrazný vliv na explorační chování samic myši domácí. Explorační, potažmo disperzní aktivita samic tedy může být vedena i jinými motivy než jen hledáním reprodukčních příležitostí mimo dem.

Pozorovali jsme také signifikantní rozdíly ve způsobu exploračního prostředí mezi poddruhy *M. m. musculus* a *M. m. domesticus*. Samice myši domácí (obdobně jako dříve testovaní samci) následují odlišné poddruhově specifické explorační strategie zřejmě související s celkovou ontogenezí, fyziologií a společenským uspořádáním lišícím se mezi těmito taxony.

Při srovnání exploračního chování samic a samců obou poddruhů se překvapivě prokázal zřetelný pohlavní dimorfismus pouze v Latenci vstupu do arény, kde u poddruhu *M. m. domesticus* samice váhaly déle, než do neznámého prostředí vešly. Jinak ale zástupkyně obou poddruhů vykazovaly obdobnou explorační aktivitu jako samci.

Celkově naše výsledky naznačují, že samice mají dostatečně silnou motivaci i nezanedbatelný potenciál explarovat do nových prostředí. A tak by i přes převládající paradigma samců jako hlavních nositelů savčí disperze neměla být samičí role v toku genů opomíjena.

## 8 Reference

**Akaike, H., 1974:** A new look at the statistical model identification, IEEE Transactions on Automatic Control, 19(6): 716 - 723.

**Allen, E., 1922:** The oestrous cycle in the mouse. The American Journal of Anatomy 30: 297 - 371.

**Andreassen, H. P., Stenseth, N. Ch., Ims, R. A., 2002:** Dispersal behaviour and population dynamics of vertebrates, Symposia of the British Ecological Society, 42: 237 - 256.

**Arnold, M. L., Hodges, S. A., 1995:** Are natural hybrids fit or unfit relative to their parents, Trends in Ecology & Evolution, 10(2): 67 - 71.

**Auclair, Y., König, B., Lindholm, A. K., 2014:** Socially mediated polyandry: a new benefit of communal nesting in mammals, Behavioral Ecology, 25(6): 1467 - 1473.

**Augustsson, H., Dahlborn, K., Meyerson, B. J., 2005:** Exploration and risk assessment in female wild house mice (*Mus musculus musculus*) and two laboratory strains, Physiology & Behavior, 84: 265 - 277.

**Baack, E. J., Rieseberg, L. H., 2007:** A genomic view of introgression and hybrid speciation, Current Opinion in Genetics & Development 2007, 17: 1 - 6.

**Baker, A. E. M., 1981:** Gene flow in house mice: Behavior in a population cage, Behavioral Ecology and Sociobiology, 8: 83 - 90.

**Barnard, C. J., Hurst, J. L., Aldhous, P., 1991:** Of mice and kin: The functional significance of kin bias in social behaviour, Biological Reviews, 66: 379 - 430.

**Bartolomucci, A., Palanza, P., Gaspani, L., Limiroli, E., Panerai, A., Ceresini, G., Poli, M., Parmigiani, S., 2001:** Social status in mice: Behavioral, endocrine and immune changes are context dependent, Physiology & Behavior, 73: 401 - 410.

**Bartolomucci, A., Pederzani, T., Sacerdote, P., Panerai, A., Parmigiani, S., Palanza, P., 2004:** Behavioral and physiological characterization of mice under chronic psychosocial stress, Psychoneuroendocrinology, 29(7): 899 - 910.

**Barton, N. H., Hewitt, G. M., 1985:** Analysis of hybrid zones, Annual Review of Ecology and Systematics, 16: 113 - 148.

**Barton, N. H., Hewitt, G. M., 1989:** Adaptation, speciation and hybrid zones, Nature, 341(6242): 497 - 503.



**Beck, J. A., Lloyd, S., Hafezparast, M., Lennon-Pierce, M., Eppig, J. T., Festing, M. F. W., Fisher, E. M. C., 2000:** Genealogies of mouse inbred strains, *Nature Genetics*, 24(1): 23 - 25.

**Belloq, J. G., Ribas, A., Baird, S. J. E., 2012:** New insights into parasitism in the house mouse hybrid zone, in Macholán, M., Baird, S. J. E., Munclinger, P., Piálek, J. (Ed.), *Evolution of the house mouse*, New York: Cambridge University Press, ISBN 9780521760669, 455 - 481.

**Berry, R. J., Scriven, P. N., 2005:** The house mouse: a model and motor for evolutionary understanding, *Biological Journal of the Linnean Society*, 84: 335 - 347.

**Bílková, B., 2014:** Variabilita zdravotního stavu myší v rámci hybridní zóny *Mus musculus musculus* a *Mus musculus domesticus*, diplomová práce oddělení Zoologie Univerzity Karlovy v Praze.

**Boursot, P., Auffray, J., C., Britton Davidian, J., Bonhomme, F., 1993:** The evolution of house mice, *Annual Review of Ecology and Systematics*, 24: 119 - 152.

**Boursot, P., Din, W., Anand, R., Darviche, D., Dod, B., Von Deimling, F., Talwar, G. P., Bonhomme, F., 1996:** Origin and radiation of the house mouse: Mitochondrial DNA phylogeny, *Journal of Evolutionary Biology*, 9(4): 391 - 415.

**Bowler, D. E., Benton, T. G., 2005:** Causes and consequences of animal dispersal strategies: relating individual behaviour to spatial dynamics, *Biological Reviews*, 80: 205 - 225.

**Burnham, P. K., Anderson, R. D., 2004:** Multimodel inference: understanding AIC and BIC in model selection, *Sociological Methods Research*, 33: 261 - 304.

**Byers, S. L., Wiles, M. V., Dunn, S. L., Taft, R. A., 2012:** Mouse estrous cycle identification tool and images, *PLOS ONE* 7(4): e35538. doi: 10.1371/journal.pone.0035538

**Carroll, L., 1999:** Alenčina dobrodružství v říši divů, přeložil Císař, J., ilustrovali Tenniel, J., Theaker, H., Wallis, D., Praha: Aurora, ISBN 8085974754.

**Clobert, J., 2012:** *Dispersal ecology and evolution*, Oxford: Oxford University Press, ISBN 0199608903.

**Coyne, J. A., Orr, H. A., 2004:** *Speciation*, Sunderland: Sinauer Associates, ISBN 0878930892.

**Crowcroft, P., 1955:** Territorially in wild house mice, *Mus musculus* L, *Journal of Mammalogy*, 36(2): 299 - 301.

**Debeffe, L., Morellet, N., Cargnelutti, B., Lourtet, B., Coulon, A., Gaillard, J. M., Bon, R., Hewison, A. J. M., 2013:** Exploration as a key component of natal dispersal:

dispersers explore more than philopatric individuals in roe deer, *Animal Behaviour*, 86: 143 - 151.

**Dingemanse**, N. J., Both, Ch., van Noordwijk, A. J., Rutten, A. L., Drent, P. J., **2003**: Natal dispersal and personalities in great tits (*Parus major*), *The Royal Society*, 270: 741 - 747.

**Drickamer**, L. C., **1982**: Acceleration and delay of first vaginal oestrus in female mice by urinary chemosignals: Dose levels and mixing urine treatment sources, *Animal Behaviour*, 30(2): 456 - 460.

**Dušek**, A., Bartoš, L., **2012**: Variation in ano-genital distance in spontaneously cycling female mice, *Reproduction in Domestic Animals*, 47: 984 - 987.

**Đureje**, L., Vošlajerová Bímová, B., Piálek, J., **2011**: No postnatal maternal effect on male aggressiveness in wild-derived strains of house mice, *Aggressive Behavior*, 37(1): 48 - 55.

**Firman**, R. C., **Simmons**, L. W., **2008**: The frequency of multiple paternity predicts variation in testes size among island populations of house mice, *Journal of Evolutionary Biology*, 21: 1524 - 1533.

**Frynta**, D., **1992**: "Open field" behaviour in seven mice species (Muridae, Apodemus, Mus), *Prague Studies in Mammalogy*, Charles University Press: 31 - 38.

**Frynta**, D., **1994**: Exploratory behaviour in 12 Palaearctic mice species (Rodentia: Muridae): A comparative study using "free exploration" tests, *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae*, 57: 173 - 182.

**Frynta**, D., Slábová, M., Váchová, H., Volfová, R., Munclinger, P., **2005**: Aggression and commensalism in house mouse: a comparative study across Europe and the Near East, *Aggressive Behavior*, 31: 283 - 293.

**Ganem**, G., Ginane, C. Ostrowski, M. - C., Orth, A., **2005**: Assessment of mate preference in the house mouse with reference to investigations on assortative mating, *Biological Journal of the Linnean Society*, 84: 461 - 471.

**Ganem**, G., **2012**: Behaviour, ecology and speciation in the house mouse, in: Macholán, M., Baird, S. J. E., Munclinger, P., Piálek, J. (Ed.), *Evolution of the house mouse*, New York: Cambridge University Press, ISBN 9780521760669, 373 - 406.

**Gerlach**, G., **1990**: Dispersal mechanisms in a captive wild house mouse population (*Mus domesticus* Ruddy), *Biological Journal of the Linnean Society*, 41: 271 - 277.

**Gerlach, G., 1996:** Emigration mechanisms in feral house mice - a laboratory investigation of the influence of social structure, population density, and aggression, *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 39: 159 - 170.

**Gerlach, G., 1998:** Impact of social ties on dispersal, reproduction and dominance in feral house mice (*Mus musculus domesticus*), *Ethology*, 104(6): 487 - 499.

**Green, E. L., 1966:** Biology of the laboratory mouse, 2<sup>nd</sup> print, New York: Blakiston Division, McGraw-Hill.

**Greenwood, P. J., 1980:** Mating systems, philopatry and dispersal in birds and mammals, *Animal Behaviour*, 28: 1140 - 1162.

**Guénet, J. L., 2005:** The mouse genome, *Genomes Research*, 15(12): 1729 - 1740.

**Guénet, J. L., Bonhomme, F., 2003:** Wild mice: an ever-increasing contribution to a popular mammalian model, *Trends in Genetics*, 19(1): 24 - 31.

**Harper, J. M., Austad, S. N., 2001:** Effect of capture and season on fecal glucocorticoid levels in deer mice (*Peromyscus maniculatus*) and red-backed voles (*Clethrionomys gapperi*), *General and Comparative Endocrinology*, 123(3): 337 - 344.

**Harrison, N., Lindholm, A. K., Dobay, A., Halloran, O., Manser, A., König, B., 2018:** Female nursing partner choice in a population of wild house mice (*Mus musculus domesticus*), *Frontiers in Zoology*, 15: 4.

**Hewitt, G. M., 1988:** Hybrid zones - natural laboratories for evolutionary studies, *Trends in Ecology & Evolution*, 3: 158 - 67.

**Hiadlovská, Z., Strnadová, M., Macholán, M., Vošlajerová Bímová, B., 2012:** Is water really a barrier for the house mouse? A comparative study of two mouse subspecies, *Folia Zoologica*, 61(3-4): 319 - 329.

**Hiadlovská, Z., Vošlajerová Bímová, B., Mikula, O., Piálek, J., Macholán, M., 2013:** Transgressive segregation in a behavioural trait? Explorative strategies in two house mouse subspecies and their hybrids, *Biological Journal of the Linnean Society*, 108: 225 - 235.

**Hiadlovská, Z., Macholán, M., Mikula, O., Vošlajerová Bímová, B., 2014:** The meek inherit the earth: less aggressive wild mice are more successful in challenging situations, *Biological Journal of the Linnean Society*, 113: 310 - 319.

**Hiadlovská, Z., Mikula, O., Macholán, M., Hamplová, P., Vošlajerová Bímová, B., Daniszová, K., 2015:** Shaking the myth: body mass, aggression, steroid hormones, and social dominance in wild house mouse, *General and Comparative Endocrinology*, 223: 16 - 26.

**Holm, S., 1979:** A simple sequentially rejective multiple test procedure, *Scandinavian Journal of Statistics*, 6: 65 - 70.

**Hurst, J. L., 1987:** Behavioural variation in wild house mice *Mus domesticus* Ruddy: a quantitative assessment of female social organization, *Animal Behaviour*, 35(6): 1846 - 1857.

**Hurst, J. L., 1990:** Urine marking in populations of wild house mice *Mus domesticus* Ruddy. II. Communication between females, *Animal Behaviour*, 40: 223 - 232.

**Hurst, J. L., Gray, S. J., Davey, P., Young, D, Corbishley, J. H., Dawson, C., 1997:** Social interaction alters attraction to competitor's odour in the mouse *Mus spretus* Lataste, *Animal Behaviour*, 54: 941 - 53.

**Hurst, J. L., Payne, E. C., Nevison, Ch. M., Marie, A. D., Humphries, R. E., Robertson, D. H. L., Cavaggioni, A., Beynon, R. J., 2001:** Individual recognition in mice mediated by major urinary proteins, *Nature*, 414: 631 - 634.

**Hurst, J. L., Beynon, R. J., Armstrong, S. D., Davidson, A. J., Roberts, S. A., Gómez-Baena, G., Smadja, C. M., Ganem, G., 2017:** Molecular heterogeneity in major urinary proteins of *Mus musculus* subspecies: potential candidates involved in speciation, *Scientific Reports*, 7.

**Chung, A., Belone, P. M., Bímová, B., Karn, R., Laukaitis, Ch., 2017:** Studies of an androgen-binding protein knockout corroborate a role for salivary ABP in mouse communication, *Genetics*, 205: 1517 - 1527.

**Kelliher, K. R., Wersinger, S. R., 2009:** Olfactory regulation of the sexual behavior and reproductive physiology of the laboratory mouse: effects and neural mechanisms, *ILAR Journal* 50: 28 - 42.

**King, J. A., 1983:** Seasonal dispersal in a seminatural population of *Peromyscus maniculatus*, *Canadian Journal of Zoology*, 61(12): 2740 - 2750.

**Koolhaas, J. M., de Boer, S. F., Coppens, C. M., Buwalda, B., 2010:** Neuroendocrinology of coping styles: towards understanding the biology of individual variation, *Frontiers in Neuroendocrinology*, 31(3): 307 - 21.

**König, B., Lindholm, A., 2012:** The complex social environment of female house mice (*Mus domesticus*), in: Macholán, M., Baird, S. J. E., Munclinger, P., Piálek, J. (Ed.), *Evolution of the house mouse*, New York: Cambridge University Press, ISBN 9780521760669, 114 - 134.

**Latham, N., Mason, G., 2004:** From house mouse to mouse house: the behavioural biology of free-living *Mus musculus* and its implications in the laboratory, *Applied Animal Behaviour Science*, 86: 261 - 289.

**Laukaitis**, Ch., Critser, E. S., Robert, K., **1997**: Salivary androgen-binding protein (ABP) mediates sexual isolation in *Mus musculus*, *Evolution*, 51(6): 2000.

**Lidicker**, W. Z., **1976**: Social behaviour and density regulation in house mice living in large enclosures, *Journal of Animal Ecology*, 45(3): 677 - 697.

**Macholán**, M., **Zima**, J., **1994**: *Mus domesticus* in western Bohemia: a new mammal for the Czech Republic, *Folia Zoologica* 43(1): 39 - 42.

**Macholán**, M., Kryštufek, B., Vohralík, V., **2003**: The location of the *Mus musculus*/*M. domesticus* hybrid zone in the Balkans: clues from morphology, *Acta Theriologica*, 48 (2): 177 - 188.

**Macholán**, M., **2007 (a)**: Mendel, Little a nenápadné výročí. 100 let historie laboratorních myší / Mendel, Little and an inconspicuous anniversary (a century of laboratory mice history), *Živa*, 2: 84 - 86.

**Macholán**, M., Munclinger, P., Šugerková, M., Dufková, P., Bímová, B., Božíková, E., Zima, J., Piálek, J., **2007 (b)**: Genetic analysis of autosomal and X-linked markers across a mouse hybrid zone, *Evolution*, 61(4): 746 - 771.

**Macholán**, M., Mikula, O., Vohralík, V., **2008**: Geographic phenetic variation of two eastern-Mediterranean non-commensal mouse species, *Mus macedonicus* and *M. cypriacus* (Rodentia: Muridae) based on traditional and geometric approaches to morphometric, *Zoologischer Anzeiger - A Journal of Comparative Zoology*, 247(1): 67 - 80.

**Macholán**, M., Baird, S. J. E., Munclinger, P., Piálek, J., 2012: Evolution of the house mouse, New York: Cambridge University Press, ISBN 9780521760669.

**Mallet**, J., **2005**: Hybridization as an invasion of the genome, *Trends in Ecology & Evolution*, 20: 229 - 237.

**Mayr**, E., **1963**: Animal species and evolution, Cambridge: Belknap Press of Harvard University Press.

**Meziane**, H., Ouagazzal, A. M., Aubert, L., Wietrzych, M., Krezel, W., **2007**: Estrous cycle effects on behavior of C57BL/6J and BALB/cByJ female mice: implications for phenotyping strategies, *Genes, Brain and Behavior* 6: 192 - 200.

**Mossman**, C. A., **Drickamer**, L. C., **1996**: Odor preferences of female house mice (*Mus domesticus*) in seminatural enclosures, *Journal of Comparative Psychology*, 110(2): 131 - 138.

**Palanza**, P., Seta, D. D., Ferrari, P. F., Parmigiani, S., **2005**: Female competition in wild house mice depends upon timing of female/male settlement and kinship between females, *Animal Behaviour*, 69(6): 1259 - 1271.

- Paleček, J., 1996:** Biologie buňky, Praha: Karolinum, ISBN 8071842796.
- Paleček, J., 1994:** Biologie vývoje živočichů, Praha: Karolinum, ISBN 8070669462.
- Pelikán, J., 1981:** Pattern of reproduction in the house mouse, Symposia of the Zoological Society of London, 47: 205 - 229.
- Penn, D. J., Musolf, K., 2012:** The evolution of MHC diversity in house mice, in: Macholán, M., Baird, S. J. E., Munclinger, P., Piálek, J. (Ed.), Evolution of the house mouse, New York: Cambridge University Press, ISBN 9780521760669, 221 - 252.
- Piálek, J., Vyskočilová, M., Bímová, B., Havelková, D., Piálková, J., Dufková, P., Bencová, V., Ďureje, L., Albrecht, T., Hauffe, H., Macholán, M., Munclinger, P., Reifova / Storchova, R., Zajicova, A., Holán, V., Gregorová, S., Forejt, J., 2008:** Development of unique house mouse resources suitable for evolutionary studies of speciation, The Journal of Heredity, 99: 34 - 44.
- Pocock, M. J. O., Hauffe, H. C., Searle, J. B., 2005:** Dispersal in house mice, Biological Journal of the Linnean Society, 84: 565 - 583.
- Pospíšilová, I., 2017:** Steroidní hormony a sociální struktura: využití neinvazivního přístupu stanovení hladiny hormonů při studiu myši domácí v polopřirozených podmínkách a v behaviorálních experimentech, diplomová práce oddělení Zoologie Masarykovi univerzity v Brně.
- Potts, W. K., Manning, C. J., Wakeland, E. K., 1991:** Mating patterns in seminatural populations of mice influenced by MHC genotype, Nature, 352: 619 - 621.
- Prugnolle, F., de Meeus, T., 2002:** Inferring sex-biased dispersal from population genetic tools: a review, The Journal of Heredity, 88: 161 - 165.
- Pusey, A. E., 1987:** Sex-biased dispersal and inbreeding avoidance in birds and mammals, Trends in Ecology & Evolution, 2(10): 295 - 299.
- R Core Team, 2014:** R: A language and environment for statistical computing, Vienna, Austria, <https://www.r-project.org/>.
- Ridley, M., 2010:** Původ ctnosti: o evolučních základech a zákonitostech nesobeckého jednání člověka, 2. vydání, přeložil Konvička, M., Praha: Portál, Spektrum (Portál), ISBN 9788073677176.
- Rusu, A. S., Krackow, S., 2005:** Agonistic onset marks emotional changes and dispersal propensity in wild house mouse males (*Mus domesticus*), Journal of Comparative Psychology, 119(1): 58 - 66.
- Sanderson, J., Trolle, M., 2005:** Monitoring elusive mammals, American Scientist, 93.

**Sandnabba, N. K., 2010:** Territorial behaviour and social organization as a function of the level of aggressiveness in male mice, *Ethology*, 103(7): 566 - 577.

**Sankararaman, S., Patterson, N., Li, H., Pääbo, S., Reich, D., 2012:** The date of interbreeding between Neanderthals and modern humans, *PLOS Genetics*, 8(10): e1002947.

**Shih, A., Bell, A., Johnson, J. Ch., 2004:** Behavioral syndromes: an ecological and evolutionary overview, *Trends in Ecology & Evolution*, 19(7): 372 - 378.

**Shurtliff, Q., 2013:** Mammalian hybrid zones: a review, *Mammal Review*, 43(1).

**Schumer, M., Rosenthal, G. G., Andolfatto, P., 2014:** How common is homoploid hybrid speciation, *The Society for the Study of Evolution*, Evolution 68-6: 1553 - 1560.

**Schwagmeyer, P. L., 1979:** The Bruce effect: an evaluation of male/female advantages, *The American Naturalist*, 114 (6): 932 - 938.

**Singleton, G., 1983:** The social and genetic structure of a natural colony of house mice, *Mus musculus*, at Healesville wildlife sanctuary, *Australian Journal of Zoology*, 31(2).

**Singleton, G. R., Hay, D. A., 1983:** The effect of social organization on reproductive success and gene flow in colonies of wild house mice, *Mus musculus*, *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 12(1): 49 - 56.

**Stenseth, N. Ch., Lidicker, W. Z., 1992:** Animal dispersal: small mammals as a model, New York: Chapman & Hall, ISBN 0412293307.

**Stopka, P., Janotová, K., Heyrovský, D., 2007:** The advertisement role of major urinary proteins in mice. *Physiology & Behavior*, 91(5): 667 - 670.

**Thoß, M., Luzynski, K., Enk, V. M., Razzazi-Fazeli, E., 2019:** Regulation of volatile and non-volatile pheromone attractants depends upon male social status, *Scientific Reports*, 9: 1 - 14.

**Touma, C., Sachser, N., Mostl, E., Palme, R., 2003:** Effects of sex and time of day on metabolism and excretion of corticosterone in urine and feces of mice, *General and Comparative Endocrinology*, 130: 267 - 278.

**Vošlajerová Bímová, B., Macholán, M., Baird, S., Munclinger, P., Dufková, P., Laukaitis, Ch., Karn, R., Luzynski, K., Tucker, P., Piálek, J., 2011:** Reinforcement selection acting on the European house mouse hybrid zone, *Molecular Ecology*, 20: 2403 - 2424.

**Wade, C. M., Kulbokas, E. J., Kirby, A. W., Zody, M. C., Mullikin, J. C., Lander, E. S., Lindbland-Toh, K., Daly, M. J., 2002:** The mosaic structure of variation in the laboratory mouse genome, *Nature*, 420(6915): 574 - 578.

**Weidt, A., Lindholm, A. K., König, B., 2014:** Communal nursing in wild house mice is not a by-product of group living: females choose, *Die Naturwissenschaften*, 101.

**Wilson, E. O., 1975:** Sociobiology: the new synthesis, 6<sup>th</sup> print, Cambridge: Belknap Press of Harvard University Press, ISBN 0674816218.

**Yang, H., Wang, J. R., Didion, J. P., Buus, R. J., Bell, T. A., Welsh, C., Bonhomme, F., Yu, A. H-Y., Nachman, M. W., Piálek, J., Tucker, P., Boursot, P., Mc Millan, L., Churchill, G. A., de Villena, F. P-M., 2011:** Subspecific origin and haplotype diversity in the laboratory mouse, *Nature Genetics*, 43: 648 - 655.

**Yang, M. A., Malaspinas, A. S., Durand, E. Y., Slatkin, M., 2012:** Ancient structure in Africa unlikely to explain Neanderthal and non-African genetic similarity, *Molecular Biology and Evolution*, 29(10): 2987 - 2995.

**Zinck, L., Lima, S. Q., 2013:** Mate choice in *Mus musculus* is relative and dependent on the estrous state, *PLoS ONE* 8(6): e66064. doi:10.1371/journal.pone.0066064.



## 9 Přílohy

Tabulka pI: jedinci poddruhu *M. m. domesticus* použítí v experimentu. SCH – SCHUNT, STR – STRA. Jako první je u křížení vždy uvedena matka.

Křížení	Kód jedince	Datum a čas explorace	Věk (d)	Fáze	Doba od synch. po exploraci (h)
SCHxSTR	BV♀0355	17/12/11 10:20	88	R	39
SCHxSTR	BV♀0356	17/12/11 10:35	88	N	39
SCHxSTR	BV♀0357	17/12/11 10:05	88	N	39
SCHxSTR	BV♀0365	17/12/11 9:39	80	R	38
SCHxSTR	BV♀0454	28/7/12 12:03	177	N	51
SCHxSTR	BV♀0455	28/7/12 10:32	177	R	50
SCHxSTR	BV♀0457	28/7/12 11:31	176	N	51
SCHxSTR	BV♀0458	28/7/12 10:18	176	N	50
SCHxSTR	BV♀0542	28/7/12 12:20	113	R	51
SCHxSTR	BV♀0543	28/7/12 11:16	113	R	50
SCHxSTR	BV♀0617	28/7/12 11:02	69	N	50
SCHxSTR	BV♀0618	28/7/12 12:38	69	N	52
SCHxSTR	BV♀1546	10/12/13 9:23	68	R	72
SCHxSTR	BV♀1596	15/1/14 9:02	84	N	49
SCHxSTR	BV♀1940	23/4/14 12:00	70	R	28
SCHxSTR	BV♀1941	23/4/14 12:13	70	R	28
STRxSCH	BV♀0622	28/7/12 10:03	69	N	49
STRxSCH	BV♀0625	28/7/12 9:12	68	N	49
STRxSCH	BV♀0626	28/7/12 8:48	68	N	48
STRxSCH	BV♀0628	28/7/12 9:30	68	N	49
STRxSCH	BV♀0629	28/7/12 9:48	68	N	49
STRxSCH	BV♀1540	10/12/13 9:08	78	R	72
STRxSCH	BV♀1570	20/12/13 9:03	68	R	72
STRxSCH	BV♀1578	16/1/14 9:21	89	N	73
STRxSCH	BV♀1588	16/1/14 9:35	87	N	73
STRxSCH	BV♀1589	16/1/14 9:51	87	N	74
STRxSCH	BV♀1647	16/1/14 10:50	68	R	75
STRxSCH	BV♀1648	16/1/14 11:07	68	R	75
STRxSCH	BV♀1649	16/1/14 11:24	68	R	75
STRxSCH	BV♀1650	16/1/14 11:36	68	R	75
STRxSCH	BV♀1666	20/1/14 9:35	67	R	50
STRxSCH	BV♀1671	20/1/14 10:08	67	R	50

Tabulka pI, pokračování: jedinci poddruhu *M. m. musculus* použiti v experimentu. BUS – BUSNA, STU – STUF. Jako první je u křížení vždy uvedena matka.

Křížení	Kód jedince	Datum a čas explorace	Věk (d)	Fáze	Doba od synch. po exploraci (h)
BUSxSTU	BV♀0188	11/8/11 10:01	135	N	49
BUSxSTU	BV♀0189	11/8/11 10:37	135	R	50
BUSxSTU	BV♀0192	12/8/11 11:00	134	R	74
BUSxSTU	BV♀0193	11/8/11 10:15	133	R	49
BUSxSTU	BV♀0220	12/8/11 11:14	116	R	74
BUSxSTU	BV♀0274	26/8/11 10:39	103	R	75
BUSxSTU	BV♀0275	26/8/11 11:01	103	R	75
BUSxSTU	BV♀0296	27/8/11 10:27	71	R	99
BUSxSTU	BV♀0297	27/8/11 10:40	71	R	99
BUSxSTU	BV♀1530	18/12/13 9:47	85	N	241
BUSxSTU	BV♀1542	18/12/13 10:01	79	N	241
BUSxSTU	BV♀1752	24/2/14 12:39	77	N	292
BUSxSTU	BV♀1753	26/2/14 12:41	79	N	340
BUSxSTU	BV♀2205	18/7/14 12:00	91	N	340
BUSxSTU	BV♀2243	18/7/14 12:19	81	N	340
BUSxSTU	BV♀2244	16/7/14 12:07	79	N	292
STUxBUS	BV♀0230	11/8/11 11:00	109	R	50
STUxBUS	BV♀0231	11/8/11 11:13	109	R	51
STUxBUS	BV♀0232	11/8/11 11:28	109	N	51
STUxBUS	BV♀0241	12/8/11 10:26	100	R	74
STUxBUS	BV♀0242	12/8/11 10:39	100	R	74
STUxBUS	BV♀0254	27/8/11 9:18	107	R	98
STUxBUS	BV♀0255	27/8/11 9:30	107	N	98
STUxBUS	BV♀0288	26/8/11 9:00	83	N	73
STUxBUS	BV♀0330	23/11/11 10:04	96	R	98
STUxBUS	BV♀0333	24/11/11 10:25	93	R	122
STUxBUS	BV♀0334	24/11/11 10:40	93	R	123
STUxBUS	BV♀1553	18/12/13 10:15	75	N	241
STUxBUS	BV♀1580	8/2/14 12:01	111	N	268
STUxBUS	BV♀1581	8/2/14 12:17	111	N	268
STUxBUS	BV♀1750	5/3/14 12:07	88	N	292
STUxBUS	BV♀1751	6/3/14 12:28	89	N	316

RESEARCH PAPER

## Female House Mice do not Differ in Their Exploratory Behaviour from Males

Barbora Vošlajerová Bímová\*†, Ondřej Mikula\*†, Miloš Macholán\*, Kateřina Janotová† & Zuzana Hiadlovská\*

\* Laboratory of Mammalian Evolutionary Genetics, Institute of Animal Physiology and Genetics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Brno, Czech Republic

† Institute of Vertebrate Biology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Brno, Czech Republic

### Correspondence

Barbora Vošlajerová Bímová, Laboratory of Mammalian Evolutionary Genetics, Institute of Animal Physiology and Genetics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Veveří 97, 60200 Brno, Czech Republic.  
E-mail: barabimova@centrum.cz

Received: August 20, 2015

Initial acceptance: September 23, 2015

Final acceptance: December 2, 2015

(J. Wright)

doi: 10.1111/eth.12462

**Keywords:** sex-biased dispersal, exploration strategy, oestrous cycle, open-field test, *Mus musculus*

### Abstract

Dispersal is an important ecological trait affecting genetic variation and dynamics of populations. Hence, the exploratory behaviour prior to actual dispersal may be crucial for potentially dispersing individuals. In mammals, females are traditionally seen as the more philopatric sex and dispersal as male-biased behaviour, and so behavioural strategies related to the exploration of novel resources should be differentially expressed in males and females. In addition, due to sexual selection exploratory strategies may be expected to vary according to females' reproductive phase. We employed a standard open-field test as an approximation of the first phase of dispersal, using adult house mice representing two subspecies, *M. m. musculus* and *M. m. domesticus*. We tested the prediction that exploration of neutral area varies in females during different phases of the oestrous cycle and is different between both sexes and subspecies. We expected to find higher exploration in males, as the more dispersing sex and less pronounced subspecies-specific differences in females than in males. We found no significant effect of the oestrous phase on any of the parameters of the exploratory behaviour measured. Sexual dimorphism was found only in latency to enter the arena in *M. m. domesticus* where females hesitated longer to enter a new area than males. Significant subspecies-specific differences were found in three of four tested exploration parameters, so we conclude that females of both subspecies follow similar strategies to those displayed by males. *Musculus* mice show shorter latency to enter a new area, but once inside, *domesticus* mice explore the arena significantly longer, with less frequent retreats to a shelter. Our results thus highlight that the role of female dispersal in interdemec gene flow should not be neglected.

### Introduction

Dispersal is an important ecological trait affecting genetic variation and dynamics of populations (Prugnolle & de Meeus 2002). Understanding dispersal is thus a prerequisite for proper interpretation of many population processes (Stenseth & Lidicker 1992; Cloutier et al. 2001; Bullock et al. 2002). Particular attention has been paid to sex-specific differences in dispersal (Pusey 1987) which is generally male-biased in polygynous species (typically in mammals) and

female-biased in socially monogamous species like, for example, many birds (Greenwood 1980; Clarke et al. 1997). Several factors have been suggested to explain sex-specific differences in emigration such as inbreeding avoidance and/or competition for resources or local mates (Greenwood 1980; Pusey 1987; Perrin & Mazalov 2000; Prugnolle & de Meeus 2002). A maturing individual has to optimize its fitness by trading-off cost of dispersal with the costs of philopatry, the former being accompanied with the exploration of unfamiliar environment to disperse in.

Such a process is influenced by many external (population density, resource availability, etc.) and internal (heritable component, individual personality, social position and relatedness within the group) factors. Although, in general, proximate causation of variation in individual dispersal decisions is not fully understood, the decision process is undoubtedly very important (Stenseth & Lidicker 1992; Bowler & Benton 2005; Clobert et al. 2012). Obviously, the character of exploratory behaviour (e.g. tendency to explore, pattern and intensity of exploration of an unknown area) is crucial for this process.

A typical polygynous mammal species is the house mouse (*Mus musculus* L.). Although the mouse population structure may vary depending on the ecological (e.g. commensal vs. feral life), climatic (e.g. temperate vs. arctic areas) or density situation (see Ganem 2012; and references therein), populations of this species are generally divided into small, more or less isolated, demes consisting of one dominant male, several subordinate males and females with their offspring (Crowcroft 1955; Reimer & Petras 1967; van Zegeren & van Oortmerssen 1981; Singleton 1983; Latham & Mason 2004). The dominant male monopolizes females and sires most of their pups (DeFries & McClean 1970; Singleton & Hay 1983) although multiple paternity occurs in approximately a quarter of litters (Potts et al. 1991; Montero et al. 2013; Thonhauser et al. 2013, 2014; Auclair et al. 2014). Females roam freely within (and to some extent also between) deme territories (Wolff 1985; Hurst 1990; Gerlach 1996). Juvenile males are tolerated before reaching maturity and the onset of agonistic encounters (Brown 1953; Bronson 1979; Hurst 1987; Rusu & Krackow 2005). Once the young males reach maturity, they usually engage in overt aggression with other group members and disperse unless they are able to overtake the natal territory. Young males are reported to predominate among house mouse emigrants, whereas females are assumed to stay and reproduce in their natal demes (Lidicker 1976; van Zegeren 1980; Gerlach 1990, 1996; Pocock et al. 2005). However, in some studies there was either no gender bias found among dispersing individuals (Strecker 1954; Walkowa et al. 1989) or females were detected as the more dispersing sex (Myers 1974; Singleton 1983; reviewed in Pocock et al. 2005). Moreover, the appreciable role of female mice in effective migration is suggested by phylogenetic data based on mtDNA haplotypes (reviewed in Bonhomme & Searle 2012). These discrepancies suggest the widely held paradigm of male-biased dispersal may not be (at least in house mice) as ubiquitous as commonly believed.

Given the importance of exploration for individual dispersal decisions mentioned above, exploratory behaviour prior to dispersal has been documented and proposed as a proxy for the propensity of an individual to disperse in many species (e.g. Dingemanse et al. 2003; Roper et al. 2003; Samelius et al. 2011; Debeffe et al. 2013) including mice (Palanza et al. 2001; Krackow 2003; Latham & Mason 2004; Augustsson et al. 2005; Pocock et al. 2005; Rusu & Krackow 2005). Here, we studied explorative strategies in females and males of two house mouse subspecies, *M. m. musculus* and *M. m. domesticus*. These taxa are known to differ in numerous genetical, morphological, physiological, but also behavioural traits, such as aggression (*M. m. musculus* being less aggressive; Thuesen 1977; van Zegeren & van Oortmerssen 1981; Frynta et al. 2005; Piálek et al. 2008; Ďureje et al. 2011), odour preferences (*M. m. musculus* being more choosy and preferring mates of the same subspecies; Smadja et al. 2004; Bímová et al. 2005; Vošlajerová Bímová et al. 2011; Ganem 2012) and behavioural flexibility (*M. m. musculus* males performed significantly better in solving Morris water task, thus being more flexible under dynamic and/or stressful conditions; Hladlovská et al. 2014). Moreover, Hladlovská et al. (2013) revealed that both wild and wild-derived inbred males representing the two subspecies showed differences in the exploration of an unfamiliar environment with *M. m. domesticus* males adopting a longer risk assessment, followed by more 'self-confident' exploration than *M. m. musculus* males. A similar pattern was found in tests assessing motivation to overcome a water barrier (Hladlovská et al. 2012).

However, little is known about exploration strategies in females, most probably because of the complication brought about by hormonal fluctuations during the oestrous cycle, potentially affecting females' behaviour and hence biasing the results (Meziane et al. 2007). Moreover, social organization of female mice involving direct competition, dominance and reproductive inhibition by other group members (both males and females), connected with territory and nest defence, is more complex and variable than simple territory dominance in males (Hurst 1987, 1990; Gerlach 1990, 1996). Such complex social environment of female mice is little understood (König & Linholm 2012) although from the evolutionary perspective this may modulate female dispersal motivation and perception of novel events (Augustsson et al. 2005).

In this study, we tested (i) whether female exploratory behaviour varies during the oestrous cycle; (ii)

whether this behaviour differs from that of males and (iii) whether and how it differs between the two subspecies. We expected, following the predominant belief of males being the more dispersive sex, that females would display lower activity in surveying an unknown area than males of the same subspecies. Based on female's position within a social group, with a limited possibility to directly affect its reproductive success, we proposed two alternative hypotheses. First, we may assume female mice to actively search for quality mates that would lead to increase in exploration activity. Although such higher exploration does not necessarily result in dispersal, willingness to explore a new area should then be increased in the receptive phase of the oestrus cycle. Alternatively, we may assume the females to search for breeding opportunity and other resources (shelter, nesting sites, food etc.). In this case, we expect explorative activity to be independent on their oestrus phase (i.e. equal for receptive and non-receptive females) and potentially resulting in dispersal from unfavourable social environment. We compared female explorative strategies with male exploration patterns revealed in this study and also reported earlier (see Hiadlovská et al. 2013).

## Material and Methods

### Tested Animals

Explorative behaviour was analysed using 45 male and 64 female F1 consubspecific hybrids between wild-derived inbred strains representing both subspecies. Owing to decreased homozygosity, the F1 hybrids (i.e. *musculus* × *musculus* and *domesticus* × *domesticus*) are more realistic surrogates of natural populations than the parental inbred strains. As sources, we used BUSNA and STUF strains representing *M. m. musculus*, and STRA and SCHUNT as representatives of *M. m. domesticus*. The former three strains were described in detail in Piálek et al. (2008). The SCHUNT strain is a lineage established with a pair captured at Schweben locality (central Germany), kept at the Institute of Vertebrate Biology, ASCR (IVB, ASCR). The parents of tested mice represented the 10th–18th generation of brother–sister mating. Both groups of F1 hybrids were checked for potential effects of the cross-direction (see the *Statistical analyses* section below). As no significant differences in scored phenotypes were found between the reciprocal crosses, we pooled the mice within each subspecies and sex creating a group of *M. m. musculus* ( $N_{\text{♀}} = 32$ ,  $N_{\text{♂}} = 22$ ) and *M. m. domesticus* ( $N_{\text{♀}} = 32$ ,  $N_{\text{♂}} = 23$ ).

### Experimental Design

Mice were weaned at the age of 20 d, kept individually or in pairs of the same sex, and adult mice (55 d old or older) were individually housed in standard polycarbonate cages (16 × 28 × 15 cm; VELAZ, Prague, Czech Republic). After at least 10 d of isolation, males were tested in the open-field arena, while females were synchronized with respect to their oestrous cycle. Following the synchronization, females were tested either in the receptive or in non-receptive phase of the oestrous cycle.

### Oestrous Cycle

To test whether females in receptive and non-receptive phase differ in their exploration scores, we cytologically examined vaginal smears taken at the end of each open-field test. The oestrous cycle was synchronized using 25 g of 10-d-old soiled beddings from an isolated adult male of the same subspecies and cross-direction as the recipient female following Meziane et al. (2007). The timing was adjusted according to our previous experiments with wild-derived mice. The stage of the oestrous cycle was determined according to the ratio of leucocytes, nucleated epithelial cells and cornified epithelial cells in the smears (Allen 1922; Byers et al. 2012) prepared by vaginal lavage with 10 µl of physiological saline. The fluid was smeared onto a microscope slide, dried and stained using the Pappenheim stain (May-Grünwald, Giemsa). The preparations were analysed under a light microscope (Olympus BX51) at 100x magnification. We considered a female to be in the receptive phase if proestrus and/or oestrus were detected in the smear and in the non-receptive phase in all other cases (i.e. if either metestrus or diestrus was detected).

### Open-Field Test

Each mouse was tested only once using a standard voluntary exploration test following Hiadlovská et al. (2013). The open-field arena was a circular vat, 100 cm in diameter and 50 cm high. The floor was divided into two sections: a central circle (diameter 90 cm) and the outer annulus. The arena was connected with a glass tube to a Perspex habituation box (for more details see Hiadlovská et al. 2013). Between trials, the apparatus was thoroughly cleaned with 96% ethanol and habituation box with NaClO<sub>4</sub> (<5%) and tap water.

All tests were performed during the light phase of the day, from 8 a.m. to 2 p.m. within years 2013 and

2014. Before each trial, we placed the tested animal into the habituation box and allowed it to habituate for 15 min. After this period, we connected the box to the arena, opened the box and started recording. Each trial lasted 10 min and started when the mouse approached the arena opening for the first time and attempted to enter. During this time, it could enter the vat and move freely between the arena and the box. The animal's first actual entrance (FAE) was defined when all its paws touched the arena floor. We termed the 'delay' between the start of the trial and FAE as the *latency to enter* parameter. We processed the movement patterns during the first 3 min after FAE using Modular tracking system (custom designed, purchased from M. Kučera), scoring for the following parameters: *time spent in arena* expressed as a proportion of total time (180 s); number of *box entrances*, when the animal returned to the habituation box and *thigmotaxy*, that is the tendency to move along the wall, here quantified as the proportion of the total time spent in the outer annulus (representing 19% of the arena's area). If the animal did not enter the arena during the trial, the above parameters could not be scored, and this individual was classified as non-exploring.

#### Ethical Note

All animals were kept under the 14/10 light/dark photoperiod, lights on at 6 a.m., at 20°C, pelleted food (ST1, VELAZ, Prague) and water available *ad libitum*. At the end of the experiment, all tested animals were sacrificed by cervical dislocation, and samples of DNA were collected for further analyses. The experiments were performed in the breeding facility of the IVB, ASCR (Licenses No. 227203/2011-MZE-17214 2011-2016). Animals were handled by authorized persons only (License No. CZ 01293 (BVB), CZ 01271 (ZH)), and the experimental protocols (145/2010) were approved by the Ethical Commission of the IVB, ASCR and followed the EU Directive 2010/63/EU. The observer who measured and analysed exploration behaviour in the open-field arena and used modular tracking system (JD) was blind to tested assumptions.

#### Statistical Analyses

The effects of the oestrous phase, subspecies and sex on each of the behavioural parameters were tested by linear models. Prior to testing, we applied logarithmic transformation to *latency to enter* and square root transformation to *box entrances*. Two series of tests were conducted. First, we tested for the effects of the

oestrous phase and subspecies on female explorative behaviour, and then, we pooled receptive and non-receptive females and tested for the effects of sex and subspecies. The best models were selected by the backward elimination method. Each time we therefore started with the full factorial model (subspecies, phase/sex and their interaction) and proceeded through the additive model (interaction omitted) to the model with a single predictor (subspecies, phase/sex) to the null model (intercept only). *F* tests with the conventional significance level  $p = 0.05$  were used to decide whether the simpler model had significantly lower residual sum of squares and should be preferred. When proceeding from additive to single factor model, *F* statistics was used to decide which predictor should be retained. Sequential Bonferroni correction (Holm 1979) was applied to *P* values as we used the same set of individuals in four independent tests. In addition, we used Akaike weights for all five models (full factorial, additive, subspecies only, phase/sex only and null) to compare their relative merits (Akaike 1974). Akaike weights sum up to unity and indicate the probabilities of competing models to be correct under assumption that the truly correct model is among them (Burnham & Anderson 2004).

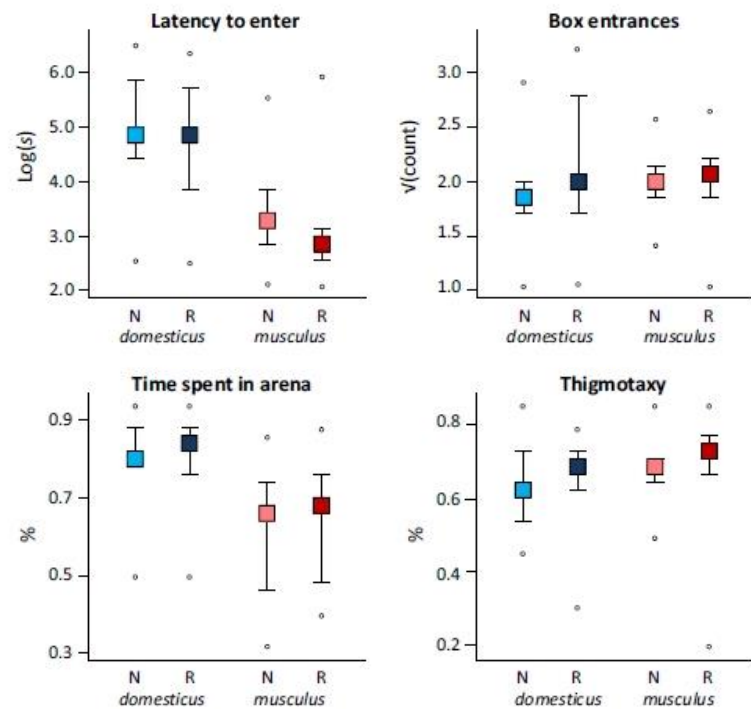
Following these tests, we addressed two potentially confounding factors. First, a disproportion in the number of non-exploring animals could bias results if the causes of no exploration affected also the behavioural traits of interest. We used generalized linear model with binomial error distribution,  $\chi^2$  test and the same backward elimination process as before to decide whether any set of predictors was superior over the null model. Second, there might be an effect of the cross-direction. We had not enough data to model the effect of cross-direction with all its possible interactions, but each time we tested whether residuals of the best model differ between BUSNA  $\times$  STUF and STUF  $\times$  BUSNA or between STRA  $\times$  SCHUNT and SCHUNT  $\times$  STRA. All models were fit in R 3.0.3 (R Core Team 2014).

#### Results

We found no evidence for the oestrous phase to have an impact on female exploration (Table 1, Fig. 1). *Latency to enter* and *time spent in arena* differed significantly between the subspecies ( $p < 0.001$  in both cases), and no predictor had significant effect on the number of *box entrances* and *thigmotaxy*. Females of *M. m. domesticus* hesitated more to enter the arena for the first time (mean *latency to enter* was 121 s compared to 26 s in *M. m. musculus*), but once in place,

**Table 1:** The effect of subspecies and oestrous phase on female exploration: for each variable, we report the preferred model with  $F$  statistics and  $p$  value from test against the null model and Akaike weights for the full set of five possible models (see the text for more details)

	Preferred model	$F$	$p$	Akaike weights				
				Full	Additive	Subspecies	Phase	Null
Latency	Subspecies	32.44	<0.001	0.16	0.43	0.40	0.00	0.00
Box entering	Null	–	–	0.18	0.20	0.19	0.24	0.20
Time in arena	Subspecies	23.36	<0.001	0.12	0.29	0.60	0.00	0.00
Thigmotaxy	Null	–	–	0.06	0.15	0.33	0.15	0.31



**Fig. 1:** Variation among females of different subspecies and reproductive phases (N – non-receptive, R – receptive) in four behavioural parameters in the open-field test. The squares show medians, whiskers upper and lower quartiles and circles range of values.

they spent on average 82% of *time spent in arena*, which is significantly more than 63% observed in *musculus* females. The relative support for the subspecies as the sole predictor was moderate, however, with Akaike weights 0.40 (*latency to enter*) and 0.60 (*time spent in arena*).

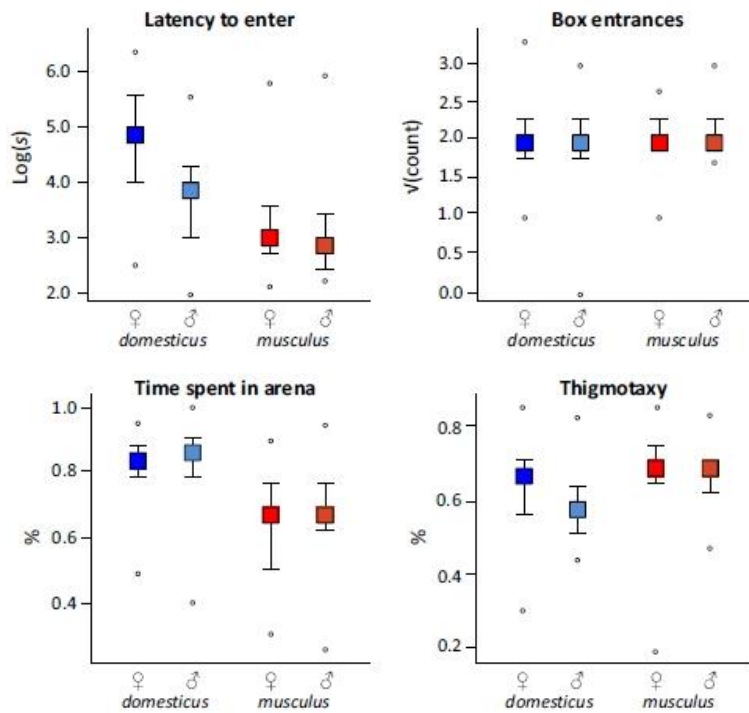
Frequencies of non-exploring animals were not significantly different between the groups considered: the best model with oestrous phase as the sole predictor had  $z = 1.71$  and  $p = 0.090$ . Cross-direction did not explain the significant part of residual variation in any of the four selected models (minimum adjusted  $p$  value was 0.142). When we tested the effects of subspecies and sex (Table 2, Fig. 2), there was no significant difference between both sexes in three of the four tested parameters. The model with subspecies as the sole predictor was preferred in *box entrances* ( $p = 0.037$ ), *time spent in arena* ( $p < 0.001$ ) and *thigmo-*

*taxy* ( $p = 0.010$ ), although the relative support was moderate to low (Akaike weights 0.450, 0.590 and 0.300, respectively). Conversely, in *latency to enter* there was overwhelming evidence (Akaike weight = 0.930) for the full factorial model. Here, the subspecies differed not only in their mean predicted values (85 s in *domesticus*, 27 s in *musculus*) but also in the presence of strong sexual dimorphism within *M. m. domesticus* (predicted values 121 s in females and 39 s in males) which was absent in *M. m. musculus* (26 s predicted for females and 27 s for males). Here, as well as when testing effects of subspecies and oestrous phase, all significant differences were an order of magnitude higher than standard errors of the corresponding means.

No significant difference in frequencies of non-exploring animals was observed: the best model with sex as the sole predictor had  $z = 0.240$  and  $p = 0.810$ .

	Preferred model	F	p	Akaike weights				
				Full	Additive	Subspecies	Sex	Null
Latency	Full	22.62	<0.001	0.93	0.06	0.01	0.00	0.00
Box entering	Subspecies	4.47	0.037	0.10	0.26	0.45	0.07	0.13
Time in arena	Subspecies	29.05	<0.001	0.16	0.25	0.59	0.00	0.00
Thigmotaxy	Subspecies	8.24	0.010	0.21	0.44	0.30	0.03	0.01

**Table 2:** The effect of subspecies and sex on exploration: for each variable, we report the preferred model with *F* statistics and *p* value from tests against the null model and Akaike weights for the full set of five possible models



**Fig. 2:** Variation among subspecies and sexes in four behavioural parameters in the open-field test. Squares show medians, whiskers upper and lower quartiles and circles range of values.

Residuals from the selected models were not significantly different between the opposite crossing directions in any case (minimum adjusted *p* value 0.524).

## Discussion

Explorative activity is important in the evolutionary context as it allows animals to search for potential benefits (food, partners, nesting sites, etc.) while minimizing potential risks (predators, aggressive conspecifics) in novel environment. Behavioural strategies related to environmental threats should be differentially expressed in males and females due to sexual selection (Palanza 2001). This suggestion is based on the fact that in the majority of mammals, it is mostly males who disperse from their natal territory and

compete with other males for mating opportunities and territories. Females, on the other hand, generally have a higher parental investment, and risk taking may thus be more costly for them. As a consequence, females should stay more often in their natal social groups. However, this caution may vary during the different phases of the oestrous cycle, gravidity and lactation (Augustsson et al. 2005).

In this study, we evaluated the potential effects of receptivity on females' exploratory behaviour. We expected that increased exploration and searching for extraterritorial matings during the receptive phase can augment female's reproductive success in a deme, where normally a dominant male monopolizes most of reproduction. Results of paternity analyses in wild mouse populations have demonstrated 20–30% of litters to be sired by more than a single male (Dean et al.



2006; Firman & Simmons 2008; Auclair et al. 2014; Thonhauser et al. 2014). Experiments in semi-natural enclosures revealed extraterritorial matings to be under control of females: 32% of all observed matings were extra-pair, and females travelled to nearby territories whereas males never followed oestrous females beyond the territory borders (Potts et al. 1991). Moreover, according to Zinck & Lima (2013), females revisited males more frequently when in oestrus. Females were also shown to mate indiscriminately with males until approximately 2 h prior to oestrus, a period when females are most receptive to fertilization and then displayed significant preference (Mossman & Drickamer 1996). The extra-deme vagrancies of receptive females are also consistent with results of Potts et al. (1991) who found that females searched for extra-territorial matings preferentially with males possessing dissimilar MHC alleles to their territorial males. However, in this study, we found no significant differences in the pattern of search of an unknown area between putatively receptive and non-receptive females. Thus, female exploratory activity appears to be guided by other motives than mere searching for extra-territorial matings.

Contrary to the widespread notion of mammalian females as the more philopatric sex, we found female mice to display an exploration activity equal, or at least similar to males of the same subspecies. Although, admittedly, exploration *per se* may not necessarily be in contradiction with philopatry (even a highly dispersive and explorative female may still be philopatric), this similarity deserves an explanation. One may argue that the observed elevated exploration rates found in females, reaching equal scores to males, may be in fact triggered by exposure to male odour during oestrus synchronization, while no exposure to female odour was experienced by the tested males. However, in such the case we should expect the 'experienced' females to explore more during the receptive phase, which was not the case in our experiment.

Female mice are known to develop an age-dependent hierarchy within a deme, although less distinct than that found in males (Singleton & Hay 1983; Hurst 1987, 1990). Older females dominate younger ones and are able to suppress their reproduction by several physiological mechanisms such as delay of sexual maturity or inhibition of egg implantation by hormonal suppressors (Lloyd & Christian 1969; Bronson 1979; Drickamer 1985; Hurst 1987), so the females born in later litters do not have a chance to reproduce within a natal deme and are prone to emigration (Gerlach 1990, 1996; Rusu & Krackow 2004).

Taking into account the lifespan of house mice allowing females to deliver and rear no more than 3–4 litters in total (Pelikán 1981), it is essential for a female to reproduce as soon as possible. Moreover, non-breeding females may suffer higher aggression from both territorial males and other breeding females (Hurst 1990). Female mice thus may emigrate from their natal territories to shorten the time to reproduction (King 1983). The tendency to explore and take a risk connected with emigration, rather than pronounced search for extra-deme mating in receptive phase, then may be a strategy of escaping a low hierarchy position and enhancing chances for reproduction. This strategy is supported by the fact that females are more likely to enter a non-native deme and be accepted there than males (Oakeshott 1974; Lidicker 1976; Bronson 1979; Baker 1981; Hurst 1990; Pocock et al. 2005). From this point of view, selective pressures on females to escape from the natal deme are similar to those affecting males, and the female dispersal behaviour thus may be expected under even stronger selection than the male dispersal.

Of the four parameters tested, only *domesticus* females displayed significantly higher *latency to enter* the arena than consubspecific males. This may be explained by higher overall aggression in *M. m. domesticus* populations (Thuesen 1977; van Zegeren & van Oortmessen 1981; Munclinger & Frynta 2000; Frynta et al. 2005; Piálek et al. 2008; Ďureje et al. 2011). Also our data indicate that female explorative strategies, with longer time spent in the arena, lower number of box entrances and longer latency to enter the arena displayed by *domesticus* females in comparison with *musculus*, correspond to the subspecies-specific differences previously described in wild and wild-derived inbred males (Hiadlovská et al. 2013) and additionally confirmed in this study on consubspecific F1 hybrid males. These results consistently show different exploratory strategies in the two subspecies. *M. m. domesticus* mice waver longer over entering an unfamiliar area when compared to their *M. m. musculus* counterparts, suggesting a more careful risk assessment, extremely pronounced in *M. m. domesticus* females. However, once inside the open area, the former subspecies spends a longer time in exploration, with the less frequent retreats to the shelter. According to what was previously described in males (Hiadlovská et al. 2013), none of the two subspecies can be labelled as more explorative. Rather, both subspecies adopt different exploratory strategies reflecting overall ontogenetic, physiological and social arrangements that may differ in both subspecies (Hiadlovská et al. 2015). Although it is premature to speculate

about impacts of different explorative strategies of both sexes on the population dynamics of the two mouse subspecies as well as on their secondary contact, our results also suggest that females may have sufficient motivation for emigration and dispersal from the natal deme. Given their higher chances to enter non-native demes, the role of female dispersal in interdemic gene flow cannot be neglected. We are fully aware that it is difficult to directly connect the exploration parameters scored in this study either with the propensity to disperse or with migration rate (let alone dispersal expressed as the distance between parents and their offspring). On the other hand, in the house mouse an association between exploratory behaviour and dispersal was described by several authors (e.g. Palanza et al. 2001; Krackow 2003; Augustsson et al. 2005; Pocock et al. 2005; Rusu & Krackow 2005; Crusio 2013).

### Conclusions

Regardless of potential pitfalls of extrapolating our results to dispersal and its role in gene flow, we can conclude that explorative behaviour of female mice is not noticeably influenced by their oestrous cycle. Moreover, this behaviour is similar in propensity, magnitude and character to those of males, which are commonly considered as the more dispersive sex. Finally, we showed that females of *M. m. musculus* and *M. m. domesticus* follow the same subspecies-specific strategies as do males, with the pronounced sexual dimorphism in the latency to enter new area in *domesticus* females. Overall, our results suggest that females can have equal potential to explore new areas as males, and their exploratory repertoire deserves further attention.

### Acknowledgements

We are grateful to Jaroslav Piálek for providing mice from wild-derived inbred strains used as parental sources for our F1 consubspecific crosses. We thank Jamie C. Wintemitz for comments and language correction; both anonymous reviewers are also acknowledged for their comments and suggestions on an earlier version of the manuscript. We are also grateful to Jana Dosoudilová and Jana Růžicková for their help with recording the experiments, video analyses and maintaining animals in our breeding facility. This research was supported by the Czech Science Foundation grant P506-11-1792 (to MM and BVB) and European social fund ESF CZ.1.07/2.3.00/35.0026.

### Literature Cited

- Akaike, H. 1974: A new look at the statistical model identification. *IEEE Trans. Automatic Control* **19**, 716–723.
- Allen, E. 1922: The oestrous cycle in the mouse. *Am. J. Anat.* **30**, 297–371.
- Auclair, Y., König, B. & Lindholm, A. K. 2014: Socially mediated polyandry: a new benefit of communal nesting in mammals. *Behav. Ecol.* **25**, 1467–1473.
- Augustsson, H., Dahlborn, K. & Meyerson, B. J. 2005: Exploration and risk assessment in female wild house mice (*Mus musculus musculus*) and two laboratory strains. *Physiol. Behav.* **84**, 265–277.
- Baker, A. E. M. 1981: Gene flow in house mice: behaviour in a population cage. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **8**, 83–90.
- Bímová, B., Karn, R. C. & Piálek, J. 2005: The role of salivary androgen-binding protein in reproductive isolation between two subspecies of house mouse: *Mus musculus musculus* and *Mus musculus domesticus*. *Biol. J. Linn. Soc.* **84**, 349–361.
- Bonhomme, F. & Searle, J. B. 2012: House mouse phylogeography. In: *Evolution of the House Mouse*. (Macholán, M., Baird, S. J. E., Munclinger, P. & Piálek, J., eds). Cambridge University Press, Cambridge, pp. 334–372.
- Bowler, D. E. & Benton, T. G. 2005: Causes and consequences of animal dispersal strategies: relating individual behaviour to spatial dynamics. *Biol. Rev.* **80**, 205–225.
- Bronson, F. H. 1979: The reproductive ecology of the house mouse. *Q. Rev. Biol.* **54**, 265–299.
- Brown, R. Z. 1953: Social behavior, reproduction, and population changes in the house mouse (*Mus Musculus L.*). *Ecol. Monogr.* **23**, 218–240.
- Bullock, J. M., Kenward, R. E. & Hails, R. 2002: *Dispersal Ecology*. Blackwell Science, Oxford.
- Burnham, K. P. & Anderson, D. R. 2004: Multimodel inference: understanding AIC and BIC in Model Selection. *Sociol. Meth. Res.* **33**, 261–304.
- Byers, S. L., Wiles, M. V., Dunn, S. L. & Taft, R. A. 2012: Mouse estrous cycle identification tool and images. *PLoS One* **7**, e35538.
- Clarke, A. L., Saether, B. E. & Roskaft, E. 1997: Sex biases in avian dispersal: a reappraisal. *Oikos* **79**: 429–438.
- Clobert, J., Nichols, J. D., Danchin, E. & Dhondt, A. 2001: *Dispersal*. Oxford University Press, Oxford.
- Clobert, J., Baguette, M., Benton, T. G. & Bullock, J. M. 2012: *Dispersal Ecology and Evolution*. Oxford University Press, Oxford.
- Crowcroft, P. 1955: Territoriality in wild house mice, *Mus musculus L.* *J. Mammal.* **36**, 299–301.
- Crusio, W. E. 2013: The genetics of exploratory behavior. In: *Behavioral Genetics of the House Mouse*. Vol. 1 (Crusio, W. E., Sluyter, F., Gerlai, R. T. & Pietropaolo, S. eds). Behavioral Genetics of the Mouse, Volume 1,

- Genetics of Behavioral Phenotypes. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 148–154.
- Dean, M., Ardlie, G. & Nachman, M. 2006: The frequency of multiple paternity suggests that sperm competition is common in house mice (*Mus domesticus*). *Mol. Ecol.* **15**, 4141–4151.
- Debeffe, L., Morellet, N., Cargnelutti, B., Lourtet, B., Coulon, A., Gaillard, J. M., Bon, R. & Hewison, A. J. M. 2013: Exploration as a key component of natal dispersal: dispersers explore more than philopatric individuals in roe deer. *Anim. Behav.* **86**, 143–151.
- DeFries, J. C. & McClean, G. E. 1970: Social dominance and Darwinian fitness in the laboratory mouse. *Am. Nat.* **104**, 408–411.
- Dingemanse, N. J., Both, C., van Noordwijk, A. J., Rutten, A. L. & Drent, P. J. 2003: Natal dispersal and personalities in great tits. (*Parus major*). *Proc. R. Soc. Lond. B* **270**, 741–747.
- Drickamer, L. C. 1985: Social dominance, reproduction, and release of the maturation-delaying chemosignal in the urine of female house mice (*Mus musculus*). *J. Comp. Psychol.* **99**, 411–419.
- Đureje, L., Vošlajerová Bímová, B. & Piálek, J. 2011: No postnatal maternal effect on male aggressiveness in wild-derived strains of house mice. *Aggress. Behav.* **35**, 48–55.
- Firman, R. C. & Simmons, L. W. 2008: The frequency of multiple paternity predicts variation in testes size among island populations of house mice. *J. Evol. Biol.* **21**, 1524–1533.
- Frynta, D., Slábová, M., Váchová, H., Volfová, R. & Munclinger, P. 2005: Aggression and commensalism in house mouse: a comparative study across Europe and near east. *Aggress. Behav.* **31**, 283–293.
- Ganem, G. 2012: Behaviour, ecology and speciation in the house mouse. In: *Evolution of the House Mouse*. Cambridge Studies in Morphology and Molecules: New Paradigms Inevolutionary Biology. (Macholán, M., Baird, S. J. E., Munclinger, P. & Piálek, J. eds). Cambridge University Press, Cambridge, pp. 373–406.
- Gerlach, G. 1990: Dispersal mechanism in a captive wild house mouse population (*Mus domesticus* Ruddy). *Biol. J. Linn. Soc.* **41**, 271–277.
- Gerlach, G. 1996: Emigration mechanisms in feral mice - a laboratory investigation of the influence of social structure, population density, and aggression. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **39**, 159–170.
- Greenwood, P. J. 1980: Mating systems, philopatry and dispersal in birds and mammals. *Anim. Behav.* **28**, 1140–1162.
- Hiadlovská, Z., Strnadová, M., Macholán, M. & Vošlajerová Bímová, B. 2012: Is water really a barrier for the house mouse? A comparative study of two mouse subspecies *Folia Zool.* **61**, 319–329.
- Hiadlovská, Z., Vošlajerová Bímová, B., Mikula, O., Piálek, J. & Macholán, M. 2013: Transgressive segregation in a behavioural trait? Explorative strategies in two house mouse subspecies and their hybrids. *Biol. J. Linn. Soc.* **108**, 225–235.
- Hiadlovská, Z., Macholán, M., Mikula, O. & Vošlajerová Bímová, B. 2014: The meek inherit the earth: less aggressive wild mice are more successful in challenging situations. *Biol. J. Linn. Soc.* **113**, 310–319.
- Hiadlovská, Z., Mikula, O., Macholán, M., Hamplová, P., Vošlajerová Bímová, B. & Daniszová, K. 2015: Shaking the myth: body mass, aggression, steroid hormones, and social dominance in wild house mouse. *Gen. Comp. Endocrinol.* **223**, 16–26.
- Holm, S. 1979: A simple sequentially rejective multiple test procedure. *Scan. J. Stat.* **6**, 65–70.
- Hurst, J. L. 1987: Behavioral variation in wild house mice *Mus domesticus* Ruddy - a quantitative assessment of female social organization. *Anim. Behav.* **35**, 1846–1857.
- Hurst, J. L. 1990: Urine marking in populations of wild house mice *Mus domesticus* Ruddy. III. Communication between the sexes. *Anim. Behav.* **40**, 233–243.
- King, J. A. 1983: Seasonal dispersal in a seminatural population of *Peromyscus maniculatus*. *Can. J. Zool.* **61**, 2740–2750.
- König, B. & Linholm, A. K. 2012: The complex social environment of female house mice (*Mus domesticus*). In: *Evolution of the House Mouse*. Cambridge Studies in Morphology and Molecules: New Paradigms Inevolutionary Biology. (Macholán, M., Baird, S. J. E., Munclinger, P. & Piálek, J. eds). Cambridge University Press, Cambridge, pp. 114–134.
- Krackow, S. 2003: Motivational and heritable determinants of dispersal latency in wild male house mouse (*Mus musculus musculus*). *Ethology* **109**, 671–689.
- Latham, N. & Mason, G. 2004: From house mouse to mouse house: the behavioural biology of free-living *Mus musculus* and its implication in the laboratory. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **86**, 261–289.
- Lidicker, W. Z. Jr 1976: Social behaviour and density regulation in house mice living in large enclosures. *J. Anim. Ecol.* **45**, 677–679.
- Lloyd, J. A. & Christian, J. J. 1969: Reproductive activity of individual females: three experimental freely-growing populations of house mouse (*Mus musculus* L.). *J. Mammal.* **50**, 49–59.
- Meziane, H., Ouagazzal, O. M., Aubert, L., Wietzych, M. & Krezel, W. 2007: Estrous cycle effects on behavior of C57BL/6J and BALB/cByJ female mice: implications for phenotyping strategies. *Genes Brain Behav.* **6**, 192–200.
- Montero, I., Teschke, M. & Tautz, D. 2013: Paternal imprinting of mating preferences between natural populations of house mice (*Mus musculus domesticus*). *Mol. Ecol.* **22**, 2549–2562.
- Mossman, C. A. & Drickamer, L. C. 1996: Odor preferences of female house mice (*Mus domesticus*) in seminatural enclosures. *J. Comp. Psychol.* **110**, 131–138.

- Munclinger, P. & Frynta, D. 2000: Social interactions within and between two distant populations of house mouse. *Folia Zool.* **49**, 1–6.
- Myers, J. H. 1974: Genetic and social structure of feral house mouse populations on Grizzly Island, California. *Ecol.* **55**, 747–759.
- Oakeshott, J. G. 1974: Social dominance, aggressiveness and mating success among male house mice (*Mus musculus*). *Oecologia* **15**, 143–158.
- Palanza, P. 2001: Animal models of anxiety and depression: how are females different? *Neurosci. Biobehav. Rev.* **25**, 219–233.
- Palanza, P., Morley-Fletcher, S. & Laviola, G. 2001: Novelty seeking in periadolescent mice: sex differences and influence of intrauterine position. *Physiol. Behav.* **72**, 255–262.
- Pelikán, J. 1981: Patterns of reproduction in the house mouse. *Symp. Zool. Soc. Lond.* **47**, 205–229.
- Perrin, N. & Mazalov, V. 2000: Local competition, inbreeding, and the evolution of sex-biased dispersal. *Am. Nat.* **155**, 116–127.
- Piálek, J., Vyskočilová, M., Bímová, B., Havelková, D., Piálková, J., Dufková, P., Bencová, V., Ďureje, L., Albrecht, T., Hauffe, H. C., Macholán, M., Munclinger, P., Strochová, R., Zajícová, A., Holá, V., Gregorová, S. & Forejt, J. 2008: Development of unique house mouse resources suitable for evolutionary studies of speciation. *Heredity* **99**, 34–44.
- Pocock, M. J. O., Hauffe, H. C. & Searle, J. B. 2005: Dispersal in house mice. *Biol. J. Linn. Soc.* **84**, 565–583.
- Potts, W. K., Manning, C. J. & Wakeland, E. K. 1991: Mating patterns in seminatural populations of mice influenced by MHC genotype. *Nature* **352**, 619–621.
- Prugnolle, F. & de Meeus, T. 2002: Inferring sex-biased dispersal from population genetic tools: a review. *Heredity* **88**, 161–165.
- Pusey, A. 1987: Sex-biased dispersal and inbreeding avoidance in birds and mammals. *Trends Ecol. Evol.* **2**, 295–299.
- R Core team. 2014: R: A Language and Environment for Statistical Computing. R. Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Reimer, J. D. & Petras, M. L. 1967: Breeding structure of the house mouse, *Mus musculus* in a population cage. *J. Mammal.* **48**, 88–99.
- Roper, T. J., Ostler, J. R. & Conradt, L. 2003: The process of dispersal in badgers *Meles meles*. *Mammal Rev.* **33**, 314–318.
- Rusu, A. S. & Krackow, S. 2004: Kin-preferential cooperation, dominance-dependent reproductive skew, and competition for mates in communally nesting female house mice. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **56**, 298–305.
- Rusu, A. S. & Krackow, S. 2005: Agonistic onset marks emotional changes and dispersal propensity in wild house mouse males (*Mus domesticus*). *J. Comp. Psychol.* **119**, 58–66.
- Samelius, G., Andrén, H., Liberg, O., Linnell, J. D. C., Odden, J., Ahlqvist, P., Segerström, P. & Sköld, K. 2011: Spatial and temporal variation in natal dispersal by Eurasian lynx in Scandinavia. *J. Zool.* **286**, 120–130.
- Singleton, G. R. 1983: The social and genetic structure of a natural colony of house mice, *Mus musculus*, at Healesville wildlife sanctuary. *Aust. J. Zool.* **31**, 155–166.
- Singleton, G. R. & Hay, D. A. 1983: The effect of social organization on reproduction success and gene flow in colonies of wild house mice, *Mus musculus*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **12**, 49–56.
- Smadja, C., Catalan, J. & Ganem, G. 2004: Strong premating divergence in a unimodal hybrid zone between two subspecies of the house mouse. *J. Evol. Biol.* **17**, 165–176.
- Stenseth, N. C. & Lidicker, W. Z. 1992: Animal Dispersal: Small Mammals as a Model. Chapman & Hall, London, pp. 1–240.
- Strecker, R. L. 1954: Regulatory mechanics in house mouse populations: the effect of limited food supply on an unconfined population. *Ecology* **35**, 249–253.
- Thonhauser, K. E., Raveh, S., Hettyey, A., Beissmann, H. & Penn, D. J. 2013: Why do female mice mate with multiple males? *Behav. Ecol. Sociobiol.* **67**, 1961–1970.
- Thonhauser, K. E., Thoß, M., Musolf, K., Klaus, T. & Penn, D. J. 2014: Multiple paternity in wild house mice (*Mus musculus musculus*): effects on offspring genetic diversity and body mass. *Ecol. Evol.* **4**, 200–209.
- Thuesen, P. 1977: A comparison of the agonistic behaviour of *Mus musculus musculus* L. and *Mus musculus domesticus* Ruddy (Mammalia, Rodentia). *Vidensk. Medd. Fra. Dansk. Naturh. Foren.* **140**, 117–128.
- Vošlajerová Bímová, B., Macholán, M., Baird, S. J. E., Munclinger, P., Dufková, P., Laukaitis, C. M., Karn, R. C., Luzynski, K., Tucker, P. & Piálek, J. 2011: Reinforcement selection acting on the European house mouse hybrid zone. *Mol. Ecol.* **20**, 2403–2424.
- Walkowa, W., Adamczyk, K. & Chełkowska, H. 1989: Characteristics of migrants in a free-living population of the house mouse. *Acta Theriol.* **34**, 305–313.
- Wolff, R. J. 1985: Mating behaviour and female choice: Their relation to social structure in wild caught house mice (*Mus musculus*) housed in semi-natural environments. *J. Zool.* **207**, 43–51.
- van Zegeren, K. 1980: Variation in aggressiveness and the regulation of numbers in house mouse population. *Neth. J. Zool.* **30**, 635–770.
- van Zegeren, K. & van Oortmerssen, G. A. 1981: Frontier disputes between the West- and East-European house mouse in Schleswig-Holstein, West Germany. *Z. Säugetierkd.* **46**, 363–369.
- Zinck, L. & Lima, S. Q. 2013: Mate choice in *Mus musculus* is relative and dependent on the estrous state. *PLoS One* **8**: e66064.