

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká fakulta

Faktory ovlivňující cirkadiánní aktivitu podzemních savců

Bakalářská práce

Kateřina Rýpalová

Školitel: Doc. Mgr. Radim Šumbera, Ph.D.

České Budějovice 2013

Rýpalová, K., 2013: Faktory ovlivňující cirkadiánní aktivitu podzemních savců [Factors which are influencing circadian activity of subterranean rodents. Bc. Thesis, in Czech.] –39 p., Faculty of Science, Univerzity of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Annotation:

Circadian clocks are found in organisms from bacteria to mammals. Research of circadian activity patterns in subterranean rodents signify light as zeitgeber. However, recent studies indicate that at least some subterranean rodent's circadian clock could be synchronized by soil temperature. In my bachelor thesis I reviewed literature on circadian activity patterns of the subterranean rodents.

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím parametrů 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.

V Českých Budějovicích, 24. dubna 2013

.....

Kateřina Rýpalová

Poděkování:

Tímto bych ráda poděkovala svému školiteli, doc. Mgr. Radimu Šumberovi, za jeho nekonečnou trpělivost a ochotu při psaní této práce. Mé velké díky patří také Honzovi Okrouhlíkovi, bez kterého bych nejen v laboratoři po většinu času tápala v temnotách.

Obsah

1. Úvod.....	5
2. Cirkadiánní rytmy – biologické hodiny a jejich funkce.....	5
3. Faktory ovlivňující cirkadiánní rytmy	7
3.1. Světlo jako nejdůležitější zeitgeber	8
3.1.1 Typy aktivity	9
3.2. Nesvětelné faktory ovlivňující cirkadiánní aktivitu	10
3.2.1 Potrava	10
3.2.3 Pohybová aktivita	12
3.2.4 Teplota	13
4. Unikátnost podzemního prostředí	13
4.1. Život v podzemí	14
5. Charakteristika savců s podzemní aktivitou	14
5.1. Zrak a vnímání světla u podzemních savců	15
6. Cirkadiánní rytmy savců s podzemní aktivitou.....	16
6.1. Typy aktivity savců s podzemní aktivitou.....	16
6.2. Cirkadiánní aktivita savců s podzemní aktivitou a vliv světla	17
6.3. Porovnání aktivity savců s podzemní aktivitou v přírodě a v laboratoři.....	24
6.4. Cirkadiánní aktivita savců s podzemní aktivitou a vliv nesvětelných <i>zeitgebers</i> – sociální interakce	25
6.5. Cirkadiánní aktivita savců s podzemní aktivitou a vliv nesvětelných <i>zeitgebers</i> - teplota.....	26
7. Návrh experimentu	28
7.1. Aparatura	28
7.2. Pokusná místnost	29
7.3. Testovaný druh.....	29
7.4. Design pokusu.....	30
7.5. Dosavadní komplikace	32
8. Použitá literatura	33

1. Úvod

Prakticky všechny organismy na Zemi, snad mimo těch žijících hluboko v oceánu či jeskyních, jsou každý den vystaveny cyklickým změnám prostředí. Reakcí na tyto změny byl vznik biologických rytmů. Organismy vykazují cyklické změny nejen pohybové aktivity, ale i fyziologických procesů (Gattermann a spol., 2008). Tyto biorytmy představují adaptaci na cyklické změny prostředí, ať už jde o střídání dne a noci nebo ročních období. Biorytmy jsou evolučně velmi staré a významné. Mimo jiné umožnily zvýšení biodiverzity, protože díky nim je možno konkrétní potravní niku rozdělit i časově. Biorytmy jsou pozorovány v jednotlivých buňkách i celém organismu (Kronfeld-Schor a Dayan, 2008).

Biologické rytmy lze podle periody rozdělit na několik typů. Biorytmus, který je endogenní a přizpůsobuje se střídání dne a noci, kdy jsou nejvíce patrné změny teploty a intenzity světla, nazýváme cirkadiánní rytmus. Ten zahrnuje změny pohybové aktivity, tělesné teploty nebo konzumace potravy. Dalším rytmem je ultradiánní rytmus, který vykazuje kratší periodu, než cirkadiánní rytmus – méně než 20 hodin - a je charakteristický pro fáze spánku nebo příjem potravy. Naopak infradiánní rytmus má periodou delší než rytmus cirkadiánní - 28 hodin a více. Patří sem cykly línání, hibernace, týdenní cykly nebo cirkalunární rytmus, zahrnující změny řízené fázemi měsíce. Řadíme sem i cirkanuální rytmus s periodou jeden rok (<http://www.circadian.org>). Biologické rytmy se u savců vyvíjejí ještě před narozením. Jejich správné fungování ve své podstatě může zvyšovat fitness jedince (Urs a Eichele, 2003).

Nejdůležitějším z těchto rytmů je cirkadiánní rytmus, neboť cyklické střídání světla a tmy má přímý dopad na chování téměř všech organismů na Zemi.

2. Cirkadiánní rytmy – biologické hodiny a jejich funkce

Název cirkadiánních hodin je odvozen z latinského „circa“, což znamená okolo a „dian“ – označení pro den. Leloup (2004) uvádí, že se jedná o trvalé kmitání biologických funkcí, které nastává spontánně s periodou kolem 24 hodin. Délka oscilace - neboli perioda - je u každého jedince vrozená a individuální, u zvířat se pohybuje obvykle mezi 23 až 26 hodinami. Délka této periody je neustále upravována pomocí exogenních signálů, které mohou být nejrůznějšího charakteru, nejčastěji se jedná o světlo, ale také příjem potravy

nebo změnu teploty. Tyto synchronizátory nazýváme *zeitgebers*. Cirkadiánní rytmy zahrnují změny mozkové aktivity, tělesné teploty, hormonální produkce nebo buněčné regenerace.

U živočichů můžeme během evoluce pozorovat tendenci k centralizaci umístění biologických hodin, které cirkadiánní rytmy řídí. U savců se biologické hodiny nacházejí v suprachiasmatických jádrech (SCN) v předním hypotalamu. Tato jádra jsou párová a každé z nich obsahuje asi osm tisíc těl neuronů (Herzog a Tosini, 2001).

V těle savců nejsou pouze jedny biologické hodiny. Výzkumy prokázaly, že biologické hodiny v mozku jsou sice hlavní, ale v mnoha dalších orgánech se nacházejí vedlejší hodiny (*peripheral oscillators*), které vykazují vlastní endogenní rytmus (Schibler a spol., 2002). Cirkadiánní hodiny v mozku fungují jako seřizovač pro tyto vedlejší hodiny, ale přímo je neřídí, takže periferní hodiny mohou pracovat zcela samostatně. Jejich působení se projeví například při nedostatku potravy, kdy jsou hlavní hodiny stále synchronizovány světelným cyklem, ale rytmus periferních hodin se přizpůsobí dostupnosti potravy (Schibler a spol., 2003). Je nutné podotknout, že vedlejší hodiny mají v různých tkáních různé funkce, například v játrech kódují proteiny, které souvisí se zpracováním potravy (Akhtar a spol., 2002). Přesto pokud dojde k eliminaci SCN, zastaví se veškeré cirkadiánní rytmy, jako pohybová aktivita, produkce melatoninu, prolaktinu nebo růstového hormonu (Meyer-Bernstein a spol., 1999). Jelikož vedlejší hodiny nejsou citlivé na světlo, jsou místem synchronizace pomocí nesvětelných *zeitgebers*.

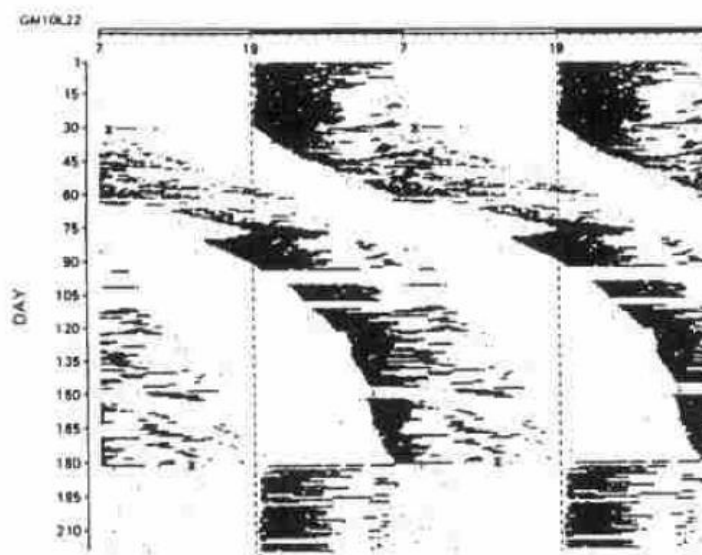
Hlavní hodiny přijímají signál z vnějšího prostředí pomocí tzv. input systému. Samotná cesta vnějšího signálu však ještě není zcela objasněna. Zmíněný proces (pro světelný *zeitgeber*) zahrnuje u obratlovců sítnici a fotoropigment melanopsin. Avšak díky studii, která proběhla na myších, víme, že i přes odstranění tyčinek a čípků myši dál reagovaly na změnu světelné fáze (Freedman a spol., 1999). Další studie dokazuje, že existuje i jiný fotoreceptor, respektive, že světelný signál může být zachycen na sítnicových gangliových axonech, které se napojují přímo na SCN (Berson a spol., 2002). Gangliové buňky ale neobsahují rhodopsin ani jinou látku, která by mohla fungovat jako fotoreceptor. Nedávno v nich však byly objeveny fotoreceptory cryptochromy, které jsou citlivé na modré světlo a nacházejí se také u rostlin (Miyamoto a Sancar, 1998). Po přijetí signálu se vytvoří vzruch díky tzv. output systému, ten jej přenesení do ostatních tkání (Urs a Eichele, 2003).

Tento systém vnímání se pravděpodobně vyvinul, aby se organismy dokázaly snadněji přizpůsobit 24 hodinovému rytmu v přirozeném prostředí. Díky němu došlo ke

snížení mezidruhové kompetice, usnadnění hledání potravy, sexuálního partnera nebo omezení predace. Díky rozlišení organismů na denní, noční a soumravné může více druhů obývat stejnou niku (Sharma, 2003).

3. Faktory ovlivňující cirkadiánní rytmy

Biologické hodiny, a tedy i cirkadiánní rytmus, jsou endogenní. Jejich vnitřní perioda τ (tau), která je druhově specifická, se nerovná přesně 24 hodinám. V prostředí s konstantními vnějšími podmínkami dochází k volnoběhu (*free-running*) organismu. Pokud držíme hlodavce v konstantní tmě i ostatních podmínkách, vnitřní perioda (tau) biologických hodin není synchronizována s vnějším prostředím. Organismus je tak nucen fungovat s vlastní, geneticky danou periodou (Urs a Eichele, 2003). Z toho důvodu se biologické rytmy sledovaného živočicha začnou lišit od rytmů cyklických změn vnějšího prostředí, dochází k předbíhání nebo naopak opoždování rytmu. Díky absenci synchronizátoru dochází také k celkovému posunu rytmu. Aby ke zmíněnému posunu nedocházelo, jsou cirkadiánní rytmy ovlivňovány vnějším prostředím pomocí časovačů - *zeitgebers*. Tyto časovače mohou být světelné i nesevětelné. Díky této synchronizaci délka τ odpovídá periodě vnějšího prostředí.



Obr. 1: *Free-running* syrského křečka (30-180. den) a následná synchronizace se světlem.

Na Obr.1 je znázorněn průběh aktivity křečka (Gattermann a spol., 1997). Horní lišta robrazuje období světla (7.00-19.00h) a tmy (19.00-7.00h). Do 30. dne se po 12 h střídaly

fáze světla a tmy. Od 30. do 180. dne probíhá *free-running* v konstantních podmínkách. Během volnoběhu je patrný posun aktivity, křeček vykazuje vnitřní periodu delší než 24h.

3.1. Světlo jako nejdůležitější zeitgeber

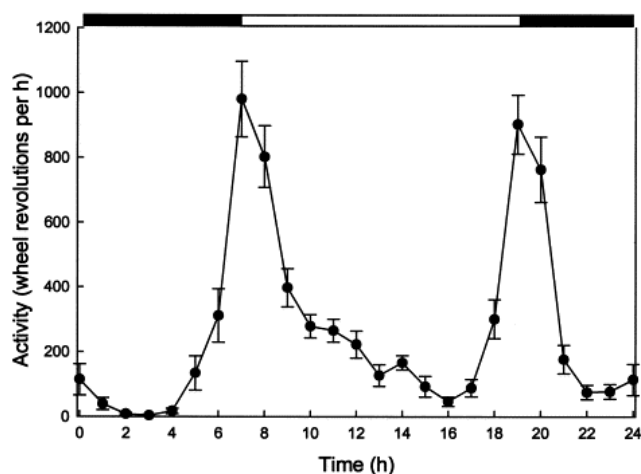
Již bylo řečeno, že nejdůležitějším časovačem cirkadiálních rytmů většiny organismů je bezesporu světlo. Některé výzkumy naznačují, že tato adaptace se mohla vyvinout jako ochrana před UV zářením ze slunce, čemuž nasvědčují výzkumy autorů Nikaido a spol. (2000). U jednobuněčné řasy *Chlamydomonas reinhardtii* probíhají fáze, které jsou citlivé na světlo, např. replikace DNA, pouze v noci.

Ačkoliv na funkci cirkadiálních hodin mají vliv i ostatní faktory, je zřejmé, že světlo hraje u většiny organismů při resetování endogenních cyklů majoritní roli (Favreau a spol., 2009). To, zda dojde k synchronizaci rytmů, nebo k fázovému posunu - předběhnutí či zpoždění - záleží na době, ve které je organismus světelnému impulzu vystaven. Jestliže má dojít k ovlivnění fáze, kdy je organismus aktivní, musí tedy světelný pulz přijít v určitou dobu. Pokud je denní zvíře vystaveno světelnému impulzu v době subjektivního dne, to znamená za světla, jeho cirkadiální rytmus není nijak ovlivněn. Naopak po čas subjektivní noci pulz může způsobit posun aktivity. Zvíře tudíž může začít aktivovat dříve – pokud bylo pulzu vystaveno ještě před východem slunce a naopak se zpožděním, byl-li pulz použit krátce po setmění (Favreau a spol., 2009).

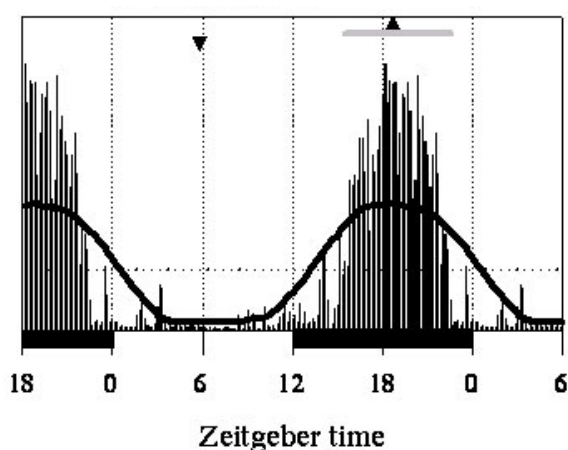
Podle nedávných výzkumů má stejný efekt jako světelný pulz během tmavé fáze i pulz tmy během světelné fáze. Například Canal (2005) vystavil křečky několika pulzům tmy během světelné fáze dne. Středně dlouhé (3 h) a dlouhé (9 h) pulzy ovlivnily cirkadiální aktivitu zvířat, a fázový posun se prodlužoval v závislosti na délce trvání pulzu. Podle Gorman a spol. (2003) má na velikost posunu vliv také intenzita světla. U některých živočichů dochází při vystavení určitým podmínkám prostředí k rozdělení (*splitting*). Jsou-li například křecci vystaveni delší dobu působení konstantního světla, jejich aktivita se rozpadne na dvě části, přičemž obě části běží s vlastní endogenní periodou (τ), která se ovšem později sjednotí. Tento fakt podporuje existenci nejen hlavního ale i periferních oscilátorů. U nočních živočichů je toto „štěpení“ rytmů usnadněné pomocí zvýšení svítivosti, u denních je to naopak snížením intenzity světla (Gorman a spol., 2003).

3.1.1 Typy aktivity

Dalším důsledkem synchronizace světlem je specializace organismů na aktivitu v určité fázi dne. Denní živočichové jsou nejvíce aktivní ve dne, noční živočichové v noci. Soumrační živočichové jsou aktivní brzy ráno a časně večer a jsou zástupci organismů s bifázickou aktivitou (Obr. 2), tedy aktivují dvakrát denně. Dalším typem je aktivita monofázická – s jedním vrcholem aktivity (Obr. 3). Příkladem takového organismu je člověk. Posledním druhem aktivity je polyfázická aktivita, jejíž představitelé aktivují mnohokrát v kratších časových úsecích, jako třeba někteří hrabošovíti (Jelínek a Zicháček, 2004). Někteří jedinci jsou schopni přecházet například mezi polyfázickou a monofázickou aktivitou na základě změny teploty prostředí (Oster a spol., 2002).



Obr. 2: Znáornění průběhu bifázické aktivity *Arvicantis ansorgei* (Slotten a spol., 2002).



Obr. 3: Znáornění průběhu monofázické aktivity *Octodon bridgesi* (Ocampo-Garcés a spol., 2006).

3.2. Nesvětelné faktory ovlivňující cirkadiánní aktivitu

I nesvětelné synchronizátory mají potenciál ovlivnit biologické hodiny, přestože jejich účinky mohou být vlivem světla maskovány. Mezi nesvětelné *zeitgebers* patří např. potrava, sociální interakce, pohybová aktivita či teplota.

3.2.1 Potrava

Jelikož periferní hodiny nejsou citlivé na světlo, musí existovat nějaký jiný faktor, který je řídí. Výzkum Schiblera a spol., (2003) naznačuje, že periferní hodiny mohou být synchronizovány například podle časového rozvržení stravovacích návyků. Tělo se musí na příjem potravy a vody připravit, je tedy logické, že budou periferní hodiny na příjem potravy citlivé (Mendoza, 2006).

Mendoza (2006) uvádí, že periferní oscilátory jsou silně ovládány potravní nabídkou. Zároveň však jídlo a jeho motivační hodnota ovlivňuje i hlavní oscilátory v CSN. Chované zvíře může zvyšovat svou aktivitu během doby, kdy obvykle dostávalo potravu, což je doprovázeno změnami tělní teploty i mnoha dalších metabolických parametrů (Mendoza 2006). Nedávné studie naznačují, že pokud je u potkanů potravní deprivace spojena s nízkokalorickou dietou, dochází k ovlivnění pohybové aktivity související se světelnou fází. Snížení citlivosti CNS na světlo bylo prokázáno také u zvířat, která trpěla nedostatkem glukózy. Krysy, držené v neustálé tmě, jsou schopny sladit své pohybové rytmy dobou, kdy je jim podávána preferovaná potrava (Mendoza a spol. 2005). Pokud noční hlodavci v laboratoři dostávají potravu pouze během dne, vykazují denní aktivitu. Zároveň omezení potravy způsobí snížení jejího příjmu, což může vyústit v noční hypotermii. Myši v této situaci vykazují zvýšenou aktivitu v očekávání jídla. Tato aktivita je považována za výstup tzv. *food-entrainable oscillator* (FeO), který je ovlivňován dostupností potravy a ovlivňuje i behaviorální rytmy. V těchto podmínkách FeO řídí aktivitu nezávisle na suprachiasmatických jádrech. Bohužel i přes intenzivní výzkum nebyla anatomická lokalizace tohoto oscilátoru dosud objasněna. Jakmile mají testovaná zvířata neomezený přístup k potravě, dochází k návratu k nočnímu způsobu života (Hut a spol., 2011). Přesunutí aktivity do jiné fáze dne může být také odpovědí za zvýšenou míru predace (Gattermann a spol., 2008; Hoogenboom a spol., 1984).

Podle studie Mendoza (2012) nízkokalorické krmení (HF – *hypocaloric feeding*) ovlivňuje cirkadiánní rytmy nejen u nočních, ale i u denních živočichů. Ve studii provedené na myši saudské (*Arvicanthis ansorgei*) dokládá, že nízkokalorické krmení při konstantní tmě ovlivňuje biologické rytmy, což se neděje u obvykle podávaného krmení. Nízkokalorické krmení vedlo při střídání světla a tmy k posunu pohybové aktivity. Tato studie ukazuje, že k ovlivnění cirkadiánních hodin může docházet u denních savců jiným způsobem, než u nočních. Zdá se, že důležitou roli zde hraje serotonin (5-HT), který je produkován díky nadměrné pohybové aktivitě, způsobené očekáváním jídla. Zřejmě se jedná o důležitý neurotransmitter, který se u tohoto hlodavce podílí na ovlivnění rytmů při nízkokalorickém krmení.

3.2.2 Sociální interakce

Dalším faktorem, který má schopnost ovlivňovat cirkadiánní aktivitu, jsou sociální interakce. Tato skutečnost byla dlouhou dobu opomíjena, protože studium sociálních interakcí je značně složité. Ačkoliv mají sociální interakce schopnost ovlivnit cirkadiánní hodiny, není pro živočichy, kteří jsou vystaveni střídání dne a noci, faktorem základním, ale jedná se pouze o vedlejší faktor (Favreau a spol., 2009, Kleinknecht, 1985).

Téměř neměnné prostředí představují jeskyně, kde je vlhkost, světelné podmínky i teplota takřka konstantní. Přesto netopýři, kteří je obývají, každý večer vylétají jednotně ve stejnou dobu. Zvířata si jsou očividně vědoma času západu slunce a tím se řídí. Jednotliví jedinci se probudí ještě před západem slunce, připravují se na let a kontrolují intenzitu světla mimo jeskyni. Jakmile se dostatečně setmí, vylétnou ven. Pokud byl v jeskyni držen netopýr samostatně, došlo k volnoběhu (*free-running*) a jeho aktivita se stále více lišila od časů aktivity kolonie (Marimuthu, 1980).

Goel a Lee (1995) ve výzkumu osmáka degu (*Octodon degus*) ukazují, že zvířata, která byla držena v neustálé tmě, se navzájem ovlivňovala a do značné míry synchronizovala své cirkadiánní rytmy. Podle další studie Goela a Lee (1996) se samice osmáků díky vzájemnému sociálnímu kontaktu rychleji „naladí“ na stejný fázový posun, než když jsou k sobě umístěna zvířata opačného pohlaví. Zároveň však nebyly pozorovány rozdíly v délce aktivity, ať už šlo o značení teritoria, spánek nebo exploraci. Zajímavé jsou také výsledky zveřejněné v roce 1995, kdy byl u osmáků zkoumán vliv pohlaví na ovlivnění aktivity a

tělesné teploty pomocí sociální interakce (Goel a Lee, 1995a). Opět se ukázalo, že se spíše synchronizuje stejné pohlaví, a navíc, že samci (kontrola, umístění samostatně) jsou schopni rychleji přizpůsobit své hodiny vnějšímu prostředí, než samice.

3.2.3 Pohybová aktivita

Přestože vliv pohybové aktivity na cirkadiánní hodiny byl dlouhou dobu opomíjen, objevuje se stále více experimentálních studií, které se tímto tématem zabývají (Weisgerber a spol., 1997; Marchant a Mistlberger, 1996; Deboer a Tobler, 2000). Možnost spontánního pohybu, například běh v kolečku, může ovlivňovat aktivitu u potkanů i laboratorních myší (Weisgerber a spol., 1997). Spekuluje se o něm také jako o možném synchronizátoru u křečků. Tyto studie ukazují, že pokud jsou křečci aktivní během obvyklého období spánku, dochází k ovlivnění cirkadiánních rytmů. Mimo jiné dochází ke zkrácení periody *free-running* u zvířat, která hodně běhají a ukázala velké fázové posuny. Naproti tomu živočichové, jimž je přístup ke kolečku zamezen, mají mnohem delší tau. Délka periody (tau) je negativně korelována s množstvím pohybu, a tedy jednotlivým otočení běhacího kola, u křečků a myší (Weisgerber a spol., 1997).

Podle autorů Marchant a Mistlberger (1996) je pro úspěšnost ovlivnění periody velice důležité, zda jsou zvířata k běhu nucena, či nikoliv. Ve své studii porovnávali myši, které musely běhat v kolečku s těmi, co běhaly „dobrovolně“. Jedinci ze skupiny, která byla nucena běhat, byli přemístěni na automatický běžecký pás a museli běžet rychlostí 16m/min s desetiminutovou přestávkou každou hodinu. Rychlost se postupně zvyšovala. Jakmile myš začala být strhávána pásem, pokus byl zastaven. Autoři došli k závěru, že běhání v kolečku způsobuje poměrně stabilní fázový posun aktivity o několik minut, jenž je výraznější, pokud zvíře nemá přístup ke kolečku neustále. V takovém případě nehraje roli, jestli byla aktivita vynucená nebo spontánní. Na rozdíl od soumravných a denních zvířat je toto ovlivnění u nočních živočichů již poměrně dobře prozkoumáno. Deboer a Tobler (2000) se ve své studii zabývají otázkou, zda velikost kolečka může také ovlivnit cirkadiánní aktivitu. Podle jejich výsledků jednotlivci více běhají ve větších kolečkách (průměr 15 cm), než v těch s průměrem 11 cm. Navíc ve fázi přetrvávající tmy měly myši běhající v menších kolečkách delší *free-running* periodu, což může souviset s nižší mírou aktivity.

3.2.4 Teplota

Změny teploty mohou být jak pravidelně se opakující, cyklické změny, které souvisí se střídáním ročních období, tak náhodné výkyvy způsobené změnou počasí. Na opakující se změny reagují cirkadiánní rytmy, čímž pomáhají organismům orientovat se v čase během dne i roku, tedy teplota je dalším ze *zeitgebers* (Rensing a Ruoff, 2002). Teplota působí na vlastnosti membrán, iontovou homeostázi, může ovlivnit i fosforylaci proteinů.

Jak se zdá, výkyvy teploty mají velký vliv na biologické hodiny heterotermních živočichů, tedy těch s nestálou tělní teplotou. Tyto organismy vykazují specifickou v teplotních limitech ovlivňujících biologické hodiny. To, že každý druh potřebuje jiné teplotní optimum, vyúsťuje v různé cirkadiánní amplitudy. Heterotermní organismy jsou velmi citlivé již k malým teplotním změnám (Rensing a Ruoff, 2002). Oproti tomu u homeotermních živočichů způsobují fázový posun hlavně velké výkyvy teploty (Buhr a spol., 2010).

U většiny organismů teplotní změny kopírují vliv světla nebo tmy (Liu a spol., 1998), takže se jen obtížně jejich efekt rozlišuje. Podle autorů Herzog a Huckfeldt (2003) CSN interaguje s oscilátory reagujícími na změnu teploty, a tento proces není závislý na věku organismu. Citlivost k teplotě se vyvíjí již na počátku ontogenického vývoje CSN. Zatímco fyziologické procesy zmírňují šok mozku ze změn okolního prostředí, běžné teplotní rytmy mozku jsou schopny ovlivnit CSN in vivo (Buhr a spol., 2010).

4. Unikátnost podzemního prostředí

Mezi živočichy se nacházejí skupiny, které obývají poměrně extrémní ekologické podmínky. Tito živočichové mohou být zajímaví z hlediska studia cirkadiánních rytmů, neboť abiotické podmínky prostředí, ve kterém žijí, mohou být natolik specifické (a často konstantní), že mechanismy řídící jejich cirkadiánní rytmy mohou být odlišné od rytmů živočichů, kteří taková extrémní prostředí neobývají. I některé skupiny savců se přizpůsobily životu v náročných, vysoce specializovaných, podmínkách. Patří mezi ně například kytovci, letouni či podzemní savci.

Podzemí je domovem pro řadu savců, kteří zde hledají úkryt před nepříznivými podmínkami prostředí nebo predátory. Život v podzemním prostředí je poměrně náročný,

neboť je zde vysoká vzdušná vlhkost, nízký obsah kyslíku, vysoký obsah oxidu uhličitého a poměrně omezená nabídka potravy (Nevo, 1999). Živočichové se pohybují ve tmě a hrabání nových tunelů - jejich hlavní aktivita - vyžaduje mnoho energie. Náročnost této činnosti se ještě zvyšuje s hustotou a soudržností půdy (Zelová a spol., 2007). I orientace v podzemí vyžaduje mnohé speciální adaptace (Nevo 1999).

Jedna z unikátních charakteristik podzemí spočívá především ve stabilitě a monotónnosti. Neustálá tma, nízký obsah kyslíku a teplotní výkyvy pouze v rámci několika stupňů nepředstavují příliš rozmanité podmínky, které mohou být využity jako vodítka pro cirkadiánní aktivitu.

4.1. Život v podzemí

Život v takto specializovaném prostředí živočichy samozřejmě ovlivnil v mnoha aspektech a zahrnuje například nejrůznější morfologické, fyziologické či behaviorální adaptace (Nevo, 1979, 1999). Ačkoliv se zdá, že stabilní podmínky podzemí mají stejný selekční tlak na všechny obyvatele, významnou roli v rozvoji mnoha adaptivních strategií hrají lokální rozdíly například v tvrdosti půdy nebo obsahu vody (Busch a spol, 2000).

Podzemní savci tráví drtivou většinu života v chodbách svých podzemních systémů. K hloubení nor používají stále rostoucí řezáky a drápy.

V míře specializace existuje velký rozdíl mezi striktně podzemními – tzv. subteránními živočichy, jako jsou například rypošovití, a tzv. fosoriálními hlodavci – jako je například tuko-tuko (Ctenomyidae). Fosoriální hlodavci jsou pravidelně aktivní na povrchu a jejich smyslová výbava a míra její specializace je podobná jako u na povrchužijících živočichů, ačkoliv část dne také tráví v podzemních chodbách. Striktně podzemní savci jsou specializovaní na život v podzemí a na povrch se dostávají zřejmě pouze ojediněle.

5. Charakteristika savců s podzemní aktivitou

Podzemní savci jsou malí až středně velcí, jejich tělo má válcovitý tvar, mají krátké končetiny se širokými chodidly a krátký krk. Tělo je svým tvarem přizpůsobeno pohybu dopředu, dozadu a otočení i ve velmi stísněném prostoru podzemních chodeb. Délka ocasu

se u jednotlivých druhů značně liší, u slepců ocas zcela chybí (Nevo, 1979). Na první pohled jsou patrné dva páry velkých, stále rostoucích zubů (Bennett a Faulkes, 2000).

Specializace k životu v náročných podzemních podmínkách je fascinující a zahrnuje nejen nejrůznější anatomické redukce. Došlo také ke srůstání krčních obratlů, zkrácení a rozšíření prstů a u některých k nárůstu krční svaloviny.

Další zajímavou specializací na život v podzemí je citlivost k magnetismu Země (Marhold a Wiltschko, 1997). Dosud však není zcela jasné, jestli jej podzemní savci používají k orientaci.

Na první pohled jsou patrné velmi redukované nebo chybějící ušní boltce (Nevo, 1979). Zvuk se v tunelu šíří pouze jedním směrem, tudíž podzemní savci nepotřebují boltec, aby zjistili, odkud zvuk přichází. Vzhledem k prostředí tunelů, které pohlcuje zvuky o vyšší frekvenci, reagují striktně podzemní savci pouze na zvuky o nižších frekvencích, které se pohybují od 0,5 kHz do 4 kHz (Lange a spol., 2006).

5.1. Zrak a vnímání světla u podzemních savců

Zrak patří k nejspecializovanějším smyslům podzemních savců. V podzemí je neustálá tma a vizuální schopnosti těchto živočichů jsou proto značně omezené, ačkoliv míra redukce se mezi jednotlivými skupinami velmi liší. Většina podzemních savců má však v očích vše, co potřebují k vidění – rohovku, čočku nebo i sítnici. Oči jsou miniaturizované, ale i přesto si zachovaly zbytkové zrakové schopnosti (neplatí pro slepce). Malá velikost oka souvisí s omezenými rozměry sítnice a tím pádem i zhoršením ostrosti a obrazové kvality. Například kururo má poměrně velké oči a dokáže rozlišit pohybující se objekty. Rypošovití však zřejmě nedokážou sledovat pohybující se cíl a orientovat se pomocí zraku v prostoru (Němec a spol., 2008). I když bylo prokázáno, že podzemní savci reagují na světlo, jejich zrakové schopnosti mohou stěží sloužit k orientaci při ojedinělé povrchové aktivitě. Jsou pravděpodobně schopni zaznamenat narušení systému, jenž tak mohou opravit, případně chodbu zasypat. Zrak se zřejmě udržuje jako součást antipredačního chování (Kott a spol., 2010). Předpokládá se, že světlo slouží striktně podzemním savcům hlavně k seřízení cirkadiálních rytmů.

6. Cirkadiánní rytmy savců s podzemní aktivitou

Podzemní prostředí pravděpodobně neposkytuje tolik podnětů, jako prostředí nad zemí, které by mohly zvířatům pomoci synchronizovat cirkadiánní rytmy. Podzemní savci jsou pouze nepravidelně (zda-li vůbec) vystaveni hlavnímu savčímu synchronizátoru - světlu (Faulkes a Bennett, 2000). Ani potravní nabídka a pravděpodobně ani míra predace se během 24 hodin nijak zvlášť nemění, proto se předpokládalo, že striktně podzemní savci jsou aktivní stejně v noci i ve dne (Avivi a spol., 2002; Cutrera a spol., 2006; Nevo, 1979; Nevo a spol., 1982).

Přesto mnohé studie ukázaly, že podzemní savci vykazují cirkadiánní aktivitu, a to v laboratorních podmínkách (Hart a spol., 2004; Lovegrove a spol., 1993; Lovegrove a spol., 1995; Oosthuizen a spol., 2003; Riccio a spol., 2000; Schöttner a spol., 2006; Vasicek a spol., 2005; de Vries a spol., 2008), i v přirozených podmínkách (Benedix, 1994; Lövy a spol., 2013; Rezende a spol., 2002; Šklíba a spol., 2007).

6.1. Typy aktivity savců s podzemní aktivitou

Podzemní savci vykazují monofázickou i bifázickou cirkadiánní aktivitu v laboratorních i přirozených podmínkách. Druhy, které vykazují monofázickou aktivitu, jsou například zlatokrt Grantův (*Eremitalpa granti namibensis*) (Fielden a spol., 1992), kururo (*Spalacopus cyanus*) (Urrejola a spol., 2005), rypoš hotentotský (*Cryptomys hottentotus*) (Schöttner a spol., 2006), (*Ctenomys cf. knightii*) (Valentinuzzi a spol., 2009), rypoš Ansellův (*Fukomys anselii*) (de Vries a spol., 2008), (*Fukomys darlingi*) (Vasicek a spol., 2004), slepec egyptský (*Spalax ehrenbergi*) (Rado a spol., 1993) nebo i někteří jedinci rypoše stříbritého (*Heliophobius argenteocinereus*) (Šklíba a spol., 2007).

Bifázickou aktivitu tj. aktivitu se dvěma vrcholy vykazují kururo (*Spalacopus cyanus*) (Rezende a spol., 2002), pytlonoš nížinný (*Geomys bursarius*) (Benedix, 1994), či rypoš kapský (*Georychus capensis*) (Lovegrove a Muir, 1996; Lovegrove a spol., 1993).

Preference denní či noční aktivity, stejně jako typ aktivity, se mezi jednotlivými druhy značně liší. V některých případech se setkáváme i s rozdílnými závěry laboratorních a terénních studií, nebo může být tento rozdíl také způsoben změnou aktivity během roku (Benedix, 1994; Bennett a spol., 2002; Nevo a spol., 1982; Rado a spol. 1993; Rezende a

spol., 2002; Tobler a spol., 1998; Tomotani a spol., 2012; Urrejola a spol., 2005; Valentinuzzi a spol. 2009). Díky rozdílům ve studiích vyvstává otázka, který faktor vlastně cirkadiánní rytmy ovlivňuje a případně jestli není těchto faktorů víc. Již zmíněná velká variabilita aktivity mezi podzemními savci naznačuje, že cirkadiánní hodiny některých druhů nejsou tak silně ovlivněny světlem, jako je tomu u ostatních druhů a nesvětelné faktory zde zřejmě mohou hrát významnou roli (Oosthuizen a spol., 2003).

6.2. Cirkadiánní aktivita savců s podzemní aktivitou a vliv světla

V mnohých laboratorních studiích (Bhagwandin a spol., 2011; Bennett, 1992; Hart a spol., 2004; Lovegrove a spol., 1995; Oosthuizen a spol., 2003; Riccio a spol., 2000; Schöttner a spol., 2006; Vasicek a spol., 2005; de Vries a spol., 2008) bylo prokázáno, že i striktně podzemní savci a dokonce i slepci (r. *Spalax*), kteří mají oči přerostlé kůží (David-Gray a spol., 1999; Tobler a spol., 1998), reagují na světlo jako na synchronizátor endogenních cyklů. Stejně tak byl prokázán i vliv světla na cirkadiánní rytmy u některých fosoriálních savců, kteří poměrně pravidelně vychází na povrch (Begall a spol., 2002; Fielden a spol., 1992; Valentinuzzi a spol., 2009).

Zajímavým zástupcem podzemních savců je soliterní slepec egyptský *Spalax ehrenbergi* (Spalacidae), žijící v Izraeli. Jeho oči jsou zakrnělé a dokonce přerostlé kůží (Burda, 2006). I když je slepý, vrstvou kůže dokáže světlo proniknout. Světelné podněty dále ovlivňují jeho cirkadiánní aktivitu, neboť jeho sítnice stále obsahuje receptory citlivé na světlo (David-Gray a spol., 1999). Zraková centra v mozku jsou sice značně zredukována, ale struktury sloužící k vnímání fotoperiody jsou naopak zvětšeny. Během evoluce byly zřejmě přeprogramovány tak, aby mohly sloužit pouze k ovlivňování biologických rytmů (Cernuda-Cernuda a spol., 2002). V letech 1972-1975 na tomto podzemním savci proběhla laboratorní studie, zabývající se vlivem světla na cirkadiánní rytmy (Nevo a spol., 1982). Byly zde použity čtyři chromosomální formy ($2n = 52, 54, 58$ a 60). Nevo a spol. (1982) dochází k závěru, že všichni jedinci vykazovali spíše noční polyfázickou aktivitu. Byly zaznamenány i rozdíly mezi variabilitou množství aktivity. Tato studie testovala předpoklad, že některé chromosomální formy slepce budou vykazovat vyšší míru aktivity. Formy $2n = 52, 58$ vykazovaly největší variabilitu v pohybových vzorech. Tyto pokusy probíhaly v systémech, které měly napodobovat přírodní podmínky (ale nebyl v nich použit žádný substrát), ve kterých slepec žije, k zaznamenání aktivity byly použity nášlapné senzory.

Vasicek a spol. (2005) ve své studii prováděné na *F. darlingi* uvádí, že tento sociální podzemní hlodavec vykazuje v konstantních podmínkách endogenní rytmicitu s periodou 23.83-24.10 h. Jednotlivci aktivovali jak v denní, tak i v noční době s monofázickým průběhem. Autorka dochází k závěru, že světlo funguje u *F. darlingi* jako *zeitgeber*.

Podle studie, kterou provedla Oosthuizen a spol. (2003) na jedincích soliterního druhu *G. capensis*, sociálních *C. hottentotus pretoriae* a eusociálních *F. damarensis* jsou tyto druhy schopny rozlišit mezi světlem a tmou a vykazují endogenní rytmy, avšak synchronizace vnitřních hodin u *F. damarensis* se zdá méně stabilní, než u zbylých dvou druhů. Tento druh vykazuje preferenci denní aktivity, přičemž *G. capensis* a *C. hottentotus pretoriae* preferují spíše noční aktivitu. Autoři docházejí k závěru, že sociální druhy podzemních savců k synchronizaci svých cirkadiánních rytmů používají spíše jiné *zeitgeber*, než je světlo. Tuto myšlenku podporuje také fakt, že oběma sociálním druhům trvalo delší dobu, než se přizpůsobily změně světelné fáze cyklu. Lovegrove a Muir (1995) se ve své studii také zaměřili na rypoše kapského (*G. capensis*). I v této studii rypoš kapský vykazuje cirkadiánní rytmy a bifázickou noční aktivitu.

Ve studii de Vries a spol. (2008), která proběhla na sociálním *F. anselii*, autoři uvádějí, že tento druh vykazuje pouze velice slabé cirkadiánní rytmy. Mezi jednotlivci byla veliká variabilita, co se týče začátku a konce aktivity, někteří jedinci dokonce nevykazovali žádnou rytmicitu. Autoři soudí, že *F. anselii* reaguje spíše na přítomnosti/nepřítomnost světla, než že by byl synchronizován pomocí změny světelné fáze. Tyto výsledky opět naznačují, že světlo zde zřejmě není jediný ani nejdůležitější *zeitgeber*. Nicméně v terénní studii Šklíby a spol. (in prep) se ukázalo, že tento druh má nápadnou monofázickou aktivitu s vrcholem během dne.

Sociálním druhem *Cryptomys hottentotus natalensis* se zabýval Hart a spol. (2004). Dozvídáme se, že i tento druh vykazuje cirkadiánní rytmicitu. Nicméně jedinci vykazovali denní, noční nebo oba časy aktivity.

Riccio a spol. (2000) se ve své studii zaměřili na rypoše lysého (*Heterocephalus glaber*). Tento eusociální savec žije ve velkých rodinách. Jedinci umístění individuálně vykazovali silné cirkadiánní rytmy.

Valentinuzzi a spol. (2009) se ve své studii zaměřili na solitérního, fosoriálního hlodavce *Ctenomys cf. knightii*. Jedinci vykazovali noční monofázickou aktivitu. Při změně světelné fáze se jedinci velice rychle synchronizovali, což naznačuje silný vliv světla jako *zeitgeberu*.

V následujících tabulkách (Tab. I., Tab. II., IIa. a Tab. III.) jsou shrnuty poznatky z výše zmíněných laboratorních studií a také ze studií, které proběhly v terénu.

V tabulce I. je patrný jasný patern, kdy zmínění fosoriální savci, kteří očividně dobře vnímají světlo, vykazují v laboratorních studiích monofázickou noční aktivitu. To může naznačovat, že se světlu vyhýbají. Pokud však srovnáme výsledky laboratorních a terénních studií (v tabulce označeny *), vidíme jasné rozdíly, které mohou být zapříčiněny více faktory, které jsou diskutovány později.

V laboratorních studiích, které jsou shrnuty v tabulce II. a IIa. jsou na první pohled patrné velké rozdíly mezi výsledky jednotlivých studií, nako je například *C. hottentotus*, *S. ehrenberi* nebo *F. damarensis*.

Část studií používá k určení cirkadiálních rytmů posun světla o 6h. Bez tohoto posunu není možné přesvědčivě určit, jestli došlo k ovlivnění cirkadiálních rytmů pomocí světla, či nikoliv. K zaznamenání aktivity se v těchto typech studií používají infračervené senzory nebo kolečko k běhání, které je napojeno na počítač. Zvířata jsou často držena v plastových boxech, nebo dokonce klecích (Begall a spol., 2002; Fielden a spol., 1992; Hart a spol., 2004; Ocampo-Garcés a spol., 2006; Tobler a spol., 1998; Tomotani a spol., 2012; Valentinuzzi a spol., 2009; Vasicek a spol., 2005; de Vries a spol., 2008).

Tabulka I.: Laboratorní studie vlivu světla na fosoriální savce (N = počet jedinců, τ - *Free-running* perioda, N/A – ano, ne; * - terénní studie).

Druh	Metodika								Typ aktivity	Čas aktivity	Poznámky	Zdroj	
	N	LD cyklus (dny)	Technika				t (°C)	Free-running perioda (τ) (h)					
			Tunely	Kolečko (počet)	Terárium (cm)	If. Senzor (počet)							
<i>Ctenomys cf knightii</i>	8	1.12:12 (21) 2. DD (38) 3.12:12 (29) 4. LL (134)	N	A	53×29×27	N	22±1	DD: 24.09 – 24.48 LL: 23.83 – 24.43	Monofázická	Noční		Valentinuzzi a spol. (2009)	
	15	N=10 DD N=5 12:12 DD	N	A (1)	37×26×21 53×29×27	A (1)	23±2	$\tau \neq 24$	Monofázická	Noční		Tomotani a spol. (2012)	
	3	Telemetrie								Monofázická	Denní	Ve dne aktivita na povrchu	Tomotani a spol. (2012) *
Zlatokr Grantův (<i>Eramitalpa granti namibensis</i>)	12	1. 12:12 (9) 2. DD (9)	N	N	150×150	A	30	21.2-23.4	Monofázická	Noční		Fielden a spol. (1992)	
	19	Telemetrie								Monofázická Bifázická	Noční		Fielden a spol. (1992) *
Kururo (<i>Spalacopus cyanus</i>)	12	1.12:12 (10) 2.Posun 6h 3. DD	N	N	60×80×60	A	25±2	23.92 ± 0.14	Monofázická	Noční	Skupina posun do denních hodin	Begall a spol. (2002)	
	6	12:12 (10) DD (21)	N	N	30×40×30	A	21-23		Monofázická	Noční		Ocampo-Garcés a spol (2006)	
	5	Telemetrie								Bifázická Monofázická	Denní		Rezende a spol. (2002) *
	10	Telemetrie								Monofázická	Denní		Urrejola a spol. (2005) *

Tabulka II.: Laboratorní studie vlivu světla na podzemní savce (N = počet jedinců, τ - *Free-running* perioda, A/N – ano, ne).

Druh	Metodika							Typ aktivity	Čas aktivity (počet jedinců)	Poznámky	Zdroj	
	N	L:D cyklus (dny)	Technika				t (°C)					Free-running perioda (τ) (h)
			Tunely	Kolečko (počet)	Terárium (cm)	If. Senzor (počet)						
Rypoš lysý (<i>Heterocephalus glaber</i>)	23	1. 12:12 (21) 2. 6h posun (21) 3. DD (40) 4. 1:23 (26) 5. 1:24 (29)	A	A (1)	41×20×20	N	30-32	23.2-23.9	Noční	Použití pouze jedinci s výraznou pohybovou aktivitou	Riccio a spol. (2000)	
<i>Fukomys darlingi</i>	12	1. 12:12 (33) 2. DD (37) 3. 12:12 (26) 4. D12:L12 (33) 5. LL (41) 6. 3:3 (70)	N	A (4)	70×40×40	A (8)	25±1	23.83-24.10	Monofázická Bifázická (1)	Denní (5) Noční (5)	Vasicek a spol. (2005)	
Rypoš Ansellův (<i>Fukomys ansellii</i>)	11	1. DD (30) 2. 12:12 (20) 3. DD (20) 4. 12:12 5. 12D:12L	N	N	A	A (1)	25±1	2 jedinci $\tau \neq 24$ h	Monofázická Arytmická (2)	Noční (6) Denní (3)	Velmi slabý cirkadiánní rytmus	de Vries a spol. (2008)
Rypoš damarský (<i>Fukomys damarensis</i>)	9	1. 16:8 (10) 2. 12:12 (30) 3. DD (35) 4. 12:12 (38)	A	N	A	A (4)	28.2-29	24.1-24.2	Sklony k bifázické	Spíše denní		Lovegrove a spol. (1993)
	8	1. 12:12 (30) 2. DD (30) 3. D12:L12 (30) 4. LL (30)	A	A (4)	60×30×30	A (4)	26	24.1h ±0.17	Monofázická	Denní (6) Noční (2)		Oosthuizen a spol. (2003)
Rypoš kapský (<i>Georchus capensis</i>)	7	1. 12:12 (10) 2. DD (14) 3. 12:12 (14) 4. 6h posun (30) 5. 16:8 (30) 6. 8:16 (30)	A	A (4)	60×30×30	A (4)	26	24.1 ±0.48 1 zvíře 23.43	Bifázická	Denní (2) Noční (5)		Oosthuizen a spol. (2003)
	7	1. 12:12 (40) 2. DD (129) 3. 12:12 (38) 4. LL (40)	A	N	A	A (6)	21	$\tau \neq 24$ h	Monofázický Bifázický ?	Noční		Lovegrove a spol. (1995)
Rypoš hotentotský (<i>Cryptomys hottentotus</i>)	12	1. 12:12 (59) 2. DD (49) 3. 12:12 (68) 4. 12D:12L (52)	A	A (3)	60×45×30	A (4)	23±1	23.8-24.4	Monofázická (11) Arytmická (1)	Noční		Schöttner a spol. (2006)
	8		A	N	A	A (1)	26-28 18-21		Tetrafázická	Není zřejmý	Jednotlivci asynchronní	Bennett (1992)

Tab. IIa.: Laboratorní studie vlivu světla na podzemní savce (N = počet jedinců, τ - *Free-running* perioda, A/N – ano, ne; * - terénní studie).

Druh	Metodika									Typ aktivity	Čas aktivity (počet jedinců)	Poznámky	Zdroj	
	N	L:D cyklus (dny)	Technika					t (°C)	Free-running perioda (τ) (h)					
			Tunely	Kolečko (počet)	Terárium (cm)	If. Senzor (počet)	Nášlap. Senzor (počet)							
Rypoš stříbřitý (<i>Heliophobius argenteocinereus</i>)	1	Telemetrie									Monofázická Bifázická	Spíše denní	Polopřírodní podmínky	Jarvis (1973)
	11	Telemetrie									Monofázická Bifázická			Šklíba a spol. (2007)*
<i>Cryptomys h. pretoriae</i>	7	1.12:12 (30) 2. DD (30) 3.D12:L12 (30) 4. LL (30)	A	A (4)	60×30×30	A(4)	A (4)	26	24.1h ±0.103	Monofázická Bifázická (1) Arytmická (2)	Noční (5) Denní (2)	6 jedinců endogenní rytmus	Oosthuizen a spol. (2003)	
<i>Cryptomys h. natalensis</i>	12	1. 12:12 2. DD 3. 12:12 4. LL	N	A (4)	60×30×30	A (4)	N	26	DD: 23.93 – 24.13 LL: 23.98 – 26.13	Individuální variabilita	Denní Noční Oba časy	Změna mezi denní a noční aktivitou	Hart a spol. (2004)	
Slepec egyptský (<i>Spalax ehrenbergi</i>)	15	1.12:12 (40) 2. DD (62) 3.12:12 (35) 4. DD (10)	N	A (1)	54×34×31	A (1)	N	21-22	$\tau \neq 24$	Monofázická Bifázická	Noční (4) Denní (2) Oba časy (3)	Free-running více než 50% zvířat, ale variabilní délka period	Tobler a spol. (1998)	
	98		A	N	15×15×15	N	A (12)	20	$\tau \neq 24$	Polyfázická	Spíše noční		Nevo a spol. (1982)	
	64		A	N	20×20×15	A (8)	N	17-19	23-25	Arytmická (13) Polyfázická (17)	Denní Noční Oba časy		Ben-Shlomo a spol. (1995)	
	12	Telemetrie									Monofázická	Denní		Rado a spol. (1993)*
	12	Telemetrie									Monofázická	Denní		Rado a Terkel (1989)*

Tabulka III.: Terénní studie fosoriálních savců (N = počet jedinců).

Druh	N	Typ aktivity	Čas aktivity	Poznámky	Autor
Kururo (<i>Spalacopus cyanus</i>)	5	Bifázická Monofázická	Denní		Rezende a spol. (2002)
	10	Monofázická	Denní		Urrejola a spol. (2005)
<i>Ctenomys cf knighti</i>	3	Monofázická	Denní	Ve dne aktivita na povrchu	Tomotani a spol. (2012)
Tuko-tuko (<i>Ctenomys talarum</i>)	11	Polyfázická	Denní		Cutrerá a spol. (2006)
Pytloň nížinný (<i>Geomys bursarius</i>)	13	Bifázická	Soumračný		Bendix (1994)
Pytloň horský (<i>Thomomys bottae</i>)	8	Monofázická	Denní	Záchvaty aktivity i od 24 do 4h v noci	Gettinger (1984)
	14	Monofázická	Denní		Bandoli (1987)
Pytloň Atwaterův (<i>Geomys attwateri</i>)	6	Polyfázická			Cameron a spol. (1988)
Zlatokrt Grantův (<i>Eremitalpa granti namibensis</i>)	19	Monofázická Bifázická	Noční	Někteří jedinci aktivita i ve dne	Fielden a spol. (1992)

Tabulka IIIa.: Terénní studie podzemních savců (N = počet jedinců).

Druh	N	Typ aktivity	Čas aktivity	Poznámky	Autor
Rypoš stříbřitý (<i>Heliophobius argenteocinereus</i>)	11	Nonofázická Bifázická		Aktivita se přizpůsobuje teplotě půdy	Šklíba a spol. (2007)
	1	Monofázická Bifázická	Spiše denní	Polopřirodní podmínky	Jarvis (1973)
Rypoš obří (<i>Fukomys mechowii</i>)	11	Polyfázická	Spiše noční		Lövy a spol. (2012)
Slepec egyptský (<i>Spalax ehrenbergi</i>)	12	Monofázická	Denní		Rado a spol. (1993)
	12	Monofázická	Denní		Rado a Terkel (1989)
Krtek obecný (<i>Talpa europia</i>)	29	Trifázická Tetrafázická			McDonald a spol. (1997)

6.3. Porovnání aktivity savců s podzemní aktivitou v přírodě a v laboratoři

Výsledky aktivitních studií prováděných v laboratořích se někdy neshodují s výsledky, které jsou získány při výzkumu v terénních podmínkách. Jak bylo zmíněno dříve, světlo se u savců považuje za nejdůležitější *zeitgeber* ovlivňující biologické hodiny (Kronfeld-Schor a Dayan, 2008). Jakou roli ovšem hraje u striktně podzemních savců, kteří jsou zřejmě jeho účinkům vystaveni ojediněle, minimálně v některých částech roku? Již zmíněné rozdíly a to nejen mezi výsledky laboratorních a terénních studií, ale i mezi jednotlivými laboratorními studii naznačují, že v laboratoři jsou podzemní savci vystaveni poměrně nepřírodným podmínkám, možná zbytečně stresováni (například držením v akváriích a klecích, místo v systémech umělých chodeb, sociální druhy jsou testovány po jednotlivcích). Výsledný typ aktivity může být artefaktem, neboť zvířata mohou být aktivní v době, kdy nejsou rušena. V neposlední řadě tento rozpor může být důkazem toho, že jsou cirkadiální hodiny alespoň některých v podzemí žijících savců synchronizovány nejen pomocí světla, ale i dalších synchronizátorů, jako je například teplota nebo sociální interakce.

Jedním z příkladů tohoto nápadného rozporu mezi laboratorními a terénními studii je fosoriální, jihoamerický, sociální hlodavec kururo (*S. cyanus*). Podle laboratorní studie analyzující aktivitu (Begall a spol., 2002), jsou tyto živočichové převážně noční. Přesto v terénní studii publikované stejný rok Rezende a spol. (2002) dochází k závěru, že kururo v létě vykazuje bimodální vzor aktivity s vrcholy činnosti přibližně mezi 8.00 – 11.00 hodinami a 16.00 – 18.00 hodinami. V zimě kururo aktivuje pouze jednou denně a to mezi 10.00 – 16.00 hodinami. V přírodě tedy aktivuje ve dne, k tomuto závěru dochází také Urrejola a spol. (2005) ve své telemetrické studii. V dalších laboratorních testech (Ocampo-Garcés a spol., 2006) se ovšem opět prokázala noční aktivita, stejně jako u Begall a spol. (2002). Toto může naznačovat, že jejich aktivita je řízena pomocí ne příliš silného ovlivnění světlem a zároveň díky sociální interakci – nebo pomocí nějakého jiného *zeitgebers* (Ocampo-Garcés a spol., 2006).

Velice zajímavý je případ podzemního savce slepce egyptského (*Spalax ehrenbergi*), který v laboratorních podmínkách vykazuje jak denní, tak i noční monofázickou i polyfázickou aktivitu (Tobler a spol., 1998; Nevo a spol., 1982). Přesto velká část zvířat byla arytmiická. Rado a spol. (1993) však ve své terénní studii naznačují, že *Spalax ehrenbergi* vykazuje denní monofázickou aktivitu od 8.00 – 13.00 h v létě a od 11.00 – 19.00 h v zimě. Rado a spol. (1993) se domnívá, že ačkoliv i světlo ovlivňuje cirkadiální

aktivitu těchto podzemních savců, teplota půdy v přírodě působí jako další *zeitgeber*. K podobnému závěru dochází i Rado a spol. (1989), kdy slepci začali být aktivní 2-4 hodiny po východu slunce a jeho aktivita ustává 2-4 hodiny po západu slunce. Tento fakt naznačuje, že cirkadiánní rytmy slepce jsou řízeny pomocí teploty půdy. Půda se zahřívá pomaleji, než vzduch, nejnižší teplotu má ráno a nejvyšší naopak po západu slunce. Je to způsobeno teplotní kapacitou, půda se zahřívá déle než vzduch a teplo také déle udrží (Šumbera a spol., 2004). V souvislosti s výsledky z této studie Rado a spol. (1989) uvádí, že hlavním faktorem ovlivňujícím cirkadiánní aktivitu podzemních savců je světlo, a vedlejšími faktory jsou teplota vzduchu a půdy, i když to skutečně vypadá spíše na teplotu.

6.4. Cirkadiánní aktivita savců s podzemní aktivitou a vliv nesvětelných *zeitgebers* – sociální interakce

Další z faktorů, který může ovlivnit funkci vnitřních hodin, jsou sociální interakce. U rypoše damarského, který je sociální, bylo pozorováno pravděpodobné ovlivnění *free-running* rytmů právě na základě sociálních interakcí. Celá rodina vykazovala periodu τ 24.1 až 24.2 hodin a jelikož je běžné, že u jednotlivců je délka této periody při konstantních podmínkách různá, mohlo dojít k synchronizaci právě pomocí sociální interakce (Lovegrove a spol., 1993). Lövy a spol. (2013) v terénní studii prováděné na sociálním rypoši obřím (*Fukomys mechowii*) dochází k závěru, že jedinci vykazují polyfázickou aktivitu, ale nerozmnoužující se jedinci soustředili svou aktivitu spíše do nočních hodin, kdy dosahuje teplota systémů v 30 cm hloubky maxima. Dalším závěrem autorů je, že cirkadiánní aktivita rypoše obřího je flexibilní a může být ovlivněna jak sociálními interakcemi, tak změnou okolního prostředí, zejména teploty.

Begall a spol. (2002) ve své laboratorní studii prováděné na sociálním, fosoriálním savci kururovi také připouští možnost, že jeho cirkadiánní aktivita je ovlivněna pomocí sociálních interakcí. V okamžiku, kdy Begall a spol. (2002) v laboratorní studii umístili několik zvířat pohromadě, došlo k slabému posunu aktivity k denním hodinám, přičemž byla-li zvířata držena zvlášť, jedinci vykazovali noční aktivitu. Tento fakt může naznačovat, že jedinci držení samostatně byli ve stresu. Pokud by to tak skutečně bylo, výsledky zmíněné studie by tímto faktem byly značně ovlivněny.

6.5. Cirkadiánní aktivita savců s podzemní aktivitou a vliv nespěvných *zeitgebers* - teplota

Cirkadiánní rytmy zřejmě nejsou ovlivněny pouze jedním synchronizátorem, ale na seřízení biologických hodin jich může dohromady pracovat několik (Oosthuizen a spol., 2003). Ačkoliv je zřejmé, že cirkadiánní aktivita podzemních savců může být ovlivňována světlem, je dost možné, že ve volné přírodě s ním do kontaktu přijdou pouze velmi zřídka. Ačkoliv se všeobecně předpokládá, že tito savci jsou světlu vystaveni poměrně často, a to při vyhrabávání krtin, ve studii Šklíba a spol. (2009) zveřejnili data, která dokazují, že podzemní savci nemusejí krtinu vyhrabat i několik týdnů. Obecně se také předpokládá, že během období sucha podzemní savci nevyhrabávají krtiny vůbec.

Podzemí poskytuje natolik konstantní podmínky, že se nabízí jako možná odpověď teplota. Ta je sice také poměrně konstantní, avšak přeci jen i v půdě, v hloubce podzemních tunelů, existuje kolísání minimálně v řádech několika stupňů v závislosti na hloubce, oblasti a ročním období (Bennett a spol., 1988; Šumbera a spol., 2004). Čím hlouběji se živočichové dostávají, tím je teplota stabilnější. V hloubce pod 60 cm jsou už teplotní výkyvy zcela minimální (Bennett a spol., 1988).

Bendix (1994) ve své terénní studii prováděné na pytlonoši nížinném (*Geomys bursarius*) uvádí, že tento druh vykazuje bifázickou aktivitu, kdy nejvíce aktivní je v noci (22.00-6.00h) a poté odpoledne (13.00-17.00h). Tyto výsledky vysvětluje tím, že jedinci reagují na změnu teploty v systémech. Autor zjistil, že zvířata byla nejméně aktivní, když teplota v systému dosahovala extrémů – tedy maxima a minima (nejnižší mezi 8.00-13.00h, nejvyšší mezi 17.00- 20.00h). Z toho vyplývá, že se snaží vyhnout teplotnímu stresu.

Vliv teploty půdy na pohybovou aktivitu je znám také u slepce egyptského, který v přírodě vykazuje monofázickou denní aktivitu, jejíž vrchol souvisí se změnou teploty v tunelech (Rado a spol., 1993). Studie naznačuje, že v zimě zvířata kopou tunely, aby se zahřála (největší aktivita v době od 11.00h do 19.00h), jejich aktivita totiž roste s klesající teplotou v tunelu. Naopak v létě posouvají svou aktivitu do doby, kdy je v tunelech nižší teplota, shodná s teplotou v hnízdě (8.00-13.00h). Jakmile se teplota v tunelu dostane příliš vysoko, jejich aktivita ustává.

Jistý vliv teploty se prokázal i u zlatokrta Grantova (*Eremitalpa granti namibensis*). Fielden a spol. (1992) ve své studii uvádějí, že ačkoliv je cirkadiánní aktivita tohoto zlatokrta ovlivněna světlem, i teplota hraje velmi důležitou roli. V přírodě tato zvířata vykazují noční

monofázickou aktivitu na povrchu, přičemž někteří jedinci byli aktivní i během dne, ovšem pouze v podzemí. V laboratorních podmínkách zlatokrt vykazoval monofázickou noční aktivitu při 30°C, ale při teplotách nižších než 25°C šlo o bifázickou aktivitu s nejvyšší mírou aktivity opět v noci.

Podle nedávné terénní studie Šklíby a spol., (2007) rypoš stříbřitý (*Heliophobius argenteocinereus*) reaguje na změnu teploty v půdě změnou cirkadiánních rytmů. Tento soliterní, podzemní savec žije na území jihovýchodní a východní Afriky a při telemetrii vykazoval během 24 hodin polyfázický rytmus. Ovšem v okamžiku, kdy se spojila data ze tří dnů (72h), ukázalo se, že rypoš stříbřitý vykazuje monofázickou nebo bifázickou aktivitu. V nejmraznější období roku byl rypoš stříbrný aktivní s rostoucí teplotou půdy a naopak v teplejší části roku posunul svou aktivitu do časnějších hodin, kdy nebyla okolní teplota ještě tak vysoká. To naznačuje, že svou aktivitu posouvá, aby aktivoval v pro něj nejvhodnějších teplotách – tedy snaží se vyhnout teplotnímu stresu.

Ve výsledcích laboratorních studií - které se zabývají vlivem světla na cirkadiánní hodiny podzemních savců - a studiích probíhajících v terénu, se vyskytují značné rozdíly. Ačkoliv bylo potvrzeno, že v laboratorních podmínkách podzemní savci reagují na světlo jako synchronizátor biologických hodin, není zcela jisté, jestli s ním přicházejí do kontaktu dostatečně často na to, aby v jejich přirozeném prostředí dokázalo ovlivnit jejich cirkadiánní rytmy. Tyto poznatky naznačují, že u těchto vysoce specializovaných živočichů hrají velkou roli i nesvětelné faktory (Oosthuizen a spol., 2003; Rado a spol., 1993; Šklíba a spol., 2007). Vzhledem k stabilitě podzemního prostředí se jeví teplota jako další faktor, který by mohl hrát v synchronizaci biologických hodin důležitou roli. Je proto nutné domněnku, že teplota ovlivňuje cirkadiánní hodiny podzemních savců, ověřit vhodným laboratorním experimentem.

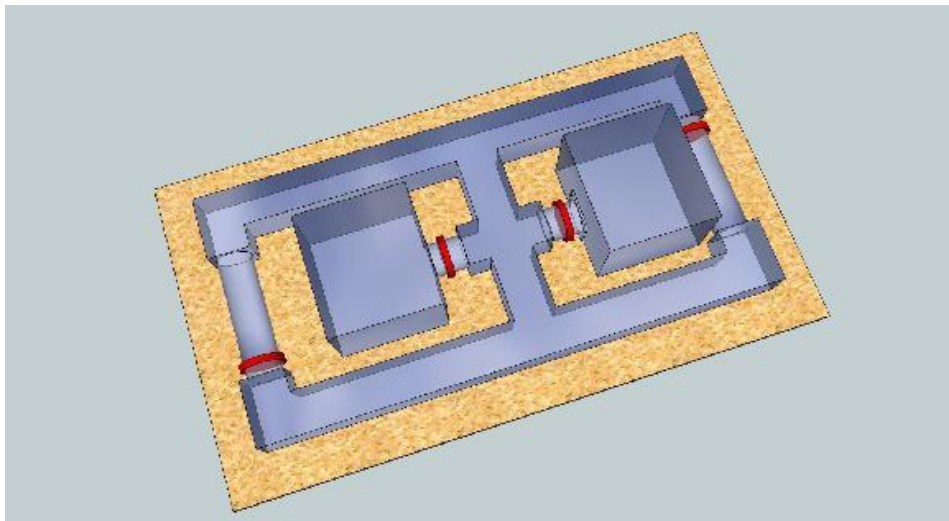
Ve své magisterské diplomové práci bych se chtěla věnovat experimentu, ve kterém se bude testovat, zda jsou cirkadiánní rytmy rypoše stříbřitého ovlivněny světlem i teplotou a jestli je možné vliv obou faktorů odlišit a zjistit, který z nich je potenciálně důležitější.

7. Návrh experimentu

7.1. Aparatura

Podzemní savci žijí ve volné přírodě v často rozlehlém systému chodeb. To se samozřejmě nedá úplně napodobit, nicméně bychom se měli co nejvíce snažit respektovat potřeby zvířat. V některých laboratorních studiích týkajících se studia problematiky cirkadiánních rytmů byla použita terária (Begall a spol., 2002; Fielden a spol., 1992; Hart a spol., 2004; Tobler a spol., 1998; Tomotani a spol., 2012; Valentinuzzi a spol., 2009; Vasicek a spol., 2005; de Vries a spol., 2008). To je pro zvířata pohybující se po celý život v podzemních tunelech stresující. V mnou navrhovaném experimentu jsou použity systémy z trubek z plexiskla (109×59 cm, průměr kulaté 7 cm), které se skládají ze dvou domečků (28,5×25×19,5 cm) a spojovacích tunelů (Obr. 4). Jako substrát byla použita rašelina.

Výhodou takového uspořádání je, že zvířata mají k dispozici zhruba čtyři metry chodeb, kde je nadbytek rašeliny, který je nutí neustále přesouvat substrát, takže jsou aktivní. Navíc díky propojení chodeb se mohou volně pohybovat dokola.



Obr. 4: Model systémů s vyznačenými cívkami (červené kruhy), modře chodby a boxy přístupné zvířatům.

I když se běžně ve studiích používají infračervené senzory (Lovegrove a spol., 1993; Oosthuizen a spol., 2003; Vasicek a spol., 2005; de Vries a spol., 2008) nebo kolečka na běhání (Hart a spol., 2004; Lovegrove a spol., 1995; Oosthuizen a spol., 2003; Vasicek a spol., 2005), jejich použití pro sledování aktivity v našem experimentálním uspořádání je nevhodné, neboť rašelina by mohla omezit funkčnost senzorů a na instalaci kolečka není v systémech místo. Pro monitorování aktivity proto využijí čip (TROVAN, vyhovuje ISO 11784, 11785 a předpisům EU), který má každé individuum implantovaný. Na obou vstupech do domečků a dvou spojovacích tunelech je ručně navinuta cívka, která funguje jako anténa. Na každém systému jsou 4 takové antény a díky jejich rozmístění je pokryt celý systém a pohyb zvířat je monitorován. Antény jsou napojeny na čtečky (RFIDRW-E-USB, Priority 1 Design, Australia) a jednotlivé čtečky jsou pomocí kabelu napojeny na USB rozbočovač, který náleží ke každému systému. Všech pět rozbočovačů je seriově připojeno do počítače, který ukládá všechny průchody jednotlivých zvířat. Identita každé jednotlivé čtečky je zajištěna pomocí seriového čísla. Budu zaznamenávat číslo zvířete, systému, čtečky, čas a datum.

7.2. Pokusná místnost

Laboratorní pokus bude probíhat v samostatné místnosti s klimatizací (Mitsubishi Electric, MSZ - GC35VA), nastavitelnou fotoperiodou i intenzitou osvětlení. Jelikož mým hlavním cílem je zjistit, jestli teplota ovlivňuje cirkadiánní aktivitu rypoše stříbřitého, díky klimatizaci můžeme nastavit průběh teploty, který byl změřen v terénu, tedy teploty 18 - 21°C v srpnu (Šklíba a spol., 2007) a tím věrně napodobit podmínky v přírodě. Pokus bude probíhat paralelně v 6 samostatných systémech. Místnost není odhlučněná, proto byly nahrány každodenní zvuky z chovů, a během pokusu se budou v náhodném pořadí pouštět a vytvářet tak šum. Zároveň budou během pokusu zvířata krmena *ad libitum* v náhodných časech, abychom omezili synchronizaci pomocí času podávání potravy. Systémy budou čistěny jednou za 6 týdnů.

7.3. Testovaný druh

V každém systému je umístěn jedinec rypoše stříbřitého (*Heliophobius argenteocinereus*; Bathyergidae, Rodentia). Všichni jedinci byli odchyceni ve volné přírodě v letech 2005 a

2010. Tito striktně podzemní savci ve volné přírodě obývají savany Keni, Tanzanie, Malawi, Konga, Zambie a centrálního Mozambiku. Jedná se o soliterně žijící druh, který je velice agresivní (Bennett a Faulkes, 2000).

7.4. Design pokusu

Samotný experiment bude rozdělen do několika fází. Každá fáze bude probíhat po dobu tří týdnů. Design tohoto pokusu je znázorněn na Obr. 5.

Fáze 1: rypoši jsou drženi ve světelném rytmu 12L – 12D (6.00-18.00h L, 18.00-6.00h D). Teplota je konstantní (22°C).

Fáze 2: (24D), teplota je stabilní (22°C). Tato fáze by měla prokázat, zda testovaní jedinci vykazují cirkadiánní rytmy, které běží s vnitřní periodou v konstantních podmínkách.

Fáze 3: stejná jako fáze 1 - 12L – 12D a konstantní teplota.

Fáze 4: 6h posun světla (12-24hL, 24-12hD). Teplota konstantní.

Fáze 5: Simulace přírodních přirozených podmínek, co se týče změn teploty. Světelný cyklus 12:12 (6-18hL, 18-6hD)., výkyvy teploty ve větším rozsahu (19°C v 9.00 h ráno a 24°C v 17.00 h), aby byl stimul silnější.

Fáze 6: konstantní tma (24D), teplota jako ve fázi 5.

Fáze 7: stejná jako fáze 5.

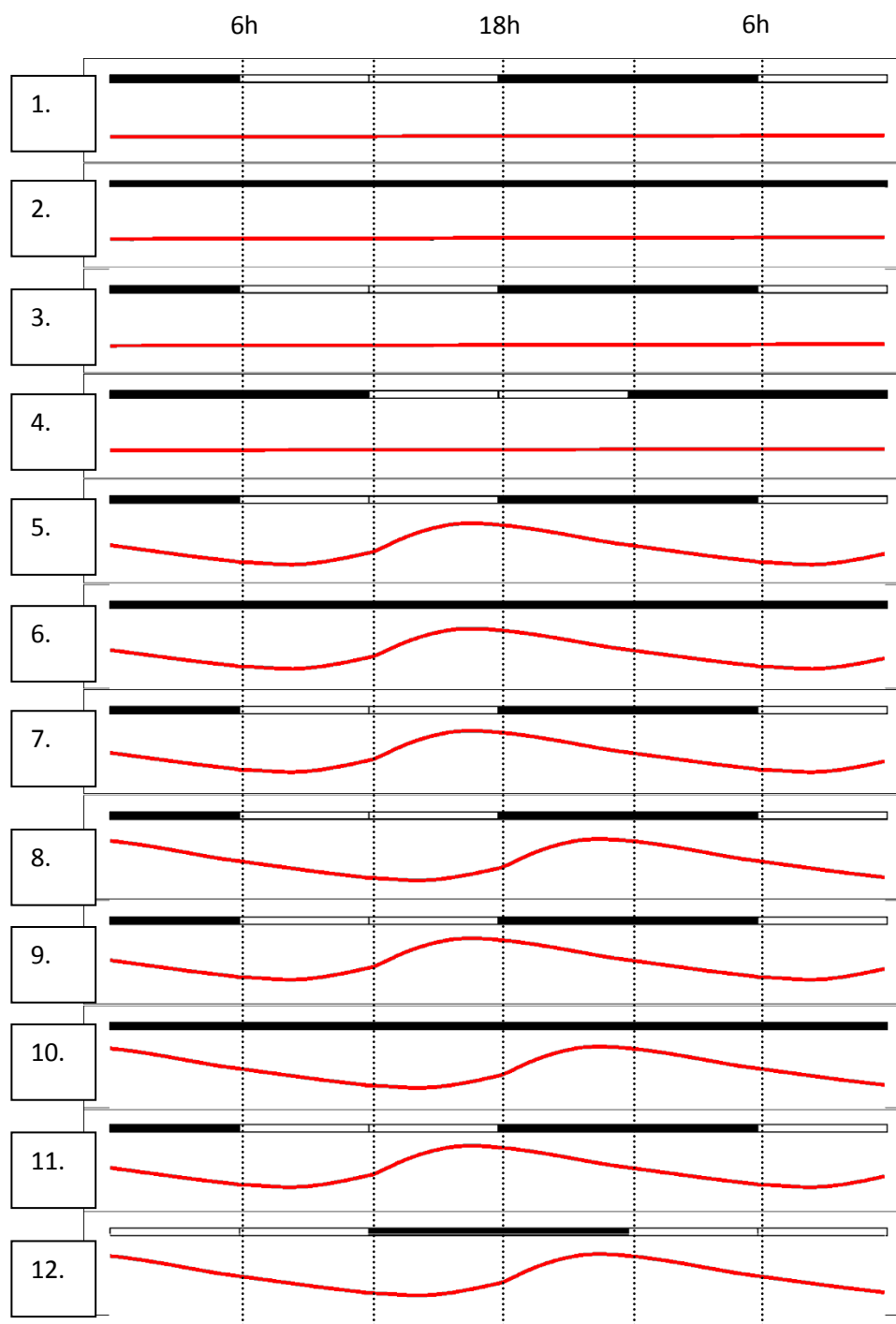
Fáze 8: světelný cyklus 12L:12D (6.00 - 18.00h L, 18.00 - 6.00h D), posun teploty o 6h. Nejnižší teplota v 15.00 h (během světelné fáze) a nejvyšší v 23.00 h (v temné fázi).

Fáze 9: stejná jako fáze 5 a 7.

Fáze 10: konstantní tma (24D), teplota jako ve fázi 5 (minimum 19°C v 9.00 h ráno a maximum 24°C v 17.00 h večer).

Fáze 11: jako fáze 9 (a 5. i 7.).

Fáze 12: současné posunutí světla a teploty proti sobě o 6h (nejvyšší teplota o půlnoci a nejnižší v poledne).



Obr. 5: Znázornění designu světelné a teplotní fáze jednotlivých částí pokusu (1-12.). Červená čára znázorňuje průběh teploty, střídání černé a bílé lišty značí světelný cyklus (bílá – světlo, černá – tma), tečkované čáry značí 6h. Černá lišta (2., 6., 10.) – konstantní tma.

Přesný design tohoto experimentu je stále ve vývoji, ale zde představená verze (1-12. fáze), je nejobsáhlejší. Tento design je velice časově náročný, vezmeme-li v úvahu, že

každá část by měla trvat tři týdny. Abych stihla otestovat co nejvíce zvířat, bylo by vhodné tento design upravit. Jednou z možností je zkrátit fáze, které se opakují (1., 3., 7., 9. a 11.) na dva týdny. Některé fáze by se mohly dokonce zcela vynechat.

Nejpravděpodobnější však je, že celý tento experiment bude rozdělen do několika samostatných podexperimentů. Jednou možností je začít například 2. fází a pokračovat 10. a následně 1. Toto uspořádání by mohlo dát jasnou odpověď na otázku, který faktor hraje u rypoše stříbřitého významnější roli. Následně pokračovat 5., 10. a poté 12. fází.

7.5 Dosavadní komplikace

Zvířata použitá v experimentu byla po celou dobu v zajetí vystavena vyšší teplotě (26°C), než se kterou se běžně setkávají v přírodě. Zřejmě z toho důvodu začala při snížení teploty (20°C) výrazně hubnout. Proto jsme byli nuceni teplotu snižovat postupně – o 1°C za týden na výchozích 22°C, aby měla čas se opět aklimatizovat.

Další komplikace nastaly se zaznamenáváním průchodu jedince. Vzhledem k tomu, že se jednotlivé čtečky na systémech mezi sebou rušily, bylo nutné upravit časy jejich spínání tak, aby na systému četla vždy jen jedna čtečka a zároveň se spínaly dvě vzdálenější čtečky na jednotlivých systémech. Díky vzájemnému rušení není možné, aby běžely všechny čtečky na všech systémech zároveň. Čtecí časy – a tedy i časy, kdy jsou ostatní čtečky v systému nečinné – jsou nastaveny na 210 ms. Doba vypnutí každé jednotlivé čtečky v jednom cyklu čtení je max. 630 ms. Za tento čas se ve většině případů rypoš nepřemístí z dosahu čtečky a jeho průchod je zaznamenán. Procento úspěšnosti zaznamenání závisí i na pozici čipu uvnitř zvířete. Vhodnost použití jedince z hlediska umístění implantovaného čipu bude před pokusem otestována.

8. Použitá literatura

Akhtar, RA; Reddy, AB; Maywood, ES; Clayton, JD; King, VM; Smith, AG; Gant, TW; Hastings, MH; Kyriacou, CP; Circadian cycling of the mouse liver transcriptome, as revealed by cDNA microarray, is driven by the suprachiasmatic nucleus.; 2002, *Curr Biol* 12:540- 550

Avivi, A; Oster, H; Joel, A; Beiles, A; Albrecht, U; Nevo, E; Circadian genes in a blind subterranean mammal II:Conservation and uniqueness of the three Period homologs in the blind subterranean mole rat, *Spalax ehrenbergi* superspecies; 2002, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 18, 11718-11723

Balzer, I; Hardeland, R.; Influence of temperature on biological rhythms; 1988, *Int J Biometeorol*, 32:231-241

Bandoli, JH; Activity and plural occupancy of Burrows in Botta's Pocket Gopher *Thomomys bottae*; 1987, *The American Midland Naturalist*

Begall, S; Daan, S.; Burda, H.; Overkamp, GJF.; Activity patterns in a subterranean social rodent, *Spalacopus cyanus* (Octodontidae); 2002, *Journal of Mammalogy*, 83(1):153–158

Benedix, JHJr; A predictable pattern of daily activity by the pocket gopher; 1994, *Animal Behaviour*, 48, 501-509

Bennett, NC; The locomotory activity patterns of a functionally complete colony of *Cryptomys hottentotus hottentotus* (Rodentia: Bathyergidae); 1992, *J. Zool.*, 228,435-443

Bennett, NC; Faulkes, CG; *African Mole-rats Ecology and Eusociality*, 2000, Published by the press syndicate of the University of Cambridge

Bennett, NC; Jarvis, JUM; Davies, KC; Daily and seasonal temperatures in the burrows of African rodent moles; 1988, *S. Afr. J. Zool*, 23(3)

Ben-Shlomo, R; Ritte, U; Nevo, E; Activity pattern and Rhythm in the Subterranean Mole Rat Superspecies *Spalax ehrenbergi*; 1995, *Behavior Genetics*, Vol. 25, No. 3

Berson, DM.; Dunn, FA.; Takao, M; Phototransduction by Retinal Ganglion Cells That Set the Circadian Clock; 2002, *Science*, Vol. 295 no. 5557 pp. 1070-1073

Bhagwandin, A; Gravett, N; Lyamin, OI; Oosthuizen, MK; Bennett, NC; Siegel, JM; Manger, PR; Sleep and Wake in Rhythmic versus Arrhythmic Chronotypes of a Microphthalmic Species of African Mole Rat (*Fukomys mechowii*); 2011, *Brain Behav Evol*;78:162–183

Buhr, ED; Yoo, SH; Takahashi, JS; Temperature as a Universal Resetting Cue for Mammalian Circadian Oscillators; 2010, *Science* 330 (6002): 379-385

- Burda, H; Ear and eye in subterranean mole-rats, *Fukomys anselli* (Bathyergidae) and *Spalax ehrenbergi* (Spalacidae): progressive specialisation or regressive degeneration?; 2006, *Animal Biology*, Vol. 56, No. 4, pp. 475-486
- Busch, C; Antinuchi, CD; del Valle, JC; Kittlein, MJ; Malizia, AI; Vassallo, AI; Zenuto, RR; Population ecology of subterranean rodents, kniha *Life Underground: The Biology of Subterranean Rodents*; Eileen A. Lacey, James L. Patton, Guy N. Cameron
- Cameron, GN; Stephen, RS; Eshelman, BD; Williams, LR; Gregory MJ; Activity and burrow structure of attwater's pocket gopher (*Geomys attwateri*); 1988, *J. Mamm.*, 69(4):667-677
- Canal, MM; Piggins, HD; Resetting of the hamster circadian system by dark pulses; 2006, *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 290:R785-R792
- Cernuda-Cernuda, R; DeGrip, WJ; Cooper, HM; Nevo, E; Garcí'a-Fernande, JM.; The Retina of *Spalax ehrenbergi*: Novel Histologic Features Supportive of a Modified Photosensory Role; 2002, *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, Vol. 43, No. 7
- Cutrera, AP; Antinuchi, CD; Mora, MS; Vassallo, AI; Home-range and activity patterns of the south american subterranean rodent *Ctenomys talarum*; 2006, *Journal of Mammalogy*, 87(6):1183-1191
- Van Daele, PAGG; Faulkes, CG; Verheyen, E and Adriaens, D; African Mole-rats (Bathyergidae): a complex radiation in tropical soils. 2007 V Begall, S; Burda, H; Schleich, CE; *Subterranean Rodents: News from Underground* Springer Verlag Berlin 357–373.
- David-Gray, ZK; Cooper, HM; Janssen, JWH; Nevo, E; Foster, RG; Spectral tuning of a circadian photopigment in a subterranean 'blind' mammal (*Spalax ehrenbergi*); 1999; *FEBS (Federation of European Biochemical Societies) Letters*, Volume 461, Issue 3, Pages 343–347
- Deboer, T; Tobler, I; Running Wheel size influences circadian rhythm period and its phase shift in mice; 2000, *J Comp Physiol A*, 186:969 – 973
- Evans, JA; Gorman, MR; Split circadian rhythms of female Syrian hamsters and their offspring; 2002, *Physiology & Behavior*, Volume 76, Issues 4–5, Pages 469–478
- Faulkes, CG; Verheyen, E; Verheyen, W; Jarvis, JUM.; Bennett, NC; Phylogeographical patterns of genetic divergence and speciation in African mole-rats (Family: Bathyergidae), 2004, *Molecular Ecology*, Volume 13, Issue 3, pages 613–629, in Nigel C. Bennett, Chris G. Faulkes; *African Mole-rats Ecology and Eusociality*, 2000
- Favreau, A; Richard-Yris, MA; Bertin, A; Houdelier, C; Lumineau, S; Social influences on circadian behavioural rhythms in vertebrates; 2009, *Animal Behaviour*, Volume 77, Issue 5, Pages 983–989
- Fielden, LJ; Hickman, GC; Perrin, MR; Locomotor activity in the Namib Desert golden mole *Eremitalpa granti namibensis* (Chrysochloridae); 1992, *J. Zool., Lond.* 226, 329-344

- Freedman, MS; Lucas, RJ; Soni, B; von Schantz, M; Muñoz, M; David-Gray, Z; Foster, R; Regulation of Mammalian Circadian Behavior by Non-rod, Non-cone, Ocular Photoreceptors; 1999, *Science*, Vol. 284 no. 5413 pp. 502-504
- Gattermann, R; Johnston, RE; Yigit, N; Fritzsche, P; Larimer, S; Özkurt, S; Neumann, K; Song, Z; Colak, E; Johnston, Joan; McPhee, M. Elsbeth; Golden hamsters are nocturnal in captivity but diurnal in nature; 2008, *Biol. Lett.* 4, 253–255
- Gattermann, R; Weinandy, R; Lack of social entrainment of circadian activity rhythms in the solitary golden hamster and in the highly social mongolian gerbil; 1997, *Biological Rhythm Research*, vol. 28, pp. 85-93
- Gettinger, RD; A field study of activity patterns of *Thomomys botce*; 1984, *J. Mamm.*, 65(1):76-84
- Goel, N; Lee, TM; Social cues modulate free-running circadian activity rhythms in the diurnal rodent, *Octodon degus*; 1995, *Chronobiol. Int.* 12, 311-323
- Goel, N; Lee, TM; Sex Differences and Effects of Social Cues on Daily Rhythms Following Phase Advances in *Octodon degus*; 1995a, *Physiology & Behavior*, Vol. 58, No. 2, pp. 205-213
- Goel, N; Lee, TM; Relationship of Circadian Activity and Social Behaviors to Reentrainment Rates in Diurnal *Octodon degus* (Rodentia); 1996, *Physiology & Behavior*, Vol. 59, Nos. 4/5, pp. 817-826
- Gorman, MR; Elliott, JA; Evans, JA; Plasticity of Hamster Circadian Entrainment Patterns Depends on Light Intensity; 2003, *Chronobiology international* Vol. 20, No. 2, pp. 233–248
- Hart, L; Bennett, NC; Malpaux, B; Chimimba, CT; Oosthuizen, MK; The chronobiology of the Natal mole-rat, *Cryptomys hottentotus natalensis*; 2004, *Physiology a Behavior* Vol.82, 563-569
- Herzog, ED; Huckfeldt, RM; Circadian Entrainment to Temperature, But Not Light, in the Isolated Suprachiasmatic Nucleus; 2003, *J Neurophysiol* 90: 763–770
- Herzog, ED; Tosini, G; The mammalian circadian clock shop, 2001, *seminars in Cell & Developmental biology*, Vol. 12
- Hoogenboom, I; Daan, S; Dallinga, H; Schoenmakers, M; Seasonal change in daily timing of behaviour in the common vole *Microtus arvalis*. 1984, *Oecologia* 61: 18–31
- Hut, RA; Pilorz, V; Boerema, AS; Strijkstra, Arjen M.; Daan, Serge; Working for Food Shifts Nocturnal Mouse Activity into the Day; 2011, *PLoS ONE*, Vol. 6 Issue 3, p1; Academic Journal
- Ingram, CM; Burda, H; Honeycutt, RL; Molecular phylogenetics and taxonomy of the African mole-rats, genus *Cryptomys* and the new genus *Coetomys* Gray, 1864; *Molecular phylogenetics and evolution*, 2004, Volume: 31, Issue: 3, Pages: 997- 1014

- Jarvis, JUM; Activity patterns in the mole-rats *Tachyoryctes splendens* and *Heliophobius argenteocinereus*; 1973, *Zoologica Africana* 8 (1): 101 - 119
- Jelínek, J; Zicháček, V: *Biologie pro gymnázia*, Nakladatelství Olomouc, 2004
- Kleinknecht, S; Lack of social entrainment of free-running circadian activity rhythms in the Australian sugar glider (*Petaurus breviceps*: Marsupialia); 1985, *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 16: 189-193
- Kock, D; Ingram, CM; Frabotta, LJ; Honeycutt, RL; Burda, H; On the nomenclature of Bathyergidae and *Fukomys* n. gen. (Mammalia: Rodentia), 2006, *Zootaxa* 51–55
- Kott, O; Šumbera, R; Němec, P; Light Perception in Two Strictly Subterranean Rodents: Life in the Dark or Blue?; 2010, *PLoS ONE* 5(7): e11810.
- Kronfeld-Schor, N; Dayan, T; Activity patterns of rodents: the physiological ecology of biological rhythms; 2008, *Biological Rhythm Research*, Vol. 39, No. 3, 193–211
- Lange, S; Burda, H; Wegner, RE; Dammann, Philip; Begall, Sabine; Kawalika, Mathias; Living in a “stethoscope”: burrow-acoustics promote auditory specializations in subterranean rodents; 2006, *Naturwissenschaften*, Volume: 94 Issue: 2 Pages: 134-138
- Leloup; GA; Modeling the mammalian circadian clock: Sensitivity analysis and multiplicity of oscillatory mechanisms; *Journal of Theoretical Biology* 230 (2004) 541–562
- Liu, Y; Mellow, M; Loros, Jennifer J.; Dunlap, Jay C.; How Temperature Changes Reset a Circadian Oscillator; 1998, *Science*, 281, 825–829
- Lovegrove, BG; Heldmaier, G; Ruf, T.; Circadian activity rhythms in colonies of 'blind' mole-rats, *Cryptomys damarensis* (Bathyergidae); 1993, *S.-Afr. Tydskr. Dierk.*,28(1)
- Lovegrove, BG; Muir, A; Circadian Body Temperature Rhythms of the Solitary Cape Mole Rat *Georychus capensis* (Bathyergidae); 1996, *Physiology & Behavior*, Vol. 60, No. 3, pp. 991-998
- Lovegrove, BG; Papenfus, ME; Circadian activity rhythms in the solitary Cape mole-rat (*Georychus capensis*: Bathyergidae) with some evidence of splitting; 1995 *Physiology & Behavior*, Vol. 58, 679-685
- Lövy, M; Šklíba, J; Šumbera, R; Spatial and Temporal Activity Patterns of the Free-Living Giant Mole-Rat (*Fukomys mechowii*), the Largest Social Bathyergid; 2013, *PLoS ONE* 8(1): e55357. doi:10.1371/journal.pone.0055357
- Marchant, EG; Mistlberger, RE; Entrainment and Phase Shifting of Circadian Rhythms in Mice by Forced Treadmill Running; 1996, *Physiology & Behavior*, Vol. 60, No. 2, pp. 657-663
- Marhold, S; Wiltschko, W; A magnetic polarity Compass for direction finding in a subterranean mammal; 1997, *Naturwissenschaften* 84, 421-423

- Marimuthu, G; Rajan S and Chandrashekar MK; Social Entrainment of the Circadian Rhythm in the Flight Activity of the Microchiropteran Bat *Hipposideros speoris*; 1981, *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 8:147-150
- McDonald, DW; Atkinson, RPD; Blanchard, G; Spatial and temporal patterns in the activity of European moles; 1997, *Oecologia*, 109: 88 - 97
- Mendoza, J; Circadian clocks: setting time by food; 2006, *Journal of Neuroendocrinology*, Feb;19(2):127-37.
- Mendoza, J; Angeles-Castellanos, M; Escobar, C.; A daily palatable meal without food deprivation entrains the suprachiasmatic nucleus of rats; 2005, *The European journal of neuroscience*; 22(11):2855-62.
- Mendoza, J; Gourmelen, S; Dumont, S; Sage-Ciocca, Dominique; Pévet, Paul; Challet, Etienne; Setting the main circadian clock of a diurnal mammal by hypocaloric feeding; 2012, *The Journal of Physiology*, Volume 590, Issue 13, pages 3155–3168
- Meyer-Bernstein, EL; Jetton, AE; Matsumoto, SI; Markuns, JF; Lehman, MN; Bittman, EL; Effects of suprachiasmatic transplants on circadian rhythms of neuroendocrine function in golden hamsters.; 1999, *Endocrinology*,140(1):207-18.
- Miyamoto, Y; Sancar, A; Vitamin B2-based blue-light photoreceptors in the retinohypothalamic tract as the photoactive pigments for setting the circadian clock in mammals; 1998, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 95, pp. 6097–6102, *Biochemistry*
- Němec, P; Cveková, P; Benada, O; Wielkopolska, E; Olkowicz, S; Turlejski, K; Burda, H; Bennett, NC; Leo P; The visual system in subterranean African mole-rats (Rodentia, Bathyergidae): Retina, subcortical visual nuclei and primary visual cortex; 2008, *Brain Research Bulletin*, Volume 75, Issues 2–4, Pages 356–364
- Nevo, E; Adaptive convergence and divergence of subterranean mammals; 1979, *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 10:269-308
- Nikaido, SS; Johnson, H; Daily and Circadian Variation in Survival From Ultraviolet Radiation in *Chlamydomonas reinhardtii*; *Photochemistry and Photobiology*, 2000, 71(6): 758–765
- Ocampo-Garcés, A; Mena, W; Hernández, F; Cortés, N; Palacios, AG; Circadian chronotypes among wild-captured west Andean octodontids; 2006, *Biol Res* 39: 209-220
- Oosthuizen, MK; Cooper, HM; Bennett, NC; Circadian rhythms of locomotor activity in solitary and social species of African mole-rats (Family: Bathyergidae); 2003, *Journal of biological rhythms*, Vol. 18, No.6
- Oster, H; Avivi, A; Joel, A; Urs A; Nevo, E; Switch from Diurnal to Nocturnal Activity in *S. ehrenbergi* Is Accompanied by an Uncoupling of Light Input and the Circadian Clock; 2002, *Current Biology*, Vol. 12, 1919–1922

- Rado, R; Shanas, U; Zuri, I; Terkel, J; Sesonal activity in the blind mole rat (*Spalax ehrenbergi*); 1993, *Can. J. Zool.*, 71: 1733-1737
- Rado, R; Terkel, J; Circadian activity of the blind mole rat, *spalax ehrenbergi*, monitored by radio telemetry, in seminatural and natural conditions; 1989, *Environmental Quality and Ecosystem Stability Vol. IV/B*, Israel: Israel Society for Ecology and Environmental Quality Sciences, p. 391–400.
- Rensing, L; Ruoff, P; Temperature effect on entrainment, phase lifting, and amplitude of circadian clocks and its molecular bases; 2002, *Chronobiology International*, Vol. 19, No. 5, pp. 807–864
- Rezende, EL; Cortes, A; Bacigalupec, LD; Nespolid, RF; Francisco B; Ambient temperature limits above-ground activity of the subterranean rodent *Spalacopus cyanus*; 2002, *Journal of Arid Environments*
- Riccio, AP; Goldman, BD; Circadian rhythms of locomotor activity in naked mole-rats (*Heterocephalus glaber*); 2000, *Physiology a Behavior* 71, 1-13
- Schibler, U; Ripperger, Juergen; Brown, Steven A.; Peripheral Circadian Oscillators in Mammals: Time and Food; 2003, *Journal of biological rhythms*, Vol. 18 No. 3
- Schibler, U; Sassone-Corsi, Paolo; A Web of Circadian Pacemakers; 2002, *Cell*, Vol. 111, 919–922, December 27
- Schöttner, K; Oosthuizen, MK; Broekman, M; Bennett, NC; Circadian rhythms of locomotor activity in the Lesotho mole-rat, *Cryptomys hottentotus* subspecies from Sani Pass, South Africa; 2006, *Physiology a Behavior* 89, 205-212
- Sharma, VK; Adaptive Significance of Circadian Clocks; 2003, *Chronobiology International*, Vol. 20, No. 6, pp. 901–919
- Slloten, HA; Krekling, S; Sicard, B; Pévet, P; Daily infusion of melatonin entrains circadian activity rhythms in the diurnal rodent *Arvicanthis ansorgei*; 2002, *Behavioural Brain Research*, Vol. 133, Issue 1
- Šklíba, J; Šumbera, R; Chitaukali, WN; Burda, H; Determinants of daily activity paterns in a free-living afrothropical solitary subterranean rodent; 2007, *Journal of mammalogy*, 88(4): 1009-1016
- Šklíba, J; Šumbera, R; Chitaukali, WN; Burda, H; Home-range dynamics in a solitary subterranean rodent; 2009, *Ethology*, Vol. 115, 217-226
- Šumbera, R; Chitaukali, WN; Elichová, M; Burda, H; Microclimatic stability in burrows of an Afrotropical solitary bathyergid rodent, the silvery mole-rat; 2004, *J. Zool.*, 263, 409–416
- Tobler, I; Herrmann, M; Cooper, HM; Negroni, J; Nevo, E; Achermann, P; Rest-activity rhythm of the blind mole rat *Spalax ehrenbergi* under different lighting conditions; 1998, *Behavioural Brain Research*, Vol. 96, Issues 1–2, 173–183

- Tomotani, BM; Flores, DEFL; Patri; Valentinuzzi, VS; Field and Laboratory Studies Provide Insights into the Meaning of Day-Time Activity in a Subterranean Rodent (*Ctenomys aff. knighti*), the Tuco-Tuco; 2012, PLoS ONE 7(5): e37918. doi:10.1371
- Urrejola, D; Lacey, EA; Wieczorek, JR; Ebensperger, LA; Daily activity patterns of free-living cururos (*Spalacopus cyanus*); 2005, Journal of Mammalogy, 86(2):302-308
- Urs, A; Eichele, G; The mammalian circadian clock; 2003, Current Opinion in Genetics & Development, Pages 271–277
- Valentinuzzi, VS; Oda, GA; Araújo, JF; Ralph, MR; Circadian pattern of wheel-running activity of south american subterranean rodent (*Ctenomys cf knightii*); 2009, Chronobiology International, 26(I): 14-27
- Vasicek, CA; Oosthuizen, MK; Cooper, HM; Bennett, NC; Circadian rhythms of locomotor activity in the subterranean Moshona mole rat, *Cryptomys darlingi*; 2005, Physiology & Behavior 84, 181 – 191
- de Vries, JL; Oosthuizen, MK; Sichilima, AM; Bennett, NC; Circadian rhythms of locomotor activity in Ansell's mole-rat: are mole-rat's clocks ticking? 2008, Journal of Zoology 1-7
- Weisgerber, D; Redlin, U; Mrosovsky, N; Lengthening of Circadian Period in Hamsters by Novelty-Induced Wheel Running; 1997, Physiology & Behavior, Volume 62, Issue 4, Pages 759–765
- Zelová, J; Šumbera, R; Sedláček, F; Burda, H; Energetics in the solitary subterranean rodent, the silvery mole-rat, *Heliophobius argenteocinereus*, and the allometry of RMR in African mole-rats (*Bathyergidae*).; 2007, Comp Biochem Physiol A; 147(2): 412-419