

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká fakulta

**Genetická diverzita afrických plchů rodu
Graphiurus (Rodentia, Gliridae)**

Bakalářská práce

Edita Lišková

Školitel: Mgr. Jarmila Krásová

Konzultant: doc. Radim Šumbera Ph.D.

České Budějovice 2021

Lišková E. (2021). Genetická diverzita afrických plchů rodu *Graphiurus* (Rodentia, Gliridae) [Genetic diversity of African dormice, genus *Graphiurus* (Rodentia, Gliridae). Bc Thesis, in Czech] – 32 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace:

The African dormice from genus *Graphiurus* are endemic in sub-Saharan Africa and could be found in a variety of habitats from tropical lowland rainforests to arid savanna woodlands. The taxonomy and systematics of this genus are still unclear because no genetic study has included all known taxa. There are 15 species currently recognized. For my thesis, I sequenced mitochondrial cytochrome *b* from the most comprehensive up-to-date material, mostly from eastern and western Africa. Species delimitation under maximum likelihood and Markov chain Monte Carlo revealed the presence of 22 molecular taxonomic units (MOTUs). Phylogenetic analysis based on bayesian inference did not statistically resolve all relationships among identified MOTUs. Future studies concerning taxonomy and phylogenetic relationships of *Graphiurus* species should therefore include more genetic data.

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.

V Českých Budějovicích dne 9.4. 2021

.....

Poděkování

Chtěla bych velmi poděkovat své školitelce Mgr. Jarmile Krásové za odborné vedení práce, podmětné připomínky, pomoc a čas, který mi věnovala během mé práce. Ráda bych poděkovala především za cenné rady v laboratorním směru a seznámením s izolací DNA a PCR metodami. Dále bych chtěla poděkovat Prof. Mgr. Radimu Šumberovi, Ph.D., za konzultace ohledně celkového zpracování práce. Děkuji také Violaine Nicolas, Christiane Denys a Václavu Mikešovi za poskytnutí tkáňových vzorků, které výrazně rozšířily můj dataset o vzorky ze západní Afriky a Kamerunu. V neposlední řadě chci poděkovat své rodině za velkou podporu během mého celého studia.

OBSAH

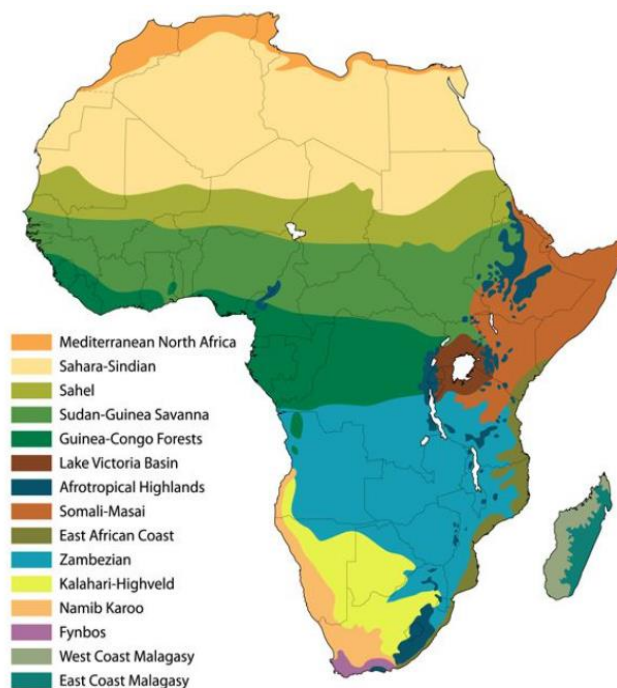
1. ÚVOD	5
1.1. Historický vývoj současné Afriky	5
1.1.1. Diverzita afrických biotů	5
1.1.2. Formování africké fauny savců	5
1.1.3. Formování fauny afrických hlodavců	7
1.2. Hlodavci jako modelová skupina pro studium historických změn daného území	7
1.3. Čeleď Gliridae	8
1.4. Rod <i>Graphiurus</i>	9
2. Cíle práce	11
3. Výsledky	11
3.1. Literární část	11
3.1.1. Druhy rodu <i>Graphiurus</i> s rozsáhlým areálem rozšíření	11
3.1.2. Druhy rodu <i>Graphiurus</i> rozšířené v centrální Africe	14
3.1.3. Druhy rodu <i>Graphiurus</i> s výskytem v centrální a západní Africe	16
3.2. Praktická část	20
3.2.1. Materiál	20
3.2.2. Metody	20
3.2.3. Výsledky analýzy cytochromu <i>b</i> a rozšíření MOTU	22
3.2.4. Tělesné rozměry vybraných MOTU	23
3.2.5. Diskuze	24
4. Závěr	25
5. Literatura	25
6. Přílohy	30

1. ÚVOD

1.1. Historický vývoj současné Afriky

1.1.1. Diverzita afrických biomů

Afrika se vyznačuje nejen vysokou diverzitou fauny a flóry, ale také biomů (Obr. 1). Můžeme zde nalézt jak vlhké rovníkové deštné lesy, tak i dvě rozlehlé pouštní oblasti: největší poušť světa Saharu a poušť Namib, která se pyšní titulem nejstarší pouště světa (Barnard, 1998). Mezi těmito extrémami se nachází mozaika lesa a savany a také savany s dominancí stromů z čeledi bobovitých (*Fabaceae*), které se na jihovýchodě Afriky nazývají Miombo, zatímco



Obr. 1: Mapa afrických biomů (www.1000birds.com).

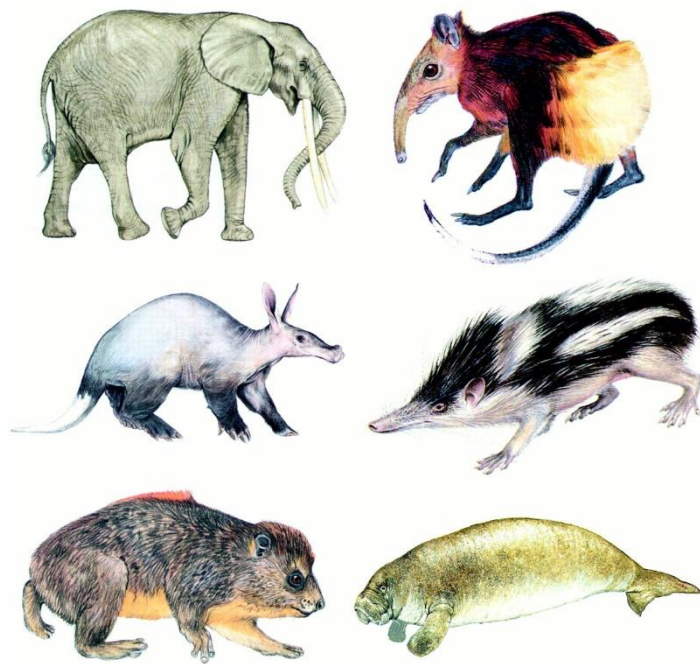
v afroalpínské habitaty, které se vyskytují i na ostatních, níže položených horách: horské louky, vřesoviště a horské lesy. Od zbytku Afriky se významně odlišuje Kapská floristická oblast (Mittermeier a kol., 2005).

1.1.2. Formování africké fauny savců

Placentální savci pravděpodobně vznikli na území dnešní Asie, jak nasvědčuje nález fosilie pojmenované *Juramaia sinensis* ze severozápadní Číny. Její stáří je odhadováno na 160 milionů let (Luo a kol., 2011). Nejstarší savci se potom na africký kontinent dostali před 80 až 92 miliony lety a dali vznik skupině Afrotheria (Springer a kol., 2003), která sdružuje zdánlivě

na severozápadě Doka (Kingdon, 2015). Savanám dominují trnité akácie a v nejsušších oblastech savany přecházejí až v polopoušť (jako například v pásmu Sahelu, Obr. 1). Nedílnou součástí mozaiky afrických biomů jsou také horské oblasti. Celkem tři nejvyšší oblasti (Kilimandžáro, Mount Keňa, a Ruwenzori) pokrývají postupně mizející horské ledovce (Veettil a Kamp, 2019), které s klesající nadmořskou výškou přecházejí

morfoloicky nesourodou skupinu savců (Obr. 2), jejichž příbuznost byla odhalena až pomocí molekulárně-genetických metod (Springer a kol., 1997). Další skupiny savců se na africký

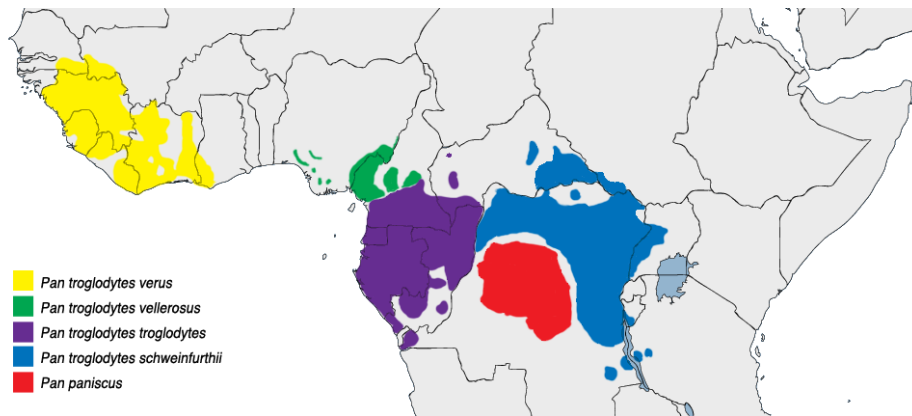


Obr. 2. Afrotheria (převzato z Hedges, 2001).

kontinent dostaly později během série invazí z Eurasie. První velká invaze proběhla před 22-23 miliony lety a umožnila příchod předků nosorožců, kančilů a pravých antilop (Kingdon, 2013). Další výměny pokračovaly až do období před asi 5 miliony let a významně se podílely na složení dnešní africké fauny savců (Turner a Antón, 2004; Kingdon, 2013). Zároveň i někteří afričtí emigranti, jako například chobotnatci, byli úspěšní mimo Afriku a osídlili téměř celý svět (Shoshani, 1998).

Formování současné savčí biodiverzity bylo významně ovlivněno během plio – pleistocenního období (přibližně posledních 5,3 milionu let; deMenocal, 2004). Toto období bylo výrazně ovlivněno střídáním chladných a suchých podmínek, při kterých docházelo k rozšiřování savan, s teplejšími a vlhčími podmínkami, při kterých se rozšiřovaly lesní porosty. Mezi přesvědčivé důkazy o střídání suchých a vlhkých klimatických period patří analýzy mořských sprašových sedimentů usazujících se na západním a východním pobřeží subtropické severní Afriky, analýzy pylových zrn konzervovaných v sedimentech jezer, nebo analýzy stabilních izotopů půdních karbonátů a změny ve stavbě jílových minerálů (Potts, 2013). Epizody, ve kterých docházelo k rozšiřování lesních porostů a ústupu savan, se udály v intervalech před 3,4 – 3,2; 2,8 – 2,6; 2,4 – 2,2 a 2,0 – 1,8 miliony let (Bobe a Behrensmeyer, 2004).

Velkou roli ve formování současné biodiverzity hrály v kombinaci se změnami klimatu také přírodní bariéry, které zamezují genetické disperzi. Mezi nejvýznamnější patří riftová údolí Velké příkopové propadliny spolu s rozsáhlými jezery Malawi a Tanganika. Neprostupnou bariéru pro některé druhy tvoří také řeka Kongo, která od sebe odděluje například šimpanze učenlivé (*Pan troglodytes*) a šimpanze bonobo (*Pan paniscus*) (Obr. 3).



Obr. 3: Rozšíření čtyř poddruhů šimpanze učenlivého a šimpanze bonobo (<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Pan.svg>).

1.1.3. Formování fauny afrických hlodavců

Hlodavci jsou jednou z nejranějších radiací moderních savců, která zřejmě proběhla už v paleocénu v Eurasii. Takto staří hlodavci nejsou v Africe známi, nejstarší záznam pochází z raného Eocénu (Winkler a kol., 2010). Aktuální diverzita hlodavců v Africe je výsledkem asi 12 různých invazí (Kingdon, 2013).

Nejstarší hlodavci nalezení na území Afriky, jejichž fosílie jsou staré asi 50 milionů let, patří do čeledi Zegdomyidae a jedná se o pravděpodobně o předky dnešních šupinatek (Kingdon, 2013). Ve spodním eocénu došlo na území afrického kontinentu k rozrůznění zástupců dikobrazočelistních a Anomaluromorpha. Izolace Afriky během středního eocénu až oligocénu vedla ke vzniku řady endemických čeledí, například skalních krys (Petromuridae) a rypošovitých (Bathyergidae). Pozemské propojení Eurasie a Afriky během středního Miocénu umožnilo imigraci myšovitých hlodavců (Muridae), kteří se následně rozšířili po celém kontinentu a přizpůsobili se životu v nejrůznějších stanovištích od afroalpínských oblastí až po deštné lesy (Monadjem a kol., 2015).

1.2. Hlodavci jako modelová skupina pro studium historických změn daného území

V minulosti se většina publikovaných prací zabývajících se genetickou diverzitou afrických savců zaměřovala na velké druhy (např. Lorenzen a kol., 2012), nicméně v současnosti se do povědomí stále více dostávají drobní savci a tedy i hlodavci (např. Mikula a kol., 2021; Voelker a kol., 2021; Hánová a kol., 2021). Právě hlodavci přitom představují velmi vhodnou modelovou skupinu pro studium historických procesů ovlivňujících současné druhové rozložení díky svým vlastnostem, jako je krátký reprodukční cyklus a relativně omezená

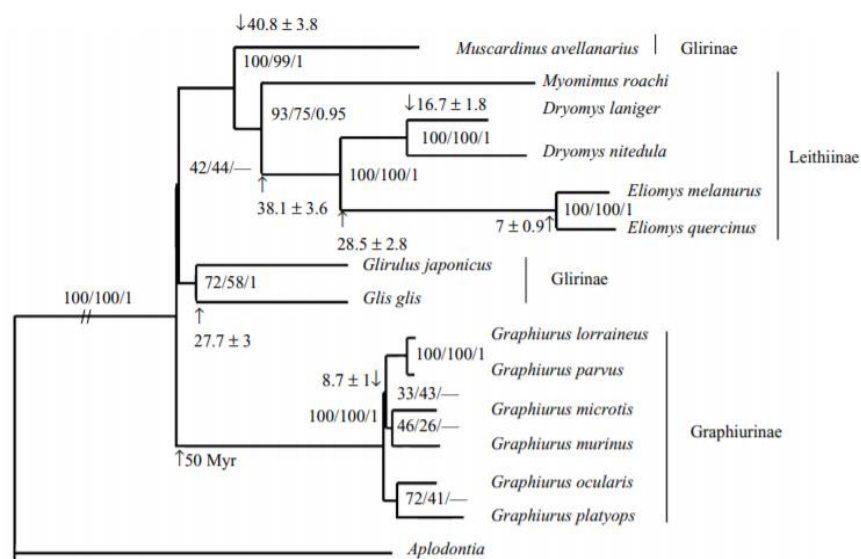
schopnost disperze. Co víc, současné rozšíření afrických hlodavců není ve srovnání s velkými savci tolik ovlivněno lovem.

Recentní molekulární studie nasvědčují tomu, že taxonomie založená pouze na morfologických znacích je často zavádějící (D'Elia a kol., 2019) a ve skupině drobných afrických savců tak stále čeká mnoho rodů na druhovou revizi, která bude založena na genetických datech. Jedním z takových rodů, o kterých prozatím máme jen velmi útržkovité informace, je i čeleď Gliridae zahrnující rod afrických plchů *Graphiurus*.

1.3. Čeleď Gliridae

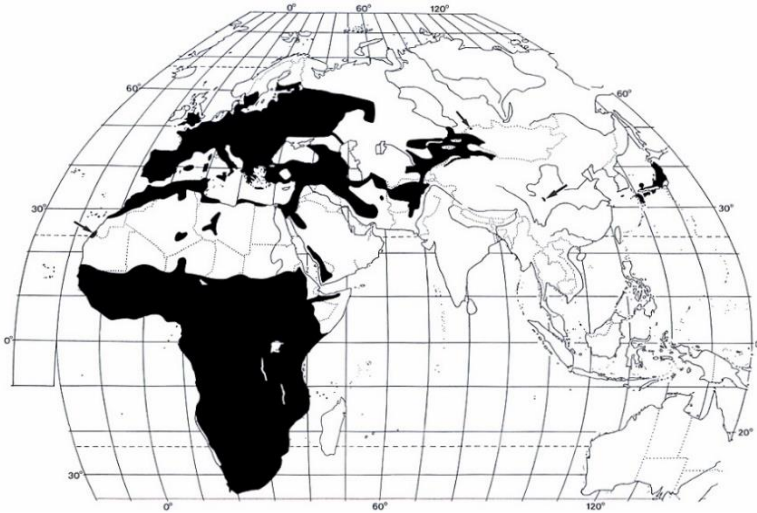
Zástupci čeledi plchovití (Gliridae, syn. Myoxidae) jsou malí až středně velcí hlodavci, pro které je charakteristické přecházení nepříznivého období pomocí torporu nebo, jedná-li se o delší období, hibernace. Díky tomu si vysloužili i své anglické pojmenování Dormice (původ má ve francouzském dormir = spát). Většina plchovitých aktivuje především v noci, což se na jejich vzhledu odráží nápadně velkýma očima. Den tráví ukrytí v hnízdě, za které může sloužit stromová dutina nebo skalní štěrbin, někteří plši si mohou hnízdo stavět z rostlinných materiálů i sami. Všichni zástupci plchovitých jsou všežravci, ačkoli se liší v podílu rostlinné a živočišné složky (Wilson a kol., 2017).

Plchovití zahrnuje celkem 29 druhů ve třech podčeledích a devíti rodech: Glirinae (*Glirurus* a *Glis*), Leithiinae (*Chaetocauda*, *Dryomys*, *Eliomys*, *Muscardinus*, *Myomimus* a *Selevinia*) a monotypickou podčeleď Graphiurinae (*Graphiurus*) (Wilson a kol., 2017). Vzájemné vztahy podčeledí znázorňuje Obr. 4.



Obr. 4: Fylogram znázorňující vzájemné vztahy v rámci čeledi Gliridae (Montgelard a kol., 2003).

Zatímco zástupci podčeledí Glirinae a Leithiinae jsou rozšíření v palearktické oblasti a v centrální a jihozápadní Asii, rod *Graphiurus* se vyskytuje pouze v subsaharské Africe (Obr. 5). Nunome a kol. (2007) zkoumali fylogenetické vztahy mezi šesti druhy, které



Obr. 5: Rozšíření zástupců čeledi Gliridae (Smith, 2012).

(*Glis* a *Glirulus*), Leithiinae (*Dryomys*, *Eliomys* a *Muscardinus*) a Graphiurinae tvoří monofyletické jednotky. Výsledky studie také ukázaly, že původ rodů *Graphiurus*, *Glis*, *Gliriscus* a *Muscardinus* pochází z období pozdního oligocénu až raného miocénu, což je v souladu s fosilními záznamy (Nunome a kol., 2007).

reprezentují všechny tři podčeledi čeledi Gliridae (Glirinae, Graphiurinae a Leithiinae) pomocí sekvencí tří jaderných genů. Fylogenetické stromy rekonstruované na základě metod maximální parsimonie, maximální věrohodnosti a Bayesovské interference potvrdily, že podčeledi Glirinae

1.4. Rod *Graphiurus*

Rod *Graphiurus* tvoří podle molekulárních dat jednu ze tří hlavních linií čeledi Gliridae. Tato linie se oddělila brzy během evoluce čeledi, ačkoli aktuálně nejsou žádná fosilní data, která by tuto hypotézu podporovala (Mongelard a kol., 2003).

Podle kalibrace molekulárních hodin je rod *Graphiurus* datován do období středního miocénu (10 – 11 mil. let), tedy dříve, než je jeho nejstarší fosilní nález z roku před 5 miliony let. Toto tvrzení se shoduje s výskytem plcha *Otaviglis* (11 mil. let). Předchůdci rodu *Graphiurus* pravděpodobně kolonizovali africký kontinent z Eurasie přes Arabský poloostrov (Montgelard a kol., 2003). První radiace probíhala před 8-10 miliony lety (Montgelard a kol., 2003).

Současná taxonomie rozlišuje 15 druhů rodu *Graphiurus* (Obr. 6) (Wilson a kol., 2017), což z něj činí druhově nejbohatší rod plchovitých (ostatní rody čítají maximálně tři druhy; Wilson a kol., 2017). V roce 1974 bylo známo pouze 5 druhů rodu *Graphiurus* (*G. crassicaudatus*, *G. parvus*, *G. surdus*, *G. kelleni* a *G. lorraineus*) a v roce 1978 ve své práci

popsal Genest-Villard druhů 7 (*G. ocularis*, *G. microtis*, *G. murinus*, *G. platyops*, *G. crassicaudatus*, *G. lorraineus* a *G. kelleni*). V roce 2005 Holdenová ve své knize popisuje 14 druhů (*G. nagtglasii*, *G. crassicaudatus*, *G. angolensis*, *G. christyi*, *G. johnstoni*, *G. kelleni*, *G. lorraineus*, *G. microtis*, *G. monardi*, *G. murinus*, *G. ocularis*, *G. platyops*, *G. rupicola*, *G. surdus*) (Holden, 2005) a o tři roky později Holdenová a Levine (2009) popsali poslední objevený druh *G. walterverheyeni*.



Obr. 6: 15 druhů rodu *Graphiurus*. 1. *G. nagtglasii*, 2. *G. crassicaudatus*, 3. *G. walterverheyeni*, 4. *G. angolensis*, 5. *G. christyi*, 6. *G. johnstoni*, 7. *G. kelleni*, 8. *G. lorraineus*, 9. *G. microtis*, 10. *G. monardi*, 11. *G. murinus*, 12. *G. ocularis*, 13. *G. platyops*, 14. *G. rupicola*, 15. *G. surdus* (Wilson a kol., 2017).

Všechny druhy rodu *Graphiurus* se vyskytují převážně ve stromových habitatech, jako jsou lesy, buše, kde využívají dutiny, nebo štěrbinu pro úkryt. Mohou osidlovat zahrady, plantáže a lidská obydlí. Výjimkou jsou pouze tři druhy, pro které jsou typické skalní habitaty (*G. murinus*, *G. kelleni*, *G. ocellaris*; Wilson a kol. 2017).

Jedná se o noční živočichy, ačkoliv nejméně u jednoho druhu byla zjištěna aktivita za svítání (např. *G. platyops*) a u dalšího aktivita dokonce během dne (*G. angolensis*). Většina druhů je všežravá, konzumující ovoce, oříšky, semena, nebo hmyz. Některé druhy, jako např. *G. murinus* upadají do torporu během období, kdy je nízká potravní nabídka (Wilson a kol., 2017).

Typickým zbarvením všech druhů je šedá, zlatá, či hnědá hřbetní srst s bílou, až světle šedou břišní stranou. Hmotnost se pohybuje v rozmezí mezi 12 až 110 gramy. Mezi malé druhy vážící zhruba 12-24 gramů patří např. *G. kelleni*, *G. crassicaudatus*, nebo *G. lorraineus*. Mezi velké druhy se řadí *G. monardi*, *G. ocellaris*, či *G. nagtglasii*, které váží 90 – 110 gramů. Délka ocasu je u všech druhů přibližně stejná (75-95 % délky těla). Výjimkou je *G. crassicaudatus*, jehož délka ocasu je 65 % délky těla.

2. Cíle práce

Cílem této práce je (1) detailní rešerše dostupných informací o jednotlivých druzích rodu *Graphiurus* s důrazem na taxonomii, mezidruhové odlišnosti, popis výskytu rozšíření a přirozených habitatů, (2) získání sekvencí cytochromu *b* z dostupných tkáňových vzorků jedinců ze západní, jižní a východní Afriky, (3) určení počtu molekulárních taxonomických jednotek (MOTU) přítomných v datasetu a (4) výpočet fylogenetických vztahů mezi jednotlivými MOTU. Výsledné MOTU budou tam, kde to bude možné, identifikovány s popsány druhy rodu *Graphiurus*.

3. Výsledky

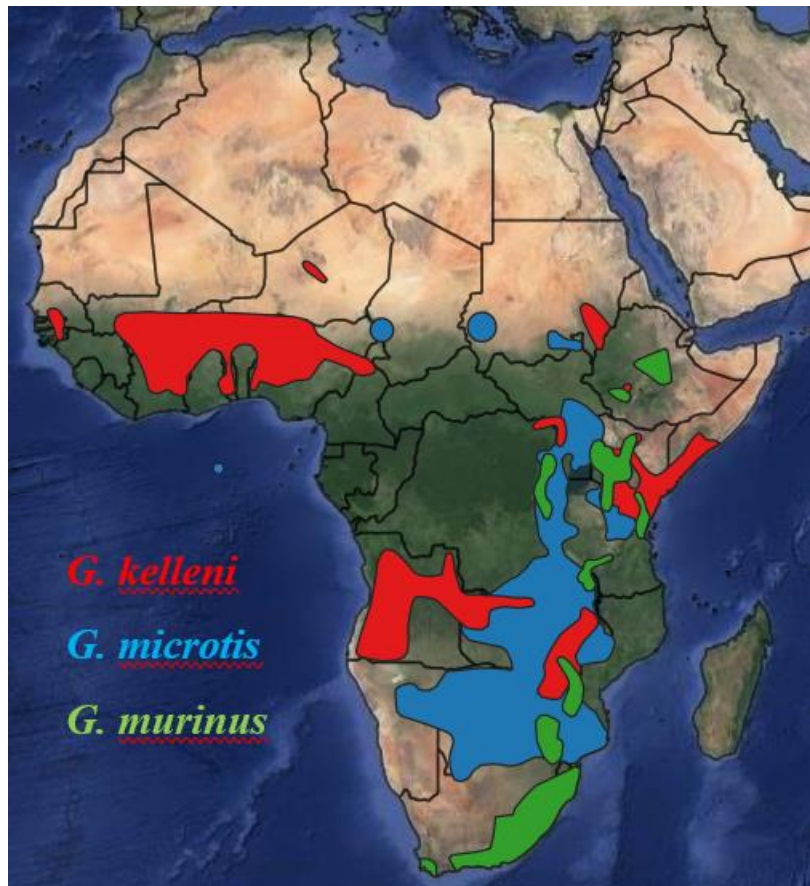
3. 1. Literární část

3.1.1. Druhy rodu *Graphiurus* s rozsáhlým areálem rozšíření

Graphiurus microtis (Noack, 1887)

Široce rozšířený taxon, který se ostrůvkovitě vyskytuje od jižního Súdánu, Eritrei a Etiopie přes východní a částečně i centrální Afriku až po Jihoafrickou republiku (Obr. 7).

Původně byl zahrnut do rodu *Eliomys* (Wilson a kol., 2017). Jméno *microtis* bylo historicky používáno jako synonymum ke jménu *murinus*. *Graphiurus microtis* byl také považován za savanový poddruh lesního *G. murinus* (Genest-Villard, 1978). Ačkoli je nyní *G. microtis* považován za samostatný druh (Holden, 2005), mnoho jeho synonymů zůstalo



Obr. 7: Rozšíření druhů rodu *Graphiurus* s těžištěm výskytu v subsaharské Africe.

spojených s *G. murinus*. V rámci *G. microtis* se objevuje velká morfologická variabilita (i ve tvaru a rozměrech lebky) a je proto pravděpodobné, že se může jednat o komplex dvou nebo více druhů (Dieterlen a Happold, 2013). Lebka jedinců z Botswany je protáhlá a plochá, zatímco lebka jedinců z Namibie krátká a klenutá (Dieterlen a Happold, 2013). Zajímavé jsou i odlišnosti v počtu chromozomů u různých populací. Populace z jižní Afriky mají 46 chromozomů, zatímco populace z Malawi 52 chromozomů (Wilson a kol., 2017).

Je to jeden ze středně velkých afrických plchů s hmotností mezi 18 – 43 g (Wilson a kol., 2017). Ocas bývá středně dlouhý s bílou špičkou (dosahuje zhruba 76% délky těla). Jednotlivé populace se zřetelně liší zbarvením srsti. Zatímco jedinci z Namibie a Botswany mají šedě zbarvená záda, jedinci z Ugandy a Súdánu jsou spíše hnědí (Kingdon a kol., 2013). *Graphiurus*

microtis obývá především savany s větším podílem stromů, galeriové lesy a skalnaté oblasti. Je běžný i v blízkosti lidských obydlí.

***Graphiurus murinus* (Desmarest, 1822)**

Graphiurus murinus se ostrůvkovitě nachází v jižní a východní Africe, od střední a jihozápadní Etiopii, západní a jihovýchodní Keni, přes východní a jihozápadní Ugandu, západní Rwandu a Burundi, Tanzánii a Malawi, okrajově se nachází v severovýchodní Zambii, východní Zimbabwe, krajně i na jihu a západu Mozambiku, až po jižní Afriku (Obr. 7).

Původně byl tento druh popsán v rodě *Myoxus*. V minulosti mnoho autorů nerozlišovalo rozdíly mezi *G. murinus* a *G. microtis*, jejichž názvy byly považovány za synonyma (viz *Graphiurus microtis*; Wilson a kol., 2017). Ačkoli se *G. microtis* a *G. murinus* často různě zaměňují, obecně je *G. murinus* považován za druh spjatý s lesy, zatímco *G. microtis* se stromovými oblastmi savanového typu.

Stejně jako pro *G. ocellaris*, *G. kelleni* a *G. platyops* je pro *G. murinus* typický hřbetní pruh šedivě stříbrné barvy. Dále je typické zlaté, nebo šedo hnědé zbarvení hřbetní srsti a světle zbarvené břicho (Webb a Skinner 1994; Holden, 2005). *Graphiurus murinus* patří k malým až středně velkým africkým plchům, váží 24-34 gramů (Wilson a kol., 2017). Délka ocasu je zhruba 84 % celkové délky těla.

Nejčastěji, jak napovídá anglický název tohoto druhu Woodland Dormouse, se nachází v lesních habitatech. Vyskytuje se i ve vysokých nadmořských výškách a to až 4100 m. n. m. a v biotických zónách afroantánním a afroalpinském pásmu ve východní a jižní Africe (Wilson a kol., 2017).

***Graphiurus kelleni* (Reuvens, 1890)**

Graphiurus kelleni se ostrůvkovitě vyskytuje napříč subsaharskou Afrikou v Senegalu, Gambii, Guinea-Bissau, ve východním a jihovýchodním Súdánu a Somálsku, dále v jižní a jihozápadní Zimbabwe a v západní, centrální a jižní Angole, výskyt je předpokládán také v Jihoafrické republice (Obr. 7; Wilson a kol., 2017). Původně byl tento druh popsán v rodě *Eliomys*. V roce 1993 byly Holdenovou popsány tři populace malých afrických hlodavců jako tři odlišné druhy - *G. kelleni*, *G. parvus* a *G. olga* (Holden, 1993), avšak následné morfometrické analýzy lebek nasvědčují tomu, že se jedná pouze o jeden druh (Holden, 2013).

Typicky se vyskytují v křovinatých savanách, u řek, ve skalách, ale i v lidských obydlích. Pozorováni byli na palmách, akáciích, v kukuřičných polích, nebo ve skalních dutinách. Jedná se o druh preferující přírodní lesní porosty (Wilson a kol., 2017).

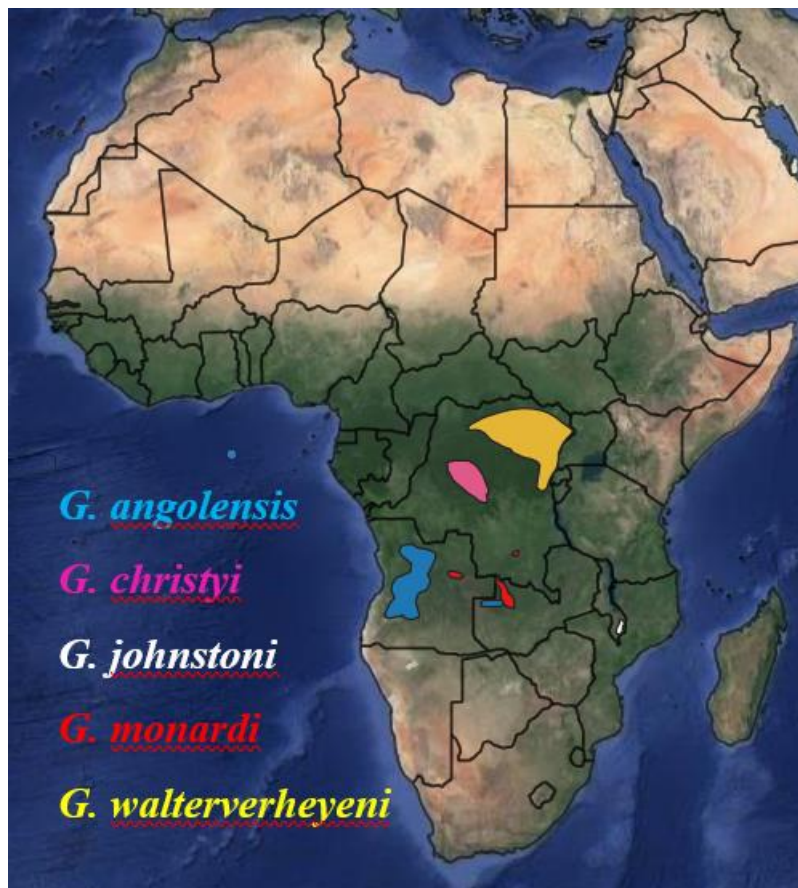
Vzrůstem patří k menším druhům rodu *Graphiurus* (váha 15 -17 gramů). Vyznačuje se šedým, někdy zlatým zbarvením hřbetní strany, břišní strana je většinou světlá. Délka ocasu je zhruba 82 % délky těla (Wilson a kol., 2017).

3.1.2. Druhy rodu *Graphiurus* rozšířené v centrální Africe

Graphiurus angolensis (de Winton, 1897)

Jak napovídá název, *G. angolensis* se vyskytuje převážně v Angole, a to v její centrální a jižní části. Dále pak vyskytuje v severozápadní Zambii (Obr. 8, Wilson a kol., 2017).

Tento druh se vzhledem a znaky na lebce podobá *G. platyops* a *G. rupicola* (oba druhy se vyskytují v jižní Africe). *G. angolensis* byl původně popsán v rodu *Graphiurus*. Ellerman a kol. (1953) zahrnul *G. angolensis* jako poddruh *G. platyops* a Gennest – Villard označil v roce 1978 *G. angolensis* jako poddruh *G. murinus* (Wilson a kol., 2017). V roce 1974 a 1978 Ansell zjistil, že morfologie a ekologie populace *G. angolensis* na severozápadě Zambie je podobná



Obr. 8: Druhy rodu *Graphiurus* rozšířené v centrální Africe.

s *G. platyops* a *parvus*, označil *G. angolensis* jako jejich poddruh a tím pokračoval v hypotéze Ellermana a jeho kolegů (Wilson a kol., 2017). Následně se ale ukázalo, že *G. angolensis* má

morfologické (odlišné zbarvení srsti) a ekologické odlišnosti (*G. platyops* se nachází primárně ve skalnatém prostředí), a byl označen jako samostatný druh (Holden, 2005).

Jedná se o druh s tmavě hnědou hřbetní srstí, někdy zlatou, nebo jednotvárně hnědou. Břišní strana je bíle, krémově, nebo našedivěle zbarvená. Patří k menším, až středně velkým druhům afrických plchů, zatím bez uvedené váhy. Délka ocasu je zhruba 80 % délky těla (Wilson a kol., 2017). V Angole byl tento druh pozorován zejména v savanách s dostatečným množstvím stromů.

***Graphiurus christyi* (Dollman, 1914)**

Graphiurus christyi je známý z Demokratické republiky Kongo a z jedné izolované lokality v jihozápadním Kamerunu (Obr. 8, Wilson a kol., 2017). *Graphiurus christyi* je podobný *G. murinus* (Wilson a kol., 2017). Má hnědou, někdy zlatě hnědou hřbetní stranu. Břišní strana je bílá, nebo šedivá. Patří ke středně velkým druhům, nicméně přesné údaje nejsou známy. Délka ocasu je asi 82 % délky těla. *G. christyi* můžeme nalézt v nížinách a lesích od 400 do 1000 m. n. m. (Wilson a kol., 2017).

***Graphiurus monardi* (St. Leger, 1936)**

Oproti jiným druhům má *G. monardi* velice malé a kompaktní rozšíření v centrální Africe. Výskyt tohoto druhu je v severozápadní Zambii a ve východní Angole. Částečně může zasahovat na jih Demokratické republiky Kongo (Wilson et al., 2017)

Původně byl *G. monardi* popsán v rodě *Claviglis*. Dříve byl *G. monardi* považován za poddruh *G. nagtglasii*, ovšem Holden (2005) publikovala, že *G. monardi* nemá podobnosti s *G. nagtglasii*.

Jedná se o afrického plcha velkého věku měřící v průměru 160 mm. Hřbetní strana je zbarvená do žluta, některé jedinci do hněda. Břišní strana je světlá. Délka ocasu je 81 % délky těla (Wilson et al., 2017).

***Graphiurus johnstoni* (Thomas, 1898)**

Tento druh je doposud známý pouze z jižního Malawi (Obr. 8, Wilson a kol., 2017). Dříve byl *G. johnstoni* různými autory považován za synonymum *G. kelleni* (Wilson a kol., 2017). Porovnání muzejních vzorků (zahrnující všechny holotypy) a předběžná mnohorozměrná analýza provedená Holdenovou v roce 1993 ukázala, že *G. johnstoni* je samostatný druh.

Graphiurus johnstoni patří svou velikostí k nejmenším druhům rodu *Graphiurus* (Wilson a kol., 2017). Hřbetní strana je šedivě hnědá, zbarvení břišní strany je šedivé. Délka

ocasu je zhruba 92 % celkové délky těla (Holden, 2005). Mezi druhy s podobným vzhledem a podobnou velikostí jako *G. johnstoni* se uvádí *G. lorraineus* a *G. microtis* (Holden, 2005).

***Graphiurus walterverheyeni* (Holden & Lavine, 2009)**

Tento druh je znám pouze ze dvou lokalit na území Demokratické republiky Kongo (Holden a Levine, 2009), konkrétně z oblastí blízko břehů řek Lukenie a Wafania (Wilson a kol., 2017).

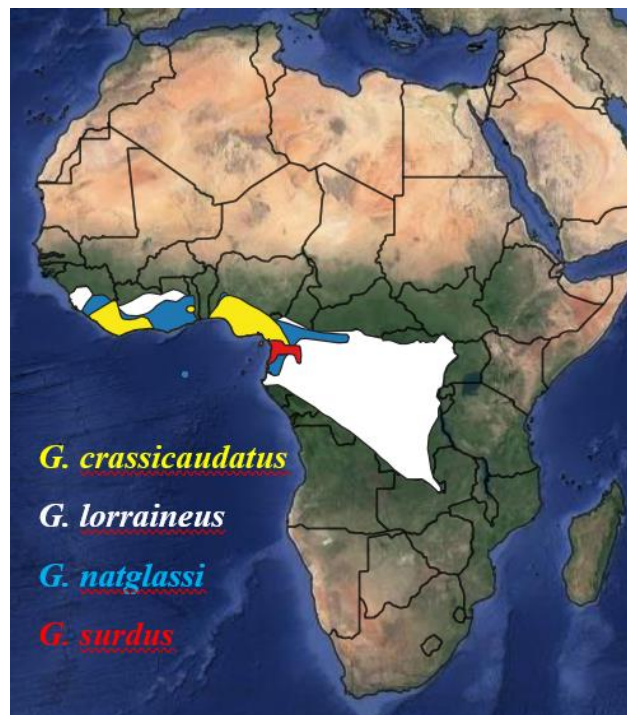
Holden a Levine (2009) na základě kraniální morfologie uvádí, že *G. walterverheyeni* je úzce příbuzný s *G. crassicaudatus* a je proto provizorně zahrnutý do podrodu *Claviglis*. Není také vyloučené, že *G. walterverheyeni* je blízce příbuzný s *G. lorraineus* (Wilson a kol., 2017).

Pro *G. walterverheyeni* je typické hnědé zbarvení s tmavě šedivou spodní stranou těla. Hmotnost není jasně definovaná, ale délka těla je zhruba 72 mm a délka ocasu 64 mm. Délka ocasu je 89 % délky těla (Wilson a kol., 2017).

3.1.3. Druhy rodu *Graphiurus* s výskytem v centrální a západní Africe

***Graphiurus crassicaudatus* (Jentink, 1888)**

Graphiurus crassicaudatus se vyskytuje v západní a centrální Africe. Konkrétně se nachází v jihozápadním Kamerunu, jihozápadní Guinei, Libérii a Nigerii. Areál výskytu není kompaktní, což je zapříčiněno absencí výskytu v Beninu (Obr. 9; Wilson a kol., 2017).



Obr. 9: Druhy rodu *Graphiurus* rozšířené v centrální a západní Africe.

Nespojité rozšíření *G. crassicaudatus* může být také zapříčiněno nedostatečným vzorkováním v této oblasti, nebo přirozenými bariérami, jako je v tomto případě dahomským hiátem.

Původně byl popsán v rodu *Claviglis*. Na základě externích podobností s *G. walterverheyeni*, byl *G. crassicaudatus* zařazen do rodu *Graphiurus* (Wilson a kol., 2017). *G. crassicaudatus* se od *G. walterverheyeni* liší větší velikostí těla a odlišným tvarem lebky (Wilson a kol., 2017).

Graphiurus crassicaudatus se vyznačuje, hnědým zbarvením s šedou břišní stranou. Patří k menším druhům afrických plchů s váhou mezi 20-29 gramy (Wilson a kol., 2017). Délka těla je mezi 83 – 98 mm. Délka ocasu je v porovnání s ostatními druhy menší, zhruba 65 % délky těla (Holden, 2005). Vyskytuje se v tropických deštných lesích v nadmořské výšce do 600 m (Wilson a kol., 2017).

***Graphiurus surdus* (Dollman, 1912)**

Graphiurus surdus je popsán z oblasti centrální Afriky, rovníkové Guinei a Gabonu. Dále se vyskytuje v Demokratické republice Kongo a Kamerunu (Obr. 9; Wilson a kol., 2017).

Původně byl zařazen do rodu *Graphiurus* jako platný druh. Ačkoliv byl popsán a uznán samostatným druhem, byl později označen za druh shodný s *G. murinus* (Genest-Villard, 1978). V důkladnější morfologické revize znovu označily *G. surdus* jako samostatný druh (Robbins a Schlitters, 1981; Holden, 1996)

Graphiurus surdus je zajímavý zbarvením břišní strany. Většina druhů rodu *Graphiurus* má světlé břicho, *G. surdus* má tmavě šedé zbarvení břišní strany (Holden, 2005). *G. surdus* patří k menším až středně velkým druhům v rámci rodu *Graphiurus* s váhou v rozmezí 18 - 34 gramů (Wilson a kol., 2017). Délka ocasu je u tohoto druhu kratší (73% délky těla; Holden, 2005). *G. surdus* se vyskytuje zejména v nížinných tropických deštných lesích (Wilson a kol., 2017).

***Graphiurus lorraineus* (Dollman, 1910)**

Graphiurus lorraineus se vyskytuje v západní a centrální Africe ve dvou oblastech. První oblast rozšíření je od jižní Guinei a Sierru Leone do Ghany. Druhá oblast má rozšíření od jihozápadní Nigerie, okrajově jihovýchodního Kamerunu, Rovníkové Guinei, Gabonu až do Demokratické republiky Kongo, okrajově také do Zambie a severovýchodní Angoly (Obr. 9). *G. lorraineus* byl mnoha autory dříve považován jako poddruh nebo jako synonymum *G. murinus*.

Jedná se o menší druh, vážíci kolem 12-24 gramů (Wilson a kol., 2017). Vyskytuje se u něj tmavá maska kolem očí, ovšem ne tak výrazná, jako např. u *G. ocularis* (Holden, 2005).

Délka ocasu představuje asi 79 % délky těla (Wilson a kol., 2017). Nalézt jej můžeme v deštných lesích, savanách v nadmořských výškách až do 2 600 m. n. m. (Wilson a kol., 2017).

***Graphiurus nagtglasii* (Jentink, 1888)**

Graphiurus nagtglasii se vyskytuje převážně v západní a okrajově i v centrální Africe. Výskyt byl zaznamenán od jihovýchodní Sierra Leone až po východní Kamerun s výjimkou Beninu a také v jihozápadní Středoafričské republice a v Gabonu (Obr. 9; Wilson a kol., 2017).

Graphiurus nagtglasii byl historicky označován jako *G. hueti* (Rosevear, 1969). Grubb a Ansell (1996) doporučili pojmenovat tento západoafričský druh jménem *G. nagtglasii*. Grubb (2004) uvedl, že jméno *G. hueti* je nomen dubium (pochybné jméno) a mělo by od něj být upuštěno, dokud nebude znovu objeven holotyp, protože původní popis *G. hueti* neuvádí diagnostické znaky a typová lokalita se nachází daleko od výskytu *G. nagtglasii*.

Jedná se o jednoho z největších zástupců rodu *Graphiurus* spolu s *G. monardi* a *G. ocellaris* (váha 79-104 gramů; Wilson a kol., 2017). Délka těla bez ocasu je 120 – 155 mm, délka ocasu 62 – 122 mm, činí tedy zhruba 76 % délky těla. Od jihoafričského *G. ocellaris* se *G. nagtglasii* liší absencí výrazné masky. Rozšíření *G. monardi* se s *G. nagtglasii* sice také nepřekrývá, nicméně oba druhy lze rozlišit díky přítomnosti (*G. monardi*) či absenci (*G. nagtglasii*) bílé špičky ocasu. Hřbetní strana je hnědá nebo našedivěle hnědá. Břicho je zbarvené do tmavě hnědé, krémové, nebo bílé. *Graphiurus nagtglasii* se nachází převážně v deštných lesích, ale i v kokosových a banánových plantážích (Holden, 2005).

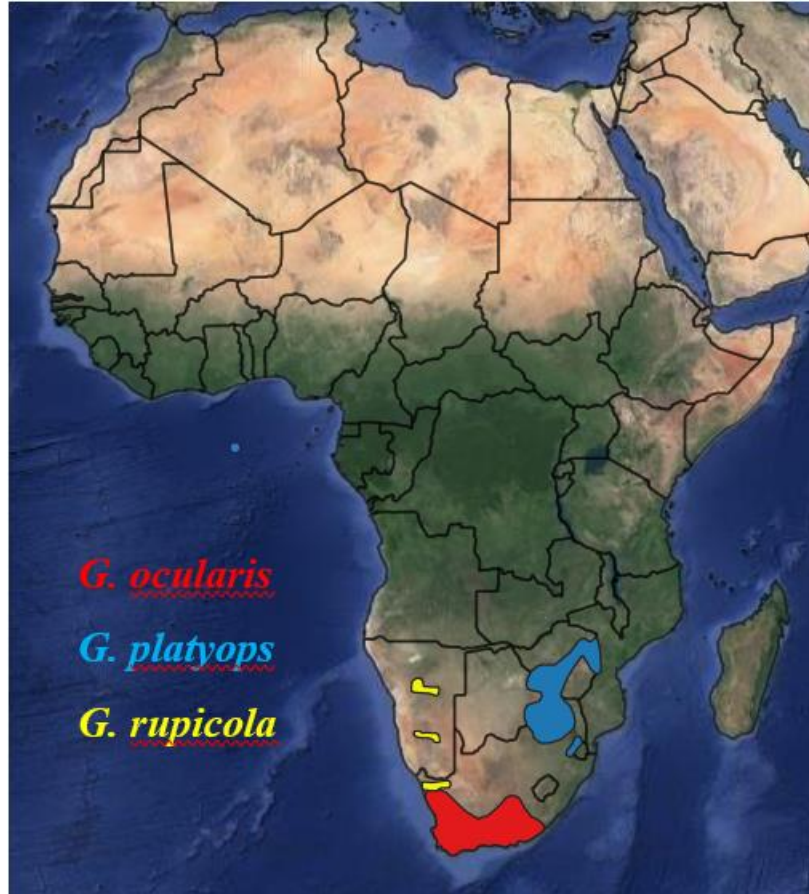
3.1.4. Druhy rodu *Graphiurus* rozšířené v jižní Africe

***Graphiurus ocellaris* (Smith, 1829)**

Tento druh se nachází výhradně v jižní Africe (Holden, 2005), konkrétně v provincii západního Kapska (Obr. 10; Wilson a kol., 2017). Podobně jako pro další druhy je pro *G. ocellaris* typická středně stříbrná barva hřbetní srsti a břišní strana je tmavě šedivá, občas se může vyskytovat i bíle zbarvení. *G. ocellaris* patří k větším druhům afričských plchů vážících mezi 72-85 gramů (Wilson a kol., 2017). Charakteristickým znakem pro tento druh je tmavé zbarvení kolem očí, které bývá protáhlé až k uším (Webb a Skinner, 1994; Holden, 2005). Délka ocasu je kolem 85 % délky těla. Typickým habitatem pro tento druh jsou skalnaté, především pískovcové oblasti (Wilson a kol., 2017).

***Graphiurus platyops* (Thomas, 1897)**

Výskyt tohoto druhu je omezen na v jižní a jihovýchodní Afriku. Vyskytuje se v jižní části Malawi, jihovýchodní Zambii, Zimbabwe, ve východní Botswaně a okrajově v Mozambiku (Obr. 10, Wilson a kol., 2017). *Graphiurus platyops* byl na základě morfologických



Obr. 10: Druhy rodu *Graphiurus* rozšířené v jižní Africe.

a ekologických podobností považován za druh totožný s *G. rupicola*. V roce 2013 provedla M. Holdenová podrobnější morfologické analýzy a popsala *G. platyops* a *G. rupicola* jako dva samostatné druhy. *G. platyops* má šedivou, nebo šedivě hnědou hřbetní stranu se světle krémovou nebo bílou stranou břišní. Je to středně velký druh vážící 30,4 – 52,8 gramů. U tohoto druhu se může vyskytovat i maska kolem očí (Holden, 2005; Wilson a kol., 2017). Společně s *G. ocularis* mají světlou barvu hlavy a plochou lebku. Délka ocasu je v porovnání s ostatními druhy kratší (72 % délky těla). Kratší ocas proto často bývá popisováno jako adaptace pro život ve skalách (Webb a Skinner, 1994). *G. platyops* se vyskytuje na skalách, v jejich štěrbinách v kopcovitých oblastech (Wilson a kol., 2017).

***Graphiurus rupicola* (Thomas, Hinton, 1925)**

Výskyt tohoto druhu je velmi ostrůvkovitý a je znám z území Angoly, Namibie a severovýchodní část jižní Afriky (Obr. 10, Wilson a kol., 2017). Byl popsán na základě morfologie lebky a pro *G. rupicola* charakteristickým zbarvením srsti.

Graphiurus rupicola se vyznačuje jednotvárnou šedou, nebo stříbrně šedou barvou na hřbetní straně. Charakteristické oproti ostatním druhům jsou malé oči, kolem kterých se může vyskytovat tmavá maska. Váha tohoto druhu je průměrně 25 gramů (Wilson a kol., 2017). Délka ocasu je skoro stejná jako délka těla, tedy 95 % délky těla (Holden, 2005). Typickým habitatem pro tento druh jsou skály, skalní štěrby a útvary v suchých oblastech s výskytem keřů a stromů, v nadmořských výškách 400 – 1650 metrů (Wilson a kol., 2017).

3.2. Praktická část

3.2.1. Materiál

V této práci byl analyzován materiál rodu *Graphiurus* nasbíraný během let 2009 až 2017 pracovní skupinou prof. Radima Šumbery, Ph.D. a doc. Josefa Bryji, Ph.D. v převážně východoafrických zemích (Angola, Etiopie, Keňa, Mozambik, Tanzanie, Zambie). K odchytné zvířat byly použity buď dřevěné sklápovací pasti nebo živochytné pasti typu Sherman. Z každého jedince byla za účelem následné izolace DNA odebrána tkáň (nejčastěji slezina), která byla fixována v 96% ethanolu. Celkem bylo nachytáno 60 jedinců z 36 lokalit (Příloha 1).

Dále bylo použito 21 tkáňových vzorků ze 16 lokalit v západní Africe od našich spolupracovníků Violaine Nicolas a Christiane Denys (Muséum National d'Histoire Naturelle) a Václava Mikeše (Jihočeské muzeum v Českých Budějovicích) (Příloha 1). Celkem 4 sekvence byly staženy z databáze GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank).

3.2.2. Metody

Izolace DNA z tkáňových vzorků byla provedena pomocí komerčních kitů DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, Hilden, Germany) nebo JETQUICK Tissue DNA Spin Kit podle pokynů výrobců. K amplifikaci polymerázovou řetězovou reakcí (PCR) byl vybrán mitochondriální gen cytochrom *b* (*CYTB*). Sekvence primerů byly převzaty z Irwin a kol. (1991), teplota použitá při nasedání primerů byla 50°C. Úspěšnost PCR byla ověřena na 1,5% agarózovém gelu a PCR produkty byly komerčně osekvenovány firmou Biogen Praha.

Hrubé sekvence cytochromu *b* byly upraveny v programu Geneious 2020.0.4. (Kearse a kol., 2012), kde jsem provedla ořezání konců sekvencí špatné kvality a následně sekvence zalignovala pomocí nástroje Geneious alignment. Poté jsem provedla předběžnou analýzu pomocí pluginu FastTree (Price a kol., 2009). Alignment jsem vyexportovala ve formátu fasta a v dalších úpravách pokračovala v programu R (R Core Team, 2019), kde byly vybrány haplotypy, připojen blok definující analýzu pro program MrBayes a formát sekvencí byl převeden na nexus.

Pro fylogenetickou analýzu dat jsem zvolila Bayesovskou analýzu. Bayesiánská analýza má velice blízko k metodě maximální věrohodnosti, která odhaduje svou pravděpodobnost původu studovaných dat, pokud známe určité hypotézy. Bayesovská analýza ovšem kombinuje pravděpodobnost s tím, co se od našich dat *a priori* předpokládá. Výsledek vyjadřuje pravděpodobnost správnosti dané hypotézy, při již existujících datech (Macholán, 2014).

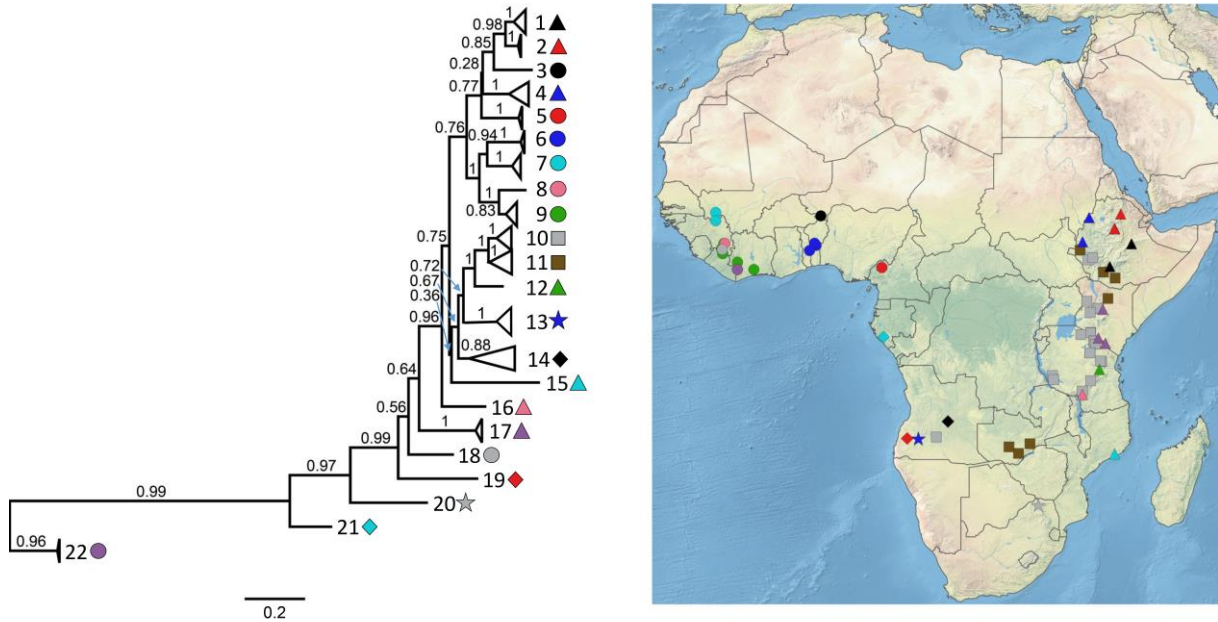
Výpočet fylogenetických stromů proběhl v programu MrBayes 3.2.6 (Ronquist et al. 2012). Jako substituční model byl použit HKY (Hasegawa a kol., 1985) s gamma distribucí. Zakořenění stromu bylo provedeno pomocí tří sekvencí zástupců plchovitých získaných z databáze GenBank: AJ225116 (*Dryomys nitedula*), AJ225030 (*Eliomys quercinus*) a D89004 (*Gliurus japonicus*). Konvergence čtyř nezávislých Markov Chain Monte Carlo (MCMC) simulací byla vizuálně provedena v programu Tracer 1.7 (Rambaut a kol., 2018). Iniciální fáze MCMC řetězce byly odstraněny jako burn-in. Sekvence použité jako outgroup byly odstraněny, aby neovlivňovaly další analýzu. Poté byl v programu R pomocí balíčků ape (Paradis a Schliep, 2018) a phangorn (Schliep, 2011) vypočítán Maximum Clade Credibility strom definovaný podle Drummonda a Bouckaerta (2015, strana 162), jehož délky větví jsou založeny na tzv. „common ancestor heights“ (Drummond a Bouckaert, 2015, strana 92).

Operační taxonomická jednotka (OTU) je definice, která se používá pro klasifikaci skupin blízce souvisejících jedinců. Termín byl poprvé představen R. Sokalem (1963) při popisu taxonomie, kde OTU představuje skupinu studovaných organismů. Definuje seskupení jednotlivců podle jejich podobnosti, výskytu a ekvivalentnosti. V dnešní době se OTU používá také v molekulárním kontextu pod zkratkou MOTU (molekulární taxonomická jednotka), kde odkazuje na skupiny organismů podle podobností sekvencí DNA.

Haplotypy použité pro výpočet fylogenetického stromu byly klasifikovány do MOTU. Pro výpočet MOTU byl použit algoritmus mPTP založený na metodě maximální věrohodnosti podle Kapli a kol. (2017). Rozšíření jednotlivých MOTU bylo vizualizováno v programu QGIS (QGIS Development Team 2019).

3.2.3. Výsledky analýzy cytochromu *b* a rozšíření MOTU

Fylogenetická analýza identifikovala celkem 22 MOTU (Obr. 11, Příloha 1). Posteriorní pravděpodobnosti vzájemných vztahů (PP) jednotlivých MOTU se pohybují v rozmezí 1 – 0,28 (Obr. 11).



Obr. 11: Fylogenetický strom vypočtený v programu MrBayes (vlevo) a mapa rozšíření fylogenetických linií (vpravo). Číslo nad větvičkou značí posteriorní pravděpodobnosti.

Jako první se odštěpuje MOTU 22 (fialové kolečko, Obr. 11), která byla zaznamenána na jihu Pobřeží Slonoviny. Následuje MOTU 21 (tyrkysový kosočtverec, Obr. 11) z jihozápadního Gabonu. Dále se odštěpuje MOTU 20 zaznamenaná na severovýchodě Jihoafrické republiky (šedá hvězda, Obr. 11) a MOTU 19 (červený kosočtverec, Obr. 11) ze západní Angoly. Další štěpení jsou pod hranicí statistické průkaznosti. S $PP=0,56$ se odděluje MOTU 18 (šedé kolečko, Obr. 11) zaznamenaná na jedné lokalitě a v jižní Guineji a MOTU 17 (fialový trojúhelník, Obr. 11), která je zastoupena třemi lokalitami v centrální a jižní Keni ($PP=0,64$). Další štěpení je opět podpořené ($PP=0,96$) a odděluje od zbývajících MOTU 16 (růžový trojúhelník, Obr. 11) z jihu Tanzanie.

Následně se s $PP=0,75$ rozdělují zbylé MOTU na dvě skupiny. V první z nich se jako sesterská ke všem ostatním odštěpuje s $PP=0,36$ MOTU 15 (tyrkysový trojúhelník, Obr. 11) zaznamenaná ve východním Mosambiku, dále s $PP=0,67$ MOTU 14 (černý kosočtverec, Obr. 11), která se nachází v centrální Angole a s $PP=0,72$ MOTU 13 zaznamenaná v jihozápadní Angole (modrá hvězda, Obr. 11) a Jihoafrické republice (u jedince z Jihoafrické

republiky nejsou známy přesné souřadnice). S $PP=1$ se odštěpují tři MOTU z východní Afriky: MOTU 12 (zelený trojúhelník, Obr. 11) zaznamenaná ve východní Tanzanii, MOTU 11 (hnědý čtverec, Obr. 11) zastoupená lokalitami v jihozápadní Etiopii, centrální Keni a jižní Zambii a MOTU 10 (šedý čtverec, Obr. 11) vyskytující se v Etiopii, Keni, Tanzanii a na jedné lokalitě v Angole.

Ve druhé skupině se nachází dvě sesterské podskupiny. Zástupci první z nich (MOTU 6 až MOTU 9) byli zaznamenáni výhradně v západní Africe, vztahy mezi nimi jsou podpořené $PP=1$. Třemi lokalitami je zastoupená MOTU 9 (zelené kolečko, Obr. 11), přičemž jedna z nich se vyskytuje v severní Libérii a další dvě na jihu a západě Pobřeží Slonoviny. MOTU 8 (růžové kolečko, Obr. 11) má výskyt v jižní části Guiney a je zastoupená jednou lokalitou. MOTU 7 (tyrkysové kolečko, Obr. 11) zastupují také dvě lokality, přičemž jedna se vyskytuje v jižním Mali a druhá v severní Guinei. MOTU 6 (modré kolečko, Obr. 11) reprezentují dvě lokality v centrálním Beninu.

Zástupci druhé podskupiny (MOTU 1 až 5) byli zaznamenáni v západní Africe a v Etiopii, jejich vzájemné vztahy nebyly ve většině případů vyřešeny ($PP=0,28-0,98$). MOTU 5 (červené kolečko, Obr. 11) se nachází v západní části Kamerunu u hranic s Nigérií. MOTU 4 (modrý trojúhelník, Obr. 11) byla zaznamenána na dvou lokalitách v západní Etiopii u hranic se Súdánem. MOTU 3 (černé kolečko, Obr. 11) je zastoupena jednou lokalitou v jihozápadním Nigeru. MOTU 2 (červený trojúhelník, Obr. 11) je zastoupena dvěma lokalitami v severní části Etiopie a MOTU 1 (černý trojúhelník, Obr. 11) byla zaznamenána na dvou lokalitách v centrální a jihovýchodní Etiopii. MOTU 2 (červený trojúhelník, Obr. 11) je zastoupená dvěma lokalitami v severní části Etiopii.

3.2.4. Tělesné rozměry vybraných MOTU

Poté, co byli jedinci přiřazeni do MOTU, jsem spočítala průměrné hodnoty hmotnosti, délky těla, délky ocasu a poměru délky ocasu k délce těla. Pro výpočet byli použiti jen dospělí jedinci. Ve většině případů byli ovšem jedinci juvenilní nebo nebyl údaj o stáří jedince znám (Příloha 1). Údaje o tělesných rozměrech jsou proto dostupné jen pro osm MOTU, z toho jsou tři MOTU zastoupené pouze jedním jedincem (Tabulka 1). Hmotnost jednotlivých MOTU se pohybovala od 15 gramů do 35 gramů, délka těla od 75 do 106 milimetrů a délka ocasu od 61 do 73 milimetrů (Tabulka 1). Poměr délky ocasu k délce těla potom od 70 % do 93 % (Tabulka 1).

Tabulka 1.: Tělesné rozměry vybraných MOTU.

MOTU	Počet jedinců	Hmotnost (g)	Délka těla (mm)	Délka ocasu (mm)	Délka ocasu ku délce těla
1	1	23,0	96,0	?	?
2	3	18,3	84,7	70,3	83 %
5	2	23,0	82,9	72,7	88 %
10	18	20,6	88,3	68,7	78 %
11	4	20,0	86,8	61,0	70 %
12	1	18,0	88,0	73,0	83 %
17	2	15,0	75,0	70,0	93 %
19	1	35,0	106,3	93,8	88 %

3.2.5. Diskuze

V rodu *Graphiurus* je aktuálně uznáváno 15 druhů (Wilson a kol., 2017). V této bakalářské práci bylo pomocí molekulárně-genetických metod identifikováno celkem 22 MOTU. Takový výsledek může být vysvětlen existencí doposud nepopsaných, kryptických druhů. Tento trend se objevuje i u jiných skupin afrických hlodavců. U rodu *Nannomys* bylo například identifikováno 27 MOTU, oproti současným 18 popsáným druhům (Bryja a kol., 2014). K podobným závěrům došla například i studie rodu *Acomys*, kde je v současnosti popsáno 18 druhů, avšak multilokusová fylogenetická analýza rozdělila rod 26 MOTU (Aghová a kol., 2019).

Vzhledem k tomu, že identifikace MOTU v mé bakalářské práci je založena pouze na jednom mitochondriálním genu, jednotlivá MOTU nemusí představovat jednotlivé druhy, ale reflektovat vnitrodruhovou diverzitu. Pro účely delimitace blízkce příbuzných druhů se jeden marker ukázal jako nedostatečný (Dupuis a kol., 2012). Je také pravděpodobné, že moje práce zdaleka nepostihla celou diverzitu rodu *Graphiurus*. V důsledku chybějícího vzorkování, zejména v centrální části Afriky, se dá na předpokládat, že jsou zde další kryptické druhy, které jsou specializované na různé biomy, jako jsou lesy, či savany, a jsou od sebe izolovány velkými přírodními bariérami, např. řekami.

Některé MOTU se částečně shodují s uznávanými druhy ve výskytu rozšíření. Například MOTU 5 (červené kolečko, Obr. 10) z Bamendských vrchovin v Kamerunu by mohla představovat *G. lorraineus*. Dva jedinci z MOTU 5 byli odchyceni v nadmořské výšce 2135 a 2247 metrů nad mořem. *Graphiurus lorraineus* se přitom jako jediný z druhů přítomných v této oblasti vyskytuje i ve vyšších nadmořských výškách až do 2600 metrů nad mořem (Wilson a kol., 2017). Tuto hypotézu ovšem nepotvrzují naměřené rozměry, poměr délky ocasu k tělu je u *G. lorraineus* 79 % (Wilson a kol., 2017), zatímco jedinci MOTU 5 mají

poměr ocasu k tělu 88 % (Tabulka 1). MOTU 10 (šedý čtverec, Obr. 10), zastoupená nejvíce jedinci ze všech MOTU, byla zaznamenána na území Etiopie, Tanzanie, Keni a Angoly. Toto rozšíření se částečně překrývá s rozšířením *G. microtis*, u kterého se i téměř shodují údaje o tělesných rozměrech – Wilson a kol. (2017) uvádí poměr délky ocasu k tělu 76%, u zástupců MOTU 10 to bylo 78% (Tabulka 1).

Některé MOTU byly zaznamenány pouze v oblastech s vysokou mírou endemismu a mohly by proto představovat nepopsané endemické druhy. Mezi ně patří MOTU 1 a 2. Tyto MOTU byly zaznamenány pouze v horských oblastech Etiopie. MOTU 1 (černý trojúhelník, Obr. 10) byla zaznamenána v oblasti Bulcha Forest a v lesích Kuni – Muktar. MOTU 2 (červený trojúhelník, Obr. 10) byla zaznamenána v oblasti Národního parku Borena Saynt a u jezera Hashenge. Území Etiopie je geomorfologicky velmi různorodé, což se odráží i na rozmanitosti ekosystémů a typů vegetace. Etiopie je známá svou vysokou mírou endemismu, což se týká i hlodavců (Bryja a kol., 2019). MOTU 12 (zelený trojúhelník, Obr. 10) a MOTU 16 (růžový trojúhelník, Obr. 10) byly zaznamenány pouze v horských oblastech Tanzanie. Jediný zástupce MOTU 12 byl odchycen v centrální části Tanzanie v Rubeho horách, které jsou součástí Eastern Arc Mountains, zatímco zástupci MOTU 16 byli odchyceni v Southern Highlands. Tyto horské oblasti jsou stejně jako Etiopská vysočina centrem endemismu (Burgess a kol., 2007).

4. Závěr

Fylogenetická analýza mitochondriálního cytochromu *b* identifikovala celkem 22 MOTU. Některé z těchto MOTU by mohly představovat doposud nepopsané druhy, k jasnému určení konkrétních druhů však bude potřeba více genetických markerů.

5. Literatura

- Aghová, T., Palupčíková, K., Šumbera, R., Frynta, D., Lavrenchenko, L. A., Meheretu, Y., Sádlová, J., Votýpka, J., Mbau, J. S., Modrý, D., Bryja, J. (2019). Multiple radiations of spiny mice (Rodentia: *Acomys*) in dry open habitats of Afro-Arabia: evidence from a multi-locus phylogeny. *BMC Evolutionary Biology*, 19 (69).
- Barnard, P. (1998). Biological diversity in Namibia: a clash of sea and land, fog and dust. *Biodiversity & Conservation*, 7(4), 415-417.

- Bobe, R., Behrensmeyer, K. A. (2004). The expansion of grassland ecosystems in Africa in relation to mammalian evolution and the origin of the genus *Homo*. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 207 (2004), 399 – 420.
- Bryja, J., Meheretu, Y., Šumbera R., Lavrenchenko A. (2019). Annotated checklist, taxonomy and distribution of rodents in Ethiopia. *BioOne COMPLETE. Journal of Vertebrate Biology*, 68 (3), 117 – 213.
- Bryja, J., Mikula, O., Šumbera, R., Meheretu, Y., Aghová, T., Lavrenchenko, L. A., ... & Verheyen, E. (2014). Pan-African phylogeny of *Mus* (subgenus *Nannomys*) reveals one of the most successful mammal radiations in Africa. *BMC Evolutionary Biology*, 14 (1), 1-20.
- Burgess, N., D., Butynski, T., M., Cordeiro, N., J., Doggart, N. H., Fjeldsa, J., Howell, K., M., Kilahama, F., B., Loader, S., P., Lovett., J., C., Mbilinyi, B., Menegon, M., Moyer, D., C., Nashanda, E., Perkin, A., Rovero, F., Stanley, W., T., Stuart, S., N. (2007). The biological importance of the Eastern Arc Mountains of Tanzania and Kenya. *Biological conservation* 134, 209 - 231.
- deMenocal, P. B. (2004). African climate change and faunal evolution during the Pliocene–Pleistocene. *Earth and Planetary Science Letters*, 220 (1-2), 3-24.
- Dupuis, J. R., Roe, A. D., & Sperling, F. A. (2012). Multi-locus species delimitation in closely related animals and fungi: one marker is not enough. *Molecular ecology*, 21 (18), 4422-4436.
- D'Elía, G., Fabre, P. H., Lessa, E. P., (2019). Rodent systematics in an age of discovery: Recent advances and prospects. *Journal of Mammalogy*. 100 (3), 852-871.
- Dieterlen, F., & Happold, D. C. D. (2013). *Mammals of Africa, Volume III Rodents, hares and rabbits*. London, Bloomsbury Publishing.
- Druummond, A., J., Bouckaert, R. R. (2015). Bayesian evolutionary analysis with BEAST. *Cambridge University Press*.
- Ellerman, J. B., Morrison-soott, T. C. S., Hayman, E. W. (1953). Southern African Mammals 1758 to 1951: a Reclassification. London: *British Museum (Natural History)*.
- Genest-Villard, H. (1978). Révision systématique du genre *Graphiurus* (Rongeurs, Gliridae). *Mammalia*, 42 (4), 391-426.
- Grubb, P. (2004). Controversial scientific names of African mammals. *African Zoology*, 39 (1), 91-109.
- Hánová, A., Konečný, A., Nicolas, V., Denys, C., Granjon, L., Lavrenchenko, L. A., ... & Bryja, J. (2021). Multilocus phylogeny of African striped grass mice (*Lemniscomys*): Stripe pattern

- only partly reflects evolutionary relationships. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 155, 107007.
- Hasegawa, M., Kishino, H., Yano, T. (1985). Dating of the Human – Ape Splitting by a Molecular Clock of Mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution*, 22, 160 – 174.
- Hedges, S. B. (2001). Afrotheria: Plate tectonics meets genomics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98 (1), 1-2.
- Holden, M. E. (1993). Family Myoxidae. In: D. E. Wilson & D. M. Reeder (Eds). *Mammal Species of the World*, 3rd Edition (pp. 819–841). Washington and London, Smithsonian Institution Press.
- Holden, M. E. (2005). Family Gliridae. In: D. E. Wilson & D. M. Reeder (Eds). *Mammal Species of the World*, 3rd Edition (pp. 819–841). Washington and London, Smithsonian Institution Press.
- Holden, M. E., & Levine, R. S. (2009). Systematic Revision of Sub-Saharan African Dormice (Rodentia: Gliridae: Graphiurus) Part II: Description of a New Species of Graphiurus from the Central Congo Basin, Including Morphological and Ecological Niche Comparisons with *G. crassicaudatus* and *G. lorraineus*. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 2009 (331), 314-355.
- Irwin, M. D., Kocher D. T., Wilson C. A. (1991). Evolution of the Cytochrome b Gene of Mammals. *Journal of Molecular Evolution*, 32, 128 – 144.
- Kapli, P., Lutteropp, S., Zhang, J., Kobert, K., Stamatakis, A., Flouri, T. (2017). Multi – rate Poisson tree processes for single – locus species delimitation under maximum likelihood and Markov chain Monte Carlo. *Bioinformatics*, 33 (11), 1630 – 1638.
- Kearse, M., Moir, R., Stones-Havas, S., Cheung M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, Ch., Thiere, T., Ashton, B., Meintjes, P., Drummond, A. (2012). Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28 (12), 1647-1649.
- Kingdon, J. (2013). Mammalian Evolution in Africa. In: M. Happold & D. D. Happold (Eds). *Mammals of Africa*, Volume I. - Introductory chapters and Afrotheria (pp. 75-100). London, Bloomsbury Publishing.
- Kingdon, J., (2015). *The Kingdon field guide to African mammals*. London, Bloomsbury Publishing.
- Lorenzen, E. D., Heller. R. & Siegmund, H. R. (2012). Comparative phylogeography of African savannah ungulates. *Molecular Ecology*, 21, 3656–3670.

- Luo, Z. X., Yuan, C. X., Meng, Q. J., & Ji, Q. (2011). A Jurassic eutherian mammal and divergence of marsupials and placentals. *Nature*, 476 (7361), 442-445.
- Macholán, M. (2014). *Základy fylogenetické analýzy*. muniPRESS.
- Mikula, O., Nicolas, V., Šumbera, R., Konečný, A., Denys, C., Verheyen, E., ... & Bryja, J. (2021). Nuclear phylogenomics, but not mitogenomics, resolves the most successful Late Miocene radiation of African mammals (Rodentia: Muridae: Arvicanthini). *Molecular phylogenetics and evolution*, 157, 107069.
- Mittermeier, R.A., Gil, P.R., Hoffman, M., Pilgrim, J., Brooks, T., Mittermeier, C.G., Lamoreux, J., da Fonseca, G.A.B. (2005). *Hotspots revisited: Earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions*. Chicago, University of Chicago Press.
- Monadjem, A., Taylor, P. J., Denys, C., & Cotterill, F. P. (2015). *Rodents of sub-Saharan Africa: a biogeographic and taxonomic synthesis*. Berlin, Walter de Gruyter GmbH & Co KG.
- Montgelard, C., Matthee, C. A., & Robinson, T. J. (2003). Molecular systematics of dormice (Rodentia: Gliridae) and the radiation of Graphiurus in Africa. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 270 (1527), 1947-1955.
- Nunome, M., Yasuda, S. P., Sato, J. J., Vogel, P., & Suzuki, H. (2007). Phylogenetic relationships and divergence times among dormice (Rodentia, Gliridae) based on three nuclear genes. *Zoologica Scripta*, 36 (6), 537-546.
- Paradis, E., Schliep, K. (2018). ape 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R. *Bioinformatics*, 35 (3), 526 – 528.
- Potts, R. (2013). Hominin evolution in settings of strong environmental variability. *Quaternary Science Reviews*, 73, 1-13.
- Price, N. M., Paramvir S. D., Adam A. P. (2009). FastTree: Computing Large Minimum Evolution Trees with Profiles instead of a Distance Matrix. *Molecular Biology and Evolution*. 26, 1641 - 1650.
- Rambaut, A., Drummond, A., Xie, D., Baele, G., Suchard, M. (2018). Posterior Summarization in Bayesian Phylogenetics Using Tracer 1.7. *Systematic Biology*, 67 (5), 901 – 904.
- Robbins, L., & Schlitter, D., A. (1981). Systematic status of dormice (Rodentia: Gliridae) from southern Cameroon, Africa. – *Annals of Carnegie Museum* 50, 271 – 288.
- Ronquist, F., Teslenko, M., van der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Suchard, M. A., Huelsenbeck, J. (2012). MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space. *Systematic Biology*, 61 (3), 539-542.

- Schliep, P. K. (2011). phangorn: phylogenetic analysis in R. *Bioinformatics*, 27 (4), 592 – 593.
- Shoshani, J. (1998). Understanding proboscidean evolution: a formidable task. *Trends in Ecology & Evolution*, 13 (12), 480-487.
- Smith, C. H. (2012). Distribution map of Gliridae. Dostupné online (14. 3. 2021): <http://people.wku.edu/charles.smith/faunmaps/Gliridae.htm>.
- Sokal, R. R. (1963). The principles and practice of numerical taxonomy. *Taxon*, 12 (5), 190 - 199.
- Springer, M. S., Cleven, G. C., Madsen, O., de Jong, W. W., Waddell, V. G., Amrine, H. M., & Stanhope, M. J. (1997). Endemic African mammals shake the phylogenetic tree. *Nature*, 388 (6637), 61-64.
- Springer, M. S., Murphy, W. J., Eizirik, E., & O'Brien, S. J. (2003). Placental mammal diversification and the Cretaceous–Tertiary boundary. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100 (3), 1056-1061.
- Turner, A., & Antón, M. (2004). *Evolving eden: an illustrated guide to the evolution of the African large-mammal fauna*. New York, Columbia University Press.
- Veettil, B. K., & Kamp, U. (2019). Global disappearance of tropical mountain glaciers: observations, causes, and challenges. *Geosciences*, 9 (5), 196.
- Voelker, G., Huntley, J. W., Bryja, J., Denys, C., Šumbera, R., Demos, T. C., ... & Peterhans, J. K. (2021). Molecular systematics and biogeographic history of the African climbing-mouse complex (*Dendromus*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 107166.
- Wilson, D. E., Lacher, T. E., & Mittermeier, R. A. (2017). *Handbook of the Mammals of the World – Volume 7, Rodents II*. Barcelona, Lynx Edicions.
- Winkler, A. J., Denys, C., Avery, M. (2010). Fossil rodents of Africa. In: L. Werdelin & W. Sanders (Eds). *Fossil Mammals of Africa*. Berkeley, California University Press.
- Webb, P., & Skinner, J. (1995). The dormice (*Myoxidae*) of southern Africa. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*, 6 (1-2).

6. Přílohy

Příloha 1: Seznam vzorků pro fylogenetickou analýzu

ID	MOTU	Stát	Lokalita	Zeměpisná šířka	Zeměpisná délka	W	LC	LCd	LTp	LA	Pohlaví	Stáří
ANG0007	19	Angola	Tundavala	-14,811	13,404	35	106,3	93,8	19,7	23	M	A+
ANG0121	13	Angola	Hombe	-14,902	14,772	15	86	76	17,7	15,6	M	juv
ANG0122	13	Angola	Hombe	-14,902	14,772	17	72,4	?	14,7	17,1	F	A
ET114	11	Etiopie	S.W.	5,533	37,417	18,9	90,5	90	15,2	12,8	F	juv
ETH0400	1	Etiopie	Bulcha Forest	6,218	38,197	16	82	67	15,7	14,4	F	sub
ETH0501	2	Etiopie	Lake Hashenge	12,64	39,539	13,2	72,1	58	14,8	14,1	F	
ETH0600	4	Etiopie	Alatish NP	12,2	35,667	11,3	76	63	14,6	13,4	F	sub
ETH0658	11	Etiopie	Gambella Town	8,217	34,563	16	83	71	15,2	14,6	F	
ETH0708	10	Etiopie	Mizan Teferi	7,019	35,557	21,3	95	70	17,6	15	M	A+
ETH1314	2	Etiopie	Borena Saynt NP	10,874	38,786	19,5	88	86	20,4	17,4	F	A-
ETH1315	2	Etiopie	Borena Saynt NP	10,874	38,786	17	82	60	17	13,2	F	A/sub
ETH1341	2	Etiopie	Borena Saynt NP	10,823	38,758	20	84	65	16,4	14,1	M	A+
ETH1565	10	Etiopie	Wushwush	7,308	36,089	23	97	69	16,6	15,1	F	A+
ETH1594	1	Etiopie	Kuni-Muktari	9,001	40,85	23	96		16,4	14,8	M	A+
JS027	11	Zambie	Lusaka East FR	-15,457	28,424	16	84	61	15	14,4	F	A-
JS140	11	Zambie	Lusaka East FR	-15,457	28,424	23,5	93	33	16,6	15	F	A-
KE041	17	Keňa	Namanga	-2,53	36,785	19	84	70	14,1	12,8	F	A
KE088	17	Keňa	Wamba	0,98	37,345	10	72	62	14,8	13,5	M	sub
KE118	11	Keňa	Marsabit NP	2,309	37,966	18,5	88	77	17,1	19,6	F	A+
KE176	10	Keňa	Maralal	1,085	36,773	17	89	73	16,9	15,4	F	A-
KE194	10	Keňa	Maralal	1,088	36,77	18,5	88	70	16	15,7	F	A-
KE195	10	Keňa	Maralal	1,088	36,77	15	74	68	15,7	13	M	A-
KE306	10	Keňa	Entasekera	-1,848	35,859	13	75	67	16,6	13,8	M	sub
KE307	10	Keňa	Entasekera	-1,848	35,859	15	76	71	16,6	15	M	sub

KE311	10	Keňa	Entasekera	-1,886	35,837	19	88	76	16,5	14,6	M	A+
KE692	10	Keňa	Nassalot National Reserve	1,965	35,366	21	92	54	15,5	15,3	F	A+
KE756	10	Keňa	Katimok Provincial Forest	0,584	35,796	22	93	71,5	15,9	14,2	M	A+
LAV2521	4	Etiopie	Dhati Welel NP	9,239	34,865						F	
LAV2597	4	Etiopie	Dhati Welel NP	9,239	34,865						F	
LAV3083	11	Etiopie	Arero Forest	4,805	38,845							
MOZ210	15	Mozambik	Gile NP	-16,702	38,798	21,5	90	60	15	17,1	F	
PT2016-29	14	Angola	3 km E of Sachiambe	-12,737	18,393			78	15	16		
RLMar151	20	Jihoafrická republika	Lajuma Research Centre	-23,037	29,443							
RS0860	11	Zambie	Bruce-Miller Game Farm	-16,637	27,025	22	82	73	15,5	15,2	M	A-
TA388	10	Tanzánie	Kibaoni	-7,115	31,169	14,5	86		16,6	16,1	M	sub
TA463	10	Tanzánie	Chala (Ufipa Plateau)	-7,612	31,315	20	85	67	16,6	14	F	A-
TA663	10	Tanzánie	Kijungu	-5,392	37,202							
TA863	10	Tanzánie	Lugalo	-7,761	35,855						F	A+
TZ27578	10	Tanzánie	Kitumbeine FR	-2,904	36,25	22	93	72	15,8	15,1	M	A+
TZ27579	10	Tanzánie	Kitumbeine FR	-2,904	36,25	25	95	66	16,6	13,9	M	A+
TZ27580	10	Tanzánie	Kitumbeine FR	-2,904	36,25		72	55	15,9	13,2	F	juv
TZ27609	10	Tanzánie	Monduli	-3,286	36,419	18	84	65	16,3	14,1	F	A-
TZ27610	10	Tanzánie	Monduli	-3,286	36,419	27	93	67	16,4	14,2	F	A+
TZ27632	17	Tanzánie	Rombo (Mkuu)	-3,186	37,65	17	85	80	15,5	13,6	F	A
TZ27633	17	Tanzánie	Rombo (Mkuu)	-3,186	37,65	16	81	66	15,1	13,3	F	A+
TZ27645	17	Tanzánie	Rombo (Mkuu)	-3,187	37,645	14	69	74		11,9	F	A-
TZ27870	10	Tanzánie	Ikona WMA	-2,108	34,65	20	85	74	13,3	13	F	A+
TZ27946	10	Tanzánie	Bonga - Bereku FR	-4,334	35,765	16	86	61	16,1	15,2	F	A/sub
TZ27948	10	Tanzánie	Bonga - Bereku FR	-4,334	35,765	16,5	80	71	15	14,2	F	A/sub
TZ27949	10	Tanzánie	Bonga - Bereku FR	-4,334	35,765	17	81	66	20,2	13,2	M	A-
TZ27950	10	Tanzánie	Bonga - Bereku FR	-4,334	35,765	17	82	74	16,5	16	F	A-
TZ27993	12	Tanzánie	Masenge (Rubeho Mts)	-6,373	36,93	18	88	73	17,3	14,2	M	A-
TZ28200	16	Tanzánie	Nundu	-9,423	34,847	14	76,2	72,7	15,6	14,2	M	
TZ28201	16	Tanzánie	Nundu	-9,423	34,847	18,5	82	59	16,1		M	A
TZ28227	10	Tanzánie	Ilunda	-9,022	34,829	25	90,8	64,2	15,8	14,4	M	

TZ28230	10	Tanzánie	Ilunda	-9,022	34,829	19	84	74	16,4	14	F	
TZ28231	10	Tanzánie	Ilunda	-9,022	34,829	27,5	88,7	70,1	16,4	14,7	F	A+
TZ28241	10	Tanzánie	Ilunda	-9,022	34,829	20	87	63,7	15,3	13,3	F	A+
TZ29797	10	Tanzánie	Meriongima	-5,34	37,027	17	84	76	18	14,6	F	
BE0001	6	Benin	Agbassa	8,8	2,25							
BE0291	6	Benin	Wannou	9,02	2,06	23	91	86	15		M	
BE0347	6	Benin	Wannou	9,02	2,06	27	92	112	20		F	
BE0539	6	Benin	Terou	9,06	2,06	16,5	78	84	13		M	
BE0878	6	Benin	Gotcha	8,17	1,45	16	87	75	14		F	
GA2949	21	Gabon	Moukalaba	-2,408	10,5		82	96	20,3	12,8	M	
P0585	9	Guinea	Kazaouma	8,383	-9,317	28	99	46	18	12	F	
P0994	18	Guinea	Malweta	8,3	-9,233	10	67	54	14	12	M	
P2461	9	Guinea	Kazaouma	8,383	-9,317	20	83	90	15	13	F	
VN1185	8	Guinea	Fressoudou	9,046	-8,916	21	81		13	13	F	
VN1630	9	Guinea	Bowé	7,801	-9,174	10	67	59	17	8	F	
VN1643	9	Guinea	Bowé	7,801	-9,174	10	61	62	17	12	M	
R24007	22	Pobřeží slonoviny	Site d'étude de Taï	5,85	-7,383		59	38	13	9,6	M	
R24027	22	Pobřeží slonoviny	Site d'étude de Taï	5,85	-7,383		75	48	12,4	11,8	F	
MK8	9	Guinea	Maïkou	9,03	-9,04	18	91	46	18	14	F	
SI21	7	Guinea	Kediana/Siguirini	12,82	-10,04	14	85	83	16	14	F	
SI66	7	Guinea	Kediana/Siguirini	11,82	-10,04	11	83	76	14	13	F	
892	9	Pobřeží slonoviny	Gbagroube/Divo	5,845	-5,369	25	95	82	16	12	F	
1213	9	Pobřeží slonoviny	Blodi/Duekoue	6,744	-7,377	28	105	85	16	13	M	
VM/CMR/2007/1	5	Kamerun	Mendongbuo	6,091	10,3	22	84,5	67,8			F	
VM/CMR/2008/21	5	Kamerun	Mendongbuo	6,087	10,304	24	79,4	77,7			F	
AB672513	11	Zambie	Namwala	-15,837	25,861							
AJ225115	13											
DQ652185	14	Jihoafriická republika										
HE978360	3	Niger	Boumba	12,411	2,837							