

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích  
Přírodovědecká fakulta



**Populačně-genetické parametry rejska  
obecného a rejska malého v kontextu  
přírodních a antropogenních bariér**

Magisterská diplomová práce

Jan Zima

2008

školitel: doc. RNDr. František Sedláček Csc.

**Zima J. 2008:** Population-genetic parameters of *Sorex araneus* and *Sorex minutus* in relation to natural and anthropogenic barriers. Master thesis. Faculty of Sciences, University of South Bohemia, Czech Republic.

**Annotation:** Landscape fragmentation caused by anthropogenic or natural linear barriers, such as roads, railways and rivers could affect behavioral performance and dispersal pattern of organisms. Population-genetic parameters of two shrew species, the common shrew (*Sorex araneus*) and the pygmy shrew (*S. minutus*), were investigated with the use of microsatellite markers in order to detect potential influence of barriers on population structure and genetic variability. Two subpopulations of the pygmy shrew from the opposite banks of the Vltava river were significantly differentiated. Distribution and frequencies of alleles in the common shrew were not significantly different among eight studied subpopulations. However, significant deficit of heterozygotes was detected in three subpopulations. These subpopulations were inhabiting habitat islands, surrounded by linear barriers, with the area smaller than 200 hectares. Level of genetic variability, expressed as the level of heterozygosity, was positively linearly correlated with the area of inhabited habitat island. This pattern indicates substantially restricted movement of individuals of this species across anthropogenic linear barriers.

Prohlašuji, že předkládanou magisterskou diplomovou prací jsem vypracoval samostatně, pouze s použitím citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své magisterské diplomové práce v elektronické formě ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích 28.4.2008

.....

## **Poděkování**

Málokomu se podaří parazitovat na parazitologickém ústavu. Za tuto možnost a skvělé pracovní prostředí děkuji všem členům laboratoře molekulární taxonomie v čele s Miroslavem Oborníkem. Školiteli Františkovi za inspirativní vědecko-sociální interakce a zajištění materiálních aspektů ne zcela nenákladného výzkumu. Adrianě Rico za poskytnutí tkáňových vzorků rejska obecného ze silničních lokalit a Tomáši Tymlovi za spolupráci v terénu. Josef Bryja a Miloš Macholán laskavě přečetli a opřipomínkovali rukopis. Studentské grantové agentuře biologické fakulty Jihočeské Univerzity děkuji za opakovanou finanční dotaci. Velký dík patří v neposlední řadě mým rodičům za všestrannou podporu a důvěru v tak nejistý počín, jakým byl můj pokus vystudovat vysokou školu.

## Obsah

Úvod	1
Materiál a metody	3
<i>Tkáňové vzorky, odchyťové lokality, genetická analýza</i>	3
<i>Populačně genetické parametry</i>	4
Výsledky	7
<i>Genetická variabilita</i>	7
<i>Populačně genetické parametry rejska obecného</i>	7
<i>Populačně genetické parametry rejska malého</i>	9
Diskuse	9
<i>Aplikace genetických metod při výzkumu bariérového efektu</i>	9
<i>Populační struktura rejsků v kontextu antropogenních a přírodních bariér</i>	10
Závěry	11
Použitá literatura	12

## Úvod

Člověkem vytvářená prostředí, jako silnice, městská zástavba, polnosti či železniční tratě, mohou omezovat pohyb mnoha druhů živočichů, neboť vytvářejí „bariérový efekt“, který může ovlivnit behaviorální aspekty a disperzi živočichů (Yanes et al. 1995, McDonald & StClair 2004, McGregor et al. 2007, Rico et al. 2007). V nedávné minulosti byla publikována řada prací zkoumajících vliv těchto struktur na populačně genetické parametry různých druhů živočichů (Gerlach & Musolf 2000, Coulon et al. 2004, Epps et al. 2005, Riley et al. 2006). Převažujícím závěrem těchto studií je detekce určité míry populační diferenciace, jen výjimečně lze však tyto výsledky považovat za doklad skutečného ohrožení zkoumaných populací, jak tomu může být v případě málo početných, fragmentací areálu účinně izolovaných populací stenoekních druhů (Hulová & Sedláček 2008). Populačně-genetické analýzy přinášejí obecné doklady o důsledcích genetického driftu v podobě odlišných frekvencí alel v rámci sledovaných subpopulací. Vliv náhodného genetického driftu je výrazný zejména v případě mikrosatelitů, vyznačujících se vysokou mutační rychlostí a selekční neutralitou (Jarne & Lagoda 1996). Často lze získat odlišné schéma populační struktury v závislosti na typu použitého molekulárního markeru. Například allozomy, jejichž variabilita je řádově nižší než variabilita mikrosatelitů (Tiedemann et al. 1996), ukazují trendy populační struktury vždy výrazněji než mikrosatelity, ať už ve smyslu populační diferenciace nebo naopak homogenity (Balloux et al. 2000a, Jadwiszczak et al. 2006). Vzhledem k možnosti nezávislého vzniku alel v rámci jednotlivých sledovaných subpopulací tak mohou být odhady populační diferenciace získané analýzou mikrosatelitů výrazně podhodnocené (Balloux et al. 2000b).

Genetická struktura populací rejska obecného byla během posledních dvaceti let předmětem enormního zájmu početné skupiny badatelů, zpočátku především díky nebývalé karyotypové rozmanitosti tohoto druhu – v současnosti je popsáno přes 60 karyotypových ras (Wójcik et al. 2003). S rozvojem a zvýšenou dostupností molekulárně-genetických metod se do popředí zájmu dostala problematika výměny genů mezi různými karyotypovými rasami v oblastech hybridních zón (Lugon-Moulin et al. 1996, 1999a, Wytttenbach et al. 1999a, Andersson et al. 2004, Jadwiszczak et al. 2006). V kontextu těchto studií bylo nutné analyzovat i vliv potenciálních migračních bariér typu pohoří a řek na genetickou strukturu v rámci populací jedné karyotypové rasy (Lugon-Moulin et al. 1999b, 2000, Wytttenbach et al. 1999b). Vliv antropogenních struktur na populačně genetické parametry rejska obecného byl doposud zkoumán jen okrajově. Szalaj et al. (1996) našli v Polsku kontaktní zónu mezi dvěmi

karyotypovými rasami, kterou tvořila železniční trať oddělující oba areály. Předpokládají proto, že železniční násep může hrát roli silné bariéry omezující migraci rejsků. Ratkiewicz et al. (2003) navrhli, že narušená stanoviště (např. urbánní prostředí) mohou představovat bariéry toku genů a zesilovat genetickou diferenciaci mezi populacemi.

Tato práce volně navazuje na studii bariérového efektu silnic u tří druhů drobných savců (*Apodemus flavicollis*, *Clethrionomys glareolus*, *Sorex araneus*), provedenou pomocí metody zpětných odchytů (Rico et al. 2007). Výsledky této studie naznačily výraznější bariérový efekt silnic u rejska obecného ve srovnání se zkoumanými druhy hlodavců. Během 3200 „past'onocí“ bylo zaznamenáno 27 přeběhů silnic u myšice lesní (z celkového počtu odchycených a označených jedinců 275, tj. 9,8%), 10 přeběhů u norníka rudého (z celkového počtu odchycených a označených jedinců 194, tj. 5,2%) a pouhý jeden přeběh silnice u rejska obecného (z celkového počtu odchycených a označených jedinců 85, tj. 1,2%). Cílem předkládané práce je analyzovat populačně-genetické parametry rejska obecného, se zaměřením na negativní vliv fragmentace krajiny v podobě populační diferenciace a snížení genetické variability. Dalším cílem této diplomové práce bylo shromáždit tkáňové vzorky rejsků, žijících na březích řeky Vltavy a analýzou variability a frekvencí alel mikrosatelitových lokusů detekovat případný vliv této řeky na populační strukturu rejska obecného a rejska malého, který se ve středoevropských podmínkách běžně vyskytuje sympatricky s rejskem obecným. Výsledky podobného výzkumu populační struktury rejska malého dosud nebyly publikovány. Získaná data byla dále využita k posouzení vlivu velikosti území ohraničeného různými přirozenými nebo antropogenními bariérami na genetickou proměnlivost v něm žijících subpopulací.

## Materiál a metody

### *Tkáňové vzorky, odchyty lokality, genetická analýza*

Tkáňové vzorky (část prstu) jedinců z lokalit v sousedství silnic byly shromážděny v rámci projektu, jehož cílem bylo analyzovat bariérový efekt silničních komunikací pomocí metody zpětných odchyť do živolovných pastí (Rico et al. 2007). Výčet lokalit včetně geografických údajů a počtu jedinců ukazuje tabulka 1. K odchytu rejsků na říčních březích byly použity padací pasti (výška 15 cm, průměr 9 cm). Pasti byly rozmístěny nelineárně ve vzájemné vzdálenosti přibližně 5 metrů, exponovány po dobu jednoho měsíce (srpen) a kontrolovány 1-2 x denně. Na zvířatech byl proveden parazitologický výzkum, který vedl k potvrzení nedávného objevu parazitace rejskovitých zástupcem skupiny Myxozoa *Soricimyxum fegati* (Dyková et al. 2007). Celkem bylo na říčních březích odchyceno 42 rejsků malých (20 na levém a 22 na pravém břehu Vltavy) a 33 rejsků obecných (13 na pravém a 20 na levém břehu).

Celkem bylo geneticky analyzováno 92 jedinců rejska obecného (*Sorex araneus*) a 37 jedinců rejska malého (*S. minutus*). Výzkum druhu *S. minutus* proběhl pouze na říční lokalitě u Boršova, počet jedinců z jednotlivých břehů je 19 a 18. Pro parazitologický výzkum (Dyková et al. 2007) bylo nutné zvířata usmrtit. Jako tkáňový vzorek byla odebrána špička ocásku a uložena v 96% etanolu při 4°C až do izolace DNA pomocí kitu JETQUICK dle instrukcí dodavatele.

Bylo analyzováno šest dinukleotidových mikrosatelitových lokusů: L9, L45, L57, L62, L67, L69 (Wytenbach et al. 1997). Reakční směs pro polymerázovou řetězovou reakci (PCR) obsahovala 2,5 µl 10x Taq pufru (Top-Bio), 0,25 jednotky Taq DNA polymerázy, 0,2 mM dNTP, 0,5 µM každého primeru, 1 µl templátové DNA a 22 µl bidestilované vody. Forward primer byl značen fluorochromem (Applied Biosystems). Fragmentační analýza byla provedena na automatickém sekvenátoru ABI-3130 (Applied Biosystems) a velikosti alel stanoveny manuálně v programu GeneMapper 3.7 (Applied Biosystems).

Rozloha územních celků – ostrůvků – vymezených sítí lineárních bariér (řeka, silnice, železniční trať) v krajině (obr. 1,2,3,4), obývaných jednotlivými subpopulacemi, byla stanovena gravimetricky s použitím analytických vah s přesností 0,001 g.

Lokalita	geografické souřadnice	počet jedinců
Borek	49°02'N, 14°30'E	10 + 15
Kaplice	48°46'N, 14°27'E	11 + 9
Hluboká	49°07'N, 14°23'E	12 + 8
Vltava (Boršov)	48°54'N, 14°24'E	15 + 12

**Tab. 1** Výčet lokalit, jejich geografické souřadnice určené pomocí GPS a počet analyzovaných jedinců rejska obecného ( $x + y$ ;  $x$  = počet zvířat z jedné strany silnice/řeky,  $y$  = počet zvířat z protilehlé strany).

### *Populačně genetické parametry*

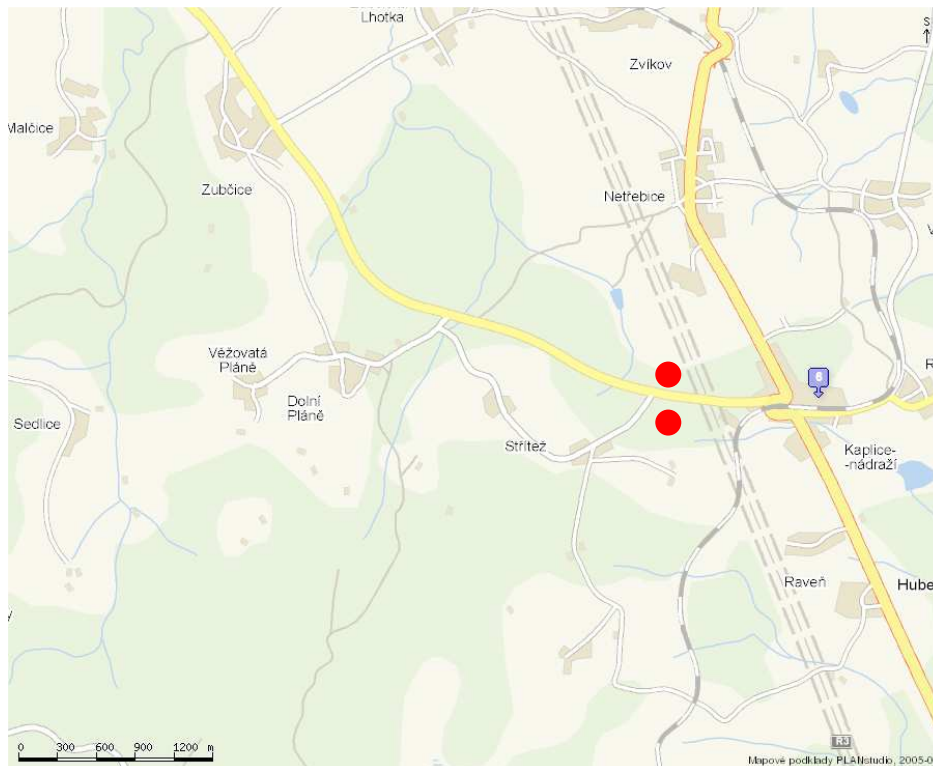
Celková očekávaná ( $H_e$ ) a pozorovaná ( $H_o$ ) míra heterozygotnosti, frekvence a počet alel, celkové a párové  $F_{st}$ , inbrední koeficient  $F_{is}$  v rámci jednotlivých subpopulací, a exaktní G-test populační diferenciace (Goudet et al. 1996) byly vypočítány v programu FSTAT 2.9.3. (Goudet 2001). Ke stanovení signifikantnosti G-testu byla použita sekvenční Bonferroniho korekce (Rice 1989). Pozorované míry heterozygotnosti pro jednotlivé subpopulace byly vypočteny v programu GENETIX (Belkhir et al. 1997). Exaktní test Hardy-Weinbergovy rovnováhy (HWE) testující nulovou hypotézu náhodného sdružení gamet (Guo & Thompson 1992) a test genotypické rovnováhy ( $H_0$ : Genotypy jednotlivých lokusů jsou navzájem nezávislé), využívající kontingenčních tabulek, Fisherova pravděpodobnostního testu a Markovova řetězce, byly provedeny v programu GENEPOP 3.4. (Raymond & Rousset 1995). Korelace míry heterozygotnosti v rámci jednotlivých subpopulací a rozlohy příslušných územních celků (ostrůvků) byla vypočítána a vizualizována v programu Microsoft Excel.

Pravděpodobnost výskytu nulových alel byla vypočtena pomocí EM algoritmu (Dempster et al. 1977) v programu FreeNA (Chapuis & Estoup 2007). Pravděpodobnost genetické příslušnosti jednotlivých jedinců k subpopulacím z lokalit, na nichž byli odchyceni, byla stanovena pomocí assignment testu, využívajícího Bayesiánský přístup (Rannala & Mountain 1997), v programu GeneClass (Cornuet et al. 1999).

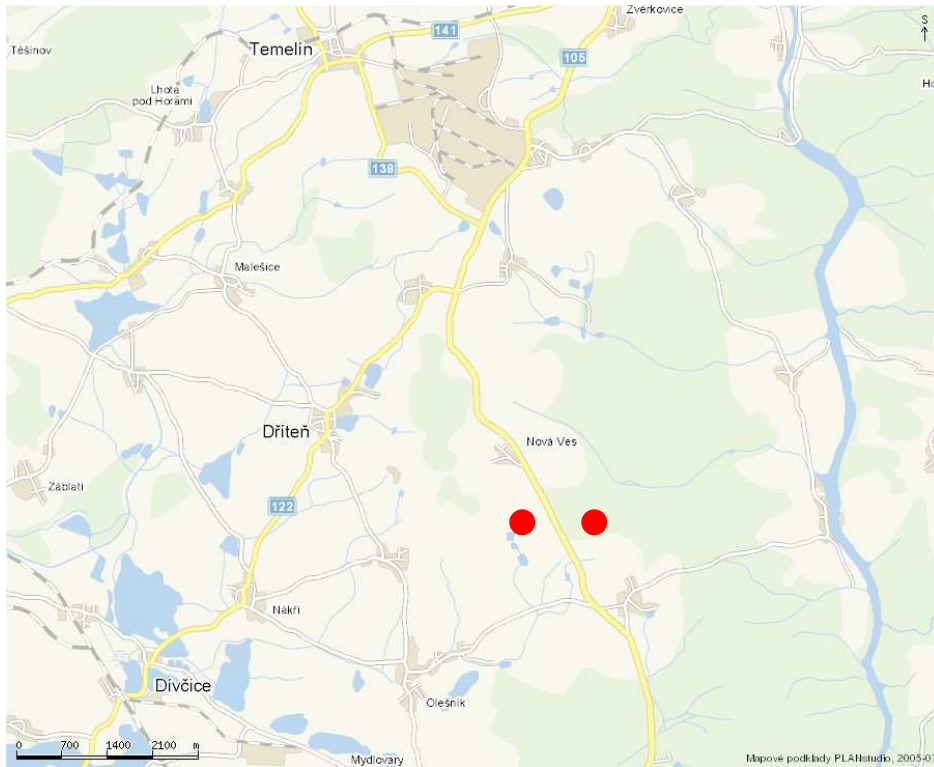




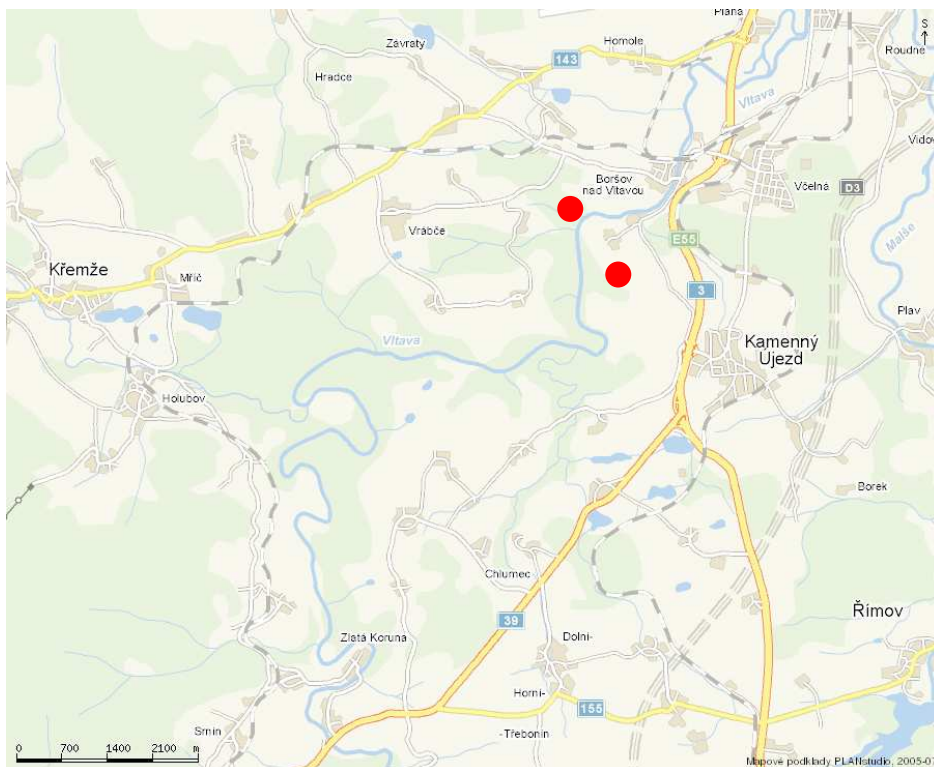
**Obr. 1** Mapa odchytové lokality Borek. Červené body představují odchytové lokality Borek Západ a Borek Východ.



**Obr. 2** Mapa odchytové lokality Kaplice. Červené body představují odchytové lokality Kaplice Jih a Kaplice Sever.



**Obr. 3** Mapa odchytové lokality Hluboká. Červené body představují odchytové lokality Hluboká Východ a Hluboká Západ.



**Obr. 4** Mapa odchytové lokality Vltava. Červené body představují lokality Boršov - Vltava levý břeh a pravý břeh.

## Výsledky

### *Genetická variabilita*

Všech šest použitých mikrosatelitových lokusů bylo polymorfních u druhu *S. araneus* (11-33 alel/lokus, průměr 21,5). Specifický set mikrosatelitů pro druh *S. minutus* nebyl dosud publikován, nicméně všechny lokusy použité v této studii byly testovány, zda poskytují PCR produkty u druhu *S. minutus*. Tři ze šesti (L9, L62, L69) použitých lokusů poskytovaly polymorfní produkty (11-15 alel/lokus, průměr 12,7), dva (L57, L67) lokusy byly monomorfní a jeden (L45) neposkytoval žádné PCR produkty. Pravděpodobnost výskytu nulových alel pro jednotlivé lokusy se pohybovala v rozmezí 0 - 0,04.

### *Populačně genetické parametry rejska obecného*

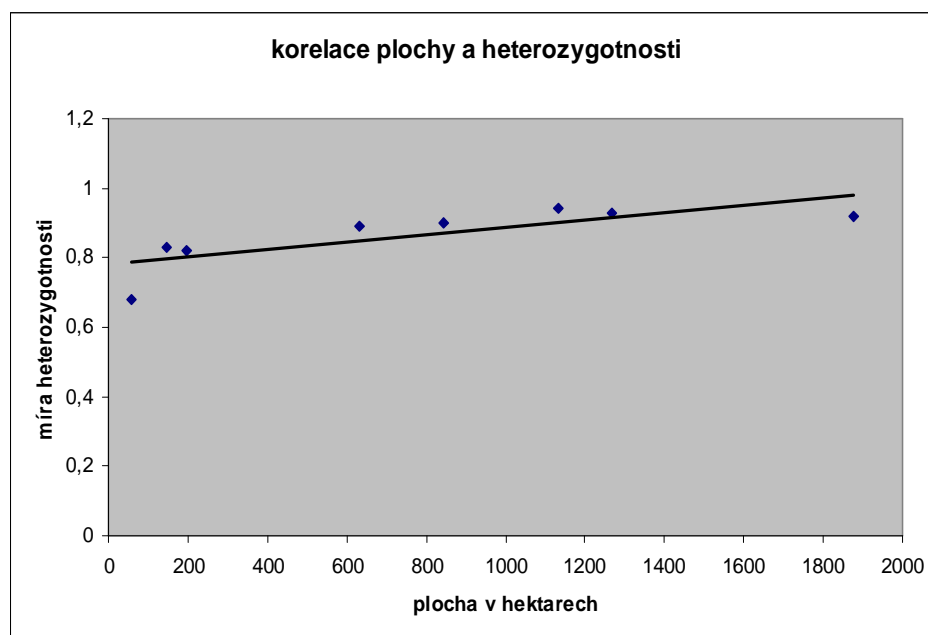
Všechny sledované subpopulace rejska obecného byly v Hardy-Weinbergově rovnováze s výjimkou subpopulace Borek Východ, kde byl detekován signifikantní deficit heterozygotů ( $P < 10^{-6}$ ). Test vazebné nerovnováhy poskytl nesignifikantní výsledky, tudíž nelze zamítnout hypotézu o vzájemné nezávislosti genotypů na jednotlivých lokusech. Celková pozorovaná míra heterozygotnosti dosáhla 0,86 a očekávaná míra heterozygotnosti byla rovna 0,9. Pozorovanou míru heterozygotnosti v rámci jednotlivých subpopulací, rozlohu územních celků, obývaných danými subpopulacemi, průměrný počet alel na lokus v rámci jednotlivých subpopulací, počet analyzovaných jedinců a inbrední koeficient  $F_{is}$  ukazuje tabulka 2. Míra heterozygotnosti pozitivně lineárně koreluje s rozlohou územního celku, obývaného danou subpopulací ( $R = 0,77$ ) (obr. 5). Výsledky G-testu populační diferenciace nebyly po aplikaci sekvenční Bonferroniho korekce pro dvojice vzorků z jednotlivých lokalit signifikantní (tab. 3). Párové hodnoty  $F_{st}$  ukazuje tabulka 3, celkové  $F_{st}$  dosáhlo hodnoty 0,02. Z celkového počtu 92 analyzovaných jedinců jich bylo 42 assignment testem přiřazeno do "správné" subpopulace.

	N	Ho	rozloha	Na	Fis
Borek Západ	10	0,83	145	10,3	0,075
Borek Východ	15	0,68	58	11,6	0,24
Kaplice Jih	11	0,82	196	9,3	0,08
Kaplice Sever	9	0,89	633	7,6	-0,03
Hluboká Západ	8	0,9	845	8,3	-0,02
Hluboká Východ	12	0,92	1877	10,3	-0,04
Vltava Pravý břeh	15	0,94	1133	11,2	-0,04
Vltava Levý břeh	12	0,86	1267	9,7	-0,1

**Tab. 2** Počet analyzovaných jedinců (N), pozorovaná míra heterozygotnosti (Ho), rozloha v hektarech, průměrný počet alel na lokus (Na), a inbrední koeficient (Fis) v rámci jednotlivých subpopulací rejska obecného.

	BZ	BV	KJ	KS	HV	HZ	VL	VP
BZ	-	0,431	0,126	0,17	0,343	0,339	0,003	0,136
BV	0,0001	-	<b>0,0007</b>	<b>0,002</b>	0,381	0,196	0,011	0,017
KJ	0,009	0,032	-	0,026	0,008	<b>0,0004</b>	<b>0,0004</b>	<b>0,002</b>
KS	0,009	0,043	0,023	-	<b>0,002</b>	<b>0,0007</b>	<b>0,001</b>	0,003
HV	0,007	0	0,027	0,041	-	0,012	0,003	<b>0,001</b>
HZ	0,006	0,009	0,041	0,029	0,021	-	<b>0,0007</b>	<b>0,001</b>
VL	0,023	0,014	0,035	0,024	0,017	0,018	-	0,046
VP	0,001	0,016	0,039	0,034	0,039	0,024	0,016	-

**Tab 3.** Nad diagonálou jsou p-hodnoty párových G-testů populační diferenciace, tučně jsou vyznačeny hodnoty signifikantní po sekvenční Bonferroniho korekci. Pod diagonálou jsou hodnoty párového Fst. Obě analýzy byly provedeny v programu FSTAT.



**Obr. 5** Grafické znázornění lineární závislosti genetické variability vyjádřené mírou heterozygotnosti na rozloze územního celku obývaného danou subpopulací.

## *Populačně genetické parametry rejska malého*

Obě subpopulace rejska malého byly v Hardy-Weinbergově rovnováze a mezi genotypy jednotlivých lokusů nebyla pozorována vazebná nerovnováha. Test genetické diferenciacce poskytl signifikantní výsledek ( $P < 0,01$ ). Celková pozorovaná i očekávaná míra heterozygotnosti byla 0,88. Inbrední koeficient byl roven nule.  $F_{st}$  dosáhlo hodnoty 0,05 a assignment test přiřadil 29 z 37 analyzovaných jedinců do "správné" subpopulace.

## **Diskuse**

### *Aplikace genetických metod při výzkumu bariérového efektu*

Je-li předmětem výzkumu vliv silnic nebo lineárních bariér obecně na populační strukturu určitého druhu organismu, pak sledovanou populační charakteristikou by měl být inbrední koeficient  $F_{is}$ , potažmo úroveň heterozygotnosti (z níž je  $F_{is}$  odvozen). Krajina v civilizovaném světě je silnicemi rozdrobena do velkého množství různě velkých ostrůvků, tj. územních celků, které jsou ze všech stran ohrazeny silnicí, nebo jiným typem lineární bariéry (železnice, říční tok). Ptáme-li se, mají-li tyto bariéry nějaký vliv na populačně genetické parametry zkoumaného druhu, je vhodné analyzovat vztah genetické variability, vyjádřené mírou heterozygotnosti, a plochy územního celku, obývaného danou subpopulací. V případě pozitivní korelace těchto dvou veličin v rámci dostatečného počtu sledovaných subpopulací je možné vyvozovat závěry ve smyslu negativního dopadu fragmentace krajiny na populace zkoumaného organismu, neboť nepříznivý vliv inbrídingu na fitness organismů – tzv. inbrední deprese – byl opakovaně prakticky i teoreticky doložen (Caughley 1994, Frankham 1998, 1999; Frankham et al. 2001, Hedrick 2001, Arcos-Burgos & Muenke 2002). Konkrétně u rejska obecného byl studován vliv inbrídingu na kompetiční schopnosti metodou neutrální arény (Välimäki et al. 2007). Dominantní jedinci měli signifikantně nižší koeficient příbuznosti (odvozený z míry inbrídingu v jejich domovských populacích) než jedinci, kteří v kompetičních interakcích prohrávali, zatímco váha jedinců neměla na výsledek kompetiční interakce signifikantní vliv.

Trend pozitivní korelace rozlohy obývaného území a genetické variability byl nedávno pozorován v rámci studie populačně-genetických parametrů rejska obecného na ostrovech při Skotském pobřeží (White & Searle 2007) a je rovněž v souladu s výsledky metaanalýzy 202

ostrovních populací, z nichž 82% mělo nižší úroveň genetické variability než populace týchž druhů z pevnin (Frankham 1997). Pokles míry heterozygotnosti lze očekávat po redukcí efektivní velikosti populace (Nei et al. 1975). Výrazná negativní korelace výskytu příbuzenského křížení a rozlohy územního celku, obývaného danou subpopulací, zjištěná během předkládané studie, naznačuje existenci bariérového efektu silnic na pohyb jedinců rejska obecného. Možnost nadhodnocení deficitu heterozygotů vlivem nulových alel lze vzhledem k nízké pravděpodobnosti (0 - 0,04 pro jednotlivé lokusy) jejich výskytu vypočítané v programu FreeNA zanedbat.

### *Populační struktura rejsků v kontextu antropogenních a přírodních bariér*

Nízké hodnoty párového (0 - 0,02) i celkového (0,02)  $F_{st}$ , nízká genetická strukturovanost vyplývající z výsledků assignment testu, jakož i nesignifikantní výsledky G-testu populační diferenciace mezi subpopulacemi rejska obecného oddělených silnicemi i řekou implikují občasné migrace jedinců tohoto druhu přes tyto bariéry. Modelovou studií bylo doloženo, že imigrace jednoho či několika jedinců za generaci může zpomalit, zastavit nebo dokonce zvrátit úbytek genetické variability v rámci metapopulace: rozdělené subpopulace rychle ztrácejí variabilitu v rámci jednotlivých subpopulací, ale zachovávají variabilitu v rámci metapopulace lépe než panmiktická populace (Lacy 1987). Jinými slovy: v rámci jednotlivých subpopulací vzniká působením genetického driftu a mutací určitá specifická kompozice alel a alelických frekvencí. Vlivem několika málo migrantů za generaci pak dochází ke vzájemnému obohacování genofondů daných subpopulací a de facto ke zvyšování genetické variability. Relativní homogenitu kompozice a frekvence alel analyzovaných mikrosatelitových lokusů lze navíc částečně vysvětlit možností nezávislého vzniku totožných alel v rámci jednotlivých subpopulací.

V kontextu dosažených výsledků je zapotřebí přijmout možnost migrace rejsků obecných přes říční tok Vltavy. Tato představa není nereálná, neboť dobré plavecké schopnosti a zimní migrace přes zamrzlá jezera byly u rejska obecného několikrát pozorovány (Peltonen & Hanski 1991, Hanski et al. 1991). Vlivem říčních toků na populační strukturu rejska obecného se částečně zabývaly dvě švýcarské studie (Lugon-Moulin et al. 1999b, Lugon-Moulin & Hausser 2002). V prvním případě výzkum probíhal v ledovcové oblasti s výskytem několika menších horských řek. Zde populační diferenciace způsobená těmito toky nebyla detekována. Druhá studie analyzuje vliv řeky Rhóny a přilehlých, pro rejska nevhodných habitatů (suché svahy). V tomto případě byl vliv dané bariéry na genetickou diferenciaci populací prokázán.

Výsledky dosažené v předkládané diplomové práci výraznou populační diferenciací rejska obecného způsobenou tokem řeky Vltavy nenaznačují. Důležitým faktorem, ovlivňujícím disperzní potenciál zkoumaného druhu, se tak jeví přítomnost vhodného habitatu, neboť na lokalitě Vltava je tato podmínka splněna.

Signifikantní populační diferenciacie subpopulací rejska malého z opačných břehů řeky Vltavy, kterou lze vyvozovat z výsledků G-testu, assignment testu i na základě vyšší hodnoty  $F_{st}$  (0,05), nasvědčuje, že na rozdíl od rejska obecného je široká řeka pro tento druh obtížně překonatelná překážka. Toto zjištění je v souladu s výsledky ekologické studie, v níž byla u rejska malého pozorována nejnižší úroveň schopnosti migrace přes vodní plochy ve srovnání s dvěma dalšími druhy rejsků s větší velikostí těla (*S. araneus*, *S. caecutiens*), pravděpodobně kvůli krátké době možného hladovění a pomalému plavání (Peltonen & Hanski 1991).

### **Závěry:**

- 1) Bylo studováno celkem 8 subpopulací rejska obecného podél tří silničních a jedné říční bariéry. Výsledky exaktního testu populační diferenciacie neprokázaly statisticky signifikantní rozdíly v distribuci a frekvencích alel v rámci šesti analyzovaných mikrosatelitových lokusů.
- 2) Byla zjištěna průkazná pozitivní korelace mezi genetickou variabilitou populací rejska obecného a rozlohou územního celku, který je ohraničen lineárními bariérami. Ve třech subpopulacích, obývajících nejmenší územní celky s rozlohou do 200 hektarů, byl zjištěn signifikantní nadbytek homozygotních genotypů, implikující zvýšenou míru inbrídingu v těchto subpopulacích.
- 3) Při zjišťování negativního dopadu lineárních bariér na populační strukturu populací živočichů je vhodné analyzovat vztah genetické variability (vyjádřené nejčastěji mírou heterozygotnosti) a velikosti územních celků, vymezených lineárními bariérami.
- 4) Dvě sledované subpopulace rejska malého z opačných břehů řeky Vltavy se signifikantně lišily v distribuci a frekvenci alel v rámci tří mikrosatelitových lokusů.

## Použitá literatura

- Andersson A.-C., Narain Y., Tegelström H., Fredga K. 2004: No apparent reduction of gene flow in a hybrid zone between the West and North European karyotypic groups of the common shrew, *Sorex araneus*. *Molecular Ecology* 13: 1205-1215
- Arcos-Burgos M., Muenke M. 2002: Genetics of population isolates. *Clinical Genetics* 61: 233-247
- Balloux F., Lugon-Moulin N., Hausser J. 2000a: Estimating gene flow across hybrid zones: how reliable are microsatellites? *Acta Theriologica* 45, Suppl. 1: 93-101
- Balloux F., Brüner H., Lugon-Moulin N., Hausser J., Goudet J. 2000b: Microsatellites can be misleading: an empirical and simulation study. *Evolution* 54: 1414-1422
- Belkhir K., Borsa P., Goudet J., Chikhi L., Bonhomme F. 1997: GENETIX ver. 4.02, Genetics logiciels pour la génétique des populations. <http://www.univ-montp2.fr/~genetix/genetix.htm>.
- Caughley G. 1994: Directions in conservation biology. *Journal of Animal Ecology* 63(2): 215-244
- Chapuis M.P., Estoup A. 2007: Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Molecular Biology and Evolution* 24: 621-631
- Cornuet J.M., Piry S., Luikart G., Estoup A., Solignac M. 1999: New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. *Genetics* 153(4):1989-2000
- Coulon A., Cosson J.F., Angibault J.M., Cargnelutti B., Galan M., Morellet N., Petit E., Aulagnier S., Hewison A.J.M. 2004: Landscape connectivity influences gene flow in a roe deer population inhabiting a fragmented landscape: an individual-based approach. *Molecular Ecology* 13: 2841-2850
- Dempster A.P., Laird N.M., Rubin D.B. 1977: Maximum likelihood from incomplete data via the EM algorithm. *Journal of Royal Statistical Society* 39: 1-38
- Dyková I., Týmł T., Fiala I., Lom J. 2007: New data on *Soricimyxum fegati* (Myxozoa) including analysis of its phylogenetic position inferred from the SSU rRNA gene sequence. *Folia Parasitologica* 54: 272-276
- Epps C.W., Palsboll P.J., Wehausen J.D., Roderick G.K., Ramey R.R., Mc Cullough D.R. 2005: Highway block gene flow and cause a rapid decline in genetic diversity of desert bighorn sheep. *Ecology Letters* 8: 1029-1038
- Frankham R. 1997: Do island populations have less genetic variation than mainland populations? *Heredity* 78: 311-327



- Frankham R. 1998: Inbreeding and extinction: island populations. *Conservation Biology* 12: 665-675
- Frankham R. 1999: Quantitative genetics in conservation biology. *Genetics Research Cambridge* 74: 237-244
- Frankham R., Gilligan D.M., Morris D., Briscoe D.A. 2001: Inbreeding and extinction: Effects of purging. *Conservation Genetics* 2: 279-285
- Gerlach G., Musolf K. 2000: Fragmentation of landscape as a cause for genetic subdivision in bank voles. *Conservation Biology* 14: 1066-1074
- Goudet J. 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Available from <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>.
- Goudet J., Raymond M., de Meeüs T., Rousset F. 1996: Testing differentiation in diploid populations. *Genetics* 144: 1933-1940
- Guo S.W., Thompson E.A. 1992: Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportions for multiple alleles. *Biometrics* 48:361-372.
- Hanski I., Peltonen., Leena K. 1991: Natal dispersal and social dominance in the common shrew *Sorex araneus*. *Oikos* 62: 48-58
- Hedrick P.W. 2001: Conservation genetics: where are we now? *Trends in Ecology & Evolution* 16: 629-636
- Hulová Š., Sedláček F. 2008: Population genetic structure of the European ground squirrel in the Czech Republic. *Conservation Genetics* 9: 615-625
- Jadwiszczak K., Ratkiewicz M., Banasek A. 2006: Analysis of molecular differentiation in a hybrid zone between chromosomally distinct races of the common shrew *Sorex araneus* (Insectivora: Soricidae) suggests their common ancestry. *Biological Journal of the Linnean Society* 89: 79-90
- Jarne P., Lagoda P.J.L. 1996: Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends in Evolution and Ecology* 11(10): 424-429
- Lacy R.C. 1987: Loss of genetic diversity from managed populations: Interacting effects of drift, mutation, immigration, selection and population subdivision. *Conservation Biology* 2: 143-158
- Lugon-Moulin N., Wytenbach A., Brünner H., Goudet J., Hausser J. 1996: Study of gene flow through a hybrid zone in the common shrew (*Sorex araneus*) using microsatellites. *Hereditas* 125: 159-168
- Lugon-Moulin N., Brünner H., Wytenbach A., Hausser J., Goudet J. 1999a: Hierarchical analyses of genetic differentiation in a hybrid zone of *Sorex araneus* (Insectivora: Soricidae). *Molecular Ecology* 8: 419-431

- Lugon-Moulin N., Brünner H., Balloux F., Hausser J., Goudet J. 1999b: Do riverine barriers, history or introgression shape the genetic structuring of a common shrew (*Sorex araneus*) population? *Heredity* 83: 155-161
- Lugon-Moulin N., Balloux F., Hausser J. 2000: Genetic differentiation of common shrew *Sorex araneus* populations among different alpine valleys revealed by microsatellites. *Acta Theriologica* 45, Suppl. 1: 103-117
- Lugon-Moulin N., Hausser J. 2002: Phylogeographical structure, postglacial recolonization and barriers to gene flow in the distinctive Valais chromosome race of the common shrew (*Sorex araneus*). *Molecular Ecology* 11: 785-794
- McDonald W.R., St.Clair C.C. 2004: The effects of artificial and natural barriers on the movement of small mammals in Banff National Park, Canada. *Oikos* 105: 397-407
- McGregor R.L., Bender D.J., Fahrig L. 2007: Do small mammals avoid roads because of the traffic? *Journal of Applied Ecology* 45: 117-123
- Nei M., Maruyama T., Chakraborty R. 1975: The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution* 29: 1-10
- Peltonen A., Hanski I. 1991: Patterns of island occupancy explained by colonization and extinction rates in shrews. *Ecology* 72: 1698-1708
- Rannala B., Mountain J.L. 1997: Detecting immigration by using multilocus genotypes. *Proceedings of National Academy of Sciences USA* 94: 9197-9221
- Ratkiewicz M., Banaszek A., Jadwiszczak K., Chetnicki W., Fedyk S. 2003: Genetic diversity, stability of population structure and barriers to gene flow in a hybrid zone between two *Sorex araneus* chromosome races. *Mammalia* 67: 275-283
- Raymond M., Rousset F. 1995: GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity* 86: 248-249
- Rice W.R. 1989: Analysing tables of statistical tests. *Evolution* 43: 223-225
- Rico A., Kindlmann P., Sedláček F. 2007: Barrier effect of roads on movements of small mammals. *Folia Zoologica* 56: 1-12
- Riley S.P.D., Pollinger J.P., Sauvajot R.M., York E.C., Bromley C., Fuller T.K., Wayne R.K. 2006: A southern California freeway is a physical and social barrier to gene flow in carnivores. *Molecular Ecology* 15: 1733-1741
- Szalaj K.A., Fedyk S., Banaszek A., Chetnicki W., Ratkiewicz M. 1996: A hybrid zone between two chromosome races of the common shrew, *Sorex araneus*, in eastern Poland: preliminary results. *Hereditas* 125: 169-176
- Tiedemann R., Hammer S., Suchentrunk F., Hartl G.B. 1996: Allozyme variability in medium-sized and large mammals: determinants, estimators, and significance for conservation. *Biodiversity Research* 3: 81-91

- Välämäki K., Hinten G., Hanski I. 2007: Inbreeding and competitive ability in the common shrew (*Sorex araneus*). *Behavioral Ecology & Sociobiology* 61: 997-1005
- White T.A., Searle J.B. 2007: Genetic diversity and population size: island populations of the common shrew, *Sorex araneus*. *Molecular Ecology* 16: 2005-2016
- Wójcik J.M., Borodin P.M., Fedyk S., Fredga K., Hausser J., Mishta A., Orlov V.N., Searle J.B., Volobouev V., Zima J. 2003: The list of the chromosome races of the common shrew *Sorex araneus* (updated 2002). *Mammalia* 67: 169-178
- Wytttenbach A., Favre L., Hausser J. 1997: Characterization of simple sequence repeats in the genome of the common shrew. *Molecular Ecology* 6: 797-800
- Wytttenbach A., Narain Y., Fredga K. 1999a: Genetic structuring and gene flow in a hybrid zone between two chromosome races of the common shrew (*Sorex araneus*, Insectivora) revealed by microsatellites. *Heredity* 82: 79-88
- Wytttenbach A., Goudet J., Cornuet J.M., Hausser J. 1999b: Microsatellite variation reveals low genetic subdivision in a chromosome race of *Sorex araneus* (Mammalia, Insectivora). *Journal of Heredity* 90(2): 323-327
- Yanes M., Velasco J.M., Suárez F. 1995: Permeability of roads and railways to vertebrates: the importance of culverts. *Biological Conservation* 71: 217-222