

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta životního prostředí



**Příbuzenská struktura a paternita v populaci
sýce rousného *Aegolius funereus***

Structure of kinship and paternity in population of Tengmalm's
Owl *Aegolius funereus*

Diplomová práce

Diplomantka: Petra Slámová

Vedoucí diplomové práce: Ing. Jana Svobodová, Ph.D.

2008

Prohlašuji, že jsem uvedenou diplomovou práci na téma „Příbuzenská struktura a paternita v populaci sýce rousného *Aeogolius funereus*“ vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury.

V Jablonci nad Nisou, dne 20. 8. 2008

.....

Petra Slámová

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych na tomto místě poděkovala za nesmírnou trpělivost a obětavou pomoc vedoucí diplomové práce Ing. Janě Svobodové, Ph.D. a rovněž prof. Doc. RNDr. Karlu Šťastnému, CSc. za jeho cenné rady a zkušenosti v terénu.

Za pomoc při odběrech vzorků, včetně nekonečného chytání samců, děkuji především Janu Hanelovi, bez kterého by práce v terénu byla mnohem obtížnější. Dále pak Ing. Markétě Zarábnické, V. Tomáškovi, M. Koubovi a A. Hýlové. Za pomoc v laboratoři děkuji Ing. Daně Rymešové. V neposlední řadě bych ráda poděkovala také svým blízkým a své rodině, která mi vytvořila skvělé zázemí a byla mi po celou dobu mého studia trpělivou oporou.

Za podporu také děkuji Liberecké zoo a CHKO Jizerské hory, jmenovitě především Mgr. Jitce Thelenové za její pomoc v terénu a poskytnutí cenných rad a zkušeností.

ABSTRAKT

Disperze a párovací systém významně ovlivňují genetickou strukturu populací. Většina druhů sov je považována za sociálně monogamní, proto jejich párovací systém byl dosud studován jen u sedmi z nich.

Sýc rousný *Aegolius funereus* je sovou obývajícím boreální lesy Evropy. Studium hnízdní biologie sýce rousného probíhá od roku 1999 v Krušných horách, kde ptáci hnízdí v budkách. Od roku 2006 se zde začalo se sběrem krevních vzorků pro stanovení párovacího systému a za účelem studia genetické struktury populace tohoto druhu. V letech 2006 – 2008 jsme odebrali vzorky od adultních jedinců a jejich mláďat ze Žďárských vrchů, Krušných hor a Jizerských hor. Analyzovali jsme celkem 241 vzorků, které byly zgenotypovány na 7 mikrosatelitových lokusech. Za toto období se u žádného mláděte dvou heterozygotních rodičů nevyskytovala cizí alela, která by byla důsledkem mimopárové fertilizace, s výjimkou dvou mláďat z Krušných hor a to v roce 2006 a 2007. Alely se však vyskytovaly pouze na jednom lokusu a jedná se spíše o výsledek mutace, než důsledek mimopárové kopulace.

Výsledky naznačují snižující se genetickou diverzitu populace v Krušných horách, což je zřejmě důsledkem relativně vysokého procenta rezidentních jedinců v oblasti, mezi nimiž jsou i samice. Hodnoty F_{ST} a výsledky programu Structure pro všechny tři lokality naznačují, že všechny tři populace jsou navzájem geneticky odlišné, což by mohlo být způsobeno omezeným genetickým tokem mezi pohořími.

ABSTRACT

Dispersion and mating system significantly affect population genetic structure. Most species of owls are considered as social monogamous therefore, their mating system was studied only in seven species.

Boreal owl (*Aegolius funereus*) inhabits boreal forest of Europe. Its nesting biology has been studied since 1999 in the Krušné hory Mts. where the birds nest in nesting boxes. To investigate mating system and the population genetic structure of boreal owl population blood samples has been collected there since 2006. In period 2006-2008 we collected samples from family members for parentage analysis from three different areas. In total, 241 samples from Krušné hory Mts., Jizerské hory Mts. and Žďárské vrchy. These samples were genotyped at 7 microsatellite loci. We found no evidence for EPF in any of the samples. Of 159 nestlings, only two from Krušné Mts. had genotypes that were incompatible with those of their parents. In each of two cases, however, the genotypes of the chicks were inconsistent with parental genotype at only one locus. They are most likely the product of mutation.

Results indicate decrease in genetic diversity of population from Krušné Mts, which is probably effect of relative high rate of resident individuals in the study area, included females. F_{ST} values and output of Structure program indicate genetic differentiation among all three localities. That could be caused by limiting gene flow between mountains.

OBSAH

1	ÚVOD	8
2	LITERÁRNÍ REŠERŠE	9
2.1	VNITRODRUHOVÝ PARAZITIZMUS	9
2.2	LEKUJÍCÍ DRUHY	10
2.3	PŘÍKLADY MIMOPÁROVÝCH KOPULACÍ U PTÁKŮ (EPC)	11
2.4	HYPOTÉZY VÝSKYTU MIMOPÁROVÉHO RODIČOVSTVÍ (EPP)	12
2.5	PÁROVACÍ SYSTÉM SOV	14
2.6	ZÁKLADNÍ INFORMACE O STUDOVANÉM DRUHU	15
2.7	CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE	16
3	MATERIÁL A METODIKA	18
3.1	CHARAKTERISTIKA STUDOVANÉ OBLASTI	18
3.2	SBĚR VZORKŮ	19
3.3	IZOLACE DNA	21
3.4	POLYMERÁZOVÁ ŘETĚZOVÁ REAKCE (PCR)	21
3.5	ANALÝZA MIKROSATELITŮ	22
3.6	URČOVÁNÍ PATERNITY	22
3.7	HODNOCENÍ POPULACÍ A JEJICH STRUKTURY	23
4	VÝSLEDKY	25
4.1	POLYMORFISMUS POUŽITÝCH LOKUSŮ	25
4.2	GENETICKÁ STRUKTURA A DIVERZITA POPULACÍ	26
4.3	VÝSLEDKY PATERNITY	30

5	DISKUZE	33
5.1	POLYMORFISMUS LOKUSŮ A DIVERZITA POPULACE.....	33
5.2	VÝSKYT MIMOPÁROVÝCH MLÁĐAT U SÝCE ROUSNÉHO <i>AEGOLIUS FUNEREUS</i>	35
6	ZÁVĚR	37
7	LITERATURA	38
8	PŘÍLOHY	46
8.1	TABULKY A GRAFY	48
8.2	MAPY	60
8.3	FOTOGRAFIE.....	63

1 ÚVOD

Jedním z klíčových faktorů, které výrazně ovlivňují dynamiku a genetickou strukturu populace je disperze, která je vlastní všem organismům. Dobrá schopnost šíření snižuje riziko konkurence rodičů a jejich potomků, kteří by zůstali věrní svému rodišti (filopatrie), a také snižuje riziko příbuzenského křížení (inbreeding) (GANDON 2002). Naopak omezená disperze jedinců může vést k inbreedingu a tím ke snížení genetické variability populace a fixaci škodlivých recesivních alel (KELLER & WALLER 2002). Vysoká genetická diverzita je pro organismy a populace důležitá, dokáží se díky ní lépe vyrovnávat s biotických a abiotických faktorů (ref.).

S rozvojem a dostupností molekulárních metod se otevřely nové možnosti jak získat odpovědi na otázky týkající se disperze a párovacího systému, který rovněž významně ovlivňuje genetickou diverzitu populací.

2 LITERÁRNÍ REŠERŠE

2.1 Vnitrodruhový parazitizmus

U mnoha populací kachen byly již před více jak 50 lety pozorovány případy, kdy hnízdo obsahovalo vajíčka snesená několika samicemi, ale inkubována byla pouze jednou z nich (LEOPOLD 1951 in LYON&EADIE 2000). Yom-Tov (1985) na základě výskytu vnitrodruhového parazitizmu u více jak 50 ptačích druhů zamítl, že by šlo o reprodukční omyl a vyslovil několik vlastních adaptačních teorií. V současné době je prokázán výskyt vnitrodruhového parazitizmu u více jak 100 ptačích druhů (LYON et al. 1992) a názory na tuto alternativní reprodukční strategii a vztah hostitel-parazit jsou stále předmětem mnoha diskuzí.

Vzhledem k silné filopatrii samic kachen, která je u většiny ptačích druhů obvyklá spíše u samců, je zde předpoklad pro vytváření příbuzenské struktury mezi samicemi v místě vylíhnutí, kam se vracejí. To bylo potvrzeno například studií Semela a Shermana (2001), kteří zkoumali chování a adaptivní význam vnitrodruhového hnízdního parazitizmu u kachničky karolínské *Aix sponsa*.

V pozdějších studiích, kde se pozorování jedinců v terénu kombinovalo s genetickými analýzami se prokázalo, že sociální vztahy ne vždy odrážejí skutečné vztahy mezi jedinci, a že úspěch parazitů je spojen s mírou příbuznosti hostitelů (NIELSEN et al. 2006). Na základě genetických analýz bylo zjištěno, že příbuznost byla v průměru vyšší tam, kde parazit položil více vajec, než tam kde položil pouze jedno, což už není možné vysvětlit silnou filopatrií (NIELSEN et al. 2006, ANDERSSON & ÅHLUND 2000, ANDERSSON & WALDECK 2007).

V protikladu k modelu Anderssona a Åhlunda (2000), kteří předpokládají, že hostitel přijetím a péčí o parazitická vajíčka zvyšuje svůj vlastní fitness, stojí práce Zinka (2000). Jeho model má dvě roviny a zaměřuje se na rozhodnutí parazita, který je schopen mít své vlastní hnízdo. Hodnotí podmínky, kdy se vyplatí hnízdicím samicím klást vajíčka paraziticky a domnívá se, že parasitismus je pro hostitele velmi nákladný. Jestliže tomu tak je, příbuzenský vztah mezi hostitelem a parazitem snižuje parazitovi zisk z parazitizmu. Parazit může natolik snížit fitness svého hostitele (např. hostitel opustí celou snůšku), že nezvýší ani svou vlastní zdatnost (ZINK 2000 in LYON & EADIE 2000).

Rozdíly mezi těmito modely zdůrazňují, že příbuznost je pouze polovinou rovnice příbuzenského výběru – vývoj závisí také na velikosti nákladů a výhod pro zúčastněné, a na dalších reprodukčních možnostech, které jsou jim dostupné (HAMILTON 1964 in LYON & EADIE 2000). Doposud byl vnitrodruhový parazitismus vnímán jako interakce, která přímo hájí zájem parazita na úkor hostitele. S nejnovějšími poznatky a za předpokladu, že se mezi sebou příbuzní jedinci poznají, by se toto chování dalo klasifikovat spíše jako kooperace mezi příbuznými jedinci, ne tolik vzdálené od cooperative breeding system (LYON & EADIE 2000).

Bez ohledu na silnou filopatrii samic a častý vnitrodruhový parazitizmus, vykazují kachnovití *Anatidae* široké spektrum párovacích systémů. Pružnost tohoto reprodukčního chování v průběhu jejich evoluce naznačuje, že párovací systém není fylogeneticky pevně daný, ale spíše kolísá v závislosti na ekologických podmínkách a příležitostech (EADIE 1991 in LYON & EADIE 2000).

2.2 Lekující druhy

Pro lekující druhy je typické tokaniště, kde se shlukují skupinky samců a samice navštěvují tokaniště výhradně za účelem páření. Jsou charakterizována (i) shlukováním samců; (ii) silným vlivem samičího výběru, založeného na úspěšnosti samce (iii) stabilitou tokaniště v čase (HÖGLUND et al. 1995 in JIGUET & BRETAGNOLLE 2006).

Pomocí molekulárních metod bylo zjištěno, že samci se lépe uplatní v teritoriích, v kterých se nachází jejich příbuzní a že jedinci uvnitř tokanišť nejsou členy jen jedné příbuzenské skupiny (SEGELBACHER et al. 2007, SHOREY et al. 2000, HÖGLUND et al. 1999). Přítomnost příbuzných skupin usnadňovala těmto jedincům získat teritorium, což vede k předpokladu, že je zde možnost vzájemného rozeznání příbuzných jedinců mezi sebou (HÖGLUND & SHOREY 2003). Molekulární metody pomohly také objasnit u některých lekujících druhů alternativní reprodukční strategie (individuální vystavování). Tyto způsoby párování mohou být dány genetickými rozdíly mezi jedinci (JUKEMA & PIERSMA 2006), rozdílnou zdatností (MCDONALD & POTTS 1994) a také změnami prostředí, které ovlivňují populační denzitu (LANCTOT et al. 1998).

2.3 Příklady mimopárových kopulací u ptáků (EPC)

Nejméně jedno mimopárové mládě v hnízdě bylo nalezeno v průměru u 90% ptačích druhů. Mezi sociálně monogamními druhy je v průměru přes 11% potomstva výsledkem mimopárové kopulace (GRIFFITH et al. 2002). Výskyt mimopárové fertilizace (EPF) je charakteristický pro řád pěvců, kde dosahuje 86%, zatímco u ostatních druhů je to pouze 45% (WESTNEAT & SHERMAN 1997).

Pomocí genetických metod byla u mnoha ptačích druhů prokázána EPC a to například u hýla mexického *Carpodacus mexicanus* (LINDSTEDT et al. 2007), sýkory modřinky *Parus caeruleus* (FOERSTER et al. 2006) nebo modropláštika nádherného *Malurus cyaneus*, kde bylo až 66% mláďat výsledkem mimopárové kopulace (DOUBLE et al. 2005).

Lindstedtovi et al. (2007) se nepodařilo prokázat, že by výskyt EPC byl závislý na hnízdní hustotě či na načasování hnízdění a neovlivnila ho ani blízkost mimopárového samce. Naopak byla prokázána spojitost EPC s příbuzností jedinců, kdy s rostoucí příbuzností samice s ostatními samci rostl i výskyt mimopárových mláďat v hnízdě. Závislost výskytu EPC na příbuznosti mezi samci na dané lokalitě prokázána nebyla (LINDSTEDT et al. 2007). Ačkoli závislost výskytu EPC na příbuznosti páru u sýkory modřinky *Parus caeruleus* nebyla prokázána (FOERSTER et al. 2006), výskyt EPC výrazně zvyšoval heterozygotnost populace. To samé potvrzuje i Lindstedt et al. (2007), který navíc zjistil, že mimopárová mláďata hýla mexického *Carpodacus mexicanus* byla mnohem odolnější vůči vysoce nakažlivé infekci způsobené *Mycoplasma gallisepticum* (DUCKWORDS et al. 2003 in LINDSTEDT et al. 2007, BUTCHER 2002).

Příkladem EPC je i polyandrie, která však není mezi ptačími druhy příliš častým párovacím systémem a o těchto druzích toho zatím víme jen málo. Vyskytuje se například u řádu krátkokřídlých (*Gruiformes*) a bahnáků (*Caharadiiformes*). Pro samice je typické výraznější zbarvení a větší rozměry, samci v tomto vztahu zajišťují inkubaci snůšky a péči o potomstvo (HEINSON 2005).

Jedním z takových druhů je i ostnák jihoamerický *Jacana jacana*, pro kterého je charakteristická mimopárová kopulace, která je v době kladení vajec velmi hojná - v průměru 1,3 kopulace za hodinu. V případě, že se ve skupině naskytne jiný samec, procento mimopárových kopulací rapidně roste s počtem „dostupných“ samců, v

průměru přes 40% mláďat (EMLEN et al. 1999). Emlen et al. (1999) dokonce pozoroval případ, kdy samice kopulovala s jiným samcem přímo před zraky jejího sociálního partnera, který inkuboval společnou snůšku. Toto zjištění je v rozporu s teorií, že samci vynakládají energii na péči o potomstvo v případě, že jsou si jistí svou paternitou (WHITTINGHAM et al. 1992).

2.4 Hypotézy výskytu mimopárového rodičovství (EPP)

Jedním z nejvíce promiskuitních ptačích druhů je strnad rákosní *Emberiza schoeniclus*, u kterého bylo zaznamenáno přes 55% mimopárových mláďat a až 86% hnízd obsahovalo nejméně jedno mimopárové mládě (DIXON et al. 1994 in GRIFFITH et al. 2002). K podobným výsledkům došli i Double a Cockburn (2000) u modropláštika nádherného *Malurus cyaneus*, kdy v průměru v 95% hnízd bylo přítomno nejméně jedno mimopárové mládě. Častý výskyt EPC/EPF a jejich vysoká hodnota tak evokuje myšlenku, zda se nejedná o adaptivní vlastnost (GRIFFITH et al. 2002). Byly tak navrženy pět základních adaptačních hypotéz EPP.

Na základě srovnávacích studií u 21 druhů pěvců, byla podpořena hypotéza, že načasování snůšky ve stejný čas dává samicím možnost lépe porovnat kvalitu potenciálních mimopárových partnerů (STUTCHBURY & MORTON 1995 in NEODORF 2004). Existuje i varianta, která staví na asynchronním hnízdění - v případě, že by samice nehnízdili ve stejnou dobu, samec má větší šanci utvořit dvojici s mimopárovou samicí ve chvíli, kdy jeho sociální partnerka již nepokračuje ve snášení vajec. S touto hypotézou by se mohly shodovat výsledky studie provedené na vrabci domácím *Passer domesticus* (VÁCLAV & HOI 2007). Ačkoli některé studie synchronní či asynchronní hypotézu nepodporují (LINDSTEDT et al. 2007), srovnávací studie naznačují silný vztah mezi hladinou EPP a načasováním snůšky (NEODORF 2004).

Hnízdní hustota by mohla podpořit výskyt EPF, jelikož příležitost obou pohlaví k mimopárové kopulaci by měla být vyšší. Když jedinci hnízdí blízko sebe, mohla by se zvýšit dostupnost mimopárových partnerů (NEODORF 2004). Tuto teorii vyvrací Westneat a Sherman (1997), kteří ve své studii žádný takovýto vztah nenalezli, stejně tak například Gyllensten et al. (1990) či Fridolfsson et al. (1997). Ačkoli byla prokázána korelace mezi hnízdní denzitou a hladinou EPC například v populaci

salašníka modrého *Sialia sialis* (GOWATY & BRIDGES 1991) a vlhovce červenokřídlého *Agelaius phoeniceus* (GELTER & TEGELSTRÖM 1992 in GRIFFITH et al. 2002), tato hypotéza se nejeví jako spolehlivé vysvětlení EPP mezi populacemi (GRIFFITH et al. 2002).

Rozpory u předchozích dvou hypotéz vedly některé autory k myšlence, že klíčový faktor v rozluštění rozdílnosti EPP mezi druhy by mohl být spíše genetický než demografický (GRIFFITH et al. 2002). Jestliže se samice nepřímo snaží těžit z EPF (dobré geny, zvýšení heterozygotnosti mláďat apod.), genetická variabilita mezi samci významně ovlivní výhody, které jí z EPF plynou (NEODORF 2004). V několika studiích bylo dokázáno, že pokud je genetická rozmanitost mezi samci malá, budou malé i její zisky (PETRIE & LIPSITCH 1994, PETRIE & KEMPENAERS 1998). Stejně výsledky byly získány i ze srovnávacích studií ostrovních populací, kdy výskyt EPF u populací na ostrovech byl znatelně nižší než na pevnině (GRIFFITH et al. 1999, 2000 & MÖLLER 2000 in GRIFFITH 2002).

Existují dvě hypotézy týkající se vlivu rodičovské péče na výskyt EPF. První předpokládá, že samci mohou být omezováni energií vynaloženou na péči o potomstvo a je tak pro ně obtížnější zabránit EPF ze strany jejich partnerek („trade off“). Druhá teorie je založena na ztrátách a výhodách samic plynoucích z EPF. Jestliže samci v reakci na sníženou jistotu jejich paternity sníží svůj podíl na rodičovské péči o potomstvo, je méně pravděpodobné, že by samice riskovaly EPF. Srovnávací a empirické studie tuto hypotézu většinou potvrzují (BIRKHEAD & MØLLER 1996 IN GRIFFITH et al. 2002), ale experimentálních studií, které by tuto hypotézu potvrdily, bylo zatím provedeno jen málo (HOI-LEITNER et al. in GRIFFITH et al. 2002). Například Arnold a Owens (2002) zamítli na základě dat z několika studií variantu, že by frekvence výskytu EPF závisela přímo na míře rodičovské péče. Avšak u druhů, pro které je péče o potomstvo klíčová, zjistili, že výskyt EPF je velmi nízký. Pro další závěry je potřeba více experimentálních studií.

Mezi základní adaptační teorie patří i hypotéza, která se zabývá mortalitou adultů. Existuje předpoklad, že krátkověké druhy mají tendenci využít za svůj reprodukční život co nejvíce příležitostí k páření a tak by mohly být ochotni EPC spíše tolerovat. To potvrzují i výsledky studií zaměřené na skupiny pěvců, zmíněné v předchozích kapitolách (DIXON et al. 1994, DOUBLE et al. 2005, FOERSTER et al. 2006, LINDSTEDT et al. 2007 aj.).

2.5 Párovací systém sov

Na rozdíl od výše uvedených příkladů je u sov vzhledem k nízké hnízdní hustotě a výrazné rodičovské péči předpokládána sociální i genetická monogamie. Jejich párovací systém však zatím nebyl příliš studován. Molekulární metody byly použity pouze u sýčka králičího *Athene cunicularia* (JOHNSON 1997), sýčka obecného *Athene noctua* (MÜLLER 2001), kalouse ušatého *Asio otus* (MARKS 1999), sýčka obecného *Otus asio* (LAWLESS 1997), výrečka plaménkovitého *Otus flammeolus* (ARSENAULT 2002), puštíka obecného *Strix aluco* (SALADIN 2007), sovy pálené *Tyto alba* (ROULIN 2004), výrečka rjúkutského *Otus elegans* (HSU et al. 2006) a u sýce rousného *Aegolius funereus* (KOOPMAN 2007b). U všech jmenovaných byla potvrzena monogamie samic, až na sýčka králičího, kde hladina EPF činila 10-15% (JOHNSON 1997), ojedinělý výskyt jednoho mimopárového mláděte z celkem 211 odebraných vzorků u studie sovy pálené (ROULIN 2004) a taktéž jednoho mláděte tentokrát ze 137 vzorků u studie, kterou provedl Saladin (2007).

Výjimku tvoří výreček rjúkutský *Otus elegans*, u něhož byla zaznamenána vysoká frekvence mimopárové kopulace avšak s nízkým výskytem mimopárových kopulací (Hsu et al. 2006). V letech 1999-2004 získali celkem 200 vzorků mláďat ze 108 snůšek za účelem zjištění paternity, ale pouze dva vzorky označily za mimopárové mládě. Navíc pouze jedno mládě bylo zřejmě výsledkem mimopárové kopulace, jelikož první z nich Hsu et al. (2006) označuje spíše jako výsledek vystrnadění původní samice z hnízda a následnou adopcí vajíčka, které po ní v hnízdě zůstalo (jednalo by se o první zdokumentovaný případ takového jednání u tohoto druhu).

Jak už bylo řečeno výše, sýc rousný je monogamní druh, což potvrdila i poslední studie Koopmana (2007b). Avšak za určitých podmínek jsou u něj relativně často zaznamenány případy polyginie, většinou bigynie ze strany samců. Důkazem jsou například studie Korpimäkiho (1983, 1989, 1991), z kterých vyplývá, že případy polyginie byly podmíněny cyklickou fází hrabošů a byly zaznamenány pouze v letech s jejich vysokou početností. V tomto období dokonce zaznamenal i tři případy trigynie, když zkoumal vliv množství potravy na velikost snůšky (KORPIMÄKI 1991). Podobné výsledky zaznamenali i Carlsson & Hörnfeltdt (1989), což naznačuje, že množství potravy (podmíněné cykly hrabošů) by mohlo mít vliv i na výskyt EPC. Tuto

hypotézu potvrzuje studie poštolky obecné *Falco tinnunculus* ve Finsku. Během nárůstu početnosti potravy 7% hnízd obsahovalo mimopárové mládě, zatímco v letech s klesající nebo nízkou potravní nabídkou byla tato hodnota nulová (KORPIMÄKI et al. 1996).

Samice sýce rousného je až na výjimky monogamní, ale obdobně jako u samců - v závislosti na podmínkách se u ní také můžeme setkat s projevy polyandrie. V případě sýce se však spíše jedná o sukcesní polyandrii, kdy samice opouští vylíhnutá mláďata krátce před vylétnutím, které samec ještě několik týdnů krmí, a opětovně zahnízdí s jiným samcem (CARLSSON & HORNFELDT 1989, KORPIMAKI 1989, KORPIMAKI 1991, KORPIMAKI 1992, SONERUD 1992).

2.6 Základní informace o studovaném druhu

Jedná se o druh s rozsáhlým areálem rozšíření od severovýchodního Polska přes Ural až po západní Sibiř a osidluje i tajgy a horské lesy Severní Ameriky (CRAMP & SIMMONS 1985). Člení se na 7 poddruhů, z nichž šest patří do oblasti Eurasie a jeden do Severní Ameriky (KOOPMAN et al. 2005).

Sýc rousný *Aegolius funereus* je menší sova, která v České republice preferuje vzrostlé jehličnaté (převážně smrkové) a smíšené porosty vyšších poloh, můžeme ji nalézt i v lesích listnatých. Jeho početnost se zde odhaduje na 1500-2000 párů a v červeném seznamu je zařazen mezi druhy zranitelné (ŠŤASTNÝ et al. 2006). Dle zákona č. 114/1992 Sb. patří tato sova v ČR do kategorie silně ohrožených druhů a je součástí programu Natura 2000, kde je zařazena podle směrnice č. 79/409/EEC o ochraně volně žijících ptáků v příloze č. I.

Vyskytuje se v oblastech s nadmořskou výškou od 400 – 1800 m. n. m., nejčastěji pak v 1100 – 1800 m. n. m. (CRAMP & SIMMONS 1985). Výskyt sýce rousného *Aegolius funereus* je však vázán především na přítomnost vhodných hnízdních dutin a dostatek potravy (KORPIMÄKI 1981). Vyvěšováním hnízdních budek lze jeho hnízdění podpořit například i na imisních holinách (DRDÁKOVÁ 2002, THELENOVÁ 2003).

V Evropě hnízdí sýc rousný nejčastěji v dutinách po datlu černém *Dryocopus martius* (ŠŤASTNÝ et al. 2006, KORPIMÄKI 1981) a to v období od března do června, ačkoli hlasové projevy samce v toku je možné zaslechnout již od ledna (VACÍK 1991).

Vajíčka jsou kladena v intervalu 2 dní a snůška má zpravidla 5 – 7 vajec, jejich počet kolísá v závislosti na potravní nabídce (extrémy). Snůšku inkubuje samice po dobu přibližně 28 dní a hnízdní dutinu opouští minimálně. Mláďata zůstávají na hnízdě 30-35 dní. Po této době samice opouští hnízdo, ale samec mláďata ještě přibližně tři týdny krmí (KÖNIG 1965 in RYMEŠOVÁ 2008).

Hlavní složkou potravy sýce rousného jsou drobní zemní savci jako hraboši *Microtus sp.*, norníci rudí *Myodes glareolus* (KORPIMÄKI 1986) a ve střední Evropě dosti časté myšice *Appodemus spp.* (SOBOTOVÁ 2008, JURAS 2007, RYMEŠOVÁ 2006, HOLÝ 2002). V závislosti na potravní nabídce a na fázi cyklu drobných hlodavců, může sýc kompenzovat nedostatek potravy také lovem ptáků (THELENOVÁ 2003, KORPIMÄKI 1988).

Dospělí jedinci ze Skandinávských populací jsou schopni překonávat při svém šíření velké vzdálenosti, přičemž u mláďat může být tato vzdálenost ještě větší (KORPIMÄKI et al. 1987). Zatímco samci zpravidla zůstávají v blízkosti svého teritoria, samice svá teritoria po zahnízdění (nezávisle na jeho úspěšnosti) opouštějí (KORPIMÄKI et al. 1987).

Dobrou schopnost šíření podporuje i studie ze severní Ameriky, kde byla u populací sýce zjištěna velmi nízká genetická struktura (panmixie), ačkoli vzdálenosti mezi populacemi byly značné (KOOPMAN et al. 2007a). Stejně tak mezi populacemi v Norsku a Rusku nebyly zjištěny genetické rozdíly, což by naznačovalo, že mezi populacemi dochází ke genetickému toku (KOOPMAN et al. 2005).

2.7 Cíle diplomové práce

Jelikož je většina druhů sov pokládána za sociálně monogamní, byl jejich párovací systém studován zatím pouze u 9 z nich. Molekulárních metod využil u svých studií sýce dosud jen Hakkarainen et al. (1996) a nedávno své výsledky publikoval Koopman et al. (2007b).

Tato práce by měla navázat na dosavadní výsledky a podpořit probíhající studii sýce rousného v Krušných horách, která zahrnuje práce o hnízdní biologii (DRDÁKOVÁ 2002, 2003, 2005, HANEL 2008 nepubl. data), potravní ekologii (HOLÝ 2002, JURAS 2007, SOBOTOVÁ 2008), telemetrii (KOUBA 2007, TOMÁŠEK 2007) a genetické struktury populace (RYMEŠOVÁ 2008). Analýza vzorků ze sezóny 2008 by

zároveň měla položit základy pro budoucí sezóny a studii genetické struktury populace v Jizerských horách.

Hlavní cíle a předpoklady:

- Genetickými analýzami hnízdících jedinců a mláďat stanovit párovací systém druhu. Vzhledem k silné potřebě rodičovské péče (KORPIMÄKI 1989) předpokládám nízký až nulový výskyt EPF (GRIFFITH et al. 2002, LINDSTEDT et al 2007).
- Stanovit genetickou strukturu populací. Vzhledem k vysoké schopnosti disperze (KORPIMÄKI 1986) nepředpokládám, že by zde docházelo k vytváření genetické struktury.
- Analyzovat příbuzenskou strukturu v populaci Krušných hor. Na základě silné fidelity a teritoriality samců (KORPIMÄKI et al. 1987) předpokládám vznik příbuzenské struktury mezi samci. Opačné výsledky očekávám u samic, které jsou u tohoto druhu nomadické.
- Mezi cíle diplomové práce patří i porovnání genetické diverzity populace Krušných a Jizerských hor. Vzhledem k velikosti populace a rozsáhlosti lokality předpokládám vyšší genetickou diverzitu u populace Jizerských hor.

3 MATERIÁL A METODIKA

3.1 Charakteristika studované oblasti

Sledované území se nachází ve východní části imisemi poškozených Krušných hor, které je situováno okolo vodní plochy Fláje a ze severu a západu je vymezeno státní hranicí. Svou plochou zaujímá rozlohu přibližně 70km² (obr. 3.1.1).



Obr. 3.1.1: Mapa sledovaného území ve východní části Krušných hor.

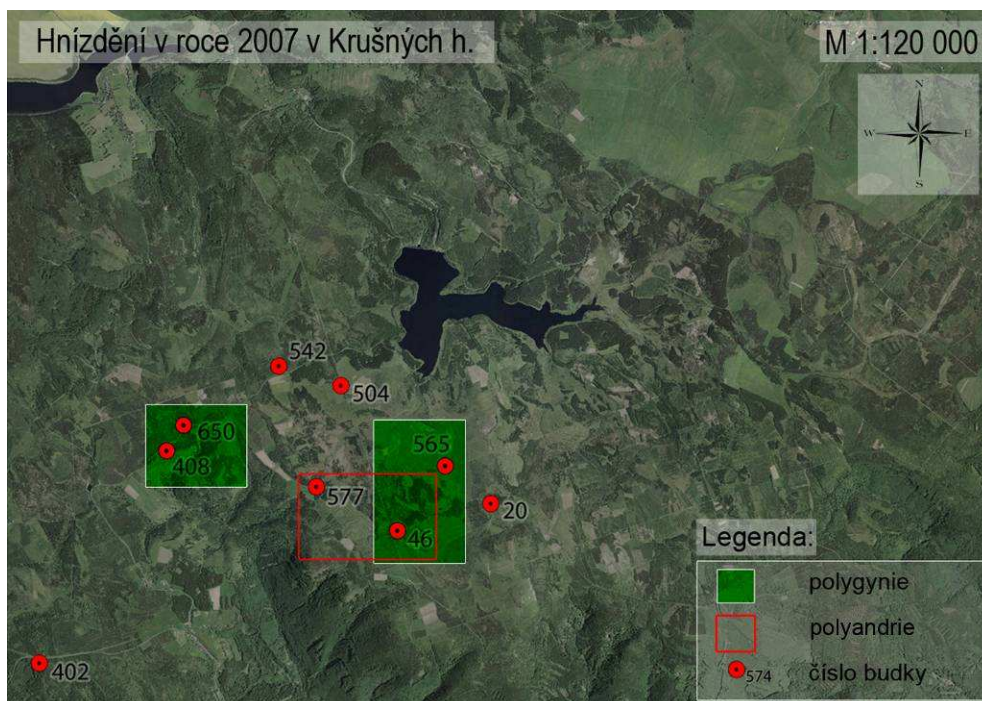
Krajina má mozaikovitý charakter, dominují zde náhradní dřeviny za odumřelý smrkový porost v podobě smrku pichavého *Picea pungens* a smrku ztepilého *Picea abies*, které doplňuje dále například modřín opadavý *Larix decidua*. Převládajícími listnatými dřevinami jsou bříza pýřitá *Betula pubescens*, bříza bradavičnatá *Betula pendula*, jeřáb ptačí *Sorbus aucuparia*, dub červený *Quercus rubra* a buk lesní *Fagus sylvatica*.

V porostu byly od roku 1999 do roku 2007 postupně vyvěšovány hnízdní budky. Ke stávajícím datu se ve studované oblasti nachází celkem 134 budek, které jsou v závislosti na terénním pozorování v případě potřeby převěšovány (například v rámci protipredační ochrany).

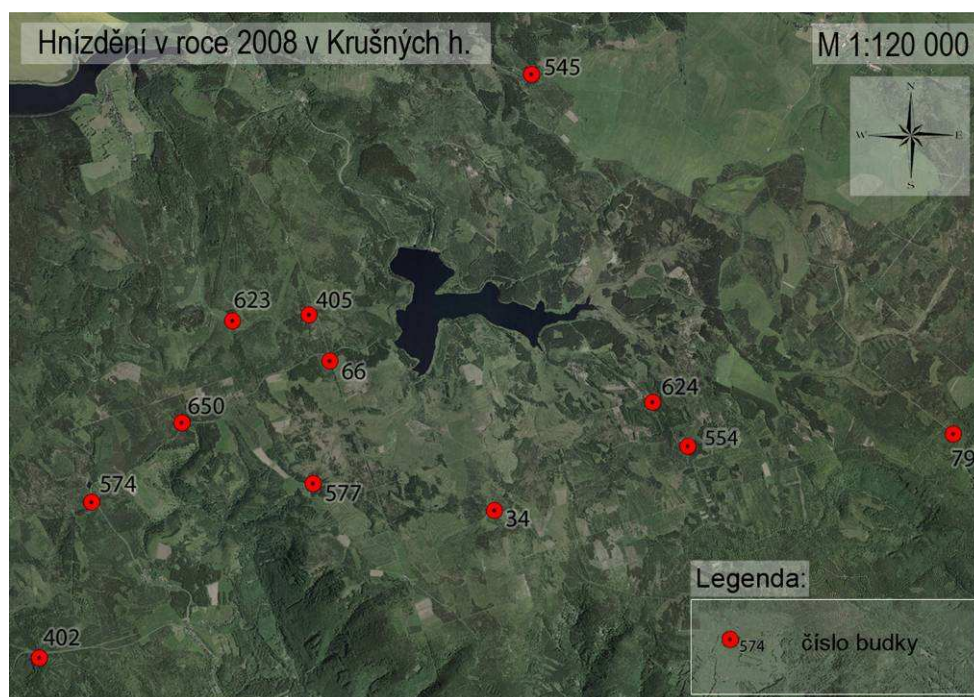
3.2 Sběr vzorků

Během 2leté studie bylo celkem zanalyzováno 106 vzorků z Krušných hor (16 samců, 19 samic a 71 mláďat) a v roce 2008 navíc 19 vzorků z Jizerských hor (2 samci, 2 samice a 15 mláďat) (*příloha 8.1.1*).

Hnízda v Krušných horách byla zjišťována periodickou kontrolou budek 1x týdně – samice a mláďata pak byla odchyťována na hnízdě a samec zpravidla do sítě při donášce potravy před budkou. V roce 2007 byly odebrány vzorky celkem z 9 hnízd (*obr. 3.2.1*) a v roce 2008 celkem z 11 (*obr. 3.2.2*). Každý jedinec byl před odběrem vzorků okroužkován. Vzorky byly odebrány venepunkcí brachiální tepny (50-100 μ l krve) a uchovány v označených ependorfkách s 96% etanolem při teplotě přibližně -40°C . Každá zkumavka byla označena kroužkem jedince, číslem budky, datumem a lokalitou, kde byl vzorek odebrán (*příloha 8.3.1*).



Obr. 3.2.1: V roce 2007 byly v Krušných horách odebrány vzorky celkem od 9 párů. V zeleném poli jsou budky obsazené polygynními samci a v červeném rámu sekvenční polyandrie.



Obr. 3.2.2: V roce 2008 byly v Krušných horách odebrány vzorky celkem od 11 párů.

3.3 Izolace DNA

K izolaci DNA byl použit komerční kit DNeasy blood & tissue kit (Qiagen), podle níže popsaného protokolu.

Bylo přepipetováno 5-10 μ l krve do prázdných ependorfeek, které se nechaly vyschnout. Jakmile vyschly, bylo přidáno 20 μ l proteinázy K. Dále podle množství napipetované krve bylo přidáno 190-195 μ l roztoku ATL tak, aby byl vorek doplněn na objem 220 μ l. Po 15 vteřinovém vortexování byly vzorky vloženy do inkubátoru s teplotou 55 $^{\circ}$ C dokud se tkáň úplně nerozložila (2-3 hod, případně déle). Následovalo opět vortexování (15 sekund), poté bylo přidáno 200 μ l roztoku AL a vzorky se znovu vortexovaly, tentokrát na 30s. Na dalších 10min byly vloženy do inkubátoru při teplotě 70 $^{\circ}$ C. Následně bylo přidáno 200 μ l etanolu (96-100%) a vzorky byly vortexovány po dobu 15s. Výsledek byl napipetován do zvláštních zkumavek a zcentrifugován při 8000 rpm po dobu 1min. Horní část těchto zkumavek byla vložena do nových a celý postup se ještě jednou opakoval, opět po dobu 1min. Znovu následovala výměna spodních částí zkumavek za nové a poté bylo přidáno 500 μ l roztoku AW2 a následně zcentrifugováno při 14000rpm (3min). Horní části filtrů byly dány opět do nových ependorfeek a bylo přidáno 200 μ l roztoku AE, který byl před svým použitím umístěn do inkubátoru při teplotě 55 $^{\circ}$ C.. Následovalo centrifugování 10000rpm po dobu 1min.

3.4 Polymerázová řetězová reakce (PCR)

Vzorky byly analyzovány na 7 mikrosatelitových lokusech (BOOW04, BOOW06, BOOW 07, BOOW13, BOOW14, BOOW18, BOOW19; KOOPMAN et al. 2004), vždy jeden primer z párů byl fluorescenčně označen, což umožnilo namíchání do 2 multiplexů, setu A a B (*příloha 8.1.2*). Do PCR vstupovaly vzorky v celkovém objemu 20 μ l, obsahující 1 μ l DNA, 0,05 – 0,4-5 μ l z každého 5krát Multiplex PCR Master Mixu (Qiagen).

PCR reakce probíhala ve 4 krocích za následujících podmínek: iniciační denaturace trvala 15min při teplotě 95 $^{\circ}$ C a pokračovala opakováním 40 cyklů

skládající se z denaturační fáze po dobu 30s při teplotě 94°C, dále fází zchlazení po dobu 90s při teplotě 57°C (navázání primerů), následována fází polymerace (syntéza nových řetězců) po dobu 1min a při teplotě 72°C a finální extenze 30min při teplotě 60°C v Mastercycler ep (Eppendorf).

3.5 Analýza mikrosatelitů

Na nové plato bylo napipetováno 12 μ l formamidu společně s 0,3 μ l LIZu. Na takto připravené plato bylo napipetován 1 μ l každého PCR produktu. Následovala 5 minutová denaturace při 95°C v cycleru a poté byly vzorky podrobeny kapilární elektroforéze v přístroji ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

K analýze získaných dat byl použit program GeneMapper v. 3.7 – jednotlivé alely byly rozlišovány na základě pozic peaků (*příloha 8.1.3*).

3.6 Určování paternity

Vyhodnocení paternity probíhalo nejprve srovnáváním jednotlivých alel rodičů na základě mendelovské dědičnosti, přičemž odchycená samice na hnízdě byla považována za biologickou matku mláďat. Dále pak byla pomocí programu Cervus verze 3.0.3 zjištěna frekvence alel, údaje o heterozygotnosti, případné odchýlení od Hardyho-Weinbergovy rovnováhy, odhadované frekvence nulových alel a byla provedena simulace paternity s následnou analýzou paternity pro krušnohorskou a jizerskohorskou populaci (KALINOWSKI et al. 2007). Důležitou hodnotou, která byla programem vypočítána, je hodnota LOD score, přičemž genetického otce charakterizuje nejvyšší kladná hodnota. Paternita byla určována na základě hodnoty LOD score a neshodujícího se počtu lokusů („mismatching locus“) mezi potomkem a předpokládaným otcem.

Do analýzy frekvence alel („allele frequency analysis“) vstupovaly genotypy adultních jedinců a frekvence byly vypočteny pro jednotlivé sezóny v Krušných a Jizerských horách. V roce 2007 nesli všichni jedinci z obou sledovaných lokalit na lokusu BOOW06 stejnou alelu, proto byl tento monomorfní lokus z dalších analýz vyloučen, obdobně jako v roce 2006 u krušnohorské populace (RYMEŠOVÁ 2007).

V roce 2007 se k němu připojil i lokus BOOW14, takže do analýz vstupovalo pouze 5 lokusů z celkových 7. Porovnání polymorfnosti lokusů jednotlivých let 2006, 2007 a 2008 bylo provedeno na 7 lokusech, aby nedošlo ke zkreslení dat .

Do další analýzy („simulation of parentage analysis“) byl jako vstupní soubor použit výstup z předchozí analýzy frekvence alel adultních jedinců. Výsledný soubor z této analýzy pak vstupoval společně se souborem obsahujícím ID mláďat a ID známého rodiče (matky), se souborem s ID samců, s genotypem celé populace a s frekvencí adultních jedinců do 3. analýzy ověřující paternitu předpokládaných otců („parentage analysis“), chycených a odebraných u hnízdní budky v letech 2007-2008. U krušnohorské populace byla jako zdrojová data pro určení paternity použity všechny získané genotypy samců, včetně dat z roku 2006 (RYMEŠOVÁ 2008).

3.7 Hodnocení populací a jejich struktury

Pro další analýzy byla využita extenze do programu Excel Microsatellite toolkit (PARK 2001), pomocí které byly genotypy jedinců konvertovány do formátu vhodného pro program FSTAT 2.9.3.2 (GOUDET 2001). Do programu vstupovala jak data všech adultních jedinců z Krušných a Jizerských hor, tak také samotná krušnohorská data z let 2006 (RYMEŠOVÁ 2008), 2007 a 2008 za účelem porovnání genetické diverzity všech sezón. Pomocí tohoto programu byly získány hodnoty popisující genetickou diverzitu jednotlivých populací (3000 permutací): H_O (pozorovaná heterozygotnost), H_E (očekávaná heterozygotnost), F_{IS} (v programu smallF, odchylka od Hardy-Weinbergovy rovnováhy), který vychází z redukce heterozygotnosti jedince na základě nenáhodného párování uvnitř populace (HARTL & CLARK 1997). Dále pak F_{ST} (v programu označován jako theta θ), který představuje míru rozdělení populace na základě redukce heterozygotnosti jedince vlivem náhodného genetického posunu. Koeficient F_{IS} byl použit ke zjištění míry inbreedingu, přičemž čím je hodnota vyšší, tím více dochází v populaci k příbuzenskému křížení. Míra rozdělení (podobnosti) populací vlivem působení genetického driftu byla stanovena na základě párových hodnot F_{ST} . Čím nižší je F_{ST} , tím jsou si populace podobnější. Pravděpodobně díky dostatečnému genetickému toku.

Jelikož analyzované soubory dat nebyly stejně velké, byla vypočtena hodnota alelické diverzity („allelic richness“), která zohledňuje ve výpočtu genetické variability velikost vzorku.

Pomocí extenze Microsatellite toolkit byl pro všechny adultní jedince Krušných hor pro sezóny 2007 a 2008 vypočten podíl sdílení jednotlivých alel („allele sharing“). Tyto hodnoty v maticovém uspořádání vstupovaly do distanční analýzy v prostředí programu FSTAT. Byl použit Mantelův test (3000 permutací) s cílem zjistit případný vztah mezi příbuzností jedinců a vzdáleností jejich hnízdních budek. Druhý soubor vstupních dat byl tedy tvořen maticí vzdáleností mezi jednotlivými budkami, které byly odečteny v programu ArcMap 9.1. Do této analýzy vstupovala data z jednotlivých let 2006 –2008 pro samce a z 2005-2008 pro samice. Nejprve zvlášť pro populaci samců a samic, poté pak pro adultní jedince dohromady (příbuzenský vztah mezi páry). Analýzy proběhly pro genotypy s 5 lokusy. Distanční analýza pro populaci Jizerských hor a Žďárských vrchů nebyla provedena vzhledem k nízkému počtu získaných dat.

Ke zjištění genetické strukturovanosti populací na základě genotypů adultů byl použit program Structure 2.2.3, do kterého vstupovala data z Krušných hor pro roky 2006 (RYMEŠOVÁ 2007), 2007 a 2008, z Jizerských hor (2008) a Žďárských vrchů (RYMEŠOVÁ 2007) s vyloučením 2 monomorfních lokusů. Délka simulací byla 50 000 („length of burnin period“) a počet opakování 100 000 („number of MMC reps after burnin“). Zvolen byl model pro smíšená data („admixture model“) a simulace byly prováděny pro interval 1 – 6 populací (K). Pro každé K byla simulace 3x opakována. Klíčovou hodnotou byl $\ln P(D)$, který představuje přirozený logaritmus pravděpodobnosti P. Ideální počet populací odpovídá nejvyšší hodnotě $\ln P(D)$ (PRITCHARD et al. 2007).

4 VÝSLEDKY

4.1 Polymorfismus použitých lokusů

Jak už bylo řečeno v kapitole 3.6 Určování paternity, v roce 2006 byl lokus BOOW06 monomorfní a tak byl z analýz vyloučen (RYMEŠOVÁ 2008). V roce 2007 se k monomorfnímu lokusu připojil ještě lokus BOOW14. Lokus BOOW13 se odchýlil od Hardy-Weinbergovy rovnováhy (příloha 8.1.4). V roce 2008 heterozygotnost lokusů ještě dále klesla, což je patrné zejména na lokusu BOOW07. Mezi nejvíce polymorfní lokusy u jedinců z Krušných hor patřily lokusy BOOW18 a BOOW04 (tab. 4.1.1). Stejně tak tomu bylo i v Jizerskohorské populaci, která se však odlišovala výrazně vyšším polymorfismem na lokusu BOOW07 (tab. 4.1.2). Polymorfismus tohoto lokusu u jedinců v Krušných horách pro rok 2008 výrazně klesl a odchýlil se od Hardy-Weinbergovy rovnováhy

2007	k	N	H _O	H _E	AR	F _{IS}	HW
BOOW04	9	15	0,733	0,733	8,126	0,000	NS
BOOW06	1	15	0,000	0,000	1,000	NA	NS
BOOW07	7	15	0,667	0,754	6,530	0,119	NS
BOOW13	4	12	0,250	0,728	4,000	0,667	**
BOOW14	1	15	0,000	0,000	1,000	NA	NS
BOOW18	13	15	0,867	0,906	11,526	0,045	NS
BOOW19	4	15	0,467	0,628	3,931	0,263	NS
2008	k	N	H _O	H _E	AR	F _{IS}	HW
BOOW04	7	18	0,778	0,778	7,000	0,000	NS
BOOW06	2	18	0,056	0,056	2,000	0,000	NS
BOOW07	7	18	0,278	0,548	7,000	0,500	**
BOOW13	6	18	0,444	0,641	6,000	0,313	NS
BOOW14	2	18	0,056	0,056	2,000	0,000	NS
BOOW18	14	18	0,833	0,922	14,000	0,099	NS
BOOW19	6	18	0,444	0,594	6,000	0,257	NS

Tab. 4.1.1: Srovnání polymorfismu lokusů krušnohorské populace (2007-2008). Tučně jsou zvýrazněny lokusy s největším polymorfismem.

Vysvětlivky: k - počet alel; N - počet jedinců; H_O - pozorovaná heterozygotnost; H_E - očekávaná heterozygotnost; F_{IS} - koeficient inbreedingu (NA – nespočítán pro nedostatek dat); HW – signifikantnost F_{IS} – odchýlení od Hardy-Weinbergovy rovnováhy (NS = nesignifikantní, ** = signifikantní na 5% hladině).

V Jizerských horách byly u odebraných vzorků monomorfní v porovnání s Krušnohorskou populací pouze lokusy dva - BOOW06 a BOOW14 (tab. 4.1.2). Vzhledem k pozdějšímu hnízdění v Jizerských horách, bylo z této lokality získáno výrazně méně vzorků, než z Krušných hor. I přesto však tyto vzorky byly zahrnuty do většiny analýz.

2008	k	N	H _O	H _E	AR	F _{IS}	HW
BOOW04	4	4	0,500	0,643	3,250	0,250	NS
BOOW06	1	4	0,000	0,000	1,000	NA	NS
BOOW07	6	4	0,750	0,929	4,929	0,217	NS
BOOW13	2	3	0,333	0,333	2,000	0,000	NS
BOOW14	1	4	0,000	0,000	1,000	NA	NS
BOOW18	5	4	0,500	0,893	4,393	0,478	NS
BOOW19	2	3	0,333	0,333	2,000	0,000	NS

Tab. 4.1.2: Charakteristika lokusů jizerskohorské populace (2008). Tučně jsou zvýrazněny lokusy s největším polymorfismem.

Vysvětlivky: k - počet alel; N - počet jedinců; H_O - pozorovaná heterozygotnost; H_E - očekávaná heterozygotnost; F_{IS} - koeficient inbreedingu (NA – nespočítán pro nedostatek dat); S – signifikantnost hodnoty F_{IS} – odchýlení od Hardy-Weinbergovy rovnováhy (NS = nesignifikantní, ** = signifikantní na 5% hladině).

4.2 Genetická struktura a diverzita populací

I když rozdíly v alelické diverzitě, pozorované a očekávané heterozygotnosti nejsou tak jednoznačné, hodnota F_{IS} roste a poslední dva roky již nejsou v Hardy-Weinbergově rovnováze. Hodnota F_{IS} je tedy signifikantní (tab. 4.2.1).

Rok	N	H _O	H _E	AR	F _{IS}	HW
2006	34	0,441	0,544	17,827	0,122	NS
2007	15	0,345	0,447	16,572	0,236	**
2008	18	0,411	0,544	18,581	0,227	**

Tab. 4.2.1: Srovnání H_O (pozorované heterozygotnosti), H_E (očekávané heterozygotnosti), AR (alelické diverzity) a F_{IS} u adultních jedinců sýce rousného pro lokalitu Krušných hor 2006 (RYMEŠOVÁ 2008), 2007 a 2008 (N=56), Jizerských hor (N=4) a Žďárských vrchů (N=4) (RYMEŠOVÁ 2008).

Ačkoli hodnoty v alelické diverzitě, pozorované a očekávané heterozygotnosti se příliš neliší, populace Jizerských a Krušných hor vykazují relativně vysoké hodnoty F_{IS} . Signifikantní je však pouze pro lokalitu v Krušných horách (tab. 4.2.2).

Lokalita	N	H_O	H_E	AR	F_{IS}	HW
KH	56	0,441	0,544	17,779	0,190	**
JH	4	0,345	0,447	16,392	-0,011	NS
ŽV	4	0,411	0,544	16,572	0,214	NS

Tab. 4.2.2: Srovnání H_O (pozorované heterozygotnosti), H_E (očekávané heterozygotnosti), AR (alelické diverzity) a F_{IS} u adultních jedinců sýce rousného pro lokalitu Krušných hor 2006 (RYMEŠOVÁ 2008), 2007 a 2008, Žďárských vrchů 2007 (RYMEŠOVÁ 2008) a Jizerských hor 2008.

Vysvětlivky: KH – Krušné hory, JH – Jizerské hory, ŽV – Žďárské vrchy, N – počet jedinců.

Na základě geografické vzdálenosti a přinuznosti jedinců byla u krušnohorské populace provedená distanční analýza („analysis by distance“). Výsledky Mantelova testu pro jednotlivé sezóny u samců (tab. 4.2.3) ani u samic (tab. 4.2.4) nebyly průkazné. Výjimku tvoří rok 2006 u samic, kde byl výsledek signifikantní, ovšem vysvětlená variabilita byla pouze 7,67% (tab. 4.2.3). Výsledky párů byly signifikantní pro rok 2006 a 2007, podíl vysvětlené variability byl ovšem opět relativně nízký (tab. 4.2.5).

Samice			
rok	2006	2007	2008
r	0,2769	-0,128	0,0245
R^2	0,0767	0,0164	0,0006
p	0,0007	0,5173	0,8543

Tab. 4.2.3: Hodnoty Mantelova testu u samic pro jednotlivé roky v Krušných horách.

Samci			
rok	2006	2007	2008
r	-0,1059	-0,2799	-0,1697
R ²	0,0112	0,0784	0,0288
p	0,2807	0,2297	0,4647

Tab. 4.2.4: Hodnoty Mantelova testu u samic pro jednotlivé roky v Krušných horách.

Páry			
rok	2006	2007	2008
r	0,5140	-0,3271	-0,1030
R ²	0,2642	0,1070	0,0106
p	0,0003	0,0007	0,2043

Tab. 4.2.5: Hodnoty Mantelova testu u samic pro jednotlivé roky v Krušných horách.

Výsledky párového porovnání hodnoty F_{ST} z programu FSTAT pro všechny tři populace jsou signifikantní (tab. 4.2.6).

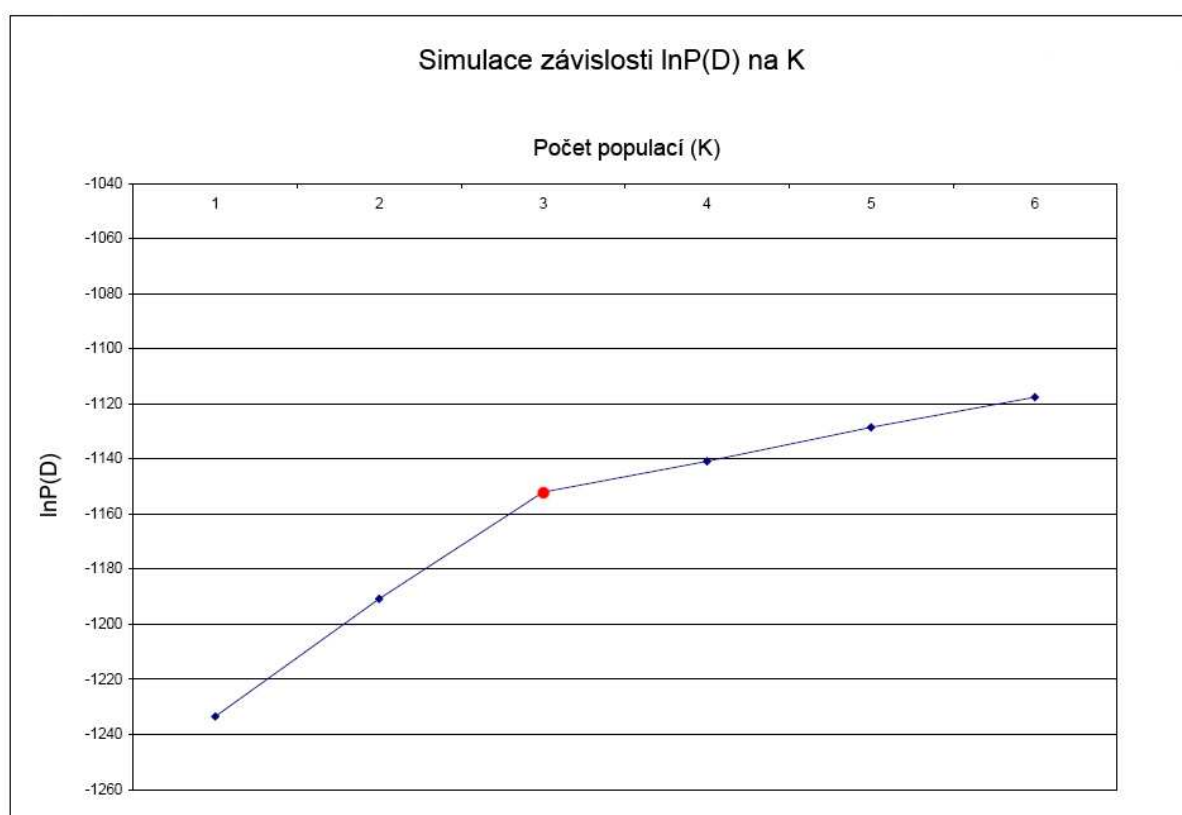
	pop2	pop3
pop1	0,01667	0,01667
pop2		0,01667

Tab. 4.2.6: Párové porovnání F_{ST} pro 6 lokusů ($p=0,05$; 60 permutací).

Vysvětlivky: Hodnoty byly signifikantní pro všechny tři populace; pop1 – populace Krušných hor; pop2 – populace Jizerských hor; pop3 – populace Žďárských vrchů..

Z přílohy 8.1.11 je patrné, že se populace od sebe výrazněji odlišují na lokusu BOOW19 a naopak nejbližší jsou si na lokusu BOOW04. Celkové hodnoty Theta (ekvivalent F_{ST}) jsou nejnižší pro populaci Krušných hor a Žďárských vrchů (Theta = 0,013) a nejvyšší pro populaci Krušných a Jizerských hor (Theta = 0,133). Hodnota Theta pro populaci Jizerských hor a Žďárských vrchů je 0,142. Pro všechny tři populace je Theta = 0,069. Zde je však nutné opět přihlídnout k malému počtu vzorků ze Žďárských vrchů (N=4) a Jizerských hor (N=4).

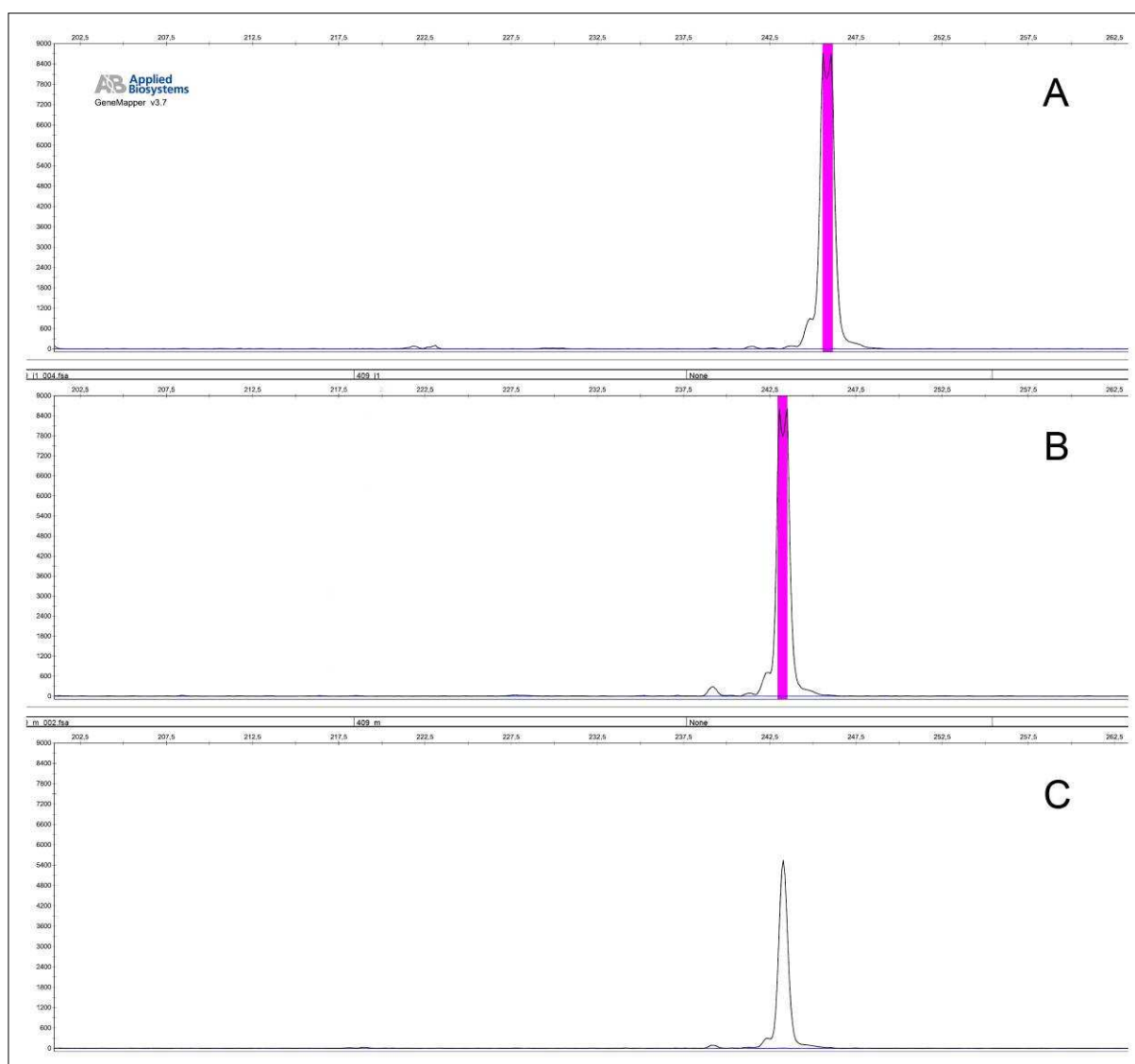
Výsledky programu Structure 2.2.3 naznačují, že by mezi populací Jizerských a Krušných hor mohla existovat genetická struktura. Na základě analýzy genotypů s pěti lokusy z Krušných hor a Žďárských vrchů v sezóně 2006 (RYMEŠOVÁ 2008), Krušných hor v sezóně 2007 – 2008 a Jizerských hor v sezóně 2008 byly zjištěny průměrné hodnoty $\ln P(D)$. Jako nejvhodnější se jeví zařazení jedinců do tří skupin (graf 4.2.1). K přesnějším závěrům je však potřeba rozšířit velikost vzorků populace Jizerských hor a Žďárských vrchů.



Graf 4.2.1: Simulace závislosti $\ln P(D)$ na K v programu Structure při třech opakováních pro každé K pro populace Krušných hor, Jizerských hor a Žďárských vrchů.

4.3 Výsledky paternity

Relativně častou nepřítomností jedné z rodičovských alel u mláďat lze vysvětlit neamplifikující se alelou jednoho z rodičů spíše než důsledek mimopárové fertilizace (obr. 4.3.1). V letech 2007 a 2008 se nevyskytovala u mláďat dvou heterozygotních rodičů žádná cizí alela, která by případně byla důsledkem mimopárové fertilizace. Výjimku tvoří mládě s kódem kh07_402_32 (vylíhnuté v budce 402 v roce 2007), které se neshoduje s žádnou alelou svých rodičů na lokusu BOOW18 (příloha 8.1.1).



Obr. 4.3.1: Ukázka neamplifikující se alely u samice.

Vysvětlivky: A - matka ; B - mládě; C – otec. Na černém lokusu (BOOW13) mládě zdědilo alelu pouze po otci, matka tedy nebude homozygot, ale heterozygot s nulovou alelou.

Z celkového počtu 71 mláďat program Cervus přiřadil jiného než sociálního otce celkem 16 mláďatům z celkového počtu 71 (22,5%) na základě hodnoty LOD score a neshodujícího se počtu lokusů („mismatching locus“) mezi potomkem a předpokládaným otcem (*tab. 4.3.1*). Ve většině těchto případů byl sociální samec na druhém (5x) a třetím místě (4x). Avšak mezi ním a přiřazeným otcem byly minimální rozdíly v LOD score i v počtu neshodujících se lokusů (*tab. 4.3.1*). Ve dvou případech byl samec zařazen na čtvrté místo, jednou pak na místo sedmé, desáté, jedenácté a osmnácté. Genotypy těchto sociálních samců ale vykazovaly velmi častou přítomnost nulové neamplifikující se alely (domnělý homozygot), která se však projevila s nejětší pravděpodobností u mláďat. To mělo za následek zvýšení počtu rozdílných lokusů („mismatching locus“) mezi potomkem a samcem chyceným na hnízdě (sociálním samcem). Na základě mendelovské dědičnosti a analýzy paternity („parentage analysis“) byla potvrzena polygynie samců z roku 2007, kteří hnízdili v budkách 408/650 a 46/565 (*obr. 3.2.1, kap. 3.2 Sběr vzorků*).

Mládě (ID)	Příř. otec (ID)	M	S	LOD	Trio	S2	Soc. otec (ID)	P	M	LOD	Trio
kh06_59_31	kh06_91_2	0	-	2,117	4,765	*	kh06_59_2	2.	0	1,555	4,083
kh06_59_35	311_2	1	-	0,722	0,954	+	kh06_59_2	13.	3	-5,949	-8,771
kh06_91_31	kh06_59_2	0	+	2,878	3,113	+	kh06_91_2	2.	0	2,696	2,480
kh06_91_31	kh06_59_2	1	-	0,593	-0,472	-	kh06_91_2	5.	1	-0,254	-1,789
kh06_91_34	kh06_59_2	1	N	-0,097	-0,484	-	kh06_91_2	5.	1	-0,944	-1,801
kh06_91_35	565_2	1	-	0,100	-0,362	-	kh06_91_2	3.	1	-0,120	-0,568
kh06_91_36	662_2	1	N	-1,189	-0,381	-	kh06_91_2	2.	1	-0,778	-1,636
kh06_574_31	kh06_59_2	1	N	-0,863	0,483	+	kh06_574_2	3.	1	-1,528	-0,190
kh06_574_33	409_2	1	N	-0,488	0,036	+	kh06_574_2	3.	1	-2,327	-1,312
kh07_408_32	kh06_554_2	0	*	4,939	0,660	*	kh07_650_2	2..	0	4,832	5,575
kh07_408_33	kh06_554_2	0	*	4,939	0,660	*	kh07_650_2	2..	0	4,832	5,575
kh07_20_33	kh06_662_2	1	+	-2,035	-7,341		kh06_311_2	7.	2	-6,576	-6,790
kh07_565_31	kh06_662_2	1	+	-1,898	-5,737		kh06_541_2	4.	2	-5,079	-5,928
kh07_565_36	kh07_650_2	0	+	1,325	-6,104		kh06_541_2	2.	1	0,303	0,935
kh07_577_32	kh07_542_2	1	+	-1,831	-1,115	+	kh06_577_2	3.	1	-2,570	-1,807
kh08_402_31	kh06_20_2	1	+	-1,302	-1,674	+	kh07_402_2	10.	3	-8,298	-7,946
kh08_402_32	kh06_662_2	1	-	-1,623	-2,113		kh07_402_2	16.	4	-14,781	-12,250
kh08_402_33	kh08_79_2	1	-	2,143	0,688	+	kh07_402_2	18.	4	-14,098	-8,039
kh08_405_31	kh08_66_2	1	-	-1,127	0,181	+	kh06_504_2	11.	3	-9,148	-15,541
kh08_405_32	kh08_623_2	1	-	-1,851	-2,810	+	kh06_504_2	2.	2	-3,993	-9,741
kh08_577_31	kh08_66_2	1	+	-0,274	1,493	*	kh06_577_2	3.	1	-2,604	-7,794
kh08_577_32	kh08_66_2	1	+	-0,274	1,496	*	kh06_577_2	3.	1	-2,604	-7,791
kh08_623_31	kh08_79_2	0	*	6,147	4,296	*	kh08_623_2	2.	0	3,581	3,531
kh08_623_33	kh06_504_2	1	+	-0,247	-2,570		kh08_623_2	3.	1	-2,424	1,186
kh08_66_31	kh08_623_2	0	+	3,563	3,500	*	kh08_66_2	4.	2	-4,892	-5,412

Tab. 4.3.1: Mláděta z let 2006 (RYMEŠOVÁ 2008), 2007 a 2008 z lokality Krušných hor, kterým program Cervus přiřadil jiného otce, než sociálního (chyceného u hnízdní budky).

Vysvětlivky: M – počet neshodujících se lokusů mezi mládětem a otcem; S – signifikance LOD score mezi mládětem a otcem (+ ... signifikantní (interval 80%), - ... nesignifikantní); LOD - hodnota LOD score; trio – hodnota LOD score pro matku, otce a mládě; S2 – signifikance pro trio (* ... signifikantní (interval 95%), + ... signifikantní (interval 80%), - ... nesignifikantní); P – pořadí sociálního otce podle LOD; ID mláděte – kód jedince; příř. otec – otec přiřazený programem; soc. otec – sociální otec.

5 DISKUZE

5.1 Polymorfismus lokusů a diverzita populace

Výsledky za období tří let naznačují, že genetická variabilita krušnohorské populace klesá. Počet alel v populaci Krušných hor během let 2006 – 2008 na většině lokusů mírně kolísá. Největší výkyv je patrný na lokusu BOOW18, kde je vidět značný pokles v letech 2007 a 2008, na BOOW19 pak naopak v roce 2007 dochází k růstu (*tab. 4.1.1*). Z grafu alelické diverzity (*příloha 8.1.9*) je patrné, že v roce 2008 klesla prakticky na všech lokusech, výjimku tvoří lokusy BOOW06 a BOOW19.

Výsledky z programu Cervus ukazují, že výskyt nulových alel vzrostl oproti roku 2006 (RYMEŠOVÁ 2008) za poslední dva roky téměř na 4 lokusech ze 7 analyzovaných (*příloha 8.1.5*). Klesá nejenom polymorfnost, ale i celková genetická diverzita v populaci. Jednou z možných příčin poklesu heterozygotnosti může být omezená disperze, která zvyšuje riziko příbuzenského křížení (GANDON 2002). Snižování heterozygotnosti může být způsobeno i počtem získaných vzorků během jednotlivých let. Od roku 2006 počet nalezených hnízd v oblasti klesl a s ním i počet získaných vzorků.

Jedním z faktorů, které ovlivňují genetickou diverzitu populace, je mimo jiné i imigrace nových jedinců z okolních lokalit (Ref.). Ve sledované oblasti bylo do věkové kategorie jedinců stáří 3 a více let zařazeno za období 2006-2008 celkem 68% odchycených samců a celkem 40% samic (nepubl. HANEL 2008). Tyto výsledky potvrzují, že si samice pro hnízdění vybírají spíše zkušenější samce, než nováčky (LAAKSONEN et al. 2002).

V letech 2006 (RYMEŠOVÁ 2008) – 2008 byly v Krušných horách pozorovány relativně časté retrapy (*příloha 8.2.1 a 8.2.2*). Bylo zaznamenáno celkem 62% rezidentních samců a relativně vysoký počet rezidentních samic (17%) (nepubl. HANEL 2008). Z toho dva odchyty byly označeny dokonce jako výsledek natální filopatrie (věrnost místu narození). První samice, která se vylíhla v budce 74 v roce 2004 byla znovu odchycena v budce 91 v hnízdni sezóně 2006, dva roky poté byla chycena opět a to v budce 624 (*příloha 8.2.1*). Druhá samice se vylíhla v roce 2006 v budce 59 a chycena byla o rok později v budce 408 (*příloha 8.2.1*).

Možným vysvětlením znovu odchycených samic v oblasti je zřejmě vliv potravní nabídky, v tomto případě cyklu drobných zemních savců, kteří jsou hlavní potravou sýce rousného (KORPIMÄKI 1992). Ačkoli jsou samice tohoto druhu zpravidla nomadické (KORPIMÄKI 1986), v případě gradace potravní nabídky mají tendenci zůstat v okolí dané lokality (NEWTON 2006). Naopak v sezónách, kdy dochází k propadu („crashes“), jsou schopny uletět mezi jednotlivými hnízdními sezónami i několik stovek kilometrů (KORPIMÄKI 1986). Vzdálenosti, které znovu chycení jedinci z krušnohorské populace mezi jednotlivými roky urazili, znázorňují grafy (příloha 8.1.6 a 8.1.7).

Toto vysvětlení naznačují i data o potravní nabídce v Krušných horách, kdy letech 2006 a 2008 bylo odchyceno málo drobných savců. Naopak v roce 2007 byl počet zjištěných zemních savců jak v budkách, tak i při odchycích nejvyšší (příloha 8.1.8) (nepubl. HANEL 2008). Retrap samic v roce 2006 činí 5% (7 z 41), v roce 2007 44,% (4 z 9) a v roce 2008 18,18% (2 z 11) (nepubl. HANEL 2008).

V roce s největší gradací potravní nabídky (2007) bylo navíc zjištěno nejvíce polygamií – dvě polygynie a jedna sekvenční polyandrie (obr. 3.2.1., kapitola 3.2 Sběr vzorků). V předchozím roce byla zjištěna polygamie pouze jedna (příloha 8.2.3) a v roce 2008, kdy bylo potravy nejméně, žádná (obr. 3.2.2., kapitola 3.2 Sběr vzorků). Pro přesnější závěry je potřeba získat více dat.

I když výsledky distanční analýzy provedené u krušnohorské populace byly v roce 2006 u samic signifikantní, míra vysvětlené variability byla velmi nízká (tab. 4.2.3). Avšak u párů byla míra vysvětlené variability vyšší (26%) a hodnoty byly signifikantní pro rok 2006 a 2007. Zatímco hodnoty pro rok 2006 poukazují na růst příbuznosti se zvyšující se vzdáleností, výsledky pro rok 2007 jsou opačné. Společně se signifikantní hodnotou F_{IS} tak tyto výsledky naznačují omezenou disperzi a přítomnost rezidentních jedinců v oblasti. Pro přesnější závěry je potřeba získat více dat, ale současné hodnoty nasvědčují, že by mezi adultními jedinci v lokalitě Krušných hor mohla existovat příbuzenská struktura.

Alelická diverzita u populace Krušných hor je na většině lokusů nejvyšší (příloha 8.1.10). I přesto, že alelická diverzita zohledňuje velikost souboru dat jednotlivých populací, počet vzorků z Jizerských hor (N=4) a Žďárských vrchů (N=4) je příliš malý. Proto jsou tyto hodnoty spíše orientační.

Párové porovnání hodnot F_{ST} poukázalo na genetickou odlišnost populací, ačkoli z mapových podkladů není patrná žádná morfologická překážka, která by bránila genetickému toku mezi populacemi (příloha 8.2.4). Přestože z lokalit

Jizerských hor a Žďárských vrchů bylo získáno málo dat, omezený tok genů mezi pohořími by mohl rovněž vysvětlovat pokles genetické diverzity populace Krušných hor.

Programu Structure 2.2.3 pro sezónu 2006 ve Žďárských vrších a Krušných horách zařadily jedince do jedné skupiny (RYMEŠOVÁ 2008). Avšak po zařazení dalších vzorků z jizerskohorské populace z roku 2008 a krušnohorské populace z let 2007-2008, byly výsledky odlišné. Program Structure 2.2.3. společně s porovnávacími testy prokázaly, že populace jsou si navzájem odlišné. Je však opět nutné přihlídnout k malému množství dat získaných z Jizerských hor a Žďárských vrchů. Nejnižší koeficient F_{IS} a výsledná hodnota Theta (ekvivalent F_{ST}), která byla u populace Jizerských hor nejvyšší, nasvědčuje, že se jedná o početnou populaci.

Ze srovnání populací z oblastí České republiky, Severní Ameriky a Norska vyplývá, že testovaní jedinci z Norska se velmi podobají jedincům z české populace. Společně převyšují svou heterozygotností severoamerickou populaci na lokusech BOOW04 a BOOW14, zatímco na lokusu BOOW14 je jejich variabilita nižší. Česká populace převyšuje svou heterozygotností obě populace na lokusu BOOW18 a 19 (příloha 8.1.12).

5.2 Výskyt mimopárových mláďat u sýce rousného *Aegolius funereus*

Ačkoli je v ptáčí říši výskyt mimopárových mláďat relativně častý (nejvyšší procento charakteristické pro řád pěvců), u sov byl prokázán jen u některých druhů a to ve velmi malé míře (JOHNSON 1997, ROULIN et al. 2004, HSU et al. 2006).

Sýc rousný *Aegolius funereus* je jedním z velmi mála druhů, který se jeví sociálně i geneticky monogamní. Jedním z možných důvodů je vysoká potřeba rodičovské péče v období hnízdění, kdy je samice odkázána na samce. Ten po čas hnízdění zajišťuje potravu a mláďata po vylétnutí samice z hnízda ještě několik dní krmí (KORPIMAKI 1989, KORPIMAKI 1991, KORPIMAKI 1992, SONERUD 1992). Jeho péče o potomstvo může trvat i více jak 3 měsíce a je tedy velmi vysoká. Benefit samice z EPF v tomto případě nepřevyšuje riziko možné ztráty rodičovské péče jejího sociálního partnera, na kterou je samice po čas hnízdění odkázána (KORPIMAKI 1991).

Sýc rousný *Aegolius funereus* se v průměru dožívá 11 let (HAYWARD & HAYWARD 1993) a podporuje tak hypotézu dlouhověkosti. Z EPF těží spíše krátkověké druhy, kde samci vykazují nižší reprodukční úspěch než samci u druhů dlouhověkých (ARNOLD & OWENS 2002). Pravděpodobnost, že se samice dokáže se ztrátou rodičovské péče jejího sociálního partnera vypořádat, je u krátkověkých druhů vyšší (MAUCK et al. 1999). Oproti druhům, jejichž produktivní věk je o poznání kratší, rodiče sýce investují do rodičovské péče mnohem více energie. Vzhledem k tomu, že některé dlouhověké druhy vytvářejí déletrvající svazky, mohla by samice díky EPF riskovat ztrátu partnera pro další hnízdní sezónu (WINK & DRYCZ 1999).

Samice krátkověkých druhů může získat spárováním se sousedními samci snížení kompetice, zvýšení ochrany a jistotu zajištění potravy v době hnízdění pro případ úmrtí jejího sociálního partnera (STACEY 1982 IN KOOPMAN et al. 2007). Tento benefit je u dlouhověkých druhů velice nepravděpodobný vzhledem k nižší možnosti úmrtí samce během hnízdního období.

V Krušných horách byl za 3 roky studie zaznamenán pouze jeden případ mimopárového mláděte a to v budce 59 v roce 2006 (RYMEŠOVÁ 2008). Toto mládě však nese pouze na lokusu BOOW07 jednu alelu, která se neshoduje s žádnou alelou heterozygotních rodičů (RYMEŠOVÁ 2008). Z tohoto důvodu považuji označení mláděte jako mimopárové přinejmenším za diskutabilní a proto doporučuji tento vzorek k analýzám s dalšími lokusy. Obdobný případ byl zaznamenán i v roce 2007 u mláděte kh07_402_32 na lokusu BOOW18 (*příloha 8.1.1*). V Jizerských horách nebylo prokázáno žádné mimopárové mládě.

Další jediný případ mimopárového mláděte u tohoto druhu byl zaznamenán u finské populace, kdy z celkových 40 hnízd bylo zjištěno jedno mimopárové mládě (KORPIMÄKI et al. 1996). V poslední studii sýce rousného však nebyl zjištěn výskyt žádného mimopárového mláděte z celkových 32 hnízd a byla tak znovu potvrzena silná genetická monogamie samic s výjimkou výskytu sekvenční polyandrie (KOOPMAN 2007b).

Dlouhověkost a péče o potomstvo jsou tedy zřejmě hlavními faktory, které by mohly vysvětlovat výskyt neobvykle striktní genetické monogamie u tohoto druhu. Některé druhy dravců patřící taktéž k dlouhověkým druhům s vysokou investicí do péče o potomstvo (např. denní dravci), přesto vykazují alespoň nízké procento EPF (KORPIMÄKI et al. 1996). Je tedy pravděpodobné, že genetickou monogamii sýce rousného *Aegolius funereus* ovlivňují i další faktory jako např. fylogenetické vztahy a dědičné rodové párovací strategie druhu (GRIFFITH et al. 2002).

6 ZÁVĚR

Během dvouleté studie bylo celkem zanalyzováno 107 vzorků z Krušných hor (16 samců, 19 samic a 71 mláďat) a v roce 2008 navíc 19 vzorků z Jizerských hor (2 samci, 2 samice a 15 mláďat). Výsledky této práce potvrzují dosavadní studie o striktní monogamii samic sýce rousného *Aegolius funereus* (s výjimkou sekvenční polyandrie) a do budoucna se dá předpokládat minimální nebo žádný výskyt mimopárových mláďat. Jediné mně známé případy mimopárového mláděte u sýce rousného *Aegolius funereus* byl zaznamenán ve Finsku (KORPIMÄKI et al.1996), ale bohužel se mi nepodařilo zjistit detaily z této studie. Neshodující se alely u 2 krušnohorských mláďat v roce 2006 (RYMEŠOVÁ 2008) a 2008 jsou spíše výsledkem mutace nebo selháním lidského faktoru, než důsledkem mimopárové kopulace.

Klesající polymorfnost lokusů znesnadňovala většinu prováděných analýz a bylo by tedy vhodné v budoucnu najít další mikrosatelitové lokusy s větší variabilitou, případně minimálním výskytem nulových alel. I přes nižší počet použitých lokusů je z výsledků patrné, že genetická diverzita jedinců z oblasti Krušných hor klesá. Z terénních dat, především z počtů retrapů, bylo zjištěno relativně vysoké procento rezidentních samců a také samic. Ačkoli pro distanční analýzy bylo relativní málo dat, zdá se být toto vysvětlení nejpravděpodobnější. Více zgenotypovaných jedinců a intenzivní kroužkování v oblasti v budoucnu napomůže k přesnějším výsledkům a k lepšímu pochopení vztahů v populaci.

Ačkoli byla populace Žďárských vrchů společně s populací Krušných hor z hlediska genetické strukturovanosti zařazena do jedné skupiny (RYMEŠOVÁ 2008), s navýšením vzorků o jedince z Krušných a Jizerských hor byla prokázána jejich vzájemná odlišnost. Počet dat však byl i přesto malý a pro budoucí analýzy je potřeba tento soubor výrazně rozšířit. Pokud se v budoucnu potvrdí genetická strukturovanost populací, rozšíření počtu oblastí o další lokalitu (například na předělu Krušných a Jizerských hor) by mohlo napomoci k lepšímu pochopení genetického toku mezi těmito populacemi.

7 LITERATURA

- ÅHLUND M., 2005: Behavioural tactics at nest visits differ between parasites and hosts in a brood-parasitic duck. *Anim Behav* 70:433–440 [\[Ref.\]](#)
- ANDERSSON M. & WALDECK P., 2007: Host-parasite kinship in a female-philopatric bird population: evidence from relatedness trend analysis. *Molecular Ecology* 16:2797-2806. [\[Ref.\]](#)
- ANDERSSON M. & ÅHLUND M., 2000: Host-parasite relatedness shown by protein fingerprinting in a brood parasitic bird. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97: 13188-13193. [\[Ref.\]](#)
- ARNOLD K. E., OWENS I. P. F., 2002: Extra-pair paternity and egg dumping in birds: life history, parental care and the risk of retaliation. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, 269: 1263-1269. [\[Ref.\]](#)
- ARSENAULT P. D., STACEY P. B. & HOELZER G. A., 2002: No extra-pair fertilization in Flammulated Owls despite aggregated nesting. *The Condor*, 104: 197-201. [\[Ref.\]](#)
- BIRKHEAD T. R., MØLLER A. P., 1996: Monogamy and sperm competition in birds. In: *Partnerships in Birds* (ed. Black JM). Oxford University Press, Oxford.
- BUTCHER G. D., 2002: *Mycoplasma Gallisepticum* - A Continuing Problem in Commercial Poultry. *Vet. Med., LACSD, Inst. Of Food and Agric. Sci., Univ. Of Florida*, 2002 May. [\[Ref.\]](#)
- CARLSSON B. G. & HORNFIELDT B., 1989: Trigyny in Tengmalm's owl (*Aegolius funereus*) induced by supplementary feeding. *Ornis Scandinavica*, 203: 155-156.
- CRAMP S. & SIMMONS K., 1985: *Handbook of the birds of Europe, the Middle East and North Africa. The birds of Western Palearctic Vol. IV.* Oxford Univ. Press, Oxford. 606-616.
- DIXON A., ROSS D., O'MALLEY S. L. C., BURKE T., 1994: Paternal investment inversely related to degree of extra-pair paternity in the reed bunting. *Nature*, 371: 698-700. [\[Ref.\]](#)
- DOUBLE M. C., PEAKALL R., BECK N. R. & COCKBURN A., 2005: Dispersal, philopatry, and infidelity: dissecting local genetic structure in superb fairy wrens (*Malurus cyaneus*). *Evolution*, 59, 625–635. [\[Ref.\]](#)

- DOUBLE M. C. & COCKBURN A., 2000: Pre-dawn infidelity: females control extra-pair mating in superb fairy-wrens. *Proceedings of the Royal Society, London, Series B*, 267: 465-470. [\[Ref.\]](#)
- DRDÁKOVÁ M., 2002: Hnízdní biologie sýce rousného (*Aegolius funereus*) v imisních oblastech Krušných hor. Diplomová práce LF ČZU v Praze, 98 p.
- DRDÁKOVÁ M., 2003: Hnízdní biologie sýce rousného (*Aegolius funereus*) v imisních oblastech Krušných hor. *Sylvia*, 39: 35-51.
- DRDÁKOVÁ M., 2005: Růst mláďat sýce rousného (*Aegolius funereus*) v Krušných horách. *Buteo*, 14: 37-50.
- DUCKWORTH R. A., BADYAEV A. V., FARRNER K. L., HILL G. E. & ROBERTS S. R., 2003: First case of mycoplasmosis in the native range of the house finch (*Carpodacus mexicanus*). *Auk* 120: 528-530. [\[Ref.\]](#)
- EADIE J. M., 1991: Constraint and opportunity in the evolution of brood parasitism in waterfowl. *Acta XX Congr. Int. Ornithol. Vol. 2*: 1031-1040.
- EMLEN S. T., WREGE P. H. & WEBSTER M. S., 1999: Cuckoldry as a cost of polyandry in the sex- role-reversed wattled jacana, *Jacana jacana*. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* 265:2359-2364. [\[Ref.\]](#)
- FOERSTER K., VALCU M., JOHNSEN A. & KEMPENAERS B., 2006: A spatial genetic structure and effects of relatedness on mate choice in a wild bird population. *Molecular Ecology* 15: 4555-4567. [\[Ref.\]](#)
- FOERSTER K., DELHEY K., JOHNSEN A., LIFJELD J. T., KEMPENAERS B., 2003: Females increase offspring heterozygosity and fitness through extra-pair matings. *Nature*, 425, 714–717. [\[Ref.\]](#)
- FRIDOLFSSON A., GYLLENSTEN U. B., JAKOBSSON S., 1997: Microsatellite markers for paternity testing in the willow warbler *Phylloscopus trochilus*: high frequency of extra-pair young in an island population. *Hereditas*, 126: 127-132.
- GANDON S., 1999: Kin Competition, the Cost of Inbreeding and the Evolution of Dispersal. *Journal of Theoretical Biology* 4: 345-364. [\[Ref.\]](#)
- GELTER H. P., TEGELSTRÖM H., 1992: High frequency of extra-pair paternity in Swedish pied flycatchers revealed by allozyme electrophoresis and DNA fingerprinting. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 31: 1-7. [\[Ref.\]](#)
- GOWATY P. A. & W. C. BRIDGES, 1991: Nestbox availability affects extra-pair fertilizations and conspecific nest parasitism in Eastern Bluebirds, *Sialia sialis*. *Animal Behaviour*, 41: 661–675. [\[Ref.\]](#)

- GRIFFITH S., OWENS I. P. & THUMAN K. A., 2002: Extra pair paternity in birds: a review of interspecific variation and adaptive function. *Molecular Ecology*, 11: 2199-2212. [\[Ref.\]](#)
- GRIFFITH S.C., 2000: High fidelity on islands: a comparative study of extrapair paternity in passerine birds. *Behavioral Ecology*, 11: 265-273. [\[Ref.\]](#)
- GRIFFITH S. C., OWENS I. P. F., BURKE T., 1999: Environmental determination of a sexually selected trait. *Nature*, 400: 358-360. [\[Ref.\]](#)
- GYLLENSTEN U. B., JAKOBSSON S., TEMRIN H., 1990: No evidence for illegitimate young in monogamous and polygynous warblers. *Nature*, 343: 168-170. [\[Ref.\]](#)
- GOUDET J., 2001: FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3.2). Updated from Goudet (1995). [\[Ref.\]](#)
- HAMILTON W. D., 1964: The genetical evolution of social behaviour, I and II. *J. Theor. Biol.* 7, 1-52.
- HANEL J., 2008: Hnízdění biologie sýce rousného (*Aegolius funereus*) v imisních oblastech Krušných hor. Diplomová práce FŽP ČZU v Praze.
- HAKKARAINEN H., KORPIMAKI E., RYSSY J. & VIKSTROM S., 1996b: Low heritability in morphological characters of Tengmalm's owls: the role of cyclic food and laying date? *Evolutionary Ecology*, 10: 207-219. [\[Ref.\]](#)
- HARTL D. L. & CLARK A. G., 1997: Principles of population genetics. Sinauer Associates, Sunderland, 542 p.
- HAYWARD G. D. & P. H. HAYWARD, 1993: *Aegolius funereus*, boreal owl. The Birds of North America, A. Poole and F. Gill, Editors. Philadelphia: The American Ornithologist's Union & The Academy of Natural Science of Philadelphia. 2(63):14.
- HEINSOHN R., 2005: Why are male birds more colorful than female birds? *Am. Sci.* [\[Ref.\]](#)
- HÖGLUND J. & SHOREY L., 2003: Local genetic structure in a white-bearded manakin population. *Mol. Ecol.*, vol. 12, p. 2457-2463. [\[Ref.\]](#)
- HÖGLUND J., ALATALO R. V., LUNDBERG A., RINTAMÄKI P. T. & LINDELL J., 1999: Proceedings of the Royal Society of London, Series B, 266, 813–816. [\[Ref.\]](#)
- HÖGLUND J., ALATALO R. V., GIBSON R. M., & LUNDBERG A., 1995. Mate-choice copying in black grouse. *Animal Behaviour* 49:1627– 1633.
- HOLÝ P., 2002: Potravní ekologie sýce rousného (*Aegolius funereus* L.) v imisních oblastech Krušných hor. Diplomová práce LF ČZU v Praze, 106 p.

- HSU YU-CHENG, LI SHOU-HSIEN, LIN YAO-SUNG, PHILIPPART MARK T., SEVERINGHAUS LUCIA LIU, 2006: High frequency of extra-pair copulation with low level of extra-pair fertilization in the Lanyu scops owl *Otus elegans botelensis*. *Journal of Avian Biology*, 37: 36-40. [\[Ref.\]](#)
- JIGUET F. & BRETAGNOLLE V., 2006: Manipulating Lek Size and Composition Using Decoys : an Experimental Investigation of Lek Evolution Models. *Am. Nat.* 168 : 758-768. [\[Ref.\]](#)
- JOHNSON B. S., 1997: Reproductive success, relatedness and mating patterns of colonial burrowing owls. *Journal of Raptor Research*, 9: 64-67.
- JUKEMA M. & PIERSMA T., 2006: Permanent female mimics in a lekking shorebird. *Biology Letters* 2: 161-164 [\[Ref.\]](#)
- JURAS R., 2007: Potravní ekologie sýce rousného (*Aegolius funereus*) v Evropě. Diplomová práce, FLE ČZU v Praze.
- KALINOWSKI S. T., TAPER M. L. & MARSHALL T. C., 2007: Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular Ecology*, 16: 1099-1106.
- KELLER L. F., WALLER D. M., 2002: Inbreeding effects in wild populations. *Elsevier Science*, 5: 230-241. [\[Ref.\]](#)
- KÖNIG C., 1965: Bestandsverändernde Faktoren beim Rauhfusskauz in Baden Württemberg. *Berichte der Deutschen Sektion des Internationalen Rates für Vogelschutz*, 5: 32-38.
- KOOPMAN M. E., HAYWARD G. D. & MCDONALD D. B., 2007a: High connectivity and minimal genetic structure among north american boreal owl (*Aegolius funereus*) populations, regardless of habitat matrix. *The Auk*, 124(2): 690-704. [\[Ref.\]](#)
- KOOPMAN M. E., MCDONALD D. B. & HAYWARD G. D., 2007b: Microsatellite analysis reveals genetic monogamy among female boreal owls. *Journal of Raptor Research*, 41: 314-318. [\[Ref.\]](#)
- KOOPMAN M. E., MCDONALD D. B., HAYWARD G. D., ELDEGARD K., SONERUD G. A. & SERMACH A. G., 2005: Genetic similarity among Eurasian subspecies of boreal owls *Aegolius funereus*. *Journal of Avian Biology*, 36: 179-183. [\[Ref.\]](#)
- KOOPMAN M. E., SCHABLE N. A. & GLENN T. C., 2004: Development and optimization of microsatellite DNA primers for boreal owls (*Aegolius funereus*). *Molecular Ecology Notes*, 4: 376-378. [\[Ref.\]](#)
- KORPIMÄKI E., LAHTI K., MAY C. A., PARKIN D. T., POWELL G. B., TOLONEN P., WETTON J. H., 1996: Copulatory behaviour and paternity determined by DNA fingerprinting

- in kestrels: effects of cyclic food abundance. *Anim. Behav.*, 1996, 51, 945–955. [\[Ref.\]](#)
- KORPIMÄKI E., 1992: Fluctuating food abundance determines the lifetime reproductive success of male Tengmalm's owls. *Journal of Animal Ecology*, 61: 103-111. [\[Ref.\]](#)
- KORPIMÄKI E., 1991: Poor reproductive success of polygynously mated female Tengmalm's owl *Aegolius funereus*: are better options available? *Animal Behaviour*, 41: 37-47.
- KORPIMÄKI E., 1989: Mating system and mate choice of Tengmalm's Owls *Aegolius funereus*. *Ibis*, 131: 41-50.
- KORPIMÄKI E., 1988: Diet of breeding Tengmalm's Owls *Aegolius funereus*: long-term changes and year-to-year variation under cyclic food conditions. *Ornis Fennica* 65: 21-30.
- KORPIMÄKI E., 1986: Seasonal changes in the food of the Tengmalm's owl *Aegolius funereus* in western Finland. *Annales Zoologici Fennici*, 23 (4): 339-344.
- KORPIMÄKI E., 1981: On the ecology and biology of Tengmalm's Owls (*Aegolius funereus*) in Southern Ostrobothnia and Suomenselkä, western Finland. *Acta Univ. Ouluensis, Ser. A* 118, Biol. 13: 1-84.
- KORPIMÄKI E., 1983: Polygamy in Tengmalm's Owl *Aegolius funereus*. *Ornis Fennica*, 60: 86-87.
- KORPIMÄKI E., LAGERSTROM M. & SAUROLA P., 1987: Field evidence for nomadism in Tengmalm's Owl *Aegolius funereus*. *Ornis Scandinavica*, 18: 1-4.
- LAAKSONEN, T. E., KORPIMÄKI & H. HAKKARAINEN, 2002: Interactive effects of parental age and environmental variation on the breeding performance of Tengmalm's Owls. *J. Anim. Ecol.* 71:23–31.
- LANCOTOT R. B., WEATHERHEAD P. J., KEMPENAERS B., SCRIBNER K. T., 1998: Male traits, mating tactics and reproductive success in the buff-breasted sandpiper, *Tryngites subruficollis*. *Animal Behaviour*, 56, 419-432.
- LANK D. B., SMITH C. M., HANOTTE O., BURKE T. & COOKE F., 1995: Genetic polymorphism for alternative mating behaviour in lekking male ruff *Philomachus pugnax*. *Nature* 378, 59–62. [\[Ref.\]](#)

- LAWLESS A. G., RITCHISON G., KLATT P. H. & WESTNEAT D. F., 1997: The mating strategies of Eastern Screech-Owls: a genetic analysis. *The Condor*, 99: 231-217. [\[Ref.\]](#)
- LEOPOLD F., 1951: A study of nesting wood ducks in Iowa. *The Condor*, 53: 209-220. [\[Ref.\]](#)
- LINDSTEDT E. R., OH K. P. & BADYAEV A. V., 2007: Ecological, social, and genetic contingency of extrapair behavior in a socially monogamous bird. *Journal of Avian Biology* 38: 214-238. [\[Ref.\]](#)
- LYON B. E., HAMILTON L. D. & MAGRATH M., 1992: The Frequency of Conspecific Brood Parasitism and the Pattern of Laying Determinancy in Yellow-Headed Blackbirds. *The Condor*, 94: 590-597. [\[Ref.\]](#)
- LYON B. E. & EADIE J. M., 2000: Family matters: Kin selection and the evolution of conspecific brood parasitism. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97: 12952 – 12944. [\[Ref.\]](#)
- MAUCK R. A., MARSCHALL A. & PARKER P. G., 1999: Adult survivorship and imperfect assessment of parentage: effects on male parenting decisions. *Am. Nat.* 154, 99–109. [\[Ref.\]](#)
- MCDONALD D.B. & POTTS W. K., 1994: Cooperative display and relatedness among males in a lek-mating bird. *Science* 266: 1030-1032. [\[Ref.\]](#)
- MÜLLER W., EPPEM J. T. & LUBJUHN T., 2001: Genetic paternity analysis in Little Owl (*Athene noctua*): does the high rate of paternal care select against extra-pair young? *Journal of Ornithology*, 143: 195-203.
- NEODORF D. L. H., 2004: Extrapair paternity in birds: understanding variation among species. *Auk* 121: 302-307 [\[Ref.\]](#)
- NEWTON I., 2006: Advances in the study of irruptive migration. *Ardea*, 94. 433-460. [\[Ref.\]](#)
- NIELSEN CH. R., SEMEL B., SHERMAN P. W., WESTNEAT D. F. & PARKER P. G., 2006: Host-parasite relatedness in wood ducks: patterns of kinship and parasite succes. *Mol. Ecol.* 16:2797–2806. [\[Ref.\]](#)
- PRITCHARD J. K., WEN X. & FALUSH D., 2007: Documentation for Structure software: Version 2.2, 36 p. [\[Ref.\]](#)
- PARSONS T. J., OLSON S. L. & BRAUN M. J., 1993: Unidirectional spread of secondary sexual plumage traits across an avian boundary. *Science* 260: 1643-1646. [\[Ref.\]](#)
- ROULIN A., MÜLLER W., SASVÁRI L., DIJKSTRA C., DUCREST A.-L., RIOLS CH., WINK M. & LUBJUHN T., 2004: Extra-pair paternity, testes size and testosterone level in

- relation to colour polymorphism in the barn owl *Tyto alba*. *Journal of Avian Biology*, 35: 492-500. [\[Ref.\]](#)
- RYMEŠOVÁ D., 2008: Genetická analýza vybraných populací sýce rousného *Aegolius funereus*. Diplomová práce PřF MU, Brno, 67 p.
- RYMEŠOVÁ D., 2006: Složení potravy a hnízdní úspěšnost sýce rousného, *Aegolius funereus* (L., 1758), v CHKO Žďárské vrchy. Bakalářská práce PřF MU, Brno, 75p.
- SALADIN V., RITSCHARD M., ROULIN A., BIZE P. & RICHNER H., 2007: Analysis of genetic parentage in the tawny owl (*Strix aluco*) reveals extra-pair paternity is low. *Journal for Ornithology*, 148: 113-116. [\[Ref.\]](#)
- SEGELBACHER G., WEGGE P., SIVKOV A. V. & HÖGLUND J., 2007: Kin Groups in closely spaced capercaillie leks. *Journal of Ornithology* 148, 79-84. [\[Ref.\]](#)
- SEMEL B. & SHERMAN P. W., 2001: Intraspecific parasitism and nest-site competition in Wood Ducks. *Animal Behaviour*. 61:787–803. [\[Ref.\]](#)
- SHOREY L., PIERTNEY S., STONE J. & HÖGLUND J., 2000: Fine-scale genetic structuring on *Manacus manacus* leks. *Nature* 408, 352-353. [\[Ref.\]](#)
- SOBOTOVÁ L., 2008: Potravní ekologie sýce rousného (*Aegolius funereus*) v imisních oblastech Krušných hor. Diplomová práce FŽP ČZU v Praze, 67 p.
- SONERUD G. A., 1992: Nest predation may make the "deception hypothesis" unnecessary to explain polygyny in the Tengmalm's owl. *Animal Behaviour*, 43: 871-874.
- STACEY, P. B., 1982: Female promiscuity and male reproductive success in social birds and mammals. *Am. Nat.* 120:51–64.
- STUTCHBURY B. J. & MORTON E. S., 1995: The effect of breeding synchrony on extra-pair mating systems in songbirds. *Behaviour* 132: 675–690. [\[Ref.\]](#)
- ŠŤASTNÝ K., BEJČEK V. & HUDEC K., 2006: Atlas hnízdního rozšíření ptáků v České republice 2001-2003. Aventinum, Praha, 464 p.
- THELENOVÁ J., 2003: Potravní ekologie sýce rousného (*Aegolius funereus*) v Jizerských horách. Diplomová práce, PřF UP Olomouc, 78 p.
- VÁCLAV R. & HOI H., 2006: Experimental manipulation of timing of breeding suggests laying order instead of breeding synchrony affects extra-pair paternity in house sparrows. *Journal of Ornithology*, 148: 395-400. [\[Ref.\]](#)
- WESTNEAT D. F. & SHERMAN P. W., 1997: Density and extra-pair fertilizations in birds: a comparative analysis. *Behav. Ecol. Soc.* 41:205–215. [\[Ref.\]](#)

- WHITTINGHAM L. A., TAYLOR P. D. & ROBERTSON R. J., 1992: Confidence of paternity and male parental care. *Am. Nat.* 139, 1115-1125. [\[Ref.\]](#)
- WINK M. & DRYCZ A. J., 1999: Mating systems in birds: a review of molecular studies. *Acta Ornithologica* 34, 91–109.
- YOM-TOV Y., 1980: Intraspecific nest parasitism in birds. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 55: 93-108.
- ZINK A. G., 2000: The evolution of intraspecific brood parasitism in birds and insects. *Am. Nat.* 155:395-405. [\[Ref.\]](#)

8 PŘÍLOHY

Seznam příloh:

8.1 Tabulky a grafy

- 8.1.1: Genotypy rodičů a mláďat na hnízdech sýce rousného v Krušných horách (r. 2006, 2007 a 2008), Žďárských vrších (r. 2007) a Jizerských horách (2008).
- 8.1.2: Charakteristika mikrosatelitových lokusů (KOOPMAN et al. 2004).
- 8.1.3: Ukázka odečítání genotypu v prostředí programu GeneMapper v. 3.7.
- 8.1.4: Srovnání polymorfismu lokusů krušnohorské populace pro rok 2006 (RYMEŠOVÁ 2008). Tučně jsou zvýrazněny lokusy s největším polymorfismem.
- 8.1.5: Srovnání lokusů z hlediska nulových alel adultních jedinců pro krušnohorskou populaci v letech 2006 (RYMEŠOVÁ 2008), 2007 a 2008 na 5 lokusech.
- 8.1.6: Graf vzdálenosti, kterou samci (retrap. jedinci) urazili mezi jednotlivými hnízdními sezónami v Krušných horách.
- 8.1.7: Graf vzdálenosti, kterou samci (retrap. jedinci) urazili mezi jednotlivými hnízdními sezónami v Krušných horách.
- 8.1.8: Potravní nabídka v jednotlivých letech. Počet zvířat na 100 pastonocí (nepubl. HANEL 2008).
- 8.1.9: Srovnání alelické diverzity let 2006-2008 v Krušných horách na 7 lokusech.
- 8.1.10: Porovnání alelické diverzity mezi populacemi Žďárských vrchů a Jizerských a Krušných hor na 5 polymorfních lokusech.
- 8.1.11: Srovnání hodnoty Theta (ekvivalent F_{ST}) pro populaci Žďárských vrchů a Krušných a Jizerských hor na 5 lokusech.
- 8.1.12: Srovnání polymorfismu populací Čech, Severní Ameriky a Norska (KOOPMAN 2007).

8.2 Mapy

- 8.2.1: Disperze samců v Krušných horách v letech 2004 – 2008.
- 8.2.2: Disperze samic v Krušných horách v letech 2004 – 2008.
- 8.2.3: V roce 2006 byly v Krušných horách odebrány vzorky celkem od 18 párů (RYMEŠOVÁ 2008).
- 8.2.4: Satelitní snímek České republiky se studovanými plochami Krušných (A), Jizerských hor (B) a Žďárských vrchů.

8.3 Fotografie

- 8.3.1: Odběr vzorku v terénu a ukázka označení ependorfek.
- 8.3.2: Ukázka typického teritoria sýce rousného *Aegolius funereus* v Krušných horách.
- 8.3.3: Samice sýce rousného *Aegolius funereus* při inkubaci snůšky.
- 8.3.4: Mládě sýce rousného *Aegolius funereus* pár dní před vylétnutím z hnízda.
- 8.3.5: Samec sýce rousného *Aegolius funereus*.

8.1 Tabulky a grafy

Příloha 8.1.1: Genotypy rodičů a mláďat na hnízdech sýce rousného v Krušných horách (r. 2006, 2007 a 2008), Žďárských vrších (r. 2007) a Jizerských horách (2008). Číselný kód se skládá z označení lokality a roku odběru, dále z čísla budky a kódu jedince (samice = 1, samec = 2, x-té mládě = 3x). Červeně je zvýrazněna alela mláděte z b. 59 z roku 2006, která není součástí genotypu ani jednoho z obou rodičů.

jedinec/lokus	BOOW04		BOOW06		BOOW07		BOOW13		BOOW14		BOOW18		BOOW19	
kh06_7_2	204	232	198	198	97	97	240	243	145	145	220	225	219	223
kh06_7_1	204	213	198	198	88	93	235	243	145	145	196	227	219	223
kh06_7_31	204	213	198	198	88	97	243	243	145	145	225	227	219	223
kh06_7_32	204	204	198	198	93	97	235	243	145	145	196	225	219	219
kh06_7_33	204	204	198	198	88	97	243	243	145	145	196	220	219	223
kh06_7_34	204	213	198	198	88	97	243	243	145	145	225	227	219	223
kh06_7_35	204	213	198	198	93	97	235	240	145	145	225	227	219	223
kh06_20_2	204	221	198	198	84	88	243	243	145	145	220	232	219	223
kh06_20_1	212	217	198	198	93	97	243	243	145	145	224	299	219	223
kh06_20_31	204	212	198	198	84	93	243	243	145	145	220	224	223	223
kh06_20_32	217	221	198	198	88	97	243	243	145	145	232	299	219	219
kh06_20_33	204	212	198	198	84	97	243	243	145	145	220	299	219	223
kh06_59_2	204	212	198	198	93	97	235	235	145	145	224	231	223	223
kh06_59_1	204	221	198	198	76	97	243	243	145	145	222	237	219	223
kh06_59_31	204	212	198	198	76	93	235	243	145	145	224	237	219	223
kh06_59_32	204	212	198	198	93	97	243	243	145	145	231	237	223	223
kh06_59_33	204	204	198	198	76	93	243	243	145	145	231	237	219	223
kh06_59_34	204	204	198	198	93	97	235	243	145	145	224	237	223	223
kh06_59_35	204	221	198	198	84	97	243	243	145	145	237	237	219	223
kh06_91_2	212	221	198	198	93	97	235	235	145	145	224	224	219	223
kh06_91_1	204	212	198	198	88	93	235	235	145	145	192	205	219	223
kh06_91_31	204	212	198	198	88	93	235	235	145	145	192	224	223	223
kh06_91_32	204	212	198	198	93	97	235	235	145	145	192	192	223	223
kh06_91_33	212	212	198	198	93	97	235	235	145	145	192	192	219	219
kh06_91_34	204	212	198	198	88	97	235	235	145	145	192	192	223	223
kh06_91_35	212	212	198	198	88	93	235	235	145	145	192	192	219	223
kh06_91_36	204	212	198	198	88	97	235	235	145	145	192	192	219	219
kh06_92_1	204	232	198	198	84	88	243	243	145	145	220	228	219	219
kh06_92_2	217	223	198	198	93	93	243	243	145	145	216	232	219	223
kh06_92_31	217	232	198	198	88	93	0	0	145	145	220	232	219	223
kh06_92_32	217	232	198	198	88	93	0	0	145	145	216	220	219	219
kh06_96_2	204	204	198	198	88	97	243	243	145	145	224	228	223	223
kh06_96_1	204	225	198	198	88	88	235	235	145	145	220	224	223	223
kh06_96_31	204	204	198	198	88	88	235	243	145	145	224	228	223	223
kh06_96_32	204	204	198	198	88	97	235	243	145	145	224	228	223	223
kh06_96_33	204	225	198	198	88	97	235	243	145	145	224	224	223	223
kh06_96_34	204	225	198	198	88	97	235	243	145	145	224	228	223	223
kh06_96_35	204	225	198	198	88	88	235	243	145	145	224	224	223	223
kh06_96_36	204	204	198	198	88	88	235	243	145	145	224	224	223	223
kh06_100_2	204	204	198	198	88	88	235	235	145	150	228	228	219	223
kh06_100_1	221	225	198	198	84	93	235	243	145	145	225	227	219	223
kh06_100_31	204	221	198	198	88	93	235	235	145	145	225	227	219	223

kh06_100_32	204	225	198	198	84	88	235	235	145	150	225	227	223	223
kh06_100_33	204	221	198	198	84	88	235	235	145	145	225	227	219	219
kh06_100_34	204	225	198	198	84	88	235	235	145	145	225	227	219	223
kh06_302_1	225	232	198	198	84	84	243	243	145	150	196	228	219	223
kh06_302_31	204	225	198	198	84	88	243	243	145	150	228	228	223	223
kh06_302_32	204	225	198	198	84	109	235	243	145	145	196	228	219	219
kh06_302_33	204	225	198	198	84	109	235	243	145	150	196	228	223	223
kh06_302_34	204	225	198	198	84	88	243	243	145	150	196	228	219	223
kh06_311_2	204	204	198	198	84	97	235	235	145	145	220	237	219	223
kh06_311_1	204	204	198	198	93	93	235	247	145	145	192	232	219	223
kh06_311_31	204	204	198	198	93	97	235	243	145	145	192	237	219	223
kh06_311_32	204	204	198	198	93	97	235	243	145	145	232	237	219	219
kh06_311_33	204	204	198	198	84	93	235	235	145	145	232	237	219	223
kh06_311_34	204	204	198	198	84	93	235	235	145	145	192	220	223	223
kh06_311_35	204	204	198	198	93	97	235	235	145	145	192	237	219	223
kh06_406_1	212	232	198	198	97	101	243	243	145	145	220	232	219	219
kh06_409_2	232	232	198	198	84	84	243	243	145	145	228	228	219	219
kh06_409_1	204	225	198	198	88	97	240	240	145	150	220	224	219	219
kh06_409_31	225	232	198	198	84	97	243	243	145	145	220	228	219	219
kh06_409_32	204	232	198	198	84	88	240	243	145	150	220	228	219	219
kh06_409_33	225	232	198	198	84	97	240	243	145	145	220	228	219	219
kh06_504_2	225	221	198	198	76	84	243	243	145	145	223	223	223	223
kh06_504_1	204	204	198	198	93	105	235	243	145	145	196	222	219	219
kh06_504_31	204	221	198	198	84	93	243	243	145	145	222	222	219	223
kh06_504_32	204	221	198	198	76	93	243	243	145	145	222	222	219	223
kh06_504_33	204	225	198	198	76	105	235	243	145	145	222	222	219	223
kh06_504_34	204	225	198	198	84	105	235	243	145	145	196	223	219	223
kh06_504_35	204	225	198	198	84	93	243	243	145	145	196	223	219	223
kh06_541_2	217	223	198	198	93	93	243	243	145	145	216	232	219	223
kh06_541_1	213	221	198	198	93	109	243	243	145	145	192	227	223	223
kh06_541_31	221	223	198	198	93	109	235	235	145	145	216	227	223	223
kh06_541_32	213	217	198	198	93	93	243	243	145	145	192	216	219	223
kh06_541_33	213	217	198	198	93	109	243	243	145	145	192	232	223	223
kh06_545_2	213	221	198	198	76	88	235	235	145	145	192	224	223	223
kh06_545_1	204	221	198	198	88	88	243	243	145	145	220	224	219	223
kh06_545_31	213	221	198	198	76	88	243	243	145	145	224	224	219	223
kh06_545_32	213	221	198	198	76	88	243	243	145	145	192	220	219	223
kh06_545_33	221	221	198	198	88	88	243	243	145	145	224	224	223	223
kh06_545_34	213	221	198	198	88	88	243	243	145	145	220	224	219	223
kh06_545_35	221	221	198	198	76	88	243	243	145	145	192	224	223	223
kh06_545_36	204	213	198	198	88	88	243	243	145	145	220	224	223	223
kh06_554_2	204	221	198	198	93	101	235	235	145	145	188	228	219	223
kh06_554_1	232	221	198	198	88	93	235	243	145	145	227	484	223	223
kh06_554_31	221	232	198	198	101	88	235	243	145	145	227	228	223	223
kh06_554_32	221	232	198	198	93	93	235	243	145	145	188	227	219	223
kh06_554_33	204	232	198	198	93	101	235	235	145	145	227	228	219	223
kh06_554_34	204	232	198	198	88	101	235	243	145	145	188	484	223	223
kh06_565_1	204	204	198	198	97	97	243	243	145	145	224	224	219	219
kh06_565_31	204	215	198	198	97	88	235	235	145	145	224	228	219	219
kh06_565_32	204	213	198	198	97	88	235	243	145	145	224	228	219	219
kh06_565_33	204	213	198	198	97	88	235	243	145	145	224	232	219	219
kh06_574_2	212	229	198	198	93	97	235	243	145	145	216	216	223	223
kh06_574_1	210	217	198	198	84	97	235	235	145	150	228	237	219	223
kh06_574_31	212	217	198	198	84	93	235	235	145	150	237	237	223	223

kh06_574_32	210	229	198	198	97	97	235	243	145	150	237	237	219	223
kh06_574_33	212	217	198	198	84	97	235	243	145	150	228	228	219	223
kh06_577_2	204	221	198	198	76	97	235	235	145	145	196	224	223	223
kh06_577_1	204	204	198	198	93	97	235	243	145	145	222	228	219	223
kh06_577_31	204	221	198	198	76	93	243	243	145	145	196	228	219	223
kh06_577_32	204	204	198	198	76	93	235	235	145	145	196	222	219	223
kh06_577_33	204	204	198	198	76	97	235	243	145	145	224	228	219	223
kh06_662_2	204	217	198	198	80	97	243	243	145	145	192	228	219	223
kh06_662_1	204	221	198	198	84	84	235	235	145	145	224	236	219	223
kh06_662_31	204	221	198	198	80	84	243	243	145	145	192	224	219	223
kh06_662_32	204	217	198	198	84	97	235	243	145	145	192	236	219	223
kh06_662_33	204	204	198	198	84	97	243	243	145	145	192	236	219	223
kh07_542_1	219	219	198	198	93	97	0	0	145	145	192	224	219	219
kh07_542_2	204	215	198	198	93	97	235	243	145	145	224	224	219	219
kh07_542_31	204	219	198	198	93	97	235	235	145	145	224	224	219	219
kh07_542_32	215	219	198	198	93	93	235	235	145	145	192	224	219	219
kh07_542_33	204	219	198	198	93	97	243	243	145	145	192	224	219	219
kh07_542_34	204	219	198	198	93	97	235	235	145	145	192	224	219	219
kh07_542_35	204	219	198	198	93	97	243	243	145	145	192	224	219	219
kh07_542_36	215	215	198	198	93	97	235	235	145	145	224	224	219	219
kh07_46_2	217	223	198	198	93	93	243	243	145	145	216	232	219	223
kh07_46_31	204	223	198	198	93	93	247	247	145	145	232	232	221	221
kh07_46_32	212	223	198	198	93	93	243	243	145	145	216	232	221	221
kh07_46_33	204	223	198	198	93	93	247	247	145	145	232	232	221	219
kh07_46_34	204	217	198	198	93	93	247	247	145	145	232	232	219	223
kh07_46_35	204	223	198	198	93	93	247	247	145	145	216	216	219	223
kh07_408_1	204	221	198	198	76	97	243	243	145	145	222	237	219	223
kh07_408_2	204	212	198	198	93	97	235	235	145	145	188	192	219	219
kh07_408_31	212	221	198	198	93	93	243	243	145	145	188	240	219	219
kh07_408_32	212	221	198	198	93	93	235	235	145	145	188	240	219	223
kh07_408_33	212	221	198	198	93	93	235	235	145	145	188	240	219	223
kh07_408_34	204	204	198	198	93	93	235	235	145	145	192	240	219	223
kh07_504_1	204	221	198	198	90	90	0	0	145	145	218	223	219	223
kh07_504_2	225	221	198	198	76	84	243	243	145	145	223	223	223	223
kh07_504_31	204	225	198	198	76	90	243	243	145	145	218	223	223	223
kh07_504_32	221	221	198	198	76	90	243	243	145	145	218	223	223	223
kh07_504_33	225	225	198	198	76	90	243	243	145	145	218	223	219	223
kh07_504_34	204	225	198	198	76	90	247	247	145	145	223	223	219	223
kh07_504_35	204	225	198	198	84	90	243	243	145	145	218	223	219	223
kh07_504_36	221	221	198	198	76	90	243	243	145	145	218	223	223	223
kh07_504_37	204	221	198	198	76	90	243	243	145	145	223	223	223	223
kh07_650_1	204	212	198	198	93	93	0	0	145	145	192	227	219	219
kh07_650_2	204	212	198	198	93	97	235	235	145	145	188	192	219	219
kh07_650_31	204	212	198	198	93	97	0	0	145	145	192	192	219	219
kh07_650_32	212	212	198	198	93	97	235	235	145	145	192	227	219	219
kh07_20_1	204	223	198	198	84	101	243	243	145	145	192	192	219	219
kh07_20_2	204	204	198	198	84	97	235	235	145	145	220	237	219	223
kh07_20_31	204	223	198	198	84	84	247	247	145	145	192	237	219	219
kh07_20_32	204	204	198	198	84	84	243	243	145	145	220	220	219	223
kh07_20_33	204	218	198	198	101	101	243	243	145	145	192	220	219	223
kh07_20_34	204	204	198	198	97	101	247	247	145	145	192	220	219	219
kh07_20_35	204	204	198	198	84	84	243	243	145	145	192	237	219	223
kh07_20_36	204	223	198	198	97	101	243	243	145	145	192	220	219	219
kh07_20_37	204	204	198	198	84	97	243	243	145	145	220	220	219	223

kh07_565_1	204	204	198	198	93	93	235	247	145	145	192	232	219	223
kh07_565_2	217	223	198	198	93	93	243	243	145	145	216	232	219	223
kh07_565_31	204	225	198	198	93	93	243	243	145	145	192	192	223	223
kh07_565_32	204	217	198	198	93	93	0	0	145	145	232	232	219	223
kh07_565_33	204	223	198	198	93	93	247	247	145	145	192	232	219	223
kh07_565_34	204	223	198	198	93	93	247	247	145	145	192	216	223	223
kh07_565_35	204	217	198	198	93	93	0	0	145	145	232	232	219	219
kh07_565_36	204	225	198	198	93	93	0	0	145	145	192	216	219	223
kh07_402_1	192	204	198	198	84	93	238	247	145	145	220	223	221	225
kh07_402_2	192	204	198	198	93	93	238	238	145	145	196	232	221	225
kh07_402_31	192	204	198	198	84	93	247	247	145	145	196	196	221	225
kh07_402_32	192	204	198	198	84	93	238	238	145	145	228	228	221	225
kh07_402_33	204	204	198	198	84	93	238	238	145	145	232	232	221	225
kh07_402_34	192	204	198	198	84	93	247	247	145	145	220	232	221	225
kh07_577_1	204	212	198	198	89	97	247	247	145	145	221	232	219	223
kh07_577_2	204	221	198	198	76	97	235	235	145	145	196	224	223	223
kh07_577_31	204	221	198	198	89	97	247	247	145	145	196	221	219	223
kh07_577_32	204	204	198	198	89	97	238	247	145	145	221	224	219	223
kh07_577_33	204	212	198	198	89	97	238	247	145	145	196	221	219	223
kh07_577_34	204	212	198	198	76	89	247	247	145	145	221	224	219	223
kh07_577_35	204	204	198	198	89	76	247	247	145	145	221	224	219	223
kh07_577_36	212	212	198	198	76	89	238	247	145	145	196	221	223	223
kh07_577_37	204	221	198	198	89	97	238	247	145	145	221	224	223	223
kh08_34_1	213	213	198	198	86	86	235	243	145	145	192	227	223	223
kh08_402_1	204	204	198	198	84	92	235	243	145	145	220	223	219	223
kh08_402_2	204	204	198	198	93	93	238	238	145	145	196	196	221	225
kh08_402_31	204	204	198	198	84	88	243	243	145	145	196	223	219	219
kh08_402_32	204	223	198	198	86	86	243	243	145	145	228	228	219	219
kh08_402_33	204	204	198	198	86	86	243	243	145	145	230	230	219	223
kh08_405_1	204	233	198	198	86	86	235	243	145	145	223	247	219	223
kh08_405_2	225	221	198	198	76	84	243	243	145	145	223	223	223	223
kh08_405_31	204	233	198	198	86	86	235	235	145	145	196	223	219	223
kh08_405_32	204	204	198	198	86	86	243	243	145	145	196	223	223	223
kh08_545_1	204	221	198	198	86	86	243	243	145	150	220	223	223	223
kh08_554_1	204	221	198	202	86	86	235	243	145	145	200	223	219	223
kh08_577_1	204	221	198	198	86	86	243	243	145	145	221	232	223	223
kh08_577_2	204	221	198	198	76	97	235	235	145	145	196	224	223	223
kh08_577_31	204	212	198	198	86	86	235	243	145	145	196	232	219	223
kh08_577_32	204	212	198	198	86	86	235	243	145	145	196	221	219	223
kh08_577_33	204	212	198	198	76	88	235	243	145	145	224	232	219	223
kh08_623_1	204	225	198	198	86	86	235	243	145	145	225	225	219	223
kh08_623_2	204	213	198	198	86	86	235	243	145	145	227	227	219	223
kh08_623_31	204	225	198	198	86	86	243	243	145	145	227	227	223	223
kh08_623_32	204	213	198	198	86	86	235	243	145	145	227	227	219	223
kh08_623_33	204	225	198	198	86	86	235	243	145	145	223	223	219	223
kh08_623_34	204	225	198	198	86	86	235	235	145	145	227	227	219	219
kh08_650_1	212	212	198	198	86	86	235	235	145	145	196	220	219	219
kh08_650_2	204	212	198	198	93	97	235	235	145	145	188	192	219	219
kh08_650_31	212	212	198	198	86	86	235	235	145	145	188	196	219	219
kh08_650_33	212	212	198	198	86	86	235	235	145	145	188	196	219	219
kh08_650_34	204	212	198	198	86	86	235	235	145	145	192	220	219	219
kh08_650_35	212	212	198	198	86	86	235	235	145	145	192	196	219	219
kh08_650_36	212	212	198	198	86	86	235	235	145	145	188	220	219	219
kh08_66_1	204	213	198	198	86	86	243	243	145	145	192	227	223	223

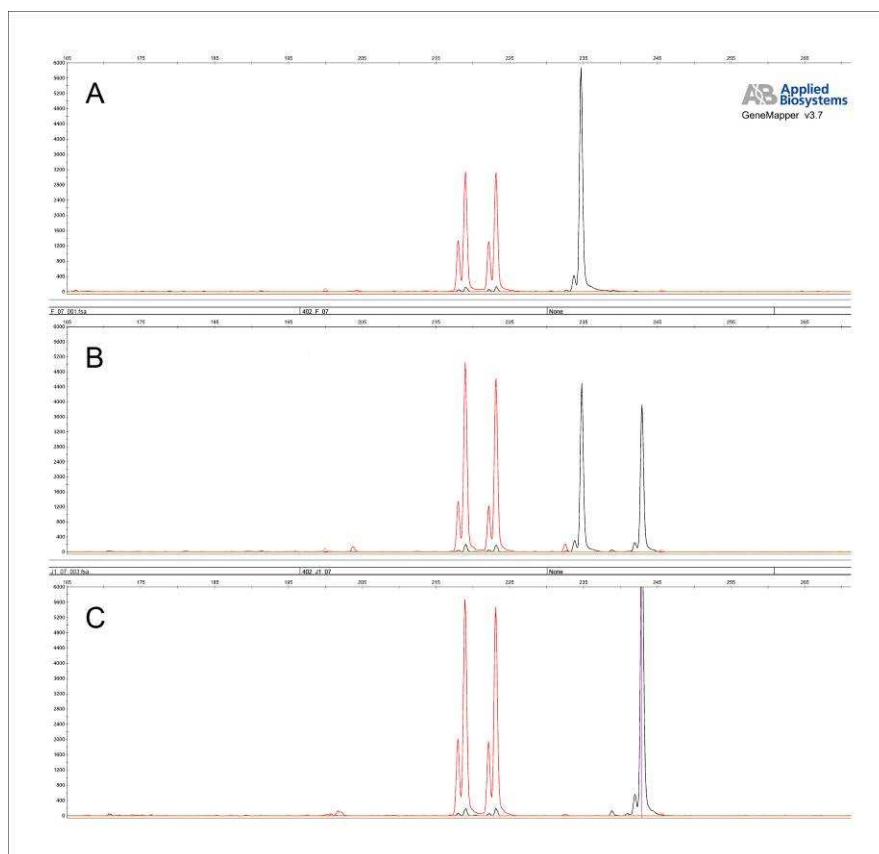
kh08_66_2	204	212	198	198	86	86	235	247	145	145	192	196	198	224
kh08_66_31	204	204	198	198	86	86	243	243	145	145	192	227	223	223
kh08_66_32	204	204	198	198	86	86	243	243	145	145	192	192	224	224
kh08_79_1	212	217	198	198	86	86	243	243	145	145	220	220	223	223
kh08_79_2	217	225	198	198	86	86	243	243	145	145	227	230	223	223
kh08_79_31	212	217	198	198	86	86	243	243	145	145	227	227	223	223
kh08_79_32	212	225	198	198	86	86	243	243	145	145	230	230	223	223
kh08_79_33	217	217	198	198	86	86	243	243	145	145	227	227	223	223
kh08_79_34	217	225	198	198	86	86	243	243	145	145	220	227	223	223
kh08_624_1	204	212	198	198	88	93	235	235	145	145	192	205	219	223
ZV06_1_21	204	212	198	198	93	97	235	235	145	145	222	484	219	223
ZV06_1_22	204	204	198	198	101	93	235	235	145	145	192	222	219	219
ZV06_1_1	223	204	198	198	80	93	235	243	145	150	224	219	223	219
ZV06_1_31	204	204	198	198	93	101	235	235	145	145	222	224	219	223
ZV06_1_32	223	204	198	198	93	93	243	243	145	150	219	222	219	219
ZV06_1_33	204	223	198	198	80	93	235	235	145	145	192	224	219	219
ZV06_2_1	221	221	198	198	101	101	235	243	145	145	230	232	219	223
jh08_306_31	210	215	198	198	86	86	243	243	145	145	0	0	219	223
jh08_306_32	204	204	198	198	86	86	243	243	145	145	0	0	223	223
jh08_306_33	0	0	198	198	86	86	243	243	145	145	0	0	219	219
jh08_5_1	221	225	198	198	86	86	0	0	145	145	220	227	0	0
jh08_5_31	204	225	198	198	80	84	235	235	145	145	220	225	219	224
jh08_5_32	212	225	198	198	84	92	243	243	145	145	227	227	220	224
jh08_5_33	204	221	198	198	80	88	235	235	145	145	227	227	220	220
jh08_5_34	212	225	198	198	80	84	243	243	145	145	220	225	219	224
jh08_5_2	204	212	198	198	84	88	235	143	145	145	225	225	220	224
jh08_322_1	204	204	198	198	97	101	235	243	145	145	223	223	224	224
jh08_322_31	204	204	198	198	92	101	235	235	145	145	196	196	224	224
jh08_322_32	204	204	198	198	92	97	235	235	145	145	223	227	224	224
jh08_322_33	204	204	198	198	92	97	235	235	145	145	223	227	224	224
jh08_322_34	204	204	198	198	92	101	235	235	145	145	196	196	224	224
jh08_322_2	204	204	198	198	84	92	235	235	145	145	196	227	224	224
jh08_373_31	204	221	198	198	92	97	243	243	145	145	227	227	219	224
jh08_373_32	204	204	198	198	84	92	235	235	145	145	227	227	219	224
jh08_373_33	204	204	198	198	97	97	235	235	145	145	212	227	219	224
jh08_373_34	204	221	198	198	92	97	235	235	145	145	227	227	224	228

Příloha 8.1.2: Charakteristika mikrosatelitových lokusů (KOOPMAN et al. 2004).

Lokus	Sekvence primeru	Značení	Repetice
BOOW04	F: CCCACAAAATACAGCAATTCC	FAM	AC10
	R: TAAAGTTCTTCCGCTTAG		
BOOW06	F: AAGGGGAAGTTACAGC	VIC	ATCC6
	R: TAACAAAGTATTCGGTCATT		
BOOW07	F: ACATCAAAGATAGATAGATAG	FAM	AGAT16
	R: TCATAGCATAAAGTCCTA		
BOOW13	F: TTGTTAAACAGCGAAGACC	NED	ACAG6
	R: ATAATGCCTCACGCTTCC		
BOOW14	F: CCATTCTTCACGAGGC	VIC	AAAC7
	R: AGCAGGTCTCTAAATGTCAA		
BOOW18	F: TTCTGCCTTACAGTCTAGT	NED	AAAG6
	R: AAAAACCTATCTTTGTGAGT		
BOOW19	F: GCATTTTCTGTTGACCAC	PET	AAAC6
	R: CTAATTCAGTGCCCTTAT		

Příloha 8.1.3: Ukázka odečítání genotypu v prostředí programu GeneMapper v. 3.7.

Vysvětlivky: A - otec ; B - matka; C – mládě. Na červeném lokusu (BOOW19) jsou všichni tři jedinci heterozygotní, na černém lokusu (BOOW13) pouze samice. Mládě zdědilo alelu po matce a společně s otcem jsou na daném lokusu homozygotní.

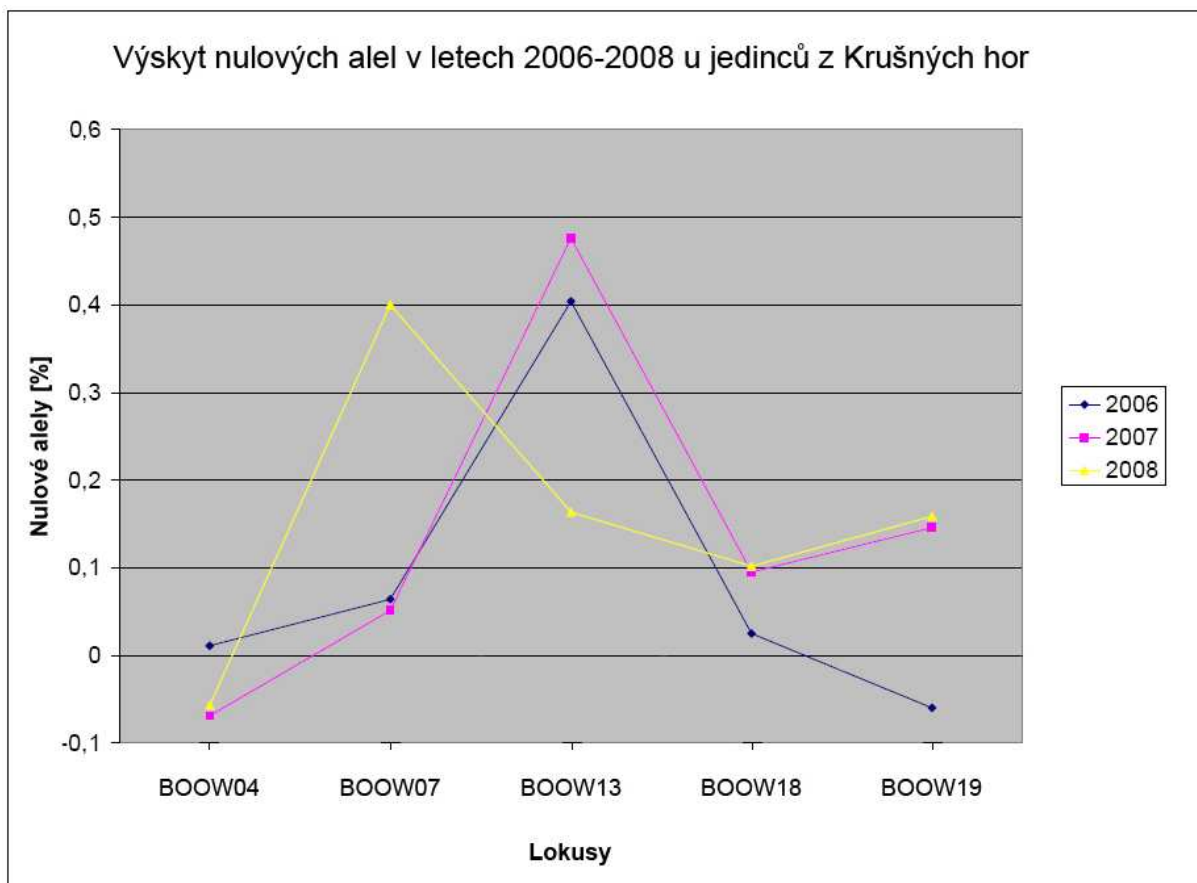


Příloha 8.1.4: Srovnání polymorfismu lokusů krušnohorské populace pro rok 2006 (RYMEŠOVÁ 2008). Tučně jsou zvýrazněny lokusy s největším polymorfismem.

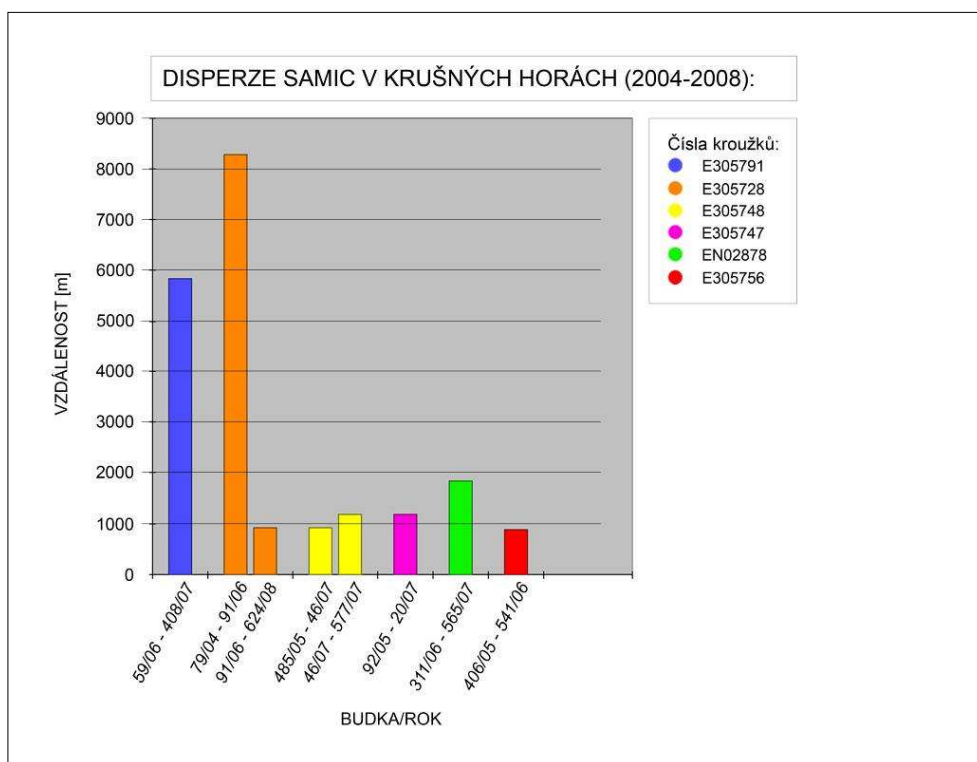
Vysvětlivky: k - počet alel; N - počet jedinců; H_O - pozorovaná heterozygotnost; H_E - očekávaná heterozygotnost; Fis - koeficient inbreedingu (NA – nespočítán pro nedostatek dat); S – signifikantnost hodnoty Fis (NS = nesignifikantní, ** = signifikantní na 5% hladině).

2006	k	N	H_O	H_E	AR	Fis	S
BOOW04	10	34	0,765	0,781	10,000	0,021	NS
BOOW06	1	34	0	0	1,000	NA	NS
BOOW07	9	34	0,706	0,816	9,000	0,136	NS
BOOW13	4	34	0,235	0,559	4,000	0,583	**
BOOW14	1	34	0,118	0,112	1,000	-0,048	NS
BOOW18	18	34	0,853	0,907	18,000	0,06	NS
BOOW19	2	34	0,559	0,504	2,000	-0,112	NS

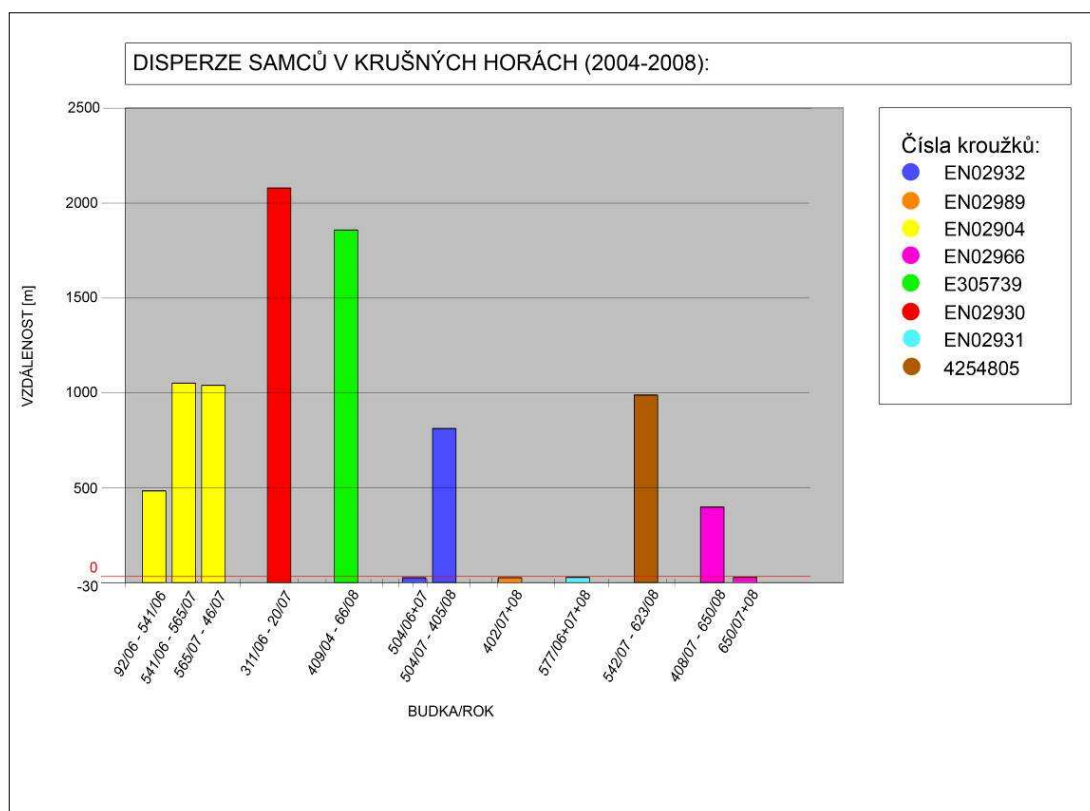
Příloha 8.1.5: Srovnání lokusů z hlediska nulových alel adultních jedinců pro krušnohorskou populaci v letech 2006 (RYMEŠOVÁ 2008), 2007 a 2008 na 5 lokusech.



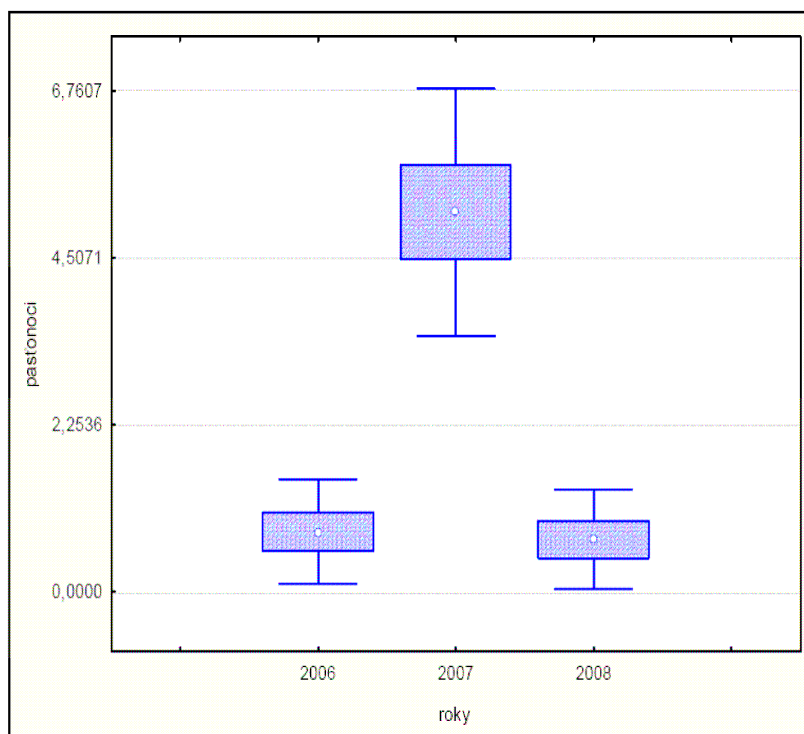
Příloha 8.1.6: Graf vzdálenosti, kterou samci (retrap. jedinci) urazili mezi jednotlivými hnízdními sezónami v Krušných horách.



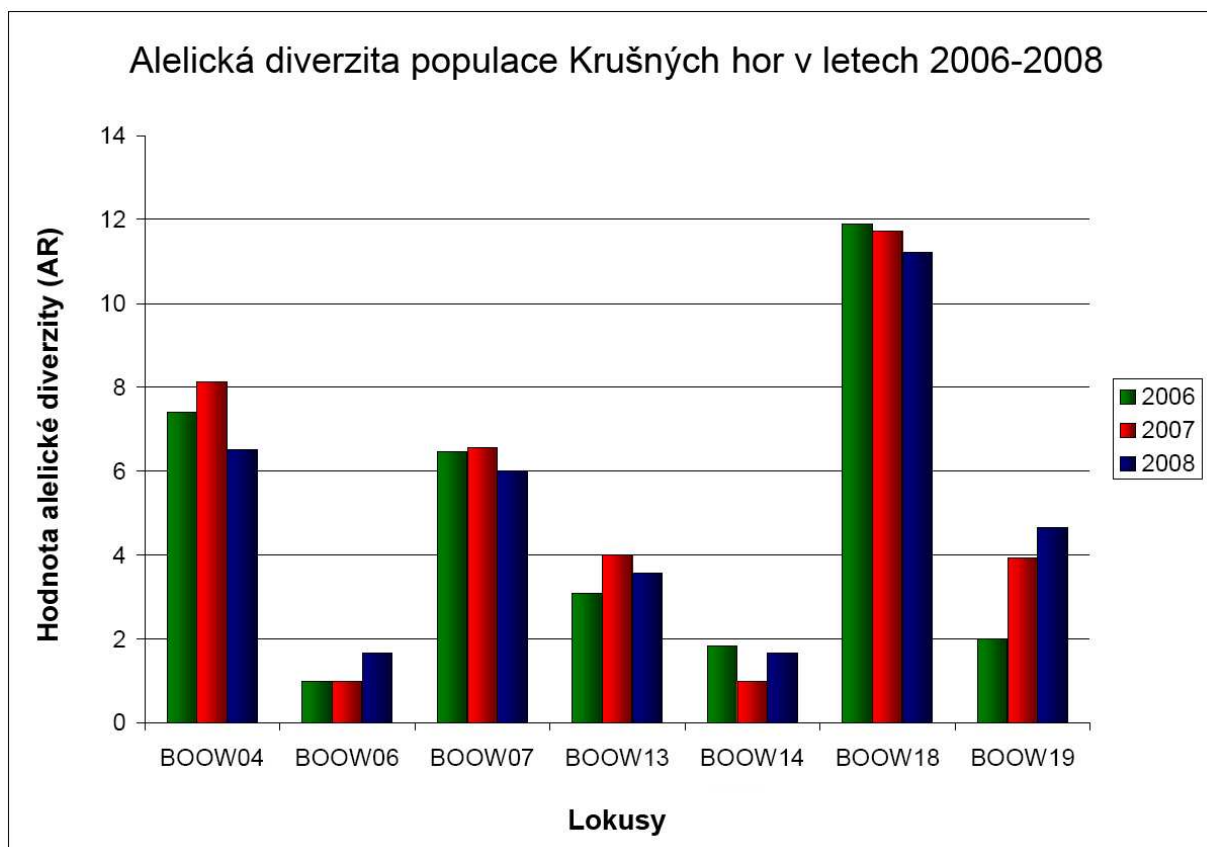
Příloha 8.1.7: Graf vzdálenosti, kterou samci (retrap. jedinci) urazili mezi jednotlivými hnízdními sezónami v Krušných horách.



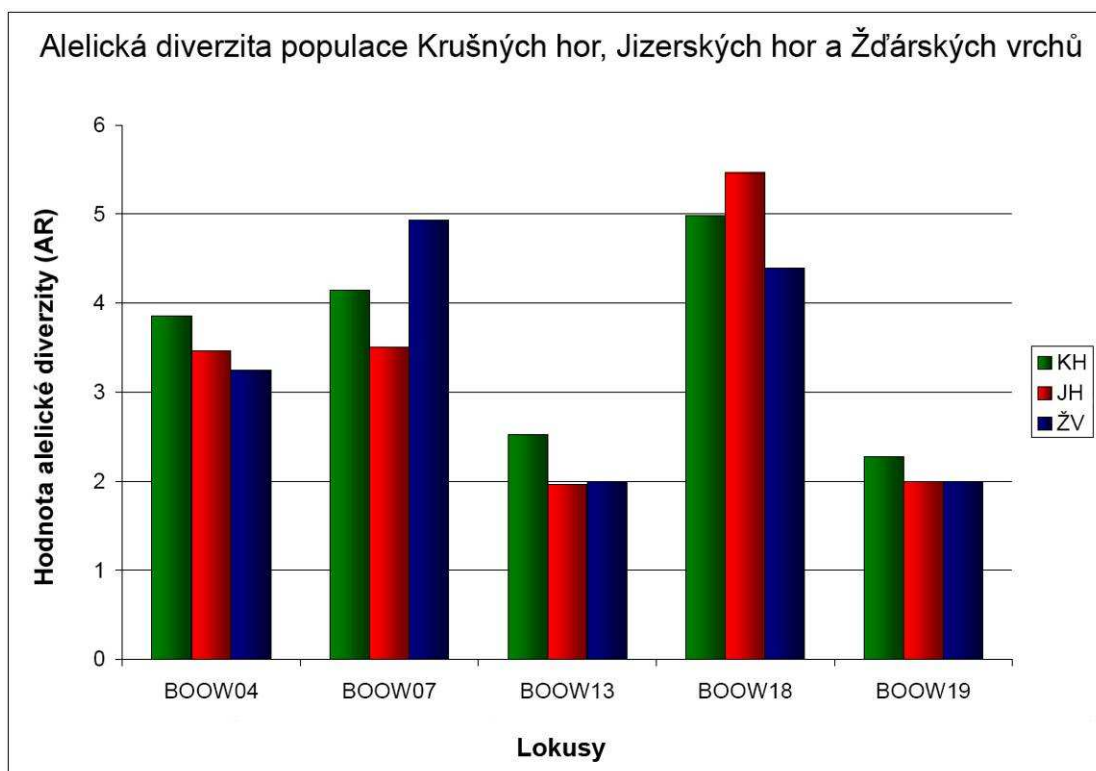
Příloha 8.1.8: Potravní nabídka v jednotlivých letech. Počet zvířat na 100 pastonocí (nepubl. HANEL 2008).



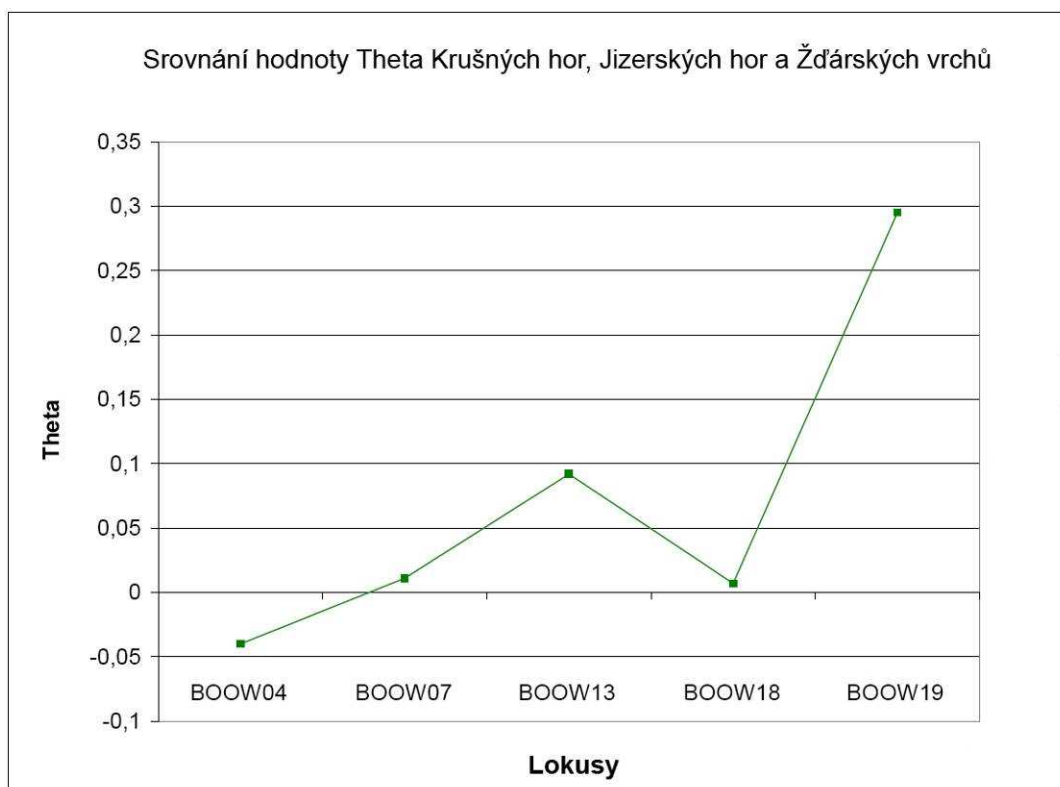
Příloha 8.1.9: Srovnání alelické diverzity let 2006-2008 v Krušných horách na 7 lokusech.



Příloha 8.1.10: Porovnání alelické diverzity mezi populacemi Žďárských vrchů a Jizerských a Krušných hor na 5 polymorfních lokusech.



Příloha 8.1.11: Srovnání hodnoty Theta (ekvivalent F_{ST}) pro populaci Žďárských vrchů a Krušných a Jizerských hor na 5 lokusech.

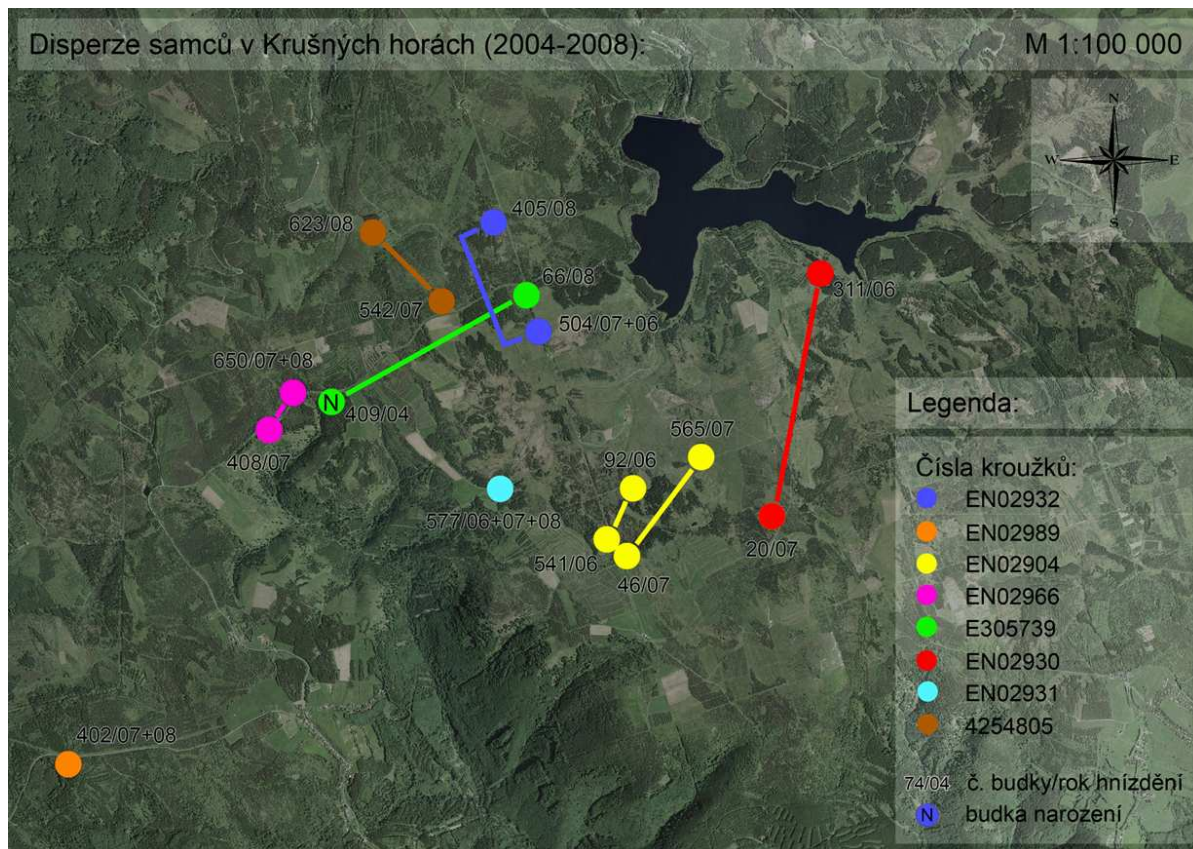


Příloha 8.1.12: Srovnání polymorfismu populací Čech, Severní Ameriky a Norska (KOOPMAN 2007).

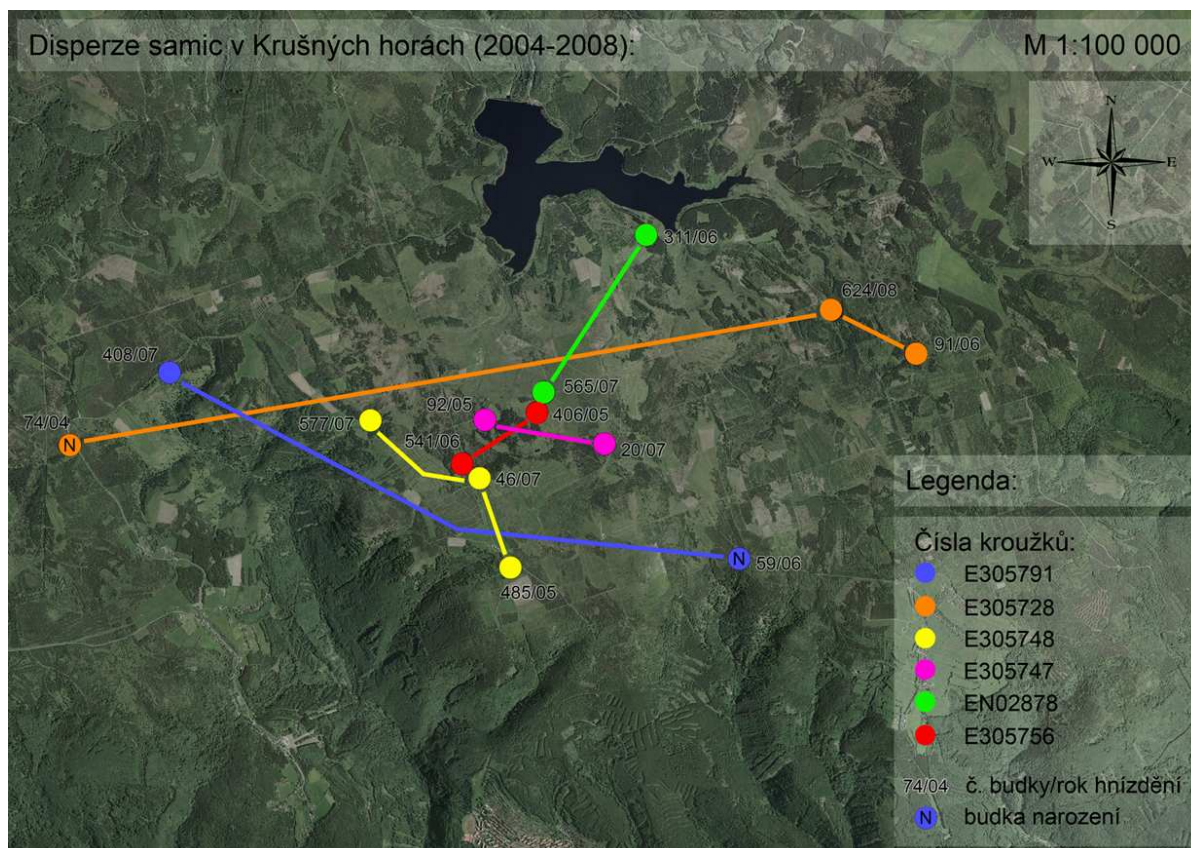
Lokalita Primer	ČR				SA				N			
	k	N	H _O	H _E	k	N	H _O	H _E	k	N	H _O	H _E
BOOW04	14	64	0,750	0,772	6	272	0,340	0,340	11	33	0,690	0,760
BOOW06	2	64	0,016	0,016	3	275	0,310	0,280	1	36	0,000	0,000
BOOW07	13	64	0,578	0,852	11	266	0,760	0,810	7	36	0,810	0,810
BOOW14	6	60	0,350	0,596	7	275	0,270	0,320	4	34	0,400	0,570
BOOW13	2	64	0,094	0,090	4	273	0,580	0,610	2	33	0,090	0,060
BOOW18	24	64	0,813	0,927	9	266	0,670	0,680	11	35	0,480	0,810
BOOW19	7	63	0,524	0,599	3	268	0,430	0,440	3	36	0,440	0,460

8.2 Mapy

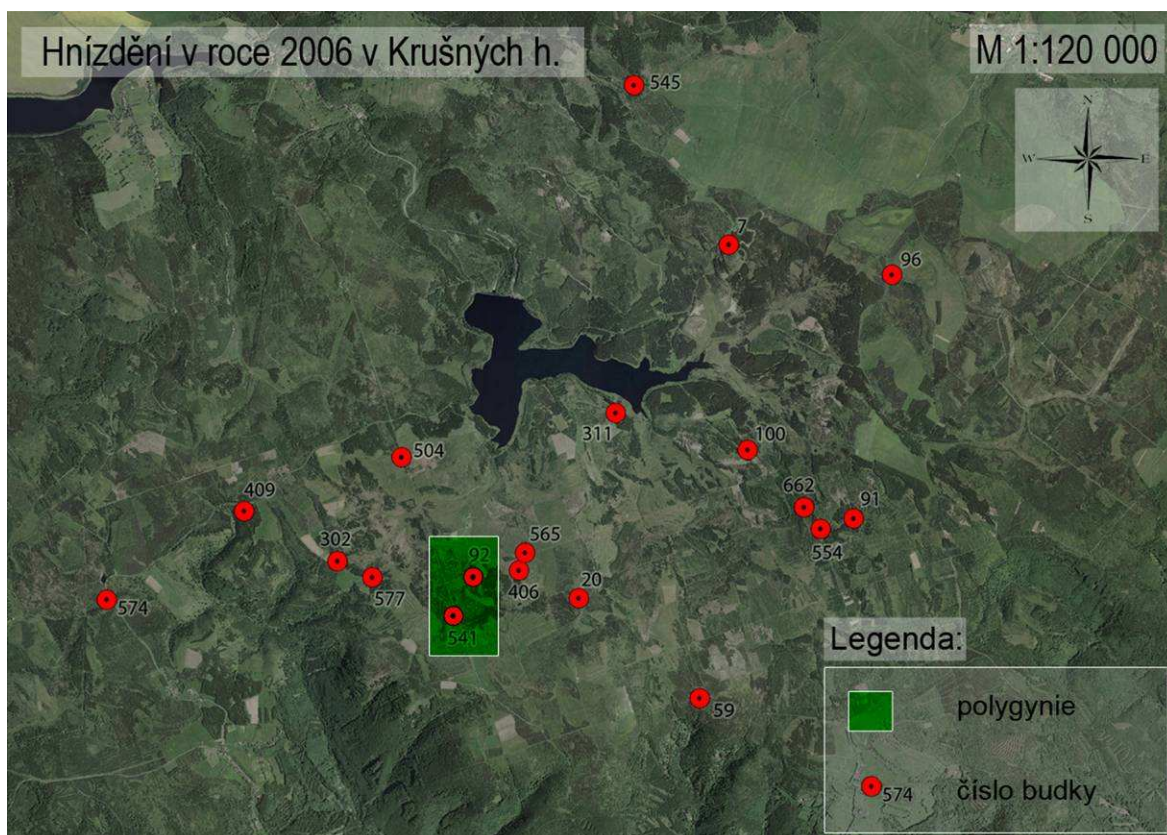
Příloha 8.2.1: Disperze samců v Krušných horách v letech 2004 – 2008.



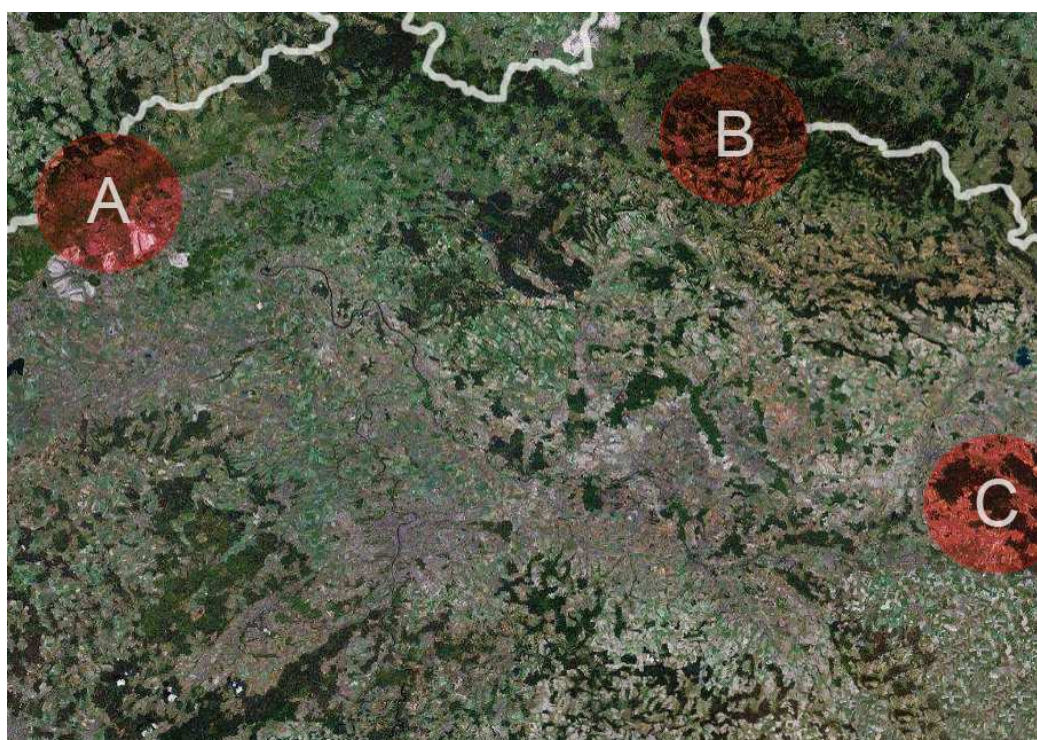
Příloha 8.2.2: Disperze samic v Krušných horách v letech 2004 – 2008.



Příloha 8.2.3: V roce 2006 byly v Krušných horách odebrány vzorky celkem od 18 párů RYMEŠOVÁ 2008). V zeleném poli jsou budky obsazené polygynním samcem.



Příloha 8.2.4: Satelitní snímek České republiky se studovanými plochami Krušných (A), Jizerských hor (B) a Žďárských vrchů.

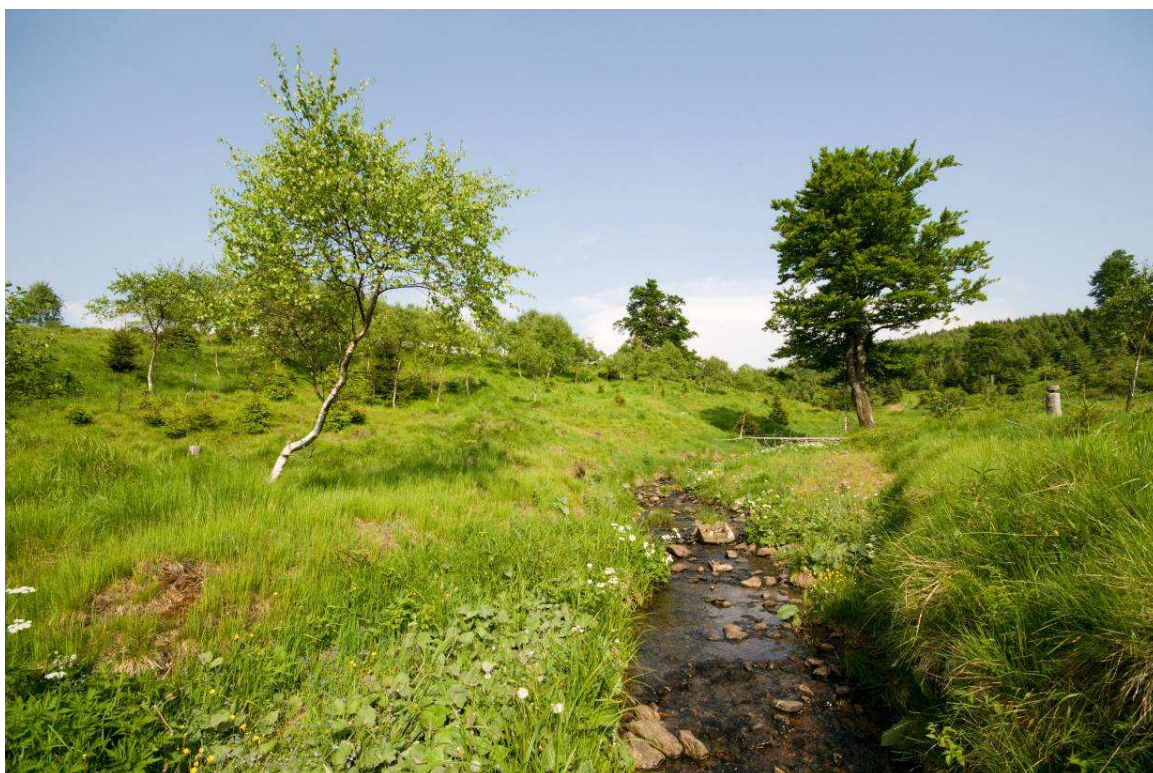


8.3 Fotografie

Příloha 8.3.1: Odběr vzorku v terénu a ukázka označení ependorfek.



Příloha 8.3.2: Ukázka typického teritoria sýce rousného *Aegolius funereus* v Krušných horách.



Příloha 8.3.3: Samice sýce rousného *Aegolius funereus* při inkubaci snůšky.



Příloha 8.3.4: Mládě sýce rousného *Aegolius funereus* pár dní před vylétnutím z hnízda.



Příloha 8.3.5: Samec sýce rousného *Aegolius funereus*.

