

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE
FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2012

Pavla Vlková

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

Katedra ekologie

EFEKT GENETICKÉHO DRIFTU A SELEKCE

NA POPULACE EX - SITU

Bakalant: Pavla Vlková

Vedoucí: Ing. Jana Svobodová, PhD.

2012

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně pod vedením Ing. Jany Svobodové, PhD., a že jsem uvedla všechny literární prameny, ze kterých jsem čerpala.

V Praze 29. 3. 2012

.....

Poděkování:

Zde bych ráda poděkovala Ing. Janě Svobodové PhD. za čas, který mi věnovala a za trpělivost, se kterou mi vysvětlovala problematiku ochranné genetiky.

Abstrakt

Fragmentací a ničením biotopů dochází k redukci velkých populací na malé a izolované populace, u kterých pozorujeme snížení genetické variability tj. schopnost přizpůsobit se změnám prostředí. U těchto populací nedochází k výměně toku genů a k migraci. Tyto malé populace se vlivem snížení genetické variability stávají ohroženými a hrozí jim vymření. Snahou o udržení ohrožených druhů vznikají populace ex situ. Odlišné podmínky v zajetí (absence predace, jiná strava, jiní parazité...) vedou často k změnám (genetickým, fyziologickým, morfologickým), na které se jedinci adaptují. Kvůli silným účinkům genetického driftu a inbrídku dochází v populacích ex situ k fixaci odlišných znaků, které nejsou výhodné pro přežívání v přirozených podmínkách. To se pak může projevit neúspěšnou reintrodukcí. Ukázalo se, že zlepšením podmínek ex situ můžeme snížit tyto negativní dopady na chovné populace. Dále se ukázalo, že hybridizace mezi populacemi z chovů a divokou populací zvyšuje heterozygotnost ohrožené volně žijící populace.

Klíčová slova: ex situ, ochrana, podmínky v zajetí

Abstract

Fragmentation and destruction of habitat lead to the reduction of large populations to small and isolated ones that show a decrease in genetic variability, i.e. the ability to adapt to habitat changes. With these populations, the gene flow and migration are limited. Because of the decrease in genetic variability these small populations are becoming endangered and threatened with extinction. In order to maintain endangered species, populations of ex situ are formed. Different conditions in captivity (absence of predation, different food, different parasites, etc.) can often lead to changes (genetic, physiological, morphological) to which the specimens adapt. The strong effect of genetic drift and inbreeding on ex situ populations results in the fixation of different characters, not suitable for survival in natural conditions. This can lead to unsuccessful reintroduction. The research showed that the negative impact on breeding populations can be decreased by improving ex situ conditions.

Furthermore, it was proved that hybridization between farm populations and wild populations increases the heterozygosity of endangered free-living populations.

Key words: ex situ, conservation, conditions in captivity

Obsah

Úvod.....	8
1 Genetická diverzita.....	9
1.1 Ovlivnění genetické variability	10
2 Molekulární markery	13
3 Genetický polymorfismus ohrožených druhů.....	17
4 Ex – situ	18
4.1 Podmínky v ex situ	19
5 Metodika	22
6 Vyhodnocení tabulky.....	23
7 Diskuze	24
8 Koroptev polní (<i>Perdix perdix</i>).....	28
Závěr	30
Použitá literatura	31
Přílohy.....	39

Úvod

Stále více druhů se stává především zásluhou lidské činnosti ohroženými. Ztráta a ničení přirozených biotopů vlivem urbanizace a zemědělství, introdukce nepůvodních druhů, znečištění a klimatické změny jsou hlavními faktory úbytku populací. Rozdělením velkých území na menší celky dochází k vzniku malých populací, které časem vykazují menší genetickou variabilitu. Druh se nedokáže přizpůsobit novým podmínkám, stává se ohroženým a hrozí mu vyhynutí (Hájková et al. 2007, Höglund 2009).

Hlavním důvodem zakládání chovu v zajetí, je možnost zachovat druhy, které nejsou schopny přežít v jejich původním prostředí. Cílem každého záchranného programu se stalo vytvoření soběstačné populace, která minimalizuje ztráty genetické rozmanitosti, inbrídinku a adaptaci na podmínky v zajetí, které jsou škodlivé při reintrodukci do volné přírody (Frankham 2008). Ochranné programy jsou účinné jen tehdy, pokud minimalizují příbuznost a vztahy v chované populaci jsou dostatečně známy (Witzenberger a Hochkirch 2011). Vzdělávání a zapojení veřejnosti do ochrany přírody by mělo být součástí těchto programů. To se částečně plní prostřednictvím zoologických zahrad, které poskytují zvířata pro výzkum základní biologie druhů a znalostí, které mohou být aplikovány pro využití uchování druhů v přírodě (Primack et al. 2011).

Odhaduje se, že v průběhu budoucích 200 let bude pro 4000-6000 druhů (obratlovců) chov v zajetí nezbytný, aby se předešlo jejich vyhynutí. Nejméně 25 zvířecích druhů bylo zachováno v ex situ potom, co vyhynuly ve volné přírodě. (Bingmanan-Lackey 1999). Od roku 2007 byl v zajetí zahájen chov pro 987 ohrožených druhů obratlovců (Bingmanan-Lackey 1999) a to činí čtyřnásobný nárůst od roku 1989 (Magin et al. 1994).

Cílem mé bakalářské práce bude shrnout studie využívající molekulárně - genetické metody v oblasti ochrany živočichů. Dále v práci uvedu přehled o genetické diverzitě ohrožených druhů. V neposlední řadě zmíním podmínky v ex situ a zároveň bude navrženo, jakých podmínek by se mělo využívat.

1 Genetická diverzita

Ochrana biologické diverzity je úkolem biologie ochrany přírody. Biologická diverzita se používá jako označení pro celkovou šíři druhů a biologických společenstev, pro všechny ekosystémové procesy a genetickou variabilitu uvnitř druhů (Primack et al. 2011). Genetická diverzita je nezbytná pro úspěšné rozmnožování druhu, odolnost vůči chorobám a adaptaci na změny životních podmínek (Frankham et al. 2002).

Genetická diverzita uvnitř druhu bývá často ovlivněna reprodukčním chováním jedinců uvnitř populací. Jednotlivci uvnitř populace se navzájem geneticky odlišují, tvoří tzv. genetickou variabilitu (genetic variability). Ta vzniká díky rozdílným formám sekvencí DNA, které tvoří geny (genes). Jsou to funkční jednotky na chromosomech, které kódují specifické proteiny. Různé formy genů jsou známy jako alely (alleles). Různé alely genu mohou ovlivnit vývoj a fyziologii jednotlivého organismu a následně i jeho fitness (fitness) - relativní schopnost přežití a reprodukce jedince (Primack et al. 2011). Genetická variabilita se zvyšuje díky pohlavnímu rozmnožování, kdy dochází k rekombinaci genů (gene recombination). Při výměně genů mezi chromosomy se utváří nové náhodné kombinace. Toto náhodné přemísťování alel v různých kombinacích zvyšuje genetickou variabilitu mnohem více, než náhodné mutace genů. Soubor všech genů a alel v populaci vytváří genofond, zatímco jednotlivé kombinace alel jsou jeho genotypem (Hedrick 2005). Projevem genotypu jedince v určitém prostředí je fenotyp, kterým se rozumí jeho morfologické, fyziologické, anatomické a biochemické charakteristiky. Příkladem fenotypu může být barva očí, krevní skupiny a formy různých enzymů (Zima et al. 2004).

Genetická variabilita je dána jak počtem genů s alelami v genomu tzv. polymorfní geny, tak počtem alel každého polymorfního genu (Hedrick 2005). Nejčastěji používaným měřítkem pro srovnání genetické variability v rámci populací je heterozygotnost, tzn., že někteří jedinci obdrží různé alely téhož genu od každého z rodičů (Allendorf et Luikart 2007). Všechny tyto úrovně genetické variability přispívají ke schopnosti populace adaptovat se na změny životního prostředí. Ztráta

genetické rozmanitosti tedy může mít vliv na populační vytrvalost, evoluční potenciál a individuální kondici (Garner et al. 2005).

1.1 Ovlivnění genetické variability

Vlivem přírodního výběru (selekce) dochází ke zvýšení či snížení frekvence některých alel. Pokud při změně podmínek určité alely nebo kombinace alel, zvyšují přežívání a reprodukci jedinců, bude frekvence těchto alel v následujících generacích postupně stoupat. (Frakham 2005; Willi et al. 2006; Allendorf et Luikart, 2007). Naopak alely s nevýhodnými vlastnostmi budou ubývat, neboť své nositele znevýhodňují (tzv. negativní selekce, eliminace; Mayr 2001)

V populacích se však frekvence alel může měnit zcela náhodně, bez ohledu na jejich selektivní výhodu či nevýhodu. Tento proces známe jako **genetický drift**, při němž se populace mění následkem specifických faktorů životního prostředí (Primack et al 2011). Jestliže se nějaká alela vyskytuje v nízké frekvenci, má vysokou pravděpodobnost, že se náhodně v některé generaci ztratí, anebo naopak dojde k fixaci nevýhodných alel (Mayr 2001). Přestože ke genetickému driftu dochází v každé populaci, u malých a separovaných populací jsou účinky výrazně vyšší (Frankham et al. 2002). Fragmentace a přeměna stepí ve Španělsku byla významným faktorem úbytku skřivana Dupontova (*Chersophilus duponti*), u kterého byla pozorována i významná ztráta genetické variability ve vzniklých roztržitých populacích díky účinku genetického driftu (Méndez et al. 2011).

Migrace je jednoznačně nejvýznamnější mechanismus, který může zásadně snížit účinky genetického driftu (Primack et al 2011), protože jen malé množství jedinců může minimalizovat ztrátu genetické variability spojenou s malou velikostí populace (Wang 2004). Podle počítačových simulací v izolované populaci o počtu 100 jedinců dojde k výraznému snížení driftu příchodem alespoň dvou migrantů za generaci (Primack et al. 2011). Například u malé skandinávské populace vlků, docházelo ke křížení mezi příbuznými jedinci. Migrací jednoho samce do této populace se však zvýšila heterozygotnost této populace od průměru 0,49 ($\pm 0,03$) u osmi zvířat narozených v letech 1985-1990 na 0,62 ($\pm 0,03$) u 16 zvířat v letech 1991-1995 (Vila et al. 2002).

Mutace jsou dalším zdrojem nových genetických variant v populaci (Allendorf et Luikart 2007). Během mutací dochází k náhodným změnám v genových (alelových) četnostech (Frankham et al. 2002), tím se zvyšuje genetická variabilita populace, která potlačuje působení genetického driftu. K četnostem mutací dochází však v poměrně malé míře. Mutační rychlost, jež je v přírodě typická, jsou někde mezi 1: 10 tisícům a 1: 1 milionu na gen na generaci. Mohou tedy vyrovnat náhodnou ztrátu alel u velkých populací, ale jsou zanedbatelné oproti genetickému driftu v populacích o 100 a méně jedincích (Wang 2004).

K **inbrídinku**, neboli křížení mezi blízkými příbuznými, u velkých populací nedochází. Existuje mnoho mechanismů, které tomuto křížení zabraňují (např. jedinci si často hledají partnera v jiných lokalitách, než kde se narodili. Také jim v křížení brání jisté typy chování, jedinečné pachy či jiné znaky, které jim slouží k rozpoznání blízkých příbuzných). Nicméně v malých populacích, kdy nejsou k dispozici jiní partneři, tyto obranné mechanismy nezabrání příbuzenskému křížení (Primack et al. 2011). Díky inbrídinku se projeví škodlivé recesivní alely, které se mohou projevit vyšší mortalitou potomstva, jeho menším množstvím, slabým nebo sterilním potomstvem či potomstvem s menší schopností rozmnožování (Willi et al. 2006). Inbrední deprese umožňuje projev škodlivých recesivních alel, které mohou být vážným problémem v malých populacích chovaných v zajetí. Johnson a Dunn (2006) zkoumali malé izolované populace tetřívka prérivého (*Tympanuchus cupido pinnatus*) v Illinois. Tyto populace se vykazovaly vlivem poklesu genetické variability a inbrední deprese snížením plodnosti a nižšího procenta vylíhlých vajec. Vpuštěním jedinců z velkých geneticky rozmanitých populací se opět životaschopnost (líhivost = schopnost vylíhnout z nasazených vajec zdravá mláďata) vajec zvýšila a tím došlo ke vzrůstu populace (Johnson a Dunn 2006).

Křížením jedinců z geograficky oddělených a geneticky odlišných jedinců dochází k tzv. **outbrední depresi**. Výslední potomci tímto křížením mohou být slabší či neplodní kvůli neslučitelnosti chromosomů a enzymových systémů zděděných po rozdílných rodičích. Hybridní potomci mohou postrádat speciální kombinace genů umožňující přežití v rámci lokálních podmínek (Goldberg et al. 2005). Outbrední deprese je však považována za méně nebezpečnou pro ochranné programy než deprese inbrední, jejíž vlivy jsou větší.

Malé populace jsou náchylnější k letálním genetickým projevům jako je zmiňovaná inbrední nebo outbrední deprese a ztráta evoluční pružnosti. Tyto faktory mohou spolupůsobit na snižování velikosti populace, která vede ke snížení genetické variability a tím dojde s větší pravděpodobností k extinkci (Frankham 2005). Studie z jihozápadu USA, které sledovaly populaci ovce tlustorohé po 70 let, ukázaly, že populace menší než 50 jedinců během 50 let vyhynula. Zatímco populace, která čítala více než 100 jedinců, přežívaly po celou dobu studie (Berger 1999). Dlouhodobé studie ptáků na Channel Islands potvrzují názor, že pro přežívání populací je nezbytná její dostatečná velikost. Mezi populacemi, které byly sledovány po 80 let, přežily s pravděpodobností 90% pouze populace s více než 100 jedinci. Většina ptáků je však mobilní, a proto mohou rychle rekolonizovat oblasti po lokální extinkci (Jones et Diamond 1976).

Efekt hrdla láhve (bottleneck effect) a **efekt zakladatele** (founder effect) jsou dalšími jevy, které se podílejí na snížení genetické variability. U bottleneck efektu dochází k drastické redukci početnosti, který je v příznivých podmínkách následován opětovným nárůstem počtu jedinců (Flegr 2005). Pokud byla velikost populace značně zredukována, mohlo dojít ke ztrátám vzácných alel. Přestože se početnost populace znovu může obnovit na předchozí úroveň, ztracené alely zůstanou ztraceny a tím dochází k trvale nízké genetické variabilitě (Frankham et al. 2002). Působením bottleneck efektu může dojít k fixaci nevýhodných alel, které by se v populaci neprosadily (Primack et al. 2011). Během bottleneck efektu se naopak můžou ztratit škodlivé alely (populace se o ně očistí) a její fitness se může zvýšit. Známým příkladem je populace poštolky mauricijské (*Falco punctatus*), která následkem ztráty stanovišť a aplikací pesticidů postupně klesla až na 4 jedince, kteří tvořili v 70. letech 19. stol pouze jeden hnízdící pár. Díky intenzivnímu managementu čítala o 20 let později již více než 400 jedinců. Populace nevykazuje známky inbrední deprese, přestože pochází z jednoho páru (Groombridge et al. 2000).

Efekt zakladatele (founder effect) se vyskytuje v případě kolonizace, kdy několik jedinců opustí velkou populaci a založí novou populaci. Nová populace má často menší genetickou variabilitu než větší mateřská populace a v případě izolace i menší pravděpodobnost přežití. Efekt zakladatele se často objevuje u populací chovaných

v zajetí např. populace gazely Spekeovy (*Gazella spekei*) v USA, která byla vytvořena jedním samcem a třemi samicemi (Kalinowski et al. 2000).

2 Molekulární markery

Molekulární markery jsou sekvence DNA nebo proteinů, které jsou jednoduše identifikovány (Šmarda et al. 2005). Metody zkoumající DNA nám umožňují studium genetické diverzity organismů, což je náplní ochranné genetiky (conservation genetics). Ta se zabývá problémy týkající se ochranou druhů a také genetickým managementem malých populací. Jejím hlavním nástrojem zkoumání jsou molekulárně-genetické analýzy ohrožených a chráněných druhů (Frankham et al. 2002). Důležitým předpokladem pro použití DNA markerů je jejich selektivní nezávislost. To znamená, že jejich variabilita je ovlivněna genetickým driftem, mutační rychlostí a migrací. Za pomoci neutrálních markerů (tj. neprojevují se ve fenotypu jedince a nepodléhají selekci), analyzujeme genetickou variabilitu. K masivnímu využití variability DNA přispěly metody PCR (polymerázová řetězová reakce) a sekvenování DNA (Höglund 2009).

Mezi nejpoužívanější analýzy patří zejména isoenzymy, mikrosatelity či jednonukleotidové polymorfizmy (Höglund 2009). Kvalita i množství materiálu DNA rozhoduje o úspěšnosti navazujících postupů. Současné rychlé snižování početnosti některých druhů vede k nutnosti používání neinvazivního sběru vzorků (Zima et al. 2004).

Restrikční analýzy jsou využívány pomocí bakteriálních enzymů tzv. restrikčních endonukleáz (restriktáz). Tyto enzymy se vážou na specifické rozpoznávací sekvence dsDNA. Místo, kde dochází k štěpení, je tzv. restrikční místo. Činností restriktáz je DNA rozštěpena na několik fragmentů o různé délce, které můžeme od sebe oddělit elektroforézou (Zima et al. 2004).

Ke studiu genetické proměnlivosti v populacích i mezi nimi jsou používány analýzy **RFLP** (Polymorfismus délky restrikčních fragmentů; Zima et al. 2004). Upravené sekvence, které vznikly rozstříháním DNA, jsou převedeny na gel, kde jsou dle

odlišné velikosti separovány jednotlivé úseky (Frankham et al. 2002). Nespornou výhodou je jejich relativně nízká cena a jednoduché provedení. Nevýhod má však tato metoda více, než výhod. Především vyhodnocení výsledků je komplikované a nejednoznačné a také tato metoda potřebuje velké množství vzorků kvalitní DNA. Pro tyto nedostatky nebývá v ochranářské genetice často využívána. (Höglund 2009).

AFLP (polymorfismus délek amplifikovaných fragmentů) je metoda využívající PCR a štěpení restričními enzymy. Výhodou této metody je, že dokáže rychle vygenerovat velké množství polymorfních markerů i u druhů, u kterých nemáme předchozí genetickou informaci. Genomická DNA je rozstříhána pomocí restričního enzymu a na její konce jsou připojeny krátké úseky syntetické DNA o známé sekvenci (adaptory) (Frankham et al. 2002).

Isoenzymy jsou mnohočetné formy jednoho enzymu (v metabolismu mají stejnou funkci), které se vlivem různého pořadí aminokyselin v jejich primární struktuře liší některou ze svých vlastností (např. nábojem, katalickou aktivitou apod.) Separace isoenzymů spočívá v jejich různě rychlé migraci při elektroforéze škrobového gelu. Isoenzymy však necharakterizují celý genom, ale představují jen jeho kódující úseky. Celá řada změn v pořadí aminokyselin se na jejich pohyblivosti v rámci elektroforézy vůbec neprojeví (Frankham et al. 2002). Zkoumání pomocí allozymů již není tak běžné především proto, že k získání isoenzymů je potřeba velké množství kvalitní tkáně, které často vyžaduje usmrcení jedince. A také proto, že k některým z pozorovaných změn uvnitř a mezi populacemi dochází vlivem selekce (Höglund 2009).

Mikrosatelity se staly nejrozšířenějším DNA markrem populační genetiky pro genom mapování, molekulární ekologie a ochrany přírody (Allendorf a Luikart 2007). Mikrosatelity lze na rozdíl od isoenzymů získat z velmi malého množství DNA, proto se využívají při studiu ohrožených druhů živočichů (Höglund 2009). Skládají se z tandemových repetit z krátké sekvence jednoho až šesti nukleotidů (např. CGTCGTCGTCGT), které mohou být zastoupeny $(CGT)_n$, kde $n = 5$. Počet opakování na polymorfní lokus se pohybuje přibližně od pěti do sta. Ty se vyskytují v krátkých tandemově se opakujících jednotkách (repetici) nejčastěji o délce 2-6 párů bází (pb) (Allendorf a Luikart 2007). Repetice mohou tvořit

dinukleotidy až hexanukleotidy (Frankham et al. 2002). Mikrosatelity lze rozdělit na dokonalé, nedokonalé, přerušené nebo složené podle opakujících se sekvencí (Oliveira et al. 2006). Dokonalé mikrosatelity nejsou přerušeny žádnou bází (...TATATATATATA...). Zato nedokonalé jsou přerušeny jinými páry bází (...TATATATCTATATA...). Hlavní výhodou těchto markerů je, že jsou obvykle vysoce polymorfní a to jak u malých populací tak i u ohrožených (např. lední medvědi či gepardi). Tento vysoký polymorfismus vyplývá z vysoké mutační rychlosti mikrosatelitů, což vede ke změně v počtu opakování - obvykle zvýšení či snížení jedné na opakovací jednotku (Allendorf a Luikart 2007). Tato různorodost alel, která lze v laboratoři snadno zjistit, nám umožňuje sledovat genetickou variabilitu mezi jednotlivými druhy, v rámci jednoho druhu, či jednotlivců v rámci celé populace (Tautz 1989). Jejich využití je velmi široké pro jejich variabilitu, celogenomovou distribuci, velké množství v genomu a také pro možnost rychlého screeningu. Pomocí mikrosatelitů určujeme především příbuzenské vztahy. Dále je využíváno určování paternity nebo využití při studiu parametrů jako je tok genů a jeho bariery, efektivní velikost populace nebo odchylky od Hardy Weinbergovy rovnováhy (Chambers et MacAvoy 2000).

Mitochondriální DNA (mtDNA; neboli genetická informace obsažená v mitochondriích) - jedná se o relativně malé kruhové útvary, které lze poměrně snadno izolovat z genomické DNA. Skládá se obvykle z 37 genů, z nichž většina kóduje tRNA, zbývající potom rRNA a mRNA. V mRNA jsou kódovány proteiny, které se účastní elektronového transportu a oxidativní fosforylace mitochondrie (Brown et al. 1979). Mitochondriální DNA jsou zvláště cenné pro rekonstrukce fylogenetického stromu, protože zde obecně nejsou žádné rekombinace na rozdíl od jaderné DNA (Allendorf et Luikart 2007), která se vyvíjí pomaleji než mitochondriální (Brown et al. 1979). Fylogenetické vztahy nám umožňují zkoumat vztahy mezi jednotlivými populacemi. Především identifikovat centra historického výskytu jednotlivých druhů (refugia) a tím zkoumat směr a intenzitu šíření jejich populací, které vedly k současnému areálu výskytu (Mayr 2001). Vzhledem k maternální dědičnosti, která umožňuje sledovat vývoj populace jen v mateřské linii, je vhodné doplnit informace použitím sekvencí na jaderných genech. A to jak na autozomech s biparentní dědičností nebo genozomech s dědičností parentální (Hare 2001). Detekce a screening polymorfismu mtDNA se nejčastěji provádí pomocí

polymerázové řetězové reakce (PCR), dále analýzy restričního enzymu nebo přímo sekvencování PCR produktu (Allendorf et Luikart 2007).

Jednonukleotidové polymorfismy (SNP) jsou odlišnosti v sekvencích DNA. Ty vznikají záměnou nukleotidů (A, T, C, G) v příslušné DNA sekvenci. Jsou to nejhojnější polymorfismy v genomu, které se vyskytují přibližně každých 500bp u volně žijících populací (Brumfield et al 2003; Morin et al. 2004). Jsou přítomné v kódujících i nekódujících oblastech jadrové a organelové DNA a mají podobné využití jako mikrosatelity (identifikace jedinců, stanovení genetické variability, populačně genetické analýzy atd.). Míra mutace v jednom páru báze je nízká (asi 10^{-8} změn nukleotidu na generaci), SNP se obvykle skládají ze dvou alel tzv. bialelického markeru. Transitions neboli přechody je nahrazení purinu purinem (G-) anebo pyrimidinu pyrimidinem (C-T). Transversions je nahrazení purinů pyrimidinem (A nebo G C nebo T) nebo naopak (C nebo T nebo G). Jsou však obvyklejší u SNP přechody než transversions. SNP pravděpodobně nahradí mikrosatelity, protože jsou zvláště užitečné pro studie zahrnující částečně degradované DNA (z neinvazivních a prastarých vzorků). Jsou krátké a mohou být pomocí PCR amplifikovány na fragmenty DNA o délce méně než 50 bází (Kuhner et al. 2000). Dnes se používají zejména pro studium modelových organismů (Höglund 2009). V posledních několika letech se však začínají využívat pro studium volně žijících živočichů (např. Demontis et al. 2010).

3 Genetický polymorfismus ohrožených druhů

Jak snížení polymorfismu, tak i nízká efektivní velikost populace může vést ke snížení adaptivního potenciálu a zvýšení inbrední deprese (Bijlsma, Bundgaard et Van Putten 1999; Bijlsma, Bundgaard et Boerema 2000).

Vzhledem k malé genetické diverzitě ohrožených a malých populací jim hrozí při změně podmínek vyhynutí (Spielman et al. 2004). V populaci u kterých došlo ke snížení velikosti, obvykle dochází především vlivem inbrední deprese také k redukci genetické diverzity (Höglund 2009). Takováto situace byla pozorována u české populace vydry říční (*Lutra lutra*), která utrpěla dramatický pokles ve 20. stol. Vlivem lidské činnosti došlo k demografickému rozčlenění oblasti, která vedla k izolaci české populace od slovenské a nedocházelo zde k výměně genetického materiálu (Hájková et al. 2007). Také zavlečení nepůvodních jedinců (např. domácí zvíř) může mít fatální následky pro původní populace (predace a zavlečení chorob). Jako tomu bylo například v Austrálii, kde se lidmi zavlečení králíci přemnožili, či na Galapágách. Zde díky zavlečení domácích zvířat (koz) a krysy černé, výrazně poklesla populace ohrožených pěnkav, kterým byla kozami spásána potrava, a krysy se staly jejich hlavními predátory (Grant et al. 2000).

Izolované a početně malé populace králíka říčního (*Bunolagus monticularis*) v Jižní Africe, prudce klesly vlivem ničení a úbytku přirozených biotopů. Druh se vyskytuje na území, které je předmětem majetkových rozpor, proto nedochází k jeho ochraně ve volné přírodě. Králík nevykazuje velkou míru heterozygotnosti, a proto pro zachování tohoto druhu bude nutné vytvoření umělých chovů, které posílí tento ohrožený druh (Hughes et al. 2008). Pro posílení ohrožených druhů se tedy používají umělé chovy nebo-li chovy ex situ.

4 Ex – situ

Chov v zajetí se stal důležitým nástrojem ochrany druhů. Strategie chovu ex situ je založena na teoretických modelech, které byly testovány na modelových druzích anebo pomocí plemenné knihy (Witzenberger a Hochkirch 2011). Plemenné knihy (počítačové databáze) obsahují rodokmeny a životní historii všech jedinců v dané populaci (v rámci chovu jsou používány při navrhování nejrůznějších doporučení). Nicméně výpočty inbredního koeficientu v plemenných knihách jsou založeny na předpokladu, že zakladatelé jsou nespojení. Důležitým nástrojem v posledních letech se staly molekulární metody. S jejich pomocí zjišťujeme genetický polymorfismus v dané populaci (Ralls et Ballou 1986).

Dlouhodobě žijící a životaschopní jedinci, chovaní v zoologických zahradách, zvířecích farmách, akváriích atd. mohou snížit tlak na sběr jedinců ve volné přírodě. Jedním ze způsobů ochrany populace ex situ jsou tedy zoologické zahrady, akvária a botanické zahrady. Pomocí programů chovu v zajetí, zoologické instituce poskytují cenný příspěvek k zachování druhů proti katastrofickým ztrátám ve volné přírodě a slouží jako potenciální zdroj zvířat pro doplnění stávající populace či znovuzavedení. (Montgomery et al. 1997).

Většina chovných zařízení se však potýká s nedostatkem finančních prostředků a dalších nezbytných zdrojů. Ochrana ex situ se více zaměřovala na charismatickou faunu (panda, lvi...), než na bezobratlé, včetně motýlů, brouků, vážek, pavouků a měkkýšů. Mezi ochranu ex situ patří i vzácná plemena domácích zvířat, z nichž získáváme bílkoviny, mléčné výrobky vlnu atd. (Ruane 2000). Životaschopnost populace těchto plemen představuje potenciální genetický zdroj pro zlepšení genetického potenciálu prasat, skotu a slepic.

Ochrany ex situ a in situ jsou vzájemně se doplňující se strategie (Zimmermann et al. 2007). Dlouhodobým cílem četných ochrannářských programů ex situ se stalo vytvoření nových populací ve volné přírodě, jakmile je k dispozici dostatečné množství jedinců a vhodné stanoviště.

Podle Beck et al. (1994) pouze 11% (16 ze 145) reintrodukovaných obratlovců, kteří byli narozeni v zajetí a byli vypuštěni do přírody, lze považovat za úspěšné

znovuzavedení. Neúspěch reintrodukce spočívá především v behaviorální chování (tj. chování pozměněné domestikací) a také malý monitoring znovuzavedených zvířat. Za úspěšné reintrodukce lze považovat zvýšení stavu rysa ostrovida (*Lynx lynx*) na území NP Šumava. Reintrodukce však byla založena pouze na porovnání přírodních podmínek a bez předchozího zhodnocení genetické struktury reintrodukovaných jedinců. Zde však nebylo zohledněno, zda nový jedinci genotypově odpovídají populaci původní a zda bude reintrodukce úspěšná. Nicméně po 20 letech se ukazuje prozatímní úspěšnost (Schadt et al. 2002).

Ochrana in situ je velmi nezbytná pro jedince, které v zajetí chovat nemůžeme (Primack et al. 2011). Ochranou jednoho druhu zvířete ve volné přírodě, nechráníme jen jeden druh, ale celý ekosystém. Chránit druh v jeho přirozeném prostředí je mnohem účinnější, než v zajetí. Přirozených stanovišť však ubývá díky hustotě lidské populace. Degradace a zmenšování přirozených stanovišť přispívají k zániku přirozených populací. Pokud tedy chráníme populace v in situ, měli bychom směřovat ochranu na území, kde se vyskytují. Příkladem je populace divoce žijícího gibbona jávského (*Hylobates moloch*). Polovina z 15 největších populací (což je asi jedna třetina z celkového počtu) se vyskytuje mimo chráněnou oblast (Nijman 2006). Jedinci z populací žijících v ex situ mohou být periodicky vypouštěni do volné přírody, čímž se zvyšuje účinnost ochrany in situ.

4.1 Podmínky v ex situ

Problémem chovu je genetická adaptace na podmínky v zajetí. Tyto znaky jsou sice výhodné v zajetí, jedinec však s nimi nepřežije v přirozeném prostředí (Frankham 2008). Např. studie zkoumající tchoře černonohého (*Mustela nigripes*) v zajetí a ve volné přírodě potvrdila, že vliv podmínek ex situ na morfologické znaky je patrný. Tchoři narození v zajetí měli prokazatelně menší délku ocasu, ulny a bérce. Ovšem vzdálenost mezi dolní čelistí špičáků byla větší u ex situ jedinců (Wisely 2005). Vždy však nemusí jít o nevýhodný znak. Paještěrky alžírské (*Psammmodromus algerius*) chované v zajetí dosáhly větší velikosti než nativní. Měly tedy zdánlivě lepší fenotypovou výhodu oproti jedincům ve volné přírodě. Jejich reintrodukce byla velice úspěšná v krátkém časovém horizontu, protože byly schopny osídlit nová

území a míra přežití se ukázala podobná ne-li vyšší než u divokých ještěrek (Santos 2009). Přesto má však chov pouze omezenou ochranářskou hodnotu. Neboť zvířata chovaná v zajetí obvykle ztrácí chování nezbytné k přežití ve volné přírodě. U zvířat chovaných v zajetí se mohou vyvinout genetické, fyziologické a morfologické změny, které snižují jejich schopnost přežití. Krotkost byla uznána Darwinem jako problém při znovuzavedení druhu do volné přírody (Frankham et al. 2002). Prostředí ve volné přírodě bývá obvykle více stresující než podmínky v zajetí (absence predace, jiná strava a jiné nemoci a paraziti; Frankham 2005). Kvůli nemocem získaným v zajetí jsou někteří jedinci nevhodní k vypuštění do přírody (Zimmerman et al. 2007).

Zlepšením podmínek v zajetí lze dosáhnout k výrazně nižší stresové reakci a domestikaci zvířat, které se pozitivně odrazí na rozmnožování v zajetí a znovuzavedení (Frankham 2005). Pozorované skupiny samic makaků měly jiný podklad (tráva a beton). Byla hodnocena míra jejich agrese. Beisner et Isbell (2011) vyzpozovali vyšší agresi u samic s betonovým podkladem než s travnatým. Adaptace na podmínky v zajetí nemusí vést nutně k vyšší úmrtnosti ve volné přírodě či dokonce k extinkci. Ploskan vitijský (*Platymantis vitiana*), který je ohrožován jak ničením přirozených stanovišť, tak i malými invazivními savci (krysy, kočky, psi...) je chován v zajetí ve venkovních výběžích, které jsou chráněny proti predátorům. Tyto polopřirozené podmínky zajišťují přirozené rozmnožování a navýšení populace (Narayan et al. 2009).

Úspěšnost chovu závisí na vhodném vzorku zakladatelů. Vybraní jedinci mají dostatečnou genetickou diverzitu a následující chov se snaží předejít křížení mezi blízkými příbuznými zvířaty a tím k zamezení nežádoucích příbuzenských vztahů. Malá počáteční velikost při zakládání chovu, ze které vybíráme zakladatele, je častou chybou (Leberg et Firmin 2008). Zpravidla se záchrana druhu začne realizovat až ve chvíli, kdy druhu hrozí vyhubení. Nízký počet zakladatelů zvyšuje riziko inbrední deprese. Křížením příbuzných jedinců se škodlivé alely dostanou do homozygotního stavu, které se projeví ve fenotypu. Původ a genetické vztahy zakladatelů jsou také často nedostatečně známy, zejména pokud odchycené jednotlivce zahrneme do celé zajaté populace (Hendrick 2005). Inbrídink a ztráta genetické rozmanitosti byla

uznána jako hlavní problém v ex situ (Ralls et al. 1979). Například v chované populaci kaloně rodriguezského (*Pteropus rodricensis*) dochází k vysoké míře inbrídinky, který se i přes snahy chovatelů nedaří snížit (O'Brien et al. 2007).

Posouzení genetické variability populací ex situ probíhá odchytem jedinců ve volné přírodě a v chovech. Zhodnotí se zdatnost jedinců (například velikost snůšek, přežívání mláďat) a jejich genetická variabilita (např. Henry et al. 2009, O'Brien 2007). Dalším způsobem je odchyt zvířat ve volné přírodě. Odchycení jedinci se chovají a hodnotí se jejich potomci, kteří měli stejné podmínky jako vzorek z populace v zajetí. Výsledky parametrů kondice a genetické variability se poté porovnávají (např. Fiumera et al. 1999).

5 Metodika

Kritérium pro posuzování studií bylo, aby se daná studie zabývala populacemi v chovech ex situ. Studie musela zahrnovat ohrožený druh. Články pro toto srovnání jsem získala prohledáním citované ISI pomocí dvou databází „Web of Science“ a „Zoological Record“. Za klíčová slova, která jsem různě kombinovala, jsem zvolila: TS = („genetic“ or „marker“) and TS = („captiv“ or „zoo“ or „ex situ“ or „breed“). Dle těchto kritérií jsem získala přes 113 článků. Z výsledků jsem vytřídila pouze články, v nichž se autoři zabývají ohroženými živočichy, které k detekci genetické variability použili molekulární markery. V těchto člancích byly další užitečné odkazy pro moji analýzu.

Do tabulky, která je přílohou této práce, jsem z jednotlivých článků zaznamenala tyto údaje:

1. autor článku,
2. rok vydání,
3. studovaný živočich,
4. jeho systematické zařazení do třídy
5. zdroj DNA
6. použitý marker
7. počet lokusů
8. hybridizace
9. vyšší genetická variabilita než v in situ

6 Vyhodnocení tabulky

Z tabulky jasně vyplývá, že nejpoužívanějším markrem ke zjištění genetické variability druhu jsou mikrosatelitů. Z 53 studií tuto metodu použilo 86,8% (n = 46). Pomocí mtDNA, které bylo ve většině případů použito s mikrosatelity, byly hodnoceny příbuzenské vztahy a byly zároveň použity k vyhodnocení hybridizace 18,9% (n = 10 studií). Pouze dvě studie byly hodnoceny pomocí RAPD, vykazující vysoký polymorfni lokus. Lokus však nelze přesně určit. Tato metoda je také nevhodná k porovnávání s ostatními studii. Pomocí allozyme byla provedena pouze 1 studie, která doplňovala mikrosatelity.

Studie jsou nejvíce zaměřené na savce (48%, n = 25), méně už na ptáky (18,9%, n = 10) a ryby (15,1%, n = 8), které jsou téměř totožné s plazy (13,2%, n = 7). Výrazně méně studií bylo zaměřeno na obojživelníky (3,8%, n = 2) a na plže (1,9%, n = 1).

Ztráta genetické variability v zajetí byla pozorována v 98,1% (n = 52) studií, pouze u jednoho případu byla genetická variabilita vyšší v zajetí než ve volné přírodě. Hybridizace nebyla hodnocena ani zmíněna u všech studií, proto jsou tyto výsledky neúplné. Nicméně byla prokázána u 45,3% studií (n=24) a 54% (n = 13) z nich bylo zjištěno za pomoci mtDNA.

Nejpoužívanějším zdrojem DNA byla tkáň hodnocená pomocí mikrosatelitů, z 62,5% byla prokázána hybridizace (n = 15). U mtDNA byl výhradně použit vzorek krve a v 25% (n = 6) případech byla prokázána hybridizace.

Počet použitých lokusů může být důsledkem neprůkaznosti hybridizace a genetické variability. 83,3 % studií prokázalo hybridizaci při 10 a méně lokusech (n = 20), pro 11 – 20 lokusů (n = 3) 12,5% a pouze 4,2% pro lokusů 21 a více (n = 1).

7 Diskuze

Genetické důsledky z chovu v zajetí jsou velmi variabilní v závislosti na řadě faktorů, jako jsou počet a příbuzenské vztahy zakladatelů nebo období, za které byl chov koordinován prostřednictvím plemenné knihy (Ruiz- Lopes et al. 2009). Nízký počet zakladatelů je hlavním faktorem, který určuje genofond v zajetí populace. Frankham et al. (2010) navrhl, aby počet zakladatelů byl 20-30 jedinců pro udržení genetické rozmanitosti. Výrazně nižší heterozygotnost byla u populace, která byla založena s méně než 20 jedinci (např. adax nábijský, sobol asijský; Fiumera et al. 1999, Kasthanov et al. 2011). Chov orlosupa bradatého, který vykazuje velkou míru heterozygotnosti ve volné přírodě, byl zahájen s 36 jedinci, i přesto se heterozygotnost v chované populaci nezvyšuje (Gautshi et al. 2003).

IUCN¹ (1987) doporučila, aby populace v zajetí byly zakládány před jejím snížením v přirozeném prostředí pod 1000 jedinců. Snyder et al. (1996) navrhuje, aby programy pro chovy v zajetí byly zahájeny jen v nezbytných případech. Cílem chovných programů je udržet evoluční potenciál. Franklin (1980) navrhl jako dostatečnou velikost 50 jedinců. Lacy (1987) tvrdí, že počet jedinců musí být vyšší než 100. Experimentální údaje s octomilkou také naznačují, že 50 jedinců je příliš málo (Frankham et al. 2010).

Podle mého názoru je třeba, na základě prostudovaných materiálů, k úspěšnému chovu nutný počet 15 zakladatelů. Ze studií, které jsem posuzovala, vyplývá, aby chov v zajetí byl udržován alespoň se 100 jedinci.

Hybridizace byla zjišťována především pomocí mtDNA, což může být zkreslené z důvodu dědičnosti pouze v mateřské linii. Křížením druhů mezi sebou dochází ve zvolených studiích k nárůstu heterozygotnosti. Je to výsledek především fylogenetických vztahů populace druhů, které nejsou dostatečně známy. Známým příkladem hybridizace je orangutan bornejský (*Pongo pygmeus*) a orangutan sumaterský (*Pongo abelii*). Tyto dva druhy byly vedeny jako jeden druh, později se však ukázalo, že jsou silně diferencované (Zhi et al. 1996). Hybridizace však vede často ke snížení plodnosti populace (Fickel et al. 2007). Jako tomu je u lva

¹ Mezinárodní unie pro ochranu přírody

berberského (*Panthera leo leo*), který není v zoo veden v plemených knihách, ale naopak se kříží s ostatními lvy (Black et al. 2010). Ve většině článků však byla posuzována hybridizace z chovných populací s divokou v důsledku reintrodukce. Nejvyšší výskyt hybridizace byl pozorován u paješterky alžírské (Santos 2009). Lze to vysvětlit především výhodnějšími podmínkami a úspěšnou líhni v chovech ex situ. Velkou míru heterozygotnosti vlivem hybridizace vykazují také populace husy malé (*Anser erythropus*), tygra džuglového (*Panthera tigris alnica*), kozy šrouborohé (*Capra falconeri*) a další (Ruokonen et al. 2007, Henry et al. 2009, Hammer et al. 2008).

Hybridizace je z mého pohledu prospěšná pro obnovení heterozygotnosti ohrožených populací v rámci stejného druhu. U některých druhů však dochází mírou hybridizace k ztrátě genetického potenciálu. Jsou to především kříženci mezi jedinci, nestejného druhu. Proto se domnívám, že je nutné pečlivé vedení chovu, aby nedocházelo k nežádoucí hybridizaci.

Studie ukazují, že horší stav způsobený inbrídinkem vede k plození samic a lepší stav populace k plození samců. Příkladem je gazela atlaská (*Gazella cuvieri*) a gazela dama tmavá (*Gazella dama mhorh*). I míra inbrídinky se projevila na těchto populacích. Pokud byli samci silně inbrední, měli menší tělesné proporce a nepřežili více jak 30 dnů než samci mírně inbrední (Moreno et al. 2011). Výsledky studií ukazují, že inbrídink a ztráta genetické rozmanitosti může být v chovných programech omezen na minimum ovšem pod důkladným managmentem (Witzenberger et Hochkirch 2011). Studie jsou však často založeny pouze na výpočtu inbredního koeficientu. Získané výsledky nebývají porovnány pomocí molekulárních metod a to může být velice zkreslující.

Další důležitou otázkou, kterou je třeba řešit pomocí genetických studií, je míra přizpůsobení se podmínkám v prostředí (Williams et Hoffman 2009). Experimentální studie s octomilkami a rybami, ukázaly, že adaptace na podmínky v zajetí mohou nastat rychle a mohou tak negativně ovlivnit i krátkodobé šlechtitelské programy (např. Heath et al. 2003, Araki et al. 2007). Aby se předešlo komplikacím při neintrodukčních programech, bude nutné rozšířit naše znalosti o adaptačních procesech na podmínky v zajetí. Většina studií se však více zaměřuje na ztrátu genetické rozmanitosti než na adaptaci v zajetí (Hedrick et al. 2000).

Ve studovaných chovech psa hřívnatého (*Chrysocyon brachyurus*) je pozorována nízká schopnost reprodukce. Nízká úspěšnost těhotenství a velká novorozenecká úmrtnost (Songasen et Rodden 2010). Také u sviňuchy hladkohřbeté (*Neophocaena phocaenoides*) se nedařil chov v zajetí, který byl vyřešen polopřirozenými podmínkami, které se ukázaly výhodné. Vyhlášením rezervace na řece Yantgze, a tím spojené omezení rybolovu a lodní dopravy přispělo k mírné stabilizaci sviňuch (Wang 2009). Už Chen et Hua (1989) navrhli polopřirozené podmínky pro chov v zajetí pro navýšení rozmnožování.

Na základě výsledků studií se domnívám, že díky polopřirozeným podmínkám lze zvýšit reprodukci druhu a zároveň dochází k snížení stresu a adaptace na podmínky v zajetí. Myslím si, že by se chovy v zajetí měly řídit těmito studiemi a přizpůsobit podmínky chovu tak, aby se co nejvíce podobaly podmínkám ve volné přírodě.

Články týkající se populací v zoo např. Black et al. (2010), Nijman et al. (2006) poukazují na nutnou restrukturalizaci dnešních zoo, aby chov v zajetí měl cenný příspěvek v ochraně druhů. Zoologické zahrady se však více zaměřují na tzv. charismatickou faunu než na ohroženou linii (Conde et al. 2011). Například mýval severní (*Procyon lotor*) ze Severní Ameriky, je často chován v evropských zoologických zahradách, přestože jde o běžný druh v jeho původním prostředí, v Evropě se chová invazivně (Schmidt 1999). S tím kontrastuje kriticky ohrožený mýval trpasličí (*Procyon pygmaeus*), který se v zoo chová zřídka. Úsilí udržet některé druhy velkých savců, jako například slona afrického se zvyšuje a nutí tak zoo k vyčlenění velkých prostor pro tyto druhy. Podle mého názoru se jedná v tomto případě o „kontraproduktivní“ záležitost, protože slona lze chránit efektivně ve volné přírodě, kde je jeho populační trend rostoucí – viz Black et al. (2008).

Mnoho druhů nelze efektivně chránit ani v záchranných chovech. Hughes et al. (2008) navrhuje na zachování králíka říčního založení kryobanky, která bude v příštích letech nezbytná pro více druhů. Bohužel kryokonzervace je k dispozici pouze na několik ohrožených druhů, většinou na domácí zvířata (Frankham 2005).

Jsou- li (např. ptáci) chováni pro zvýšení místní populace, měl by být genetický původ kompatibilní s volně žijícími. Ovšem pokud slouží chov jen pro zvýšení lovné populace, nezáleží už tolik na jejich původu (Liukkonen et al. 2002).

Většina článků o ex situ analyzovala pouze populace žijící v zajetí. Srovnání s volně žijícími jsou velmi vzácné, i když právě toto srovnání je nutné k posouzení, zda cíle chovných a ohrožených druhů jsou ve skutečnosti plněny. Také dlouhodobé hodnocení genetické variability v zajetí chybí a dlouhodobější pozorování úspěšnosti reintrodukce.

8 Koroptev polní (*Perdix perdix*)

Patří do řádu hrabaví (Galliformes) čeleď bažantovití (Phasianidae). Obývá téměř celou Evropu, na severu se vyskytuje až do střední Skandinávie a směrem na jih ji najdeme i ve střední Asii. Koroptev lze rozdělit podle mitochondriální DNA (mtDNA) do dvou linií (Liukkonen et al. 2002) respektive na dva poddruhy - západní větev *Perdix p. perdix* a východní větev *Perdix p. lucida* (Potts 1986).

Původní místo výskytu koroptve polní jsou stepi. Druhotně osídlila kulturní step typu polí s mezemi a křovinatými remízky. Zemědělská krajina s mozaikou menších polí a remízků jí nejvíce vyhovuje, protože zde zakládá hnízda. V současnosti ji můžeme vidět především na ruderálních plochách v okolí vesnic a měst s dostatečným množstvím křovin, v nichž mohou přivést mladé a chránit se před predátory (Šťastný et al. 2006).

Vzhledem k tomu, že dříve byla koroptev významnou a hojně se vyskytující pernatou zvěří, existují o ní poměrně přesné archivní údaje od poloviny 19. stol. Vyplyvá z nich, že stavy koroptví byly poměrně stabilní, kdy v 30. letech 19.stol byly jejich stavy poměrně vysoké. Po období 1939-45 však počty koroptví především kvůli tvrdým zimám prudce klesly. Drastický pokles stavů, který datujeme od 50 let, vedl k jejímu vymizení z celé řady oblastí. Hlavní příčinou je likvidace rozptýlené zeleně, zavedení rozsáhlých monokultur, zvýšení mechanizace a používání pesticidů (Hudec, Černý et al. 1977). Odhad jarních kmenových stavů pro celé Československo činil v roce 1935 přes 6 milionů ex v roce 1965 už jen 773 tisíc ex. Dnes jde o nehojný druh, který z mnoha oblastí vymizel. Početnost koroptve byla odhadnuta Šťastným a Červeným (2010) jen na 11- 20 tisíc párů.

V oblasti reintrodukce dochází k neuspokojivým výsledkům. Kromě loveckých účelů, se chov a následné vypouštění používá jako nástroj pro zachování ohrožených druhů (IUCN 1987). Vypouštění uměle odchovaných koroptví nevede k posílení volně žijící populace (Červený et al. 2004).

Genetická variabilita chovaných a divokých populací je často hodnocena pomocí molekulárních markerů (mikrosatelity a mtDNA). Studie se většinou zabývají historickým rozšířením a detekcí poddruhů (Liukkonen et al. 2006, Andersen 2012)

a nezaměřují se tolik na porovnání genetické variability druhů ve volné přírodě a v zajetí. Domnívám se, že k udržení heterozygotnosti v populacích ex situ je nutné, doplnit tyto studie nejen o míru H_e , která se pak bude porovnávat, ale také o míru adaptability k podmínkám v zajetí.

Závěr

Udržení genetické variability je nezbytné pro přežití druhu. Pokud populace nemá vhodné životní podmínky, které jsou často v chovech ex situ, dochází k ovlivnění genetické struktury a tím dochází k omezení životaschopnosti populace (Frankham 2005). K zamezení vlivu podmínek v chovech ex situ je nutné stanovit vhodný management, který bude minimalizovat pokles heterozygotnosti a inbrídinku. Nutností by mělo být vedení plemenné knihy k předejití příbuzenskému křížení. Ukázalo se, že lze snížit stres a míru adaptace na podmínky v chovech vytvořením polopřirozených podmínek, které by se tedy měly využívat.

K porovnání účinnosti chovu nestačí počítačová simulace, ale musí být použity molekulární metody společně s pozorováním, díky nimž dojde k reintrodukci s vyšší úspěšností. Pro takové porovnání je nutné mít údaje o přirozené genetické struktuře volně žijící populace ohroženého druhu (tedy i muzejní vzorky) a shromáždit základní informace o stávající populaci v zajetí.

Každá studie, zabývající se ohroženými populacemi a jejich chovem, by měla zhodnotit genetickou strukturu po několika generacích v zajetí.

Použitá literatura

ALLENDORF F. W. et LEARY R. F. [eds], 2001: The problems with hybrids: setting conservation guidelines. *Trends in Ecology & Evolution* 16: 613–622.

ALLENDORF F. W. et LUIKART G. H., 2007: *Conservation and the Genetics of Populations*. Blackwell Publishing, Oxford.

ANDERSEN L.W. et KAHLERT J., 2012: Genetic indications of translocated and stocked grey partridges (*Perdix perdix*): does the indigenous Danish grey partridge still exist?. *Biological Journal* 105: 694-710.

ARAKI H., COOPER B., BLOUIN M. S., 2007: Genetic effects of captive breeding cause a rapid, cumulative fitness decline in the wild. *Science* 318:100–103.

BAKER A., 2007: Animal ambassadors: an analysis of the effectiveness and conservation impact of ex situ breeding efforts. IN: ZIMMERMANN A., HATCHWELL M. [eds]: *Zoos in the 21st century-catalysts for conservation*. Conservation biology. Cambridge University Press, Cambridge: 139–154.

BECK B. B., RAPAPORT L. G., STANLEY PRICE M.R. [eds], 1994: Reintroduction of captive-born animals. In: *Creative Conservation: Interactive Management of Wild and Captive Animals*. Chapman & Hall, London: 265-286.

BERGER J., 1999: Intervention and persistence in small populations of bighorn sheep. *Conservation Biology* 13:432-435.

BIJLSMA R., BUNDGAARD J. et BOEREMA A. C., 2000: Does inbreeding affect the extinction risk of small populations : predictions from *Drosophila*. *Evol Biol* 13: 502-514.

BIJLSMA R., BUNDGAARD J. et VAN PUTTEN W. F., 1999: Environmental dependence of inbreeding depression and purging in *Drosophila melanogaster*. *Evol Biol* 12: 1125-1137.

Bingaman-Lackey L., 1999: *International Giraffe Studbook*. Apple Valley, MN: ISIS.

BEISNER B. A. et ISBELL L. A., 2011: Factors affecting aggression among females in captive *Gorilla* of rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *American Journal of Primatology* 73: 1152-1159.

BLACK S., YAMAGUCHI N., HARLAND A. et GROOMBRIDGE J., 2010: Maintaining the genetic health of putative Barbary lions in captivity: an analysis of Moroccan Royal Lions. *Eur J Wildl Res* 56: 21-31.

BROOK B. W., TONKYN D. W., O'GRADY J. J. et FRANKHAM R., 2002:

Contribution of inbreeding to extinction risk in threatened species. *Conservation Ecology* 6:16 Online: <http://www.consecol.org/vol6/iss1/art16>, cit.: 13. 4. 2012.

BROWN W. M., GEORGE M. Jr. et WILSON A. C., 1979: Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. - *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 76: 1967-1971.

BRUMFIELD R. T., BEERLI P., NICKERSON D. A. et EDWARDS S. V., 2003: The utility of single nucleotide polymorphisms in inferences of population history. *Trends in Ecology and Evolution* 18:249–256.

CEBALLOS G., EHRLICH R. C., 2011: Ex situ conservation genetics: a review of molecular studies on the genetic consequences of captive breeding programmes for endangered animal species. *Biodivers Conservation*: 1843-1961.

CONDE D. A., FLESNESS N., COLCHERO F. [eds], 2011: An emerging role of zoos to conserve biodiversity. *Science* 331:1390–1391.

ČERVENÝ J. [eds], 2004: *Encyklopedie myslivosti*. Ottovo nakladatelství. Praha.

DEMONTIS D., CZAMOMSKAB S. D., HÁJKOVÁ P., ZEMANOVÁ B., BRYJA J., LOESCHCKED V. et PERTOLDI C., 2010: Characterization of 151 SNPs for population structure analysis of the endangered Tatra chamois (*Rupicapra rupicapra tatica*) and its relative, the Alpine chamois (*R. r. rupicapra*). - *Mammalian Biology* 11: 351-353.

EDMANDS S. et TIMMERMAN C. C., 2003: Modeling factors affecting the severity of outbreeding depression. *Conservation Biology* 17:883–892.

FICKEL J., LIECKFELDT D., RATANAKOM P. [eds], 2007: Distribution of haplotypes and microsatellite alleles among Asian elephants (*Elephas maximus*) in Thailand. *Eur J Wildl Res* 53:298–303.

FIUMERA A. C., WU L., PARKER P. G. et FUERST P. A., 1999: Effective population size in the captive breeding program of the lake Victoria cichlid *Paralabidochromis chilotes*. *Zoo Biology* 18: 215-222.

FLEGR J., 2005: *Evoluční biologie*. Nakladatelství Academia, Praha, 560 s.

FRANKHAM R., 2005: Stress and adaption in conservation genetics. *Journal Evol. Biol* 18: 750-755.

FRANKHAM R., 2008: Genetic adaption to captivity in species conservation programs. *Molecular Ecology* 17: 325-333.

FRANKHAM R., BALLOU J. D. et BRISCOE D. A., 2002: *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press, Cambridge, 543 s.

FRANKLIN I. R., 1980: Evolutionary change in small populations. *Conservation Biology*:135–149.

GARNER A., RACHLOW J.L. et HICKS J.F., 2005.: Patterns of Genetic Diversity and Its Loss in Mammalian Populations. *Conservation Biology* : 1215-1221.

GAUTSCHI B., MÜLLER JP., SCHMID B. et SHYKOFF JA., 2003: Effective number of breeders and maintenance of genetic diversity in the captive bearded vulture population. *Heredity* 91: 9-16.

GOLDBERG T. L., GRANT E. C., INENDINO K. R., KASSLER T. W., CLAUSSEN J.E. et PHILIPP D. P., 2005: Increased infectious susceptibility resulting from outbreeding depression. *Conservation Biology* 19: 455- 462.

GRANT P.R, CURRY R.L., GRANT B.R., 2000: A remnant population of Floreana mockingbird on Champion Island, Galapagos. *Biologic Conservation* 92 , 285- 290.

GROOMBRIDGE J. J., JONES C. G., BRUFORD M.W. et NICHOLS R.A., 2000: 'Ghost' alleles of the Mauritius kestrel. *Nature* 403: 616.

HÁJKOVÁ P., PERTOLDI C., ZEMANOVÁ B., ROCHE K., HÁJEK B., BRYJA J., et ZIMA J., 2007: Genetic structure and evidence for recent population decline in Eurasian otter populations in the Czech and Slovak Republics: implications for conservation. *Journal of Zoology*. 272: 1-9.

HAMMER S. E., SCHWAMMER H. M. et SUCHENTRUNK F., 2008: Evidence for introgressive hybridization of captive markhor (*Capra falconeri*) with domestic goat: cautions for reintroduction. *Biochem Genet* 46: 216-226.

HARE M. P., 2001: Prospects for nuclear gene phylogeography. - *Trends in Ecology & Evolution* 16: 700-706.

HEATH D. D., HEATH J. W., BRYDEN C. A. [eds], 2003: Rapid evolution of egg size in captive salmon. *Science* 299:1738–1740.

HEDRICK P. W., LEE R. N., PARKER K. M., 2000: Major histocompatibility complex (MHC) variation in the endangered Mexican wolf and related canids. *Heredity* 85:617–624.

HENDRICK P. W., 2005: *Genetics of Populations*. Jones and Barlett Publishers, Sudbury: 737 s.

HENRY P., MIQUELLE D., SUGIMOTO T., McCULLOUGH D. R., CACCONE A. et RUSSELLO M. A., 2009: In situ population structure and ex situ representation of the endangered Amur tiger. *Molecular Ecology* 18: 3173-3184.

HÖGLUND J., 2009: *Evolutionary Conservation Genetics*. Oxford University Press Inc., New York: 189 s.

- HUDEC K., ČERNÝ W. [eds], 1977: Fauna ČSSR Ptáci 2. Academia, Praha.
- HUGHES G. O., THUILLER W., MIDGLEY G. F. et COLLINS K., 2008: Environmental change hastens the demise of the critically endangered riverine rabbit (*Bunolagus monticularis*). *Biological Conservation* 141: 23- 34.
- CHAMBERS G. K. et MacAVOY E. S., 2000: Microsatellites: Consensus and controversy. - *Comparative Biochemistry and Physiology, part B, Biochemistry & Molecular Biology* 126: 455-476.
- CHEN P., HUA Y., 1989: Distribution, population size and protection of *Lipotes vexillifer*. *Occasional Papers of the IUCN Species Survival Commission* 3: 81-85.
- IUCN, 1987: IUCN Policy Statement on Captive Breeding. Switzerland: IUCN Council, Gland.
- JOHNSON J.A. et DUNN P.O., 2006: Low genetic variation in the heath hen prior to extinction and implications for the conservation of prairie-chicken populations. *Conservation Genetics* 7: 37-48.
- JONES H. L. et DIAMOND J. M., 1976: Short-time-base studie sof turnover in breeding birds of the California Channel Islands. *Condor* 76: 526-549.
- KALINOWSKI S. T., HEDRICK P.W. et MILLER P. S., 2000: Inbreeding Depression in the Speke's Gazelle Captive Breeding Program. *Conservation Biology* 14.
- KASTHANOV S. N., AFANASIEV K. I., POTAPOV S. G., LAZEBNY O. E., 2011: Microsatellite analysis of two captive populations of sable (*Martes zibellina* L.). *Russian Journal of Genetics* 47: 1438-1443.
- LACY RC., 1987: Loss of genetic diversity from managed populations: interacting effects of drift, mutation, immigration, selection, and population subdivision. *Conserv Biol* 1:143-158.
- LEBERG PL. et FIRMIN BD., 2008: Role of inbreeding depression and purging in captive breeding and restoration programmes. *Mol Ecol* 17:334-343.
- LOCKYEAR K. M., WADDELL W. T., GOODROWE K. L. et MACDONALD S. E., 2009: Retrospektive Investigation of Captive Red Wolf Reproductive Succes in Relation to Age and Inbreeding. *Zoo Biology* 28:214-229.
- LIUKKONEN T., 2006: Finnish native grey partridge (*Perdix perdix*) population differs clearly in mitochondrial DNA from the farm stock used for releases. *Ann.Zool. Fennici* 43: 271-279.
- LIUKKONEN-ANTTILA T., UIMANIEMI L., ORELL M. et LUMME J., 2002: Mitochondrial DNA variation and the phylogeography of the grey partridge (*Perdix*

perdix) in Europe: from Pleistocene history to present day populations. *J. Evol. Biol.* 971-982.

KUHNER M. K., BEERLE J. et FELSENTEIN J., 2000: Usefulness of single nucleotide polymorphism data for estimating population parameters. *Genetics* 156:439-447.

MAGIN C. D., JOHNSTON T. H. et GROOMBRIDGE B., 1994. Species extinctions, endangerment and captive breeding. IN: OLNEY P. J. S., MACE G. M. ET FEISTNER A. T.C., *Creative Conservation: Interactive Management of Wild and Captive Animals*. Chapman & Hall, London: 3-31.

MAYR E., 2001: *Co je evoluce: Aktuální pohled na evoluční biologii*. Nakladatelství Academia, Praha, 354 s.

MÉNDEZ M., TELLA J. L., GODOY J. A., 2011: Restricted gene flow and genetic drift in recently fragmented populations of an endangered steppe bird. *Biological Conservation* 144: 2615-2622.

MONTGOMERY M. E., BALLOU J. D., NURTHEN R. K. [eds], 1997: Minimizing kinship in captive breeding programs. *Zoo Biol* 16:377-389

MORENO E., IBÁÑEZ M. B., BARBOSA A., 2010: Mother traits and offspring sex in two threatened gazelle species in captivity. *Journal for Nature Conservation* 19: 148-153.

MORIN P. A., LUIKART G., WAYNE R. K. et THE SNP WORKSHOP GROUP, 2004: SNPs in ecology, evolution and conservation. *Trends in Ecology & Evolution* 19: 208-216.

NARAYAN E., CHRISTI K. et MORLEY C., 2009: Captive propagation of the endangered native Fijian frog *Platymantis vitiana*: Implications for *ex-situ* conservation and management. *Pacific Conservation Biology* 15: 47-55.

NIJMAN V., 2006: In-Situ and Ex-Situ status of the Javan Gibbon and the role of zoos in conservation of the species. *Contributions to Zoology* 75: 161- 168.

O'BRIEN J., McCracken G. F., SAY L. et HAYDEN T. J., 2007: Rodrigues fruit bats (*Pteropus rodricensis*, Megachiroptera: Pteropodidae) retain genetic diversity despite population declines and founder events. *Conserv Genet* 8: 1073-1082.

PARKER I. M., SIMBERLOFF D., LONDSDALE W. M. [eds], 1999: *Impact: toward a framework for understanding the ecological effects of invaders*. *Biological Invasions* 1: 3-19.

PERTOLDI C., HANSEN M. M., LOESCHCKE V., MADSEN A. B., JACOBSEN L. et BAAGOE H., 2011: Genetic consequences of population decline in the

European otter (*Lutra lutra*): an assessment of microsatellite DNA variation in Danish otters from 1883 to 1993. *Proceedings of the Royal Society, London* 268: 1775-1781.

POTTS G.R., 1986: *The partridge: pesticides, predation and conservation*. William Collins Sons & Co, London.

PRIMACK R., KINDLMANN P. et JERSÁKOVÁ J., 2011: *Úvod do biologie ochrany přírody*. Portál, Praha: 472s.

RALLS K., BALLOU J., 1986: Captive breeding programs for populations with a small number of founders. *Trends Ecol Evol* 1:19–22

RALLS K., BRUGGER K. et BALLOU JD., 1979: Inbreeding and juvenile mortality in small populations of ungulates. *Science* 206:1101–1103

RUANE J., 2000: A framework for prioritizing domestic and breeds for conservation purposes at the national level: A Norwegian case study. *Conservation Biology* 14: 1385-1393.

RUIZ- LOPEZ MJ., ROLDAN ERS., ESPESO G. [eds] , 2009: Pedigrees and microsatellites among endangered ungulates: what do they tell us?. *Mol Ecol* 18:1352–1364.

RUOKONEN M., ANDERSON AC. et TEGELSTRÖM H., 2007: Using historical captive stock in conservation. The case of the lesser white-fronted goose. *Conserv Genet* 8: 197-207.

RUSSELLO M. A. et AMATO G., 2004: Ex situ population management in the absence of pedigree information. *Molecular Ecology* 13: 2829-2840.

SANTOS T., PÉREZ-TRIS J., CARBONELL R., TELLERÍA J. et DÍAZ J. A., 2009: Monitoring the performance of wild-born and introduced lizards in a fragmented landscape: Implications for ex situ conservation programmes. *Biological Conservation* 142: 2923-2930.

SANZ N., ARAGUAS R. M., FERNANDÉZ R., VERA M., GARCÍA-MARÍN J. L., 2009: Efficiency of markers and methods for detecting hybrids and introgression in stocked populations. *Conserv Genet* 10: 225- 236.

SHEN F., ZHANG Z., HE W., YUE B., ZHANG A., ZHANG L., HOU R., WANG CH. et WATANABE T., 2009: Microsatellite variability reverses the necessity for genetic input from wild giant pandas (*Ailuropoda melanoleuca*) into the captive population. *Molecular Ecology* 18: 1061-1070.

SCHADT S., REVILLA E., WIEGAND T., KNAUER F., KACZENSKY P., BREITENMOSER U., BUFKA L., ČERVENY J., KOUBEK P., HUBER T.,

STANISA C. et TREPL L., 2002: Assessing the suitability of central European landscapes for the reintroduction of Eurasian lynx: Applied issues with predators and predation.. *Journal of applied ecology* 39: 189-203.

SCHMIDT A., 1999: Zur Ausbreitung von Waschbär *Procyon lotor* und Marderhund *Nyctereutes procyonoides*. *Ostbrandenburg Säugetierkundliche Mitteilungen* 44: 83–92.

SLATE J. et PEMBERTON J. M., 2002: Comparing molecular measures for detecting inbreeding depression. *Evol.Biol.*15: 20-31.

SNYDER N. F. R., DERRICKSON S. R., BESSINGER S. R. [eds], 1996: Limitations of captive breeding in endangered species recovery. *Conservation Biology* 10: 338-348.

SONGASEN N. et RODDEN M. D., 2010: The role of the species survival plan in maned wolf *Chrysocyon brachyurus* conservation. *International Zoo Yearbook* 44: 136-148.

SPIELMAN D., BROOK B. W. et FRANKHAM R., 2004: Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them. - *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 101: 15261-15264.

ŠMARDA J., DOŠKAŘ J., PANTŮČEK R., RŮŽIČKOVÁ V. et KOPTÍKOVÁ J., 2005: *Metody molekulární biologie*. Masarykova univerzita, Brno, 186s.

ŠŤASTNÝ K., BEJČEK V., HUDEC K., 2006: *Atlas hnízdního rozšíření ptáků v České republice*. Aventinum, Praha.

ŠŤASTNÝ K., ČERVENÝ J., 2010: *Zvěř lovná i chráněná v ilustracích*. Aventinum, Praha.

TABERLET, P., VALENTINI A., REZEAL H. R. [eds], 2008.: Are cattle, sheep, and goats endangered species. *Molecular Ecology* 17:275–284.

TAUTZ D., 1989: Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acid Research* 17: 6463-6471.

Vila C. [eds],: 2002. Rescue of severely bottlenecked wolf (*Canis lupus*) population by a single immigrant. *The Royal Society*: 91-97.

WANG D., 2009: Population status, threats and conservation of the Yangtze finless porpoise. *Science in China Press* 54: 3473-3484.

WANG J., 2004: Application of the one migrant per generation rule to conservation management. *Conservation Biology* 18: 332-343.

WILLI Y., VAN BUSKIRK J. et HOFFMANN A.A., 2006: Limits to the adaptive potential of small populations. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 37 :433-458.

WILLIAMS SE., HOFFMAN EA., 2009: Minimizing genetic adaptation in captive breeding programs: a review. *Biol Conserv* 142:2388–2400.

WISELY S. M., SANTYMIRE R.M., LIVIEN T.M., MARINARI P.E., KREEGER J.S., WILDT D.E. et HOWARD JG., 2005: Environment influences morphology and development for in situ and ex situ populations of the black-footed ferret (*Mustela nigripes*). *Animal Conservation* 8: 321-328.

WITZENBERGER K. A., HOCHKIRCH A., 2011: Ex situ conservation genetics: a review of molecular studies on the genetic consequences of captive breeding programmes for endangered animal species. *Biodivers Conserv* 20: 1843-1861.

ZIMA J., MACHOLÁN M., MUNCLINGER P., PIÁLEK J., 2004: Genetické metody v zoologii II. Karolinum, Praha: 239 s.

ZIMMERMANN A., HATCHWELL M., DICKIE L. et WEST C. D. [eds], 2008: Zoos in the 21. st Century- catalysts for Conservation. Cambridge University Press, Cambridge.

ZHI L., KARESH WB., JANCZEWSKI DN. [eds], 1996: Genomic differentiation among natural populations of orang-utan (*Pongo pygmaeus*). *Curr Biol* 6:1326–1336.

Přílohy