

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta lesnická a dřevařská

**Genetická analýza vybraných populací sýce rousného
(*Aegolius funereus*)**

Diplomová práce

Autor: Jakub Šimurda

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

2013

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma Genetická analýza vybraných populací sýce rousného (*Aegolius funereus*) vypracoval samostatně pod vedením Ing. Jany Svobodové, Ph.D. a použil jen prameny, které uvádím v seznamu použitých zdrojů.

Jsem si vědom, že zveřejněním diplomové práce souhlasím s jejím zveřejněním dle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách v platném znění, a to bez ohledu na výsledek její obhajoby.

Ve Vrchlabí dne 30. dubna 2013

Jakub Šimurda

Poděkování

Rád bych na tomto místě poděkoval za pomoc a velkou trpělivost vedoucí diplomové práce Ing. Janě Svobodové, Ph.D.

Za rady a zkušenosti týkající se odběru vzorků v terénu děkuji též konzultantce Ing. Petře Slámové, Ph.D.

Za podporu při zpracování tématu této diplomové práce děkuji také Správě Krkonošského národního parku ve Vrchlabí.

Abstrakt

Tato diplomová práce přináší výsledky genetické analýzy populací sýce rousného na území ČR (*Aegolius funereus*). V návaznosti na předchozí výzkum byly odebrány krevní vzorky sýců rousných v Krkonoších a zanalyzovány vzorky z ostatních lokalit v rámci ČR. Celkem bylo zgenotypováno 116 jedinců, z toho 91 z Krušných hor, 2 z Teplic, 5 z Krkonoš, 6 ze Žďárských vrchů a 12 z Jizerských hor na 7 mikrosatelitových lokusech. Jeden mikrosatelitový lokus byl z analýz vyloučen kvůli vysokému podílu (32 %) nulových alel. Genetická analýza populací je zatížena relativně malým vzorkem adultních sýců z Teplic, Krkonoš i Žďárských vrchů, ale na základě dosavadních výsledků lze předpokládat, že populace nejsou geneticky diferencovány (FIS = 0,012; 95 % CI: -0,044 až 0,083; FST = 0.008; 95 % CI: -0,016 až 0,028; FIT = 0.020; 95 % CI: -0,060 až 0,087).

Klíčová slova

sýc rousný, mikrosatelity, genetická diverzita populací, tok genů, fragmentace, disperze

Abstract

This thesis presents the results of genetic analysis Tengmalm owl populations in the Czech Republic (*Aegolius funereus*). Building on previous research, blood samples were taken sýců rousných in Giant and analyzed samples from other locations in the Czech Republic. Total zgenotypováno 116 individuals, including 91 from the Krusne hory Mts., 2 from Teplice, 5 of Krkonose Mts. 6 of Zdarske vrchy and 12 from the Jizerske hory Mts. at 7 microsatellite loci. One microsatellite locus was excluded from the analysis due to the high proportion (32%) of null alleles. Genetic analysis of the population is burdened with a relatively small sample of adult individuals from Teplice, Krkonose Mts. and Zdarske vrchy, but based on past results can be assumed that populations are genetically differentiated (FIS = 0.012, 95% CI 95% CI: -0.044 to 0.083; FST = 0.008 , 95% CI: -0.016 to 0.028; FIT = 0.020, 95% CI: -0.060 to 0.087).

Keywords

Boreal Owl, microsatellites, genetic diversity of populations, gene flow, fragmentation, dispersion

Obsah

1. Seznam tabulek, obrázků a grafů	7
2. Úvod	8
2.1. Cíle a předpoklady diplomové práce	9
3. Literární rešerše	10
3.1. Genetická variabilita populací a její redukce	10
3.2. Ohrožení populací s redukovanou genetickou variabilitou	15
3.3. Shrnutí základních informací o biologii, ekologii a taxonomii sýce rousného (<i>Aegolius funereus</i>)	16
4. Materiál a metodika	19
4.1. Charakteristika sledovaných lokalit	19
4.1.1. Jizerské hory	19
4.1.2. Žďárské vrchy	19
4.1.3. Krušné hory	20
4.1.4. Krkonoše	20
4.2. Materiál a odběr vzorků	21
4.3. Izolace DNA	21
4.4. Polymerázová řetězová reakce (PCR) a analýza mikrosatelitů	22
4.5. Statistické zpracování dat	23
5. Výsledky	25
6. Diskuze	28
7. Závěr	30
8. Použité zdroje	31
9. Seznam příloh	43

1. Seznam tabulek, grafů a obrázků

Tabulka 1: Srovnání polymorfismu lokusů.

Tabulka 2: Srovnání lokusů českých populací s populacemi ze Severní Ameriky a Norska

Graf 1: Závislost $\ln P(D)$ na počtu populací K

Graf 2: Analýza strukturovanosti populací v programu Structure

2. Úvod

Od objevu trojrozměrné struktury biologické makromolekuly DNA (1953) uplyne letos právě 60 let. Znalost genetického kódu a schopnost jeho analýzy a srovnávání přinesly zcela nové pohledy na řadu biologických jevů a již v roce 1957 představil Francis Crick zákonitosti přenosu informace mezi biopolymery v sadě pravidel - centrálním dogmatu molekulární biologie. Dnes má využití molekulárně-genetických metod celospolečenský význam, ať už v lékařské diagnostice, genetické daktyloskopii, ale i v ochraně přírody a biologii jednotlivých živočišných druhů (HÖGLUND, 2009).

Významné výsledky přináší studium genetické variability v ochraně studovaných druhů a jejich prostředí. S využitím molekulárně-genetických postupů můžeme včas rozpoznat úroveň ohrožení druhů a populací volně žijících zvířat. Setrvale klesající genetická variabilita populace je varovným znamením jejího možného vyhynutí. Stav genetické struktury populací a její změny nás upozorní na případné ohrožení populací jejich zánikem, na nedostatky v jejich životním prostředí a na problémy, které přežití populací ohrožují, zejména jejich fragmentaci (PRIMACK, 2011).

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 důležitá pro přežívání populací, protože díky ní se dokáží lépe vyrovnávat se změnami prostředí. S rozvojem lidské civilizace a jejími mnohými negativními zásahy se životní prostředí a jeho podmínky často mění velmi rychle, proto jsou otázky týkající se druhové diverzity, přežívání a záchrany ohrožených populací, stále velmi aktuální.

2.1. Cíle a předpoklady diplomové práce

Tato práce navazuje na dosavadní výsledky a doplňuje již proběhlé studie o genetické struktuře populací obratlovců v České republice (SLÁMOVÁ, 2008; RYMEŠOVÁ, 2008; HÁJKOVÁ et al., 2007; HŮLOVÁ & SEDLÁČEK, 2008; ŘÍČANOVÁ et al., 2011; SVOBODOVÁ, 2011). Výsledky této diplomové práce by měly sloužit i jako podklad pro další studium populací sýce rousného (*Aegolius funereus*) v České republice.

Hlavními cíli této diplomové práce jsou (1) stanovit genotypy a vzájemně porovnat genetickou strukturu vzorků na mikrosatelitových lokusech, a to z jedinců odchycených v rámci pěti populací na území ČR a (2) na základě mikrosatelitových dat provést analýzu genetické struktury populací v lokálním měřítku, tj. analýzu disperze a dále v regionálním měřítku, tj. analyzovat vliv fragmentace biotopů na genetický make-up populací.

Na základě odhadů velikosti populací a populačního vývoje v ČR (ŠŤASTNÝ et al. 2006) předpokládám nízkou genetickou diverzitu populací sýce rousného (*Aegolius funereus*), ale zároveň díky vysoké disperzi očekávám (RYMEŠOVÁ, 2008)), že populace nebudou geneticky strukturované a bude mezi nimi vysoký genetický tok.

3. Literární rešerše

3.1. Genetická variabilita populací a její redukce

Biologická diverzita je složitý víceúrovňový jev (druhová, genetická a ekosystémová úroveň), který Světový fond na ochranu přírody (World Wide Fund for Nature, WWF) v roce 1989 definoval jako „*bohatství života na Zemi, miliony rostlin, živočichů a mikroorganismů včetně genů, které obsahují, a složité ekosystémy, které vytvářejí životní prostředí*“ (PRIMACK, 2001). Rozhodujícím faktorem pro přežívání populací je genetická diverzita (HÖGLUND, 2009). Jedinci v populacích se liší svou genetickou výbavou – na chromozomech mají odlišnou sekvenci nukleotidů kódující specifické proteiny. Různé formy genu jsou alely, které mají vliv na fyziologii organismu a jejich soubor dohromady tvoří genotyp organismu. Genofond je pak tvořen všemi geny v populaci (HEDRICK, 2005). Výsledkem různých sekvencí DNA jsou různé aminokyseliny v bílkovině kódované konkrétním lokusem. Rozdíly ve struktuře bílkovin spolu s vlivy prostředí ovlivňují morfologické, fyziologické a biochemické odlišnosti mezi jednotlivými organismy – jejich fenotypový projev (FRANKHAM et al., 2002). Projevy genetické diverzity tak můžeme sledovat například v pořadí nukleotidů kódovaných DNA, biometrických charakteristikách jedinců, barvě očí, peří nebo srsti, ale i chování, schopnosti reprodukce a biologické zdatnosti (fitness), (FRANKHAM et al., 2002). Genetická variabilita je určována počtem polymorfních genů a počtem alel každého polymorfního genu (HEDRICK, 2005). Genetický polymorfismus je tedy dlouhodobý výskyt dvou a více alel v populaci, a to ve frekvenci, která nemůže být způsobena opakovanou mutací (KING et al., 1996).

Genetická variabilita má zásadní vliv na reprodukční vitalitu druhu, odolnost vůči nemocem a zejména adaptabilitu organismů na změny životních podmínek (PRIMACK, 2001). Populace s nízkou genetickou variabilitou se nemohou dobře přizpůsobovat měnícím se podmínkám jejich prostředí a v dnešním světě rychlých změn životního prostředí jsou všechny populace, které se v dlouhodobém horizontu nedokáží novým podmínkám přizpůsobit, náchylnější k zániku (HÖGLUND, 2009).

Studie nejrůznějších druhů organismů ukazují na to, pokud se velikost populací zmenšuje, klesá i jejich genetická variabilita. Důsledkem toho se zvyšuje rychlost vymírání druhů (KELLER & WALLER, 2002). Redukovaná genetická variabilita, potažmo snížená fitness a zhoršená adaptabilita organismů na měnící se podmínky prostředí zhoršuje celkovou schopnost reprodukce a zvyšuje úmrtnost jedinců v populaci. Působením těchto faktorů se už tak malá populace dále ještě více zmenšuje, což má za následek další ochuzování genetické variability, zhoršující se adaptabilitu na vnější podmínky, atp. O populacích, které uvíznou v této sestupné spirále říkáme, že jsou v extinkční spirále (extinction vortex) (HÖGLUND, 2009). Malé populace jsou také demograficky nestabilní, protože mohou být přerušeny jejich sociální interakce, pokud hustota populace klesne pod určitou hodnotu. Ptáci například nejsou schopni najít potravu, a když pak jejich počty klesnou pod určitou úroveň, neubrání se útokům. Zvířata, která loví ve smečkách, musí mít určitý počet členů, aby lovila efektivně, atd. Závislost mezi velikostí populace, její hustotou a rychlostí růstu, tzv. **Alleho efekt**, ovlivňuje reprodukci. Druhy žijící v rozptýlených populacích, mají problémy najít si partnera, pokud jejich populační hustota klesne pod určitou hodnotu (BEREC et al., 2007).

Frekvenci alel v populaci ovlivňuje **selekce** (přírodní výběr). Nositelé alely, která je nějakým způsobem zvýhodňuje, jsou úspěšnější v přežívání a rozmnožování, než jedinci bez této alely, důsledkem čehož frekvence výhodných alel v následujících generacích postupně stoupá (FLEGR, 2005) a naopak ty nevýhodné z populací mizí (tzv. negativní selekce), (MAYR, 2001). V malých populacích (a ohrožené populace zpravidla bývají malé) ale nad přirozenou selekcí převažuje **genetický drift**, ke kterému dochází při náhodně častějším párování jedinců s určitými genotypy než s genotypy jinými. V krajním případě určitá alela z populace zcela vymizí, nebo se naopak fixuje (ROSYPAL, 2003). Fixovány mohou být i škodlivé mutace, což vede k redukci fitness celé populace. Hromadění škodlivých mutací pak pokles velikosti populace urychluje (může nastat až tzv. mutační zhroucení populace). Význam tohoto procesu je však sporný – škodlivé mutace se hromadí v řádu stovek generací, a proto je obtížné efekt mutačního zhroucení předvídat ve velmi malých populacích. Naopak ve velkých populacích je vliv genetického driftu zanedbatelný (HÖGLUND, 2009). Jeho důsledky mohou významně ovlivnit i behaviorální ekologii druhu.

SVOBODOVÁ et al. (2011) zjistila, že lekující populace tetřívků v Evropě mají vyšší genetickou variabilitu než populace jednotlivě tokajících (nelekujících) samců z početně redukovaných populací. Vlivem snižující se velikosti tetřívčí populace na tokaništích mezi stále klesajícím počtem samců klesá také jejich vzájemná konkurence v bojích o samice, k páření se dostanou i „méně vhodní“ samci, což negativně ovlivňuje genetickou strukturu populace a může to ohrozit její další vývoj. Posun v chování tetřívků od lekování k soliterně tokajícím samcům by tak měl pro ochránáře být indikátorem poklesu efektivní velikosti populace a snižující se její početnosti.

Migrace jedinců mezi oddělenými populacemi, jejímž důsledkem je tok genů (gene flow), ale může účinnost genetického driftu omezit (FLEGR, 2005). Migrující jedinci totiž v nových oblastech zavádějí svůj genetický kód do místních populací a tím populace vzájemně homogenizují. Tok genů mezi populacemi může být velmi slabý, a přesto stačí ztráty genetické variability ohrožené populace minimalizovat. Fixaci mutací genetickým driftem brání už jen jediný nově příchozí jedinec na jednu generaci (FRANKHAM et al., 2002). Vlivem imigrace může dojít ke zvýšení heterozygotnosti nebo až k exponenciálnímu růstu populace (VESELÁ, 2011). Migrace tedy buď zcela zabraňuje, nebo alespoň zpomaluje vývoj geograficky izolovaných a geneticky diferencovaných populací. PIERTNEY et al. (1998) studiem lokální genetické struktury bělokura skotského (*Lagopus lagopus scoticus*) zjistil, že na tvorbu lokální genetické diferenciace měla vliv především teritorialita a filopatrie samců. U samic, které nejsou tolik vázány na konkrétní stanoviště, vysledoval vyšší míru toku genů, což je v případě tohoto druhu účinná prevence ztráty genetické variability populace vlivem genetického driftu.

Působení genetického driftu vyvažují také **mutace**, které jsou jediným zdrojem nových genetických variant v populacích (PRIMACK, 2001). Mutace jsou v populacích ale poměrně řídkým jevem a genetickou strukturu tedy ovlivňují jen v omezené míře (RELICHOVÁ, 2001).

Naopak významný vliv na snižování genetické variability v malých populacích má **inbreeding**, což je páření mezi příbuznými jedinci. K inbreedingu dochází zejména v malých populacích, které jsou fragmentované do subpopulací

s omezenou disperzí. V přirozených populacích fungují mechanismy, které inbreedingu brání, ale ve velmi malých populacích, kde výběr partnera již není náhodný, tyto mechanismy selhávají. Důsledkem inbreedingu je potom snižování heterozygotnosti populace, tzv. inbrední deprese (HÖGLUND, 2009). Vliv inbreedingu na reprodukci u volně žijících populací byl dlouho zpochybňován. Nicméně postupně nabyté poznatky z oblasti molekulárních a analytických nástrojů pro sledování vzorců vztahů a křížení jedinců posílila naše schopnosti detekovat inbrední depresi mezi volně žijícími populacemi. Studie populací ptáků a savců naznačují, že příbuzenské křížení často výrazně negativně ovlivňuje porodní hmotnost, přežití, reprodukci, odolnost vůči nemocem, predaci i vliv stresu (KELLER & WALLER, 2002), nicméně v empirickém výzkumu je často obtížné odlišit vliv inbreedingu a genetického driftu, protože oba jevy směřují ke stejnému cíli – redukci genetické variability (HÖGLUND, 2009).

Křížením jedinců z geograficky rozdílných oblastí, kteří mají velmi odlišnou genetickou výbavu s různými lokálními adaptacemi, dochází k tzv. outbrední depresi (**outbreeding**). Jejich potomci jsou slabší, popř. zcela neplodní a navíc mohou postrádat kombinaci genů, která by jim umožnila přežití v konkrétních podmínkách jejich stanoviště (PRIMACK, 2001). Pro zachování genetické variability subpopulací je nutný alespoň jeden imigrant (ale zároveň maximálně deset imigrantů) na jednu generaci (MILLS et al., 1996).

Působení genetického driftu je prudce posilováno tzv. **efektem hrdla lahve** (bottleneck effect, dále jen „bottleneck“), (HÖGLUND, 2009), kterému předchází velikosti populace, která se po zlepšení podmínek zase zvýší na původní nebo vyšší úroveň (FLEGR, 2005). Veškerá variabilita genů se totiž do zmenšené populace nevejde, a i když počet jedinců v populaci později opět naroste, genetický polymorfismus zůstane výrazně redukován (FRANKHAM et al., 2002). SHEPHARD et al. (2004), zjišťoval genetickou variabilitu ohrožené australské populace orla bělobřichého (*Haliaeetus leucogaster*). Australská populace tohoto druhu se dodnes potýká s důsledky bottlenecku, který prodělala již před 160 tisíci lety v průběhu pozdního pleistocénu. Po této negativní události se z velmi malé zbytkové populace orel bělobřichý opět rozšířil, nicméně jeho genetická diverzita je

stále nízká. Analýzy provedené během studie neprokázaly žádnou významnou úroveň genetické diferenciaci mezi jednotlivými regiony v rámci sledovaného areálu výskytu. Také balkánské a pyrenejské populace supa hnědého (*Aegypius monachus*) trpí po prodělaném bottlenecku nízkou genetickou diverzitou mitochondriální DNA, přesto u něj nebyly zjištěny známky rozsáhlejší genetické eroze na úrovni jaderné DNA (POULAKARKIS et al., 2008). Autoři studie píší, že demografická bariéra, která vznikla ve 20. století, nemohla být natolik závažná, aby měla vliv na genetickou diverzitu jaderné DNA na úrovni druhu. Vysvětlením by mohla být dlouhá životnost jedné generace supy hnědého, s čímž se shoduje HAILER et al. (2006), byť na příkladu populací orla mořského (*Haliaeetus albicilla*). Dlouhá průměrná životnost orlů mořských totiž působí jako jakási vyrovnávací paměť, která minimalizuje genetický drift a působí proti rychlé ztrátě genetické rozmanitosti. Podobně je tomu podle HAILERA et al. (2006) u všech druhů s dlouhou generační dobou (např. orli, želvy, velcí savci). Pokud totiž populace projde bottleneckem, pak snížení genetické diverzity závisí nejen na velikosti populace, ale také na čase, a to podle vztahu $H_t = H_o(1 - 1/(2N_e))^t$, kde H_o a H_t představují minulou, resp. současnou heterozygotnost, N_e efektivní velikost populace a t je čas měřený počtem generací. Bottleneck trvající okolo 20-30 let je tedy ekvivalentní ke dvěma generacím orla mořského. Simulací bottlenecku zahrnujícího 30 reprodukčních párů orla mořského autoři zjistili, že během této doby se vytratí jen asi 4 % heterozygotnosti, kdežto v případě organismu s generační dobou 1 rok byla ztráta genetické diverzity podstatně vyšší, až 16 %.

Destruktivně se na genetické variabilitě projevuje také **efekt zakladatele** (founder effect), ke kterému dochází při kolonizaci nového území několika novými jedinci, kteří opustí původní populaci (PRIMACK, 2001) (FRANKHAM et al., 2002). Zakladatelé tak svým potomkům (nově založené populaci) předají jen velmi omezenou část genetické variability původní populace (WAYNE et al., 1991) (BIEBACH et al., 2009). Heterozygotnost se v případě populací založených malým počtem jedinců vytrácí rychleji, než by tomu bylo ve velkých populacích (ZIMA et al., 2004). Paradoxně může dojít k jevu zvanému purging - efekt zakladatele (ale i bottleneck) populaci zbavit i některých škodlivých alel.

3.2. Ohrožení populací s redukovanou genetickou variabilitou

HÖGLUND (2009) zjistil, že při vymírání ohrožených druhů jsou podstatné dva předpoklady. Prvním je, že malé a ohrožené druhy uchovávají menší genetickou variabilitu než druhy, které nejsou ohroženy. U ohrožených druhů je průměrná heterozygotnost nižší o 35 %, což má za následek nižší evoluční potenciál, ohrožení reprodukční zdatnosti a potažmo zvýšené riziko vyhynutí ohroženého druhu. Většina taxonů totiž nespěje k vyhynutí, dokud je významně neovlivní genetické faktory, a proto mohou být genetické metody využity k diagnostice míry ohrožení různých druhů organismů. Podmínkou je pouze existence příbuzného srovnávacího taxonu. Pokles genetické variability může upozornit na možnou probíhající fragmentaci populací, aniž by existovalo předchozí podezření na tento jev, což dokládá i práce LARSSONA et al. (2003), který studoval genetickou variabilitu jeřábka čínského (*Bonasa sewerzowi*). Při srovnání podílu heterozygotních jedinců a FIS jeřábka čínského s hodnotami získanými u fragmentovaných a izolovaných populací tetřívka obecného (*Tetrao tetrix*) a tetřeva hlušce (*T. urogallus*) zjistil, že jsou výsledky podobné. Populace jeřábka čínského tedy vykazuje genetické znaky fragmentace biotopu a izolace. Modelací RAMAS/age bylo dále zjištěno, že studovaná populace jeřábka vyhyne do 30 let, pokud nebude její genofond obohacen nově imigrujícími jedinci.

Jako srovnávací materiál mohou sloužit i preparáty muzejních sbírek. LARSSON et al. (2008) studoval malou izolovanou populaci tetřívka obecného v Holandsku a porovnával ji s exponáty tetřívka ve sbírkách holandského muzea, které reprezentovaly historickou populaci, která dosud neprošla bottleneckem a třemi dalšími (dosud žijícími) populacemi tetřívka v Anglii, Rakousku a Norsku, přitom zjistil významně nižší genetickou diverzitu u recentní nizozemské populace ve srovnání s historickou nizozemskou populací. Recentní populace má totiž velmi malou efektivní velikost a dochází u ní k významnému genetickému driftu.

HÖGLUND et al. (2006) studoval genetickou variabilitu 14 geograficky odlišných populací tetřívka obecného v Evropě. Studované populace rozdělil do 3 kategorií fragmentace populací, a to izolované, přilehlé (contiguous) a kontinuální. Jejich genetickou diverzitu zjišťoval na základě pozorované heterozygotnosti,

očekávané heterozygotnosti a alelické bohatosti (allelic richness). Přitom zjistil, že genetická diverzita je při srovnání všech tří kategorií fragmentace populací nejnižší u izolovaných populací a její snižování je tedy negativním efektem izolace. U izolovaných populací jednoznačně roste riziko jejich vyhynutí jako důsledek demografické a genetické stochasticity.

3.3. Shrnutí základních informací o biologii, ekologii a taxonomii sýce rousného (*Aegolius funereus*)

Sýc rousný (*Aegolius funereus*) má sibiřsko-kanadský typ rozšíření. Cirkumpolárně obývá zónu tajgy a izolovaná území jižněji odtud. Tyto izolované populace jsou místy zřejmě glaciální relikty (Asie, Kavkaz, Krym, Balkán). Středoevropské populace jsou patrně relikty z některých poledových období (HUDEC et al., 2005).

V současnosti je klasifikováno sedm subspecií sýce rousného (KOOPMAN et al., 2005). Šest se jich nachází v celé Eurasii a jeden (*A. f. richardsoni*) v Severní Americe. Z šesti eurasijských subspecií žijí tři v boreálních lesích (*A. f. funereus*, *A. f. sibericus*, *A. f. magnus*) a další tři se nacházejí jižně od boreálních lesů, ostrůvkovitě distribuované v jehličnatých lesích ve vysokých nadmořských výškách na Kavkaze (*A. f. caucasicus*), v Ťan Šanu a v Kazachstánu (*A. f. pallens*), a ve střední Číně (*A. f. beickianus*) (KOOPMAN et al., 2005). Severoamerická subspecie (*A. f. richardsoni*) je rozšířena v boreálních lesích Kanady a na Aljašce. Studie KOOPMANA et al. (2005) však ukazuje, že euroasijské subspecie jsou vzájemně geneticky velmi málo diferencovány (obecně nízká intrakontinentální genetická diferenciace sýců v Eurasii a Sev. Americe) a zpochybňuje genetickou autonomii eurasijských subspecií. Naopak rozdíly mezi *A. f. richardsoni* a eurasijskými subspeciemi jsou natolik významné, že by dokázaly ospravedlnit klasifikaci *A. f. richardsoni* jako samostatného druhu (KOOPMAN, 2005). Vzhledem k tomu, že sýci na obou kontinentech vykazují podobnou ekologii i rozšíření, umožňují údaje shromážděné při studiích genů v Severní Americe dělat závěry i o jejich euroasijských protějšcích (KOOPMAN, 2005).

Sýc rousný evropský (*Aegolius funereus funereus*) je stálý a přelétavý druh, rozšířený v Evropské části areálu, na východ přes Ural a v západní Sibiři přechází v ssp. *pallens*. Nejdlejší přelety sýců jižním a jihozápadním směrem jsou známy u skandinávských ptáků a dosahují až 600 km (HUDEC et al., 2005). Lokální, v různém stupni izolované, populace žijí v pohořích střední až jižní Evropy a Malé Asie. V posledních desetiletích je zaznamenáváno rozšiřování areálu a případně i přechod do nižších poloh (HUDEC et al., 2005). V ČR je pravidelně hnízdicím druhem. Zprávy o jeho hnízdění pocházejí již z 19. století, kdy byl zaznamenán jako hnízdicí druh téměř ve všech pohraničních pohořích. Konkrétních nálezů hnízd ale bylo až do 60. let 20. století velmi málo a teprve od té doby bylo jeho hnízdění na mnoha místech potvrzeno. V průběhu 70. a 80. let začal pronikat stále více do vnitrozemí. Většina lokalit výskytu v ČR leží mezi 700-1000 m n. m. Jeho výskyt pod 800 m je výrazně limitován přítomností puštíka obecného (*Strix aluco*) (HUDEC et al., 2005). V našich podmínkách obývá rozlehlé staré lesy, většinou jehličnaté (smrk, jedle), a to i uvnitř porostů. Ve Francii žije i v čistě listnatých (bukových a dubových) lesích, v ČR i na imisních holinách s ojedinělými doupnými stromy (HUDEC et al., 2005).

Potrava sýců je výhradně živočišná. V potravě převažují drobní hlodavci (v zastoupení podle počtu konkrétního druhu na stanovišti), podstatně méně je rejskovitých, řídcí jsou plchovití a netopýři, zjištěn byl i krtek. Ptáci zjištění v potravě našich sýců byli do velikosti drozdovitých a strakapouda velkého (HUDEC et al., 2005). Početnost drobných zemních savců, coby potravní nabídky sýce, a to zejména hraboše mokřadního (*Microtus arvalis*), silně ovlivňuje hnízdní hustotu sýce rousného a rok od roku se může velmi výrazně měnit (DRDÁKOVÁ, 2003). Sýci, zejména samice a mláďata, se při poklesu početnosti drobných zemních savců často rozptýlí na velké vzdálenosti (LÖFGREN et al., 1986; Korpimäki et al., 1987; SONERUD et al., 1988; HIPKISS et al., 2002). Toto kočovné rozptylování je pravděpodobně přizpůsobení na regionální výkyvy v populačních cyklech hrabošovitých hlodavců (MYSTERUD, 1970). Tento jev je označován jako nomádismus. Jeho předpokládaným efektem je taxonomická homogenita sýců způsobená vysokou mírou genetického toku (MYSTERUD, 1970). Sýc rousný hnízdí

jednotlivě. Páry nejsou trvalé a vytvářejí se každý rok znovu. Samec ale zůstává celý rok v revíru (HUDEC et al., 2005).

Jedním z nejdůležitějších faktorů ovlivňujícím počátek snůšky sýce rousného je dostupnost kořisti a její početnost. Hnízdí jednou do roka – dvojí hnízdění je výjimečné. Při zničení vajec snáší náhradní snůšku. Velikost snůšky je nejčastěji 4-7 vajec, výjimečně 2 a 3 nebo 8 vajec (HUDEC et al., 2005).

4. Materiál a metodika

4.1. Charakteristika sledovaných lokalit

4.1.1. Jizerské hory

Území Jizerských hor patří do chladné klimatické oblasti. Průměrná roční teplota se pohybuje v rozmezí 4 – 7 °C, průměrné lednové teploty se pohybují v rozmezí od -7 do -3 °C a průměrné červencové teploty v rozmezí 12 – 16 °C. Území patří k oblastem s vysokými úhrny srážek, 800 – 1 700 mm/rok . Jizerské hory drží republiková prvenství ve srážkových úhrnech.

Lesnatost území je 73 % (269 km²). Nejnižší bod CHKO (325 m n.m.) leží u Raspenavy, nejvyšší horou české části Jizerských hor je Smrk (1124 m n.m.).

Imisní zátěž se negativně podepsala na zdravotním stavu lesních porostů, půdních poměrech i kvalitě vody. Působení imisí spolu s invazemi hmyzích škůdců a nevhodným lesním hospodařením vyvrcholilo v 80. letech minulého století. Tehdy byly odtěženy téměř veškeré smrkové porosty náhorní plošiny.

Na jedné straně stojí plochy poškozených lesních porostů, a na straně druhé území s přirozenými společenstvy, komplex bučin na severních svazích hor, zbytky klimaxových smrčín a společenstva rašelinišť.

4.1.2. Žďárské vrchy

Celková rozloha Žďárských vrchů je 709 km², a z toho 47 % lesa. Část CHKO o rozloze 465 km se nachází na území okresu Žďár nad Sázavou a část o rozloze 250 km na území okresů Havlíčkův Brod, Chrudim a Svitavy. Krajina Žďárských vrchů je pestrá, střídají se nepravidelné sítě mezí, úvozových cest, lesíků či skupin stromů a keřů. Oblast se nachází v severovýchodní části Českomoravské vrchoviny s centrálním masivem Žďárských vrchů a navazuje na sousední pahorkatiny. Cenná jsou společenstva rašelinišť a vlhkých rašelinných luk. Klimaticky patří mezi chladnější, vlhčí a větrnější oblasti. Průměrná roční teplota se pohybuje od 7 °C v nejnižších polohách po 5 °C v nejvyšší části oblasti.

Území je pokryto asi z jedné poloviny lesem. Lesy pokrývají 50% oblasti Žďárských vrchů na rozloze 29 000 ha plochy. Přírozený jedlobukový les je většinou nahrazen smrkovými monokulturami.

Posledním zbytkem smíšeného lesa je lokalita na Žákově hoře. Jehličnatých porostů je 95%, zbytek tvoří listnaté porosty.

4.1.3. Krušné hory

Sledované území se nachází ve východní části Krušných hor a je situováno kolem vodní nádrže Fláje. Území je na severu i na západě vymezeno státní hranicí. Území sledovaného místa má rozlohu přibližně 70 km².

Krajina má mozaikovitý charakter. Převládají zde náhradní dřeviny, jako je smrk pichlavý (*Picea pungensa*), smrk ztepilý (*Picea abies*) a modřín opadavý (*Larix decidua*), které nahradily odumřelé smrkové porosty. Mezi nejvíce zastoupené listnaté dřeviny patří bříza pýřitá (*Betula pubescens*), bříza bradavičnatá (*Betula pendula*), jeřáb ptačí *Sorbus aucuparia*, dub červený (*Quercus rubra*) a buk lesní (*Fagus sylvatica*).

4.1.4. Krkonoše

Krkonoše totiž tvoří nejsevernější střeoevropskou horskou hradbu, rozpínající se v délce těsně nad 50 ° severní šířky. Jejich svahy vyčnívají nad alpskou hranici lesa a představují tak mohutný přírozený val na okraji rozlehlých nížin Německa a Polska. Mají délku přibližně 35 km a jejich hlavní hřbety a údolí jsou uspořádány ve směru severozápad–jihovýchod. To významně ovlivňuje všechny geografické, klimatické a biologické vlastnosti těchto evropských středohor a jejich okolí. Krkonoše představují jedno z významných center geobiodiverzity střední Evropy.

Lesy pokrývají přes 80 % celkové plochy Krkonoš a s výjimkou svrchního alpského stupně se rozkládají ve všech ostatních vegetačních výškových stupních.

Rozloha dnešních lesních porostů je zhruba 37 tis. ha na české a 4 tis. ha na polské straně hor. Druhové i prostorové složení dřevin v minulosti značně ovlivnil člověk a koncem minulého století potom imisně-ekologická kalamita. Současná péče o krkonošské lesy se zaměřuje na odstranění důsledků dřívějších lidských zásahů a obnovení přirozených přírodních procesů, které budou zajišťovat trvalou existenci lesních ekosystémů s minimálními zásahy člověka.

4.2. Materiál a odběr vzorků

Během studie bylo analyzováno celkem 91 vzorků z Krušných hor (2009: 20, 2010: 71), 5 vzorků z Krkonoš (2010), 12 vzorků z Jizerských hor (2010), 6 vzorků ze Žďárských vrchů (2008) a 2 vzorky z Teplíc (2009).

Hnízda sýců rousných (*Aegolius funereus*) byla ve všech studovaných lokalitách zjišťována kontrolou vyvěšených budek. Budky, obsazené sýcem byly navštěvovány za účelem okroužkování mláďat a odběru jejich krevních vzorků. Vzorky byly odebrány venepunkcí brachiální tepny (50-100 μ l krve) pomocí malé injekční jehly a mikropipety. Takto odebrané vzorky byly uchovány v označených eppendorfkách s 96% etanolem v mrazáku při teplotě přibližně -40 °C. Každá zkumavka byla označena kroužkem jedince, číslem budky, datem odběru a lokalitou, kde byl vzorek odebrán.

4.3. Izolace DNA

K izolování DNA byl využit DNeasy blood & tissue kit (Qiagen). Nejprve bylo 5-10 μ l přepipetováno do ependorfe. K odebranému vzorku bylo přidáno 190-195 μ l (podle množství krve) ATL roztoku a 20 μ l proteinázy K. Celkový objem vzorku tak činil 220 μ l. Vzorky byly dále vortexovány (15 sekund) a vloženy do inkubátoru na zhruba tří hodinový interval při teplotě 55°C, aby došlo k úplnému rozložení tkáně. Po opětovném 15sekundovém vortexování bylo přidáno 200 μ l roztoku AL. Po dalším 3sekundovém vortexování byly vzorky vloženy do inkubátoru s teplotou 70°C. Následně bylo přidáno 200 μ l 96-100% etanolu a následovalo 15sekundové vortexování.

Upravené vzorky byly přepipetovány do zkumavek a 1 minutu se centrifugovány (při 8000 rpm). Centrifugace vzorku byla ještě dvakrát zopakována, pouze byla předtím horní část zkumavek vložena do nových spodních částí. K takto upraveným vzorkům bylo přidáno 500 μ l roztoku AE (ten byl předtím inkubovaný na 55°C). Na závěr všech těchto kroků byly vzorky ještě 1 minutu centrifugovány (při 1000 rpm) a poté byly vloženy do cycleru, kde proběhla polymerázová řetězová reakce (PCR).

4.4. Polymerázová řetězová reakce (PCR) a analýza mikrosatelitů

Analýza vzorků probíhala na 7 mikrosatelitových lokusech (BOOW04, BOOW06, BOOW07, BOOW13, BOOW14, BOOW18, BOOW19), (KOOPMAN et al., 2004). Pokaždé jeden primer z párů byl fluorescenčně označen, a to umožnilo namíchání do dvou multiplexů, setu A a B. Vzorky, které mají celkový objem 20 μ l (z toho 1 μ l DNA), 0,05 – 0,4-5 μ l byly analyzovány za použití sady Multiplex PCR kit (Qiagen) a sedmi párů mikrosatelitových primerů (Příloha 6), z nichž vždy jeden byl fluorescenčně označen.

PCR probíhala v cycleru Mastercycler ep (Eppendorf) podle následujícího schématu:

- iniciační denaturace (při 95 °C, po dobu 15 min.) – po této fázi se opakuje 40 cyklů složených z:
 - denaturační fáze (94 °C, 30 s),
 - zchlazovací fáze (57 °C, 90 s),
 - polymerační fáze (72 °C, 1 min.),
 - finální extenze (60 °C, 30 min.).

Na nové plato bylo napipetováno 12 μ l formamidu společně s 0,3 μ l LIZu. Na takto připravené plato bylo napipetováno 1 μ l každého PCR produktu. Následovala 5minutová denaturace v cycleru při 90 °C. Materiál byl následně analyzován kapilární elektroforézou v sekvenátoru ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer (Applied biosystems). K analýze získaných PCR produktů byl poté použit program Gene Mapper v3.7.

4.5. Statistické zpracování dat

Pomocí programu Cervus v. 3.0.3 byla spočítána frekvence nulových alel. Do statistických analýz vstupovala všechna hodnocená data adultních jedinců sýce rousného ($n=116$) na všech mikrosatelitových lokusech s výjimkou vyloučeného lokusu BOOW13, který měl vysokou frekvenci nulových (neamplifikujících se) alel (32 %, Tab 1). Obecně výskyt nulových alel negativně ovlivňuje analýzu mikrosatelitové DNA. Nulové alely se objevují v situaci, kdy některá mláďata nezdědila po homozygotní matce na příslušném lokusu žádnou alelu (JONES & ARDREN, 2003).

Heterozygotnost pro jednotlivé lokusy a populace byla počítána pomocí programu GenAlex v6.41. Byly tak získávány hodnoty, které popisují diverzitu jednotlivých populací H_o (pozorovaná heterozygotnost) H_e (očekávaná heterozygotnost), F_{IS} (koeficient inbrídingu), který byl použit ke zjištění míry inbreedingu (čím více se blíží k 1, tím více v populaci dochází k inbreedingu, čím více se blíží k -1 tím významnější je v dané populaci outbreeding). Míra strukturovanosti (podobnosti) populací vlivem působení genetického driftu byla stanovena na základě párových hodnot F_{ST} . Tento tzv. fixační koeficient představuje míru rozdělení populace na základě redukce heterozygotnosti jedince vlivem náhodného genetického posunu. Čím je F_{ST} nižší, tím si jsou populace podobnější, a to pravděpodobně zejména díky dostatečnému toku genů mezi nimi. Pomocí programu F-Stat v2.9.3.2 byla vypočítána též hodnota alelické diverzity (allelic richness). Celkový koeficient inbreedingu F_{IT} je odrazem relativní heterozygotnosti jedince vůči celkové populaci. Obsahuje vliv rozdělení populací, ale také vliv případného nenáhodného oplození uvnitř subpopulací (HARTL & CLARK, 1997).

Genetická strukturovanost populací byla také zjišťována za použití programu Structure 2.2., v němž byla nastavena délka simulace na 50 000 („length of burnin period“) a počet opakování 100 000 („number of MMC reps after burnin“). Bylo využito modulu pro smíšená data („admixture model“) a simulace byly prováděny pro interval 1-7 populací (K), přičemž byla simulace pro každé K třikrát opakována. Důležitou hodnotou byl přiřazený logaritmus pravděpodobnosti P ($\ln P(D)$), který

svou nejvyšší hodnotou ukazuje ideální počet populací ve zvoleném vzorku (PRITCHARD et al. 2007).

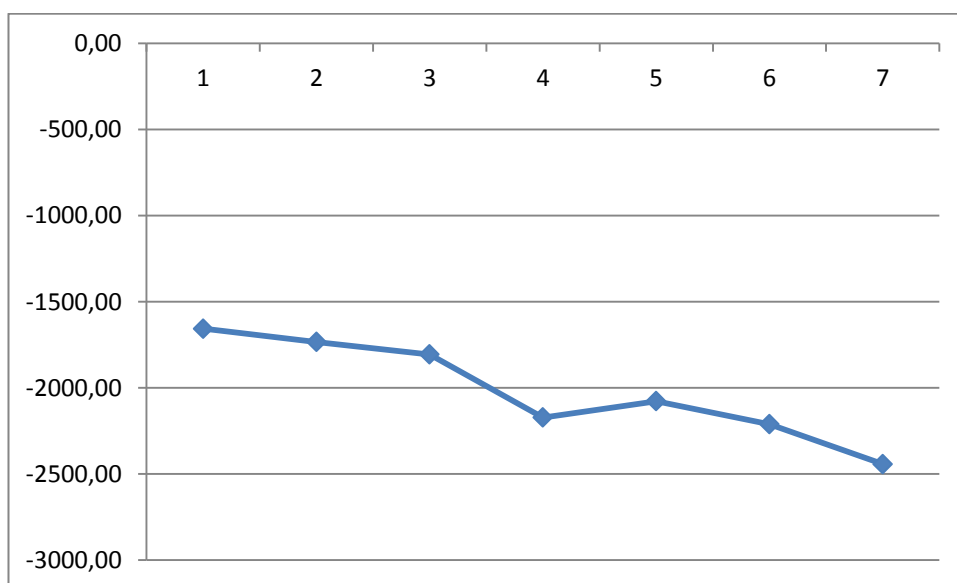
5. Výsledky

Na lokusech BOOW06 a BOOW14 byly zjištěny pouze dvě různé alely (198 a 202, resp. 145 a 150). Na lokusech BOOW13 a BOOW19 byly rozeznány čtyři alely. Největší polymorfismus vykazoval lokus BOOW18 (29 alel), poté BOOW07 (12 alel) a BOOW04 (11 alel) (Tab. 1). Průměrný počet alel na lokus je celkově 9,14, celková průměrná očekávaná heterozygotnost je 0,42 a průměrná míra polymorfismu zkoumaných lokusů je 0,46. Genotypy všech 116 studovaných jedinců sýce na všech studovaných lokalitách na sedmi mikrosatelitových lokusech jsou v Příloze 1.

V programu Cervus byla odhadnuta četnost nulových alel na jednotlivých lokusech. Největší výskyt nulových alel byl zjištěn na lokusu BOOW13, a to 0,32, z toho důvodu byl tento lokus z dalších analýz vyloučen. Pozitivní hodnota frekvence nulových alel byla dále odhadnuta na lokusu BOOW18 (Tab. 1). Výsledky získané pomocí analýzy v programu Structure ukazují velice nízkou genetickou strukturovanost - všechny studované jedince ze všech oblastí je možné zařadit do jediné velké populace, jak potvrdila analýza logaritmu pravděpodobnosti, kdy jedna skupina měla vyšší logaritmus pravděpodobnosti (průměr = -1656,83) než dvě až sedm skupin (-1733,83 až -2442,43), (Graf 1). V rámci analýzy genotypů všech adultních jedinců všech populací vypočítal program FSTAT hodnotu indexu F_{IS} (smallF) 0,012 (95 % konfidenční interval CI: 0.044 až 0.083), indexu F_{ST} (theta Θ) 0.008 (95 % CI: -0.016 až 0.028), indexu F_{IT} (CapF) 0.020 (95 % CI: -0.060 až 0.087). Relativně nízká hodnota F_{ST} upozorňuje na nízkou míru genetické diferenciace mezi subpopulacemi. Naopak vyšší hodnotou F_{IS} a F_{IT} se zřejmě projevuje snížená heterozygotnost, a to zejména kvůli přítomnosti nulových alel (popř. nenáhodného páření).

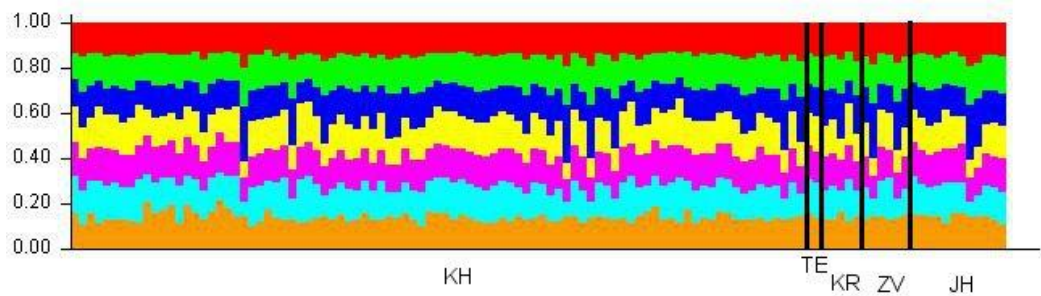
	N_a	n	H_o	H_e	PIC	F(Null)
BOOW04	11	116	0,73	0,71	0,678	-0,0178
BOOW07	12	116	0,85	0,83	0,809	-0,0107
BOOW13	4	114	0,27	0,53	0,422	0,3196
BOOW14	2	116	0,05	0,05	0,049	-0,0053
BOOW18	29	116	0,77	0,87	0,855	0,0602
BOOW19	4	116	0,54	0,51	0,388	-0,0332
BOOW06	2	116	0,02	0,02	0,017	-0,0007
	9,14		0,46	0,50	0,46	0,04

Tab. 1: Srovnání polymorfismu lokusů. Tučně jsou vyznačeny lokusy s největším polymorfismem. Vysvětlivky: N_a – počet alel na lokus; n – počet jedinců s příslušným lokusem; H_o – pozorovaná heterozygotnost; H_e – očekávaná heterozygotnost; PIC – míra polymorfismu; F(Null) – frekvence nulových alel.



Graf 1: Závislost $\ln P(D)$ na počtu populací K na základě simulace v programu Structure 2.2

Fakt, že populace sýce rousného v ČR nejsou strukturované a jedná se tedy vlastně o jednu velkou populaci, znázorňuje i výstup z programu Structure (Graf 2). Mezi jedinci ze studovaných geografických lokalit probíhá silný tok genů.



Graf 2: Analýza strukturovanosti populací v programu Structure. Vysvětlivky: *KH* – populace Krušných hor; *TE* – populace z Teplíc; *KR* – populace z Krkonoš; *ZV* – populace ze Žďárských vrchů; *JH* – populace z Jizerských hor

Přehled pozorované a očekávané heterozygotnosti, alelické diverzity a koeficient F_{IS} adultních ptáků podle lokusů a populací z jednotlivých oblastí obsahuje Příloha 3. Koeficient inbreedingu (FIS), celkový koeficient inbreedingu (FIT) a fixační koeficient (FST) uspořádané dle jednotlivých lokusů bez ohledu na populace zobrazuje Příloha 4.

6. Diskuze

Diplomová práce ukázala nízkou strukturovanost sýce rousného v ČR, v čemž je zajedno i s dalšími pracemi (Slámová, 2008; Rymešová, 2008). České populace sýce rousného jsou propojené dispergujícími jedinci ($F_{ST} = 0,0787$), dochází mezi nimi k silnému toku genů, který stírá rozdíly ve variabilitě sýců z jednotlivých lokalit. Velice nízkou genetickou strukturu zjistil také KOOPMAN et al. (2007) v případě severoamerických populací sýce rousného. Velmi nízké odhady celkového F_{ST} ($0,004 \pm 0,002$ [SE]; 95 % CI = 0,000 až 0,008) ukazují na minimální genetickou diferenciaci tamních populací a stejně tak program Structure vyhodnotil jak nejpravděpodobnější jen jednu skupinu. KOOPMAN et al. (2005) doporučuje v budoucnu ověřit jestli šest eurasijských populací sýce rousného odpovídá jejich genetické strukturovanosti.

Výsledky analýzy z programu Structure ukázaly v souladu s předpokladem nízké genetické strukturovanosti, že nejvhodnější počet skupin pro sýce rousného je jedna, k čemuž dospěla i RYMEŠOVÁ. Naopak SLÁMOVÁ zjistila analýzou vzorků z Krušných a Jizerských hor.

Výsledky analýzy počtů alel na jednotlivých lokusech jsou velmi podobné výsledkům studie norských populací sýce, ovšem s výjimkou lokusu BOOW18, který je v České republice variabilnější, než uvádějí autoři studie provedené na území Severní Ameriky a Norska (Tab. 2). V severoamerickém vzorku bylo na tomto lokusu nalezeno 9 alel, v norském 11 alel a v České republice 29 alel (KOOPMAN, 2004). Poměrně podobné populace norská a česká mají vyšší heterozygotnost oproti americké populaci na lokusech BOOW04 a BOOW14

Přestože tato práce zkouší vzájemně vyhodnotit populace studované na území ČR, počet vzorků je u některých z nich relativně malý (Teplice: $n=2$ ad. ex., Krkonoše: $n=5$ ad. ex., Žďárské vrchy: $n=6$ ad. ex.). Více vzorků mohlo být do analýz zařazeno jen z Krušných hor ($n=91$ ad. ex.) a z Jizerských hor ($n=12$ ad. ex.).

Ze srovnání populací z oblastí České republiky, Severní Ameriky a Norska vyplývá, že testování 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.

	Severní Amerika				Norsko				Česká republika			
	N_a	n	H_o	H_e	N_a	n	H_o	H_e	N_a	n	H_o	H_e
BOOW04	6	272	0,34	0,34	11	33	0,69	0,76	11	116	0,73	0,71
BOOW06	3	275	0,31	0,28	1	36	0	0	2	116	0,02	0,02
BOOW07	11	266	0,76	0,81	7	36	0,81	0,81	12	116	0,85	0,84
BOOW13	7	275	0,27	0,32	4	34	0,4	0,57	4	116	0,27	0,53
BOOW14	4	273	0,58	0,61	2	33	0,09	0,06	2	116	0,05	0,05
BOOW18	9	266	0,68	0,68	11	35	0,48	0,81	29	116	0,77	0,87
BOOW19	3	268	0,44	0,44	3	36	0,44	0,46	4	116	0,54	0,51

Tab. 2: Srovnání lokusů českých populací s populacemi ze Severní Ameriky a Norska (KOOPMAN, 2004). Vysvětlivky: N_a – počet alel na lokus; n – počet jedinců nesoucích daný lokus; H_o – pozorovaná heterozygotnost; H_e - očekávaná

Párové porovnání hodnot F_{ST} poukázalo na genetickou odlišnost populací Krušných a Jizerských hor, přestože jde fakticky o jedno pohoří bez výrazných geomorfologických překážek významných pro sýce rousného a bránící genetickému toku mezi jeho populacemi. Omezený tok genů mezi pohořími by mohl rovněž vysvětlovat pokles genetické diverzity populace Krušných hor. Ke stejnému výsledku došla ve své práci také SLÁMOVÁ (2008).

7. Závěr

Během studie bylo zanalyzováno celkem 116 vzorků sýce rousného (*Aegolius funereus*) z Krušných hor, Teplic, Krkonoš, Žďárských vrchů a Jizerských hor. Výsledky této studie odpovídají předpokladům na počátku výzkumu – studované populace sýce rousného nejsou vzájemně geneticky strukturované (FIS = 0,012; 95 % CI: -0,044 až 0,083; FST = 0,008; 95 % CI: -0,016 až 0,028; FIT = 0,020; 95 % CI: -0,060 až 0,087), je mezi nimi výrazný genetický tok a celková genetická diverzita je nízká. České populace jsou vzájemně propojené vlivem velké disperzní schopnosti sýce.

8. Použité zdroje

AMOS, W., *et al.*, 2001. *The influence of parental relatedness on reproductive success*. Proc. R. Soc. B London B Biol. Sci. (268), 1–7 s.

ARMBRUSTER, P., *et al.*, 2000. *Equivalent inbreeding depression under laboratory and field conditions in a tree-hole-breeding mosquito*. Proc. R. Soc. London B Biol. Sci. (267), 1939–1945 s.

BEIER, P. a NOSS, R. F., 1998. *Do habitat corridors provide connectivity?* Conservation Biology (12), 1241-1252 s.

BEIER, P., 1995. *Dispersal of juvenile cougars in fragmented habitat*. Journal of Wildlife Management (59), 228-237 s.

BENSCH, S., *et al.*, 1994. *Genetic similarity between parents predicts hatching failure – nonincestuous inbreeding in the great reed warbler*. Evolution (48), 317–326 s.

BEREC, L., ANGULO, E. D. a COURCHAMP, F., 2007. *Multiple Allee effects and population management*. Trends in Ecology & Evolution (22), 185-191 s.

BERRY, O., *et al.*, 2005. *Effect of vegetation matrix on animal dispersal: Genetic evidence from a study of endangered skinks*. Conservation Biology (19), 855-864 s.

BIEBACH, I. a KELLER, L. F., 2009. *A strong genetic footprint of re-introduction history of Alpine ibex (Capra ibex ibex)*. Molecular Ecology (18), 5046-5058 s.

BILJSMA, R., *et al.*, 1999. *Environmental dependence of inbreeding depression and purging in Drosophila melanogaster*. J. Evol. Biol. (12). 1125–1137 s.

BIJLSMA, R., *et al.*, 2000. *Does inbreeding affect the extinction risk of small populations? Predictions from Drosophila*. J. Evol. Biol. (13), 502–514 s.

BYERS, D. L., a WALLER, D. M., 1999. *Do plant populations purge their genetic load? Effects of population size and mating history on inbreeding depression*. Annu. Rev. Ecol. Syst. (30), 479–513 s.

- CARO, T. M. a LAURENSEN, M. K., 1994. *Ecological and genetic factors in conservation: a cautionary tale*. Science (263), 485–486 s.
- COLTMAN, D. W., *et al.*, 1999. *Parasite-mediated selection against inbred Soay sheep in a freelifving, island population*. Evolution (53), 1259–1267 s.
- COULSON, T. N., *et al.*, 1998. *Microsatellites reveal heterosis in red deer*. Proc. R. Soc. London B Biol. Sci. (265), 489–495 s.
- CRNOKRAK, P., a ROFF, D. A., 1999. *Inbreeding depression in the wild*. Heredity (83), 260–270 s.
- CROW, J. F., 1948. *Alternative hypotheses of hybrid vigor*. Genetics (33), 477–487 s.
- CROW, J. F., a KIMURA, M., 1970. *An Introduction to Population Genetics Theory*, Burgess Pub. Co.
- CROW, J. F., 1999. *The rise and fall of overdominance*. Plant Breed. Rev. (17), 225–257 s.
- DAHLGAARD, J., a LOESCHCKE, V., 1997. *Effects of inbreeding in three life stages of Drosophila after embryos were exposed to a high temperature stress*. Heredity (78), 410–416 s.
- DARWIN, C., 1876. *The Effects of Cross and Self Fertilization in the Vegetable Kingdom*, J. Murray & Co.
- DAVID, P., 1997. *Modeling the genetic basis of heterosis: tests of alternative hypotheses*. Evolution (51), 1049-1057 s.
- DEVLIN, B., a ELLSTRAND, N. C., 1990. *The development and application of a refined method for estimating gene flow from angiosperm paternity analysis*. Evolution (44), 248–259 s.

DRDÁKOVÁ M., 2003: Hnízdní biologie sýce rousného (*Aegolius funereus*) v imisních oblastech Krušných hor. *Sylvia* 39: 35-51.

DONNELLY, R. a MARZLUFF, J. M., 2004. *Importance of reserve size and landscape context to urban bird conservation*. *Conservation Biology* (18), 733-745 s.

DUNNING, J. B., *et al.*, 1995. *Patch isolation, corridor effects, and colonization by a resident sparrow in a managed pine woodland*. *Conservation Biology* (9), 542-550 s.

FAHRIG, L., 2001. *How much habitat is enough?* *Biological Conservation* (100), 65-74 s.

FISHER, R. A., 1965. *The Theory of Inbreeding* (2nd edn), Oliver and Boyd.

FISCHER, M., a MATTHIES, D., 1998. *Effects of population size on performance in the rare plant *Gentianella germanica**. *J. Ecol.* (86), 195–204 s.

FISCHER, M., a MATTHIES, D., 1998. *RAPD variation in relation to population size and plantfitness in the rare *Gentianella germanica* (*Gentianaceae*)*. *Am. J. Bot.* (85), 811–819 s.

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

FRANKHAM, R., 1995. *Inbreeding and extinction: a threshold effect*. *Conserv. Biol.* (9), 792–799 s.

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

FRANKEL, O. H., a SOULE, M. E., 1981. *Conservation and Evolution*, Cambridge University Press.

GARDNER, R. H., *et al.*, 1991. *Simulation of the scale-dependent effects of landscape boundaries on species persistence and dispersal*. [editor] M. M. Holland, RISSER P. G. & NAIMAN R. J. *Ecotones: The Role of Landscape Boundaries in the Management and Restoration of Changing Environments*. New York : Chapman and Hall, 76-89 s.

- HADDAD, N. M., 1999b. *Corridor and distance effects on interpatch movements: A landscape experiment with butterflies*. *Ecological Applications* (9), 612-622 s.
- HADDAD, N. M., 1999a. *Corridor use predicted from behaviors at habitat boundaries*. *American Naturalist* (153), 215-227 s.
- HAILER F., HELANDER B., FOLKESTAD A. O., GANUSEVICH S. A., GARSTAD S., HAUFF P., KOREN C., NYGARD T., VOLKE V., VILA C. & ELLEGREN H. 2006: Bottlenecked but long-lived. high genetic diversity retained in white-tailed eagles upon recovery from population decline. *Biology Letters* 2: 316–319.
- HANSKI, I., 1999. *Metapopulation ecology*. United Kingdom : Oxford University Press.
- HARTL D. L. & CLARK A. G., 1997: *Principles of population genetics*. Sinauer Associates, Sunderland, 542 p.
- HÁJKOVÁ P., PERTOLDI C., ZEMANOVÁ B., ROCHE K., HÁJEK B., BRYJA J. & 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*, Volume 272, Issue 1, str. 1–9.
- HEDRICK, P. W., a KALINOWSKI, S. T., 2000. *Inbreeding depression in conservation biology*. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* (31), 139–162 s.
- HEDRICK, P. W., *et al.*, 2001. *Evaluation of d₂, a microsatellite measure of inbreeding and outbreeding, in wolves with a known pedigree*. *Evolution* (55), 1256–1260 s.
- HEDRICK, P. W., 2005. *Genetics of Populations*. Sudbury : Jones and Barlett Publishers, 737 s.
- HILL, W. G. a ROBERTSON, A., 1966. *The effect of linkage on limits to artificial selection*. *Genet. Res.* (8), 269–294 s.

HOENIG, J. M., a HEISEY, D. M., 2001. *The abuse of power: the pervasive fallacy of power calculations for data analysis*. Am. Statist. (55), 19–24 s.

HOULE, D., 1992. *Comparing evolvability and variability of quantitative traits*. Genetics (130), 195–204 s.

HÖGLUND, J., 2009. *Evolutionary conservation genetics*. New York : Oxford University Press Inc.

HUDEC, K. a ŠŤASTNÝ, K., 2005. *Fauna ČR. Ptáci - Aves 2/I, 2/II*. Praha : Academia.

HUDGENS, B. R. a HADDAD, N. M., 2003. *Predicting which species will benefit from corridors in fragmented landscapes from population growth models*. American Naturalist (161), 808-820 s.

HUITU, O., NORRDAHL, K. a KORPIMÄKI, E., 2003. *Landscape effects on temporal and spatial properties of vole population fluctuations*. Oecologia (135), 209-220 s.

HUSBAND, B. C., a SCHEMSKE, D. W., 1995. *Magnitude and timing of inbreeding depression in a diploid population of *Epilobium angustifolium* (Onagraceae)*. Heredity (75), 206–215 s.

HŮLOVÁ Š., SEDLÁČEK F., 2008: Population genetic structure of the European ground squirrel in the Czech Republic. Conservation Genetics, Volume 9, Issue 3 , str. 615-625.

CHARLESWORTH, B., a CHARLESWORTH, D., 1987. *Inbreeding depression and its evolutionary consequences*. Annu. Rev. Ecol. Syst. (18), 237-268 s.

CHARLESWORTH, B., a CHARLESWORTH, D., 1999. *The genetic basis of inbreeding depression*. Genet. Res. (74), 329–340 s.

INGVARSSON, P. K., 2001. *Restoration of genetic variation lost – the genetic rescue hypothesis*. Trends Ecol. Evol. (16), 62–63 s.

- JACQUEMYN, H., HONNAY, O., a PAILLER, T., 2007. *Range size variation, nestedness and species turnover of orchid species along an altitudinal gradient on Re'union Island: Implications for conservation*. *Biological Conservation* (136).
- JIMÉNEZ, J. A., *et al.*, 1994. *An experimental study of inbreeding depression in a natural habitat*. *Science* (266), 271–273 s.
- JONES A. G. & ARDREN W. R., 2003: *Methods of parentage analysis in natural populations*. *Molecular Ecology*, 12: 2511-2523.
- KALINOWSKI, S. T., a HEDRICK, P. W., 1999. *Detecting inbreeding depression is difficult in captive endangered species*. *Anim. Conserv.* (2), 131–136 s.
- KAREIVA, P., 1990. *Population dynamics in spacially complex environments: Theory and data*. *RPhilosophical Transactions of the Royal Society of London* (Series B. 330), 175-190 s.
- KELLER, L. F., *et al.*, 1994. *Selection against inbred song sparrows during a natural population bottleneck*. *Nature* (372), 356–357 s.
- KELLER, L. F., 1998. *Inbreeding and its fitness effects in an insular population of song sparrows (*Melospiza melodia*)*. *Evolution* (52), 240–250 s.
- KELLER, L. F., and ARCESE, P., 1998. *No evidence for inbreeding avoidance in a natural population of song sparrows (*Melospiza melodia*)*. *Am. Nat.* (152), 380-392 s.
- KELLER, L. F., and WALLER, D. M., 2002. URL: < <http://tree.trends.com> 0169-5347/02/\$ – see front matter > © Elsevier Science Ltd. All rights reserved.
- PII: S0169-5347(01)02442-9230
- KING, R. C., STANSFIELD, W. D. a MULLIGAN, P. K., 1996. *A dictionary of genetics 7*. New York : Oxford University Press Inc., 480 s.
- KONDRASHOV, A. S., a HOULE, D., 1994. *Genotypeenvironment interactions and the estimation of the genomic mutation rate in *Drosophila melanogaster**. *Proc. R. Soc. London B Biol. Sci.* (258), 221–227 s.

- KOOPMAN, M. E., SCHABLE, N. A. a GLENN, T. C., 2004. *Development and optimization of microsatellite DNA promoters for boreal owls (Aegolius funereus)*. *Molecular Ecology Notes* (4), 376 – 378 s.
- KOOPMAN, M. E., HAYWARD, G. D. a MCDONALD, D. B., 2007. *High connectivity and minimal genetic structure among North American Boreal Owl (Aegolius funereus) populations, regardless of habitat matrix*. *The Auk* (124/2), 690-704 s.
- LANDE, R., 1988. *Genetics and demography in biological conservation*. *Science* (241), 1455-1460 s.
- LANDE, R., 1995. *Mutation and conservation*. *Conserv. Biol.* (9), 782-791 s.
- LARSSON J. K., SUN Y. H., FANG Y., SEGELBACHER G. & HÖGLUND J., 2003: *Microsatellite variation in a Chinese grouse Bonasa sewerzowi population: signs of genetic impoverishment?* *Wildlife Biology* 9: 261-266.
- LENS, L., *et al.*, 2001. *Developmental instability and inbreeding in natural bird populations exposed to different levels of habitat disturbance*. *J. Evol. Biol.* (13), 889–896 s.
- LEWINS, R., 1962. *The effect of random variations of different types on population growth*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* (62), 1061-1065 s.
- LI, Z-K., *et al.*, 2001. *Overdominant epistatic loci are the primary genetic basis of inbreeding depression and heterosis in rice. I. Biomass and grain yield*. *Genetics* (158), 1737-1753 s.
- LYNCH, M. *et al.*, 1995. *Mutation accumulation and the extinction of small populations*. *Am. Nat.* (146), 489–518 s.
- MADSEN, T., *et al.*, 1999. *Restoration of an inbred adder population*. *Nature* (402), 34–35 s.
- MALÉCOT, G. M., 1948. *Les Mathématiques de l'Hérédité*, Masson et Cie.

MARTIN, K., STACEY, P. B. a BRAUN, C. E., 2000. *Recruitment, dispersal, and demographic rescue in spatially-structured White-tailed Ptarmigan populations*. *Condor* (102), 503-516 s.

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

MENGES, E., 1991. *Seed germination percentage increases with population size in a fragmented prairie species*. *Conserv. Biol.* (5), 158–164 s.

MENGES, E. S., 1992. *Habitat preferences and response to disturbance for *Dicerandra frutescens*, a Lake Wales Ridge (Florida) endemic plant*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 119/3, 308-313 s.

MILLS, J.A., YARRAL, J.W. & MILLS, D. A., 1996: Causes and consequences of mate fidelity in red-billed gulls. *Partnerships in Birds. The Study of Monogamy*.

(ed. J.M. Black), pp. 286–304. Oxford University Press, Oxford.

MITTON, J. B., 1997. *Selection in Natural Populations*, Oxford University Press.

MOLLER, A. P., a JENNIONS, M. D., 2001. *Testing and adjusting for publication bias*. *Trends Ecol. Evol.* (16), 580–586 s.

MUKAI, T., *et al.*, 1972. *Mutation rate and dominance of genes affecting viability in *Drosophila melanogaster**. *Genetics* (72), 335–355 s.

NAKLADATELSTVÍ PORTÁL – internetové knihkupectví URL: <<http://www.obchod.portal.cz/ukazka/uvod-do-biologie-ochrany-prirody/30610>>

NEWMAN, D., a PILSON, D., 1997. *Increased probability of extinction due to decreased genetic effective population size: experimental populations of *Clarkia pulchella**. *Evolution* (51), 354–362 s.

OHTA, T., 1971. *Associative overdominance caused by linked detrimental mutations*. *Genet. Res.* (18), 277–286 s.

OOSTERMEIJER, J. G. B., *et al.*, 1994. *Offspring fitness in relation to population size and genetic variation in the rare perennial plant species Gentiana pneumonanthe (Gentianaceae)*. *Oecologia* (97), 289–296 s.

OOSTERMEIJER, J. G. B., *et al.*, 1995. *Analysis of the relationship between allozyme heterozygosity and fitness in the rare Gentiana pneumonanthe L.* *J. Evol. Biol.* (8), 739–757 s.

PALMER, A. R., 2000. *Quasireplication and the contract of error: lessons from sex ratios, heritabilities and fluctuating asymmetry*. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* (31), 441–480 s.

PIERTNEY S. B., MACCOLL A. D. C., BACON P. J., DALLAS J. F., 1998: *Local genetic structure in red grouse (Lagopus lagopus scoticus): evidence from microsatellite DNA markers*. *Molecular Ecology* 7: 1645-1654.

POULAKAKIS N., ANTONIOU A., MANTZIOU G., PARMAKELIS A., SKARTSI T., VASILAKIS D., ELORRIAGA J., PUENTE DE LA J., GAVASHELISHVILI A., GHASABYAN M., KATZNER T., MCGRADY M., BATBAYAR N., FULLER M. & NATSAGDORJ T. 2008: Population structure, diversity, and phylogeography in the near-threatened Eurasian black vultures *Aegypius monachus* (Falconiformes; Accipitridae) in Europe: insights from microsatellite and mitochondrial DNA variation. *Biological Journal of the Linnean Society* 95: 859-872.

PRIMACK, R. B., 2001. *Biologické principy ochrany přírody*. Praha : Portál, s. r. o., 349 s.

PRIMACK, R. B., KINDLMAN, P., JERSÁKOVÁ, J., 2011. *Úvod do biologie ochrany přírody*. Praha : Portál, s. r. o., 472 s.

PRITCHARD J. K., WEN X. & FALUSH D., 2007: *Documentation for Structure software: Version 2.2*, 36 p.

REED, J. C., KASSCHAU, K. D., PROKHNEVSKY, A. I., GOPINATH, K., POGUE, G. P., CARRINGTON, J. C., DOLJA, V. V., 2003. *Suppressor of RNA silencing encoded by Beet yellows virus*. *Virology* (306), 203–209 s.

RELICHOVÁ, J., 2001. *Genetika populací*. Brno : Masarykova univerzita v Brně, 188 s.

RICHARDS, C. M., 2000. *Inbreeding depression and genetic rescue in a plant metapopulation*. *Am. Nat.* (155), 383–394 s.

RITLAND, K., 1990. *Inferences about inbreeding depression based upon changes of the inbreeding coefficient*. *Evolution* (44), 1230–1241 s.

RITLAND, K., 2000. *Marker-inferred relatedness as a tool for detecting heritability in nature*. *Mol. Ecol.* (9), 1195–1204 s.

ROSENBERG, D. K., NOON, B. R. a MESLOW, E. C., 1997. *Biological corridors: Form, function, and efficacy*. *BioScience* (47), 677-687 s.

ROSYPAL, S., *et al.*, 2003. *Nový přehled biologie*. Praha : Scientia spol. s r. o.

RYMEŠOVÁ D., 2008: Genetická analýza vybraných populací sýce rousného (*Aegolius funereus*). Diplomová práce. Masarykova univerzita v Brně, Přírodovědecká fakulta, Ústav botaniky a zoologie.

ŘÍČANOVÁ Š., BRYJA J., COSSON J. F., GEDEON C., CHOLEVA L., AMBROS M., SEDLÁČEK F., 2011: Depleted genetic variation of the European ground squirrel in Central Europe in both microsatellites and the major histocompatibility complex gene: implications for conservation. *Conservation Genetics*, Volume 12, Issue 4 , pp 1115-1129.

SACCHERI, I., *et al.*, 1998. *Inbreeding and extinction in a butterfly population*. *Nature* (392), 491–494 s.

SEIGART, A., *et al.*, 1999. *The distribution of individual inbreeding coefficients and pairwise relatedness in a population of *Mimulus guttatus**. *Heredity* (83), 625–632 s.

SHEPHARD J. M., HUGHES J. M., CATTERALL C. P. & OLSEN P. D. 2005: Conservation status of the Wild-Bellied Sea-Eagle *Haliaeetus leucogaster* in Australia determined using mtDNA control region sequence data. *Conservation Genetics* 6:413-429.

SIMBERLOFF, D., *et al.*, 1992. *Movement corridors: Conservation bargains or poor investments?* Conservation Biology (6), 493-504 s.

SLÁMOVÁ, P. 2008: Příbuzenská struktura a paternita v populaci sýce rousného *Aegolius funereus*. Diplomová práce

SLATE, J., *et al.*, 2000. *Inbreeding depression influences lifetime breeding success in a wild population of red deer (Cervus elaphus)*. Proc. R. Soc. London B Biol. Sci. (267), 1657–1662 s.

STACEY, P. B. a TAPER, M., 1992. *Environmental variation and the persistence of small populations*. Ecological Applications (2), 18-29 s.

STIBŮRKOVÁ, T., 2011. *Genetická diverzita ohrožených druhů živočichů*. Praha : Bakalářská práce FŽP ČZU v Praze.

SVOBODOVÁ J., SEGELBACHER G., HÖGLUND J. 2011: *Genetic variation in Black Grouse populations with different lekking systems in the Czech Republic*. Journal of Ornithology Vol. 152, Issue 1: 37-44.

ŠŤASTNÝ K., BEJČEK V., HUDEC K., 2006: *Atlas hnízdního rozšíření ptáků v České republice 2001-2003*. Praha : Aventinum. ISBN 80-86858-19-7.

TSITRONE, A., *et al.*, 2001. *Heterosis, marker mutational processes, and population inbreeding history*. Genetics (159), 1845–1859 s.

VAN DE CASTEELE, T., *et al.*, 2001. *A comparison of microsatellite-based pairwise relatedness estimators*. Mol. Ecol. (10), 1539–1549 s.

VANDERMEER, J. a CARVAJAL, R., 2001. *Metapopulation dynamics and the quality of the matrix*. American Naturalist (158), 211-220 s.

VARGAS, A. B., MAYHÉ-NUNES, A. J., QUEIROZ, J. M., SOUZA, G. O., a FOLLY- RAMOS, E., 2007. *Efeitos de Fatores Ambientais sobre a Mirmecofauna em Comunidade de Restinga no Rio de Janeiro, RJ*. Neotropical Entomology 36/1, 28-37 s.

VESELÁ, D., 2011: *Středoškolská odborná činnost. Genetická variabilita a struktura populace vydry říční (Lutra lutra) v České a Slovenské republice.* Klobouky u Brna.

WALTERS, J. R., 2000. *Dispersal behavior: An ornitological frontier.* Condor (102), 479-481 s.

WAYNE, R. K., *et al.*, 1991. *Conservation genetics of the endangered Isle Royale gray wolf.* Conservation Biology (5). 41-51 s.

WESTEMEIER, R. L., *et al.*, 1998. *Tracking the longterm decline and recovery of an isolated population.* Science (282), 1695–1698 s.

WHITLOCK, M., *et al.*, 2000. *Local drift load and the heterosis of interconnected populations.* Heredity (84), 452–457 s.

WRIGHT, S., 1922. *The effects of inbreeding and crossbreeding on guinea pigs I: decline in vigor.* Bull. US Depart. Agri. (1090), 1–36 s.

WRIGHT, S., 1965. *The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating.* Evolution (19), 395–420 s.

WRIGHT, S., 1969. *Evolution and the Genetics of Populations, Vol. 2: The Theory of Gene Frequencies,* University of Chicago Press.

WRIGHT, S., 1977. *Evolution and the Genetics of Populations, Vol. 3: Experimental Results and Evolutionary Deductions,* University of Chicago.

ZIMA: Genetické metody v zoologii.

9. Seznam příloh

Příloha 1: Genotypy všech adultních exemplářů sýce rousného zahrnutých do diplomové práce.

Příloha 2: Výsledky párové příbuznosti všech adultních exemplářů z programu GenAlex.

Příloha 3: Heterozygotnost, alelická diverzita (allelic richness) a FIS podle lokusů a populací.

Příloha 4: F-statistika podle lokusů.

Příloha 5: Frekvence privátních alel.

Příloha 6: Charakteristika mikrosatelitových lokusů.

Příloha 1: Genotypy všech adultních exemplářů sýce rousného zahrnutých do diplomové práce. Vysvětlivky: *ID* – číslo jedince; *Pop* – populace; *BOOW04, 07, 14, 18, 19, 06* – konkrétní mikrosatelitové lokusy

ID	Pop	BOOW04		BOOW07		BOOW14		BOOW18		BOOW19		BOOW06	
KH1	KH	204	232	97	97	145	145	220	225	219	223	198	198
KH2	KH	204	214	88	93	145	145	196	227	219	223	198	198
KH3	KH	204	221	84	88	145	145	220	232	219	223	198	198
KH4	KH	212	218	93	97	145	145	224	299	219	223	198	198
KH5	KH	204	212	93	97	145	145	224	231	223	223	198	198
KH6	KH	204	221	76	97	145	145	222	237	219	223	198	198
KH7	KH	212	221	93	97	145	145	224	224	219	223	198	198
KH8	KH	204	212	88	93	145	145	192	205	219	223	198	198
KH9	KH	218	223	88	93	145	145	216	232	219	223	198	198
KH10	KH	204	232	84	88	145	145	220	228	219	219	198	198
KH11	KH	204	204	88	97	145	145	224	228	223	223	198	198
KH12	KH	204	225	88	88	145	145	220	224	223	223	198	198
KH13	KH	204	204	88	88	145	150	228	228	219	223	198	198
KH14	KH	221	225	84	93	145	145	227	227	219	223	198	198
KH15	KH	225	232	84	84	145	150	196	228	219	223	198	198
KH16	KH	204	204	84	97	145	145	220	237	219	223	198	198
KH17	KH	204	204	93	93	145	145	192	232	219	223	198	198
KH18	KH	212	232	97	101	145	145	220	232	219	219	198	198
KH19	KH	232	232	84	84	145	145	228	228	219	219	198	198
KH20	KH	204	225	88	97	145	150	220	224	219	219	198	198
KH21	KH	221	225	76	84	145	145	223	224	223	223	198	198
KH22	KH	204	204	93	105	145	145	196	222	219	219	198	198
KH23	KH	214	221	93	109	145	145	192	227	223	223	198	198
KH24	KH	214	221	76	88	145	145	192	224	223	223	198	198
KH25	KH	204	221	88	88	145	145	220	224	219	223	198	198
KH26	KH	204	221	93	101	145	145	188	228	219	223	198	198
KH27	KH	221	232	88	93	145	145	227	484	223	223	198	198
KH28	KH	204	204	97	97	145	145	224	224	219	219	198	198
KH29	KH	212	229	93	97	145	145	216	216	223	223	198	198
KH30	KH	210	218	84	97	145	150	228	237	219	223	198	198
KH31	KH	204	221	76	97	145	145	196	224	223	223	198	198
KH32	KH	204	204	93	97	145	145	222	228	219	223	198	198
KH33	KH	204	218	80	97	145	145	192	228	219	223	198	198
KH34	KH	204	221	84	84	145	145	224	237	219	223	198	198
KH35	KH	218	221	93	97	145	145	192	224	219	219	198	198
KH36	KH	204	214	93	97	145	145	224	224	219	219	198	198
KH37	KH	204	212	88	97	145	145	220	232	219	223	198	198
KH38	KH	204	212	93	97	145	145	188	192	219	219	198	198
KH39	KH	204	221	88	93	145	145	218	224	219	223	198	198
KH40	KH	204	212	93	101	145	145	192	228	219	219	198	198
KH41	KH	204	221	84	101	145	145	192	192	219	219	198	198

Pokračování tabulky z předchozí strany

ID	Pop	BOOW04		BOOW07		BOOW14		BOOW18		BOOW19		BOOW06	
KH42	KH	204	204	84	93	145	145	220	224	219	223	198	198
KH43	KH	204	204	93	93	145	145	196	232	219	223	198	198
KH44	KH	214	214	88	93	145	145	192	227	223	223	198	198
KH45	KH	204	204	84	88	145	145	232	232	219	223	198	198
KH46	KH	204	232	84	88	145	145	224	248	219	223	198	198
KH47	KH	204	221	76	93	145	150	220	224	219	223	198	198
KH48	KH	204	221	80	97	145	145	200	224	219	223	198	202
KH49	KH	204	212	88	97	145	145	220	232	219	223	198	198
KH50	KH	204	225	93	97	145	145	224	224	219	223	198	198
KH51	KH	212	214	84	93	145	145	196	220	219	223	198	198
KH52	KH	204	212	84	88	145	145	192	227	219	223	198	198
KH53	KH	204	212	84	113	145	145	192	196	223	223	198	198
KH54	KH	212	218	93	101	145	145	220	220	223	223	198	198
KH55	KH	218	225	84	93	145	145	227	232	223	223	198	198
KH56	KH	204	221	80	84	145	145	224	224	219	223	198	198
KH57	KH	204	212	80	97	145	145	192	196	219	223	198	198
KH58	KH	204	225	88	93	145	145	192	244	219	223	198	198
KH59	KH	204	204	84	93	145	145	220	224	219	223	198	198
KH60	KH	204	216	80	93	145	145	192	224	219	219	198	198
KH61	KH	212	216	93	97	145	145	224	224	219	219	198	198
KH62	KH	204	204	93	97	145	145	222	222	219	219	198	198
KH63	KH	204	212	88	97	145	145	220	231	219	223	198	198
KH64	KH	204	212	84	112	145	145	192	196	223	223	198	198
KH65	KH	204	204	80	105	145	145	192	196	219	219	198	198
KH66	KH	221	221	84	88	145	145	192	220	219	223	198	198
KH67	KH	212	221	84	101	145	145	224	224	219	219	198	198
KH68	KH	204	221	97	105	145	145	192	224	219	219	198	198
KH69	KH	204	223	84	97	145	145	224	231	223	223	198	198
KH70	KH	210	216	88	88	145	145	224	262	223	223	198	198
KH71	KH	204	204	97	101	145	145	196	228	223	223	198	198
KH72	KH	204	204	84	93	145	145	220	224	219	219	198	198
KH73	KH	204	232	84	88	145	145	220	244	219	223	198	198
KH74	KH	204	221	80	97	145	145	200	224	223	223	198	198
KH75	KH	204	223	84	97	145	145	224	231	223	223	198	198
KH76	KH	204	223	88	97	145	145	234	254	219	223	198	198
KH77	KH	204	221	88	88	145	145	220	224	219	223	198	198
KH78	KH	204	212	84	112	145	145	192	196	223	223	198	198
KH79	KH	204	212	84	88	145	145	192	224	219	223	198	198
KH80	KH	204	221	97	97	145	145	196	224	223	223	198	198
KH81	KH	221	225	76	84	145	145	220	220	223	223	198	198
KH82	KH	212	223	88	97	145	145	228	228	219	223	198	198
KH83	KH	204	212	84	93	145	145	192	226	219	219	198	198
KH84	KH	204	204	93	97	145	145	196	224	219	223	198	198

Pokračování tabulky z předchozí strany

ID	Pop	BOOW04		BOOW07		BOOW14		BOOW18		BOOW19		BOOW06	
KH85	KH	204	204	97	105	145	145	224	224	219	223	198	202
KH86	KH	204	212	84	93	145	145	224	231	219	223	198	198
KH87	KH	204	212	88	93	145	145	192	205	219	223	198	198
KH88	KH	204	221	88	101	145	145	192	224	219	223	198	198
KH89	KH	204	221	97	105	145	145	192	224	219	219	198	198
KH90	KH	204	221	80	84	145	145	226	226	219	223	198	198
KH91	KH	204	204	97	101	145	145	192	220	219	219	198	198
TE1	TE	204	204	88	88	145	145	236	236	219	223	198	198
TE2	TE	204	204	88	105	145	145	224	250	219	223	198	198
KR1	KR	204	221	93	97	145	145	196	224	219	223	198	198
KR2	KR	212	221	93	97	145	145	192	224	223	223	198	198
KR3	KR	204	204	93	101	145	145	228	228	219	219	198	198
KR4	KR	204	221	93	93	145	145	224	224	198	224	198	198
KR5	KR	204	212	93	105	145	145	196	228	219	223	198	198
ZV1	ZV	204	212	93	97	145	145	222	484	219	223	198	198
ZV2	ZV	204	204	93	101	145	145	192	222	219	219	198	198
ZV3	ZV	204	223	80	93	145	150	220	224	219	223	198	198
ZV4	ZV	221	221	101	101	145	145	230	232	219	223	198	198
ZV5	ZV	204	212	93	105	145	145	192	224	219	219	198	198
ZV6	ZV	204	204	84	84	145	145	222	224	219	223	198	198
JH1	JH	221	225	86	86	145	145	220	228	219	219	198	198
JH2	JH	204	212	84	88	145	145	224	224	219	223	198	198
JH3	JH	204	204	97	101	145	145	224	224	223	223	198	198
JH4	JH	204	204	84	93	145	145	196	228	223	223	198	198
JH5	JH	216	221	88	97	145	145	224	240	219	223	198	198
JH6	JH	204	221	84	88	145	145	224	224	219	223	198	198
JH7	JH	212	221	84	93	145	145	228	228	219	223	198	198
JH8	JH	204	204	80	97	145	145	192	222	219	219	198	198
JH9	JH	204	204	88	105	145	145	220	222	219	219	198	198
JH10	JH	204	221	88	105	145	145	224	224	219	223	198	198
JH11	JH	212	221	93	101	145	145	192	224	219	223	198	198
JH12	JH	204	212	88	93	145	145	192	196	223	223	198	198

Příloha 2: Výsledky párové příbuznosti (index F_{ST}) všech adultních exemplářů. Analyzováno v programu GenAlex. Vysvětlivky: *KH* – populace z Krušných hor; *TE* – populace z Teplic; *KR* – populace z Krkonoš; *ZV* – populace ze Žďárských vrchů; *JH* – populace z Jizerských hor.

KH	TE	KR	ZV	JH	
0,000	0,097	0,226	0,439	0,423	KH
0,115	0,000	0,134	0,104	0,226	TE
0,022	0,256	0,000	0,456	0,444	KR
0,000	0,163	0,000	0,000	0,454	ZV
0,000	0,072	0,000	0,000	0,000	JH

Příloha 3: Heterozygotnost, alelická diverzita (allelic richness) a F_{IS} podle jednotlivých lokusů. Analýza z programu GenAlex. Vysvětlivky: N_a – počet alel na lokus; H_o – pozorovaná heterozygotnost, H_e – očekávaná heterozygotnost; AR – alelická diverzita; F_{IS} – koeficient inbreedingu.

Populace	Lokus	N_a	H_o	H_e	AR	F_{IS}
Krušné hory	BOOW04	11,00	0,78	0,73	2,77	-0,05
	BOOW07	11,00	0,86	0,82	3,09	-0,04
	BOOW14	2,00	0,05	0,05	1,11	-0,02
	BOOW18	25,00	0,79	0,87	3,35	0,10
	BOOW19	2,00	0,53	0,50	1,88	-0,05
	BOOW06	2,00	0,02	0,02	1,04	-0,01
průměr		8,83	0,51	0,50	2,21	0,00
Teplice	BOOW04	1,00	0,00	0,00	1,00	NA
	BOOW07	2,00	0,50	0,38	2,00	0,00
	BOOW14	1,00	0,00	0,00	1,00	NA
	BOOW18	3,00	0,50	0,63	3,00	0,50
	BOOW19	2,00	1,00	0,50	2,00	-1,00
	BOOW06	1,00	0,00	0,00	1,00	NA
průměr		1,67	0,33	0,25	1,67	0,00
Krkonoše	BOOW04	3,00	0,80	0,62	2,48	-0,19
	BOOW07	4,00	0,80	0,58	2,46	-0,28
	BOOW14	1,00	0,00	0,00	1,00	NA
	BOOW18	4,00	0,60	0,70	2,83	0,25
	BOOW19	4,00	0,60	0,66	2,66	0,20
	BOOW06	1,00	0,00	0,00	1,00	NA
průměr		2,83	0,47	0,43	2,07	0,02
Žďárské vrchy	BOOW04	4,00	0,50	0,60	2,48	0,25
	BOOW07	6,00	0,67	0,78	3,18	0,23
	BOOW14	2,00	0,17	0,15	1,33	0,00
	BOOW18	7,00	1,00	0,82	3,40	-0,13
	BOOW19	2,00	0,67	0,44	1,86	-0,43
	BOOW06	1,00	0,00	0,00	1,00	NA
průměr		3,67	0,50	0,47	2,21	0,02
Jizerské hory	BOOW04	5,00	0,67	0,66	2,54	0,03
	BOOW07	8,00	0,92	0,84	3,34	-0,04
	BOOW14	1,00	0,00	0,00	1,00	NA
	BOOW18	7,00	0,58	0,76	2,99	0,27
	BOOW19	2,00	0,50	0,50	1,91	0,04
	BOOW06	1,00	0,00	0,00	1,00	NA
průměr		4,00	0,44	0,46	2,13	0,08

Příloha 4: F-statistika podle lokusů. Analýza z programu GenAlex. Vysvětlivky:
 F_{IS} – koeficient inbreedingu; F_{IT} – celkový koeficient inbreedingu; F_{ST}
– fixační koeficient; *průměr* – aritmetický průměr hodnot.

Lokus	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
BOOW04	-0,056	0,049	0,100
BOOW07	-0,100	0,092	0,175
BOOW14	-0,075	-0,023	0,048
BOOW18	0,080	0,181	0,110
BOOW19	-0,265	-0,228	0,029
BOOW06	-0,011	-0,002	0,009
průměr	-0,071	0,012	0,078

Příloha 5: Frekvence privátních alel. Vysvětlivky: *PA* – privátní alela; *F(PA)* – frekvence privátní alely

Populace	Lokus	PA	F(PA)
Krušné hory	BOOW04	210	0,011
	BOOW04	214	0,038
	BOOW04	218	0,038
	BOOW04	229	0,005
	BOOW04	232	0,049
	BOOW07	76	0,033
	BOOW07	109	0,005
	BOOW07	112	0,011
	BOOW07	113	0,005
	BOOW18	188	0,011
	BOOW18	200	0,011
	BOOW18	205	0,011
	BOOW18	216	0,016
	BOOW18	218	0,005
	BOOW18	223	0,005
	BOOW18	225	0,005
	BOOW18	226	0,016
	BOOW18	227	0,044
	BOOW18	231	0,027
	BOOW18	234	0,005
	BOOW18	237	0,022
	BOOW18	244	0,011
	BOOW18	248	0,005
	BOOW18	254	0,005
	BOOW18	262	0,005
	BOOW18	299	0,005
BOOW06	202	0,011	
Teplice	BOOW18	236	0,500
	BOOW18	250	0,250
Krkonoše	BOOW19	198	0,100
	BOOW19	224	0,100
Žďárské vrchy	BOOW18	230	0,083
Jizerské hory	BOOW07	86	0,083
	BOOW18	240	0,042

Příloha 6: Charakteristika mikrosatelitových lokusů (KOOPMAN et al., 2004)

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