

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Zemědělská fakulta

Diplomová práce

Možnosti rozšíření střeve potoční ve volných vodách

Knihovna JU - ZF



3114703788

Obor: Rybářství

Katedra: rybářství a myslivosti

Autor: Radek Halada

Vedoucí práce: Doc. Ing. Petr Hartvich, CSc.

České Budějovice

2006

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Jméno a příjmení: **Radek Halada**

Studijní program: **M 4101 Zemědělské inženýrství**

Studijní obor: **Rybnářství**

Název tématu: **Možnosti rozšíření střevle potoční ve volných vodách**

Zásady pro vypracování:

(v zásadách pro vypracování uveďte cíl práce a metodický postup)

Střevle potoční (*Phoxinus phoxinus L.*) patří mezi druhy ryb, jejichž výskyt a početnost ve vodách střední Evropy i v České republice výrazně poklesly nebo úplně vymizely. Střevle je drobný krátkověký druh, který osídluje převážně menší toky s čistou vodou, ale žije i v navazujících stojatých vodách. Chov střevlí by měl být především nástrojem pro ochranu druhu a až na druhém místě komoditou produkčních rybnářských subjektů.

Cílem práce bude proto popsat v literárním přehledu důležité poznatky z biologie druhu, dále se zaměřit na známé metody přispívající k ochraně a repatriaci střevlí. Ve vlastní práci diplomant vyhodnotí polopřirozené, poloumělé nebo jiné způsoby chovatelských technologií používané ve středoevropských podmínkách. Na základě vlastních sledování v uzavřených vodách bude zjišťovat účinnost opatření (na generační hejno, odlov ranných stádií, příkrmování, zdravotní stav) sledujících zvýšení úspěšnosti řízených chovů. Součástí práce bude také metodický návrh na provádění repatričních projektů k rozšíření střevlí v podmínkách České republiky.

Rozsah grafických prací: 12 – 20 tabulek a grafů

Rozsah průvodní zprávy: 25 - 35 stran

Seznam odborné literatury:

Baruš, V., Oliva, O. et al., 1995: Fauna ČR a SR (Mihulovci a ryby 1, 2)
Praha Academia, 698s.

Dušek, J., 2003: Metodická příručka pro ochranu populací, chov a repatriace
střevle potoční s poznámkami o biologii druhu. AOPK ČR Praha, 43 s.

Griffiths, S., W., 1997: Preferences for familiar fish do not vary with predation
risk in the European minnow. Journal of Fish Biology 51, 489 – 495


Vedoucí diplomové práce: doc. Ing. Petr Hartvich, CSc.

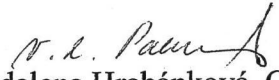
Konzultant:

Datum zadání diplomové práce: únor 2004

Termín odevzdání diplomové práce: 30. 4. 2006

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení ④
Studentská 13
370 05 České Budějovice


doc. Ing. Petr Hartvich, CSc.
Vedoucí katedry


doc. Ing. Magdalena Hrabánková, CSc.
Děkan

V Českých Budějovicích dne 10.3. 2004

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma „Možnosti rozšíření střeve potoční ve volných vodách“ vypracoval samostatně na základě vlastních zjištění a materiálů, které uvádím v seznamu literatury.

V Českých Budějovicích

28. dubna 2006

Andrzej Halas
.....

Děkuji Doc. Ing. Petrovi Hartvichovi, CSc. za odborné vedení a umožnění vykonání této práce. Dále všem pracovníkům laboratoře genetiky ryb, sekce evoluční biologie a genetiky obratlovců, ÚŽFG AV ČR v Liběchově, zejména Doc. Ing. Petrovi Rábovi, DrSc. za umožnění této práce a zahrnutí do výzkumného projektu Ministerstva životního prostředí "Genetická diverzita ohrožených druhů ryb - nezbytný základ efektivní ochrany biodiverzity" reg. č. VaV-SM/6/3/05 a v rámci Centra pro výzkum biodiverzity LC06073. a revizi rukopisu. Dále pak RNDr. Vlastimilovi Šlechtovi, CSc., Ing. Věře Šlechtové, CSc., Janě Pivoňkové, BSc. za poskytnutou literaturu, cenné rady a připomínky, ale hlavně za trpělivé konzultace, ochotu a pomoc při zpracování této práce.

Dále bych chtěl poděkovat zástupcům CHKO Slavkovský les, za pomoc při získávání vzorků, CHKO Jizerské hory za poskytnuté vzorky ale i za finanční podporu na potřebné chemikálie pro analýzy, Doc. Ing. Stanislavovi Luskovi, CSc. za poskytnuté vzorky ryb a dále všem zúčastněným při odlovech střevlí, Ing. Petrovi Lebedovi, Ing. Václavovi Senftovi.

Obsah

1. Seznam použitých zkratek.....	1
2. Úvod	2
3.1. Charakteristika druhu.....	4
3.2. Systematické postavení.....	5
3.3. Rozmnožování	6
3.4. Růst	8
3.5. Nároky na životní prostředí	8
3.6. Potrava a predace	9
3.7. Chování a tvorba hejn	10
3.8. Chov	12
3.9. Legislativní ochrana.....	12
4. Materiál a metodika.....	14
4.1. Sběr materiálu	14
4.2. Zpracování vzorků	16
4.3. Detekce variability proteinů.....	16
4.4. Postup.....	18
4.4.1. Příprava vzorků.....	18
4.4.2. Elektroforéza.....	18
4.4.3. Barvení	20
4.4.4. Složení barvicích roztoků	21
4.4.5. Vyhodnocování elektroforeogramů	23
5. Výsledky.....	24
6. Diskuse	50
7. Závěr.....	54
8. Použitá literatura	55
9. Obrázková příloha	62

1. Seznam použitých zkratk

Zkratka	Význam
I. U.	mezinárodní jednotka (jednotka aktivity enzymu)
2n	diploidní počet chromosomů
α -KG	kys. α -ketoglutarová
A	řitní ploutev
<u>a</u>	akrocentrický chromosom
ADP	adenosin difosfát
ASP	aspartát sodný
BFB	bromfenolová modř
D	hřbetní ploutev
E. C. klasifikace	klasifikace enzymů podle Evropské názvoslovné komise
EDTA	kyselina etylendiamintetraoctová
F-6-P Na	fruktosa-6-fosfát sodná sůl
Fast Blue BB	N- (4-amino-2, 5-dietoxyfenyl) benzamid
G-6-PDH	glukosa-6-fosfát dehydrogenasa
<u>m</u>	metacentrický chromosom
MTT	methylthiazolyl difenyltetrazolium bromid
n. m.	nad mořem
n. m. v.	nadmořská výška
NAD	β -nikotinamid adenin dinukleotid
NADP	β -nikotinamid adenin dinukleotid fosfát
NBT	p-nitroblue tetrazolium chlorid
P	prsňí ploutev
PMS	fenazin metosulfát
PRD	pyridoxal-5-fosfát
SDS	laurylsulfát sodný (sodium dodecyl sulphate)
<u>sm</u>	submetacentrický chromosom
<u>st</u>	subtelocentrický chromosom
syn.	synonymum
Tris	tris (hydroxymetyl) aminometan
V	břišňí ploutev

2. Úvod

Střevle potoční je charakteristickým druhem v horních částech toků v pstruhových a lipanových pásmech. Je možná často opomíjená (ačkoliv nemá přímý hospodářský význam), ale má bezpochyby své místo jako součást potravního řetězce horských a podhorských toků. V posledních několika málo letech došlo k jejímu velkému úbytku, v řadě míst až k zániku některých populací. Tento úbytek byl zřetelně způsoben necitlivými technologickými úpravami vodních toků, zejména jejich napřimováním a dlážděním. Konečným zásahem pak bylo vyšší znečištění (eutrofizace) a v neposlední míře i jiný způsob obhospodařování na vodních tocích, které si žádalo stále vyšší produkci pstruha potočního. Predace zvýšených obsádek pstruhů v oslabených populacích střevle pak již byla posledním faktorem působícím mizení a zánik jejích populací. Její životní prostředí se tak stalo naprosto nevyhovující. I přesto vše ji však dnes můžeme najít v některých místech naší republiky. Jsou to lokality, kde žije v dosud naštěstí nezměněných podmínkách, v tocích které nebyly dotčeny regulačními zásahy, na územích CHKO a NP.

Pro posílení určitých populací střevle často dochází k nekontrolovaným převozům. Přitom mnohem důležitější než transfer je úprava biotopu za účelem vytvoření lepších životních podmínek a snaha posílit místní populaci tímto způsobem. V praxi tomu však nebývá a veškerá chovatelská činnost bývá založena na převozu určitého počtu jedinců a pak jen náhodnou kontrolou o úspěšnosti repatriace.

Struktura populací je výsledkem dlouhodobého vzájemného působení genetického složení (= genofondu) populace a podmínek prostředí, ve kterém populace žije. Výsledkem tohoto vzájemného ovlivňování je přizpůsobení populace (včetně její genetické struktury) tak, aby jednak umožňovalo její úspěšné přežití jako celku a jednak – v důsledku vzniklé a udržované genetické rozrůzněnosti – dovolilo populaci reagovat na přirozené změny tohoto prostředí. Genetická struktura každé populace je jedinečná a optimální pro dané prostředí. Poznání genetické struktury populací druhu je pak jedním z předpokladů, který nám umožňuje odhadnout příbuznost populací a může pomoci při plánování ochrannářských opatření týkajících se příslušného druhu. Při repatriačních pokusech například dovoluje studovat vliv introdukované populace na strukturu populace domácí, sledovat časové změny v její genetické struktuře apod. Znalost genetické struktury druhu je tak jedním ze základních nástrojů, které by měly být používány při opatřeních týkajících se ochrannářských, a tedy i repatriačních aktivit.

Vzhledem k výše stručně uvedeným skutečnostem a vzhledem k potřebám praktického užití při záchranném obhospodařování populací střevle potoční, je proto více než velmi aktuální poznat skutečnou genetickou diverzitu zbytkových populací tohoto druhu a jejich vzájemnou příbuznost a přispět tak k vědecky odborně podložené ochraně tohoto druhu při posilování stávajících populací či dokonce repatriaci do míst jejího dřívějšího výskytu.

Cílem této práce bylo popsat chovatelské možnosti střevle potoční a navrhnout způsoby jejího polopřirozeného, poloumělého rozmnožování. V průběhu těchto prací jsem poznával problematiku ochrany genofondu a proto dalším významným cílem této diplomové práce bylo popsat genetickou diverzitu vybraných populací střevle potoční na území ČR

3. Literární přehled

3.1. Charakteristika druhu

Střevle potoční (*Phoxinus phoxinus* Linnaeus 1758) je drobná ryбка, 10 – 15 cm dlouhá, s válcovitým tělem. Na území ČR je délka okolo 120 mm považována za horní hranici (Oliva et al. 1968). Dyk (1956) uvádí výjimečně 120 – 140 mm. Délka hlavy 21 – 28% (\emptyset 24 – 25) délky těla, délka ocasního násadce 25 – 32% (\emptyset 26 – 27), výška ocasního násadce 43 – 45% (\emptyset 40), nejmenší výška těla 7 – 9% (\emptyset 8) predorzální vzdálenost je 50 – 60% (\emptyset 45 – 55), výška hřbetní ploutve 17 – 25% (\emptyset 20 – 21), výška řitní ploutve 16 – 22% (\emptyset 15 – 16) (Baruš, Oliva 1995). Všechny ploutve mimo hřbetní a řitní jsou zaoblené. Ploutevní vzorec pro naše populace je D II – III/7-8, A III/6-7, V I-II/6-8, P I (12-17) (\emptyset 17 – 18) (Baruš, Oliva 1995). Požerákové zuby jsou dvouřadé podle vzorce 2. 5 – 4. 2 (Baruš, Oliva 1995), vzácněji pak 2. 5 – 5. 2, 2. 4 – 4. 2., 2. 4 – 5. 2 (Berg 1912). Tělo je kryto drobnými šupinami, jejichž poloměr je přibližně shodný s 0, 5% délky těla (Dušek 2002). Počet šupin v neúplné postranní čáře je 68 – 95 (průměr 79 – 80) (Baruš, Oliva 1995), Berg (1948 – 1949) uvádí 80 – 92 šupin. Dušek (2002) udává 70 – 100 šupin v postranní čáře. Tento variabilní počet se od západu na východ a od severu na jih snižuje (Lohniský 1964). Nad postranní čárou je 17 – 18 řad šupin, pod ní je 13 – 14 řad (Blahák 1981). Počet tyčinek na horním žaberním oblouku je 6 – 10 (\emptyset 9), počet obratlů je 37 – 42 (\emptyset 39) (Baruš, Oliva 1995)

Karyotyp ($2n = 50$) je složen (podle jedinců z řeky Poprad, SR) z 8 párů m, 13 párů sm a 4 párů st až a chromosomů, NF = 92. Jeden z menších párů a-chromosomů nese na konci kratšího raménka achromatickou oblast (Ráb 1980-81). Boroń (2001) však u střevlí z Polska uvádí charakteristický a chromosom (největší v karyotypu) a pozici achromatické oblasti na jednom páru m a jednom páru sm chromosomů.

Zbarvení vykazuje velkou variabilitu. Bylo popsáno více autory. Frič (1908), Dyk (1956) nebo podle Duška (2002) – nad postranní čárou se táhne nazlátlý pruh od skřelí k ocasu rozdělující dvě podélné řady tmavých skvrn. U některých jedinců tento pruh úplně chybí a obě tyto tmavé řady splývají v příčné pruhování. Nažloutlá barva boků pod postranní čárou směrem k břichu se zesvětluje až na bílou. Střevle jsou nazlátlé. Oko má zlatě se lesknoucí duhovku, ploutve jsou žlutohnědé.

Spolehlivě určit pohlaví je možné od věku 2 let (Dyk 1983). Samci mají širší, mohutnější a tmavěji zbarvené prsní a břišní ploutve. Zaoblené prsní ploutve se silnějšími paprsky dosahují až k počátku břišních ploutví, které zakrývají řitní otvor (Štědronský 1947).

Řepa (1971) uvádí jako další rozdíl i vyšší nepárové ploutve a ostřejší rysy hlavy. V době tření mají samci třecí výrážku a jsou výrazněji zbarveni než v průběhu roku. Samčí hřbet kontrastuje s výrazně zelenými boky a červeným okolím řitních a párových ploutví, které jsou červené až po rozvětvené měkké paprsky. Ústa jsou také lemována červenou barvou. Skřele samců během tření na zadní třetině své horní poloviny zesilují a jejich bíle zbarvený horní úhel je nepatrně vyhnutý vně a odstává od obrysu hlavy (Dušek 2003). Na šupinách v okolí hlavy a na prsních ploutvích se vyskytuje krupičkovitá třecí výrážka. Tato výrážka se objevuje na hlavě obou pohlaví, u samců menším počtem velkých a špičatých a u samic větším počtem malých tupějších šedobílých epiteliálních bradavek (Lohniský 1964).

Samice mají mnohem menší a jemnější ploutve (Dyk 1952), břišní dosahují nejdále k řitnímu otvoru a všechny párové ploutve jsou jemné se stejnoměrně vyvinutými paprsky (Štědranský 1947). Před nástupem doby tření mají samice již zvětšený objem břicha a v době tření tmavě pigmentovanou vystupující urogenitální papilu, která je u samců založená do úzké štěrbině (Štědranský 1947). Samice mají delší a statnější trup, kratší ocas, širší hlavu s větší mezioční vzdáleností mezi očima a ústy (Řepa 1971). Samice mají celoročně světlé břicho.

3.2. Systematické postavení

Střevle potoční se vyskytuje v drobných tocích a jezerech po celé Evropě. Náleží tedy do smíšené glaciální fauny (Starmach 1963). Je jediným druhem z rodu *Phoxinus* (Kottelat 1997), který můžeme u nás nalézt a v rámci čeledi kaprovití (Cyprinidae) vytváří s dalšími druhy příbuznou skupinu linie Phoxinini podčeledi Leuciscinae (Howes 1991). Ve východní Evropě se též vyskytuje střevle jezerní (též bahenní) (*Eupallasella perenurus* Palas 1814), můžeme ji však nalézt i v některých jezerech v Polsku (Oliva 1963). Bogutskaya et al. (2005) považují toto jméno za důsledek chyby ve čtení popisu a upřednostňují používání druhového jména „*percnurus*“.) Střevli potoční (*Phoxinus phoxinus*) můžeme na základě morfometrických znaků rozdělit na dvě skupiny – evropskou a sibiřskou. Střevle z evropské části mají vyšší minimální výšku těla, méně paprsků v prsních ploutvích a vyšší hřbetní ploutev (Řepa, Pivnička 1980). Morfometrické rozdíly byly zaznamenány i u ryb v naší oblasti. Střevle z povodí Odry mají nižší ocasní násadec oproti střevlím z povodí Labe (Lohniský 1964). Dále se popisují dva charakterizovatelné poddruhy, a to *Ph. phoxinus colchicus* (syn. *Ph. phoxinus strandjeae*) ze západního Zakavkazí a *Ph. phoxinus ujmonensis* (syn. *Ph. phoxinus carpathicus*) vyskytující se v oblasti Altaj v povodí Obu v Rusku (Dušek 2003). Náš jediný druh střevle potoční spolu se střevlí bahenní a dalšími druhy z Asie vytváří

skupinu 15 druhů rodu *Phoxinus*. Severoamerické střevele *Phoxinus eos* a *Ph. neogaeus* byly řazeny do rodu *Chrosomus* (Scott, Crossman 1973), avšak Banarescu (1990) nechává starší zařazení v rodu *Phoxinus*. Rovněž Nelson (2006) zařazuje tyto druhy do holoarktického druhu *Phoxinus*.

O velké variabilitě střevelí potočných svědčí i relativně vysoká úroveň vnitrodruhového genetického polymorfismu (Šlechta et al. 1998). Genetická variabilita střevele v Evropě není zatím popsána příliš podrobně. Hänfling, Brandl (2000) popisují polymorfismus alozymů v souvislosti s ostatními zástupci kaprovitých ryb a rod *Phoxinus* řadí jako sesterský taxon všech rodů podčeledi Leuciscinae. Podobných výsledků bylo dosaženo i analýzou mitochondriální DNA (Briolay et al. 1998; Gilles et al. 1998, 2001; Zardoya, Doadrio 1999; Zardoya et al. 1999). Společně s několika severoamerickými rody tvoří tribus Phoxinini; severoamerické druhy rodu *Phoxinus* pak vytvářejí hybridní komplexy, jejichž genetická struktura je popisovaná např. v článcích Letting et al. (1999) pomocí alozymů, Toline, Baker (1995); Simons, Mayden (1998); Simons et al. (2003); Doeringsfeld et al. (2004) a další pomocí analýzy mitochondriální DNA.

Podobně jako u jiných druhů drobných evropských ryb, není však skutečná druhová diverzita střevele dostatečně prozkoumána a počet druhů střevelí bude jistě vyšší, proto výše uvedené skutečnosti se vztahují ke konzervativnímu shrnutí literárních údajů.

3.3. Rozmnožování

O rozmnožování střevele bylo již mnoho napsáno, avšak většina údajů o způsobu výtěru je velmi rozdílná. Střevele je považována za druh s litofilní a limnofilní ekologickou valencí, která klade jikry na písčité až kamenité dno (Mužík, 1998). Je zřejmé, že celý proces rozmnožování je ovlivňován světelnou intenzitou dne, přítomností druhého pohlaví, ale především teplotou. Jsou známé údaje o výtěru střevele na ponořené kořínky (Podubský, Štědroňský 1956; Dyk 1983), na bahnitěm substrátu (Dyk 1983; Dušek 2002). Bylo pozorováno tření v mělkých, rychle tekoucích vodách (Roussel, Bardonnnet 1997). Všeobecně však střevele preferuje místa s mírným proudem, nízkým sloupcem vody (i mělčiny, na kterých střevelím vyčnívají hřbety) se šterkovým substrátem. Do těchto trdlišť krátce migrují. Velmi precizně zdokumentovaný výtěr v laboratorních podmínkách je od Blessa (1992). Podle těchto záznamů střevele jednoznačně preferuje šterk o zrnitosti 2-3 cm, proudění vody 0, 3 m/s. Dále je zde velmi vhodně popsáno i chování samců a samic před samotným výtěrem. Střevele

se rozmnožuje také v jezerech a rybnících. V těchto stojatých vodách se shromažďuje u přítoku a krátce migruje proti proudu, kde se vytírá na vhodném substrátu.

Podle většiny autorů střevle dospívají ve 2 letech života. Podle Millse a Elorenta (1985) dospívá ve 2. letech 92% populace. Plodnost samic je přímo závislá na stáří a tudíž na velikosti (Dušek, 2003). Relativní plodnost je vyšší u mladších ryb. Před dobou tření v době zralosti gonád tvoří jikry 17% hmotnosti z celkové hmotnosti (Papadopol, Weinberger 1975). Velmi velké rozdíly v názorech autorů jsou u počtu jiker. Podle Dyka (1946), Kirillova (1972) mají střevle jen 50 – 700 jiker, podle jiných autorů okolo tisíce (Starmach 1963), v jiných záznamech až několik tisíc - až do počtu 5515 (Podubský, Štědranský 1956; Balon 1966; Řehulka 1970).

Výtěr střevle je dávkový. Podle různých autorů se období mezi jednotlivými výtěry velmi liší. Zpravila se třou dvakrát až třikrát za rok (Podubský, Štědranský 1956), ale Papadopol a Weinerberger (1975) píše o 4 - 5 opakováních v intervalech asi po 15 dnech. V našich podmínkách je počátek rozmnožování v nížinách situován na konec dubna při teplotě vody okolo 10°C. V chladnějších oblastech na severu nebo u nás ve vyšších polohách se období výtěru posouvá až na květen (Dyk 1983). Poslední výtěry se datují k červenci (Podubský, Štědranský 1956). Je znám i případ výtěru v říjnu (Dušek 2002; Vladykov 1927), což je pro evropské podmínky velmi netypické a úspěšnost tohoto rozmnožování je velmi nejistá.

Podle Duška (2003) je toto možné přisuzovat jako ochranu před pstruhem potočným při vlastním rozmnožování, který v době rozmnožování preferuje jinou složku potravy a nepoživá shloučené střevle přímo na jejich trdlišti. U střevle potoční je asynchronní dozrávání oocytů (Papadopol, Weinerberger 1975), což znamená, že vaječníky jsou v celé sezóně v postupné fázi dozrávání. Na vypitvaných vaječnicích z doby května až června může pozorovat nerovnoměrně rozmístěné dozrálé a nedozrálé jikry (tato nepravidelnost může být způsobena porušením celistvosti vaječniců při vyjímání malých gonád z těla ryby). Většinou můžeme pozorovat čtyři různé velikosti:

- jikry velké 0, 9-1, 2 mm, sytěji zbarvené, obsahující více žloutku, představující asi 25% celkového kusového množství
- jikry velké 0, 4-0, 7 mm, nažloutlé, vytřeny v následném výtěru
- jikry velké 0, 1-0, 3 mm, postupně dozrávající
- jikry menší než 0, 1 mm, většinou se nepočítají do celkového počtu, neboť se v celku ani nedají spočítat (Dušek 2003), a je možné, že doby zralosti dosáhnou následující rok (Papadopol, Weinerberger 1975)

3.4. Růst

Po vykuklení je plůdek 4 mm dlouhý, v 7 – 9 dnech 11 mm a v 17 dnech 14 – 15 mm; v měsíci dorůstá 16 – 17 mm a v 1, 5 měsíci 24 – 25 mm (Papadopol, Weinerberger 1975). Průměrný růst střevlí na našem území podle Tučka (1964), Řehulky (1970), Duška a Švátory (2002) po každoročním uzavření anulu (duben) je po 1. roce od 38 do 40 mm, v 2. roce od 47 do 78 mm, ve 3. roce od 59 do 100 mm. Největší rychlost růstu je vykazována v prvních dvou letech do dosáhnutí pohlavní dospělosti jako u ostatních kaprovitých ryb (Papadopol, Weinerberger 1975). Podle záznamů se již růst v pozdějších letech velmi zpomaluje, až možná zastavuje. Ale nesmí se zapomínat na určování věku, které často k těmto velikostním rozměrům není dodáváno a nebo je velmi zkreslováno. Za maximum na území ČR je možné považovat záznam Hanela (1995) – jednalo se o jedince velikosti 130 mm a 27g. Věk se dobře určuje podle počtů anulů šupin pod mikroskopem. Velikost střevlí musíme vždy vztahovat k úživnosti daného toku, ale v prvním roce nebyly shledány velké rozdíly v růstu z lokalit z vysoké n. m. v., či v klecovém odchovu apod. (Dušek 2003).

Pohlaví se také rozlišují rychlostí růstu a dosaženým věkem. Samci rostou první dva roky pomaleji než samice a méně se jich dožívá 4. roku života. Při studiu starší populace je početní převaha samic nad samci (samice se dožívají 5. let). V průběhu prvních dvou let je početnost pohlaví vyrovnaná (Dušek 2003).

3.5. Nároky na životní prostředí

Střevle obývá především čisté oligosaprobni bystřiny, ale také β -mesosaprobni vody (Dyk 1983; Dušek 2003) Můžeme ji nalézt v pstruhovém a lipanovém pásmu. V případě kvalitní, čisté a na kyslík bohaté vody, ji můžeme nalézt v nižších polohách v horních částech parmového pásma. V horských a podhorských oblastech se vyskytuje až do 800 m n. m. v oblasti Šumavy (Dyk 1983) nebo např. v Bavorsku přes 2000 m n. m. ve Funtensee (Siebold 1863). Střevlí nalezneme v tůních, říčních ramenech, průtočných rybnících, údolních nádrží, jezerech, ale i v malých tůních se špatným kyslíkovým režimem, kde dochází k průplachu jen v obdobích zvýšeného průtoku.

Jedním z hlavních faktorů jejího výskytu je kyslík (Starmach 1963). Střevle potřebují přes 7 mg/l, při koncentracích pod 5 mg/l projevují neklid (Papadopol, Weinerberger 1975). Snášejí dobře vápencové toky s velmi tvrdou vodou, snesou také krátkodobé okyselení, ale

nepřežívají okyselení k pH = 4, 5 (Dyk 1983). Rozmnožují se při pH > 5, 5. V běžných tocích, kde se střevle vyskytovala, byly naměřené hodnoty pH mezi 6, 2 a 7, 4, alkalita 0, 38 – 2, 8 mmol/l, karbonátová tvrdost 1, 08 – 3, 8 mmol/l, spotřeba KMNO₄ 18, 3 – 41, 7 mg/m³, nejvyšší teplota vody byla 15 – 17 °C. Toto teplotní rozhraní určuje přechod střevle mezi stenothermním a eurythermním druhem (Dyk 1983; Dušek 2003).

3.6. Potrava a predace

Plůdek přijímá potravu od 7. do 9. dne ve velikosti okolo 11 mm po strávení žloutkového váčku. V tomto období se stává pelagickým a aktivně vyhledává potravu – mikroskopický plankton (Dyk 1952; Bless 1992). Pro potěr je nejdůležitější potravu složená z vířníků, od velikosti 18 mm začíná konzumovat i pakomárovité (*Chironomidae*). Dospělec je omnivorem s oligo- až mezosaprobni valencí (Mužík 1998), konzumují vše od nejmenších částí až po velká sousta. Mladí jedinci do jednoho roku jsou čistě planktonofágní, nepřijímají řasy, ani jiné menší larvy. Nejvíce však loví semibentický a v případě výskytu v jezerech pelagický zooplankton (Husko, Sutela 1997) a bentické larvy hmyzu v závislosti na dostupnosti podle ročního období nebo podle lokality. V letním období jsou hlavní složkou potravy starších jedinců (1+ a více) řasy (Hochman 1957; Straškraba 1966; Řehulka 1970; Maitland 1965). Podle těchto autorů jsou řasy konzumovány jen v krátkém letním období při nejvyšším rozmachu řas ve vodním toku. Dále podle Duška (2002) střevle držená v akváriu přijímá řasy celoročně a jsou hlavní a nedílnou složkou její potravy.

Maitland (1965) v porovnání s dalšími druhy – pstruh, losos, mřenka - došel k závěru že společnou složkou potravy jsou jen blešivci a hmyz rodu *Baetis* a *Orthocladius*. Straškraba (1966) zaznamenal, že pstruh, vranka i střevle mají rozdílné potravní zvyky. Dyk (1983) připouští potravní konkurenci střevle s lososovitými rybami, ale vzhledem k jedinému zhodnotiteli řas ve vodním toku, přisuzuje střevli velmi důležité místo v potravním řetězci. Že si střevle nekonkuruje v potravě se pstruhy potvrzuje i zjištění, že po celý rok vykazuje stejné kondiční parametry nezávisle na přítomnosti pstruhů (Dušek 2002). V laboratorních podmínkách byla zjištěna přímá závislost příjmu potravy na teplotě vody a při nižších teplotách zvýšená aktivita i ve dne (Greenwood, Metcalfe 1998).

Predace velmi ovlivňuje výskyt střevle. V našich podmínkách mezi časté predátory můžeme zařadit i jelce tlouště, okouna říčního, štika obecnou v případě, že se v lokalitě

vyskytují. Hlavním predátorem je však pstruh obecný, dále pak pstruh duhový, siven americký a mník jednovousý. Z ptáků to může být lednáček říční a volavka popelavá.

V mnohých případech byly populace střevlí zdecimovány jen díky silnému vysazování pstruhů do vodních toků (Lusk 1993). Důvodem neúspěchu při osidlování dolních úseků řek střevlí byl pravděpodobně predační tlak jelce a štiky (Štědranský 1956).

V laboratorních podmínkách bylo zjištěno, že střevle poznávají predátora podle tvaru a velikosti, dále podle barvy, na málo přesné modely si rychle zvykají (Dušek 2003).

Jako hlavní ochrana proti predátorům je u střevle shlukování do hejn. Hejna jsou tvořena zvláště ze skupin mladších a skupin dospělých ryb. Při vyrušení nebo útoku predátora vyhledávají střevle úkryt a dlouho v něm setrvávají, dokonce déle než mnohé druhy. Delší dobu se ukrývají větší jedinci než menší (Krausse et al. 2000).

Již v 19. století byla Fričem zjištěna reakce střevlí na uvolněnou látku z kůže střevlí, který byla nazvána „Schreckstoff“. Pozdějšími a přesnějšími pokusy bylo toto tvrzení prokázáno. Byla potvrzena reakce na 1 mg poškozené kůže ve 150 l akváriu. Ryby se po 30 vteřinách shlukly do hejna a propukla panika (Dmitrijev 1990). V akvarijských podmínkách byla zjištěná působící koncentrace na úrovni $1: 8 \times 10^{-10}$. Irving a Magurran (1997) ji však nepovažují za varovnou látku, neboť podle nich v přírodě nemá takový vliv.

Všeobecně je tato varovná látka (Schreckstoff) dalším antipredačním mechanismem. Při poranění predátorem ji ryby uvolňují do okolí a ostatní střevle se poté shlukují do hejn (Krause et al. 2000). Ne vždy je vylučování této látky naprostou ochranou - například při ulovení střevle velkým predátorem – velkým pstruhem, či štikou, kdy je střevle pozřena naráz a látka se nestačí uvolnit. Dostačující ochranou je v případě útoku přiměřeně velkého predátora, který po uchopení střevle si ji ještě zpracovává a postupně polyká. Pstruzi této velikosti jsou ale nejhojnější a způsobují největší škody na populaci střevlí. Právě proto je tento mechanismus dostatečně ochranný (Dušek 2003). Přesto vše jsou střevle velmi rychle v únikových reakcích před predátory, dokonce i samice s menší pohyblivostí s velkou pravděpodobností dokážou uniknout před pstruhy (Řepa 1971).

3.7. Chování a tvorba hejn

Střevle je sociálním druhem, který žije po celý rok v hejnu, které může být až několika tisícové. Jednotlivé skupiny, menší hejna, jsou z ryb přibližně stejného věku a velikosti. V malých tocích, při malé početnosti populace vytvářejí malá hejna závislé na malé

tůni a jednom či dvou úkrytech, nebo žijí skrytým životem. Při tomto způsobu života jsou méně aktivní (Papadopol, Weinerberger 1975).

Během celého vegetačního období se zdržují při hladině nebo v příbřežních partiích. Při nebezpečí ze strany predátorů nebo menším vyrušení, při zhoršeném počasí se sdružují v hlubších partiích toků nebo v úkrytech (Dušek 2003). Mladší ryby při vyrušení nezůstávají v úkrytu příliš dlouho (řádově několik málo minut), starší ročníky se schovávají i několik desítek minut po již odezněném nebezpečí. S postupným ochlazováním se stahují do hlubších tůní a schovávají se pod úkryty do spadaneho listí. Tohoroční jedinci mohou přečkat zimu i v mělkých partiích v pobřežním systému kořínků (Roussel, Bardonnet 1997). Roční cyklus je přímo závislý na teplotě vody a při teplotách pod 8 °C jsou střevle aktivnější v noci (Peňáz 1975) a přes den vyhledávají úkryt. Hlavními predátory jsou druhy s denní aktivitou, a proto ryby s únikovou rychlostí závislou na teplotě vody shánějí potravu raději v noci (Husko, Sutela 1997). I v zimním období mají krátkou denní aktivitu, která je nutná pro sehnání malé části potravy a zachování metabolismu. Rychlost plavání se v zimě razantně snižuje (Woodhead 1956). Juvenilní jedinci a ročci mají především denní aktivitu během celého roku a až ročci v zimním období začínají vykazovat noční aktivitu. Střevle potoční vykazují změny aktivity během dne v závislosti na ročním období, teplotou vody a věkem jedince. Důvody k tomuto chování je souvisejí s potravní aktivitou, rozmnožováním a antipredačním mechanismem (Dušek 2003).

Musíme brát v úvahu, že většina pokusů týkající se chování střevle byla prováděna v laboratorních podmínkách, které nebyly totožné s přirozeným prostředím a naopak v přirozeném prostředí je složité pozorovat chování střevlí. Griffiths (1997) zaznamenal, že při shlukování do hejn dávají střevle přednost příbuzným jedincům. Jones (1956) zkoumal vliv světelné intenzity. Při nižším světelném osvětlení se hejna rozpadala. Magurran a Pitcher (1983) potvrdili, že největší vliv na chování má velikost hejna. Malá hejna se více schovávala v úkrytech, větší hejna plavala více při hladině a v otevřeném vodním sloupci. V akvariálních podmínkách byla také zaznamenána schopnost zabírat jakési domovské okrsky (Kennedy 1981) což potvrdil Dušek (2002) při pozorování značených střevlí, které vykazovaly „věrnost“ svým tůním.

Velmi zajímavě jsou popsány migrace střevlí na malém území v rámci 7 malých nádrží vzájemně propojených na území CHKO Slavkovský les (Horáček et al. 2002). Při těchto migracích střevle překonávaly i stupně vysoké 15cm. Nejpravděpodobnější období migrací spadá do doby před třením na jaře a v létě proti proudu na trdlišti. Tyto migrace nejsou nijak dlouhé, nejvýše v řádu sta metrů. Ve větších řekách migrují při břehových partiích (Baruš, Oliva

1995), v jezerech a rybnících vytahují k přítokům nebo nalézají jen vhodný substrát. Při větších povodních byly zaznamenány i přesuny po proudu (Lojkásek et al. 2000) nebo i v průběhu roku (Dušek 2002). Je to jeden ze způsobů jak může střevle kolonizovat vodní tok v případě, že v novém prostředí nejsou vhodné podmínky.

3.8. Chov

Z historie mnoho záznamů o chovu střevle nemáme, vlastně nejsou skoro žádné, jelikož byla brána jako plevelná ryba. Jediné záznamy píší jen o výskytu střevle a o její vhodnosti jako krmiva pro generační pstruhy. Byly ale snahy o umělé chovy, a to vysazováním odlovených generačních ryb do pstruhových rybníčků, kde potěr sloužil jako krmivo pro pstruhy (Frič 1875).

Je jisté, že pro repatriační programy nestačí střevle odlovované z volných vod a bude nutné je v kontrolovaných podmínkách cíleně rozmnožovat a odchovávat. Pro odchov střevle jsou dostačující menší rybníky do jednoho hektaru, které jsou pro chov ostatních kaprovitých ryb studenější a pro chov lososovitých ryb se v letní sezóně příliš ohřívají. Rybníky by neměly být příliš mělké, 1 – 3 m u výpusti pro snadné přezimování. Břehy porostlé vzrostlými stromy, které budou částečně zastiňovat vodní hladinu a listový opad bude sloužit jako vhodný substrát pro zimování (Dušek 2003). V případě chovu na vhodných tocích je vhodné tok lépe upravit a zvýšit četnost úkrytů apod. Dobrým řešením jsou menší stupně hrazené kulatinou s výřezem.

Před vysazením generačních ryb do vybraného toku je účelné předem odlovit větší pstruhy a další rybí predátory.

3.9. Legislativní ochrana

Střevle byla hojná na všech našich tocích. Nebyla považována za nějak cennou a hospodářsky významnou rybu. Až v polovině 20. století docházelo k úbytkům střevlí. Největší vliv na tento zlom byl ve změně jejich životního prostředí ve změně toků – regulační dláždění, změně zemědělského využívání přilehlých pozemků, na kterých docházelo k velké erozní činnosti a změně rybářského hospodaření na vodních tocích – revírech.

V historii byla brána jako plevelná ryba pstruhových toků a bývala hájena jen podle rybářského řádu od 15. 3. do 15. 6. (Dyk 1952). Již v roce 1981 byla Barušem označena jako

druh velmi rychle se ztrácející. V roce 1989 byla na základě těchto zjištění o snižujících se stavech seřazena do Červené knihy ČSSR do kategorie „indeterminate“, jen jako druh vyžadující pozornost. Později bylo požádáno o zařazení do kategorie „vulnerable“ s individuální ochranou dle rozdílných situací v daných lokalitách. Podle aktualizovaného Červeného seznamu mihulí a ryb ČR (Hanel, Lusk 2003) je uvedena v kategorii „vulnerable“ (VU) dle IUCN (1994), kam patří zranitelné druhy, jež nejsou kriticky ohrožené ani ohrožené, ale budou v blízké době čelit nebezpečí vyhynutí (Hanel 1995).

Podle platné legislativy ČR, konkrétně zákona č. 114/1992 Sb. o ochraně přírody a krajiny, a jeho prováděcí vyhlášky č. 395/1992 Sb., je střevle potoční druhem zvláště chráněným v kategorii „ohrožené“. Na území ČR je střevle dále v současnosti hájena celoročně podle Rybářského řádu ČRS. V soustavě NATURA 2000 není střevle potoční druhem, pro který by měla být vyhlášena zvláště chráněná území -SAC – Special Areas Conservation (Dušek 2003).

4. Materiál a metodika

4.1. Sběr materiálu

Střevle byly odloveny pomocí elektrolovu a převezeny do ÚŽFG v Liběchově. Odchyt byl vždy povolen příslušnými orgány ochrany přírody.

Populace byly vybrány podle dostupnosti a se snahou co nejlépe výběrem pokrýt všechna tři hlavní povodí na území naší republiky (Labe, Odra, Dunaj), protože vzhledem k odlišné geografické historii různých oblastí můžeme předpokládat i odlišnou genetickou strukturu populací. Byly využity i vzorky které již byly uchovávány na ústavě v mrazících boxech. Seznam vzorků je uveden v tab. č. 1. a na obr. č. 1. (Vzorky označené * byly uchovávány na ÚŽFG v Liběchově a získány za pomoci pracovníků ÚŽFG v Liběchově; vzorky označené ** byly odloveny a dovezeny doc. Ing. Stanislavem Luskem, CSc.; ostatní vzorky byly získány autorem.)

Tabulka č. 1.: Přehled lokalit a vzorků populací střevle potoční zahrnutých ve studii

Poř. č.	Označení	Lokalita	Povodí řeky	N
§		Brlenka*	Odra	6
§		Kateřinský potok – Tachovsko*	Dunaj	3
1	DS01	Teplica – Turiec*	Dunaj	12
2	DS05	Jizera*	Labe	10
3	DS06	Wadowice – Skawa*	Wisla	23
4	DS07	Osoblaha*	Odra	15
5	DS08	Rožnov – Rožnovská Bečva*	Dunaj	39
6	DS09	Vsetín (střelnice) – Vsetínská Bečva*	Dunaj	54
7	DS10	Bratřejůvka – Vsetínská Bečva*	Dunaj	45
8	DS11	Lubotínka – Poprad*	Wisla	46
9	DS13	Ulička*	Dunaj - Tisa	14
10	DS14	Ublianka – Ubl'a*	Dunaj - Tisa	6
11	DS15	Udava*	Dunaj - Tisa	12
12	DS16	Vlček - Pramenský potok	Labe	34
13	DS17	Bavorov – Blanice	Labe	31
14	DS18	Kapelunk - Novohradské hory	Labe	30
15	DS19	Smědá - Jizerské hory	Odra	30
16	DS20	Jiřická nádrž - Novohradské hory	Labe	30
17	DS21	Žichovice - Otava	Labe	21
18	DS22	Třinec – Olše**	Odra	24
19	DS23	Janov – Vsetínská Bečva**	Dunaj	29
20	DS24	Vlára – Váh**	Dunaj	17

§ = příliš malý počet analyzovaných ryb – nezahrnuto do výpočtů

4.2. Zpracování vzorků

Odchycené ryby byly pod kyslíkem převezeny do laboratoře a před zpracováním usmrceny vysokou dávkou anestetika (Menokain). Poté byly fotografovány pro případné další morfometrické studie vybraných jedinců pomocí počítačových programů (analýza relativních deformací, Thin Plate Spline Relative Warps, TPSRW).

Usmrceným jedincům byly odebrány vzorky svalové a jaterní tkáně o hmotnosti cca 0, 2 g, ke každému přidáno určité množství extrakčního pufru (0, 1 mol. l⁻¹ Tris. HCl pH 8, 2 - Valenta et al., 1971), a to vždy v poměru 1: 1 u jaterní a 2: 1 u svalové tkáně. Tyto vzorky jsou dlouhodobě uchovávány při teplotě -70 °C, kadavery pak při -20 °C.

Zároveň byly odebrány vzorky svalové tkáně a ploutve pro případnou budoucí analýzu DNA, která by mohla navazovat na tuto studii.

4. 3. Detekce variability proteinů

Proteinová variabilita byla detekována pomocí gelové elektroforézy. Jedná se o první široce použitelnou metodu studia genetické proměnlivosti a její vznik v 50. letech 20. století způsobil revoluci v chápání mikroevolučních a makroevolučních procesů, v porozumění genetické variabilitě uvnitř přírodních populací, fylogenetickým vztahům, tokům genů, hybridizaci, zkoumání druhových hranic a porozumění dalším problémům (Smithies 1959).

Tato metoda je založena na pohybu makromolekul v elektrickém poli. Pohyb proteinů způsobují kladně (Arg, Lys, His) a záporně (Asp, Glu) nabitě postranní řetězce aminokyselin, přitahované k záporné katodě a kladné anodě. Pohyb makromolekuly je dále určován její konformací, celkovým nábojem a pH pufru použitého při elektroforéze.

Iontový pufr stabilizuje elektrický náboj prostředí, zprostředkovává iontová spojení mezi elektrodami a gelem a redukuje interakce mezi nabitými postranními řetězci proteinů s nabitými skupinami v gelu. Pufr je přidáván do samotného gelu již před jeho přípravou a rovněž tvoří prostředí elektrodového mostu. Při enzymové elektroforéze bývá využíváno velké množství různých pufrových systémů (Hillis et al. 1996). Ty jsou empiricky testovány pro efektivitu s jednotlivými organismy, typy tkání a enzymy (May 1993).

Aminokyselinové sekvence proteinů se mění v důsledku mutací v kódujících DNA sekvencích. Tyto mutace mohou pozměnit tvar a náboj, právě tak jako katalytickou schopnost a stabilitu proteinů (Hillis et al. 1996). Předpokládá se, že všechny alely v lokusu jsou kodominantní, tzn. exprimované.

Základní metody elektroforézy jsou vertikální, horizontální (nejrozšířenější) a kapilárová. Dále je můžeme rozdělit na elektroforézy v kontinuálním pufru, v diskontinuálním pufru (multifázická), izotachoforézu, izoelektrickou fokusaci, denaturační elektroforézu v močovině a SDS, dvourozměrnou [2 – D] (Hillis et al. 1996). Jako nosiče jsou používány škrob (pohyb závisí na velikosti částic a náboje) (Smithies 1955), celulózoacetát, agar, agaróza (pohyb závisí pouze na velikosti náboje), polyakrylamid -pohyb závisí na velikosti částic a náboje (Hillis et al. 1996).

Barvicí metody lze rozdělit do šesti hlavních skupin: chromogenické, fluorogenické, radioaktivní, chemické detekce, barvy elektronového transferu, enzymového spojení (Hillis et al. 1996).

Aby byla dlouhodobě uchována aktivita jednotlivých enzymů (minimálně 3 roky), musí být vzorky uchovávány za stabilní teploty hluboko pod bodem mrazu (-70°C). Častější rozmrazení a následné zmrazení vzorku mívá za následek nejen snížení aktivity analyzovaných enzymů, ale může narušit kompartmentaci buňky až do té míry, že se začnou tvořit i mezilokusové izozymové kombinace.

Elektroforéza enzymů i neenzymatických proteinů poskytuje dva typy dat – data získaná analýzou izozymů a data alozymová. Termín izozym (izoenzym) byl zaveden Markertem a Mollerem (1959) a vztahuje se k jakémukoli proužku - elektromorfě daného enzymového systému na gelu. Označuje všechny funkčně podobné formy daného enzymu včetně všech polymerů složených z podjednotek, kódovaných buď různými lokusy, nebo různými alelami téhož lokusu. Pojem alozym byl zaveden později Prakashem et al. (1969) pro tu část izozymů, které jsou variantami polypeptidů představujícími různé alelické varianty jednoho lokusu (jsou kódovány různými alelami téhož genu). U heterozygotů jsou tedy jako alozomy označovány pouze extrémní proužky (nejrychlejší a nejpomalejší), tj. ty, které se objevují jako jeden pruh u homozygotů. Všechny proužky mezi nimi (u multimerních enzymů) jsou izozymy představující různé kombinace produktů obou alel (Powell 1994).

Tato metoda má několik omezení. Je zde problém s homologizací pruhů, neboť stejné elektromorfy nemusejí představovat ortologní proteiny. Pouhá třetina neredundantních substitucí vede k změně elektrického náboje. Nelze detekovat mutace, které nejsou translatovány. Nejsou zachyceny nekódující sekvence. Lze prokázat pouze rozdíly, nikoliv shody. Metoda je použitelná pouze pro rozpustné (většinou globulární) proteiny (Hillis et al. 1996). Kromě toho vyžaduje nedenaturované vzorky – tedy buď čerstvé nebo uchovávané při co nižší teplotě. Oproti tomu je alozymová / izozymová elektroforéza metodou poměrně

levnou, rychlou, dobře fungující a s velmi nízkým rizikem kontaminace (Kocher, Stepien 1997).

Pro rozlišení jednotlivých alel se používají číselné hodnoty (v %) vyjadřující jejich relativní pohyblivost v gelu při elektroforéze. Tyto hodnoty se většinou vztahují k alele, která se objevuje u zkoumaného taxonu s nejvyšší frekvencí. Relativní pohyblivost této alely se označuje jako 100 % (Shaklee et al. 1990).

Při dostatečném úsilí většinou lze, díky novým mutacím, v populacích detekovat vzácné alely. Jejich význam pro evoluční změny je zanedbatelný, neboť bývají brzy eliminovány náhodným driftem nebo selekcí. Proto bylo zavedeno arbitrární kritérium, pomocí kterého je polymorfismu definován. Jako polymorfni označujeme takový lokus, u kterého frekvence nejpočetnější (obecné) alely dosahuje nejvýše 95% [p L 0, 95]. V případě analýzy vzorků s vysokými počty jedinců bývá někdy aplikováno citlivější kritérium polymorfismu s frekvencí obecné alely 99% [p L 0, 99] (Hartl, Clark 1997).

4. 4. Postup

4. 4. 1. Příprava vzorků

Před samotnou analýzou bylo ke každému vzorku o hmotnosti 0, 1 až 0, 2 gramu přidáno určité množství extrakčního pufru (0, 1 mol. l⁻¹ Tris. HCl pH 8, 2 - Valenta et al. 1971), a to vždy v poměru 1: 1 u jaterní a 2: 1 u svalové tkáně (objem pufru: hmotnost vzorku), a vzorky byly homogenizovány laboratorním homogenizátorem Ultra-Turrax (IKA-WERKE) v ledové lázni. Poté byl homogenát odstředěn v centrifuze (4°C, 11 000 rpm, 20 min.). Takto získané tkáňové extrakty byly pak přímo analyzovány, nebo byly uloženy v hlubokomrazícím boxu pro další použití.

4. 4. 2. Elektroforéza

Enzymy byly děleny horizontální elektroforézou (VN zdroj, Vývojové dílny ČSAV) v 9% škrobovém gelu. Ten vznikl smísením 37, 08 (40, 44) g hydrolyzovaného škrobu a 300 (400) ml příslušného gelového pufru ve vakuové zábrusové baňce s kulatým dnem. (Údaje v závorkách udávají množství potřebná pro vznik gelů o mocnosti 6 mm.) Směs byla za stálého míchání ve vodní lázni ohřáta na 85°C, načež byla vodní vývěvou odvdzdušněna.

Tabulka č. 2.: Složení elektroforetických pufrů a podmínky elektroforézy

Označení pufru	Složení	
V	gelový pufr:	elektrodotový pufr:
	0,026 M Tris (15,7g) 0,007 M kys. citronová (7,3g) doplnit do 5 000 ml dest. vodou pH 7,4	0,426 M Tris (257,9g) 0,063 M kys. citronová (66,2g) doplnit do 5 000 ml dest. vodou pH 8,6
	hodnota nastavení: 180V, 50 mA na 2 gely, 17 hodin v lednici	
MC2	zásobní roztok: 0,08 M kys. citronová (84,05g) doplnit do 5 000 ml dest. vodou pH upravit na 6,2 aminopropylmorfolinem	
	gelový pufr:	elektrodotový pufr:
	100 ml zásobního roztoku doplnit do 2 000 ml dest. vodou	neředěný zásobní roztok
hodnota nastavení: 200V, 50 mA na 2 gely, 17 hodin v lednici		
F	zásobní roztok A: 0,0147 M kys. citronové (2,85g bezvodé nebo 3,1g s krystalovou vodou) doplnit do 1 000 ml dest. vodou	
	zásobní roztok B: 0,05 M LiOH (11,97g bezvodý nebo 20,98g s krystalovou vodou) 1,9 M kys. boritá (117,5 g)	
	doplnit do 1 000 ml dest. vodou	
	gelový pufr:	elektrodotový pufr:
	270 ml roztoku A 6 ml roztoku B doplnit do 1 000 ml dest. vodou	200 ml roztoku B doplnit do 1 000 ml dest. vodou
	hodnota nastavení: 350-400V, 50 mA, 5-6 hodin v lednici, chlazení vodou	
Po	gelový pufr:	elektrodotový pufr:
	0,076 M Tris (9,21 g) 0,005 M kys. citronová (1,05 g) doplnit do 1 000 ml dest. vodou pH upravit na 8,7	0,3 M kys. boritá (18,55 g) doplnit do 1 000 ml dest. vodou pH upravit na 8,2 pomocí NaOH
	hodnota nastavení: 160V, 50 mA na 2 gely, 17 hodin v lednici	

V = Valenta et al. (1971)

MC2 = Clayton, Tretiak (1972)

F = Ferguson, Wallace (1961)

Po = Poulík (1957)

Tekutý gel byl nalit do předem připravených forem o rozměrech asi 260 x 120 x 4 (6) mm, tvořených skleněnou deskou, skleněnými postráňky na delších stranách a gumovými na kratších, a opatrně přiklopen druhou skleněnou deskou. Po ztuhnutí byla deska, která tvořila původně dno formy odstraněna a nahrazena plastovou folií, která má zamezit vysychání gelu.

Vzorky byly do gelu, rozkrojeného napříč 3, 5 cm od okraje, který je během elektroforézy blíže zápornému pólu, vnášeny pomocí chromatografického papírku (Whatman 3MM; velikost 7, 0 x 5, 5 mm) v množství 11 kusů / gel. Pro kontrolu, zda elektroforéza běží správně, byla k některým vzorkům přidána bromfenolová modř (BFB), která putuje směrem k anodě rychleji než proteiny. Elektroforéza probíhala za teploty 5 °C v chladničce. Gely během elektroforézy přes den je nutno chladit vodou. Pro analýzu proteinů bylo použito několika pufrových systémů, jejichž složení je uvedeno v tab. č. 2. Hodnoty udávají napětí a proud při použití gelů o mocnosti 6 mm, z nichž lze rozkrojením získat 3 barvicí plochy.

4. 4. 3. Barvení

Alozymy byly detekovány pomocí standardních chromogenických metod. AK, CK, GPI, PGM a SOD byly barveny dle Pasteura et al. (1987), MDH, LDH podle Valenty et al. (1971), α GPDH, GOT, IDH dle Harrise a Hopkinsona (1976).

Vzhledem k efektu tzv. elektrodekantace, při kterém se s postupujícím časem proteiny o vysoké molekulové hmotnosti postupně „propadají“ na spodní stranu gelu, což může způsobit jejich slabou či nedostatečnou koncentraci v horních vrstvách, byly pro slaběji se barvicí proteiny (MDH, LDH) použity spodní části gelů.

Každý obarvený gel byl vyfotografován, elektromorfy zakresleny a obarvený agarózový gel sloupnut na filtrační papír, usušen, vylišován i s podkladem nalepen do protokolu vedle nákresu.

Tabulka č. 3.: Detekce enzymových systémů *

pufrový systém	jaterní tkáň	svalová tkáň
V	<u>GPI</u> , <u>PGM</u> , GOT <u>MDH</u> , <u>αGPDH</u> , LDH	<u>GPI</u> , <u>GOT</u> , AK <u>MDH</u> , <u>αGPDH</u> , LDH
Po	<u>LDH</u> , <u>PGM</u> , SOD	<u>MDH</u> , <u>GOT</u> , IDH
MC2	<u>MDH</u> , <u>GOT</u> , IDH	<u>GPI</u> , <u>PGM</u> , CK
F	SOD	

* = spodní gel, střední gel, vrchní gel,

4. 4. 4. Složení barvicích roztoků

LDH: laktát dehydrogenasa, E. C. klasifikace - 1. 1. 1. 27.

- v mikrovlnné troubě rozvaříme 0, 3 g agaru se 30 ml 0, 1 M TRIS-HCl pufru pH 8, 2 *
na míchačce přidáme:
- 10 ml 0, 05 M pyrofosfátu sodného
 - 2 ml 1 M mléčnanu sodného pH 8, 5
 - po ochlazení na přibližně 40 °C přidáme 15 ml „barvičky“ (200 mg NAD, 150 mg NBT, 20 mg PMS ve 150 ml destilované vody)

dobře promícháme a rovnoměrně rozprostřeme na oba gely. Inkubujeme v termostatu při 37 °C do intenzivního vybarvení.

MDH: malát dehydrogenasa, E. C. klasifikace - 1. 1. 1. 37.

- v mikrovlnné troubě rozvaříme 0, 3g agaru se 30 ml 0, 1 M TRIS-HCl pufru pH 8, 2
na míchačce přidáme:
- 10 ml 0, 05 M pyrofosfátu sodného
 - 2 ml 1 M jablečnanu sodného pH 8, 5-9
 - po ochlazení na přibližně 40 °C přidáme 15 ml „barvičky“ (200 mg NAD, 150 mg NBT, 20 mg PMS ve 150 ml destilované vody)

dobře promícháme a rovnoměrně rozprostřeme na oba gely. Inkubujeme v termostatu při 37 °C do intenzivního vybarvení.

IDH: isocitrát dehydrogenasa, E. C. klasifikace - 1. 1. 1. 42.

- v mikrovlnné troubě rozvaříme 0, 6g agaru s 30 ml destilované vody
na míchačce přidáme:
- 20 ml 0, 5 M Tris-HCl pufru pH 8, 0,
 - 5 ml 0, 2 M MgCl₂
 - 0, 02g isocitronanu sodného
 - 0, 005g NADP v 1 ml redestilované vody,
 - 0, 005g MTT v 1 ml redestilované vody
 - 0, 005g PMS v 1g redestilované vody

po zchlazení na přibližně 40 °C rovnoměrně nalijeme na oba gely a inkubujeme při 37 °C v termostatu do intenzivního vybarvení.

GPI: glukosafosfát isomerasa, E. C. klasifikace - 5. 3. 1. 9.

- v mikrovlnné troubě rozvaříme 0, 3g agaru s 30 ml destilované vody
na míchačce přidáme:
- 30 ml 0, 5 M Tris-HCl pufru pH 8, 0
 - 5 ml 0, 2 M MgCl₂
 - 0, 04g F-6-P Na v 1 ml redestilované vody,
 - 0, 02g NAD v 1 ml redestilované vody,
 - 0, 005g NADP v 1 ml redestilované vody,
 - 0, 005g NBT ve 2 ml redestilované vody
 - 0, 005g MTT v 1 ml redestilované vody
 - 0, 005g PMS v 1g redestilované vody

po zchlazení na přibližně 40 °C přidáme 5 mikrolitrů (17 I. U.) G-6-PDH, rovnoměrně nanese na oba gely a inkubujeme v termostatu při 37 °C do intenzivního vybarvení.

PGM: fosfoglukomutasa, E. C. klasifikace - 5. 4. 2. 2.

- v mikrovlnné troubě rozvaříme 0, 3g agaru s 30 ml destilované vody
na míchačce přidáme:
- 20 ml 0, 5 M Tris-HCl pufru pH 8, 0,
 - 5 ml 0, 2 M MgCl₂
 - 0, 1g G-1-P Na₂ rozpuštěný v 1 ml redestilované vody
 - 0, 02g NAD rozpuštěný ve 2 ml redestilované vody
 - 0, 005g NADP rozpuštěný v 1 ml redestilované vody
 - 0, 005g NBT rozpuštěný ve 2 ml redestilované vody

- 0,005g MTT rozpuštěné v 1 ml redestilované vody
- 0,005g PMS rozpuštěné v 1 ml redestilované vody

po zchlazení na přibližně 40 °C přidáme 5 mikrolitrů (17 I. U.) G-6-PDH, rovnoměrně nalijeme na oba gely a inkubujeme při 37 °C v termostatu do intenzivního vybarvení.

α-GPDH: α-glycerolfosfát dehydrogenasa, E. C. klasifikace - 1. 1. 1. 40.

v mikrovlnné troubě rozvaříme 0,3g agaru s 30 ml destilované vody

na míchačce přidáme: - 40 ml 0,2 M Tris“A“ pufru pH 8,0,

- 1 ml 0,5 M MgCl₂
- 0,65g DL-glycerol-g-P-Na₂
- 0,2g pyrohroznán Na
- 0,04g NAD rozpuštěný ve 2 ml redestilované vody
- 0,01g NBT rozpuštěný ve 2 ml redestilované vody
- 0,005g MTT rozpuštěné v 1 ml redestilované vody
- 0,005g PMS rozpuštěné v 1 ml redestilované vody

po zchlazení na přibližně 40 °C rovnoměrně nalijeme na oba gely a inkubujeme při 37 °C v termostatu do intenzivního vybarvení.

CK: kreatin kinasa, E. C. klasifikace - 2. 7. 3. 2.

v mikrovlnné troubě rozvaříme 0,3g agaru s 30 ml 0,2 M Tris“A“

na míchačce přidáme: - 30 ml 0,2 M Tris“A“ pufru pH 8,0,

- 5 ml 0,2 M MgCl₂
- 0,1g α-D glukosa
- 0,03g ADP
- 0,02g CK
- 0,04g NAD rozpuštěný ve 2 ml redestilované vody
- 0,005g NADP rozpuštěný v 1 ml redestilované vody
- 0,005g MTT rozpuštěné v 1 ml redestilované vody
- 0,005g PMS rozpuštěné v 1 ml redestilované vody

po zchlazení na přibližně 40 °C přidáme 10 mikrolitrů (17 I. U.) G-6-PDH a 10 mikrolitrů hexokinasy, rovnoměrně nalijeme na oba gely a inkubujeme při 37 °C v termostatu do intenzivního vybarvení.

AK: adenylát kinasa, E. C. klasifikace - 2. 7. 4. 3.

v mikrovlnné troubě rozvaříme 0,3g agaru s 30 ml destilované vody

na míchačce přidáme: - 30 ml 0,2 M Tris“A“ pufru pH 8,0,

- 2 ml 0,5 M MgCl₂
- 0,4g α-D glukose
- 0,12g ADP
- 0,04g NAD rozpuštěný ve 2 ml redestilované vody
- 0,005g NADP rozpuštěný v 1 ml redestilované vody
- 0,01g MTT rozpuštěné v 1 ml redestilované vody
- 0,005g PMS rozpuštěné v 1 ml redestilované vody

po zchlazení na přibližně 40 °C přidáme 10 mikrolitrů (17 I. U.) G-6-PDH a 10 mikrolitrů hexokinasy, rovnoměrně nalijeme na oba gely a inkubujeme při 37 °C v termostatu do intenzivního vybarvení.

GOT (AAT): asparát amino transferasa, E. C. klasifikace - 2. 6. 1. 1.

gel se nechá inkubovat 20 minut na plátíčku v lázni 120 ml 0,2 M Tris“A“ spolu s 0,16 g ASP, 0,08 g α-KG a s 0,02 g PRD,

v mikrovlnné troubě rozvaříme 0,3g agaru s 30 ml 0,2 M Tris“A“

na míchačce přidáme: - 30 ml 0,2 M Tris“A“ pufru pH 8,0,

- „Fast Blue BB“ na špičku skalpelu

dobře promícháme a po zchladnutí na přibližně 40 °C rovnoměrně rozprostřeme na oba gely. Inkubujeme v termostatu při 37 °C do intenzivního vybarvení.

SOD: superoxid dismutasa, E. C. klasifikace – 1. 15. 1. 1.

v mikrovlnné troubě rozvaříme 0,3 g agaru ve 30 ml destilované vody

na míchačce přidáme: - 30 ml 0,05 M Tris-HCl pufru pH 8,0,

- 0,02g MTT rozpuštěné ve 2 ml redestilované vody

- 0,005g PMS rozpuštěné v 1 ml redestilované vody

po zchladnutí na přibližně 40 °C nalijeme na oba gely, necháme při laboratorní teplotě pod jasným světlem do objevení bílých proužků na fialovém pozadí.

4.4.5. Vyhodnocování elektroforeogramů

Každý obarvený gel byl vyfotografován, elektromorfy zakresleny a obarvený agarózový gel sloupnut na filtrační papír, usušen, vylisován i s podkladem nalepen do protokolu vedle nákresu, odečtené fenotypy byly označeny podle dohodnutých pravidel (Shaklee et al. 1990), zapsány do databáze počítače a programem BIOSYS (Swofford, Selander, 1989) byly vypočítány základní populační genetické parametry. Pro určení genetické variability byly vypočteny následující hodnoty: průměrný počet alel na lokus, procento variabilních lokusů, průměrná heterozygotnost. Z vypočtených mezipopulačních genetických vzdáleností byl dále programem PHYLIP (Felsenstein 1993) sestaven strom genetické příbuznosti populací, jehož statistická váha byla zjištěna pomocí „bootstrappingu“.

5. Výsledky

Elektroforetická analýza vzorků střevle potoční z 22 populací v celkovém počtu 531 jedinců ukázala, že střevle patří rozhodně mezi velmi variabilní druhy sladkovodních ryb. (Výjimkou je populace ze Slavkovského lesa - č. 12, která byla zcela monomorfní a o které bude diskutováno později). Vzhledem k tomu, že v populaci z Brlenky a z Kateřinského potoka bylo z důvodů stáří vzorků a nízké aktivity enzymů analyzováno příliš málo jedinců, nebyly tyto dva soubory dat zahrnuty do výpočtů.

Počet variabilních lokusů (P) se pohyboval od téměř 17% do více než 58%, průměrný počet alel na jeden lokus (\bar{A}) byl mezi 1, 3 a 2, 8 a zjištěné hodnoty průměrné heterozygotnosti (H_o) byly od 0, 031 do 0, 211. Jednotlivé hodnoty pro všechny studované populace jsou shrnuty v Tabulce č. 4.

Tabulka č. 4.: Genetické parametry analyzovaných populací střevle potoční
(v závorkách standardní odchylky)

Populace	\bar{A} velikost vzorku/lokus	\bar{P} počet alel/lokus	% lokusů polymorfních*	Průměrná heterozygotnost	
				H_o	HW H_e **
1. Teplica 94	11, 3 (0, 6)	1, 9 (0, 4)	25, 0	0, 111 (0, 050)	0, 121 (0, 056)
2. Jizera 95	9, 6 (0, 4)	1, 3 (0, 1)	25, 0	0, 058 (0, 034)	0, 053 (0, 030)
3. Wadowice 95	22, 5 (0, 5)	2, 2 (0, 5)	41, 7	0, 165 (0, 061)	0, 184 (0, 072)
4. Osoblaha 97	13, 8 (0, 5)	1, 8 (0, 3)	41, 7	0, 131 (0, 051)	0, 148 (0, 056)
5. Rožnov 97	37, 0 (1, 0)	2, 4 (0, 5)	33, 3	0, 138 (0, 052)	0, 170 (0, 066)
6. Střelnice Vsetín	50, 3 (2, 2)	2, 3 (0, 5)	41, 7	0, 160 (0, 066)	0, 178 (0, 076)
7. Bratřejůvka 97	44, 4 (0, 2)	2, 4 (0, 5)	41, 7	0, 185 (0, 074)	0, 175 (0, 070)
8. Lubotínka 97	46, 0 (0, 0)	2, 6 (0, 5)	41, 7	0, 168 (0, 064)	0, 172 (0, 067)
9. Ulička 04	24, 8 (0, 6)	2, 3 (0, 4)	41, 7	0, 172 (0, 053)	0, 187 (0, 060)
10. Ublianka 04	9, 9 (0, 8)	1, 9 (0, 3)	33, 3	0, 160 (0, 057)	0, 170 (0, 064)
11. Udava 04	8, 0 (1, 0)	2, 0 (0, 4)	58, 3	0, 139 (0, 063)	0, 188 (0, 072)
12. Pramenský p 05	33, 2 (0, 5)	1, 0 (0, 0)	0, 0	0, 000 (0, 000)	0, 000 (0, 000)
13. Blanice 05	30, 8 (0, 1)	1, 4 (0, 1)	16, 7	0, 046 (0, 020)	0, 047 (0, 022)
14. Kapelunk 05	29, 3 (0, 4)	1, 5 (0, 2)	16, 7	0, 048 (0, 025)	0, 054 (0, 032)
15. Smědá 05	29, 8 (0, 1)	1, 8 (0, 3)	41, 7	0, 153 (0, 062)	0, 154 (0, 058)
16. Jiřícká n 05	29, 6 (0, 3)	1, 5 (0, 2)	25, 0	0, 031 (0, 014)	0, 049 (0, 025)
17. Otava 05	20, 6 (0, 3)	1, 3 (0, 1)	25, 0	0, 044 (0, 019)	0, 042 (0, 018)
18. Olše 05	23, 5 (0, 4)	2, 3 (0, 6)	50, 0	0, 143 (0, 053)	0, 178 (0, 067)
19. Bečva 05	25, 8 (1, 4)	2, 8 (0, 7)	50, 0	0, 176 (0, 066)	0, 176 (0, 068)
20. Vlára 05	17, 0 (0, 0)	2, 6 (0, 6)	33, 3	0, 211 (0, 086)	0, 187 (0, 076)

* Lokus byl považován za polymorfní, pokud frekvence nejčastější alely nepřesáhla 0,95
** neupravený odhad (podle Nei, 1978)

Výsledky jsou velice zajímavé, pokud na ně pohlédneme z hlediska příslušnosti studovaných populací k jednotlivým úmořím. Mezi nejméně variabilní (opět s odhlédnutím od monomorfní populace za Slavkovského lesa) patří populace náležející k povodí Labe – tedy úmoří Severního moře. Zde se hodnoty P pohybovaly od 16,7% do 25%, hodnoty \bar{A} mezi 1,3 a 1,5 a H_o od 0,031 do 0,053. Populace patřící do povodí Odry – tedy úmoří Baltického moře ukazovaly vyšší variabilitu: P od 41,7% do 50%; \bar{A} 1,8 až 2,3 a H_o mezi 0,131 a 0,153. Ještě vyšší hodnoty vykazovaly dvě populace patřící k povodí Visly (P 41,7%, \bar{A} 2,2 a 2,6 a H_o 0,165 a 0,168). Nejvyšší variabilitu měly populace z povodí Dunaje (úmoří Černého moře). Polymorfismus P byl v rozmezí 33,3% až 58,3%, počet alel \bar{A} od 1,9 do 2,8 a průměrná H_o mezi 0,111 a 0,211.

Frekvence výskytu detekovaných variant – produktů různých alel v jednotlivých analyzovaných lokusech jsou uspořádány v tab. č. 5. Z tabulky je patrné, že mezi lokusy s celkově nejvyšším počtem alel patřil lokus *GPI-2* se 14 alelami a *PGM* se sedmi alelami. Nejméně variabilní byl lokus *mIDH-1* se dvěma alelami; ostatní lokusy měly tři až pět alel.

Pokud se podíváme na výskyt jednotlivých alel v různých populacích v závislosti na povodí, můžeme vyzorovat několik zajímavých skutečností.

Obr. 2a, b ukazuje zastoupení alel v lokusu *GPI-1*. Z obrázku je na první pohled patrné, že téměř po celém území ČR a SR se vyskytují tytéž alely v téměř stejném zastoupení – výraznou převahou alely *100*; pouze povodí řeky Tisy se výrazně liší – zde se objevuje s dosti značnou frekvencí alela *085*, která se v ostatních povodích buď nevyskytuje vůbec, nebo je tam přítomna ve frekvenci nižší než 5%.

Na obr. 3a, b je zobrazeno zastoupení jednotlivých alel v lokusu *sAAT*. Z map je opět vidět různé zastoupení alel v jednotlivých povodích - např. pro povodí Labe je charakteristická alela *0,95*, která se kromě toho vyskytuje ve dvou populacích povodí Odry, ovšem ve značně nižší frekvenci. Převládající alelou v povodí Odry, Dunaje i Visly je alela *100*, která je ve většině těchto populací výlučnou.

Obr. 4a, b znázorňuje výskyt alel lokusu *SOD*. Převažující alelou v lokalitách povodí Labe a Odry je alela *100*, která se v menší míře vyskytuje v povodí Visly, Moravy a Váhu; převažující alelou lokalit povodí Tisy je alela *200*.

Obr. 5a, b ukazuje výskyt alel v lokusu *CK*; téměř všechny populace jsou v tomto lokusu monomorfní, pouze v populacích povodí Visly se navíc vyskytuje alela *087* a v lokalitách povodí Tisy alela *110* (vedle alely *100*).

Obr. 6a, b znázorňuje výskyt alel v lokusu *GPI-2*; v povodí Labe je nejčastější alela *108*, v povodí řeky Moravy její četnost již jen poloviční a dále je zde 7 – 8 dalších alel,

Lokus	Alela	Populace																				
		Teplica 94	Jizera 95	Wadowice 95	Osoblah 97	Rožnov 97	Vsetín Střelnice	Bratřejůvka 97	Lubotínka 97	Utička 04	Ublianka 04	Udava 04	Pramenský p 05	Blanice 05	Kapelník 05	Směda 05	Jitická n 05	Otava 05	Oise 05	Běva 05	Vlára 05	
sAAT	100	1	0	1	1	0,974	1	0,989	0,979	1	0,950	0	0	0	0,833	0	0	0	0,854	0,983	1	
	095	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0,083	0	0	0	0,125	0	0	
	073	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,067	0	0	0	0,021	0	0	
	120	0	0	0	0	0,026	0	0,011	0,021	0	0,050	0	0	0	0,017	0	0	0	0	0,017	0	
GPII	100	0,938	1	0,978	0,967	0,974	0,972	0,978	0,519	0,500	0,292	1	0,983	0,966	1	1	1	1	1	0,948	0,971	
	085	0	0	0,022	0,033	0	0	0,022	0,481	0,455	0,583	0	0,017	0	0	0	0	0	0	0	0,029	
	115	0,042	0	0	0	0,026	0,028	0	0	0	0,042	0	0	0,034	0	0	0	0	0	0,052	0	
	070	0	0	0	0	0	0	0	0	0,045	0,042	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	095	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,042	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	095	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,042	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
GPI2	108	0,708	0,850	0,457	0,667	0,564	0,452	0,424	0,654	0,591	0,542	1	0,871	0,767	0,733	0,833	0,929	0,500	0,483	0,483	0,353	
	100	0	0	0	0	0,077	0,058	0,033	0	0	0	0	0	0	0,033	0	0	0,083	0,052	0,052	0,088	
	080	0	0	0,022	0	0	0,038	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,021	0	0	0	
	060	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	052	0,042	0	0,304	0,133	0,218	0,202	0,337	0,096	0,227	0,042	0	0	0	0,233	0	0,071	0,125	0,121	0,121	0,029	
	045	0,083	0,150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,129	0,183	0	0	0	0,188	0,155	0,155	0,324	
	025	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,017	0	
	110	0	0	0,043	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,029	
	130	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,017	0	
	140	0,083	0	0,022	0	0,051	0,115	0,054	0,019	0,019	0	0	0	0	0	0	0,017	0	0,021	0,017	0,059	
	145	0	0	0	0,067	0	0	0	0	0,077	0,136	0,292	0	0	0	0	0,017	0	0,021	0,017	0,059	
	148	0,083	0	0,130	0,133	0,038	0,077	0,034	0,098	0,135	0,045	0,125	0	0	0,050	0	0,150	0	0,021	0,034	0,029	
	180	0	0	0,022	0	0,026	0	0	0,033	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,042	0,086	0,086	0,088
	185	0	0	0	0	0,026	0,058	0,045	0,022	0,019	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,017	0
mIDHI	100	1	1	1	1	0,986	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	150	0	0	0	0	0,014	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
LDHA	100	1	1	1	1	1	0,991	1	0,923	0,955	1	1	0,968	1	1	1	1	1	1	1	1	
	180	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	060	0	0	0	0	0	0,009	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	130	0	0	0	0	0	0	0	0,077	0,045	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	075	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,032	0	0	0	0	0	0	0	0	
	075	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
LDHB	100	0,917	1	1	1	1	1	1	0,962	1	1	1	1	1	1	1	0,929	1	0,980	0,980	0,971	
	120	0,042	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	080	0,042	0	0	0	0	0	0	0,038	0	0	0	0	0	0	0	0,071	0	0,020	0,020	0,029	

Tabulka č. 5.: Frekvence alel v populacích střevle potoční (pokračování)

Lokus	Alela	Populace																				
		Teplička 94	Jizera 95	Wadowice 95	Osoblaha 97	Rožnov 97	Vsetín Střelnice	Bratřejšvka 97	Lubotínka 97	Utička 04	Ublánka 04	Udava 04	Pramenský p 05	Blanice 05	Kapelník 05	Směda 05	Jiřická n 05	Otava 05	Olše 05	Běčva 05	Vlára 05	
sMDH1	100	0,958	1	0,913	0,800	0,872	0,926	0,920	0,924	0,962	0,955	0,950	1	1	1	0,517	1	1	0,875	0,929	0,882	
	120	0,042	0	0	0	0,038	0,037	0,023	0	0,038	0,045	0	0	0	0	0	0	0	0	0,036	0,088	
	071	0	0,087	0,200	0,200	0,090	0,037	0,057	0,076	0	0	0,050	0	0	0	0,483	0	0	0,125	0,036	0,029	
sMDH2	100	1	1	0,929	0,929	0,972	0,931	0,942	0,891	1	1	1	1	1	1	1	0,983	1	0,875	0,896	0,971	
	110	0	0	0,071	0	0	0,059	0,058	0,054	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,083	0,063	0,029	
	125	0	0	0	0	0,043	0	0	0,043	0	0	0	0	0	0	0	0,017	0	0	0	0	
mMDH	075	0	0	0	0	0,028	0,010	0	0,011	0	0	0	0	0	0	0	0	0,042	0,042	0	0	
	100	1	1	1	1	0,987	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,950	1	1	1	1	
	050	0	0	0	0	0,013	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
SOD	130	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,017	0	0,050	0	0	0	0	
	100	0,650	0,850	0,500	0,833	0,618	0,509	0,511	0,696	0,269	0,045	0,333	1	0,919	0,967	0,879	0,929	0,929	0,891	0,603	0,588	
	150	0,150	0	0,022	0,067	0	0	0	0,022	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,029	
	200	0,200	0,150	0,478	0,100	0,382	0,491	0,489	0,283	0,731	0,955	0,667	0	0,081	0,033	0,121	0,071	0,071	0,109	0,397	0,382	
CK	100	1	1	1	1	1	1	1	0,957	0,955	0,857	0,900	1	1	1	1	1	1	1	1	0,971	
	087	0	0	0,235	0	0	0	0	0,043	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	110	0	0,029	0	0	0	0	0	0	0,045	0,143	0,100	0	0	0	0	0	0	0	0	0,029	
PGM	100	0,958	0,950	0,783	0,750	0,667	0,622	0,689	0,739	0,800	0,818	0,950	1	0,952	0,948	0,733	0,983	0,952	0,667	0,776	0,706	
	105	0	0,050	0,022	0	0,014	0,041	0,033	0,054	0,060	0	0,050	0	0,048	0	0,017	0	0,048	0,083	0,034	0,118	
	092	0	0	0	0	0	0	0,044	0,022	0,040	0,045	0	0	0	0	0	0	0	0	0,017	0,059	
	095	0	0	0,196	0,214	0,278	0,235	0,156	0,141	0,080	0,136	0	0	0	0,052	0,233	0,017	0	0,188	0,103	0,088	
	085	0,042	0	0	0,036	0,042	0,102	0,078	0,043	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,069	0
	082	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,017	0	0	0,063	0	0,029	
103	0	0	0	0	0	0	0	0	0,020	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

v menší míře zastoupení. Tuto nejvyšší variabilitu vykazuje jen střední Dunaj, povodí Visly je v největší míře zastoupené taktéž výskytem alely 108, ale odlišnost Visly od ostatních je v hojném výskytu alely 145, která je jen velmi málo zastoupená u ostatních populací v rámci Dunaje.

Obr. 7a, b znázorňuje výskyt alel v lokusu *PGM*; nejméně variabilní jsou populace povodí Labe s převažujícím výskytem nejčastější alely 100. Lokality povodí Odry vykazují výskyt vyššího počtu alel, největší variabilitu opět ukazují populace z povodí Dunaje (s výjimkou populace Teplice).

Z obr. 8a, b je vidět, že povodí Labe má v lokusu *sMDH-1* zcela monomorfní populace (alela 100), populace povodí Odry a Visly mají kromě toho alelu 071, populace z povodí Moravy mají nejvyšší variabilitu (alely 100, 071 a navíc 120). Slovenské populace povodí Dunaje mají alely 100 a 120 (kromě Udavy, kde se vedle alely 100 vyskytuje i alela 071).

Obr. 9a, b ukazuje variabilitu v lokusu *sMDH-2*. České populace (kromě Jiřické nádrže) a slovenské populace (s výjimkou Popradu) jsou zcela monomorfní s alelou 100; vyšší variabilitu mají moravské populace, kde se kromě alely 100 ukazují i alely 110 a 075.

Obrázek 10a, b znázorňuje výskyt alel v lokusu *LDH-A*. Většina populací je monomorfní, pouze v povodí Labe populace Blanice má navíc alelu 075, na Moravě 2 populace z povodí Dunaje mají navíc alelu 060 a 2 východoslovenské populace (povodí Tisy) mají alelu 130.

V lokusu *LDH-B* je většina populací monomorfních; z labského povodí je výjimkou Otava, rovněž v některých dunajských populacích se vyskytují variabilní alely, jejich frekvence však nedosahuje 5%.

Lokus *mMDH* je monomorfní s výjimkou tří populací; rovněž lokus *mIDH-1* je monomorfní kromě populace z Rožnovské Bečvy. Variabilita v těchto populacích je u obou enzymů do 5%.

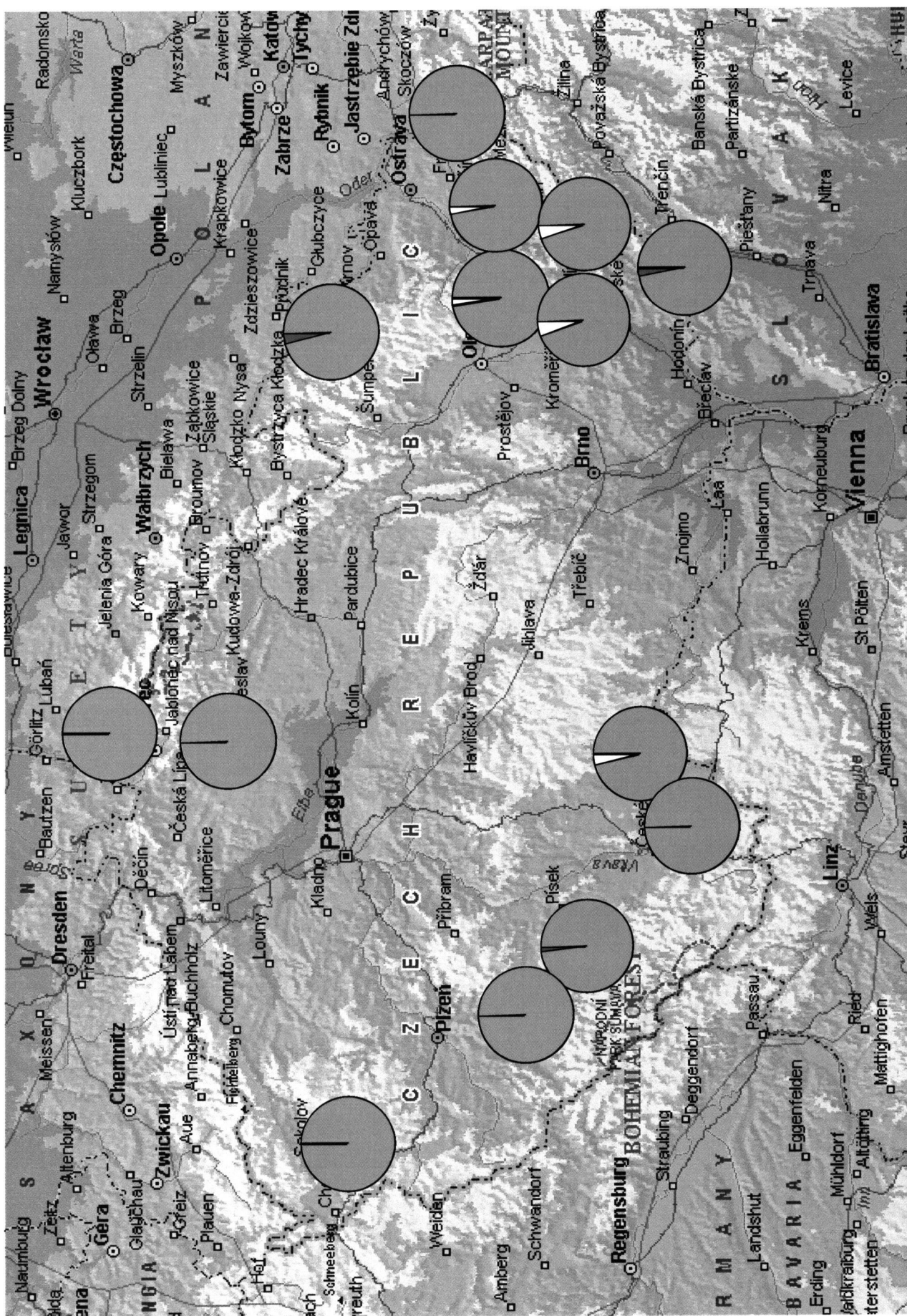
Z frekvencí alel v jednotlivých lokusech byly vypočteny genetické vzdálenosti či podobnosti studovaných populací. Tab. č. 6 ukazuje jejich hodnoty vypočtené podle publikace Nei (1972) a hodnoty podle Cavalli-Sforza, Edwards (1967). Podle těchto parametrů mezi nejpodobnější populace patří populace Jizera a Blanice, geneticky nejvzdálenější pak jsou populace z Ublianky a z Pramenského potoka, a to podle obou parametrů.

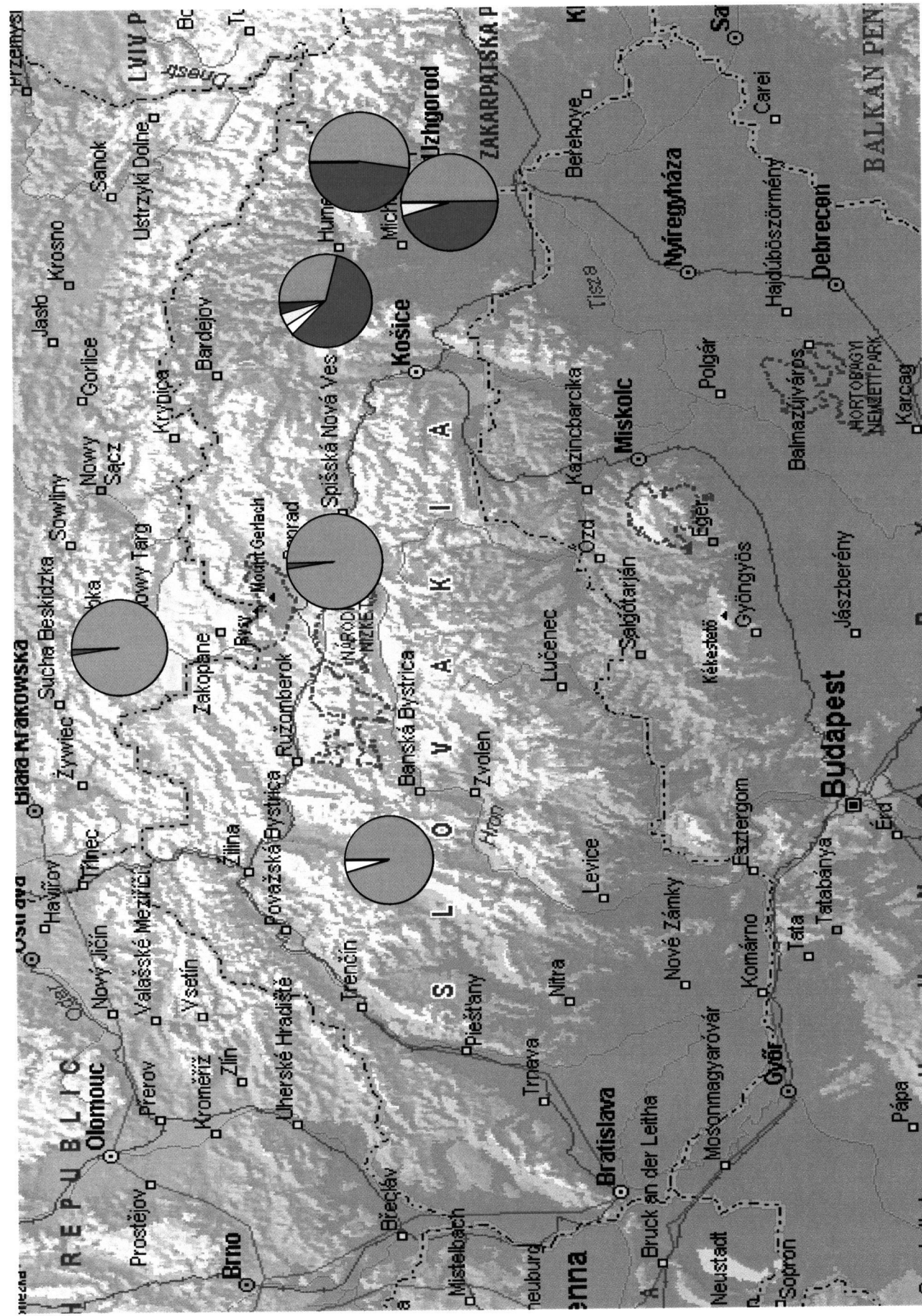
Tabulka č. 6.: Hodnoty genetických vzdáleností mezi populacemi střevele potoční.

pod úhlopříčkou: genetická vzdálenost (chord distance) podle Cavalli-Sforza, Edwards (1967)
nad úhlopříčkou: genetická vzdálenost podle Nei (1972)

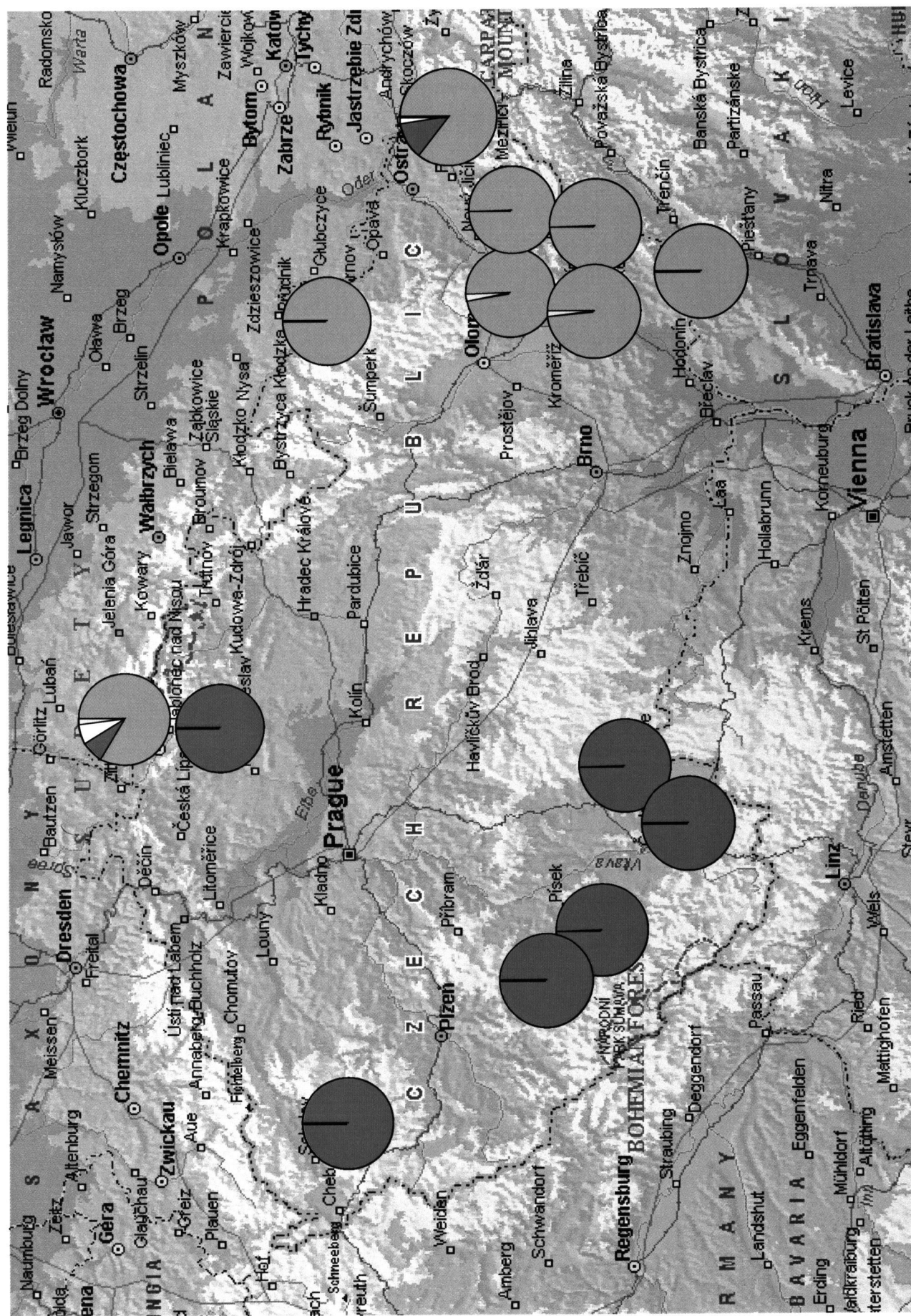
Populace	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1 Teplíca 94		0,101	0,023	0,012	0,015	0,021	0,016	0,015	0,047	0,078	0,065	0,106	0,103	0,105	0,036	0,103	0,104	0,019	0,010	0,017
2 Jizera 95	0,299		0,135	0,110	0,117	0,132	0,125	0,120	0,163	0,205	0,179	0,004	0,001	0,002	0,106	0,003	0,002	0,087	0,113	0,124
3 Wadowice 95	0,210	0,345		0,025	0,011	0,011	0,010	0,010	0,040	0,052	0,062	0,149	0,141	0,141	0,044	0,139	0,141	0,030	0,013	0,019
4 Osoblaha 97	0,186	0,329	0,171		0,010	0,020	0,019	0,010	0,064	0,099	0,081	0,111	0,110	0,109	0,013	0,108	0,110	0,008	0,014	0,023
5 Rožnov 97	0,189	0,332	0,160	0,160		0,003	0,003	0,005	0,043	0,063	0,068	0,127	0,121	0,122	0,025	0,121	0,122	0,014	0,006	0,013
6 Vsetín Střelnice	0,191	0,342	0,168	0,172	0,096		0,001	0,007	0,038	0,054	0,064	0,147	0,138	0,138	0,042	0,137	0,139	0,022	0,006	0,012
7 Bratřejůvka 97	0,183	0,336	0,176	0,173	0,103	0,071		0,006	0,034	0,050	0,058	0,139	0,131	0,133	0,038	0,131	0,132	0,021	0,004	0,011
8 Lubotínka 97	0,191	0,335	0,129	0,140	0,117	0,121	0,118		0,051	0,074	0,071	0,129	0,123	0,121	0,029	0,121	0,123	0,011	0,006	0,014
9 Ulička 04	0,236	0,358	0,211	0,231	0,221	0,220	0,216	0,214		0,008	0,010	0,182	0,171	0,177	0,093	0,172	0,173	0,076	0,039	0,046
10 Ublianka 04	0,278	0,390	0,230	0,261	0,252	0,252	0,246	0,254	0,121		0,018	0,231	0,216	0,224	0,127	0,219	0,219	0,113	0,060	0,069
11 Udava 04	0,266	0,368	0,248	0,246	0,265	0,271	0,266	0,257	0,150	0,168		0,196	0,185	0,189	0,113	0,186	0,189	0,095	0,058	0,065
12 Pramenský p 05	0,314	0,111	0,361	0,325	0,344	0,360	0,353	0,347	0,382	0,413	0,390		0,002	0,004	0,106	0,003	0,001	0,093	0,127	0,143
13 Blanice 05	0,304	0,046	0,349	0,327	0,337	0,348	0,342	0,337	0,357	0,391	0,366	0,103		0,001	0,106	0,002	0,002	0,088	0,118	0,129
14 Kapelunk 05	0,299	0,092	0,346	0,317	0,329	0,342	0,339	0,336	0,368	0,399	0,379	0,114	0,095		0,106	0,003	0,004	0,084	0,117	0,127
15 Smědá 05	0,244	0,301	0,203	0,160	0,164	0,206	0,197	0,184	0,282	0,307	0,299	0,301	0,303	0,301		0,107	0,105	0,020	0,036	0,045
16 Jiřícká n 05	0,300	0,126	0,334	0,310	0,323	0,333	0,332	0,323	0,355	0,390	0,369	0,106	0,127	0,102	0,300		0,002	0,090	0,119	0,133
17 Otava 05	0,302	0,103	0,336	0,318	0,324	0,336	0,329	0,323	0,353	0,388	0,371	0,095	0,105	0,136	0,286	0,123		0,091	0,121	0,137
18 Olše 05	0,215	0,272	0,210	0,170	0,175	0,180	0,186	0,171	0,270	0,306	0,293	0,297	0,276	0,269	0,155	0,285	0,282		0,013	0,016
19 Bečva 05	0,162	0,315	0,194	0,168	0,129	0,124	0,119	0,143	0,214	0,252	0,249	0,346	0,322	0,314	0,211	0,325	0,323	0,152		0,005
20 Vlára 05	0,178	0,319	0,203	0,203	0,190	0,185	0,178	0,184	0,208	0,250	0,251	0,360	0,324	0,325	0,239	0,338	0,338	0,163	0,134	

Obr. 2b.: Frekvence alel lokusu GPI 1 strevie potocni na vybranych lokalitach

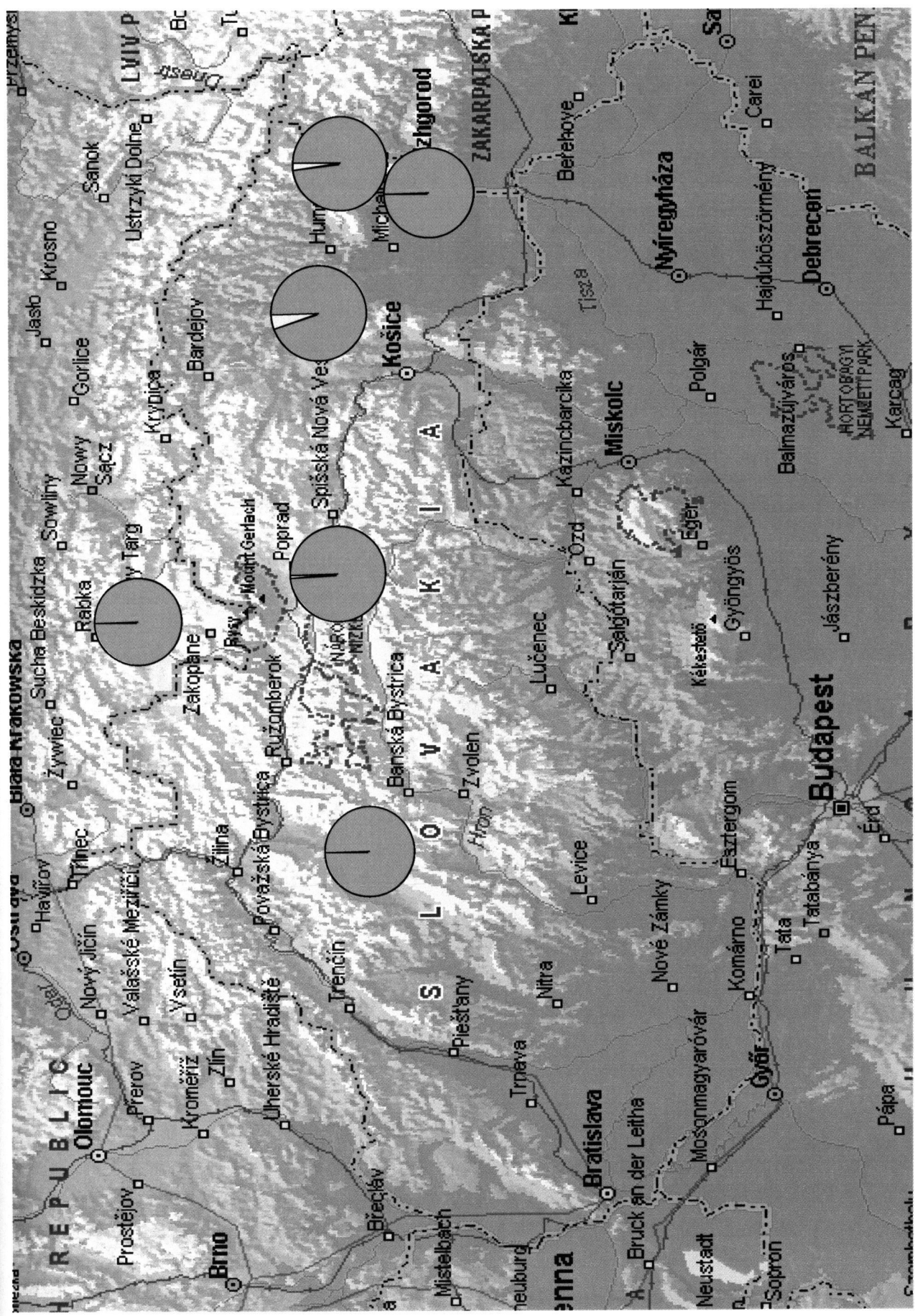




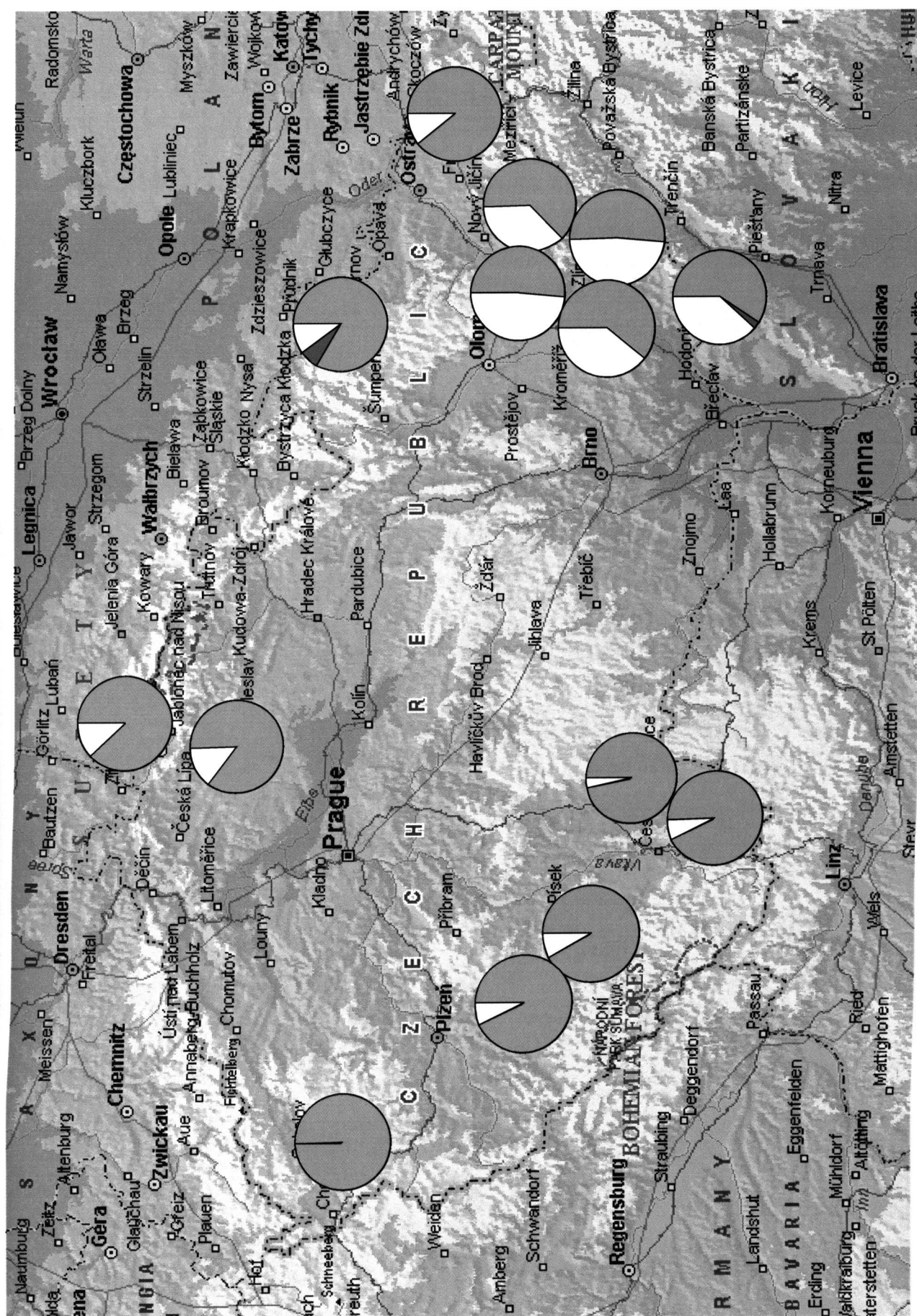
Obr. 3a.: Frekvence alel lokusu SAAT střívele potocní na vybraných lokalitách



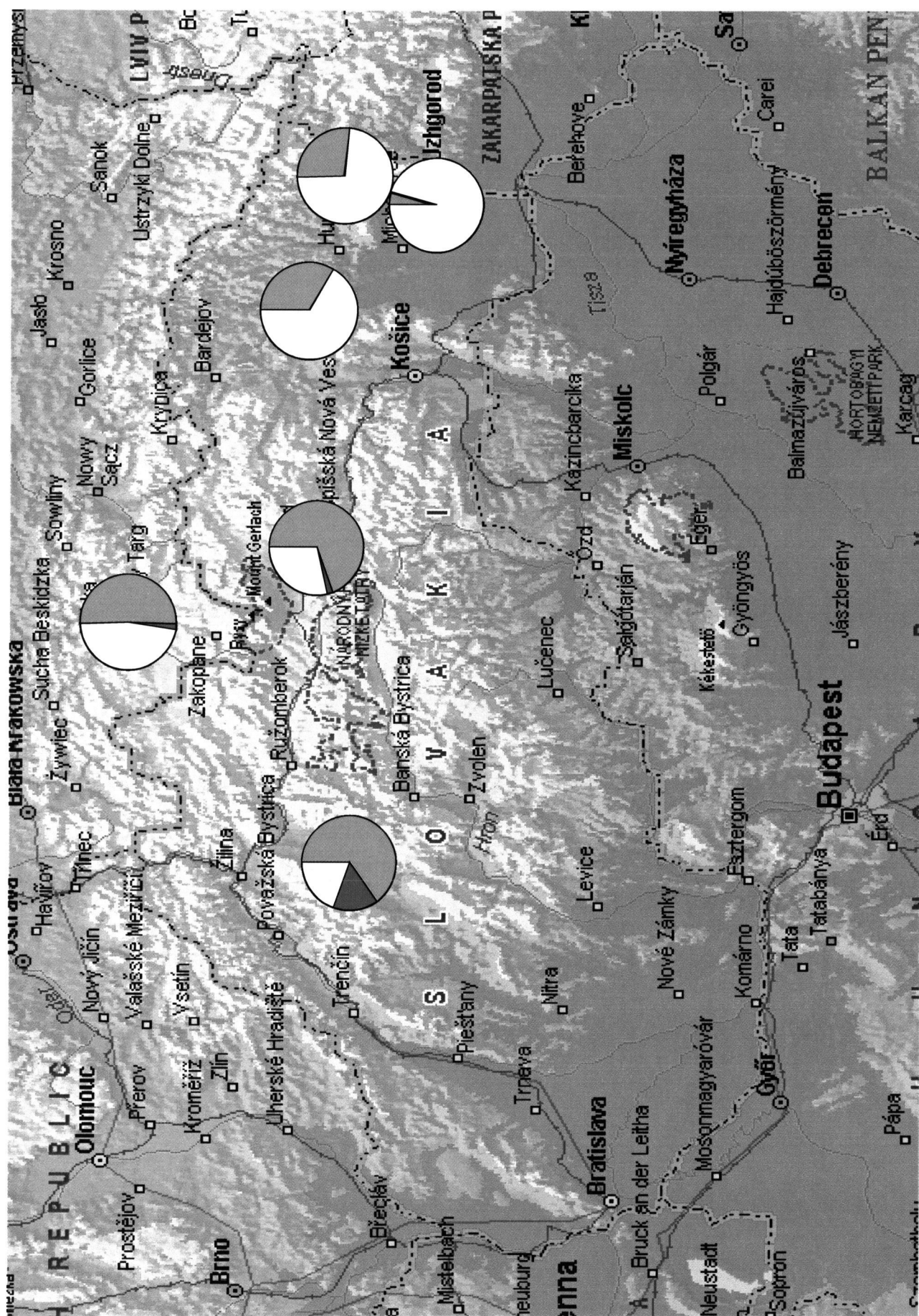
Obr. 3b.: Frekvence alel lokusu sAAT střevle potochní na vybraných lokalitách



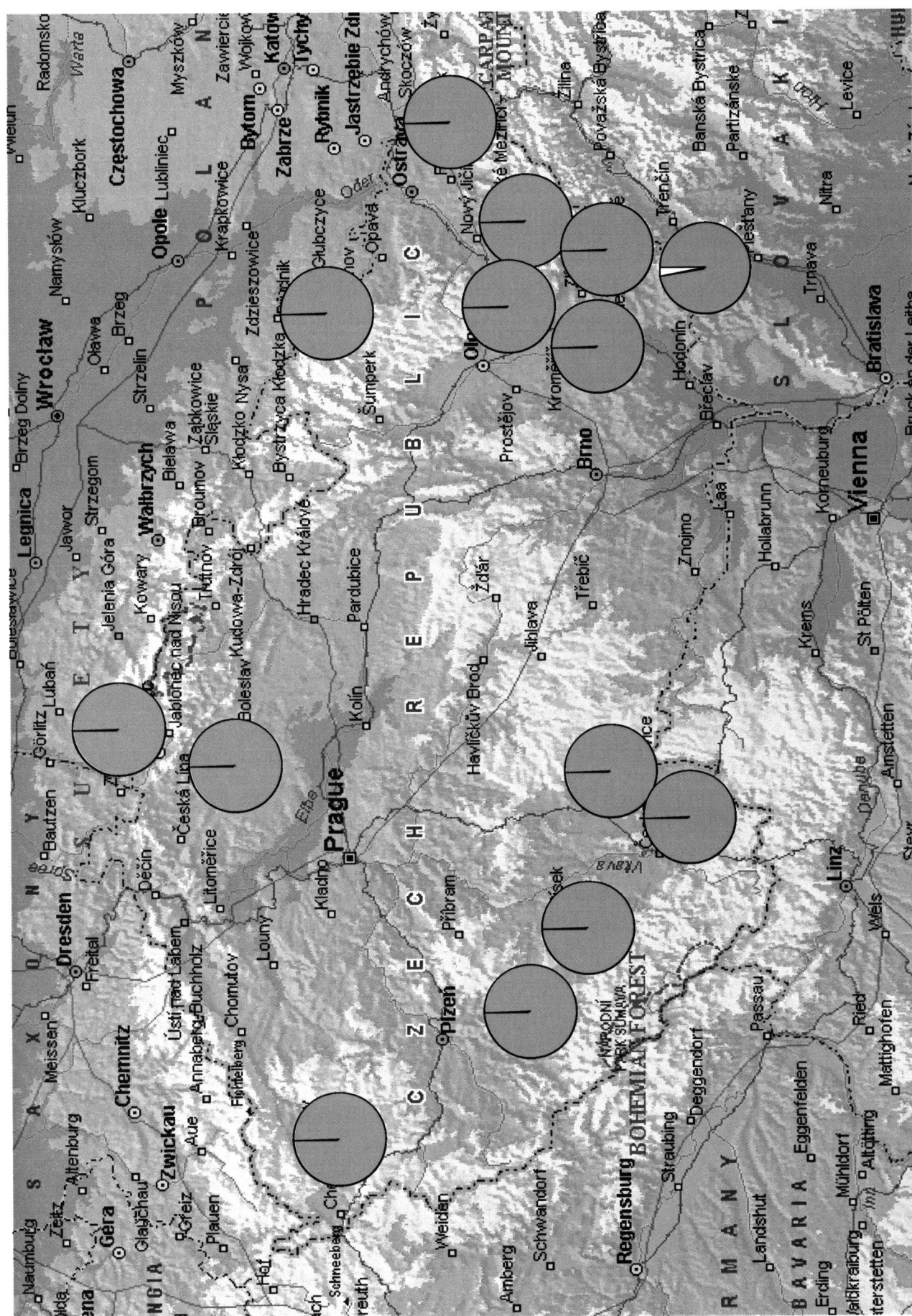
Obr. 4a.: Frekvence alel lokusu SOD střevle potociční na vybraných lokalitách



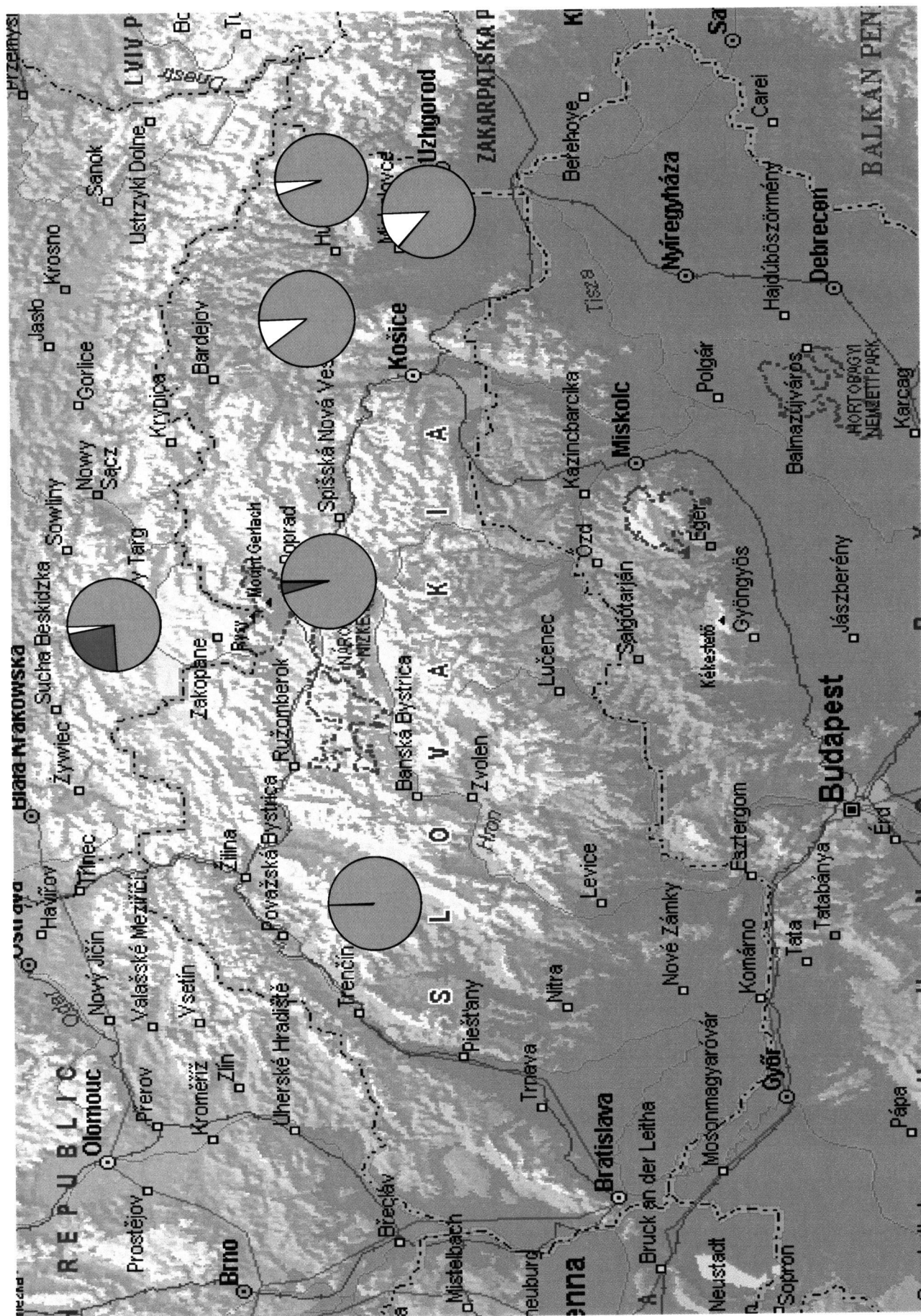
Obr. 4b.: Frekvence alel lokusu SOD střeve potční na vybraných lokalitách



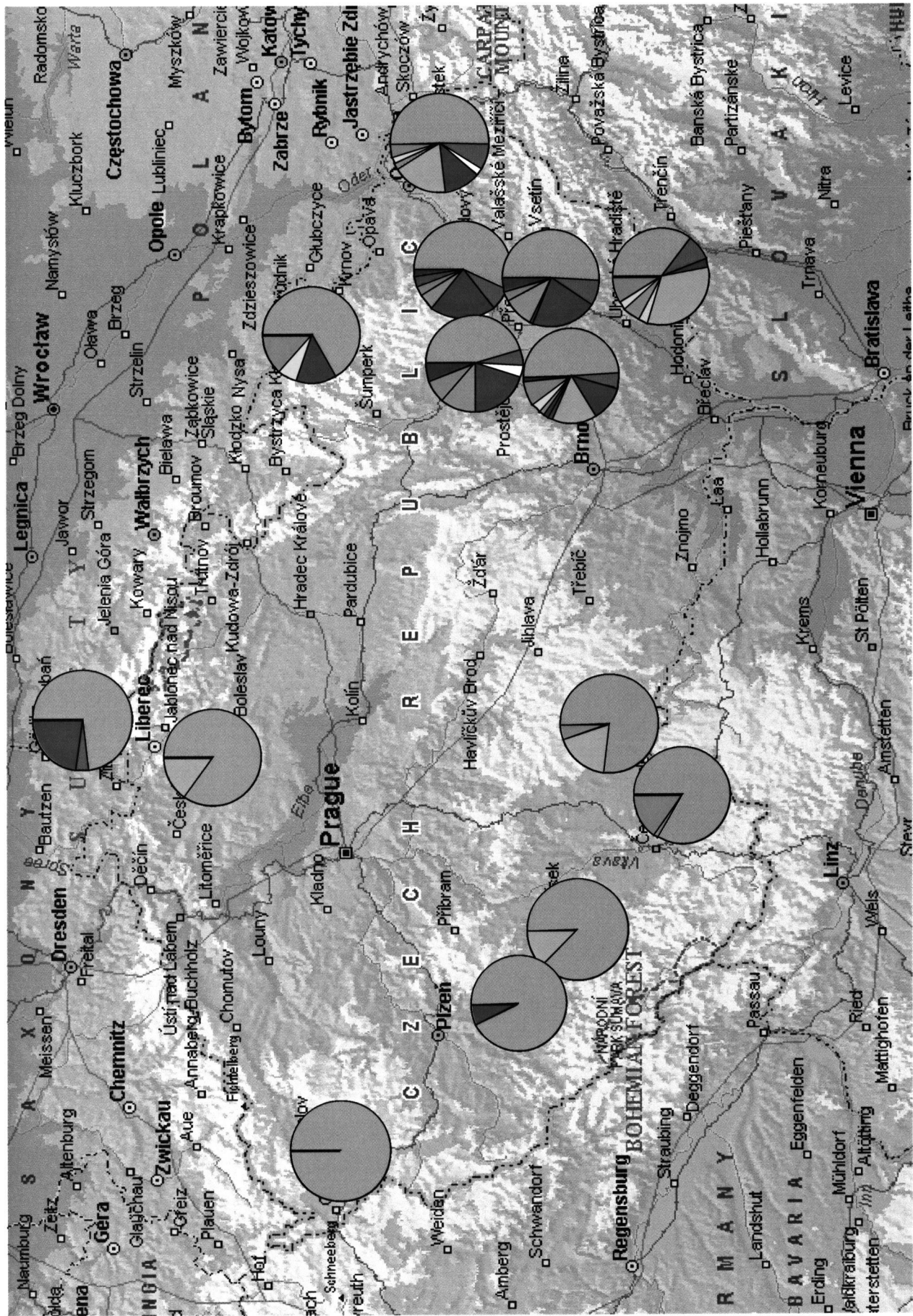
Obr. 5a.: Frekvence aleli lokusu CK střeve potoční na vybraných lokalitách



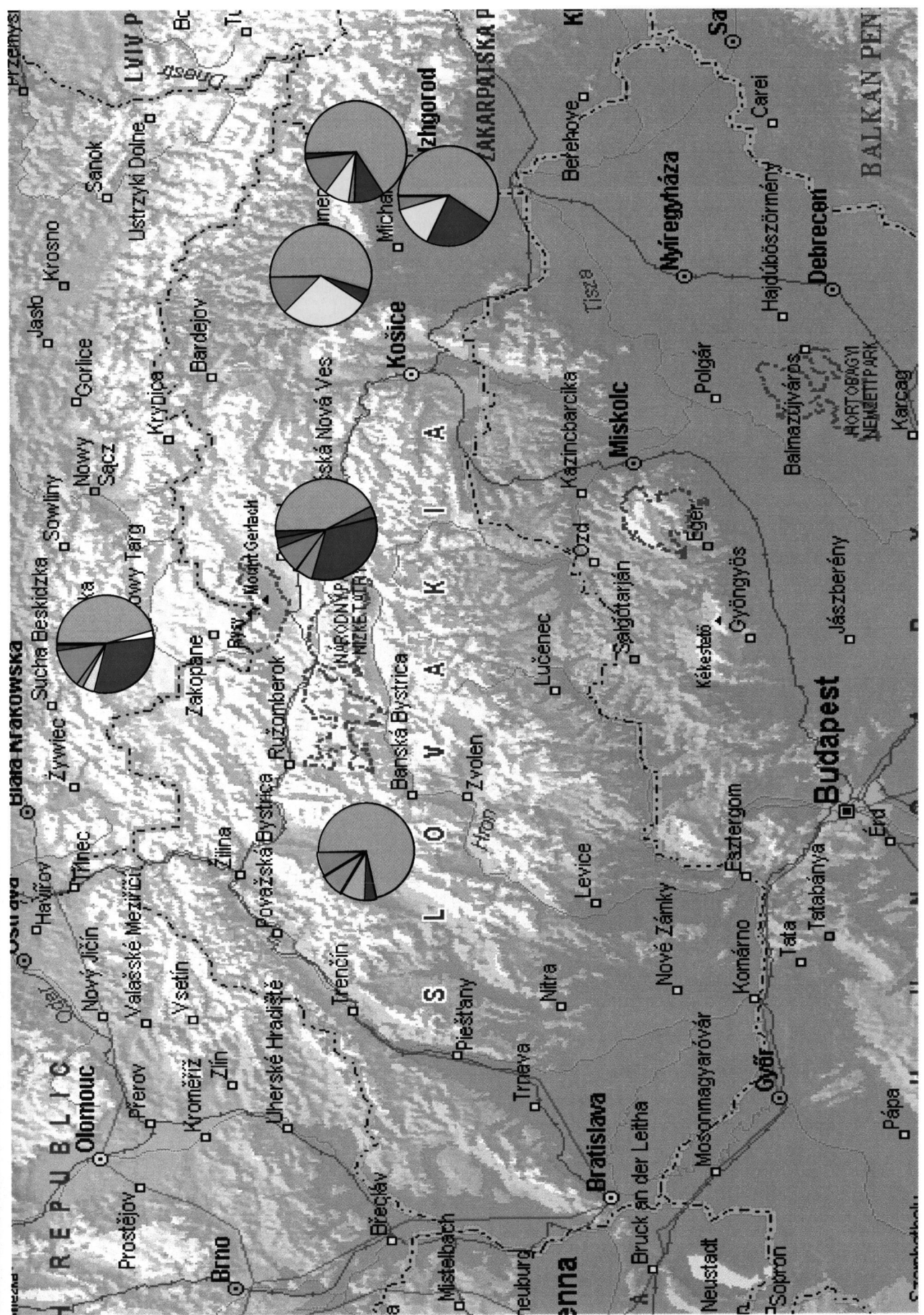
Obr. 5b.: Frekvence alel lokusu CK střevle potoční na vybraných lokalitách



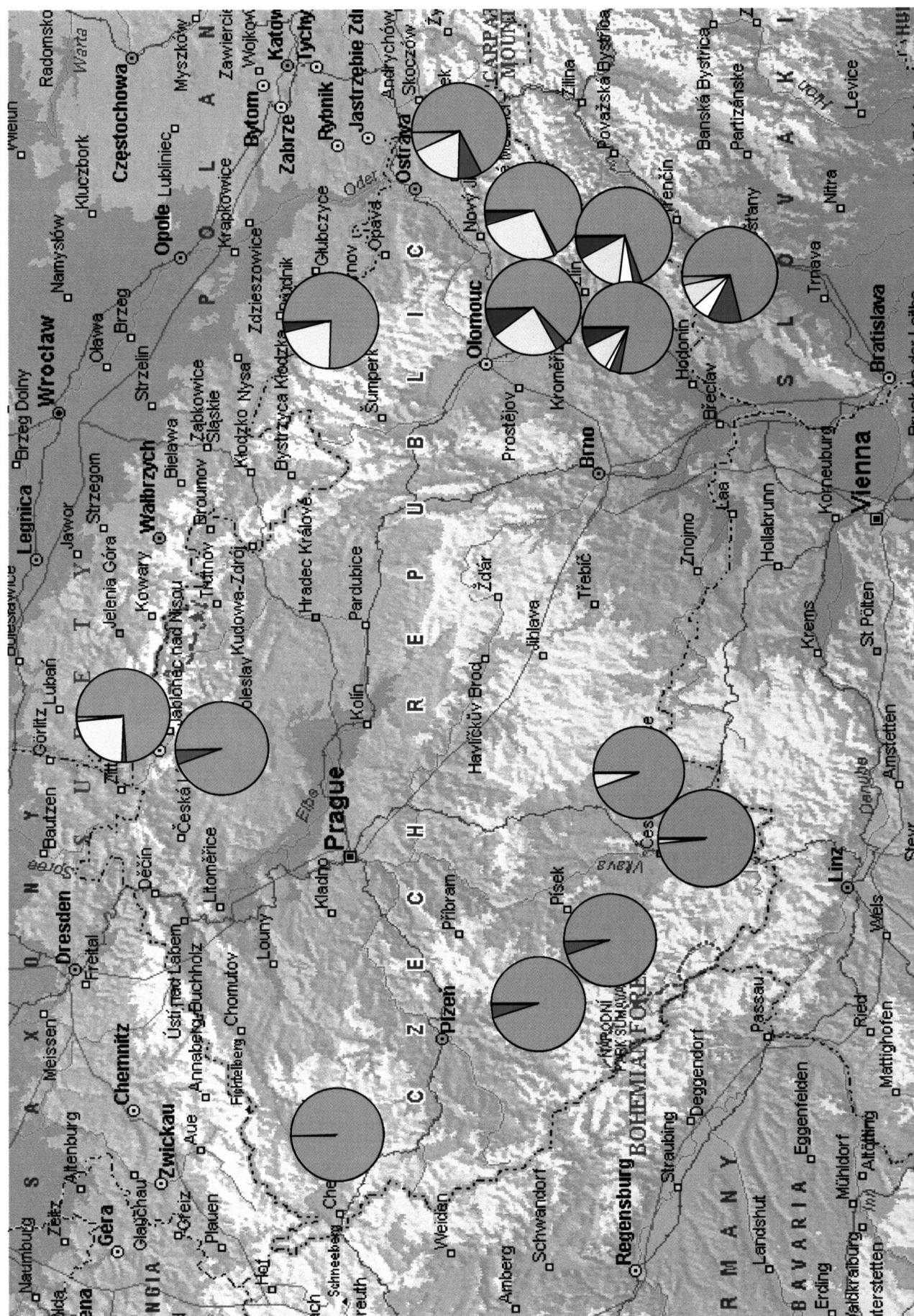
Obr. 6a.: Frekvence alel lokusu GPI 2 střevle potochů na vybraných lokalitách



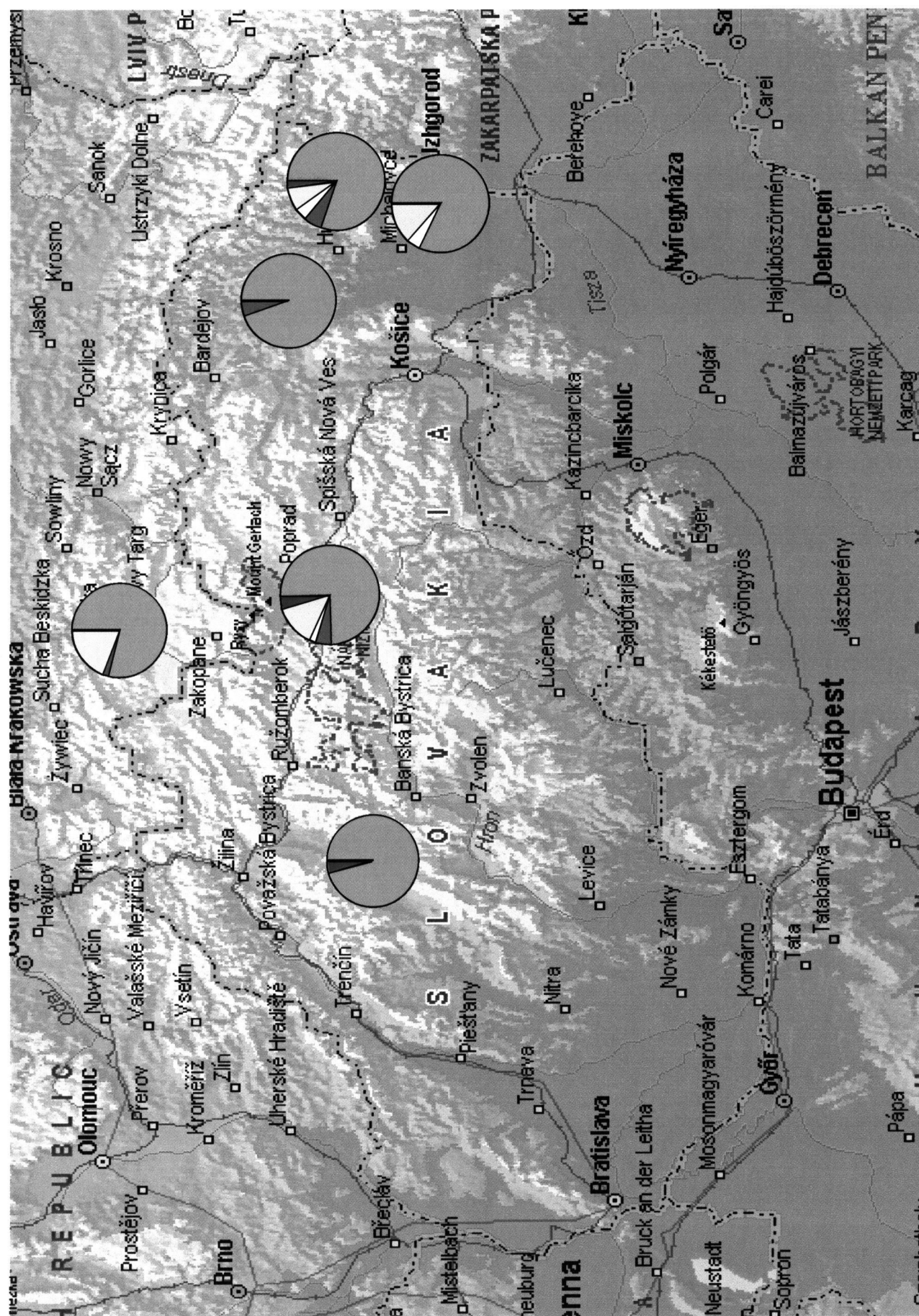
Obr. 6b.: Frekvence alel lokusu GPI 2 střevele potochní na vybraných lokalitách



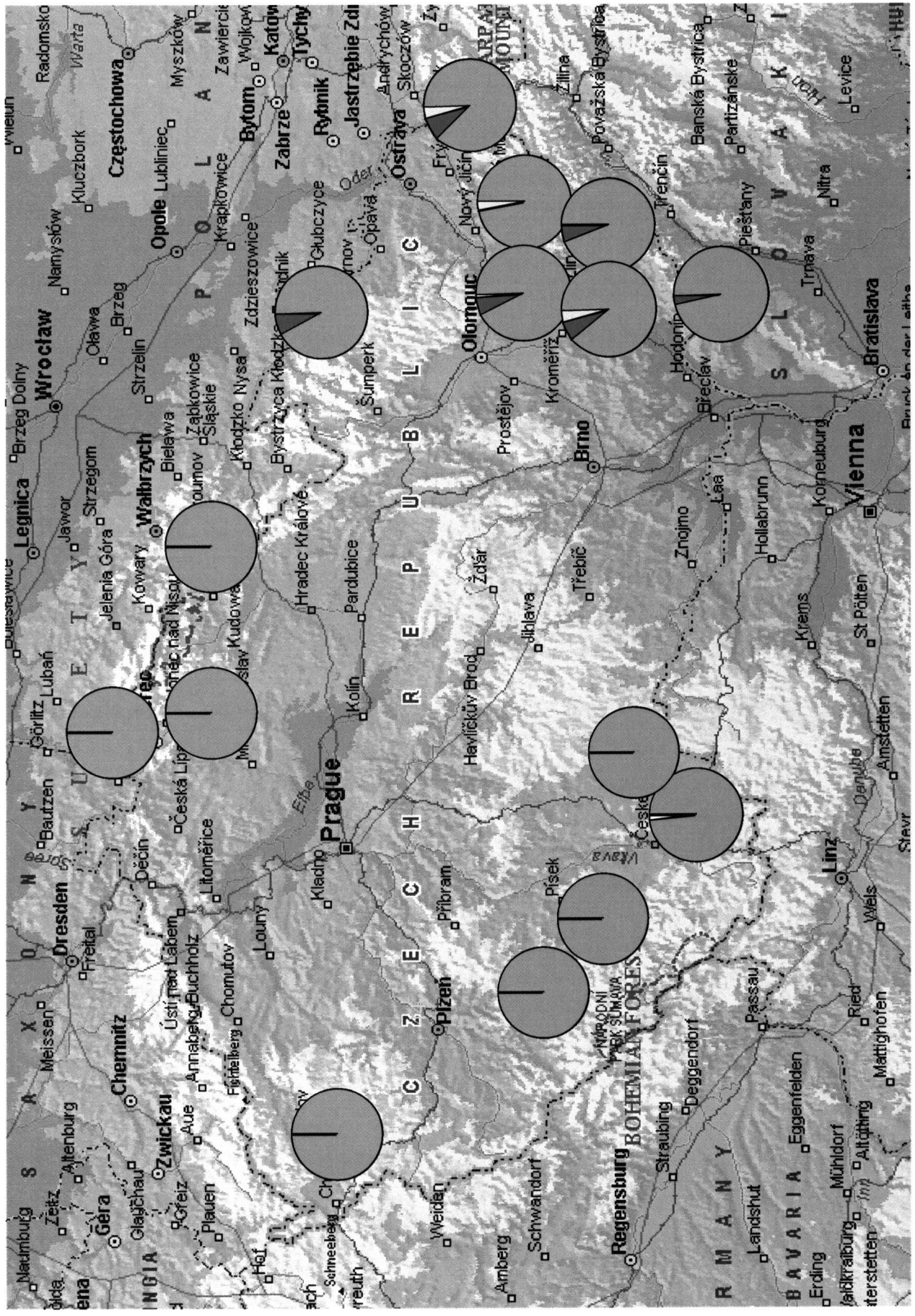
Obr. 7a.: Frekvence alel lokusu PGM střevle potoční na vybraných lokalitách



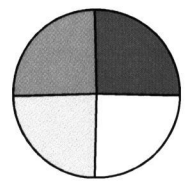
Obr. 7b.: Frekvence alel lokusu PGM střeble potochní na vybraných lokalitách



Obr. 9b.: Frekvence alel lokusu sMDH 2 střevle potoční na vybraných lokalitách

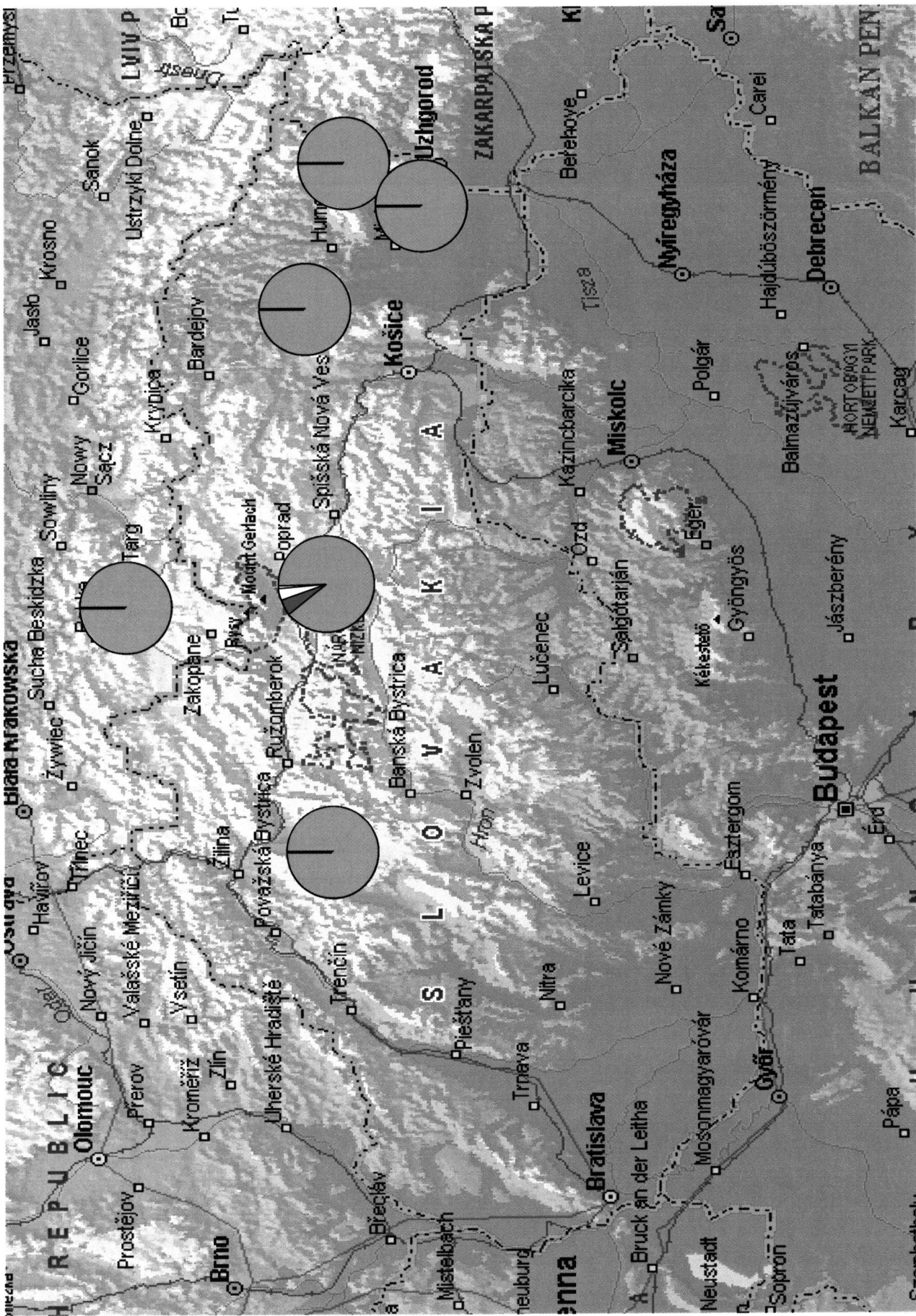


Alely
sMDH 2

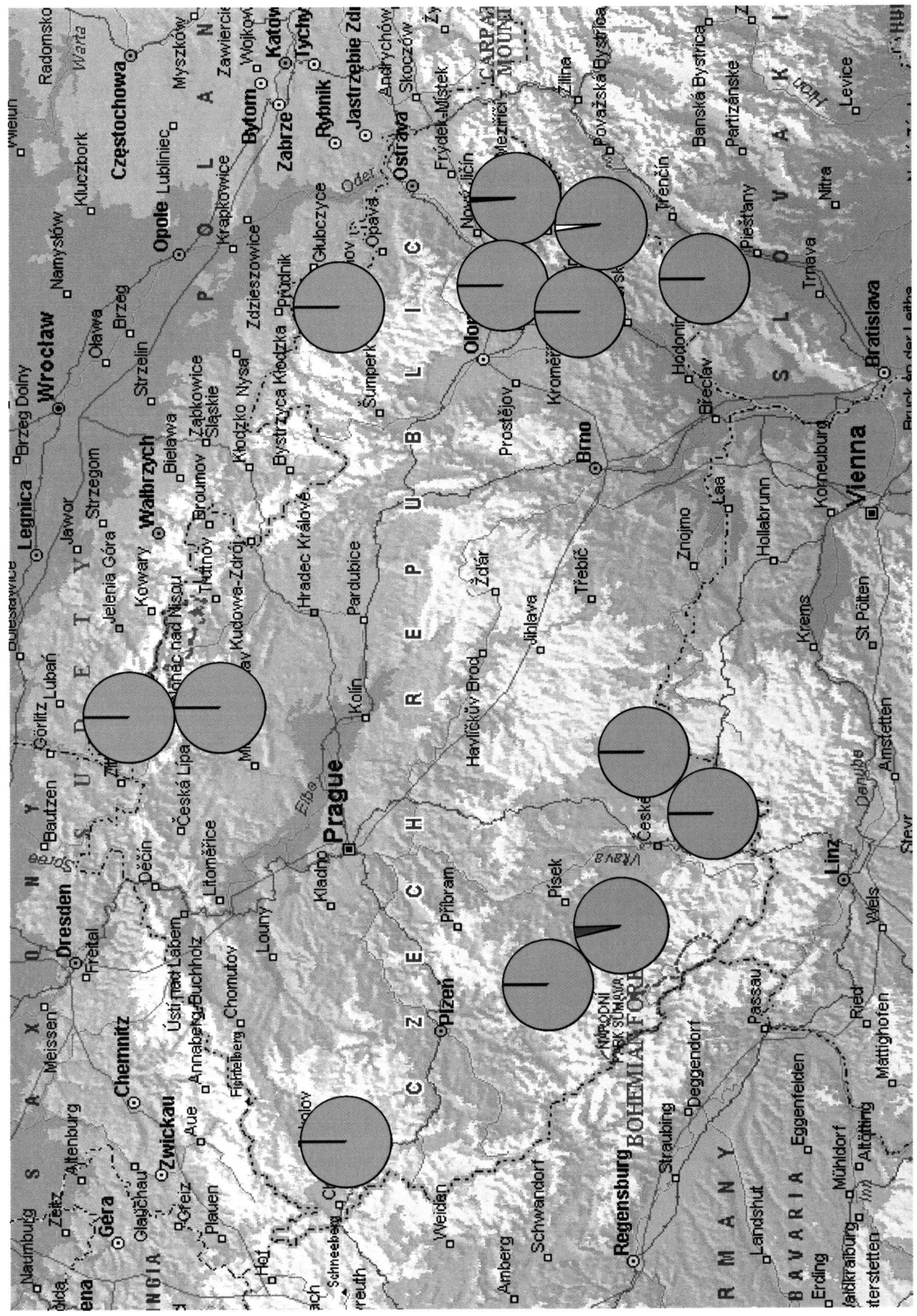


- 100
- 110
- 125
- 075

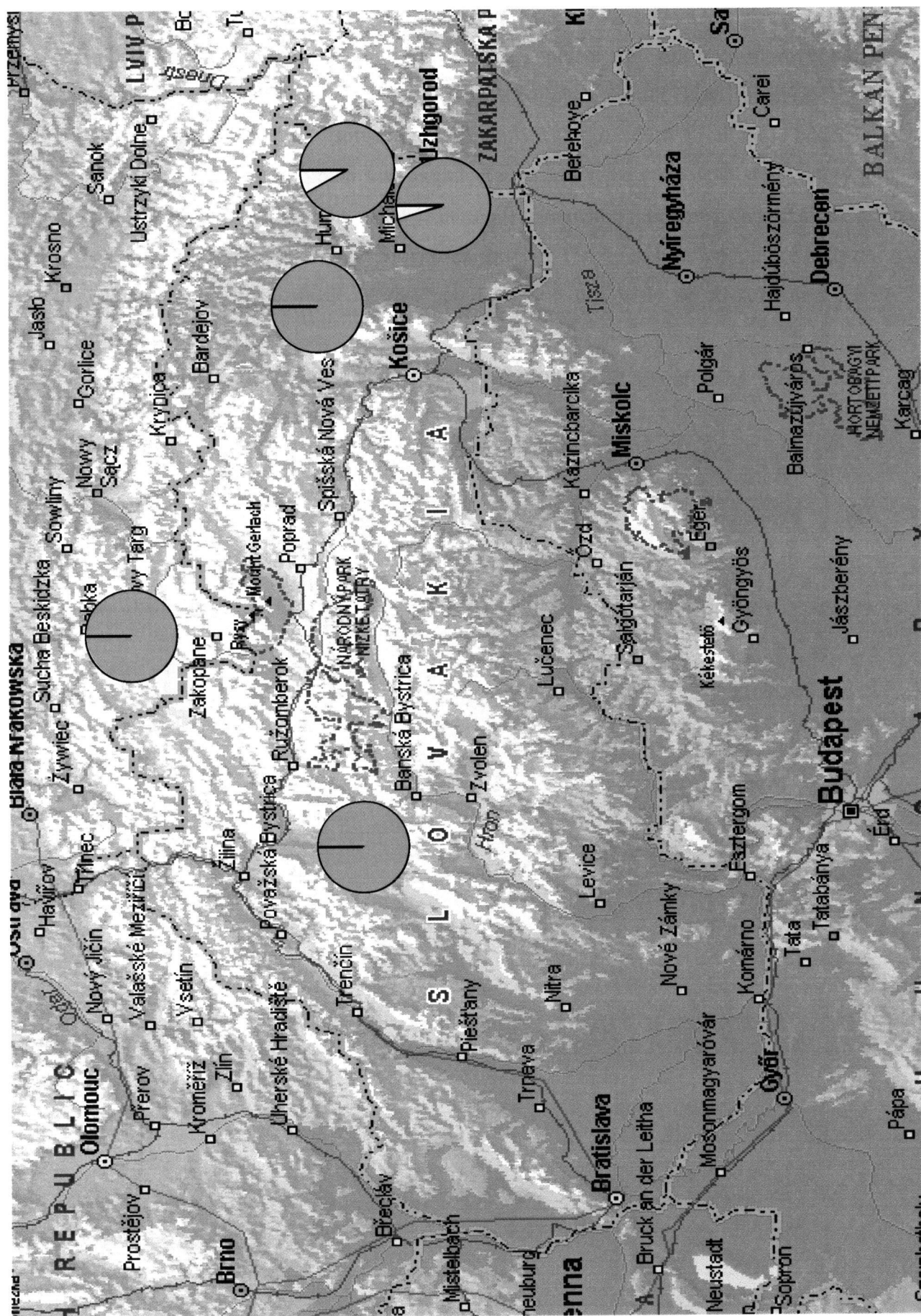
Obr. 9b.: Frekvence alel lokusu SMDH 2 střevle potoční na vybraných lokalitách



Obr. 10a.: Frekvence alel lokusu LDH A střevle potociční na vybraných lokalitách



Obr. 10b.: Frekvence alel lokusu LDH A strevie potocni na vybraných lokalitach

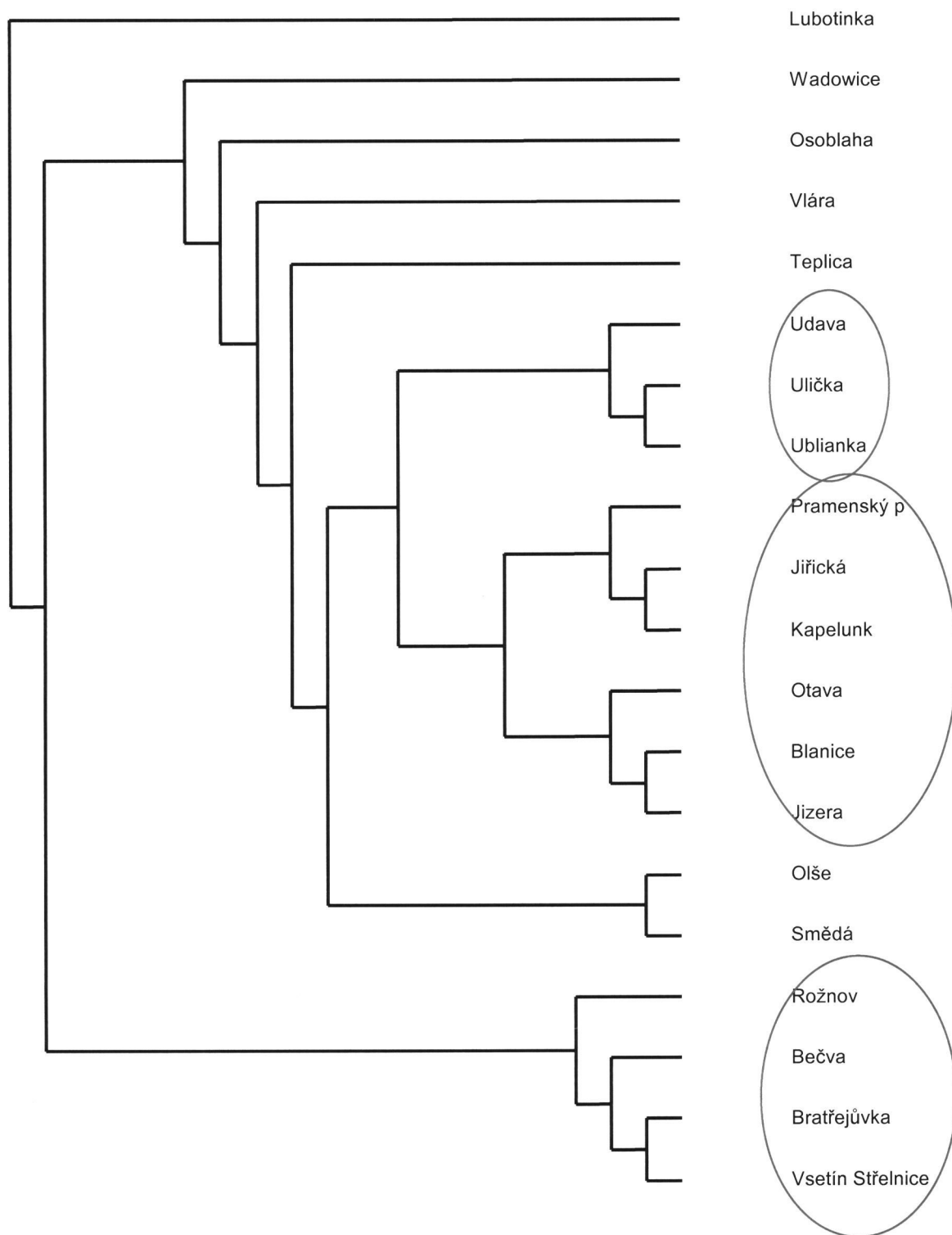


Z hodnot genetických vzdáleností pak byl zkonstruován strom (fenogram), který graficky ilustruje míru genetické podobnosti studovaných populací. Fenogram na obr. 11 je založen na genetických vzdálenostech podle Cavalli-Sforza, Edwards (1967).

Na obrázku dole je zřetelně definovaná skupina populací z povodí řeky Moravy, která se výrazně liší od ostatních. Dále je oddělena dvojice populací povodí Odry (Smědá a Olše); třetí populace z tohoto povodí – Osoblaha je však umístěna v jiné části stromu a je oddělena třemi jinými větvemi. Velká skupina šesti populací z povodí Labe tvoří další shluk, který je uvnitř rozdělen na dvě podskupiny s nevýznamnou statistickou podporou. Další shluk je tvořen třemi populacemi z východního Slovenska (povodí Tisy). Další dvě populace patří do povodí Váhu a jsou odlišné, poslední dvě populace z povodí Visly se od sebe navzájem rovněž dosti liší.

Ve většině případů strom celkem zdařile zobrazuje hydrogeografické vztahy mezi populacemi a lze tedy předpokládat, že popisuje i vztahy genetické.

Obrázek č. 11.: Fenogram genetické podobnosti populací střevele potoční



6. Diskuse

Při porovnání získaných výsledků s výsledky získanými analýzou jiných druhů z území České republiky patří střevle potoční mezi druhy kaprovitých ryb s nejvyšší genetickou variabilitou. Průměrný stupeň polymorfismu P tohoto druhu se pohybuje přes 34% (v rozmezí $P = 16, 7\%$ až 50%) a průměrný počet alel na lokus byl zjištěn mezi 1, 3 a 2, 8. (Z tohoto přehledu vynechávám populaci z Pramenského potoka, která je v námi analyzovaných lokusech zcela monomorfní – bez genetické variability.) Pro srovnání uvádím např. podoustev říční (*Vimba vimba*), jejíž průměrný stupeň polymorfismu $P \sim 15\%$ (Lusk et al. 2005). Dalšími studovanými druhy byly parma obecná (*Barbus barbus*) s $P \sim 30\%$ (Šlechtová et al. 1998); ostroretka stěhovavá (*Chondrostoma nasus*), jejíž populace měly $P \sim 20\%$ (Lusková et al. 1997); ouklejka pruhovaná (*Alburnoides bipunctatus*) – $P \sim 16\%$ nebo ouklej obecná (*Alburnus alburnus*) s $P \sim 25\%$ (údaje o obou druzích Šlechtová - osobní sdělení). Druhem naší ichtyofauny s nejvyšší dosud zjištěnou genetickou variabilitou je hrouzek obecný (*Gobio gobio*), jehož průměrná míra polymorfismu $P \sim 30\%$ (Šlechtová et al. 2005). (Jak se ale podle posledních výzkumů ukazuje, tato vysoká genetická rozrůzněnost hrouzka může být způsobena tím, že se ve střední Evropě vyskytuje více nerozpoznaných druhů lišících se genetickými parametry, které jsou podle morfologických údajů řazeny do druhu *G. gobio* – Šlechtová, osobní sdělení.)

Z uvedeného je vidět, že střevle potoční je v průměru opravdu geneticky velmi variabilním druhem. Variabilita jednotlivých populací je však značně rozdílná. Populace z Pramenského potoka je zcela bez genetické variability – všechny lokusy byly monomorfní s nejčastěji se vyskytujícími alelami. Tento jev tak neobvyklý u tohoto druhu lze vysvětlit tím, jakým způsobem daná populace vznikla. Vzorek pochází z potoka v Chráněné krajinné oblasti Slavkovský les. V této oblasti se nacházel pouze malý zbytek jediné populace, ze které bylo několik jedinců použito jako výchozí rodičovský materiál k znovuosídlení potoka. Tok byl příslušným způsobem upraven tak, aby vyhovoval nárokům druhu na prostředí a zjevně vhodně, protože populace se zde uchytila a v současné době dobře prospívá. Jediný problém, který tato populace má, je naprostý nedostatek genetické variability (tedy do té míry, do jaké jsme byli schopni tuto variabilitu detekovat). Jev byl pravděpodobně způsoben tím, že k obnovení populace byl použit pouze malý počet jedinců, navíc velice pravděpodobně příbuzných – uplatnil se zde tedy tzv. „founder effect“. Rodičovští jedinci byli velice pravděpodobně geneticky monomorfní (přinejmenším v analyzovaných lokusech), a proto dali vzniknout geneticky monomorfnímu potomstvu. (Další možností je, že původní genetická

variabilita – pravděpodobně však velmi nízká – mohla během krátké doby vymizet, a to buď proto, že vlivem místních podmínek byly některé varianty negativní selekcí z populace odstraněny, nebo náhodně – genetickým driftem. Tato možnost je však vzhledem ke krátké době existence této populace nepravděpodobná.)

Jak je vidět z obrázků 2 – 10, genetická rozrůzněnost populací střeve alespoň v některých lokusech je organizována podle hlavních povodí. Dobře je vidět, jak ve většině studovaných lokusů jsou populace labského povodí odlišné od povodí ostatních (např. lokus *sAAT*, lokusy *SOD*, *sMDH-1* nebo *sMDH-2*). V dalších případech se alespoň povodí Labe liší od ostatních frekvencemi výskytu jednotlivých alel. Na druhé straně se např. v lokusu *GPI-1*, *CK*, *GPI-2* nebo *LDH-A* výrazně liší populace z východního Slovenska – povodí Tisy - od zbytku populací. V lokusu *SOD* můžeme pozorovat vzrůstající zastoupení alely 200 ve směru ze západu na východ.

Kromě toho je z obrázků vidět, že genetická variabilita populací povodí Labe je výrazně nižší, než u populací z povodí Dunaje. Tuto skutečnost je možné vysvětlit faktem, že oblast Dunaje během zalednění fungovala jako refugium pro druhy ustupující před ledovcem. Po oteplení klimatu a ústupu ledovců druhy opět expandovaly na uvolněné území a tehdy existujícími vodními cestami se i střeve dostávala až na území nynějších Čech – tedy do povodí Labe. Vzhledem k tomu, že na okrajích areálu rozšíření druhu je obecně genetická variabilita vždy nižší (founder effect, bottleneck effect), lze pochopit, že v labském povodí, které bylo sekundárně osídleno po konci doby ledové, vykazují populace střeve nižší genetickou variabilitu.

Lokality náležející k povodí Odry (především Smědá a Olše), ukazují v některých lokusech - *sAAT*, *GPI-2*, *PGM* – přítomnost alel, které se u jiných populací vyskytují buď jen v labských nebo jen v dunajských populacích. Vysvětlení by mohlo být takové, že tyto populace mohou obsahovat jak „labské“, tak „dunajské“ alely. K uvedené situaci, tedy smísení prvků různých povodí, občas může dojít v důsledku tzv. „river capture“ (do češtiny překládáno jako říční pirátství), kdy v důsledku geologických procesů může (obzvláště v horských oblastech) dojít k tomu, že horní úsek toku změní koryto a začne se vlévat do toku patřícího do jiného povodí. Jako důsledek pak může dojít ke smísení dvou předtím odlišných genofondů.

V poslední době probíhá studie střeve z velké části Evropy, která spočívá v porovnání nukleotidových sekvencí genu pro cytochrom b v mitochondriální DNA. Tato DNA se dědí maternálně, nerekombinuje v potomstvu fenotypy od obou rodičů a je tedy velice vhodná pro studium fylogenetických a fylogeografických souvislostí mezi populacemi druhu. Výsledky

ukazují, že v Evropě existují samostatné linie pro populace povodí Labe, pro populace středního Dunaje (např. moravské populace) a pro populace povodí Tisy. Toto může souviset s migracemi po skončení zalednění Evropy a s různými migračními cestami, kterými se organismy z refugií dostávaly do zbytku území. Do střední Evropy se z dunajského refugia ryby pravděpodobně dostávaly dvěma cestami: jednak přes Moravu, jednak po tocích v nížinách na východ a sever od Karpatského oblouku (Ukrajina, Polsko východní Německo). Povodí, která se nacházejí na východě a severu naší republiky (Odra) – ale i např. Visla - ve svých populacích vykazují známky sekundárního kontaktu mezi liniemi povodí Labe a Dunaje (Šlechtová – osobní sdělení). Tedy výsledky analýzy DNA (prozatím mitochondriální) rovněž ukazují na geografické souvislosti genetické příbuznosti populací různých povodí.

Existuje zde i spekulativní možnost (zatím však nedostatečně podložená), že se u tohoto druhu setkáváme vlastně s několika druhy (nebo poddruhy, i když tato kategorie v poslední době není uznávána – Kottelat 1997), které jsou morfologicky těžko rozlišitelné. Jistou indicií by mohly být i rozdílné parametry plodnosti případně různé preference výtěrového substrátu. Na druhou stranu by tyto rozdíly mohly být důsledkem plasticity a variability uvnitř druhu. Tato možnost však vyžaduje hlubší studium.

Dalším z možných hypotetických vysvětlení některých nesrovnalostí ve výskytu alel v různých populacích střevle jsou pak zásahy člověka. Střevle mohla být převážena velmi hojně již v 19. stol., kdy byla využívána v tehdejších pstruhových chovech jako zdroj potravy pro pstruhy. Například záznamy Friče (1875), který popisuje způsob vysazování střevlí do připravených pstruhových rybníčků. V pozdějších letech, kdy byla stále brána jako plevelná rybka a jen příležitostně chována jako zdroj potravy pro pstruhy, nemuselo být příliš mnoho možností přepravy střevle. Největší a nejčastější převozy jsou zaznamenány s pstruhem potočným. Ten se však převážel ve stádiu jikry v očních bodech, a převoz střevle byl tak značně omezen. Zlom nastal při zrychlení a zvětšení přepravy, kdy se začaly využívat nákladní automobily a lososovité ryby se převáželi na větší vzdálenosti a i v jiných stádiích než v jikře. V těchto transporthách už nebyla tak přesná kontrola a v polovině minulého století se navíc o podobnou problematiku nikdo nezajímal. Dalším, sice malým ale přesto významným faktorem bylo využívání střevle jako nástražní rybičky při sportovním rybolovu. S postupným ubýváním lokalit výskytu mohla být stále více převážena na větší vzdálenosti a to jen pro snadnější a větší úlovky pstruhů. Současný systém hospodaření na pstruhových revírech již neumožňuje tolik nežádoucích převozů ryb. Při odlovech ročků a starších násad pstruha potočného agregáty jsou ryby převáženy na krátké vzdálenosti, v rámci působnosti dané

rybářské organizace. Při převozech na větší vzdálenosti a vysazování mnohem vyšších stavů plůdku pstruhů, je jejich původ přímo z líhně a možnost převozu střevle je tím velmi snížena.

Mnohem horší možností by mohl být (a pravděpodobně je) nekontrolovaný převoz střevlí ze záchranných chovů pro repatriační programy, kdy nebývá respektováno hledisko ani hlavních povodí a převládají spíše hlediska ekonomická než odborně ochránářská praxe. Vzhledem k tomu, že genetické složení populace je výsledkem dlouhodobé interakce genomu populace a konkrétního prostředí, lze s velkou pravděpodobností předpokládat, že na jedné straně výsledné genetické složení je optimálně danému prostředí přizpůsobeno a na druhé straně genetická variabilita populace jí zajišťuje přežití ve smyslu možnosti reagovat na běžné výkyvy tohoto prostředí. Teoreticky je proto možné, že pokud se populace „přenes“ do prostředí nového, nemusí být schopna v něm dlouhodobě přežít. Pokud se použije pro „posílení“ jiné, ohrožené populace, může v extrémním případě původní populaci naopak oslabit v důsledku konkurence a poté může sama vymizet, protože nové prostředí jí nebude dlouhodobě vyhovovat. Vzhledem k tomu, že nelze předpovědět, jak se určitá populace bude v novém prostředí chovat, je nezbytné při tzv. repatriačních nebo záchranných aktivitách dodržovat pravidlo předběžné opatrnosti – tedy předpokládat nejhorší možnou variantu a pro tyto aktivity používat jako výchozí materiál jedince z pokud možno co nejbližší možné lokality nebo ještě lépe – „zachraňované“ populaci poskytnout na lokalitě takové podmínky, aby byla sama schopna se udržet a dlouhodobě prosperovat. Takovým příkladem může být populace z Pramenského potoka, která vznikla za přispění člověka z malého zbytku původní populace a je (v mezích možností naší analýzy) geneticky zcela monomorfní, přesto díky vytvoření vhodných podmínek pro její existenci celkem dobře prosperuje.

7. Závěr

Analýzy genetické struktury vybraných populací střevele potoční prokázaly značnou variabilitu tohoto druhu a rovněž odhalily rozdíly v genetické struktuře populací mezi jednotlivými povodími na území České republiky a Slovenska. Výsledky přispěly k podpoře hypotézy o glaciálních refugiích a pravděpodobných migračních cestách osidlování střední Evropy po ústupu ledovců. Srovnání našich výsledků s výsledky získanými analýzou mitochondriální DNA však také ukazují na možnost existence více druhů v současnosti zahrnovaných pod jedno jméno. Naznačily rovněž důležitost poznání genetické struktury druhu k vytvoření souboru dat využitelných pro případné ochranné aktivity. Zde je třeba znovu zdůraznit potřebu zachovávat opatrnost při výběru vhodného materiálu pro repatrice – s respektováním hlediska alespoň větších hydrologických celků, abychom snížili možná rizika tzv. genetické eroze, jejímž důsledkem pak může být snižování schopnosti dlouhodobého přežívání populace.

Tuto práci by bylo vhodné rozšířit o další lokality pro ucelené a hlubší srovnání populací střevele z různých povodí – zejména by bylo dobré získat materiál z oblastí horní Vltavy a z jejích přítoků, dále pak o lokality výskytu z oblasti Českomoravské vysočiny. Velmi cenným přínosem by mohly být i vzorky z horního toku Dunaje, např. z Rakouska či Německa. Kromě toho by bylo vhodné zpřesnit mapování lokalit s výskytem střevele a prohloubit analýzu použitím variabilních znaků založených na DNA.

8. Použitá literatura

- Balon, E., 1966: Ryby Slovenska. Bratislava: Obzor.
- Banarescu, P., 1990: Zoogeography of Fresh Waters: AULA-Verlag, Wiesbaden, Germany. 1617 pp.
- Baruš, V., Lusk, S., Gajdůšek, J., 1981: Fauna ryb a její zachování v Československu. Památky a příroda 6, 619-623.
- Baruš, V. et al., 1989: Červená kniha ohrožených a vzácných druhů rostlin a živočichů ČSSR, díl 2.. Praha: Státní zemědělské nakladatelství Praha.
- Baruš, V., Oliva, O. et al., 1995: Fauna ČR a SR / Mihulovci a ryby (1, 2). Praha: Academia
- Berg, L. S., 1912: Über die Zusammensetzung und Herkunft der Fischfauna des Amur Flusses mit Bezug auf die Frage von den zoogeographischen Regionen für die Süßwasserfische. Zool. Jb. Syst., Geogr., Biol. d. Tiere, 32 (6): 475-520.
- Berg, L. S., 1948-1949: Ryby přesných vod SSSR i sopredel'nyh stran. Izd. AN SSSR, Moskva. Č. 1, 1948, 466pp., 281 obr.; č. 2 (Opredeliteli po faune SSSR), 1949, pp. 469-925, obr. 288-674; č. 3, 1949, pp. 929-1381, obr. 675-946, 1 mapa.
- Blahák, P., 1981: Příspěvek k poznání ichtyofauny dolního toku Vlány. Acta Rerum naturalium Musei Nationalis slovaci 27, 123-139.
- Bless, R., 1992: Einsichten in die Ekologie der Elritze *Phoxinus phoxinus* (L.); praktische Grundlagen zum schutz einer gefährdeten Fischart. Bonn-Bad Gedesberg: Bundesforschungsansalt für Naturschutz und Landschaftsökologie.
- Bogutskaya, N. G., Kerzhner, I. M., Spodareva, V. V., 2005: On the spelling of the scientific name of the lake minnow *Phoxinus percnurus* (Teleostei: Cyprinidae). Ichthyol. Explor. Freshwaters 16 (1): 93-95.
- Boroń, A., 2001. Comparative chromosomal studies on two fish, *Phoxinus phoxinus* (Linnaeus, 1758) and *Eupallasella perenurus* (Pallas, 1814); an associated cytogenetic-taxonomic considerations. Genetica 111: 387 – 395.
- Briolay, J., Galtier, N., Brito, R. M., Bouvet, Y., 1998: Molecular phylogeny of Cyprinidae inferred from cytochrome b DNA sequences. Mol Phylogenet Evol. 9 (1): 100-8.
- Cavalli-Sforza L. L. & Edwards A. W. F., 1967: Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. Evolution 21: 550-570.
- Clayton, J. W., Tretiak, D. N., 1972: Amine-citrate buffers for pH control in starch gel electrophoresis. J. Fish. Res. Board Can. 29: 1169 - 1172.

- Dmitrijev, J., 1990: Ryby známé i neznámé, lovené, chráněné. Praha: Lidové nakladatelství, 37–38.
- Doeringsfeld, M. R., Schlosser, I. J., Elder, J. F., Evenson, D. P., 2004: Phenotypic consequences of genetic variation in a gynogenetic complex of *Phoxinus eos-neogaeus* clonal fish (Pisces: Cyprinidae) inhabiting a heterogeneous environment. *Evolution Int J Org Evolution*. 58 (6): 1261-73.
- Dušek, J., 2002: Ekologické charakteristiky ichtyocenózy s dominancí střevle potoční v prostředí malého vodního toku. Dipl. práce, P. F UK Praha, 103 pp. (nepubl.).
- Dušek, J., 2003: Příspěvky k popisu ekologie střevle potoční (*Phoxinus phoxinus* L.). Sborník abstraktů z konference Zoologické dny, 110-111.
- Dušek, J., 2003: Metodická příručka pro ochranu populací, chov a repatriaci střevle potoční (*Phoxinus phoxinus* L) s poznámkami o biologii druhu. AOPK ČR: 1-43 s.
- Dušek, J., Švátora, M., 2002: Růst tří vybraných populací střevle potoční (*Phoxinus phoxinus*). Sborník referátů z V. české ichtyologické konference, 65-74.
- Dyk, V., 1946: Příspěvky k biologii střevle. Sborník ČSAZV 19, 138-140.
- Dyk, V., 1952: Naše ryby. Praha: Zdravotnické nakladatelství, 180–183.
- Dyk, V., 1956: Potravní základna v pstruhových vodách. Sb. ČSAV- Živoč. výroba, 29 (12): 985-990.
- Dyk, V., 1983: Ohrožená existence střevle potoční v našich vodách. Památky a příroda 8, 115-119.
- Felsenstein, J., 1993: PHYLIP (PHYLogeny Inference Package) version 3. 5c. Distributed by the author. Department of Genetics, University of Washington, Seattle.
- Ferguson, K. A., Wallace, L. C., 1961: Starch gel electrophoresis of anterior pituitary hormones. *Nature* 190: 629 - 630.
- Frič, A., 1875: Umělé pěstování ryb v Čechách. Zpráva o výsledcích pěstování lososů a pstruhů v letech 1871/74. Praha, 36 pp.
- Frič, A., 1908: České ryby a jejich cizopasnici. 2. vyd. VI. Nákladem (komise F. Řivnáč), Praha 78 pp., 111 obr.
- Gilles, A., Lecointre, G., Faure, E., Chappaz, R., Brun, G., 1998: Mitochondrial phylogeny of the European cyprinids: implications for their systematics, reticulate evolution, and colonization time. *Mol Phylogenet Evol.* 10 (1): 132-43.

- Gilles, A., Lecointre, G., Miquelis, A., Loerstcher, M., Chappaz, R., Brun, G., 2001 Partial combination applied to phylogeny of European cyprinids using the mitochondrial control region. *Mol Phylogenet Evol.* 19 (1): 22-33.
- Greenwood, M. F. D., Metcalfe, N. B., 1998: Minnows become nocturnal at low temperatures. *Journal of Fish Biology* 53, 25-32.
- Griffiths, S. W., 1997: Preferences for familiar fish do not vary with predation risk in the European minnow. *Journal of Fish Biology* 51, 489-495.
- Hanel, L., 1995: Ochrana ryb a mihulí (metodika ČSOP č. 10). Vlašim: ZO ČSOP Vlašim.
- Hanel, L., Lusk, S., 2003: Červený seznam mihulí a ryb České republiky. *Příroda*, Praha, 22: 73-82.
- Hänfling, B., Brandl, R., 2000: Phylogenetics of European cyprinids: Insights from allozymes. *Journal of Fish Biology* 57, 265-276.
- Harris, H., Hopkinson, J. A., 1976. *Handbook of Enzyme Electrophoresis in Human Genetics*. North-Holland Publ. Comp., Amsterdam - Oxford.
- Hartl, D., Clark, A. G., 1997: *Principles of population genetics*. Sinauer, Sunderland, MA.
- Hillis, D. M., Mable B. K. and Moritz C., 1996: Applications of molecular systematics: the state of the field and a look to the future. In D. M. Hillis, C. Moritz, and B. K. Mable (eds.), *Molecular Systematics*, second edition, Sinauer Associates, Sunderland MA., pp. 515-543.
- Hochman, L., 1957: Ichtyologický výzkum řeky Moravice. *Acta Universitatis agriculturae A* 5, 83-117.
- Horáček J., Hartvich P., Lusk S., 2002: Pokus o řízenou repatriaci střevle potoční v malém toku. *Biodiverzita ichtyofauny České republiky* 4, 79-84.
- Howes, G. J., 1991: Systematics and biogeography: an overview. In: Winfield, I. & Nelson, J. (eds.), *Cyprinid fishes. Systematics, biology and exploitation*. Chapman & Hall, London: 1 - 33.
- Husko, A., Sutela, T., 1997: Minnow predation on vendace larvae: Intersection of alternative prey phenologies and size-based vulnerability. *Journal of Fish Biology* 50, 965-977.
- Irving, P. W., Magurran, A. E., 1997: Contest-dependent fright reactions in captive European minnows: The importance of naturalness in laboratory experiments. *Animal Behaviour* 53, 1193-1201.
- Jones, F. R. H., 1956: The behaviour of minnows in relation to light intensity. *Journal of Experimental Biology* 33, 271-281.

- Kennedy, G. J. A., 1981: Individual variation in homing tendency in the european minnow, *Phoxinus phoxinus* (L). *Animal Behaviour* 29, 621-625.
- Kirillov, F. N., 1972: *Ryby Jakutii*. Moskva: Izd. Nauka.
- Kocher T. D., Stepien C. A., 1997: Molecules and Morphology in studies of Fish evolution. In: *Molecular Systematics of Fishes* (eds. Kocher T. D., Stepien C. A.), 1-11. New York: Academic Press.
- Kottelat, M., 1997: European freshwater fishes. *Biologia* 52 (Suppl. 5): 1-271.
- Krausse, J., Cheng, D. J. -S., Kirkman, E., Ruxton, G. D., 2000: Species-specific patterns of refuge use in fish: The role of metabolic expenditure and body length. *Behaviour* 137, 1113-1127.
- Letting, D. L., Fecteau, D. A., Haws, T. F., Reed, S. L., Hopkins, R. O., Coleman, R. D., Goddard, K. A., 1999: Unexpected ratio of allozyme expression in diploid and triploid individuals of the clonal hybrid fish *Phoxinus eos-neogaeus*. *J Exp Zool.* 284 (6): 663-74.
- Lohniský, K., 1964: Příspěvek k systematice a sexuálnímu dimorfismu střevle potoční, *Phoxinus phoxinus* (Linnaeus 1758). *Acta musei Reginaehradecensis A* 6, 221-246.
- Lojkásek, B., Lusk, S., Halačka, K., Lusková, V., 2000: Fish communities in the drainage area of the Osoblaha river and effect of the 1997 flood. *Czech Journal of Animal Science* 45, 229-236.
- Lusk, S., 1993: Fish communities and their management in the Fryšávka stream. *Folia Zoologica* 42, 183-192.
- Lusk, S., Lusková, V., Halačka, K., Šlechtová, V., Šlechta, V., 2005: Characteristics of the remnant *Vimba vimba* population in the upper part of the Dyje River. *Folia Zool.* 54 (4): 389 – 404.
- Lusková, V., Šlechtová, V., Povž, M., Šlechta, V., Lusk, S., 1997: Genetic variability of *Chondrostoma nasus* populations in rivers of the Black Sea and the Baltic sea drainage systems. *Folia Zoologica*, 46 (Suppl.):
- Magurran, A. E., Pitcher, T. J., 1983: Foraging, timidity and shoal size in minnows and goldfish. *Behaviour Ecology and Sociobiology* 12, 147-152.
- Maitland, P. S., 1965: The feeding relationships of salmon, trout, minnows, stone loach and three-spined sticklebacks in the river Endrick, Scotland. *Journal of Animal Ecology* 34, 109-133.
- Markert, C., Moller, D., 1959: Mutiple forms of enzymes: tissues, ontogenetic and species specific pattners. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 45: 753 – 763.

- May, B., 1993: Starch gel electrophoresis of allozymes. In: Molecular Genetic Analysis of Populations. A Practical Approach (ed. Hoelzel A. R.). Oxford: IRL Press. 1993
- Millse, C. A., Eloranta, A., 1985: The biology of *Phoxinus phoxinus* (L.) and other littoral zone fishes in Lake Konnevesi, central Finland. *Annales Zoologici Fennici* 22, 1-12.
- Mužík, V., 1998: Ichtyofauna of the upper part of Torysa river. *Czech Journal of Animal Science* 43, 489-496.
- Nei M. 1972: Genetic distances between populations. *Amer. Nat.* 106: 283-292.
- Nei M. 1978: Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- Nelson, J. S., 2006: *Fishes of the World*, 4th Edition. John Wiley & Sons, New York, 601 s.
- Oliva, O., 1963: Kruhoústí a ryby Čech. Habilitační práce, Zoologický ústav Karlovy univerzity, Praha, 584 pp. (nepubl.).
- Oliva, O., Balon, E., 1968: Survey of the results of the Czechoslovak ichthyology and herpetology in the last 23 years (1945-1967). *St. knihovna ČSSR*, (3-4), s. 65-69.
- Papadapol, M., Wernerberger, A., 1975: On the reproduction of *Phoxinus phoxinus* (Linnaeus, 1758) (Pisces: Cyprinidae) with notes on the aspects of life history. *Věst. čs. Společ. Zool.*, 39 (1): 39-52.
- Pasteur, N., Pasteur, G., Bonhomme, F., Catalan, J., Britton-Davidian, J., 1987. *Manuel Technique de Genetique par Electrophorese des Proteines*. Technique et Documentation (Lavoisier), Paris, 217 pp. (in French).
- Peňáz, M., 1975: Die lokomotorische Aktivität larvaler und juveniler Elritzen (*Phoxinus phoxinus*). *Folia Zoologica* 24, 263-276.
- Podubský, V., Štědranský, E., 1956: Doplnky k biologii střevle potoční (*Phoxinus phoxinus* L.). *Živočišná výroba* 29, 107-114.
- Poulik, M. D., 1957. Starch electrophoresis in a discontinuous system of buffers. *Nature* 180, 1477.
- Powell J. R., 1994: Molecular techniques in population genetics: A brief history. In: *Molecular Ecology and Evolution: Approaches and Applications* (eds. Schierwater B., Streit B., Wagner G. P., DeSalle R.). Berlin: Birkhauser Verlag.
- Prakashem, S., Lewontin R. C., Hubby J. L., 1969: A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. IV. Patterns of genic variation in central, marginal and isolated populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics* 61, 841-858.

- Ráb, P., 1980 (1981): Cytogenetické studium některých druhů ryb čeledi Cyprinidae. Kand. dis. práce, Ústav fyz. a gen. hosp. zvířat ČSAV, Liběchov, 249 pp. (nepubl.)
- Roussel, J. M., Bardonnnet, A., 1997: Diel and seasonal patterns of habitat use by fish in a natural salmonid brook: An approach to the functional role of the riffle-pool sequence. Bulletin Francais de la Peche et de la Pisciculture 346, 573-588.
- Řehulka, J., 1970: Růst, rozmnožování a potrava střevle potoční (*Phoxinus phoxinus*) v podmínkách potoka Hořiny. Acta Universitatis agriculturae A 18, 479-493.
- Řepa, P., 1971: Beitrag zur Kenntnis des Geschlechtsdimorfismus der Elritze, *Phoxinus phoxinus* (Linnaeus, 1758). Věstník československé Společnosti zoologické 35, 126-131.
- Řepa, P., Pivnička, K., 1980: Morphologische Variabilität der Elritze (*Phoxinus phoxinus*) (Pisces: Cyprinidae). Věstník československé Společnosti zoologické 44, 68-80.
- Scott, W. B., Crossman, E. J., 1973: Freshwater fishes of Canada. Bull. Fish. Res. Board Can. 184. 966 pp.
- Shaklee, J. B., Allendorf, F. W., Morizot, D. C., Whitt, G. S., 1990. Gene nomenclature of protein-coding loci in fish. Trans. Amer. Fish. Soc. 119, 2-15.
- Siebold, C. T. E., 1863: Die Süßwasserfische von Mitteleuropa. Leipzig: W. Engelmann.
- Simons, A. M., Berendzen, P. B., Mayden, R. L., 2003: Molecular systematics of North American phoxinin genera (Actinopterygii: Cyprinidae) inferred from mitochondrial 12S and 16S ribosomal RNA sequences. Zool J of the Linnean Soc, 139 (1), 63–80.
- Simons, A. M., Mayden, R. L., 1998: Phylogenetic relationships of the western North American phoxinins (Actinopterygii: Cyprinidae) as inferred from mitochondrial 12S and 16S ribosomal RNA sequences. Mol Phylogenet Evol. 9 (2): 308-29.
- Smithies, O., 1955: Zone electrophoresis in starch gels: Group variations in the serum proteins of normal human adults. Biochem. J. 61: 629-641.
- Smithies, O., 1959: Zone electrophoresis in starch gels and its application to studies of serum proteins. Adv Protein Chem. 14: 65–113.
- Starmach, J., 1963: Występowanie i charakterystyka strzebli (*Phoxinus phoxinus* L) w dorzeczcu potoku Mszanka. Acta Hydrobiologica 5, 367-381.
- Straškraba, M., Čihař, J., Frank, S., Hruška, V., 1966: Contribution to the problem of food competition among the sculpin, minnow and brown-trout. Journal of Animal Ecology 35, 303-311.

- Swofford, D. L., Selander, R. B., 1989: Biosys-1. A Computer Program for the Analysis of Allelic Variation in Population Genetics and Biochemical Systematics. D. L. Swofford, Illinois Natural History Survey, Champaign, IL, USA.
- Šlechta, V., Šlechtová, V., Lusková, V., 1998: Současný stav znalostí vnitrodruhové diverzity ichtyofauny České republiky. Biodiverzita ichtyofauny České republiky 2, 5-17.
- Šlechtová, V., Šlechta, V., Lusková, V., Lusk, S., Berrebi, P., 1998: Genetic variability of common barbel, *Barbus barbus* populations in the Czech Republic. Folia Zool. 47 (Suppl. 1): 21-33.
- Šlechtová V., Lusková V., Šlechta V., Lusk S., Koščo J., 2005. Intraspecific allozyme diversity of *Gobio gobio* in Czech and Slovak rivers Folia Zool. 54 (Suppl. 1): 25 – 32.
- Štědranský, E., 1947: Druhotné pohlavní znaky u piskoře (*Misgurnus fossilis* L.) a střevle (*Phoxinus laevis* Ag.). Sborník ČSAZV 20, 384-390.
- Štědranský, E., 1956: K přirozené výživě pstružního plůdku po ztrátě žloutkového vajíčku. Sb. ČSAZV, 29 (9): 681-684.
- Toline, C. A., Baker, A. J., 1995: Mitochondrial DNA variation and population genetic structure of the northern redbelly dace (*Phoxinus eos*). Mol Ecol. 4 (6): 745-53.
- Tuček, J., 1964: Systematika a růst střevle potoční (*Phoxinus phoxinus*). Dipl. práce, PřF UK Praha, 78 pp. (nepubl.).
- Valenta, M., Hyldgaard-Jensen, J., Jensen, E. S., 1971: Interaction of veronal, pyrophosphate, citrate and protein with lactate dehydrogenase isozyme determination and kinetics. Acta Vet. Scand. 12: 15 - 35.
- Vladykov, V., 1927: Über den geschlechtlichen Dimorphismus bei Ellritzen *Phoxinus phoxinus* (Linné). Zoologische Anzeiger 74, 322-328.
- Woodhead, P. M. J., 1956: The behaviour of minnows (*Phoxinus phoxinus* L.) in a light gradient. Journal of Experimental Biology 33, 257-270.
- Zardoya, R., Doadrio, I., 1999: Molecular evidence on the evolutionary and biogeographical patterns of European cyprinids. J Mol Evol. 49 (2): 227-37.
- Zardoya, R., Economidis, P. S., Doadrio, I., 1999: Phylogenetic relationships of Greek cyprinidae: molecular evidence for at least two origins of the Greek cyprinid fauna. Mol Phylogenet Evol. 13 (1): 122-31.

9. Obrázková příloha

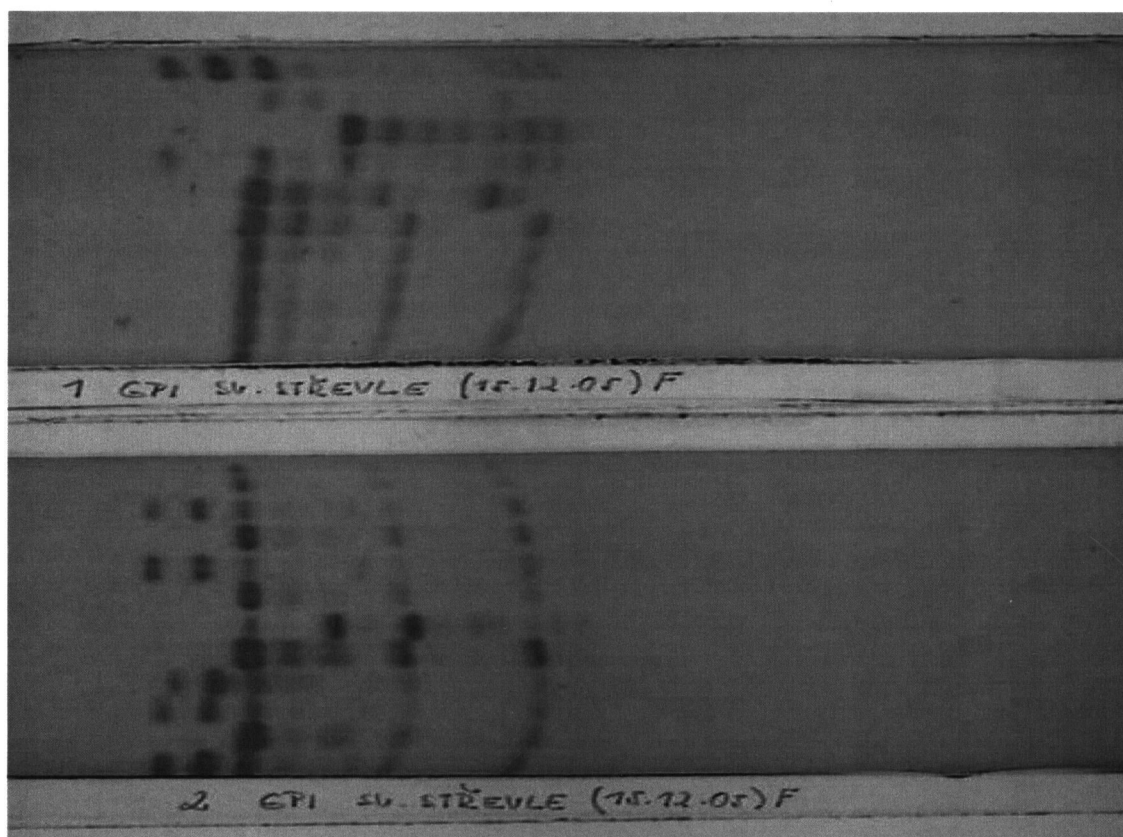
Příloha č. 1.: Mokřady pod vlčkem (CHKO Slavkovský les)



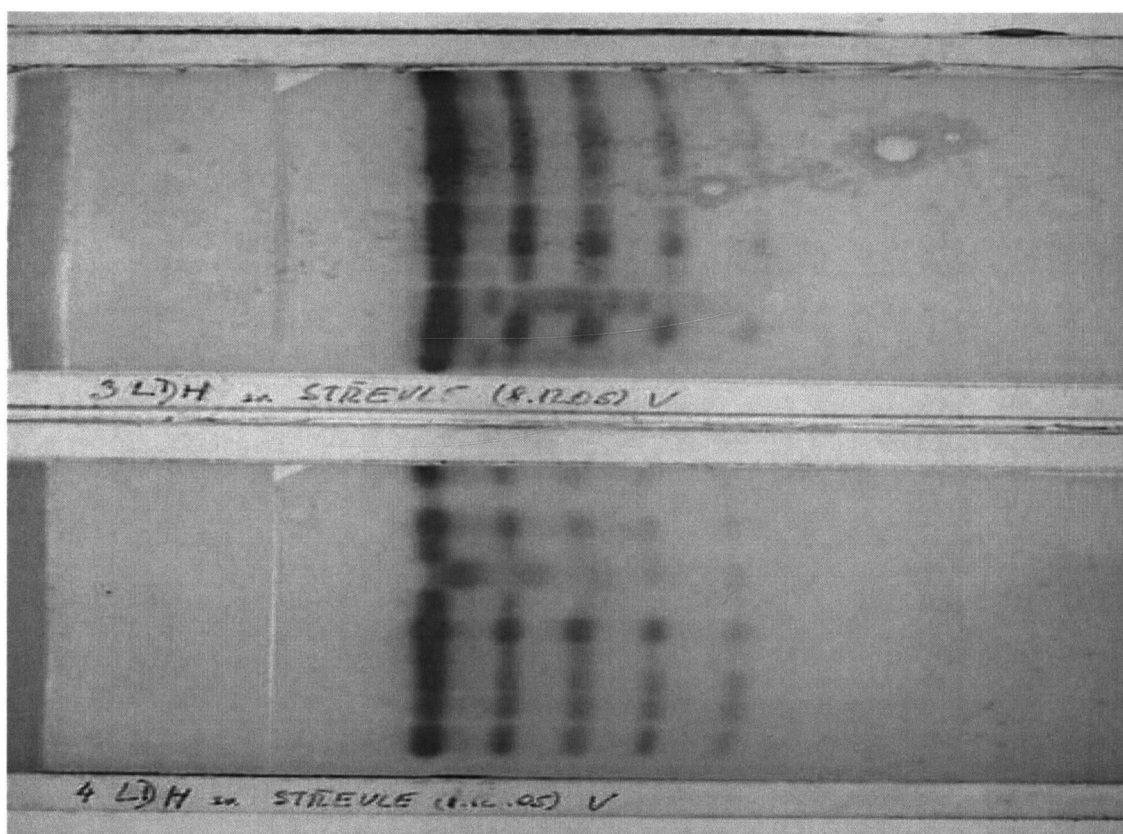
Příloha č. 2.: Blanice



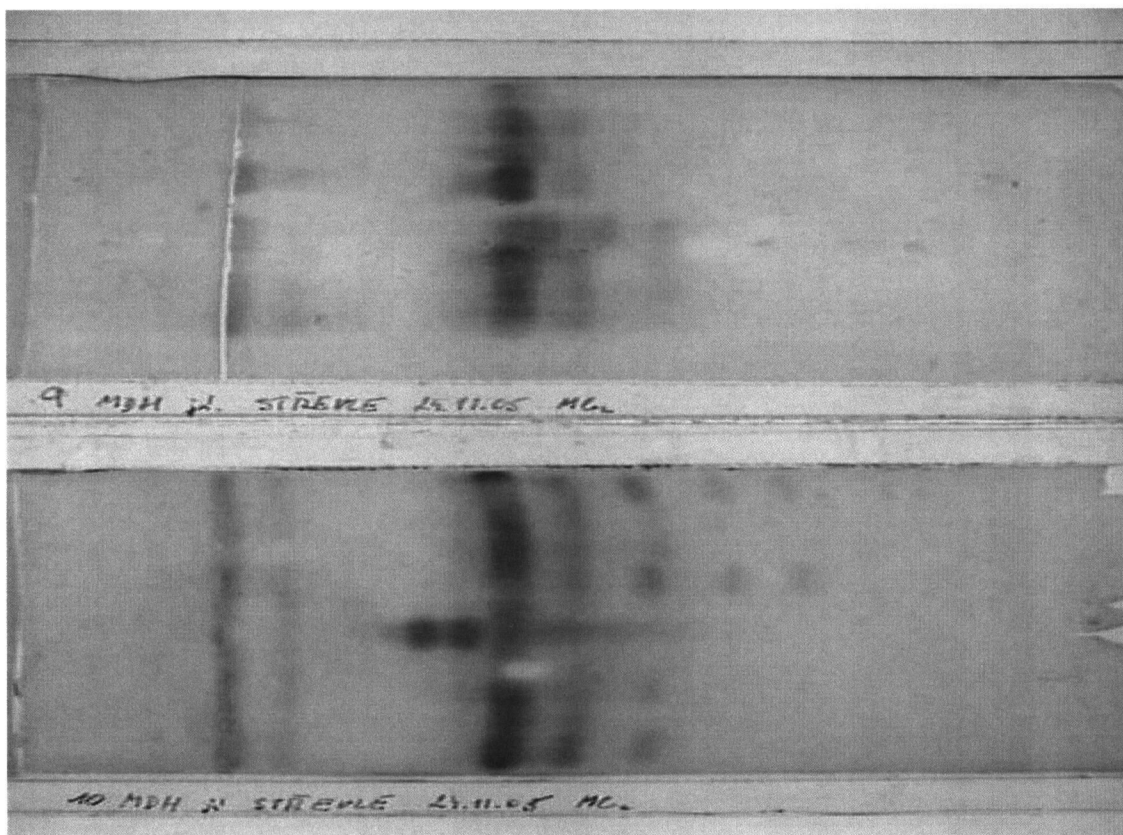
Příloha č. 3.: Foto barveného gelu lokusu GPI



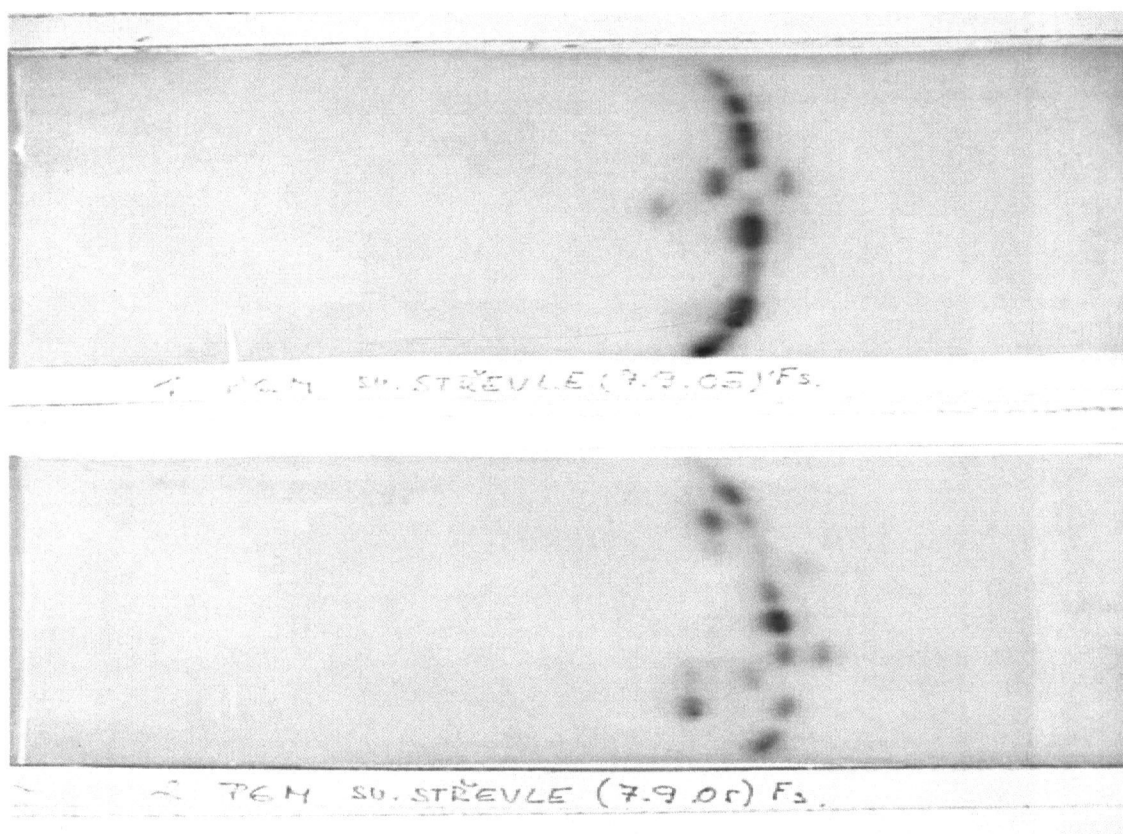
Příloha č. 4.: Foto barveného gelu lokusu LDH



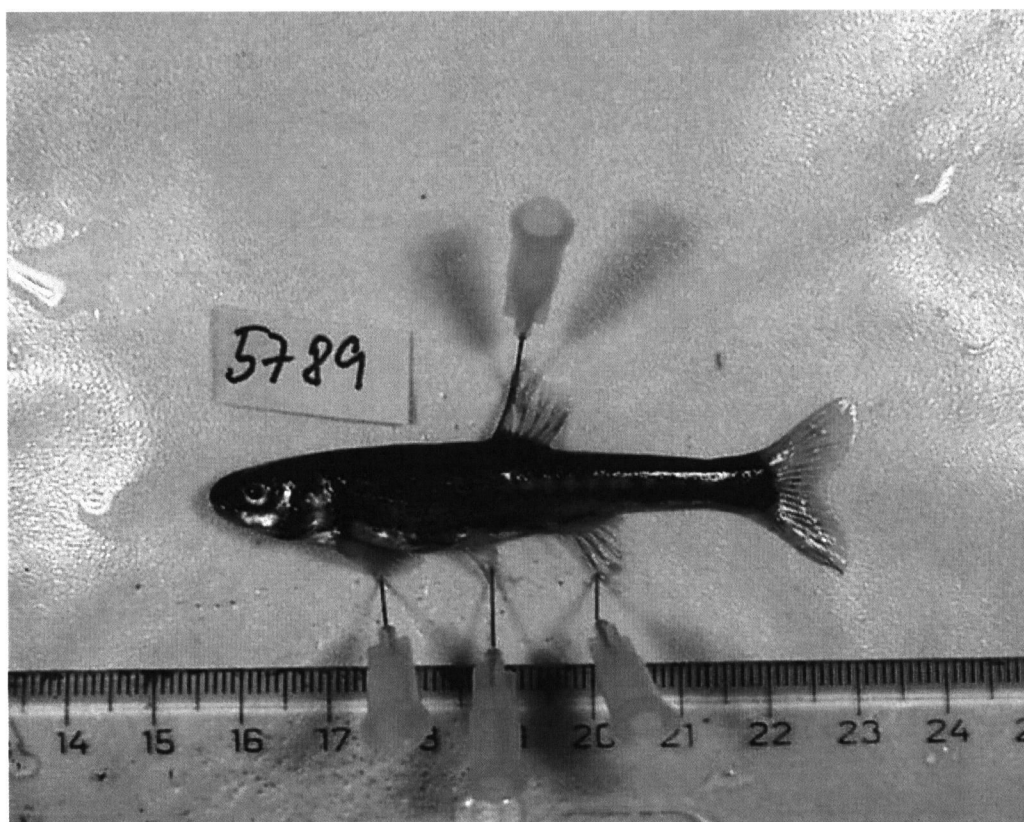
Příloha č. 5.: Foto barveného gelu lokusu MDH



Příloha č. 6.: Foto barveného gelu lokusu PGM



Příloha č. 7.: Foto střevle pro případné morfometrické studie



Příloha č. 8.: Foto střevle pro případné morfometrické studie

