

UNIVERZITA KARLOVA
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
KATEDRA ZOOLOGIE



Rana arvalis wolterstorffi v kontextu
variability druhu

Martin Šandera

Diplomová práce

Vedoucí práce:

Doc. RNDr. Zbyněk Roček, DrSc.

Konzultanti:

Ing. Věra Šlechtová, CSc.

RNDr. Vlastimil Šlechta, CSc.

Praha 2001

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně s použitím citované literatury.

V Praze 18. 4. 2001

.....

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych chtěl poděkovat Doc. RNDr. Zbyňku Ročkovi, DrSc. za vedení diplomové práce a za cenné rady a připomínky při jejím vypracování.

Ing. Věře Šlechtové, CSc. a RNDr. Vlastimilu Šlechtovi, CSc. z Ústavu živočišné fyziologie a genetiky AV ČR v Liběchově děkuji za uvedení do technik biochemické analýzy a konzultace výsledků. Paní Ludmile Kůlové a paní Janě Pivoňkové děkuji za praktickou pomoc při elektroforézách enzymů. Ing. Petru Rábovi, DrSc. a Mgr. Petru Kotlíkovi taktéž z ÚŽFG AV ČR v Liběchově děkuji za cenné rady a připomínky.

RNDr. Jiřímu Moravcovi, CSc. z Národního muzea v Praze děkuji za cenné rady a připomínky a umožnění přístupu k muzejnímu materiálu *Rana arvalis*.

Za poskytnutí muzejních sběrů chci také poděkovat RNDr. Bohuslavu Benešovi (Slezské zemské muzeum Opava), Dr. Balázsi Farkasovi (Hungarian Natural History Museum Budapest), Ing. Mojmíru Foralovi (Ostravské muzeum), Dr. Royovi Danielssonovi (Zoological Museum Lund) a RNDr. Miroslavu Šebelovi (Moravské zemské muzeum Brno).

Ing. Marku Brabcovi, PhD. (Státní zdravotní ústav) děkuji za pomoc při statistickém zpracování výsledků.

Speciální poděkování patří Dr. Göranu Nilsonovi (Göteborg University) za ochotu a úsilí, se kterým zařizoval povolení k odchytu *Rana arvalis* ve Švédsku a za informace ohledně *Rana arvalis*.

Dr. Janu Rafinskemu a Wieslawu Babikovi z Jagellonské univerzity v Krakově děkuji za spolupráci při biochemické analýze některých vzorků v Krakově.

Dále bych chtěl poděkovat všem, kteří mi nějakým způsobem pomohli. Jsou to: Mgr. David Fischer, Daniel Glos, Václav Gvoždík, Dr. Robert Hofrichter, Mgr. Werner Kammel, Jiří Mařík, RNDr. Blanka Mikátová, RNDr. Ivan Reháč, CSc., Karel Rozínek, RNDr. Mojmír Vlašín, Ing. Zdeněk Vitáček, Petr Vlček, MUDr. Vít Zavadil.

Mým rodičům chci poděkovat za pochopení v průběhu práce a za značnou finanční podporu, bez které by tato práce nemohla vzniknout.

Nepopsatelný dík patří mé přítelkyni, Haně Tomincové, za všestrannou pomoc a podporu.

Dále bych chtěl poděkovat nadaci „Nadání Josefa, Marie a Zdeňky Hlávkových“ za finanční dary, ze kterých byla hrazena cesta do Švédska za účelem sběru materiálu a cesta na 10. konferenci *Societas Europaea Herpetologica* (10th Ordinary General Meeting of SEH) v Irakliu na Krétě.

Obsah

Seznam použitých zkratk:	5
1. Úvod	7
1. 1. Druh <i>Rana arvalis</i> Nilsson, 1842 – Skokan ostronosý	9
1. 1. 1. Rozšíření	10
1. 1. 2. Stanoviště	10
1. 1. 3. Začátek a konec sezónní aktivity	11
1. 1. 4. Vývin a růst	11
1. 1. 5. Charakter zbarvení	12
1. 1. 6. Podruhy <i>Rana arvalis</i>	13
1. 2. Porovnání <i>R. a. arvalis</i> a <i>R. a. wolterstorffi</i>	18
1. 2. 1. Rozlišení <i>R. a. arvalis</i> a <i>R. a. wolterstorffi</i>	18
1. 2. 2. Rozšíření <i>R. a. arvalis</i> a <i>R. a. wolterstorffi</i> na styku jejich areálů	19
1. 3. Názory na platnost poddruhů a původ <i>Rana arvalis</i>	20
1. 4. Názory na druhový status <i>Rana altaica</i>	22
Cíle práce:	23
2. Materiál a metody	24
2. 1. Materiál	24
2. 2. Metody	28
2. 2. 1. Morfologické metody	28
2. 2. 2. Biochemické metody	32
3. Výsledky	37
3.1. Morfologická variabilita	37
3. 1. 1. Tělesné rozměry a morfometrické indexy	37
3. 1. 2. Přítomnost vnějšího metatarzálního hrbolu a charakter zbarvení	Error! Bookmark not defined.
3. 2. Genetická variabilita	Error! Bookmark not defined.
3. 2. 1. Elektroforetické fenotypy a distribuce alel	Error! Bookmark not defined.
3. 2. 2. Genetická variabilita	Error! Bookmark not defined.
4. Diskuse	Error! Bookmark not defined.
5. Závěr	Error! Bookmark not defined.
6. Literatura	Error! Bookmark not defined.
7. Přílohy	Error! Bookmark not defined.

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK:

(označení tělesných rozměrů a zkratky enzymů jsou uvedeny v kapitole 2. Metodika)

A	Rakousko
ANOVA	analýza variance (analysis of variance)
CZ	Česká republika
D	Německo
DK	Dánsko
EC. No.	číselný kód Enzymové komise Mezinárodní unie biochemie (IUB)
ELFO	elektroforéza
F	Francie
FIN	Finsko
GB	Velká Británie
H	Maďarsko
HNHM	Hungarian Natural History Museum (Přírodovědné muzeum Budapešť)
J	jižní(ě)
JV	jihovýchodní(ě)
JZ	jihozápadní(ě)
K.	Krakov
Kap.	kapitola
L.	Liběchov
litt.	písemné sdělení
m n. m.	metrů nad mořem
N.	počet
např.	například
NHMW	Naturhistorisches Museum Wien (Přírodovědné muzeum Vídeň)
NM	Národní muzeum Praha
Obr.	obrázek
ot.	otáčky
OTU	Operational Taxonomic Unit(s) – zvolená jednotka pro fenetickou klasifikaci (může být jedinec, populace, druh atd.). V této práci OTU představuje populace, které odpovídají lokalitám u odchytávaných zvířat, případně oblastem (okresům) u muzejních exemplářů
p	pravděpodobnost
PCA	analýza hlavních komponent - ordinační metoda (principal component analysis)
period. nádrž	periodická nádrž (vodní plocha v průběhu roku vysychající nebo s významným poklesem hladiny)
Pozn.	poznámka
RO	Rumunsko
RUS	Rusko
S	severní(ě)
S	Švédsko
s. z. š	severní zeměpisná šířka
SD	směrodatná odchylka (standard deviation)
SE	střední chyba průměru (standard error)
SMO	Slezské zemské muzeum Opava
St	střední

SV	severovýchodní(ě)
SVK	Slovensko
syn.	synonymum
Tab.	tabulka
UPGMA	metoda shlukovací analýzy (unweighted pair-group method using arithmetic averages = average linkage)
V	východní(ě)
verb.	ústní sdělení
ZML	Zoological Museum Lund (Zoologické muzeum Lund)
ZMM	Zoological Museum Moscow (Zoologické muzeum Moskva)
Zool. Mus. Lund	Zoological Museum Lund (Zoologické muzeum Lund)

1. ÚVOD

Většina evropských druhů obojživelníků byla vědecky popsána již v 18. a 19. století. Nové druhy do evropské batrachofauny přibývají v posledních letech převážně povýšením poddruhu na druhovou úroveň. U druhů, jejichž vnitrodruhová variabilita nebyla komplexně studována, se liší názory na platnost jednotlivých poddruhů. V 19. a začátkem 20. století autoři popisovali vnitrodruhové taxony většinou na základě minimálních odlišností u malého počtu srovnávacího materiálu a často je k tomu vedlo národnostní cítění nebo touha zvětšit za každou cenu svoje jméno ve vědě.

V této práci se zabývám vnitrodruhovou variabilitou skokana ostronosého, *Rana arvalis* Nilsson, 1842. Vzhledem ke geografické poloze České republiky, vzhledem k rozšíření *Rana arvalis* a vzhledem k finančním možnostem je tato práce revizí validity poddruhu *Rana arvalis wolterstorffi* Fejérváry, 1919.

Na problém nevyřešeného statutu *R. a. wolterstorffi* mě upozornil RNDr. Jiří Moravec, CSc..

Tato práce je jednou z prvních, kde je vnitrodruhová variabilita *Rana arvalis* zkoumána nejen morfologickými metodami, ale i pomocí biochemických metod.

Na 10. konferenci *Societas Europaea Herpetologica* (10th Ordinary General Meeting of SEH) v Irakliu na Krétě jsem se seznámil s Dr. Janem Rafínkem a Wieslawem Babikem z Jagellonské univerzity v Krakově, kteří nezávisle zvolili stejné téma práce. Dohodli jsme se na spolupráci. V prosinci 1999 jsme spolu elektroforeticky zpracovali některé moje vzorky, poslední kontrolní elektroforézy proběhly v Krakově v březnu 2001. Pro předkládanou diplomovou práci jsou použita pouze data z mých vlastních sběrů. Pro společnou publikaci, která je v současné době v přípravě, však budou použita navíc data polských kolegů, čímž bude obsáhnuta větší oblast z areálu *R. arvalis*.

Moje předběžné výsledky byly prezentovány na 10. konferenci *Societas Europaea Herpetologica* (10th Ordinary General Meeting of SEH) v Irakliu na Krétě, 6. – 10. září 1999, ve formě posteru a abstraktu otištěném ve sborníku abstraktů – Šandera M., 1999: *Rana arvalis wolterstorffi* in context of variation of the species. In: Mylonas et al. (eds.): Book of abstracts, 10th OGM of SEH, Irakleio. Natural History Museum of Crete: 232 – 234.

Manipulaci se žábami jsem prováděl na základě výjimky č.j. 4820/98-OOP/1936/98-V-403 ze zákona ČNR č. 114/1992 Sb., o ochraně přírody a krajiny udělené Ministerstvem životního prostředí ČR. Sebraný dokladový materiál bude uložen v Národním muzeu v Praze.

Zpracování vzorků biochemickými metodami bylo hrazeno z programu MŠMT ČR: Posílení výzkumu na vysokých školách (projekt č. VS 97102). Ostatní náklady byly hrazeny částečně z grantu GAUK (grant č. 95/1998/B Bio/PřfUK, nositel Z. Roček), částečně z příspěvku nadace „Nadání Josefa, Marie a Zdeňky Hlávkových“ a částečně z rodinných zdrojů.

1. 1. Druh *Rana arvalis* Nilsson, 1842 – Skokan ostronosý

Rana arvalis Nilsson, 1842

1761 *Rana temporaria* Linnaeus (syn. fide Boulenger 1898), Faun. Suec., p. 101.

1832 *Rana terrestris* Andrzejowski (syn. fide Borkin 1975), Nouv. Mém. Soc. Nat. Mosc., II, p. 342.

1842 *Rana arvalis* Nilsson (syn. fide Boulenger 1898), Skand. Fauna, III, Amf., p. 92.

1846 *Rana oxyrrhinus* Steenstrup (syn. fide Boulenger 1898), Ber. 24. Verh. Nat. u. Aerzte Kiel, p. 131.

Poznámka: V synonymice jsou uvedena pouze první použití dané kombinace jmen.

Linnéova diagnóza pro *Rana temporaria* z roku 1761 je diagnózou pro *Rana arvalis*. Linné tyto dva druhy zaměnil (Dürigen 1897, Boulenger 1898). Nilsson (1842) byl první, kdo rozdělil Linnéův druh *Rana temporaria* popsáný v roce 1758 na dva (Boulenger 1898).

Andrzejowski (1832) popsal skokana ostronosého jako nový druh *Rana terrestris*. Nilsson popsal *Rana arvalis* o deset let později. Takto se jeví *Rana arvalis* Nilsson, 1842 jako mladší synonymum pro *Rana terrestris* Andrzejowski, 1832. Andrzejowského název by tedy měl být platným jménem podle principu priority (Mezinárodní pravidla zoologické nomenklatury, 1985, článek 23). V tomto smyslu použili druhové označení *R. terrestris* Mertens et Müller (1928), i když *R. arvalis* bylo dříve běžně užíváno. Vlivem jejich práce začalo převládat užívání *R. terrestris*, především mezi ruskými autory, např. (Terentjev et Černov 1936, 1949) (ex Borkin 1975). Na nesprávnost užívání *R. terrestris* upozornil Lindholm (1929) (viz níže) (ex Borkin 1975), Müller et Mertens (1931) s tímto souhlasili a vrátili se k užívání *R. arvalis* (Mertens et Müller 1940) (ex Borkin 1975).

Andrzejowského popis *R. terrestris* je v latině a neobsahuje žádná vyobrazení. Pojednává pouze o charakteristice zbarvení. Typovou lokalitou je „Wolhynia“ (Gislén et Kauri 1959), Inger (1999) uvádí „Bug region, southern Russia“, čili nejspíše „povodí řeky Bug ve Volyňsko-podolské plošině, Ukrajina“ (pozn. autora). V této oblasti se nacházeli *R. arvalis*, *R. dalmatina* a *R. temporaria*. Zmíněné zbarvení bylo pruhovaného typu. Ale podobná forma zbarvení byla nalezena také u *R. temporaria* (Gislén et Kauri 1959).

Sven Nilsson v roce 1842 popsal ve švédštině *R. arvalis* z oblasti na severu Kalmar län. V této oblasti se vyskytoval pouze tento druh. Popis Svena Nilssona je rovněž založen pouze na charakteristice zbarvení (Gislén et Kauri 1959).

Steenstrup v roce 1846 popsal v dánštině ze Zealandu v Dánsku *R. oxyrrhinus*. V charakteristice, kterou použil pro vymezení tohoto druhu, byl zmíněn, mimo jiných znaků, velký hrbol vyskytující se na bázi palce. Exemplář zapůjčený z Lundu určil Steenstrup jako totožný druh s jeho *R. oxyrrhinus*. Ve druhém vydání Skand. Fauna, 1860 (s. 105), Sven Nilsson zahrnul Steenstrupovy charakteristiky druhu (Gislén et Kauri 1959).

Andrzejowského jedinec byl charakterizován pouze podle zbarvení, není zachován typový exemplář a není tak možné identifikovat *R. terrestris*. Konečně *R. arvalis* je jediný hnědý skokan vyskytující se v oblasti, kde byl nalezen typový exemplář. Typové exempláře jsou uloženy v muzeu a jméno *R. arvalis* bylo všeobecně užíváno déle než 100 let (Gislén et Kauri 1959).

Severoamerická ropucha *Bufo terrestris* (Bonnaterre, 1789) byla původně popsána jako *Rana terrestris* Bonnaterre, 1789. Jméno *Rana terrestris* Andrzejowski, 1832 je tedy ve skutečnosti mladším primárním homonymem (ex Borkin 1975) a musí být odstraněno a nahrazeno použitelným jménem (Mezinárodní pravidla zoologické nomenklatury, 1985, článek 52 a 60).

Borkin (1975) upozorňuje na nesprávné psaní „Andrzejowski“, často se také vyskytuje „Andrzejewski“ např. (Boulenger 1898) a další tvary. Podle Borkina (1975) je správné psaní – Andrzejowski.

Mertens et Wermuth (1960) uvádějí v synonymice jako první údaj – 1758 *Rana temporaria* Linnaeus, partim, Syst. Nat., Ed. 10, 1: 212.

Lektotyp: No. 1A L844/3701 Zool. Mus. Lund, ♀, Gislén, 1959, In Gislén et Kauri, Acta vertebratica, 1, p. 301.

Terra typica: Tveta socken, Kalmar län, jižní Švédsko.

Národní názvy: CZ: Skokan ostronosý, Skokan rašelinný; SVK: Skokan ostropyský; RUS: Ostromordaja ljaguška; GB: Moor frog; D: Moorfrosch; F: Grenouille oxyrhine, Grenouille des champs; S: Åkergröda.

1. 1. 1. Rozšíření

Rana arvalis zaujímá široký eurasijský areál rozšíření. Rozšíření v Evropě znázorňuje Obr. 1. 1. Na západě zasahuje do severovýchodní Francie, Belgie, Nizozemí, Dánska (Iščenko 1997). Gislén et Kauri (1959) uvádějí, že výskyt sahá až do severozápadní Francie, Kolektiv (1978) uvádí dokonce izolovaný výskyt až v západní Francii – oblast dolního toku Charente v okolí Rochefortu, avšak Guyétant (1989) tento výskyt nepotvrzuje a uvádí výskyt jen na severovýchodě Francie (v Alsasku). Dále sahá výskyt do jižního Norska a do Švédska včetně baltských ostrovů Öland a Gotland (Gislén et Kauri 1959, Iščenko 1997). Ve Finsku dosahuje za severní polární kruh až na 68° 40' s. z. š. u Ivalo (Kaisila 1955 ex Terhivuo 1981), nalezen byl i na větších ostrovech v Botnickém a Finském zálivu (Terhivuo 1981). Na východě Evropy sahá rozšíření až k pobřeží Bílého a Barentsova moře (poloostrov Kanin) (Iščenko 1997). Jižní hranice areálu se v Evropě táhne od Alsaska přes jižní Německo, severní Švýcarsko, Rakousko (Korutany, Štýrsko), východní Slovinsko, Chorvatsko (údolí Sávy a Drávy), Maďarsko, severní a střední Rumunsko (Iščenko 1997) a Moldávii (Tofan 1981). Na Ukrajině a v Rusku dosahuje pobřeží Černého moře (není na Krymu) (Bannikov et al. 1977, Semenov 1980, Iščenko 1997), na východě areálu jižního Uralu, severního Kazachstánu a dále až za Bajkal. Nejvýchodněji se s *R. arvalis* setkáme v Jakutsku na 119° východní délky a 60° severní šířky (Iščenko 1997), podle jiných údajů až na 124° východní délky v oblasti Jakutska (Borkin 1985). V Asii je nejseverněji zastaven na jihu poloostrova Jamal a v oblasti dolního toku Jeniseje (Iščenko 1997).

1. 1. 2. Stanoviště

Rana arvalis je eurytopní druh. Obývá lesní, lesostepní a stepní pásmo. Na severu rozšíření zasahuje až do tundry, na jihu do polopouští v Kazachstánu. Obecně jej lze charakterizovat jako druh obývajících stanoviště v listnatých, smíšených i jehličnatých lesích, dále lužní biotopy, okraje močálů a rašelinišť, louky i kulturní krajinu (Juszczyk 1974, Bannikov et al. 1977, Arntzen 1981, Reháček 1992, Iščenko 1997). V teplejších níže položených stepních oblastech dávají populace *R. arvalis* přednost břehům vod, podobně i

populace z tundry jsou vázány na břehy potoků a řek, neboť na těchto stanovištích dochází ve větší míře k tání zamrzlé půdy (Lobanov 1977).

Po celém areálu rozšíření preferuje k rozmnožování vodní nádrže s mírně kyselou vodou (pH = 5,0 – 6,0) (Iščenko 1997).

Na většině druhového areálu neleží lokality *R. arvalis* výše než 700 m n. m. (Bannikov et al. 1985). Výjimečně přesahuje tuto hranici. V Rakousku vystupuje až do 800 m n. m. (Iščenko 1997), na Zakarpatské Ukrajině byl nalezen v 987 m n. m. (Ščerbak et Ščerban' 1980). Výjimečné je vertikální rozšíření na Altaji do 1860 m n. m. (Iščenko 1997) (viz níže). V Čechách se obvykle vyskytuje do 600 m n. m. (Rozínek et al. 1994). Nejvýše položené místo výskytu je 807 m n. m. v Doupovských horách (Zavadil et Šapovaliv 1990, Zavadil 1993).

1. 1. 3. Začátek a konec sezónní aktivity

Rozmnožování u *R. arvalis* začíná krátce po opuštění zimoviště, přibližně za 3 až 4 dny (Garanin 1977). Na jihu areálu začíná období páření na počátku března (Tofan 1981, Grillitsch et al. 1983), u nás na konci března (Rehák 1992), v jižním Švédsku obvykle od poloviny dubna (Gislén et Kauri 1959) a v nejsevernějších oblastech areálu až na počátku června (Bannikov et al. 1985).

K ukončení sezónní aktivity dochází v severních oblastech areálu od září do října (Bannikov et al. 1977), v Čechách v říjnu (Rehák 1992), v Moldávii také v říjnu (Tofan 1981). Od října do listopadu ukončují aktivitu na Slovensku (Lác 1968) a v Rakousku (Grillitsch et al. 1983).

1. 1. 4. Vývin a růst

U pulců je velká variabilita v růstu a vývinu v rámci jedné populace i mezipopulačně. Na jihu areálu nastává metamorfóza po 50 až 90 dnech (Lác 1968, Grillitsch et al. 1983). Terentjev et Černov (1949) uvádějí z Ruska délku vývinu 51 až 120 dnů. V jižním Švédsku nastává metamorfóza přibližně po 100 dnech. Zkrácení larválního vývinu na 45 až 55 dní bylo pozorováno v tundře (Bannikov et al. 1985). U čerstvě metamorfovaných žabek je velká variabilita v tělesné velikosti. Délka kolísá mezi 10 – 29,3 mm a hmotnost mezi 100 – 553 mg (Juszczyk 1974). Malé průměrné velikosti dosahují po metamorfóze jedinci z nádrží se

špatnými životními podmínkami nebo z prostředí s vysokou hustotou pulců (Gatijatullina 1985).

Po metamorfóze jsou vitálnější jedinci s větší tělesnou velikostí a ti, kteří dosáhli metamorfózy dříve (Pjatyč et Gatijatullina 1981, Ljapkov 1985). Rychlost růstu menších jedinců je přibližně stejná jako větších (Iščenko 1983). Intenzita růstu je různá mezipopulačně, geograficky (pomalejší je růst na severu druhového areálu), mění se sezónně, klesá se stářím jedince a liší se i u různých genotypů (Iščenko 1978). V jižním Švédsku dorůstají skokani v prvním roce života 22 – 24 mm, v druhém roce maximálně 37 mm a ve třetím roce na podzim dosahují velikosti do 48 mm (Gislén et Kauri 1959). V Moldávii dorůstají ve druhém roce 42 mm (Tofan 1981). V Rakousku dosahují ve třetím roce života 45 – 50 mm (Grillitsch et al. 1983).

Variabilní je také věková a morfometrická struktura různých populací. Převážná většina pohlavně dospělých jedinců je v Polsku v rozmezí 51 – 60 mm. Nejmenší pohlavně dospělí jedinci (samci i samice) dosahovali 40 mm (Juszczyk 1974). Přibližně shodná průměrná velikost obou pohlaví byla i u jedinců z Ruska, kde velikost pohlavně dospělých jedinců kolísala mezi 35 – 70 mm, většinou mezi 40 – 55 mm (Iščenko 1978). Pohlavní dospělosti dosahují obě pohlaví zpravidla při velikostech nad 40 mm ve druhém až třetím roce života (Lác 1968, Juszczyk 1974). *R. arvalis* se v přírodě dožívá 8 – 12 let (Garanin 1983).

Individuální růst skokana ostronosého je provázen alometrickými změnami tělesných rozměrů. Délka hlavy se relativně zmenšuje se vzrůstající tělesnou délkou, bubínek se k délce hlavy relativně zvětšuje a přibližuje se k oku. Šířka hlavy má oproti její délce růst mírně pozitivně alometrický, oproti délce těla slabě negativně alometrický. Růst holení vůči délce těla má pozitivně alometrický charakter (Lác 1963, Opatrný 1970). U samců se s růstem zvětšuje relativní délka končetin (Bannikov et al. 1985).

1. 1. 5. Charakter zbarvení

Iščenko (1978) uvádí u *R. arvalis* z Ruska formy se skvrnitým zbarvením hřbetní strany (*maculata* a *hemimaculata*), formy bez skvrn (*burnsi*) a formy se světlým dorzomediálním tmavě ohraničeným pruhem (*striata*). Gislén et Kauri (1959) a Stugren (1966) porovnávají pruhovanou formu (*striata*) a nepruhované zbarvení. Zbarvení *striata* je geneticky určeno plně dominantním dialelním genem „*striata*“, nepruhovaní jedinci jsou tedy recesivní homozygoti (Ščupak et Iščenko 1981 ex Rehák 1992). Borkin (1977) a Iščenko (1978) uvádějí, že zastoupení jednotlivých fenotypů je mezipopulačně a geograficky

proměnlivé. Odráží selekční hodnotu příslušného genotypu v různých podmínkách prostředí (Iščenko 1978). Stugren (1966) se domnívá, že převaha pruhované formy v určitých částech druhového areálu je způsobena genetickým driftem a nemá tedy selekční charakter.

V severním Švédsku se vyskytují obě formy zbarvení, v jižním převládá nepruhovaná forma (Gislén et Kauri 1959). Ta se také vyskytuje v Dánsku na Zeelandu a na ostrově Møen. Na Jutském poloostrově převládá pruhovaná forma (Pfaff 1943 ex Gislén et Kauri 1959). Pruhované zbarvení převládá v Holandsku, Belgii (Stugren 1966, Arntzen 1981), severovýchodní Francii, Maďarsku, východní Evropě, na Sibiři (Stugren 1966) a lokálně v Polsku (Juszczyk 1974). Na většině území Ruska převládá nepruhovaná forma zbarvení (Iščenko 1978). Na jižním Slovensku zaznamenal Lác (1956) zbarvení *striata* u 80 % skokanů, u českých skokanů převládá nepruhovaná forma zbarvení (Opatrný 1970).

Geograficky i mezipopulačně je variabilní také zbarvení ventrální strany. Ve Švédsku mají zvířata obvykle celou břišní stranu bílou. Skvrny, většinou na hrdle, se vyskytují jen občas. V některých případech, hlavně v jižním Švédsku, mají zvířata skvrnitě hrdlo s mediálním pruhem (Gislén et Kauri 1959). Pro skokany z Gotlandu jsou typické výrazné skvrny na hrdle a přední části břicha (Gislén et Kauri 1959, Nilson et Andrén 1981). Lác (1956) u skokanů z jižního Slovenska zaznamenal u 40 % jedinců zbarvení úplně bez skvrn, u ostatních se skvrny vyskytovaly v různé míře na hrdle a hned za předními končetinami. Pigmentace břicha je častá u záposibiřských populací (Iščenko 1978).

1. 1. 6. Poddruhy *Rana arvalis*

Poddruhy: *Rana arvalis arvalis* Nilsson, 1842

Rana arvalis altaica Kaschtschenko, 1899

Rana arvalis wolterstorffi Fejérváry, 1919

Rana arvalis issaltschikovi Terentjev, 1927

***Rana arvalis arvalis* Nilsson, 1842**

1761 *Rana temporaria* Linnaeus (syn. fide Boulenger 1898), Faun. Suec., p. 101.

1832 *Rana terrestris* Andrzejowski (syn. fide Borkin 1975), Nouv. Mém. Soc. Nat. Mosc., II, p. 342.

1842 *Rana arvalis* Nilsson (syn. fide Boulenger 1898), Skand. Fauna, III, Amf., p. 92, fig. 49.

1846 *Rana oxyrrhinus* Steenstrup (syn. fide Boulenger 1898), Ber. 24. Verh. Nat. u. Aerzte Kiel, p. 131.

1918 *Rana arvalis arvalis* Nikoľskij, Fauna Rossii, Amph., p. 52.

1928 *Rana terrestris terrestris* Mertens et Müller (syn. fide Mertens et Müller 1940), Abh. senck. naturf. Ges., 41, p. 21.

Terra typica: Tveta socken, Kalmar län, jižní Švédsko.

Lektotyp: No. 1A L844/3701 Zool. Mus. Lund, ♀, Gislén, 1959, In Gislén et Kauri, Acta vertebratica, 1, p. 301.

Rozšíření: *R. a. arvalis* se vyskytuje na většině druhového areálu, kromě oblastí výskytu ostatních poddruhů (viz níže a Obr. 1. 1).

Diagnóza: Vnitřní metatarzální hrbol je delší než polovina délky prvního prstu. Vzdálenost mezi nozdrami se rovná vzdálenosti mezi víčky. Průměr bubínku se rovná 3/4 průměru oka. Vzdálenost bubínku od oka není o mnoho větší než vzdálenost mezi bubínkem a okrajem horní čelisti. Skloubení holeně a chodidla dosahuje doprostřed oka (při natažení končetiny dopředu). Délka holeně je větší než polovina délky těla. Kůže je hladká. Délka těla do 78 mm. Charakteristika podle exemplářů z Volyňské gubernie (Nikoľskij 1918).

Další charakteristiky podle jedinců z okolí Magdeburku (Fejérváry 1919) jsou uvedeny ve vzájemném porovnání *R. a. arvalis* a *R. a. wolterstorffi* (viz níže).

***Rana arvalis altaica* Kaschtschenko, 1899**

1899 *Rana arvalis altaica* Kaschtschenko (syn. fide Nikoľskij 1918), Rezult. Altajsk. eksp., p. 122.

1949 *Rana terrestris altaica* Terentjev et Černov, Opređelitel' presmyk. i zemnovodnych, p. 93.

1981 *Rana altaica* Ye, Fe, Xiang (syn. fide Zhao et Adler 1993), Acta. Herp. Sinica, 5, p. 121.

Terra typica: Dolní Ujmon, Ongudaj, Cherga a Altajskoe, Altaj, Rusko.

Syntyp: 14843, NHMW (Viedeň), Häupl, Tiedemann, Grillitsch, 1994, Kat. Typen Herpetol. Samml. Amphib., p. 31 (ex Inger 1999).

Rozšíření: Severní Xinjiang (Čína) a jižní Sibiř (Borkin 1985, Zhao et Adler 1993, Inger 1999).

Diagnóza: Délka vnitřního metatarzálního hrbolu se rovná délce prvního prstu nebo je o něco menší. Vzdálenost mezi nozdrami je mnohem větší než vzdálenost mezi víčky. Průměr bubínku se rovná 2/3 průměru oka. Vzdálenost bubínku od oka je o něco menší než

vzdálenost bubínku od kraje horní čelisti. Skloubení holeně a chodidla dosahuje u samců k zadnímu okraji oka, výjimečně dále, u samic dosahuje zadního okraje bubínku (při natažení končetiny dopředu). Délka holeně je významně delší než polovina délky těla. Kůže je na dorzální straně pokrytá drobnými bradavičkami, mezi nimi jsou rozesety větší ve čtyřech nejasných podélných řadách, zespoda je kůže hladká s výjimkou zadní části stehen. Délka těla do 70 mm (Nikol'skij 1918).

***Rana arvalis wolterstorffi* Fejérváry, 1919**

- 1890 *Rana agilis* (non Thomas), Wolterstorff (syn. fide Fejérváry 1919), Jahr. Nat. Ver. Magdeburg, p. 316.
1892 *Rana arvalis* (non Nilsson), Méhely (syn. fide Fejérváry 1919), Magyarorsz. barna békai (*Rana fusca Hungariae*), M. Tud. Akad. Math. Természettud. Közl., Budapest, XXV, p. 29, táb II & IV.
1919 *Rana arvalis* var. *Wolterstorffi* Fejérváry, Ann. Mus. Nat. Hung., XVII, p. 179.
1928 *Rana terrestris wolterstorffi* Mertens et Müller (syn. fide Mertens et Müller 1940), Abh. senck. naturf. Ges., 41, p. 21.
1940 *Rana arvalis wolterstorffi* Mertens et Müller, Abh. senck. naturf. Ges., 451, p. 18.

Terra typica: Soroksár, Budapešť.

Poznámka: Fejérváry (1919) nestanovil typovou lokalitu, pouze uvádí, že měl k dispozici materiál *R. a. wolterstorffi* z Budapešti, Transylvánie a Slavonie. Materiál pocházející z okolí Budapešti (86 žab a 5 pulců) byl zničen v roce 1956 (Farkas in litt.). Typovou lokalitu stanovil Dely (1964) – Budapešť (Soroksár), 9 km JV od Budapešti. Nejbližší výskyt *R. arvalis* od Budapešti jihovýchodním směrem je v současné době v okolí obcí Ócsa a Dabas (Farkas in litt.).

Topotypy: 58.794.1: arv. 49 – ♀, arv. 58 – ♂, HNHM (Budapešť), Dely, 1964, Acta Zool. Hung., Budapest, 10, p. 338.

Rozšíření: východní Slovinsko, severní Chorvatsko, Rakousko, Slovensko, Maďarsko, Rumunsko, západní Ukrajina (Ščerbak et Ščerban' 1980, Iščenko 1997) a jihovýchodní Polsko (Fejérváry 1923 ex Stugren 1966), (Obr. 1. 1).

Diagnóza: Původní diagnóza podle jedinců z Budapešti (Fejérváry 1919) je uvedena ve vzájemném porovnání *R. a. arvalis* a *R. a. wolterstorffi* (viz níže). Délka těla do 82 mm (Ščerbak et Ščerban' 1980).

***Rana arvalis issaltschikovi* Terentjev, 1927**

1927 *Rana arvalis altaica natio issaltschikovi* Terentjev (syn. fide Mertens et Müller 1940), Proc. sec. Cong. Zool. Anat. Hist. USSR. Moscow, p.71.

1940 *Rana arvalis issaltschikovi* Mertens et Müller, Abh. senck. naturf. Ges., 451, p. 18.

1949 *Rana terrestris issaitschikovi* Terentjev et Černov, Opređeliteľ presmyk. i zemnovod., p. 93.

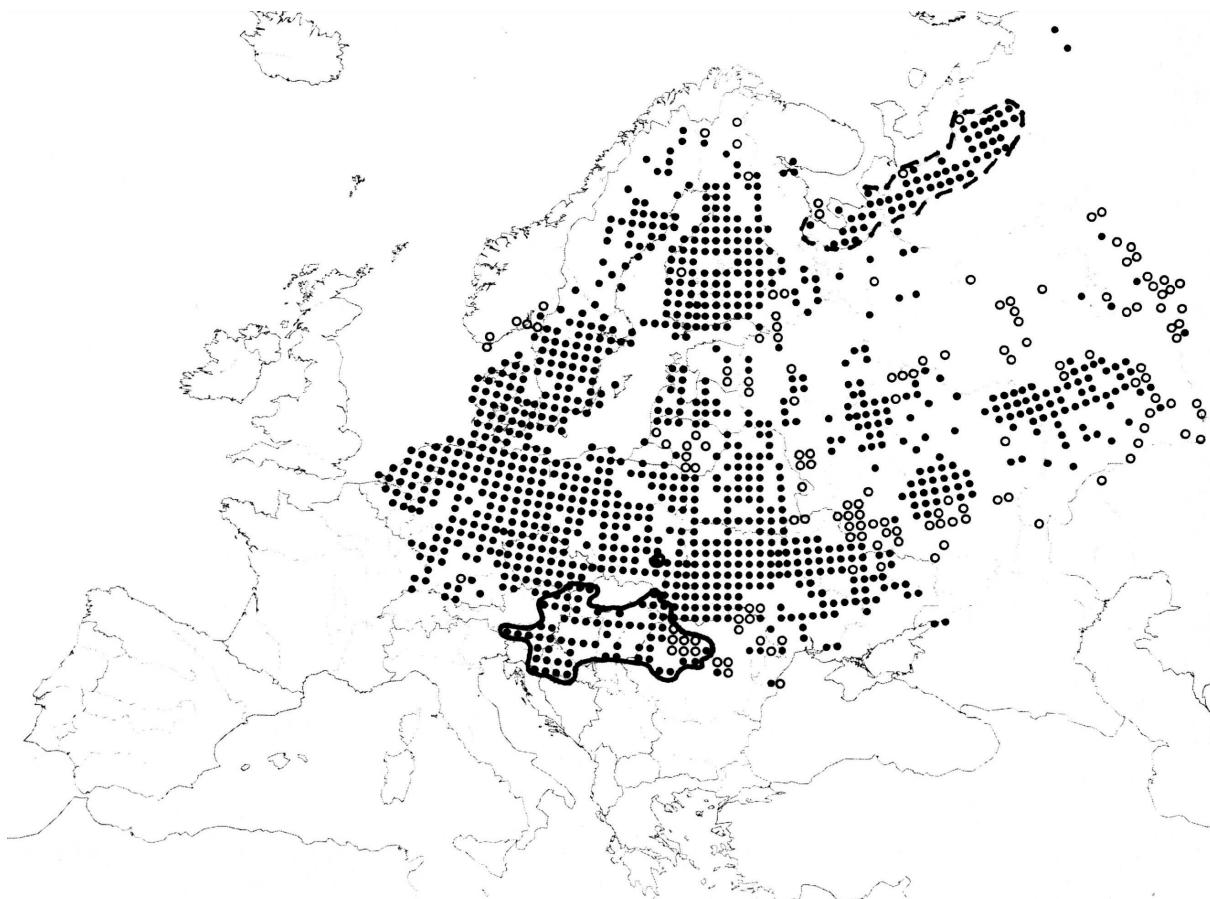
Poznámka: Neměl jsem k dispozici popisnou práci Terentjeva (1927), nemohu tedy posoudit správné psaní *R. a. issaltschikovi*. Terentjev et Černov (1949) uvádějí tvar „*issaitschikovi*“, Terentjev jakožto autor popisu by měl psát tento název správně. Může se ale jednat i o tiskovou chybu a pod., která se pak přenáší dál. Gislén et Kauri (1959) v jedné větě uvádějí „*issaitschikovi*“ a hned v další dokonce „*issaitchikovi*“.

Terra typica: Archangelsk, Rusko.

Syntypy: A-675 ZMM (Moskva) (18 exemplářů) (ex Inger 1999).

Rozšíření: okolí Archangelska až po severní Ural a Berezovo (Terentjev et Černov 1949, Gislén et Kauri 1959, Stugren 1966), (Obr. 1. 1).

Diagnóza: Tibia je kratší než femur. Metatarzální hrbol je 1,3 – 1,6 krát kratší než první prst zadní nohy. Vzdálenost bubínku od oka by měla být větší než vzdálenost bubínku od koutku tlamy (Terentjev 1927 ex Gislén et Kauri 1959). Toto se však zdá být nespolehlivé (Gislén et Kauri 1959). Délka těla 53 mm (největší dva jedinci ze šesti měřených) (Gislén et Kauri 1959).



Obr. 1. 1. Rozšíření *R. arvalis* v Evropě podle Iščenka (1997). Prázdné kroužky - údaje z období před rokem 1970, plné kroužky - po roce 1970.
 Výskyt *R. a. wolterstorffi* ohraničen plnou čarou (Fejérváry 1923 ex Stugren 1966, Ščerbak et Ščerban' 1980, Iščenko 1997).
 Výskyt *R. a. issaltschikovi* ohraničen přerušovanou čarou (Terentjev et Černov 1949, Gislén et Kauri 1959, Stugren 1966).
 Výskyt *R. a. arvalis* - zbývající vyznačené rozšíření (Iščenko 1997).

1. 2. Porovnání *R. a. arvalis* a *R. a. wolterstorffi*

1. 2. 1. Rozlišení *R. a. arvalis* a *R. a. wolterstorffi*

Morfologické a biologické rozlišovací znaky poddruhů *R. a. arvalis* a *R. a. wolterstorffi* jak je uvedli Fejérváry (1919) a Lác (1956) (Tab. 1.1 a 1.2).

Tab. 1. 1. Rozlišení *R. a. arvalis* a *R. a. wolterstorffi*.

Fejérváry (1919) rozlišuje *R. a. arvalis* a *R. a. wolterstorffi* na základě následujících znaků:

<i>R. a. arvalis:</i>	<i>R. a. wolterstorffi:</i>
<ul style="list-style-type: none">• Habituelně menší, zavalitější.	<ul style="list-style-type: none">• Habituelně značně větší, štíhlejší.
<ul style="list-style-type: none">• Tibiotarzální skloubení dosahuje očí, u samců téměř až k nozdram.	<ul style="list-style-type: none">• Tibiotarzální skloubení dosahuje mezi nozdry a čenich, u samců i za čenich.
<ul style="list-style-type: none">• Tibia je kratší než přední končetina.	<ul style="list-style-type: none">• Tibia je většinou delší než přední končetina.
<ul style="list-style-type: none">• Délka metatarzálního hrbolu je 6 – 8,5 krát obsažena v délce tibie u samic, 8,3 – 8,8 krát u samců.	<ul style="list-style-type: none">• Délka metatarzálního hrbolu je 8,5 – 9,5 i vícekrát obsažena v délce tibie u samic, 9,5 – 12 krát u samců.
<ul style="list-style-type: none">• Délka tibie je téměř 2 krát (samci) nebo více než 2 krát (samice) obsažena v délce těla.	<ul style="list-style-type: none">• Délka tibie je obsažena méně jak 2 krát v délce těla (obvykle 1,66 – 1,75).
<ul style="list-style-type: none">• Když se ohne zadní noha kolmo k ose těla, paty se u samic dotýkají nebo u samců se mírně překrývají.	<ul style="list-style-type: none">• Když se ohne zadní noha kolmo k ose těla, paty se významně překrývají, u samců více než u samic.
<ul style="list-style-type: none">• Biologické znaky: sedí-li v klidu, paty se navzájem zřetelně nedotýkají; koleno je vzdálené od lokte. – Když skáče, skoky jsou četné a krátké.	<ul style="list-style-type: none">• Biologické znaky: sedí-li v klidu, paty se přesahují nebo se dotýkají; koleno dosahuje k lokti. – Když skáče, skoků je jen málo, jsou však značně dlouhé.

Lác (1956) používá navíc poměr femuru a tibie:

<ul style="list-style-type: none">• F/T: 0,94 – 1,07	<ul style="list-style-type: none">• F/T: 0,85 – 0,94
--	--

Tab. 1. 2. Souhrn rozlišovacích morfológických znaků mezi *R. a. arvalis* a *R. a. wolterstorffi* na základě údajů Fejérváry (1919) a Lác (1956). Pa – délka přední končetiny. Význam ostatních zkratk pro morfológické znaky je uveden v Tab. 2.3.

Znak	<i>R. a. arvalis</i>	<i>R. a. wolterstorffi</i>
Vzájemná délka T a Pa	T < Pa	T > Pa
T/Cint	♂♂: 8,3 – 8,8 ♀♀: 6 – 8,5	♂♂: 9,5 – 12 ♀♀: 8,5 – 9,5
L/T	♂♂: ± 2 ♀♀: > 2	< 2 (1,66 – 1,75)
F/T	0,94 – 1,07	0,85 – 0,94

1. 2. 2. Rozšíření *R. a. arvalis* a *R. a. wolterstorffi* na styku jejich areálů

Fejérváry (1919) pro *R. a. wolterstorffi* uvádí výskyt v Maďarsku, Slavónii a v Rumunsku a připouští výskyt v Rakousku s tím, že ohraničení areálu není definitivně stanoveno. Stejně rozšíření pro *R. a. wolterstorffi* popisuje i Štěpánek (1949) a u *R. a. arvalis* popisuje lokality z Čech a Moravy a také ze Slovenska z Nízkých Tater. Výskyt *R. a. wolterstorffi* na Slovensku dokládá Lác (1956) a to z Podunajské a Záhorské nížiny. Některé populace v Záhorské nížině a na východě Slovenska hodnotí jako přechodné formy a domnívá se, že na severu východního Slovenska bude *R. a. arvalis*. Na Ukrajině ze Zakarpatské roviny zaznamenali sympatrický výskyt obou poddruhů Ščerbak et Ščerban' (1980), na jedné lokalitě syntopicky. Taraščuk (1984) se domnívá, že *R. a. wolterstorffi* je rozšířen na Ukrajině na více místech po celém území. Výskyt *R. a. wolterstorffi* v jihovýchodním Polsku poprvé zmiňuje Fejérváry (1923) (ex Stugren 1966) a potom také Fuhn (1962) a Dely (1964). Podle Bergra et al. (1969) dokladové exempláře sebrané jako *R. a. wolterstorffi* jsou *R. a. arvalis*. V Rumunsku je západně od karpatského oblouku rozšířen poddruh *wolterstorffi*, východně *arvalis*. Avšak v okolí Reci zasahuje západně od oblouku i poddruh *arvalis* (Fuhn 1960, 1962) a dosahuje zde jižněji než je nejj jižnější rozšíření *R. a. wolterstorffi* v Rumunsku (Fuhn 1960, 1962). Kavka et Opatrný (1978) uvádějí výskyt *R. a. wolterstorffi* na našem území ze dvou lokalit v povodí Moravy: Záhlinice u Kroměříže a Troubky u Přerova. Ostatní moravské populace řadí k nominotypickému poddruhu. Moravec (1994) uvádí, že dva jedinci z okolí Lednice a Břeclavi morfológicky vyhovují některým kritériím pro poddruh *wolterstorffi*. Výskyt *R. a. wolterstorffi* nebo přechodných forem lze v teplých moravských oblastech očekávat v širší míře (Rozínek et al. 1994). Zavadil et Dandová (1997) tvrdí, že jedinci

z jihovýchodní Moravy jsou morfologicky identičtí s *R. a. wolterstorffi*. V Rakousku byl *R. a. arvalis* poprvé nalezen v roce 1979. Bylo to na severu země v pohoří Waldviertel u města Geras (Tiedemann 1979).

1. 3. Názory na platnost poddruhů a původ *Rana arvalis*

Proti existenci poddruhů je Stugren (1966). Tvrdí, že geografická variabilita u *R. arvalis* je variabilitou klinální. Relativní délka zadních končetin, která je jedním z hlavních kritérií pro vyčlenění poddruhů se mění klinálně. Relativně se zkracují zadní končetiny směrem na jih a hypsometricky do hor. Délka končetin i tělesná velikost korelují s klimatickými podmínkami (Stugren 1966, Bannikov et al. 1977). Relativní délka končetin je navíc variabilní mezipopulačně i vnitropopulačně a též se alometricky mění během růstu (Stugren 1966, Iščenko 1978). Relativně krátkonozí nebo naopak dlouhonozí skokani se mohou vyskytovat v závislosti na klimatu a lokálních podmínkách v různých částech druhového areálu (Iščenko 1978).

Gislén et Kauri (1959) uvádějí, že *R. a. issaltschikovi* připomíná *R. a. altaica* a není rozhodnuto, jestli se jedná opravdu o dva poddruhy nebo pouze o jeden. Poukazují také na to, že jedinci z Archangelska, tedy *R. a. issaltschikovi*, jsou morfologicky podobní s jedinci ze severního Švédska, tedy *R. a. arvalis*. Vyčlenění *R. a. altaica* a *R. a. issaltschikovi* považuje za neoprávněné Bannikov et al. (1977). Validitu všech popsanych poddruhů zpochybňují Stugren (1966), Juszczuk (1974) a Iščenko (1978). Dely (1964) uvádí všechny čtyři poddruhy, avšak nepovažuje problém vnitrodruhového členění *R. arvalis* za vyřešený. Fuhn (1960, 1962) uvádí všechny čtyři poddruhy a podle vlastních studií považuje *R. a. arvalis* a *R. a. wolterstorffi* za jasné poddruhy. Ščerbak et Ščerban' (1980) uvádějí, že na západní Ukrajině žijí syntopicky *R. a. arvalis*, *R. a. wolterstorffi* a *R. dalmatina*. O společném výskytu dvou forem *R. arvalis* míní, že jde o intergradační zónu mezi těmito poddruhy. Druhou hypotézou je, že *R. a. wolterstorffi* je kříženec mezi *R. a. arvalis* a *R. dalmatina*.

Na odlišnost *R. arvalis* obývajících Gotland upozorňují Nilson et Andrén (1981). Ve srovnání s jedinci z pevninského Švédska a severní Evropy mají skokani na Gotlandu relativně dlouhou tibii. Nevyskytuje se u nich pruhované zbarvení hřbetní strany a typické je skvrnění hrdla, případně s pruhem uprostřed, a břicha kromě posteriorní části Nilson et Andrén (1981).

Stugren (1966) uvádí, že *R. arvalis* je blízce příbuzný s *Rana amurensis* Boulenger, 1886 a že se oba druhy oddělily alopatickou speciací v době zalednění v oblasti Angarské plošiny. Geografické centrum vzniku *R. arvalis* pak bylo v oblasti stepí v Kirgizii. *R. arvalis* migroval do Evropy po oteplení v poledových dobách. Paleontologické nálezy *R. cf. arvalis* na Slovensku pocházejí ze svrchního pliocénu a spodního pleistocénu (Hodrová 1981, 1985). Z Anglie uvádí pleistocénní a holocénní nálezy *R. arvalis* Gleed-Owen (1999, 2000) a uvádí hypotézu, že *R. arvalis* zde vymizel možná až díky celkovým přeměnám krajiny v 18. stol. n. l.

Tab. 1. 3. Souhrn morfologických znaků, které by podle některých autorů měly odlišovat jednotlivé formy, a porovnání s údaji jiných autorů. Pa – délka přední končetiny. Význam ostatních zkratk pro morfologické znaky je uveden v Tab. 2. 3. „Neuvedeno“ – v literatuře jsem údaje nenašel. Ostatní zkratky: (L) – Lác (1956) „*wolterstorffi*“ ze Slovenska, (F) – Fejérváry (1919) „*arvalis*“ z Magdeburku, „*wolterstorffi*“ z Budapešti, (G) – Gislén et Kauri (1959) „*arvalis*“ ze Smålandu, „*issaltschikovi*“ z Archangelska, (Ni) – Nikol'skij (1918) „*arvalis*“ z Volyňské gubernie, (Š) – Ščerbak et Ščerban' (1980), (T) – Terentjev et Černov (1949), (T ex G) – Terentjev (1927) ex Gislén et Kauri (1959).

Znak	„ <i>arvalis</i> “	„ <i>altaica</i> “	„ <i>wolterstorffi</i> “	„ <i>issaltschikovi</i> “
L max.	72 mm (Ni) 69 mm (G)	70 mm (Ni)	82 mm (Š)	53 mm (G)
vzájemná délka T a Pa	T < Pa (F)	neuvedeno	T > Pa (F)	neuvedeno
T/Cint	♂♂: 8,3 – 8,8 ♀♀: 6 – 8,5 (F) 7,3 – 10,8 (G)	neuvedeno	♂♂: 9,5 – 12 ♀♀: 8,5 – 9,5 (F)	6,9 – 8,9 (G)
L/T	♂♂: ± 2 ♀♀: > 2 (F) < 2 (Ni)	< 2 (Ni)	< 2 (1,66 – 1,75) (F)	1,9 – 2,4 (G)
F/T	0,90 – 1,07 (T) 0,87 – 0,98 (G)	neuvedeno	0,85 – 0,94 (L)	> 1 (T ex G) 0,87 – 1 (G)
Dp/Cint	< 2 (Ni) 1,4 – 2,1 (G) 1,17 – 1,99 (Š)	≥ 1 (Ni)	neodlišuje se od „ <i>arvalis</i> “	1,3 – 1,6 (T ex G) 1,4 – 1,9 (G)
Dotym/Dtymor	> 1 (Ni)	< 1 (Ni)	Neuvedeno	> 1 (T ex G)
Spn/Spp	1 (Ni)	> 1 (Ni)	Neuvedeno	Neuvedeno
Ltym/Lo	0,75 (Ni)	0,66 (Ni)	Neuvedeno	Neuvedeno
Kůže na dorzální straně	hladká (Ni)	bradavičnatá (Ni)	Neuvedeno	Neuvedeno

1. 4. Názory na druhový status *Rana altaica*

Zhao et Adler (1993) uvádějí, že poprvé užili kombinaci *Rana altaica* Ye, Fei, Xiang (1981). Podle Borkina (1985) Ye, Fei, Xiang (1981) doporučují *R. altaica* jako poddruh nebo synonymum *R. arvalis*. Borkin (1985) a Inger (1999) uvádějí v druhovém výčtu druh *Rana altaica*. Iščenko (1997) uvádí u *Rana arvalis* výskyt v Altaji až do 1860 m n. m., čímž nejspíš zahrnuje do *R. arvalis* i formu *altaica*. Wei et al. (1992) studovali karyotyp u *R. altaica* a považují *R. altaica* a *R. arvalis* za dva druhy. Inger (1999) zařazuje *R. altaica* do komplexu *R. chensinensis* (název podle *Rana chensinensis* David, 1875), kdežto *R. arvalis* do komplexu *R. arvalis*. Oba tyto komplexy zahrnují 24 chromozómové hnědé palearktické skokany (zástupci komplexu *R. temporaria* mají 26 chromozómů), avšak Green et Borkin (1993) na základě cytogenetických a biochemických studií dospěli k závěru, že k chromozómové redukci u *R. arvalis* a *R. chensinensis* došlo paralelně nezávisle na sobě, měli tedy jiné předky.

Z uvedeného literárního přehledu vyplývá, že na otázku taxonomického hodnocení vnitrodruhové variability *Rana arvalis* jsou nejednotné názory. Doposud byla hodnocena pouze morfologická variabilita. Green et Borkin (1993) hodnotili genetickou variabilitu *Rana arvalis*, avšak na malém počtu jedinců v mezidruhovém srovnání.

CÍLE PRÁCE:

- Zjistit morfologickou variabilitu populací druhu *Rana arvalis* na vybraných evropských lokalitách na stanovených územích
- Zjistit genetickou variabilitu těchto populací na stanovených územích
- Vyjádřit se k platnosti poddruhu *R. a. wolterstorffi*

2. MATERIÁL A METODY

2. 1. Materiál

Jeden soubor (326 jedinců) tvořila zvířata, která jsem odchytil a měřil narkotizovaná (Kap. 2. 2. 1.). Pokud bylo možné, odchytil jsem alespoň 20 jedinců z každé lokality. Od některých z těchto jedinců byly odebrány vzorky svaloviny, které byly použity pro elektroforetickou analýzu (ELFO) (Kap. 2. 2. 2.). U dvou lokalit byli pro elektroforézu použiti pulci. Ti byli odchováni ze snůšky odchyceného páru nebo z několika vajíček odebraných z již nakladených snůšek (pro ELFO byli použiti pouze pulci pocházející každý z jiné snůšky). Druhá příslušnost pulců byla určena podle morfologických znaků (Grillitsch et al. 1983).

Druhý soubor (219 exemplářů) tvořili jedinci uložení v muzejních sbírkách. Jednalo se o muzea: v Lundu (Zoological Museum Lund), v Praze (Národní muzeum), v Opavě (Slezské zemské muzeum), v Ostravě (Ostravské muzeum), v Brně (Moravské zemské muzeum) a v Budapešti (Hungarian Natural History Museum).

V této kapitole je uveden pouze základní přehled o počtu změřených jedinců a jedinců použitých pro biochemické metody (ELFO) (Tab. 2. 1).

Podrobnější seznam exemplářů, včetně čísel exemplářů, je uveden v příloze (Tab. 7. 1).

Seznam lokalit odchyťovaných skokanů:

Seznam zahrnuje lokality, které jsem navštívil a kde jsem odchytil skokany. Obsahuje informace v následujícím pořadí:

Stát, oblast (vyšší územně správní celek), **název lokality** používaný v této práci (= název OTU, populace) (kód), lokalita - u lokalit v České republice je v závorce uvedeno číslo čtverce podle síťového mapování organismů v České republice (Buchar 1982, Pruner et Míka 1996), popis lokality, nadmořská výška, zeměpisná šířka a délka.

ŠVÉDSKO:

GOTLAND

- **Gotland** (Got) 6 KM JV od jezero a periodická nádrž 30 57°30' 18°20'
Visby v jehličnatém lese

SMÅLAND, KALMAR LÄN, TVETA SOCKEN

- | | | | | |
|----------------------|-------|---|----|---------------|
| • Tveta (Tve) | L Aby | slepá ramena řeky Emån,
vedle pastviny a malý
listnatý les | 90 | 57°22' 15°51' |
| | Tveta | meliorační rýha na kraji
louky a jehličnatého lesa | 95 | 57°19' 15°48' |
| | Torp | malý rybník v oblasti polí a
pastvin, vedle malý listnatý
les | 90 | 57°18' 15°51' |

ČESKÁ REPUBLIKA:

VÝCHODNÍ ČECHY

- | | | | | |
|-------------------------|------------------|--------------------------------------|-----|---------------|
| • Třtěnice (Trt) | Třtěnice (56 58) | rybník na kraji smíšeného
lesa | 260 | 50°23' 15°27' |
| | Kovač (56 58) | rybník ve smíšeném lese | 260 | 50°24' 15°27' |
| • Bohdaneč (Bry) | Bohdaneč (59 60) | rybník v listnatém lese | 250 | 50°05' 15°40' |
| • Rohozná (Roh) | Rohozná (61 60) | rybník na kraji jehličnatého
lesa | 600 | 49°50' 15°50' |

STŘEDNÍ ČECHY

- | | | | | |
|-------------------------|------------------|-----------------------------------|-----|---------------|
| • Leletice (VRr) | Leletice (64 49) | rybník na kraji smíšeného
lesa | 580 | 49°35' 13°50' |
|-------------------------|------------------|-----------------------------------|-----|---------------|

JIŽNÍ MORAVA

- | | | | | |
|-------------------------|------------------|---|-----|---------------|
| • Božice (Boz) | Božice (71 63) | rybník v údolí potoka, ve
smíšeném lese | 190 | 48°50' 16°19' |
| • Nosislav (Nos) | Nosislav (69 65) | period. nádrž u slepého
ramena, v listnatém lese | 175 | 49°00' 16°38' |
| • Lednice (Led) | Lednice (72 67) | malý rybník v listnatém lese | 160 | 48°48' 16°51' |
| • Lanžhot (Lan) | Lanžhot (72 67) | period. nádrž v listnatém lese | 155 | 48°40' 16°58' |

RAKOUSKO:

STEIERMARK (ŠTÝRSKO)

- | | | | | |
|-------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|-----|---------------|
| • Rabenhof (Rab) | Rabenhof, u
města Leibnitz | rybník na kraji smíšeného
lesa | 350 | 46°40' 15°40' |
|-------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|-----|---------------|

SLOVENSKO:

ZÁPADNÍ SLOVENSKO

- **Svätý Jur (Svj)** Svätý Jur, SV od Bratislavy period. nádrž na kraji listnatého lesa 140 48°10' 17°10'

VÝCHODNÍ SLOVENSKO

- **Tajba (Taj)** Tajba, u Stredy nad Bodrogom slepé rameno na okraji pole a listnatého lesa 100 48°24' 21°47'

MAĎARSKO:

PEST

- **Ócsa (Ocs)** Ócsa, JV od Budapešti period. nádrž v listnatém lese, meliorační kanál, podmáčená louka 100 47°20' 19°20'

Tab. 2. 1. Přehled počtu změřených exemplářů - odchycených a muzejních - a exemplářů použitých pro elektroforetické zpracování (ELFO).

Lokalita	počet změřených exemplářů - celkový počet (samci, samice, mláďata)	počet exemplářů pro ELFO
Gotland	9 (1,1,7)	9
Tveta	60 (25,17,18)	20
Třtěnice	54 (26,24,4)	33
Bohdaneč	4 (0,3,1)	4
Rohozná	1 (0,1,0)	10 pulců
Leletice	1 (1,0,0)	–
Božice	58 (20,23,15)	50
Nosislav	30 (15,15,0)	22
Lednice	21 (11,10,0)	20
Lanžhot	22 (11,11,0)	21
Rabenhof	5 (3,2,0)	3 žáby, 2 pulci
Svätý Jur	5 (2,0,3)	–
Tajba	22 (7,4,11)	13
Ócsa	34 (0,0,34)	20
Celkem odchycených exemplářů	326 (122,111,83)	215 žab, 12 pulců
Celkem muzejních exemplářů	219 (49,56,114)	–

Seznam názvů OTU při porovnávání odchytených i muzejních exemplářů je uveden v Tab. 2.2. U muzejních exemplářů je často malý počet jedinců z jedné lokality. Proto je za OTU považována celá oblast nebo okres.

Tab. 2. 2. Seznam názvů OTU pro odchytené i muzejní exempláře.

Název OTU	Stát	Zařazené lokality/oblasti
Sankt Peterburg	RUS	Novaja Ladoga
Mikkeli	FIN	Heinola
S Švédsko	S	Norrbotten
St Švédsko	S	Uppland, Värmland, Närke, Stockholm, Västergötland, Östergötland, Švédsko bez udání lokality
J Švédsko	S	Halland, Småland (+ Tveta), Blekinge, Skåne
Öland	S	Öland
Gotland	S	Gotland
Skerna	DK	Skerna
Německo	D	Hamburg, Tornau
Česká Lípa	CZ	Zahrádky
Třtěníce	CZ	Třtěníce, Kovač
Pardubicko	CZ	Bohdaneč, Hrotice, Rohozná
Jih Čech	CZ	Leletice, Strakonice (Vrbno, Lnáře), Tachov (Ošelín), Jindřichův Hradec, Třebíč (Horní Vilémovice)
S Morava	CZ	Karviná, Martinov, Polanka nad Odrou, Studénka
Božice	CZ	Božice
Brno – venkov	CZ	Nosislav, Dolní Věstonice, Písky u Dolních Věstonic, Mušov
Břeclav	CZ	Břeclav, Lednice, Lanžhot
JZ Slovensko	SVK	Svätý Jur, Trnava, Gabčíkovo
V Slovensko	SVK	Tajba, Veľké Kapušany
Rabenhof	A	Rabenhof
Budapešť	H	Soroksár, Ócsa
Bátorliget	H	Bátorliget (župa Szabolcs-Szatmár, SV Maďarsko)
Reghin	RO	Reghin (Sedmihradsko)

2. 2. Metody

2. 2. 1. Morfologické metody

Bylo prozkoumáno celkem 545 skokanů *Rana arvalis* (326 odchycených a 219 muzejních exemplářů).

U všech odchycených exemplářů byly měřeny tělesné rozměry (Terentjev et Černov 1949, Terentjev 1950, Berger 1966, Opatrný 1966, 1973), ze kterých byly potom stanovovány morfometrické indexy (Terentjev et Černov 1949, Terentjev 1950, Lác 1956, Berger 1966, Kavka et Opatrný 1978). Přehled měřených tělesných rozměrů (Tab. 2. 3), schéma měření tělesných rozměrů (Obr. 2. 1), přehled morfometrických indexů (Tab. 2. 4).

Skokani byli měřeni elektronickým posuvným měřítkem s přesností na 0,03 mm. Odchycené žáby byly nejprve narkotizovány chloroformem (inhalováním v uzavřené nádobě z kousku vaty namočené v chloroformu; vata nesmí být v přímém kontaktu se zvířetem) (Bonath 1977).

Fejérváry (1919) měřil celou přední končetinu. Měření celé přední končetiny je však složité a značně nepřesné (Kap. 4.), proto bylo měřeno předloktí (Ru).

Znaky C_{int}, D_p, D_q, Tars, Ru, F a T byly měřeny na obou stranách těla. Ze změřených hodnot byly vypočítány průměrné hodnoty pro jednotlivé znaky (Šůlová 1996). U čtvrtého prstu na zadní končetině (D_q) se občas stává, že zvíře přijde v průběhu života o větší či menší část tohoto prstu. V takovém případě byla za průměrnou hodnotu považována délka nepoškozeného prstu.



Obr. 2. 1. Schéma měření tělesných rozměrů. Zkratky jsou vysvětleny v Tab. 2. 3.

Tab. 2. 3. Přehled měřených tělesných rozměrů.

Cint	= <i>Callus internus metatarsalis</i> – vnitřní metatarzální hrbol: délka báze tohoto hrbolu
Dp	= <i>Digitus primus</i> – první prst: délka prvního prstu od distálního konce vnitřního metatarzálního hrbolu po špičku tohoto prstu
Dq	= <i>Digitus quartus</i> – čtvrtý prst: délka čtvrtého prstu od distálního konce vnitřního metatarzálního hrbolu po špičku tohoto prstu
Tars	= <i>Tarsus</i> – zánártí (proximální část chodidla): vzdálenost od patního kloubu k proximálnímu konci vnitřního metatarzálního hrbolu
Ru	= <i>Radioulna</i> – předloktí: vzdálenost od loketního kloubu k proximálnímu konci vnitřního hrbolu v karpální oblasti
Ltc	= <i>Latitudo capitis</i> – šířka hlavy: vzdálenost mezi koutky úst
Lc	= <i>Longitudo capitis</i> – délka hlavy: od předního konce hlavy po zářez mezi lebku a prvním obratlem
L	= <i>Longitudo corporis</i> – délka těla : od předního konce hlavy k hornímu okraji kloakálního otvoru
F	= <i>Femur</i> – stehno: délka stehna, (= vzdálenost mezi kloakálním otvorem a vnějším ohbím kolenního kloubu; končetina je při tom složena, stehno i holeň leží kolmo k podélné ose těla)
T	= <i>Tibia</i> (= <i>tibiofibula</i>) – holeň: délka holeně, (= vzdálenost mezi vnějšími ohbími kolenního a patního kloubu; končetina je při tom složena, stehno i holeň leží kolmo k podélné ose těla)
Spn	= <i>Spatium naris</i> – rozestup nozder: nejkratší vzdálenost mezi nozdrami
Spcr	= <i>Spatium canthi rostralis</i> – šířka čenichu: vzdálenost mezi předními očními koutky
Ltp	= <i>Latitudo palpebrae</i> – šířka horního očního víčka: největší příčný průměr tohoto víčka
Spp	= <i>Spatium palpebralis</i> – rozestup horních očních víček: nejkratší vzdálenost mezi těmito víčky
Dro	= <i>Distantia rostri oculi</i> (= <i>longitudo rostri</i>) – délka čenichu: od předního konce hlavy k přednímu okraji oka
Lo	= <i>Longitudo oculi</i> – délka oka: největší horizontální průměr oční koule
Dotym	= <i>Distantia oculi tympani</i> – vzdálenost mezi okem bubínkem: nejkratší vzdálenost mezi okrajem oka a okrajem bubínku
Ltym	= <i>Longitudo tympani</i> – délka bubínku: největší průměr bubínku
Dtymor	= <i>Distantia tympani oris</i> – vzdálenost mezi bubínkem a tlamou: nejkratší vzdálenost mezi okrajem bubínku a okrajem tlamy (okrajem horního rtu)

Tab. 2.4. Přehled použitých morfometrických indexů.

L/T	vzájemný poměr délky těla a holeně
T/Cint	vzájemný poměr délky holeně a vnitřního metatarzálního hrbolu
F/T	vzájemný poměr délek stehna a holeně
Dp/Cint	vzájemný poměr délky prvního prstu a metatarzálního hrbolu
Ru/L	vzájemný poměr délek předloktí a těla
Lc/L	vzájemný poměr délek hlavy a těla
Ltc/Lc	vzájemný poměr šířky hlavy a délky hlavy
Ltym/Lc	vzájemný poměr délek bubínku a hlavy
Dro/Lc	vzájemný poměr délek čenichu a hlavy
Dotym/Dtymor	vzájemný poměr vzdáleností oko-bubínek a bubínek-tlama

Dále byly zaznamenávány tyto znaky:

- **pohlaví** (u juvenilních a subadultních jedinců bylo pohlaví zjišťováno pitvou)
- **callus externus metatarsalis (Cext) – vnější metatarzální hrbol:**
přítomnost či chybění: přítomnost hrbolu na pravé i levé noze, přítomnost na jedné noze, přítomnost skvrny na obou nohách, přítomnost skvrny na jedné noze
- **pruh na hrdle** (= charakter uspořádání skvrn na hrdle): nevytvořen / vytvořen (skvrny chybí v mediánní linii hrdla, čímž je vytvořen pruh bez skvrn)
- **skvrny na ventrální straně těla:** bez skvrn, výskyt skvrn pouze na hrdle (*regiones capitis subpharyngeales*) a maximálně na hrudi (*regio clavicularis* a *regio sternalis*) / výskyt skvrn také na břiše (*regio visceralis*). Oblasti povrchu těla podle Juszczyka (1974).

U většiny muzejních exemplářů jsem měřil většinu znaků používaných v diagnózách pro jednotlivé poddruhy (Nikoľskij 1918, Fejérváry 1919, Terentjev 1927 ex Gislén et Kauri 1959, Lác 1956). Byly to : Cint, Dp, Ltc, Lc, L, F a T a navíc také Ru (Tab. 2. 3).

Jedinci (obvykle 20 kusů z lokality), u kterých byly odebírány vzorky pro elektroforetické zpracování (Kap. 2. 2. 2.), byli po změření a odběru vzorků konzervováni v etanolu. Aby se zabránilo náhlému odvodnění tkání, byli nejprve na 3 – 5 dní uloženi do 50 % etanolu, a následně konzervováni v 70 % etanolu (Moravec in verb.). Ostatní skokani byli po změření a odeznění účinku narkózy vypuštěni zpátky na lokalitě.

Pro zjištění, jak se mění tělesné proporce skokanů uložených v etanolu, bylo 20 exemplářů (10 samců z lokality Lednice a 10 samců z lokality Nosislav) změřeno podruhé po jednom roce konzervace. Bylo testováno všech 19 měřených tělesných rozměrů (viz Tab. 2. 3) a 3 morfometrické indexy (L/T, F/T a T/Cint) (Tab. 2. 4).

Zvlášť byli hodnoceni juvenilní jedinci, zvlášť dospělé samice a zvlášť dospělí samci, neboť tělesné rozměry většinou vykazují v ontogenezi jedince vůči sobě alometrický růst a v dospělosti také pohlavní dimorfismus (Opatrný 1970, Šulová 1996). Do kategorie dospělých zvířat byli řazeni jedinci s tělesnou délkou (L) od 40 mm. Pohlaví bylo zjišťováno podle sekundárních pohlavních znaků, především podle pářících palcových mozolů samců. V době rozmnožování se samci snadno poznají podle modrého zbarvení i z dálky.

U odchycených jedinců a několika muzejních exemplářů (u samců z lokalit: Martinov 1 exemplář, Karviná 1 a Soroksár 1, u samic: Polanka nad Odrou 1, Studénka 2 a Soroksár 1) byly na základě 19 tělesných rozměrů zkonstruovány shlukovou analýzou (metodou Complete linkage) fenogramy a na základě korelačních matic byly spočítány PCA. Vždy pro nedospělé jedince, samce a samice, celkem pro 333 jedinců.

U všech změřených exemplářů (pro nedospělé jedince velikostní kategorie 26 – 31 mm, samce 45 – 60 mm, samice 40 – 56 mm) byly testovány morfometrické indexy (ANOVA, Bonferroniho test). Velikostní kategorie byly zvoleny tak, aby obsahovaly co nejvíce jedinců a zároveň aby byl co nejmenší rozsah tělesné délky. Celkem tak bylo analyzováno 448 jedinců.

Morfologická data byla statisticky zpracována (ANOVA, lineární regrese, PCA) programy S - plus 4.5 a NCSS 6.0.

2. 2. 2. Biochemické metody

Bylo analyzováno celkem 227 jedinců *R. arvalis* ze 12 lokalit (Gotland 9 jedinců, Tveta 20, Třtěnice 33, Bohdaneč 4, Rohozná 10 pulců – každý z jiné snůšky, Božice 50, Nosislav 22, Lednice 20, Lanžhot 21, Rabenhof 3 žáby a 2 pulci, Tajba 13, Ócsa 20). Pro porovnání byli analyzováni také 3 jedinci *R. dalmatina* z lokality Svätý Jur a 2 jedinci *R. temporaria* z lokality Třtěnice.

Příprava vzorků pro elektroforetické zpracování

Narkotizovaným jedincům byl odebrán vzorek svaloviny ze zadní strany stehna nebo byl použit celý pulec. Vzorky byly před vlastním zpracováním uchovávány ve zkumavkách typu Eppendorf v mrazícím boxu při -70°C.

Přibližně 0,5 až 1 gram každého vzorku, případně celý pulec, byl homogenizován v centrifugační zkumavce homogenizátorem Ultra-Turrax typ 18/10 (Ika-Werk) v Tris-NaCl (pH 8,2) extrakčním pufru (1 g svalu/2 ml pufru) (Valenta et al. 1971). Vzorky získané z juvenilních jedinců byly ponechány v původních zkumavkách a homogenizovány ručním homogenizátorem Biovortexer No. 1083. Suspenze byla centrifugována v chlazené centrifuze Hettich 30RF při 11 000 ot./min, po dobu 20 min, při 4°C. Po té byly do supernatantu ponořeny papírky Whatman (3,7 x 4 mm) a po krátkém osušení nasazeny na gel.

V Krakově se příprava vzorků lišila v tom, že bylo používáno přibližně poloviční množství svalové tkáně. Homogenizace byla prováděna ručně skleněnou tyčinkou v malých nádobkách po přidání 3 kapek slabého roztoku β -merkaptoetanolu. Vzorky nebyly centrifugovány. Papírky se nechávaly nasáknout tkáňovým extraktem po dobu několika minut a na gel nasazovány bez osušení.

Elektroforéza

Elektroforeticky byly analyzovány proteiny kódované 12 strukturními genovými lokusy. Přehled analyzovaných enzymů je uveden v Tab. 2. 5.

Tab. 2. 5. Přehled analyzovaných enzymů.

Enzym	Zkratka	EC. No.	Lokus
Adenylát kináza	AK	2.7.4.3	<i>Ak</i>
Aspartát aminotransferáza	AAT	2.6.1.1	<i>Aat-1</i>
Fosfoglukomutáza	PGM	2.7.5.1	<i>Pgm</i>
Fosfoglukonát dehydrogenáza	PGDH	1.1.1.44	<i>Pgdh</i>
Glukóza-6-fosfát isomeráza	GPI	5.3.1.9	<i>Gpi</i>
Isocitrát dehydrogenáza	IDH	1.1.1.42	<i>Idh-1, Idh-2</i>
Kreatin kináza	CK	2.7.3.2	<i>Ck</i>
Laktát dehydrogenáza	LDH	1.1.1.27	<i>Ldh-1, Ldh-2</i>
Malát dehydrogenáza	MDH	1.1.1.37	<i>Mdh-1, Mdh-2</i>

Enzymy byly děleny horizontální elektroforézou (Uzell et Berger 1975, Harris et Hopkinson 1976, Richardson et al. 1986, Murphy et al. 1996) v 10% škrobovém gelu a v příslušném pufru, při určitém napětí a proudu a po určitou dobu (Tab. 2.6). Po 30 min byly vyndány papírky z gelu. V Krakově byly vyndány po 20 min a následně bylo zvýšeno napětí a proud (Tab. 2.7).

Tab. 2. 6. Metodika dělení enzymů v Liběchově.

Enzym	Pufř	Napětí (V)	Proud (mA)	Čas (hod)
AK	Tris-citrát, pH 7,1 (Shaw et Prasad 1970)	160	50	15
AAT	Tris-citrát, pH 6,2 (Clayton et Tretiak 1972)	200	50	15
	Tris-citrát, pH 7,41/8,6 (gelový/elektrodový pufř) (Valenta et al. 1971)	138	50	15
PGM	Tris-citrát, pH 6,0 (Uzzell et Berger 1975)	350	50	5
PGDH	Tris-citrát, pH 7,41/8,6 (gelový/elektrodový pufř) (Valenta et al. 1971)	138	50	15
GPI	Tris-citrát, pH 6,0 (Uzzell et Berger 1975)	350	50	5
IDH	Tris-citrát, pH 6,2 (Clayton et Tretiak 1972)	200	50	15
CK	Tris-citrát, pH 7,1 (Shaw et Prasad 1970)	160	50	15
LDH	Tris-citrát, pH 6,0 (Uzzell et Berger 1975)	350	50	5
MDH	Tris-citrát, pH 6,2 (Clayton et Tretiak 1972)	200	50	15
	Tris-citrát, pH 7,41/8,6 (gelový/elektrodový pufř) (Valenta et al. 1971)	138	50	15

Tab. 2. 7. Metodika dělení enzymů v Krakově.

Enzym	Pufř	Napětí (V) startovní/po 20 min	Proud (mA) startovní/po 20 min	Čas (hod)
AK	Tris-citrát, pH 7,0 (Shaw et Prasad 1970)	120/200	30/50	5
AAT	Tris-citrát/litium-borát, pH 8,1/8,4 (gelový/elektrodový pufř) (Selander et al. 1971)	200/300	30/50	13
PGM	Tris-citrát, pH 7,0 (Shaw et Prasad 1970)	120/200	30/50	5
PGDH	Tris-citrát, pH 7,0 (Shaw et Prasad 1970)	120/200	30/50	5
GPI	Tris-citrát, pH 7,0 (Shaw et Prasad 1970)	120/200	30/50	5
IDH	Tris-citrát, pH 7,0 (Shaw et Prasad 1970)	120/200	30/50	5
CK	Tris-citrát, pH 7,0 (Shaw et Prasad 1970)	120/200	30/50	5
LDH	Tris-citrát, pH 7,0 (Shaw et Prasad 1970)	120/200	30/50	5
MDH	Tris-citrát, pH 7,0 (Shaw et Prasad 1970)	120/200	30/50	5

Barvení a hodnocení gelů

Enzymy byly detekovány s použitím standardních barvicích metod (Tab. 2. 8).

U každého obarveného gelu byly zakresleny elektromorfy. Jednotlivé alely byly označeny písmeny. Nejrychleji se pohybující alela (nejblíže anodě) byla označena jako „a“, další potom sestupně v abecedním pořádku pro každý lokus. Označení alel je ve shodě s označením v Krakově pro všechny analyzované vzorky (nejen moje). U mých vzorků se tedy nemusí alela „a“ vyskytovat (např. u *Pgdh*).

Tab. 2. 8. Metodika barvení enzymů.

Enzym	Barvení v Liběchově	Barvení v Krakově
AK	Harris et Hopkinson (1976)	Harris et Hopkinson (1976)
AAT	Pasteur et al. (1987)	Harris et Hopkinson (1976)
PGM	Spencer (1964)	Harris et Hopkinson (1976)
PGDH	Pasteur et al. (1987)	Harris et Hopkinson (1976)
GPI	Delorenzo et Ruddle (1969)	Harris et Hopkinson (1976)
IDH	Harris et Hopkinson (1976)	Harris et Hopkinson (1976)
CK	Harris et Hopkinson (1976)	Harris et Hopkinson (1976)
LDH	Harris et Hopkinson (1976)	Harris et Hopkinson (1976)
MDH	Harris et Hopkinson (1976)	Harris et Hopkinson (1976)

Z důvodu rozdílů v metodikách a tím způsobených rozdílů v pohyblivosti enzymů v Liběchově a v Krakově byly homogenáty z 20 vzorků analyzovány současně v obou laboratořích. Bylo tak umožněno porovnávání výsledků elektroforéz.

Zpracování dat

Z genotypů byly s použitím programu Biosys-1 (Swofford et Selander 1989) pro každou populaci (OTU) spočítány alelické frekvence, průměrný počet alel na lokus, procento polymorfních lokusů (lokus byl považován za polymorfní, když byla v tomto lokus zjištěna více než jedna alela) a průměrná heterozygotnost. Z frekvencí alel byla spočítána genetická vzdálenost podle Nei (1972) a Rogersova (1972) genetická vzdálenost modifikovaná Wrightem (1978).

Matice genetických vzdáleností byly použity ke konstrukci fenogramů shlukovací analýzou metodou UPGMA programem Biosys-1 (Swofford et Selander 1989). U genetické variability (průměrný počet alel na lokus, procento polymorfních lokusů a průměrná

heterozygotnost) populací byla v programu S-plus 4.5 testována její závislost na zeměpisné šířce.

3. VÝSLEDKY

3.1. Morfologická variabilita

Morfologicky bylo prozkoumáno celkem 545 skokanů *Rana arvalis*. Odchyceno bylo 326 jedinců na 14 lokalitách v severní a ve střední Evropě, ve kterých byly zahrnuty i typové lokality *R. a. arvalis* a *R. a. wolterstorffi*. V 6 muzejních sbírkách ve Švédsku, v České republice a v Maďarsku bylo změřeno 219 exemplářů, včetně exemplářů typových.

U 20 exemplářů opakovaně změřených po jednom roce konzervace v 70 % etanolu bylo zjištěno, že se tělesné rozměry zmenšují, některé více, některé méně (Tab. 3. 1), avšak nijak dramaticky. U větších rozměrů, jako např. délka holeně (T), se zkrácení pohybuje řádově do 1 mm, u menších, jako např. délka vnitřního metatarzálního hrbolu, je odchylka v desetinách milimetru. U menších rozměrů, které samy o sobě měří několik milimetrů, se tak daleko víc projevuje nepřesnost při měření. Důležité je zjištění, že se nemění morfometrické indexy, tělesné rozměry se tedy zmenšují přibližně rovnoměrně. Morfometrickými indexy lze porovnávat jedince měřené zaživa a muzejní exempláře.

Tab. 3. 1. Výsledky testu (regerse s nulovým absolutním členem, $p = 0,05$) změny tělesných rozměrů a morfometrických indexů v 70 % lihu u 20 exemplářů.

Statisticky významně se mění	Cint, Ru, Ltc, Lc, F, T, Spp, Dro, Dotym
Statisticky nevýznamně se mění	Dp, Dq, Tars, L, Spn, Spcr, Ltp, Lo, Ltym, Dtyomor, L/T, F/T, T/Cint

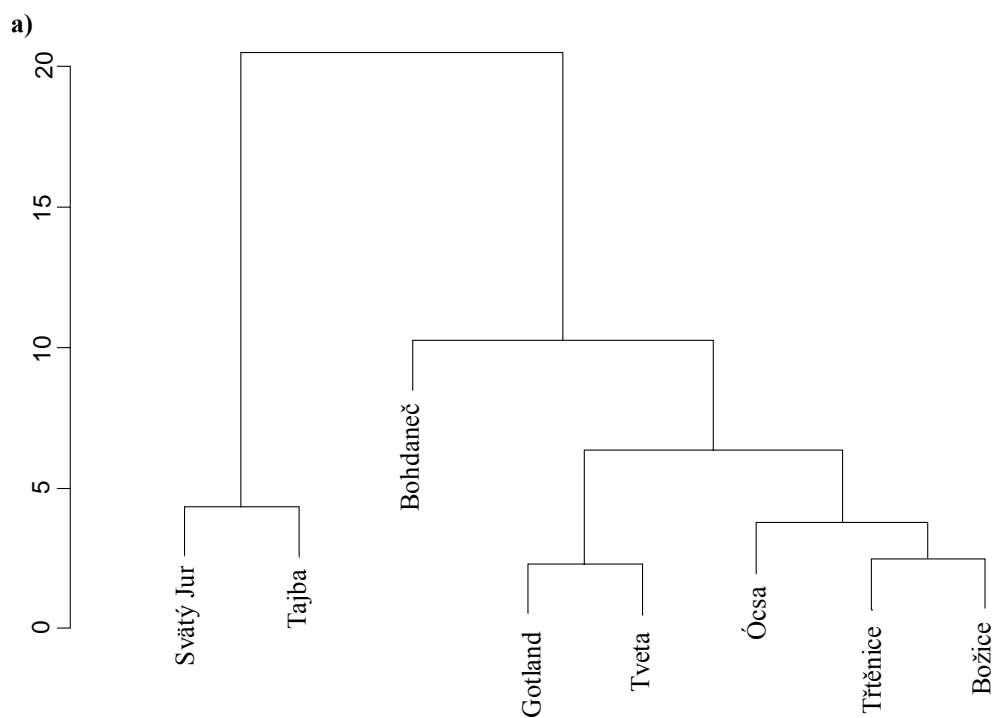
3. 1. 1. Tělesné rozměry a morfometrické indexy

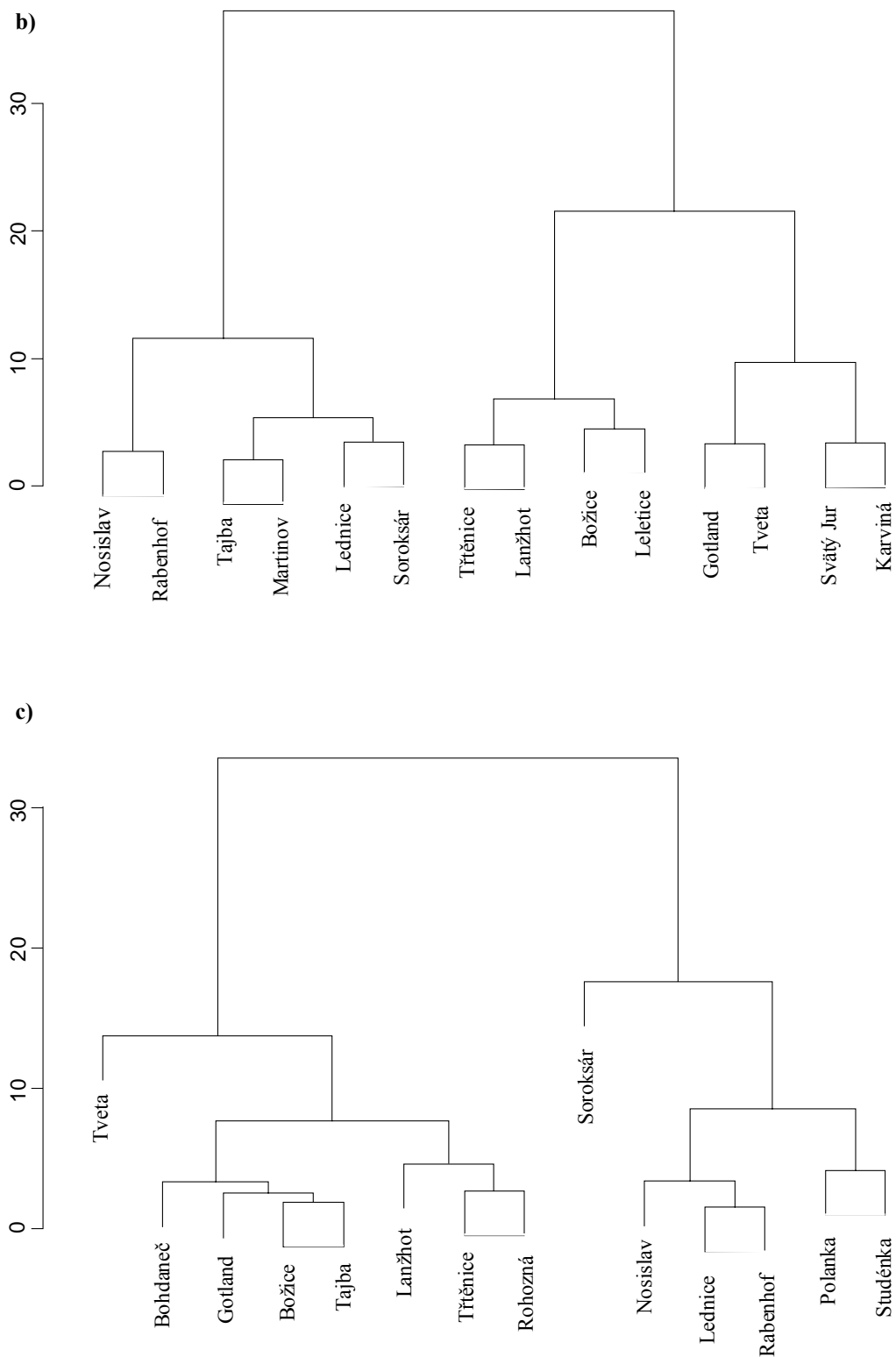
Tělesné rozměry a morfometrické indexy odchycených jedinců a několika muzejních exemplářů (u samců z lokalit: Martinov, Karviná a Soroksár, u samic: Polanka nad Odrou, Studénka a Soroksár) jsou uvedeny v Tab. 7. 2, 7. 3 a 7. 4. Na základě 19 tělesných rozměrů byly shlukovací analýzou (metodou Complete linkage) zkonstruovány fenogramy pro nedospělé jedince, samce a samice (Obr. 3. 1) a spočítána PCA (Obr. 3. 2, 3. 3 a 3. 4).

Shlukovací analýza neprokázala existenci 2 skupin lokalit, které by nasvědčovaly, že jde o dva poddruhy. Rozdělení lokalit ve fenogramech geograficky neodpovídá uváděnému rozšíření *R. a. arvalis* a *R. a. wolterstorffi*.

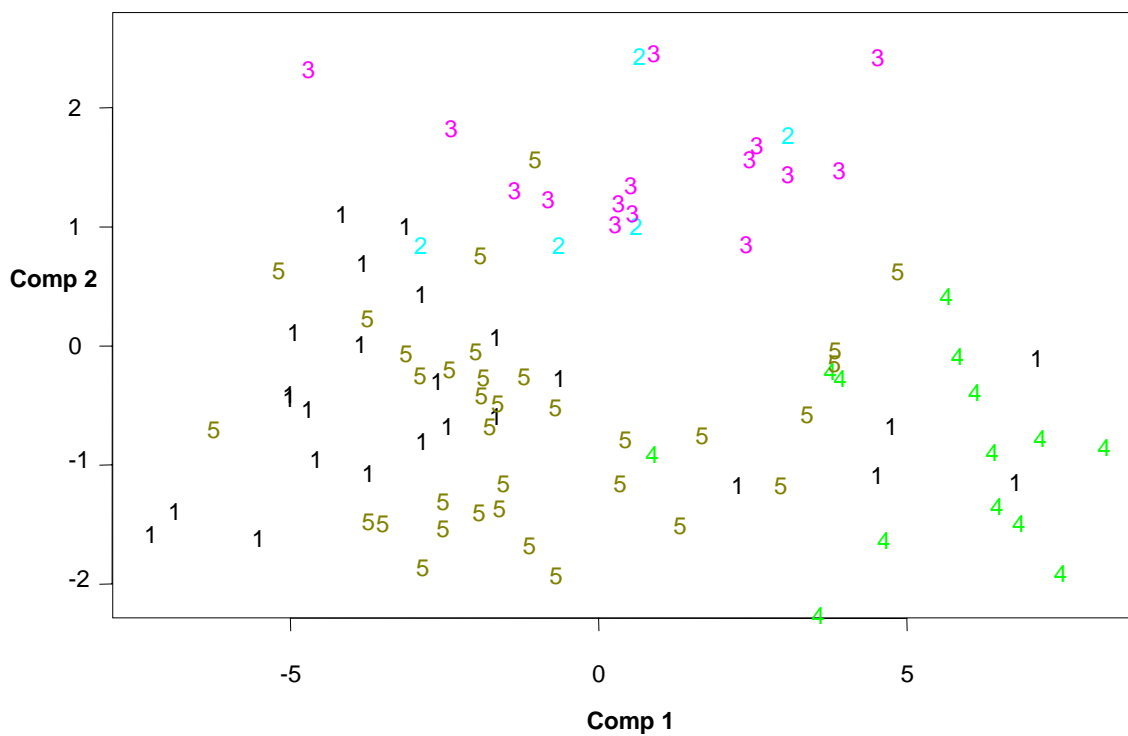
PCA ukázala na vzájemnou podobnost švédských skokanů, zejména u samců a u samic.

Průměrné hodnoty tělesných rozměrů a morfometrických indexů pro jednotlivá OTU, kde jsou zahrnuty všechny změřené exempláře, jsou uvedeny v Tab. 3. 2, 3. 3 a 3. 3. Boxploty a výsledky Bonferroniho testu tří diagnostických morfometrických indexů (pro nedospělé jedince velikostní kategorie 26 – 31 mm, samce 45 – 60 mm, samice 40 – 56 mm) jsou na Obr. 3. 5, 3. 6, 3. 7 a v Tab. 3. 5, 3. 6 a 3. 7. Nebyly zjištěny rozdíly, které by v kontextu druhové variability vyčleňovaly poddruh *wolterstorffi*.





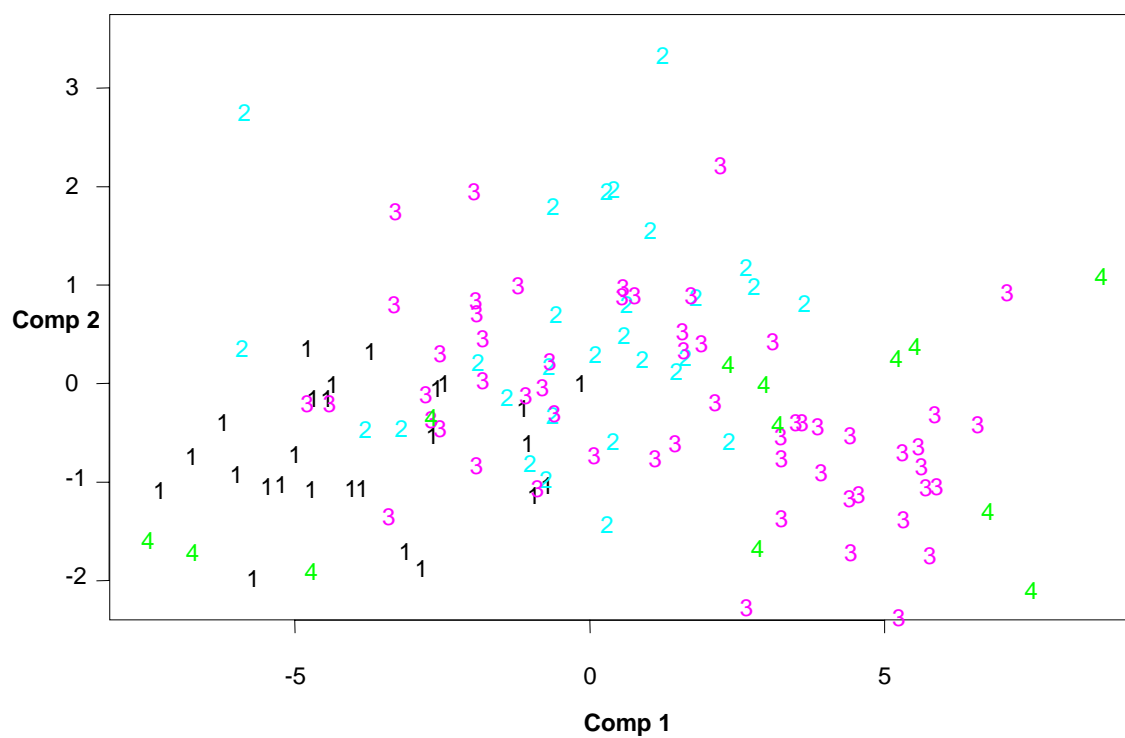
Obr. 3. 1. Fenogramy vytvořené shlukovací analýzou (metoda COMPLETE LINKAGE) na základě 19 tělesných rozměrů (Tab. 2. 3) – (a) pro nedospělé jedince (N. = 93), (b) pro samce (N. = 125) a (c) pro samice (N. = 115).



Obr. 3. 2. PCA, nedospělí jedinci (N. = 93).

- 1 - Švédsko
- 2 - Čechy
- 3 - J Morava
- 4 - Slovensko
- 5 - Maďarsko

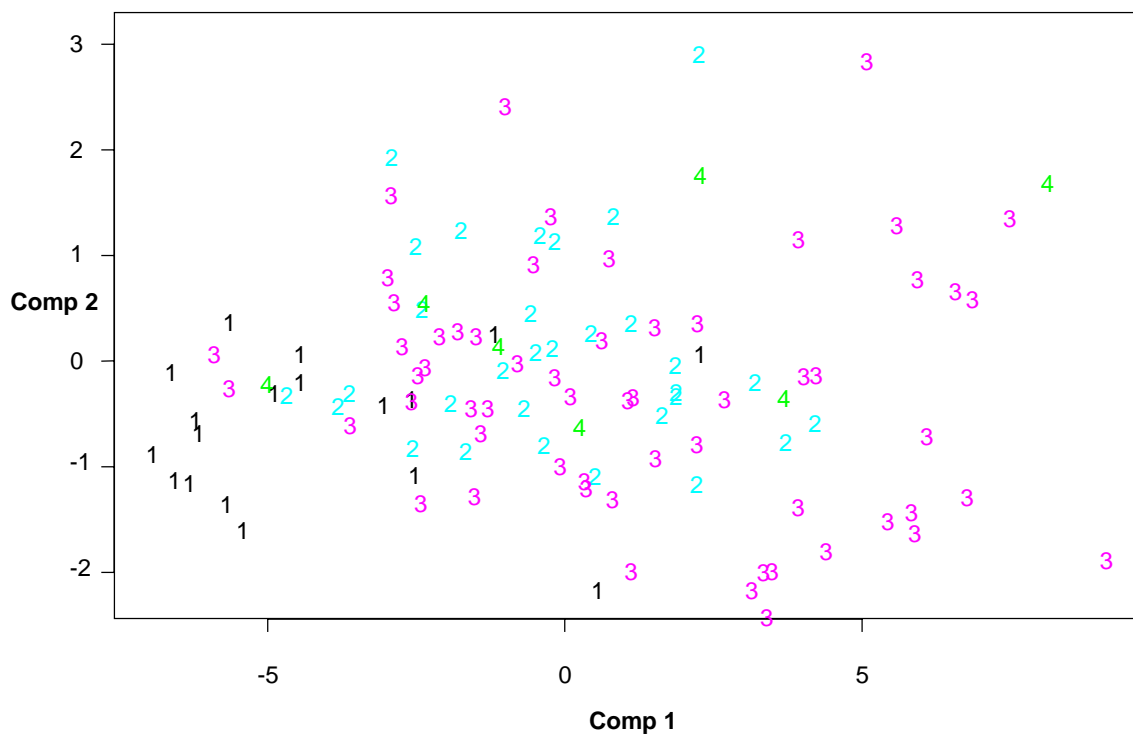
První dvě hlavní komponenty popisují dohromady 83,1 % celkového rozptylu (76,2 % a 6,9 %).



Obr. 3. 3. PCA, samci (N. = 125).

- 1 - Švédsko
- 2 - Čechy + S Morava
- 3 - J Morava
- 4 - Slovensko + Maďarsko + Rakousko.

První dvě hlavní komponenty popisují dohromady 79 % celkového rozptylu (73,3 % a 5,7 %).



Obr. 3. 4. PCA, samice (N. = 115).

- 1 - Švédsko
- 2 - Čechy + S Morava
- 3 - J Morava
- 4 - Slovensko + Maďarsko + Rakousko

První dvě hlavní komponenty popisují dohromady 75,6 % celkového rozptylu (69,9 % a 5,7 %)