

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie se zaměřením na vzdělávání
Studijní obor: Biologie a zeměpis se zaměřením na vzdělávání



Benedikt Janda

Jak se stát kriticky ohroženým druhem: revize rozšíření a stavu populací karase obecného
(*Carassius carassius*)

How to become a critically endangered species: a review of the distribution and status of the
crusian carp (*Carassius carassius*)

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Lukáš Choleva Ph. D.
Konzultant: Mgr. Zuzana Musilová Ph. D.

Praha 2022

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval/a samostatně a že jsem uvedl/a všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, dne 5. 5. 2022

Benedikt Janda

Poděkování

Rád bych moc poděkoval svému školiteli RNDr. Lukáši Cholevovi, Ph.D., za předložení, promě, atraktivního téma, odborné vedení, velmi vstřícný a shovívavý přístup v průběhu zpracovávání bakalářské práce a Mgr. Zuzaně Musilové, Ph.D. za odborné konzultace.

Abstrakt

Karas obecný (*Carassius carassius*) je původním druhem ryby v avropských stojatých a mírně tekoucích vodách. Díky vysoké odolnosti vůči nepříznivým abiotickým podmínkám obýval rovněž zarostlá mrtvá ramena řek, tůň a záplavová území. Přes svou odolnost vykazuje tento druh od poloviny 20. století snižování stavů, či úplný ústup z některých stanovišť. Na vině jsou přímé zásahy člověka, kam patří rybolov, rybochov a eliminace vhodných stanovišť v důsledku fragmentace krajiny v rámci protipovodňových opatření. Vliv člověka pokračoval zavlečením dalších druhů zejména pak karase stříbřího (*Carassius gibelio*) a dalších zástupců taxonů původního komplexu *Carassius auratus*. Ti díky gynogenetickému způsobu rozmnožování a odolnosti vůči abiotickým vlivům silně konkurují původnímu druhu. Nakolik je situace původního karase obecného kritická a jak k ní historicky došlo reviduje formou literární rešerše tato bakalářská práce.

Klíčová slova

karas, gynogeneze, molekulárně-genetické metody, gen cytochom b, taxonomie, hybridizace, introdukce, mikrosatelity

Abstract

The Crucian carp (*Carassius carassius*) is the native species of fish in European standing and slowly flowing waters. Thanks to their high resistance to adverse abiotic conditions, they also inhabited dead arms of river, ponds and floodplains. Despite its resilience, this species has been declining or completely retreating from the most of natural habitats since the middle of the 20th century. The negative direct human interventions into the species populations were, intensive fishing and the elimination of suitable habitats as a result of landscape defragmentation, which was part of flood control measures. Secondly, the human-made introductions of non-native species, the Gibel carp (*Carassius gibelio*), capable of gynogenetic reproduction, strongly competes with the native species for resources. The extent to which the situation of the native Cruvian carp is critical and how it has historically occurred is revised in the form of literary search by this bachelor's Thesis.

Keywords

The Crucian carp, gynogenesis, molecular genetic methods, cytochrome b gene, taxonomy, hybridization, introduction, microsatellites

Obsah:

1. Úvod	1
2. Přehled karasů v našich vodách	1
2.1 Karas obecný (<i>Carassius carassius</i>)	3
2.2 Komplex taxonů karase zlatého (<i>Carassius auratus spp.</i>)	5
2.2.2 Karas stříbrný (<i>Carassius gibelio</i>)	6
2.2.3 Karas gimbuna (<i>Carassius langsdorfi</i>)	8
3. Metody výzkumu při studiu karasovitých ryb	8
3.1 Analýza mikrosatelitů	9
3.2 Sekvence DNA	11
3.3 Environmentální DNA (eDNA)	12
4. Biogeografie rodu <i>Carassius</i> v Evropě	13
4.1 Biogeografie <i>Carassius carassius</i>	14
4.2 Biogeografie ostatních karasů	16
5. Faktory ohrožující nativní druh <i>Carassius carassius</i>	17
5.1 Přímý tlak rybářů	17
5.2 Ztráta stanovišť	18
5.3 Znečištění a nebezpečné látky	18
5.3 Dopady introdukce nepůvodních druhů na druh původní	20
5.3.1 Vliv <i>Carassius gibelio</i> na původní druh	20
5.3.1.1 Kompetice	21
5.3.1.2 Sexuální parazitismus	21
5.3.1.3 Hybridizace	21
5.3.1.4 Zavlečení parazitů a nemocí	22
5.3.2 Vliv <i>Carassius auratus</i> na druh původní	23
6. Diskuse	24
7. Závěr	25
8. Citovaná literatura a zdroje obrázků	25

1. Úvod

V průběhu posledních dvou dekad poutá stav a rozšíření karase obecného (*Carassius carassius*) čím dál více pozornosti. I přes dlouhodobé povědomí o jeho klesajících počtech (Lusk & Lusková, 2008) je stále bez zákonné ochrany (zákon 100/2004 sb., 2022) a mezinárodní organizace IUCN ho podle výnosu z roku 2008 stále považuje za málo dotčený druh (IUCN, 2022). Diskusi komplikují i problémy s taxonomickým vymezením ostatních druhů z rodu *Carassius* a náročná determinace pomocí morfologických znaků, která je mnohdy obtížná až nemožná (Hänfling et al., 2005). Nedostatečná pozornost odborné sféry vedla ke spuštění projektu Akademie věd České republiky, České zemědělské univerzity a Zoologické zahrady v Praze s názvem „Zachraň karase“, se snahou zapojit rovněž veřejnost při zasílání záznamů o výskytu karase obecného (Česká televize, 2022).

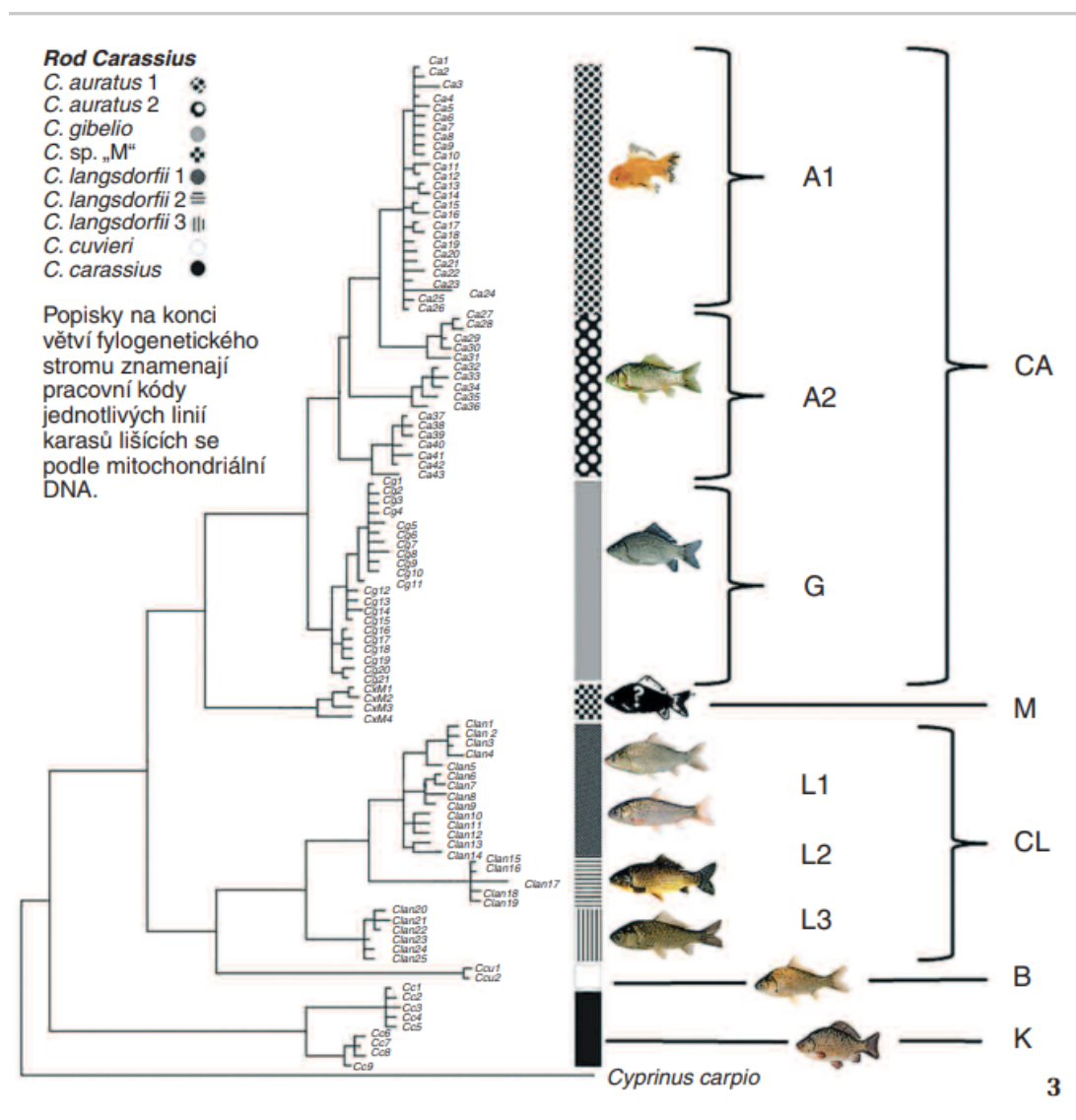
Mým cílem bylo proto z co nejširší perspektivy zpracovat rešerši dostupné literatury vztahující se k problematice výskytu, ohrožení a ochranným perspektivám karase obecného – se zvláštním důrazem na nejnovější poznatky, které v posledním desetiletí přinesly do této oblasti molekulárně-genetické metody. Práce zároveň slouží jako příprava podkladů pro diplomovou práci, proto do rešerše zahrnuji i zmíněné molekulárně-genetické metody, které výchozí práce využívají, či které by mohly být zajímavé pro další výzkumnou činnost.

V první části práce podávám obecné charakteristiky jednotlivých zástupců rodu karas v našich vodách. Následují metody výzkumu, u kterých se vedle shrnutí nejužívanějších technik v genetice ryb zastavuji u postupů využívaných v stěžejních pracech zkoumajících tyto taxony. Dále se věnuji výčtu poznatků biogeografických a ochranářských, jmenovitě nakolik je karas ohrožen jaké jsou příčiny tohoto stavu. V poslední části práce shrnuji a diskutuji výsledky publikovaných prací – potvrzuji průniky, rozdíly v získaných datech a možné perspektivy pro další výzkum.

2. Přehled karasů v našich vodách

Karas obecný (*Carassius carassius*) spadá do řádu *Cypriniformes* a čeledi *Cyprinidae* a velké skupiny *Otomorpha* v rámci kostnatých ryb (*Teleostei*) (Fishbase, 2022; Musilová, 2016). Druh je původním obyvatelem českých vod. U rybářů se však v minulosti těšil nelibosti zejména pro svůj pomalý růst, pro nějž byl vnímán jako plevelná ryba, z hlediska akvakultury kompetující o potravu s mnohem výnosnějším kaprem obecným (*Cyprinus carpio*). Velké zastání nenašel ani ve sportovním rybaření, a tak byla tato ryba léta na okraji zájmu rybářské veřejnosti (Dyk, 1956). Snad i proto byly záznamy o tomto druhu značně chaotické, kdy přes

chudou diverzitu tohoto rodu v Evropě, nachází čtenář v historické literatuře řadu nejasností a chybných determinací (Kalous, 2011; Wouters et al., 2012). Hlubší rozehřešení skryté diverzity rodu *Carassius* v Evropě přinesly až práce v 21. století (Kalous et al., 2007; Kalous et al., 2012; Kalous et al., 2013b; Rylková et al., 2013a). Tyto práce odhalily na území Evropy 5 druhů z rodu karas pomocí analýz mitochondriální DNA, jejichž příbuzenské vztahy jsou zaznamenány ve fylogenetickém stromě na obr. 1, viz dále.



Obr. 1: Fylogenetický strom rodu *Carassius* podle Rylkové et al. (2010), upravený pro potřeby článku z příspěvku Kalouse pro časopis ŽIVA (Kalous, 2013a). Fylogenetický strom poukazuje na monofyletičnost jednotlivých linií a taxon *C. sp. „M“*, který představuje druh dříve zahrnovaný pod taxon *C. gibelio*, a který by mohl představovat druhý původní taxon karase v Evropě.

V otázce historicky existující věrohodné taxonomické determinace spatřuji jednu z mnoha příčin současného statusu karase obecného v Evropě. Chceme-li studovat a efektivně chránit určitý druh, musíme jej umět determinovat (McNeely, 2002; Ely et al., 2017). Proto se věnuji, otázce taxonomie a charakteristiky zástupců rodu *Carassius* trochu obšírněji a dříve, než samotné problematice jevů, které z dříve hojné ryby našich vod učinily ohrožený druh (Lusk & Lusková, 2008). Zaměřím se zde na taxony, které obývají české vody. Největší prostor bude věnován našemu původnímu druhu a následně nepůvodním taxonům *C. auratus* a *C. gibelio*, kteří jsou z hlediska ochranné biologie rovněž diskutováni.

2.1 Karas obecný (*Carassius carassius*)

Vzhledem k proměnlivému habitu *C. carassius* byly dříve různé morfy specificky pojmenovávány. Protože část úplně původní literatury se mi nepodařilo dohledat, netroufám si tato označení hierarchizovat v rámci taxonomické klasifikace (prof. Dyk, (1956) dokonce hovoří o odrūdách). Nejčastěji uváděné názvy byly:

- *C. c. gibelio* a moderněji *C. c. morpha humilis*– zakrnělá forma z malých nádrží, zakrnělé slabé úzké tělo s černou skvrnou na ocase (Holopainen et al., 1997a; Dyk, 1956). *Carassius c. morpha humilis* můžete vidět na obr. 2.
- *C. c. vulgaris* (Holopainen et al., 1997a) – jezerní forma s vysokým hřbetem
- karas bahenní (*C. oblongus*) (Dyk, 1956) – dlouhé nízké tělo



Obr. 2: *Carassius carassius morpha humilis*; zdroj: (Mačát, 2010)

V pozdější literatuře (viz seznam literatury) jsem se setkal již pouze s obecným označením latinským názvem *C. carassius*. Komplikovanější situace je u anglického označení „crucian carp“, kterým někteří autoři označují *C. carassius* (Holopainen et al., 1997a; Rissanen et al., 2006; Harper et al., 2018) a jiní pro změnu karase zlatého (*Carassius*

auratus) (Li et al., 2012a; Li et al., 2012b; Liao et al., 2013), pro kterého je lidově užívaný název „zlatá rybka“ (anglicky „goldfish“). Jiní autoři pracují s pojmem „crucian carp“ pro označení rodu - karas (Yamasaki et al., 2013). V Evropské literatuře je termín „crucian carp“ rezervován pro duh *C. carassius*. Do hlubších analýz této problematiky jsem se však nepouštěl, neboť pro řešerši odborných prací je zásadní aktuálně platné vědecké jméno organismu, a tím je *Carassius carassius* (Kalous, 2011).

Obecná charakteristika vzhledu karase obecného je poměrně složitá, protože v závislosti na stanovišti je dosti různorodá (Dyk, 1956; Brönmark et al., 1995; Holopainen et al., 1997a). Z rozdílných názvů pro morfy u malých nádrží a jezer by se dala vyvozovat závislost délky těla a výšky hřbetu na charakteru stanoviště. Někteří autoři (Dyk, 1956; Holopainen et al., 1997a) přisuzují rychlejší růst a větší rozměry příznivějším podmínkám. Několik prací však popisuje závislost velikostní struktury populace na přítomnosti piscivorních ryb (Holopainen et al., 1991; Brönmark et al., 1995; Nilsson et al., 1995; Andersson et al., 2006), a to bez ohledu na abiotické vlastnosti stanoviště. Výsledky ukazují, že na stanovištích, kde se vyskytovaly i dravé ryby, byli odchyceni téměř exkluzivně jedinci větší než 20 cm. Ve vodních tělesech bez predátorů naopak bylo jedinců s délkou nad 20 cm jen pár (více se této problematice budu věnovat níže). Nicméně obecně karas obecný dorůstá délek do 55 cm (Kottelat & Freyhof, 2007). Tvar těla se také různí od morf s vysokým hřbetem, přes jedince proudnicově protáhlé, po zástupce s tělem zakrnělým (Dyk, 1956; Holopainen et al., 1997a). Proměnlivá je i barva, která je zpravidla do zlatozelených a šedozelených odstínů. V zarostlých tůních se zpravidla setkáváme s jedinci tmavšími než ve světlejších rozsáhlejších nádržích (Kalous, 2011).

Mezi stabilní znaky patří hlava tupě zakončená koncovými ústy a dlouhá konvexně vykrojená hřbetní ploutev. Vzorec ploutevních paprsků (tvrdých/měkkých) u hřbetní (H), řitní (R) ploutve, požerákových zubů (Z) a šupin v postranní čáře (P) je: H 3-4/14-21, R 2-3/5-8, Z 4-4, P 31-36. Karas obecný se podle většiny čtených jedinců projevuje jako evoluční tetraploid ($2n=100$) (Dyk, 1956; Kalous, 2011).

Od příbuzného *C. carpio* se liší zejména absencí fousků na horním rtu. Při pohledu na profil těla, lze rozeznat kratší hlavu oproti tělu v porovnání s *C. carpio* – jak ale bylo nastíněno výše, tyto proporce jsou determinovány do značné míry podmínkami prostředí. Méně patrným rozdílem je pak odlišná barva duhovky, která je u karasů stříbřitá, u kaprů pak zlatavá. Znakem, který člověk odhalí až dotykem prsty ruky, jsou drsné skřele, zatímco *C. carpio* je má hladké (Dyk, 1956).

Od ostatních karasů lze druh *C. carassius* rozeznat pomocí černé skvrny na kořeni ocasu, která se ale u dospělých ryb často ztrácí. Dalšími specifickými znaky je již zmíněná dlouhá konvexní hřbetní ploutev a jen mírně vykrojená ploutev ocasní (Kalous, 2011). Dále ho od karase stříbřitého (*Carassius gibelio*) a *C. auratus* odlišuje také světlé peritoneum, které mají jeho příbuzní tmavé a počet žaberních tyčinek na prvním oblouku, kterých má *C. carassius* 23 – 33, *C. auratus* 27 – 53, *C. gibelio* 38 – 47 a hybridi *C. carassius* a stříbřitého mají většinou kolem 40. Na kolik jsou u hybridů tyto znaky (zbarvení peritonea a počet tyčinek na žaberních obloucích) proměnlivé (Papoušek, 2008a; Balon, 2004), počty žaberních tyčinek jsou nejspolehlivějším vizuálním rozlišovacím znakem pro identifikaci jednotlivých taxonů (Papoušek et al., 2008b).

Kras obecný vyhledává stojaté a mírně tekoucí vody. Typický je pro záplavová území a mrtvá ramena řek (Dyk, 1956; Kalous, 2011). Oblast výskytu pak zahrnuje úmoří Severního, Baltského, Bílého, Barentsova, Černého a Kaspického moře (Rylková et al., 2013a). Introdukován byl ještě v době Římského impéria na území Francie a Anglie (Kalous, 2011; Jeffries et al., 2017). Ještě na začátku druhé poloviny 20. století o něm Dyk hovoří jako o běžném druhu záplavových území (Dyk, 1956). Postupně však v důsledku rozsáhlejších regulací řek a intenzifikací rybníkářského hospodaření začal z českých vod mizet (Lusk & Lusková, 2008). V současné době je zařazen na Červený seznam kriticky ohrožených organismů České republiky (Lusk et al. 2015a). Příčiny tohoto stavu diskutují v následujících pasážích této práce.

2.2 Komplex taxonů karase zlatého (*Carassius auratus* spp.)

Všechny další taxony byly pro svou vzájemnou podobnost řazeny do komplexu *Carassius auratus* (Vetešník et al., 2007; Rylková et al., 2010). Spadaly sem nejen v rámci Česka, ale také Evropy především nepůvodní druhy. Právě pro morfologickou a genetickou podobnost je status druhu u jednotlivých taxonů komplexu dlouho diskutabilní, stejně tak jako monofyletičnost některých linií (Rylková et al., 2010; Kalous et al., 2012; Kalous et al., 2013b). Komplikací je zároveň rozdílná úroveň ploidie u některých populací (Lusková et al., 2004). Této problematice se věnuji dále. V některých i relativně recentních pracích se tak setkáváme s označením jednotlivých zástupců jakožto morf jednoho druhu, respektive poddruhů (Rylková & Kalous, 2013b). Nedávné genetické studie přináší porozumění této taxonomicky obtížné skupiny (Rylková et al., 2010; Kalous et al., 2012; Rylková et al., 2013a). Ty vycházejí z analýzy mitochondriálního genu pro cytochrom b u jedinců napříč Evropou (viz obr. 1) a vyčleňují 5 samostatných linií přítomných na našem území *C.*

carassius a *C. langsdorfii*, které lze považovat za dobré druhy (Rylková, 2014). Dále *C. auratus*, *C. gibelio* a taxon s pracovním označením *C. sp. „M“*, pro jejichž klarifikaci bude třeba dalších šetření.

2.2.1 Karas zlatý (*Carassius auratus*)

Prvním ze zástupců komplexu je samotný karas zlatý *Carassius auratus auratus* či *Carassius auratus*. Původem z východní Asie (Takada et al., 2010), kde byl domestikován již od 10. století n. l. v Číně (Balon, 2004). Z hlediska akvakultury se jedná o jednu z nejdůležitějších ryb vůbec, což dokládá globální produkce ve výši 3,1 miliónů tun v roce 2018 (Chen et al., 2020). Pro srovnání, *C. carpio* bylo ve stejném roce vyprodukováno 4,2 milionů tun živé váhy (FAO, 2020). Laické veřejnosti bude známa jistě jeho okrasná forma „zlatá rybka“ jinak také zvaná „závojnátka“. V přírodě se však vyskytuje i jeho divoká, ferální, forma. Ta je zbarvená stříbrošedě, zlatošedě či bronzově. Ploutve má zpravidla hnědé s naoranžovělými okraji, přičemž hřbetní ploutev má konkávní vykrojení, nebo je rovná. Vzorec ploutevních paprsků (tvrdých/měkkých) u hřbetní (H), řitní (R) ploutve, požerákových zubů (Z) a šupin v postranní čáře (P) je: H 3-4/14-19, R 2-4/5-6, Z 4-4, P 38-47. Dorůstá kolem 32 cm a v přírodě se vyskytuje v diploidní formě (Kalous, 2011) a také triploidní (Lusková et al., 2004). V Evropě se po dovozu do Portugalska začal *Carassius auratus* volně šířit někdy v 18. století (Kalous, 2013a). Dnes je rozšířen v rámci celého mediteránu a dostal se rovněž do Velké Británie (Rylková et al., 2013a)

2.2.2 Karas stříbřitý (*Carassius gibelio*)

Druhým zástupcem bývalého komplexu *Carassius auratus* je karas stříbřitý (*Carassius gibelio* – dříve *C. auratus gibelio*). Práce Kalouse et al. (2012) mapovala strukturu taxonu na základě genu pro cytochrom b a odhalila u pod taxonem *C. gibelio* na území Evropy přítomnost dvou samostatných linií. První linie zahrnovala vzorky kam spadali jedinci nejbližší příbuzní rybám ze západního Mongolska a do druhé spadaly jedinci z Evropy, Ruska, východního Mongolska a Číny, kteří jsou více příbuzní taxonu *C. auratus*, než karasům ze západního Mongolska (Rylková et al., 2010; Kalous et al., 2012; Kalous, 2013a). Kalous et al. (2012) tak vyčlenili název *C. gibelio* pro Evropsko-Čínský klád.

V rámci nově vymezeného taxonu *C. gibelio* se v Evropě vyskytují dva biotypy: diploidní a polyploidní (Kalous et al., 2012). První záznam o *C. gibelio* z území Evropy pochází od Blocha (1782). Autor vymezil živočichovi, kterého nazval *Cyprinus gibelio* oblast

výskytu v areálu historických území Pruska, Pomořanska a Slezska, tedy i v části Česka. Podle nákresu se měla ryba konvexně vykrojenou ploutev hřbetní, a celkem výrazně proříznutou ploutev ocasní. Problém tohoto záznamu spočívá v absenci typového exempláře, který byl pravděpodobně ztracen (Peapke, 1999; Kalous et al., 2012). Navíc ze stejné doby nemáme žádné záznamy ze západní Evropy a povodí Dunaje, odkud se v úlovcích začal pravidelně objevovat až od 60. let minulého století. Od tohoto data jeho počty v daném regionu začaly rapidně růst a šířil se dál (Holčík & Žitan, 1978; Rylková et al., 2010; Kalous et al., 2012). Genetické studie ukázaly, že v této invazní vlně jsou z velké části zastoupeny triploidní samice, které se rozmnožují gynogeneticky (Lusková et al., 2004; Rylková et al., 2013a).

S Blochovým záznamem pak vyvstává otázka, zda se *C. gibelio* na území Evropy nemohl dostat z východní Asie, podobně *C. carassius*, skrze systém bažin přes Sibiř v době ústupu kontinentálního ledovce. Nasvědčovat by tomu mohla dokumentovaná potenciálně podobná migrační trasa ryb *Cobitis melanoleuca* nebo *Rhynchocypris percurus*, kdy právě *R. percurus* obývá podobnou oblast jako Blochem popsáný *C. carassius* a má i obdobnou ekologickou niku (Kottelat & Freyhof, 2007; Rylková et al., 2010). Pro další výzkum popsali Kalous et al. (2012) neotyp *C. gibelio* - diploidní samec z území Slezska, který je vyfocen na obr. 3. Invazní triploidní linie *C. gibelio* zřejmě vznikly důsledkem hybridizace (Mezhzherin et al., 2012; Wouters et al., 2012; Knytl et al., 2013; Knytl et al., 2018). V populacích triploidního *C. gibelio* se však mohou v menšině vyskytovat diploidní jedinci (Zhou et al., 2000; Kalous et al., 2006; Flajshans et al., 2007; Papušek et al., 2008b).



Obr. 3: Neotyp *C. gibelio* popsáný Kalousem et al. (2012), fotka je převzata ze stejné práce

Dlužno podotknout, že triploidní jsou od diploidních *C. gibelio* zcela k nerozeznání. Morfologicky velmi podobní jsou zástupcům *C. auratus* i *C. carassius*. Zbarvení hřbetu bývá hnědé, nebo modrošedé. Boky má *C. gibelio* zpravidla stříbřité či zlatavě lesklé. Břicho je světlé, ale světlá, stříbřitě lesklá může být i celá ryba. Hřbetní ploutev má ryba konkávní, či rovnou a ploutev ocasní je vykrojena mnohem více než u *C. carassius*. Vzorec ploutevních paprsků (tvrdých/měkkých) u hřbetní (H), řitní (R) ploutve, požerákových zubů (Z) a šupin v postranní čáře (P) je: H 3-4/16-18, R 2-3/5-6, Z 4-4, P 28-33. Dorůstá délky 35 cm (Kalous 2011).

2.2.3 Karas ginbuna (*Carassius langsdorfii*)

Druh původem z Japonska (Rylková et al., 2013a). Zajímavé je, že stejně jako u *C. gibelio* se u tohoto druhu běžně vyskytují fertilní polyploidní formy, které jsou schopny se množit gynogenezí (Ohara et al., 2003). Populace takových jedinců je složena výhradně ze samic (Kalous et al., 2012).

3. Metody výzkumu při studiu karasovitých ryb

Díky podobnosti jednotlivých taxonů, podtržené fenotypovou plasticitou probíhala obměna složení karasích populací v evropských vodách skrytě (Wheeler, 2000; Hänfling, 2007; Copp et al., 2008; Wouters et al., 2012). Ačkoli hrubé rozlišení čistých jedinců od hybridů je pomocí počtu žaberních tyčinek možné (Hänfling & Harley, 2003; Papoušek, 2008b), bez genetické analýzy není nelze rozlišit, o hybridy kterých druhů se jedná (Hänfling & Harley, 2003). Aktuální diskuse o taxonomii a systematice (viz kapitola 2.2) tak vznikla až díky zjištěním učiněných za pomoci molekulárních metod, které zaznamenaly větší rozmach až v 70. letech minulého století (Papoušek, 2008a). Základní přehled molekulárně genetických analýz velmi kvalitně zpracoval Papoušek (2008a) ve své disertační práci. Budu tedy pro většinu textu kapitol 3, 3.1 a 3.2 vycházet z této práce:

Dnes se v ichtyologii používá řada molekulárně genetických metod. Většina z nich využívá polymerázovou řetězovou reakci (PCR), jejíž princip v roce 1983 objevil Mullis. Jedná se o mnohonásobnou umělou syntézu konkrétních úseků DNA určené dvěma iniciačními oligonukleotidy – primery. Ty v rámci teplotních cyklů nasednou na příslušný úsek DNA, prodlouží se a denaturují. Tento postup se následně opakuje tolikrát, kolikrát je nastaveno v programu na přístroji zvaném cykeler. Amplifikované úseky DNA se pak využívají k analýzám podle různých metod. V genetice ryb to jsou například:

- **Metoda náhodně amplifikované polymorfní DNA**, která je vhodná k analýze neznámých sekvencí DNA. Hlavní charakteristikou jsou velmi krátké primery, které tak nasedají na mnoho míst zkoumané DNA a vytváří velké množství fragmentů DNA o různé délce. Výsledné soubory fragmentů pak mohou být druhově specifické.
- **Metoda polymorfismu délky restrikčních fragmentů**, selektuje DNA podle lokalizace restrikčních míst, která se přesouvají v důsledku mutací.
- **Metoda polymorfismu délek amplifikovaných fragmentů**, která je podobná předchozí, ale na konce restrikčních fragmentů se při ní ještě ligují adaptorové sekvence a takto upravené úseky DNA jsou následně amplifikovány. Podobně jako u první metody tak praktikant nepotřebuje bližší znalosti o zkoumané genetické informaci. Metoda je však mnohem citlivější, než předchozí a poskytuje vyšší rozlišení.
- **Metoda polymorfismu konformace jednořetězcové DNA**, která jednotlivé molekuly rozlišuje na základě rozdílné mobility v gelu. Mobilita je dána sekundární strukturou, která je určena primární strukturou, a tak je možné detekovat i bodové mutace v zkoumaných řetězcích DNA.
- **Metoda denaturační gradientové gelové elektroforézy**, využívá změny teploty tání jednotlivých domén na dvouřetězcové DNA v důsledku mutací. Díky tomu, s rostoucí koncentrací denaturačního činidla, jsou od sebe jednotlivé fragmenty odděleny, neboť záměna i jednoho páru bází může způsobit změnu teploty tání až o 1°C.

Poslední dvě metody byly využívány ve výchozích pracích této rešerše, proto je níže v textu rozvíjím.

3.1 Analýza mikrosatelitů

Mikrosatelity jsou (obdobně jako mini satelity) krátké tandemově se opakující sekvence nukleotidů, dlouhé mezi 1–10 páry bází. Nachází se v kódujících i nekódujících oblastech všech buněčných organismů a vykazují značnou různorodost, kdy jeden lokus může mít až desítky alel. Ty se zpravidla liší délkou, a tak při amplifikaci za pomoci PCR je lze od sebe odlišit pomocí elektroforézy. Velkou výhodou je vysoká mutační rychlost a tím daná značná proměnlivost jednotlivých mikrosatelitů, pro což je lze využít pro studium evolučně blízkých taxonů. Rychlost mutací spojená s variabilitou je zároveň nevýhodou, neboť může dojít k situaci, kdy se ve vzorku vyskytnou dvě stejně velké alely dvou různých taxonů. Zároveň tato metoda patří mezi ty dražší. Na druhou stranu nabízí relativně snadnou formu analýzy a možnost práce s více lokusy současně. Další komplikací je potřeba nalézt a identifikovat

vhodné primery pro PCR mikrosatelitů. U řady druhů jsou již známy, či je možné využít mikrosatelity blízce příbuzného druhu (Papoušek, 2008a).

Možnosti využití analýzy mikrosatelitů jsou velmi široké. Metoda se dá využít k posouzení variability, velikosti a struktury populací, k identifikaci jedinců, nebo při paternitních či forenzních analýzách (Papoušek, 2008a). Hänfling et al. (2005) využil mikrosatelity pro detekci hybridů *C. carassius* a nepůvodních zástupců rodu *Carassius*. Použití této metody se ukázalo být velmi efektivní, jak dokládá tabulka č. 1 převzatá (a upravená) ze samotné práce, zobrazující velikostní rozložení alel testovaných lokusů mezi jednotlivými taxony (Papoušek, 2008a).

Šest lokusů dříve využívaných pro *C. auratus* (GF1, GF17, GF29) a *C. carpio* (MFW2, MFW7, MFW17) se ukázaly jako amplifikovatelné i pro ostatní druhy, kterými jsou: *C. carassius* a *C. gibelio*, v této práci ještě uvažovaného v rámci komplexu *Carassius auratus* – tedy *Carassius auratus gibelio*. Podstatnější je, že alely těchto lokusů se mezi jednotlivými druhy lišily svou velikostí (viz tabulka 1). Samotní autoři práce docenili přínos mikrosatelitů k identifikaci jednotlivých taxonů a zjištění míry hybridizace. Autoři poukazují zároveň na obtížnost správné identifikace na základě viditelných morfologických znaků. Řada vzorků měla zcela, nebo částečně odlišný genotyp, než taxon, než jaký byl konkrétnímu jedinci původně přiřčen (Hänfling et al., 2005).

Lokusy GF17 a GF29 využili ke svému studiu autoři Wouters et al. (2012), kteří se věnovali identifikaci hybridů *C. carassius* s invazivním *C. gibelio* ve stojatých vodách Švédska. Autoři zde použili mikrosatelity pro rozlišení hybridů a podporu fylogenetických hypotéz postavených na sekvenaci kontrolní oblasti (D-loop) mitochondriální DNA (Wouters et al., 2012).

Tabulka 1: Velikostní rozložení alel testovaných lokusů u karase zlatého (AU), karase obecného (CA), kapra (CY) a klonálních linií karase stříbřitého (GI); převzato z (Hänfling et al. 2005)

Lokus	Velikost alely				Diagnostické vlastnosti		
	AU	CA	CY	GI	AU × CA	AU × CY	CA × CY
GF1	300–312	298	296	300–308	R	R	R
GF17	184–212	182	–	186–220	R	–	–
GF29	189–207	210–228	243–283	193–207	R, S	R	R, S
MFW2	157	160	169–271	157	R, S	R	R, S
MFW7	157–191	178–196	188–276	175–199	A, S	A, S	A (90)
MFW17	216–256	242–250	234–280	222–232	A	A (80)	A (92)

Diagnostické vlastnosti mezi páry jednotlivých druhů: R - diagnostický rozsah velikosti alely; S - posun jednoho páru bází mezi velikostí alel; A - podíl diagnostických alel je uveden v závorce

3.2 Sekvenace DNA

Tato metoda vznikla v roce 1977 a dnes patří spolu s analýzou mikrosatelitů k těm nejpoužívanějším. Klasická tzv. Sangerova metoda spočívá v přidání analogů nukleotidů do PCR loadu, fluorescenčně značených dideoxynukleotidtrifosfátů. Pokud se tyto „dvojníci“ včlení do řetězce místo standardního je zastavena jeho syntéza. V konečném důsledku tak získáme směs fragmentů lišící se délkou vždy o jednu bázi. Ty jsou pak od sebe odděleny v automatickém sekvenátoru a pomocí fluorescenční značky je jejich sekvence zamenána (Papoušek, 2008a).

Sekvenovat lze jak jadernou, tak mitochondriální DNA a oba přístupy jsou v ichthyologii široce zastoupeny. V mnou studovaných publikacích převažovalo sekvenování mitochondriální DNA. Ta se v buňkách vyskytuje zpravidla v kruhovém uspořádání a u ryb obsahuje 37 genů, z nichž 24 se podílí na proteosyntetickém aparátu mitochondrie (tRNA a rRNA) a 13 slouží k syntéze enzymatických proteinů respiračního řetězce (cytochrom b, NADH dehydrogenáza, cytochrom c oxidáza, ATP syntáza). Ačkoli v malém množství, mitochondriální DNA obsahuje i nekódující sekvence. Tou nejdůležitější je kontrolní oblast (tzv. D-loop), kterou pro svou analýzu využil ve své práci například Hänfling et al. (2003; 2005). Mezi důvody, proč je mtDNA často používána patří její kompaktnost a snadná izolovatelnost, vysoká evoluční rychlost (5x až 10x větší než u jaderné DNA), haploidní konstituce a to, že nepodléhá zpravidla rekombinaci. Zatímco ribozomální geny patří u ryb mezi ty konzervativnější a dají se využít pro fylogenetické studie vyšších taxonů, geny pro cytochrom b, ATP syntázu, či NADH dehydrogenázu jsou variabilnější a mohou tedy být využity k fylogenetickým studiím nižších taxonů (čeleď – rod) (Papoušek, 2008a). Nepřekonatelnou slabinou fylogenetických konstruktů pomocí dat z této metody je skutečnost, že získáme informace pouze o mateřské linii a nemůžeme tak analyzovat rodokmen ze strany samců.

Sekvenací kontrolní oblasti mtDNA využila pro analýzy již citované práce Hänfling et al. (2005), nebo Papoušek (2008a). D-loop reguluje replikaci těžkého řetězce a transkripci všech mitochondriálních genů. Proto jsou funkční oblasti velmi konzervativní (Papoušek, 2008a). Studie na začátku 21. století ukázaly, že se v rámci tohoto úseku mtDNA vyskytují místa s vysokou variabilitou, která lze využít k diagnostickým účelům zejména pak doména ETAS, díky své relativně velké mutační rychlosti (Lui, 2002).

Nejrozšířenější je u sekvenace mtDNA gen pro cytochrom b, který je společně s cytochromem c oxidázou součástí dýchacího řetězce (Esposti et al., 1993). Díky dlouhé historii jeho používání je jedním z nejlépe zmapovaných mitochondriálních genů (Irwin et al., 1991). Mezi jeho hlavní nevýhody patří nevyvážené nukleotidové složení a omezená variabilita na první a druhé pozici kodonu. Z toho důvodu se analýzy založené na sekvenaci tohoto genu podporují kombinací s dalšími markery (Farias et al., 2001). Analýzu genu pro cytochrom b vyžívala ve svých pracech skupina kolem profesora Lukáše Kalouse (Kalous et al., 2007; Rylková et al., 2010; Kalous, 2011; Kalous et al., 2013b; Rylková et al., 2013a; Rylková & Kalous, 2013b).

Další rozsáhlý soubor studií publikoval Jeffries (2015). Ve třech studiích přitom využil mimo jiné sekvenování restriktivně asociované DNA (RADseq). Jedná se o jednu z tzv. technologií sekvenování nové generace, které umožňují čtení velkého množství markerů za krátký čas (Jeffries, 2015; Jeffries et al., 2016; Jeffries et al., 2017). RADseq sekvenační platformy Illumina, kterou se dnes analyzuje 90 % veškerého sekvenovaného genetického materiálu (Biomarker technologies, 2022). Základním principem Illuminy je syntéza antiparalelního řetězce ke zkoumané templátové DNA fluorescenčně značenými nukleotidy. Celý proces se odehrává na matrici zvané „flowcell“, která je snímána a výsledkem je tak barevná mozaika, kterou tvoří barvy připojovaných nukleotidů, díky čemuž je pak možné vyhodnotit složení syntetizované (a tedy i templátové) DNA. Standardně je vývoj markerů pro tuto metodu značně nákladný, proto se v objevila myšlenka spojit sekvenaci pomocí Illuminy s metodou fragmentů DNA naštipaných restriktivními enzymy. Takto je možné vyhodnotit tisíce markerů náhodně rozmístěných v celém genomu (Davey & Blaxter, 2010).

Jeffries et al. (2016) se své práci věnovali také srovnání výsledků RADseq s mikrosatelitů. Nakolik se ukázalo, že metody vzájemně vykazují značně rozdílné výsledky, obě poukazují stejný na fylogenetický vzor druhu *C. carassius* v Evropě (Jeffries et al., 2016). Je zřejmé, že se v Evropě vyskytují aktuálně dvě prostorové oddělené linie *C. carassius*, k nimž by mělo být z hlediska ochrany přistupováno individuálně (viz obr. 4) (Jeffries et al. 2016).

3. 3 Environmentální DNA (eDNA)

Na závěr kapitoly bych se rád zmínil analýzu environmentální DNA (eDNA), což je jaderná či mitochondriální DNA uvolněná z organismu do volného prostředí. Zde trvá obvykle 7 – 21 než eDNA degraduje v závislosti na přítomnosti endonukleáz, vlastnostech vody (teplota, vodivost) a aktivitě mikroorganismů (bakterií a hub) (Pilliod et al., 2013). Rychlost

degradace závisí zároveň na délce fragmentu, kdy delší řetězce DNA podléhají zkáze rychleji než ty kratší (Dejean et al., 2011). Analýzy eDNA se využívá již od 80. let 20. století, kdy z počátku byla využívána ke studiu bakteriálních a planktonních společenstev v mořích. Dnes se již běžně využívá k monitoringu invazních a ohrožených druhů obratlovců. Samotná práce s eDNA je metodologicky velmi náročná. Vzhledem k závislosti koncentrace DNA (respektive míry degradace DNA) na vlivech prostředí je pro optimalizace výsledků zásadní testování citlivosti (minimální koncentrace DNA, potřebná pro detekci), tak aby nedocházelo k falešným negativním indikacím. Dalším kritickým bodem je volba vhodných markerů pro zajištění druhové specifity, aby naopak nedocházelo k falešným pozitivním nálezům (Díaz-Ferguson & Moyer, 2014).

Možností využití eDNA pro výzkum stavu populací *C. carassius* zkoumala práce Harper et al. (2019). Motivací bylo využít analýzu eDNA jakožto časově efektivní alternativu k standartním postupům, které využívají odchyty do vrší, nebo elektrického agregátu. V případě odchytů do vrší musí člověk lokalitu navštívit min. 2x a navíc je ve své mobilitě limitován počtem vrší. Při využití agregátu je pak časová náročnost přímo úměrná rozměrům vodního tělesa. Účinnost standardních praktik je navíc snížena nerovnoměrným rozmístěním ryb ve vodním sloupci. Práce zaznamenala 90% úspěšnost v odhalení přítomnosti *C. carassius* a zároveň nulový počet falešných indikací. Slabinou z hlediska specifity je použití mitochondriální DNA. Při výskytu hybridů na stanovišti s mateřským genomem od *C. carassius* by výsledkem analýzy byla přítomnost *C. carassius*. Vzhledem k tomu, že hybridi *C. carassius* x *C. gibelio* jsou zpravidla potomky samic *C. gibelio* týká se tento problém hlavně kříženců s *C. carpio* a *C. auratus*. Autoři tak vidí v jimi sestrojené metodě nástroj pro úvodní průzkum většího množství lokalit, díky kterému bude možné se časově vyselektovat místa pro náročnější a přesnější postupy (Harper et al., 2019).

V rámci snahy o zmapování výskytu *C. carassius* se dále na využití eDNA soustředila třeba práce Roy et al. (2018). Naopak nepůvodní karasi jsou díky ní monitorováni v rámci článku z roku 2016 (Uchii & Minamoto, 2016).

4. Biogeografie rodu *Carassius* v Evropě

Ačkoli aktuální rozšíření bylo nastíněno již výše, toto téma bych zvláště u *C. carassius* rád diskutoval více do hloubky, neboť je zásadní jak pro porozumění statusu jednotlivých druhů, tak pro budoucí ochranu *C. carassius*.

4.1 Biogeografie *Carassius carassius*

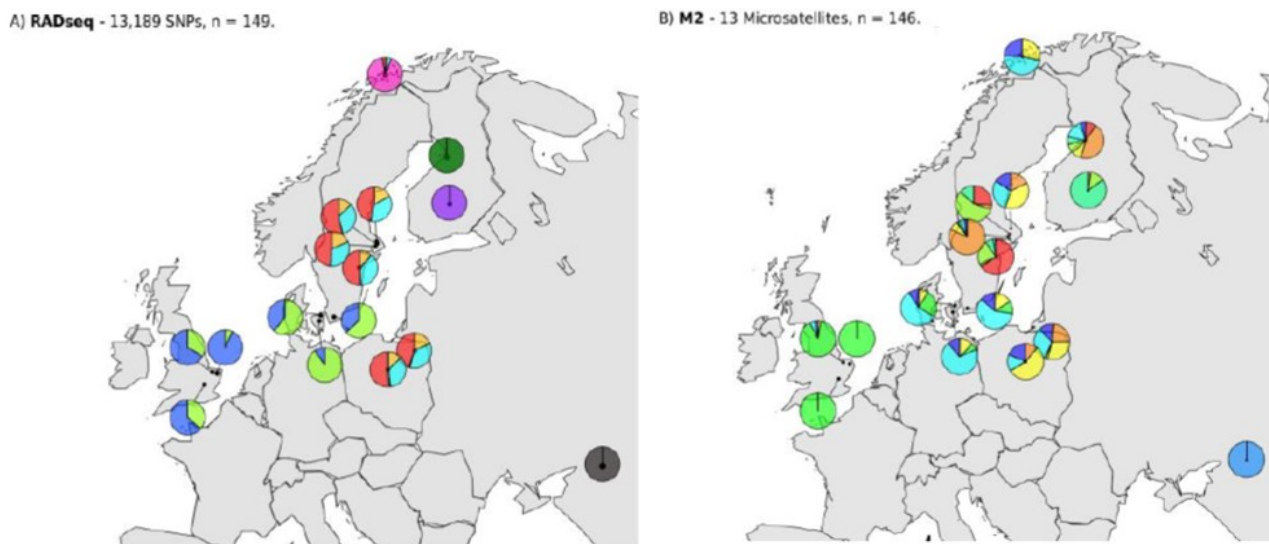
Jak bylo již zmíněno výše *C. carassius* je původním druhem ryby na našem území a vyskytoval se původně téměř v každé stojaté či mírně tekoucí vodě (Dyk, 1956; Lusk & Lusková, 2008). Historické analýzy z 17. a 18. století dokládají, že tvořil podstatnou složkou lokální ichtyofauny na jižní Moravě (Hurt, 1960). Frič (1872) reflektoval *C. carassius* jako typickou rybu stojatých vod (rybníky, stará řečiště a malé tůně). Ještě v roce 1905 hovoří další autor o tomto druhu, jako o všedním obyvateli rybníků a málo tekoucích vod (Kitt 1905) a několik prací (Oliva, 1955; Lelek et al., 1959) zmiňuje výskyt *C. carassius* v záplavových pasážích Labe a Dyje. Na některých stanovištích byl dokonce dominantním druhem (Oliva, 1955; Oliva, 1960). Ve 20. století byl *C. carassius* přehlíženou složkou v rybích společenstvech našich vod, což potvrdily i rybářské dotazníky z roku 1958 (Libosvářský, 1960 – 1961) a populace nedosahovaly v této době na většině stanovišť vysokých stavů (Oliva, 1955; Oliva, 1960). Navíc v případě absence predátorů zpomaluje *C. carassius* svůj růst již po dosažení 10 cm délky a na takové lokalitě pak převládají jedinci do 20 cm (Tonn et al., 1991; Tonn et al., 1992; Brönmark et al., 1995). Jeho současný stav v našich vodách je kritický (Lusk & Lusková, 2008). *C. carassius* byl zapsán i do Červeného seznamu ohrožených živočichů České republiky, již v roce 2004 se statutem „zranitelný“ (Lusk et al., 2004; Lusk et al., 2015a; Lusk et al., 2015b). Podle aktuálního seznamu spadá do kategorie „CR = Kriticky ohrožený“, se stabilním výskytem pouze v úmoří Černého moře (Lusk et al., 2015a).

Souhrn informací o výskytu tohoto taxonu lze dohledat v přehledu Ryby a mihule České republiky z roku 2005 (Hanel & Lusk, 2005). O ojedinělých výskytech v tůních CHKO Poodří informuje monitoring Lojkáska et al. (2002), zaznamenaný byl v roce 2008 několika biotopech Mitrovic (Metra, 2008) a ojediněle je nacházen na lokacích v zátopovém území střední Moravy, dolních přítocích Moravy, jako Haná (Prokeš & Baruš, 2002) a Bečva (Spurný et al. 2000). Dalšími oblastmi se zaznamenaným výskytem *C. carassius* je soutok Moravy a Dyje (zemník Dědová) a mrtvá ramena Dyje (Papoušek et al., 2008). Ověřenými lokalitami jsou PP Stibůrková jezera, uměle vytvořené tůně Palacha, Kančí obora u Poštorné a umělý mokřad „Betlém“ u Věstonické nádrže (Pražák et al., 1966; Lusk et al., 2002). Spolu s *C. gibelio* se *C. carassius* vyskytuje v zatopeném lomu Svatá Anna u Měšic (Lusk & Lusková, 2008) a samotný *C. carassius* byl zaznamenan v tůních povodí Lužnice (Holub et al., 2004; Holub et al., 2006). Zároveň lze nalézt práce, které popisují vytracení *C. carassius* ze stanovišť (Arnold, 1977; Rylková & Kalous, 2013b). V nálezové databázi ochrany přírody

NDOP, spravované Agenturou ochrany přírody a krajiny (Agentura ochrany přírody a krajiny, 2022) lze vidět, že nálezy za období 1990–2009 je pokryta značná část území, nicméně dá se očekávat, že nemalá část přispěvatelů z řad veřejnosti nemá povědomí o přítomnosti jiných zástupců rodu *Carassius* a hlavně schopnost jednotlivé zástupce od sebe odlišit.

Trend ve zbytku Evropy je v zásadě podobný, jako u nás. Na Slovensku byl ještě v polovině 20. století *C. carassius*, v rámci stojatých a mírně tekoucích vod, všude přítomným druhem. Výrazné byly zejména populace u Velkého Žitného ostrova (Kux, 1957), v povodích Latorice a Bodrogu - před vodohospodářskými úpravami (Libosvářský, 1960-1961). Dnes je na Červeném seznamu ryb a mihulí Slovenska se statusem „zranitelný“ (Koščo & Holčík, 2008). Podle Banaresca (1986) byla obměna *C. carassius* za *C. auratus* zaznamenána již ve třicátých letech minulého století.

Jak jsem zmínil již dříve, práce autorů Jeffries et al. (2016) odhalila dvě prostorově oddělené linie *C. carassius*, jako důsledek znovaosidlování Evropských řek z refugií, kam se *C. carassius* stáhl, společně s ostatními druhy, před postupujícím ledovcem a suchým klimatem v dobách ledových (viz obr. 4). Tento závěr podporují analýzy mikrosatelitů, SNP i mitochondriálního genu pro cytogrom b a měl by být následně zohledněn při ochranářských aktivitách, zejména pak případných reintrodukcích (Jeffries et al., 2016).



Obr. 4: Kartodiagramy sestavené z dat získaných metodou RADseq (vlevo) a pomocí mikrosatelitů (vpravo) převzaté z citované práce (Jeffries, et al. 2016). Barvy koláčových grafů odpovídají příslušným genetickým klastrům.

4.2 Biogeografie ostatních karasů

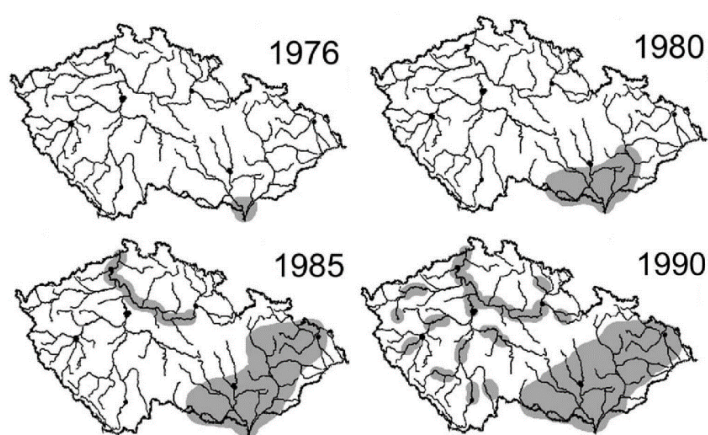
Vedle *C. carassius* se předpokládá, že původním taxonem v Evropě by mohla být také diploidní linie *C. gibelio* (Kalous et al., 2012; Rylková et al., 2013a), přičemž její status a charakteristika zatím nejsou zcela vymezeny. Přítomnost ostatních druhů tohoto rodu *Carassius* v Evropě je zapříčiněna člověkem (Balon, 2004; Lusková et al., 2010). *Carassius auratus* (lidově zlatá rybka) patří mezi nejstarší domestikované ryby. V Číně byl od 12. století chován jako okrasná rybka v jezírkách a mezi lety 1276 – 1546 jej domorodci začali chovat v nádobách předcházející dnešním akváriím. Pro svou oblíbenost a atraktivní zjev začal být v 17. století dovážěn také do Evropy. Za jeho dovoz vděčíme s největší pravděpodobností Portugalcům, kteří jej zprvu dopravili do jižní Afriky a posléze do Lisabonu. První zaznamenaná introdukce na území Anglie je datovaná do roku 1691 a ve Francii je evidován od roku 1755 (Balon, 2004). Ribeiro et al. (2009) zasazuje nestarší introdukci *C. auratus* na území Portugalska do 18. století. Každopádně v této době byl pravděpodobně *C. auratus* v Evropě již oblíbenou rybou. Zcela zásadní byl zdařilý výtěr *C. auratus* severněji v Evropě – první zemí bylo Holandsko v roce 1728. Do této bylo třeba tuto rybu draze dovážet na lodích z Číny. Od této doby tak můžeme očekávat větší počet záměrně vypouštěných *C. auratus* do volných vod evropské krajiny, kde začal brzy obsazovat vhodné habitaty (Balon 2004; Kotellat, 1997). Dnes je nejoblíbenější okrasnou rybkou, a tak není divu, že je nalézán na vyhovujících stanovištích po celém světě. (Elvira, 2001; Kumar, 2000) Rošíření ostatních nepůvodních zástupců rodu *Carrasius* je zmapováno nedostatečně (Rylková et al., 2013a).

Z hlediska biogeografie druhu *C. gibelio* je nutné připomenout jeho taxonomii. Jak doložily výše citované práce (Kalous et al., 2012; Rylková et al., 2013a), pod názvem *C. gibelio* se vyskytují v Evropě dvě separátní linie. Ta, pro kterou Kalous et al. (2012) vyčlenili název *C. gibelio*, je sesterskou linií *C. auratus*. Spadají pod ní jednak pravděpodobně původní populace diploidních *C. gibelio* a invazní populace tvořené převážně triploidními samicemi (Kalous et al., 2012; Rylková et al., 2013a). *Carassius gibelio* byl v Evropě prvně pozorován na Dunaji, na území Bulharska a Rumunska v roce 1940 (Bânărescu & Paepke, 2002), avšak výrazný nárůst stavů tohoto druhu byl zaznamenán až v 60. letech 20. století (Holčík & Žitan, 1978).

Dnes je invazním například v Severní Americe (Elgin et al., 2014; Docherty et al., 2017). Na území bývalého Sovětského svazu byl aktivně rozšiřován v rámci tzv. aklimatizačních aktivit, jejichž cílem bylo zvýšit produkci ryb (Lusk & Lusková, 2005). Invaze v Evropě se týkala také našeho dolního toku Dyje. Zde byl na území Česka poprvé

pozorován v roce 1975 a odtud se rozšířil dalších oblastí, jak ukazuje obr. 5 (Lusk et al., 1998; Halačka et al., 2003; Lusková et al., 2010). Na základě nových zjištění byla z taxonu *C. gibelio* vyčleněna linie příbuzná nejvíce s karasy z Mongolska. O historii jejího rozšíření na území Evropy neexistují žádné informace a bude třeba jí ještě pojmenovat (Kalous et al., 2012; Rylková et al., 2013a).

Carassius langsdorfii byl v Česku poprvé pozorován v roce 2007 na řece Labi (Kalous et al., 2007) a Papoušek et al. (2008b) objevili populaci v mokřadu u řeky Moravy. Zároveň byla zjištěna jeho přítomnost ve vodách Řecku (Takada et al., 2010). Práce Kalouse et al. (2013) ukázala, že tento druh je v Evropě mnohem více rozšířen, než se předpokládalo. Vedle již zmíněných států byla zjištěna přítomnost *C. langsdorfii* v severozápadní Itálii i Bosně a Hercegovině (Rylková et al. 2013a).



Obr. 5: Převzatá mapa průběhu šíření *C. gibelio* na území Česka (Halačka et al. 2003).

5. Faktory ohrožující nativní druh *Carassius carassius*

V následující kapitole shrnuji dostupné podklady pro diskusi faktorů ohrožujících *C. carassius*. V první části se zaměřím na přímé efekty lidského chování a následně analyzuji vliv introdukcí nepůvodních druhů.

5.1 Přímý tlak rybářů

Carassius carassius historicky zažíval značný tlak ze strany rybářské komunity. Považován byl za plevelnou rybu, neboť poskytoval menší výnosy než *C. carpio* (Dyk, 1956). Zároveň se jednalo tak běžnou rybu, že se ji rybáři neostýchali po kádích vyvážet na do lesů, jako krmivo

pro prasata, neboť neměl ekonomické využití (RNDr. Lukáš Choleva, Ph. D.; prof. Ing. Petr Ráb, DrSc., dr. h. c., pers. comm.).

5.2 Ztráta stanovišť

Dalším podstatným vlivem negativně působícím na populace *C. carassius* u nás je odvodnění krajiny, které probíhá dlouhodobě. Již v 19. století byl vydán Meliorační zákon za účelem ochrany půdy před negativními dopady povodní. Zabránit jim mělo zpevnění koryt vodních toků. Zároveň již v té samé době započalo zavádění podzemních odvodňovacích systémů tvz. kamenných trativodů a zároveň trubkové drenáže pro odvodnění zemědělsky využívaných pozemků. Velkou ránu malým vodním rezervoárům v krajině uštědřilo velkoplošné hospodaření minulého režimu v druhé polovině 20. století v rámci, něhož byly odstraňovány přirozené fragmenty v krajině (Blažek, 2006; Lusk & Lusková, 2008; Vašků 2011). To vedlo ke ztrátě mokřadů a drobných tůní, které jsou prioritními habitaty *C. carassius*. Vedle citované literatury vycházím i z výpovědi pracovníka správy CHKO České středohoří Ing. Zdeňka Jandy.

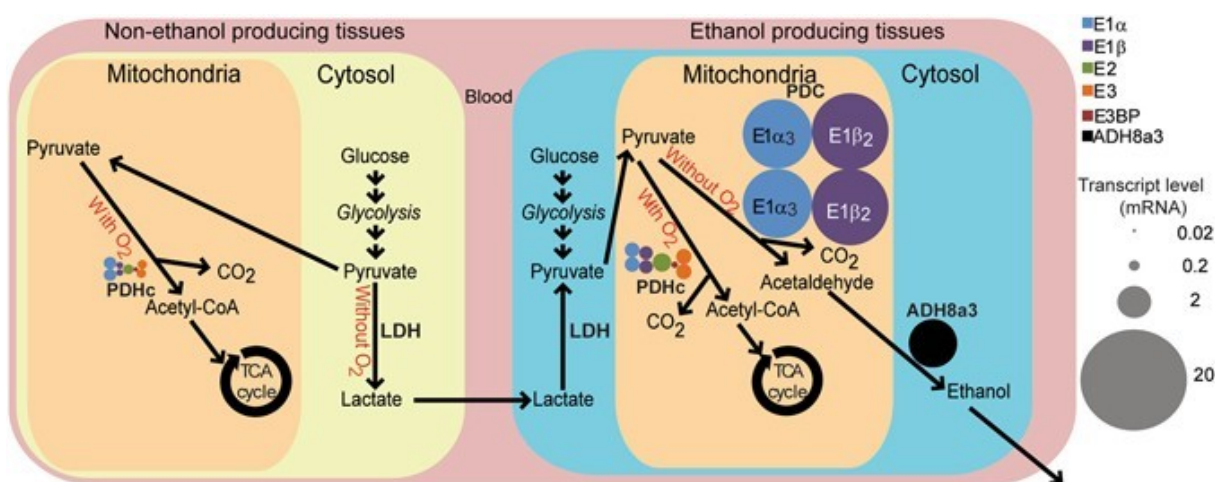
Carassius carassius je tak odkázán na otevřené vody, kde hlavní vliv mají mezidruhové interakce a nikoli prostředí, jako tomu je v malých nádržích. (Brönmark et al.; 1995) To je důvod, proč při ztrátě takových stanovišť počty *C. carassius* klesají. Hlavní výhoda *C. carassius*, kterou je vysoká odolnost vůči abiotickým stresovým faktorům zde odpadá. Naopak při kompetici o potravu obtížně soupeří s rychleji rostoucími kapry (Dyk, 1956; Piironen & Holopainen, 1988). Zároveň jsou vystaveni vyššímu predančnímu tlaku, na který jsou náchylnější než většina ostatních omnivorních a herbivorních ryb (Brönmark et al., 1995).

5.3 Znečištění a nebezpečné látky

Na rozdíl od jiných ryb zvládají karasi velmi dobře pobyt ve vodě s malým obsahem kyslíku. Vyvinuly se u něj totiž specifické mechanismy, díky kterým je schopen dlouhodobě přežívat v anoxickém prostředí (Holopainen & Hyvärinen, 1985; Sun et al., 2012). Starší literární záznamy předpokládaly, že karas překonává anoxické podmínky malých nádržích v zimě zahrabaný do bahna, kde hibernuje, a takto přečká nepříznivé období. Sledování karasů v laboratorních podmínkách ale ukázalo, že ačkoli ryby vykazovaly sníženou aktivitu a nepřijímaly potravu, byly schopné v případě nebezpečí (které představovaly pokusy o odchyt do sítě) reagovat. Zdrojem energie jsou karasům bohaté zásoby glykogenu, naopak podíl tuku na celkové váze dosahuje jen přibližně 2 %. V anoxickém prostředí pak *C. carassius* využívá k zisku energie jednak glykolýzu a zároveň laktát - produkt mléčného kvašení (Holopainen &

Hyvärinen, 1985; Holopainen et al., 1997b). Důkazem je několik prací, které ukázaly nepoměrně malé množství laktátu vůči spotřebovanému glykogenu (Shoubridge & Hochachka, 1980; Johnston & Bernard, 1983; Holopainen & Hyvärinen, 1985).

Mechanismu takové tvorby energie se věnovali Fagernes et al. (2017). Na obr. 6 je předpokládaný model energetického metabolismu, který dokumentuje dichotomii procesů s přítomností kyslíku a bez něj. Vedle standardního postupu je při nedostatku kyslíku aktivována dráha s pyruvát dekarboxylázou (PDC) a pyruvát je přeměněn na acetaldehyd a následně ethanol (Fagernes et al., 2017).



Obr. 6: Zjednodušený model metabolických drah převzatý z (Fagernes et al., 2017). Zkratky: LDH = laktát dehydrogenáza, PDHc = pyruvát dehydrogenáza komplex, PDC pyruvát dekarboxyláza (E1x jsou její paralogy), ADH8a3 = alkohol dehydrogenasa.

Někteří autoři, např. Lusk & Lusková (2008) uvádí obecný faktor jmenovitě „znečištění malých nádrží“ jakož ten, který devastuje populace *C. carassius* v Česku, avšak bez podrobnějšího vysvětlení, jak na karase toto znečištění působí. Konkrétně dokumentovaný je například vliv deltametrinu na nervovou a svalovou soustavu (nejen) *C. carassius* (Haverinen & Vornanen 2016). Tento pesticid patří mezi skupinu pyretroidů, které se používají především k ošetření kukuřice a bavlny (U. S. Environmental Protection Agency, 2022). Deltametrin upravuje činnost sodných kanálků, které hrají důležitou roli při šíření akčního potenciálu a odpovědi srdečních svalových buněk. Nakolik intoxikace nezpůsobuje změny pozorovatelné na vnějším projevu jedince, od koncentrace 0,1 uM prokazatelně způsobuje změny v srdečním rytmu a působí tak jako stresový faktor (Haverinen & Vornanen,

2016). Negativní dopady na rybí obsádku dokumentované i u *C. carassius* měl například endosulfan. Ten vykazoval genotoxické a mutagenní účinky (Dar et al., 2014a; Dar et al., 2014b; Dar et al., 2015) a výrobky s jeho obsahem byly roku 2011 zakázány Evropskou komisí (esipa.cz, 2022). Rovněž jsou monitorovány neblahé účinky syntetických estrogenů nebo podobných látek (např. nonylfenol), které se dostávají do vod v důsledku užívání ženské antikoncepce (Kidd et al., 2007; Hallgren, 2013; Wedekind, 2014). Jako příklad uvedu níže citovanou studii z roku 2007, kde ryby vystavené zmiňovaným látkám vykazovaly narušený vývoj gonád a také rozdílné hmotnostní poměry pohlavních orgánů. Varlata všech monitorovaných samců vykazovala malformace, velmi rozvinutou fibrózu a zároveň nahrazení spermatocytů spermatogonií a někteří jedinci měli vyvinutý primární oocyt (Kidd et al., 2007).

5.3 Dopady introdukce nepůvodních druhů na druh původní

Výrazným tématem v problematice klesajících počtů *C. carassius* nejen ve vodách Česka je introdukce nepůvodních, současně příbuzných taxonů *C. auratus* a *C. gibelio* (Lusk & Lusková, 2008; Lusková et al., 2010; Rylková & Kalous, 2013b). Oba nepůvodní druhy vykazují obdobnou schopnost odolávat nepříznivým podmínkám prostředí jako *C. carassius* (Lusková et al., 2010; Dar et al., 2015), a jsou tedy schopny úspěšně obsazovat stejná stanoviště.

5.3.1 Vliv *Carassius gibelio* na původní druh

Při diskusi vlivu *C. gibelio* na naše ryby je třeba si nejdříve objasnit pojem gynogeneze, který jsem zmínil v textu výše. Jedná se o způsob klonálního rozmnožování, při kterém samice produkuje neredukovaná nerekombinovaná vajíčka a k aktivaci do další ontogenetické fáze využívá většinou spermie příbuzných druhů (Tcherfas, 1971). Samice využívají pohlavních buněk i samců vlastního druhu, ti jsou však zastoupeni v populaci pouze jednotkami procent (Hänfling et al., 2005; Papoušek et al., 2008b; Wouters et al. 2012). Práce Gui & Zhou (2010) ukázala, že v případě styku vajíčka triploidní samice *C. gibelio* se spermií samce *C. gibelio* může samčí pohlavní buňka přispět vlastní DNA do genofondu potomka.

Reprodukční variabilitu, možnost střídání mezi gonochoristickým a gynogenetickým způsobem rozmnožování, potvrzují i další práce (Zhou et al., 2000; Kalous et al., 2006; Flajšhans et al., 2007), kdy rozhodujícím faktorem je právě druhová a ploidní specifita samce. Následkem je různorodá struktura populací z hlediska ploidie. Zatímco studie od Gui & Zhou (2010) pracuje s triploidními samci, Hänfling et al. (2005). Práce Liaska et al. (2010) uvádí různorodé složení populací v závislosti na stanovišti. Reprodukční variabilita a vysoká

odolnost jsou klíčové výhody, díky kterým se *C. gibelio* rozšířil do stojatých a mírně tekoucích vod téměř po celé Evropě (Hänfling et al., 2005; Lusková et al., 2010, Wouters et al., 2012) a vytlačuje původní *C. carassius*, viz dále.

5.3.1.1 Kompetice

Důsledkem introdukce jakéhokoli druhu, úspěšného na novém stanovišti je kompetice o potravní zdroje. *Carassius gibelio*, který je díky rychlému množení za pomoci gynogeneze v této soutěži velmi efektivní, tak ovlivnil nejen *C. carassius*, ale i další ryby, jako lina obecného (*Tinca tinca*) a slunka obecnou (*Leucaspis delineatus*). Stanoviště, kde se invazní *C. gibelio* objevil tak zaznamenala snížené stavy populací, či dokonce vymizení původních druhů (Halačka et al., 2003). Monitorované jsou negativní dopady na produkci *C. carpio* v českých rybničních soustavách (Lusková et al., 2002), nebo *T. tinca* v povodí Dyje (Lusk et al. 1998).

5.3.1.2 Sexuální parazitismus

Dalším důsledkem gynogeneze je vyčerpání reprodukčního potenciálu ostatních kaprovitých ryb. Vzhledem k malému počtu samců v populacích *C. gibelio* jsou samice odkázány na tření ostatních druhů kaprovitých ryb. Díky asynchronnímu dozrávání gonád jsou připraveny k páření v podstatě kdykoli, a tak v případě výskytu *C. gibelio* na lokalitě je jen malá šance, že se podaří ostatním druhům při páření těmito sexuálním parazitům vyhnout. Parazitující druhy (*C. gibelio*) při tomto aktu využívají pohlavní buňky samců hostitelského druhu a snižují tak dostupnost spermií pro samičky hostitelského druhu (Halačka et al., 2003; Lusková et al., 2010). Kaprovité ryby se neorganizovaně páří v hejnech, jsou tak pro sexuální parazitismus snadným terčem. (Baruš & Oliva, 1995; Hanel & Lusk, 2015) Mezi druhy, které jsou schopny aktivovat neredukovaná vajíčka *C. gibelio* patří: *C. carassius*, *C. carpio*, plotice obecná (*Rutilus rutilus*), cejn velký (*Abramis brama*), cejnek malý (*Abramis bjoerkna*), jelec jesen (*Leuciscinus idus*), nebo *T. tinca* (Halačka et al., 2003; Lusková et al., 2010).

5.3.1.3 Hybridizace

Hybridizace mezi *C. carassius* a *C. gibelio* je zmiňována jako jeden z faktorů ohrožujících *C. carassius* (Lusk et al., 2015b). Data z Finska ukazují na výskyt polyploidních kříženců *C. carassius* a *C. gibelio*, mající kriptický morfologický vzhled jako *C. carassius* (Knytl et al., 2018). Molekulárně jsou doloženy nálezy hybridů *C. carassius* a *C. gibelio* z Česka, z Dyje (Papoušek et al., 2008b). V této práci se autoři rovněž zaměřili na hodnocení vzhledu hybridů, přičemž ti měli prvky obou rodičovských druhů: zbarvení jako *C. gibelio*, hřbetní ploutev vpředu konvexní vzadu konkávní, zbarvení peritonea proměnlivé; pro statistické rozlišení se

ukázal efektivní počet žaberních tyčinek. Ojedinělé nálezy hybridů *C. carassius* s *C. gibelio* pocházejí i z Ukrajiny (Mezhzherin et al., 2012). Podle zbarvení peritonea byli determinováni jako hybridní jedinci z Kazachstánu (Goryunova & Skakun, 2002).

Nový pohled na genetické markery použité v práci Hänflinga et al. (2005) přinesly analýzy populací ve švédských jezerech (Wouters et al., 2012), které ukázaly, že alela diagnostického mikrosatelitního lokusu (lokus GF 17 alela o velikosti 182 bp), kterou Hänfling et al. (2005) přisoudili *C. carassius* se v rámci jezer Švédska vyskytovalo i u *C. gibelio*. Totéž zjištění platí pro nálezy z Česka, Polska a Estonska. Přítomnost této alely v genotypu severo-východních populací *C. gibelio* tak může být důsledek introgrese, nebo je její distribuce u tohoto taxonu prostorově specifická. Druhý analyzovaný mikrosatelitový lokus u většiny jedinců vykazoval přítomnost alel obou druhů karasů. Populace *C. gibelio* ve zkoumaných jezerech se tak pravděpodobně skládala z větší části z hybridů a menší podíl tvořili potomci zplození gynogenezí. Vzhledem k nízkému zastoupení samců *C. gibelio* (1 – 10 %) zde hrozí vyčerpávání reprodukčního potenciálu samců *C. carassius* (Wouters et al. 2012).

Většina nalezených hybridů v rámci všech citovaných prací byla F1 generace a ke zpětnému křížení docházelo v ojedinělých případech. Vzhledem k nízkému počtu či absenci samců v populacích *C. gibelio* se dá očekávat, že většina hybridů bude mít mateřský genom od *C. gibelio* a otcovský od *C. carassius*, což je i doloženo (Papušek, 2008b, Knytl et al., 2013; Knytl et al., 2018). Hybridizace je zde evidentně provázána se sexuálním parasitismem. Zároveň je možné, že hybridní linie jsou přechodovým stádiem obměny populace *C. carassius* za *C. gibelio*, jak dokumentuje Rylková et al. (2013b).

5.3.1.2 Zavlečení parazitů a nemocí

Klasickým problémem spojeným s introdukovanými druhy je zavlečení nemocí, či parazitů, kterým se nejsou schopny původní ryby bránit (Hickley & Chare, 2004). U *C. gibelio* byli identifikováni například žábrolísti (Monogenea) *Gyrodactylus shulmani* a *G. Sprostonae*, mající svůj původ ve sladkých vodách Číny (Holčík & Žítan, 1978). Dalšími žábrolísty objevenými v rámci monitoringu Ondráčkové et al. (2004) byli *Dactylus dulkeiti* a *Dactylogyrus inexpectatus*, kteří vykazovali shodný areál rozšíření spolu s *C. gibelio*. Firlová (2013), která toto téma zpracovávala ve své bakalářské práci, zmiňuje ještě *Pseudocapillaria tementosa* a *Schulmanella petruschewskii* z hlístů (Nematoda), pijavici *Piscicola geomtra*, motolici (Trematoda) *Posthodiplostomum cuticola*, či tasemnici *Negryporhynchus cheilancristotus*. Podle Salgada-Maldolanda & Pinedy-Lopéze (2003) byla spolu s *C. gibelio*

zavlečena do Evropy tasemnice *Bothriocephalus achelognathi* z povodí řeky Amur, která při vysokém stupni promořenosti může způsobit vážná poškození na plůdku a malých rybách.

Skutečný vliv parazitů na populace *C. carassius* je dosud neznámý. Souhrnná práce na Kuchty et al. 2020, se zaměřila na šíření a nikoli dopady přítomnosti nových parazitů, ko-introdukovaných společně s kaprovitými rybami (*C. carpio*, *C. auratus*, *C. gibelio*) na území Evropy.

5.3.2 Vliv *Carassius auratus* na druh původní

Ačkoli informace o gynogenezi u *C. auratus* je známa (Hakoyama et al., 2001; Paschos et al., 2001), většina prací reflektuje tuto schopnost zejména u *C. gibelio*. Nejsem proto schopen plně posoudit roli tohoto fenoménu při mezidruhových vztazích *C. carassius* a *C. auratus*.

V práci Hänfling et al. (2005) je dokumentován stav populací *C. carassius* ve vybraných rybnících Anglie. Výsledky ukázaly, že 38 % morfologicky determinovaných *C. carassius* jsou ve skutečnosti hybridy. Nejčastěji s *C. auratus* a potom s *C. carpio*. Jedinci, kteří byli na základě vzhledu označeni za *C. gibelio*, se nakonec díky analýze mikrosatelitů ukázali jako kříženci *C. carassius* a *C. auratus*. Podobně jako u monitorovaných případů s *C. gibelio* i zde se jednalo primárně o F1 generaci, avšak identifikovány byly i ojedinělé případy zpětného křížení. Experimenty, které učinil Smartt (2007) v laboratoři za cílem vytvořit F2 generaci hybridů, byly neúspěšné.

Ačkoli frekvence zpětného křížení je velmi nízká, a tudíž pravděpodobně nehrozí přemnožení hybridních jedinců, zmíněná studie (Hänfling et al., 2005) dokumentuje ústup či úplné vymizení *C. carassius* na lokalitách, kde byli hybridy přítomni. To podporuje hypotézu, že kříženci mají destruktivní vliv na původní druh. Příkladem bylo sledování konkrétního stanoviště agenturou U. K. Environment Agency, kde se skladba úlovků meziročně proměnila z majoritního zastoupení čistých druhů - v roce 2001 v počtu 14 *C. carassius*, 14 *C. auratus*, na většinové zastoupení hybridů v úlovku v roce 2002 s počty 45 hybridů a 47 *C. auratus*. Zpětné křížení navíc může i při nízké úrovni vést k introgresi (Arnold, 1997). Míra zpětného křížení může být prostorově variabilní, a tedy fitness hybridů bude pravděpodobně rozdílné v závislosti na místních podmínkách. Situace, kdy bude zdatnost hybridů shodná, či vyšší než rodičovská, může mít vážné evoluční dopady (Barton, 2001). Dokladem mohou být simulační studie, které prokázaly, že následkem introgrese mohou zaniknout rodičovské linie i přes silnou negativní selekci F1, pokud další generace mají i mírnou selektivní výhodu (Epifanio & Philipp, 2000a; Epifanio & Nielsen, 2000b).

6. Diskuse

Ačkoli je v souvislosti s úbytkem *C. carassius* dnes hlavně skloňován *C. gibelio*, oslabení populací původního druhu bylo sledováno již v první polovině 20. století. Tedy, ještě před prvními doloženými nálezy tohoto invazního druhu na našem území i na území Evropy. Tlak rybářů a ztráta stanovišť v důsledku úpravy krajiny byly pravděpodobně spouštějícími faktory, které citelně narušily stavy *C. carassius* u nás. *Carassius gibelio* se tak dostal již do kontaktu již s oslabenými populacemi nativního druhu. Vzhledem ke kolonizačním schopnostem *C. gibelio*, který vedle vysoké odolnosti vůči abiotickým podmínkám disponuje i vysokým reprodukčním potenciálem díky gynogenetickým triploidním samičkám, byly důsledky jeho zavlečení do vodních systémů Evropy a Česka o to drastičtější. Asi nejpatrnějším vlivem *C. gibelio* je kompetice o potravu s původními druhy, což vedlo na konkrétních stanovištích k dokumentovaným poklesům stavů vedle *C. carassius* i *T. tinca*, nebo *C. carpio*. Otázkou zůstává role hybridizace. Rozdílné výsledky u konkrétních markerů mezi pracemi Hänfling et al. (2005) a Wouters et al. (2012) ukazují, že bude potřeba věnovat pozornost specifičnosti zvolených diagnostických úseků DNA a podpořit je analýzou i dalších oblastí genomu. Komplikované je rovněž vyhodnotit riziko narušení genetické integrity čistých populací, neboť navzdory nízké míře zpětného křížení bylo v některých případech zaznamenáno, a znamená tak reálnou genetického znečištění genomů čistých populací *C. carassius*. Otázky rovněž vzbuzuje zjištění, že gynogeneze je rovněž schopen *C. langsdorfii*, přitom v rámci ochranářských diskuzí jeho vliv na původní taxon není komentován. Důvodem je nedostatek dat, neboť první zjištění přítomnosti druhu na území Česka pochází teprve z roku 2007. Neprobádaným fenoménem se jeví vliv parazitů na populace *C. carassius*, přitom na tělech nepůvodních příbuzných (*C. carpio*, *C. auratus*, *C. gibelio*) jich do Evropy přicestovala celá řada. Význam parazitů je tak prozatím hlavně biogeografický, neboť přítomnost čínských žábrolístů dokumentuje mimoevropský původ některých populací *C. gibelio*.

Taxonomi rodu *Carassius* bude, potřeba ještě podpořit dalšími daty včetně jaderné DNA. Poměrně robustně za použití jaderné i mitochondriální DNA je podpořena hypotéza dvou izolovaných linií *C. carassius* (Jeffries et al., 2016), na což by při následných ochranných a případných reintrodukčních zásazích měl být brán zřetel. Aktuální informace o rozšíření *C. carassius* jsou do značné míry kusé, což dokazuje i snaha zapojení veřejnosti do úvodního vytyčení míst s pravděpodobným výskytem tohoto ohroženého druhu. Pro definitivní zhodnocení kvality jednotlivých populací potřeba využít molekulárně-genetických

analýz. Nutno je definovat nové primery, které budou schopny od sebe jednotlivé druhy karasů spolehlivě odlišit a zároveň bude jejich využívání ekonomicky přívětivé. Navíc, jak ukázala práce Kalouse et al. (2012), k novým zjištěním může vést i revize již shromážděných dat.

Zajímavou alternativou ke standardním postupům využívajícím analýzu vzorků z tkání ryb ulovených pomocí vrší či elektrického agregátu by mohlo být využití eDNA. Metoda umožňuje ověřovat mnohem více lokalit, neboť na místo strážení vrší či aktivního lovu agregátem stačí z místa jen odebrat vzorek vody (Roy et al., 2018; Harper et al., 2019).

V rámci vědecké obce v Česku je problematika kritického stavu taxonu *C. carassius* dlouhodobě reflektována v člancích manželů Luskových, Lukáše Kalouse a Kateřiny Rylkové. Právě jejich práce společně s články Daniela Jeffriese a jsou základními podklady této rešerše. Mojí snahou tak nebylo přinést originální pohled na věc, ale sumarizovat dostupnou literaturu v souhrnný přehled aktuálního stavu poznání a informace vzájemně propojit.

7. Závěr

V bakalářské práci jsem shrnul informace z dostupné literatury o taxonomii a biogeografii rodu *Carassius* na našem území se zvláštním zaměřením na *C. carassius*. Dále jsem zpracoval přehled o faktorech, které tento taxon uvedly do stavu kriticky ohroženého druhu, dle recentního seznamu ohrožených druhů České republiky, a uvedl výčet molekulárně-genetických metod, které se v ichthyologickém výzkumu i tohoto rodu používají. Kromě přínosu samotnému autorovi pro získání hlubšího vhledu do problematiky pro následnou diplomovou práci s obdobnou tematikou věřím, že si práce najde čtenáře zabývající se o ohrožení naší ichthyofauny. Případně ty, které tato práce třeba i souhrnem poskytnutých poznatků namotivuje mizejícímu druhu lokálně pomoci.

8. Citovaná literatura a zdroje obrázků

Agentura ochrany přírody a krajiny [online]: *Carassius carassius* (Linnaeus, 1758) - karas obecný. Nálezořá databáze ochrany přírody. Citováno dne 16. 4. 2022, dostupné z: https://portal.nature.cz/publik_syst/nd_nalez-public.php?idTaxon=34984

- Arnold, M. L. (1997). Natural hybridization and evolution. Oxford University Press, 232 pp
- Andersson, J., Johansson, F., & Söderlund, T. (2006). Interactions between predator-and diet-induced phenotypic changes in body shape of crucian carp. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1585), 431-437.
- Balon, E. K. (2004). About the oldest domesticates among fishes. *Journal of Fish Biology*, 65, 1-27.
- Bănărescu, P. (Ed.). (1986). *The freshwater fishes of Europe* (Vol. 5, No. 1). Aula-Verlag.
- Bănărescu, P. M., Paepke H. J. (2002). *The freshwater fishes of Europe*. Cyprinidae 2, Part III: Carassius to Cyprinus. Aula, Wiesbaden, 305 pp.
- Barton, N. H. (2001). The role of hybridization in evolution. *Molecular Ecology*, 10(3), 551-568.
- Baruš V., Oliva O., (1995). *Mihulovci (Petromyzontes) a ryby (Osteichthyes) 1 a 2*, Academia, 623 pp.
- Biomarker technologies [online]: Illumina sequencing platform. Citováno dne 16. 4. 2022, dostupné z <http://en.biomarker.com.cn/platforms/illumina>.
- Blažek, V., Hladný, J., & Němec, J. (Eds.). (2006). Voda v České republice. Consult, 256 pp.
- Bloch, M. (1782). *Oeconomische Naturgeschichte der Fische Deutschlands*. Erster Theil. Oekonomische Naturgeschichte der Fische vorzüglich derer in den Preussischen Staaten. Berlin, 258 pp.
- Brönmark, C., Paszkowski, C. A., Tonn, W. M., & Hargeby, A. (1995). Predation as a determinant of size structure in populations of crucian carp (*Carassius carassius*) and tench (*Tinea tinea*). *Ecology of Freshwater Fish*, 4(2), 85-92.
- Copp., G. H., Černý, J., & Kováč, V. (2008). Growth and morphology of an endangered native freshwater fish, crucian carp *Carassius carassius*, in an English ornamental pond. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 18(1), 32-43.

- Copp., G. H., Warrington, S., & Wesley, K. J. (2007). Management of an ornamental pond as a conservation site for a threatened native fish species, crucian carp *Carassius carassius*. In *Pond Conservation in Europe*. Springer, Dordrecht, 149-155.
- Česká televize [online]: Vědci chtějí zachránit karase v Česku. Bez pomoci veřejnosti to nepůjde, citováno 16. 4. 2022, dostupné z: <https://ct24.ceskatelevize.cz/veda/3355458-vedci-chteji-zachranit-karase-v-cesku-bez-pomoci-verejnosti-nepujde>
- Dar, S. A., Yousuf, A. R., Balkhi, M. U. H., & Ali, M. N. (2014a). Oxidative stress in the freshwater cyprinid crucian carp (*Carassius carassius* L.) upon chronic exposure to endosulfan. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 96(6), 906-916.
- Dar, S. A., Yousuf, A. R., Balkhi, M. U. H., Ganai, F. A., & Bhat, F. A. (2014b). Investigation of the genotoxicity of endosulfan to freshwater cyprinid fish crucian carp (*Carassius carassius* L.) using the micronucleus and chromosomal aberration as biomarkers. *The Nucleus*, 57(2), 87-98.
- Dar, S. A., Yousuf, A. R., Ganai, F. A., & Bhat, F. A. (2015). Assessment of endosulfan induced genotoxicity and mutagenicity manifested by oxidative stress pathways in freshwater cyprinid fish crucian carp (*Carassius carassius* L.). *Chemosphere*, 120, 273-283.
- Davey, J. W., & Blaxter, M. L. (2010). RADSeq: next-generation population genetics. *Briefings in Functional Genomics*, 9(5-6), 416-423.
- Dejean, T., Valentini, A., Duparc, A., Pellier-Cuit, S., Pompanon, F., Taberlet, P., & Miaud, C. (2011). Persistence of environmental DNA in freshwater ecosystems. *PloS One*, 6(8), e23398.
- Díaz-Ferguson, E. E., & Moyer, G. R. (2014). History, applications, methodological issues and perspectives for the use environmental DNA (eDNA) in marine and freshwater environments. *Revista de Biología Tropical*, 62(4), 1273-1284.
- Docherty, C., Ruppert, J., Rudolfson, T., Hamann, A., & Poesch, M. S. (2017). Assessing the spread and potential impact of Prussian Carp *Carassius gibelio* (Bloch, 1782) to freshwater fishes in western North America. *BioInvasions Record*, 6(3).

- Dyk, V. (1956). Karas obecný. *Naše ryby*. Československá akademie zemědělských věd ve Státním zemědělském nakladatelství, Praha, 386 pp.
- Elgin, E. L., Tunna, H. R., & Jackson, L. J. (2014). First confirmed records of Prussian carp, *Carassius gibelio* (Bloch, 1782) in open waters of North America. *BioInvasions Record*, 3(4).
- Elvira, B. (2001). Identification of non-native freshwater fishes established in Europe and assessment of their potential threat to the biological diversity. *Council of Europe: twenty-first meeting of the Bern Convention Standing Committee*, Strasbourg, France, 26–30 November 2001: document T-PVS (2001) 6, dated 11 December 2000.
- Ely, C. V., de Loreto Bordinon, S. A., Trevisan, R., & Boldrini, I. I. (2017). Implications of poor taxonomy in conservation. *Journal for Nature Conservation*, 36, 10-13.
- Epifanio, J., & Philipp, D. (2000a). Simulating the extinction of parental lineages from introgressive hybridization: the effects of fitness, initial proportions of parental taxa, and mate choice. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 10(3), 339-354.
- Epifanio, J., & Nielsen, J. (2000b). The role of hybridization in the distribution, conservation and management of aquatic species. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 10(3), 245-251.
- Esposti, M. D., De Vries, S., Crimi, M., Ghelli, A., Patarnello, T. & Meyer, A. (1993). Mitochondrial cytochrome b evolution and structure of the protein. *Biochemica et Biophysica Acta* 1143, 243-271.
- esipa.cz[online]: Směrnice komise 2000/42/ES ze dne 22. června 2000, kterou se mění přílohy směrnic Rady 86/362/EHS, 86/363/EHS a 90/642/EHS o stanovení maximálních limitů reziduí pesticidů v obilovinách, v potravinách živočišného původu a v některých produktech rostlinného původu, včetně ovoce a zeleniny, a na jejich povrchu. citováno dne 16. 4. 2022, dostupné z: <https://esipa.cz/sbirka/sbsrv.dll/sb?DR=SB&CP=32000L0042>

- European Environment Agency [online]: Crucian – *Carassius carassius* (Linnaeus, 1758).
Citováno dne 16. 4. 2022, dostupné z: <https://eunis.eea.europa.eu/species/Carassius%20carassius>
- Fagernes, C. E., Stensløkken, K. O., Røhr, Å. K., Berenbrink, M., Ellefsen, S., & Nilsson, G. E. (2017). Extreme anoxia tolerance in crucian carp and goldfish through neofunctionalization of duplicated genes creating a new ethanol-producing pyruvate decarboxylase pathway. *Scientific Reports*, 7(1), 1-11.
- FAO. 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome. Dostupné z: <https://doi.org/10.4060/ca9229en>
- Farias, I. P., Ortí, G., Sampaio, I., Schneider, H. & Meyer, A. (2001). The cytochrome b gene as a phylogenetic marker: The limits for analyzing relationships among cichlid fishes. *Journal of Molecular Evolution* 53, 89-103
- Fishbase.se [online]: *Carassius carassius* (Linnaeus, 1758) Crucian carp. Cizováno 16. 4. 2022, dostupné z <https://www.fishbase.se/summary/Carassius-carassius>
- Flajšhans, M., Rodina, M., Halačka, K., Vetešník, L., Papoušek, I., Gela, D., ... & Lusk, S. (2007). Ploidy levels and reproductive patterns of *Carassius auratus gibelio* as revealed by means of artificial hybridization and flow cytometry. *Aquaculture*, (272), S256.
- Firlová, V. (2013). Karas stříbřitý (*Carassius gibelio*) a jeho vliv na ekosystémy stojatých vod v nepůvodním areálu. Bakalářská práce, Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta
- Frič, A. (1872). *Ryby země české*. Archiv přírodovědecký k prozkoumání Čech, 2(4), 107-129.
- Goryunova, A. I., & Skakun, D. (2002). Biological characterization on crucian carps. *Tethys Aqua Zoological Research*, 1, 33-48 .
- Gui, J., & Zhou, L. (2010). Genetic basis and breeding application of clonal diversity and dual reproduction modes in polyploid *Carassius auratus gibelio*. *Science China Life Sciences*, 53(4), 409-415.

- Hakoyama, H., Nishimura, T., Matsubara, N., & IGUCHI, K. I. (2001). Difference in parasite load and nonspecific immune reaction between sexual and gynogenetic forms of *Carassius auratus*. *Biological Journal of the Linnean Society*, 72(3), 401-407.
- Halačka, K., Lusková, V., & Lusk, S. (2003). *Carassius" gibelio"* in fish communities of the Czech Republic. *Ecohydrol Hydrobiol*, 3(1), 133-138.
- Hanel L., Lusk S. (2005): Ryby a mihule České republiky – Rozšíření a ochrana. Český svaz ochránců přírody Vlašim
- Harper, L. R., Griffiths, N. P., Handley, L. L., Sayer, C. D., Read, D. S., Harper, K. J., ... & Hänfling, B. (2018). Development of environmental DNA surveillance for the threatened crucian carp (*Carassius carassius*). *BioRxiv*, 344317.
- Harper, L. R., Griffiths, N. P., Lawson Handley, L., Sayer, C. D., Read, D. S., Harper, K. J., ... & Hänfling, B. (2019). Development and application of environmental DNA surveillance for the threatened crucian carp (*Carassius carassius*). *Freshwater Biology*, 64(1), 93-107.
- Hänfling, B. (2007). Understanding the establishment success of non-indigenous fishes: Lessons from population genetics. *Journal of Fish Biology*, 71, 115-135.
- Hänfling, B., Bolton, P., Harley, M., & Carvalho, G. R. (2005). A molecular approach to detect hybridisation between crucian carp (*Carassius carassius*) and non-indigenous carp species (*Carassius spp.* and *Cyprinus carpio*). *Freshwater Biology*, 50(3), 403-417.
- Hänfling, B., Bolton, P., Harley, M., & Carvalho, G. R. (2005). A molecular approach to detect hybridisation between crucian carp (*Carassius carassius*) and non-indigenous carp species (*Carassius spp.* and *Cyprinus carpio*). *Freshwater Biology*, 50(3), 403-417.
- Harper, L. R., Griffiths, N. P., Lawson Handley, L., Sayer, C. D., Read, D. S., Harper, K. J., ... & Hänfling, B. (2019). Development and application of environmental DNA surveillance for the threatened crucian carp (*Carassius carassius*). *Freshwater Biology*, 64(1), 93-107.

- Haverinen, J., & Vornanen, M. (2016). Deltamethrin is toxic to the fish (crucian carp, *Carassius carassius*) heart. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 129, 36-42.
- Hickley & Chare, P., & Chare, S. (2004). Fisheries for non-native species in England and Wales: angling or the environment? *Fisheries Management and Ecology*, 11(3-4), 203-212.
- Holčík, J., Žitman, R. (1978). On the expansion and origin of *Carassius auratus gibelio* in Czechoslovakia. *Folia Zoologica*, 7, 239-250.
- Holopainen, I. J., Aho, J., Vornanen, M., & Huuskonen, H. (1997a). Phenotypic plasticity and predator effects on morphology and physiology of crucian carp in nature and in the laboratory. *Journal of Fish Biology*, 50(4), 781-798.
- Holopainen, I. J., Tonn, W. M., & Paszkowski, C. A. (1991). Ecological responses of crucian carp populations to predation by perch in a manipulated pond. *Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Verhandlungen*, 24(4), 2412-2417.
- Holopainen, I. J., Tonn, W. M., & Paszkowski, C. A. (1997b). Tales of two fish: the dichotomous biology of crucian carp (*Carassius carassius* (L.)) in northern Europe. In *Annales Zoologici Fennici* (pp. 1-22). *Finnish Zoological and Botanical Publishing Board*.
- Holopainen, I. J., & Hyvärinen, H. (1985). Ecology and physiology of crucian carp *Carassius carassius* (L.) in small Finnish ponds with anoxic conditions in winter: With 2 figures in the text. *Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Verhandlungen*, 22(4), 2566-2570.
- Hurt, R. (1960). Dějiny rybníkářství na Moravě a ve Slezsku. Krajské nakladatelství Ostrava, 1. díl, 247pp., 2. díl, 374 pp, + rejstřík.
- Chen, D., Zhang, Q., Tang, W., Huang, Z., Wang, G., Wang, Y., ... & Zhang, J. (2020). The evolutionary origin and domestication history of goldfish (*Carassius auratus*). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(47), 29775-29785.

- Irwin, D. M., Kocher, T. D. & Wilson, A. C. (1991). Evolution of the cytochrome b gene of mammals. *Journal of Molecular Evolution* 32, 128-144.
- Jeffries, D. L. (2015). Genetic and genomic approaches to the conservation of the threatened crucian carp *Carassius carassius* (L.): phylogeography, hybridisation and introgression (Doctoral dissertation, University of Hull).
- Jeffries, D. L., Copp et al., G. H., Lawson Handley, L., Olsén, K. H., Sayer, C. D., & Hänfling, B. (2016). Comparing RAD seq and microsatellites to infer complex phylogeographic patterns, an empirical perspective in the Crucian carp, *Carassius carassius*, L. *Molecular Ecology*, 25(13), 2997-3018.
- Jeffries, D. L., Copp et al., G. H., Maes, G. E., Lawson Handley, L., Sayer, C. D., & Hänfling, B. (2017). Genetic evidence challenges the native status of a threatened freshwater fish (*Carassius carassius*) in England. *Ecology and Evolution*, 7(9), 2871-2882.
- Johnston, I. A., Bernard, L. M. (1983). Utilization of the ethanol pathway in carp following exposure to anoxia. *Journal of experimental biology*, 104(1), 73-78.
- Kalous, L. (2011). Diverzita rodu *Carassius* v Evropě: rozšíření, identifikace, taxonomie. Habilitační práce. Katedra zoologie a rybářství. Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů. Česká zemědělská Univerzita
- Kalous, L. (2013). Karas stříbřitý a jeho příbuzní. *Živa*, 6, 285-288.
- Kalous, L., Bohlen, J., Rylková, K., & Petrýl, M. (2012). Hidden diversity within the Prussian carp and designation of a neotype for *Carassius gibelio* (Teleostei: Cyprinidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 23(1), 11.
- Kalous, L., Rylková, K., Bohlen, J., Šanda, R., & Petrýl, M. (2013). New mtDNA data reveal a wide distribution of the Japanese gimbuna *Carassius langsdorfii* in Europe. *Journal of Fish Biology*, 82(2), 703-707.
- Kalous, L., Šlechtová Jr, V., Bohlen, J., Petrýl, M., & Švátora, M. (2007). First European record of *Carassius langsdorfii* from the Elbe basin. *Journal of Fish Biology*, 70, 132-138.

- Kalous, L., Šlechta, V.; Šlechtová V., (2006). Genetická diverzita karase stříbřitého (*Carassius 'gibelio'*, Bloch 1782) na území České republiky. IX. Česká ichtyologická konference. Vodňany
- Kidd, K. A., Blanchfield, P. J., Mills, K. H., Palace, V. P., Evans, R. E., Lazorchak, J. M., & Flick, R. W. (2007). Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(21), 8897-8901.
- Kitt, M. (1905). Die Fisch der March bei Olmütz. I Bericht der Naturwissenschaftlichen Sektion der Verreins „Botanischer Garten in Olmütz“, 1-15.
- Knytl, M., Kalous, L., Rylková, K., Choleva, L., Merilä, J., & Ráb, P. (2018). Morphologically indistinguishable hybrid *Carassius* female with 156 chromosomes: A threat for the threatened crucian carp, *C. carassius*, L. *PLoS One*, 13(1), e0190924.
- Knytl, M., Kalous, L., Symonová, R., Rylková, K., & Ráb, P. (2013). Chromosome studies of European cyprinid fishes: cross-species painting reveals natural allotetraploid origin of a *Carassius* female with 206 chromosomes. *Cytogenetic and Genome Research*, 139(4), 276-283.
- Koščo, J., Holčík, J. (2008). Anotovaný červený zoznam mihúl` a rýb Slovenska – verzia 2007. *Biodiverzia ichtyofauny ČR (III)*, 119-132.
- Kottelat, M. (1997). *European freshwater fishes*. An heuristic checklist of the freshwater fishes of Europe (exclusive of former USSR), with an introduction for non-systematists and comments on nomenclature and conservation. *Biologia* (Bratislava), 52(5), 1-271.
- Kottelat, M., J. Freyhof, 2007. *Handbook of European freshwater fishes*. Publications Kottelat, Cornol and Freyhof, Berlin. 646 pp.
- Kuchta, R., Řehulková, E., Francová, K., Scholz, T., Morand, S., & Šimková, A. (2020). Diversity of monogeneans and tapeworms in cypriniform fishes across two continents. *International Journal for Parasitology*, 50(10-11), 771-786.
- Kumar, A. B. (2000). Exotic fishes and freshwater fish diversity. *Zoos' Print Journal*, 15(11), 363-367.

- Kux, Z. (1957). Příspěvek k poznání ichthyofauny dunajského povodí ČSR. *Časopis Moravského Musea*, 42, 67-84.
- Lelek, A., Libosvářský, J., Lucký, Z. (1959). Ichthyologické poznámky o podyjských tůních. *Zoologické Listy*, 8, 20-30.
- Li, T., Li, J., Hu, W., Zhang, X., Li, X., & Zhao, J. (2012). Shelf-life extension of crucian carp (*Carassius auratus*) using natural preservatives during chilled storage. *Food Chemistry*, 135(1), 140-145.
- Liao, X., Cheng, L., Xu, P., Lu, G., Wachholtz, M., Sun, X., & Chen, S. (2013). Transcriptome analysis of crucian carp (*Carassius auratus*), an important aquaculture and hypoxia-tolerant species. *PloS One*, 8(4), e62308.
- Liasko, R., Liouisia, V., Vrazeli, P., Papiggioti, O., Chortatou, R., Abatzopoulos, T. J., & Leonardos, I. D. (2010). Biological traits of rare males in the population of *Carassius gibelio* (*Actinopterygii: Cyprinidae*) from Lake Pamvotis (north-west Greece). *Journal of Fish Biology*, 77(3), 570-584.
- Libosvářský, J. (1960 – 1961). Populační a taxonomický rozbor karasa obecného *Carassius carassius* (L.) a rozšíření a původ obou druhů rodu *Carassius*. Disertační kandidátská práce, LVO ČSAV Brno, 152
- Lui, H., Tzeng, C.-S. & Teng, H. Y. (2002). Sequence variations in the mitochondrial DNA control region and their implications for the phylogeny of the Cypriniformes. *Canadian Journal of Zoology* 80, 569-581.
- Lusk, S. (1998). *Carassius auratus*-25 years since its natural introduction. In Proceedings of the 3rd Czech Conference of Ichthyology. Vurh Ju Vodnany, Vodnany. 1998.
- Lusk, S., Hanel, L., Lojkásek, B., Lusková, V., Muška, M. (2015a). Červený seznam mihulí a ryb České republiky - ms., verze 2015.
- Lusk, S., Hanel, L., Luskova, V. (2004). Red List of the ichthyofauna of the Czech Republic: Development and present status. *Folia Zoologica*, 53(2), 215-226

- Lusk, S., Lojkásek, B., Hanel, L., Lusková, V., & Hartvich, P. (2015b). The current threat level of fish in river network of individual sea-drainage areas in the Czech Republic. *Acta Musei Silesiae, Scientiae Naturales*, 64(3), 251-261.
- Lusk S., Lusková V. (2008): Karas obecný *Carassius carassius* Linnaeus, 1758 v minulosti obecně rozšířený a v současnosti ohrožený druh v České republice. *Biodiverzita Ichtyofauny České republiky (VII)*. Ústav biologie obratlovců AV ČR, Brno
- Lusk, S., Lusková, V. (2005). Invazivní druhy ryb v podmínkách České republiky. *Sborník referátů z VIII. České ichtyologické konference*, 135-140.
- Lusk, S., Lusková, V., & Halacka, K. (1998). The status of tench (*Tinca tinca* (L.)) in aquatic habitats of the floodplain along the lower reaches of the River Dyje (Czech Republic). *Polskie Archiwum Hydrobiologii/Polish Archives of Hydrobiology*, 45(3), 407-414.
- Lusková, V., Lusk, S., Halačka, K., Vetešník, L. (2010). *Carassius auratus gibelio*—The most successful invasive fish in waters of the Czech Republic. *Russian Journal of Biological Invasions*, 1(3), 176-180.
- Lusková, V., Halačka, K., Vetešník, L., Lusk, S. (2002). Goldfish *Carassius auratus* in fish communities inhabiting the lower reaches of the River Dyje. *Biodiversity of Fishes in the Czech Republic*, 4, 127-132.
- Lusková, V., Halacka, K., Vetešník, L., Lusk, S. (2004). Changes of ploidy and sexuality status of '*Carassius auratus*' populations in the drainage area of the River Dyje [Czech Republic]. *International Journal of Ecohydrology and Hydrobiology*, 4(1), 165-171.
- Mačát, Z. (2010): *Carassius carassius* f. *humilis* Heckel, 1837 - karas obecný [JPEG]. BioLib.cz. dostupné z: <https://www.biolib.cz/cz/image/id119910/>
- McNeely, J. A. (2002). The role of taxonomy in conserving biodiversity. *Journal for Nature Conservation*, 10(3), 145-153.
- Metra, L. (2008). Vzácné druhy mihulí a ryb Olomouckého kraje, rozšíření a ochrana. AOPK ČR – středisko Olomouc, 77 pp.

- Mezhzherin, S. V., Kokodyi, S. V., Kulysh, A. V., Verlat'iĭ, D. B., & Fedorenko, L. V. (2012). Hybridization of crucian carp, *Carassius carassius* (Linnaeus, 1758), in Ukrainian reservoirs and genetic structure of hybrids. *Tsitologĭia i Genetika*, 46(1), 37-46.
- Musilová, Z. (2016). Nová fylogeneze paprskoploutvých ryb. *ŽIVA*, 4(16), 45–47.
- Nilsson, P. A., Brönmark, C., & Pettersson, L. B. (1995). Benefits of a predator-induced morphology in crucian carp. *Oecologia*, 104(3), 291–296.
- Ohara, K., Ariyoshi, T., Sumida, E., & Taniguchi, N. (2003). Clonal diversity in the Japanese silver crucian carp, *Carassius langsdorfii* inferred from genetic markers. *Zoological Science*, 20(6), 797-804.
- Oliva, O. (1955). Složení populací a množství biomasy ryb ve třech polabských tůních. *Acta Universitatis Carolinae*, 1(1), 61–296.
- Oliva, O. (1960). Další příspěvek k poznání složení rybích populací v Polabí. *Věstník České společnosti zoologické*, 24(1), 280-288
- Papoušek, I. (2008a). Molekulárně-genetické analýzy druhů rodu *Carassius* ve Střední Evropě. Disertační práce. Přírodovědecká fakulta. Masarykova Univerzita
- Papoušek, I., Vetešník, L., Halačka, K., Lusková, V., Humpl, M. & Mendel, J. (2008b). Identification of natural hybrids of gibel carp *Carassius auratus gibelio* (Bloch) and crucian carp *Carassius carassius* (L.) from lower Dyje River floodplain (Czech Republic). *Journal of Fish Biology* 72, 1230-1235.
- Paschos, I., Natsis, L., Nathanailides, C., Kagalou, I., & Kolettas, E. (2001). Induction of gynogenesis and androgenesis in goldfish *Carassius auratus* (var. oranda). *Reproduction in Domestic Animals*, 36(3-4), 195-198.
- Paepke, H. J. (1999). Bloch's fish collection in the Museum für Naturkunde der Humboldt-Universität zu Berlin: an illustrated catalog and historical account. Gantner, Ruggell, 216 pp.

- Piironen, J., & Holopainen, I. J. (1988). Length structure and reproductive potential of crucian carp (*Carassius carassius* (L.)) populations in some small forest ponds. *In Annales Zoologici Fennici* (pp. 203-208). Finnish Academy of Sciences, Societas Scientiarum Fennica, Societas pro Fauna et Flora Fennica and Societas Biologica Fennica Vanamo.
- Pilliod, D. S., Goldberg, C. S., Laramie, M. B., Waits L. P. (2013). Application of environmental DNA for inventory and monitoring of aquatic species. Forest and Rangeland Ecosystem Science Center, *U.S. Geological Survey*, 2012-3146
- Prokeš, M., & Baruš, V. (2002). Effects of fragmentation by impoundments and of pollution in the River Haná on species diversity of the fish community. *Biodiversity of Fishes in the Czech Republic*, 4, 141-145.
- Ribeiro, F., Collares-Pereira, M. J., & Moyle, P. B. (2009). Non-native fish in the fresh waters of Portugal, Azores and Madeira Islands: a growing threat to aquatic biodiversity. *Fisheries Management and Ecology*, 16(4), 255-264.
- Rissanen, E., Tranberg, H. K., Sollid, J., Nilsson, G. E., & Nikinmaa, M. (2006). Temperature regulates hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) in a poikilothermic vertebrate, crucian carp (*Carassius carassius*). *Journal of Experimental Biology*, 209(6), 994-1003.
- Roy, M., Belliveau, V., Mandrak, N. E., & Gagné, N. (2018). Development of environmental DNA (eDNA) methods for detecting high-risk freshwater fishes in live trade in Canada. *Biological Invasions*, 20(2), 299-314.
- Rylková, K., & Kalous, L.(2013b). Proměna karasí populace v oblasti přírodní rezervace Kárané – Hrbáčkovy tůně.
- Rylková, K., Kalous, L., Bohlen, J., Lamatsch, D. K., & Petrýl, M. (2013a). Phylogeny and biogeographic history of the cyprinid fish genus *Carassius* (*Teleostei: Cyprinidae*) with focus on natural and anthropogenic arrivals in Europe. *Aquaculture*, 380, 13-20.
- Rylková, K., Kalous, L., Šlechtová, V., & Bohlen, J. (2010). Many branches, one root: first evidence for a monophyly of the morphologically highly diverse goldfish (*Carassius auratus*). *Aquaculture*, 302(1-2), 36-41.

- Uchii, K., Doi, H., & Minamoto, T. (2016). A novel environmental DNA approach to quantify the cryptic invasion of non-native genotypes. *Molecular Ecology Resources*, 16(2), 415-422.
- Salgado-Maldonado, G., & Pineda-López, R. F. (2003). The Asian fish tapeworm *Bothriocephalus acheilognathi*: a potential threat to native freshwater fish species in Mexico. *Biological Invasions*, 5(3), 261-268.
- Shoubridge, E. A., & Hochachka, P. W. (1980). Ethanol: novel end product of vertebrate anaerobic metabolism. *Science*, 209(4453), 308-309.
- Smartt, J. (2007). A possible genetic basis for species replacement: preliminary results of interspecific hybridisation between native crucian carp *Carassius carassius* (L.) and introduced goldfish *Carassius auratus* (L.). *Aquatic Invasions*, 2(1), 59-62.
- Spurný, P., Mareš, J., Fiala, J. (2000). Druhová diverzita ichtyocenózy dolního toku Bečvy. *Biodiverzita ichtyofauny ČR (III)*, 149-154.
- Sun, H., Li, J., Tang, L., & Yang, Z. (2012). Responses of crucian carp *Carassius auratus* to long-term exposure to nitrite and low dissolved oxygen levels. *Biochemical Systematics and Ecology*, 44, 224-232.
- Takada, M., Tachihara, K., Kon, T., Yamamoto, G., Iguchi, K. I., Miya, M., & Nishida, M. (2010). Biogeography and evolution of the *Carassius auratus*-complex in East Asia. *BMC evolutionary biology*, 10(1), 1-18.
- Tcherfas, N., B. (1971). Natural and artificial gynogenesis of fish. Food and Agriculture Organization of the United Nations: Home. Dostupné z: <https://www.fao.org/3/b3310e/b3310e20.htm>,
- Tonn, W. M., Paszkowski, C. A., & Holopainen, I. J. (1991). Selective piscivory by perch: effects of predator size, prey size, and prey species. *Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Verhandlungen*, 24(4), 2406-2411.
- Tonn, W. M., Paszkowski, C. A., & Holopainen, I. J. (1992). Piscivory and recruitment: mechanisms structuring prey populations in small lakes. *Ecology*, 73(3), 951-958.

- U.S. Environmental Protection Agency (EPA) [online]: EPA Addresses Human Health and Ecological Risks Posed by 13 Pyrethroids. citováno dne 16. 4. 2022, dostupné z <https://www.epa.gov/pesticides/epa-addresses-human-health-and-ecological-risks-posed-13-pyrethroids>
- Vašků, Z. (2011). Zlo zvané meliorace. *Vesmír* 90, 440–444
- Vetešník, L., Papoušek, I., Halačka, K., Lusková, V., & Mendel, J. (2007). Morphometric and genetic analysis of *Carassius auratus* complex from an artificial wetland in Morava River floodplain, Czech Republic. *Fisheries Science*, 73(4), 817-822.
- Wedekind, C. (2014). Fish populations surviving estrogen pollution. *BMC biology*, 12(1), 1-3.
- Wheeler, A. C. (2000). Status of the crucian carp, *Carassius carassius* (L.), in the UK. *Fisheries management and ecology*, 7(4), 315-322.
- Wouters, J., Janson, S., Lusková, V., & Olsén, K. H. (2012). Molecular identification of hybrids of the invasive gibel carp *Carassius auratus gibelio* and crucian carp *Carassius carassius* in Swedish waters. *Journal of fish biology*, 80(7), 2595-2604.
- Yamasaki, M., Araki, K., Nakanishi, T., Nakayasu, C., Yoshiura, Y., Iida, T., & Yamamoto, A. (2013). Adaptive immune response to *Edwardsiella tarda* infection in ginbuna crucian carp, *Carassius auratus langsdorfii*. *Veterinary immunology and immunopathology*, 153(1-2), 83-90.
- zakonyprolidi.cz [online]: Zákon č. 100/2004 Sb., citováno 16. 4. 2022, dostupné z <https://citace.zcu.cz/schema-a-priklady/elektronick-zdroje.html>
- Zhou, L., Wang, Y., & Gui, J. F. (2000). Genetic evidence for gonochoristic reproduction in gynogenetic silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio* Bloch) as revealed by RAPD assays. *Journal of Molecular Evolution*, 51(5), 498-506.