

## **NÁMĚT STUDIE (PUBLIKACE)**

### **Název**

**Genetická analýza populací pstruha obecného (*Salmo trutta*) v tocích na území CHKO Brdy**

### **Cíl a účel**

Cílem je zjistit případnou genetickou původnost populace pstruha obecného a při kladném výsledku přistoupit k jeho ochraně.

Studie je navržena v schváleném plánu péče o CHKO Brdy na období 2016-2025. (kap. 2.13. Monitoring a výzkum, kap. 3.4. Rybníkářství a sportovní rybářství)

### **Lokalizace**

Vybrané vodní toky na území CHKO Brdy (toky vybrány na základě studie Fischer D. (2016): Ichtyologický průzkum významných vodních toků v CHKO Brdy, kde je uveden výskyt pstruha potočního)

Mourový potok

Pilský potok

Klabava

Červený potok

Kotelský potok

Ledný potok

Obecnický potok

Pstruhový potok = Ohrazenický p.

Skořický potok

Smolivecký potok

Bradava

Závišínský potok

Mítovský potok

Konkrétní profily pro odběr jedinců budou vybrány zpracovatelem. Horní úseky všech toků mimo Bradava, Mítovský, Závišínský, Smolivecký a Kotelský potok jsou bez rybářského obhospodařování. Tyto potoky jsou rybářské revíry, ale jsou to revíry chovné. Toky na území bývalého vojenského újezdu Brdy nebyly rybářsky obhospodařovány a nejsou rybářskými revíry. Ohledně historie vysazování pstruha nemáme žádné údaje.

### **Předmět díla včetně výstupů**

Pstruh obecný patří k významným původním druhům českých horských a podhorských toků a díky jeho rybářskému využití se často ve snaze o zvýšení jeho úlovku doplňkově vysazoval z líhni do volných vod. Umělé rozmnožování, výtěr a přesuny jiker či plůdku započalo již v 19. stol. Při převozech jiker i plůdku nebyl brán zřetel na geografický původ ryb. Proto je nyní většina populací pstruha v České republice namíchaná z různých populací z odlišných povodí. Na území CHKO Brdy jsou většinou horní úseky potoků a říček, díky historii oblasti, dlouhodobě bez rybářského využití. Ekologický význam původních linií spočívá ve vybraných vlastnostech, jako je migrační, teritoriální a antipredační chování, morfologie těla či věk a

velikost dosažení dospělosti, které obecně umocňují schopnost přežití a reprodukce místních populací ve specifických podmínkách prostředí a je vhodné tyto populace chránit před zavlékáním jinými liniemi. Proto je vhodné zjistit, zda se zde nezachovaly původní „divoké“ populace, které jsou obecně v rámci ČR velmi vzácné.

Cílem studie je nalézt případné původní divoké populace pstruha obecného na území CHKO Brdy, pokud se zde vyskytují, a dle toho zvolit jejich ochranu proti zavlékání jiné linie a nastavit ochranu genetické diverzity druhu.

## Metoda a postup

Odlovení min. 25 jedinců z populací vybraných toků pomocí elektrického agregátu. Jejich změření (délka těla v mm) a odstřížení malé části ocasní ploutve jako vzorku. Uchování vzorku do doby izolace v 96% etanolu. Po odběru vzorku ryby opětovně vypustit.

Metodou sekvenace vybraného úseku mtDNA zjistit haplotypovou diverzitu pro jednotlivé populace a přiřadit je k hlavním mitochondriálním liniím vyskytujícím se v Evropě (Bernatchez 2001).

Pomocí analýzy mikrosatelitů vyhodnotit genetickou skladbu místních populací (základní populační statistiky - variabilita, genetická diferenciace, genetická struktura, PCA analýza, F-statistika).

Pomocí obou metod molekulární biologie vyhodnotit geografickou distribuci jednotlivých skupin haplotypů a výskyt privátních alel vzhledem k povodí a k mísení populací. Potvrdit/vyvrátit mísení linií atlantického a dunajského původu. Vyhodnotit genetickou odlišnost mezi zkoumanými populacemi na základě rozdílných délek a frekvencí alel.

Provést srovnávací biostatistickou analýzu na unikátnost v ČR s využitím databáze genetických profilů napříč ČR.

Zvolit obdobnou metodiku jako v případě studie Genetická struktura populací pstruha obecného (*Salmo trutta*) na vybraných lokalitách v Krkonošském národním parku (Jurajda et al. 2020).

## METODIKA

Čerpáno částečně z článku Opera Corcontica 57, str. 95-106: Pro analýzu genetické struktury vybraných populací bude použita kombinace mikrosatelitových lokusů v designu komerční soupravy STR Multiplex TRUTident11 (UBO DNA servis) a částečné sekvence mitochondriálního genu pro kontrolní oblast (D-loop; 745 bp). Pokud bude možné tak DNA bude vyizolována z min. 325 jedinců 13 populací použitím komerčního izolačního kitu. Informace o použitých mikrosatelitových lokusech, primerových sekvencích, multiplexním designu a PCR protokolu jsou uvedeny v příbalovém letáku komerční soupravy STR Multiplex TRUTident11 (STR001, UBO). Fragmentační analýza bude provedena v kapilárním sekvenátoru (ABI Prism® 3130XL Genetic Analyzer, Applied Biosystems) a délky alel budou analyzovány manuálně v programu GeneMapper® v. 3.7 a Peak Scanner™ v. 1.0 (Applied Biosystems). Úsek kontrolní oblasti mtDNA bude amplifikován pomocí specifických primerů HN20 (Bernatchez & Danzmann 1993) a L19 (Bernatchez et al. 1992). PCR bude provedena v termocycleru s protokolem popsáným v článku Kohout et al. (2012). Sekvenování PCR produktů bude provedeno za použití klasické Sangerovy metody, sekvence budou upraveny a uspořádány pomocí speciálních programů (Geneious, DNA Star Lasergene, Mega, atd). Privátní alely a odchylky od Hardy-Weinbergovy rovnováhy pro každý lokus v každé populaci budou zjišťovány v programu GenAIEx (Peakall & Smouse, 2012). Genetická odlišnost mezi zkoumanými populacemi na základě rozdílných frekvencí mikrosatelitových alel bude vyčíslena párovým fixačním indexem  $F_{ST}$  podle Weir & Cockerham (1984). Pro vizualizaci genetických vztahů mezi populacemi na základě frekvencí alel bude v programu Genetix provedena analýza hlavních komponent. K odvození nejlepší genetické struktury mezi

navzorkovanými jedinci bude použit program Structure (Pritchard et al. 2000) s implementovanou bayesiánskou statistikou.

## **Výstupy**

### **Závěrečná zpráva**

**Článek za účelem zveřejnění výsledků v časopise Ochrana přírody.**

#### **- Závěrečná zpráva**

*Závěrečná zpráva je odborným textem, tedy ctí zavedená pravidla tvorby odborných textů daného oboru. Obsahuje název, autory, klíčová slova, abstrakt, úvod, metodickou pasáž, výsledky, diskusi, závěr a seznam citované literatury.*

*Na rozdíl od publikovaných textů obsahuje zpráva ze studie kompletní data, negativní výsledky a případně další podklady.*

Orientační struktura ZZ

Obecná část (lokalizace, popisy profilů, populací, postupy a metody)

Výsledky (komentování, grafy, statistické zhodnocení),

Diskuze k výsledkům a návrhy opatření pro zachování jedinečnosti populací včetně určení lokalizace místně geografického členění a případných zdrojových populací pro danou oblast.

Závěr:

Zjištění genetické skladby sledovaných populací popsané populačními parametry.

Zjištění genetické rozmanitosti populací, míry diferenciací, mísení haplotypů a příslušnosti k evropským liniím. Zjištění unikátnosti místních populací v rámci ČR a přiřazení charakteristických identifikačních parametrů (pokud budou nalezeny).

Vyhodnocení genetické příbuznosti ovlivněné vysazovanými jedinci (pokud známo) nebo divokostí populace.

Studie bude odevzdána v počtu 2 paré papírové a 2 ks CD-ROM.

#### **- Článek za účelem zveřejnění výsledků v časopise Ochrana přírody**

Rukopis článku pro publikaci

#### **Zpracovatel:**

Název: Ústav biologie obratlovců AV ČR, v. v. i.

Sídlo: Květná 170/8, 603 00 Brno

Zastoupený: doc. Mgr. Jan Zukal, Dr., MBA, ředitel

DNA servis: Mgr. Jan Mendel, Ph.D.

Bankovní spojení: 27-0476710227/0100

IČ: 68081766

#### **Odhad nákladů:**

Cenová nabídka přiložena v příloze.

**Termín dokončení:** 1. 12. 2023

**Odborný garant studie:** Ing. Helena Vejrová

**Schválení vedoucím pracoviště**