

Genetická analýza pstruha obecného v CHKO Brdy aneb jsou Brdy na jedno brdo?

Eva Marešová, Karel Halačka, Lukáš Vetešník, Jan Mendel

Pstruh obecný patří k významným původním druhům našich vod. Vyskytuje se v horských a podhorských tocích a je vyhledávaným druhem sportovních rybářů. Bohužel však stále dochází k jeho vysazování bez zřetele na geografický původ. Proto je nyní většina populací v ČR tvořena směsí jedinců pocházejících z různých areálů.

Původní, adaptované populace se tak stávají vzácností a je nezbytné jejich nalezení a nastavení efektivních opatření k jejich ochraně. Představujeme proto studii, která zhodnocuje současný genetický stav populací pstruha obecného na území CHKO Brdy a pokládá si otázku: A co dál?



Obr. 1 Pstruh obecný (Smolivecký potok). Foto Karel Halačka

Historie rybářského obhospodařování

Sportovní rybolov je významnou volnočasovou aktivitou, které se v České republice v současné době aktivně věnuje více než 300 tisíc členů sdružených do rybářských svazů ČRS a MRS.

Snahy rybářů o posílení populací preferovaných druhů ryb vedly ke snaze zvládnout jejich umělou reprodukci. Mezi prvními druhy ryb, u nichž toho bylo v polovině 19. století dosaženo, byl pstruh potoční (Obr. 1). Zejména v druhé polovině 20. století pak docházelo k jeho masivnímu vysazování. Při převozu jiker a plůdku však bohužel nebyl již od počátku respektován geografický původ ryb a docházelo ke křížení těchto ryb s jedinci z původních populací, což vedlo ke vzájemnému mísení genofondů. Tento trend však může postupně vést až ke ztrátě lokálních adaptací (např. migrační, teritoriální a antipredační chování, morfologie těla či věk a velikost dosažení dospělosti), které jsou důležité pro prosperitu jedince v místních, specifických podmínkách prostředí. Díky tomuto historickému mísení jsou původní „divoké“ populace na našem území spíše vzácností, a je proto nanejvýš vhodné a potřebné tyto populace chránit.

Charakteristika vodního systému CHKO Brdy

CHKO Brdy je protkána sítí drobných potoků odvádějících vodu z její centrální části paprskovitě prakticky po celém jejím obvodu. Již mimo hranice CHKO se postupně vzájemně spojují a vlévají do okolních řek, spadajících do povodí Vltavy. Charakterem rybního osídlení se jedná o typické pstruhové toky, většinou využívané místními organizacemi ČRS jako odchovné potoky pro pstruha obecného, případně i jako součást rybářského revíru. Dochází tak k ovlivnění původní populace pstruha vysazováním, resp. odlovem. Výjimkou je Pstruhový potok, který je na území spadající pod správu Armády ČR (Vojenské cvičiště Jince), kde nebylo do populace pstruha cíleně zasahováno. To samé můžeme říci i o potociích Pilský a Obecnický (Obr. 2), které jsou dlouhodobě bez rybářského managementu.

Na zdejších tocích existují migrační bariéry jak přirozeného, tak umělého původu. Významné jsou zejména nádrže, které jsou neprostupné i při zvýšených průtocích, ale vzhledem k rybářskému obhospodařování je pravděpodobně jejich výsledný efekt anulován či alespoň omezen. Ve výše položených oblastech lze zejména

v letních měsících očekávat výrazné snížení průtoků na hranici ovlivňující možný výskyt ryb.

Odběr vzorků

Pro zhodnocení stavu populací bylo vybráno 13 lokalit (> 300 jedinců) pokrývajících celý areál sledované oblasti (Obr. 3). Vzorky byly odloveny pomocí elektrického agregátu z potoků Závšínský (1), Smolivecký (2), Pilský (3), Pstruhový (4), Klabava (5), Ledný (6), Bradava (7), Skořický (8), Mítovský (9), Obecnický (10), Kotelský (11), Mourový (12) a Červený (13). Odchycení jedinci byli změřeni (SL) a šetrným způsobem byl odebrán malý ústřížek prsní ploutve, který byl vložen do fixačního média (96% etanol). Jedinci byli následně vypuštěni zpět do toků.

Genetický stav jednotlivých populací

Genetická charakterizace populací byla založena na sekvenaci mtDNA (kontrolní oblast) a fragmentační analýze mikrosatelitových lokusů. Pro analýzu byla použita komerční souprava STR Multiplex TRUIdent12 (Ústav biologie obratlovců, DNA servis, STR001b), která je speciálně vyvinuta pro studie pstruha obecného. U zkoumaných lokalit populační parametry ukázaly, že není důvod k vážnějšímu znepokojení. Nejnížší hodnoty všech populačních parametrů byly zjištěny u potoků Pilský, Pstruhový a Obecnický. Na těchto lokalitách neprobíhá dlouhodobě rybářský management a nedochází patrně ani k migraci jedinců z jiných lokalit. U malých izolovaných populací bez genového toku dochází rychleji k fixaci či extinkci (vymizení) alel, což vede ke snížení genetické variability. To pozorujeme i zde. Frekvence některých alel v uvedených populacích je vyšší či nulová oproti ostatním zkoumaným lokalitám. Inbrední koeficienty jednotlivých populací přesto nenaznačují zvýšený stupeň příbuzenského křížení, a tedy populace se jeví v dobré kondici, schopné reagovat na případnou změnu přírodních podmínek. Schopnost reprodukce a přežití se odráží také na věkové skladbě rybního společenstva. Na většině lokalit byli odchyceni jedinci více věkových kategorií, a to od letošních až po čtyř- a víceleté, můžeme proto zhodnotit dlouhodobé přežívání populací jako úspěšné.

Vzájemné srovnání brdských populací

Ke vzájemnému porovnání populací v CHKO Brdy byl vyhodnocován fixační koeficient F_{ST}



Obr. 2 Pohled na koryta potoků Pilský a Obecnický v lesích CHKO Brdy. Foto Karel Halačka

Ten udává genetickou vzdálenost mezi populacemi, a tedy určuje, které populace jsou si příbuznější/odlišnější. Čím vyšší je jeho hodnota, tím větší jsou genetické rozdíly mezi srovnávanými populacemi. U potoků Pilský, Pstruhový a Obecnický, které vykazovaly jedinečnou a významně odlišnou genetickou strukturu od ostatních, byl zaznamenán koeficient v řádu desítek procent. Nejvyšší pak byl mezi unikátními populacemi navzájem. Hodnoty koeficientu mezi ostatními deseti populacemi byly v řádu jednotek procent (Tab. 1).

Tato populační diferenciace byla potvrzena a zobrazena i vizuálně pomocí analýzy hlavních komponent (PCA) a bayesiánské klastrovací analýzy:

A) Analýza hlavních komponent (PCA)

Metoda PCA je vícerozměrná statistická metoda, která umožňuje vizualizaci velkého množství dat co nejjednodušším způsobem při zachování co největšího množství informací. Zobrazuje jedince ve 3D prostoru jako jednotlivé body v grafu. Graf zobrazuje všechny jedince ve studii a každá populace je zobrazena jinou barvou. Na Obr. 4 je patrné rozdělení brdských populací na tři unikátní populace z potoků Obecnický, Pstruhový, Pilský a zbylých deset populací

Tab. 1. Odlišnost populací na základě fixačního koeficientu F_{ST} (pairwise F_{ST})

Populace	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 Závišínský												
2 Smolivecký	0,148											
3 Pílský	0,228	0,094										
4 Pstruhový	0,392	0,297	0,267									
5 Klabava	0,080	0,040	0,105	0,208								
6 Ledný	0,119	0,068	0,085	0,206	0,020							
7 Bradava	0,128	0,066	0,128	0,180	0,043	0,047						
8 Skořický	0,147	0,081	0,173	0,228	0,071	0,085	0,082					
9 Mítovský	0,098	0,069	0,120	0,212	0,032	0,036	0,026	0,078				
10 Obecnický	0,182	0,197	0,213	0,331	0,109	0,093	0,151	0,168	0,118			
11 Kotelský	0,173	0,087	0,128	0,259	0,066	0,077	0,096	0,091	0,075	0,170		
12 Mourový	0,133	0,085	0,128	0,215	0,043	0,071	0,074	0,074	0,057	0,155	0,073	
13 Červený	0,167	0,088	0,101	0,234	0,069	0,059	0,072	0,107	0,059	0,146	0,077	0,087

Hodnoty u populace 1 – Závišínský p. a 2 – Smolivecký p. jsou stanoveny na základě velmi malého počtu jedinců (7 a 4 ks). Všechny hodnoty F_{ST} jsou signifikantní na úrovni $p = 0,05$ pro všechny lokusy. Čím vyšší hodnota (sytě červená), tím větší genetický rozdíl mezi populacemi, čím nižší hodnota (sytě modrá), tím jsou rozdíly zanedbatelnější.

Autor Eva Marešová

tvůřící jeden kompaktnější shluk geneticky podobnější.

B) Bayesiánská klastrová analýza

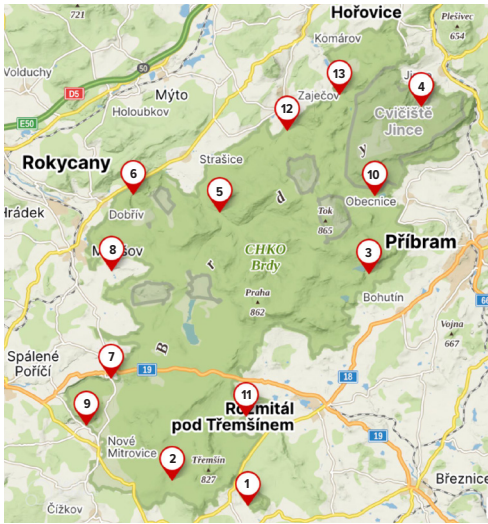
Bayesiánská analýza vyhodnocuje do kolika klastrů (skupin) je vhodné data rozdělit na základě jejich genetické variability. Každý klastr je zobrazen jinou barvou a jedinci jsou zobrazeni jako sloupce ve sloupcovém grafu. Každý vzorek obdrží Q hodnotu, což je pravděpodobnost, s jakou jedinec přísluší k danému klastru K. Datový soubor s cca 300 genotypy nejlépe prokládal model pro $K = 6$. Na Obr. 5 je znázorněno rozdělení všech jedinců 13 populací do šesti barevných klastrů. Významná jedinečnost se opět potvrdila u populací z potoků Pílský (3), Pstruhový (4) a Obecnický (10), které tvoří z více než 95 % klastry K2 (zelený), resp. K3 (fialový) a K5 (tmavě modrý). Tyto populace jsou geneticky homogenní a vzájemně výrazně odlišné. Příčinou unikátnosti je patrně absence antropogenního vlivu, podpořeného izolací těchto populací, kdy především potok Pstruhový je i nadále ve zvláštním režimu (vojenský prostor). Potvrdilo se, že všechny tři populace dlouhodobě nejsou rybářsky obhospodařovány z místních zdrojů. Do dalších klastrů K1 (červený) byla zařazena většina jedinců z populace Kotelský (11) a Červený potok (13) a do klastru K4 (žlutý) populace z potoků Skořický (8) a Mourový (12). Ostatních šest populací bylo většinou zařazeno

do posledního klastru K6 (světle modrý), kde je však patrný mix více genetických zdrojů (více barev).

To odpovídá skutečnosti, že zde v minulosti probíhalo a stále probíhá vysazování ryb, genetický mix je tedy způsoben historickým vlivem rybářského managementu. Možnými genetickými zdroji by dle informací z MO ČRS mohly být Pstruhařství ČRS Kaplice (světle modrá) a Pstruží líheň Hynčice (červená a žlutá). Z líhně Kaplice probíhalo v minulosti vysazování na lokality 1, 2 a 5–9, z líhně Hynčice na lokality 11–13 (Obr. 3). Pstruží líheň Hynčice u Broumova dlouhodobě nabízí plůdek a násady dvou linií pstruha obecného – linie Kollowrat a divoká linie z oblastí severovýchodních Čech. Pro potvrzení informací od MO ČRS by bylo vhodné nasbírat a zanalyzovat vzorky ze zmiňovaných pstruhařství Kaplice a Hynčice. Geografická distribuce klastrů mezi populacemi je znázorněna na mapovém podkladu s koláčovými grafy (Obr. 6), na kterém je vidět, že distribuce genotypů neodpovídá příslušnosti populací k jednotlivým povodím, nýbrž kopíruje spíše míru intenzity rybářského managementu.

Jak si stojí brdské populace v rámci České republiky?

Na základě sekvenčních analýz mtDNA se neprokázalo možné mísení dunajské a atlantické



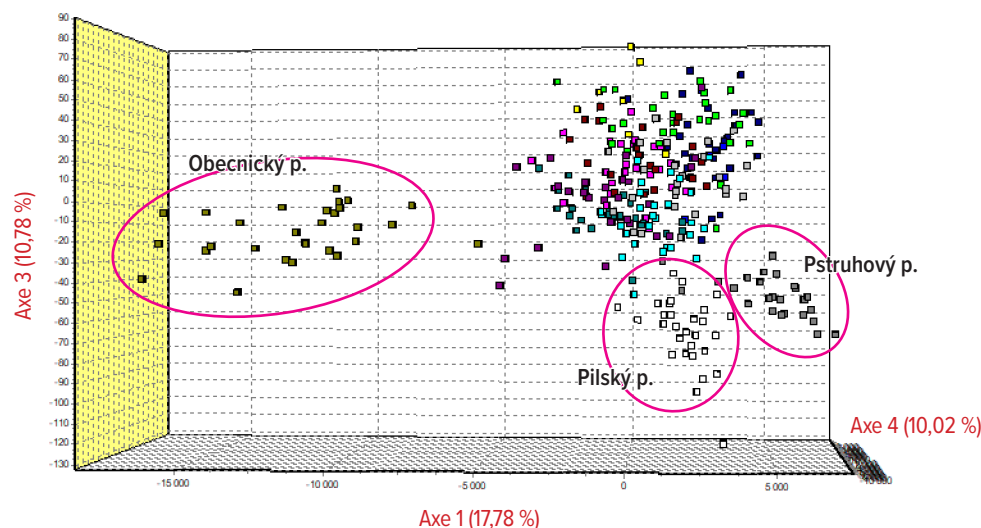
Obr. 3 Mapa CHKO Brdy s lokalizací vybraných lokalit. 1 – Závišínský potok; 2 – Smolivecký p.; 3 – Pílský p.; 4 – Pstruhový p.; 5 – Klabava; 6 – Ledný p.; 7 – Bradava; 8 – Skořický p.; 9 – Mítovský p.; 10 – Obecnický p.; 11 – Kotelský p.; 12 – Mourový p.; 13 – Červený p.

Autor Eva Marešová

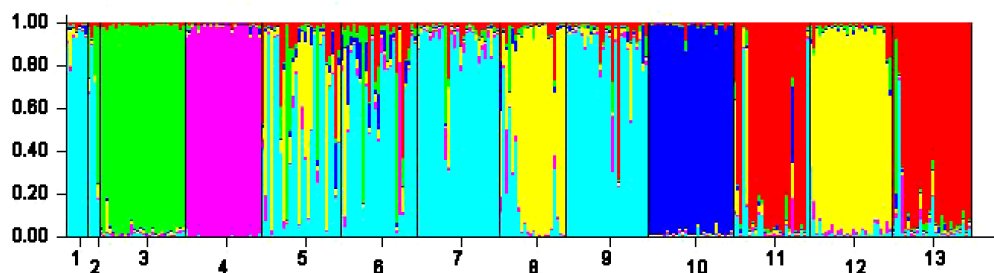
linie v CHKO Brdy. Lze jednoznačně potvrdit příslušnost všech brdských populací k atlantické linii. Provedli jsme analýzu unikátnosti místních populací při porovnání s jinými lokalitami na území ČR, u jejichž populací byly jednotlivé genotypy v minulosti archivovány v databázi S7iFish Ústavu biologie obratlovců Akademie věd ČR, v. v. i. Jedná se o dalších 40 populací pokrývajících území národního parku KRNP a Šumava, CHKO Beskydy, Jeseníky, ale i z populací Ašského výběžku a rovněž i zdrojové populace z některých pstružích líhní. Statistické populační parametry poukázaly na celkově nižší genetickou variabilitu brdských populací a potvrdily významnou jedinečnost třech výše zmiňovaných populací i v celorepublikovém měřítku. Ostatních deset populací obsahovalo genotypy geneticky blízké k některým krkonošským a moravským populacím či líhním (Morava Hanušovice, RZ Morávka, RZ Krpeřany). Může to mít spojitost s historickými dovozy jiker a plůdku z Broumovského výběžku ze Pstruží líhně Hynčice.

Co s tajemstvím ukrytým pod hladinou?

V České republice jsou prakticky všechny tzv. volné vody součástí rybářských revírů a v rámci jejich obhospodařování jsou vybrané populace ryb v různé míře posilovány vysazováním násad



Obr. 4 Analýza hlavních komponent (3D PCA) barevně znázorňující podobnost/nepodobnost brdských populací. Zobrazeny jsou osy 1, 3 a 4, které nejlépe vystihují odlišení unikátních populací. Autor Eva Marešová

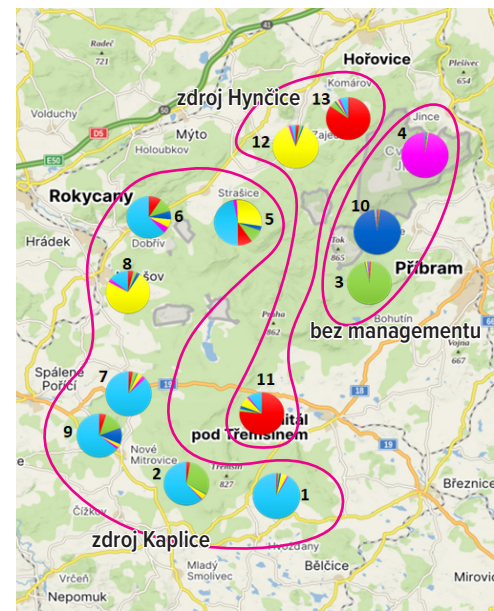


Obr. 5 Bayesiánská klastrová analýza popisující jedince 13 zkoumaných populací. Zastoupení jednotlivých barev v daném sloupečku ukazuje proporci genotypu jedince přiřazeného k dané populaci v „admixture“ modelu. Jednotlivé populace jsou odděleny vlnitou černou čarou. Legenda: 1 – Závěšinský potok, 2 – Smolivecký p., 3 – Pílský p., 4 – Pstruhový p., 5 – Klabava, 6 – Ledný p., 7 – Bradava, 8 – Skořický p., 9 – Mítovský p., 10 – Obecnický p., 11 – Kotelský p., 12 – Mourový p., 13 – Červený p. Autor Eva Marešová

získaných v rámci řízeného chovu. Poznané populační parametry prokázaly uspokojivý genetický stav zkoumaných populací a nepotvrdily ani historickou ohrožující redukci populace, ani nebezpečnou úroveň příbuzenského křížení. Na území CHKO Brdy bylo rozpoznáno 6 zdrojů genetické diversity, z nichž u tří byla odhalena celorepubliková jedinečnost v potocích Pílský, Pstruhový a Obecnický. U těchto tří populací by měly být aktivity s případným vysazováním nových násad v budoucnosti pečlivě regulovány a velmi dobře promyšleny. Neodpovědným hospodařením by mohlo dojít k rozředění, až následné ztrátě vysoce jedinečných populací. Analýza unikátnosti neodhalila žádné blízké populace, které by mohly být použity pro jejich posilování. Snad jen u Pílského potoka se zdá být možným dalším zdrojem Smolivecký potok, který je ovšem velmi ohrožen nízkými

stavy vody především během letních měsíců. Věková skladba odchycených jedinců tří zmínovaných populací (0+ až 4+ a více) poskytuje dobrý předpoklad pro jejich uchování budoucím generacím. Záchyt adultních a především juvenilních jedinců zavdává příčinu k domněnce, že se jedná o populace se schopností přirozené reprodukce.

Závěrečné doporučení: rozdílný genetický profil zjištěný na sledovaných lokalitách CHKO Brdy je třeba zohlednit při budoucích manipulacích a zamýšlených přesunech rybí obsádky z jiných lokalit. U třech unikátních populací je třeba vážně zvážit míru ochrany genetické diversity druhu a doporučuje se občasný monitoring populací na posouzení aktuální úrovně přirozené reprodukce.



Obr. 6 Geografická distribuce stanovených klastřů K1 – 6 a potenciální zdroje násad. Barvy v koláčových grafech odpovídají proporci zdrojových genotypů v příslušné populaci (viz Obr. 5). 1 – Závěšinský potok, 2 – Smolivecký p., 3 – Pílský p., 4 – Pstruhový p., 5 – Klabava, 6 – Ledný p., 7 – Bradava, 8 – Skořický p., 9 – Mítovský p., 10 – Obecnický p., 11 – Kotelský p., 12 – Mourový p., 13 – Červený p.

Autor Eva Marešová

Shrnutí

Cílem studie bylo posoudit genetický stav populací v CHKO Brdy a identifikovat fragmenty původních či jinak unikátních populací. Poznané populační parametry prokázaly jejich uspokojivý genetický stav a nepotvrdily ani historickou ohrožující redukci populací, ani nebezpečnou úroveň příbuzenského křížení. Statistické analýzy rozdělily 13 populací do 6 skupin, které odpovídají historii rybářského managementu na brdských lokalitách. Jednoznačně bylo prokázáno unikátní postavení tří populací v potocích Pílský, Pstruhový a Obecnický, které jsou geneticky homogenní a představují tři jedinečné zdroje genetické variability pstruha na území CHKO Brdy. Současně rozšiřují rodinu unikátních zdrojů jedinečné genetické diversity pstruha potočního na území ČR. Jejich homogenita je patrně způsobena populační izolací a historickou i současnou absencí intenzivního rybářského managementu. Rozdílný genetický profil populací je třeba zohlednit při budoucích manipulacích a zamýšlených přesunech rybí obsádky.

Seznam literatury najdete na www.casopis.ochranaprirody.cz