

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká fakulta

**Genetická struktura populací pstruha obecného v oblasti
šumavských ledovcových jezer**

Diplomová práce

Bc. Jan Hůda

Školitel: RNDr. Petr Blabolil, Ph.D.

Konzultant: Ing. Vojtěch Kašpar, Ph.D., FROV JU

České Budějovice, 2024

Bibliografické údaje

Hůda, J., 2024: Genetická struktura populací pstruha obecného v oblasti šumavských ledovcových jezer. [Genetic structure of brown trout populations in streams of the Bohemian Forest's glacial lakes. Mgr. Thesis, in Czech] – 109 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace

This master's thesis is based on ichthyological investigations in the area of the Bohemian Forest's glacial lakes. In the autumn 2022, genetic material of brown trout (*Salmo trutta* L.) was collected during electrofishing, from which basic population genetic characteristics were determined in the genetics laboratory. Environmental parameters of the study streams were also recorded in order to obtain a comprehensive picture of the environment.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem autorem této kvalifikační práce a že jsem ji vypracoval pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu použitých zdrojů.

V Českých Budějovicích, 19. 7. 2024

.....

Bc. Jan Hůda

Poděkování

Na tomto místě bych moc rád poděkoval svému školiteli Petrovi, který nade mnou držel svou školitelskou a ochrannou ruku během celého studia na naší fakultě. Děkuju ti! Další slova díky posílám do Vodňan – konzultantovi Vojtovi a kolegovi Hubasovi, skvělé laborantce Ivče a Martinovi. Díky za váš čas, který jste strávili tím, že jste se z terénního biologa snažili udělat aspoň trochu genetika. Vděčnost si zaslouží i skupina FISHECU na HBÚ, díky které jsem měl během studia příležitost nasbírat mnoho zkušeností a podívat se na zajímavá místa. Díky i týmu, který spolupracoval na terénní části této práce – Vlád'ovi, Míše a profesoru Vrbovi. Za umožnění průzkumu děkuji Správě Národního parku Šumava. Poděkování patří i všem mým parťákům, kteří mě během tvorby této práce a studia provázeli životem a vysílali neskutečnou podporu. Kromě kamarádů děkuji i rodině! Úplně na závěr bych také chtěl poděkovat celé Přírodovědecké fakultě, na které jsem mohl během studia strávit skvělou životní kapitolu!

Financování diplomové práce

Práce byla podpořena programem INTERREG Bavorsko – Česko 2021-2027 Živé klenoty pod vodní hladinou Šumavy BYCZ01-020.

Interreg



**Spolufinancováno
Evropskou unií**

Bavorsko – Česko

Obsah

1. Úvod.....	3
1.1 Cíle práce.....	5
2. Literární rešerše	6
2.1 Pstruh obecný	6
2.1.1 Ekologie a biologie pstruha obecného	6
2.1.2 Areál rozšíření pstruha obecného.....	9
2.1.3 Chování, životní cyklus a migrace pstruha obecného.....	10
2.1.4 Ekonomický a hospodářský význam pstruha obecného.....	13
2.1.5 Umělý výtěr a vysazování pstruha obecného.....	16
2.1.6 Genetická variabilita pstruha obecného	21
2.2 Genetické analýzy	25
2.3 Shrnutí	28
3. Hypotézy.....	30
4. Metodika.....	31
4.1 Oblast pokusu	31
4.1.1 Jezero Laka.....	32
4.1.2 Čertovo jezero	35
4.1.3 Černé jezero	38
4.1.4 Plešné jezero.....	41
4.1.5 Prášílské jezero.....	44
4.3 Environmentální charakteristika zkoumaných toků	47
4.4 Odlov elektrickým agregátem.....	49
4.5 Lov na umělou mušku.....	51
4.6 Zpracování úlovků	52
4.7 Genetické analýzy	54
4.7.1 Původ vzorků	54

4.7.2 Izolace DNA.....	54
4.7.3 Polymerázová řetězová reakce.....	56
4.7.4 Fragmentační analýza mikrosatelitních markerů.....	57
4.7.5 Vyhodnocování genotypů.....	57
4.7.6 Vyhodnocované populačně genetických charakteristik.....	58
4.8 Zpracování výsledků.....	60
5. Výsledky.....	61
5.1 Environmentální charakteristika zkoumaných toků.....	61
5.2 Odlov elektrickým agregátem a lov na umělou mušku.....	67
5.3 Genetické analýzy.....	71
5.3.1 Charakteristika analyzovaných mikrosatelitních lokusů.....	71
5.3.2 Charakteristika analyzovaných populací.....	72
6. Diskuse.....	78
6.1 Environmentální charakteristiky toků.....	78
6.2 Odlov elektrickým agregátem a lov na umělou muškou.....	82
6.3 Genetické analýzy.....	85
6.3.1 Charakteristika analyzovaných mikrosatelitních lokusů.....	85
6.3.2 Charakteristika analyzovaných populací.....	86
7. Závěr.....	93
8. Seznam použité literatury.....	94

1. Úvod

Pstruh obecný (*Salmo trutta* L.) patří celosvětově ke kulturně, ekologicky i hospodářsky nejvýznamnějším rybím druhům (Kohout, 2003; Muhlfeld a kol., 2019). Tento význam už dnes zdaleka přesahuje jeho původní areál rozšíření, který zahrnuje Evropu a přilehlé oblasti (Elliot, 1989; Klemetsen a kol., 2003). Svým významem na sebe pstruh obecný přitahuje i značnou vědeckou pozornost. Mnoho studií zaměřujících se na pstruha obecného z minulosti je spojeno s pojmem jakési variability. Pstruh obecný vykazuje velmi širokou fenotypovou diverzitu (Bernatchez a kol., 1992). Obecně lze uvést, že se na světě může nacházet okolo 50 odlišných taxonů pstruha obecného, které byly popsány na základě rozdílné morfologie, ekologie, chování nebo tzv. life history parametrů (Bernatchez a kol., 1992; Kohout, 2013), avšak aktuální literatura hovoří o přibližně 30 poddruzích pstruha obecného (Kottelat a Freyhof, 2007). Jako protipól k myšlence více druhů pstruha obecného stojí idea pstruha obecného jako jednoho tzv. polytypického druhu (Kohout, 2013). Polytypický druh je druh, který se vyskytuje v několika poddruzích (Kohout, 2013). Pstruha obecného také lze považovat za druh polymorfní (Elliot, 1989). Rozlišují se tři základní morfy: potoční, jezerní a mořská (Klemetsen a kol., 2003; Johnsson, 1989).

Pro lepší porozumění a detailnější studium takto rozmanitého druhu, jako je pstruh obecný, se v současné době využívá více metod genetických analýz (Bernatchez a kol., 1992; Bernatchez, 2001). Nejprve se využívaly analýzy založené na studiu proteinů (tzv. biochemické metody), zvláště pak enzymů (tzv. analýza alozymů) (Bernatchez a kol., 1992; Flajšhans a kol., 2013). Všechny biochemické metody (tj. využití proteinů, alozymů) lze v dnešní době považovat za překonané, a tak stále roste význam využívání metod, které jsou založené na bázi DNA. Lze zmínit například analýzu mitochondriální DNA (mtDNA) či fragmentační analýzu mikrosatelitních markerů (Flajšhans a kol., 2013).

Pstruh obecný je také druhem, který velmi citlivě snáší disturbance v prostředí. Pstruh ke svému životu potřebuje velmi specifická stanoviště (Muhlfeld a kol., 2019). V oblasti Šumavy měl pstruh obecný v minulosti příhodné podmínky pro to, aby zde mohl prosperovat. Tato situace se změnila v druhé polovině 20. století, kdy byla značná část severní polokoule zasažena atmosférickou acidifikací povrchových vod (Vrba a kol., 2016a). Díky tomu vymizely ryby ze všech šumavských ledovcových jezer (Vrba a kol., 2016a). Pstruzi byli nuceni migrovat do dolních toků či oblastí se specifickým podložím, které mohly sloužit jako dočasná refugia pro přečkání období kyselých dešťů. V současné době dochází ke zotavování oblasti. Pstruzi obecní se přirozeně vrátili do jezera Laka a vyskytují se i v tocích pod ostatními

ledovcovými jezery (Matěna a kol., 2017; Blabolil a kol., 2020; Hůda, 2022). Nový pohled na stav rybích populací v oblastech šumavských jezer přinesou výsledky této diplomové práce. Jedná se o pilotní studii, která si klade za cíl ukázat populační vztahy napříč oblastmi šumavských ledovcových jezer.

1.1 Cíle práce

Prvním cílem této diplomové práce bylo sepsat literární rešerši o 1) biologických a ekologických nárocích, chování, životním cyklu a migrační strategii pstruha obecného, jeho významu jako hospodářského druhu, jeho umělé reprodukci, vysazování a s tím souvisejících problémech; 2) genetické variabilitě pstruha obecného a metodách genetické analýzy.

V praktické části bylo cílem provést ichtyologický průzkum v oblasti pěti šumavských ledovcových jezer (Černé j., Čertovo j., Plešné j., Prášilské j., a j. Laka). Na základě výsledků elektrolovu a lovu na umělou mušku pak vyhodnotit aktuální stav ichtyofauny v těchto oblastech. Dále z ulovených jedinců pstruha obecného získat genetický materiál, ze kterého pomocí fragmentační analýzy mikrosatelitních markerů vyhodnotit populačně genetické charakteristiky studovaných populací. V neposlední řadě bylo cílem i provedení monitoringu charakteristik prostředí zkoumaných toků.

2. Literární rešerše

2.1 Pstruh obecný

2.1.1 Ekologie a biologie pstruha obecného

Pstruh obecný je tradičně rybou tekoucích vod pstruhového a lipanového pásma, tj. horních toků potoků a řek (Baruš a Oliva, 1995). Ve vyšších polohách či zeměpisných šířkách ale může pstruh obývat i vody stojaté (Baruš a Oliva, 1995; Dyk, 1957). Tomuto odpovídá jak jeho stavba těla (torpédovitý tvar), tak i ekologické nároky.

Pstruh obecný preferuje chladnější toky (Armstrong a kol., 2003). Vyšší teplota (nad 25 °C) značně snižuje přežití pstruhů a vede k vyšší mortalitě jedinců (Elliot, 1981; Elliot a kol., 1997). Vhodné teplotní spektrum je velmi variabilní. Obecně lze říci, že se v případě starších jedinců pohybuje mezi 14-20 °C (Ojanguren a kol., 2001) s optimem růstu při 16 °C (Forseth a Jonsson, 1994). Optimální teplota pro tření a následný vývoj embryí je nižší, pro tření se pohybuje v rozmezí 3-13 °C a pro vývoj jiker pak 0-13 °C (Elliot a Elliot, 2010; Witzel a kol., 1983). Teplota vody má vliv na délku inkubace jiker (Armstrong a kol., 2003) a na růst a přežívání dalších životních stádií (Elliot a Elliot, 2010).

Přežívání a fyziologii ovlivňuje i množství dostupného kyslíku ve vodě (Davis, 1975). Pstruh obecný preferuje více prokysličené vody (Baruš a Oliva, 1995). Pokud jde o procentuální nasycení vody kyslíkem, pstruh vyžaduje alespoň 80% nasycení vody kyslíkem (Crisp, 1993). Průměrně vyžadují jikry a líhnoucí se životní stadia lososovitých ryb, tudíž i pstruha, koncentrace kyslíku 8,09 mg/l (Davis, 1975). Prahová hodnota koncentrace rozpuštěného kyslíku dosahuje 4,59 mg/l (Davis, 1975).

Důležitým faktorem, jenž ovlivňuje život pstruhů ve vodách, je pH. Je obecně známo, že lososovité ryby jsou citlivé k okyselení, které je nezdědka kdy spojeno s výskytem a negativním účinkem toxického anorganického hliníku (Kroglund a kol., 2008). Tento fakt měl v minulosti za následek znatelné ztráty rybích populací v zasažených oblastech (Malcolm a kol., 2014). Letální hodnoty pH pro pstruha jsou uvedeny jako pH nižší než 4,0 a vyšší než 9,5-10,0 (Crisp, 2000). Smrtelná hodnota, kterou během 24 hodin nepřežije polovina studovaných jedinců, je pro pstruha obecného definována jako pH 3,63 (Ikuta a kol., 1992). Lepšího přežívání by lososovité ryby dosáhly v prostředí s vyššími hodnotami pH, vyšší neutralizační kapacitou a s nízkým obsahem anorganického hliníku (Malcolm a kol., 2014). K tomu dochází v posledních letech, jelikož se frekvence kyselých dešťů nezanedbatelně

snížila a zasažená krajina tak může opět regenerovat (Hesthagen a kol., 2001; Vrba a kol., 2016a).

Význačným biotickým faktorem ovlivňujícím přežití ryb je množství a kvalita potravy (Klemetsen a kol., 2003). Pstruh obecný je potravním oportunistou a jeho potravní ekologie vykazuje široké spektrum variability (Jensen a kol., 2004). Obecně lze říci, že se u pstruha (a lososovitých ryb obecně) vyskytuje tzv. ontogenetický posun od příjmu primárně bezobratlé potravy mladšími vývojovými stádii k piscivorii u jedinců větších či starších (Keeley a Grant, 2001). Mladá vývojová stádia pstruha se živí především larvami hmyzu, driftujícím zooplanktonem nebo zoobentosem (Johnsson, 1989; Jonsson a Gravem, 1985). Starší pstruzi přijímají kromě zmiňovaných skupin ještě suchozemské členovce a větší jedince zoobentosu (Jonsson, 1989). Piscivorní jedinci pstruha obecného se o rybí kořist začínají zajímat s rostoucí velikostí těla (Jonsson a kol., 1999). Lososovité ryby se stávají piscivorními zhruba od délky těla 31 cm, v závislosti na prostředí (Keeley a Grant, 2001).

Pstruha obecného během jeho života ovlivňuje konkurence jak s původními, tak i nepůvodními rybími druhy (tj. konkurence mezidruhová) i mezi pstruhy obecnými navzájem (tj. konkurence vnitrodruhová) (Begon a kol., 2006). V oblasti Evropy je život pstruha ovlivněn zejména nepůvodními druhy, kterými jsou pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*) a siven americký (*Salvelinus fontinalis*) (Blanchet a kol., 2007). Opačně tomu je v oblasti Severní Ameriky, kde jsou zmíněné dva druhy původními a nepůvodním je pstruh obecný (Blanchet a kol., 2007). Z literatury vyplývá, že při společném výskytu pstruha obecného a pstruha duhového je pstruh duhový silnějším konkurentem a má negativní dopad na pstruha obecného (Blanchet a kol., 2007). Při výskytu pstruha obecného a sivena amerického je naopak konkurenceschopnějším pstruh obecný (Blanchet a kol., 2007). Dalšími konkurenty pstruha obecného jsou druhy původní, hlavně losos obecný (*Salmo salar*). V tomto případě je pstruh obecný agresivnější a silnější konkurent (Kennedy a Strange, 1986). Vranka obecná (*Cottus gobio*) též obývá podobná stanoviště jako pstruh obecný, tato konkurence není však důkladně prozkoumána (Louhi a kol., 2014; Holmen a kol., 2003). Ve světě se vyskytují i případy mezidruhová hybridizace, zejména mezi sivenem americkým a pstruhem obecným či lososem obecným a pstruhem obecným (Fausch a White, 1981; Hórreo a kol., 2011). Hybrid vzniklý křížením sivena amerického a pstruha obecného (tzv. tygrováná ryba, angl. tiger fish) je neplodný a je pro něj charakteristická nízká úspěšnost přežívání (Schreerer a kol., 1987). Též je popisována i vnitrodruhová konkurence, která v určitých případech může být dokonce významnější než konkurence mezidruhová (Blanchet a kol., 2007).

V určitých typech ekosystémů je pstruh obecný vrcholovým predátorem, hraje tak klíčovou roli a pomáhá udržovat stabilitu celého společenstva (Begon a kol., 2006). Pstruh obecný působí predačním tlakem na široké spektrum kořisti, které zahrnuje jak vodní, tak i suchozemské živočichy, což tak činí pstruha přizpůsobivým predátorem (Crisp, 1993; Jensen a kol., 2008). Jako zajímavost lze uvést, že velké formy pstruha jsou schopny ulovit obojživelníky či drobné savce (Crisp, 1993). Pstruh může být sám kořistí pro další dravce, ryby (např. štika obecná (*Esox lucius*)), rybožravé ptáky (např. kormorán (*Phalacrocorax* sp.), volavka (*Ardea* sp.), či ledňáček říční (*Alcedo atthis*)) či savce (např. vydra (*Luttra* sp.)) (Jansson, 2015).

Pstruh obecný se rozmnožuje na podzim, vrcholy třetí migrace jsou často pozorovány v období října a listopadu (Libosvářský, 1974; Piecuch a kol., 2007; Slavík a kol., 2012b). Pohlavní dospělosti pstruzi dosahují obvykle ve stáří dvou až čtyř let (Alp a kol., 2013) při velikosti těla 177-202 mm v případě samců a 202-228 mm v případě samic (Taube, 1976). Průměrná plodnost samic velikostního rozmezí 202-354 mm se pohybuje od 241 do 936 jiker na samici (Taube, 1976). Z takto širokého rozmezí plyne, že plodnost je spojena s velikostí a stářím ryby (Taube, 1976). Další významnou proměnnou napojenou na roční období je teplota vody (Lahnsteiner a Leitner, 2013). Z literatury vyplývá, že při optimální teplotě 7,4 °C, charakteristické pro vyšší polohy a toky obývané pstruhy, většina samců i samic produkovala vysoce kvalitní pohlavní buňky (Lahnsteiner a Leitner, 2013). Se zvyšující se teplotou docházelo ke zpoždění vrcholů rozmnožování, nebo se zvyšovala pravděpodobnost vzniku pohlavních buněk s poškozenou genetickou informací (Lahnsteiner a Leitner, 2013). Pro tření vyžaduje pstruh kvalitní štěrkový podklad umožňující dobrou výměnu vody (tzv. štěrkové hlavice), ve kterém si staví svá hnízda (Pulg a kol., 2013).

2.1.2 Areál rozšíření pstruha obecného

Původním areálem pstruha obecného je evropský kontinent s přilehlými oblastmi severní Afriky a západní Asie (Elliot, 1994). Uvádí se, že původně se pstruh obecný vyskytoval zhruba v 52 zemích světa (Muhlfeld a kol., 2019). Hranici původního výskytu tvoří na severu Island, severní Skandinávie a Rusko (Elliot, 1994). Na jihu je výskyt omezen severním pobřežím Středozemního moře a pohořím Atlas v severní Africe (Klemetsen a kol., 2003). Na východě areálu výskytu je hranice tvořena pohořím Ural a povodím řeky Amurdarji a přilehlého Aralského jezera (Klemetsen a kol., 2003).

Díky své ekologické variabilitě, dobré schopnosti kolonizovat nová prostředí i hospodářskému významu se podařilo introdukovat pstruha obecného do více než 20 zemí mimo jeho původní areál rozšíření (Elliot, 1994; Klemetsen a kol., 2003). K prvním introdukcím docházelo již ve druhé polovině 19. století, kdy cílem bylo východní Rusko, Nový Zéland, sever USA a Kanada (Klemetsen a kol., 2003).

Anadromní formy pstruha obecného (tj. rozmnožující se ve sladkých vodách) jsou v současné době méně rozšířeny než nemigrující populace (Elliot, 1989). Tažné formy se vyskytují převážně v severních oblastech: Island, Skandinávie, Bílé moře, Český záliv, Severní a Baltské moře, Atlantský oceán od Biskajského zálivu po sever Portugalska (Elliot, 1989; Frost a Brown, 1967).

Pstruh obecný se běžně vyskytuje i v České republice, a to zejména v tocích historicky označovaných jako tzv. pstruhové pásmo (Frič, 1888a). To znamená, že pstruh preferuje horní, chladnější toky v nadmořských výškách nejčastěji 500-800 m n. m. (Baruš a Oliva, 1995; Dyk, 1957). V podmínkách českých pohoří se pstruh může dostat i do nadmořské výšky okolo či nad 1000 m n.m. Jako příklady takového rozšíření lze uvést Krkonoše, Hrubý Jeseník, nebo právě Šumavu (Dyk, 1957).

2.1.3 Chování, životní cyklus a migrace pstruha obecného

Díky složité evoluční historii dnes pstruh obecný vykazuje různé komplexní vzorce chování (Muhlfeld a kol., 2019). Pstruzi obecní, ale i další lososovité ryby, vykazují pestroutu paletu tzv. life history strategií (Muhlfeld a kol., 2019). Životní historie je velkou měrou ovlivněna charakteristikami stanoviště, které organismus obývá (Jonsson a kol., 2001). Tento trend je patrný napříč celou živočišnou říší. Není tudíž překvapivé, že i v případě ryb existují korelace mezi typy životních strategií a environmentálními faktory (Jonsson a kol., 2001). Kromě typu obývaného stanoviště má silný vliv na způsob života i velikost těla živočicha, neboť právě ta nejvíce ovlivňuje jeho reprodukční úspěšnost (tzv. fitness) (Jonsson a kol., 2001).

Pstruh obecný může být považován za tzv. polymorfní druh (Elliot, 1989). Z toho plyne základní historické dělení na tři hlavní morfy: potoční, jezerní a mořskou. Jak názvy napovídají, tyto morfy se liší zejména v typu obývaného stanoviště a od toho se odvozuje i způsob života. Pstruzi obecní morfy mořské (*Salmo trutta morpha trutta*) jsou anadromní, což znamená, že žijí v mořích, ale během období tření se vrací zpět do svých domovských řek. Dochází u nich ke specifickým fyziologickým změnám, které mohou být geneticky podmíněné, např. k tzv. smoltifikaci. Oproti tomu pstruzi obecní morfy potoční (*Salmo trutta morpha fario*) a jezerní (*Salmo trutta morpha lacustris*) obývají celý život jen vodu sladkou, kde zejména kvůli rozmnožování migrují ze stojaté vody do tekoucí nebo do vyšších partií toku (Klemetsen a kol., 2003; Johnsson, 1989). Mohou však existovat i endemické jezerní populace (Encina a Rodríguez-Luiz, 2003; Heggenes a kol., 2009), které se v jezerech mohou i třít (Heggenes a kol., 2009).

Kromě třetí migrace pstruh obecný během svého životního cyklu vykazuje i další typy velmi komplexního migračního chování (Boel a kol., 2014; Olsson a kol., 2006). Migrace pstruhů je vyvolána kombinací rozličných faktorů. Mezi tyto faktory patří například teplota vody, průtok, dostupnost potravy, velikost jedinců, nebo antropogenní vlivy, které dnes významně ovlivňují charakter toku (García-Vega a kol., 2018; Olsson a kol., 2006; Svendsen a kol., 2004). Dnes s přesností nelze určit, jak moc je migrační chování řízeno vlivem genetiky a do jaké míry je plastické a ovlivňované prostředím (Lemopoulos a kol., 2018). V literatuře se uvádí, že na migrační chování pstruhů mají vliv zejména faktory prostředí, fyziologické nebo behaviorální změny, ale právě i faktory genetické (Lemopoulos a kol., 2018). Pokud dokážeme lépe porozumět parametrům, které zodpovídají za migrační chování pstruhů, bude to přínosné pro správné nastavení ochrany a managementu ohrožených populací (Lemopoulos a kol., 2019).

Díky své migraci pstruzi získávají výhodnější podmínky pro růst a rozmnožování. Toto je však doprovázeno i riziky, např. v podobě zvýšené predace (Jonsson, 1985; Klemetsen a kol., 2003). Anadromní a sladkovodní formy pstruhů se liší přibližně v polovině svých životních znaků, což je způsobeno genetickou diverzitou (Ferguson a kol., 2019). Také Jonsson a Jonsson (2020) uvádí, že se anadromní a sladkovodní jedinci pstruha mohou lišit v genové expresi. V minulosti se myslelo, že většina znaků ovlivňujících tzv. life history parametry lososovitých ryb je ovlivňována desítkami nebo dokonce až stovkami genů (Lemopoulos a kol., 2019). Ve skutečnosti tomu tak vůbec být nemusí a tyto znaky mohou být ovlivňovány několika lokusy s významným účinkem (Czorlich a kol., 2018). Pro ilustraci, Barson a kol. (2015) identifikovali, že dospívání u lososa obecného je ovlivněno jedním lokusem s velkým účinkem, který se nachází blízko genu *vgl3*. Výzkumy zabývající se tím, do jaké míry je migrace geneticky podmiňovaná, byly z počátku zacíleny na pacifické druhy rodu *Oncorhynchus* (Nichols a kol., 2016). Některé studie naznačují, že rozdílné chování rezidentní a migrující formy pstruha duhového je ovlivněno jednou genomovou oblastí nacházející se na chromosomu 5 (Hale a kol., 2013). Výsledky studie Lemopoulose a kol. (2018) přicházejí s hypotézou, že migrace pstruha obecného je ovlivňována souborem předpokládaných kandidátních genů, což je malý, společný a velmi konzervovaný soubor genů. Tyto geny pstruh obecný sdílí s dalšími lososovitými rybami obývajícími pacifickou oblast (Lemopoulos a kol., 2018). O rok později přišel stejný autor s dalšími zjištěními, která však nejsou nijak v rozporu s předchozími. Lemopoulos a kol. (2019) uvádí, že sklon k migraci je u pstruha obecného pravděpodobně polygenně ovlivňovaným znakem, který může být teoreticky ovlivňován osmi kandidátními geny (Lemopoulos a kol., 2019). Na druhou stranu, stále existují i studie, které tvrdí, že variabilita životních vlastností pstruha je ovlivněna spíše prostředím (např. Cucherousset a kol. 2005). To, zda a jak začnou pstruzi migrovat definuje kromě genetiky i rychlost růstu, velikost jedinců, nebo i pohlaví (Klemetsen a kol., 2003).

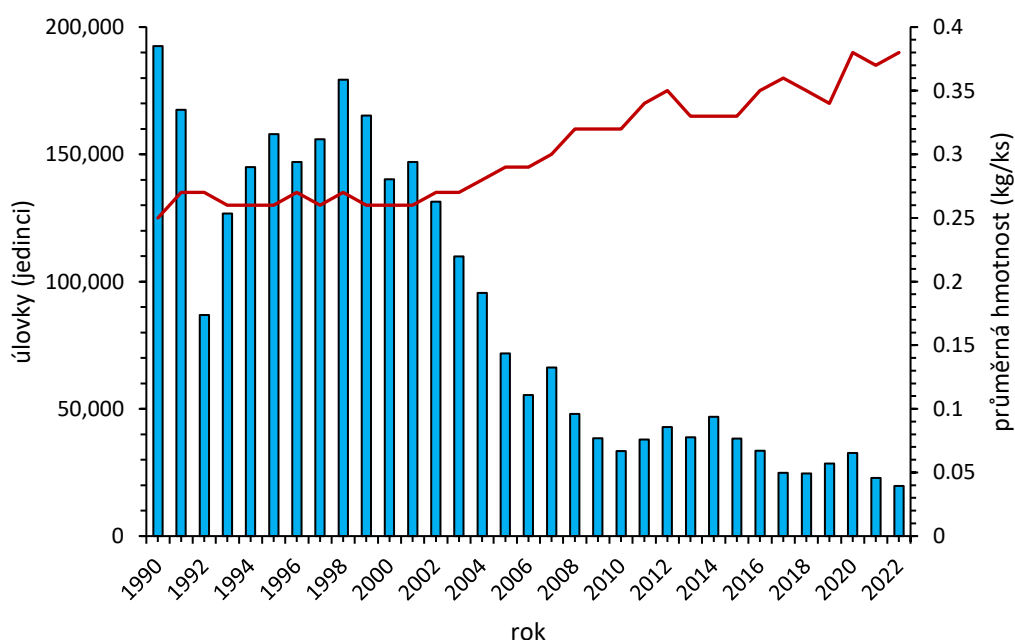
Pstruh obecný je druh, u kterého se běžně vyskytuje pohlavní dimorfismus (Randák a kol., 2015). Ten je dobře patrný nejen po morfologické stránce (Randák a kol., 2015), ale i v případě výběru vhodného stanoviště nebo ve volbě konkrétní migrační strategie (Klemetsen a kol., 2003). Ze studie Klemetsena a kol. (2003) vyplývá, že samice mají větší tendenci migrovat, na rozdíl od samců tíhnou spíše k anadromnímu způsobu života a dochází u nich k preferenci pelagických stanovišť (Klemetsen a kol., 2003). S tím souvisí i fakt plynoucí z výzkumu Jonssona (1985), jenž uvádí, že v případě fakultativně migrujících populací právě samci migrují znatelně méně než samice. U populací, které celý život obývají

tekoucí vody, samice vykazují také větší tendenci migrovat, mladé samice dokonce vykazují přibližně dvojnásobnou tendenci k migraci než stejně velcí samci v téže řece (Lavender a kol., 2023). Kromě toho, že samice vykazují větší tendenci k migraci, se samotnou třecí migrací začínají i dříve než samci, a to přibližně o sedm dní (Dahl a kol., 2004). K těmto rozdílům v migračním chování může docházet i díky tomu, že samice oproti samcům obvykle investují více energie do produkce svých pohlavních buněk (Hayward a Gillooly, 2011) a tudíž je pro ně touha po rozmnožení silnější a upínají se k ní více než samci (Nevoux a kol., 2019). Souvisí to do jisté míry i s teorií minimalizace predačního risku a maximalizace růstu. Oba faktory jsou nejnižší právě při malé velikosti těla samice, tudíž by samice měly s migrací začínat dříve než stejně velcí samci (Lavender a kol., 2023).

2.1.4 Ekonomický a hospodářský význam pstruha obecného

Kromě své nezanedbatelné ekologické hodnoty se ve světě pstruh obecný oceňuje i díky svému hospodářskému a ekonomickému významu. Tento efekt lze demonstrovat zejména v oblastech komerčního a sportovního (čili rekreačního) rybolovu (Elliot, 1989).

Pro dokreslení ekonomického významu pstruha obecného lze využít souhrnné údaje z Velké Británie. Tamní výzkum uvádí, že jen mezi roky 1983 až 1986 bylo uloveno přibližně 110 tisíc jedinců pstruha za rok, kdy hodnota tohoto úlovku byla stanovena na 55 milionů liber (Elliot, 1989). Podobné údaje jsou dostupné i ze Skotska, kde v oblasti řeky Spey probíhal výzkum mezi lety 1998 až 2002 (Butler a kol., 2009). Z této studie plyne, že výdaje rybářů, kteří loví lososovité ryby (losos obecný, pstruh obecný forma potoční i mořská), činily přibližně 12 milionů liber ročně a celková hodnota úlovků se vyšplhala k 56 milionům liber za rok (Butler a kol., 2009). Význam pstruha obecného v České republice lze demonstrovat na obrázku 1, na kterém jsou uvedeny celkové úlovky pstruha obecného na pstruhových revírech obhospodařovaných Českým rybářským svazem, z. s. za období mezi roky 1990 až 2022 spolu s průměrnou hmotností ulovených jedinců. Z této sumarizace vyplývá, že v minulosti byly úlovky pstruha obecného vyšší než v současnosti. Historická zvyklost na vysokou početnost úlovků může být právě jedním z faktorů, proč se pstruzi obecní vysazují ve velkých počtech i dnes.



Obrázek 1: Sumarizace úlovků pstruha obecného na pstruhových revírech ČRS, z. s. v letech 1990-2022 (zdroj: ČRS, 2024).

Hospodářský význam pstruha obecného lze nejprve popsat na historické distribuci jiker a dospělých jedinců pstruhů. Nejprve docházelo k transportu jiker pstruha mezi velmi vzdálenými a odlišnými lokalitami. V minulosti pocházeli první násadoví jedinci pstruha obecného především z oblastí střední a severní Evropy (Kohout, 2013). Lze zmínit systém převozů násad, kdy docházelo k dovozu německých pstruhů do Anglie, nebo španělské, italské či francouzské chovy, které byly zakládány zejména z jedinců pstruhů pocházejících právě ze severu či středu Evropy (Kohout, 2013). Na území dnešní České republiky se první líhně lososovitých ryb zakládaly v 19. století (Frič, 1888b). Na počátku 20. století se u nás nacházelo přibližně 60 líhní lososovitých ryb (Kohout, 2013) a dnes jich může být okolo stovky (Jirušková, 2009). I u nás z počátku docházelo k chování a pak i vysazování nepůvodních populací pstruha obecného. Už v roce 1862 proběhl transport jiker ze Salzburgu v Rakousku do Nedošína ve východních Čechách, po 2. světové válce docházelo k importu jiker z Dánska a Rakouska, kdy šlo o hospodářsky významnou linii Kolowrat (Kohout, 2013). Na konci 20. století proběhl import pstruhů z Itálie, tzv. linie Ital (Kohout, 2013). Tato linie pstruha obecného může být považována za linii velmi domestikovanou, jelikož je pro ni charakteristická nižší genetická variabilita, rychlejší růst či zvýšená ochota přijímat granulované krmivo (Pokorný a kol., 2000).

V současné době je v České republice díky Ministerstvu zemědělství vytvořen Národní program konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin, zvířat a mikroorganismů významných pro výživu, zemědělství a lesní hospodářství. Součástí tohoto programu je i Národní program ochrany genetických živočišných zdrojů, jehož součástí jsou i ryby (Flajšhans a kol., 2013). Tento program se snaží o ochranu a reprodukci hospodářsky významných rybích druhů. Aby mohlo být nějaké plemeno ryby do tohoto programu přidáno, musí splnit následující podmínky: ryby musí mít známý a doložitelný původ, musí být zapsány v plemenářské knize příslušného plemene, musí být zachovány v čistokrevné plemenitbě a svým fenotypovým projevem odpovídat standardu plemene (Flajšhans a kol., 2013).

Co se týče pstruha obecného, tak tyto standardy v Česku splňují původní, neprokřížené populace vyskytující se v některých chovných úsecích přítoků Vltavy na Šumavě (tj. šumavská populace) a v chovném úseku Teplé (tj. tepelská populace) (Flajšhans a kol., 2013). Šumavská populace je součástí Národního programu od roku 1998, tepelská populace byla zahrnuta od dva roky později (Flajšhans a kol., 2009). Generační hejna těchto populací se skládají ze 120 jedinců (Flajšhans a kol., 2009) a chovatelé na držení jednoho hejna dostávají pravidelný dotační příspěvek ve výši 200 tisíc Kč ročně. Mezi lety

2010-2015 byly z Národního programu podporovány celkem čtyři chovy kmenových generačních hejn pstruha obecného (Flajšhans, 2015). V letech 2010-2015 zahrnovala hejna tepelské populace vždy 1000 jedinců. Trend šumavské populace byl více rozkolísaný v roce 2010 2640 jedinců, v roce 2011 1940 jedinců, v roce 2012 2274 jedinců, v roce 2013 1144 jedinců, v roce 2014 2014 jedinců a v roce 2015 3307 jedinců (Flajšhans, 2015). Kromě chovu těchto generačních hejn zapsaných v Národním programu jako genetické zdroje běžně dochází k umělému výtěru a vysazování jedinců pstruha obecného z několika dalších důvodů (viz další kapitola) (Ferguson, 2007).

2.1.5 Umělý výtěr a vysazování pstruha obecného

V přirozených podmínkách pstruh obecný, stejně jako další druhy lososovitých ryb, vyžaduje ke tření kvalitní štěrkový podklad (Pulg a kol., 2013). Jde tak o litofilní druh ryby. Hrozbu pro přirozené rozmnožování pstruhů představuje mimo jiné činnost člověka, jako je přehrazování řek, stabilizace břehových linií, regulace toků, změny využívání krajiny, nebo zvýšená eroze (Pulg a kol., 2013; Schwinn a kol., 2017).

Přirozený způsob rozmnožování pstruhů byl v minulosti vážně narušen, především díky zmíněným faktům. K výraznějším poklesům v početnosti přirozených populací nejen pstruha, ale celé skupiny lososovitých ryb ve vodních tocích začalo docházet již v 19. století (Randák a kol., 2015). Od té doby se také datují první pokusy o chov, umělý výtěr a vysazování jedinců těchto druhů ryb (Frič, 1888b). K vysazování pstruha obecného docházelo hlavně díky jeho biologickému, hospodářskému a ekonomickému významu (Schwinn a kol., 2017). Dnes je s rozvojem technologií umělý výtěr a vysazování zvládnuto natolik, že se v celé Evropě šlechtí různé komerční linie pstruha obecného (Berrebi a kol., 2021).

V současné době představuje umělý výtěr a následné vysazování uměle odchovaných násadových jedinců do toků obvyklou, a někdy i jedinou, metodu, kterou lze udržet populace pstruha obecného nadále relativně početné (Ryman a Staehl, 1980; Schwinn a kol., 2017). Dle studie Ferguson (2007) lze rozdělit zarybňování vod uměle odchovanými jedinci pstruha obecného do několika následujících kategorií. Prvním typem je vysazování pstruhů určených k okamžitému ulovení rybáři, bez potenciálu přirozeného rozmnožování v toku. Další strategií je zarybňování za účelem záchrany ohrožených populací, či obnovy téměř vyhynulých populací. Třetím druhem je doplňkové vysazování starších uměle odchovaných ryb nebo nepůvodních jedinců pstruha pro zlepšení rybolovu nebo za cílem zvýšení počtu ryb kvůli ochraně přírody. Jako poslední typ lze zmínit podpůrný chov, kdy dochází k vysazování uměle odchované první generace potomstva původně volně žijících populací pstruha.

Umělý odchov pstruha obecného je tradičně založen na odlovu volně žijících generačních ryb. Odlovené generační ryby jsou uměle vytírány a jejich plůdek je odchováván v extenzivních nebo intenzivních podmínkách a následně je vysazován do volných vod (Randák a kol., 2009). Období výtěru se zpravidla významně neliší od původních volně žijících populací a v našich podmínkách obvykle nastává od října do poloviny listopadu. S populacemi ryb (volně žijící a chované) je nutno manipulovat odděleně, aby nedošlo k jejich promíchání. Krátce (přibližně týden) před vlastními výtěry jsou generační ryby přemístěny do

menších manipulačních nádrží, přičemž je obsádka rozdělena dle pohlaví. Pokud je možnost, dojde zároveň k odlovu potřebného počtu samců z chráněné rybí oblasti, kteří jsou poté umístěni samostatně do další manipulační nádrže. Před vlastním výtěrem jsou samice přebrány a k výtěru jsou použity pouze pohlavně zralé ryby (měkká oblast břicha kranálně od močopohlavního otvoru, zduřelý močopohlavní otvor, při tlaku na břišní dutinu se uvolňují jikry). Nezralé ryby jsou vráceny zpět do manipulační nádrže, kde jsou kontrolovány v přibližně týdenních intervalech. Při vlastním umělém výtěru není nutno využívat hormonální stimulaci. Anestetikum je možno použít jako vhodný prostředek eliminující poškození generačních ryb větších velikostí (Kolářová a kol., 2007). Ihned po provedení umělého výtěru je vhodné provést krátkodobou koupel v roztoku manganistanu draselného (Kolářová a Svobodová, 2009) a poté ryby vypustit zpět do prostředí, ze kterého byly získány. Pro odhad budoucí produkce jiker z chovaného hejna lze uvažovat s následujícími parametry: absolutní plodnost (počet vytřených jiker na samici, přibližně 1000 kusů), relativní plodnost (počet jiker na kilogram hmotnosti samice, přibližně 1500-2000 kusů/kg hmotnosti samice) a dosažení pohlavní dospělosti. Té dosahuje přibližně 40-60 % samic ve třetím roce života, zbylá část ryb dospívá v dalších letech. Samci dospívají obvykle o rok dříve než samice. Toho je možné využít k jejich vyřazení z chovu ve druhém a třetím roce odchovu. Inkubující se jikry jsou až do fáze očí bodů (220-300 denních stupňů od oplození) velmi citlivé na otřesy, manipulaci a světlo. Teplota vody by v průběhu inkubace neměla překračovat 10 °C. Délka inkubace se poté v závislosti na teplotě vody pohybuje obvykle v rozsahu 350-500 denních stupňů. Po vykulení plůdku nastává klidová fáze, kdy se plůdek nachází na dně inkubačních aparátů a tráví zásoby živin ze žloutkového vajíčka. Toto vývojové stádium končí po cca třech týdnech strávením zhruba 1/2-2/3 žloutkového vajíčka a rozplácáním plůdku. Následuje aktivní fáze, kdy už plůdek vykazuje určitou pohybovou aktivitu a postupně přechází na exogenní výživu (Randák a kol., 2009).

V současné době ve volné přírodě dochází lokálně k poklesu počtu divokých generačních hejn. Proto si dnes chovatelé vytváří vlastní generační hejna, která si udržují v umělých podmínkách rybích sádek (Randák a kol., 2009). Za běžných okolností jsou pak uměle odchované ryby vysazovány do toků v následujících životních stádiích: odkrmený třítýdenní plůdek, půlroční, roční a dvouroční jedinci (Randák a kol., 2009; Schwinn a kol., 2017). Z hlediska efektivní podpory divokých populací pstruha je nejlepším přístupem vysazování co nejmladší kategorie (ideálně maximálně roční stádia) (Randák a kol., 2015). Další, relativně novodobou technikou, představuje využívání tzv. inkubačních schránek, které slouží

k inkubaci jiker v přirozených podmínkách mateřských toků, kdy tato metoda může být využita jak pro repatriaci, tak podporu stávajících populací lososovitých ryb (Aubrechtová a kol., 2020). Tyto schránky existují ve dvou variantách, plovoucí a dnové. Z proběhlých studií lze konstatovat, že využití této metody je úspěšné, jelikož úspěšnost inkubace se přibližuje 80 % v případě plovoucí schránky a 55 % v případě dnové schránky (Aubrechtová a kol., 2020). Jednoznačné pozitivum této metoda přináší tažným populacím, neboť ty se mohou během vývoje v mateřských tocích adaptovat na chemismus a morfologii toku, které budou v jejich budoucím vývoji hrát významnou roli, zejména díky rozvoji lokálních adaptací (Fraser a kol., 2011).

Existuje mnoho důkazů, které poukazují na to, že umělý výtěr a následné vysazování takto odchovaných ryb do toků představuje určitou ekologickou i genetickou hrozbu pro volně žijící populace pstruhů obecných. I přes všechna známá rizika je dnes v případě rekreačního rybolovu vysazování stále tradičním a převažujícím postupem (Pinter a kol., 2019). Hlavním problémem je fakt, že pstruzi z umělého výtěru jsou často vysazováni do volné přírody bez znalosti jejich genetického původu (Berrebi a kol., 2021). Mezi dílčí problémy s tím spojené, které mají dopady na populační genetiku volně žijících populací pstruhů obecných, patří vysazování ryb z odlišných úmoří, nebo i ze zahraničí, přemísťování ryb napříč různými povodími či posílení domestikace (Pinter a kol., 2019). Dalším důležitým faktorem je i počet rodičů, jelikož produkce vysokého množství potomků pocházejícího z nízkého počtu rodičů může též vést k různým způsobům narušení původní genetické linie (Ryman a Staehl, 1980). Tradičně se umělý výtěr provozoval tak, že se ve volné přírodě vybralo několik jedinců s výhodnými vlastnostmi. Tito vybraní jedinci se pak použili jako rodiče pro tisíce potomků. Tento proces zvyšuje riziko inbreedingu díky zvýšené příbuznosti mezi jedinci, a vede tak ke ztrátě genetické variability (Aho a kol., 2006). Ze studie provedené v Rakousku vyplývá, že je zde běžným postupem vysazování ryb z cizího úmoří, konkrétně zde vysazování ryb dánského původu (Pinter a kol., 2019). Tento trend je bohužel patrný ve většině evropských zemí (Pinter a kol., 2019). Běžně také dochází k vysazování geneticky odlišných a intenzivně chovaných domestikovaných linií pstruhů jako jsou např. linie Ital či Kolowrat (Randák a kol., 2009). Genetická struktura těchto domestikovaných linií je často nepředvídatelná (Berrebi a kol., 2021). Toto křížení divokých a domestikovaných populací může mít za následek narušení místní genetické struktury, může docházet ke ztrátám místně specifických genotypů, které mohou přinášet určitou adaptivní výhodu (Hansen a Loeschke, 1994). Problém ztráty lokálních adaptací, které lze popsat jako soulad fenotypu a prostředí související s širokým

spektrům dědičných znaků (Fraser a kol., 2011), jednotlivých místních populací jsou zmiňovány i v jiných studiích (Kohout a kol., 2012; Pinter a kol., 2019). Díky ztrátě těchto lokálních adaptací může například dojít k nižší plodnosti a životaschopnosti ryb (tzn. k poklesu fitness) (Templeton a kol., 1986). Jako další negativní vliv lze uvažovat i změnu efektivní velikosti populace, která je narušena vysazenými rybami. Tato změna může následně ovlivnit přežívání ryb, příjem potravy, rychlost růstu či výskyt růstových anomálií (Ferguson, 2007). Z ekologického pohledu lze jako riziko pro původní populace zmínit zvýšenou kompetici, změnu v potravních řetězcích, zvýšenou predaci, zavlečení nových nemocí a parazitů, nebo zásahy do tzv. life history parametrů (Naiman a kol., 2012).

Dosáhnout vhodné strategie zarybňování a managementu volně žijících populací pstruha obecného lze díky sérii několika opatření. Nejdůležitějším krokem je správná komunikace a spolupráce mezi lokálními autoritami, rybářskými hospodáři a odborníky na populační genetiku ryb. Dále by se měl vytvořit komplexní genetický a ekologický management pro každou rybí líheň (Pinter a kol., 2019). Pokud bude vytvořen systém regionálních líhní, které budou pracovat s místními původními populacemi pstruha, dojde ke snížení rizika vysazování geneticky nepůvodních jedinců (Randák a kol., 2009). Navíc, pokud si chovatelé budou uchovávat vlastní generační hejna, povede to z dlouhodobého hlediska ke stabilní a udržitelné produkci kvalitních násadových ryb (Randák a kol., 2009). Mělo by docházet i k podpoře výzkumu a ke spolupráci mezi výzkumnými institucemi, rybářskými organizacemi a úřady (Pinter a kol., 2019). Globálně by měla také spíše převládat snaha o revitalizaci původních vhodných stanovišť pro pstruhy než doplňování populací násadovými rybami (Hansen a Loeschcke, 1994). Kromě obnovy prostředí může být vhodným krokem, který je aplikován např. ve Velké Británii, doplňování divokých populací pstruha obecného pouze triploidními samicemi, které jsou neplodné, a tudíž nedochází k ohrožení genetické struktury divokých populací (Berrebi a kol., 2021).

V České republice má chov lososovitých ryb velmi dlouhou tradici, která sahá skoro dvě století do minulosti (Frič, 1888b). První líhně s lososovitými rybami byly zakládány během 19. století (Frič, 1888b). V těchto zařízeních byly produkovány nejenom vlastní jikry, ale i váčkový plůdek, odkrmený plůdek nebo roční či víceletá stádia ryb (Frič, 1888b; Pivnička, 1981). Během 19. století docházelo k umělému odchovu ryb víceméně obdobným způsobem, jakým se pstruzi odchovávají i dnes (Frič, 1888b; Randák a kol., 2009). Frič (1888b) zmiňuje vhodné strategie odchovu pstruha obecného. Kromě pstruha a lososa se u nás historicky chovaly i další lososovité ryby, jako např. hlavatka obecná (*Hucho hucho*), siven

americký, nebo lipan podhorní (*Thymallus thymallus*) (Pivnička, 1981). Aktuální statistiky Českého rybářského svazu, z. s. uvádí, že během roku 2023 bylo vysazeno do svěřených revírů přes sedm milionů jedinců pstruha obecného (ČRS, 2023). V současnosti Český rybářský svaz, z. s. disponuje 33 líhněmi ve svém vlastnictví, které v roce 2023 vyprodukovaly více než jeden milion jiker, čtyři miliony kusů váčkového plůdku, 309 tisíc kusů odkrmeného plůdku, 25 tisíc ročních jedinců, 7,5 tisíc dvouletých jedinců a 1,7 tisíc jedinců pstruha obecného s tržní velikostí (ČRS, 2023).

Také území Národního parku Šumava je ovlivněno vysazováním pstruha obecného. Správa NP provozuje rybí líheň v Borových Ladech, prostřednictvím které vysazuje odchované pstruhy obecné původní šumavské linie do vybraných toků na svém území. Z ročenek NP Šumava vyplývá, že mezi roky 2009 až 2014 docházelo každoročně k vysazování do toků Křemelné, Vchynicko-Tetovského kanálu, Teplé a Studené Vltavy a Řasnice. V letech 2015 až 2021 k vysazování docházelo jen na Křemelné, Vchynicko-Tetovském kanálu, Teplé a Studené Vltavě. Průměrné množství vysazených ryb za období 2009 až 2021 činilo přibližně 68 tisíc jedinců ročně. Zbývající část odchovaných ryb líhni byla prodávána. Aktuálně se od zarybňování těchto toků z důvodu dostatečně silných přirozených populací pstruha obecného ustupuje (NP Šumava, 2024).

2.1.6 Genetická variabilita pstruha obecného

Pro pochopení toho, jak probíhala genetické divergence a pro zavádění účinného managementu, který by vedl k zachování původní genetické rozmanitosti, je velmi důležité objasnit fylogeografický původ a evoluční historii konkrétních druhů (Sanz, 2017). Právě toto je u pstruha obecného velmi ztížené, zejména díky velké rozmanitosti vyskytujících se fenotypů (Sanz, 2017). Pstruh obecný vykazuje nepřehlédnutelnou variabilitu a plasticitu v mnoha morfologických, ekologických a behaviorálních faktorech (Ferguson, 1989). Dříve docházelo k popisování rozličných taxonů jen na základě rozdílné morfologie, ekologie, nebo chování (Kohout, 2013). Během výzkumů, které se pstruhy obecnými probíhaly, bylo rozpoznáváno nezanedbatelné množství nominálních poddruhů (tj. poddruh nejvíce se podobající danému druhu) nebo dokonce samotných „druhů“ označovaných jako *Salmo trutta* (Turan a kol., 2009). Obecně však převažuje tendence k myšlence, že všechny tyto nové „druhy“ patří k jednomu velmi variabilnímu druhu (Turan a kol., 2009). Některé z nově popsáných „druhů“ pstruha obecného, které byly identifikovány na základě unikátních morfologických znaků, však nebyly podpořeny rozdíly v genetických charakteristikách (Kohout, 2013). V případě pstruha obecného stále existuje značné množství reprodukčně izolovaných, a tak geneticky odlišných populací (Ferguson, 1989). Pokud by se nově popsané druhy lišily nejen morfologicky a na základě životního stylu, ale i v genetické variabilitě, mohli bychom je podle většiny druhových koncepcí za nové druhy považovat (Turan a kol., 2009). V tradičních studiích nelze oddělit genetické vlivy od vlivů prostředí, a je tak pravděpodobné, že morfologicky odlišné druhy budou odlišné i geneticky (Ferguson, 1989). To, že pstruh obecný má za sebou velmi komplikovanou evoluční historii, demonstruje i nesjednocená nebo často se měnící taxonomie (Sanz, 2017). Aktuálně jsou na území Evropy rozlišovány přibližně tři desítky poddruhů pstruha obecného (Kottelat a Freyhof, 2007).

Rod *Salmo* vznikl přibližně před 30 miliony lety. K oddělení lososa obecného a pstruha obecného došlo přibližně před 10-14 miliony lety. K vnitrodruhové divergenci pstruha obecného pak začalo docházet před 2,5-5 miliony lety (Crete-Lafreniere a kol., 2012). Genetickou variabilitu mohou způsobit i relativně novější události. Jedním z důvodů, proč je v Evropě pstruh obecný tak geneticky variabilní, může být průběh a rozsah poslední doby ledové (Ferguson, 1989), která probíhala přibližně v období před 110 tisíci až 11,5 tisíci lety (Ivy-Ochs a kol., 2008). Populace pstruhů v severozápadní Evropě se v porovnání s populacemi na jihu a jihovýchodě Evropy a v Asii vyvíjely odlišně (Ferguson, 1989). Díky tomu, že jih Evropy nebyl zasažen zaledněním, se zde mohly populace pstruhů vyskytovat po

mnohem delší dobu, což mohlo vést k jejich větší genetické diferenciaci (Ferguson, 1989). Populace obývající severozápadní Evropu se zde vyskytují nejméně 13 tisíc let a jejich nižší genetická variabilita může být důsledkem omezeného spektra následujících událostí. Oblast mohla být po ústupu ledovce nezávisle kolonizována odlišnými liniemi pstruha obecného. Mohlo také docházet ke vzniku genetické variability v izolovaných vodách, které byly kolonizovány populacemi odvozenými od společného postglaciálního předka. V neposlední řadě má na genetickou variabilitu vliv i umělé vysazování geneticky odlišných linií pstruhů (Ferguson, 1989).

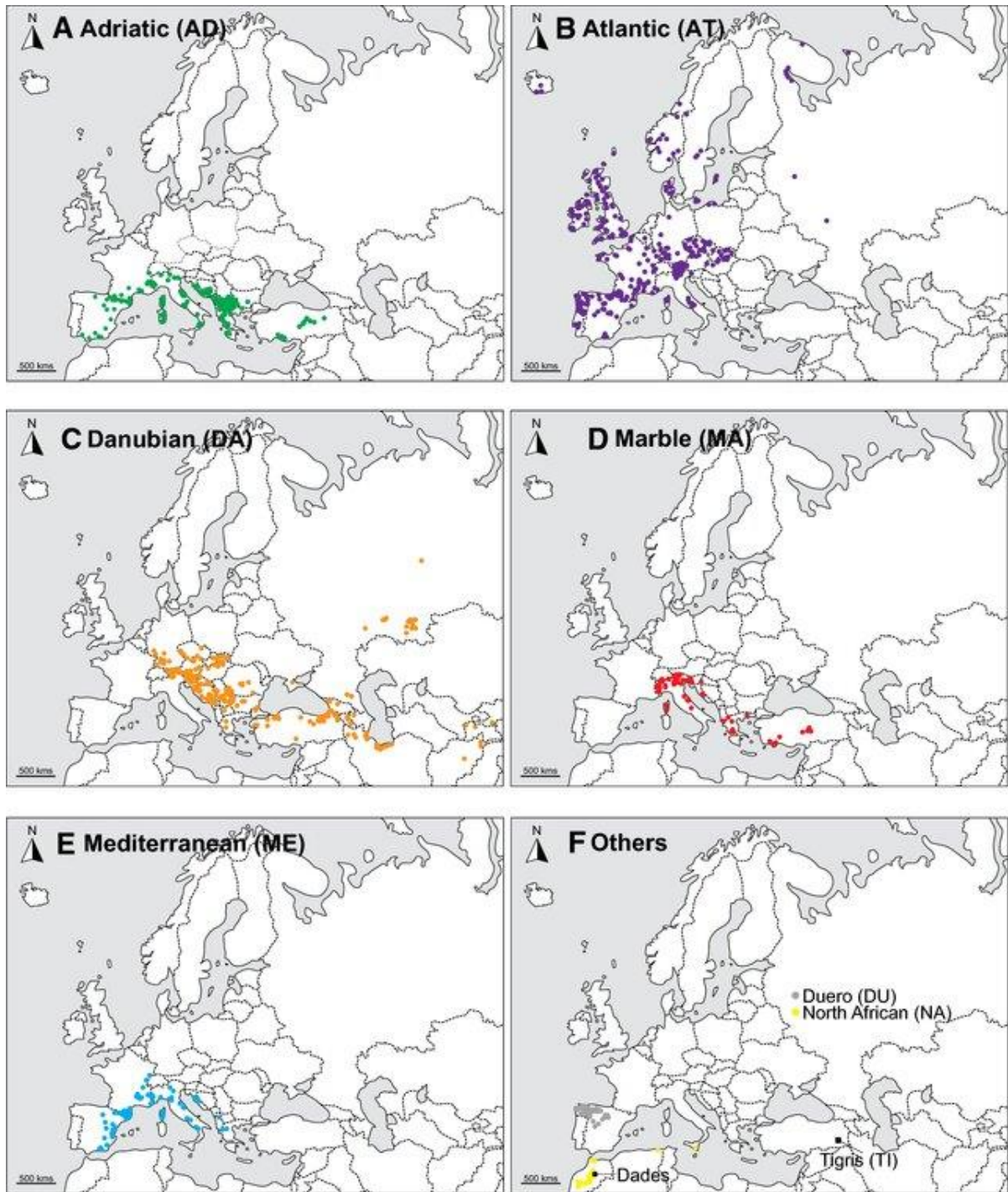
S tímto odlišným vývojem souvisí i první genetické studie populací pstruha obecného, které byly založeny na variabilitě alozymů (Ferguson, 1989). Díky analýzám ve variabilitě alozymů bylo zjištěno, že pstruh obecný představuje jeden z nejstrukturovanějších živočišných druhů (Bernatchez a kol., 1992). Tyto studie přišly se zjištěním, že lokus pojmenovaný LDHC-C1* (laktátdehydrogenáza-C1) může být považován za jeden z nejvhodnějších markerů, který popisuje evoluční historii pstruha obecného (Kohout, 2013). Tento lokus má dvě nejčastější alely *100 a *90, kdy alela *90 je specifická pro moderní linie pstruha obecného a alela *100 se vyskytuje v celém areálu výskytu pstruha obecného a je tak považována za specifickou pro původní linii pstruha (Kohout, 2013). Tyto rozdílnosti mohou pravděpodobně odrážet oddělený vývoj pstruha obecného v izolovaných lokalitách a následnou rekolonizaci severozápadní Evropy právě po ústupu zalednění (Ferguson, 1989; Kohout, 2013).

Dalším užitečným ukazatelem, kterým lze hodnotit evoluční historii pstruha obecného je analýza mitochondriální DNA (mtDNA) (Kohout, 2013). Tato analýza je v současné době považována za jeden z nejpodrobnějších zdrojů informací (Kohout, 2013). V minulosti bylo na základě rozdílů v mtDNA identifikováno nejprve pět vysoce odlišných fylogenetických linií pstruha obecného (Bernatchez a kol., 1992). Těmito vyhraněnými liniemi jsou atlantská linie, dunajská linie, jaderská linie, středomořská linie a linie *marmoratus* (Bernatchez a kol., 1992). Areál atlantské linie je omezen pohořím Atlas na jihu a Skandinávií a Bílým mořem na severu (Bernatchez, 2001). Dunajská linie obývá oblasti úmoří Černého, Aralského a Kaspického moře (Bernatchez, 2001). Díky dalším studiím byla v Rakousku, kde se nachází přirozená hranice mezi těmito dvěma oblastmi, odhalena přirozená hybridizace mezi těmito dvěma fylogenetickými liniemi pstruha obecného (Lercetau-Köhler a kol., 2013). Jaderská linie se vyskytuje v oblasti severního Středomoří a Turecka, Apeninského poloostrova a úmoří Jaderského a Jónského moře (Bernatchez, 2001). Středomořskou linii lze najít především

v západní a centrální části Středomoří (Bernatchez, 2001). Linie *marmoratus* obývá několik řek v oblasti úmoří Jaderského a Jónského moře (Kohout, 2013). To, že se na tak relativně malém území v oblasti Středozemního moře vyskytují hned tři vyhraněné linie dokazuje fakt, že tato oblast sloužila během posledního zalednění jako významné refugium (Ferguson, 1989; Weiss a kol., 2000). S postupem času a rostoucím vzorkovacím úsilím na studii Bernatcheze (2001) navázali Vera a kol. (2010), jejichž výzkum identifikoval další fylogenetickou linii pstruha obecného, která se vyskytuje v oblasti řeky Duero na Pyrenejském poloostrově. Další samostatná vývojová linie byla objevena i v oblasti řeky Tigris v Turecku (Sušnik a kol., 2005). Souhrnné zobrazení přibližného geografického rozšíření fylogenetických linií pstruha obecného znázorňuje obrázek 2.

Obecně panuje shoda, že pět hlavních linií pstruha obecného (atlantská, dunajská, jaderská, středomořská, *marmoratus*) není považováno za odlišné druhy (Delling a kol., 2000). Avšak existuje zde i výjimka, kdy je linie *marmoratus* v některých studiích považována za samostatný druh pstruha *Salmo marmoratus* (pstruh mramorovaný, angl. marble trout) (Delling a kol., 2000; Meldgaard a kol., 2007). V novějších literárních zdrojích se ve spojení se pstruhem obecným stále častěji začíná vyskytovat pojem druhový komplex (Sanz, 2017). Druhový komplex označuje skupinu taxonů, která si je blízkce příbuzná a je si svým vzhledem a dalšími znaky natolik podobná, že je nelze od sebe rozlišit (Saryan a kol., 2020). Tento pojem se užívá zejména díky tomu, že většina druhů nazvaných jako *Salmo trutta* si je fylogeneticky úzce příbuzná (Sanz, 2017). Pokud by byl tento koncept brán v úvahu, lze říci, že se druhový komplex *Salmo trutta* skládá ze sedmi hlavních fylogenetických linií: atlantské, dunajské, jaderské, středomořské, *marmoratus*, duerské a tigrisské (D'Agaro a kol., 2022).

Kromě těchto fylogeneticky odlišených linií pstruha obecného stále dochází ke vzniku další variability zapříčiněné modernějšími událostmi, než je poslední doba ledová (Kohout, 2013). Může docházet ke genetické diferenciaci mezi populacemi ze vzdálených oblastí, ale i mezi populacemi obývajícími stejné povodí, nebo stejné řeky či jezera, v tomto případě může být variabilita zapříčiněna omezeným tokem genů, přítomností migračních bariér nebo i rozdílům ve tření (Ferguson, 1989; Kohout, 2013). Genetická variabilita populací pstruha obecného může být zapříčiněna i antropogenně, a to vysazováním nevhodných násadových ryb (Pinter a kol., 2009).



Obrázek 2: Přibližné původní geografické rozmístění fylogenetických linií pstruha obecného; AD: jaderská linie, AT: atlantská linie, DA: dunajská linie, MA: linie *marmoratus*, ME: středomořská linie, DU: duerská linie, TI: tigrisská linie, NA: severoafrická linie (podle Tougard, 2022).

2.2 Genetické analýzy

U naprosté většiny živých organismů existuje určitá genetická variabilita (Abdul-Muneer, 2014). Ke studiu této variability se využívá mnoho biochemických a molekulárně-genetických metod (Ward, 2000). V případě rybích populací se některé z nich využívají již od první poloviny minulého století (Ward, 2000). Největší rozvoj však zaznamenalo využívání molekulárních metod s objevem polymerázové řetězové reakce (PCR) během posledních třiceti let (Estoup a kol., 1998). Tyto metody mají dnes své zastoupení nejen v samotné populační genetice a hodnocení variability společenstev, ale i například při identifikaci jedinců, managementu rybích obsádek a zarybňování nebo v akvakultuře (Okumus a Ciftci, 2003; Ward, 2000). Genetické markery lze obecně kategorizovat do dvou skupin: markery založené na proteinech a markery založené na DNA (Abdul-Muneer, 2014). V současné době se více či méně používají tři základní metody, a to jedna založená na proteinech (studium alozymů) a dvě založené na DNA (mitochondriální DNA a mikrosatelitní markery) (Ward, 2000).

Historicky byla jednou z prvních používaných genetických metod analýza variability proteinů (Ward, 2000). Právě rozvoj této metody jako první umožnil vědcům pozorovat genetickou variabilitu populací (Okumus a Ciftci, 2003). Alozymy, jako podskupina enzymů (tj. proteinů), mohou vznikat náhodnou mutací a mohou mít pro organismus různé důsledky (Flajšhans a kol., 2013). Princip této metody spočívá v identifikaci genetické variability na úrovni enzymů, které jsou přímo kódovány DNA (Okumus a Ciftci, 2003). Z různých variant alel vznikají různé varianty bílkovin, které se nazývají právě alozymy a mírně se liší elektrickým nábojem (Okumus a Ciftci, 2003). Proto základní a nejvhodnější metodou, která se používá pro detekci alozymů, je elektroforéza (Okumus a Ciftci, 2003). Během elektroforézy se pohybují jednotlivé proteiny v elektrickém poli podle velikosti svého náboje příslušným směrem určitou rychlostí za určitý čas, až dojde k jejich vzájemnému rozdělení. Takto separované proteiny se obarví, aby byly dobře detekovatelné (Flajšhans a kol., 2013). Tuto metodu lze využít zejména při kontrole dědičnosti, jako identifikační nástroj při šlechtění, v populačních studiích, ve fylogenetických studiích atd. (Flajšhans a kol., 2013). Alozymy mohou poskytnout i údaje o efektivní velikosti populace a vztahu populace k tzv. Hardy-Weinbergově rovnováze (Carvalho a Hauser, 1994). Také poskytují informaci, zda je distribuce sledovaného znaku v Hardy-Weinbergově rovnováze (Carvalho a Hauser, 1994). Analýza alozymů byla dlouhou dobu využívána jako standard ve studiu rybích populací, a to zejména pro rozsáhle zpracovanou metodiku a pro možnost určení variability

v několika lokusech najednou. Mezi nevýhody této metody patří pracné zpracování vzorků a omezená informativní hodnota (Flajšhans a kol., 2013; Okumus a Ciftci, 2003).

Další pokrok ve vývoji molekulárně-genetických metod přišel se studiem mitochondriální DNA v 80. letech minulého století (Okumus a Ciftci, 2003; Ward, 2000). Analýza RFLP mtDNA (polymorfismus délky restričních fragmentů, angl. restriction fragment length polymorphism) se rychle stala základem pro mnoho populačních studií, kdy doplnila, či nahradila dosud velmi rozšířené využívání alozymů (Ferguson a kol., 1995; Flajšhans a kol., 2013). RFLP je druh polymorfismu, který je definovaný velikostí restričních fragmentů různé délky vytvořených specifickou restriční endonukleázou (Okumus a Ciftci, 2003). Jedním ze základních aspektů mtDNA je její maternální dědičnost (dědičnost po matce), tudíž odráží zejména maternální evoluční historii (Bermingham, 1990). Dále se mtDNA vyznačuje relativně vysokou mírou mutací, což následně vede k vysoké úrovni polymorfismu (Antoniou a Magoulas, 2014). Díky tomuto faktu je mtDNA vhodná jak ke studiu genetické struktury populací, tak i pro určování fylogenetických vztahů (Antoniou a Magoulas, 2014). mtDNA také často nepodléhá rekombinaci a poskytuje homologní markery (Okumus a Ciftci, 2003). V současné době lze celkem bez problémů homologicky srovnávat mtDNA mezi nezávislými liniemi (Bermingham, 1990). Díky tomu lze pozorovat význam, který mají například odlišná geologická historie nebo rozdíly v životních strategiích na výslednou genetickou strukturu populací (Bermingham, 1990). Jedním z mnoha příkladů využití této metody může být identifikace pěti základních fylogenetických linií pstruha obecného (Bernatchez a kol., 1992). mtDNA se během posledních desetiletí stala velmi využívaným markerem zejména v genetických studiích týkající se fylogeneze, struktury rybích populací, nebo v programech zaměřujících se na ochranu původních rybích populací (Billington, 2003).

V současné době nejrozšířenější a nejjednodušší genetickou metodu představuje analýza mikrosatelitních markerů (zjednodušeně tzv. mikrosatelitů) (Abdul-Muneer, 2014). Je tomu zejména díky rychlému a jednoduchému využití a vysoké rozlišovací schopnosti (Trede, 2023; Wenne, 2023). Mikrosatelitní markery jsou sekvence DNA, které se skládají z tandemově se opakujících mononukleotidových až hexanukleotidových jednotek, které jsou ve větším počtu rozmístěny různě v genomu většiny eukaryotických taxonů (Selkoe a Toonen, 2006). Nejběžnější volbu pro molekulárně genetické studie představují dinukleotidové, trinukleotidové a tetranukleotidové jednotky (Selkoe a Toonen, 2006). Běžně se mikrosatelity skládají z tandemových sekvencí s délkou 1-6 bp a jejich okolí je lemováno jedinečnými sekvencemi DNA (Litt a Luty, 1989). Délka mikrosatelitů se může pohybovat v rozmezí od

několika jednotek opakování po několik stovek opakování (Litt a Luty, 1989). Díky tomu, že délka repetyce může být zjišťována pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR), představují mikrosatelity vhodné genetické markery (Flajšhans a kol., 2013). Základní metodou jejich studia je fragmentační analýza, tedy určení délek jednotlivých alel (Flajšhans a kol., 2013). Využití mikrosatelitních markerů má řadu výhod. Jelikož vykazují vysoký stupeň variability, poskytuje tato metoda možnost odhalit rozdíly i mezi velmi blízkými příbuznými populacemi (Abdul-Muneer, 2014). Za další výhody lze považovat zejména kodominantní přenos, kdy lze odlišit heterozygoty od homozygotů, vysoký stupeň polymorfismu, lokusově specifickou povahu nebo vyšší mutační rychlost (Abdul-Muneer, 2014). Carvalho a Hauser (1994) uvádějí, že pro studium populační genetiky jsou vhodnější mikrosatelity s menším počtem alel, zatímco variabilnější lokusy se používají pro mapování genomu nebo pro analýzy rodokmenů. Mezi praktická pozitiva využití mikrosatelitních markerů patří i to, že lze analyzovat z méně kvalitních vzorků (Trede, 2023). V případě pstruha obecného se mikrosatelity nejčastěji používají pro studium genetického stavu populací v atlantské oblasti, jelikož tyto oblasti jsou do velké míry ovlivněny vysazováním nepůvodních populací pstruha obecného (Kohout, 2013). Mikrosatelitní markery se také stále častěji využívají v ekologických výzkumech (Selkoe a Toonen, 2006), příkladem tomu může být i tato diplomová práce. Kromě populačních studií jsou mnohdy mikrosatelitní markery využívány k určování otcovství v experimentech zaměřených na fyziologii reprodukce nebo fyziologii samotných spermií. Kromě toho jsou mikrosatelity využívány i k detekci triploidie, jak přirozeně se vyskytující, tak indukované (Sanz a kol., 2020). Současným trendem, zejména kvůli zvýšení efektivity genotypování mikrosatelitních markerů, je tvorba tzv. multiplexních reakcí (Lerceteau-Köhler a Weiss, 2006). To znamená, že v jedné reakční směsi je amplifikováno několik mikrosatelitních markerů (Lerceteau-Köhler a Weiss, 2006). Na příkladu pstruha obecného lze demonstrovat reakci pro 12 mikrosatelitních lokusů, které jsou rozloženy do di-plexní reakce (po osmi a po čtyřech lokusech) (Lerceteau-Köhler a Weiss, 2006), nebo do tri-plexní reakce (po čtyřech, třech a pěti lokusech) (Berrebi a kol., 2021) nebo jako v případě této práce tri-plexní reakce po čtyřech lokusech v každém multiplexu (STR Multiplex TRUTident12 Kit; kat. č. STR0012, Ústav biologie obratlovců AV ČR, v. v. i., Brno, Česká republika). V České republice byla metodika Lerceteau-Köhler a Weiss (2006) využita Jurajdou a kol. (2020) při studiu genetické struktury populací pstruha obecného v NP Krkonoše, kdy bylo využito 9 mikrosatelitových lokusů.

2.3 Shrnutí

Shrnutí literární rešerše:

- Pstruh obecný je ekologicky a hospodářsky významným rybím druhem. Je adaptovaný především pro život v horních tocích, s čímž souvisí nejen jeho morfologické znaky, ale i nároky na vhodné životní prostředí (teplota, kyslík, pH, potrava, ...).
- Původní areál výskytu pstruha obecného představuje Evropa a přilehlé oblasti. Historicky byl úspěšně introdukován i mimo tyto oblasti (např. Severní Amerika, Rusko, Nový Zéland, ...).
- Komplexní chování a životní cyklus pstruha jsou výsledkem kombinace vlivu prostředí, genetiky nebo i pohlaví. Správné porozumění tzv. life history parametrům povede k lepší praxi v ochraně a managementu původních populací.
- Původní neprokřížené populace pstruha obecného v České republice, šumavská a tepelská, jsou zahrnuty do Národního programu ochrany živočišných genetických zdrojů.
- Přírozené rozmnožování pstruha obecného je významně ohroženo, zejména antropogenními vlivy. Pro udržení životaschopných populací se stále často používá umělý výtěr a vysazování uměle odchovaných násadových ryb, což s sebou přináší určitá ekologická a genetická rizika.
- Genetická variabilita pstruha obecného je kromě umělého vysazování zapříčiněna i historickými událostmi, jako např. průběh poslední doby ledové. V minulosti bylo na základě analýzy mtDNA rozlišeno pět základních fylogenetických linií pstruha obecného (atlantská, dunajská, středomořská, jaderská a *marmoratus*). K těmto původním liniím se s rostoucím vědeckým úsilím přidávají další (např. tigriská a duerská linie).
- Základními metodami pro výzkum populační genetiky jsou analýza alozymů, mitochondriální DNA a mikrosatelitní markery. Vhodná aplikace těchto metod poskytuje cenné informace pro ochranu a management rybích populací.

V současné době dochází v oblasti šumavských ledovcových jezer k přirozené obnově populací pstruhů obecných, které byly v minulosti silně zasaženy acidifikací povrchových vod (Matěna a kol., 2017; Blabolil a kol., 2020; Hůda, 2022). Nejasný je však původ těchto ryb.

Dosud nebyly k dispozici komplexní informace o jejich genetické příslušnosti, nebo jejich původu. Lze předpokládat v zásadě dva jednoduché scénáře, a to že jde buď o ryby původní, dříve se v oblastech pod jezery běžně vyskytující, nebo o ryby nepůvodní (vysazené rybáři či o jejich potomky z níže položených úseků). Původní populace pstruhů mohly přežít období acidifikace v refugích níže po toku či v přítocích páteřních toků, a tak by nyní jejich náchylnost ke změnám prostředí nemusela být kritická. Mohla by zde platit teorie lokálních adaptací (Fraser a kol., 2011), jelikož výskyt ryb je tradičně silně vázán na chemismus vody a morfologii toku. Pokud by však šlo o ryby geneticky nepůvodní, jejich přežívání v šumavských tocích by nemuselo být zejména v souvislosti se změnami klimatu perspektivní, neboť by křížením populací mohlo dojít k narušení lokálních adaptací.

3. Hypotézy

H1: Populace pstruhů obecných v oblastech Prášílského jezera a jezera Laka si budou podobné, jelikož jsou relativně blízko sebe a potoky vytékající z těchto jezer ústí do říčky Křemelné, kde docházelo k vysazování pstruhů pracovníky Národního parku Šumava (NP). Křemelná se poté vlévá do Vltavy, kam ústí i Jezerní potok tekoucí z Plešného jezera. V případě těchto tří oblastí lze očekávat podobnost.

H2: Populace pstruhů obecných v oblastech Černého a Čertova jezera budou odlišné, zejména díky tomu, že jezera patří do odlišných úmoří (Čertovo jezero – Černé moře, Černé jezero – Severní moře). Černé jezero náleží do povodí Vltavy, ale jeho soutok s vodami tekoucími z oblastí jezera Laka, Prášílského a Plešného je až v místě soutoku Berounky s Vltavou u Prahy.

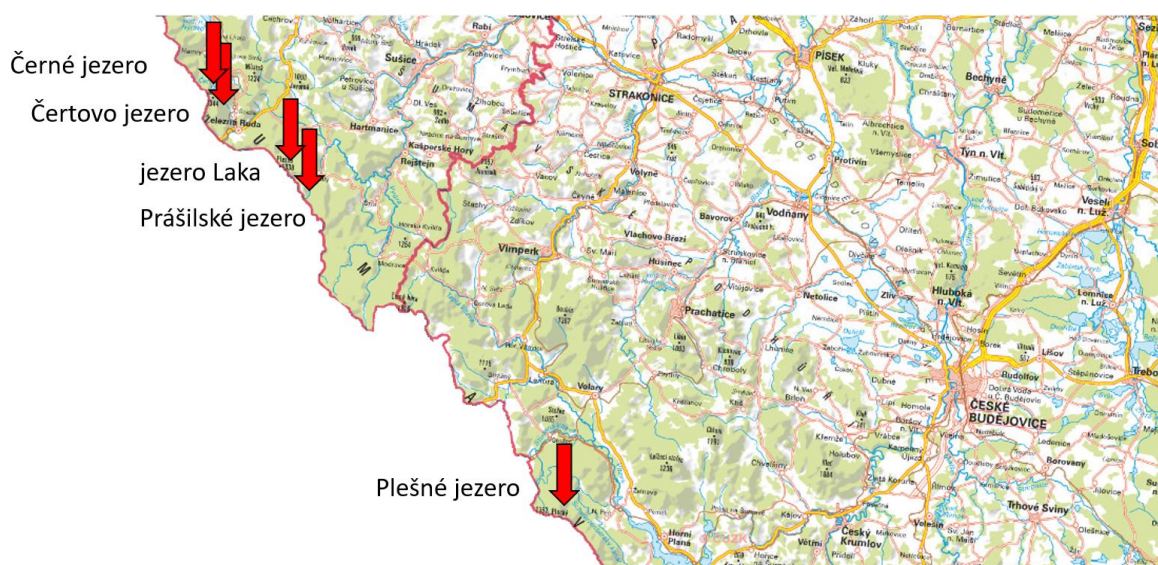
H3: Velikostní distribuce ryb se bude lišit mezi územím, které se nachází v oblasti NP (jezero Laka, Prášílské a Plešné jezero) a chráněné krajinné oblasti (CHKO) (Černé a Čertovo jezero).

4. Metodika

4.1 Oblast pokusu

Oblast Šumavy čítá celkem osm ledovcových jezer. Pět jezer se nachází na české straně (Černé j., Čertovo j., Plešné j., Prášílské j. a j. Laka). Zbylá tři jezera se pak nacházejí v Německu (Velké a Malé Javorské j., Roklanské j.). Šumavská jezera jsou studována již přes sto let, aktuálně probíhá pravidelný monitoring jejich stavu od roku 1984 (Vrba a kol., 2015). V novodobé historii je zde výzkum prováděn převážně pracovníky z Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích a Hydrobiologického ústavu Biologického centra Akademie věd ČR v. v. i..

Současná práce navazuje na již proběhlé výzkumy v oblasti šumavských ledovcových jezer (např. Blabolil a kol., 2020; Hůda, 2022). Pro provedení praktické části, která představuje značnou část této diplomové práce, byly vybrány oblasti všech českých jezer, jejichž geografická poloha je znázorněna na obrázku 3.



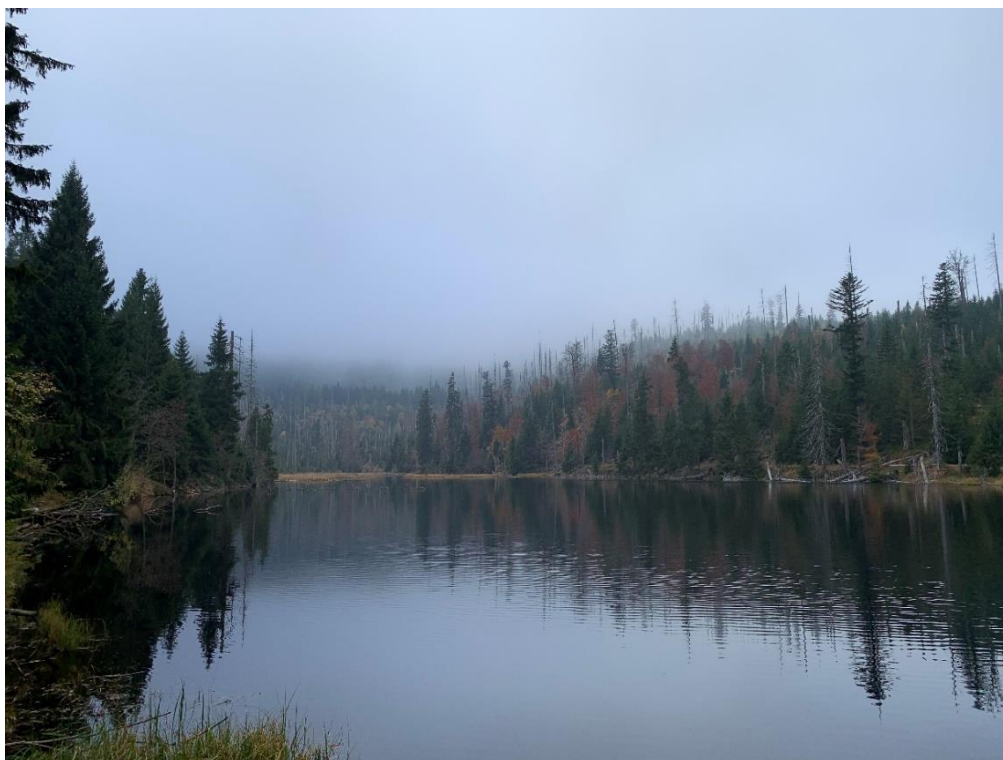
Obrázek 3: Šumavská ledovcová jezera (mapový podklad: ČÚZK).

4.1.1 Jezero Laka

Jezero Laka (obrázek 4, popis studovaných lokalit viz obrázek 6 a tabulka 1) je díky své poloze pod horou Plesná ve výšce 1096 m n. m. nejvýše položeným šumavským ledovcovým jezerem. Díky své malé ploše (zhruba 2,3 ha) a hloubce (maximum zhruba 3-3,5 m) má jezero i malý objem ($0,05 \times 10^6 \text{ m}^3$). Tyto parametry z jezera Laka činí jezero nejmenší (Vrba a kol., 2016b). Plocha povodí zaujímá 135 ha (Vrba a kol., 2016b). Na rozdíl od zbývajících šumavských jezer, jsou pro jezero Laka charakteristické plovoucí rašelinné ostrůvky, jejichž plocha v čase roste. V daleké budoucnosti tak lze očekávat postupné zazemnění celé oblasti. Kvůli využití vody z jezera pro sklářský průmysl a plavení dřeva byla hráz jezera v minulosti uměle navýšena přidáním vrstvy zeminy (Kaskoun, 1987).

Jezero Laka je napájeno dvěma přítoky (obrázek 5), které sbírají vodu z oblasti pod horou Plesná. Prochází oblastí rašeliniště, což má za následek sezónní proměnlivost průtoků. Jezero odtéká povrchovým odtokem na více místech. V odtocích je patrná i činnost bobra evropského (*Castor fiber*), který má vícečetnost odtoku zřejmě na svědomí. Odtok z jezera se nazývá Jezerní potok a ústí do Křemelné (povodí Vltavy).

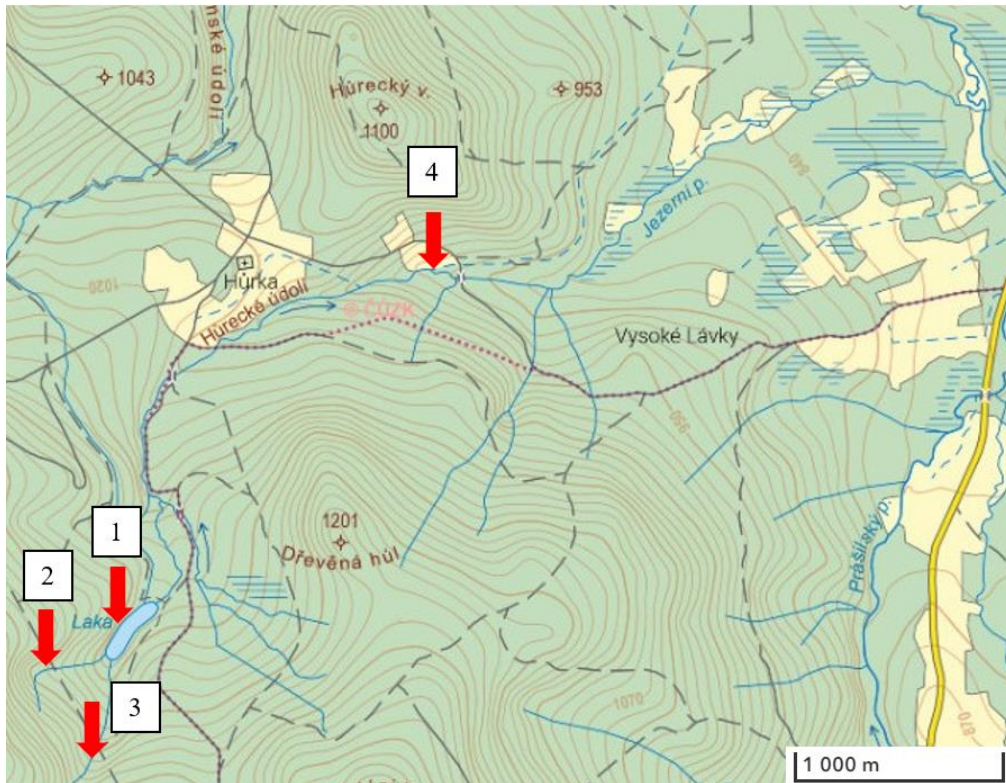
V minulosti se v jezeře nacházely početné pstruhové obsádky. Dobové záznamy hovoří o 400-500 ulovených jedincích pstruha obecného (Švampera, 1914). Díky průzkumu Blabolila a kol. (2020) a průzkumech navazujících (Hůda, 2022) lze konstatovat, že se pstruzi do samotného jezera Laka přirozeně vrátili. Z aktuálních dat, které jsou součástí této práce, vyplývá, že jezero je obydleno početnou obsádkou pstruha obecného. V úseku 2,8 km po proudu od jezera se navíc se pstruhy vyskytují i vranky obecné (*Cottus gobio*), kterým v dalším pronikání brání soustava migračních bariér.



Obrázek 4: Jezero Laka, říjen 2022 (foto: Jan Hůda).



Obrázek 5: Pravostranný přítok do jezera Laka protékající rašeliništěm, září 2022 (foto: Jan Hůda).



Obrázek 6: Mapa hlavních studovaných lokalit v oblasti jezera Laka (mapový podklad: ČÚZK).

Tabulka 1: Základní popis hlavních studovaných lokalit v oblasti jezera Laka.

Kód	Číslo v mapě	Popis lokality
LAJE	1	jezero Laka
LLPR	2	levý přítok do jezera Laka
LPPR	3	pravý přítok do jezera Laka
LA28	4	Jezerní potok 2,8 km od jezera Laka

4.1.2 Čertovo jezero

Druhé z jezer, Čertovo (obrázek 7, popis studovaných lokalit viz obrázek 9 a tabulka 2), se nachází pod Jezerní horou ve výšce 1027 m n. m. S plochou 10,7 ha, hloubkou až 35 m a objemem $1,86 \times 10^6 \text{ m}^3$ jde o druhé největší šumavské jezero, objemem i plochou. Povodí jezera má rozlohu 89 ha (Vrba a kol., 2016b).

Do Čertova jezera ústí dva přítoky. Jeden z oblasti pod Jezerní horou, druhý zpod Malého Špičáku. Druhý jmenovaný je co do průtoků sezónně variabilní. Jezero též odtéká horním odtokem. Ten je v současnosti upraven člověkem a nazývá se Jezerní potok. V Železné Rudě ústí do říčky Řezné (povodí Dunaje).

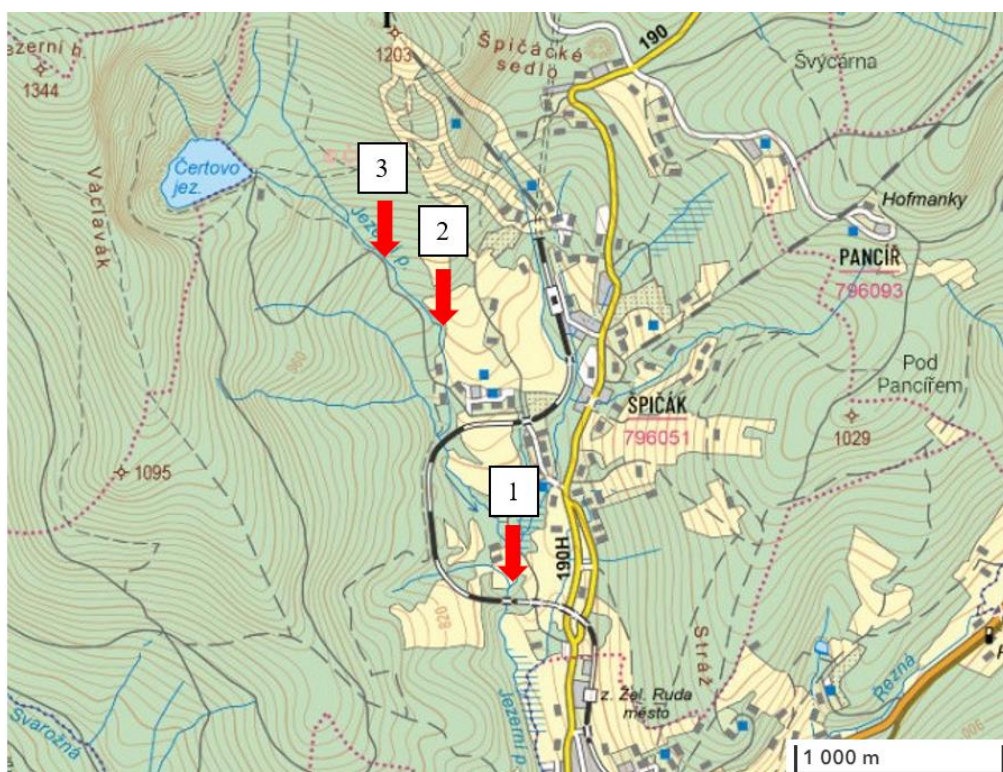
Čertovo jezero patřilo k prvním šumavským jezerům, kde byl prováděn vědecký výzkum. V roce 1898 zde byla fauna i flóra zkoumána Fričem a Vávrou (Frič a Vávra, 1898). Současné výzkumy (Hůda, 2022) a data z této práce poskytují údaje o aktuálním stavu ichtyofauny v oblasti jezera. V Jezerním potoce pod jezerem se vyskytují pstruzi obecní i vranky obecné. Na život těchto dvou druhů má do jisté míry vliv i bobr evropský, který ve vzdálenosti zhruba 2,5 km po proudu od jezera vytvořil rozlehlé laguny. Kvůli nestálosti průtoku a početným migračním bariérám (obrázek 8) na Jezerním potoce je však osídlení samotného jezera nepravděpodobné.



Obrázek 7: Čertovo jezero, říjen 2021 (foto: Jan Hůda).



Obrázek 8: Migrační bariéra mezi profily CT15 a CT06 bránící migraci pstruhů, říjen 2022 (foto: Jan Hůda).



Obrázek 9: Mapa hlavních studovaných lokalit v oblasti Čertova jezera (mapový podklad: ČÚZK).

Tabulka 2: Základní popis hlavních studovaných lokalit v oblasti Čertova jezera.

Kód	Číslo v mapě	Popis lokality
CT25	1	Jezerní potok 2,5 km od Čertova jezera
CT13	2	Jezerní potok 1,3 km od Čertova jezera
CT08	3	Jezerní potok 0,8 km od Čertova jezera

4.1.3 Černé jezero

Černé jezero (obrázek 10, popis studovaných lokalit viz obrázek 12 a tabulka 3) se nachází poblíž jezera Čertova, pod Jezerní horou a Svarohem, v nadmořské výšce 1008 m n. m. S hloubkou přibližně 40 m, plochou 18,8 ha a objemem $2,92 \times 10^6 \text{ m}^3$ jde o největší šumavské jezero na české straně. Plocha povodí zaujímá 124 ha (Vrba a kol., 2016b).

Černé jezero je napájeno dvěma přítoky, které stékají z jezerní stěny. Levostranný se nazývá Černý potok, pravostranný je bezejmenný. I zde je hráz jezera upravena a zpevněna člověkem. Odtok z jezera je nazván Černý potok a ústí do Úhlavy (povodí Vltavy) (obrázek 11). Zajímavostí je zde i přítomnost přečerpávací vodní elektrárny, která pro svou činnost využívá vodu z jezera.

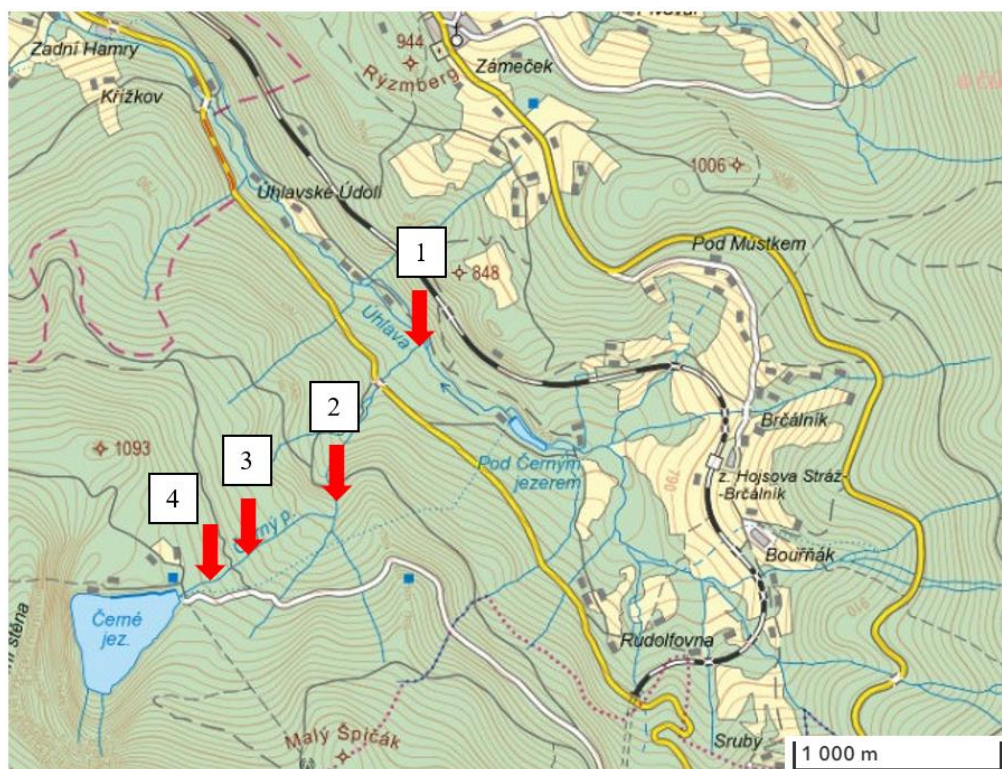
V minulosti se v Černém jezeře pstruzi obecní vyskytovali (Frič a Vávra, 1898). Mezi lety 1890-1893 byl navíc do jezera vysazen i nepůvodní siven americký, což vedlo k poklesu početnosti populace pstruha (Frič a Vávra, 1898). Do jezera byl údajně vysazen i síh (*Coregonus lavaretus wartmanni*), o jehož dalším vývoji není příliš známo (Frič a Vávra, 1898; Veselý, 1994). Data z této práce naznačují, že v současné době je jezero, hlavně díky morfologii Černého potoka, bez ryb.



Obrázek 10: Černé jezero, srpen 2020 (foto: Jan Hůda).



Obrázek 11: Ústí Černého potoka do Úhlavy, říjen 2022 (foto: Jan Hůda).



Obrázek 12: Mapa hlavních studovaných lokalit v oblasti Černého jezera (mapový podklad: ČÚZK).

Tabulka 3: Základní popis hlavních studovaných lokalit v oblasti Černého jezera.

Kód	Číslo v mapě	Popis lokality
CN20	1	Černý potok 2,0 km od Černého jezera
CN17	2	Černý potok 1,7 km od Černého jezera
CN14	3	Černý potok 1,4 km od Černého jezera
CN10	4	Černý potok 1,0 km od Černého jezera

4.1.4 Plešné jezero

Plešné jezero (obrázek 13, popis studovaných lokalit viz obrázek 15 a tabulka 4) se nachází pod masivem Plechého v nadmořské výšce 1087 m n. m. Jezero má maximální hloubku 18 m, plochu 7,2 ha a objem $0,55 \times 10^6 \text{ m}^3$. Plocha povodí v tomto případě činí 67 ha (Vrba a kol., 2016b).

Mapové podklady zde neuvádí žádné stálé přítoky. Jezero je tak napájeno vodou stékající z Jezerní stěny. Odtok (obrázek 14), i v tomto případě upraven člověkem, se nazývá Jezerní potok a ústí v Nové Peci do Vltavy (povodí Vltavy).

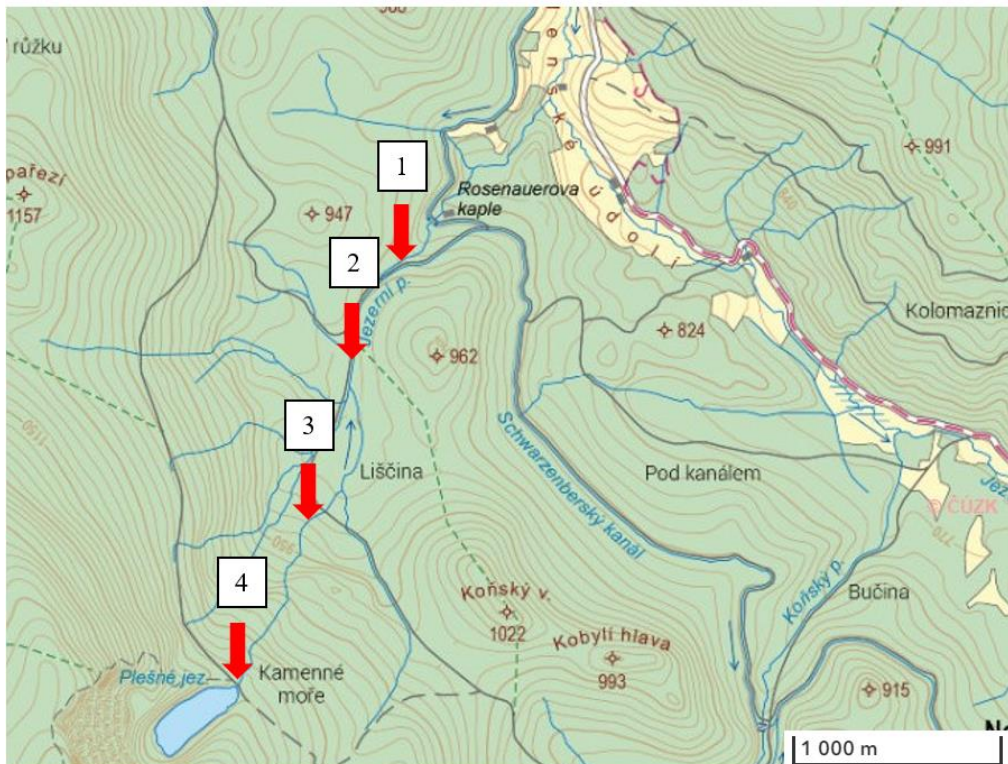
Z historických pramenů je zřejmé, že se v Plešném jezeře v minulosti populace pstruha obecného vyskytovala (Frič a Vávra, 1898). Nyní je stejně jako většina jezer bez rybí obsádky, a to zejména díky tomu, že ryby nezvládnou překonat strmou morénu, kolísající stav vody v Jezerním potoce a člověkem upravenou hráz jezera.



Obrázek 13: Plešné jezero, říjen 2022 (foto: Jan Hůda).



Obrázek 14: Odtok z Plešného jezera, říjen 2022 (foto: Jan Hůda).



Obrázek 15: Mapa hlavních studovaných lokalit v oblasti Plešného jezera (mapový podklad: ČÚZK).

Tabulka 4: Základní popis hlavních studovaných lokalit v oblasti Plešného jezera.

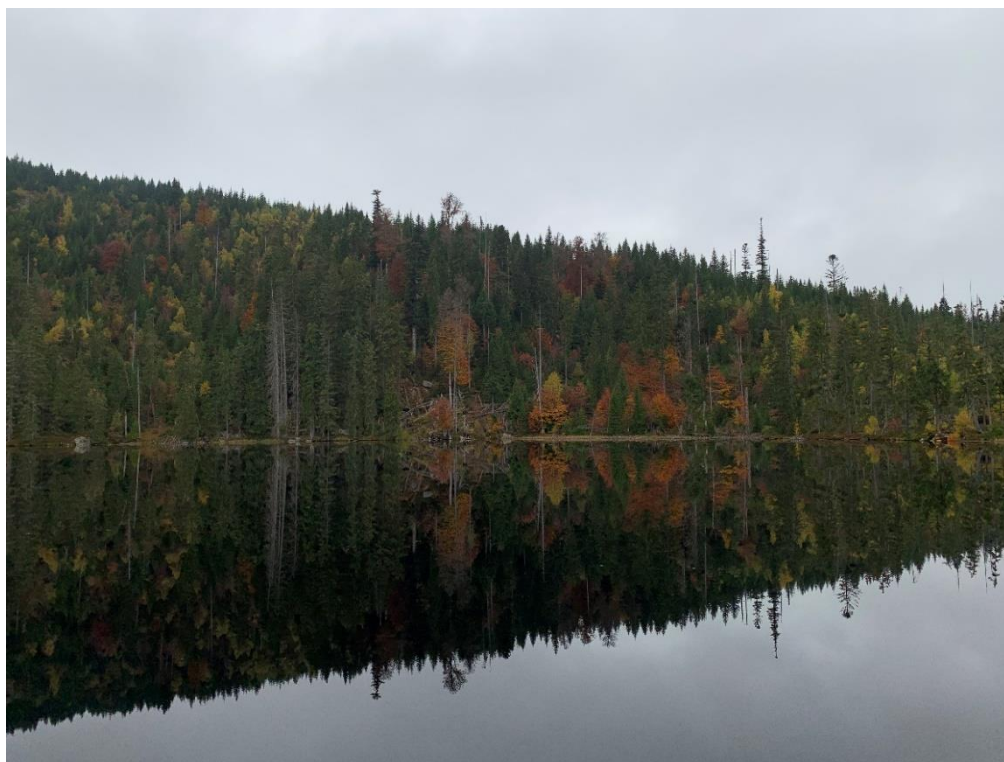
Kód	Číslo v mapě	Popis lokality
PL26	1	Jezerní potok 2,6 km od Plešného jezera
PL20	2	Jezerní potok 2,0 km od Plešného jezera
PL11	3	Jezerní potok 1,1 km od Plešného jezera
PL00	4	odtok z Plešného jezera

4.1.5 Prášilské jezero

Pod horami Poledník a Skalka se v nadmořské výšce 1079 m n. m. nachází Prášilské jezero (obrázek 16, popis studovaných lokalit viz obrázek 18 a tabulka 5). Maximální hloubka jezera je přibližně 17 m, plocha 4,2 ha a objem $0,35 \times 10^6 \text{ m}^3$. Plocha povodí Prášilského jezera zaujímá 65 ha (Vrba a kol., 2016b).

Jezero má dva přítoky. Levostranný bezejmenný přítok vytéká z Jezerní stěny a pravostranný přítok se nazývá Jezerní potok. Odtok z jezera pak nese pojmenování stejné, Jezerní potok. I Prášilské jezero má člověkem upravenou hráz (obrázek 17), která si zde i dnes zachovává svůj historický charakter s pozůstatky stavidla. Jezerní potok vytékající z jezera ústí za obcí Prášily do Prášilského potoka a následně do Křemelné (povodí Vltavy).

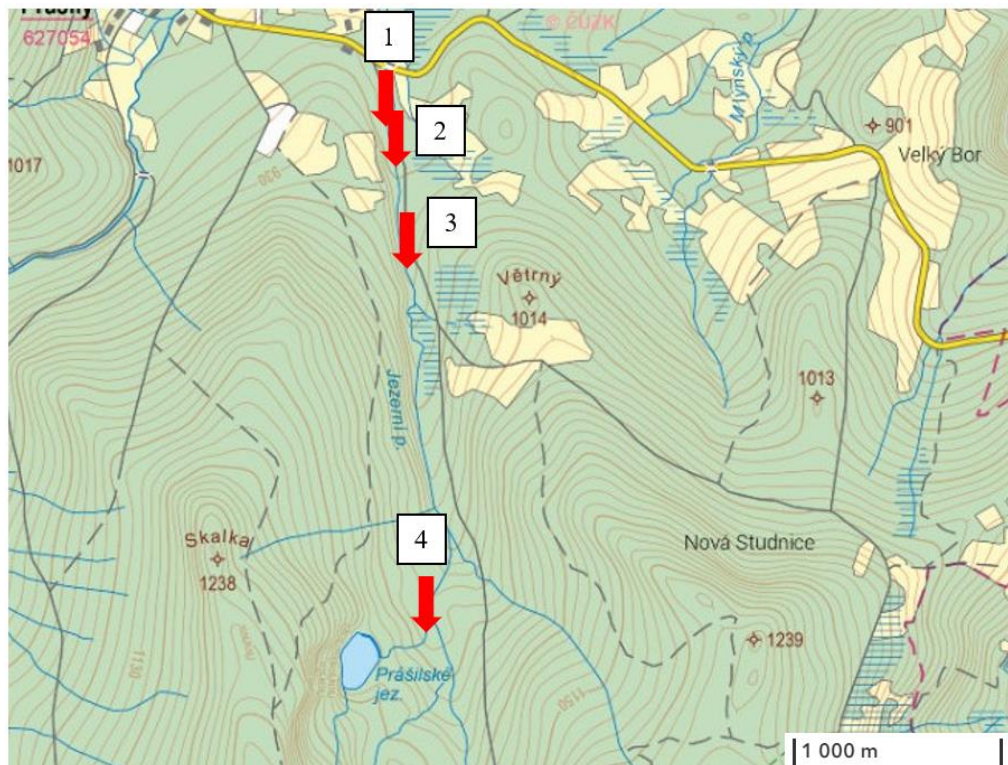
V minulosti byl výskyt ryb v Prášilském jezeře nejistý. Frič (1872) ani Švambers (1914) pstruhy nepozorovali. Důvodem byla zřejmě tvorba anaerobní zóny u dna jezera doprovázená přítomností toxického sirovodíku (Veselý, 1994). V současnosti data z této práce potvrzují přítomnost pstruhů na všech profilech Jezerního potoka. Jedinci pstruha byli zaznamenáni i pod hrází jezera. Je však zřejmé, že k přirozenému průniku pstruhů přímo do jezera nedojde, neboť kamenná hráz je zhruba 1,5-2 m vysoká. Krom pstruhů se na nižších profilech vyskytovaly i vranky obecné. Jejich dalšímu pronikání však zřejmě brání migrační bariéra.



Obrázek 16: Prášilské jezero, říjen 2022 (foto: Jan Hůda).



Obrázek 17: Hráz a odtok z Prášilského jezera, říjen 2022 (foto: Petr Blabolil).



Obrázek 18: Mapa hlavních studovaných lokalit v oblasti Plešného jezera (mapový podklad: ČÚZK).

Tabulka 5: Základní popis hlavních studovaných lokalit v oblasti Prášilského jezera.

Kód	Číslo v mapě	Popis lokality
PR31	1	Jezerní potok 3,1 km od Prášilského jezera
PR29	2	Jezerní potok 2,9 km od Prášilského jezera
PR15	3	Jezerní potok 1,5 km od Prášilského jezera
PR06	4	Jezerní potok 0,6 km od Prášilského jezera

4.3 Environmentální charakteristika zkoumaných toků

K dokreslení aktuální situace ve studovaných tocích byly zaznamenávány následující environmentální charakteristiky – teplota vody ($^{\circ}\text{C}$), pH, množství rozpuštěného kyslíku ($\%$; mg/l), vodivost ($\mu\text{S/cm}$). Tyto veličiny byly měřeny pomocí kalibrované multifunkční sondy YSI PRO (YSI, USA) (obrázek 19). Dále byla na vybraných profilech měřena rychlost proudění, která byla využita k výpočtu průměrného průtoku (obrázek 20). Měření environmentálních parametrů probíhalo vždy ve stejnou dobu, kdy v dané oblasti probíhal elektrolov či lov na umělou mušku. Popis lokalit, na kterých probíhal monitoring environmentálních charakteristik je uveden v tabulce 6.



Obrázek 19: Měření environmentálních charakteristik toků, říjen 2022 (foto: Jan Hůda).



Obrázek 20: Měření rychlosti proudění, levostranný přítok do jezera Laka, září 2022 (foto: Jan Hůda).

Tabulka 6: Popis lokalit, na kterých probíhal monitoring environmentálních parametrů.

Kód	Popis lokality
LAJE	jezero Laka
LLPR	levý přítok do jezera Laka
LPPR	pravý přítok do jezera Laka
LA28	Jezerní potok 2,8 km od jezera Laka
PL26	Jezerní potok 2,6 km od Plešného jezera
PL20	Jezerní potok 2,0 km od Plešného jezera
PL11	Jezerní potok 1,1 km od Plešného jezera
PR31	Jezerní potok 3,1 km od Prášilského jezera
PR29	Jezerní potok 2,9 km od Prášilského jezera
PR06	Jezerní potok 0,6 km od Prášilského jezera
CN20	Černý potok 2,0 km od Černého jezera, ústí do Úhlavy
CN17	Černý potok 1,7 km od Černého jezera
CN14	Černý potok 1,4 km od Černého jezera
CT25	Jezerní potok 2,5 km od Čertova jezera
CT08	Jezerní potok 0,8 km od Čertova jezera

4.4 Odlov elektrickým agregátem

K odlovu pomocí elektrického agregátu (Hans-Grasel, typ ELT60IIIHI, maximální výkon 1,3 kW, napětí 300/500 V, rozsah 25-100 pulsů za vteřinu) bylo vybráno celkem 18 lokalit. V oblasti jezera Laka šlo o tři lokality – pravostranný (LPPR) a levostranný přítok do jezera Laka (LLPR), Jezerní potok 2,8 km od jezera Laka (LA28); v oblasti Čertova jezera o tři lokality – Jezerní potok 2,5 km od Čertova jezera (CT25), Jezerní potok 1,3 km od Čertova jezera (CT13) a Jezerní potok 0,8 km od Čertova jezera (CT08); v oblasti jezera Černého o čtyři lokality – Černý otok 2,0 km od Černého jezera (CN20), Černý potok 1,7 km od Černého jezera (CN17), Černý potok 1,4 km od Černého jezera (CN14), Černý potok 1,0 km od Černého jezera (CN10); v oblasti jezera Plešného o čtyři lokality – Jezerní potok 2,6 km od Plešného jezera (PL26), Jezerní potok 2,0 km od Plešného jezera (PL20), Jezerní potok 1,1 km od Plešného jezera (PL11) a odtok pod jezerem (PL00); v oblasti Prášilského jezera o lokality čtyři – Jezerní potok 3,1 km od Prášilského jezera (PR31), Jezerní potok 2,9 km od Prášilského jezera (PR29), Jezerní potok 1,5 km od Prášilského jezera (PR15), Jezerní potok 0,6 km od Prášilského jezera (PR06). Všechny lokality spolu s jejich základními charakteristikami jsou pro přehlednost uvedeny v tabulce 7.

Výběr lokalit se řídil podle úlovků na profilech sousedních, postupováno bylo proti proudu. Některé profily, zejména v oblasti jezera Laka a jezera Čertova, byly shodné s předchozími průzkumy (Hůda, 2022). V případě oblasti jezera Laka probíhaly odlovy elektrickým agregátem 26. září 2022, v oblasti Plešného jezera 10. října 2022, v oblasti Prášilského jezera 11. října 2022, v oblastech Černého a Čertova jezera 12. října 2022.

Tam, kde to podmínky prostředí umožňovaly, byl elektrolov prováděn pomalým broděním v toku (obrázek 21). V případě menších toků lov probíhal obcházením po břehu, kdy do vody byly ponořovány jen elektrody. Elektrolov byl prováděn celkem třemi pracovníky – lovcem, sběračem a nosičem. Lovec pomocí tlačítka na rukojeti lovné tyče spouštěl krátkodobě stejnosměrný elektrický proud. Pokud došlo k omráčení ryby, proud byl vypnut a sběrač umístil rybu do nádoby s vodou. Z té byla nosičem neprodleně přemístěna do nádoby se vzduchováním a následně dále zpracována. Délka prolovených úseků ve většině případů činila 100 m (rozptyl 20-220 m), dle morfologie toku a stavu okolního terénu a množství ryb (viz tabulka 7). Vybrané lokality byly proloveny dvakrát, pro správnou kvantifikaci ulovených ryb. Jeden lov byl prováděn pouze na lokalitách bez ryb či v případě drobnějších a velmi těžko prostupných lokalit.



Obrázek 21: Elektrolov na lokalitě Černý potok 1,0 km od Čertova jezera, vlevo nosič, uprostřed lovec, vpravo sběrač, říjen 2022 (foto: Jan Hůda).

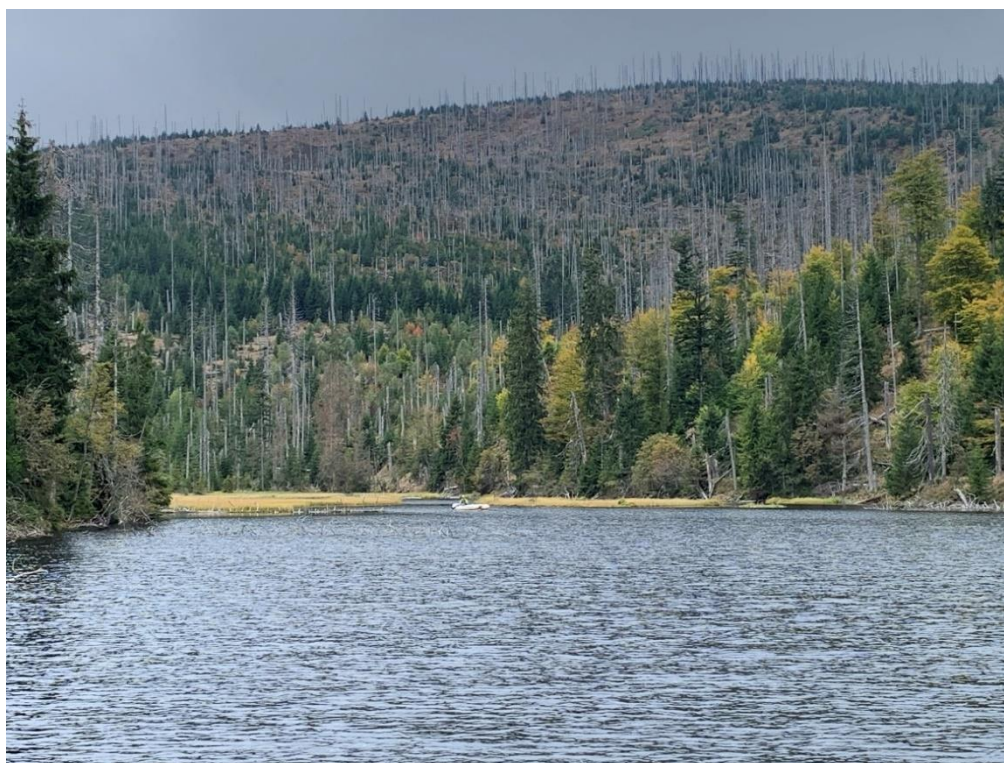
Tabulka 7: Základní popis lokalit, na kterých byl prováděn elektrolov v září a říjnu 2022.

Kód	Popis lokality	Lovený úsek (m)	Počet průchodů	Prům. šířka toku (m)	Prům. hloubka toku (m)
LA28	Jezerní potok 2,8 km od jezera Laka	100	2	2,0	0,4
LLPR	levý přítok do jezera Laka	160	1	0,5	0,2
LPPR	pravý přítok do jezera Laka	220	1	0,4	0,2
PL26	Jezerní potok 2,6 km od Plešného jezera	100	2	3,0	0,4
PL20	Jezerní potok 2,0 km od Plešného jezera	60	1	0,5	0,4
PL11	Jezerní potok 1,1 km od Plešného jezera	100	1	0,8	0,1
PL00	Odtok z Plešného jezera	20	1	0,4	0,2
PR31	Jezerní potok 3,1 km od Prášilského jezera	100	2	3,8	0,2
PR29	Jezerní potok 2,9 km od Prášilského jezera	100	2	1,5	0,4
PR15	Jezerní potok 1,5 km od Prášilského jezera	80	2	3,0	0,4
PR06	Jezerní potok 0,6 km od Prášilského jezera	100	2	0,7	0,3
CN20	Černý potok 2,0 km od Černého jezera, ústí do Úhlavy	100	2	0,5	0,4
CN17	Černý potok 1,7 km od Černého jezera	120	1	2,0	0,5
CN14	Černý potok 1,4 km od Černého jezera	100	1	1,5	0,5
CN10	Černý potok 1,0 km od Černého jezera	80	1	1,5	0,4
CT25	Jezerní potok 2,5 km od Čertova jezera	100	2	1,5	0,4
CT13	Jezerní potok 1,3 km od Čertova jezera	130	1	1,8	0,1
CT08	Jezerní potok 0,8 km od Čertova jezera	200	1	1,5	0,2

4.5 Lov na umělou mušku

V případě jezera Laka byl, stejně jako v předešlé studii (Hůda, 2022), aplikován lov na umělou mušku. Lov probíhal z nafukovacího člunu, kde se nacházel pouze lovec (obrázek 22). Byl použit prut AFTMA 3, intermediární šňůra, vlasec 0,15 mm, háčky bez protihrotu velikosti 14-16 a mokré mušky.

Lov na umělou mušku probíhal v rozmezí od 10 do 16 hodin, v celkové době 350 minut. Systematicky bylo proloveno celé jezero, od přítokové části k hrázi. Ulovené ryby byly shromažďovány ve vezírku uvázaném k člunu a v pravidelných intervalech předávány na zpracovatelské stanoviště. Lov na umělou mušku probíhal 26. 9. 2022. Popis profilu je pro přehlednost uveden v tabulce 8.



Obrázek 22: Lov na umělou mušku na jezeře Laka, září 2022 (foto: Jan Hůda).

Tabulka 8: Základní popis hlavních studovaných lokalit v oblasti jezera Laka, kde probíhal lov na umělou mušku.

Kód	Popis lokality
LAJE	volná voda jezera Laka

4.6 Zpracování úlovků

Ulovené ryby byly dále zpracovávány (obrázek 23). Každá ryba byla změřena s přesností na milimetry. Byla měřena standardní délka (tj. délka po konec ošupení ocasního násadce) i celková délka (tj. délka po konec ocasní vidlice). U 24 jedinců pstruha obecného z oblasti každého jezera byla odstřižena část (do 1 cm²) ploutve, která byla uložena do označené zkumavky s lihem a následně bude využita na genetické analýzy v laboratoři (obrázek 24).



Obrázek 23: Stanoviště zpracování ryb, září 2022 (foto: Jan Hůda).



Obrázek 24: Odběr genetického materiálu pstruha obecného, říjen 2022 (foto: Jan Hůda).












4.7 Genetické analýzy

4.7.1 Původ vzorků

Pro potřeby genetické analýzy byl z každé oblasti šumavských jezer získán genetický materiál celkem z 24 jedinců pstruha obecného. Pro porovnání byly použity vzorky pstruha obecného původem z odlehlých či domestikovaných populací. Tyto vzorky pocházely z Rybí líhně Vazovec u Turnova (24 jedinců), ze dvou generačních hejn Pstruhařství ČRS Kaplice, spol. s r. o. (20 a 20 jedinců) a ze soukromých sádek Sdružení Lota Strážný potok (24 jedinců). Z těchto vzorků byla následně izolována DNA pro další postup v genetické laboratoři.

4.7.2 Izolace DNA

Deoxyribonukleovou kyselinu (DNA) je možné izolovat jak klasickou fenol-chloroformovou metodou, tak pomocí komerčně distribuovaných kitů. Principem klasické fenol-chloroformové metody je, že fenol jako organické rozpouštědlo odděluje proteiny od nukleových kyselin. Jelikož proteiny jsou hydrofobní, tak po přidání fenolu zůstávají v této organické fázi směsi, zatímco nukleové kyseliny zůstanou ve fázi vodné. Přidaný chloroform pak denaturuje proteiny, rozpustí tuky a zdokonalí oddělení jednotlivých fází. Po následné centrifugaci je možné získat nukleové kyseliny ve vodné fázi a ty dále vysrážet přidáním ethanolu. Z důvodu eliminace možnosti vzájemné kontaminace vzorků a pro úsporu času byl během této práce k izolaci DNA využit komerčně distribuovaný kit Machery-Nagel NucleoSpin Tissue Kit (Německo), který funguje na principu navázání DNA na silikátovou membránu. Postup izolace DNA pomocí tohoto kitu je patrný z obrázku 25.

NucleoSpin® Tissue				
1	Prepare sample			Cut 25 mg into small pieces
2	Pre-lyse sample			180 µL T1 25 µL Proteinase K 56 °C, 1–3 h
3	Lyse sample			200 µL B3 70 °C, 10 min
4	Adjust DNA binding conditions			210 µL 96–100% ethanol
5	Bind DNA	 		Load all 11,000 x g, 1 min
6	Wash silica membrane	  1 st and 2 nd 		1 st wash 500 µL BW 2 nd wash 600 µL B5 11,000 x g, 1 min
7	Dry silica membrane			11,000 x g, 1 min
8	Elute highly pure DNA	 		100 µL BE RT, 1 min 11,000 x g, 1 min

Obrázek 25: Schématické zobrazení izolace DNA pomocí kitu Machery-Nagel NucleoSpin Tissue Kit (Německo).

Genomová DNA byla izolována z ústřížku ploutve ulovených pstruhů obecných o hmotnosti 30-50 mg, který byl vložen do 180 µl pufru značeného jako T1 a dále bylo přidáno 25 µl proteinázy K (Proteinase K). Takto připravený vzorek v pufru s proteinázou byl inkubován po dobu 3 hodin na termobloku (Eppendorf, Německo) při teplotě 56 °C. Po uplynutí tohoto času byla enzymatická disociace buněk dokončena přidáním 200 µl pufru značeného jako B3 a vzorek byl inkubován dalších 10 minut na termobloku při teplotě 70 °C. Po přidání 210 µl 96% ethanolu byl vzorek převeden do kolonek pro navázání DNA na membránu a centrifugován 1 minutu při 11 000g. Poté byl vzorek dvakrát promyt kvůli odstranění proteinů – poprvé přidáním 500 µl pufru BW a centrifugací 1 minutu při 11 000g a podruhé přidáním 600 µl pufru B5 a stejnou centrifugací. Po osušení membrány další minutovou centrifugací při 11 000g bylo přidáno 50 µl elučního pufru BE a získaná DNA byla uvolněna centrifugací do nové zkumavky. Kvalita izolátu byla u vybraných vzorků

hodnocena pomocí elektroforézy v agarosovém gelu (1,5% agarosa v TBE pufru) nebo měřením pomocí spektrofotometru NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, USA)

4.7.3 Polymerázová řetězová reakce

Analýza mikrosatelitních markerů byla provedena pomocí komerční sady STR Multiplex TRUIdent12 Kit (kat. č. STR0012, Ústav biologie obratlovců AV ČR, v. v. i., Brno, Česká republika). Tento kit je navržen ve tří-multiplexním designu a celkem zahrnuje 12 lokusů.

Nejprve byla provedena polymerázová řetězová reakce (PCR, angl. polymerase chain reaction) pro ověření funkčnosti jednotlivých primerových párů (TRU1-TRU12). Tato reakce byla realizována v celkovém objem 10 μ l a k provedení PCR reakce bylo využito komerčně distribuovaného master mixu (PPP Master Mix, Top Bio, Česká republika). Polovinu objemu reakční směsi tvořil tento master mix (150 mM Tris-HCl, pH 8,8, 40 mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,02% Tween 20, 5 mM MgCl_2 , 400 μ M dATP, 400 μ M dCTP, 400 μ M dGTP, 400 μ M dTTP, 100 U/ml Taq DNA polymerázy, barvivo, stabilizátory a aditiva), přidány byly primery (0,3 μ l každého z primeru o koncentraci 10 mM) a 1 μ l templátové DNA. Polymerázová řetězová reakce probíhala v termocykleru Biometra (Německo) podle teplotního profilu programu, který byl popsán výrobcem kitu: 94 $^\circ\text{C}$ /3 minuty, 30 cyklů: 94 $^\circ\text{C}$ /45 sekund, 57 $^\circ\text{C}$ /90 sekund a 65 $^\circ\text{C}$ /60 sekund, závěrečná extenze 60 $^\circ\text{C}$ /30 minut. PCR produkty pak byly podrobeny elektroforéze.

Po provedení optimalizace bylo využito 10 z celkového počtu 12 primerových párů, viz tabulka 9. Z téže tabulky 9 je také patrný celkový popis multiplexního designu kitu STR Mutiplex TRUident12 Kit.

Tabulka 9: Popis multiplexního designu kitu STR MUltiplex TRUident12 s použitými lokusy; M1-M3 označují příslušné multiplexy a zahrnuté lokusy, Ta označuje teplotu nasedání jednotlivých primerů, ABI značení označuje typ použité fluorescenční barvy, STR motiv označuje motiv opakování alel, rozmezí alel určuje očekávané rozmezí alel daného lokusu, v poznámce uveden vždy přítomný vrchol u daných lokusů.

Multiplex	Lokus	Škála (nmol)	Ta ($^\circ\text{C}$)	ABI značení	STR motiv	Rozmezí alel (bp)	Pozn.
M1	TRU2	40	57	6-FAM	di-	101-115	
M1	TRU3	10	57	NED	tetra-	128-196	vrchol 128 bp
M2	TRU5	40	57	6-FAM	di-	92-104	
M2	TRU4	40	57	6-FAM	di-	138-172	
M2	TRU7	40	57	6-FAM	tetra-	197-301	
M2	TRU8	10	57	PET	di-	197-212	vrchol 156 bp
M3	TRU9	40	57	6-FAM	tetra-	114-186	
M3	TRU10	10	57	VIC	tetra-	146-230	
M3	TRU11	40	57	6-FAM	tetra-	181-293	
M3	TRU12	10	57	PET	di-	126-194	vrchol 92 bp

PCR reakce pro genotypování jednotlivých mikrosatelitních lokusů byla realizována formou tří multiplexních reakcí (viz tabulka 10) podle manuálu výrobce kitu. K PCR reakci byly využity master mixy pro multiplexní reakce z produkce firmy Quiagen (Německo) - Type-it. 2xQuiagen Multiplex PCR master mix obsahoval HotStar taq DNA polymerázu, Quiagen Multiplex PCR pufr (6 mM MgCl₂, pH 8,7) a směs nukleotidů (dATP, dCTP, dGTP, dTTP). Reakční směsi jednotlivých multiplexních reakcí jsou souhrnně uvedeny v tabulce 10. Polymerázová řetězová reakce probíhala v termocykleru Biometra (Německo) podle teplotního profilu programu, který byl popsán výrobcem kitu: 94 °C/3 minuty, 26 cyklů: 94 °C/45 sekund, 57 °C/90 sekund a 65 °C/60 sekund, závěrečná extenze 60 °C/30 minut.

Tabulka 10: Složení reakčních směsí pro jednotlivé multiplexy (M1-M3) tri-plexní reakce PCR; M1-M3 označuje jednotlivé multiplexy, V je celkový objem reakce a pod ním dílčí objemy jednotlivých složek, 2xQMM označuje 2xQuiagen Multiplex PCR master mix, TRUXY je označení jednotlivých studovaných lokusů, DNA je objem přítomného genetického materiálu.

M1	V (6,5 µl)	M2	V (7 µl)	M3	V (7 µl)
2x QMM	3,5	2xQMM	3,5	2xQMM	3,5
PCR H₂O	1,475	PCR H₂O	1,555	PCR H₂O	1,54
TRU2	0,175	TRU5	0,14	TRU9	0,14
TRU3	0,35	TRU4	0,28	TRU10	0,40
-	-	TRU7	0,42	TRU11	0,21
-	-	TRU8	0,105	TRU12	0,21
DNA	1	DNA	1	DNA	1

4.7.4 Fragmentační analýza mikrosatelitních markerů

Po dokončení reakce PCR byly vzorky dále zpracovávány. PCR produkty byly naředěny 43 µl deionozované H₂O. Dále bylo 0,5 µl takto připravených vzorků napipetováno do 10 µl HIDI pufru s 0,5 µl 600 bp size standardu GeneScan 600 LIZ (Thermo Fisher Scientific, USA). Následně byly vzorky vloženy do automatického sekvenátoru ABI 3500 (Applied Biosystems, USA). V tomto přístroji byly jednotlivé vzorky separovány pomocí metody kapilární elektroforézy, při které dochází k dělení fragmentů DNA podle jejich velikosti a náboje (LibreTexts, 2024).

4.7.5 Vyhodnocování genotypů

Poté co byla dokončena kapilární elektroforéza, byly výsledné elektroforegramy vizualizovány v bioinformatickém softwaru Geneious Prime (verze 2019.0.4., Biomatters Ltd, Auckland, Nový Zéland). U jednotlivých vzorků bylo ověřeno a případně upraveno správné označení jednotlivých fragmentů size standardu (GeneScan 600 LIZ, Thermo Fisher Scientific, USA). Po sjednocení byly podle protokolu ke kitu STR Multiplex TRUIdent12

Kit (kat. č. STR0012, Ústav biologie obratlovců AV ČR, v. v. i., Brno, Česká republika) v programu Geneious Prime nadefinovaný rozsahy (rozmezí bp) jednotlivých studovaných lokusů. Poté byly všechny vzorky a způsob určení alel důkladně vizuálně zkontrolovány. Po zpracování všech vzorků byl vygenerován souhrnný soubor, který byl převeden do programu GenAIEx 6.51b2 (Peakall a Smouse 2006, 2012), ve kterém proběhlo vyhodnocení základních populačně genetických charakteristik.

4.7.6 Vyhodnocované populačně genetických charakteristik

Populační genetika se zabývá četností a interakcemi alel a genů v populacích (Kim a Sappington, 2013). K základním ukazatelům genetické diverzity v rámci populace, které byly v této diplomové práci vyhodnocovány, patří počet alel na lokus, počet privátních alel, očekávaná a pozorovaná heterozygotnost, párový fixační index a Neiova genetická vzdálenost (Kim a Sappington, 2013; Nei, 1973). Privátní alely jsou takové alely, které se vyskytují pouze v jedné populaci v rámci širšího souboru populací (Szpiech a Rosenberg, 2011). Očekávaná heterozygotnost se odhaduje z frekvencí alel, zatímco pozorovaná heterozygotnost se odhaduje přímo z jednotlivých genotypů a závisí jak na množství genetické variability v populaci, tak na úrovni inbreedingu, který zvyšuje homozygotnost (Ritland, 1996). Vysoká míra heterozygotnosti tak představuje vysokou míru genetické variability a naopak (Kim a Sappington, 2013). Párový fixační index vyjadřuje úroveň genetické diferenciace mezi jednotlivými populacemi. Tento index nabývá hodnot od 0 (nízká genetická odlišnost) do 1 (maximum vyjadřující fixaci alternativních alel) (Hucková, 2015). Neiova genetická vzdálenost je úměrná evolučnímu času a její hodnoty nabývají též od 0 (blízké populace) do 1 (vzdálené populace) (Nei, 1973). Dalším parametrem, který byl ověřován, je Hardy-Weinbergova rovnováha (HWE) (Kim a Sappington, 2013). Při tomto testu jsou porovnávány pozorované frekvence genotypů s frekvencemi očekávanými pro ideální populaci, ve které nedochází k migraci, genetickému driftu, nevyskytují se v ní mutace a nenáhodné párování (Selkoe a Toonen, 2006). Dále byla provedena analýza molekulární variance (AMOVA). AMOVA odhaduje podíl genetické diverzity v rámci populací a mezi populacemi (Kim a Sappington, 2013). AMOVA byla provedena s 999 permutacemi. Byla spočítána i analýza hlavních komponent (PCoA) pro populace z hodnot párových fixačních indexů a analýza, která přiřazovala jednotlivé studované jedince do konkrétních studovaných populací (tzv. assignment test). Jako poslední byla provedena analýza, která simuluje různý počet populací a následně do nich přiřazuje jednotlivé analyzované jedince. Tato analýza pomocí permutací graficky zobrazí genotypy jednotlivých jedinců podle zastoupení

a kombinace alel. Výstupem této analýzy jsou také hodnoty pravděpodobnosti modelů pro jednotlivé hodnoty K , kdy K je ukazatelem „skutečného“ počtu populací, které se geneticky dostatečně liší. Při této analýze byl počet možných populací hledán v rozmezí dvě až devět populací, jelikož vzorky pocházely z devíti oblastí.

4.8 Zpracování výsledků

Pro tvorbu grafů zobrazujících hodnoty z monitoringu environmentálních charakteristik toků byl použit program Microsoft Excel (verze 2019). Tento program byl použit i pro znázornění velikostní distribuce ulovených pstruhů obecných.

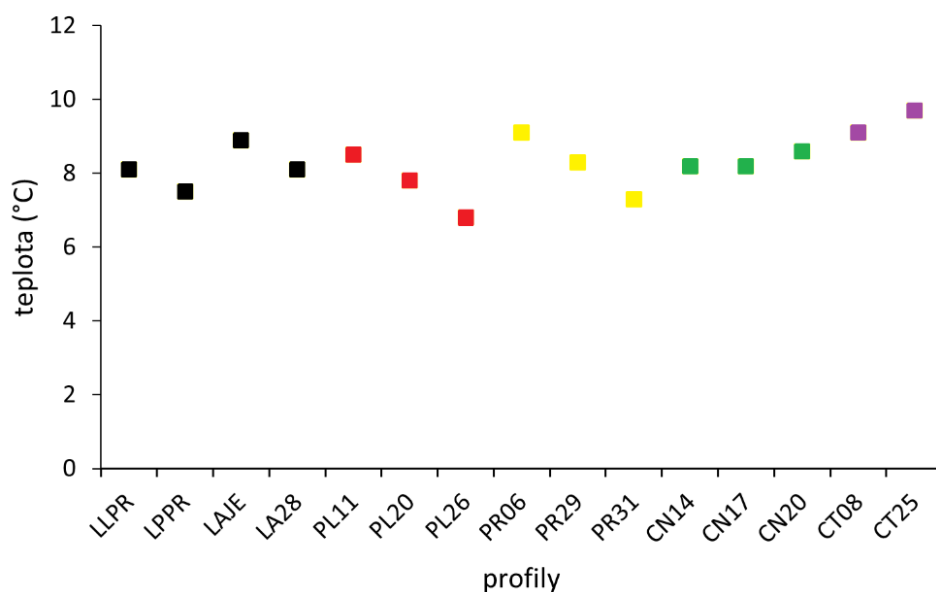
Pro statistické vyhodnocení environmentálních dat byla použita hierarchická analýza variance (ANOVA). Data, u kterých bylo zjištěno, že nebyla blízka normálnímu rozložení, byla logaritmičsky transformována. Pro statistické vyhodnocení dat získaných z elektrolovu a lovu na umělou mušku byla nejprve převedena skutečná délka ryb na standardizovaný frekvenční histogram velikostních skupin (0-100) v rozmezí 20-310 mm, s krokem 5 mm. K testování párových rozdílů vždy mezi dvěma oblastmi jezer navzájem byl použit Wilcoxonův test. Tento test byl také využit při testování rozdílu ve velikostní distribuci ulovených jedinců pstruha mezi územím NP a CHKO. Vyhodnocení bylo provedeno v programu R (verze 4.0.3, R Core Team 2021).

Vyhodnocování genotypů bylo provedeno v bioinformatickém softwaru Geneious Prime (verze 2019.0.4., Biomatters Ltd, Auckland, Nový Zéland). Základní populačně genetické charakteristiky byly vyhodnoceny v programu GenAIEx 6.51b2 (Peakall a Smouse 2006, 2012). Ve stejném programu byla provedena i analýza molekulární variance (AMOVA), analýza hlavních komponent (PCoA) a tzv. assignment test. V programu Structure (verze 2.3.3) a ve webové aplikaci Pophelper (Francis, 2017) byla provedena analýza, která simuluje různý počet populací a následně do nich přiřazuje jednotlivé analyzované jedince.

5. Výsledky

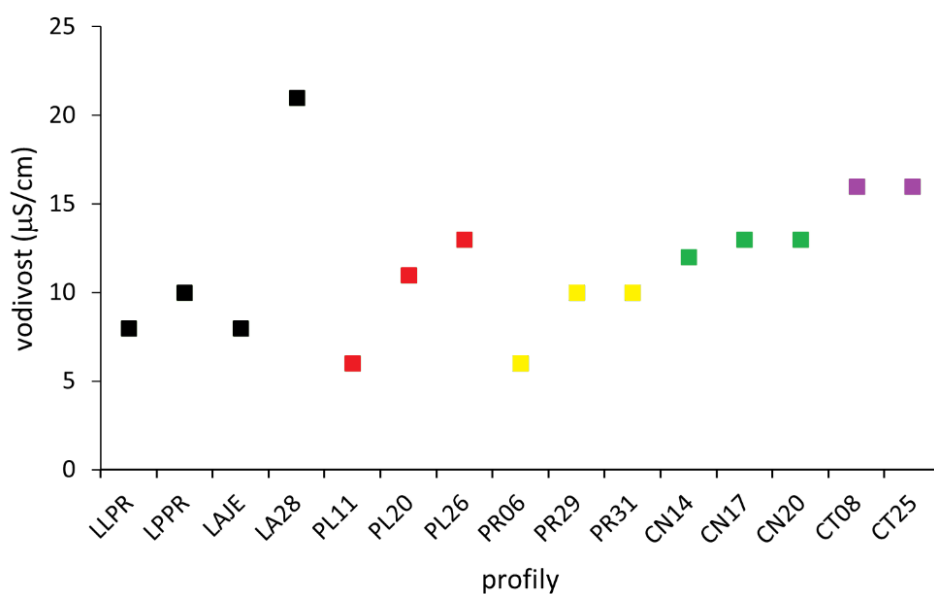
5.1 Environmentální charakteristika zkoumaných toků

Naměřené hodnoty teploty vody se na studovaných profilech mezi oblastmi jednotlivých šumavských jezer průkazně nelišily (ANOVA, $F_{4,9} = 2,12$, $p = 0,16$). Z obrázku 25 také vyplývá, že se teplota držela v přibližném rozmezí 6 až 10 °C, s nejvyššími hodnotami v oblasti jezera Čertova.



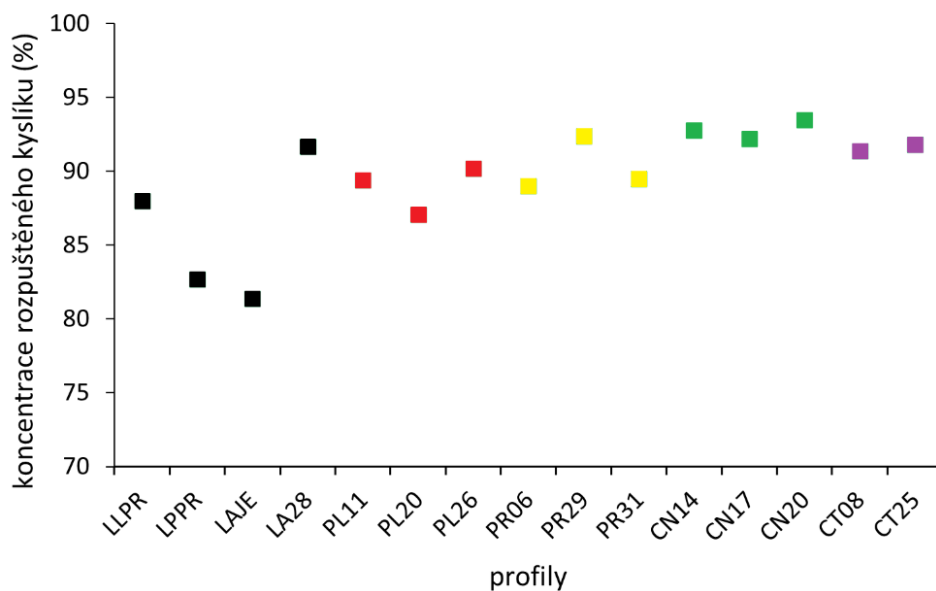
Obrázek 25: Naměřené hodnoty teploty vody na studovaných profilech; levostranný přítok do jezera Laka (LLPR), pravostranný přítok do jezera Laka (LPPR), jezero Laka (LAJE), Jezerní p. 2,8 km od j. Laka (LA28), Jezerní p. 1,1 km od Plešného j. (PL11), Jezerní p. 2,0 km od Plešného j. (PL20), Jezerní p. 2,6 km od Plešného j. (PL26), Jezerní p. 0,6 km od Prášilského j. (PR06), Jezerní p. 2,9 km od Prášilského j. (PR29), Jezerní p. 3,1 km od Prášilského j. (PR31), Černý p. 1,4 km od Černého j. (CN14), Černý p. 1,7 km od Černého j. (CN17), Černý p. 2,0 km od Černého j. (CN20), Jezerní p. 0,8 km od Čertova j. (CT08), Jezerní p. 2,5 km od Čertova j. (CT25).

Naměřené hodnoty vodivosti vody se na studovaných lokalitách mezi oblastmi jednotlivých šumavských jezer statisticky průkazně lišily (ANOVA, $F_{4,9} = 5,99$, $p < 0,05$). Na většině lokalit se hodnoty vodivosti směrem po proudu zvyšovaly, výjimkou jsou oblasti Prášílského a Čertova jezera (obrázek 26).



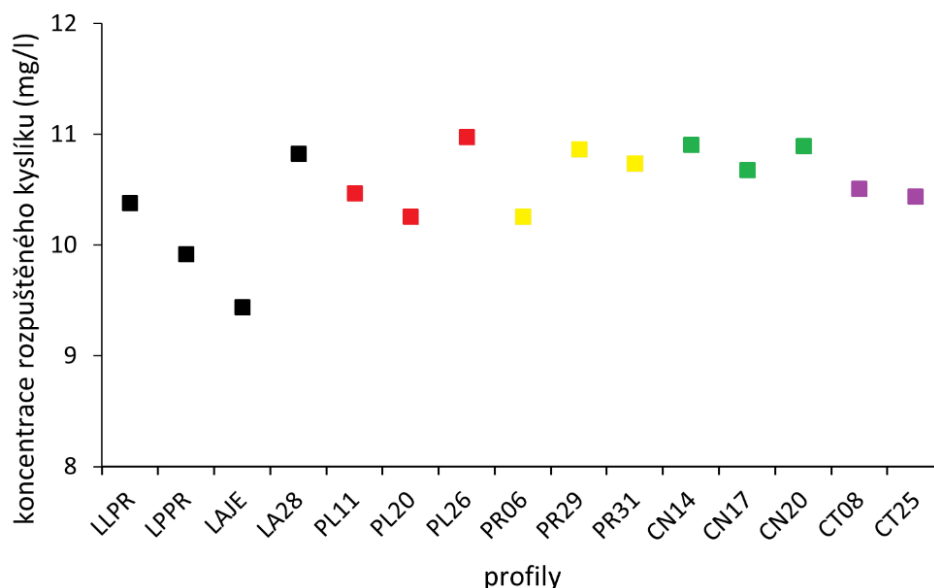
Obrázek 26: Naměřené hodnoty vodivosti vody na studovaných profilech; levostranný přítok do jezera Laka (LLPR), pravostranný přítok do jezera Laka (LPPR), jezero Laka (LAJE), Jezerní p. 2,8 km od j. Laka (LA28), Jezerní p. 1,1 km od Plešného j. (PL11), Jezerní p. 2,0 km od Plešného j. (PL20), Jezerní p. 2,6 km od Plešného j. (PL26), Jezerní p. 0,6 km od Prášílského j. (PR06), Jezerní p. 2,9 km od Prášílského j. (PR29), Jezerní p. 3,1 km od Prášílského j. (PR31), Černý p. 1,4 km od Černého j. (CN14), Černý p. 1,7 km od Černého j. (CN17), Černý p. 2,0 km od Černého j. (CN20), Jezerní p. 0,8 km od Čertova j. (CT08), Jezerní p. 2,5 km od Čertova j. (CT25).

Naměřené hodnoty procentuálního nasycení vody kyslíkem se mezi studovanými lokalitami v oblasti šumavských jezer statisticky průkazně nelišily (ANOVA, $F_{4,9} = 2,66$, $p = 0,10$). Z obrázku 27 je patrné, že naměřené hodnoty jsou vyrovnané a nebyla zaznamenána žádná odchýlená hodnota.



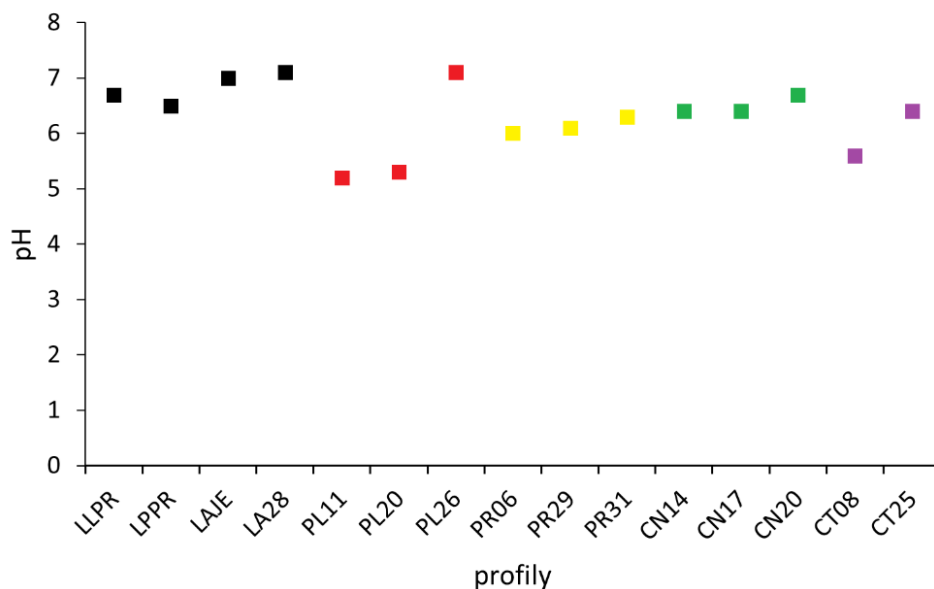
Obrázek 27: Naměřené hodnoty procentuálního nasycení vody kyslíkem na studovaných profilech; levostranný přítok do jezera Laka (LLPR), pravostranný přítok do jezera Laka (LPPR), jezero Laka (LAJE), Jezerní p. 2,8 km od j. Laka (LA28), Jezerní p. 1,1 km od Plešného j. (PL11), Jezerní p. 2,0 km od Plešného j. (PL20), Jezerní p. 2,6 km od Plešného j. (PL26), Jezerní p. 0,6 km od Prášilského j. (PR06), Jezerní p. 2,9 km od Prášilského j. (PR29), Jezerní p. 3,1 km od Prášilského j. (PR31), Černý p. 1,4 km od Černého j. (CN14), Černý p. 1,7 km od Černého j. (CN17), Černý p. 2,0 km od Černého j. (CN20), Jezerní p. 0,8 km od Čertova j. (CT08), Jezerní p. 2,5 km od Čertova j. (CT25).

Naměřené hodnoty koncentrace rozpuštěného kyslíku ve vodě se mezi studovanými lokalitami v oblasti šumavských ledovcových jezer statisticky průkazně nelišily (ANOVA, $F_{4,9} = 1,06$, $p = 0,43$). Z obrázku 28 je patrné, že naměřené hodnoty jsou vyrovnané a nebyla zaznamenána žádná odchýlená hodnota.



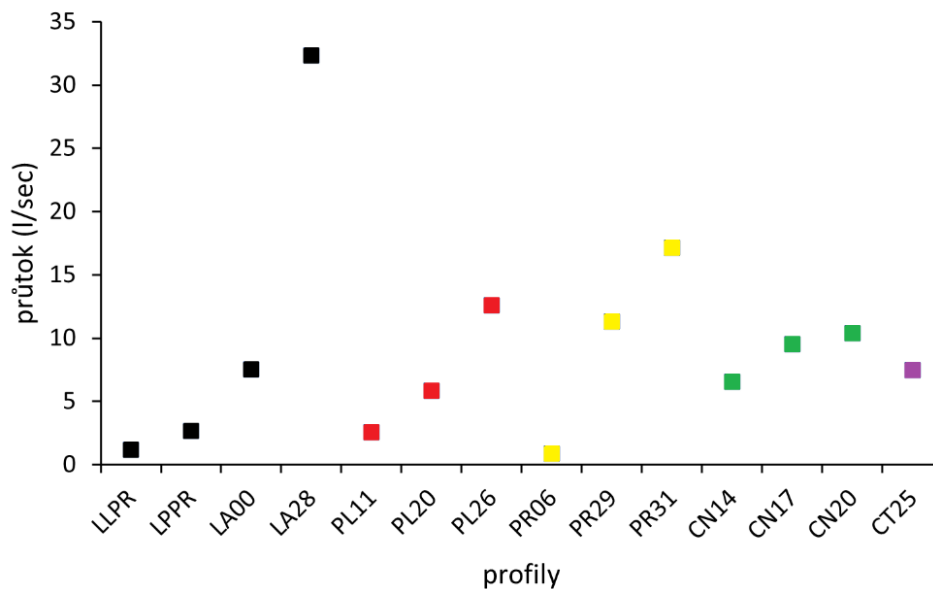
Obrázek 28: Naměřené hodnoty koncentrace rozpuštěného kyslíku ve vodě na studovaných profilech; levostranný přítok do jezera Laka (LLPR), pravostranný přítok do jezera Laka (LPPR), jezero Laka (LAJE), Jezerní p. 2,8 km od j. Laka (LA28), Jezerní p. 1,1 km od Plešného j. (PL11), Jezerní p. 2,0 km od Plešného j. (PL20), Jezerní p. 2,6 km od Plešného j. (PL26), Jezerní p. 0,6 km od Prášilského j. (PR06), Jezerní p. 2,9 km od Prášilského j. (PR29), Jezerní p. 3,1 km od Prášilského j. (PR31), Černý p. 1,4 km od Černého j. (CN14), Černý p. 1,7 km od Černého j. (CN17), Černý p. 2,0 km od Černého j. (CN20), Jezerní p. 0,8 km od Čertova j. (CT08), Jezerní p. 2,5 km od Čertova j. (CT25).

Naměřené hodnoty pH se mezi jednotlivými oblastmi šumavských jezer statisticky průkazně nelišily (ANOVA, $F_{4,9} = 3,28$, $p = 0,06$). Z obrázku 29 je patrné, že ve většině případů hodnoty pH narůstaly po proudu, výjimkou je oblast Černého jezera.



Obrázek 29: Naměřené hodnoty pH vody na studovaných profilech; levostranný přítok do jezera Laka (LLPR), pravostranný přítok do jezera Laka (LPPR), jezero Laka (LAJE), Jezerní p. 2,8 km od j. Laka (LA28), Jezerní p. 1,1 km od Plešného j. (PL11), Jezerní p. 2,0 km od Plešného j. (PL20), Jezerní p. 2,6 km od Plešného j. (PL26), Jezerní p. 0,6 km od Prášilského j. (PR06), Jezerní p. 2,9 km od Prášilského j. (PR29), Jezerní p. 3,1 km od Prášilského j. (PR31), Černý p. 1,4 km od Černého j. (CN14), Černý p. 1,7 km od Černého j. (CN17), Černý p. 2,0 km od Černého j. (CN20), Jezerní p. 0,8 km od Čertova j. (CT08), Jezerní p. 2,5 km od Čertova j. (CT25).

Naměřené hodnoty průtoků se na studovaných profilech mezi jednotlivými oblastmi šumavských jezer statisticky průkazně lišily (ANOVA, $F_{4,8} = 8,13$, $p < 0,01$). Z obrázku 30 je patrná značná rozkolísanost mezi jednotlivými zjištěnými hodnotami v porovnání mezi oblastmi. Je zde však patrný trend rostoucího průtoku směrem po proudu.



Obrázek 30: Vypočtené hodnoty průtoků na studovaných profilech; levostranný přítok do jezera Laka (LLPR), pravostranný přítok do jezera Laka (LPPR), odtok z jezera Laka (LA00), Jezerní p. 2,8 km od j. Laka (LA28), Jezerní p. 1,1 km od Plešného j. (PL11), Jezerní p. 2,0 km od Plešného j. (PL20), Jezerní p. 2,6 km od Plešného j. (PL26), Jezerní p. 0,6 km od Prášilského j. (PR06), Jezerní p. 2,9 km od Prášilského j. (PR29), Jezerní p. 3,1 km od Prášilského j. (PR31), Černý p. 1,4 km od Černého j. (CN14), Černý p. 1,7 km od Černého j. (CN17), Černý p. 2,0 km od Černého j. (CN20), Jezerní p. 2,5 km od Čertova j. (CT25).

5.2 Odlov elektrickým agregátem a lov na umělou mušku

Celkem bylo v oblasti všech pěti šumavských ledovcových jezer v září a říjnu roku 2022 uloveno 244 jedinců pstruha obecného. Z tohoto počtu bylo 57 jedinců uloveno při lovu umělou muškou v jezeře Laka. Tato metoda je zde spojena s výsledky elektrolovu zejména díky tomu, aby byla zahrnuta oblast jezera Laka jako celku, tj. přítoky, jezero i tok pod ním. Na tom lze tak vhodně demonstrovat populační strukturu celé oblasti. Konkrétní počet ulovených pstruhů v oblasti jednotlivých jezer je uveden v tabulce 12. Velikostní distribuce a početnost jsou uvedeny na obrázku 31 pro oblast každého jezera zvlášť

Po provedení statistického vyhodnocení úlovků pstruhů obecných mezi oblastmi jednotlivých šumavských jezer lze konstatovat, že se velikostní distribuce mezi jednotlivými jezery statisticky průkazně nelišily, viz tabulka 11 s hodnotami průkaznosti pro každý pár testovaných oblastí jezer. Nejpodobnější velikostní distribuce byla mezi oblastmi Plešného a Prášílského jezer ($p = 1,00$). Nejvíce odlišné byly oblasti jezera Černého a Laka ($p = 0,249$) a rovněž jezera Laka a Plešného ($p = 0,280$).

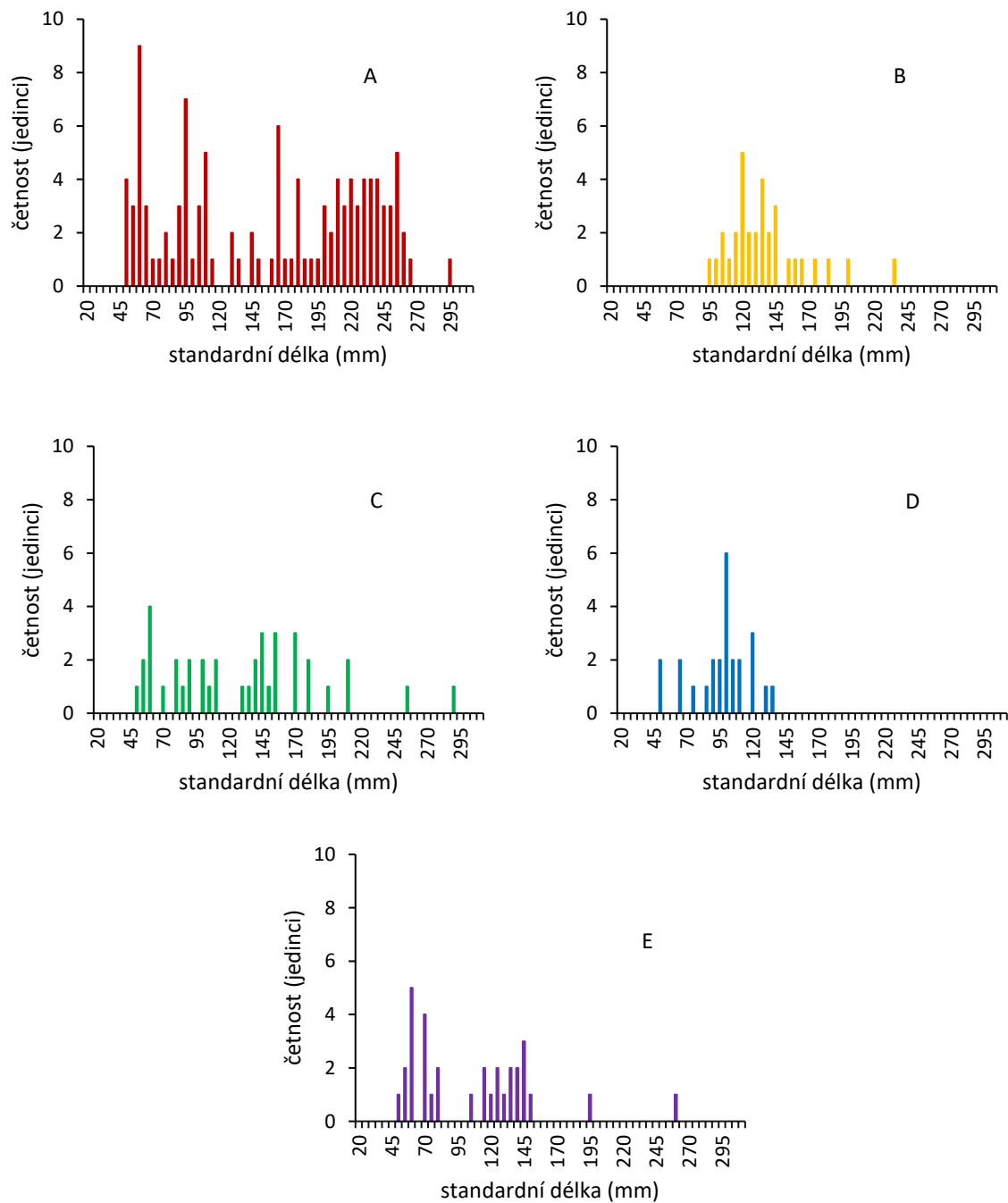
Tabulka 11: Hodnoty průkaznosti Wilcoxonova párového testu pro velikostní distribuci pstruhů obecných v oblastech šumavských ledovcových jezer pod diagonálou, nad ní hodnoty Wilcoxonova testu.

	Laka	Plešné	Prášílské	Černé	Čertovo
Laka	*	614	537	544	545
Plešné	0,280	*	264	145	149
Prášílské	0,628	1,00	*	184	179
Černé	0,249	0,843	0,839	*	135
Čertovo	0,567	0,749	0,819	0,939	*

Pro ověření hypotézy H3 byly též testovány rozdíly ve velikostní distribuci mezi oblastí NP zahrnující jezera Laka, Plešné a Prášílské a oblastí CKO zahrnující Černé a Čertovo jezero. Bylo zjištěno, že se velikostní distribuce pstruhů mezi územím NP a CHKO statisticky průkazně nelišila ($V = 590$, $p = 0,592$).

Velikostní distribuce ulovených pstruhů obecných (obrázek 31) se pohybovala v rozmezí 50 až 295 mm standardní délky. Nejvíce tohoročních jedinců pstruha bylo uloveno v oblasti jezera Laka, konkrétně v přítocích do jezera. Největší jedinci (maximální standardní délka 295 mm) se vyskytovali též v oblasti jezera Laka, kdy šlo o jedince ulovené v samotném jezeře pomocí umělé mušky. V téže oblasti bylo také uloveno nejvíce jedinců. U profilů, které byly proloveny dvakrát za sebou byla vypočtena standardizovaná početnost jedinců na 100 m² toku, kdy byla brána v potaz nižší početnost ryb ulovených během druhého odlovu, podle metody

Leslieho a Davise (1939), viz tabulka 12. Nejvyšší standardizovaná početnost byla zjištěna na profilu Černý potok 2,0 km od Černého jezera při ústí do řeky Úhlavy, a to 98 jedinců pstruha obecného na 100 m² toku. Naopak nejnižší standardizovanou početnost se podařilo zaznamenat na profilu Jezerní potok 1,5 km od Prášilského jezera, a to 6 jedinců pstruha na 100 m² toku.



Obrázek 31: Souhrnná velikostní distribuce a početnost ulovených jedinců pstruha obecného; A – oblast jezera Laka, B – oblast Plešného jezera, C – oblast Prašilského jezera, D – oblast Černého jezera, E – oblast Čertova jezera.

Tabulka 12: Počty ulovených pstruhů obecných a jejich standardizovaná početnost na všech lokalitách; v poznámce uveden způsob lovu, nebo označení profilů bez ulovených ryb.

Oblast jezera	Kód	Popis lokality	Počet jedinců	Stand. početnost na 100 m ² toku	Pozn.
Laka	LAJE	volná voda jezera Laka	57	-	muška
Laka	LLPR	levý přítok do jezera Laka	18	-	
Laka	LPPR	pravý přítok do jezera Laka	8	-	
Laka	LA28	Jezerní potok 2,8 km od jezera Laka	34	25	
Plešné	PL26	Jezerní potok 2,6 km od Plešného jezera	29	15	
Plešné	PL20	Jezerní potok 2,0 km od Plešného jezera	1	-	
Plešné	PL11	Jezerní potok 1,1 km od Plešného jezera	2	-	
Plešné	PL00	odtok z Plešného jezera	-	-	bez ryb
Prášilské	PR31	Jezerní potok 3,1 km od Prášilského jezera	6	-	
Prášilské	PR29	Jezerní potok 2,9 km od Prášilského jezera	14	16	
Prášilské	PR15	Jezerní potok 1,5 km od Prášilského jezera	11	6	
Prášilské	PR06	Jezerní potok 0,6 km od Prášilského jezera	8	15	
Černé	CN20	Černý potok 2,0 km od Černého jezera, ústí do Úhlavy	23	98	
Černé	CN17	Černý potok 1,7 km od Černého jezera	2	-	
Černé	CN14	Černý potok 1,4 km od Černého jezera	-	-	bez ryb
Černé	CN10	Černý potok 1,0 km od Černého jezera	-	-	bez ryb
Čertovo	CT25	Jezerní potok 2,5 km od Čertova jezera	29	36	
Čertovo	CT13	Jezerní potok 1,3 km od Čertova jezera	3	-	
Čertovo	CT08	Jezerní potok 0,8 km od Čertova jezera	-	-	bez ryb
Laka celkem		116 jedinců			
Plešné celkem		32 jedinců			
Prášilské celkem		39 jedinců			
Černé celkem		25 jedinců			
Čertovo celkem		32 jedinců			

5.3 Genetické analýzy

Celkem bylo genetickým analýzám podrobena 199 vzorků jedinců pstruha obecného z devíti odlišných oblastí (populací). K populacím z oblastí šumavských ledovcových jezer byly jako kontrolní vzorky přidány vzorky jedinců pocházejících z geograficky odlehlých oblastí a domestikovaných linií: dvě generační hejna z Pstruhařství ČRS Kaplice spol. s r. o. (Kaplice 1 a Kaplice 2), ze sádek Sdružení Lota (Strážný potok) a z rybí líhně Vazovec u Turnova. Konkrétní počet jedinců z konkrétní populace je patrný z tabulky 13.

Tabulka 13: Počet analyzovaných vzorků z jednotlivých oblastí, v závorce kódové označení oblasti.

Oblast (populace)	Počet vzorků (jedinci)
Černé (CN)	24
Čertovo (CT)	24
Kaplice 1 (P)	20
Plešné (PL)	23
Prášílské (PR)	20
Laka (L)	22
Kaplice 2 (K)	20
Strážný potok (S)	23
Turnov (TU)	23
9 oblastí	199 vzorků (jedinců)

5.3.1 Charakteristika analyzovaných mikrosatelitních lokusů

Byly analyzovány mikrosatelitní lokusy, které jsou uvedené v tabulce 9. V tabulce 14 jsou uvedeny jednotlivé analyzované lokusy i s počtem zjištěných alel. Z této tabulky je patrné, že nejvyšší počet alel (tj. nejvyšší polymorfismus) se vyskytoval v lokusu TRU7 (21 alel). Nejméně alel bylo naopak zaznamenáno v lokusu TRU5 (3 alely). Zároveň lze konstatovat, že všechny studované lokusy byly polymorfnní, tj. četnost žádné z alel nedosahovala 95 %.

Tabulka 14: Analyzované mikrosatelitní lokusy s počtem jejich alel.

Lokus	Počet alel
TRU2	7
TRU3	13
TRU4	10
TRU5	3
TRU7	21
TRU8	9
TRU9	13
TRU10	17
TRU11	14
TRU12	22

5.3.2 Charakteristika analyzovaných populací

Tabulka 15 shrnuje základní populačně genetické charakteristiky jednotlivých studovaných populací: průměrný počet alel na lokus (A), počet privátních alel na jednotlivé populace (A_{pr}), očekávaná (H_E) a pozorovaná (H_O) heterozygotnost.

Nejvyšší průměrný počet alel na lokus byl zaznamenán u populace pstruhů pocházejících z generačního hejna kaplického rybářství (Kaplice 1), a to 8,100. Naopak nejnižší průměrný počet alel na lokus byl pozorován u populace pstruhů z oblasti Černého jezera, a to 4,700. Nejvíce privátních alel se vyskytovalo u populace pstruhů ze Strážného potoka (8 alel) a z Turnova (7 alel). Populace pstruhů z oblasti jezera Laka neměla ani jednu privátní alelu. Pozorovaná heterozygotnost se pohybovala v rozmezí 0,590 (Černé jezero) až 0,776 (Kaplice 1). Očekávaná heterozygotnost se pohybovala v rozmezí 0,590 (Laka) až 0,737 (Kaplice 1).

Tabulka 15: Přehled základních analyzovaných charakteristik populací; průměrný počet alel na lokus (A), počet privátních alel na jednotlivé populace (A_{pr}), očekávaná (H_E) a pozorovaná (H_O) heterozygotnost.

Oblast (populace)	A	A_{pr}	H_O	H_E
Černé (CN)	4,700	1	0,590	0,630
Čertovo (CT)	6,900	1	0,679	0,692
Kaplice 1 (P)	8,100	2	0,776	0,737
Plešné (PL)	5,300	3	0,666	0,660
Prášilské (PR)	6,700	3	0,690	0,634
Laka (L)	4,900	0	0,607	0,590
Kaplice 2 (K)	8,000	3	0,690	0,709
Strážný potok (S)	6,700	8	0,649	0,627
Turnov (TU)	6,200	7	0,680	0,659

V tabulce 16 jsou shrnuty hodnoty párového fixačního indexu (F_{ST}) a Neiovy genetické vzdálenosti. Pod diagonálou jsou uvedeny hodnoty F_{ST} , které se pohybovaly v rozmezí od 0,017 (Kaplice 1 vs. Kaplice 2) do 0,092 (Strážný p. vs. Laka, Strážný p. vs. Plešné). Nad diagonálou jsou vypočtené hodnoty Neiovy genetické vzdálenosti, které se nacházely v rozmezí od 0,098 (Kaplice 1 vs. Kaplice 2) do 0,413 (Plešné vs. Strážný p.).

Tabulka 16: Párové hodnoty fixačního indexu F_{ST} (pod diagonálou) a Neiovy genetické vzdálenosti (nad diagonálou).

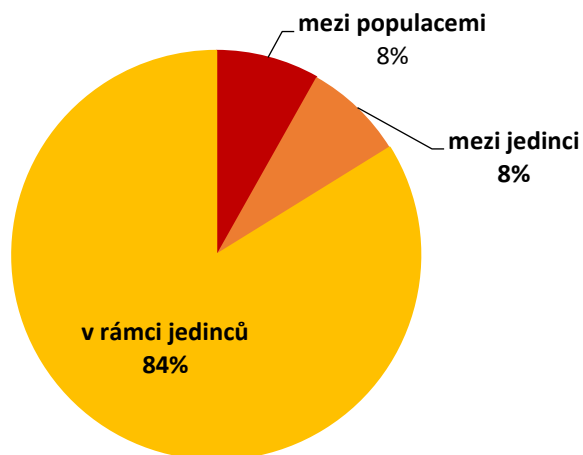
	Černé (CN)	Čertovo (CT)	Kaplice 1 (P)	Plešné (PL)	Prášílské (PR)	Laka (L)	Kaplice 2 (K)	Strážný p. (S)	Turnov (TU)
Černé (CN)	*	0,194	0,282	0,310	0,252	0,348	0,367	0,287	0,345
Čertovo (CT)	0,042	*	0,165	0,225	0,121	0,237	0,239	0,269	0,230
Kaplice 1 (P)	0,053	0,028	*	0,239	0,197	0,232	0,098	0,213	0,172
Plešné (PL)	0,065	0,043	0,043	*	0,238	0,245	0,401	0,413	0,295
Prášílské (PR)	0,058	0,027	0,041	0,052	*	0,186	0,309	0,290	0,259
Laka (L)	0,084	0,055	0,053	0,059	0,047	*	0,299	0,376	0,234
Kaplice 2 (K)	0,066	0,039	0,017	0,069	0,058	0,064	*	0,246	0,150
Strážný p. (S)	0,063	0,061	0,048	0,092	0,069	0,092	0,053	*	0,219
Turnov (TU)	0,069	0,044	0,034	0,061	0,055	0,055	0,029	0,051	*

Dále bylo ověřováno, zda jsou studované populace v Hardy-Weinbergově rovnováze. V naprosté většině lokusů nebyla Hardy-Weinbergova rovnováha narušena. Výjimku však představovaly čtyři lokusy uvedené v následující tabulce 17. K těmto případům patřil lokus TRU10 z oblasti Kaplice 1, lokus TRU7 z oblasti Plešného jezera a lokusy TRU9 a TRU11 z oblasti jezera Laka.

Tabulka 17: Lokusy odchylovající se od Hardy-Weinbergovy rovnováhy.

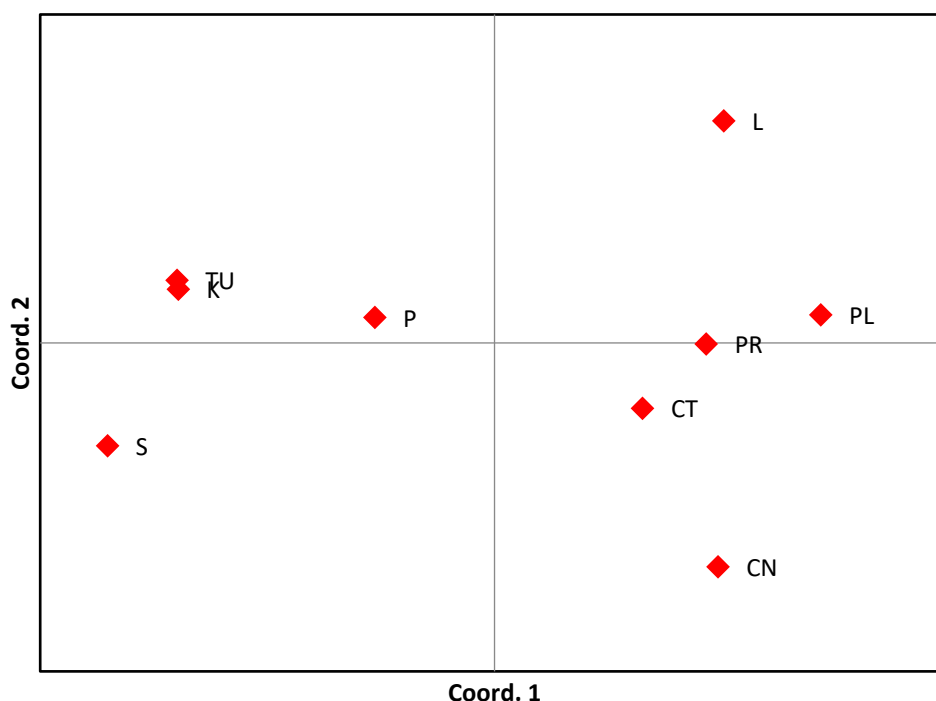
Oblast (populace)	Lokus	Stupně volnosti	ChiSq	Významnost
Kaplice 1 (P)	TRU10	21	36,353	$p < 0,05$
Plešné (PL)	TRU7	55	74,831	$p < 0,05$
Laka (L)	TRU9	15	51,827	$p < 0,001$
Laka (L)	TRU11	28	56,433	$p < 0,01$

Pomocí analýzy molekulární variance (AMOVA) byl zjišťován podíl variability mezi jedinci, mezi populacemi a v rámci populací. Výsledky této analýzy jsou shrnuty na obrázku 32. Z obrázku 32 je patrné, že naprostá většina variability (84 %) je v rámci jedinců napříč všemi populacemi. Mezi populacemi a mezi jedinci vyšla variabilita shodně 8 %.



Obrázek 32: Výsledek analýzy molekulární variance znázorňující zjištěné podíly genetické variability.

Obrázek 33 ukazuje graf, který byl vytvořen metodou analýzy hlavních komponent (PCoA). Jako zdroj dat pro tuto analýzu sloužily párové hodnoty fixačního indexu (F_{ST}). Z obrázku je patrné zřetelné odlišení populací pocházejících z oblasti šumavských ledovcových jezer (označení CN, CT, PL, L, PR) od pstruhů pocházejících z odlehlých či domestikovaných populací (označení P, K, S, TU).

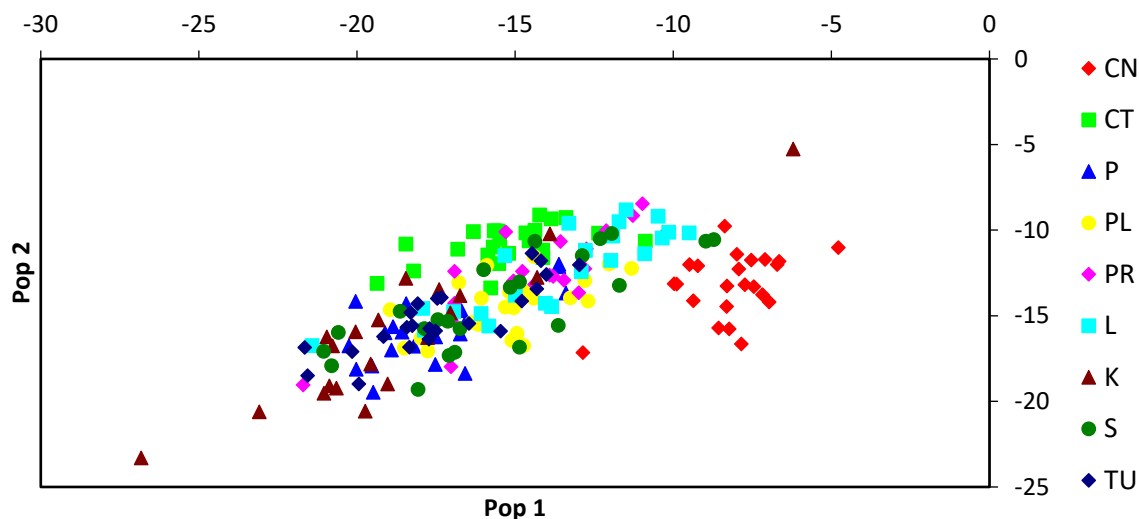


Obrázek 33: Grafické zobrazení vzdáleností jednotlivých studovaných populací mezi sebou, pro výpočet byly užity párové hodnoty fixačního indexu; označení populací: Černé (CN), Čertovo (CT), Kaplice 1 (P), Plešné (PL), Prášílské (PR), Laka (L), Kaplice 2 (K), Strážný p. (S), Turnov (TU).

Dále byla provedena analýza, která přiřazovala jednotlivé studované jedince do konkrétních studovaných populací (tzv. assignment test). Tato metoda porovnává genotyp každého jedince s frekvencemi alel v každé populaci a přiřazuje jedince do populace, ve které se jeho genotyp bude vyskytovat nejpravděpodobněji. Výsledky v textové podobě shrnuje tabulka 18. Výsledek této analýzy v grafické podobě je patrný na obrázku 34. Z tabulky 18 je patrné, že podle této analýzy nejvíce izolované populace pocházely z oblasti Černého a Plešného jezera. Úspěšnost přiřazení v případě těchto jezer činila 96 %, respektive 100 %. Naopak k nejvíce smíšeným populacím patřili jedinci pocházející z oblastí Kaplice 1 a Kaplice 2, kdy v obou případech byla úspěšnost přiřazení k vlastním populacím 55 %. Celková úspěšnost přiřazení do vlastní populace pak byla 80 %.

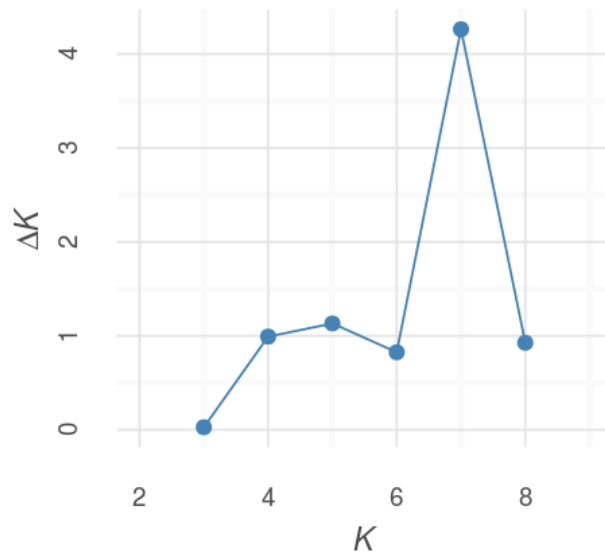
Tabulka 18: Shrnutí analýzy přiřazování jedinců do konkrétních populací (tzv assignment test) včetně procentuální úspěšnosti přiřazení k vlastní populaci; označení populací: Černé (CN), Čertovo (CT), Kaplice 1 (P), Plešné (PL), Prášílské (PR), Laka (L), Kaplice 2 (K), Strážný p. (S), Turnov (TU).

Oblast (populace)	Vlastní populace	Jiná populace	Procent. úspěšnost přiřazení k vl. pop.	Přiřazená populace
Černé (CN)	23	1	96 %	1x CT
Čertovo (CT)	19	5	79 %	3x PR, 1x CN, 1x P
Kaplice 1 (P)	11	9	55 %	1x PR, 5x K, 1x S, 1x L, 1x TU
Plešné (PL)	23		100 %	
Prášílské (PR)	16	4	80 %	3x L, 1x CT
Laka (L)	18	4	82 %	2x PL, 2x PR
Kaplice 2 (K)	11	9	55 %	7x P, 2x TU, 1x PL, 1x TU, 1x CT
Strážný p. (S)	20	3	87 %	
Turnov (TU)	19	4	83 %	2x P, 1x CT, 1x S
Celkem	160	39		
Procentuální podíl	80 %	20 %		

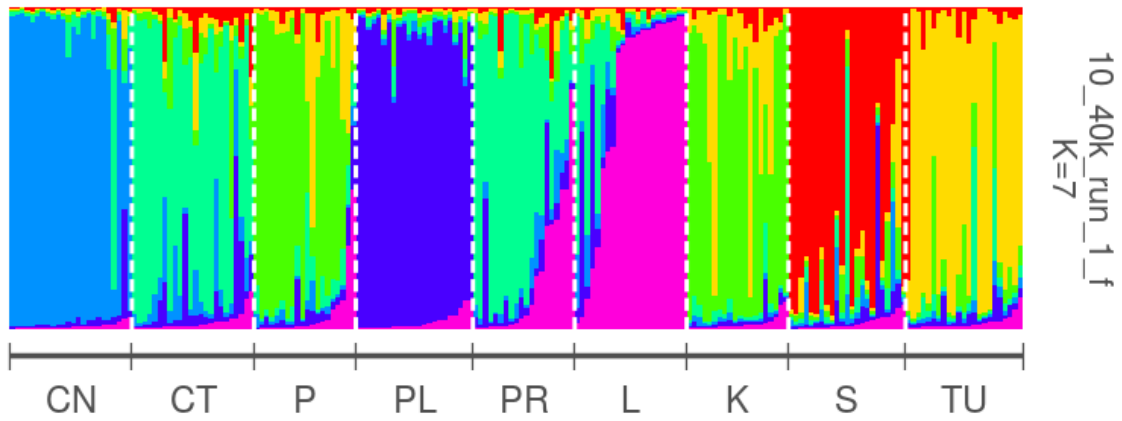


Obrázek 34: Grafické shrnutí analýzy přiřazování jedinců do konkrétních populací (tzv. assignment test); označení populací: Černé (CN), Čertovo (CT), Kaplice 1 (P), Plešné (PL), Prášílské (PR), Laka (L), Kaplice 2 (K), Strážný p. (S), Turnov (TU).

Po provedení analýzy v programu Structure (verze 2.3.3) pomocí MCMC algoritmu s 40 000 a burn-in period 10 000 permutacemi byly výsledky těchto výpočtů vloženy do webové aplikace Pophelper (Francis, 2017). V této aplikaci bylo hledáno ideální K , tudíž ukazatel „skutečného“ počtu studovaných populací, kdy se tento parametr stanovuje z pravděpodobností pro jednotlivé modely. Po nastavení rozmezí pro hledané K od dvou do devíti možných populací a provedení výpočtů, lze konstatovat, že ideálnímu počtu populací odpovídá $K = 7$, viz obrázek 35. Na obrázku 36 lze vidět grafické zpracování této analýzy. Populace pstruhů z generačního hejna Kaplice 1 (P) a generačního hejna Kaplice 2 (K) jsou víceméně totožné. Populace z oblasti Čertova jezera a Prášílského jezera si jsou též blízké.



Obrázek 35: Grafický výsledek hledání ideálního K (ideálního počtu populací).



Obrázek 36: Příslušnost analyzovaných jedinců do jednotlivých studovaných populací, pro $K = 7$; označení populací: Černé (CN), Čertovo (CT), Kaplice 1 (P), Plesné (PL), Prášílské (PR), Laka (L), Kaplice 2 (K), Strážný p. (S), Turnov (TU).

6. Diskuse

Pstruzi obecní aktuálně kolonizují oblasti pod všemi šumavskými ledovcovými jezery. Z velikostní distribuce ulovených jedinců navíc vyplývá, že se v těchto oblastech i přirozeně rozmnožují. Pozitivním zjištěním je výskyt prosperující populace pstruha obecného v jezeře Laka. Návrat pstruhů do zbývajících jezer je z mnoha důvodů, které budou rozvinuty níže, spíše nepravděpodobný. Z genetických analýz navíc v porovnání s domestikovanými populacemi vyplývá určitá izolovanost a soudružnost populací pstruha obecného z oblastí jednotlivých šumavských jezer.

6.1 Environmentální charakteristiky toků

Teplota vody má zásadní vliv na růst a přežití pstruhů obecných ve vodních tocích (Elliot a Elliot, 2010). Z literatury vyplývá, že pstruh obecně preferuje spíše chladnější toky (Armstrong a kol., 2003), kdy se teplotní optimum pohybuje v rozmezí mezi 14 až 20 °C (Ojanguren a kol., 2001). Naměřené hodnoty teploty se v tomto rozmezí nacházejí. Letální hodnota teploty vody pro pstruha je 24,7 °C (Elliot, 2000). Ani tato hodnota nebyla na žádném ze studovaných profilů naměřena. Z těchto faktů lze konstatovat, že co se týče teploty, mají pstruzi obecní v oblasti všech studovaných lokalit vhodné podmínky pro svůj život. Během této práce probíhalo měření teploty pouze jednou za sledované období, a to na podzim. Z hlediska vývoje teploty je právě období monitoringu klíčové. Z předchozí studie (Hůda, 2022) je patrné, že během letních měsíců teplota vody v tocích výrazněji roste. Naopak pramenné oblasti či oblasti výše po toku mívají teplotu stabilní po celý rok (Hůda, 2022). Dále bylo zjištěno, že na celkový charakter průběhu teploty má vliv jezero, které se během letních měsíců ohřeje a zásobuje tak tok teplejší vodou (Hůda, 2022). Obecně důležitým faktorem, který má vliv na teplotu vody v tocích, je sluneční záření (Łaszewski, 2013). Proto se v případě zastíněných profilů může voda v tocích opět v porovnání s nezastíněnými profily ochladit, tudíž naměřené hodnoty teploty mohou být nižší.

Koncentrace všech rozpuštěných iontů ve vodě se označuje jako vodivost. Vodivost vody má klíčový vliv na to, s jakou úspěšností bude probíhat lov elektrickým agregátem (Bednář a kol., 2013). Kromě toho může vodivost vody do určité míry sloužit jako indikátor oživení toku (Thompson a kol., 2012). Vodivost toku je ovlivňována jak přirozenými procesy v prostředí, tak i antropogenní činností (Morgan a kol., 2012). Jevy jako jsou například průchod vody zatrubněným úsekem, únik odpadních vod, nebo splach solí ze silnic přispívají ke zvýšení vodivosti vody v tocích (Morgan a kol., 2012). Jelikož se studované profily nacházejí (až na výjimku lokality Jezerní potok 2,5 km od Čertova jezera) v nezastavěných

plochách na území CHKO či NP, může právě jejich poloha přispívat k nižším naměřeným hodnotám vodivosti. Elektrická vodivost vody je ovlivněna i podložím. Podloží oblastí šumavských jezer je tvořeno metamorfovanými a krystalickými horninami (Vrba a kol., 2015). Tyto horniny mají nižší tendenci k uvolňování iontů do vody a toky na tomto podloží tak mají v porovnání například s karbonátovými horninami nižší elektrickou vodivost (Reid a kol., 1993). Toto může být další faktor, který vysvětluje fakt, že je v oblasti ledovcových jezer elektrická vodivost vody celkově spíše nižší.

Dalším klíčovým faktorem, který ovlivňuje život pstruha obecného v tocích, je množství rozpuštěného kyslíku (Baruš a Oliva, 1995). V literatuře se jako letální hodnota koncentrace kyslíku uvádí 4,59 mg/l (Davis, 1975). Této hodnotě se žádný ze studovaných profilů nepřiblížil, neboť se naměřené hodnoty nacházely v rozmezí 9-11 mg/l. Ve vhodném rozmezí (alespoň 80 %) (Crisp, 1993) se na všech profilech pohybovaly i naměřené hodnoty procentuálního nasycení vody kyslíkem. Naměřené hodnoty odpovídají charakteru prostředí, jelikož horní části toků jsou díky nižším teplotám charakteristické právě vysokým obsahem a dobrou dostupností rozpuštěného kyslíku (Jacobsen a kol., 2003). Stejně jako v případě teploty vody v tocích, závisí i hodnoty zjištěného obsahu kyslíku na studovaném období. V teplých obdobích mohou být zaznamenány nižší hodnoty, jako v případě předchozí studie z oblasti šumavských jezer (Hůda, 2022). Dalším významným faktorem je morfologie (tůňe a peřejnaté úseky) a další vlastnosti toku, jako např. teplota vzduchu, fotosyntéza nebo respirace (Ketabchy a kol., 2023).

Neméně důležitým, a pro oblast Šumavy velmi diskutovaným, faktorem ovlivňujícím život pstruhů je pH. Pstruh obecný je, stejně jako další lososovité ryby, velmi náchylný k okyselení povrchových vod (Kroglund a kol., 2008). Letální hodnoty pH pro pstruha se uvádí jako nižší než 4,0 a vyšší než 9,5-10,0 (Crisp, 2000). Během aktuálního výzkumu se nejnižší naměřené hodnoty pH nedostaly pod hodnotu 5,0. V případě pH se nabízí porovnání aktuálních dat s předešlou studií z oblastí jezera Laka a jezera Čertova (Hůda, 2022). V říjnu 2022 se v oblasti jezera Laka pohybovaly naměřené hodnoty pH na stejných profilech jako v aktuální práci v rozmezí pH 6,0-7,1 a v oblasti Čertova jezera též na stejných profilech jako v aktuální práci v rozmezí pH 4,9-8,9 (Hůda, 2022). Z tohoto jednoduchého porovnání lze konstatovat, že nedošlo k zásadnímu poklesu hodnot pH toků a šumavská jezera a toky pod nimi se postupně obnovují z období acidifikace, která zde proběhla během druhé poloviny minulého století (Vrba a kol., 2016b). Vývoj hodnot pH ovlivňuje i jarní sněhové tání, které v některých případech může vést k poklesu hodnot pH v tocích (Herrmann a kol., 1993). Tento vliv může

být na lokální úrovni významný, jelikož i krátká epizoda okyselení může omezit přirozenou reprodukci pstruhů obecných (Herrmann a kol., 1993). S nízkými hodnotami pH však souvisí zvýšená přítomnost iontového reaktivního hliníku ve vodě (Kroglund a kol., 2008). Pro ryby je nejhorší kombinace nízkých hodnot pH a vysokého obsahu rozpuštěného reaktivního hliníku (Malcolm a kol., 2014). Kromě acidifikace oblast Šumavy v minulosti sužovala i kůrovcová kalamita (Vrba a kol., 2015). Tato skutečnost měla za následek odumírání smrkových porostů, které bylo nejsilnější v oblastech jezer Plešného, Prášilského a Laka (Vrba a kol., 2015). Pro ilustraci, v oblasti Plešného jezera odumřelo přibližně 90 % porostů smrku (Kopáček a kol., 2013). Zatímco nejméně zasažené oblasti byly v okolí Čertova a Černého jezera (Vrba a kol., 2015). Před touto kalamitou vykazovaly oblasti jezer obnovující se trend v chemismu vody, mimo jiné docházelo k nárůstu v hodnotách pH (Kopáček a kol., 2013). Ale právě odumření lesů v důsledku kůrovcových a větrných kalamit mělo za následek zpoždění procesů obnovy chemismu vody v zasažených oblastech (Kopáček a kol., 2013). Proto jsou i dnes stále oblasti, kde jsou hodnoty pH stále spíše nižší.

Vypočtené hodnoty průtoků vody na jednotlivých studovaných profilech jsou značně rozkolísané. Díky tomu, že směrem po proudu roste plocha povodí toků, lze očekávat, že dolní profily budou mít vyšší průtoky než profily v horních částech toků. Tento jednoduchý trend lze pozorovat ve všech oblastech jezer s výjimkou oblasti Čertova jezera, kde byl průtok zaznamenán pouze na jedné lokalitě. V současné době dochází globálně ke změnám ve vodních režimech toků, kdy dochází často ke snižování jejich průtoků (Arheimer a Lindstroem, 2019). Tyto změny jsou způsobeny nejen změnami ve využívání půdy v okolí vodních toků, zastavování záplavových území, ale i klimatickou změnou (Arheimer a Lindstoerm, 2019). Velkou kapitolou na Šumavě je také odvodňování, kdy skoro $\frac{3}{4}$ šumavských rašelinišť a mokřadů byly v minulosti odvodněny (Bufková, 2021). Významný podíl na tomto problému mělo intenzivnější využívání zemědělské půdy během minulého století (Bufková, 2021). Průtok vody a hloubka toku mají značný vliv na různá vývojová či velikostní stádia ryb (Tallaksen a van Lanen, 2004). Pstruh obecný pro svůj život v tekoucích vodách potřebuje hloubku alespoň 15 cm. Tato výška vody umožní pstruhům dobře překonávat překážky v tocích (Bell, 1986). Tato minimální hloubka byla na naprosté většině studovaných lokalit splněna. Výjimku představovaly přítoky do jezera Laka (hloubka 12 cm) a Jezerní potok 0,6 km od Prášilského jezera (hloubka 8 cm). Tato hloubka byla měřena jako průměrná reprezentující daný profil, který zahrnoval i hlubší části. Nepříznivý vliv nízkých průtoků je prokázán především pro tohotočinné jedince pstruha obecného, což souvisí s tím, že

tato stádia častěji využívají mělčí stanoviště (Elenius a kol., 2024). Starší jedinci jsou schopni na snížené průtoky reagovat lépe (Elenius a kol., 2024). Stále však platí, že nízké průtoky mohou ovlivňovat i další faktory, jako např. teplotu, množství rozpuštěného kyslíku nebo dostupnost potravy, které pak mají negativní efekt na život pstruhů v tocích (Jurajda a kol., 2023). Čím pestřejší prostředí, tím je toto pro pstruha obecného vhodnějším (Jurajda a kol., 2023). Preference jednotlivých typů stanovišť, a tak i průtoků, které pstruzi v tocích obývají se může měnit i sezónně. V zimě pstruzi více vyhledávají pomalu tekoucí části toků. Během letního a podzimního období tohoroční jedinci preferují části toků, které jsou kryty vodní vegetací, zatímco starší jedinci celoročně obývají stanoviště nezávisle na výskytu vodní vegetace (Maki-Petays a kol., 1997). Pro pohyb pstruhů v tocích je důležitá i jejich migrační prostupnost (Lusk a kol., 2014), viz další kapitola.

6.2 Odlov elektrickým agregátem a lov na umělou muškou

Celkem bylo během ichtyologického průzkumu v září a říjnu 2022 pomocí elektrického agregátu uloveno v oblasti všech šumavských ledovcových jezer 187 kusů pstruha obecného. Dalších 57 kusů pstruha obecného bylo uloveno pomocí lovu na umělou mušku v jezeře Laka. Lov na umělou mušku byl v případě jezera Laka zvolen zejména díky své efektivitě, která se potvrdila během předchozího ichtyologického průzkumu (Hůda, 2022).

Z celkových 19 prolovených lokalit se pstruzi obecní vyskytovali na 15 lokalitách. Na lokalitách odtok z Plešného jezera, Černý potok 1,0 km od Černého jezera, Černý potok 1,4 km od Černého jezera a Jezerní potok 0,8 km od Čertova jezera nebyl uloven ani jeden jedinec pstruha obecného. Tento fakt může mít několik různých příčin. Co se týče odtoku z Plešného jezera, zde nepřítomnost ryb lze vysvětlit neprostupnou jezerní morénou, která pstruhům brání v přirozeném pronikání výše po toku. Plešné jezero je navíc ohraničeno uměle vytvořenou hrází, která též funguje jako neprostupná migrační bariéra. Díky přítomnosti migračních bariér, strmému charakteru a nižší vodnatosti toku lze vysvětlit nepřítomnost pstruhů i na lokalitách Černý potok 1,0 a 1,4 km od Černého jezera. Tyto lokality se ve většině případů skládaly z kaskád vodopádů a vyskytoval se zde i propustek pod silnicí, ze kterého volně přepadala voda, což samo o sobě pro pstruhy může za nižších průtoků představovat nepřekonatelnou migrační bariéru. Lokalita Jezerní potok 0,8 km od Čertova jezera byla přítomností migrační bariéry známa již z předchozí studie (Hůda, 2022). Proto není překvapením, že i během aktuálního výzkumu nedošlo k žádné změně v posunu ryb výše po proudu. Došlo zde však k posunu horní hranice výskytu pstruhů směrem dolů po toku. Během předchozího průzkumu v roce 2021 byli pstruzi zaznamenáni na lokalitě Jezerní potok 1,1 km od Čertova jezera (Hůda, 2022). V aktuální práci byla horní hranice výskytu pstruhů zjištěna ve vzdálenosti 1,3 km od Čertova jezera. K tomuto posunu mohlo dojít i díky tomu, že elektrolov v říjnu 2022 probíhal po silných deštích, kdy koryto i okolí toku vykazovalo značnou míru poškození erozí. Silný proud tak mohl pstruhům bránit v proniknutí výše po proudu a jedinci byli splaveni spolu s proudem do nižších partií toku. V případě Prášílského jezera byli pstruzi zaznamenáni sice na všech prolovených úsecích, avšak aktuálně přímé kolonizaci jezera brání antropogenně vytvořená hráz s přibližnou výškou až 2,5 m. Pokud by došlo ke snížení této hráže, lze očekávat, že pstruzi Prášílské jezero osídlí a existuje zde i určitá míra pravděpodobnosti, že by se zde mohli rozmnožovat. Jezero totiž disponuje dvěma přítoky, které by byly pro tření pstruhů vhodné (Blabolil a kol., 2022). V oblasti jezera Laka se pstruzi obecní vyskytovali na všech studovaných lokalitách, včetně samotného jezera a jeho

obou přítoků. Stejně jako během předchozího ichtyologického průzkumu (Hůda, 2022) se potvrdila efektivita lovu na umělou mušku. Během celého dne bylo uloveno 57 kusů pstruha obecného. Zde lze oproti minulosti pozorovat značný nárůst, neboť na podzim 2021, kdy ale muškaření probíhalo po kratší časový úsek (jen 2 hodiny oproti 6 hodinám v rámci aktuální studie), bylo uloveno 17 kusů (Hůda, 2022). Největší úspěšnost lovu byla zaznamenána podél pobřežní linie a v okolí popadaných stromů či vodní vegetace. Toto komplexní prostředí pstruhům poskytuje stanoviště se značným množstvím úkrytů, které ryby chrání např. před predátory (Hegge a kol., 1993). V oblasti jezera Laka pokračuje trend výskytu a přirozené reprodukce pstruhů, kdy mezi lety 2007-2010 byli pstruzi zaznamenáni těsně pod jezerem (Matěna a kol., 2017) a v roce 2020 už byl potvrzen jejich výskyt jak v jezeře samotném, tak i jeho pravostranném přítoku (Blabolil a kol., 2020). Během průzkumu v roce 2021 byli zaznamenáni tohoto roční pstruzi v obou přítocích do jezera Laka (Hůda, 2022). Stejně tomu tak bylo i během aktuální studie. Lze tak konstatovat, že v jezeře Laka žije prosperující jezerní populace pstruhů obecných.

Jelikož ichtyologický průzkum probíhal během podzimu, je nasnadě očekávat efekt podzimní třetí migrace pstruhů. Tato migrace by měla vrcholit mezi říjnem a počátkem listopadu (Libosvářský, 1974; Piecuch a kol., 2007; Slavík a kol., 2012b). Období třetí migrace se stejně jako v předešlých studiích částečně překrývalo s termíny odlovů (Blabolil a kol., 2020; Hůda, 2022). Protože odlov proběhl jen jednou za rok, nelze provést přímé porovnání, zda na podzim došlo k nárůstu počtu ulovených ryb. Rovněž nelze potvrdit trend rostoucí početnosti pstruhů směrem proti proudu. To může být do jisté míry zapříčiněno i tím, že ačkoliv třetí migrace pstruhů probíhá převážně mezi říjnem a listopadem (Libosvářský, 1974; Piecuch a kol., 2007; Slavík a kol., 2012b), průzkum v oblasti šumavských jezer proběhl ještě před samotným vrcholem migrace, v prvních dvanácti dnech měsíce října. Existuje zde určitá míra pravděpodobnosti, že s postupem času do toků přimigrovali další jedinci.

Patrný je efekt menších toků, které mohou mít funkci refugií pro mladé jedince. Jako příklad lze uvést přítoky do jezera Laka, kde bylo uloveno celkem 26 převážně mladších jedinců pstruha. Naopak přímo v jezeře Laka se vyskytovala převážná část jedinců s nejvyšší standardní délkou. Je pravděpodobné, že šlo o jedince starší, kteří se v jezeře vyskytují již po delší časové období a jejich migrace zpět do dolních částí toků je nepravděpodobná. Během minulého ichtyologického průzkumu bylo na odtoku z jezera Laka uloveno na jaře 2021 13 jedinců, na podzim 2021 55 jedinců, s největší standardní délkou 160 mm na jaře a 222 mm na podzim (Hůda, 2022). Vyšší početnost i zastoupení větších jedinců na podzim 2021 mohlo

být zapříčiněno částečným překryvem termínu průzkumu s třecí migrací pstruha, jelikož odlovy probíhaly v rozmezí 25.-26. října 2021. To je přibližně o dva týdny později než v případě aktuální práce. Velikostní spektrum ulovených ryb také ovlivňuje charakter prostředí. V pramenných úsecích a horních částech toků nelze běžně očekávat pstruhy s velikostí nad 300 mm (Jurajda a kol., 2023). Z pohledu standardizované početnosti vztažené na 100 m² byla tato nejvyšší na lokalitě Černý potok 2,0 km od Černého jezera při ústí do Úhlavy. Zde mohla být takto vysoká početnost pstruhů důsledkem jejich migrace z řeky do Černého potoka. Naopak nejnižší standardizovaná početnost na 100 m² toku byla zjištěna na lokalitě Jezerní potok 1,5 km od Prášilského jezera.

6.3 Genetické analýzy

6.3.1 Charakteristika analyzovaných mikrosatelitních lokusů

Původním cílem této práce bylo ověřit funkčnost dříve publikovaných multiplexních reakcí (Lerceteau-Köhler a Weiss, 2006) a tento přístup použít i v rámci této diplomové práce. Lerceteau-Köhler a Weiss (2006) publikovali optimální složení dvou multiplexů ke genotypování až 12 mikrosatelitních lokusů, včetně optimálního teplotního průběhu pro PCR reakce. Dříve, než se podařilo optimalizovat tuto metodu, se naskytla možnost využít komerčně distribuovaný kit z produkce Ústavu biologie obratlovců AV ČR v. v. i. s označením STR Multiplex TRUTident12 Kit. Tento kit byl po zvážení využit v rámci mé diplomové práce.

Analýza mikrosatelitních markerů byla provedena pomocí komerční sady STR Multiplex TRUTident12 Kit (kat. č. STR0012, Ústav biologie obratlovců AV ČR, v. v. i., Brno, Česká republika). Tento kit je navržen ve tří-multiplexním designu a celkem zahrnuje 12 mikrosatelitních lokusů. Během procesu optimalizace metodiky této práce se v podmínkách Laboratoře molekulární, buněčné a kvantitativní genetiky FROV JU nepodařilo amplifikovat lokusy TRU1 a TRU6, které byly součástí multiplexu M1. Šlo zřejmě o výrobní vadu šarže, jelikož se neprojeví na žádném ze 199 analyzovaných vzorků. Na základě této skutečnosti bylo tedy analyzováno jen deset zbývajících lokusů, viz tabulka 9 výše v textu.

Cílem této práce bylo analyzovat z každé studované populace celkem 24 jedinců. Z různých důvodů (špatné izoláty, špatně nasedající primery atd.) byl tento počet dodržen pouze u pstruhů z oblasti Černého a Čertova jezera. Ze zbývajících oblastí bylo analyzovaných vzorků méně, nikdy však počet neklesl pod 20 jedinců. Jako vhodný počet analyzovaných jedinců pro populačně genetické studie, které jsou založeny na analýze mikrosatelitních lokusů, se v literatuře uvádí 25-30 jedinců (Hale a kol., 2012). Lze tedy konstatovat, že od ideálního čísla není počet analyzovaných jedinců příliš vzdálený.

Rozmezí, ve kterém se pohyboval počet alel na lokus, bylo značně široké. Nejnižší počet alel byl zaznamenán v případě lokusu TRU5 (3 alely). Nejvíce alel se vyskytovalo v lokusu TRU7 (21 alel). Tento vysoký počet alel může indikovat vysokou genetickou diverzitu v daném lokusu. Ztráta heterozygotnosti totiž může mít za následky pokles fitness a genetické diverzity populace (Reed a Frankham, 2003). Pro porovnání, v rámci výzkumu, který se zabýval populační genetikou pstruha obecného v oblasti východního Balkánu, bylo studováno 11 mikrosatelitních lokusů s 5 až 37 alelami na lokus (Kohout a kol., 2013). V rámci obdobné

studie z Norska bylo při sledování 18 mikrosatelitních lokusů detekováno od 3 do 32 alel na lokus (Thaulow a kol., 2013). Jako další příklad lze uvést též francouzskou studii, ve které bylo analyzováno 15 mikrosatelitních lokusů a počet alel se zde pohyboval v rozmezí 6 až 37 alel na lokus (Charles a kol., 2005). Z porovnání počtu alel zaznamenaných v rámci této práce a dalších studií (Kohout a kol., 2013; Thaulow a kol., 2013; Charles a kol., 2005) plyne, že mnou zaznamenané počty alel na lokus v rámci genotypování celkem 199 jedinců jsou v běžném rozmezí.

Na území České republiky zatím neproběhlo příliš podobných studií, které by se zabývaly populační genetikou pstruha obecného. Obdobnou studii, jakou je tato práce, provedli Jurajda a kol. (2020) na území Krkonošského národního parku. Během této studie bylo zkoumáno devět z dvanácti mikrosatelitních lokusů popsanych podle metodiky Lerceteau-Köhler a Weiss (2006), avšak v článku chybí popis charakteristik analyzovaných lokusů. V případě této studie bylo zjištěno unikátní postavení čtyř z celkem 12 studovaných populací (Jurajda a kol., 2020) Další studii provedli Jurajda a kol. (2023) na území Moravskoslezského územního svazu Českého rybářského svazu, z. s.. Během tohoto výzkumu bylo proloveno 19 vybraných toků, ve kterých bylo zjištěno 22 populací z 11 různých genetických linií. Jedinou původní linií této studie představovala populace v neobhospodařovaném úseku Střední Opavy na území CHKO Jeseníky. Nejvíce homogenní linie byly zaznamenány v rybochovných zařízeních (Jurajda a kol., 2023).

6.3.2 Charakteristika analyzovaných populací

Celkem bylo v rámci této práce analyzováno 199 jedinců z devíti odlišných oblastí (populací). Pět populací pocházelo z oblastí šumavských ledovcových jezer, lze je tedy považovat za populace divoké. Zbývající čtyři kontrolní populace byly tvořeny vzorky pocházejícími z generačního hejna Pstruhařství ČRS Kaplice, spol. s r. o, soukromých sádek Sdružení Lota Strážný potok a rybí líhně Vazovec u Turnova.

Nejvyšší počet alel na lokus, někdy označován též jako alelická bohatost (Greenbaum a kol., 2014), byl zaznamenán u populace pstruhů obecných, která pocházela z generačního hejna Kaplice 2 (P), a to 8,100 alel na lokus. Nejnižší počet alel na lokus se naopak vyskytoval u populace z oblasti Černého jezera (CN), a to 4,700 alel na lokus. Pro porovnání těchto hodnot lze uvést velkou studii, která zahrnovala i populace ze sádek v Borových Ladech na Šumavě a z turnovské líhně Vazovec, ze které pochází i vzorky v této studii (Berrebi a kol., 2021). V případě jedinců pocházejících z Borových Lad byla zjištěná hodnota 9,583 alel na lokus,

v případě turnovských pstruhů pak 7,167 alel na lokus (Berrebi a kol., 2021), což jsou podobně vysoké hodnoty jako v případě ryb z generačního hejna kaplického rybářství Kaplice 2 (P). Při samotném porovnání pouze pstruhů s Turnova byl v mé studii zaznamenán nižší počet alel na lokus (6,200). Naopak u italské linie pstruha obecného z líhně Vazovec se vyskytovalo 4,917 alel na lokus (Berrebi a kol., 2021). Vyšší počet alel na lokus odráží vyšší genetickou diverzitu dané studované populace. Vyšší počet alel na lokus je také silným ukazatelem evolučního potenciálu populace (Caballero a García-Dorado, 2013). Navíc při vyšším počtu alel je větší část genotypu přístupná menšímu počtu mutací, což je z evolučního hlediska výhodné (Wagner, 2008). V případě jedinců z oblasti Kaplice 2 to také může znamenat, že jedinci mohou pocházet z různých zdrojových populací. Ke správné interpretaci této skutečnosti by bylo nutné znát kompletní chovatelskou historii generačního hejna. Na závěr lze dodat, že se podle počtu alel mezi všemi 199 analyzovanými jedinci nepodařilo najít žádného triploidního jedince. Triploidie je v případě pstruha obecného indukována zejména kvůli zvýšení efektivity produkce. Vysoké efektivity dosahuje indukce pomocí hydrostatického tlaku (Preston a kol., 2013).

Dalším studovaným parametrem byl počet privátních alel. Zde se rozmezí pohybovalo od žádné privátní alely v případě populace z oblasti jezera Laka až po osm privátních alel u populace pocházející ze sádek Strážný potok. Vysoký počet privátních alel může znamenat, že se v populaci vyskytuje značné množství unikátní genetické variability, která se nenachází u ostatních populací. Vysoký počet privátních alel také může značit určitou izolovanost populace, která omezuje tok genů mezi populacemi (Allendorf a kol., 2012). Počet privátních alel také může ukazovat na jedinečnost populací (Foulley a Ollivier, 2006). Populace s vyšším počtem privátních alel též mohou pocházet z nižšího počtu zakládajících jedinců, mohly projít jevy označovanými jako bottleneck nebo founder effect. Právě tuto myšlenku může podporovat zjištění, že v případě této práce se vyšší počet privátních alel vyskytoval u populací pocházejících z oblasti, která je již dlouhou dobu udržována rybářským managementem (Strážný p. a Turnov). Pokud by se porovnaly pouze populace pocházející z oblasti šumavských jezer, lze dojít k závěru, že zde je počet privátních alel relativně nízký (0 až 3). Tudíž si tyto populace nejsou tolik vzdálené. Nicméně, nízký počet privátních alel může být i důsledkem nižšího počtu analyzovaných vzorků.

Heterozygotnost ukazuje genetickou rozmanitost studovaných populací (Kanaka a kol., 2023). Rozdíly mezi pozorovanou a očekávanou heterozygotností jsou vysvětleny v kapitole 4.7.6. Heterozygotnost lze také definovat jako průměrný podíl lokusů, které obsahují různé

alely (tj. jsou heterozygotní) (Kanaka a kol., 2023). Nejvyšší pozorovaná (0,776) i očekávaná (0,737) heterozygotnost byla shodně zjištěna v případě jedinců pstruha obecného pocházejících z oblasti Kaplice 1. Nejnižší pozorovanou heterozygotnost (0,590) měla populace pocházející z oblasti Černého jezera, zatímco nejnižší očekávaná heterozygotnost (0,590) byla zaznamenána v případě populace z oblasti jezera Laka. Ze studie, která se v minulosti zabývala populační genetikou lipana podhorního, vyplývá, že populace, které byly ovlivněny lidskou aktivitou (chov v líhních, vysazování) měly vyšší očekávanou heterozygotnost (Gum a kol., 2006). S tímto tvrzením, avšak na příkladu pstruha obecného, jsou v souladu i výsledky této, ale i předcházejících studií (např. Berrebi a kol., 2021). Nejvyšší heterozygotnost byla totiž zaznamenána v případě generačního hejna z Pstruhařství ČRS Kaplice spol. s r. o. (Kaplice 1). Vyšší heterozygotnost byla v minulosti zjištěna jak u jedinců pstruha z líhně v Borových Ladech, tak i u pstruhů pocházejících z turnovské líhně Vazovec (Berrebi a kol., 2021). Obecně lze říci, že v mé studii byla zjištěná pozorovaná i očekávaná heterozygotnost spíše vyšší, což může svědčit právě o větší genetické variabilitě. Může to napovídat i fakt, že šumavské populace pstruha obecného nemusí být příliš ohrožovány vysazováním uměle odchovaných jedinců, jelikož právě tento proces mívá často za následky genetickou homogenizaci (Berrebi a kol., 2021). Vyšší heterozygotnost pak může vést ke větší škále vlastností, které mohou být výhodné ve stále se měnícím prostředí jako je např. změna klimatu nebo změna v dostupnosti zdrojů (Ferretti a kol., 2011). Naopak uměle odchované ryby mohou některé tyto schopnosti pro lepší adaptaci na měnící se podmínky postrádat (Hansen a Loeschcke, 1994). Toto tvrzení se netýká pouze ryb, ale lze ho vztáhnout na celou živočišnou říši.

Během testování Hardy-Weinbergovy rovnováhy nebylo v naprosté většině případů zaznamenáno její narušení. Odchýlení od této rovnováhy nastalo pouze ve čtyřech případech. Šlo o lokusy TRU10 z oblasti Kaplice 1, lokus TRU7 z oblasti Plešného jezera a lokusy TRU9 a TRU11 z oblasti jezera Laka. Narušení Hardy-Weinbergovy rovnováhy bylo očekáváno, avšak zejména v případě chovaných populací, zejména díky nenáhodnému párování jedinců (Selkoe a Toonen, 2006). Toto očekávání se v této studii nepotvrdilo. Příčina odchylek od HWE ve výše zmiňovaných případech není zcela jasná. Možným důvodem odchylky od HWE rovnováhy tak mohl být nižší počet jedinců zahrnutých ve studovaných populacích, jelikož pro splnění HWE je vyžadována velmi velká velikost populace (Lachance, 2016).

Po výpočtu Neiovy genetické vzdálenosti bylo zjištěno, že nejnižší hodnotu tohoto indexu má dvojice Kaplice 1 a Kaplice 2 (0,098). Nejvyšší hodnota byla zjištěna pro dvojici Plešné jezero a Strážný potok (0,413). Pro hodnoty Neiovy genetické vzdálenosti platí, že čím vyšší hodnota, tím by měly být populace vzdálenější. Proto nízká hodnota genetické vzdálenosti pro dvojici Kaplice 1 a Kaplice 2 není nijak zvláštní, jelikož obě populace pochází z identické oblasti, a to generačních hejn Pstruhařství ČRS Kaplice, spol. s r. o. Nízká hodnota genetické vzdálenosti může nasvědčovat podobnému původu, společné chovatelské historii nebo nedávnému rozdělení populací. To, že si populace pstruhů z oblasti Plešného jezera a Strážného potoka jsou vzdálené není rovněž překvapením, jelikož se jedná o populace z odlišných oblastí, které v minulosti byly odděleny Čertovými proudy na Vltavě. Strážný potok slouží jako sádka, zatímco v oblasti Plešného jezera by se mohla vyskytovat divoká populace pstruhů. Pro podporu nebo vyvrácení hypotézy H2 o genetické odlišnosti pstruhů z Černého a Čertova jezera lze konstatovat, že Neiova genetická vzdálenost pro tuto dvojici oblastí byla určena jako 0,194. Tato hodnota se blíží nule, tudíž o těchto populacích lze říci, že si nejsou příliš geneticky vzdálené. V případě hypotézy H1 o podobnosti populací z jezera Laka, Plešného a Prášilského lze konstatovat, že dle hodnoty Neiovy genetické vzdálenosti si jsou nejbližší populace z oblasti Prášilského jezera a jezera Laka (0,186). Naopak nejvzdálenější z této trojice si jsou populace z oblastí Plešného jezera a jezera Laka (0,245), jak bylo očekáváno.

Nejnižší hodnoty párového fixačního indexu (F_{ST}) byly shodně jako nejnižší hodnoty Neiovy genetické vzdálenosti zjištěny pro dvojici Kaplice 1 a Kaplice 2 (0,017). Podobně se shodují i hodnoty nejvyšší, opět zjištěné pro dvojici populací z oblasti Strážného potoka a Plešného jezera a Strážného potoka a jezera Laka (shodně 0,092). Pro hodnoty párového fixačního indexu platí podobná logika jako v případě Neiovy genetické vzdálenosti. Čím nižší hodnoty tohoto indexu, tím by si populace měly být bližší. Provedením tohoto testu se tak potvrdilo to, co bylo zjištěno při výpočtu Neiovy genetické vzdálenosti. Pro podporu nebo vyvrácení hypotézy H2 o genetické odlišnosti pstruhů z Černého a Čertova jezera lze konstatovat, že párový fixační index pro tuto dvojici oblastí byla určen jako 0,042. Tato hodnota se blíží nule, tudíž o těchto populacích lze říci, že si nejsou příliš geneticky vzdálené. V případě hypotézy H1 o podobnosti populací z jezera Laka, Plešného a Prášilského lze konstatovat, že dle hodnot párového fixačního indexu si jsou nejbližší populace z oblasti Prášilského jezera a jezera Laka (0,047). Naopak nejvzdálenější z této trojice si jsou populace z oblastí Plešného jezera a jezera Laka (0,059). Nicméně ani jedna ze zde uvedených hodnot

se nepřiblížila hodnotě 0,25, která je obecně považována za vysokou a svědčí tak o vysoké genetické odlišnosti populací. Při bližším pohledu na odlišnosti populací pocházejících z líhni (Kaplice 1, Kaplice 2, Strážný p., Turnov) a populací z oblastí šumavských jezer lze říci, že odlišnost až na výjimku (Strážný p. a jezero Laka) byla spíše nízká. Zajímavá je hodnota párového fixačního indexu pro dvojici Kaplice 1 a Turnov (0,034) a Kaplice 2 a Turnov (0,029). Tyto populace by měly mít odlišný původ. Jedinci z rybí líhně Vazovec u Turnova by měli pocházet z oblasti řeky Jizery, zatímco jedinci ze sádek Pstruhařství ČRS Kaplice spol. s r. o. mají původ zastřený, avšak jsou vysazovány v oblasti jižních Čech. Nízké hodnoty párového fixačního indexu mohou naznačovat jakousi jejich blízkost, viz dále.

Z výsledků analýzy molekulární variance (AMOVA) je patrné, že naprostá většina variability (84 %) se nachází mezi jedinci napříč všemi populacemi. Mezi populacemi a mezi jedinci pak byla zjištěná variabilita shodně 8 %. To, že mezi populacemi byla zjištěna takto nízká hodnota, může znamenat fakt, že si jsou jedinci v rámci těchto populací podobní. To je ve výsledku žádoucí. Nízká variabilita mezi populacemi (10 %) byla zjištěna i ve studii zabývající se populační genetikou pstruhů obecných v Maďarsku (Ősz a kol., 2018). Tato studie zahrnovala celkem 888 analyzovaných jedinců z deseti populací pstruha obecného, kdy tři pocházely z líhni a zbylých sedm populací bylo divokých (Ősz a kol., 2018). V porovnání s aktuální prací byl ale studován nižší počet mikrosatelitních lokusů, a to pět (Ősz a kol., 2018) oproti deseti v případě mé práce.

Z vypočtených párových hodnot F_{ST} byla provedena analýza hlavních komponent (PCoA). V případě této analýzy by se měli být příbuzné populace shlukovat blíže k sobě, nepříbuzné naopak. V případě této studie výsledky analýzy naplnily očekávání, jelikož jsou jasné patrně odlišitelné dva základní shluky. Jeden shluk zahrnuje populace z oblastí šumavských ledovcových jezer, zatímco druhý shluk se skládá z kontrolních populací. Podle grafu si jsou vzdálenější populace z oblasti jezera Laka a Černého jezera, což je podpořeno i nejvyšší hodnotou Neiovy genetické vzdálenosti (0,348) pokud by byly uvažovány jen hodnoty pro oblasti ledovcových jezer, bez kontrolních populací. Zajímavý je však překryv turnovské (TU) a kaplické (K) populace. Tyto populace by měly pocházet z odlišných oblastí. Ryby z líhně Vazovec z Turnova by měly pocházet z oblast řeky Jizery, zatímco ryby z generačního hejna Pstruhařství ČRS Kaplice spol. s r. o. mají svůj původ nejistý. V současné době je možné, že díky rybářskému managementu a převozu ryb mezi líhňemi se genetické rozdíly postupně smazávají a populace si začínají být podobné (Berrebi a kol., 2021). V našich podmínkách existuje tradice výměny šlechtitelského materiálu mezi líhňemi v Česku, Polsku a na

Slovensku (Berrebi a kol., 2021). Tyto oblasti náleží do různých úmoří, tudíž by v každé oblasti měly existovat odlišné populace pstruhů obecných a reálná podobnost je tak výsledkem aktivit člověka (Kohout a kol., 2012).

Po provedení analýzy přiřazující jednotlivé studované jedince do konkrétních studovaných populací (tzv. assignment test) bylo zjištěno, že 80 % jedinců bylo zařazeno do své vlastní populace, zatímco zbývajících 20 % bylo přiřazeno do nějaké ze zbývajících populací. Tato analýza určila jako nejvíce izolované populace jedince pocházející z oblastí Černého a Plešného jezera. Oproti tomu jedinci pocházející z generačního hejna Kaplice 1 a Kaplice 2 byli dle výsledků této analýzy nejvíce smíšení a vybraní jedinci byli zařazováni převážně v rámci těchto populací. Fakt, že byli jedinci přiřazováni mezi populacemi Kaplice 1 a Kaplice 2, může svědčit o shodném původu, jejich blízkost, nebo relativně nedávném oddělení na dvě chovatelské skupiny. Tato skutečnost byla podpořena jak výsledky analýzy Neiovy genetické vzdálenosti, tak i analýzou párových fixačních indexů. Pro porovnání výsledků této práce s dalšími studiemi lze uvést práci Charles a kol. (2005). V rámci této francouzské studie bylo 81 % jedinců správně přiřazeno do své vlastní populace, což je téměř identické procento jako v případě mé práce. Charles a kol. (2005) uvádí, že všichni jedinci byli zařazeni správně podle svého původu, kdy byli rozlišováni jedince z líhni nebo z volné vody. To se však v případě mé práce nepodařilo, jelikož jedinci pocházející z chovu (Kaplice 1, Kaplice 2, Strážný potok a Turnov) byli v jednotkách případů přiřazeni i do divokých populací a naopak.

Analýzy provedené v programu Structure (verze 2.3.3) a webové aplikaci Pophelper (Francis, 2017) naznačují, že „skutečný“ počet analyzovaných populací je sedm. Jedinci z generačního hejna Kaplice 1 a Kaplice 2 jsou téměř identičtí. Toto zjištění není nikterak překvapivé a podporuje výše zmiňované tvrzení o shodném původu jedinců, jejich blízkosti, nebo o relativně nedávném oddělení na dvě chovatelské skupiny. Genetická podobnost těchto jedinců je podpořena jak výsledky výpočtů Neiovy genetické vzdálenosti, tak hodnotami párových fixačních indexů, kdy pro tyto populace byly zjištěny vždy nejnižší hodnoty. Zajímavá je však podobnost pstruhů pocházejících z oblastí Čertova a Prášilského jezera. Tyto oblasti spadají každá do jiného úmoří. Oblast Čertova jezera patří do povodí Dunaje, úmoří Černého moře, zatímco oblast jezera Prášilského patří do povodí Vltavy, úmoří Severního moře. Na základě této skutečnosti se předpokládalo, že jedinci z těchto oblastí budou geneticky odlišní. Blízkost těchto jedinců byla však podpořena i nižšími hodnotami Neiovy genetické vzdálenosti a párových fixačních indexů. V oblasti Čertova jezera by podle

dostupných informací nemělo ani probíhat vysazování ryb původem z líhně v Borových Ladách (NP Šumava, 2024). Genetická podobnost těchto ryb tak může být důsledkem historických událostí. Zbylé studované populace vykazovaly unikátní genetickou strukturu analyzovaných jedinců.

7. Závěr

Prvním cílem této diplomové práce byla tvorba literární rešerše skládající se ze dvou částí, první týkající se pstruha obecného jako druhu a druhé zabývající genetickou variabilitou pstruha a genetickými analýzami využívanými ve výzkumu genetiky ryb. Druhým cílem bylo provedení ichtyologického průzkumu v oblastech všech ledovcových jezer na české straně Šumavy. Z ulovených pstruhů byl odebrán genetický materiál, ze kterého byly v pomoci fragmentační analýzy mikrosatelitních markerů určovány základní populačně genetické charakteristiky. Ichtyologický průzkum v oblasti jezera Laka a jezera Čertova navázal na průzkumy předešlé (Blabolil a kol., 2020; Hůda, 2022). V oblasti Plešného, Prášílského a Černého jezera průzkum proběhl poprvé po dlouhé časové odmlce, proto zjištěné údaje poskytují cenné informace a rozšiřují spektrum znalostí o stavu místní ichtyofauny.

Jelikož šlo o pilotní průzkum, tak výsledky této studie přináší unikátní pohled na genetickou strukturu populací pstruha obecného v oblastech šumavských ledovcových jezer. Dosud detailní informace o genetické příslušnosti ryb z této oblasti chyběly. Na základě hodnot párového fixačního indexu a Neiovy genetické vzdálenosti bylo zjištěno, že si populace pstruhů obecných z oblastí jezer Plešného, Prášílského a Laka jsou podobné. Na základě stejných parametrů lze říci, že nepřilíši geneticky vzdálené si byly i populace z oblasti Černého a Čertova jezera. Na základě PCoA analýzy lze konstatovat, že šumavské a kontrolní populace tvořily dva oddělené shluky, což může vypovídat o genetické podobnosti šumavských populací pstruha obecného. Na základě tohoto faktu se můžeme domnívat, že během acidifikace se pstruzi mohli stáhnout do bezpečnějších refugií, ze kterých aktuálně toky kolonizují. Bylo též zjištěno, že „skutečný“ počet analyzovaných populací byl sedm, kdy jedinci pocházející z generačního hejna Kaplice 1 (P) a Kaplice 2 (K) byli geneticky téměř identičtí a jedinci původem z oblasti Čertova a Prášílského jezera si byli též blízcí. Ve zbytku studovaných lokalit byla zjištěna geneticky unikátní struktura analyzovaných jedinců.

Bylo též zjištěno, že se neliší velikostní distribuce ulovených jedinců pstruha obecného mezi oblastmi NP (oblasti jezer Laka, Plešného a Prášílského) a CHKO Šumava (oblasti jezer Čertova a Černého). Došlo k potvrzení obnovy oblasti po období acidifikace, která je patrná nejen na zlepšujících se hodnotách environmentálních charakteristik toků, ale i na skladbě populací pstruha obecného. V oblasti všech ledovcových jezer byla zaznamenána taková populační struktura, která svědčí o přirozeném rozmnožování pstruhů obecných. Avšak stále platí, že kromě aktuálně osídleného jezera Laka, je kolonizace zbývajících šumavských jezer, zejména díky přítomnosti migračních bariér různého charakteru, spíše nepravděpodobná.

8. Seznam použité literatury

- Abdul-Muneer P. M. (2014) Application of Microsatellite Markers in Conservation Genetics and Fisheries Management: Recent Advances in Population Structure Analysis and Conservation Strategies. *Genetics Research International*. 2014: 1-11.
- Aho T., Rönn J., Piironen J., Björklund M. (2006) Impacts of Effective Population Size on Genetic Diversity in Hatchery Reared Brown trout (*Salmo trutta* L.) Populations. *Aquaculture*. 253: 244-248.
- Allendorf F. W., Aitken S. N., Luikart G. (2007) Conservation and the Genetics of Populations, 2nd Edition. Wiley-Blackwell. 624 s.
- Antoniou A., Magoulas A. (2014) Application of Mitochondrial DNA in Stock Identification. In *Stock Identification Methods* (s. 257-295). Elsevier.
- Arheimer B., Lindstroem G. (2019) Detecting Changes in River Flow Caused by Wildfires, Storms, Urbanization, Regulation, and Climate Across Sweden. *Water Resources Research*, 55(11): 8990-9005.
- Armstrong J. D., Kemp P. S., Kennedy G. J.A., Landle M., Milner N. J. (2003) Habitat Requirements of Atlantic salmon and Brown trout in Rivers and Streams. *Fisheries Research*. 62(2): 143-170.
- Aubrechtová T., Ruman S., Křesina J., Křesinová M., Lojkásek B. (2020) Metodika inkubace jiker vybraných druhů lososovitých ryb v podmínkách mateřského toku. TA ČR. 45 str.
- Barson N. J., Aykanat T., Hindar K., Baranski M., Bolstad G. H., Fiske P., Jacq C., Jensen A. J., Johnston S. E., Karlsson S., Kent M., Moen T., Niemelä E., Nome T., Næsje T. F., Orell P., Romakkaniemi A., Sægrov H., Urdal K., ... Primmer C. R. (2015) Sex-dependent Dominance at a Single Locus Maintains Variation in Age at Maturity in Salmon. *Nature*. 528(7582): 405-408.
- Baruš V., Oliva O., (1995) Mihulovci – Petromyzontes a ryby – Osteichthyes (2). Praha: Academia. str. 437-459.
- Bednář R., Dubský K., Dvořák K., Kaše J., Nusl P., Poupě J. (2013) Lov ryb elektrickým agregátem. Český rybářský svaz, Praha. 136 str.
- Begon M., Townsend C. R., Harper J. L. (2006) Ecology: From Individuals to Ecosystems. 4th ed. Malden, MA: Blackwell Pub. 750 str.

- Bell M. C. (1986) Fisheries Handbook of Engineering Requirements and Biological Criteria. Fish Passage Development and Evaluation Program, Corps of Engineers, North Pacific Division. 209 s.
- Berrebi P., Horvath Á., Splendiani A., Palm S., Bernas R. (2021) Genetic Diversity of Domestic Brown trout Stocks in Europe. *Aquaculture*. 544: 737043.
- Bermingham E. (1990) Mitochondrial DNA and the Analysis of Fish Population Structure. *Electrophoretic and isoelectric focusing techniques in fisheries management*. 197-221.
- Bernatchez L. (2001) The Evolutionary History of Brown trout (*Salmo trutta* L.) Inferred from Phylogeographic, nested clade, and Mismatch Analyses of Mitochondrial DNA Variation. *Evolution*. 55(2): 351-379.
- Bernatchez L., Guyomard R., Bonhomme F. (1992) DNA Sequence Variation of the Mitochondrial Control Region Among Geographically and Morphologically Remote European Brown trout *Salmo trutta* Populations. *Molecular Ecology*. 1(3): 161-173.
- Billington N. (2003) Mitochondrial DNA. E. M. Hallerman (Ed.). *Population genetics: Principles and Applications for Fisheries Scientists*. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland: 59-100.
- Blabolil P., Draštík V., Kočvara L., Kolařík T., Muška M., Peterka J., Soukalová K., Vrba J. (2020) Zjištění aktuální ichtyofauny jezera Laka a propojených toků. *Biologické centrum AV ČR v.v.i.* 10 str.
- Blabolil P., Hůda J., Muška M., Draštík V., Holubová M., Hladík M., Vrba J. (2022) Zpráva o rozšíření ichtyofauny pod přirozenými jezery Šumavy. *Biologické centrum AV ČR v.v.i.* 19 str.
- Boel M., Aarestrup K., Baktoft H., Larsen T., Søndergaard Madsen S., Malte H., Skov C., Svendsen J.C., Koed A. (2014) The Physiological Basis of the Migration Continuum in Brown trout (*Salmo trutta*). *Physiological and Biochemical Zoology*. 87(2):334-345.
- Bufková I. (2021) Ohlédnutí za vodou aneb 20 let revitalizací na Šumavě. *Ochrana přírody*. 3: 19-23.
- Butler J. R. A., Radford A., Riddington G., Laughton R. (2009) Evaluating an Ecosystem Service Provided by Atlantic salmon, Sea trout and Other Fish Species in the River Spey,

- Scotland: The economic impact of recreational rod fisheries. *Fisheries Research*. 96(2–3): 259-266.
- Caballero A., García-Dorado A. (2013) Allelic Diversity and its Implications for the Rate of Adaptation. *Genetics*. 195: 1373-1384.
- Carvalho G. R., Hauser L. (1994) Molecular Genetics and the Stock Concept in Fisheries. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 4(3): 326-350.
- Charles K., Guyomard R., Hoyheim B., Ombredane D., Baglinière J.-L. (2005) Lack of Genetic Differentiation between Anadromous and Resident Sympatric Brown trout (*Salmo trutta*) in a Normandy Population. *Aquatic Living Resources*. 18(1): 65-69.
- Chen B., Cole J. W., Grond-Ginsbach C. (2017) Departure from Hardy Weinberg Equilibrium and Genotyping Error. *Frontiers in Genetics*. 8: 167.
- Crete-Lafreniere A., Weir L. K., Bernatchez L. (2012) Framing the Salmonidae Family Phylogenetic Portrait: A More Complete Picture from Increased Taxon Sampling. *PLoS ONE* 7: e46662.
- Crisp D. T. (1993) The Environmental Requirements of Salmon and Trout in Fresh Water. *Freshwater Forum*. 3: 176-202.
- Crisp D. T. (2000) Trout and Salmon: Ecology, Conservation and Rehabilitation. Oxford: Fishing News Books. 224 str.
- Cucherousset J., Ombredane D., Charles K., Marchand F., Baglinière J.-L. (2005). A Continuum of Life History Tactics in a Brown trout (*Salmo trutta*) Population. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 62: 1600-1610.
- Czorlich Y., Aykanat T., Erkinaro J., Orell P., Primmer C. R. (2018) Rapid Sex-Specific Evolution of Age At Maturity is Shaped by Genetic Architecture in Atlantic salmon. *Nature Ecology & Evolution*. 2: 1800-1807.
- D'Agaro E., Gibertoni P., Marroni F., Messina M., Tibaldi E., Esposito S. (2022) Genetic and Phenotypic Characteristics of the *Salmo trutta* Complex in Italy. *Applied Sciences*. 12(7): 3219.

- Dahl J., Dannewitz J., Karlsson L., Petersson E., Löf A., Ragnarsson B. (2004) The Timing of Spawning Migration: Implications of Environmental Variation, Life History, and Sex. *Canadian Journal of Zoology*. 82(12): 1864-1870.
- Davis J. C. (1975) Minimal Dissolved Oxygen Requirements of Aquatic Life with Emphasis on Canadian Species: A Review. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. 32(12): 2295-2332.
- Delling B., Crivelli A. J., Rubin J., Berrebi P. (2000) Morphological Variation in Hybrids between *Salmo marmoratus*, and Alien *Salmo* Species in the Volarja stream, Soca River Basin, Slovenia. *Journal of Fish Biology*. 57(5): 1199-1212.
- Dyk V. (1957) Nejvyšší polohy výskytu pstruha obecného formy potoční v ČSR. *Zoologické listy*. 6: 358-366.
- Elenius M., Uzeirbegovic E., Näslund J., Lavenius A. (2024) No Support for Using Brown trout as an Indicator Species for Ecological Impacts of Low Flow in Swedish Rivers. *Environmental and Sustainability Indicators*. 23: 100414.
- Elliot J. M. (1981) Some Aspects of Thermal Stress on Freshwater Teleosts. In: Pickering, A.D. (Ed.), *Stress and Fish*. Academic Press, London. 209-245.
- Elliot J. M. (1989) Wild Brown trout *Salmo trutta*: An Important National and International Resource. *Freshwater Biology*. 21(1): 1-5.
- Elliot J. M., Elliot J. A. (2010) Temperature Requirements of Atlantic salmon *Salmo salar*, Brown trout *Salmo trutta* and Arctic charr *Salvelinus alpinus*: Predicting the Effects of Climate Change. *Journal of Fish Biology*. 77(8): 1793-1817.
- Elliot J.V.M., Hurley M.V.A. (1997) The Functional Relationship Between Body Size and Growth Rate in Fish. *Functional Ecology*. 9: 625-627.
- Encina L., Rodríguez-Ruiz A. (2003) Abundance and Distribution of a Brown trout (*Salmo trutta*, L.) Population in a Remote High Mountain Lake. *Hydrobiologia*. 493: 35-42.
- Estoup A., Rousset F., Michalakis Y., Cornuet J.-M., Adriaamanga M., Guyomard R. (1998) Comparative Analysis of Microsatellite and Allozyme Markers: A Case Study Investigating Microgeographic Differentiation in Brown trout (*Salmo trutta*). *Molecular Ecology*. 7(3): 339-353.

- Ferretti V., Massoni V., Bulit F., Winkler D. W., Lovette I. J. (2011) Heterozygosity and Fitness Benefits of Extrapair Mate Choice in White-rumped Swallows (*Tachycineta leucorrhoa*). *Behavioral Ecology*. 22(6): 1178-1186.
- Ferguson A. (1989) Genetic Differences Among Brown trout, *Salmo trutta*, Stocks and Their Importance for the Conservation and Management of the Species. *Freshwater Biology*. 21(1): 35-46.
- Ferguson A. (2007) Genetic Impacts of Stocking on Indigenous Brown trout Populations. Bristol: Environment Agency. 81 str.
- Ferguson A., Reed T. E., Cross T. F., McGinnity P., Prodoehl P.A. (2019) Anadromy, Potamodromy and Residency in Brown trout *Salmo trutta*: The Role of Genes and the Environment. *Journal of Fish Biology*. 95(3): 692-718.
- Ferguson A., Taggart J.B., Prodoehl P.A., McMeel O., Thompson C., Stone C., McGinnity P., Hynes R.A. (1995) The Application of Molecular Markers to the Study and Conservation of Fish Populations, with Special Reference to *Salmo*. *Journal of Fish Biology*. 47: 103-126.
- Flajšhans M. (2015) Metodika uchovávání genetického zdroje zvířat. VÚŽV, v.v.i. 19. str.
- Flajšhans M., Hulák M., Kašpar V., Rodina M., Kocour M., Gela D. (2009). Metodika uchování genetických zdrojů ryb v živé genové bance. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. 35 str.
- Flajšhans M., Kocour M., Ráb P., Hulák M., Petr J., Bohlen Šlechtová V., Šlechta V., Havelka M., Kašpar V., Linhart O. (2013) Genetika a šlechtění ryb. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. 305 str.
- Foulley J.-L., Ollivier L. (2006) Estimating Allelic Richness and its Diversity. *Livestock Science*. 101(1–3): 150–158.
- Forseth T., Jonsson B. (1994) The Growth and Food Ration of Piscivorous Brown trout (*Salmo trutta*). *Functional Ecology*. 8(2): 171-177.
- Francis R. M. (2017). POPHELPER: An R Package and Web App to Analyse and Visualize Population Structure. *Molecular Ecology Resources*. 17(1): 27-32.

- Fraser D. J., Weir L. K., Bernatchez L., Hansen M. M., Taylor E. B. (2011) Extent and Scale of Local Adaptation in Salmonid Fishes: Review and Meta-analysis. *Heredity*. 106(3): 404-420.
- Frič A. (1872) Über die Fauna der Böhmerwaldseen. *Sitzungsberichte der Königlich-Böhmischen Gesellschaft der Wissenschaften in Prag*. 1: 3-12.
- Frič A. (1888a) Rybářská mapa království českého. *Vesmír*. 17(6): 69-70.
- Frič A. (1888b) Chov pstruhů. *Vesmír*. 17(11): 126.
- Frič A., Vávra V. (1898) Výzkum dvou jezer šumavských, Černého a Čertova jezera. *Archiv pro přírodovědný průzkum Čech*. 10(3): 1-68.
- Frost W. E., Brown, M. E. (1967) *The Trout*. London: Collins. 316 str.
- García-Vega A., Sanz-Ronda F. J., Fernandes Celestino L., Makrakis S., Leunda P. M. (2018) Potamodromous Brown trout Movements in the North of the Iberian Peninsula: Modelling Past, Present and Future Based on Continuous Fishway Monitoring. *Science of The Total Environment*. 640–641: 1521-1536.
- Geneious Prime (verze 2019.0.4., Biomatters Ltd, Auckland, Nový Zéland).
- Gum B., Gross R., Kuehn R. (2006) Discriminating the Impact of Recent Human Mediated Stock Transfer from Historical Gene Flow on Genetic Structure of European Grayling *Thymallus thymallus* L. *Journal of Fish Biology*. 69(Supplement C): 115-135.
- Greig S. M., Sear D. A., Carling P. A. (2007) A Review of Factors Influencing the Availability of Dissolved Oxygen to Incubating Salmonid Embryos. *Hydrological Processes*. 21: 323-334.
- Greenbaum G., Templeton A. R., Zarmi Y., Bar-David S. (2014) Allelic Richness Following Population Founding Events – A Stochastic Modeling Framework Incorporating Gene Flow and Genetic Drift. *PLoS ONE*. 9(12): e115203.
- Hale M. L., Burg T. M., Steeves T. E. (2012) Sampling for Microsatellite-Based Population Genetic Studies: 25 to 30 Individuals per Population Is Enough to Accurately Estimate Allele Frequencies. *PLoS ONE*. 7(9): e45170.

- Hansen M. M., Loeschke V. (1994) Effects of Releasing Hatchery-reared Brown trout to Wild trout Populations. In: Loeschke V., Jain S. K., Tomiuk J. (eds) Conservation Genetics. EXS, vol 68. Birkhäuser, Basel.
- Hansson L. P., Jonsson B. (1991) Evidence of a Genetic Component in the Seasonal Return Pattern of Atlantic salmon, *Salmo salar*. Journal of Fish Biology. 38: 251-258.
- Hayward A, Gillooly J. F. (2011) The Cost of Sex: Quantifying Energetic Investment in Gamete Production by Males and Females. PLoS ONE 6(1): e16557.
- Hegge O., Hesthagen T., Skurdal J. (1993) Vertical Distribution and Substrate Preference of Brown trout in a Littoral Zone. Environmental Biology of Fishes. 36:17-24.
- Heggenes J., Røed K., Jorde P., Brabrand Å. (2009) Dynamic Micro-geographic and Temporal Genetic Diversity in Vertebrates: The Case of Lake-spawning Populations of Brown trout (*Salmo trutta*). Molecular Ecology. 18: 1100-1111.
- Herrmann J., Degerman E., Gerhardt A., Johansson C., Lingdell E., Muniz I. P. (1993) Acid-stress Effects on Stream Biology. Ambio. 22(5): 298-307.
- Hesthagen T., Forseth T., Saksgård R., Berger H. M., Larsen B. M. (2001) Recovery of Young Brown trout in Some Acidified Streams in Southwestern and Western Norway. Water, Air, and Soil Pollution. 130(1): 1355-1360.
- Hucková D. (2015) Genetická struktura populací lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) v rybářsky obhospodařovaných řekách České republiky [Bc. práce]. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Přírodovědecká fakulta. 39 str.
- Hůda J. (2022) Populace pstruhů obecných v tocích jezer Čertova a Laka. [Bc. práce]. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Přírodovědecká fakulta. 70 str.
- Ikuta K., Shikama, T., Oda, S., Okumoto, N. (1992) Acid Tolerance of Eyed Embryos and Larvae in Salmonid Fishes. Bulletin of National Research Institute of Aquaculture (Japan). 21: 39-45.
- Ivy-Ochs S., Kerschner H., Reuther A., Preusser F., Heine K., Maisch, M., Kubik P., Schlüchter C. (2008) Chronology of The Last Glacial Cycle in the European Alps. Journal of Quaternary Science. 23: 559-573.

- Jacobsen D., Rostgaard S., Vásconez J. J. (2003) Are Macroinvertebrates in High Altitude Streams Affected by Oxygen Deficiency? *Freshwater Biology*. 48(11): 2025-2032.
- Jensen H., Bohn T., Amundsen P.-A., Aspholm P. E. (2004) Feeding Ecology of Piscivorous Brown trout (*Salmo trutta* L.) in a Subarctic Watercourse. *Annales Zoologici Fennici*. 41: 319-328.
- Jirušková L. (2009) Průzkum postoje veřejnosti k rybářskému obhospodařování pstruhových revírů [Bc. práce]. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta. 45 str.
- Jonsson B. (1989) Life History and Habitat Use of Norwegian Brown trout (*Salmo trutta*). *Freshwater Biology*. 21(1): 71-86.
- Jonsson B., Gravem F. R. (1985) Use of Space and Food by Resident and Migrant Brown trout, *Salmo trutta*. *Environmental Biology of Fishes*. 14(4): 281-293.
- Jonsson B., Jonsson N. (2021) Differences in Growth Between Offspring of Anadromous and Freshwater Brown trout *Salmo trutta*. *Journal of Fish Biology*. 99(1): 18-24.
- Jonsson B., Jonsson N., Brodtkorb E., P.-J. Ingebrigtsen P.-J. (2001) Life-history Traits of Brown trout Vary With the Size of Small Streams. *Functional Ecology*. 15(3): 310-317.
- Jonsson N., Naesje T. F., Jonsson B., Saksgard R., Sandlund O. T. (1999) The Influence of Piscivory on Life History Traits of Brown trout. *Journal of Fish Biology*. 55(6): 1129-1141.
- Jurajda P., Bednařík A., Bartáková M., Mendel J., Jurajdová Z., Mikl L. (2020) Genetická struktura populací pstruha obecného (*Salmo trutta*) na vybraných lokalitách v Krkonošském národním parku. *Opera Corcontica*. 57: 95-106.
- Jurajda P., Šlapanský L., Adámek Z., Hnilička M., Janáč M., Jurajdová Z., Mendel J., Marešová E., Halačka K. (2023) Stav lososovitých ryb na revírech MSÚS ČRS. Ústav biologie obratlovců Akademie věd ČR v.v.i., Brno. 24 str.
- Kanaka K. K., Sukhija N., Goli R. C., Singh S., Ganguly I., Dixit S. P., Dash A., Malik A. A. (2023) On the Concepts and Measures of Diversity in the Genomics Era. *Current Plant Biology*. 33: 100278.
- Kaskoun O. (1987) Jezero Laka. *Šumava*. 15: 19-20.

- Keeley E. R., Grant J. W. A. (2001) Prey Size of Salmonid Fishes in Streams, Lakes, and Oceans. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 58(6): 1122-1132.
- Ketabchy M., Buell E. N., Yazdi M. N., Sample D. J., Behrouz, M. S. (2023) The Effect of Piping Stream Channels on Dissolved Oxygen Concentration and Ecological Health. *Environmental Monitoring and Assessment*. 195(4): 460.
- Kim K. S., Sappington, T. W. (2013) Microsatellite Data Analysis for Population Genetics. In S. K. Kantartzi (Ed.), *Microsatellites* (Roč. 1006, s. 271–295). Humana Press.
- Klemetsen A., Amundsen P.-A., Dempson J.B., Jonsson B., Jonsson N., O'Connell M.F., Mortensen E. (2003) Atlantic salmon *Salmo salar* L., Brown trout *Salmo trutta* L. and Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.): A Review of Aspects of Their Life Histories. *Ecology of Freshwater Fish*. 12(1): 1-59.
- Kohout J. (2013) Population Genetic Structure of Brown trout as Groundwork for Efficient Management of Fisheries in Central European Salmonid Waters. [Ph.D. práce]. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. 91 str.
- Kohout J., Jašková I., Papoušek I., Šedivá A., Šlechta V. (2012) Effects of Stocking on The Genetic Structure of Brown trout, *Salmo trutta*, in Central Europe Inferred from Mitochondrial and Nuclear DNA Markers. *Fisheries Management and Ecology*. 19(3): 252-263.
- Kohout J., Šedivá A., Apostolou A., Stefanov T., Marić S., Gaffaroğlu M., Šlechta V. (2013) Genetic Diversity and Phylogenetic Origin of Brown trout *Salmo trutta* Populations in Eastern Balkans. *Biologia*. 68(6): 1229-1237.
- Kolářová J., Velíšek J., Nepejchalová L., Svobodová Z., Kouřil J., Hamáčková J., Máchová, J., Piačková V., Hajšlová J., Holadová K., Kocourek V., Klimánková E., Modrá H., Dobšíková R., Groch L., Novotný L. (2007) *Anestetika pro ryby*. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. 19 str.
- Kolářová J., Svobodová Z. (2009) *Léčebné a preventivní postupy v chovech ryb*. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. 30 str.
- Kottelat M., Freyhof J., (2007) *Handbook of European Freshwater Fishes*. Berlin: Kottelat, Cornol & Freyhof. 660 str.

- Kopáček J., Fluksová H., Hejzlar J., Kaňa J., Porcal P., Turek J., Žaloudík J. (2013) Chemistry of Tributaries to Plešné and Čertovo Lakes during 1998–2012. *Silva Gabreta*. 19: 105-137.
- Kroglund F., Rosseland B. O., Teien H.-C., Salbu B., Kristensen T., Finstad, B. (2008) Water quality Limits for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) Exposed to Short Term Reductions in pH and Increased Aluminum Simulating Episodes. *Hydrology and Earth System Sciences, European Geosciences Union*. 12(2): 491-507.
- Lachance J. (2016) Hardy–Weinberg Equilibrium and Random Mating. In *Encyclopedia of Evolutionary Biology* (s. 208-211). Elsevier.
- Lahnsteiner F., Leitner S. (2013) Effect of Temperature on Gametogenesis and Gamete Quality in Brown trout, *Salmo trutta*. *Journal of Experimental Zoology*. 319A: 138-148.
- Lavender E., Hunziker Y., McLennan D., Dermond P., Stalder D., Selz O., Brodersen J. (2023) Sex- and Length-dependent Variation in Migratory Propensity in Brown trout. *Ecology of Freshwater Fish*. 33(1). 12 str.
- Lerceteau-Köhler E., Schlieven U., Kopun T., Weiss S. (2013) Genetic Variation in Brown trout *Salmo trutta* Across the Danube, Rhine, and Elbe Headwaters: A Failure of the Phylogeographic Paradigm? *BMC Evolutionary Biology* 13:176.
- Lerceteau-Köhler E., Weiss S. (2006) Development of a Multiplex PCR Microsatellite Assay in Brown trout *Salmo trutta*, and its Potential Application for the Genus. *Aquaculture*, 258(1-4): 641-645.
- Lemopoulos A., Uusi-Heikkilä S., Huusko A., Vasemägi A., Vainikka A. (2018) Comparison of Migratory and Resident Populations of Brown trout Reveals Candidate Genes for Migration Tendency. *Genome Biology and Evolution*. 10(6): 1493-1503.
- Lemopoulos A., Uusi-Heikkilä S., Hyvärinen P., Alioravainen N., Prokkola J. M., Elvidge C. K., Vasemägi A., Vainikka A. (2019) Association Mapping Based on a Common-Garden Migration Experiment Reveals Candidate Genes for Migration Tendency in Brown trout. *G3 Genes|Genomes|Genetics*. 9(9): 2887-2896.
- Leslie P. H., Davis D. H. S. (1939) An Attempt to Determine the Absoluten Number of Rats in a Given Area. *Journal of Animal Ecology*. 8: 94-113.

- Litt M., Luty J. A. (1989) A Hypervariable Microsatellite Revealed by In Vitro Amplification of a Dinucleotide Repeat Within the Cardiac Muscle Actin Gene. *American Journal of Human Genetics*. (44)3: 397-401.
- Lusk S., Hartvich P., Lojkásek B. (2014) Migrace ryb a migrační prostupnost vodních toků. Vodňany: Jihočeská univerzita, Fakulta rybářství a ochrany vod. 254 str.
- Łaszewski M. (2013) Stream Water Temperature: A Short Review with Special Reference to Diurnal Dynamics. *Miscellanea Geographica*. 17(1): 34-41.
- Maki-Petays A., Muotka T., Huusko A., Tikkanen P., Kreivi P. (1997) Seasonal Changes in Habitat Use and Preference by Juvenile Brown trout, *Salmo trutta*, in a Northern Boreal River. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 54(3): 520-530.
- Malcolm I. A., Bacon P. J., Middlemas S. J., Fryer R. J., Shilland E. M., Collen, P. (2014) Relationships between Hydrochemistry and the Presence of Juvenile Brown trout (*Salmo trutta*) in Headwater Streams Recovering from Acidification. *Ecological Indicators*. 37: 351-364.
- Matěna J., Matěnová V., Blabolil P., Kopáček J., Peltanová J., Šorf M., Žaloudík J., Vrba J. (2017). Recovery of Brown trout Populations in Streams Exposed to Atmospheric Acidification in the Bohemian Forest. *Folia Zoologica*. 66(1): 1-10.
- Meldgaard T., Crivelli A. J., Jesensek D., Poizat G., Rubin J.-F., Berrebi P. (2007) Hybridization Mechanisms between the Endangered Marble trout (*Salmo marmoratus*) and the Brown trout (*Salmo trutta*) as Revealed by in-stream Experiments. *Biological Conservation*. 136(4): 602-611.
- Microsoft. Excel 2019. (2019).
- Morgan R. P., Kline K. M., Kline M. J., Cushman S. F., Sell M. T., Weitzell R. E., Churchill, J. B. (2012) Stream Conductivity: Relationships to Land Use, Chloride, and Fishes in Maryland Streams. *North American Journal of Fisheries Management*. 32(5): 941-952.
- Muhlfeld C. C., Dauwalter D. C., D Angelo V. S., Ferguson A., Giersch J. J., Impson D., Koizumi I., Kovach R., McGinnity P., Schöffmann J., Vøllestad L. A., Epifanio J. (2019) Global Status of Trout and Char: Conservation Challenges in the Twenty-First Century. V J. Kershner, J. Williams, J. Lobón-Cerviá, B. Gresswell (Eds.), *Trout and Char of the World*. (str. 717-760). American Fisheries Society.

- Naiman R. J., Alldredge J. R., Beauchamp D. A., Bisson P. A., Congleton J., Henny C. J., Huntly N., Lamberson R., Levings C., Merrill E. N., Percy W. G., Rieman B. E., Ruggerone G. T., Scarnecchia D., Smouse P. E., Wood C. C. (2012) Developing a Broader Scientific Foundation for River Restoration: Columbia River Food Webs. Proceedings of the National Academy of Sciences 109(52): 21201-21207.
- Nei M. (1973) Analysis of Gene Diversity in Subdivided Populations. Proceedings of the National Academy of Science USA. 70: 3321-3323.
- Nevoux M., Finstad B., Davidsen J. G., Finlay R., Josset Q., Poole R., Höjesjö J., Aarestrup K., Persson L., Tolvanen O., Jonsson B. (2019) Environmental Influences on Life History Strategies in Partially Anadromous Brown trout (*Salmo trutta*, Salmonidae). Fish and Fisheries. 20(6): 1051-1082.
- Nichols K.M., Kozfkay C.C., Narum S.R. (2016) Genomic Signatures among *Oncorhynchus nerka* Ecotypes to Inform Conservation and Management of Endangered Sockeye Salmon. Evolutionary Applications. 9(10): 1285-1300.
- Ojanguren A.F., Reyes-Gavilán F.G., Brana F. (2001) Thermal Sensitivity of Growth, Food Intake and Activity of Juvenile Brown trout. Journal of Thermal Biology. 26(3): 156-170.
- Okumus I., Ciftci Y. (2003) Fish Population Genetics and Molekular Markers: II – Molecular Markers and their Applications in Fisheries and Aquaculture. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 3: 51-79.
- Olsson I. C., Greenberg L. A., Bergman E., Wysujack K. (2006) Environmentally Induced Migration: The Importance of Food. Ecology Letters. 9(6): 645-651.
- Ósz Á., Horváth Á., Hoitsy G., Kánainé Sipos D., Keszte S., Sáfrány A. J., Marić S., Palkó C., Tóth B., Urbányi B., Kovács B. (2018) The Genetic Status of the Hungarian Brown trout Populations: Exploration of A Blind Spot on the European Map of *Salmo trutta* studies. PeerJ. 6: e5152.
- Peakall R., Smouse P.E. (2012) GenAlEx 6.5: Genetic Analysis in Excel. Population Genetic Software for Teaching and Research – An Update. Bioinformatics. 28: 2537-2539.
- Pinter K., Epifanio J., Unfer G. (2019) Release of Hatchery-reared Brown trout (*Salmo trutta*) as a Threat to Wild populations? A Case Study from Austria. Fisheries Research. 219: 105296.

- Pivnička K. (1981) Ekologie ryb: odhady základních parametrů charakterizujících rybí populace. Státní pedagogické nakladatelství. 251 str.
- Pokorný J., Kalivoda J., Senft V. (2000) The Result of Breeding of the Italian Population of Brown trout (*Salmo trutta* m. *fario*) at Trout Farms Žichovice and Annín. Proceedings of the IV Czech Ichthyological Conference. Vodňany. 223-226.
- Preston A. C., Taylor J. F., Craig B., Bozolla P., Penman D. J., Migaud H. (2013) Optimisation of Triploidy Induction in Brown trout (*Salmo trutta* L.). *Aquaculture*. (414-415): 160-166.
- Pulg U., Barlaup B. T., Sternecker K., Trepl L., Unfer G. (2013) Restoration of Spawning Habitats of Brown trout (*Salmo trutta*) in a Regulated Chalk Stream. *River Research and Applications*. 29(2): 172-182.
- R Core Team. (2021) R: A Language and Environment for Statistical Computing. Verze 4.0.3. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.
- Randák T., Turek J., Kolářová J., Kocour M., Hanák R., Velíšek J., Žlábek V. (2009) Technologie chovu pstruha obecného v kontrolovaných podmínkách za účelem produkce násadového materiálu pro zarybňování volných vod. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. 20 str.
- Randák T., Slavík O., Kubečka J., Adámek Z., Horký P., Turek J., Vostradovský J., Hladík M., Peterka J., Musil J., Prchalová M., Jůza T., Kratochvíl M., Boukal D., Vašek M., Andreji J., Dvořák P., Just T., Blabolil P., Říha M. (2015) Rybářství ve volných vodách. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. 463 str.
- Reed D. H., Frankham R. (2003) Correlation between Fitness and Genetic Diversity. *Conservation Biology*. 17(1): 230–237.
- Reid Jr. J. B., Gallant J., Christensen C., Mengason. M. (1993) Stream Water chemistry in a Gabbro/Granite Watershed, Quabbin Reservation, Central Massachusetts. U. S. Department of Energy, Office of Scientific and Technical Information. USA.
- Ritland K. (1996) Estimators for Pairwise Relatedness and Individual Inbreeding Coefficients. *Genetical Research*. 67(2): 175-185.
- Ryman N., Ståhl G. (1980) Genetic Changes in Hatchery Stocks of Brown Trout (*Salmo trutta*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 37(1): 82-87.

- Sanz N. (2017) Phylogeographic Structure of Brown trout. s. 17–63. In: Lobon-Cervia J., Sanz N. (Eds) *Brown trout: Biology, Ecology and Management*. John Wiley and Sons, Chichester, UK.
- Sanz N., Nebot A., Araguas R-M. (2020) Microsatellites As a Good Approach for Detecting Triploidy in Brown trout Hatchery Stocks. *Aquaculture*. 523: 735218.
- Saryan P., Gupta S., Gowda V. (2020) Species Complex Delineations in the Genus *Hedychium*: A Machine Learning Approach for Cluster Discovery. *Applications in Plant Sciences*. 8(7): e11377.
- Scheerer P. D., Thorgaard G. H., Seeb, J. E. (1987) Performance and Developmental Stability of Triploid Tiger Trout (Brown Trout ♀ X Brook Trout ♂). *Transactions of the American Fisheries Society*. 116(1): 92-97.
- Schwinn M., Baktoft H., Aarestrup K., Koed A. (2017) A Comparison of the Survival and Migration of Wild and F1-hatchery-reared Brown trout (*Salmo trutta*) Smolts Traversing an Artificial Lake. *Fisheries Research*. 196: 47-55.
- Selkoe K. A., Toonen R. J. (2006) Microsatellites for Ecologists: A Practical Guide to using and Evaluating Microsatellite Markers. *Ecology Letters*. 9(5): 615-629.
- Sušnik S., Schöffmann J., Weiss S. (2005) Genetic Verification of Native Brown trout from the Persian Gulf (Catak Cay River, Tigris Basin). *Journal of Fish Biology*. 67: 879-884
- Svendsen J. C., Koed A., Aarestrup K. (2004) Factors Influencing the Spawning Migration of Female Anadromous Brown trout. *Journal of Fish Biology*. 64(2): 528-540.
- Szpiech Z. A., Rosenberg N. A. (2011) On the Size Distribution of Private Microsatellite Alleles. *Theoretical Population Biology*. 80(2): 100-113.
- Švampera V. (1914). Šumavská jezera III. Prášilské jezero. *Rozpravy české Akademie císaře Františka Josefa pro vědy, slovesnost a umění*. 23: 1-19.
- Tallaksen L. M., van Lanen H. A. J. (2023) *Hydrological Drought: Processes and Estimation Methods for Streamflow and Groundwater*. Elsevier, Amsterdam. 680 s.
- Taube, C. M. (1976) Sexual Maturity and Fecundity in Brown Trout of the Platte River, Michigan. *Transactions of the American Fisheries Society*. 105(4): 529-533.

- Templeton A. R., Hemmer H., Mace G., Seal U. S., Shields W. M., Woodruff D. S. (1986) Local Adaptation, Coadaptation, and Population Boundaries. *Zoo Biology*. 5(2): 115-125.
- Thaulow J., Borgström R., Heun M. (2013) Brown Trout Population Structure Highly Affected by Multiple Stocking and River Diversion in a High Mountain National Park. *Conservation Genetics*. 14(1): 145-158.
- Thompson M. Y., Brandes D., Kney A. D. (2012) Using electronic conductivity and hardness data for rapid assessment of stream water quality. *Journal of Environmental Management*. 104: 152–157.
- Tougaard C. (2022) Will the Genomics Revolution Finally Solve the *Salmo* Systematics? *Hydrobiologia*. 849: 2209-2224.
- Trede F. (2023) Microsatellites and Genetic Variation in Two Members of the African Papionini. [Ph.D. práce]. Göttingen: Georg-August-University Göttingen. 64 str.
- Turan D., Kottelat M., Engin S. (2010) Two New Species of Trouts, Resident and Migratory, Sympatric in Streams of Northern Anatolia (Salmoniformes: Salmonidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*. 20: 333-364.
- Vera M., Cortey M., Sanz N., García-Marín J.-L. (2010) Maintenance of an Endemic Lineage of Brown trout (*Salmo trutta*) within the Duero River Basin. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*. 48: 181-187.
- Veselý J. (1994) Investigation of the Nature of the Šumava Lakes: A Review. *Journal of the National Museum (Prague), Natural History Series*. 163(1-4): 103-120.
- Vrba J., Kopáček J., Tahovská K., Šantrůčková H. (2015) Long-term Ecological Research of Glacial Lakes in the Bohemian Forest and their Catchments. *Silva Gabreta*. 21(1): 53-71.
- Vrba J., Bojková J., Chvojka P., Fott J., Kopáček J., Macek M., Nedbalová L., Papáček M., Rádková V., Sacherová V., Soldán T., Šorf M. (2016a) Constraints on the Biological Recovery of the Bohemian Forest Lakes from Acid Stress. *Freshwater Biology*. 61(4): 376-395.
- Vrba J., Kopáček J., Čtvrtlíková M., Znachor P. (2016b) Brief History of Long-term Ecological Research into Aquatic Ecosystems and their Catchments in the Czech Republic, Part II: Glacial Lakes. *Biologické centrum AV ČR v.v.i.* 32 str.

- Wagner A. (2008) Robustness and Evolvability: A Paradox Resolved. Proceedings of the Royal Society – biological sciences. 275: 91-100.
- Ward R. D. (2000) Genetics in Fisheries Management. In A. M. Solé-Cava, C. A. M. Russo, & J. P. Thorpe (Ed.), Marine Genetics (s. 191-201). Springer Netherlands.
- Weiss S., Antunes A., Schlötterer C., Alexandrino P. (2000) Mitochondrial Haplotype Diversity among Portuguese Brown trout *Salmo trutta* L. Populations: Relevance to the Post-Pleistocene Recolonization of Northern Europe. Molecular Ecology. 9(6): 691-698.
- Wenne R. (2023) Microsatellites as Molecular Markers with Applications in Exploitation and Conservation of Aquatic Animal Populations. Genes, 14(4): 808.
- Witzel L., MacCrimmon H. (1983) Redd-site Selection by Brook trout and Brown trout in Southwestern Ontario Streams. Transaction of the American Fisheries Society. 112(6): 760-771.

Internetové zdroje:

- Český rybářský svaz, z. s. (ČRS). (2023) [online]. [cit. 2024-03-29]. Dostupné na: <https://www.rybsvaz.cz/beta/index.php/119-vseobecne/1431-konci-pstruhova-sezona-2023>.
- Český rybářský svaz, z. s. (ČRS). (2024) [online]. [cit. 2024-06-22]. Dostupné na: <https://www.rybsvaz.cz/beta/index.php/reviry/statistiky-ulovku>.
- Národní park Šumava (NP Šumava). (2024) [online]. [cit. 2024-03-29]. Dostupné na: <https://www.npsumava.cz/sprava-np/rada-nps-organigram-rocenky/rocenky/>.
- Capillary Electrophoresis (LibreTexts). (2024) [online]. [cit. 2024-06-17]. Dostupné na: [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_\(Analytical_Chemistry\)/Instrumentation_and_Analysis/Capillary_Electrophoresis](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_(Analytical_Chemistry)/Instrumentation_and_Analysis/Capillary_Electrophoresis).