

**NETECHNICKÉ SHRNUÍ PROJEKTU POKUSŮ**

<b>Název projektu pokusů</b>	
<b>Individuální variabilita a resilience mezidruhových vztahů ve sladkovodním prostředí s využitím interakcí mlžů a ryb (</b>	
Doba trvání projektu pokusů	Do prosince 2021
Klíčová slova - <i>maximálně 5</i>	Ryby, glochidia, hostitelsko-parazitické vztahy, mlži
<b>Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka</b>	
<input type="checkbox"/>	základní výzkum
<input type="checkbox"/>	translační nebo aplikovaný výzkum
<input type="checkbox"/>	vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků
<input type="checkbox"/>	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat
<input checked="" type="checkbox"/>	zachování druhů
<input type="checkbox"/>	vyšší vzdělávání nebo odborná příprava
<input type="checkbox"/>	trestní řízení a jiné soudní řízení
<b>Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)</b>	
Studium kompatibility mezi glochidii sladkovodních mlžů a jejich rybími hostiteli na úrovni prokázání vhodnosti hostitele nelze provést jinak než na základě vyhodnocení úspěšnosti vývoje glochidií v juvenilní jedince na rybách. Cílem projektu je získání nových informací o tom, jak hostitelské a závislé (affiliate) druhy interagují v měnících se společenstvech, a jak jsou tyto interakce ovlivňovány individuální variabilitou a zajišťovacími strategiemi. S využitím modelové skupiny hostitel (sladkovodní ryba) – parazit (larvy sladkovodních mlžů) projekt kvantifikuje strukturu hostitelské kompatibility v říční síti s časovým gradientem společného výskytu parazita a hostitele, se zaměřením na vztah mezi specifickými variantami genů pro získanou imunitu (hlavní histokompatibilní komplex, MHC) a rezistencí hostitele. Kvantifikujeme také adaptační potenciál a kapacitu změny hostitele při změně hostitelského společenstva v experimentálních podmínkách s ohledem na behaviorální faktory. Projekt pomůže zlepšit naše porozumění resilienci mezidruhových vazeb v rychle se měnícím prostředí.	
<b>Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů (jak by mohlo být dosaženo pokroku ve vašem vědním oboru nebo jaký přínos by z něj člověk či zvířata mohli mít)</b>	
Projekt kvantifikuje adaptační potenciál a kapacitu změny hostitele při změně hostitelského společenstva v experimentálních podmínkách s ohledem na behaviorální faktory. Projekt pomůže zlepšit naše porozumění resilienci (schopnosti odolávat změnám) mezidruhových vazeb v rychle se měnícím prostředí.	
<b>Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá</b>	
Pro zajištění reprezentativnosti výsledků bude v průběhu studie použito použito 480 ks hořavky očkáté ( <i>Rhodeus ocellatus</i> ), 280 ks hrouzka obecného ( <i>Gobio gobio</i> ) a 680 ks jelce tlouště ( <i>Squalius cephalus</i> ).	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
Nejsou očekávány nežádoucí účinky po značení ani krátkodobé expozici přirozeným parazitům ryb, v koncentracích v kterých se běžně vyskytují ve vodním prostředí říční sítě ČR. Míra závažnosti je mírná, a metody úspěšnosti parazitace jsou celosvětově uznávané jako vhodné pro sledování hostitelské kompatibility a je u nich předpoklad v podstatě nulového ovlivnění welfare a tím pádem i přirozených projevů chování. Ryby budou po skončení pokusu usmrceny předávkováním anestetikem (2-phenoxyethanolem, ~1ml/L) v souladu s § 17, zákona 246/1992 Sb. v platném znění.	
<b>Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)</b>	
Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.	
Pro dosažení výsledku není dostupná jiná metoda ani zkušební strategie, která nevyžaduje živého zvířete. Bude použit nejnižší možný počet pokusných zvířat s minimálním počtem pro dostatečně reprezentativní vzorek údajů. Použité metody jsou celosvětově uznávané jako vhodné pro sledování hostitelské kompatibility v laboratorních experimentech a je u nich předpoklad v podstatě nulového ovlivnění welfare a tím pádem i přirozených projevů chování. Ryby budou vystavené reálným koncentracím glochidií (parazitických larev mlžů), které se běžně vyskytují v říční síti ČR.	
Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
Metodika a statistický plán pro minimalizaci počtu pokusných zvířat vychází ze zkušenosti s předchozími pracemi výzkumného týmu (např. Douda, K., Liu, H. Z., Yu, D., Rouchet, R., Liu, F., Tang, Q. Y., ... & Reichard, M. (2017). The role of local adaptation in shaping fish-mussel coevolution. <i>Freshwater Biology</i> ,	



62(11), 1858-1868.). Počet pokusných zvířat vychází z očekávané variability datového souboru a představuje minimální počet jedinců pro identifikaci rozdílů mezi studovanými skupinami.

Šetrné zacházení se zvířaty: Vysvětlete volbu druhu zvířat a proč se v případě tohoto zvířecího modelu jedná o nejšetrnější použití z hlediska vědeckých cílů.

Vysvětlete obecná opatření, která budou přijata za účelem snížení újmy způsobené zvířatům na minimum.

Studium hostitelské kompatibility mlžů na fyziologické úrovni nelze provést jinak než na základě experimentálního osídlení malým množstvím glochidií na pokusných zvířatech. Použité metody identifikace ryb jsou ke značení ryb za účelem sledování chování běžně používány v ČR i v zahraničí a jejich aplikace nemá prokazatelný vliv na změnu chování označených jedinců. Znečistlivění během značení bude prováděno dle metodiky Anestetika pro ryby (Edice metodik JČU VÚRH), např. 2-phenoxyethanolem. Vyhodnocení úspěšnosti parazitace bude bezkontaktní a bude probíhat pomocí vyhodnocení přítomnosti metamorfovaných jedinců mlžů na dně nádrží. Použité metody jsou celosvětově uznávané jako vhodné a je u nich předpoklad v podstatě nulového ovlivnění welfare a tím pádem i přirozených projevů chování. Ryby budou vystavené reálným koncentracím glochidií, které se běžně vyskytují v říční síti ČR. Rybám v pokusu bude zajištěn přívod vody vhodné kvality. Jednotlivé odchovné nádrže jsou vybavené samostatnými filtračními jednotkami s biologickými filtry. Každá nádrž bude opatřena provzdušňovacím zařízením k zajištění potřeby koncentrace kyslíku dle potřeb zvoleného druhu. Koncentrace dusíku bude udržována na nízkých hodnotách, úroveň pH bude udržována stabilní. Změny salinity nejsou v pokusu plánovány. V nádržích bude pravidelně kontrolována teplota, stejně jako obsah kyslíku, pH, vodivost a další základní parametry vodního prostředí. Fotoperiodicita pro ryby bude udržována pomocí časovacích světelných zdrojů. Generátory a filtrace budou umístěny v dostatečné vzdálenosti od nádrží k zamezení hluku a vibrací. Ryby budou krmeny 1 x denně standardním komerčním krmivem. Po dobu experimentu bude zajištěna denní péče. Všechny metodické postupy jsou v souladu se základními životními projevy ryb.