

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2013/13



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1.Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	Z4-3667
Naslov projekta	Imunski odziv in vedenjski vzorci pri udomačenih in divjih sevih potočne postrvi
Vodja projekta	22445 Andrej Razpet
Tip projekta	Zt Podoktorski projekt - temeljni
Obseg raziskovalnih ur	3400
Cenovni razred	A
Trajanje projekta	05.2010 - 04.2012
Nosilna raziskovalna organizacija	481 Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	4 BIOTEHNIKA 4.02 Živalska produkcija in predelava 4.02.01 Genetika in selekcija
Družbeno-ekonomski cilj	08. Kmetijstvo

2.Raziskovalno področje po šifrantu FOS¹

Šifra	1.06
- Veda	1 Naravoslovne vede
- Področje	1.06 Biologija

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

3.Povzetek raziskovalnega projekta²

SLO

Gojenje salmonidnih vrst je zanimivo tako za prehrano kot tudi za vlaganje v ribolovne revirje za potrebe športnega ribolova, obnovitve avtohtone populacije ali povečanja obstoječe populacije. Od potočnih postrvi (*Salmo trutta*) se v večjih količinah goji predvsem udomačene anadromne postrvi, ki lahko živijo tudi v manj slani morski vodi, izvirajo pa iz rek, ki se izlivajo

v severni Atlantik. Te postrvi pri nas niso avtohtone, se pa križajo z avtohtono potočno in soško postrvjo (*S. marmoratus*), kar povzroča znižanje genetske raznovrstnosti. Repopulacija soške postrvi je uspela na osnovi osmih genetsko čistih populacij, podoben projekt na slovenskih potočnih postrveh še ni bil izveden, predvsem zaradi odsotnosti primernih genetsko čistih populacij.

Gojenje divjih avtohtonih in križanih potočnih postrvi v ribogojnicah je težavno zaradi nizke stopnje preživetja pri prenosu divjih postrvi v ribogojnico, hkrati pa je nizka tudi stopnja preživetja udomačenih postrvi ob vlaganju v potoke. Prilagajanje postrvi na novo okolje je težavno zaradi pridobljenih vedenjskih vzorcev, vendar se v obeh primerih prenosa nižja stopnja preživetja pozna tudi pri naslednjih generacijah, kar pomeni, da je vzrok vsaj deloma genetski. Najverjetnejša razlaga za genetsko komponento je različen selekcijski pritisk v ribogojnici in v divjini, predvsem je selekcijski pritisk na razvijajoče se ike v ribogojnici bistveno nižji kot v naravnem okolju. Ugotavlja se, da sposobnost preživetja postrvi po izpustu strmo pade že po nekaj generacijah v ribogojnicah. V interesu ribičev je, da se vlaga take ribe, ki so se sposobne prilagoditi na novo okolje, v njem rasti in se razmnoževati. Namen raziskave je določiti razlike med različnimi postrvmi na nivoju njihove genetske raznolikosti, imunskega odziva, odpornosti oplojenih iker in vedenja v ujetništvu, rezultate raziskave pa uporabiti za spremembe pri vzreji rib na način, ki poveča njihovo stopnjo preživetja po izpustu.

Za uporabljene genetske metode ni potrebno žrtvovati rib. Okužbo oplojenih iker s *Pseudomonas fluorescens* in opazovanje razvoja ali propada zarodka se izvaja v laboratoriju. Obnašanje rib v ujetništvu se lahko spremlja v vseh fazah razvoja z različnimi pristopi (opazovanje, analiza posnetka, spremljanje različnih parametrov s pomočjo vsadka). Podatke se obdela in primerja z osnovnimi statističnimi programi. Rezultati raziskav bi pripomogli k identifikaciji posameznih rib v ribogojnici, ki imajo največ možnosti za preživetje po izpustu oziroma k identifikaciji posameznih rib, ki so primerne za življenje v ujetništvu in bi jih bilo možno uporabiti za križanje z udomačenimi postrvmi z namenom povečanja genetske raznolikosti.

ANG

Salmonid fish species are hatchery-reared for consumption, stocking managed freshwater streams for sport fishing, as a mean to increase the population size or to restore native population. Domesticated brown trout (*Salmo trutta*) originates from European rivers flowing in the North Atlantic Ocean, more precisely from anadromous type of brown trout that is capable of living and reproducing in the sea water. Although not native to Slovenia, these fish hybridise with native brown and marble trout (*S. marmoratus*), reducing their genetic diversity. Repopulation of marble trout is an ongoing successful project in the Slovenian part of the Adriatic drainage that started from eight genetically pure marble trout populations. A similar project in the Slovenian part of the Danubian drainage has yet to take place as no suitable genetically pure populations were found so far. Most populations of brown trout in the Danubian drainage are therefore hybrids between native brown trout and non-native domesticated brown trout.

Hatchery-reared brown trout have a low survival rate after stocking and wild brown trout have low survival rate in fish farms. Adaptation to the new environment is made difficult because of the acquired behaviour in the wild/captivity, but low survival rate is maintained even after a few generations, meaning that the reason for the phenomena is at least partially genetic. The most probable explanation for the genetic component is the difference between selection pressure in the wild and in captivity. In hatcheries and fish farms most fertilised eggs hatch successfully meaning that the selection pressure is low. Fish used for stocking have to be able to adapt, survive and reproduce in managed streams. The purpose of this research project is to find differences between wild and domesticated brown trout in their genetic diversity, immune response, tolerance of embryos to infection and behaviour in captivity in order to improve conditions and selection in captivity in a way to maximize survival rate of fish after release.

No adult fish will be sacrificed for genetic analyses. Fertilised eggs will be treated with *Pseudomonas fluorescens* culture to observe the embryos' tolerance to infection *in vitro*. Behaviour of fish can be observed in all phases of their development from hatched larvae to adulthood using different approaches (observation, video analysis, and movement recording implantats). Obtained data will be analysed using basic statistical tools. Results from this study could be used to identify individual fish that will have the highest survival rate after release and possibly to identify individual fish that are appropriate for fish farm environment and crossing with domesticated strain to improve its genetic diversity.

4. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu³

V obdobju drstitve salmonidnih vrst smo zastavili tri poskuse z oplojenimi ikrami:

1) V ribogojnici Ribiške družine Bled smo osmukali 5 samcev in 5 samic potočne postrvi (*Salmo trutta*). Ikre vsake samice smo razdelili v 5 enakih delov in vsak del oplodili s semenom drugega samca. Opisano 5×5 križanja je bilo torej sestavljeno iz 25-ih različnih starševskih kombinacij. Oplojene ikre smo prenesli v laboratorij in jih gojili v inkubatorju pri temperaturi 9° C. Prvo leto smo poskus izvedli v petrijevkah, drugo leto v mikrotitrskih ploščah.

2) V ribogojnici Povodje smo osmukali šarenko (*Oncorhynchus mykiss*), 4×4 poskus. Poskus smo prvo leto začeli v petrijevkah, vendar nadaljevali še isto leto na mikrotitrskih ploščah, drugo leto pa od samega začetka na ploščah.

3) V ribogojnici Povodje se nam je ponudila priložnost za razširitev poskusa, zato smo proste kapacitete inkubatorja zapolnili še s starševskimi kombinacijami zlatovčic (*Salvelinus fontinalis*), 4×4 poskus, ki pa je potekal samo prvo leto na petrijevkah.

Inkubacija oplojenih iker je prvo leto potekala v odprtih petrijevkah, propadle in neoplojene ikre smo odstranjevali vsak dan, redno smo dodajali sterilizirano in aerirano vodo (nasičeno s kisikom). Približno polovico oplojenih iker vsake starševske kombinacije smo ob pojavu oči okužili s kulturo bakterije *Pseudomonas fluorescens*, druga polovica iker vsake starševske kombinacije je ostala neokužena. Sterilizirano in aerirano vodo smo dodajali še naprej, propadle ikre in kasneje propadel zarod smo redno odstranjevali dokler niso propadle vse ribe. Pogin rib smo spremljali in beležili.

Tekom poskusa smo odkrili več težav, ki izvirajo iz kakovosti začetnega materiala iz ribogojnic in iz divjine, omejenosti prostora v inkubatorju in prenosljivosti postopkov iz drugih laboratorijev v našega. Ključne ugotovitve so bile:

1) Količina iker, ki jih proizvede samica, so omejene predvsem z njeno velikostjo. Postrvi iz ribogojnice oziroma iz revirjev, kjer živijo križanci gojenih in divjih postrvi, zlahka proizvedejo zadostno količino iker za 5×5 poskus, torej vsaj 500. Genetsko čiste postrvi iz potokov, kamor nikoli niso vlagali in kamor nikoli niso priplavale neavtohtone postrvi atlantske linije ali križanci z njimi, pa so praviloma majhne. Zato smo genetsko čiste postrvi izključili iz projekta, da se ne bi že tako omejena količina biološkega materiala porabljala poskuse s prenizkim številom oplojenih iker za zanesljivo statistično analizo.

2) Tudi *in vitro* je stopnja preživetja v največji meri odvisna od kakovosti iker. Poskus z zlatovčicami je bil prekinjen še pred načrtnim okuževanjem, ker so ikre propadle že prej. Najverjetnejši razlog je bilo pozno smukanje zlatovčic in posledično slabša kakovost iker. Zaradi omejitev prostora v drugem letu poskusa z zlatovčicami nismo ponovili.

3) Oplojene ikre smo v pozni fazi razvoja oči okužili, vendar so se z začetkom izleganja praviloma okužile tudi še vse neizlegle ikre v isti petrijevki. Najverjetneje je do tega prišlo zaradi sprostitev dela vsebine iker ob njenem odprtju. Kljub rednemu spiranju s sterilizirano in aerirano vodo se širjenja okužbe ni dalo preprečiti. Del že izleglih rib smo predstavili v ločene petrijevke in njihov razvoj spremljali še nekaj tednov. Ker potomcev določenih starševskih kombinacij ni bilo veliko, smo se osredotočili na bolj številčne kombinacije in ob različno močnih okužbah določali najbolj primerno dozo infekcijskega materiala.

4) Da bi preprečili širjenje okužbe v petrijevkah smo pri poskusu s šarenkami, ki so se drstile kasneje kot potočne postrvi, že v prvem letu uporabljali mikrotitrške plošče (96 iker na ploščo). V drugem letu poskusa smo vse oplojene ikre že od samega začetka poskusa inkubirali izključno na ploščah.

5) Pri vseh poskusih, ki smo jih izvedli do konca, je bila razlika v stopnji preživetja z ali brez okužbe majhna in statistično neznačilna, zato ni bilo možno raziskati, kateri genetski označevalci vplivajo na imunsko odpornost po okužbi.

Vzporedno smo izolirali genetski material iz plavutk staršev. Starševskim potočnim postrvem smo določali zaporedje gena, ki kodira protein pglavitnega histokompatibilnostnega kompleksa (*major histocompatibility complex* - MHC). Presenetljivo, in preverjeno z različnimi tehnikami, pri teh postrveh nismo zaznali genetske raznolikosti, primerljive s tistimi iz podobnih študij. V referenčnem članku (Wedekind in sod., 2004) so bili opazovani polimorfizmi

gena MHC bisveno večji, zato smo sklepali, da je to morda posledica bolj polimorfne populacije. Ker so populacije slovenske potočne postrvi dokaj majhne, je možno, da je pomanjkanje polimorfizma posledica "ozkega grla" oziroma padca genetske raznolikosti. Zato smo se finančno vključili v raziskovalno odpravo v Rusijo, kjer so sodelavci v navezi z ruskimi raziskovalci iskali potočne postrvi in druge salmonide. Ker Slovenija in Rusija predstavljata skrajno zahodni oziroma skrajno vzhodni del področja, na katerem živi potočna postrv donavske filogeografske linije, je genetska distanca med postrvmi teh skrajnih lokacij predvidoma večja kot med različnimi slovenskimi lokacijami. Preliminarni rezultati na dvanajstih mikrosatelitinih lokusih kažejo, da so ruski vzorci statistično različni od postrvi, ki so bile vključene v križanje pozimi 2010/11. Izvedli smo številne populacijske analize, s katerimi določamo predvsem populacijsko dinamiko in migracije med različnimi lokacijami, s čimer je možno razložiti nizko stopnjo opazovanih polimorfizmov. Zaradi procesorsko zahtevnih analiz smo začeli uporabljati tudi superračunalnike, ki temeljijo na vzporedno povezanih procesorjih, in pakete iz programskega jezika R za obdelavo obsežnih izhodnih datotek. Delovni rezultati kažejo, da so postrvi šle skozi ozko grlo ob koncu zadnje ledene dobe pred ~10000-20000 leti, zato uporaba programov, ki računajo povprečne migracije v daljšem časovnem obdobju, ne daje uporabnih rezultatov (ni konvergence). Objavljivih rezultatov na osnovi organizmov, vključenih v podoktorski projekt, zato še ni, medtem ko smo v okviru kontinuiranega raziskovalnega dela na salmonidih v letu 2011 objavili članek na temo lipana in pridobili rezultate za dodatne objave, ki so še v pripravi.

Izbrali smo 24 parov začetnih oligonukleotidov, s katerimi smo pomnočili gene imunskega odziva, ki imajo statistično značilno spremenjeno izražanje pri lososu (Haugland in sod., 2005). Po optimizaciji PCRja smo določili 10 parov začetnih oligonukleotidov, ki uspešno pomnožujejo gene pri potočni postrvi in šarenki. Izolirali smo tudi RNA njihovih že izleglih potomcev iz okužene in neokužene (kontrolne) skupine, vendar zaradi izteka projekta nismo preverili razlik v stopnjah izražanja genov, povezanih s stresom in imunskim odzivom.

Hipoteze, da določeni geni vplivajo na imunski odziv nismo mogli dokazati zaradi neznačilnih razlik med okuženimi in kontrolnimi oplojenimi ikrami. Najverjetnejši vzrok za to je premajhen vpliv *P. fluorescens* na smrtnost ribjih zarodkov v primerjavi z drugimi faktorji, ki vplivajo na preživetje rib.

5. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem projektu in zastavljenih raziskovalnih ciljev⁴

Realizacija je na začetku projekta zaostajala zaradi pozne dostave ključnega dela opreme - inkubatorja za gojenje oplojenih iker. Zaradi tega ni bilo možno izvesti optimizacije gojenja že prvo poletje z ikrami šarenke, ki jih je možno dobiti tudi poleti z južne poloble, ampak šele z ikrami potočne postrvi ob poznem jesenskem drstu. Prve mesece smo tako izkoristili za iskanje člankov, povezanih z inkubacijo iker in povezanimi molekularnimi študijami. V tem času smo tudi do konca napisali članek na temo druge salmonidne vrste - lipana (*Thymallus thymallus*), ki je bil financiran v preteklih letih iz drugih virov, uporabljene pa so bile metode in računalniške analize, ki so relevantne tudi za podoktorski projekt v teku.

Zaradi razlogov, navedenih v točki Utemeljitev morebitnih sprememb, je bil eksperimentalni del raziskave močno okrnjen in se je preselil predvsem na računalniške analize. Glede na zastavljen projekt smo razvili postopek za uspešno inkubacijo razvijajočih se iker do izvalitve, vendar nismo določili potrebne infektivne doze *P. fluorescens*, ki bi povzročila opazne razlike v deležu izvaljenih iker iz različnih starševskih kombinacij. Možno je tudi, da *P. fluorescens* ni primeren organizem za okužbo.

6. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine⁵

Prvo križanje je idejno zasnovo projekta postavilo na realna tla. Divji sevi oziroma prostoživeče avtohtone potočne postrvi so prisotne v maloštevilnih potokih, kjer zaradi omejenega prostora in hrane ne zrastejo do velikosti, da bi se iz posameznih samic dobilo količino iker, primerno za poskus. Zato smo poskus spremenili in križali dovolj velike in po videzu čim bolj različne ribe, kot jih imajo v vališču Ribiške družine Bled. Zaradi pomanjkanja časa, ki je povezano s pozno dobavo inkubatorja, smo proces optimizacije gojenja *in vitro* ter nadaljne poskuse razširili z drugimi salmonidnimi vrstami, namreč s šarenko in zlatovčico. Obe vrsti v Sloveniji nista avtohtoni, zato smo v tem primeru gledali samo odzivnost ribogojniških rib brez primerjave s prosto živečimi ali genetsko čistimi ribami. Pokus na šarenkah je bil manjši (križanje 4 × 4), ker predpostavljamo manjšo genetsko in fenotipsko raznolikost ob prenosu neavtohtone živali

iz Severne Amerike v ribogojniško selekcijo in njihov prenos v Evropo.

Pri gojenju v petrijevkah prve izvaljene ribice hitro okužijo vse preostale ribe, zato smo metodo inkubacije spremenili, ikre se zdaj razvijajo v petrijevkah do pozne faze razvoja oči, nakar se individualno prestavijo v mikrotirsko ploščo. Tako je okuževanje s *P. fluorescens* boljše nadzorovano, enostavnejše je tudi štetje, vendar je nemogoče opazovanje obnašanja izvaljenih rib, ker v posamezni luknjici nimajo skoraj nič prostora za premikanje, zato tudi opazovanje gibanja ni možno. Uporaba plošč z večjimi luknjicami ni možna, ker v inkubator kljub desetim policam ni možno spraviti zadostnega števila plošč. Opazovanje obnašanja je bilo zato črtano iz projekta.

Okrnjenje ciljev projekta smo nadomestili z dodatkom vzporednega poskusa na dodatnih vrstah in računalniški analizi genotipov izvirnega biološkega materiala. Analize so tekale hkrati z drugimi salmonidnimi populacijami in za potrebe priučevanja računalniških orodij tudi na nekaterih drugih vrstah ali simuliranih populacijah.

7. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁶

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	3027080	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Genetska raznolikost zahodnobalkanskih populacij lipana (<i>Thymallus thymallus</i>)
		ANG	Genetic variation of European grayling (<i>Thymallus thymallus</i>) populations in the Western Balkans
	Opis	SLO	Genetsko strukturo populacij lipana (<i>Thymallus thymallus</i>) v zahodnobalkanski regiji smo določili na osnovi delnega zaporedja kontrolne regije mitohondrijske DNK (mtDNK) in 12-ih mikrosatelitnih označevalcev. Primerjali smo 14 populacij iz rek jadranskega in donavskega povodja, našli smo 11 različnih mtDNK haplotipov, od katerih en pripada jadranski kladi, en alpski, ostali pa balkanski filogenetski kladi. Balkanska klada se deli dalje v severno (slovenske populacije) in južno (populacije iz Črne gore in Bosne in Hercegovine). Genetska distanca med obema balkanskima podkladama je znatna (0,75-1,8%) in je verjetno posledica večkratnih valov naselitve v pleistocenu, ki so ga zaznamovale številne poledenitve in otoplitve. Genetska distanca med jadransko in donavsko klado (4%) je posledica starejše ločitve v srednjem pliocenu. Analiza mikrosatelitnih označevalcev je optrdila visoko genetsko raznolikost (v povprečju 7,5 alelov na posamezen označevalec, H_{exp} 0,58). V nekaterih populacijah smo zaznali sledi vlaganja lipana iz tujih populacij. Na osnovi raziskave smo predlagali smernice varovanja avtohtonih populacij.
		ANG	In order to elucidate genetic composition of European grayling (<i>Thymallus thymallus</i>) populations in the Western Balkans, the partial mitochondrial DNA (mtDNA) control region was sequenced and 12 microsatellite loci genotyped in 14 populations originating from tributaries of the Adriatic and Danube drainages. Eleven mtDNA haplotypes were found, one confined to the Adriatic clade, one to the Alpine group and the rest to the "Balkan" grayling phylogenetic clade. Haplotypes from the Balkan clade were confined to the Danube drainage and constituted two groups: northern group with haplotypes found in the Slovenian part of the Danube drainage, and southern group, consisting from Bosnia-Herzegovina and Montenegro. Substantial genetic distance between northern and southern groups of haplotypes (0.75-1.8%) and well supported divisions within the northern group indicate very structured grayling population within the studied Danube basin that most probably did not evolve due to variance but rather as a consequence of multiple colonization waves that might have occurred during the Pleistocene. Furthermore, genetic distance of - 4% between Adriatic and Danube populations' haplotypes, suggest that their separation occurred in mid-Pliocene. These findings imply a complex colonization pattern of the Western Balkans drainages. Microsatellite data also confirm

		high genetic diversity in Western Balkans populations of grayling (on average 7.5 alleles per microsatellite locus and Hexp 0.58). Limited stocking activities were detected based on microsatellites and mtDNA data. Regarding current knowledge of grayling phylogeography appropriate management strategies were proposed to preserve unique, autochthonous grayling populations in Western Balkan.
	Objavljeno v	Junk; Hydrobiologia; 2012; Vol. 691, no. 1; str. 225-237; Impact Factor: 1.784; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.672; WoS: PI; Avtorji / Authors: Marić Saša, Kalamujić Belma, Snoj Aleš, Razpet Andrej, Lukić-Bilela Lada, Pojskić Naris, Sušnik Bajec Simona
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
2.	COBISS ID	2821000 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i> Genetska diferenciacija lipana (<i>Thymallus thymallus</i>) v Srbiji
		<i>ANG</i> Genetic differentiation of European grayling (<i>Thymallus thymallus</i>) populations in Serbia, based on mitochondrial and nuclear DNA analyses
	Opis	<i>SLO</i> Lipan (<i>Thymallus thymallus</i>) je sladkovodna riba, razširjena v večjem delu evrope, vendar so njene skrajno južne populacije pretežno neraziskane. V okviru raziskave smo zbrali 80 vzorcev iz štirih srbskih rek (Ibar, Lim, Drina in Rzav), določili nukleotidno zaporedje kontrolne regije in gena ATP6 na mitohondrijski DNA ter genotipe na 12-ih mikrosatelitnih lokusih. Našli smo nove mitohondrijske haplotipe kot tudi že prej opisane v Sloveniji in s tem potrdili dokumentirano vlaganje slovenskega lipana v srbske reke. <i>SLO</i> Genetsko raznolikost na osnovi mikrosatelitov, strukturiranost populacij, nedavna in zgodovinska ozka grla smo določili z uporabo specializiranih računalniških programov. Odkrili smo, da se populacije iz Ibra, Lima in Drine razlikujejo od vseh drugih primerjanih iz prejšnjih študij, potrdili neavtohtonost populacije iz Rzava in sledi vlaganja v Drino. Zgodovinsko ozko grlo smo določili v času zadnje poledenitve, kar pomeni, da se kljub bližini balkanskega ledenodobnega zavetišča zgodovinska dinamika srbskih populacij ne razlikuje od preostalih evropskih populacij.
		<i>ANG</i> The structure and diversity of grayling (<i>Thymallus thymallus</i>) populations have been well studied in most of its native habitat; however the southernmost populations of the Balkan Peninsula remain largely unexplored. The purpose of this study was to assess the genetic diversity of Serbian grayling populations, detect the impact of stocking and provide guidelines for conservation and management. Eighty grayling individuals were collected from four rivers (Ibar, Lim, Drina and Rzav). The mitochondrial DNA control region (CR; 595 bp of the 3' end and 74 bp of flanking tRNA) and the ATP6 gene (630 bp fragment) were sequenced for 20 individuals (five from each locality). In addition, all individuals were genotyped with 12 microsatellite loci. The diversity and structure of the populations as well as the recent and ancient population declines were studied using specialized software. We detected three new haplotypes in the mtDNA CR and four haplotypes in the ATP6 gene of which three had not been described before. Previously, one CR haplotype and two ATP6 gene haplotypes had been identified as allochthonous, originating from Slovenia. Reconstruction of phylogenetic relations placed the remaining two CR haplotypes from the River Danube drainage of Serbia into a new clade, which is related to the previously described sister Slovenian clade. These two clades form a new Balkan clade. Microsatellite marker analysis showed that all four populations are genetically distinct from each other without any sign of intrapopulation structure, although stocking of the most diverse population (Drina River) was confirmed by mtDNA analysis. Recent and historical population declines of Serbian grayling do not differ from those of other European populations. Our study shows that (1) the Ibar, Lim and Drina Rivers grayling populations are genetically distinct from populations outside of Serbia and thus should be managed as native populations in

		spite of some introgression in the Drina River population and (2) the Rzav River population is not appropriate for further stocking activities since it originates from stocked Slovenian grayling. However, the Rzav River population does not represent an immediate danger to other populations because it is physically isolated from these.
Objavljeno v	EDP sciences; Genetics selection evolution; 2011; Vol. 43, no. 2; str. 1-11; Avtorji / Authors: Marić Saša, Razpet Andrej, Nikolić Vera, Simonović Predrag	
Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	

8. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁷

	Družbeno-ekonomski dosežek		
1.	COBISS ID		
	Naslov	SLO	
		ANG	
	Opis	SLO	
		ANG	
	Šifra		
	Objavljeno v		
	Tipologija		

9. Drugi pomembni rezultati projektne skupine⁸

--

10. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁹

10.1. Pomen za razvoj znanosti¹⁰

SLO

Razvili smo nezahtevno in poceni metodo gojenja oplojenih iker potočne postrvi do izvalitve. Lahko spremljamo odziv razvijajočih se iker na različne snovi iz okolja, v našem primeru na okužbo z bakterijo *Pseudomonas fluorescens*. Načeloma se lahko testni organizem uporabi za spremljanje učinkov praktično katerekoli snovi, v našem poskusu spremljamo smrtnost glede na genetske značilnosti starševskih organizmov.

ANG

A simple and cheap method of fertilized fish eggs incubation until hatching was developed. Fish embryo model could be used to assess the impact of various chemicals, infectious agents or environmental conditions on fish survival rate. In the past year, correlation between survival rate after infection with *P. fluorescens* and genetic characteristics of parents.

10.2. Pomen za razvoj Slovenije¹¹

SLO

Nismo imeli rezultatov, ki bi imeli aplikativno vrednost za širšo javnost, smo pa v okviru podoktorskega projekta sodelovali v izobraževalnem procesu. Pri delu s potočnimi postrvmi je sodeloval absolvent biotehnologije, ki bo rezultate uporabil za diplomsko nalogo, in študentka dodiplomskega študija biotehnologije, ki je v okviru prostovoljne dejavnosti pridobila izkušnje v laboratoriju. Znanja, pridobljena v projektu, smo uporabili v tekočih projektih na drugih salmonidnih vrstah, v prihodnosti pa tudi na povsem drugih organizmih.

ANG

We did not produce results with applicative value, but as the project is based in university it was also used in educational purpose. A student of Biotechnology will use his part of results in a graduation thesis while another undergraduate student of Biotechnology gained practical laboratory experience through voluntary work. Knowledge gained during the project was also used with other long running salmonid projects in the lab, they will also be used on other species.

11. Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!
Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri projektu, katere konkretne rezultate ste dosegli in v kakšni meri so doseženi rezultati uporabljeni

Cilj		
F.01	Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.03	Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.04	Dvig tehnološke ravni	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.05	Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.06	Razvoj novega izdelka	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.07	Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	

	Uporaba rezultatov	
F.08	Razvoj in izdelava prototipa	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.10	Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.11	Razvoj nove storitve	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.12	Izboljšanje obstoječe storitve	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.13	Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.14	Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.15	Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.16	Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE

	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.17	Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.19	Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.20	Ustanovitev novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.21	Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.22	Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.23	Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.24	Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	

F.25	Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.26	Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.27	Prispevek k ohranjanju/varovanje naravne in kulturne dediščine	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.28	Priprava/organizacija razstave	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.29	Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.30	Strokovna ocena stanja	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.31	Razvoj standardov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.32	Mednarodni patent	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.33	Patent v Sloveniji	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE

	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.34	Svetovalna dejavnost	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.35	Drugo	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	

Komentar

--

12.Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!
Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
G.01	Razvoj visokošolskega izobraževanja					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	☐	☐	☐	☐	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	☐	☐	☐	☐	
G.01.03.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.02	Gospodarski razvoj					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	☐	☐	☐	☐	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	☐	☐	☐	☐	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	☐	☐	☐	☐	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	☐	☐	☐	☐	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	☐	☐	☐	☐	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	☐	☐	☐	☐	
G.02.07.	Večji delež izvoza	☐	☐	☐	☐	
G.02.08.	Povečanje dobička	☐	☐	☐	☐	
G.02.09.	Nova delovna mesta	☐	☐	☐	☐	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	☐	☐	☐	☐	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	☐	☐	☐	☐	
G.02.12.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.03	Tehnološki razvoj					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	☐	☐	☐	☐	

G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	☐	☐	☐	☐	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	☐	☐	☐	☐	
G.03.04.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.04	Družbeni razvoj					
G.04.01	Dvig kvalitete življenja	☐	☐	☐	☐	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	☐	☐	☐	☐	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave	☐	☐	☐	☐	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	☐	☐	☐	☐	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe	☐	☐	☐	☐	
G.04.06.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.05.	Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete	☐	☐	☐	☐	
G.06.	Varovanje okolja in trajnostni razvoj	☐	☐	☐	☐	
G.07	Razvoj družbene infrastrukture					
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura	☐	☐	☐	☐	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	☐	☐	☐	☐	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	☐	☐	☐	☐	
G.07.04.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.08.	Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva	☐	☐	☐	☐	
G.09.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	

Komentar

--

13. Pomen raziskovanja za sofinancerje¹²

Sofinancer		
1.	Naziv	
	Naslov	
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:	EUR
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:	%
	Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja	
		Šifra
	1.	
	2.	
	3.	
	4.	
5.		
Komentar		

	Ocena	
--	-------	--

14. Izjemni dosežek v letu 2012¹³

14.1. Izjemni znanstveni dosežek

--

14.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

--

C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

- so vsi podatki, ki jih navajamo v poročilu, resnični in točni
- se strinjamo z obdelavo podatkov v skladu z zakonodajo o varstvu osebnih podatkov za potrebe ocenjevanja ter obdelavo teh podatkov za evidence ARRS
- so vsi podatki v obrazcu v elektronski obliki identični podatkom v obrazcu v pisni obliki
- so z vsebino zaključnega poročila seznanjeni in se strinjajo vsi soizvajalci projekta

Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba
raziskovalne organizacije:*

in

vodja raziskovalnega projekta:

Univerza v Ljubljani, Biotehniška
fakulteta

Andrej Razpet

ŽIG

Kraj in datum:

Domžale	13.3.2013
---------	-----------

Oznaka prijave: ARRS-RPROJ-ZP-2013/13

¹ Opredelite raziskovalno področje po klasifikaciji FOS 2007 (Fields of Science). Prevajalna tabela med raziskovalnimi področji po klasifikaciji ARRS ter po klasifikaciji FOS 2007 (Fields of Science) s kategorijami WOS (Web of Science) kot podpodročji je dostopna na spletni strani agencije (<http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/sifranti/preslik-vpp-fos-wos.asp>). [Nazaj](#)

² Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)

³ Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja, rezultate in učinke raziskovalnega projekta in njihovo uporabo ter sodelovanje s tujimi partnerji. Največ 12.000 znakov vključno s presledki (približno dve strani, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

⁴ Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikost pisave 11) [Nazaj](#)

⁵ V primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta oziroma v primeru sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine v zadnjem letu izvajanja projekta, napišite obrazložitev. V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

⁶ Navedite znanstvene dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Raziskovalni dosežek iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A'' ali A'. [Nazaj](#)

⁷ Navedite družbeno-ekonomske dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Družbeno-ekonomski rezultat iz obdobja

izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A" ali A'.

Družbeno-ekonomski dosežek je po svoji strukturi drugačen kot znanstveni dosežek. Povzetek znanstvenega dosežka je praviloma povzetek bibliografske enote (članka, knjige), v kateri je dosežek objavljen.

Povzetek družbeno-ekonomskega dosežka praviloma ni povzetek bibliografske enote, ki ta dosežek dokumentira, ker je dosežek sklop več rezultatov raziskovanja, ki je lahko dokumentiran v različnih bibliografskih enotah. COBISS ID zato ni enoznačen, izjemoma pa ga lahko tudi ni (npr. prehod mlajših sodelavcev v gospodarstvo na pomembnih raziskovalnih nalogah, ali ustanovitev podjetja kot rezultat projekta ... - v obeh primerih ni COBISS ID). [Nazaj](#)

⁸ Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 7 in 8 (npr. ker se ga v sistemu COBISS ne vodi). Največ 2.000 znakov, vključno s presledki. [Nazaj](#)

⁹ Pomen raziskovalnih rezultatov za razvoj znanosti in za razvoj Slovenije bo objavljen na spletni strani: <http://sicris.izum.si/> za posamezen projekt, ki je predmet poročanja [Nazaj](#)

¹⁰ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

¹¹ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

¹² Rubrike izpolnite / prepisite skladno z obrazcem "izjava sofinancerja" <http://www.arrs.gov.si/sl/progproj/rproj/gradivo/>, ki ga mora izpolniti sofinancer. Podpisan obrazec "Izjava sofinancerja" pridobi in hrani nosilna raziskovalna organizacija – izvajalka projekta. [Nazaj](#)

¹³ Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2012 (največ 1000 znakov, vključno s presledki). Za dosežek pripravite diapozitiv, ki vsebuje sliko ali drugo slikovno gradivo v zvezi z izjemnim dosežkom (velikost pisave najmanj 16, približno pol strani) in opis izjemnega dosežka (velikost pisave 12, približno pol strani). Diapozitiv/-a priložite kot priponko/-i k temu poročilu. Vzorec diapozitiva je objavljen na spletni strani ARRS <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/>, predstavitev dosežkov za pretekla leta pa so objavljena na spletni strani <http://www.arrs.gov.si/sl/analize/dosez/>. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2013 v1.00

D1-77-46-D6-2D-64-01-90-3A-1B-2A-48-35-E9-F1-9D-F8-2F-30-B7