Příloha č. 2 k RD 1/2014

Závěrečná zpráva projektu specifického výzkumu zakázka č.2112

Název projektu: Srovnání českých a zahraničních populací rdestu dlouholistého (*Potamogetonpraelongus*Wulfen) s využitím morfometrických měření a získání biologického materiálu pro genetické analýzy

Specifikace řešitelského týmu
Odpovědný řešitel: Mgr. Zuzana Kozelková
Další výzkumní pracovníci:RNDr. Romana Prausová, Ph.D.

Celková částka přidělené dotace: 89 500,- Kč

Stručný popis postupu při řešení projektu

Výzkumný projekt se zabýval studiem kriticky ohroženého druhu vodní rostliny rdestu dlouholistého (*Potamogeton praelongus*Wulfen), jehož poslední přirozená populace se nachází v rameni Orlice u Stříbrného rybníka v Malšově Lhotě u Hradce Králové. Záložní mikropopulace se nachází v revitalizovaných tůních v CHKO Kokořínsko. Záchranné kultury tohoto druhu jsou pěstovány v Botanickém ústavu České akademie věd v Třeboni a v soukromých nádržích v Býšti. Studium českých mikropopulací rdestu dlouholistého probíhá v rámci záchranného programu již dvanáctým rokem a cílem je realizace různých typů opatření, která stabilizují stávající mikropopulace a umožní jejich rozvoj na již existujících a také na potenciálních lokalitách.

Rostliny vypěstované v záchranné kultuře a rostliny ze záložní populace byly použity k výsadbám do nových vhodných potenciálních lokalit na Královéhradecku a Českolipsku nebo posloužily k posílení již stávajících mikropopulací (tůně pod Plešivcem, slepé rameno Ploučnice u Heřmaniček, tůň u Tupadel, tůň u Novozámeckých rybníků). Rovněž byly navrhnuty nové potenciální lokality pro výsadby (slepé rameno Orlice u Krňovic, přítok do Jezuitských jezer u loděnice v Malšově Lhotě, mokřad pod PP Na Bahně u Bělče nad Orlicí). Výsadbám předcházely průzkumy lokalit, které spočívaly v měření základních parametrů vody, které jsou pro růst rdestu podmínkou (teplota vody, elektrická vodivost, pH, alkalinita) a dalších stanovištních podmínek jako je hloubka a průhlednost vody, zastínění vodní hladiny, makrofytní vegetace v místě výskytu druhu apod.

Hlavním cílem tohoto projektu bylo testování klíčivosti starších, skladovaných nažek. Jednalo se o nažky získané z následujících institucí: Plant Vascular Herbarium University of Alberta, Royal BC Museum, Fraser Herbarium – University of Saskatchwan, University od British Columbia, Queens University (Kingston, Ontario), Royal Ontario Museum. Toto testování bylo zahájeno 29. dubna 2014 a probíhalo v laboratořích Přírodovědecké fakulty Univerzity Hradec Králové. Metodika byla zvolena dle úspěšného pracovního postupu Ing. Kamila Páska z let 2009 – 2010. Suchá semena byla nejprve protřepána s přídavkem několika kapek jaru po dobu 20 minut. Občasně bylo prováděno odstraňování „osemení“ a přischlých zbytků jemným třením na sítu pod tekoucí vodou. Poté byla provedena sterilizace semen ve sterilizačním roztoku (Savo) v koncentraci 100% po dobu dvou hodin (zředěné Savo předtím po dobu 45 minut). Poté byla semena 20 minut protřepávána v destilované vodě a 12 hodin ponechána ve vodě. Poté následovala všechna práce již jen sterilně v aseptickém prostředí flow-boxu. Semena byla propláchnuta destilovanou vodou a jednotlivě rozdělena do výsevních zkumavek. Jako výsevní tekuté médium byla použita směs 10% MS média a 20% sacharózy. Do každé výsevní zkumavky bylo použito 5 ml tekutého média. pH média bylo 6,2 a kultivace probíhala v termostatu za teploty 19°C. I přes snahy dodržet sterilní prostředí, se

již v polovině května začaly vyskytovat problémy s kontaminací, takže nažky z kontaminovaných zkumavek byly postupně přesazovány do nových sterilních zkumavek s živným médiem. Z důvodu neúspěšnosti v klíčení nažek byla 20. srpna zahájena stratifikace (nažky byly přendány z termostatu do lednice o teplotě 7°C), po 14ti dnech byly opět přeneseny do termostatu s nastavenou teplotou 19 °C. Je pravděpodobné, že neúspěch tohoto pokusu je zapříčiněn stářím nažek. K prokázání (ne)životaschopnosti embryí bude v měsících leden – únor použito TTC barvivo (2,3,5 – Triphenyl-tetrazolium chloride). V případě vyklíčení nažek se bude dále postupovat dle ověřeného postupu Ing. Kamila Páska: vyklíčené rostlinky budou přesazeny do Erlenmayerových baněk s 50 – 70 ml 50% Gamborg B5 médiem (vyšší obsah živin) a pěstovány za stabilní teploty a umělého osvitu a následně poslouží k získání materiálu pro genetické analýzy, které budou provedeny v genetických laboratořích Univerzity Palackého v Olomouci. Předpokládá se též uchování sterilní tkáňové kultury pro případ pěstování v záložních kulturách a případných reintrodukcích.

Od 16. do 18. září 2014 proběhla návštěva zahraničních lokalit se rdestem dlouholistým ve Skandinávii, navštíveno bylo celkem 5 jezer v jižním Švédsku (SödraVixen, SpanenSjön, Helgasjön, LangenSjön, TrummenSjön). Při návštěvě jezer byly měřeny následující parametry vody: teplota, pH, elektrická konduktivita, obsah rozpuštěného kyslíku, hloubka a průhlednost vodního sloupce, zastoupení ostatních vodních makrofyt. Na jezeře Trummen bylo možno se seznámit s probíhajícím růstovým experimentem na rdestu. Snahou tohoto experimentu je docílení životaschopné populace v tomto jezeře. Byla navázána spolupráce s následujícími odborníky: John Strand (Rural Economy and Agricultural Society, RandD, Wetlands and Biodiversity), Andreas Hedren (Water and Sewage Department, Technical Services, Växjö Municipality) a Uno Pettersson. Při průzkumu lokalit bylo sesbíráno dostatečné množství materiálu pro genetické analýzy, které proběhnou a budou vyhodnoceny v průběhu roku 2015 na katedře botaniky Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci (objednávka extrakce DNA ze zaslaných vzorků 14.10.2014) a poslouží tak k rozšíření informací o genetické variabilitě populací rdestu dlouholistého. Tyto informace jsou nezbytné pro poznání genetické variability druhu v rámci jeho areálu a pro využití generativní reprodukce k jeho záchraně v ČR a ve střední Evropě. Provedená morfometrická měření na rostlinách (délka rostliny, délka a počet internodií na stonku, délka, šířka listu a listová plocha) budou statisticky vyhodnocena a srovnána s dalšími populacemi rdestu dlouholistého v roce 2015.

Splnění cílů řešení a přínos projektu.

Cíle projektu byly splněny, ale některé práce budou muset být v roce 2015 dokončeny (genetické analýzy, statistické vyhodnocení dat, dokončení testů klíčivosti).

Splnění kontrolovatelných výsledků řešení.

Příspěvek v časopisu Acta Societatis Botanicorum Poloniae, IF 2013: 1,195 (2013)

Po obdržení zprávy od recenzentů je potřeba ještě zajistit anglickou korekturu textu. Konečná verze článku bude odeslána v polovině ledna 2015. Název článku: Effect of substrate and plantlet size on the growth of tissue cultured *Potamogeton praelongus*.
V přípravě je další impaktovaná publikace, která bude reflektovat výsledky dlouhodobého monitoringu rdestu dlouholistého.

Tab. 1 Sumář výstupů řešení projektu

Typ výstupu	Plán	Skutečnost	Poznámka (např. vyšlo, přijato, v redakčním řízení apod.
Počet dizertačních prací	**1**		**zpracovává se**
Jimp - výstup v impaktovaném časopisu	**1**		**bude přijat po korekci angličtiny**
Jsc – výstup v databázi Scopus	**1**		
Jrec – výstup v recenzovaném časopisu	**1**		
Počet výsledků celkem	**4**		

Podrobné zdůvodnění výdajů a doložení dodatečných žádostí o změnu rozpočtu:

a) **osobní náklady**
RNDr. Romana Prausová, Ph.D. **Kč 3 600,-** (terénní práce, práce v laboratoři, zpracování výsledků, konzultace)
Odvody na zdravotní, sociální a úrazové pojištění **1 239,12 Kč**

b) **stipendia**
Zuzana Kozelková **Kč 26 500,-**
zpáteční letenka do Švédska
ubytování ve Växjö
stravné na dobu pobytu ve Växjö
průzkum lokalit rdestu dlouholistého ve Skandinávii (měření stanovištních podmínek, morfometrická měření, odběry vzorků pro genetické analýzy a testy klíčivosti)
provedení testů klíčivosti nažek

c) **spotřební materiál 39 909,85 Kč**
laboratorní materiál – parafilmová páska, Erlenmayerovy baňky, zkumavky, stojany na zkumavky
média pro kultivaci rostlin (MS médium B5, Gamborg B5 médium)

d) **drobný hmotný majetek 8 353,8 Kč**
hlavice na pH elektrodu k přístroji DH-P 10855

e) **náklady nebo výdaje na služby10 000,-**
zpracování vzorků pro genetické analýzy (izolace DNA, zamrazení vzorků)

f) **cestovné**
V plánu bylo cestovné ve výši 20 000,- cestovné pro Romanu Prausovou do Švédska, které však nakonec bylo hrazeno z jiných finančních prostředků. 5.11. 2014 bylo požádáno o změnu rozpočtu a tato finanční částka byla rozdělena mezi ostatní položky.

Tab. 2 Čerpání finančních prostředků v Kč

Položka	Plán	Žádost o změnu rozpočtu	Skutečnost
Počet členů řešitelského týmu čerpajících mzdové prostředky	**2**	**2**	**2**
Počet studentů čerpajících mzdové prostředky	-	-	-
Stipendia	26 500,-	26 500,-	26 500,-
DPP, DPČ - studenti	-		
Odměny, DPP, DPČ - ostatní	3 600,-	3 600,-	3 600,-
Zákonné zdravotní a sociální pojištění	1 900,-	1 900,-	1 239,12
Celkem osobní náklady	**32 000,-**	**32 000,-**	**31 339,12**
Spotřební materiál	23 000,-	16 910,-	39 909,85
Drobný hmotný majetek	-	7 990,-	8 353,8
Materiálové náklady celkem	**23 000,-**	**24 900,-**	**48 263,65**
Služby celkem	**14 500,-**	**32 600,-**	**10 000,-**
Cestovné celkem	**20 000,-**	**0,-**	
Celkové náklady	**89 500,-**	**89 500,-**	**89 602,77**

Nevyčerpání finančních prostředků z položky cestovné (cestovné bylo hrazeno z jiných finančních prostředků – Přifína) a naopak potřeba nákupu lednice a její přestavba na termostat pro testy klíčivosti a růstové experimenty, byly důvodem k podání žádosti o změnu rozpočtu (5.11.2014, v příloze). Celkový plánovaný rozpočet byl přečerpán o 102,77 Kč.

Přílohy:
Žádost o změnu rozpočtu
Výsledovka z ekonomického informačního systému Magion
Zpráva od editora Acta Societatis Botanicorum Poloniae

Datum: 5.1.2014 Podpis odpovědného řešitele