

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569					
Název projektu pokusů					
Pochopení vlivu kombinovaných stresorů na sladkovodní biotu: Ovlivní klimatická změna dopad chemického znečištění? (GAČR 20-16111S)					
Doba trvání projektu pokusů - v měsících			2020-2025		
Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾			obojživelníci, pulci, chemické stresory, pesticidy, farmaka		
Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností					
☒	základní výzkum				
☐	translační a aplikovaný výzkum				
☐		kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže)			
☐	legislativní účely a běžná výroba	jiné zkoušení účinnosti a tolerance			
☐		zkoušení toxicity a jiné zkoušky bezpečnosti včetně farmakologie			
☐		běžná výroba			
☐	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat				
☐	zachování druhů				
☐	vyšší vzdělávání				
☐	odborná příprava za účelem získání, udržení nebo zlepšení odborných znalostí				
☐	trestní řízení a jiné soudní řízení				
☐	udržování populací ustálených geneticky upravených zvířat, která nebyla použita v jiných pokusech				
Cíle projektu pokusů - např. řešení některých vědeckých neznámých nebo vědeckých či klinických potřeb					
Řešení vědecké neznámé – jak kombinace více stresorů ovlivňuje vývoj a fyziologii larev obojživelníků?					
Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů - jak by mohlo být dosaženo vědeckého pokroku nebo jaký přínos by z něj člověk, zvířata či životní prostředí mohli mít; v příslušných případech rozlišujte mezi krátkodobými (v době trvání projektu) a dlouhodobými přínosy (mohou se projevit až po skončení projektu)					
Projekt přinese porozumění tomu, jak ovlivňují běžně se vyskytující směsi chemických látek ve vodním prostředí vývoj ohrožených obojživelníků a zda se jejich efekt násobí v kombinaci s dalšími stresory jako je zvýšená teplota či přítomnost predátora. Projekt umožní stanovit, zda a nakolik mohou běžně se vyskytující koncentrace znečišťujících látek negativně ovlivňovat vývoj obojživelníků ve vodním prostředí.					
Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání					
Žádný z těchto postupů nebude používán.					
Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků					
Mírná, stres při manipulaci a potencionální stres v průběhu pokusu díky působení testovaných látek či přítomnosti predátora, které ale budou odpovídat běžné úrovni stresu zažívané jedinci v přírodě. Většina zvířat bude vypuštěna zpět na původní lokalitě. V případě testování hypotézy potencionální bioakumulace chemických látek budou po ukončení pokusů vybraní jedinci usmrceni pomocí oxidu uhličitého a zamrazeni pro analýzy bioakumulace testovaných látek v tělních tkáních.					
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu					
Druh zvířat ²⁾ - vyberte ze seznamu	Odhado- vaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
		Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Ostatní obojživelníci (ostatní Amphibia)	360		360		
Skokan hnědý a skokan levhartí (Rana temporaria a R. pipiens)	360		360		
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena					
Odhadovaný počet zvířat k opětovnému použití					0
Odhadovaný počet zvířat, která budou navracena do přírodního stanoviště či systému chovu					0-360
Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu					0
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - uveďte					

V případě, že bude testována hypotéza o bioakumulaci chemických látek v tělech obojživelníků, budou pravděpodobně všichni jedinci na konci pokusu usmrceni a testováni na množství těchto látek v jejich tělech. V případě, že tato hypotéza v daném pokusu nebude testována, budou všichni jedinci vypuštěni.
Uplatňování 3R
Nahrazení používání zvířat - <i>uved'te, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu</i>
Cílem pokusu je testování chemických stresorů v environmentálně relevantních koncentracích odpovídajících úrovni ve volných vodách v kombinaci se zvýšenou teplotou nebo signály o přítomnosti predátora. Díky druhově specifické senzibilitě k chemickým látkám není možné larvy obojživelníků nahradit jinými modelovými organismy, např. bezobratlými ani počítačovými simulacemi.
Omezení používání zvířat - <i>vysvětlíte, jaký počet zvířat byl pro tento projekt stanoven. Popište kroky, které byly podniknuty ke snížení počtu používaných zvířat, a zásady použité k vytvoření studie; případně popište postupy, které budou používány po celou dobu trvání projektu za účelem minimalizace počtu používaných zvířat a které odpovídají vědeckým cílům (mezi tyto postupy mohou patřit např. pilotní studie, počítačové modelování, sdílení tkání a opakované použití).</i>
K prokázání i malé míry vlivu znečištění na chování a fyziologii jedinců je nutno použít alespoň 30 jedinců larev obojživelníků vzhledem k potenciálním vlivům další variability mezi jedinci (např. v jejich aktivitě a geneticky dané rychlosti růstu). Experimentální design zahrnuje 12 pokusných uspořádání tj. přítomnost či nepřítomnost znečišťujících látek samotných nebo v kombinaci s teplotou (dva až tři teplotní treatmenty), a v kombinaci s přítomností či nepřítomností predátora, každé po 30-ti pulcích. Jedná se o minimální počet potřebný pro statistické vyhodnocení vlivů jednotlivých testovaných efektů.
Setrné zacházení se zvířaty - <i>uved'te příklady konkrétních opatření (např. zvýšené pozorování, pooperační péče, tlumení bolesti, výcvik zvířat) přijatých v souvislosti s postupy k minimalizaci dopadů na dobré životní podmínky zvířat; popište mechanismy k přijímání vznikajících zmírňujících postupů v době trvání projektu</i>
Vzhledem k akvatickému způsobu života a vysoké bioindikační schopnosti larev obojživelníků jsou ideální volbou pro řešení dané otázky. Opatření přijatá za účelem snížení újmy způsobené zvířatům zahrnou minimalizaci stresu larev v chovech (klid v chovné místnosti, vhodná fotoperioda, krmení <i>ad libitum</i>, úkryt v chovných krabičkách, chov ve vodě ošetřené filtrací přes aktivní uhlí při optimální teplotě, pravidelná výměna vody, chov v nízké populační hustotě a pouze po nezbytně nutnou dobu před zahájením pokusu).
Použité druhy zvířat - <i>vysvětlíte výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>
Larvy jednoho z našich hojných druhů žab: ropucha obecná (<i>Bufo bufo</i>), skokan zelený (<i>Pelophylax esculentus</i>), skokan štíhlý (<i>Rana dalmatina</i>) nebo skokan hnědý (<i>Rana temporaria</i>). Pokus zaměřený na vliv cizorodých chemických látek na vývoj obojživelníků nelze provést na jiném druhu organismů. Vzhledem k druhové specifitě odezev na znečištění. U obojživelníků předpokládáme silnější fyziologické odezvy organismu než například u vodních bezobratlých, kteří se těchto látek umí efektivně zbavovat např. svlékáním kutikuly.

¹⁾ Včetně vědeckých pojmů, které se mohou skládat z více než pěti jednotlivých slov, a s výjimkou druhů zvířat a účelů uvedených jinde v dokumentu

²⁾ Druhy zvířat v souladu s kategoriemi statistického vykazování v příloze III prováděcího rozhodnutí Komise 2020/569 s doplňkovou možností „**nespecifikovaného savce**“ pro zachování anonymity ve výjimečných případech

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569**Název projektu pokusů**

Vliv ryb v kombinaci s klimatickou změnou a přítomností chemického znečištění na společenstva vodních bezobratlých

Doba trvání projektu pokusů - v měsících 2021-2025

Klíčová slova - *maximálně pět ¹⁾* ryby, bezobratlí, teplota**Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností**☒ základní výzkum☐ translační a aplikovaný výzkum☐ kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže)☐ legislativní účely jiné zkoušení účinnosti a tolerance☐ a běžná výroba zkoušení toxicity a jiné zkoušky bezpečnosti včetně farmakologie☐ běžná výroba☐ ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat☐ zachování druhů☐ vyšší vzdělávání☐ odborná příprava za účelem získání, udržení nebo zlepšení odborných znalostí☐ trestní řízení a jiné soudní řízení☐ udržování populací ustálených geneticky upravených zvířat, která nebyla použita v jiných pokusech**Cíle projektu pokusů - např. řešení některých vědeckých neznámých nebo vědeckých či klinických potřeb**

Řešení vědecké neznámé – jak přítomnost ryb v kombinaci se zvýšenou teplotou a chemickým znečištěním ovlivňují funkce ekosystému?

Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů - jak by mohlo být dosaženo vědeckého pokroku nebo jaký přínos by z něj člověk, zvířata či životní prostředí mohli mít; v příslušných případech rozlišujte mezi krátkodobými (v době trvání projektu) a dlouhodobými přínosy (mohou se projevit až po skončení projektu)

Rozšíření porozumění tomu, jak přítomnost ryb v kombinaci se zvyšující se teplotou a dalšími faktory ovlivňují společenstva vodních bezobratlých ve stojatých vodách a fungování těchto ekosystémů obecně.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání**Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků**

Mírné, stres při manipulaci a potenciální stres v průběhu pokusu v uspořádání s vyšší teplotou. Po skončení pokusu budou původní druhy ryb po konzultaci s rybáři vypuštěny, nepůvodní druhy ryb budou humánně zabity podle zákona pomocí oxidu uhličitého nebo tupým úderem do hlavy.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu

Druh zvířat ²⁾ - vyberte ze seznamu	Odhadovaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
		Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Ostatní ryby (ostatní Pisces)	160		160		
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					

Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena

Odhadovaný počet zvířat k opětovnému použití 0

Odhadovaný počet zvířat, která budou navracena do přírodního stanoviště či systému chovu 160

Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu 0

Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - uveďte

Uplatňování 3R**Nahrazení používání zvířat - uveďte, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu**

Cílem pokusu je testování vlivu vybraných druhů ryb v kombinaci s vyšší teplotou prostředí způsobenou klimatickou změnou a chemickým znečištěním na společenstva bezobratlých a fungování vodních ekosystémů jako celku. Ryby jsou vrcholovými predátory a díky tomu není možné je nahradit jinými modelovými organismy, např. hmyzem, ani alternativami bez použití zvířat, např. počítačovými simulacemi.

Omezení používání zvířat - vysvětlíte, jaký počet zvířat byl pro tento projekt stanoven. Popište kroky, které byly podniknuty ke snížení počtu používaných zvířat, a zásady použité k vytvoření studie; případně popište postupy, které budou používány po celou dobu trvání projektu za účelem minimalizace počtu používaných zvířat a které odpovídají vědeckým cílům (mezi tyto postupy mohou patřit např. pilotní studie, počítačové modelování, sdílení tkání a opakované použití).

Pro dosažení věrohodných výsledků je třeba využít 5–10 jedinců ryb jednoho druhu na jednu experimentální nádrž s rybami (celkem 16 nádrží) pro simulaci podmínek známých např. z rybníků. Jedná se o minimální počet potřebný pro statistické vyhodnocení testovaných efektů.

Šetrné zacházení se zvířaty - uveďte příklady konkrétních opatření (např. zvýšené pozorování, pooperační péče, tlumení bolesti, výcvik zvířat) přijatých v souvislosti s postupy k minimalizaci dopadů na dobré životní podmínky zvířat; popište mechanismy k přijímání vznikajících zmírňujících postupů v době trvání projektu

Minimalizace stresu ryb během pokusu, který bude probíhat v polopřirozených podmínkách ve venkovních nádržích. Ryby budou mít dostatek přirozené potravy a úkryty. Vodní nádrže budou provzdušňovány, aby nedocházelo ke kyslíkovým deficitům (především v letním období).

Použité druhy zvířat - vysvětlíte výběr druhů a souvisejících životních stadií

Jako modelové organismy budou použity druhy ryb přirozeně se vyskytující nebo běžně chované v ČR: candát obecný (*Sander lucioperca*), bolen dravý (*Aspius aspius*), karas obecný (*Carassius carassius*), lín obecný (*Tinca tinca*), štika obecná (*Esox lucius*), pstruh obecný (*Salmo trutta*) nebo okoun říční (*Perca fluviatilis*), a/nebo nepůvodní druhy v ČR: amur bílý (*Ctenopharyngodon idella*), kapr obecný (*Cyprinus carpio*), karas stříbřitý (*Carassius gibelio*), hlaváč černoústý (*Neogobius melanostomus*), hlavačka mramorovaná (*Proterorhinus semilunaris*), slunečnice pestrá (*Lepomis gibbosus*), střevlička východní (*Pseudorasbora parva*), koljuška tříostná (*Gasterosteus aculeatus*), sumeček americký (*Ameiurus nebulosus*). Navržený pokus povede ke zjištění neznámého vlivu potenciálních stresorů na rybí organismus. Tento typ nelze nahradit alternativními metodami, zejména proto, že pro tento typ pokusu není a principiálně ani nemůže být použita alternativní metodika.

¹⁾ Včetně vědeckých pojmů, které se mohou skládat z více než pěti jednotlivých slov, a s výjimkou druhů zvířat a účelů uvedených jinde v dokumentu

²⁾ Druhy zvířat v souladu s kategoriemi statistického vykazování v příloze III prováděcího rozhodnutí Komise 2020/569 s doplňkovou možností „nеспecifikovaného savce“ pro zachování anonymity ve výjimečných případech