

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

David STANKOVIĆ

**GENETIKA NATURALIZIRANIH POPULACIJ ŠARENK
(*Oncorhynchus mykiss*) V SLOVENIJI**

DOKTORSKA DISERTACIJA

**GENETICS OF SELF-SUSTAINING RAINBOW TROUT
POPULATIONS (*Oncorhynchus mykiss*) IN SLOVENIA**

DOCTORAL DISSERTATION

Ljubljana, 2015

Na podlagi Statuta Univerze v Ljubljani ter po sklepu Senata Biotehniške fakultete in sklepa 31. Seje Komisije za doktorski študij Univerze v Ljubljani z dne 19. 9. 2012 (po pooblastilu Senata Univerze z dne 20. 1. 2009) je bilo potrjeno, da kandidat izpolnjuje pogoje za opravljanje doktorata znanosti na Interdisciplinarnem doktorskem študijskem programu Bioznanosti, znanstveno področje: biologija. Za mentorja je bil imenovan znanst. sod. dr. Aleš Snoj.

Doktorsko delo je bilo opravljeno na Oddelku za zootehniko Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Peter TRONTELJ
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Članica: prof. dr. Simona SUŠNIK
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Član: prof. dr. Boris KRYŠTUFEK
Prirodoslovni muzej Slovenije

Datum zagovora: 22. 12. 2015

Podpisani izjavljam, da je disertacija rezultat lastnega raziskovalnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravici shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

David Stanković

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dd
DK UDK 597.2/.5:575(043.3)=163.6
KG molekularna ekologija/populacijska genetika/filogeografija/ribištvo/akvakultura/tujerodne vrste/ribe/Salmonidae/šarenka/*Oncorhynchus mykiss*/Slovenija
KK AGRIS L10/8100
AV STANKOVIĆ, David, univ. dipl. biol.
SA SNOJ, Aleš (mentor)
KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti, znanstveno področje biologija
LI 2015
IN GENETIKA NATURALIZIRANIH POPULACIJ ŠARENK (*Oncorhynchus mykiss*) V SLOVENIJI
TD Doktorska disertacija
OP XV, 147 str., 9 pregl., 16 sl., 6 pril., 308 vir.
IJ sl
JI sl/en
AI Šarenka je gospodarsko ena najbolj izkoriščenih vrst rib; od konca devetnajstega stoletja pa do danes so jo raznesli že praktično po vsem svetu. Čeprav naturalizirane populacije najdemo v različnih podnebnih pasove, so takšne populacije v Evropi redkejšje. Tu so zabeležene le v nekaj vodah, od katerih so številne v Sloveniji. Vzroki za slabši uspeh naturalizacije v Evropi v primerjavi z drugimi regijami niso dobro poznani. Poleg biotskih in okoljskih dejavnikov je bil kot omejujoč dejavnik predlagana tudi genetske struktura. Da bi bolje razumeli razloge, ki pogojujejo naturalizacijo te vrste v Evropi, smo raziskavo usmerili v tri področja: (i) zbrali smo razpoložljive informacije o razširjenosti in stanju naturaliziranih populacij v Evropi; (ii) ugotavljali smo genetsko strukturo tujerodnih populacij in (iii) jo z namenom ugotavljanja njihovega izvora primerjali z domorodnimi. Iz literature smo zbrali podatke o več kot sto tridesetih naturaliziranih populacijah šarenke v šestnajstih evropskih državah. Strukturo in izvor tujerodnih populacij smo ugotavljali na osnovi raznolikosti mitohondrijskih in jedrnih genskih označevalcev osemindesetih populacij iz Evrope in z otoka Reunion ter jo primerjali z raznolikostjo domorodnih populacij. V porečju reke Sacramento smo ugotovili večjo strukturiranost domorodnih populacij, kot smo pričakovali, saj to povodje naseljujejo tri in ne dve evlucijsko pomembne enote. Visoka genetska pestrost in nizka diferenciacija med tujerodnimi populacijami kažeta, da te izvirajo iz več že predhodno mešanih virov. Genetska pestrost je pri tujerodnih populacijah v primerjavi z domorodnimi nižja, saj se v njej odražata genski zdrs in umetna selekcija, kateri so bile tujerodne populacije podvržene v 130-letni zgodovini intenzivnega prenašanja in ribogojstva. Čeprav nismo odkrili nobenih izrazitih genetskih razlik med naturaliziranimi, vlaganimi in ribogojniškimi populacijami, pa ne izvirajo vse tujerodne populacije iz istih virov. Po genetski strukturi populacije z otoka Reunion namreč ne izvirajo iz istih domorodnih linij kot evropske šarenke.

KEY WORD DOCUMENTATION

DN Dd
DC UDC 597.2/.5:575(043.3)=163.6
CX molecular ecology/population genetics/filogeography/fisheries/aquaculture/
non-native species/fish/Salmonidae/rainbow trout/*Oncorhynchus mykiss*/Slovenia
CC AGRIS L10/8100
AU STANKOVIĆ, David
AA SNOJ, Aleš (supervisor)
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical faculty, Interdisciplinary Doctoral Programme in Biosciences, scientific field Biology
PY 2015
TI GENETICS OF SELF-SUSTAINING RAINBOW TROUT POPULATIONS (*Oncorhynchus mykiss*) IN SLOVENIA
DT Doctoral Dissertation
NO XV, 147 p., 9 tab., 16 fig., 6 ann., 308 ref.
LA sl
AL sl/en
AB Rainbow trout has successfully invaded large freshwater systems in various climates. However, despite continuous introductions, it has become successfully naturalised in a limited number of European waters, of which many are in Slovenia. There is no consensus on the reasons for general absence of self-sustaining populations in Europe, though genetic makeup has been suggested as a potential underlying factor, next to environmental and biotic factors. The object of our research was (i) to conduct a literature review on the distribution of self-sustaining populations in Europe; (ii) to study the population genetic structure of translocated rainbow trout populations; and (iii) to study the evolutionary history of native rainbow trout relevant to understanding the origin of translocated populations. Our literature review produced a list of more than hundred-and-thirty self-sustaining populations across sixteen European countries. To get an insight into invasion history we examined genetic variation in forty-eight translocated populations from Europe and the Réunion, and compared it to over a hundred native populations from the entire Pacific coast. High genetic diversity but low inter-population genetic variation indicates that European populations are derived from multiple sources, with a great majority of parental populations belonging to steelhead populations from Central California and Sacramento River coastal rainbow trout lineages. Our study also revealed no considerable differences between European self-sustaining, stocked and hatchery populations. However, not all translocated populations originated from same lineages, as rainbow trout from Réunion clearly originate from a different but not yet identified source. In comparison to the native populations the translocated ones showed lower genetic diversity that they apparently developed via genetic drift and artificial selection during the last century. Finally, microsatellite analysis of native populations revealed existence of three and not two evolutionary significant units in the Sacramento basin.

KAZALO VSEBINE

	str.
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA.....	III
KEY WORD DOCUMENTATION.....	IV
KAZALO VSEBINE.....	V
KAZALO PREGLEDNIC.....	VIII
KAZALO SLIK.....	IX
KAZALO PRILOG.....	X
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI.....	XI
SLOVAR.....	XIII
1 UVOD.....	1
1.1 NAMEN DELA.....	2
1.2 RAZISKOVALNI CILJI IN HIPOTEZE.....	4
2 PREGLED OBJAV.....	5
2.1 TUJERODNE VRSTE.....	5
2.1.1 Problematika vnašanja tujerodnih sladkovodnih ribjih vrst.....	6
2.2 ŠARENKA.....	8
2.2.1 Razširjenost in biološke značilnosti domorodnih šarenk.....	8
2.2.2 Izvor, zgodovina in razširjenost domesticiranih šarenk.....	12
2.2.3 Naturalizirane populacije.....	17
2.2.4 Pregled vplivov tujerodnih šarenk.....	18
2.3 OSNOVE POPULACIJSKE GENETIKE.....	21
2.3.1 Mitohondrijska DNA (mtDNA).....	24
2.3.2 Mikrosateliti.....	25
2.4 POPULACIJSKO GENETSKE ŠTUDIJE TUJERODNIH ŠARENK.....	27
3 MATERIAL IN METODE.....	29
3.1 RAZŠIRJENOST NATURALIZIRANIH POPULACIJ ŠARNEKE V EVROPI.....	29
3.2 OPIS VZORČNIH MEST IN PREUČEVANIH VZORCEV.....	29

3.3	POMNOŽEVANJE V VERIŽNI REAKCIJI S POLIMERAZO (PCR), DOLOČANJE NUKLEOTIDNEGA ZAPOREDJA IN GENOTIPIZACIJA MIKROSATELITNIH LOKUSOV	32
3.3.1	Sekvenčna zaporedja	32
3.3.2	Mikrosatelitni lokusi.....	36
3.4	ANALIZA POPULACIJSKE STRUKTURE TUJERODNIH ŠARENK	39
3.4.1	Sekvenčna zaporedja	39
3.4.1.1	Genetska pestrost tujerodnih in domorodnih populacij šarenke.....	41
3.4.1.2	Mrežna analiza haplotipov.....	42
3.4.1.3	Analiza molekularne variance	43
3.4.2	Mikrosateliti	43
3.4.2.1	Uspešnost genotipizacije	43
3.4.2.2	Populacijsko genetski parametri	44
4	REZULTATI.....	47
4.1	RAZŠIRJENOST NATURALIZIRANIH POPULACIJ ŠARENKE V EVROPI.....	47
4.2	POPULACIJSKA STRUKTURA TUJERODNIH ŠARENK	60
4.2.1	Sekvenčna zaporedja	60
4.2.1.1	Haplotipi mtDNA in spolnega kromosoma v analiziranih populacijah	60
4.2.1.2	Genetska pestrost tujerodnih populacij šarenk	61
4.2.1.3	Mrežna analiza haplotipov.....	67
4.2.1.4	Analiza molekularne variance	72
4.2.2	Mikrosateliti	73
4.2.2.1	Uspešnost genotipizacije	73
4.2.2.2	Populacijsko genetski parametri	74
5	RAZPRAVA.....	97
5.1	RAZŠIRJENOST NATURALIZIRANIH POPULACIJ ŠARENKE V EVROPI.....	97
5.2	POPULACIJSKO GENETSKA STRUKTURA DOMORODNIH ŠARENK V SEVERNI KALIFORNIJI, KI JE POMEMBNA ZA RAZUMEVANJE ODNOSOV MED TUJERODNIMI POPULACIJAMI	99

5.3	IZVOR IN POPULACIJSKA STRUKTURA TUJERODNIH ŠARENK.....	104
6	SKLEPI.....	114
7	POVZETEK (SUMMARY)	115
7.1	POVZETEK.....	115
7.2	SUMMARY.....	118
8	VIRI	122
	ZAHVALA	
	PRILOGE	

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Pregl. 1: Podvrste in izbrane linije šarenk.	11
Pregl. 2: Vnosi šarenk iz ZDA med letoma 1879 in 1939.....	16
Pregl. 3: Uporabljeni začetni oligonukletodid pri pomnoževanju mikrosatelitov.....	38
Pregl. 4: Naturalizirane populacije šarenk v Evropi.....	48
Pregl. 5: Genetska pestrost evropskih in ameriških šarenk	62
Pregl. 6: Zaporedne številke nukleotidnih zaporedij kontrolne regije, deponiranih pri Genski banki.....	63
Pregl. 7: Analiza molekularne variance (AMOVA) haplotipov kontrolne regije.	73
Pregl. 8: Delež redkih in pogostih alelov na posamezni lokus za domorodne in tujerodne populacije šarenk.	78
Pregl. 9: Populacijski parametri šarenk.	83

KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Tujerodna razširjenost šarenke	13
Slika 2: Zemljevid naravne razširjenost podvrst šarenke v Kaliforniji, ZDA	15
Slika 3: Zemljevidi z označenimi mesti vzorčenja	31
Slika 4: Shema poravnave sekvenc kontrolne regije	40
Slika 5: Naturalizirane populacije šarenke v Evropi	59
Slika 6: Graf nukleotidne (π) in haplotipske diverzitete (H) tujerodnih in domorodnih populacij	64
Slika 7: Krivulja kopičenja haplotipov pri evropskih in ameriških šarenkah.....	66
Slika 8: Test nenadne ekspanzije.....	67
Slika 9: Filogeografska struktura evropskih in ameriških šarenk.....	70
Slika 10: Število alelov in efektivno število alelov na posameznem lokusu.....	76
Slika 11: Polimorfizmi posameznih mikrosatelitnih lokusov po posameznih skupinah šarenk.....	80
Slika 12: Populacijsko drevo	86
Slika 13: Grafi diskriminantne analize glavnih komponent.	88
Slika 14: Grafi diskriminantne analize glavnih komponent po višjih diskriminantnih funkcijah	90
Slika 15: Diskriminantna analiza glavnih komponent na zemljevidu s tujerodnimi in domorodnimi vzorčnimi mesti.....	92
Slika 16: Hierarhična analiza (STRUCTURE) populacijske strukture za domorodne in tujerodne populacije šarenk skupaj.....	94

KAZALO PRILOG

Priloga A: Mesta vzorčenja za sekvenčna zaporedja

Priloga B: Mesta vzorčenja za mikrosatelitne lokuse

Priloga C: Prikaz skripte v programu R za diskriminantno analizo glavnih komponent s
paketo adegenet

Priloga D: Paroma primerjane genske razdalje (F_{ST}) med vzorčnimi mesti na osnovi
mitohondrijske DNA

Priloga E: Efektivno število alelov na posamezni lokus

Priloga F: Grafi vrednosti ΔK za izračune s programom STRUCTURE

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

5-FAM	6-karboksi-fluorescein
AMOVA	angl. <i>analysis of molecular variance</i> (slo. analiza molekularne variance)
A_R	angl. <i>allelic richness</i> (slo. povprečno število alelov na lokus)
BIC	angl. <i>Bayes information criterion</i> (slo. Bayesov informacijski kriterij)
Bp	bazni par
CR	kontrolna regija
DAPC	angl. <i>discriminant analysis of principal components</i>
DAS	angl. <i>shared allelic distance</i> (slo. deljene alelne razdalje)
DNA	deoksiribonukleinska kislina
dNTP	2'-deoksinukleozid trifosfat
DPS	angl. <i>distinct population segment</i> (slo. ločen populacijski segment)
ESU	angl. <i>evolutionary significant unit</i> (slo. evolucijsko pomembna enota)
F_{IS}	Mera odstopanja opažene od pričakovane heterozigotnosti v demu ali subpopulaciji.
F_{IT}	Populacijski fiksacijski indeks
F_{ST}	Subpopulacijski fiksacijski indeks
F_{CT}	Fiksacijski indeks pri analizi molekularne variance znotraj skupine
F_{SC}	Fiksacijski indeks pri analizi molekularne variance med populacijami znotraj skupine
H	haplotipska pestrost
H_E	angl. <i>expected heterozygosity</i> (slo. pričakovana heterozigotnost)
H_T	angl. <i>total expected heterozygosity</i> (slo. skupna pričakovana heterozigotnost)
H_O	angl. <i>observed heterozygosity</i> (slo. opažena heterozigotnost)
HWE	angl. <i>Hardy-Weinberger equilibrium</i> (Hardy Weinbergerovo ravnotežje)
IAM	angl. <i>infinite alleles model</i> (slo. model neskončno alelov)
ICE	angl. <i>incidence based coverage estimator</i>
JOE	6-karboksi-4',5'-dikloro-2',7'-dimetoksifluorescein
K	angl. <i>clusters</i> (slo. število gruč oz. skupin pri STRUCTURE analizi)
LD	angl. <i>linkage disequilibrium</i> (slo. vezano neravnovesje)
MCMC	angl. <i>Markov chain Monte Carlo</i> (slo. Markovska veriga Monte Carlo)
mtDNA	Mitohondrijska DNA
MSN	angl. <i>minimum spanning network</i> (slo. najmanjša vpeta mreža)

N_E	efektivno število alelov na lokus
OmyY1	Odsek spolnega kromosoma pri šarenkah
π	nukleotidna pestrost
PC	angl. <i>principal components</i> (slo. glavne komponente)
PCA	angl. <i>principal component analysis</i> (slo. analiza glavnih komponent)
PCR	angl. <i>polymerase chain reaction</i> (slo. verižna reakcija s polimerazo)
RFLP	polimorfizem dolžin restrikcijskih encimov
RNA	ribonukleinska kislina
ROX	6-karboksil-X-rodamin
R_{ST}	Fiksacijski indeks, temelji na številu ponovitev osnovnega motiva na posameznem alelu
SMM	angl. <i>stepwise mutational model</i> (slo. model postopnega mutiranja)
SNP	angl. <i>single nucleotide polymorphism</i> (slo. polimorfizem posameznih nukleotidov)
θ	efektivna velikost populacije
Taq	<i>Thermophilus aquaticus</i>
tRNA	prenašalna RNA
tRNAPhe	tRNA za fenilalanin
tRNAPro	tRNA za prolin

SLOVAR

alopatrična speciacija	Nastajanje vrst iz prostorsko ločenih predniških populacij
anadromni ekotip	Način življenja, pri katerem se ribje vrste oz. populacije razmnožujejo v tekočih vodah, del življenja pa preživijo v morju.
biotski upor	Biotski dejavniki v domorodnih ekosistemih, ki zavirajo naturalizacijo tujerodnih vrst.
diadromni ekotip oz. diadromija	Način življenja, pri katerem se ribje vrste oz. populacije selijo iz morja v tekoče vode in obratno.
domorodna vrsta	Vrsta, ki živi na območju svoje običajne (pretekla ali sedanje) naravne razširjenosti, tudi če se tu pojavlja le občasno.
ekološki upor	Biotski in abiotski fizikalno-kemijski dejavniki, ki zavirajo naturalizacijo tujerodnih vrst.
efektivna velikost populacije	Velikost idealizirane Wright-Fisherjeve populacije, v kateri ima genski zdrs enak učinek, kot ga zaznamo v populacije, katere efektivno velikost ocenjujemo.
Invazivna tujerodna vrsta	Tujerodna vrsta, ki se je ustalila in povzroča spremembe v okolju ter ogroža zdravje ljudi, gospodarstvo in/ali domorodno biotsko raznovrstnost.
kompeticija za drstne jamice	Oblika kompeticije za prostor med dvema (ponavadi) salmonidnima vrstama. Pri tej obliki kompeticije ena vrsta ikre odlaga nad že narejene drstne jamice druge vrste in jih pri temu poškoduje oz. uniči (angl. <i>redd superimposition</i>)

monofiletski	Skupina taksonov, ki vključuje vse potomce in njihovega zadnjega skupnega prednika.
naključni genski zdrs	Spremembe v frekvenci alelov, ki se prenašajo iz generacije v generacijo in so posledica naključnih dogodkov, kot je naključen izbor gamet za zigoto.
naturalizirana vrsta	Tujerodna vrsta, ki se v novem okolju redno razmnožuje in samostojno, brez posredovanja človeka, vzdržuje populacije.
okoljski upor	Abiotski fizikalno-kemijski dejavniki, ki v domorodnih ekosistemih zavirajo naturalizacijo tujerodnih vrst.
pojavn ozkega grla	Hitro in izrazito začasno zmanjšanje velikosti populacije (angl. <i>bottleneck effect</i>).
polifiletski	Skupina taksonov, ki ne vključuje zadnjega skupnega prednika.
potamodromni ekotip oz. potamodromija	Način življenja, pri katerem ribje vrste oz. populacije vse svoje življenje preživijo v sladkih vodah.
sosedska pridružitvena metoda	Metoda za ugotavljanje sorodstvenih odnosov na osnovi distančne matrike. S to metodo v vsakem koraku poiščemo sosedska taksona, s čimer iz zvezdne topologije zgradimo pravo filogenetsko drevo (angl. <i>neighbour joinining</i>)
učinek ustanovitelja	Izguba genetske raznolikosti ob vzpostavitvi nove populacije iz zelo majhnega števila posameznikov, ki so pripadali večji populaciji (angl. <i>founder effect</i>).
tujerodna vrsta	Vrsta, ki se nahaja izven območja (preteklo ali sedanje) naravne razširjenosti oz. območja, ki bi ga lahko dosegla z naravnim širjenjem, temveč ji je tja pomagal človek.
tujerodne šarenke	Populacije šarenk, ki se nahajajo izven območja naravne razširjenosti. V našem primeru so to poleg populacij, ki so zanešene iz svojih domorodnih povodij, tudi kalifornijske komercialne ribogojniške linije šarenk.

U.S. Fish Commission	Ameriška zvezna agencija za ribištvo
vikarianca	Pasivna členitev nekdanj sklenjenega areala zaradi nastanka geografskih, ekoloških ali drugih prepek.
začetni oligonukleotid	Oligonukleotid, ki je potreben za podvojevanje DNA, tudi oligonukleotidni začetnik, začetnik ali pobudnik (angl. <i>oligonucleotide primers, primers</i>).

1 UVOD

Šarenka ali ameriška postrv (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) je naravno razširjena v Severni Ameriki vzdolž Tihega oceana, v severovzhodni Aziji na Kamčatki in vzdolž Ohotskega morja (Behnke, 1992, 2002; Light in sod., 1989). Uveljavljena taksonomija (Behnke, 2002) jo deli na več podvrst, ki v grobem spadajo v dva ekotipa: rezidentni oz. potamodromni ekotip (naseljuje izključno celinske vode) in anadromni ekotip (večino življenja preživi v morju, drsti pa se v tekočih vodah). Medtem ko nekatere podvrste pripadajo le enemu ekotipu, pri drugih obstajajo populacije iz obeh ekotipov. Odnosi med rezidentnimi in anadromnimi populacijami so pogosto zabrisani, saj med njima ni popolne reprodukcijske izolacije (Behnke, 1992, 2002), poleg tega lahko nekatere populacije v določenih primerih preidejo na drug način življenja (Riva Rossi in sod., 2004). Rezultati molekularnih filogenetskih analiz kažejo, da je do prehoda na potamodromni način življenja prišlo večkrat ločeno (Bagley in Gall, 1998; Brunelli in sod., 2010).

Šarenka je gospodarsko zelo pomembna riba, ki so jo zaradi velike prilagodljivosti, hitre rasti in relativno enostavnega gojenja raznesli praktično po vsem svetu (MacCrimmon, 1971, 1972). To vrsto so v Evropo začeli uvažati v drugi polovici 19. stoletja. Prvič so jo najverjetneje prinesli leta 1879 (Bean, 1895). Na ozemlje današnje Slovenije, kjer je danes že zelo razširjena, so jo prvič zanesli že leta 1891 (Franke, 1913; Mršič, 1935). Pobudniki prvih uvozov v Evropo so bili rekreativni ribiči, vendar so ribogojci kmalu prepoznali prednosti, ki jih ima šarenka pri farmski vzreji (Stickney in Treece, 2012). Zaradi bioloških lastnosti je tehnologija vzreje šarenk preprostejša od tehnologije vzreje avtohtonih salmonidov. Danes v Evropi šarenko gojijo predvsem v prehranske namene, medtem ko predstavlja vzreja za dopolnilno vlaganje manjši delež. V Sloveniji je situacija nekoliko obrnjena, saj so šarenko v zadnjih treh desetletjih prejšnjega stoletja množično uporabljali za dopolnilno vlaganje v salmonidne športno-ribolovne revirje, ki so bili pod večjim pritiskom športnih ribičev (Bertok in Budihna, 1999).

Za šarenke velja, da se hitro in dobro prilagodijo na novo okolje – na ribogojnice, potoke, reke, jezera, somornice, morja, mlake in umetne zajezitve. Vendar je kljub

izjemni prilagodljivosti šarenk njihova drst v naravi zunaj območja naravne razširjenosti večinoma neuspešna. V splošnem velja, da so v Evropi naturalizirane populacije zelo redke (Fausch in sod., 2001), vendar nekatera novejša opažanja temu nasprotujejo in poročajo o naturaliziranih populacijah predvsem iz Predalpskega sveta Slovenije, Avstrije in Italije ter območja Bodenskega jezera (Candiotta in sod., 2011; Honsing-Erleburg, 2005; Kindle, 2006; Vincenzi in sod., 2011).

Poleg slabega poznavanja razširjenosti naturaliziranih populacij in mehanizmov, ki naturalizacijo omejujejo, pa je v Evropi nepoznan tudi njihov izvor in populacijska struktura. Dolgo časa je prevladovalo prepričanje, da vse ribogojniške šarenke izvirajo iz rezidentnih populacij iz porečja reke McCloud v Kaliforniji (*O. m. stonei*) (Dollar in Katz, 1964), kar sta Needham in Behnke (1962) pokazala kot zmotno. V ribogojnici Baird Station, tedaj najpomembnejši ribogojnici v tem porečju, so za vzpostavitev matičnih jat iz narave namreč jemali tudi ikre anadromnih populacij (*O. m. irideus*), ki so se v spodnjem delu reke McCloud pojavljale v času drsti novembra in decembra. Kasneje so tudi drugi avtorji pokazali, da so pri domestikaciji te vrste poleg ribogojnice Bard Station sodelovale tudi nekatere ustanove, ki so uporabljale druge lokalne, ponavadi anadromne populacije šarenk (Behnke, 1992, 2002; Busack in Gall, 1980; Leitritz, 1970).

1.1 NAMEN DELA

Namen doktorske disertacije je razširiti znanje o slabo poznani problematiki naturaliziranih populacij šarenke v Sloveniji in drugje v Evropi. Raziskovalno delo smo razdelili v tri sklope: (i) razširjenost naturaliziranih populacij šarenke v Evropi, (ii) populacijsko genetska struktura domorodnih šarenk v severni Kaliforniji, ki je pomembna za razumevanje odnosov v tujerodnih populacijah in (iii) izvor in populacijska struktura tujerodnih šarenk.

V prvem sklopu raziskovalnega dela smo zbrali podatke o razširjenosti naturaliziranih populacij šarenk v Evropi in jih kritično ovrednotili. Za pravilno upravljanje s tujerodnimi sladkovodnimi ribami je treba poznati tveganja, ki jih predstavlja njihov vnos v naravo. Dobro razumevanje interakcij šarenke z domorodnimi vrstami v Evropi

ni mogoče brez poznavanja pravega obsega naturalizacije in njene dinamike ter dejavnikov, ki jo omejujejo. Fausch in sod. (2001) in pozneje Fausch (2007) sta pri raziskovanju dejavnikov, ki omejujejo naturalizacijo šarenke, Evropo v splošnem označila kot regijo brez naturaliziranih populacij. Ker se v zadnjih letih pojavlja vse več novih pričevanj o nasprotnem, smo opravili podroben pregled literature, zbrali podatke o evropskih populacijah in jih kritično ovrednotili. Pri tem delu smo se osredotočili tudi na strokovno literaturo in podatke zbirali iz nacionalnih poročil o ribištvu, načrtov za izvajanje ribiškega upravljanja, poročil o tujerodnih vrstah, poročil projektov ipd., saj je o tej temi na razpolago malo znanstvene literature. Naš glavni namen je bil ugotoviti, kakšna je razširjenost naturaliziranih populacij v Evropi in če se sklada z modelom, ki so ga predstavili Fausch in sod. (2001) in temelji na abiotskih dejavnikih – temperaturi in predvsem na poplavnem režimu.

Za rekonstrukcijo izvora naturaliziranih in ribogojniških populacij je treba poznati populacijsko genetske strukture domorodnih, predvsem potencialnih izvornih populacij. V drugem sklopu raziskovalnega dela je bil naš namen prepoznati in genetsko ovrednotiti podvrste oz. linije iz severne Kalifornije, ki se najpogosteje omenja kot vir domesticiranih šarenk. Na osnovi mikrosatelitnih lokusov smo ugotavljali populacijsko strukturo šarenk iz porečja reke Sacramento in sosednjih območij ter skušali prepoznati podvrste oz. evolucijske linije, ki tam nastopajo in bi potencialno lahko delovale kot donorji za evropske šarenke.

V tretjem sklopu raziskovalnega dela smo ugotavljali izvor in populacijsko strukturo tujerodnih šarenk. Poskušali smo ugotoviti izvor različnih naturaliziranih, vlaganih in ribogojniških populacij šarenk, genetsko ozadje invazije ter reprodukcijske prilagoditve na neavtohtonih območjih. Na podlagi ugotovljenih genetskih profilov, informacij o zgodovinskih prenosih in hidrogeografskih značilnosti smo skušali ugotoviti tudi, od česa je odvisno naturaliziranje te tujerodne vrste. Ključno vprašanje, ki se pojavlja, je, ali je specifičnost ekološke niše tisti dejavnik, ki bistveno vpliva na adaptacijo in naturalizacijo, ali pa je uspešnost te odvisna tudi od genetskega profila donorskih populacij. Pričakujemo, da bodo zaključki naše raziskave deležnikom, ki so povezani s

sladkovodnim ribištvom, ponudili izhodišča za dolgoročno upravljanje s šarenko, ki velja za eno izmed najbolj prisotnih in izkoriščanih ter v smislu zaščite vprašljivih ribolovnih vrst rib v Evropi.

1.2 RAZISKOVALNI CILJI IN HIPOTEZE

V okviru raziskave bomo preverjali naslednje hipoteze:

1. Pri prenosu šarenk iz Amerike v Evropo je prišlo do močnega vpliva ustanovitelja. Zaradi različnih posledic geografske ekspanzije, ki se odraža v prevladovanju posameznih alelov in posledično v različnih oblikah genealoških dreves, pričakujemo izrazito nižjo genetsko pestrost evropskih populacij v primerjavi z avtohtonimi ameriškimi.
2. Navkljub močnemu vplivu ustanovitelja med prenesenimi populacijami obstaja genetska strukturiranost, ki odraža prisotnost linij, ki so bile originalno prinesene iz Amerike.
3. Zaradi različnega selekcijskega pritiska na ribogojniške in tujerodne naturalizirane populacije se genetska profila enih in drugih razlikujeta.

2 PREGLED OBJAV

2.1 TUJERODNE VRSTE

Tujerodne vrste predstavljajo eno največjih groženj biotski raznovrstnosti. Čeprav zgodovina prenašanja vrst sega vse do začetkov človeške zgodovine, je ta grožnja dobila nove razsežnosti v 20. stoletju, ko je premikanje ljudi in tovara na dolge razdalje postalo enostavno, hitro in cenovno dostopno. Porast prometa, trgovanja, potovanj in turizma je odstranila mnoge biogeografske ovire, ki jih živali in rastline brez pomoči človeka ne bi nikoli premagale (Keller in sod., 2011).

Vsako leto je v Evropo zanesenih na stotine tujerodnih organizmov, vendar jih večina takoj propade, saj se novemu okolju ne morejo prilagoditi ali pa je prisotnih premalo osebkov za uspešno razmnoževanje. Vrste, ki se v naravi redno razmnožujejo, njihove populacije pa se vzdržujejo brez posredovanja človeka, so naturalizirane vrste, medtem ko so vrste, ki v okolju ostanejo dalj časa bodisi zaradi dolge življenjske dobe, občasnega razmnoževanja ali ponavljajočih se naselitev, aklimatizirane vrste. Naturalizirane vrste niso nujno tudi invazivne. S tem imenom ponavadi označujemo tujerodne vrste, ki so se ustalile in povzročajo spremembe v okolju ter ogrožajo domorodno biotsko raznovrstnost, zdravje ljudi in/ali gospodarstva (Kus Veenvliet in Veenvliet, 2009).

Uspeh naturalizacije je odvisen od vzajemnega delovanja dveh komponent – populacijskih značilnosti vnesenih populacij (genetska struktura; genetska raznolikost; število vnesenih osebkov, angl. propagule pressure) in ekološkega upora (angl. ecological resistance). Ekološki upor je sestavljen iz okoljskega in biotskega upora, pri čemer prvi izvira iz abiotskih fizikalno-kemijskih dejavnikov, biotski upor pa iz interakcij z domorodnimi vrstami, vključno s paraziti (Fausch in sod., 2001). Čeprav v splošnem velja, da imajo nove populacije zaradi učinka ustanovitelja (angl. founder effect) nizko genetsko pestrost, zaradi katere težko naselijo nova območja, to pri naturaliziranih populacijah pogosto ne drži. Genetska raznolikost naturaliziranih populacij se namreč lahko poveča zaradi vnosov večjega števila osebkov predvsem pa zaradi večkratnih vnosov genetsko raznolikih populacij. Z velikim številom vnesenih

populacij se pri tujerodni vrsta zmanjša vpliv ustanoviteljevega učinka, z vnosom različnih linij pa se lahko poveča raznolikost tudi v primerjavi z domorodnimi populacijami (Roman in Darling, 2007). Naturalizacijo tujerodnih vrst lahko olajšajo tudi spremembe v ekološkem uporu, bodisi na račun okoljskih sprememb zaradi onesnaževanja, modifikacij habitatov ali podnebnih sprememb (Wolkovich in sod., 2013), bodisi na račun sprememb v biotskem delu upora, zaradi poslabšanje stanja domorodnih vrst ali pa zaradi porušenih razmer v ekosistemu (MacNeil in sod., 2013).

Vplive tujerodnih vrst je težko napovedovati, saj vsaka uspešna naselitev vodi k vzpostavitvi novih medvrstnih razmerij. Običajno vplive težko zaznamo, dokler je tujerodna vrsta prisotna v majhnem številu, očitni postanejo šele, ko se populacija dovolj poveča. V splošnem vplive tujerodnih vrst delimo na štiri kategorije: vpliv na domorodne vrste, na ekosisteme, na gospodarstvo in na zdravje ljudi. Vplivi na domorodne vrste so zelo raznoliki. Tujerodne vrste lahko v novem okolju z domorodnimi vrstami tekmujejo za življenjski prostor, hrano ali druge življenjsko pomembne vire. Poleg tega so tujerodne vrste lahko plenilci domorodnih, se z njimi križajo ali pa so prenašalci bolezni, na katere so same odporne. Nekatere tujerodne vrste v novem okolju popolnoma spremenijo medvrstne odnose, kroženje hranil ter fizikalne in kemijske dejavnike. Take spremembe lahko vodijo tudi do korenitih sprememb na ekosistemskem nivoju in v skrajnih primerih celo do uničenja ekosistema (Kus Veenvliet in Veenvliet, 2009).

2.1.1 Problematika vnašanja tujerodnih sladkovodnih ribjih vrst

Načrtni prenosi sladkovodnih vrst rib so verjetno najstarejši načrtni prenosi divjih živalskih vrst na splošno. V Evropi najstarejši zapisi o teh prenosih izvirajo iz rimskih časov in iz zgodnjega srednjega veka (Balon, 2004), medtem ko bi na Kitajskem taki zapisi lahko izvirali že iz pomladnega in jesenskega obdobja dinastije Zhou (770-476 p.n.š.) (Stickney in Treece, 2012). Večina zgodnjih prenosov je bila omejena na ciprinidne vrste rib, predvsem na krape, medtem ko se je sistematično gojenje in vnašanje salmonidov začelo šele v drugi polovici 19. stoletja. Razvoj ribogojstva in razmah vnašanja sladkovodnih rib konec 19. stoletja je bil predvsem poskus odgovora na upadanje številčnosti salmonidov zaradi prekomernega lovljenja, pa tudi zaradi

intenzivne industrializacije in posledičnega onesnaževanja ter spreminjanja tekočih voda (Bellesme, 1897; Haack, 1882; Stickney in Treece, 2012). Čeprav so k razmahu vnašanja sladkovodnih vrst rib v tistem času vodila predvsem naravovarstvena izhodišča, se je prenašanje vrst tudi pri tej živalski skupini izkazalo za zelo rizično početje. Vnos tujerodnih ribjih vrst ima lahko tudi katastrofalne posledice ne le za posamezne domorodne vrste, ampak kar za celotne ekosisteme (Vitule in sod., 2009).

Med najbolj kritičnimi primeri vnosa tujerodnih sladkovodnih rib zagotovo velja izpostaviti vnos nilskega ostriža (*Lates niloticus*) v Viktorijino jezero (i), rznos gambuzije (ii) in vnose predvsem večjih ribjih vrst (iii) v visokogorska jezera. (i) Potem ko so v 50-ih letih rekreativni ribiči v Viktorijino jezero vnesli, nilskega ostriža, se je ta hitro razširil in povzročil izumrtje več domorodnih ciklidnih vrst rib (Vitule in sod., 2009). (ii) Čeprav so gambuzije raznašali z namenom boja proti komarjem, se je ta vrsta v novih okoljih hitro prilagodila na različne vire hrane, tudi na ikre. Gambuzija je s kompeticijo ali predacijo povzročila kar nekaj lokalnih izumrtij domorodnih vrst rib in dvoživk v Avstraliji (Macdonald in Tonkin, 2008; Stanback, 2010) in v Sredozemlju (Caiola in Sostoa, 2005; Kats in Ferrer, 2003). (iii) Vnosi ribjih vrst v visokogorska jezera predstavljajo povsem svojevrsten problem. Visokogorska jezera so zelo pomemben življenjski prostor za dvoživke, saj ribe v njih ponavadi naravno niso prisotne. Vnos večjih, predvsem salmonidnih ribjih vrst je v Kanadi, Ameriki, Španiji, Franciji, Švici, Italiji, Avstriji in v Sloveniji vodil v lokalna izumrtja ali zmanjšanje populacij nekaterih dvoživk (Denoël in sod., 2015; Lorenzoni in sod., 2006; Orizaola in Braña, 2006; Pearson in Goater, 2009; Veenvliet in Kus Veenvliet, 2008; von Hardenberg in Tiberti, 2012; Welsh in sod., 2006). V Sloveniji in Švici so zaradi vnašanja ribjih vrst izginile pedomorfne populacije planinskih pupkov (Denoël in sod., 2015; Veenvliet in Kus Veenvliet, 2008). V Sloveniji je zaradi vnosa rib v Jezeru na Planini pri jezeru izumrla endemična podvrsta *Ichthyosaura alpestris lacustris* (Veenliet in Kus Veenvliet, 2008), medtem ko je vnašanje rib v Črno jezero zmanjšalo številčnost endemične podvrste triglavskega planinskega pupka, *I. alpestris lacusnigri* (Lužnik in sod., 2011; Veenvliet in Kus Veenvliet, 2008).

V Evropski uniji je zabeleženih vsaj 224 vloženih ribjih vrst iz drugih porečji ali celo z drugih kontinentov (Gherardi, 2010). Od tega je bilo kar 60 % vrst vloženih v zadnjih 40-ih letih (Crivelli, 1995). Med vloženimi vrstami največ pozornosti namenjamo evropskim salmonidnim vrstam, ki se jih prenaša med povodji, saj je posledica takih vnosov križanje z neavtohtonimi populacijami. Domesticirana atlantska linija potočne postrvi je tako raznesla svoje gene v praktično vsa evropska povodja, s čimer ogroža mnoge domorodne postrvi, med drugim tudi naše potočne postrvi donavske linije in soško postrv (*Salmo marmoratus*) (Pustovrh in sod., 2012; Sušnik Bajec in sod., 2015). Manj pozornosti pa namenjamo šarenki (*Oncorhynchus mykiss*). Kljub pomanjkanju podatkov in ustreznih raziskav prevladuje prepričanje, da v Evropi ta vrsta redko postane naturalizirana (Fausch in sod., 2001; Fausch, 2007b), medtem ko vplivi na domorodne vrste, še posebej ne-salmonidne oz. ne-ribje vrste, pogosto ostanejo spregledani (Peter, 1997; Rulé in sod., 2005; Vincenzi in sod., 2011; Welton in sod., 1995; Winzeler, 1998).

2.2 ŠARENKA

2.2.1 Razširjenost in biološke značilnosti domorodnih šarenk

Šarenka ali ameriška postrv je naravno razširjena v Pacifiku, Ohotskem in Beringovem morju; v pacifiškem povodju Severne Amerike vse do rakovega povratnika v Mehiki, na jugu in v celinskih vodah Kamčatke ter vzdolž obale Ohotskega morja (Behnke, 1992, 2002; Light in sod., 1989). Kompleks *O. mykiss* ima, podobno kot kompleks *S. trutta*, zapleteno evlucijsko zgodovino, ki se odraža v plastičnosti vrste in v obstoju velikega števila podvrst oz. form, ki naseljujejo različne habitate in imajo različne življenjske strategije. Po cepitvi *O. mykiss* in *O. clarkii* pred približno dvema milijonoma let je *O. mykiss* preko vikariance in alopatrične speciacije razpadla na mnogo ločenih linij, med katerimi je zaradi pleistocenskih poledenitev večkrat prišlo do vzpostavitve drugotnih stikov in introgresije (McCusker in sod., 2000; Stephens, 2007).

Po danes veljavni taksonomiji šarenko delimo na več podvrst (Preglednica 1). Na osnovi morfologije (število lusk in vretenc, obarvanost, morfometrična razmerja) prepoznamo naslednje podvrste: obalna šarenka (*O. mykiss mykiss*), šarenka iz porečja

reke Columbia (*O. m. gairdneri*), šarenka iz severnega dela endoreičnega območja Great Basin (*O. m. newberrii*), šarenka iz porečja reke McCloud (*O. m. stonei*), neopisana podvrsta iz potoka Sheepheaven (*O. m. subsp.*; Behnke, 1992, 2002), šarenka iz porečja reke Kern (*O. m. aguabonita*) in šarenka iz polotoka Baja California (*O. m. nelsoni*). Behnke (1992, 2002) iz naravovarstvenih razlogov dodaja še štiri podvrste, ki jih ne moremo ločiti na osnovi morfoloških znakov: ameriška obalna šarenka (*O. m. irideus*), šarenka iz porečja reke Little Kern (*O. m. whitei*), šarenka iz reke Kern (*O. m. gilberti*) in šarenka iz jezera Eagle (*O. m. aquilarum*). K tej vrsti (*O. mykiss*) prištevamo še rezidentne šarenke iz Mehike (Behnke, 1992, 2002; Camarena-Rosales in sod., 2007; Hendrickson in sod., 2002). Z izjemo *O. m. nelsoni* pri mehiških šarenkah podvrste še niso opisane (šarenke iz porečja reke Rio Yaqui, endoreičnega območja Guzmán, porečja reke Baluarte; porečja reke Acaponeta; porečja reke Rio Tomochic, porečja reke Rio Mayo, porečja reke San Lorenzo, porečja reke Rio del Presidio, porečja reke Rio Piaxtla in iz reke Conchos – slednje je edini primer naravne distribucije šarenke v atlantskem povodju). Odnosi med *O. m. nelsoni*, ki naseljuje obalni pas rek, in ostalimi mehiškimi podvrstami, ki naseljujejo notranje dele reke, niso razjasnjeni, ravno tako ni jasno, ali so mehiške šarenke monofiletska ali polifiletska skupina. Delitev na podvrste na osnovi morfoloških karakteristik se v večji meri pokriva z molekularno genetskimi študijami (Bagley in Gall, 1998; Simmons in sod., 2009; Stephens in sod., 2009).

Za razliko od morfoloških razlik med podvrstami, ki so sicer konsistentne, a niso tako zelo izrazite, pa so morfološke razlike med ekotipi veliko očitnejše in bolj izrazite. V splošnem pri šarenkah ločimo dva načina življenja oz. ekotipa: rezidentni oz. potamodromni (naseljuje izključno celinske vode) in anadromni ekotip (večino življenja preživi v morju, drsti pa se v tekočih vodah). Razlike med obema ekotipoma so tako izrazite, da so jih opisovali kot dve ločeni vrsti, vse dokler genetske raziskave niso pokazale drugače (Allendorf in Utter, 1979). Pri večini podvrst najdemo izključno en ekotip, medtem ko so pri podvrsti *O. m. irideus* in *O. m. gairdneri* nekatere populacije anadromne, druge pa potamodromne. Podvrsta *O. m. gairdneri* ima celo poseben ekotip jezerskih »kamloops« populacij. Pri tem ekotipu so juvenilni osebki prilagojeni na življenje v jezeru, ko pa pri štirih do šestih letih dosežejo spolno zrelost, jezera zapustijo in migrirajo v potoke, kjer se drstijo. Anadromne populacije se med seboj precej

razlikujejo po sezoni migracije v reke (jesen, pomlad), času, ki ga juvenilni osebki preživijo v tekoči vodi pred preходом na morski način življenja (angl. smoltification), in času, ki ga mladostni osebki preživijo v morju, preden spolno dozori in se odpravijo na drst v tekoče vode (povzeto po Behnke, 1992, 2002).

Med rezidentnimi oz. potamodromnimi in anadromnimi populacijami ni popolne reprodukcijske izolacije in čeprav hibridizacija ni pogosta, je dovolj, da zabiše genetske razlike med linijami do te mere, da z enostavnimi nevtralnimi genetskimi označevalci (mikrosateliti, sekvence, SNP-ji) ne moremo ločiti med anadromnimi in rezidentnimi populacijami. Razlike so pogosto zabrisane celo do te mere, da molekularno genetske analize nevtralnih lokusov kažejo večjo sorodnost med različnimi linijami oz. ekotipi, tudi če pripadajo različnim podvrstam, znotraj enega porečja kot med istimi linijami oz. med porečji (povzeto po Behnke, 2002). Poleg okoljskih (Zaugg in Wagner, 1973) in krajinskih dejavnikov (nadmorska višina, oddaljenost od izliva, količina padavin) (Narum in sod., 2008) pa so genetski dejavniki ravno tako odločilni za prehod na anadromni način življenja in obratno (Thrower in sod., 2004; Zimmerman in Reeves, 2000). Vloge genetskih dejavnikov pa niso razkrile molekularne genetske raziskave, ampak demografsko populacijske raziskave, pri katerih so primerjali razmerje kalcija in stroncija v nukleusu otolitov. Kalish (1990) je na osnovi podobnosti razmerij pri samicah in njihovih potomcih pokazal, da se izbira življenjske strategije deduje. Drugače povedano, imajo samice praviloma anadromne potomce, rezidentne samice pa rezidentne potomce. Genetsko razlikovanje med anadromnimi in rezidentnimi populacijami je zaenkrat možno le na genomskem nivoju, in sicer z uporabo naprednih metod sekvenciranja druge generacije (Hecht in sod., 2013, 2012).

Preglednica 1: Podvrste in izbrane linije šarenk z latinskim imenom, okrajšavami za linije ter slovenskimi in angleškimi imeni; neopisane mehiške podvrste niso vključene.

Table 1: Rainbow trout subspecies and relevant lineages with scientific names, aberrations and Slovenian and English names. The table does not include undescribed mexican species.

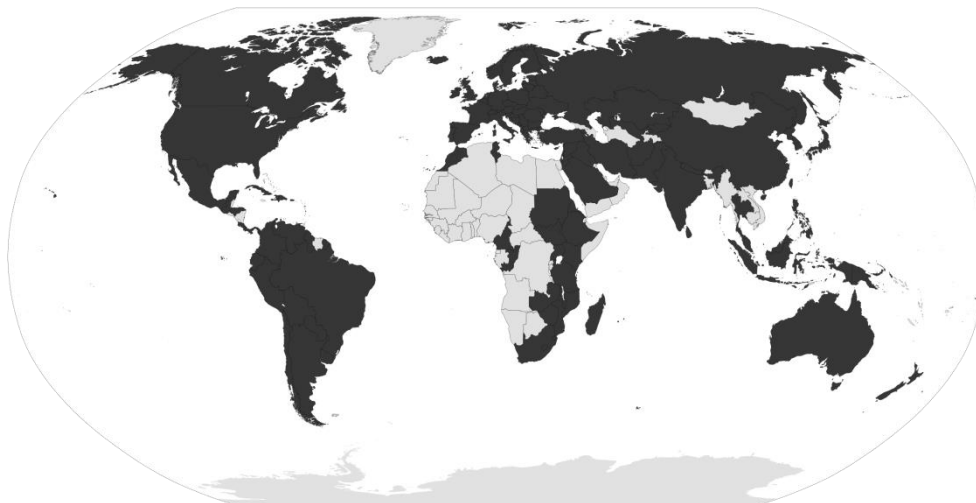
Latinsko ime	Okrajšava	Slovensko ime	Angleško ime
<i>O. m. mykiss</i> Walbaum, 1792		Kamčatska šarenka	Kamchatkan rainbow trout
<i>O. m. irideus</i> Gibbons, 1955		Obalne šarenka	Rainbow trout
	N-RBT	Anadromne šarenke severno od rta Mendocino	Steelhead populations north of Cape Mendocino
	CCA-RBT	Anadromne šarenke iz osrednje Kalifornije	Steelhead populations from Central California
	SCA-RBT	Anadromne šarenke iz južne Kalifornije	Steelhead populations from South California
	SAC-RBT	Šarenke iz porečja reke Sacramento	Sacramento River coastal rainbow trout
	PIT-RT	Šarenke iz porečja reke Pit	Pit River rainbow trout
<i>O. m. gairdneri</i> Richardson, 1836	COL-RT	Šarenke iz porečja reke Columbia	Columbia River basin redband trout
<i>O. m. newberrii</i> Girard, 1858	NGB-RT	Šarenke iz severnega dela endoreičnega območja Great Basin	Northern Great Basin redband trout
<i>O. m. stonei</i> Jordan, 1894	M-RT	Rezidentne šarenke iz reke McCloud	McCloud River Redband trout
		Rezidentne šarenke iz potoka Sheepheaven	Sheepheaven Creek redband trout
<i>O. m. aquilarum</i> Snyder, 1971	EL-RBT	Šarenke iz jezera Eagle	Eagle Lake rainbow trout
<i>O. m. aguabonita</i> Jordan, 1892	GT	Šarenke iz porečja reke Kern	Golden trout of the Kern River Drainage
<i>O. m. whitei</i> Evermann, 1906	GT	Šarenke iz reke Little Kern	Little Kern River golden trout
<i>O. gilberti</i> Jordan, 1894	GT	Šarenke iz reke Kern	Kern river rainbow trout
<i>O. nelsoni</i> Evermann, 1908		Šarenke iz polotoka Baja California	Baja California Rainbow trout

2.2.2 Izvor, zgodovina in razširjenost domesticiranih šarenk

Šarenka je gospodarsko zelo pomembna riba, ki so jo zaradi velike prilagodljivosti, hitre rasti in relativno enostavnega gojenja raznesli praktično po vsem svetu (MacCrimmon, 1971, 1972). Velja za najbolj razširjeno tujerodno salmonidno vrsto in eno najbolj razširjenih tujerodnih ribjih vrst na splošno (Crawford in Muir, 2008). Od leta 1870, ko so šarenko v prostorih »California Acclimatization Society« v San Franciscu prvič uspešno umetno razmnožili, pa do danes, so jo za namene rekreativnega ribištva in vzreje zanesli v vsaj 109 držav sveta (Slika 1); vključno z vsemi zveznimi državami ZDA in večino dežel Kanade. Taka popularnost in uspeh sta posledica več dejavnikov: priljubljenosti šarenke med rekreativnimi ribiči; manjše občutljivosti na višje temperature v primerjavi z drugimi salmonidi; hitre rasti in enostavnega umetnega razmnoževanja ter relativno enostavne manipulacije nekaterih pomembnih bioloških značilnosti predvsem časa drsti (Crawford & Muir, 2008; Halverson, 2008; Woynarovich et al., 2011).

Dolgo je za skoraj edini izvor domesticiranih šarenk veljala reka McCloud, pritok reke Sacramento v Kaliforniji, čeprav so bile za vzpostavitev mnogih plemenskih jat uporabljene tudi šarenke od drugod (Behnke 1992, 2002). Prve umetno razmnožene šarenke so bili anadromni osebki iz zaliva San Francisco (1870, glej zgoraj), leta 1873 pa je sledilo razmnoževanje osebkov iz jezera Clear Lake v okrožju Lake County v Kaliforniji, medtem ko so bile ikre iz reke McCloud uporabljene šele leta 1877 (Leitritz, 1970). Tako prve tujerodne šarenke (Zvezna država New York 1874 in 1876) najverjetneje niso izvirale iz porečja reke McCloud (Behnke, 1992; Leitritz, 1970; Wales, 1939), saj je ribogojnica Baird Station na reki McCloud z obsežnimi gojitvami šarenk začela šele leta 1879. V naslednjih devetih letih, dokler niso prenehali s pobiranjem iker iz narave, so od tu v druge ribogojnice razposlali več kot 2,5 milijona iker (Wales, 1939; Leitritz, 1970; Behnke, 1992). Ker je konec 19. in v začetku 20. stoletja povpraševanje po šarenkah močno prekašalo ponudbo, je Ameriška zvezna agencija za ribištvo (U.S. Fish Commission), ki je bila tedaj največji upravitelj ribogojnic, obogatila plemenske jate z novimi viri. Za obogatitev jat so uporabljali predvsem ikre iz obalnih delov rek severne Kalifornije in južnega Oregona (Klamath,

Rogue, Redwood itd.) (Behnke, 1992, 2002; Busack in Gall, 1980; Ehrenbaum, 1926; MacCrimmon, 1971; Mršić, 1935). Že v tistem času so poleg velikih državnih ribogojnic obstajale tudi številne manjše privatne, ki so pogosto uporabljale lastne vire iker (Behnke, 1992; Ehrenbaum, 1926; Scott in sod., 1978).



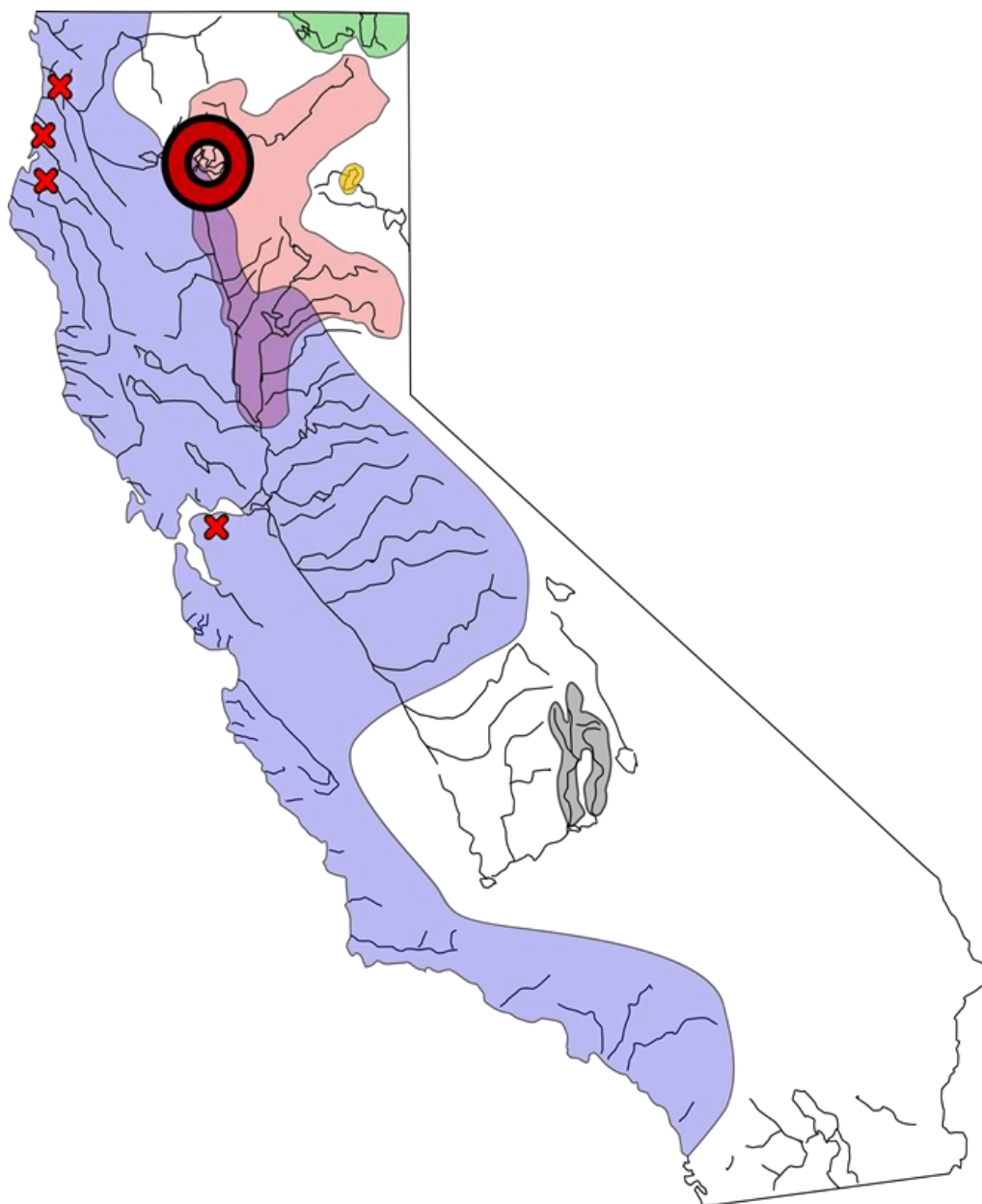
Slika 1: Tujerodna razširjenost šarenke. Države, kamor je bila šarenka zanesena, so potemnjene. Razširjenost je povzeta po MacCrimmon (1971, 1972), Welcomme (1988), Lever (1996), Crawford in Muir (2008), Semenchenko in sod. (2009), Nistor in sod. (2014), bazi podatkov - Database on Introductions of Aquatic Species (FAO) in po lastnih neobjavljenih podatkih.

Figure 1: Non-native distribution of rainbow trout. The countries into which the species has been introduced are darkened. Sources for the introductions are: MacCrimmon (1971, 1972), Welcomme (1988), Lever (1996), Crawford and Muir (2008), Semenchenko et al. (2009), Nistor et al. (2012), Database on Introductions of Aquatic Species (FAO) and unpublished data.

Za prvo translokacijo šarenke na drug kontinent velja pošiljka iker na Japonsko (1877), ko so iz privatne ribogojnice Campbell Creek blizu sotočja McCloud in Sacramento poslali 10 000 iker v Tokio. Prvi vnos v Evropo pa je sledil že čez dve leti, ko je Trocadéro Aquarium iz Pariza ob posredovanju Ameriške zvezne agencije za ribištvo prejel manjšo pošiljko iker iz ribogojnice Caledonia, New York (Bean, 1895; Bellesme,

1897; MacCrimmon, 1971). Temu prvemu vnosu so že kmalu sledili naslednji vnosi v druge države (Nemčija, Združeno kraljevstvo, Švica ...). Do leta 1939 je bila v osemdesetih neposrednih prenosih iz ZDA šarenka vnesena v 13 evropskih držav (Preglednica 2). K temu prvemu valu translokacij pa je treba prišteti še zelo pogoste sekundarni prenos iz Evrope, ki so največkrat izvirale iz Nemčije. Med drugim so s sekundarnimi prenosi šarenke vnesli tudi v Avstrijo, Bolgarijo, Dansko, Poljsko, Švedsko, Švico, Rusijo, Slovaško, Češko in Slovenijo (Crawford and Muir, 2008). Večina ameriških vnosov je izvirala iz ribogojnic v Northvillu v zvezni državi Michigan in v Wythevillu v zvezni državi Virginia, medtem ko je manjši del vnosov izviral iz naslednjih ribogojnic: Baird Station, California; Hoornbrook Station, California; Creede Fish Hatchery, Colorado; Kalamazoo Fish Hatchery, Michigan; State Hatchery – Caledonia, New York; Clackamas Fish Hatchery, Oregon; White Sulphur Springs National Fish Hatchery, Virginia (viri v Preglednici 2). Kljub poznavanju ključnih ribogojnic za prenose šarenke v Evropo pa je vprašanje taksonomske pripadnosti evropskih populacij kompleksno, saj so uporabljene plemenske jate izvirale iz različnih virov iker (Behnke 1992, 2002; Busack in Gall, 1980; Leitritz 1970). Čeprav je glavnina šarenk v zveznih ribogojnicah, vključno z ribogojnicama v Northvillu in Wythevillu, izvirala iz jat, vzpostavljenih v ribogojnici Baird Station na reki McCloud, ne vemo natančno, katere podvrste šarenke so uporabljali v tej ribogojnici. Takrat so namreč na tem območju naravno živele tako anadromne (*O. m. irideus*) kot tudi rezidentne šarenke (*O. m. stonei*) (Slika 2). Po pričevanjih upraviteljev ribogojnice Livningston Stone so uporabljali ikre obeh linij šarenke (Needham in Behnke, 1962).

Za potrebe vzreje so obsežni medkontinentalni prenos šarenk iz pretežno severnoameriških, južnoameriških in južnoafriških ribogojnic še vedno pogosti (Dunn, 2005).



Slika 2: Zemljevid naravne razširjenost podvrst šarenke v Kaliforniji, ZDA, z označeno ribogojnico Baird Station na reki McCloud (krog) in nekaterimi drugimi večjimi ribogojnicami z lastnimi z lastnimi ikrami (križci). Razširjenost podvrst je povzeta po Behnke (1992, 2002): *O. m. irideus* (modro); *O. m. aguabonita* (sivo); *O. m. stonei* (rdeče); *O. m. aquilarum* (rumeno); *O. m. newberrii* (zeleno).

Figure 2: Native distribution of rainbow trout subspecies in California, with the position of Baird Station on the McCloud River and other larger U.S. Fish Commission egg collecting stations. The subspecies distribution is inferred after Behnke (1992, 2002) : *O. m. irideus* (blue); *O. m. aguabonita* (gray); *O. m. stonei* (red); *O. m. aquilarum* (yellow); *O. m. newberrii* (green).

Preglednica 2: Vnosi šarenk iz ZDA med letoma 1879 in 1939. Neposredni vnosi so bili zabeleženi v Nemčiji (D), Franciji (F), Združenem kraljestvu (UK), Švici (CH), Belgiji (B), Italiji (IT), na Portugalskem (P), Irskem (I), v Avstriji (A), na Nizozemskem (N), na Češkem (C) in na Slovaškem (S), na Poljskem (PL) in v Bosni in Hercegovini (BIH). Večina zapisov izvira iz letnih poročil zvezne agencije za ribištvo. Leta vnosov so določena v skladu s fiskalnim letom agencije, ki se končuje 30. junija. Števila iker so v tisočih.

Table 2: Imports of rainbow trout eggs from the USA between 1879 and 1939 recorded in Germany (D), France (F), United Kingdom (UK), Switzerland (CH), Belgium (B), Italy (IT), Portugal (P), Ireland (I), Austria (A), the Netherlands (N), Czech Republic (C) and Slovakia (S), Poland (PL), Bosnia and Herzegovina (BIH); no records of direct imports exist for other countries. Most records were obtained from the US Fish Commission Annual Reports. Years of imports are set by the fiscal years of the U.S. Fish Commission, ending on 30th June each year. All quantities are in thousands of eggs.

	D	F	UK	CH	B	IT	P	I	A	N	C/S	PL	BH	Vir
19. stoletje														
79–80		?												(Bean, 1895)
81–82	2													(Behr, 1882)
83–84	12	3												(Mather, 1885)
84–85		3	15											(Baird, 1886)
85–86	25	10	10											(Mather, 1887)
86–87	70	30	10											(Baird, 1889)
87–88			25	20										(McDonald, 1891)
88–89		15	30											(McDonald, 1892)
89–90	10	20	15	30	25									(McDonald, 1893)
90–91	20		15	40		?								(McDonald, 1893)
92–93		10		30										(Worth, 1895)
93–94		67			25									(Bean, 1896)
94–95		25	50		50									(Ravenel, 1896)
95–96		75			50									(Ravenel, 1898a)
96–97		70												(Ravenel, 1898b)
97–98	10	10	20		10	20	10							(Ravenel, 1899)
98–99	10	25	10				10	10						(Ravenel, 1900)
99–00			50					15						(Ravenel, 1901)
20. stoletje														
00-01			25					20						(Ravenel, 1902)
01-02	50		25					25						(Titcomb, 1904)
02-03	10		20											(Titcomb, 1905)

se nadaljuje

nadaljevanje preglednice 2. Vnosi šarenk iz ZDA med letoma 1879 in 1939.

	D	F	UK	CH	B	IT	P	I	A	N	C/S	PL	BH	Vir
03–04		10	10											(Bowers, 1905)
06–07		10												(Bowers, 1909)
07–08	300	20												(Ehrenbaum, 1926)
08–09	16													(Bowers, 1911)
10–11	50						36							(Bowers, 1913)
11–12	270	25					50		100				?	(Bowers, 1914)
12–13	100													(Smith, 1914)
13–14	100													(Ehrenbaum, 1926)
15–16							50							(O'Malley, 1917)
22–23	318									50	100			(Leach, 1924)
23–24		50									50	50		(O'Malley, 1925)
24–25										50				(O'Malley, 1926)
25–26				72		50								(O'Malley, 1927)
26–27				50		50								(Leach, 1928)
27–28	50			50										(Leach, 1929)
30–31			50											(Leach, 1932)
38–39			50											(Leach in sod., 1941)

2.2.3 Naturalizirane populacije

Rekreativni ribiči so šarenko raznesli tako rekoč po vsem svetu. A prav zaradi rednega vnašanja je težko oceniti stopnjo naturalizacije, saj populacij ne moremo obravnavati kot naturaliziranih, dokler so prisotne vsakoletne ponavljajoče naselitve (Copp in sod., 2005). Sama prisotnost razmnoževanja namreč ni dokaz, da bo vrsta v novem okolju obstala tudi po zaključku rednega vnašanja. Ob ponavljajočih se naselitvah lahko le iz dolgoročne prisotnosti nevnesenih osebkov vseh starostnih razredov sklepamo na uspešno naturalizacijo. Naturalizirane populacije so poznane iz regije Great Lakes, gorovja Rocky Mountains in Apalačev v Severni Ameriki (Crawford, 2001; Fausch in sod., 2001; Fausch, 2007a); iz Patagonije in bolj zmernih delov Južne Amerike, vključno z nekaterimi višje ležečimi najdišči v tropih, tudi v Dominikanski republiki (MacCrimmon, 1971; Riva Rossi in sod., 2004; Sartorio, 2003; Valiente in sod., 2007); iz Nove Zelandije, Nove Gvineje ter Avstralije (Arthington in Blühdorn, 1995; Crowl in

sod., 1992; Wright, 1980); iz japonskega otoka Hokaido (Kitano, 2004; Nomoto in sod., 2010); iz višje ležečih delov južne Indije in iz Šri Lanke (Gopalakrishnan in sod., 1999; Jinadasa in sod., 2005); iz Levanta (Goren in Galil, 2005); in iz Južnoafriške republike, Zimbabveja ter iz nekaterih delov vzhodne Afrike vključno s Kenijo in Etiopijo ter z otoka Reunion (Berrebi, 2006; Cambray, 2003; Kadye in sod., 2013; MacCrimmon, 1971; Ngugi, 1999).

Razširjenost naturaliziranih populacij je v Evropi slabo raziskana, saj kljub pomembnosti te vrste in več kot 120-letni zgodovini njenega vlaganja o tej temi obstaja le malo znanstvenih objav (Copp in sod., 2005; Gherardi, 2010); več podatkov o naturaliziranih populacijah lahko najdemo v neangleških virih (glej rezultate). Fausch in sod. (2001) in Fausch (2007b) uspeh razmnoževanja v naravi pojasnjujeta predvsem z različno prilagojenostjo posameznih vrst postrvi na različne poplavne režime. Tako naj bi bile šarenke bolj prilagojene na zimski poplavni režim kot na spomladanskega. Mladice, ki se pri tej vrsti ponavadi izvalijo spomladi, so namreč zelo občutljive na poplave.

2.2.4 Pregled vplivov tujerodnih šarenk

Vplive šarenk na domorodne ribe lahko glede na tip vplivov in taksonomsko pripadnost domorodnih vrst razdelimo v štiri skupine: (i) vplivi na domorodne šarenke in druge postrvi iz rodu *Oncorhynchus*; (ii) vplivi na salmonidne vrste, ki niso postrvi iz rodu *Oncorhynchus*; (iii) prenašanje bolezni in parazitov; in (iv) vplivi na nesalmonidne vrste. Vplivi tujerodnih domesticiranih šarenk na domorodne populacije šarenk so podobni vplivom tujerodnih potočnih postrvi na domorodne populacije potočnih postrvi. Domesticirane šarenke so vnesle svoje gene v skoraj vsa povodja z domorodnimi postrvmi iz rodu *Oncorhynchus*, kar je vodilo k izrazitemu padcu genetske pestrosti in ponekod celo k izgubi biološke integritete vrste (Finger in sod., 2009; Pearse in sod., 2010; Simmons in sod., 2009). Hibridizacija je najbolj prizadela rezidentne šarenke iz porečja reke Columbia, Sacramento, Kern in severnega dela endoreičnega območja Great Basin; vrsto *Oncorhynchus gilae* iz zvezne države Arizona in New Mexico; in mnoge podvrste vrste *O. clarkii* (Behnke, 1992, 2002). Poleg hibridizacije pa tujerodne šarenke domorodne vrste iz rodu *Oncorhynchus* izpodrivajo tudi s predacijo in/ali

kompeticijo (Allendorf in Leary, 1988; Rinne in Alexander, 1994; Seiler in Keeley, 2009).

S kompeticijo za drstne jamice (angl. redd superimposition), prostor in hrano, šarenke najpogosteje ogrožajo tudi druge salmonidne vrste, ki niso postrvi iz rodu *Oncorhynchus* (Scott in Irvine, 2000; Seiler in Keeley, 2009; Van Zwol in sod., 2012a). Izpodrivanje zaradi kompeticije je bilo opisano pri domorodnem lososu *Oncorhynchus masauou*, sulcu *Hucho perryi* in zlatovčicah otoka Hokaido na Japonskem (Inoue in sod., 2009; Kitano in sod., 2003; Kitano, 2004; Morita in sod., 2002; Nomoto in sod., 2010; Rahel in sod., 2008; Taniguchi in sod., 2000); potočni zlatovčici (*Salvelinus fontinalis*) v južnem delu njene naravne razširjenosti v Apalačih (Fausch, 2007a; Larson in sod., 1995; Marschall in Crowder, 1996); pri zlatovčicah iz regije Great Lakes (Crawford in Muir, 2008; Krueger in May, 1991); in pri atlantskem lososu (*Salmo salar*) po reintrodukciji v jezero Ontario (Crawford, 2001; Jones in Stanfield, 1993; Van Zwol in sod., 2012a, 2012b).

Kljub splošni razširjenosti in ekonomski pomembnosti te vrste pa je v Evropi le malo publikacij, ki raziskujejo interakcije šarenke z domorodnimi salmonidi. Blanchet in sod. (2007) so v laboratorijskih pogojih in v naravi v francoskih Pirenejih ugotovili, da šarenke izrazito vplivajo na izbiro habitata in posledično izpodrivajo domorodno potočno postrv. Landergren (1999) ter Peter (1997) pa sta ugotovila kompeticijo za drstne jamice. Prvi je opisal kompeticijo s šarenkami pri anadromnih morskih potočnih postrveh na otoku Gotland v Baltskem morju, drugi pa pri migratornih jezerskih potočnih postrveh v Švici v Bodenskem jezeru. Velik upad v populaciji potočnih postrvi po vnosu šarenk je bil opisan tudi drugod ob Bodenskem jezeru (Dußling in Berg, 2001; Kindle, 2006; Ruhlé, 1996) in celo v ohranjenem alpskem delu Zilje (Gail) v Avstriji (Rulé in sod., 2005). Odsotnost negativnih vplivov naturaliziranih šarenk na soško postrv v zgornji Idrijci pa so ugotovili Vincenzi in sod. (2011). V večini primerov je težko oceniti vpliv šarenke na domorodne salmonide. Ker se v Evropi populacije šarenke ponavadi pojavljajo v spremenjenih vodah, je težko oceniti, ali je prevladovanje šarenke nad domorodnimi salmonidi posledica degradacije okolja, vlaganja šarenk ali pa dejanske kompeticije. Kljub pomanjkanju ustreznih raziskav nekateri avtorji

(Uiblein, 2001; Uiblein in sod., 2000; Wiesbauer in sod., 1991) sklepajo, da šarenke večjo grožnjo kot potočni postrvi predstavljajo lipanu (*Thymallus thymallus*), saj je pri njiju večje sovpadanje v obdobju razmnoževanja in izbiri habitatov.

K negativnim vplivom na salmonidne vrste je potrebno prišteti tudi prenos bolezni in patogenov. S sekundarnim vnosom šarenk iz Evrope nazaj v ameriške ribogojnice je v Severno Ameriko prišla vrtoglavost, ki jo povzroča protozoj *Myxosoma cerebralis*. Medtem ko so evropski salmonidi na to bolezen ponavadi odporni, so ameriške vrste nanjo veliko bolj občutljive. Od prvega vnosa leta 1958 se je ta bolezen razširila po številnih ameriških ribogojnicah, od 90-ih let pa je večkrat izbruhnila tudi v divjini (Bartholomew in Reno, 2002; Modin, 1998; Nehring in Walker, 1996; Vincent, 1996). Podobno je bila iz Amerike v Evropo zanesena furunkuloza, s Švedske na Norveško pa metljaj *Gyrodactylus salaris* (Bakke in Harris, 2011).

V zadnjo kategorijo vplivov šarenk na domorodne ribje vrste sodijo vplivi na nesalmonidne vrste. V tej kategoriji so bili najbolj preučevani vplivi na Galaxiidae. Šarenke ogrožajo te majhne diadromne ribe z južne zemeljske poloble predvsem zaradi kompeticije in predacije ter tudi s spreminjanjem habitata. Negativni vplivi so bili opisani na celotnem območju razširjenosti tako v Avstraloziji kot Južni Afriki in Patagoniji (Cambray, 2003; Juncos, 2013; Lintermans, 2000; McDowallRM, 2003, 2006; Young in sod., 2010). Negativni vplivi pa so bili opisani tudi na drugih nesalmonidnih vrstah. V Južnoafriški republiki so zabeleženi negativni vplivi na več kot 50 ribjih vrst z rdečega seznama (Skelton, 1987), v Zimbabveju pa na soma *Amphilius uranoscopus* (Kadye in sod., 2013). V Južni Ameriki negativno vplivajo tudi na nekatere negalaksidne endemične ribe (Macchi in sod., 1999; Macchi in sod., 2007; Ortubay, 2000; Pascual in sod., 2002), tako so v Čilu na primer zabeleženi negativni vplivi na vrsto *Basilichthys australis*, v Dominikanski republiki pa na endemično tropsko ribo *Poecilia dominicensis* (Sartorio, 2003). Z Indijske podceline prihajajo opisi negativnih vplivov na endemične ribe s Šri Lanke (Pethiyagoda, 1994; Senanayake in Moyle, 1982). V Severni Ameriki pa so poleg negativnih vplivov na salmonide znani tudi vplivi tujerodnih šarenk na rumenega ostriža (*Perca flavescens*) v regiji Great Lakes (Crawford, 2001; Galbraith, 1967), na ciprinida *Lepidomeda vittata* v Arizoni

(Rinne in Alexander, 1994) in še na nekatere druge vrste (Krueger and May, 1991). V Evropi pa je predvsem problematično vlaganje v jadranske kraške vode, ki jih naseljujejo gaovice in drugi majhni endemični ciprinidi (Povž in Ocvirk, 1990; Zupančič, 2008), tako so zaradi naturaliziranih šarenk v Ljuti pri Konavlu izumrle gatačke gaovice (*Telestes tobiensis*) (Zupančič in Bogutskaya, 2002).

Zaradi globalnega negativnega vpliva so šarenke uvrščene na seznam stotih najbolj invazivnih tujerodnih vrst (angl. World's Worst Invasive Alien Species, Lowe in sod., 2000).

2.3 OSNOVE POPULACIJSKE GENETIKE

Populacijska genetika preučuje gensko sestavo in procese v bioloških populacijah, na katere vplivajo štiri evolucijske sile: selekcija, naključni genski zdrs (angl. drift), mutacije in migracije. Medtem ko zadnji dve delujeta v smeri povečevanja genetske pestrosti, delujeta genski zdrs oz. drift in selekcija v nasprotni smeri. Populacijska genetika se ukvarja s populacijsko strukturo v času in poskuša pojasniti pojave, kot sta adaptacija in speciacija. Osnovo populacijske genetike so postavili S. Wright, J. B. S. Haldane in R. A. Fisher, s tem ko so integrirali principe mendelske genetike z Darwinovo naravno selekcijo in s tem postavili temelje neo-darvinizmu ter poudarili ključno vlogo populacijske genetike v moderni evolucijski sintezi. Medtem ko sta bila Fisher in Haldane prepričana, da je naravna selekcija tista, ki ima najpomembnejši vpliv na gensko sestavo populacije, je Wright za enako pomembna imel tudi vpliv naključja (genski zdrs) in migracije (povzeto po Okasha, 2008).

Osnovni teorem populacijske genetike je Hardy-Weinbergov teorem, ki sta ga ločeno postavila G.H. Hardy in W. Weinberg leta 1908. V svojem delu sta pokazala, da je v idealiziranih populacijah frekvenca alelov in genotipov v ravnovesju, ki se ohranja iz generacije v generacijo. Odnose med frekvencami alelov in genotipov v populacij sta opisala v enačbi (1) in (2), pri čemer sta p in q frekvenci alelov.

$$p + q = 1 \qquad \dots (1)$$

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1 \quad \dots (2)$$

Če je prisotnih več alelov, se enačba ustrezno razširi. Na osnovi njunih enačb lahko iz relativnih frekvenc alelov ob predpostavki, da je populacija v Hardy-Weinbergovem ravnotežju (HWE, angl. Hardy-Weinberg equilibrium), modeliramo evolucijske spremembe in izračunamo distribucijo celotne frekvence genotipov. Ker realne populacije le redko zadostijo potrebnim pogojem, pri izračunu pogosto prihaja do odstopanj (Emigh, 1980). Razlogi za odstopanja od HWE so številni naravni procesi, kot so izolacija med populacijami, parjenje v sorodstvu, ozka grla in selekcija (povzeto po Okasha, 2008).

V dolgem časovnem obdobju je genetska raznolikost pomembna z vidika adaptivnega evolucijskega potenciala, v kratkem pa predvsem kot reprodukcijski fitnes (Frankham in sod., 2002).

V populacijski genetiki se uporabljajo deterministične in stohastične metode. Ker pri determinističnih metodah predpostavljamo neskončno velike populacije in zanemarjamo spreminjanje genetskih frekvenc, populacijsko dinamiko opisujejo s srednjimi genetskimi frekvencami. Sem spadajo metode, osnovane na F-statistiki (Slatkin, 1994; Wright, 1984). Ta temelji na fiksacijskih koeficientih, ki merijo, kako se na račun parjenja v sorodstvu povečuje homozigotnost (Crow, 1999). Za lažjo oceno je Wright podal tri fiksacijske indekse. (i) Individualni fiksacijski indeks (F_{IS}) oz. koeficient parjenja v sorodstvu (angl. inbreeding coefficient), ki je mera odstopanja opažene heterozigotnosti od pričakovane. (ii) S subpopulacijskim fiksacijskim indeksom (F_{ST}), ki nam poda povezanost gamet v subpopulaciji z gametami iz celotne populacije, običajno prikažemo diferenciacijo subpopulacij. (iii) Populacijski fiksacijski indeks (F_{IT}), ki nam poda primerjavo med individualnim in populacijskim koeficientom parjenja v sorodstvu, pa se uporablja redkeje (Crow, 1999).

Pri preučevanju populacij je pomembno, kateri lokusi so povezani (LD; angl. linkage disequilibrium). LD je definiran kot nenaključno združevanje alelov dveh lokusov. Pri tem se nekatere kombinacije alelov v populaciji pojavljajo pogosteje, kot bi lahko pričakovali glede na njihovo alelno frekvenco. Treba je poudariti, da LD vedno ne

pomeni vezanosti lokusov na istem kromosomu in omejeno rekombinacijo med njimi, ampak lahko kaže na subpopulacijske strukture. LD temelji na ugotavljanju odstopanja frekvenc haplotipov od pričakovanih (Falconer in Mackey, 1996).

Stohastične metode opisujejo verjetnostni proces v populacijah končne velikosti in, za razliko od metod F-statistike, ki računajo povprečje lokusov, podatke iz vseh lokusov vključijo v en verjetnostni model ter jih analizirajo z MCMC analizo (Pritchard in sod., 2000). Leta 1982 je Kingman v populacijsko genetiko vpeljal koalescentno teorijo, ki sledi prednikom vzorca, ne modelira pa spremembe v frekvenci alelov v populaciji kot celoti. Gre za obraten pristop, ki poteka od sedanjosti k preteklost in omogoča uporabo manjšega števila vzorcev, določanje časa od ločitve dveh populacij, in oceno velikosti populacij ter migracije med njimi (Beaumont, 1999; Beerli in Felsenstein, 1999; Beerli, 2006; Hey in Nielsen, 2007; Kuhner in sod., 2000).

Za opis in primerjavo med populacijami je pomembna še genetska pestrost, ki jo lahko opišemo s haplotipsko (h) in nukleotidno pestrostjo (π). Medtem ko je prva (3) le mera pogostosti določenega haplotipa v populaciji, je π (4) odvisna od povprečnega števila različnih nukleotidov med sekvencami v populaciji. Z drugimi besedami pri h sorodnost med haplotipi ni pomembna, medtem ko je pri π ta ključna (Nei in Li, 1979).

$$h = (N / (N-1)) (1 - \sum x^2) \quad \dots (3)$$

$$\pi = \sum_{ij} x_i x_j \pi_{ij} = 2 * \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^{i-1} x_i x_j \pi_{ij} \quad \dots (4)$$

Genetsko pestrost populacij ocenimo tudi s krivuljo kopičenja haplotipov s postopkom rarefakcije (angl. rarefaction analysis) in s Simpsonovim indeksom (Husseneder in sod., 2012). Ta indeksa sta sicer bolj uveljavljena pri ekoloških študijah, a ju lahko uporabimo tudi za oceno genske raznolikosti populacij.

Genetsko strukturo populacij oz. skupin statistično primerjamo z multivariantnimi statističnimi metodami, od katerih sta najpogostejši analiza molekularne variance (angl.

analysis of molecular variance, AMOVA) in analiza glavnih komponent (angl. principal component analysis, PCA). AMOVA temelji na analizi variance frekvence genov, ki sicer upošteva število mutacij med molekularnimi haplotipi, ki pa jih je treba najprej oceniti (Excoffier in sod., 2005). Pri tem pristopu z a priori določitvijo skupin definiramo določeno strukturo, ki jo želimo testirati. Kot rezultat dobimo delež skupne variance, ki jo razloži delitev na izbrane skupine in delež skupne variance, ki odpade na razlike znotraj izbranih skupin.

S PCA metodo pa opišemo in grafično predstavimo genetsko strukturo vzorcev z množico nepovezanih spremenljivk – komponent, ki so linearne kombinacije originalnih merjenih spremenljivk. Pri analizi populacijsko genetskih podatkov za originalne merjene spremenljivke ponavadi uporabljamo prisotnost in odsotnost posameznih alelov, ne pa razvrstitev alelov po lokusih. V primeru, da v analizi spremljamo deset lokusov, naša matrica ne bo imela le deset merjenih spremenljivk, ampak veliko več – odvisno od števila alelov na posamezni lokus. PCA analiza na osnovi podobnosti združuje merjene spremenljivke v glavne komponente (angl. principal components, PC), tako da nove kombinacije kar se da močno ujemajo z opazovanimi spremenljivkami oz. da pojasnijo čim večje število razpršenosti (variacije) opazovanih spremenljivk (Jombart in sod., 2009). Pri dvodimenzionalnem grafičnem prikazu ponavadi prikažemo razporeditev vzorcev po prvih dveh komponentah, pri čemer še podamo, koliko variacije zaobjame vsaka od komponent. Diskriminantna analiza glavnih komponent (angl. Discriminant analysis of principal components, DAPC) je posebna izvedba PCA, kjer damo večji pomen iskanju variance med izbranimi skupinami kot pa iskanju variance znotraj skupin (Jombart in sod., 2010).

2.3.1 Mitohondrijska DNA (mtDNA)

Mitohondrijsko DNA uporabljamo za ugotavljanje strukture populacij in odnosov med bližnje sorodnimi vrstami. Uporabljamo jo zaradi visoke stopnje mutacij, enostavne organizacije, dedovanja po materini strani in odsotnosti rekombinacije. V celici je prisotna v več kopijah, kar olajša njeno izolacijo (Hwang in Kim, 1999). Zaradi haploidnosti in dedovanja po materini strani se nove variante v primerjavi z jedrno DNA hitreje fiksirajo. Posledica takega dedovanja je tudi štirikrat manjša efektivna

populacijska velikost v primerjavi z jedrnimi geni. Tudi hitrost substitucij v mtDNA je višja kot pri jedrnih genih, kar je posledica višje metabolne stopnje, večjega števila prostih radikalov v mitohondriju, pogostejše delitve mtDNA, slabših popravljalnih mehanizmov in manjšega selekcijskega pritiska nekaterih regij (npr. kontrolne regije). V splošnem je sekvenčna evolucija v mtDNA ocenjena kot 5- do 10-krat hitrejša kot pri jedrnih genih. Stopnja substitucij je ocenjena na okoli $5,7 \times 10^{-8}$ substitucij na sinonimno mesto na leto, kar pomeni približno 2 % razlik v 10^6 letih pri linijah, ki so ločene manj kot 10^7 let (povzeto po Avise, 2000). Zaradi pojavljanja in fiksacije novih variant se mtDNA uporablja za sledenje novejših evlucijske zgodovine: genskega pretoka med populacijami, kolonizacije ter efekta ozkega grla. Za populacijske študije najpogosteje uporabljamo hipervariabilno kontrolno regijo. Zaradi manjšega funkcionalnega pritiska ima ta odsek mtDNA največ mutacij na 3'- in 5'-koncu, to je v regiji za zapisom za tRNA za prolin (tRNAPro) in regiji pred genom za tRNA za fenilalanin (tRNAPhe), bolj konzervirana pa sta osrednji del, velik približno 300 bp, in predel, odgovoren za začetek replikacije (Greenberg in sod., 1983; Hwang in Kim, 1999; Shedlock in sod., 1992).

2.3.2 Mikrosateliti

Mikrosateliti so nukleotidna zaporedja, sestavljena iz po nekaj baznih parov dolgih ponavljajočih se odsekov. Našli so jih v vseh preučevanih evkariontih, pri prokariotih pa so redkejši. Mikrosateliti so precej enakomerno razporejeni po genomu, manj jih je le v kodogenih regijah in telomerah. Najpogostejši osnovni motiv mikrosatelitov je dolg dva, tri oz. štiri bazne pare. Za mikrosatelite je značilna visoka različnost v številu ponovitev osnovnega motiva oz. velik dolžinski polimorfizem, ki je posledica pogostih mutacij (10^{-3} do 10^{-5} mutacij na lokus na generacijo) značilnih za mikrosatelitno DNA (povzeto po Messier in sod., 1996).

Obstajata dva modela, ki pojasnujeta nastanek mikrosatelitov. Replikacijski zdrs predvideva, da do napake pride, ko se nastajajoča veriga DNA loči od matične verige. Ker obstaja le en način, kako lahko nastajajoča veriga zopet veže z matično, ta dogodek ne povzroča težav pri zaporedjih brez ponovitve. Pri ponavljajočih se zaporedjih pa lahko nastajajoča veriga nepravilno veže z matično, kar povzroči nastanek daljše ali

krajše verige. Model genske konverzije pa predvideva napake pri poravnavi zaporedij med rekombinacijo pri ponavljajočih se odsekih, zaradi česar na eni verigi nastane delecija in na drugi insercija (povzeto po Bennett, 2000).

Osnovna mutacijska modela, ki opisujeta evolucijo mikrosatelitov, sta model neskončno alelov (angl. *Infinite alleles model*, IAM) in model postopnega mutiranja (angl. *Stepwise mutation model*, SMM). Model IAM predvideva, da vsaka mutacija povzroči nastanek novega alela v populaciji. Model ne upošteva povratnih mutacij ter homoplazije. Nasprotno pa drugi model za enako verjetno šteje podaljšanja ali skrajšanje mikrosatelita. Razširjen SMM model dopušča spremembo za več osnovnih enot. Vsekakor pa so mutacije mikrosatelitov preveč kompleksen proces, da bi jih razložili s katerim od teh dveh modelov, saj nobeden izmed njiju ne upošteva lokusno specifičnih mutacijskih procesov. V splošnem so mutacije mikrosatelitov večinoma v korist podaljševanja, pri čemer je rast počasnejša pri mikrosatelitih z daljšim osnovnim motivom. Stopnja mutacij je alelno specifična, zato nastajajo na različnih lokusih različni aleli (Goldstein in Schlötter, 1999).

Negativna lastnost mikrosatelitov v populacijskih študijah je možnost njihove konvergentne evolucije oz. pojava homoplazij. Če predpostavimo, da mutacije z enako verjetnostjo povzročijo tako zmanjšanje kot povečanje števila osnovnega motiva, pride do velike verjetnosti povratnih mutacij. To je ena od možnosti, ki pogojuje, da imajo določeni mikrosateliti enako število istih osnovnih enot, vendar niso istega porekla. Če ne upoštevamo možnosti homoplazij, lahko podcenimo pravo divergenco med preučevanima populacijama. Druga negativna lastnost uporabe mikrosatelitov so napake pri prepisovanju v verižni reakciji s polimerazo (PCR), ko med podvojevanjem nastajajo številni krajši produkti, ki se razlikujejo za dolžino osnovnega motiva. Problematične so tudi mutacije v robnem zaporedju, ki predstavljajo vezna mesta za začetne oligonukleotide, kamor se ti v verižni reakciji s polimerazo (PCR) zato ne morejo vezati, posledica pa je odsotnost produkta. Dobimo t.i. nični alel, vidimo le drug homologni produkt in preučevani osebek nepravilno prepoznamo kot homozigoten, ocena heterozigotnosti pa je glede na Hardy-Weinbergovo ravnotežje prenizka. Nični

aleli so pogosti, zato je treba upoštevati njihov vpliv v populacijski študiji (Goldstein in Schlötter, 1999).

Pozitivne lastnosti uporabe mikrosatelitov v populacijskih raziskavah so visoka stopnja genetske raznolikosti in heterozigotnosti, nevtralna evolucija, kodominantnost in enostavno mendelsko dedovanje. Ker so mikrosateliti visoko polimorfni, lahko med seboj ločujemo zelo sorodne populacije na ozkem geografskem območju (Goldstein in Schlötter, 1999).

2.4 POPULACIJSKO GENETSKE ŠTUDIJE TUJERODNIH ŠARENK

Pri domorodnih šarenkah so bile opravljene številne molekularne genetske analize, ki so temeljile na alocimih, mtDNA, mikrosatelitih, jedrnih sekvencah, sekvencah spolnih lokusov, SNP-jih (angl. single nucleotide polymorphism) in celo na genomskih asociacijskih študijah in sekvenciranju naslednje generacije (Bagley in Gall, 1998; Brunelli in sod., 2010; Finger in sod., 2009; Heath in sod., 2008; Hecht in sod., 2013, 2012; Johnson in sod., 2007; Nielsen, 1999; Simmons in sod., 2009). Večina študij je ugotovila nizko intraspecifično diferenciacijo, ki je posledica kompleksne in relativno mlade evolucijske zgodovine. Obalne in celinske linije so med izmenjavo glacialnih in interglacialnih pleistocenskih obdobij med kolonizacijami večkrat prišle v sekundaren stik, ki je vodil v introgresijo. Poleg tega pa so odnosi med linijami zabrisani tudi zaradi človeških translokacij. Kljub prepoznavnosti te vrste pa je bilo na tujerodnih populacijah zunaj ZDA narejenih malo populacijsko genetskih študij, še največ v Patagoniji. V čilskem delu Patagonije so na osnovi alocimov ocenili, da je genetska raznolikost naturaliziranih populacij precej visoka in podobna tistim pri domorodnih (Carcamo in sod., 2015; Gajardo in sod., 1998). Z mikrosateliti so ugotovili razlike med »starejšimi«, naturaliziranimi populacijami in sodobnimi ribogojniškimi linijami (Consuegra in sod., 2011). Pri analizi dela zaporedja MHC II- β pa so pri naturaliziranih populacijah ugotovili manjšo genetsko pestrost kot pri ribogojniških populacijah in pozitivno selekcijo za nekatere alelne variante (Monzón-Argüello in sod., 2013). V argentinskem delu Patagonije so z mikrosateliti ugotovili, da imajo naturalizirane anadromne in rezidentne populacije isti izvor (Pascual in Bentzen, 2001). Za te populacije so Riva Rossi in sod. (2004) na osnovi kontrolne regije mtDNA sklepali, da

izvirajo iz rezidentnih šarenk iz porečja reke McCloud, kar je verjetno napačen zaključek, saj so uporabljali le 188 bp dolga zaporedja, na osnovi katerih se ne da ločevati med *O. m. stonei* in ostalimi podvrstami.

Drugje po svetu populacijsko genetske raziskave šarenk večinoma temeljijo na ribogojniških populacijah in pobeglih osebkih. V Evropi so Gross in sod. (2007) z mikrosateliti analizirali ribogojniške šarenke iz srednje in vzhodne Evrope in ugotovili, da je opažena heterozigotnost in povprečno število alelov na lokus podobno kot pri Shasta ribogojniški liniji iz Kalifornije. Martsikalis in sod. (2014) so z PCR-RFLP analizo mtDNA ugotovili prisotnost dveh skupin haplotipov pri šarenkah v grških ribogojnicah, medtem ko je Glover (2008) na primeru pobeglih osebkov v norveških fjordih pokazal, da mikrosatelite lahko uporabljamo tudi pri iskanju ribogojnic, ki so odgovorne za pobege.

V Avstraliji so Ward in sod. (2003) z mikrosateliti ter Farrington in sod. (2004) z alocimi ugotovili skupen izvor ribogojniških in naturaliziranih populacij in na sploh nizko genetsko pestrost obeh. Na Kitajskem pa so Zhao in sod. (2008) primerjali šarenke iz kitajskih ribogojnic z ameriškimi in evropskimi ter ugotovili, da so plemenske jate, ki izvirajo iz prvih uvozov iz Koreje in iz kasnejših uvozov iz ZDA ter Japonske najbolj podobne ribogojniški liniji Donaldson.

3 MATERIAL IN METODE

3.1 RAZŠIRJENOST NATURALIZIRANIH POPULACIJ ŠARNEKE V EVROPI

Da bi ugotovili razširjenost naturaliziranih populacij šarenk v Evropi, smo opravili podroben pregled literature. Ker je o tej temi na razpolago zelo malo znanstvene literature v angleščini, smo se osredotočili na strokovna poročilih o ribištvu, načrte za izvajanje ribiškega opravljanja, poročila o tujerodnih vrstah, poročila projektov ipd. Podatke o naturaliziranih populacijah smo kritično presojali na podlagi njihovih virov in jih razdelili v štiri skupine: podatek smo preverili sami, podatek je bil objavljen v recenziranem znanstvenem prispevku po letu 1990; podatek je bil objavljen v recenziranem znanstvenem prispevku pred letom 1990; podatek je bil objavljen v nerecenziranem t. j. strokovnem oz. tehničnem prispevku; podatek je bil povzet po zanesljivem osebni viru. Zanesljivost vsakega podatka smo ocenili tudi z vidika stopnje naturaliziranosti: populacija je naturalizirana, ni podpornega vlaganja; populacija je potencialno naturalizirana, saj je razmnoževanje v naravi prisotno, a zaradi podpornega vlaganja ne moremo vedeti, ali bi populacija preživela tudi brez vlaganja; populacija se le občasno razmnožuje v naravi (podporno vlaganje je prisotno); status populacije ni znan.

3.2 OPIS VZORČNIH MEST IN PREUČEVANIH VZORCEV

Populacijsko genetsko analizo šarenk smo opravili na petih skupinah vzorcev (Priloga A in B):

- (i) Pristne naturalizirane populacije. To so populacije, ki se brez podpornega vlaganja redno razmnožujejo v naravi. Vzorci teh populacij so bili iz Slovenije, Francije, Italije, Avstrije, Švice in z Norveške.
- (ii) Populacije s podpornim vlaganjem. To so populacije, kjer so kljub rednemu oz. pogostemu razmnoževanju v naravi prisotni tudi novi vnosi. Vzorci teh populacij so bili iz Slovenije, Švice in s Hrvaške.

(iii) Šarenke iz evropskih ribogojnic so vključevale vzorce iz Slovenije, Bosne in Hercegovine ter z Norveške

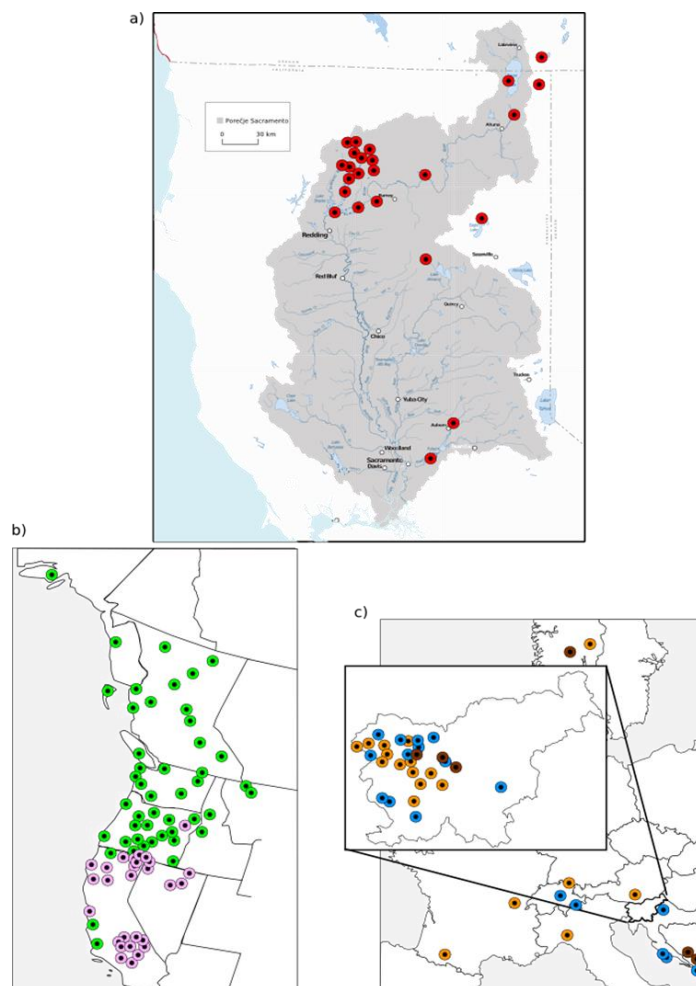
(iv) Šarenke iz kalifornijskih ribogojnic so vključevale štiri najpogostejše komercialne linije, ki se uporabljajo v Kaliforniji (Coleman, Pit, Mount Shasta, Mount Whitney).

(v) Za domorodne populacije šarenk iz celinskih voda Kalifornije smo uporabili genetske podatke iz dveh obsežnih študij filogeografije in populacijske genetike domorodnih šarenk (Bagley in Gall, 1998, Brunelli in sod., 2010). V analizo smo vključili tudi neobjavljene genetske podatke domorodnih populacij šarenk iz Kalifornije in robnega območja Oregona. Te podatke so nam posredovali dr. Molly R. Simmons (sekvence mtDNA) in prof. Bernie May ter dr. Rachel E. Stephans (mikrosatelitni podatki) z Univerze Davis v Kaliforniji, Oddelek za zootehniko (University of California, Davis, Department of Animal Science).

Na osnovi sekvenčnih zaporedij smo analizirali 240 šarenk s 46-ih vzorčnih mest, od katerih so bile na 18-ih pristne naturalizirane populacije, na 18-ih populacije s podpornim vlaganjem, šest populacij je bilo iz Evropskih ribogojnic in štiri iz kalifornijskih ribogojnic. K zgornjim vzorcem pa smo dodali še 81 vzorcev iz 15-ih domorodnih populacij in iz treh kalifornijskih ribogojnic, ki smo jih analizirali le po odseku spolnega kromosoma OmyY1 (Priloga A, Slika 3). V analize pa smo vključili še sekvence mtDNA in odseka OmyY1 838-ih osebkov iz že objavljenih raziskav (Bagley in Gall, 1998; Brunelli in sod., 2010).

Analizo mikrosatelitov smo izvedli na 1047-ih vzorcih z 42-ih vzorčnih mest, od katerih so bile na 15-ih pristne naturalizirane populacije iz Evrope, v 15-ih populacije s podpornim vlaganjem iz Evrope, dve z otoka Reunion, šest populacij je bilo iz evropskih ribogojnic in štiri iz kalifornijskih ribogojnic. K tem vzorcem smo dodali še niz podatkov z mikrosatelitnimi genotipi 754-ih vzorcev iz 23-ih vzorčnih mest domorodnih populacij šarenk iz Kalifornije in robnega območja Oregona, s posebnim poudarkom na porečju reke Sacramento. Ker so bili ti podatki še surovi in neobdelani, smo alelne dolžine uskladili tako, da smo v obeh laboratorijih na vseh mikrosatelitnih lokusih, ki smo jih uporabili, genotipizirali po 30 enakih vzorcev iz različnih vzorčnih

mest iz Evrope, in na osnovi primerjave alelnih dolžin standardizirali mikrosatelitno genotipizacijo.



Slika 3: Zemljevidi z označenimi mesti vzorčenja, podroben opis je v Prilogi A in B: (a) domorodne populacije iz Kalifornije (neobjavljene sekvence lokusa *OmyY1* ter neobjavljeni mikrosatelitni genotipi); (b) domorodne populacije iz ZDA in Kanade - z vijolično so označena vzorčna mesta iz Bagley in Gall (1998) z zeleno pa vzorčna mesta iz Brunelli in sod. (2010); (c) evropske populacije šarenke – z oranžno so označene naturalizirane populacije, z modro populacije s podpornim vlaganjem in z rjavo ribogojniške populacije.

Figure 3: Map of sampling sites, detailed description of all sites can be found in Appendix A and B: (a) Californian native populations (unpublished *OmyY1* sequences and unpublished microsatellite genotypes); (b) native populations from USA and Canada – purple sampling sites are from Bagley and Gall (1998) and green from Brunelli et al. (2010); (c) European rainbow trout populations – orange sampling sites are genuine naturalised populations, blue are populations with supportive stocking and brown are hatchery rainbow trout.

3.3 POMNOŽEVANJE V VERIŽNI REAKCIJI S POLIMERAZO (PCR), DOLOČANJE NUKLEOTIDNEGA ZAPOREDJA IN GENOTIPIZACIJA MIKROSATELITNIH LOKUSOV

3.3.1 Sekvenčna zaporedja

V verižni reakciji s polimerazo (PCR) smo z začetnima oligonukleotidoma 5'-CCA CTC TTT ACG CCG GTA G-3' (Brunelli in sod. 2010) in 28RIBa (Snoj in sod., 2010) pomnoževali kontrolno regijo (CR) mtDNA in krajša odseka njenih robnih sekvenc. Pomnoženi fragmenti so bili po odstranitvi slabše čitljivih začetnih delov in po poravnavi dolgi 1259 bp in so se raztezali med mestoma L15635 in L235. Tak pomnožen odsek je poleg CR (1003 bp) vseboval še celoten zapis tRNAPhe (68 bp) in delna zapisa za tRNAPro (22 bp) in za 12S rRNA (167 bp). Pogoji reakcije so bili:

- začetna denaturacija	95 °C	3 min	
- denaturacija	94 °C	50 s	
- vezanje začetnih oligonukleotidov	60 °C	50 s	32 ciklov
- podaljševanje	72 °C	65 s	
- končno podaljševanje	72 °C	3 min.	

Pri nekaterih slabše ohranjenih vzorcih, kjer je bil čitljiv obseg v smeri 5'-3' podpovprečno kratek, ker je signal ugasnil po približno 480 bp, smo si pomagali še z dodatno PCR amplifikacijo, ki je vključevala začenta oligonukleotida CytR (Bernatchez in Danzmann, 1993) in 28RIBa. Tako smo pomnožili še krajši odsek CR med mestoma L15635 in L27 ter ga dodali k obstoječemu delnemu zaporedju. Pogoji reakcije so bili:

- začetna denaturacija	95 °C	3 min	
------------------------	-------	-------	--

- denaturacija	94 °C	45 s	
- vezanje začetnih oligonukleotidov	55 °C	45 s	32 ciklov
- podaljševanje	72 °C	60 s	
- končno podaljševanje	72 °C	3 min.	

Pri samcih smo poleg odseka CR z začetnima oligonukleotidoma OMY1 SNP (5'-GAC GTT GTG GCA ATA GAT C-3' in 3'-CGA TTA GAA AGG CCT GCT TG-5', Brunelli in sod., 2008) pomnoževali še odsek OmyY1 (1058 bp) spolnega Y kromosoma. Samce smo določili, tako da smo najprej odsek OmyY1 poizkusili pomnožiti na vseh vzorcih v 5 µl. Vzorci, pri katerih smo ta odsek uspešno pomnožili so bili zagotovo vzorci samcev. Če smo le lahko smo oba odseka (CR in OmyY1) pomnožili pri istih osebkih. Pogoji reakcije so bili:

- začetna denaturacija	95 °C	3 min	
- denaturacija	94 °C	50 s	
- vezanje začetnih oligonukleotidov	63,5 °C	50 s	30 ciklov
- podaljševanje	72 °C	60 s	
- končno podaljševanje	72 °C	3 min.	

Oba odseka smo pomnoževali v 25 mikrolitrskih reakcijah, ki so vsebovale:

- večinoma 20-200 ng vzorčne DNA,
- 1 µM vsakega začetnega oligonukleotida,
- 0.2 mM vsakega nukleotida (dNTP),
- 1.5 mM MgCl₂,
- 1 x PCR pufra,
- 1 U polimeraze Taq (Thermo Scientific).

Petmikrolitrške reakcije pa so vsebovale:

- večinoma 10-50 ng vzorčne DNA,
- 0,2 μ M vsakega začetnega oligonukleotida,
- 0,04 mM vsakega nukleotida (dNTP),
- 0,3 mM MgCl₂,
- 1 x PCR pufra,
- 0,2 U polimeraze Taq (Thermo Scientific).

V primerih, ko pri omenjenih pogojih nismo mogli pomnožiti izbranega odseka tudi po več ponovitvah, smo uporabili visoko učinkovito polimerazo KOD Hot Start (Novagen). V tem primeru smo pri pomnoževanju mtDNA s začetnima oligonukleotidoma 5'-CCA CTC TTT ACG CCG GTA G-3' in 28RIBa uporabili naslednje pogoje:

- začetna denaturacija	95 °C	3 min	
- denaturacija	95 °C	10 s	
- vezanje začetnih oligonukleotidov	60 °C	10 s	40 ciklov
- podaljševanje	72 °C	15 s	
- končno podaljševanje	72 °C	7 min.	

Pri PCR-pomnoževanju odseka OmyY1 s polimerazo KOD Hot Start pa smo uporabili naslednje pogoje:

- začetna denaturacija	95 °C	3 min	
- denaturacija	95 °C	10 s	
- vezanje začetnih oligonukleotidov	60 °C	7 s	35 ciklov
- podaljševanje	72 °C	7 s	

- končno podaljševanje 72 °C 7 min.

Tudi tu sta bila oba odseka pomnožena v 25 mikrolitrskih reakcijah:

- večinoma 20-200 ng vzorčne DNA,
- 0.15 µM vsakega začetnega oligonukleotida,
- 0.2 mM vsakega nukleotida (dNTP),
- 1.5 mM MgSO₄,
- 1 x PCR pufra,
- 0.5 U KOD polimeraze Hot Start (Novagen).

Petmikrolitrške reakcije pa so vsebovale:

- večinoma 10-50 ng vzorčne DNA,
- 0,3 µM vsakega začetnega oligonukleotida,
- 0,04 mM vsakega nukleotida (dNTP),
- 0,3 mM MgCl₂,
- 1 x PCR pufra,
- 0,1 U polimeraze Taq (Novagen).

Vse reakcije so bile izvedene v namiznem mikroprocesorsko vodenem termostatu GeneAmp® PCRSystem2720 (AB Applied Biosystems).

Čiščenje produktov PCR je bilo opravljeno bodisi v podjetju Macrogen (<http://www.macrogen.com/eng/>)(Nizozemska), bodisi z encimom ExoSap, tako da je bil na 10 µl produkta dodan 1 µl mešanice encima in PCR pufra (1:1). Inkubacija je potekala 45 minut pri 37 °C, deaktivacija pa 15 minut pri 80 °C. Določanje nukleotidnih zaporedij je bilo prav tako opravljeno v podjetju Macrogen, pri čemer je pri CR sekvenciranje potekalo v obeh smereh (5'-CCA CTC TTT ACG CCG GTA G-3' in 28RIBa ali CytR in 28RIBa), pri odseku OmyY1 pa le v eno smer (3'-CGA TTA GAA AGG CCT GCT TG-5').

Tako pridobljene sekvence smo popravili in sestavili s programom Sequencher 4.8 (Gene Codes Corporation, Michigan, USA) ali pa s programom ChromasPro verzija 1.33 (Technelysium, South Brisbane, Australia) in jim odstranili zaporedja začetnih oligonukleotidov.

3.3.2 Mikrosatelitni lokusi

Pomnoževanje izbranih mikrosatelitnih lokusov smo izvedli s fluorescentno označenimi začetnimi oligonukleotidi (Preglednica 3). Lokuse smo pomnoževali v štirih reakcijah: lokus omm1050, omm5186 in omm1172 (multipleks 7); lokus omm1077, omm1089 in omm1086 (multipleks 8); lokus omm1070, omm1279 in omm1108 (multipleks 9); in lokus omm1130, 1083 in 1046 (multipleks 10). Za izhodiščne pogoje reakcije smo uporabili pogoje iz Simmons (2011), ki pa smo jih dodatno optimizirali za vsak multipleks. Mikrosatelitne lokuse smo pomnoževali po posebnem »touchdown« protokolu, ki omogoča uspešno pomnoževanje v primeru, da so temperature vezanja začetnih oligonukleotidov precej različne. Ta protokol vključuje postopno zniževanje temperature vezanja začetnih oligonukleotidov vsakih nekaj ciklov pomnoževanja, s čimer se izognemo pomnoževanju nespecifičnih nukleotidnih zaporedji. Za vse PCR reakcije smo uporabili polimerazo KAPA 2G Fast (Kapa Biosystems) in naslednji protokol:

- začetna denaturacija	95 °C	3 min	
- denaturacija	95 °C	10 s	
- vezanje začetnih oligonukleotidov	68-60 °C*	20 s	5 ciklov
- podaljševanje	72 C	1 s	
- denaturacija	95 °C	10 s	
- vezanje začetnih oligonukleotidov	58-50 °C*	20 s	5 ciklov
- podaljševanje	72 °C	1 s	

- denaturacija	95 °C	10 s	
- vezanje začetnih oligonukleotidov	50-42 °C*	20 s	5 ciklov
- podaljševanje	72 °C	1 s	
- denaturacija	95 °C	10 s	
- vezanje začetnih oligonukleotidov	50 °C	20 s	30 ciklov
- podaljševanje	72 °C	1 s	
- končno podaljševanje	72 °C	7 min.	

* V vsakem ciklu smo temperaturo znižali za 2°C.

Vse multiplekse smo pomnoževali v 10 mikrolitrskih reakcijah, ki so vsebovale:

- večinoma 20-200 ng vzorčne DNA,
- 0,228 µM vsakega od treh parov začetnih oligonukleotidov,
- 0.2 mM vsakega nukleotida (dNTP),
- 1 x PCR pufra z že dodanim MgCl₂,
- 0,2 1 U polimeraze KAPA2G Fast DNA (Kapa Biosystems).

V primerih, ko smo želeli pomnožiti le enega od lokusov iz posameznega multipleksa, smo uporabili enake pogoje za PCR reakcijo, le volumen preostalih parov začetnih oligonukleotidov smo nadomestili z vodo.

Preglednica 3: Uporabljeni začetni oligonukleotidi pri pomnoževanju mikrosatelitov (ime, razpon velikosti, osnovni motiv, nukleotidno zaporedje začetnega oligonukleotida, barvna značka ter GenBank pristopna številka z referenco objave, če obstaja).

Table 3: Primers used for neutral microsatellite markers analysis (name, size range, core motif, primer sequence, fluorescent dye, and GenBank accession number with the publication reference if exists).

Multipleks	Ime	Nukleotidno zaporedje začetnega oligonukleotida	Barvna značka	Reference
Multipleks 7	omm1050	F: TGTCTGGGATGGCACTATCTTC R: AGCTGTAACATTTTCAGGGATCATC	5-FAM	AF346694 1
	omm5186	F: TGACCACAGCAGACATATAGCCAG R: GCTTGTGTTGGGTTTGATATAGGG	JOE	BV212286 2
	omm1172	F: CACTCACCACCAACTACTAACCA R: GAGAGAGGGAAGCAGATACATACA	NED	AF469960
Multipleks 8	omm1077	F: GGCTGACCAGAGAAAGACTAGTTC R: TGTTACGGTGTCTGACATGC	5-FAM	AF352748 3
	omm1089	F: GCAGCTCCTGTTTTCTATGTG R: CTGAGATGCAGTGCCTTAGAC	JOE	AF352758 3
	omm1086	F: GTATGCTTCACAATTGCACTG R: CCTGTTCACTCAAACCTCAC	NED	AF352755 3
Multipleks 9	omm1070	F: GACAGGTTGTGTGCGAATGGA R: GGTGGGATTCAGTGTGTTAAAC	5-FAM	AF375019 4
	omm1279	F: GCGTGCCTGTTTGTTCATAF: GATG R: CTGCCTGCAGAGAGCTGAGTAGTT	JOE	AF470043
	omm1108	F: CACAGGTGAGAACATGCCGCTAAT R: AGAGCGGGAGCAAATGTGACAGATAG A	NED	AF352769 3
Multipleks 10	omm1130	F: GAGAGATCGAGGAAGAAGATAACA R: GCTGCTTCTCTTTTTAGCCAC	5-FAM	AF375031 4
	omm1083	F: GCCCTGACCAACCTAACACA R: TGTCTGACATTCGGTTAGTAGTGG	JOE	AF352751 3
	omm1046	F: CAGGCACTATAATGGCAC R: GCCCAGGATTACAAGA	NED	AF346693 1

¹ (Rexroad in sod., 2002a)

² (Coulibaly in sod., 2005)

³ (Rexroad in sod., 2002b)

⁴ (Rexroad in sod., 2001)

Fluorescentno označeno pomnoženo DNA (1.5 µl – 2 µl) smo zmešali s formamidom (9,86 µl) in dolžinskim standardom GENESCAN-ROX 500 (Applied Biosystems) (0,14 µl) in jo genotipizirali na avtomatskem kapilarnem določevalniku nukleotidnih zaporedji (sekvenatorju) ABI-3130 xl GeneMapper Software 3.7 (Applied Biosystems).

Mikrosatelitne genotipe smo obdelali s programom GeneMapper 4.0 (Applied Biosystems), v katerem označimo razpon velikosti za določen alel mikrosatelita (npr. od 177 do 178 bp), saj je dolžina enega in istega alela mikrosatelita pogosto različna za nekaj desetink (npr. 171.6, 171.8, 172.0). Ker pa je pri avtomatskem odčitavanju mikrosatelitov lahko dolžina napačno poenostavljena (npr. 171 in 172, čeprav je osnovni motiv dolg 2 bp), smo podatke pregledali še ročno, nato pa izvozili dejanske, torej decimalne vrednosti dolžin mikrosatelitov ter jih poenotili s programom TANDEM 1.07 (Matschiner in Salzburger, 2009). Program določi dolžino osnovnega motiva ter decimalne vrednosti pravilno poenoti tako, da je vsaka naslednja dolžina večja za dolžino osnovnega motiva. Nedvoumna odstopanje od osnovnih motivov, na primer nedvoumne enonukleotidne prekinitve in zamike motiva pa smo popravili ročno.

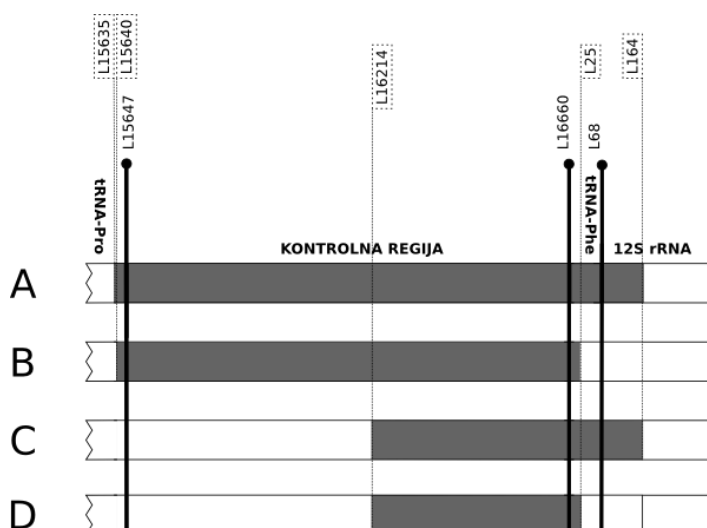
3.4 ANALIZA POPULACIJSKE STRUKTURE TUJERODNIH ŠARENK

3.4.1 Sekvenčna zaporedja

Za primerjavo tujerodnih populacij z domorodnimi smo v študijo vključili še podatke iz dveh obsežnih populacijsko genetskih študij šarenke (Bagley in Gall, 1998; Brunelli in sod. 2010). Na podlagi raziskave populacijsko genetske strukture domorodnih populacij šarenk iz Kalifornije, Nevade in Idaha (Bagley in Gall, 1998) smo rekonstruirali 1055 bp dolgo poravnano sekvenc CR iz 520 osebkov iz 30-ih populacij – poravnane sekvence so pripadale 37-im haplotipom. Poravnava, ki smo jo rekonstruirali na osnovi filogeografske raziskave domorodnih šarenk iz Pacifiškega povodja ZDA (Aljaska, Idaho, Kalifornija, Montana, Oregon in Washington) in Kanade (British Columbia) (Brunelli in sod., 2010), pa je vključevala sekvence CR in OmyY1 lokusa spolnega kromosoma 318-ih samcev iz 56-ih populacij. 610 bp dolge poravnane sekvence CR so pripadale 38-im haplotipom, medtem ko so 969 bp dolge sekvence OmyY1 lokusa

pripadale 13-im haplotipom. Sekvence so bile poravnane z našimi v programu MAFFT v. 7 (Kato in Standley, 2013) in ročno pregledane s programom AliView v. 1.12 (Larsson, 2014).

Ker so se naše sekvence CR s sekvencami iz Bagley in Gall (1998) ter s sekvencami iz Brunelli in sod. (2010) le delno prekrivale (Slika 4), smo analize izvedli v štirih ločenih paralelah: samo na naših sekvencah (poravnava A), na poravnavi naših sekvenc s tistimi iz Bagley in Gall (1998) (poravnava B), na poravnavi naših sekvenc s tistimi iz Brunelli in sod. (2010) (poravnava C) in na poravnavi, ki vključuje vse sekvence (poravnava D).



Slika 4: Shema poravnave sekvenc kontrolne regije. Sekvence smo analizirali v štirih paralelah: le na naših sekvencah (poravnava A, 1189 bp); na poravnavi naših sekvenc in sekvenc iz Bagley in Gall (1998) (poravnava B, 1055 bp); na poravnavi naših sekvenc in sekvenc iz Brunelli in sod. (2010) (poravnava C, 610 bp); ter na poravnavi naših sekvenc, sekvenc iz Bagley in Gall (1998) in sekvenc iz Brunelli in sod. (2010) (poravnava D, 468 bp).

Figure 4: Dataset sequence composition for CR analyses in this study, which were conducted in four parallels: only on our sequences (Dataset A, 1189 bp), on our sequences trimmed and aligned with sequences from Bagley and Gall (1998) (Dataset B, 1055 bp), on our sequences trimmed and aligned with sequences from Brunelli et al. (2010) (Dataset C, 610 bp), and on all sequences aligned and trimmed accordingly (Dataset D, 468 bp).

3.4.1.1 Genetska pestrost tujerodnih in domorodnih populacij šarenke

Oceno genetske pestrosti smo podali s pomočjo osnovnih kazalcev genetske pestrosti (haplotipska (H) in nukleotidna pestrost (π) ter fiksacijski indeks (F_{ST})) in tudi s krivuljo kopičenja haplotipov.

Haplotipsko in nukleotidno pestrost smo izračunali s programom DnaSP v. 5.10.1 (Librado in Rozas, 2009). V istem programu smo na podlagi koalescenčnih simulacij izračunali razmerje med obema pestrostma (H in π) pod pogoji genskega ravnovesja. Ker za oceno tega razmerja program zahteva efektivno velikost populacije (θ), smo to ocenili na podlagi domorodnih populacij šarenk (Bagley in Gall, 1998). Simulacijo smo izvedli v programu MIGRATE-n v. 3.6.5 (Beerli, 2006) z uporabo Bayesove statistike in s privzetimi nastavitvami, kot to predlagajo Simon in sod. (2011).

V programu DnaSP v. 5.10.1 smo izračunali tudi F_{ST} , ki poda stopnjo diferenciranosti populacij. V programskem orodju R v. 3.0.2 (R Core Team, 2013) smo z Mann-Whitneyevim testom primerjali povprečno diferenciacijo med domorodnimi populacijam s povprečno diferenciacijo med tujerodnimi populacijami.

Genetsko pestrost tujerodnih in domorodnih populacij smo primerjali še s postopkom rarefakcije oz. s krivuljo kopičenja haplotipov v programu EstimatesS 9.1.0 (Colwell in sod., 2012). S tem pristopom smo primerjali tujerodne populacije z različnimi evolucijskimi linijami domorodnih šarenk ne glede na velikost vzorca. Ker krivulja predstavlja naraščanje števila haplotipov kot funkcijo mere truda, vloženega v njihovo iskanje, lahko s tem pristopom preverimo še, kako dobro so povzorčene posamezne preučevane skupine (Colwell in Coddington, 1994; Colwell in sod., 2004). Pri izračunih smo uporabili 100 naključnih izbir in izračun krivulje Mao Tau (Colwell in sod., 2012). Krivulje kopičenja haplotipov s 95 % intervalom zaupanja smo najprej izračunali za vse tujerodne populacije skupaj in za vse domorodne populacije skupaj, potem pa še za različne evolucijske linije domorodnih šarenk posebej (šarenke iz severnega dela endoreičnega območja Great Basin, šarenke iz porečja reke Columbia, šarenke iz porečja reke McCloud, šarenke iz porečja reke Sacramento, anadromne šarenke iz osrednje Kalifornije), za evropske in ameriške ribogojniške šarenke posebej in za obe

kategoriji evropskih šarenk (pristine naturalizirane šarenke in populacije s podpornim vlaganjem). Posamezne skupine oz. kategorije smo interpolirali na najmanjše število osebkov v vzorcu. Število haplotipov v populacij smo ocenili z neparametrično cenilko ICE (angl. incidence based coverage estimator), pri kateri število haplotipov ocenimo na podlagi prisotnosti (incidence) haplotipov in ne na podlagi številčnosti (abundance) haplotipa v vzorcu. Za oceno pestrosti smo uporabili še Simpsonov indeks pestrosti, ki ocenjuje verjetnost, da dve naključni enoti pripadata istemu haplotipu. Statistična značilnost razlik je bila preverjena z neprekrivanjem 95 % intervala zaupanja krivulj kopičenja in z neparametričnim Mann-Whitneyevim U testom v programskem orodju R v. 3.0.2 (R Core Team, 2013).

Demografska zgodovina oz. genske posledice različne geografske ekspanzije med domorodnimi in tujerodnimi šarenkami so bile testirane s testom nenadne ekspanzije (angl. mismatch analysis; Li, 1977), za kar smo uporabili poravnavo D (468 bp). Dobljeno distribucijo paroma primerjanih distanc smo v programu Arlequin v. 3.5 (Excoffier in Lischer, 2010) primerjali z modelom populacijske ekspanzije s pomočjo generaliziranega nelinearnega postopka najmanjšega kvadrata (Schneider in Excoffier, 1999). Statistična signifikantnost ustreznosti modela je bila ocenjena z vsoto kvadriranih odklonov in s Harpendingovim indeksom (angl. raggedness index; 10,000 ponovitev).

3.4.1.2 Mrežna analiza haplotipov

Mrežo haplotipov smo izračunali v programu Arlequin s strategijo najmanjše vpete mreže (angl. minimum spanning network, MSN) in jo izrisali v programu Gephi 0.8.2-beta (Bastian in sod., 2009). Za izračun mreže nismo uporabili vrzeli, ampak samo nukleotidne zamenjave.

Čeprav se mrežna analiza haplotipov ponavadi uporablja za prikaz genealogije haplotipov, smo jo mi uporabili za vpogled v genetsko strukturiranost znotra tujerodnih in domorodnih šarenk. Iz poravnave D (468 bp) nukleotidnih zaporedji domorodnih populacij smo izračunali in izrisali MSN mrežo haplotipov, nato pa primerjali frekvence haplotipov pri domorodnih populacijah s frekvencami pri tujerodnih populacijah. Ker

smo v analizo vključili podatke iz treh neodvisnih raziskav (Bagle in Gall, 1998; Brunelli in sod., 2010; lastni podatki) z različno velikimi vzorci, smo namesto absolutnih frekvenc haplotipov primerjali relativne frekvence.

3.4.1.3 Analiza molekularne variance

Stopnjo raznolikosti med domorodnimi in tujerodnimi populacijami smo določili z analizo molekularne variance (angl. analysis of molecular variance, AMOVA), ki smo jo izračunali v programu Arlequin v. 3.5 (Excoffier in Lischer, 2010). AMOVA smo izračunali za štiri načine združevanja: (i) med evlucijskimi linijami; (ii) med vsemi domorodnimi populacijami znotraj vsake linije; (iii) med različnimi kategorijami tujerodnih populacij (pristne naturalizirane šarenke, populacije s podpornim vlaganjem, in ameriške ter evropske ribogojniške populacije); (iv) in med vsemi tujerodnimi populacijami.

Iz tega, kako je varianca razporejena med skupinami, lahko sklepamo na izvor tujerodnih šarenk, če jih primerjamo z različnimi evlucijskimi linijami in njihovimi kombinacijami. Tako bi združevanje tujerodnih šarenk z njihovimi izvornimi domorodnimi populacijami pojasnilo večji delež variance kot pa združevanje tujerodnih šarenk z njim manj sorodnimi populacijami. Drugače povedano: če bi pravilno določili, katere so izvirne domorodne populacije, bi morala biti varianca med njimi in tujerodnimi populacijami majhna ali celo zanemarljiva (May in sod., 2006).

Pri vseh primerih smo analizo molekularne variance določili na osnovi paroma primerjanih genetskih razdalj, statistično značilnost analiz pa smo testirali z 10.000 permutacijami originalnega niza podatkov. P-vrednost smo modificirali z Bonferronijevo korekcijo (Cabin in Mitchell, 2000; Rice, 1989).

3.4.2 Mikrosateliti

3.4.2.1 Uspešnost genotipizacije

V statistično analizo smo vključili le osebk, kjer je bila uspešnost genotipizacije višja od 70 % mikrosatelitnih lokusov. Vzorcev, pri katerih nismo uspeli pomnožiti in

prebrati več od treh lokusov tudi po treh ponovitvah, nismo analizirali. V prvi ponovitvi smo pomnožili celoten multipleks, v drugi pa le izbran lokus. Genotipe osebkov smo testirali s programom Micro-Checker (Van Oosterhout in sod., 2004), da bi odkrili nične alele, zdrse polimeraze (angl. stuttering) in izpad alelov.

V programu Genepop v. 4. 2. (Raymond in Rousset, 1995; Rousset, 2008) smo z uporabo vezavnega neravnovesja (angl. linkage disequilibrium, LD; Slatkin in Excoffier, 1996; Slatkin, 1994) preverili neodvisnost izbranih mikrosatelitnih lokusov. Dobljene vrednosti za odstopanja od LD (vrednosti α) so bile korigirane s pomočjo Bonferronijevega korekcijskega testa (angl. Bonferroni correction test; Rice, 1989; Cabin in Mitchell, 2000). Pri verjetnostnih testih je bila uporabljena markovska veriga (angl. Markov chain) (Guo in Thompson, 1992; Raymond in Rousset, 1995) z 10.000 dememorizacijskimi koraki, 100 serijami in 1.000 iteracijami na serijo. Domorodne in tujerodne populacije so bile neodvisno testirane za vezavno neravnovesje.

3.4.2.2 Populacijsko genetski parametri

Genetsko raznolikost, izraženo s (efektivnim) številom in frekvenco alelov in opaženo ter pričakovano heterozigotnostjo (H_E , H_O) ob upoštevanju Bonferronijeve korekcije, smo izračunali v programu GenAlEx 6.5 (Peakall in Smouse, 2012). V istem programu smo izračunali tudi povprečno število alelov na lokus (angl. allelic richness, A_R).

Informacijo o populacijski strukturi in paritvenem sistemu smo ugotavljali tudi s pomočjo individualnega fiksacijskega indeksa F_{IS} , populacijskega fiksacijskega indeksa (F_{IT}) in subpopulacijskega fiksacijskega indeksa (F_{ST}).

Za predstavitev odnosov med osebki smo v programu Populations 1.2.32 (Langella, 2002) izračunali populacijsko drevo na osnovi deljenih alelnih razdalj (angl. shared allele distances, DAS; Jin in Chakraborty, 1994) s sosedsko pridružitveno metodo. Podporo drevesu smo ugotavljali s samovzorčnejem s stotimi ponovitvami.

Genetsko raznolikost med vzorci smo grafično predstavili tudi z DAPC, ki smo jo izračunali s paketom adegent (Jombart in Ahmed, 2011) v programu R (Priloga C). Razvrščanje z zaporednimi k-povprečji (angl. k-means) smo izvedli z Bayesovim

informacijskim kriterijem (BIC). Na podlagi desetih zaporednih analiz smo ocenili ustrezno število skupin, ki smo ga uporabili pri analizi glavnih komponent. Število ohranjenih glavnih komponent smo določili z optimizacijo vrednosti α , medtem ko smo zadržali vse diskriminantne funkcije.

Razvrščanje v genetsko populacijske podskupine smo ugotavljali tudi na osnovi Bayesove statistike v programu STRUCTURE v. 2.3.4 (Falush in sod., 2003, 2007; Hubisz in sod., 2009; Pritchard in sod., 2000), kot so predlagali Porras-Hurtado in sod. (2013). Podatke smo obdelali v treh ločenih podatkovnih nizih: samo domorodne populacije, samo tujerodne populacije, vse populacije. Za analizo smo uporabili model mešanja (angl. admixture model), povezane alelne frekvence med populacijami (angl. correlated allele frequencies) in LOCPRIOR model (Hubisz in sod., 2009). MCMC veriga je tekla 500 000 generacij, po tem ko smo začetnih 100 000 generacij zavrgli. Število skupin (angl. cluster) K je bilo določeno med ena in osem. Za vsako vrednost K smo naredili pet ponovitev. Da smo preverili konvergenco MCMC verige, smo celotno analizo dvakrat ponovili. Najverjetnejše število skupin smo v programu Structure Harvester (Earl in Holdt, 2011) določili na osnovi $\text{LnP}(D)$ in ad hoc statistike ΔK (Evanno in sod., 2005). Ker ΔK statistika primerja razlike v varianci največjega verjetja pri dveh zaporednih modelih ($K = n$, $K = n+1$), vrednosti ΔK pri $K = 1$ ne moremo izračunati. V primeru da smo pri katerem od nizov podatkov na osnovi ΔK določili dve skupini ($K = 2$), smo preverili še obnašanje povprečnih vrednosti $\text{LnP}(D)$. Opazen padec rasti $\text{LnP}(D)$ šele po $K = 2$ je tako pomenil dodatno potrditev naše izbire. Z obliko krivulje $\text{LnP}(D)$ smo si pomagali tudi ob nizkih vrednostih ΔK , kjer dodeljevanje vzorčnih mest populacijam ni bilo konsistentno med ponovitvami, kar smo preverili grafično in v programu CLUMPP v 1.1.2 (Jakobsson in Rosenberg, 2007). Ta program poda parameter H' , ki je ocena podobnosti dodelitve vzorcev v skupine med posameznimi ponovitvami. Informativnost uporabe vzorčnih mest pri LOCPRIOR modelu smo ocenili s parametrom r .

Da bi ocenili podstrukture v odkritih skupinah, smo na nizu z vsemi populacijami opravili še hierarhično analizo (Vähä in sod., 2007), spomočjo katere izločamo najbolj diferencirano skupino. Pri tem pristopu je MCMC veriga ravno tako tekla 500 000

generacij, potem ko smo začetnih 100,000 generacij zavrgli, testirane vrednosti K pa smo izbrali glede na posamezen primer. Pri analizi podatkovnega niza z vsemi populacijami smo prvi korak ponovili še z USEPOPINFO modelom, ki je izpeljava LOCPRIOR modela. Medtem ko se pri LOCPRIOR modelu verjetnost uvrstitve vzorca v eno od skupin razlikuje med posameznimi vzorčnimi mesti, USEPOPINFO model omogoča uporabo izvora samo pri poljubnih populacijah (Murgia in sod., 2006). V naši analizi smo pri domorodnih populacijah upoštevali izvor, pri tujerodnih pa ne. Rezultate smo grafično predstavili s programskim orodjem R v. 3.0.2 (R Core Team, 2013).

4 REZULTATI

4.1 RAZŠIRJENOST NATURALIZIRANIH POPULACIJ ŠARENKE V EVROPI

Pregled literature je potrdil prisotnosti šarenke v šestnajstih državah, ki smo jih v grobem razdelili na tri velike geografske regije: Fenoskandinavija (Švedska, Norveška in Finska); srednja Evropa in Balkanski polotok (Nemčija, Avstrija, Švica, Lihtenštajn, Madžarska, Slovenija, Hrvaška in Bosna in Hercegovina); ter zahodna in južna Evropa (Združeno kraljestvo, Francija, Italija, Španija in Portugalska). Skupno smo našli 132 območji, kjer se šarenke v naravi redno ali občasno razmnožujejo oz. so se, od tega je 33 območji večjih (daljši odseki rek, pritoki velikih jezer ...) in 99 manjših z natančnimi koordinatami. Na vseh območjih najdemo 48 pristnih naturaliziranih populacij brez podpornega vlaganja, pri 37-ih populacijah je prisotno podporno vlaganje, pri 29-ih populacijah je razmnoževanje v naravi le občasno, medtem ko 18-im populacijam nismo mogli določiti statusa. Od vseh populacij smo jih 36 preverili sami, 12 pa smo jih povzeli po recenziranih znanstvenih prispevkih, natisnjenih po letu 1990, 75 smo jih povzeli po znanstveni literaturi, natisnjeni pred letom 1990 oz. po nerecenziranih strokovnih ali tehničnih prispevkih, poročilih projektov in drugi literaturi, medtem ko smo dve populaciji povzeli zgolj na podlagi osebne komunikacije (preglednica 4 in slika 5). Raziskavo »Razširjenost naturaliziranih populacij šarenke v Evropi« smo predstavili tudi v članku »Rainbow Trout in Europe: Introduction, Naturalization, and Impacts« (Stanković in sod., 2015).

Največ naturaliziranih populacij smo zabeležili v Sloveniji, kjer mnoge naseljujejo tudi nespremenjene ali malo spremenjene vode: zgornji tok Iške s pritokom Zalo, več manjših pritokov Soče (Brinta, Volarja, Godiča in Kozjak) in Idrijce (Kazarska grapa, Bukovska grapa, Orehovska grapa, Dabrček, Bela, Majnški potok, Kanomljica in Studenec ter Trebuščica s pritokom Hotenjo) ter Nadiža. Poleg Slovenije take vode najdemo tudi v Avstriji (nekateri potoki v Kalkalpen Nationalpark, reka Gail), Švici (nekateri pritoki alpskega dela Rena), na Hrvaškem (Ljuta, Jadro in Žrnovnica) in v Italiji (nekateri potoki v Nasrodnem parku Dolomiti Bellunesi in nekateri potoki v naravnem rezervatu Val Tovanella).

Preglednica 4: Naturalizirane populacije šarenk v Evropi z okvirnimi koordinatami (večja območja z naturaliziranimi populacijami nimajo koordinat) in podatki o prisotnosti drugih salmonidnih vrst. Populacije so razporejene v štiri tipe oz. kategorije: naturalizirane populacije brez podpornega vlaganja (Nat); potencialno naturalizirane populacije, ki se sicer redno razmnožujejo v naravi, a jih zaradi podpornega vlaganja ne moremo obravnavati kot pristne naturalizirane populacije (PV), populacije, ki se le občasno razmnožujejo v naravi (ObR) in populacije z neznanim statusom (?). Zanesljivost podatka oz. vira je ocenjena s tremi ocenami: populacijo smo preverili sami (a), populacija je bila opisana v recenzirani znanstveni literaturi po letu 1990 (b); populacija je bila opisana v starejši znanstveni literaturi (pred letom 1990) oz. je bila opisana v nerecenziranih strokovnih prispevkih, poročilih projektov oz. druge (c).

Table 4: Naturalised rainbow trout populations recorded in Europe. Coordinates give approximate locations and serve for orientation purposes; where observations were made over larger areas no coordinates are given. If data on the presence of other salmonids is available it is given. Populations are categorised into four types: genuinely self-sustaining population with no supportive stocking (Nat); populations, where spawning or wild-bred juveniles is observed regularly in nature, but their status cannot be resolved with certainty as supportive stocking is on-going (PV); populations, where only occasional natural reproduction has been recorded (ObR); and populations with unknown status (?). Reliability of the source is graded in the following way: the population was checked by one of the authors (a); the population was documented in the reviewed scientific literature published since 1990 (b); the population was documented in the older scientific literature, in technical reports or other, grey, literature (c).

Območje	Koordinate	Drugi salmonidi	Tip	Vir	Opombe
FENOSKANDINAVIJA					
<i>Švedska</i>					
Jezero Viggen s pritokom Dammbäcken v bližini kraja Hedemora, Dalarna	60.33° N 15.93° E	Ne	Nat	Svärdson in Nilsson, 1985 ^c	
Manjši potok med jezeroma Storsjouten in Tåsjön, Jämtland	64.55° N 15.06° E		ObR	Svärdson in Nilsson, 1985 ^c	Razmnoževanje je bilo nazadnje zabeleženo l. 1966.
Nekateri pritoki jezera Vättern, drugega največjega jezera na Švedskem			PV	Svärdson in Nilsson, 1985 ^c	Razmnoževanje je opaženo le pri posameznih osebkih.
Jezero Dromsetjärn, Västra Götaland	?		ObR	Curry-Lindahl, 1985 ^c	Populacija je bila opisana l. 1965.
Jezero Stortjärn, Västernorrland	63.77° N 17.99° E		ObR	Curry-Lindahl, 1985 ^c	Razmnoževanje je bilo nazadnje zabeleženo l. 1966.
<i>Norveška</i>					
Jezero Brennfjellvatnan blizu Skibotn, Storfjord-Tromsø	69.33° N 20.37° E		Nat	Gammelsæter in Dønnum, 1994; Hindar in sod., 1996 ^b	Populacija je bila nazadnje zabeležena l. 1995; območje obdelano z rotenonom.

se nadaljuje

nadaljevanje preglednice 4. Naturalizirane populacije šarenk v Evropi

Območje	Koordinate	Drugi salmonidi	Tip	Vir	Opombe
Visokogorsko jezero Potta in pripadajoči potok Flatbekken, Sør-Trøndelag	62.43° N 9.32° E	Ne	Nat	Gammelsæter in Dønnum, 1994; Hindar in sod., 1996 ^b	Šarenke so bile vložene v prvi polovici 60-ih let.
Jezero Setervatna in reka Sjølåa, Møre og Romsda	62.52° N 7.62° E	Da	Nat	Gammelsæter in Dønnum, 1994; Hindar in sod., 1996 ^b	Šarenke so bile zadnjič vložene l. 1974; razmnoževanje je bilo zadnjič potrjeno l. 1994.
Pritok jezera Skogseidvatn, Hordaland	60.22° N 5.87° E		ObR	Hindar et al., 1996 ^c	Leta 1995 je bilo zabeleženih 0+ osebkov; pobegov iz bližnje ribogojnice ne moremo izključiti.
Potok Kråkstadelva, pritok Reke Hobølelva, južno od Osla	59.66° N 10.89° E	Ne	Nat	Aaleurd et al., 2003 ^a	Populacija je bila zadnjič zabeležena l. 2013.
Umetno jezero v občini Nordre Land, Oppland	?		ObR	Hindar et al., 1996 ^c	
Jezero Skottvaatnet, Oppdala	61.83° N 9.48° E		ObR	Lund, 2007 ^c	Vlaganje v reki Gudbrandsdalslågen, iztoku jezera še vedno prisotno.
Reka Os južno od Bergna; približno 100m gorvodno od ustja	60.19° N 5.47° E	Da	Nat	Sægrov in sod., 1996 ^b	Leta 1994 je bilo zabeleženih 0+ osebkov, medtem ko so bile prejšnje leto tu ujete samice z ikrami; morfologija in analiza lusk ne kažeta ribogojniškega izvora.
Reka Ims, Rogaland	58.90° N 5.96° E	Da	PV	Jonsson in sod., 1993 ^b	Med raziskovanjem migracij in rasti vloženi šarenk so bile l. 1978 ujete tudi mladice; v bližini ulova so bile najdene tudi drstne jame.

Finska

Nekateri pritoki reke Vantaa v južni Finski		Da	ObR	Saura in sod., 2003 ^c ; Urho in Lehtonen, 2008 ^c	
---	--	----	-----	--	--

SREDNJA EVROPA IN BALKANSKI POLOTOK

Nemčije

Zgornji tok reke Weisse Elster, Sachsen			Nat	Füllner in sod., 1996 ^b	
---	--	--	-----	------------------------------------	--

se nadaljuje

nadaljevanje preglednice 4. Naturalizirane populacije šarenk v Evropi

Območje	Koordinate	Drugi salmonidi	Tip	Vir	Opombe
Potok Walluf blizu Martinthal, Hessen	50.08° N 8.11° E	Ne	Nat	Schwevers in Adam, 1990 ^b	Med letoma 1987 in 1990 so bile mladice redno ulovljene z elektroribolovom.
Weihe, pritok reke Suhl v porečju reke Weser blizu Wildeck, Hessen	50.98° N 9.98° E		ObR	Schwevers in sod., 2005 ^c	Gostota šarenk je ocenjena na približno 2000 osebkov na hektar, vključno z 0+ in 1+ osebki.
Glonn, Moosach, Wielebach in še nekaj drugih potokov na višjih nadmorskih višinah, Oberbayern			ObR	Leuner in sod., 2000; MacCrimmon, 1971 ^c	
Potok Große Lauter v Lauterach, Oberbayern	48.26° N 9.58° E		ObR	Laßleben, 1964 ^c	Populacija je bila vložena l. 1902 in je obstala približno 50 let.
Nekaj pritokov Bodensee-Obersee, Baden-Württemberg		Da	Nat	Dußling in Berg, 2001; Peter, 1997 ^b	Na območju Bodenskega jezera je vlaganje šarenk prepovedano od l. 1998; zaradi prekrivanja drstnih jam naj bi bile šarenke soodgovorne za upad populacij domorodnih potočnih postrvi.
<i>Avstrija</i>					
Enknach, Matig in Walder Ache, pritoki reke Inn blizu Braunau am Inn, Oberösterreich	48.26° N 13.04° E		PV	Hager, 1964 ^c	V 60-ih letih je bilo razmnoževanja šarenke redno opaženo.
Zgorni tok reke Traun, Oberösterreich	47.94° N 13.80° E		PV	Silligato in Gumpinger, 2005 ^c	Šarenke, vključno z 0+, predstavljajo 17 % vseh rib.
Reka Alm južno od Grünau im Almtal, Oberösterreich	47.84° N 13.95° E		PV	Silligato in Gumpinger, 2005 ^c	Šarenke, vključno z 0+, predstavljajo 15-39 % vseh rib.
Nekateri potoki v Kalkalpen Nationalpark, Oberösterreich	48.78° N 14.40° E	Da	Nat	Berg, 2005; Honsing-Erleburg, 2005 ^c	Med letoma 2000 in 2005 je tu potekal obsežen projekt izjavljanja šarenk.
Zgornji tok Mure		Da	PV	Wiesner in sod., 2010 ^c	

se nadaljuje

nadaljevanje preglednice 4. Naturalizirane populacije šarenk v Evropi

Območje	Koordinate	Drugi salmonidi	Tip	Vir	Opombe
Mura v okrožjih Murau, Judenburg in Knittelfeld, Steiermark		Da	PV	Foramitti., 2008 ^c	Šarenka je druga najpogostejša riba (13,5 %); mladice se pojavljajo v majhnih gostotah.
Mura s stranskimi pritoki med Triebendorf in Aibl, Steiermark		Da	PV	Foramitti., 2008 ^c	Mladice se pojavljajo v visokih gostotah.
Reka Möll, Kärnten		Da	Nat		
Poplavni gozd Hirschfeld ob Muri, Steiermark	47.17° N 14.43° E	Da	PV	Foramitti., 2008 ^c	Mladice se pojavljajo v visokih gostotah.
Poplavni gozd St Peterer ob Muri, Steiermark	47.19° N 14.59° E	Da	PV	Foramitti., 2008 ^c	Mladice se pojavljajo v visokih gostotah.
Mura blizu Thalheim, Steiermark		Da	PV	Foramitti., 2008 ^c	
Reka Enns med Selzthal in Gesäuse Nationalpark, Steiermark	47.59° N 14.51° E	Da	Nat	Foramitti., 2008 ^c	Šarenke so najpogostejša vrsta (49 %).
Zgornji tok reke Laftnitz	?	Da	?	Wolfram in Mikschi, 2007 ^b	
Zgornji tok Drave med Oberdrauburg in Sachsenburg, Kärnten	46.75° N 13.19° E	Da	Nat	Standhartinger, 2012 ^c	0+ ujeti z elektroribolovom.
Potok Kleine Erlauf, Niederösterreich	48.08° N 15.09°		PV	Jungwirth in sod., 1980	V 70-ih so bile 0+ šarenke redno ujete z elektroribolovom.
Zgornji tok reke Gail, Kärnten	46.70° N 12.79° E	Da	Nat	Honsing-Erlerburg, 2007 ^c	Po vlaganju v tirolski zgornji tok blizu izvira reke so se šarenke razširile dolvodno v Koroško, tu so se naturalizirale; posledično je razmerje med šarenkami in potočno postrvjo naraslo z 20 % : 80 % na 70 % : 30 % med letoma 1994 in 2004.
Lammer, pritok reke Salzach, Salzburg	47.66° N 13.17° E	Da		Hauer, 2007 ^c	
Reka Pielach, Niederösterreich			PV	Jungwirth in sod., 1980 ^c	V 70-ih so bile med elektroizlovi občasno ujete posamezne 0+ šarenke.

se nadaljuje

nadaljevanje preglednice 4. Naturalizirane populacije šarenk v Evropi

Območje	Koordinate	Drugi salmonidi	Tip	Vir	Opombe
<i>Švica</i>					
Akumulacija Lago di Livigno	46.63° N 10.20° E		PV	Feuerstein osebna komunikacija ^a	
Nekatera visokogorska jezera			PV	Feuerstein osebna komunikacija ^a	
Alpski del Rena vključno s pritoki Bodenskega jezera		Da	Nat	Peter, 1997; Wittenberg, 2005 ^c	Šarenka je najpogostejša riba; zaradi nevarnosti kompeticije s potočno postrvjo, ki je v upadu, je vlaganje na območje Bodenskega jezera prepovedano od l. 1995
<i>Lihtenštajn</i>					
Vse nižinske vode (porečje Rena)		Da	Nat	Kindle, 1983; 2006 ^c	Od 30-ih let je razmerje med šarenko in domorodno potočno postrvjo naraslo od 1:10 do 10:1; gostota šarenk je ostala visoka tudi po več kot destoletju prepovedi vlaganja v Lihtenštajnu in okoliških območjih.
<i>Madžarska</i>					
Török-patak, gorovje Börzsöny	47.90° N 18.97° E	Da	Nat	Harka in Sallai, 2004 ^b	Potočna postrv ni bila zabeležena v recentnih ihtioloških raziskavah.
Jósva patak, gorovje Aggtelek	48.48° N 20.60° E	Da	Nat	Horváth osebna komunikacija	
<i>Slovenija</i>					
Zgornji tok Iške s pritokom Zala, južno od Ljubljane	45.88° N 15.52° E	Da	Nat	Modice, 1995 ^a	Analiza uporabe mikrohabitata ni razkrila kompeticije med šarenko in domorodno potočno postrvjo.
Brinta, pritok Volarje (Soča), blizu Kamnega	46.24° N 13.66° E	Da	Nat	^a	
Godiča, pritok Soče, blizu Tolmina	46.19° N 13.77° E	Da	Nat	^a	
Kozjak, pritok Soče, blizu Kobarida	46.27° N 13.62° E		Nat	^a	

se nadaljuje

nadaljevanje preglednice 4. Naturalizirane populacije šarenk v Evropi

Območje	Koordinate	Drugi salmonidi	Tip	Vir	Opombe
Dabršček, pritok Soče, Idrijce Dolenje Trebuše	46.12° N 13.89° E		Nat	^a	
Bukovščica, pritok Idrijce, blizu Cerkneda	46.13° N 13.92° E		Nat	ZZRS, 2010d ^a	
Jesenica, pritok Soče, blizu Cerknega	46.12° N 13.94° E	Da	Nat	ZZRS, 2010d ^a	
Zgornji tok Idrijce		Da	Nat	Vincenzi in sod., 2011 ^a	
Trebuščica, blizu Gorenje Trebuše	46.03° N 13.83° E	Da	Nat	^a	
Majnski potok, pritok Idrijce, blizu Idrijske Bele	45.98° N 13.96° E	Da	Nat	^a	
Bela, pritok Idrijce, blizu Idrije	45.96° N 13.97° E	Da	Nat	^a	
Kanomljica, pritok Idrijce, blizu Idrija	46.03° N 14.03° E	Da	Nat	ZZRS, 2010d ^c	
Studenci, pritok Idrijce, blizu Idrija	46.05° N 13.91° E	Da	Nat	ZZRS, 2010d ^c	
Hotenja, pritok Trebuščice	46.09° N 13.86° E	Da	Nat	^a	
Nadiža	46.24° N 13.46° E	Da	Nat	^a	
Ribnica, pritok Save Bohinjke, blizu Bohinjske Bistrice	46.29° N 13.92° E	Da	PV	Pliberšek in Podgornik, 2014 ^a	V 80-ih je šarenka zamenjala potočno postrv; večina šarenk ni ribogojniškega izvora.
Mostnica, pritok Save Bohinjke, blizu Bohinjske Bistrice	46.29° N 13.90° E	Da	PV	^a	
Lipnica, pritok Save, blizu Radovljice	46.30° N 14.22° E	Da	PV	ZZRS, 2010a ^c	
Srednja in zgornja Sava do Medvod		Da	PV	ZZRS, 2010a ^c	
Gameljščica, pritok Save pri Ljubljani	46.13° N 14.49° E	Da	PV	^a	0+ šarenke so redno ulovljene, vendar ne moremo izključiti pobegov iz ribogojnice Povodje.
Kotredešica, pritok Save pri Zagorju	46.15° N 14.99° E		?	Mršič, 1935 ^c	Ni novejših opažanj.
Sopota, pritok Save pri Radečah	46.07° N 15.13° E	Da	PV	^a	

se nadaljuje

nadaljevanje preglednice 4. Naturalizirane populacije šarenk v Evropi

Območje	Koordinate	Drugi salmonidi	Tip	Vir	Opombe
Zgornji tok Poljanske Sore		Da	PV	Budihna in sod., 1998 ^c	
Mala voda, pritok Gradaščice pri Polhovem Gradcu	46.06° N 14.31° E	Da	PV	ZZRS, 2010b ^c	
Velka, pritok Drave	46.57° N 15.34° E	Da	PV	ZZRS, 2010e ^c	
Tržiška Bistrica blizu Tržiča	46.33° N 14.29° E	Da	PV	^a	
Zgornji tok Selške Sore		Da	PV	Bertok in Budihna, 1999 ^c	
Težka voda, pritok Krke pri Novem mestu	45.78° N 15.18° E		?	Mršič, 1935 ^c	Ni novejših opažanj.
Rateški potok, pritok Krke pri Novem mestu	45.83° N 15.22° E		?	Mršič, 1935 ^c	Ni novejših opažanj.
Bršljinski potok, pritok Krke pri Novem mestu	45.82° N 15.15° E		?	Mršič, 1935 ^c	Ni novejših opažanj.
Srednji in zgornji tok Krke			PV	ZZRS, 2010c ^c	
Hubelj, pritok Vipave pri Ajdovščini	45.88° N 13.91° E	Da	PV	^a	
Hribski potok, pritok Ljubljance pri Vrhniku	45.96° N 14.29° E	Ne	Nat	^a	
Potok Lokva blizu Postojne	45.81° N 14.13° E	Ne	Nat	^a	
Črni potok v Logatcu	45.91° N 14.20° E	Ne	Nat	^a	
Reka Reka blizu Pivke			?	Mršič, 1935 ^c	Ni novejših opažanj.
Potok Stari Breg blizu Grosupljega	45.98° N 14.66° E		?	Mršič, 1935 ^c	Naturalizirana populacija je zaradi onesnaženja izginila že pred l. 1935.
Želimeljščica, pritok Ljubljance blizu Ljubljane	45.91° N 14.56° E		?	Mršič, 1935 ^c	Ni novejših opažanj.
<i>Hrvaška</i>					
Gacka blizu Otočca	44.86° N 15.22° E		PV	MacCrimmon, 1971 ^c	Ni novejših opažanj.
Dretulja blizu Plaškega	45.08° N 15.35° E		PV	MacCrimmon, 1971 ^c	Ni novejših opažanj.

se nadaljuje

nadaljevanje preglednice 4. Naturalizirane populacije šarenk v Evropi

Območje	Koordinate	Drugi salmonidi	Tip	Vir	Opombe
Ljuta blizu Dubrovnika	42.53° N 18.36° E		Nat	Zupančič in Bogutskaya, 2002a	0+ šarenke so redno ulovljene; pobegov iz majhne ribogojnice restavracije Konavovski dvori ne moremo popolnoma izključiti; šarenka je odgovorna za lokalno izumrtje gaovice <i>Telestes metohiensis</i> .
Korana in Plitvice	44.91° N 15.62° E		PV	MacCrimmon, 1971 ^c	Ni novjših opažanj.
Jadro pri Splitu	43.54° N 16.51° E		Nat	Mršić, 1935 ^c	0+ šarenke so redno ulovljene od 30-ih let naprej; pobegov iz bližnje ribogojnice ne moremo popolnoma izključiti.
Žrnovnica pri Splitu	43.51° N 16.54° E		Nat	Šprem osebna komunikacija ^a	Pobegov iz bližnje ribogojnice ne moremo popolnoma izključiti.
Kanal Drave pri Prelogu	46.31° N 16.52° E		PV	Šprem osebna komunikacija ^a	
<i>Bosna in Hercegovina</i>					
Reka Bosna pri Sarajevu	43.83° N 18.30° E		PV	Mršić, 1935 ^c	Šarenke so bile vložene na začetku 20. stoletja; konec 20-ih let so skoraj izginile; danes so šarenke tu ponovno prisotne, vendar njihovega statusa ne moremo oceniti zaradi rednega vlaganja.
Trebišnjica pri Bileći	42.83° N 18.45° E		?	Mršić, 1935 ^c	Šarenke so bile vložene na začetku 20. stoletja; do l. 1935 so bili 0+ osebki in drstenje opaženi vsako leto; zaradi obsežne regulacije Trebišnjice v 60-ih letih je populacija najverjetneje izginila.
Šuica blizu Livna	43.81° N 17.23° E		?	Mršić, 1935 ^c	Ni novjših opažanj; šarenka se po trditvah lokalnih ribičev tu ne razmnožuje.

se nadaljuje

nadaljevanje preglednice 4. Naturalizirane populacije šarenk v Evropi

Območje	Koordinate	Drugi salmonidi	Tip	Vir	Opombe
Struba s pritokoma Žabljak in Bistrica pri Livnu	43.84° N 16.95° E		?	Mršič, 1935 ^c	Ni novejših opažanj; šarenka se po trditvah lokalnih ribičev tu ne razmnožuje.
Boračko jezero in pritok pri Konjicu	43.55° N 18.03° E		PV	Mršič, 1935 ^c	Ni novejših opažanj.
ZAHODNA IN JUŽNA EVROPA					
<i>Združeno kraljestvo</i>					
Derbysher Wye pri Haddon Hill, Anglija	53.19° N 1.64° W		Nat	Frost, 1974; Welton in sod., 1995; Worthington, 1941 ^c	Populacija je bila prvič opisana v 30-ih letih.
Reka Chess, Anglija	51.68° N 0.57° W		PV	Frost, 1974; Welton in sod., 1995; Eorthington, 1941 ^c	Populacija je zaradi onesnaženja z odplakami izumrla pred l. 1971.
Reka Lathkill, pritok Derbyshire Wye, Anglija	53.19° N 1.69° W		?	Frost, 1974; Welton in sod., 1995; Eorthington, 1941 ^c	
Carl Beck, pritok reke Lune, Durham County, Anglija	54.60° N 2.12° W		PV	Welton, 1995 ^c	
Pritok Leigh Brook, Worcestershire, Anglija	?		Nat	Frost, 1974 ^c	Ni novejših opažanj.
Jezero Ardochy Hill Loch, Škotska	?		Nat	Frost, 1974; Walker, 2003 ^c	Naturalizirana populacija je bila prisotna od začetka 20. stoletja do 60-ih let, ko je izumrla.
Nekatere druge tekoče vode v Veliki Britaniji			ObR	Welton, 1995; Walker, 2003 ^c	Šarenke se občasno razmnožujejo tudi v drugih Britanskih tekočih vodah; natančen seznam teh populacij je na voljo v Welton (1995) za Anglijo in Wales in v Walker (2003) za Škotsko.
Francija					
Akumulacija Bouillouses in pripadajoči potok l'Estibère, Pyrénées	42.57° N 2.00° E		Nat	Delacoste in sod., 1997; Kiener, 1986; Vivier, 1955 ^a	Šarenke so bile prvič vložene l. 1958, morda tudi prej.
					se nadaljuje

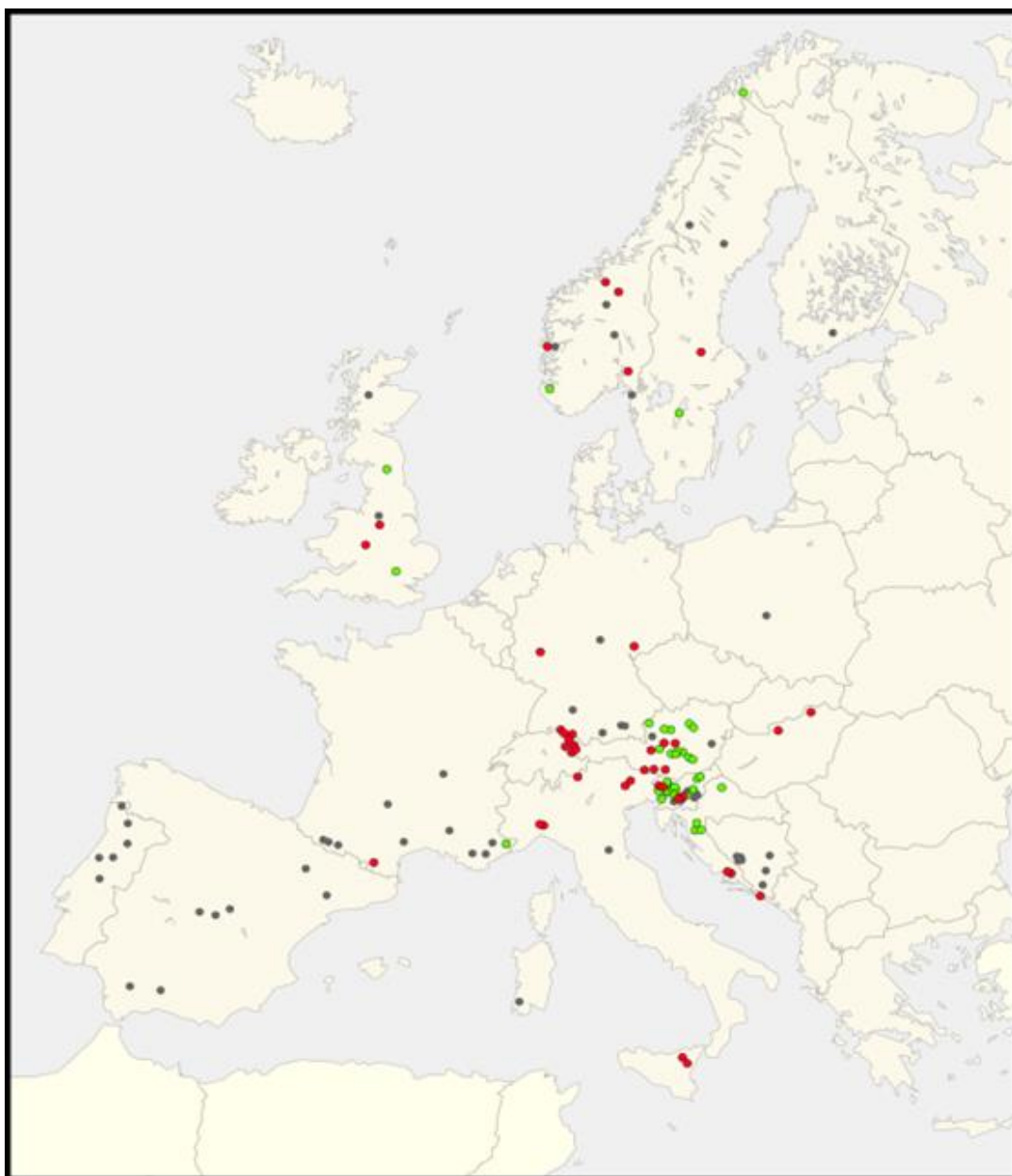
nadaljevanje preglednice 4. Naturalizirane populacije šarenk v Evropi

Območje	Koordinate	Drugi salmonidi	Tip	Vir	Opombe
Jezero Ilhéou, Pyrénées	42.86° N 0.18° W		?	Dumas, 1976; Kiener, 1986; Vivier, 1955 ^c	Šarenke so bile prvič vložene l. 1935.
Jezero d'Oueil Nègre, Pyrénées	42.85° N 0.10° E		?	Dumas, 1976; Kiener, 1986; Vivier, 1955 ^c	
Potoki Maurcillas, Campels in Gaube, Pyrénées	?		?	Dumas, 1976; Kiener, 1986; Vivier, 1955 ^c	
Potok Jaur, département de l'Hérault département	?		ObR	^a	
Potok Nartuby, département du Var	?		ObR	^a	
Potok Pignans, département du Var	?		ObR	^a	
Potok Castellane, département du Var	?		ObR	^a	
Potok La Roxa, département des Alpes-Maritimes	43.97° N 7.54° E		PV	^a	
Potok Serran, département de l'Ain	?		ObR	^a	
<u>Italija</u>					
Lemme, pritok reke Orba, Allesandria	44.59° N 8.86° E		Nat	Bernini in sod., 2006, Candioto in sod., 2011 ^b	Šarenke so bile prvič vložene v 30-ih letih.
Gorzente, pritok reke Orba, Allesandria	44.61° N 8.74° E		Nat	Bernini in sod., 2006, Candioto in sod., 2011 ^b	Šarenke so bile prvič vložene v 30-ih letih.
Nekateri potoki v Parco Nazionale Dolomiti Bellunesi			Nat	Bianco, 1998; Bon in sod., 2008 ^b	
Nekateri potoki v Riserva naturale Val Tovanella			Nat	Bianco, 1998; Bon in sod., 2008 ^b	
Reka Savena, južno od Bologne	44.35° N 11.34° E		?	Bianco in Ketmaier, 2001; Rizzoli in sod., 1996 ^b	
Potok na jugo-zahodu Sardinije	?		?	Orrù in sod., 2010 ^b	
Reka Alcantra in potoki gorovja Nebrodi, Sicilija			Nat	Tiglio, osebna komunikacija	

se nadaljuje

nadaljevanje preglednice 4. Naturalizirane populacije šarenk v Evropi

Območje	Koordinate	Drugi salmonidi	Tip	Vir	Opombe
<i>Španija</i>					
Reka Manzares pri Madridu			ObR	MacCrimmon, 1971 ^c	
Potoki v dolini Iruelas, Ávila			ObR	MacCrimmon, 1971 ^c	
Reka Riofrio, Granada	37.19° N 4.19° W		ObR	MacCrimmon, 1971 ^c	
Reka El Bosque, Cadiz	36.74° N 5.52° W		ObR	MacCrimmon, 1971 ^c	
Reka Cifuentes, Guadalajara	40.74° N 2.62° W		ObR	MacCrimmon, 1971 ^c	
Reka Isuela, Huesca			ObR	MacCrimmon, 1971 ^c	
<i>Portugalska</i>					
Reka Cávado, severna Portugalska			ObR	Ribeiro in sod., 2009 ^c	
Reka Minho, severna Portugalska			ObR	Ribeiro in sod., 2009 ^c	
Reka Douro, severna Portugalska			ObR	Ribeiro in sod., 2009 ^c	
Reka Vouga, osrednja Portugalska			ObR	Ribeiro in sod., 2009 ^c	
Reka Mondego, osrednja Portugalska			ObR	Ribeiro in sod., 2009 ^c	
Reka Mondego, osrednja Portugalska			ObR	Ribeiro in sod., 2009 ^c	
Reka Tejo, osrednja Portugalska			ObR	Ribeiro in sod., 2009 ^c	
Nekateri potoki na Azorih in Madeiri			ObR	Ribeiro in sod., 2009 ^c	



Slika 5: Naturalizirane populacije šarenke v Evropi. Naturalizirane populacije brez podpornega vlaganja (zeleno); potencialno naturalizirane populacije, ki se sicer redno razmnožujejo v naravi, a jih zaradi podpornega vlaganja ne moremo obravnavati kot pristne naturalizirane populacije (rdeče), populacije, ki se le občasno razmnožujejo v naravi, vključno s populacijami z neznanim statusom (sivo).

Figure 5: Naturalised rainbow trout populations recorded in Europe: genuinely self-sustaining population with no supportive stocking (green); populations, where spawning or wild-bred juveniles is observed regularly in nature, but their status cannot be resolved with certainty as supportive stocking is on-going (red); populations, where only occasional natural reproduction has been recorded and populations with unknown status (gray).

4.2 POPULACIJSKA STRUKTURA TUJERODNIH ŠARENK

4.2.1 Sekvenčna zaporedja

4.2.1.1 Haplotipi mtDNA in spolnega kromosoma v analiziranih populacijah

Od 321-ih vzorcev šarenke iz 61-ih populacij smo sami 240-im določili mitohondrijske haplotipe, medtem ko smo na osnovi genetskih podatkov v raziskavah od Bagley in Gall (1998) in Brunelli in sod. (2010) rekonstruirali še haplotipe pri 526-ih domorodnih osebkih. Zaporedja lastnih vzorcev smo poravnali v 1189 bp dolgo poravnavo (poravnava A) s sedemnajstimi polimorfnimi mesti, od tega je petnajst substitucij razporejenih enakomerno po zaporedju, medtem ko se pri nekaterih vzorcih v poli-T regiji pojavlja ena oz. dvo nukleotidna vrzel. Skupaj smo določili šestnajst različnih haplotipov (poravnava A), od tega deset pri 101 vzorcu iz osemnajstih naturaliziranih populacijah, trinajst pri 87-ih vzorcih iz osemnajstih populacij s podpornim vlaganjem, devet pri 32-ih vzorcih iz šestih evropskih ribogojnic in pet pri 20-ih vzorcih iz štirih ameriških ribogojnic (Preglednica 5, Priloga A). Sedem haplotipov se pojavlja le pri eni skupini, ostalih deset pa pri dveh ali več skupinah. Čeprav smo odkrili le en nov mitohondrijski haplotip (MYS01L-EU), smo vsa nukleotidna zaporedja deponirali v Genski banki (KP668852-KP668868), saj smo z uporabo nove kombinacije začetnih oligonukleotidov dobili daljša zaporedja, kot so bila predhodno na razpolago. Mitohondrijskim haplotipom, ki smo jih določil, smo dali nova imena in jih povezali s haplotipi, določenimi iz drugih poravnav (Preglednica 6 in Priloga A).

Y haplotipe smo določili vsem 312-im vzorcem. Zaporedja smo poravnali v 1 055 bp dolgo poravnavo s šestimi substitucijami. Skupaj smo določili le tri različne haplotipe. Pri evropskih populacijah smo določili en sam haplotip, obalni haplotip C1. Ta haplotip je splošno razširjen in dominanten med obalnimi populacijami šarenk vzdolž celotne pacifiške obale. Poleg tega je bil to tudi skoraj edini haplotip, ki smo ga našli pri pretežno celinskih domorodnih šarenkah iz Kalifornije. Druga haplotipa na tem območju smo našli le v potoku Cedar v dolini Surprise Valley v severovzhodni Kaliforniji, in v potoku Dismal v dolini Warner Valley na skrajnem jugu Oregona. V

potoku Cedar smo našli celinski haplotip I2 in nov obalni haplotip C7, medtem ko smo potoku Dismal našli le nov haplotip C7. Slednjega smo našli tudi v dveh kalifornijskih ribogojnicah - Coleman in Pit (Priloga A). Haplotip C7 smo deponirali v Gensko banko pod zaporedno številko KR067480. Ker Evropske populacije niso bile raznolike po odseku OmyY1 spolnega kromosoma, smo večino statističnih analiz opravili le za mitohondrijska zaporedja.

4.2.1.2 Genetska pestrost tujerodnih populacij šarenk

Genetsko pestrost tujerodnih populacij smo ocenjevali na osnovi poravnave B (1055 bp), ki vključuje celotno zaporedje CR (Slika 4), in jo primerjali z domorodnimi populacijami iz Bagley in Gall (1998).

Povprečna haplotipska pestrost (H) evropskih šarenk je bila $0,904 \pm 0,007$, povprečna nukleotidna pestrost pa (π) $0,0031 \pm 0,0001$. Medtem ko so imele Ribnica, Hotenja in Ren najvišjo π ($0,0039 \pm 0,0009$; $0,0039 \pm 0,0009$; $0,0037 \pm 0,0007$) in zgornja Idrijca najnižjo ($0,0003 \pm 0,0002$), so imele najvišjo H Ribogojnica Povodje, Lipnica in Ribnica ($1,000 \pm 0,096$; $1,000 \pm 0,126$; $1,000 \pm 0,126$), najnižjo pa zgornja Idrijca ($0,333 \pm 0,215$). Pri računanju najnižjih pestrosti nismo upoštevali vzorčnih mest, kjer smo našli en sam haplotip (Bela, Brinta, Črni potok, Hribski potok, Kozjak, Majnški potok, Predjamski potok, Konjščak, Reka, ribogojnica Pšata). V povprečju so imele evropske populacije višjo H od domorodnih populacij, mepa tudi višjo π od vseh domorodnih populacij, razen od anadromnih šarenk iz osrednje Kalifornije. π teh kalifornijskih šarenk je bila višja kot pri pristnih naturaliziranih šarenkah ter nižja kot pri evropskih ribogojniških šarenkah in pri evropskih populacijah s podpornim vlaganjem (Preglednica 5 in Slika 6).

Primerjava π in H tujerodnih populacij z vrednostmi pri simuliranih populacijah je razkrila relativni primanjkljaj vrednosti π , saj bi ta morala biti višja glede na izmerjeno H (Slika 6).

Preglednica 5: Genka pestrost evropskih in ameriških šarenk. Št. haplotipov, odstotek zajetih haplotipov (št. alelov/ICE) in Simpsonov index pestrosti smo izračunali s krivuljo kopičenja haplotipov na vseh vzorcih v liniji domorodnih šarenk oz. kategoriji evropskih populacij; interpolirali smo jih na najmanjše število vzorcev v liniji oz. kategoriji ($n=30$; *; brez šarenk iz kalifornijskih ribogojnic) ter pri združenih domorodnih vzorcih na število vzorcev v združenih evropskih vzorcih ($n=212$; **). Nukleotidno (π) in haplotipsko (H) pestrost smo izračunali samo za ne-interpolirane vrednosti.

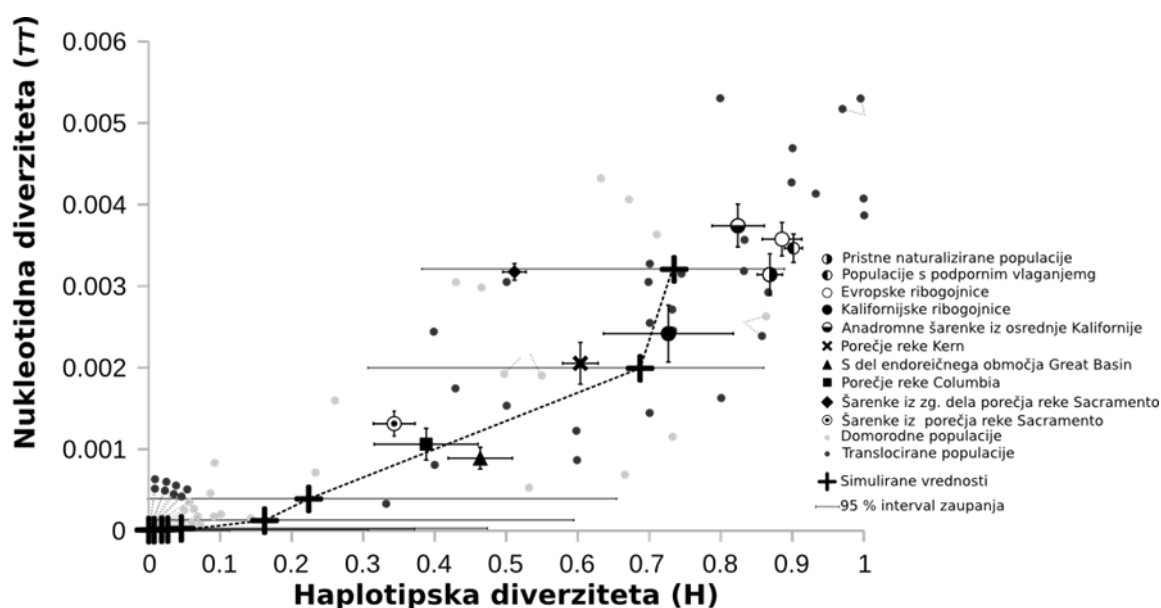
Table 5: Genetic diversity within European and American rainbow trout. Number of haplotypes, percentage of captured haplotypes (Allele#/ICE) and Simpson diversity index were calculated by rarefaction analysis for the total number of individuals sampled per lineage or group; interpolated for the minimum number of individuals sampled per lineage or group ($n = 30$) not including Californian hatchery populations (*); and also for the minimum number of sampled individuals ($n = 212$) sampled when comparing all european to all native populations (**). Nucleotide (π) and haplotype (H) diversity were calculated only for the total number of individuals sampled per lineage or group.

	n	št. haplotipov	št. haplotipov / ICE (%)	Simpsonov indeks	H	π
<i>EVROPSKE POPULACIJE</i>	220	16	89	9,19	0,904	0,00307
Pristne naturalizirane populacije	101	10	100	6,98	0,867	0,00273
Pristne naturalizirane populacije *	30	9,18	85	6,26		
Populacije s podpornim vlaganjem	87	14	90	9,23	0,900	0,320
Populacije s podpornim vlaganjem *	30	10,82	86	7,87		
Evropske ribogojnice	32	9	92	7,19	0,889	0,00332
<i>AMERIŠKE POPULACIJE</i>	526	23	86	7,51	0,872	0,00420
<i>AMERIŠKE POPULACIJE **</i>	220	18,7	79	7,38		
Kalifornijske ribogojnice	20	5	84	2,93	0,711	0,00203
Anadromne šarenke iz osrednje Kalifornije	30	7	93	4,95	0,825	0,00388
Šarenke iz porečja reke Sacramento	54	2	100	1,53	0,352	0,00143
Šarenke iz porečja reke Sacramento *	30	2	100	1,53		
Šarenke iz porečja reke Kern	232	10	81	2,52	0,608	0,00202
Šarenke iz porečja reke Kern *	30	5,22	56	2,51		
Šarenke iz severnega dela endoreičnega območja Great Basin	100	7	57	1,87	0,475	0,00096
Šarenke iz severnega dela endoreičnega območja Great Basin *	30	3,86	39	1,84		
Šarenke iz porečja reke Columbia	51	4	86	1,71	0,416	0,00100
Šarenke iz porečja reke Columbia *	30	3,56	83	1,71		
Šarenke iz porečja reke McCloud	41	2	100	2	0,512	0,00313
Šarenke iz porečja reke McCloud *	30	2	100	2		

Preglednica 6: Zaporedne številke nukleotidnih zaporedij kontrolne regije, deponiranih pri Genski banki. Ker smo v raziskavi uporabljali daljša zaporedja (poravnava A), kot so na voljo iz filogeografskih študij domorodnih populacij šarenke (poravnava B - Bagley and Gall, 1998; poravnava C - Brunelli in sod. 2010), smo haplotipe lahko primerjali le deloma. RTDL21-EU (*) haplotip smo določili le pri enem vzorcu iz ribogojnice Coleman iz Kalifornije, USA. Glej tudi Sliko 4.

Table 6: GenBank deposition numbers of identified mitochondrial control region haplotypes (Dataset A), with their correlations to the haplotypes inferred from shorter alignments from phylogeographical studies of native rainbow trout populations (Dataset B - Bagley and Gall, 1998; Dataset C - Brunelli et al. 2010). RTDL21-EU (*) haplotype was identified only in one individual from Coleman hatchery strain. See also Fig. 4.

Zaporedna št. v Genski banki	Poravnava				Skupina haplotipov
	A (1189 bp)	B (1055 bp)	C (610 bp)	D (468 bp)	
KP668859	MYS03A-EU		MYS03A	I	
KP668862	MYS03B-RTDL16EU	RTDL16			
KP668863	MYS03B-RTDL20EU	RTDL20	MYS03B	II	
KP668860	MYS03B-1-EU				
KP668861	MYS03B-2-EU				
KP668866	MYS10-EU		MYS10	III	A
KP668868	RTDL21-EU*			IV	
KP668864	MYS03C-EU	RTDL34	MYS03C	V	
KP668856	MYS01K-RTDL01-EU	RTDL01			
KP668857	MYS01K-RTDL28-EU	RTDL28	MYS01K	VI	
KP668855	MYS01K-1-EU				
KP668853	MYS01G-RTDL27-EU	RTDL27			B
KP668852	MYS01G-1-EU		MYS01G	VII	
KP668854	MYS01H-1-EU	RTDL36	MYS01H	VIII	
KP668858	MYS01L-EU			IX	
KP668865	MYS08-EU	RTDL07	MYS08	X	C
KP668867	RTDL04-EU	RTDL04		XI	D



Slika 6: Graf nukleotidne (π) in haplotipske diverzitetete (H) tujerodnih in domorodnih populacij ter razmerje med obema diverzitetama pri simuliranih populacijah, ki so v genskem ravnovesju.

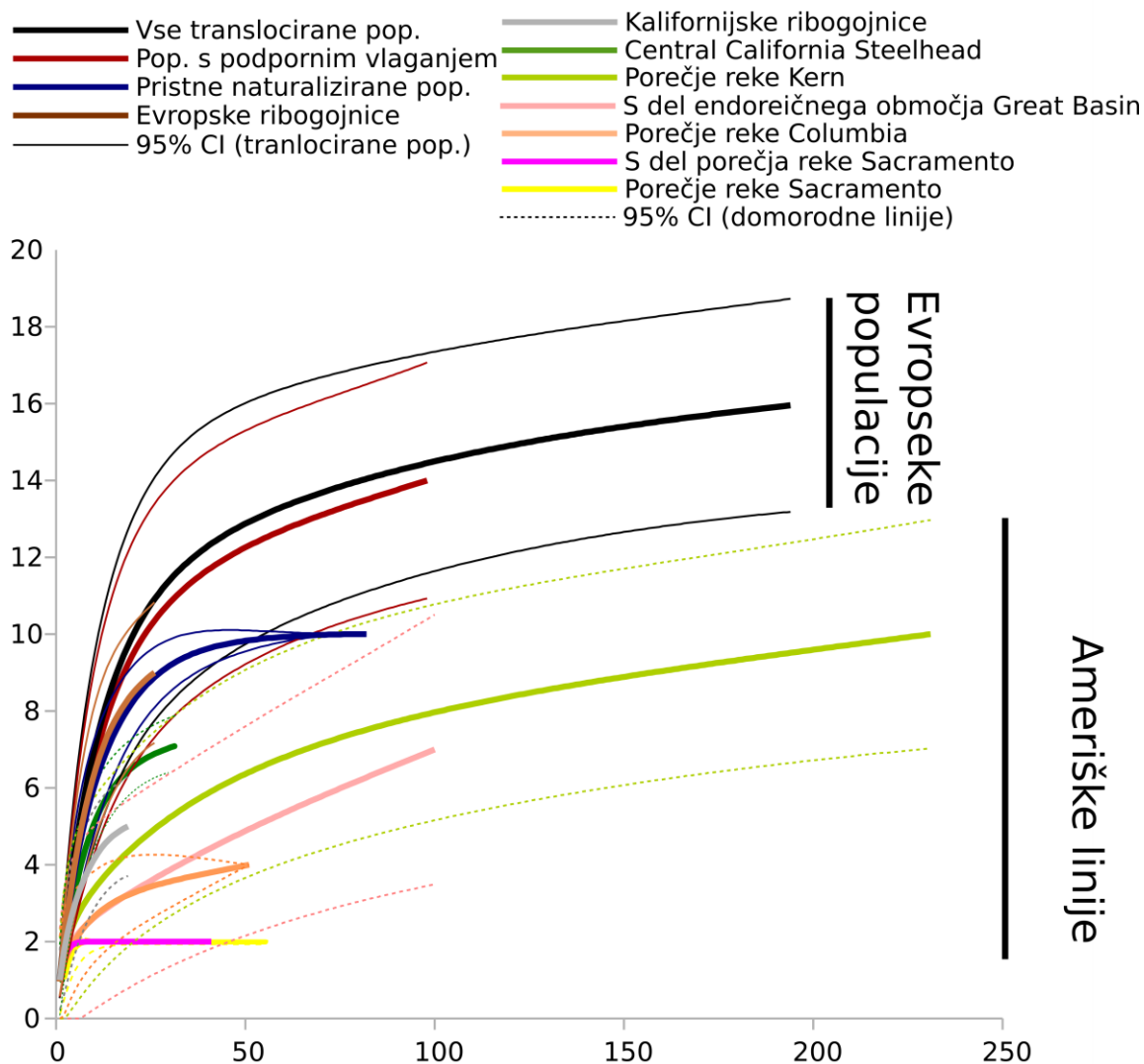
Figure 6: Plot of nucleotide (π) versus haplotype (H) diversity of the translocated and native populations. Also shown is the expected relationship between nucleotide and haplotype diversity of simulated populations under mutation-drift equilibrium.

Paroma primerjane genetske razdalje med vzorčnimi mesti na osnovi F statistike so podane v Prilogi D (F_{ST}). Paroma primerjane vrednosti F_{ST} med vzorčnimi mesti tujerodnih šarenkah so bile statistično značilno nižje (mediana $F_{ST} = 0,383$) od paroma primerjanih vrednosti pri domorodnih šarenkah (mediana $F_{ST} = 0,710$) ($P < 0,0001$) in od F_{ST} -jev med pari tujerodnih in domorodnih vzorčnih mest mediana $F_{ST} = 0,565$) ($P < 0,0001$).

Visoko genetsko pestrost tujerodnih šarenk smo pokazali tudi s krivuljo kopičenja haplotipov, saj imajo evropske populacije več haplotipov kot katera koli domorodna linija (Preglednica 5 in Slika 7). Statistično značilnost razlik smo potrdili z neparametričnim testom ($P < 0,001$) in splošnim neprekrivanjem 95 % intervalov zaupanja med krivuljo kopičenja haplotipov pri evropskih populacijah s krivuljami pri ameriških linijah; robno prekrivanje smo ugotovili le pri šarenkah iz porečja reke Kern. Naraščanje števila haplotipov se pri večini krivulj umiri in začne približevati

pričakovanemu številu haplotipov, kar smo ocenili iz primerjave z neparametrično cenilko ICE. Z vzorčenjem smo povsod, razen pri šarenkah iz severnega dela endoreičnega območja Great Basin, zajeli vsaj 80 % pričakovanih haplotipov (št. haplotipov/ICE, Preglednica 5). Višja genetska pestrost evropskih populacij je ostala statistično signifikantna ($P < 0,001$) po interpolaciji na najmanjše število vzorcev v domorodnih linijah (30, anadromne šarenke iz osrednje Kalifornije). Višjo genetsko pestrost pred in po interpolaciji smo nadalje potrdili tudi s Simpsonovim indeksom ($P < 0,001$). Iz krivulje kopičenja haplotipov lahko sklepamo tudi, da je vzorec tujerodnih osebkov katerim smo določili mitohondrijsko zaporedje dovolj reprezentativen.

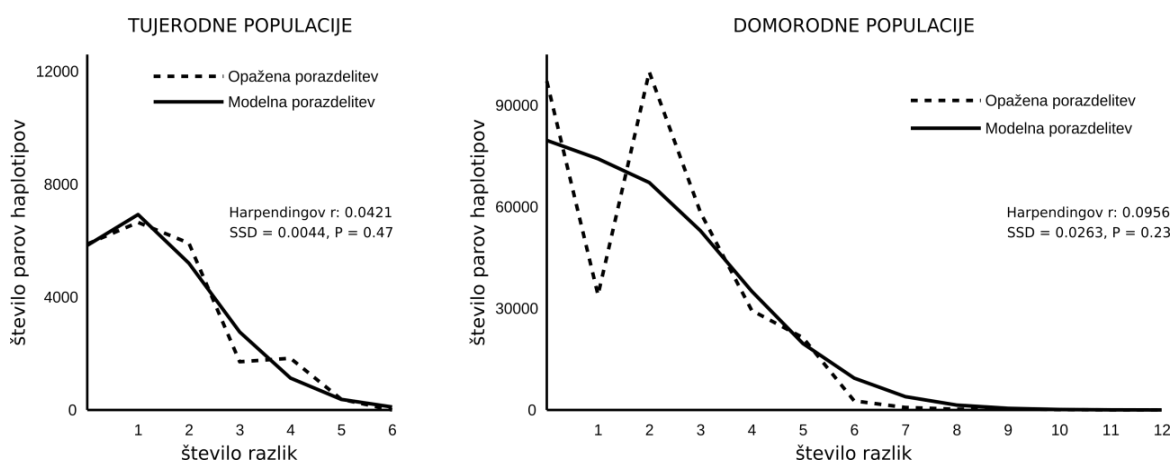
Podobne rezultate smo dobili tudi pri ločenem računanju krivulj za pristne naturalizirane populacije in za populacije s podpornim vlaganjem. Višje vrednosti obeh skupin evropskih populacij od domorodnih linij so ostale statistično značilne ($P < 0,001$) tudi po interpolaciji na najmanjše število vzorcev. Ko pa smo skupaj združili vse ameriške linije in jih primerjali z evropskimi populacijami, se je razmerje obrnilo. Vse ameriške populacije skupaj imajo namreč signifikantno več haplotipov kot evropske ($P < 0,001$); Simpsonov indeks je pri domorodnih populacijah ostal nižja ($P < 0,001$). Med evropskimi populacijami smo našli kar 55 % vseh haplotipov šarenke.



Slika 7: Krivulja kopičenja haplotipov pri evropskih in ameriških šarenkah. Krivulje smo izračunali ločeno za domorodne linije in kategorije evropskih populacij ter za vse evropske populacije skupaj.

Figure 7: Allelic richness for European and American rainbow trout. Rarefaction analysis was conducted separately for different native lineages, and categories of European populations and for all European populations.

Pri analizi nenadne ekspanzije (angl. mismatch analysis) smo pri primerjavi porazdelitve paroma primerjanih razlik med haplotipi tujerodnih populacij odkrili dobro ujemanje z modelno eno-modalno porazdelitvijo, medtem ko je bila pri domorodnih populacijah porazdelitev bolj multimodalna, ujemanje z modelno porazdelitvijo pa je bilo manjše. Kljub temu da hipoteze demografske ekspanzije s testom vsote kvadriranih paroma primerjanih odklonov nismo mogli ovreči pri nobeni skupini, je Harpendingov indeks pri domorodnih populacijah potrdil večjo razpršenost okoli modelne krivulje (Slika 8).



Slika 8: Test nenadne ekspanzije. Tujerodne populacije so levo in domorodne desno, k vsakemu grafu sta dodana Harpendingov indeks in test vsote kvadriranih paroma primerjanih odklonov (SSD).

Figure 8: Mismatch analysis for translocated (left) and native (right) populations with raggedness index and sum of square deviations of the mismatch distribution (SSD).

4.2.1.3 Mrežna analiza haplotipov

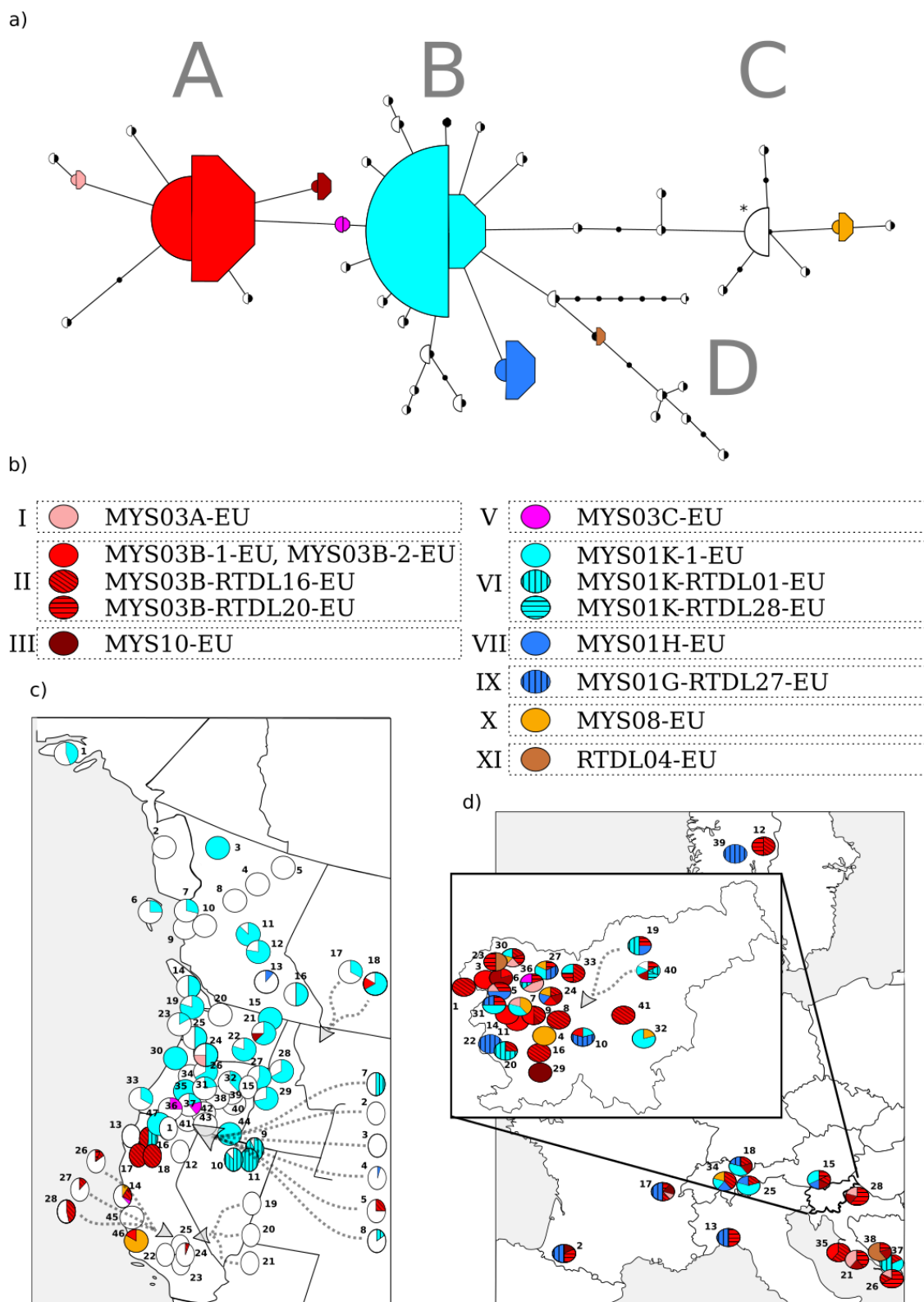
Odnose med haplotipi šarenk pri domorodnih populacijah smo rekonstruirali na osnovi najboljše minimalne vpete mreže (MSN) in jih primerjali s frekvencami haplotipov pri tujerodnih populacijah. Mreže smo rekonstruirali iz poravnave B (1 055 bp), C (610 bp) in kombinirane poravnave D (468 bp) brez upoštevanja vrzeli. Ker so si bile mreže zelo

podobne, predstavljamo le mrežo, rekonstruirano iz poravnave D (Slika 9a). Na osnovi poravnave C (haplotipi, katerih imena se začnejo z »MYS«) in D (haplotipi I-XI) smo med tujerodnimi šarenkami določili 11 haplotipov, na osnovi poravnave A (haplotipi, katerih imena se začnejo »MYS« in končajo z »-EU«) in B (haplotipi, katerih imena se začnejo z »RTDL«) pa 16; če bi upoštevali vtrzeli bi jih določili 17. Na osnovi poravnave D smo pri domorodnih in tujerodnih populacijah skupaj določili 40 haplotipov. Ujemanja med haplotipi, ki smo jih pridobili na osnovi različnih poravnjav so prikazani v Preglednici 6 in Sliki 9b.

Na MSN so se haplotipi jasno razdelili v štiri skupine (A, B, C in D), pri čemer med tujerodnimi populacijami iz vsake skupine najdemo vsaj en haplotip (Slika 9). Medtem ko je med domorodnimi populacijami centralni haplotip V najpogostejši in haplotip II drugi najpogostejši, je razmerje pri tujerodnih populacijah zamenjano. Opazne razlike v frekvenci opazimo tudi pri haplotipih III in IV ter pri še enem haplotipu (na sliki 9a označeno z zvezdico), ki je precej pogost pri domorodnih populacijah, pri tujerodnih pa je odsoten. Gre za sestrski haplotip haplotipa VII.

Na sliki 9 je prikazana tudi filogeografska distribucija haplotipov po vzorčnih mestih, pri čemer so tu prikazani tudi haplotipi, določeni na podlagi poravnave B (1 055 bp). Haplotipe iz skupine A smo zabeležili v skoraj vseh evropskih populacijah in ugotovili, da je najpogostejši haplotip MYS03B-RTDL16-EU. Med domorodnimi populacijami smo ta haplotip odkrili pri šarenkah iz porečja reke Kern, pri anadromnih šarenkah iz južne Kalifornije in pri šarenkah iz porečja reke Sacramento, kjer je tudi dominanten. Med evropskimi šarenkami najpogostejši haplotip iz skupine B (MYS01K-1-EU) še ni opisan pri domorodnih populacijah (poravnava B), vendar pa sta bila sorodna haplotipa RTDL01, RTDL28 zabeležena pri šarenkah iz jezera Goose (severni del endoreičnoa območje Great Basin) in iz porečja reke Owyhee (del porečja reke Columbia). Haplotipu MYS01K-1-EU nadrejen haplotip, MYS01K-1 (poravnava C), pa je dominanten vzdolž obale Pacifika severno od Kalifornije. Iz skupine C smo med evropskimi populacijami določili le haplotip MYS08-EU, ki je sicer karakterističen za anadromne šarenke iz južne Kalifornije. Iz najmanjše skupine, skupine D smo pri

evropskih šarenkah prav tako našli en sam haplotip (RTDL04-EU). Tega sta Bagley in Gall (1998) predhodno zabeležila le med ribogojniškimi šarenkami iz Kalifornije.



Slika 9: Filogeografska struktura evropskih in ameriških šarenk. Minimalna vpeta mreža haplotipov kontrolne regije s frekvencami (a); shema haplotipov z imeni, ki ustrezajo poravnavi D navedeni pred

simbolom, in z imeni, ki ustrezajo poravnavi A za simbolom (b); zemljevid vzorčnih mest domorodnih šarenk s frekvencami haplotipov – sekvence iz Bagley in Gall (1998) (elipse, poravnava B); sekvence iz Bruunelli in sod. (2010) (krožec, poravnava C) (c) in zemljevid vzorčnih mest evropskih šarenk s frekvencami haplotipov (d). V MSN so relativne frekvence za domorodne in evropske šarenke prikazane druga ob drugi, pri čemer so frekvence pri domorodnih populacijah prikazane na levih straneh v obliki polkrogov, frekvence pri evropskih populacijah pa so prikazane na desnih straneh v obliki pol-osmerokotnikov; velikost obeh likov je proporcionalna relativni frekvenci domorodnih oz. evropskih šarenk. Haplotipi, določeni iz kombinirane poravnave (poravnava D, 468 bp), ki smo jih določili tako med domorodnimi kot med evropskimi populacijami, so obarvani, medtem ko so haplotipi, ki smo jih določili samo pri tujerodnih oz. samo pri domorodnih populacijah, beli. Črne pike na vozliščih predstavljajo izumrle ali manjkajoče haplotipe, črte med vozlišči pa predstavljajo eno mutacijo. Skupine haplotipov, rekonstruirane iz MSN, so označene s sivimi črkami. Z zvezdico je označen najbolj pogost haplotip med v skupini C, ki pa ni prišten med tujerodnimi populacijami. Barve tortnih diagramov v zemljevidih vzorčenja se ujemajo z barvami na mreži; tudi tu so haplotipi, vzorčeni le med domorodnimi oz. le med evropskimi šarenkami, bele barve. Razlike med haplotipi, ki se izrazijo pri podrejenih poravnava (poravnava B, 1055 bp oz. poravnava C, 610 bp), so izražene z vzorci v tortnih diagramih. Takšno barvno ujemanje pomeni isti haplotip pri določanju haplotipov na osnovi poravnave D, ujemanje barve in vzorca pa pomeni isti haplotip pri določanju haplotipov na osnovi poravnave B ali C. Imena haplotipov so razložena v Preglednici 6, številke vzorčnih mest pa v Prilogi A.

Figure 9: Phylogeographic structure of European and American rainbow trout. Minimum spanning network generated from control region sequences (a), haplotype assignments scheme (b), map of sampling localities of native populations as inferred from Bagley and Gall (1998) (ellipses) and Brunelli et al. (2010) (circles) (c) and map of sampling localities of translocated populations in Europe (d). Relative frequencies for both native and translocated populations are presented side by side in the MSN, with the frequencies of native populations in semi-circles on the left side of each node and the frequencies of translocated population in semi-octagons on the right side. Unique haplotypes, inferred from the combined dataset (dataset D, 468 bp), that were recorded in both native and translocated populations have specific colours, while haplotypes that were recorded only in native populations or only in translocated populations are white. The small black nodes represent extinct, unsampled or absent haplotypes, and each straight line (independent of the length) corresponds to a single mutational step. Asterisk marks the most common haplotype among native populations from the haplogroup C. Haplogroups in the MSN are marked with grey letters. Colours of the pie charts in sampling maps correspond to colours of haplotypes in the MSN; haplotypes that were recorded only in native populations or only in translocated populations are again white. Differences in haplotype assignment that emerge when longer alignments are used (Dataset B, 1,055 bp or Dataset C, 610 bp) are presented only in sampling maps with specific patterns within coloured pie charts for each haplotype. Haplotype names are explained in Table 2 and sampling location numbers are listed in the Supplementary table.

4.2.1.4 Analiza molekularne variance

Z analizo molekularne variance (AMOVA) smo ugotavljali odnose med populacijami šarenk za več načinov združevanja. Molekularno varianco smo analizirali za poravnavo B, C in D, pri čemer smo najboljše rezultate dobili pri poravnavi D, saj ta združuje največje število domorodnih populacij šarenk s celotnega območja naravne razširjenosti vrste.

Visok odstotek variance (46,8 %, $P < 0,001$) je potrdili delitev domorodnih šarenk na a priori dodeljene linije (anadromne šarenke severno od rta Mendocino; anadromne šarenke iz osrednje Kalifornije; anadromne šarenke iz južne Kalifornije; šarenke iz porečja reke Sacramento; šarenke iz porečja reke McCloud; šarenke iz porečja reke Columbia; šarenke iz porečja reke Kern in šarenke iz severnega dela endoreičnega območja Great Basin; Preglednica 7). Po drugi strani pa so bile razlike med kategorijami evropskih šarenk (pristine naturalizirane populacije, populacije s podpornim vlaganjem in evropske ribogojnice) nizke in statistično neznačilne (2,9 %, $P = 0.139$). AMOVA je razkrila tudi večje razlike med vzorčnimi mesti oz. populacijami (62,2 %, $P < 0,001$) kot znotraj njih (37,8 %), ko smo obravnavali vse vzorce skupaj. Če pa smo analizirali domorodne in evropske populacije ločeno, se je razmerje obrnilo bolj v prid večjih razlik znotraj vzorčnih mest kot pa med posameznimi vzorčnimi mesti (Preglednica 7). V splošnem je bila varianca med evropskimi populacijami na eni in posameznimi domorodnimi linijami na drugi strani precej visoka in statistično značilna. Najnižjo varianco smo izmerili, ko smo evropske populacije primerjali s šarenkami iz porečja reke Kern (11 %, $P < 0,005$), medtem ko so bili odstotki variance pri primerjavi z ostalimi domorodnimi linijami višji od 30. Odstotek variance je bil najvišji pri primerjavi z anadromnimi šarenkami iz južne Kalifornije (51 %, $P < 0,001$). Ko pa smo primerjali odstotek variance med evropskimi šarenkami in kombinacijo dveh domorodnih linij (anadromne šarenke iz osrednje Kalifornije; šarenke iz porečja reke Sacramento), je ta postal zanemarljiv in statistično neznačilen (-2,6 %, $P = 0,554$).

Preglednica 7: Analiza molekularne variance (AMOVA) haplotipov kontrolne regije za več načinov združevanja (1-5). CCA = anadromne šarenke iz osrednje Kalifornije, SAC = šarenke iz porečja reke Sacramento, EU = Evropa, CA-USA = Kalifornija.

Table 7: Results from the analysis of molecular variance (AMOVA) among haplotypes at multiple geographical scales (1-5). CCA = steelhead populations from Central California; SAC = Sacramento River coastal rainbow trout; EU = Europe; CA-USA = California.

Vir variance	DF	SS	Komponenta variance	% variance	Fiksacijski indeksi	Statistična značilnost
(1) a) Med domorodnimi linijami	6	348.38	0.506	46.76	$F_{CT} = 0.468$	$P \leq 0.000$
b) Med vzorčnimi mesti	72	195.68	0.248	22.95	$F_{ST} = 0.697$	$P \leq 0.000$
c) Znotraj vzorčnih mest	716	234.32	0.328	30.29	$F_{SC} = 0.431$	$P \leq 0.000$
(2) a) Med kategorijami evropskih šarenk	3	6.63	0.022	2.92	$F_{CT} = 0.029$	$P \leq 0.139$
b) Med vzorčnimi mesti	34	63.92	0.275	36.57	$F_{ST} = 0.395$	$P \leq 0.000$
c) Znotraj vzorčnih mest	156	71.08	0.456	60.51	$F_{SC} = 0.377$	$P \leq 0.000$
(3) a) Med vsemi vzorčnimi mesti	123	647.10	0.587	62.18	$F_{ST} = 0.622$	$P \leq 0.000$
c) Znotraj vzorčnih mest	918	327.82	0.571	37.82		
(4) a) Med evropskimi šarenkami in CCA + SAC	2	3.22	-0.022 *	-2.58	$F_{CT} = -0.026$	$P \leq 0.554$
b) Med vzorčnimi mesti	40	106.24	0.347	41.52	$F_{ST} = 0.389$	$P \leq 0.000$
c) Znotraj vzorčnih mest	230	117.21	0.510	61.06	$F_{SC} = 0.405$	$P \leq 0.000$
(5) a) Med EU in CA-USA ribogojnicami	1	11.21	0.103	12.63	$F_{CT} = 0.029$	$P \leq 0.005$
b) Med vzorčnimi mesti	43	77.66	0.249	30.54	$F_{ST} = 0.432$	$P \leq 0.000$
c) Znotraj vzorčnih mest	202	93.50	0.463	56.83	$F_{SC} = 0.350$	$P \leq 0.000$

* Negativne vrednosti lahko dobimo, če je dejanska vrednost parametra 0.

*A negative variance component was calculated. A slight negative parameter estimate can result if the parameter value is zero.

4.2.2 Mikrosateliti

4.2.2.1 Uspešnost genotipizacije

Na 12-ih mikrosatelitnih lokusih smo genotipizirali 1035 vzorcev tujerodnih šarenk z 42-ih vzorčnih mest. Najslabši uspeh genotipizacije je bil pri vzorcih z otoka Reunion. Zaradi pomembnosti teh vzorcev smo tu mejo uspešnosti genotipizacije znižali s 73 % na 64 % oz. z osem na sedem uspešno genotipiziranih lokusov. Pri skupno sedmih vzorcih je bil vsaj en lokus izražen v trisomni obliki. Glede na to, da so bili ti vzorci

najdeni izključno v populacijah s podpornim vlaganjem, so to najverjetneje genotipi sterilnih triploidnih šarenk. Vlaganje triploidnih osebkov je vse pogostejša praksa v ribištvu, saj se taki osebki ne morejo razmnoževati. Teh sedmih vzorcih trisomnih lokusov nismo upoštevali v analizi. Trisomno izražene lokuse smo našli v Soči, Moli (Avstrija) in v potoku La Roya (Francija). Pri 103 vzorcih tudi po treh ponovitvah pri genotipizaciji nismo bili dovolj uspešni. Uspešno smo genotipizirali 944 vzorcev tujerodnih šarenk.

Od genotipov kalifornijskih populacij, ki sta nam jih posredovala prof. Bernie May in dr. Rachel E. Simmons, jih je bilo 754 s 23-ih vzorčnih mest dovolj dobro genotipiziranih, medtem ko smo 76 vzorcev zavrnil, ker je bila uspešnost pod 73 %.

Analiza s programom Micro-Checker ni razkrila ničnih alelov pri nobeni izmed predhodno določenih skupin (domorodne linije, kategorije tujerodnih šarenk). Ravno tako nismo nikjer opazili izpada alelov ali zdrsov polimeraze.

Čeprav nobeden od lokusov ni bil iz iste kromosomske ročice (Coulibaly in sod., 2005; Rexroad in sod., 2001, 2002a,b), je test vezavnega neravnovesja razkril vezano dedovanje pri nekaterih parih. Pri lokusih omm1050 in omm1172 je bilo vezano ravnovesje po Bonferronijevem korekcijskem testu pri domorodnih šarenkah s 16-ih vzorčnih mest in pri tujerodnih šarenkah s 25-ih vzorčnih mest statistično značilno. Pri ostalih parih lokusov pa vezanega ravnovesja pri več kot eni populaciji po korekcijskem testu nismo zaznali. Ker sta bila lokusa omm1050 in omm1172 v vezanem ravnovesju pri več kot polovici vzorcev, smo lokus omm1172 izločili iz nadaljnjih analiz.

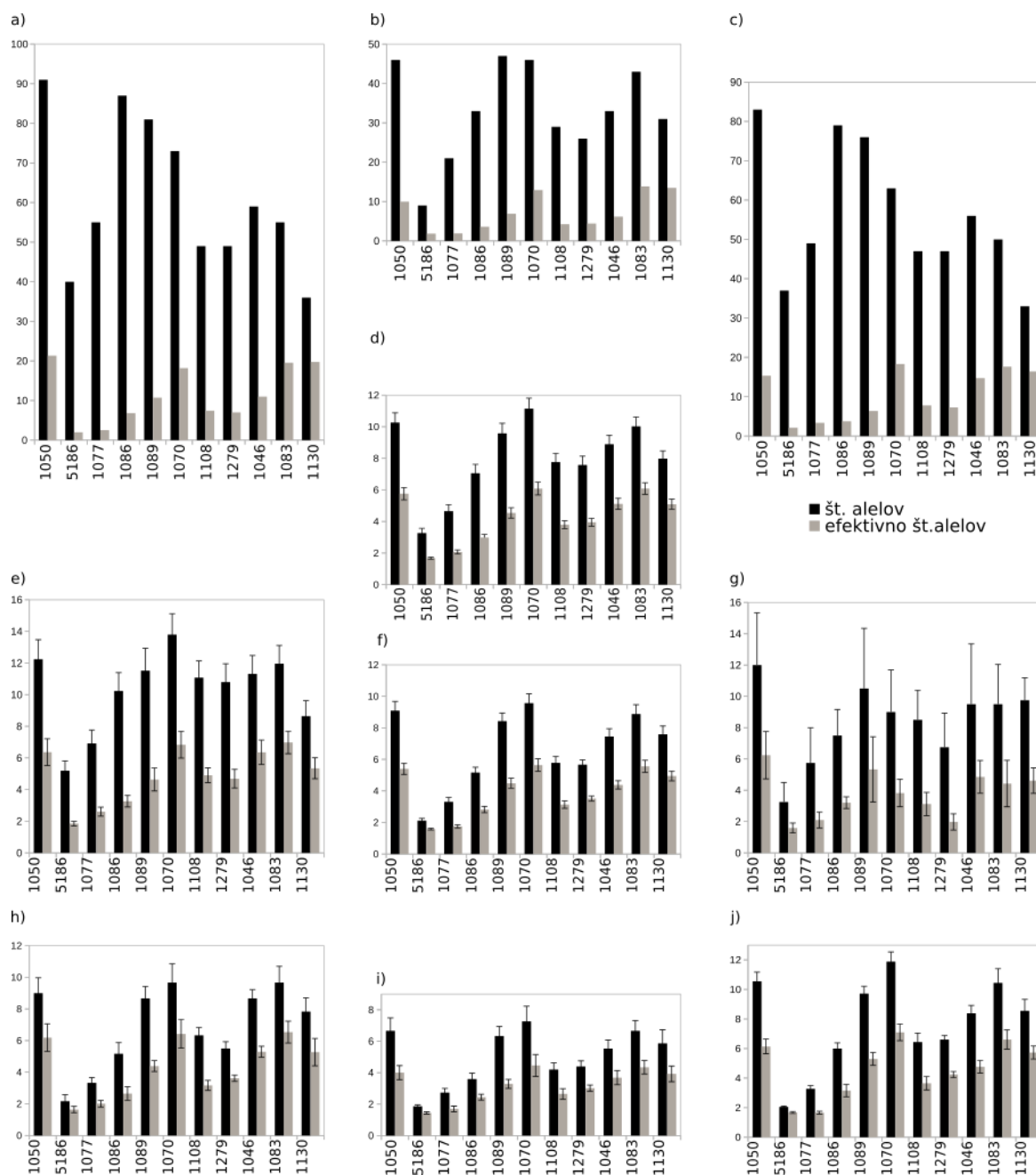
4.2.2.2 Populacijsko genetski parametri

Mere genetske raznolikosti

Na vseh lokusih smo zaznali skupaj 675 različnih alelov, pri čemer smo pri domorodnih šarenkah skupaj ugotovili 620 različnih alelov, medtem ko smo jih pri tujerodnih skupaj dobili le 364. Na Sliki 10 je prikazano absolutno in povprečno število alelov in efektivno število alelov na lokus. V povprečju pa smo na eno vzorčno mesto našli 88,2 različnih alelov oz. 113,7 različnih alelov na vzorčno mesto pri domorodnih populacijah

in 73,1 različnih alelov na vzorčno mesto pri tujerodnih populacijah. Znotraj tujerodnih populacij smo največ različnih alelov na vzorčno mesto našli pri šarenkah iz kalifornijskih ribogojnic (92), sledijo populacije s podpornim vlaganjem (83,9), šarenke iz evropskih ribogojnic (76) in na koncu pristne naturalizirane populacije (55,1). Število alelov na lokus na vzorčno mesto se pri domorodnih šarenkah giblje med 5,2 ($\pm 0,6$) in 13,8 ($\pm 1,3$), pri tujerodnih pa med 2,2 ($\pm 0,1$) in 9,6 ($\pm 0,6$). Pri domorodnih populacijah je povprečno število alelov na lokus 10,3 in povprečno število efektivnih alelov na lokus 4,9. Pri tujerodnih populacijah pa je povprečno število alelov na lokus 6,6 in povprečno število efektivnih alelov na lokus 3,9. Znotraj skupine tujerodnih šarenk je največja razlika med številom alelov na lokus in efektivnim številom alelov na lokus pri šarenkah iz kalifornijskih ribogojnic, ki imajo kar 2,2-krat več alelov na lokus kot efektivnih alelov na lokus. Pri drugih kategorijah tujerodnih šarenk se ta količnik giblje okoli 1,6. Večje razlike med številom alelov na lokus in efektivnim številom alelov pomenijo več redkih alelov. Pri primerjavi tujerodnih populacij s posameznimi skupinami oz. linijami domorodnih populacij smo večinoma ugotovili večja efektivna števila alelov na lokus pri tujerodnih šarenkah – predvsem pri tistih s podpornim vlaganjem – kot pa pri čistih nehibridiziranih domorodnih populacijah (Priloga E).

Največ alelov na vzorčno mesto ima lokus omm1070, vendar je lokus omm1083 nekoliko bolj informativen (omm1070 ima manj enakomerno zastopanost alelov in več redkih alelov). Najmanj informativen pa je lokus omm5186 z dvema zelo pogostima aleloma in ostalimi redkimi (Slika 10).



Slika 10: Število alelov in efektivno število alelov na posameznem lokusu: (a) skupno število in skupno efektivno število alelov na posameznem lokusu za vse vzorce, (b) za tujerodne šarenke in (c) za domorodne šarenke; (d) povprečno število alelov in povprečno efektivno število alelov na posameznem lokusu na vzorčno mesto za vse vzorce, (e) za domorodne šarenke, (f) za tujerodne šarenke, (g) za šarenke iz Kalifornijskih ribogojnic, (h) za šarenke iz evropskih ribogojnic, (i) za pristne naturalizirane populacije in (j) za populacije s podpornim vlaganjem.

Figure 10: Number of alleles and effective number of alleles per locus: (a) total alleles and total effective number of alleles per locus for all samples, (b) for translocated populations, (c) for native populations; (d)

average number of alleles and effective number of alleles per locus per sampling site for all samples (e), for native populations, (f) for translocated populations, (g) for Californian hatchery rainbow trout, (h) for European hatchery rainbow trout, (i) for genuine self-sustaining populations, (j) and for populations with supportive stocking.

Frekvence alelov

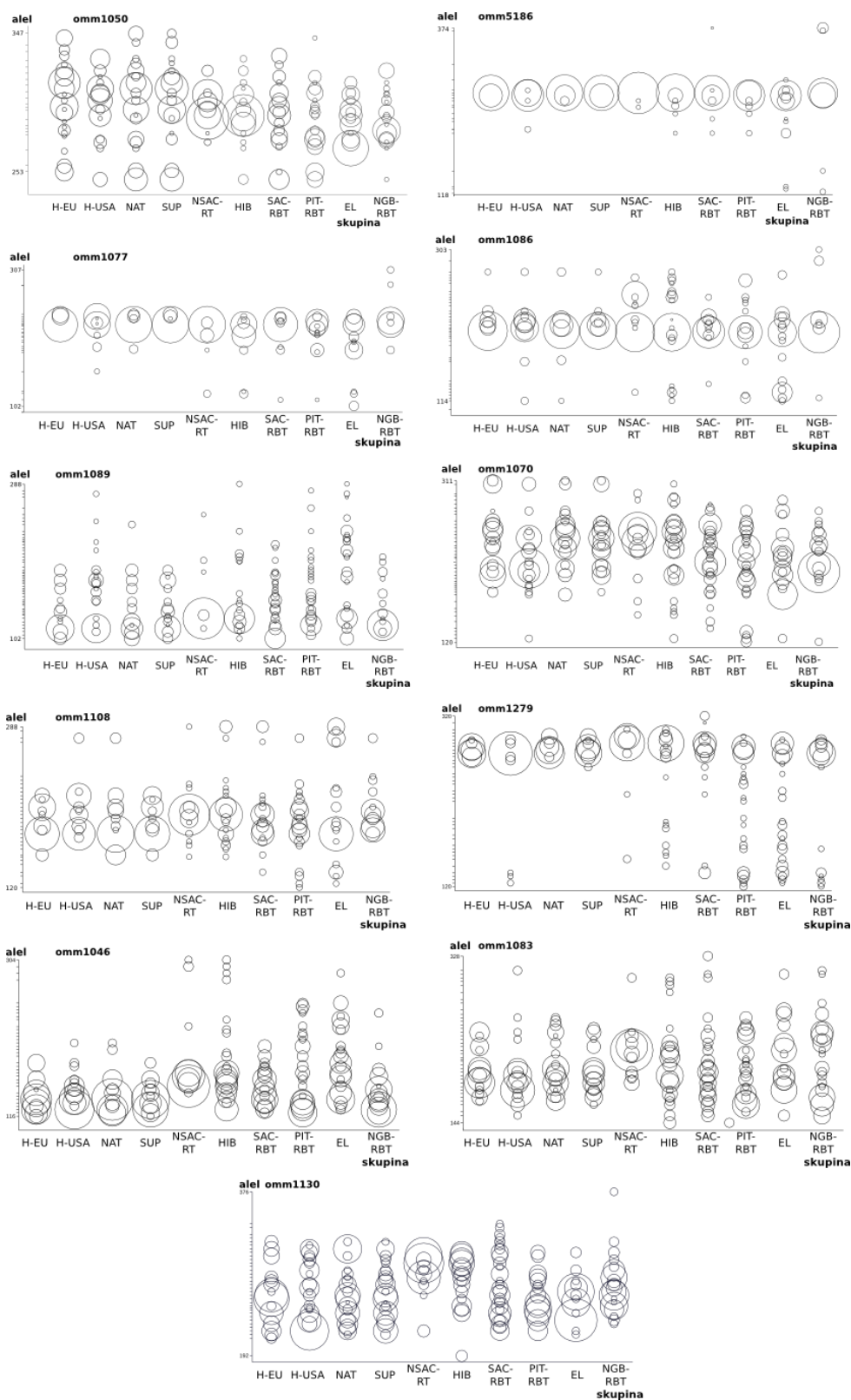
Tako pri tujerodnih kot pri domorodnih populacijah se večina alelov pojavlja s frekvenco, manjšo od 0,01 (redki aleli). Pri domorodnih populacijah je delež redkih alelov v povprečju za 6 % višji kot pri tujerodnih populacijah, medtem ko je delež pogostih alelov (>0.1) v povprečju za 6 % nižji kot pri tujerodnih populacijah. Ali je to realni odsev stanja ali pa so razlike v deležih posledica napak pri genotipizaciji domorodnih populacij, ne moremo oceniti, saj smo v uporabo dobili le zaokrožene vrednosti dolžin alelov, ne pa kromatogramov. Pri domorodnih populacijah ima lokus omm5186 največji delež tako redkih kot pogostih alelov, pri tujerodnih populacijah pa je na tem lokusu sicer največji delež pogostih alelov, največji delež redkih alelov pa je na lokusu omm1086 (Preglednica 8).

Preglednica 8: Delež redkih in pogostih alelov na posameznem lokusu za domorodne in tujerodne populacije šarenk.

Table 8: Percentage of rare and common alleles per loci for native and translocated rainbow trout populations.

Lokus	DOMORODNE POPULACIJE		TRANSLOCIRANE POPULACIJE	
	Redki aleli (%)	Pogosti aleli (%)	Redki aleli (%)	Pogosti aleli (%)
omm1050	75,9	2,4	60,9	6,5
omm5186	86,5	5,4	66,7	22,2
omm1077	81,6	4,1	71,4	9,5
omm1086	82,3	1,3	75,8	12,1
omm1089	77,6	2,6	74,5	4,3
omm1070	61,9	1,6	60,1	4,3
omm1108	70,2	4,2	65,5	10,4
omm1279	74,5	4,3	69,2	11,5
omm1046	66,1	3,6	60,6	6,1
omm1083	54,0	2,0	55,8	7,0
omm1130	33,3	6,1	32,3	12,9

Specifičnih pogostih alelov za posamezne linije domorodnih šarenk (aleli, ki tudi pri drugih linijah niso prisotni kot ne-redki), ki bi se pojavljale tudi pri tujerodnih populacijah, nismo zasledili (Slika 11).



Slika 11: Polimorfizmi posameznih mikrosatelitnih lokusov po posameznih skupinah šarenk. Ploščina kroga označuje relativno frekvenco posameznega alela. Frekvence redkih alelov, glede na skupino niso

prikazane (glej Preglednica 8). H-EU - šarenke iz evropskih ribogojnic; H-USA – šarenke iz kalifornijskih ribogojnic; NAT – pristne naturalizirane populacije; SUP – populacije s podpornim vlaganjem; M-RT – šarenke iz porečja reke McCloud; HIB – šarenke iz spodnjega dela porečja reke McCloud (križanci); SAC-RBT – šarenke iz porečja reke Sacramento; PIT-RT – šarenke iz porečja reke Pit; EL – šarenke iz jezera Eagle; NGB-RBT – šarenke iz severnega dela endoreičnega porečja Great Basin.

Figure 11: Microsatellite length polymorphism, bubble size corresponds with allele frequency. Only frequencies of non-rare alleles are presented here (see Table 8). H-EU – European hatchery rainbow trout; H-USA – Californian hatchery rainbow trout; NAT – genuine self-sustaining populations; SUP – populations with supportive stocking; M-RT – McCloud River redband trout; HIB – Lower McCloud rainbow trout (hybrid populations); SAC-RBT – Sacramento River Basin coastal rainbow trout; PIT-RT Pit River redband trout; EL – Eagle Lake rainbow trout; NGB-RBT – Northern Great Basin redband trout.

Genetska pestrost

Pričakovane heterozigotnosti (H_E) kot tudi skupne pričakovane heterozigotnosti (H_T) so bile višje od opažene heterozigotnosti (H_O) tako pri domorodnih ($H_E = 0,840$; $H_O = 0,669$; $H_T = 0,583$) kot tudi pri tujerodnih populacijah ($H_E = 0,779$; $H_T = 0,656$; ($H_O = 0,641$), pri čemer so bile razlike med obema heterozigotnostima višje pri tujerodnih populacijah (Preglednica 9). Pri obravnavi na nivoju skupin domorodnih in tujerodnih šarenk pa so razlike največje pri šarenkah iz porečja reke Pit (PIT-RT; ($H_E = 0,848$; $H_T = 0,724$; $H_O = 0,601$) oz. pri šarenkah iz kalifornijskih ribogojnic (H-USA; ($H_E = 0,764$; $H_T = 0,623$; $H_O = 0,533$), medtem ko so najmanjše pri križancih v spodnjem delu porečja reke McCloud (HIB; $H_E = 0,779$; $H_T = 0,720$; $H_O = 0,689$) oz. pri šarenkah iz evropskih ribogojnic (H-EU; $H_E = 0,752$; $H_T = 0,689$; $H_O = 0,705$). F_{IS} indeks za celotni podatkovni niz je bil 0,055, medtem ko je bil za tujerodne populacije le 0,003, pri domorodnih populacijah pa je bil kar 0,138 (Preglednica 9). Vrednosti F_{IS} indeksa so nakazovale prisotnost podstruktur tudi na nivoju posameznih linij (Preglednica 9), medtem ko so bile na nivoju vzorčnih mest izračunane vrednosti nekoliko nižje (Priloga B).

Preglednica 9: Populacijski parametri šarenk, izračunani za vse vzorce skupaj, ločeno za tujerodne in domorodne populacije in za vse tujerodne kategorije in domorodne linije (H-EU - šarenke iz evropskih ribogojnic; H-USA – šarenke iz kalifornijskih ribogojnic; NAT – pristne naturalizirane populacije; SUP – populacije s podpornim vlaganjem; M-RT – šarenke iz porečja reke McCloud; HIB – šarenke iz spodnjega dela porečja reke McCloud (križanci); SAC-RBT – šarenke iz porečja reke Sacramento; PIT-RT – šarenke iz porečja reke Pit; EL – šarenke iz jezera Eagle; NGB-RBT – šarenke iz severnega dela endoreičnega območja Great Basin). Število osebkov (N); povprečna opažena (H_O) in pričakovana heterozigotnost (H_E) na vzorčno mesto in pričakovana skupna heterozigotnost (H_T) (po združitvi vzorčnih mest znotraj skupine); povprečno število alelov na lokus oz. alelna pestrost (A_R); in povprečja koeficienta parjenja v sorodstvu (F_{IS}), populacijskega fiksacijskega indeksa (F_{IT}) in subpopulacijskega fiksacijskega indeksa (F_{ST}).

Table 9: Population parameters for all rainbow trout samples, for native and translocated populations and for all defined groups (H-EU – European hatchery rainbow trout; H-USA – Californian hatchery rainbow trout; NAT – genuine self-sustaining populations; SUP – populations with supportive stocking; M-RT – McCloud River redband trout; HIB – Lower McCloud rainbow trout (hybrid populations); SAC-RBT – Sacramento River Basin coastal rainbow trout; PIT-RT Pit River redband trout; EL – Eagle Lake rainbow trout; NGB-RBT – Northern Great Basin redband trout). N, number of individuals; H_O , observed heterozygosity averaged across subpopulations; H_E , expected heterozygosity averaged across subpopulations; H_T , total expected heterozygosity of pooled subpopulations; A_R , allelic diversity; average inbreeding coefficient F_{IS} ; average overall fixation index F_{IT} ; and average fixation index (F_{ST}).

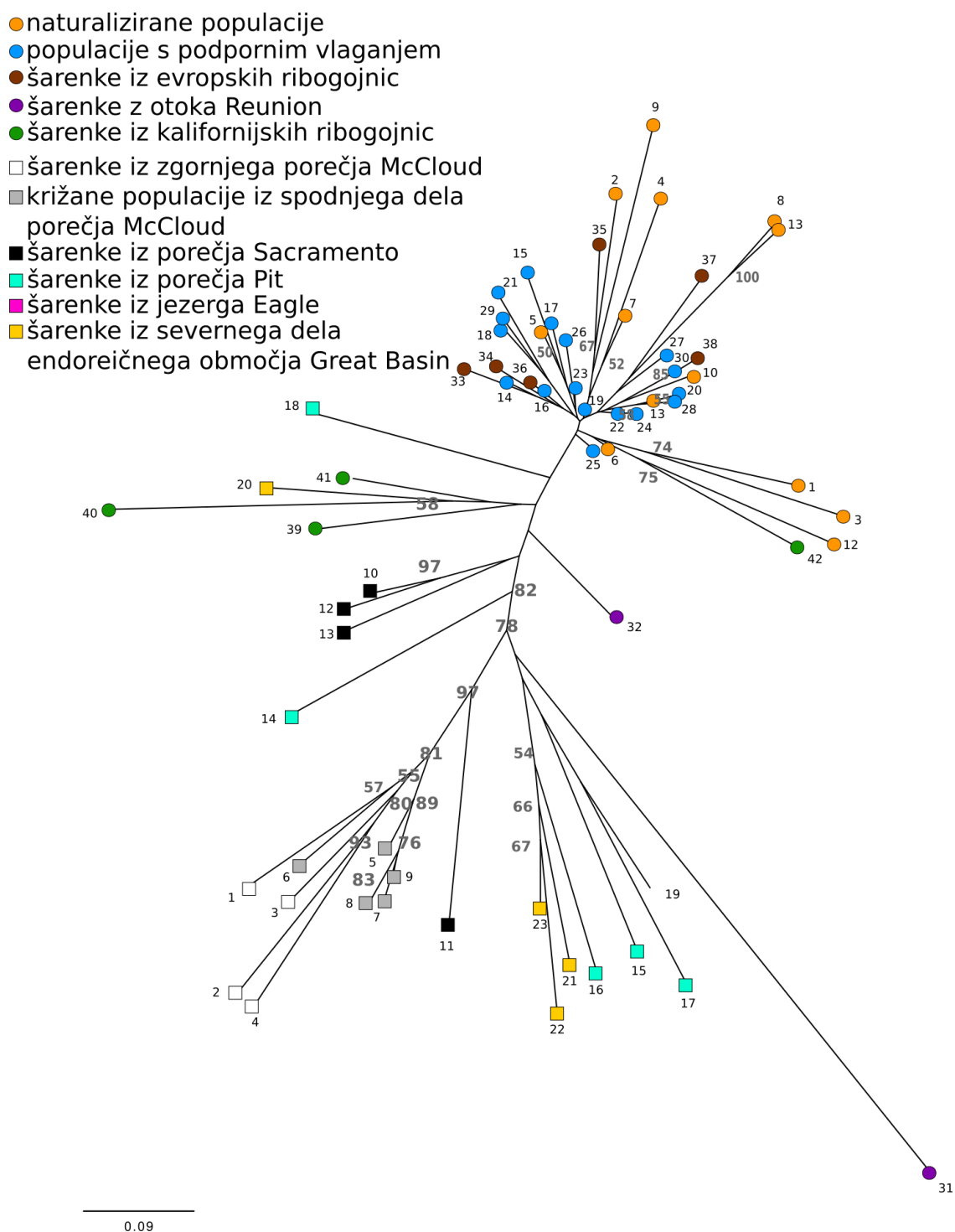
	N	H_O	H_E	H_T	A_R	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
Vsi vzorci	1738	0,613	0,844	0,656	58,9	0,055	0,018	0,014
Tujerodne populacije	944	0,641	0,779	0,648	30,9	0,003	0,180	0,177
H-USA	119	0,533	0,764	0,623	20,1	0,102	0,279	0,196
H-EU	123	0,705	0,752	0,689	13,9	-0,025	0,072	0,096
NAT	284	0,586	0,757	0,575	17,0	-0,024	0,248	0,264
SUP	418	0,695	0,761	0,696	19,8	-0,009	0,099	0,091
Domorodne populacije	794	0,583	0,840	0,669	54,0	0,138	0,321	0,213
M-RT	192	0,411	0,597	0,455	12,9	0,121	0,337	0,235
HIB	157	0,689	0,779	0,720	25,2	0,083	0,144	0,067
SAC-RBT	119	0,651	0,838	0,767	27,4	0,135	0,210	0,088
PIT-RT	110	0,601	0,848	0,724	27,3	0,171	0,296	0,151
EL	86	0,665	0,853		17,8			
NGB-RT	130	0,604	0,820	0,711	23,4	0,158	0,284	0,147

Med tujerodnimi populacijami je populacijsko drevo (Slika 12) v splošnem pokazalo malo razlik, izjema so populacije z otoka Reunion, kjer posebno mesto zasedajo šarenke iz reke Bras de Ste Suzanne (Slika 12, tujerodni osebek 31). Evropske tujerodne populacije so namreč združene v sicer slabo podprto, a homogeno skupino, in so najbolj podobne šarenkam iz ribogojnice Mount Whintey, naturalizirana populacija iz Bras de Ste Suzanne pa tvori dobro podprt klad s šarenkami iz zgornjega dela porečja reke Pit, severnega dela endoreičnega območja Great Basin in jezera Eagle. Nenautralizirana populacija iz reke Bras Caron z otoka Reunion zavzema vmesni položaj. Na drevesu je še dobro podprt klad šarenk iz porečja reke McCloud, medtem ko je položaj obalnih populacij šarenk iz kalifornijskih ribogojnic in nekaterih drugih populacij slabo podprt.

Število skupin za DAPC analizo smo na osnovi desetih zaporednih analiz z BIC ocenili na 20, medtem ko smo na osnovi α vrednosti zadržali 27 glavnih komponent (54,5 % celotne variance) in vse diskriminantne funkcije (19).

DAPC razkrije strukturo znotraj vzorcev, vendar jih ne razdeli v ločene gruče. To kaže na slabo ločitev med populacijami in visoko stopnjo migracije med sosedskimi populacijami, kar opišemo z modelom stopnih kamnov (angl. stepping stone migration model). Po prvi diskriminantni funkciji ločimo med tremi gručami: šarenke iz porečja reke McCloud (1), evropske šarenke in šarenke iz kalifornijskih ribogojnic skupaj (2) ter ostale šarenke (3). Po drugi diskriminanti funkciji ločimo med šarenkami z otoka Reunion, predvsem populacija iz Bras de Ste-Suzanne, šarenkami iz zgornjega dela porečja reke Pit, predvsem populacija iz potoka Parker, nekaterimi osebki iz jezera Eagle in posamični osebki iz severnih pritokov McCloud, Sacramento in Pit. Po tretji diskriminanti ločimo šarenke iz porečja reke Pit in šarenke iz severnega dela območja Great Basin od ostalih populacij (Slika 13 in 15). Na osnovi višjih diskriminantnih funkcij lahko znotraj šarenk iz kalifornijskih ribogojnic ločimo plemensko jato Pit (ni isto kot šarenke iz porečja reke Pit!) od ostalih ribogojnic (četrti diskriminantna funkcija), znotraj šarenk iz porečja reke McCloud ločimo tiste iz potoka Sheepheaven od ostalih (peta diskriminantna funkcija), medtem ko znotraj šarenk iz porečja reke Sacramento ločimo tiste iz potoka Butcherknife od ostalih (šesta diskriminantna

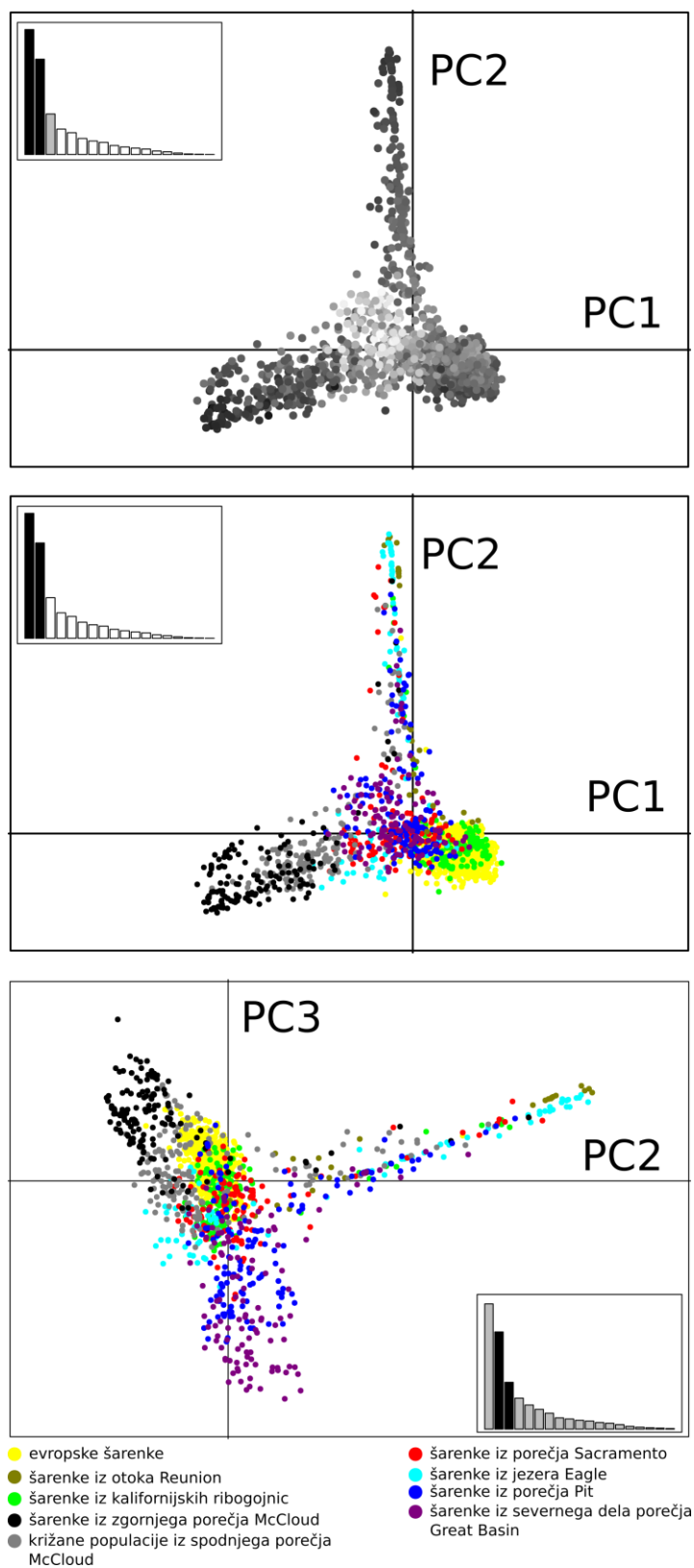
funkcija) (Slika 14). Pri DAPC analiz smo na nivoju evropskih populacij ni razvidne nobene strukturiranosti (ni prikazano).



Slika 12: Populacijsko drevo, narisano na osnovi deljenih alelnih razlik s sosedsko pridružitveno metodo. S krožci so označene tujerodne populacije in s kvadrati domorodne. Številke vzorčnih mest se ujemajo s številkami v Prilogi B. Podpora v odstotkih je zabeležena le pri cepitvah, kjer je preseгла 50 %. Dolžine

vej so sorazmerne s povprečnimi genetskimi distancami. Merilo prikazuje razmerje genetske distance z dolžino vej.

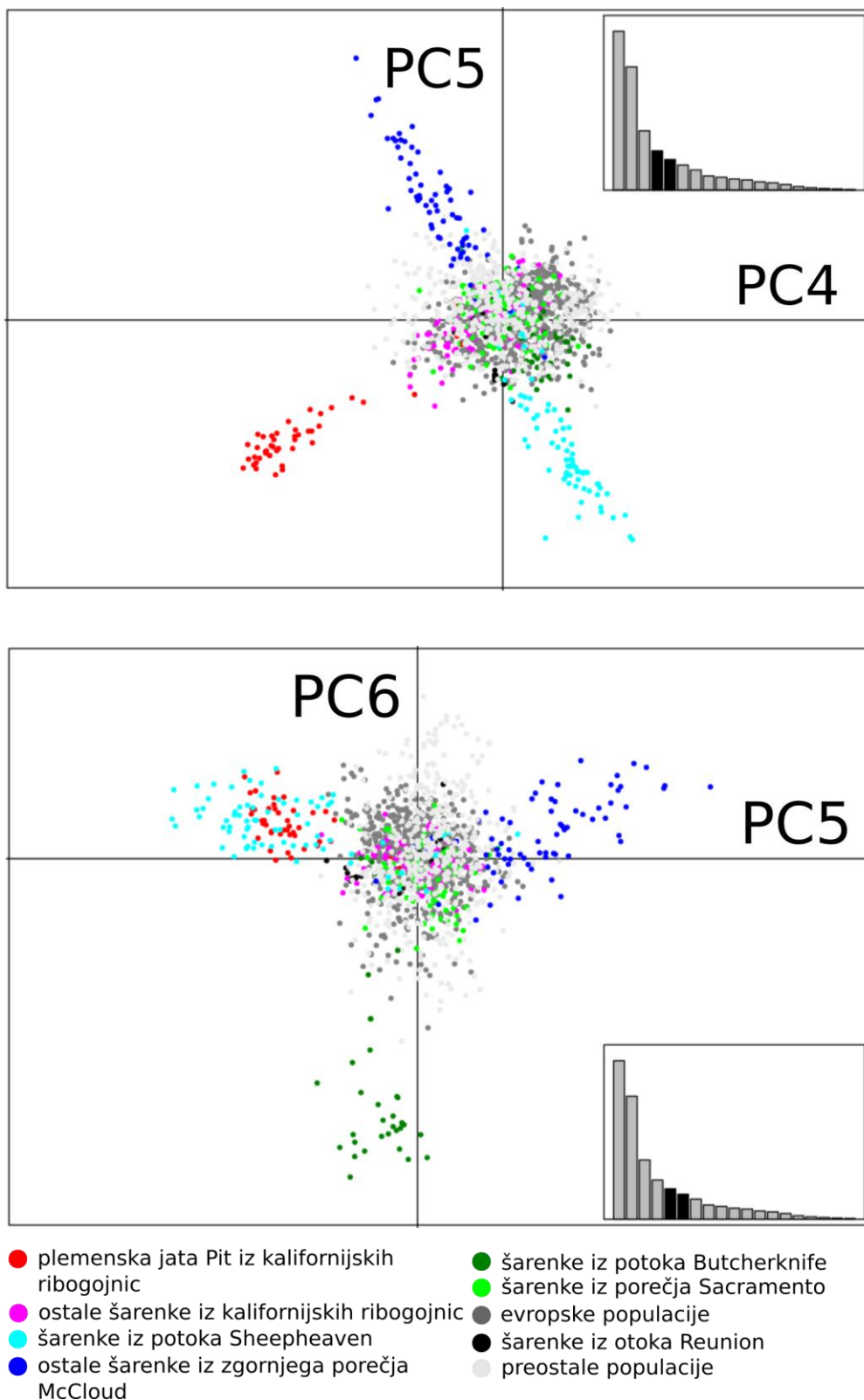
Figure 12: Neighbour-joining population tree based on shared allelic distances. Translocated populations are marked with circles and native with squares: genuine self-sustaining populations (orange); populations with supportive stocking (blue); rainbow trout from La Réunion (violet); European hatchery population (brown); Californian hatchery lineages (green); McCloud redband trout (white); Hybrids from Lower McCloud (grey); Sacramento River Basin coastal rainbow trout (black); Pit River redband trout (turquoise); Eagle Lake rainbow trout (magenta); Northern Great Basin Redband trout (yellow). Numbers of sampling sites can be found in Appendix B. Bootstrap support is indicated only when higher than 50 %. Branch length is proportional to average shared distances. The scale gives the relations between the genetic distance and branch length



Slika 13: Grafi diskriminantne analize glavnih komponent. Na zgornjem grafu je prikazana razporeditev vzorcev po prvih treh diskriminantah funkcijah. Medtem ko je razporeditev po prvih dveh

diskriminantnih funkcijah prikazana s položajem v koordinatnem sistemu, je razporeditev po tretji funkciji prikazana s svetlobno lestvico od črne proti beli – svetlejši odtenek predstavlja višje vrednosti. Na srednjem in spodnjem grafu je prikazana razporeditev po prvih dveh in na spodnjem po drugi in tretji diskriminantni funkciji. V srednjem in spodnjem grafu različne barve označujejo različne skupine vzorcev. Izbrane linearne diskriminante in lastne vrednosti diskriminantne analize so prikazane v okvirčku znotraj grafov.

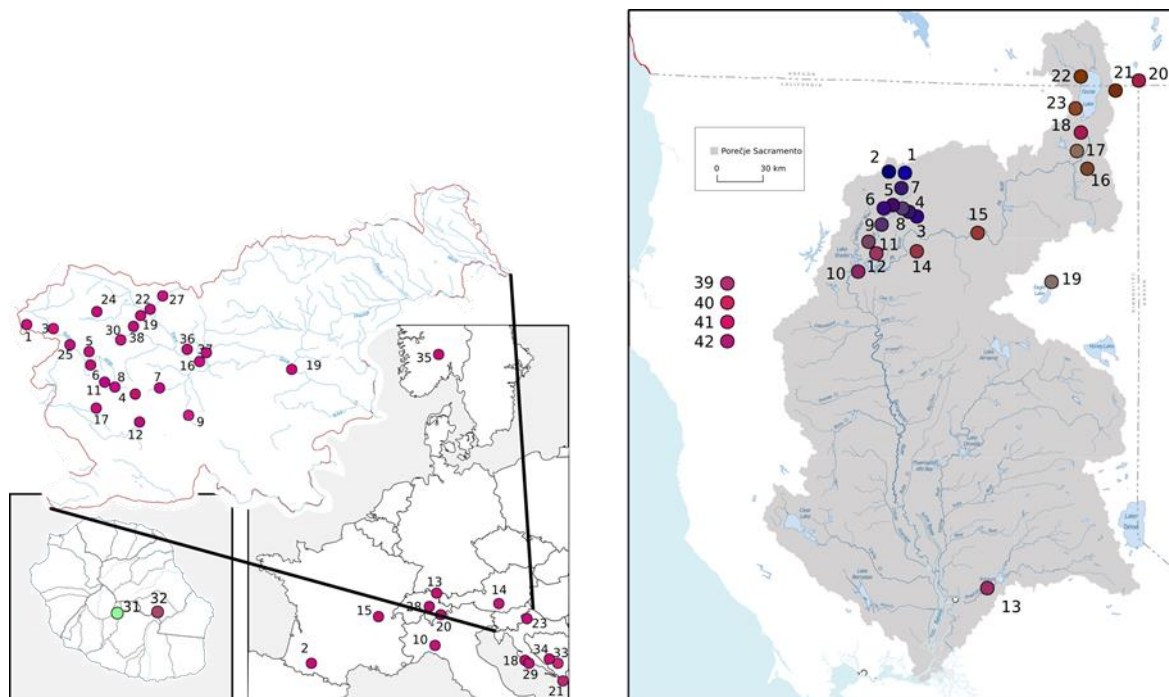
Figure 13: Scatterplots of the DAPC. The upper scatterplot gives the first three discriminant functions of the DAPC. The first two functions are represented by their position in the scatterplot, while the third one is represented by greyscale – light shades represent high values. The middle scatterplot gives the first two discriminant functions, while the bottom one the second and third one. In the right and bottom scatterplot, sample origin is represented by different colours: European rainbow trout (yellow), Réunion rainbow trout (dark green); Californian hatchery lineages (light green), McCloud redband trout (black); Hybrids from Lower McCloud (grey); Sacramento River Basin coastal rainbow trout (red); Eagle Lake rainbow trout (turquoise); Pit river redband trout (blue); rainbow trout from northern Great Basin (violet). Used linear components of DAPC and discriminant analyses eigenvalues is given in squared barplots.



Slika 14: Grafa diskriminantne analize glavnih komponent po višjih diskriminantnih funkcijah.

Na levem grafu so prikazane vrednosti po četrti in peti diskriminanti funkciji DAPC, na desnem grafu pa po peti in šesti diskriminanti funkciji.

Figure 14: Scatterplots of the DAPC according to higher discriminant functions. Left scatterplot shows the values according to the fourth and fifth discriminant function of the DAPC and the right shows the values according to the fifth and sixth discriminant function. Samples are colour coded according to their origin: Pit River hatchery Strain (red); other Californian hatchery strains (magenta); Sheepheaven Creek redband trout (turquoise); other McCloud River redband trout populations (blue); Butcherknife Creek rainbow trout (dark green); other Sacramento River coastal rainbow trout (light green); European rainbow trout (dark grey); Réunion rainbow trout (black); other rainbow trout (light grey).

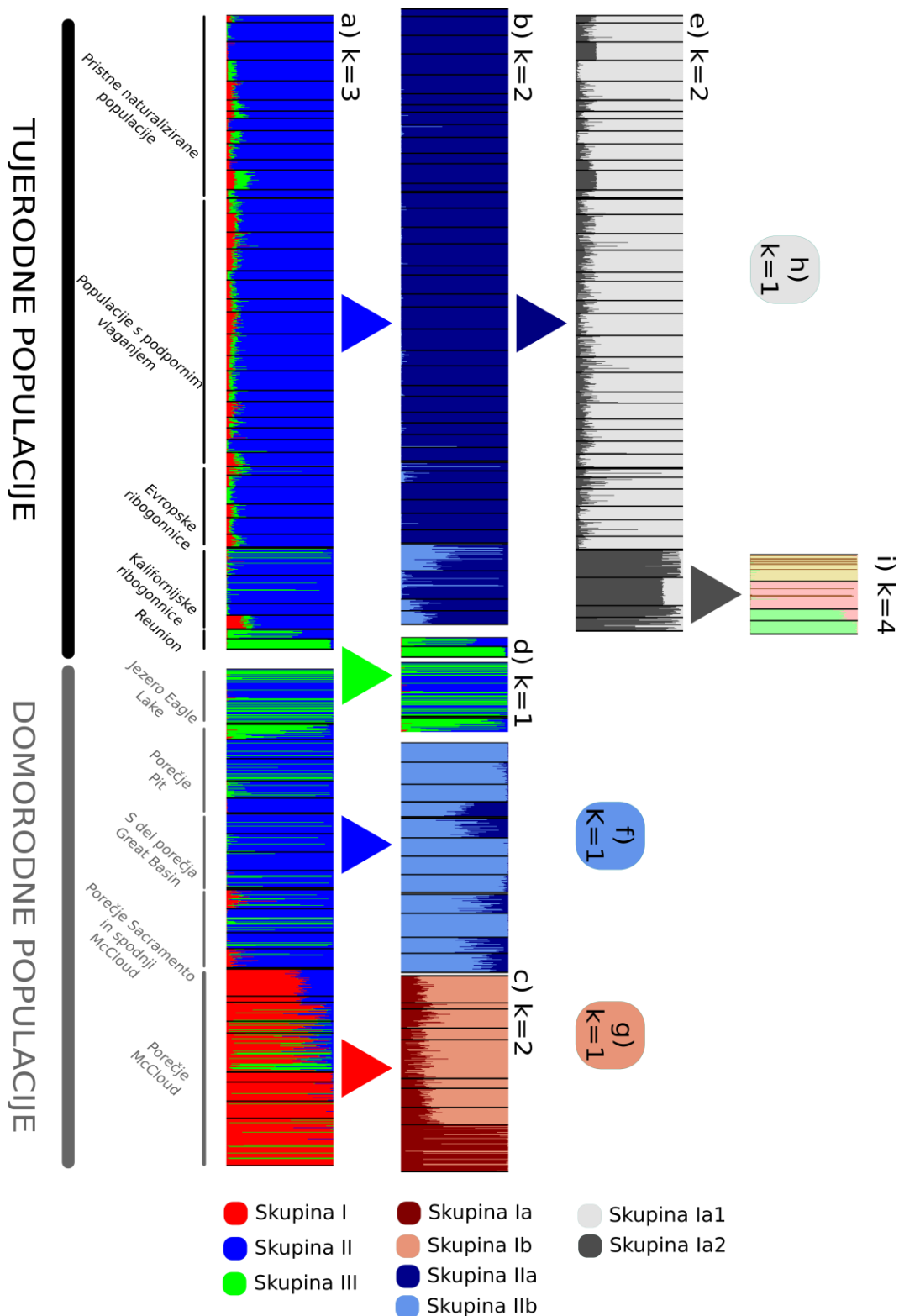


Slika 15: Diskriminantna analiza glavnih komponent na zemljevidu s tujerodnimi in domorodnimi vzorčnimi mesti. Na zemljevidu so za vzorčna mesta z barvami predstavljene povprečne vrednosti prvih treh diskriminantnih funkcij. Vsaki funkciji ustreza ena barvna komponenta po sistemu RGB (prva funkcija – rdeča, druga funkcija – zelena, tretja funkcija – modra), zaradi česar so genetsko podobne populacije podobne barve. Na levem zemljevidu so prikazana vzorčna mesta tujerodnih (Evropa in Reunion), na desnem pa domorodnih populacij. Številke vzorčnih mest se ujemajo s tistimi iz Priloge B.

Figure 15: Colourplot of the DAPC of native and translocated sampling sites. The colourplot represents the first three discriminant functions of the DAPC. Each dot corresponds to a sampled population. Each discriminant function is recorded as intensities of a given colour channel of the RGB system: red (first PC), green (second PC), and blue (third PC). These channels are mixed to form colours representing the genetic similarity of populations. Translocated populations from Europe and Réunion are shown on the left map and native populations on the right map. Numbers of sampling sites correspond to numbers in Appendix B.

Na podlagi analize podatkovnega niza v programu STRUCTURE smo se na osnovi ΔK statistike pri domorodnih populacijah ($K = 3$, $\Delta K = 822$; Priloga F j), odločili razdeliti tudi združene podatke v tri skupine. Na nivoju združenega podatkovnega prenizke ($K = 3$, $\Delta K = 1,0$; $K = 5$, $\Delta K = 2,4$; Priloga F a) pa tudi samo na nivoju tujerodnih populacijah (dva vrhova; $K = 3$, $\Delta K = 11,1$; $K = 5$, $\Delta K = 8,3$; Priloga F e) so bile vrednosti ΔK namreč prenizke za zanesljivo določanje števila skupin (Priloga F). Pravilnost naše izbire ($K = 3$) smo potrdili tudi s paramtrom H' v programu CLUMPP. Pri domorodnih populacijah in pri združenem podatkovnem nizu je bila povprečna vrednost tega parametra pri $K = 3$ visoka (0,99) in nizka pri $K = 5$ (0,81 za domorodne in 0,76 za združen podatkovni niz), medtem ko je bila pri tujerodnih populacijah nizka pri obeh vrednostih K ($K = 3$, $H' = 0,61$; $K = 5$, $H' = 0,62$).

Če glede na Evannovo metodo privzamemo, da je število skupin tri, je pri domorodnih šarenkah razvidna dobra ločitev med tistimi iz porečja reke McCloud (skupina I - rdeča barva, Slika 16) in ostalimi šarenkami iz porečja reke Sacramento (skupina II – modra barva, Slika 16). Največ posameznikov, ki pripadajo tretji skupini, pa najdemo v jezeru Eagle in v zgornjem delu porečja reke Pit, predvsem pri populaciji iz potoka Parker, in deloma v pritokih jezera Goose (skupina III – zelena barva, Slika 16). V porečju reke McCloud, predvsem v sami reki in nekaterih drugih manj odročnih vzorčnih mestih, vidimo mešanico genotipov, kar je posledica vlaganja. Pri tujerodnih šarenkah vidimo, da vse evropske populacije po deležu v veliki večini pripadajo skupini, ki je v porečju reke Sacramento dominantna, populacije z otoka Reunion –predvsem naturalizirana populacija Bras de Ste-Suzanne – pa pripadajo skupini III, ki je v porečju reke Sacramento najredkejša (Slika 16, levi stolpec).



Slika 16: Hierarhična analiza (STRUCTURE) populacijske strukture za domorodne in tujerodne populacije šarenk skupaj. Črne črte ločujejo posamezna vzorčna mesta, delež pripadnosti vzorcev

(vodoravne črte) posamezni skupini pa je označen s K barvnimi segmenti. Puščice označujejo potek hierarhične analize. Vrednosti ΔK so prikazane v Prilogi F (a - i).

Figure 16: Hierarchical structure analysis (STRUCTURE) of native and translocated rainbow trout analysed together. Each individual is represented by a thin horizontal line, which is partitioned into K-coloured segments representing individual's estimated membership fractions in K clusters. Black lines separate individuals from different sampling sites. Arrows delineate the progress of the hierarchical approach, where subsets of the data were subsequently analysed. ΔK for all clusters are plotted in Appendix F (a - i).

V drugem koraku smo s hierarhično analizo pri šarenkah iz porečja reke McCloud (skupina I) potrdili prisotnost dveh podskupin. Tako smo ločili potok Sheepheaven (skupina Ia) od ostalih vzorčnih mest (Skupina Ib). Znotraj najbolj dominantne Skupine II smo ločili med tujerodnimi (Skupina IIa) in domorodnimi šarenkami (Skupina IIb), medtem ko znotraj tretje, najredkeje zastopane skupine, nismo našli nove strukturiranosti (Slika 16, drugi stolpec). Znotraj tujerodnih šarenk osebki iz kalifornijske ribogojnice zasedajo vmesno pozicijo med evropskimi in domorodnimi šarenkami, saj pri njih vidimo mešanico genotipov. V tretjem koraku pri domorodnih šarenkah nismo našli novih podstruktur, pri tujerodnih pa smo ločili med evropskimi šarenkami (Skupina Ia1) in tistimi iz kalifornijskih ribogojnic (Skupina Ia2; Slika 16, tretji stolpec), kar je nakazano že v prejšnjem koraku. V zadnjem koraku smo šarenke iz kalifornijskih ribogojnic razdelili v tri skupine. Medtem ko ribogojnica Mount Shasta in Mount Whitney pripadata eni skupini, ribogojnica Coleman in Pit pripadata vsaka svoji skupini. V ribogojnici Coleman in Pit smo nekaj posameznikov uvrstili vsakega v svojo svojo skupino (Slika 16, desni stolpec). Razslojenost smo pri teh dveh populacijah videli tudi, ko smo vzorčna mesta analizirali ločeno.

Pri analizi posameznih vzorčnih mest smo prisotnost podstruktur odkrili na večini domorodnih vzorčnih mest, medtem ko na tujerodnih vzorčnih mestih podstrukture niso bile razvidne (rezultati niso prikazani).

5 RAZPRAVA

5.1 RAZŠIRJENOST NATURALIZIRANIH POPULACIJ ŠARENKE V EVROPI

Rezultati prvega sklopa raziskav »Razširjenost naturaliziranih populacij šarenke v Evropi« so bili predstavljeni v članku »Rainbow Trout in Europe: Introduction, Naturalization, and Impacts« (Stanković in sod., 2015). V članku smo poleg pregleda zgodovine prenašanja in izvora ribogojniških šarenk, evropskih nacionalnih praks upravljanja in vplivov tujerodnih populacij na domorodne vrste in ekosisteme zbrali in kritično ocenili podatke o razširjenosti naturaliziranih populacij šarenk v Evropi. Naša analiza je pokazala veliko večjo razširjenosti naturaliziranih populacij, kot so to predvidevali drugi avtorji (Blanchet in sod., 2007; Fausch in sod., 2001; Fausch, 2007b; Landergren, 1999; Uiblein, 2001). Fausch in sod. (2001) in Fausch (2007b) so pri raziskovanju mehanizmov, ki omejujejo naturalizacijo šarenke, izhajali iz predpostavke, da je v Evropi prisotnih le nekaj naturaliziranih populacij, in sicer v Skandinaviji, srednji Evropi (Bodensko jezero) in v Veliki Britaniji. Na osnovi uspeha naturalizacije na Japonskem in v Severni Ameriki so Fausch in sod. (2001) zaključil, da naturalizacijo najbolj omejuje interakcija med hidrološkim režimom in časom izvalitve mladice. Naturalizacija naj bi bila tako bolj uspešna na območjih, ki imajo hidrološki režim podoben tistemu na pacifiški obali Severne Amerike, kjer reke poplavlajo pozimi, poleti pa imajo nizek vodostaj – takšne razmere najdemo tudi na južnih Apalačih in deloma na otoku Hokaido na Japonskem. Naturalizacija pa naj bi bila manj uspešna na območjih, kjer so poplave pogostejše spomladi in poleti (Kolorado, ZDA in Honshu na Japonskem). Kjer se privzeta slab uspeh naturalizacije v Evropi ni skladal s tem modelom, so to razložili kot posledico visokega pritiska rekreativnega ribolova, manjšo rezistenco na avtohtone bolezni, kot je vrtoglavost, ki jo povzroča *Myxosoma cerebralis*, in kompeticije z avtohtonimi salmonidni. V Veliki Britaniji ti zaključki najverjetneje držijo (Fausch, 2007b), saj naša raziskava tam ni ugotovila prisotnosti večjega števila naturaliziranih populacij, medtem ko predvsem v predalpskem svetu predpostavka o odsotnosti naturaliziranih populacij ne drži.

S podrobnim pregledom znanstvene in strokovne literature, dostopne v angleščini in drugih evropskih jezikih, smo prisotnost vsaj ene naturalizirane populacije ugotovili v

16-ih evropskih državah (Norveška, Švedska, Finska, Nemčija, Švica, Lihtenštajn, Avstrija, Madžarska, Slovenija, Hrvaška, Bosna in Hercegovina, Združeno Kraljestvo, Francija, Italija, Španija in Portugalska). Ugotavljanje razširjenosti naturaliziranih populacij šarenk je težavno, (i) ker je drst pri nekaterih populacijah prisotna le vsakih nekaj let; (ii) ker je poleg razmnoževanja v naravi pogoj za uspešno naturalizacijo tudi obstoj vseh starostnih razredov od zaroda pa do spolne zrelosti – obstajajo primeri, ko so kljub redno opaženemu razmnoževanju populacije izginile po zaključku podpornega vlaganja (Wiesner in sod., 2010); (iii) ker so redni ihtiološki pregledi z elektroizlovi v Evropi redki; ter (iv) zaradi možne napačne identifikacije mladic šarenk. Navkljub omejitvam lahko zaključimo, da naturalizirane populacije šarenk večinoma naseljujejo spremenjene vode hribovitega sveta, kjer avtohtoni salmonidi težje konkurirajo. Najvišjo gostoto najdemo v predalpskem svetu srednje Evrope, predvsem v avstrijskih Alpah in v Sloveniji, na severnem Primorskem, v alpskem delu Rena in v drugih pritokih Bodenskega jezera (Lihtenštajn, Švica, Avstrija, Nemčija), medtem ko je manj populacij prisotnih na Bavarskem v Nemčiji, v severni Italiji in jugovzhodni Franciji. Druga gričevnata območja z naturaliziranimi populacijami so Dinaridi, Apenini, francoski Pireneji, Skandinavija in sredogorje severne Madžarske. Med vsemi območji pa so naturalizirane populacije najpogostejše v Sloveniji in Avstriji, kjer jih pogosto najdemo tudi v nespremenjenih oz. dobro ohranjenih vodnih telesih.

Pogostost naturaliziranih šarenk v Sloveniji se v grobem sklada z modelom, ki ga uporabljajo Fausch in sod. (2001), Fausch (2007a) in Fausch (2007b). Po tem modelu naturalizacijo šarenk v Evropi namreč omejuje predvsem poplavni režim, saj poplave v obdobju po izvalitvi mladic zelo negativno vplivajo na njihov preživetje. V Sloveniji je v splošnem poplavni režim podoben tistemu na otoku Hokaido, kjer Fausch in sod. (2001) poročajo o zmernem uspehu naturalizacije šarenk. Pri nas so poplave značilne za prvi del pomladi in jesen, medtem ko je vodostaj v pozni pomladi in zgodnjem poletju ponavadi nizek (Fratnar, 2008, Vincenzi in sod., 2011), kar zadostuje za preživetje mladic. Razmerja v Avstriji so nekoliko drugačna, saj so tam poplave v pozni pomladi in zgodnjem poletju zaradi taljenja snega v gorah pogostejše (Parajka in sod., 2010).

Povzamemo lahko, da so naturalizirane populacije šarenke v nekaterih delih Evrope, predvsem v predalpskem svetu veliko pogostejše, kot je to veljalo doslej. Na tem mestu zbrani podatki o razširjenosti in statusu šarenke v Evropi predstavljajo izhodišče za dolgoročni spremljanje uspeha naturalizacije pri tej tujerodni sladkovodni ribji vrsti. Pravo tveganje, ki ga predstavljajo posamezne tujerodne vrste, lahko namreč ocenimo le s pomočjo dolgoročnega spremljanja in na znanstveno podprtih osnovah.

5.2 POPULACIJSKO GENETSKA STRUKTURA DOMORODNIH ŠARENK V SEVERNI KALIFORNIJI, KI JE POMEMBNA ZA RAZUMEVANJE ODNOSOV MED TUJERODNIMI POPULACIJAMI

V okviru raziskav smo preverjali populacijsko strukturo domorodnih šarenk v porečju reke Sacramento, saj smo na osnovi preliminarnih analiz zaključili, da to območje predstavlja najverjetnejši izvor tujerodnih populacij. Na osnovi DAPC in analize v programu STRUCTURE smo potrdili izsledke predhodnih raziskav (Simmons in sod., 2009; Simmons, 2011), ki šarenke iz zgornjega dela porečja reke McCloud obravnavajo kot posebno taksonomsko enoto. V to skupino poleg čistih populacij iz potokov Sheepheaven, Edson, Mooshead in Dry lahko uvrstimo še hibridne populacije iz potokov Tate, Blue Heron, McKay, Raccon in šarenke iz samega zgornjega dela reke McCloud. Poleg naštetih populacij, ki smo jih vključili v analizo, ta skupina zagotovo obsega še potoka Swamp in Trout, kamor so šarenke vnesli iz potoka Sheepheaven (Simmons in sod., 2009). V manjšem deležu so za zgornji del porečja reke McCloud značilni genotipi, prisotni tudi pri mešanih genotipih (angl. mixed genotypes) iz akumulacije McCloud Reservoir in iz reke North Fork American River. Slednja je pritok spodnjega dela Sacramenta, kjer živijo rezidentne obalne šarenke (*O. m. irideus*) (Simmons in sod., 2009).

Čeprav smo uporabljali podoben podatkovni niz, kot ga je v svoji doktorski raziskavi uporabljala Simmons (2011), pa med njenimi in našimi izsledki obstaja pomembna razlika. Medtem ko smo mi na osnovi LnP(D) in ad hoc statistike ΔK določili obstoj treh skupin šarenk iz porečja reke Sacramento (rezidentne šarenke iz zgornjega dela porečja reke McCloud – skupina I; populacije iz večjega dela porečja reke Sacramento – skupina II; in jezerske populacije iz jezera Eagle ter rezidentne šarenke iz zgornjega

dela porečja reke Pit – skupina III), Simmons (2011) predvideva obstoj zgolj dveh skupin (rezidentne šarenke iz zgornjega dela porečja reke McCloud; in preostale populacije iz porečja reke Sacramento vključno z jezerom Eagle in z zgornjim delom porečja reke Pit). Razlike v oceni števila skupin verjetno izhajajo iz različnih izhodiščnih modelov. V svoji analizi smo uporabili LOCPRIOR model, ki kot dodatno spremenljivko upošteva različne izvore vzorčnih mest in predvideva, da je verjetnost uvrstitve vzorca v skupino različna med vzorčnimi mesti. Simmons (2011) v svojem delu ni specificirala, kateri model je uporabila. Ko smo analizo ponovili še brez LOCPRIOR modela, je $K = 2$ rahlo pridobil na podpori glede na ΔK statistiko (rezultati niso prikazani). LOCPRIOR model je primeren predvsem pri rekonstrukciji odnosov, ko imamo na razpolago manj podatkov (lokusov) oz. so ti manj informativni in je divergenca med populacijami nižja (Hubisz in sod., 2009). Za uporabo LOCPRIOR modela smo se odločili, ker analiza frekvence alelov ni razkrila nobenih pogostih alelov, ki bi bili karakteristični za *a priori* določene skupine domorodnih šarenk, DAPC pa je pokazala le zabrisane meje med skupinami domorodnih šarenk. Genski pretok med posameznimi linijami je v splošnem značilen za evlucijsko zgodovino vrste *O. mykiss*, zaradi česar tu ni tako dobro ločenih podvrst, kot jih najdemo pri vrsti *O. clarkii* (angl. cutthroat trout), ki je kolonizirala območja bolj v notranjosti pacifiškega povodja. Na obstoj več kot le dveh skupin šarenk v porečju reke Sacramento lahko sklepamo tudi iz visokih paroma primerjanih vrednosti F_{ST} in na osnovi koeficienta parjenja v sorodstvu. Poleg tega na večjo strukturiranost kažejo tudi nekateri parametri, o katerih v svojem delu o populacijski strukturi šarenk porečja reke Sacramento na osnovi SNP-jev poročajo Simmons in sod. (2009). Čeprav so pri STRUCTURE analizi omenjeni avtorji predstavili zgolj rezultate za $K = 2$, navajajo visoke vrednosti H' iz programa CLUMPP tudi pri $K = 3$ in $K = 4$. S H' parametrom ocenjujemo podobnost razvrščanja v genetske podskupine med ponovitvami, saj je neponovljivost rezultatov očiten znak odsotnosti prave genetske strukture.

Poseben položaj šarenk iz zgornjega dela porečja reke McCloud, ki smo ga opazil v naši raziskavi, pa se ne sklada z rezultati populacijsko genetske študije na osnovi mikrosatelitov, ki so jo opravili Nielsen in sod. (1999). Tam drevo sosedskega združevanja na osnovi vrednosti R_{ST} ni pokazalo posebnega položaja šarenk iz

zgornjega dela porečja reke McCloud. Posamezne populacije s tega območja so bile skupaj z linijami iz drugih povodij razporejene po celem populacijskem drevesu. Šarenkam iz potoka Sheepheaven so bile sestrške šarenke iz potoka Lassen (pritok jezera Goose), ki jih naša analiza uvršča k šarenkam iz porečja reke Sacramento (brez zgornjega dela porečja reke McCloud). Čeprav so Nielsen in sod. (1999) v svoji študiji uporabili enako število mikrosatelitnih lokusov in primerljivo število vzorcev, so naši rezultati bolj verodostojni. Nielsen in sod. (1999) so za svojo analizo namreč izbrali slabo kombinacijo lokusov, saj so uporabili kar šest parov lokusov, pri katerih so statistično potrdili vezano dedovanje.

Skupina šarenk iz porečja reke Sacramento, ki smo jo naših analizah določili na novo (skupina III), ne predstavlja homogene skupine in ne prevladuje na skoraj nobenem vzorčnem mestu. Ta skupina je dominantna le pri šarenkah iz potoka Parker, ki je pritok zgornjega dela reke Pit, medtem ko so v rahli večini tudi pri šarenkah iz jezera Eagle. Z večjim deležem so genotipi te skupine zastopani še pri šarenkah iz potoka Butcherknife, pri delu vzorcev iz reke McCloud, v nekaterih drugih pritokih zgornjega dela reke Pit (Davis Creek, East Fork Nelson Creek) in deloma tudi v jezeru Goose (Upper Pine Creek, Lassen Creek), ki je del porečja reke Great Basin. Poseben položaj naštetih skupin je potrdila tudi analiza glavnih komponent.

Prisotnost te skupine v porečju reke Sacramento je verjetno posledica sekundarnih stikov z drugimi linijami preko severnega dela porečja reke Great Basin. Hidrološka zgodovina severnega dela porečja reke Great Basin je zelo kompleksna in raznolika. Ker so bila med izmenjavo glacialnih in interglacialnih pleistocenskih obdobij različna območja severnega dela Great Basin povezana z različnimi porečji, so to območje kolonizirale različne linije šarenk. Najprej je iz zahodne smeri pred okoli 100 000 leti to območje preko reke Klamath kolonizirala arhaična linija šarenk (Behnke, 2002; Currens in sod., 2009). Pred 32 000 in ponovno pred 18 000 leti pa je sledila kolonizacija iz porečja reke Columbia. Takrat je bilo to območje na vzhodu povezano z reko Snake (Behnke, 1992; Beranek in sod., 2006; Currens in sod., 2009). Na jugu pa je bilo jezero Goose med izmenjavo glacialnih in interglacialnih pleistocenskih obdobij večkrat povezano z reko Pit (Currens in sod., 2009). Povezave so obstajale tudi med levimi

pritoki zgornjega dela reke Klamath ter desnimi pritoki reke Pit in McCloud, kar se odraža na distribuciji več ribjih vrst (Behnke, 2002). Prisotnost genotipov skupine III v jezeru Eagle lahko ravno tako razložimo s hidrološko zgodovino. To jezero pred približno 4 000 do 2 000 leti povezano z reko Pit (Allison in Bond, 1983). Prisotnost te skupine v porečju reke Sacramento je tako posledica introgresije s šarenkami iz porečja reke Columbia (*O. m. gairdneri*) ali s šarenkami iz zgornjega dela porečja reke Klamath.

Hierarhična analiza je razkrila obstoj podstruktur znotraj šarenk iz zgornjega dela porečja reke McCloud, saj je v drugem koraku prepoznala obstoj dveh skupin. Šarenke iz potoka Shepheaven je analiza uvrstila v svojo skupino in šarenke iz drugih vzorčnih mest zgornjega dela porečja reke McCloud v svojo. Pri slednjih je v manjši meri opazno tudi mešanje genotipov (s šarenkami iz potoka Shepheaven). Genetska struktura šarenk iz zgornjega dela porečja reke McCloud in poseben položaj potoka Sheepheaven se skladata z morfološkimi analizami (Behnke, 1992; Gold, 1977). Na osnovi teh Behnke (2002) zagovarja uvrstitev šarenke iz potoka Sheepheaven v samostojno podvrsto. Behnke (1992) je morfološko primerjal šarenke iz potoka Sheepheaven tudi s šarenkami iz drugih pritokov zgornjega dela porečja reke McCloud (potoki Tate, Edson, Raccon, Moosehead). Čeprav je ugotovil nekatere podobnosti med populacijami, pa je pri nekaterih znakih ugotovil precej razlik, kar je lahko tudi posledica zgodovinskih introgresij ali hibridizacije z vloženimi šarenkami.

Naša analiza je prav tako potrdila rezultate drugih genetskih analiz (i.e., Bagley in Gall, 1998; Simmons in sod. 2009, Simmons, 2011), in sicer da šarenk iz zgornjega dela porečja reke Sacramento (brez zgornjega dela porečja McCloud) ne moremo obravnavati kot samostojne podvrste (*O. m. stonei*), saj jih nismo mogli ločiti od šarenk iz spodnjega dela porečja oz. od obalnih populacij (*O. m. irideus*). Behnke (1992; 2002) uporablja za vse šarenke iz zgornjega dela porečja reke Sacramento, razen za šarenke iz potoka Sheepheaven in iz jezera Eagle, ime *O. m. stonei*. Priznava pa, da slednja ni prava podvrsta, saj naj bi tamkajšnje populacije nastale s hibridizacijo dveh ali več rezidentnih celinskih linij (angl. redband trout) in obalnih šarenk (angl. rainbow trout; *O. m. irideus*). Na prisotnost mešanja genotipov vzdolž celega porečja reke Sacramento

je pokazala tudi naša analiza. Uporabo imena *O. m. stonei* bi bilo potrebno torej na novo definirati.

V sklopu ugotavljanja populacijske strukture domorodnih šarenk v porečju reke Sacramento in okolici smo analizirali izbrane populacije še po odseku spolnega kromosoma OmyY1, saj je zastopanost haplotipov na tem območju slabo poznana. Med analiziranimi populacijami smo odkrili tri haplotipe, od katerih sta dva karakteristična za obalne šarenke, en pa za šarenke iz porečja reke Columbia (*O. m. gairdneri*). Medtem ko smo C1 obalni haplotip našli na vseh vzorčnih mestih, smo nov obalni haplotip C7 našli pri šarenkah z območja Surprise Valley in Warner Valley, na slednji lokaciji pa smo našli tudi celinski I2 haplotip. Warner Valley in Surprise Valley sta endoreični porečji znotraj območja Great Basin, pri čemer šarenke v porečju Surprise Valley verjetno izvirajo iz prenosa šarenk iz porečja Warner Valley (Simmons, 2011). Prevlada C1 obalnega haplotipa med analiziranimi vzorci potrjuje, da celinske populacije šarenke iz severne Kalifornije niso sestrške rezidentnim šarenkam iz porečja reke Columbia (*O. m. gairdneri*), ampak obalnim šarenkam (*O. m. irideus*), ter da so rezidentni način življenja razvile sekundarno. Prisotnost celinskega haplotipa I2 pri šarenkah iz porečja Warner Valley še dodatno potrjuje posebnost severnega dela območja Great Basin in prisotnost sekundarnih stikov s šarenkami iz porečja reke Columbia.

Poznavanje dejanske populacijske strukture je ključno za pripravo dolgoročnih upravljalnih načrtov pri sladkovodnih ribolovnih vrstah. Zaradi majhnih populacij in strukturiranega ter heterogenega življenjskega prostora je pri salmonidih pogosta visoka genetska diferenciacija. Slabo načrtovano upravljanje, predvsem v povezavi z neselektivnim vlaganjem, zabiše razlike med populacijami in subpopulacijami in zmanjša njihovo genetsko diferenciranost in strukturiranost. Pri upravljanju z domorodnimi rezidentnimi populacijami iz porečja reke Sacramento je torej ključno, da ne ločujemo le med šarenkami iz zgornjega porečja McCloud in rezidentnimi šarenkami iz preostalega dela porečja (Simmons, 2011). Posebej moramo namreč obravnavati tudi populacije iz jezera Eagle, iz zgornjega dela reke Pit in deloma tudi iz jezera Goose. Čeprav je intenzivno vlaganje v 20. stoletju zameglilo reprodukcijsko izoliranost med

temi skupinami, jih kljub temu lahko obravnavamo kot evolucijsko pomembne enote (angl. evolutionary significant unit, ESU), oz. na nivoju ZDA kot ločene populacijske segmente (angl. distinct population segment, DPS). DPS so zakonsko opredeljeni kot najnižji taksonomski nivo pri vretenčarjih, ki ga naravovarstvena praksa in zakonodaja v ZDA ščiti (U.S. Endangered Species Act). Kombinacija rezultatov Simmonsove in rezultatov naše raziskave omogoča torej izboljššan uvid v razširjenost in gensko čistost genskih linij šarenke na porečju reke Sacramento.

5.3 IZVOR IN POPULACIJSKA STRUKTURA TUJERODNIH ŠARENK

Osrednji del naših raziskav je bil osredotočen na ugotavljanje izvora in populacijske strukture tujerodnih šarenk. Rezultati raziskav na osnovi mitohondrijske DNA in Y spolnega kromosoma so predstavljeni v članku »Origin and Introduction History of Self-sustaining Rainbow Trout Populations in Europe as Inferred from Mitochondrial DNA and a Y-linked Marker« (Stanković in sod., 2015). V okviru teh raziskav nismo ugotovili nobenih razlik v populacijski strukturi med pristnimi naturaliziranimi populacijami, populacijami s podpornim vlaganjem in šarenkami iz ribogojnic. Pri iskanju izvora tujerodnih populacij pa smo ugotovili, da izvirajo tako iz linij, ki so samo rezidentne, kot tudi iz linij, kjer se pojavljajta obe življenjski strategiji, rezidentna in anadromna.

Populacijska struktura, določena na osnovi mitohondrijske DNA, je pri evropskih šarenkah pokazala nerazčlenjeno populacijo brez očitno izoliranih skupin z nizkimi F_{ST} vrednostmi med vzorčnimi mesti. Med zastopanimi haplotipi smo našli po vsaj en haplotip iz vsake od štirih osnovnih skupin haplotipov, ki so prisotne med domorodnimi populacijami. Na osnovi relativno velikega števila haplotipov ter nukleotidne in haplotipske raznolikosti šarenk v Evropi, o čemer poročajo tudi druge dosedanje raziskave (Gross in sod., 2007; Martsikalis in sod., 2014), lahko ob primerjavi s posameznimi domorodnimi linijami sklepamo na večkratni izvor evropski šarenk. Čeprav nizka genetska diferenciacija evropskih populacij predstavlja potencialen odstop od predpostavljenega večkratnega vnosa, jo lahko razložimo z zelo verjetno predpostavko, da so v Evropo že predhodno izvažali precej heterogene, mešane populacije. V konkretnem primeru to pomeni, da je do mešanja prišlo že v ribogojnicah

pred vnosom v odprte vode. Mešanja različnih plemenskih jat in vnosi iker iz različnih povodij so pri ameriških ribogojnicah večkrat dokumentirani v poročilih agencije ameriške zvezne agencije za ribištvo in drugih dokumentnih (Wales, 1939). Taka mešanja pa so običajna praksa tudi v Evropi. Pristne naturalizirane populacije se od populacij s podpornim vlaganjem razlikujejo le v številu haplotipov, ki jih je pri populacijah s podpornim vlaganjem več, saj redno vlaganje deluje nasproti genetskemu zdrsu.

Dodatno podkrepitev hipoteze, ki zagovarja vnos mešanih populacij, predstavljajo rezultati analize molekularne variance. Ob primerjanju evropskih šarenk s posameznimi domorodnimi linijami vzdolž pacifiške obale Severne Amerike je bila varianca precej visoka; najnižja je bila ob primerjavi s šarenkami iz porečja reke Kern (11 %). Ob primerjanju evropskih šarenk z združenimi pari domorodnih linij pa smo ob primerjavi evropskih šarenk s kombinacijo anadromnih šarenk iz osrednje Kalifornije in šarenk iz porečja reke Sacramento dobili statistično zanemarljivo nizko varianco. Podobnosti med šarenkami iz porečja reke Kern s šarenkami iz Evrope je možno razložiti kot posledico izdatnega vlaganja v nekatere vode tega porečja v preteklosti. Intenzivno hibridizacijo z ribogojniškimi populacijami v reki Kern je pokazala tudi populacijsko genetska raziskava na osnovi SNP-ov (Stephens in sod., 2009; Stephens, 2007). Ravno v poročilih zvezne agencije za ribištvo ni nobenih opisov večjih dejavnosti zbiranja in izvažanja iker s tega območja. Kot najverjetnejši scenarij izvora evropskih populacij ostane torej mešan izvor iz anadromnih šarenk iz osrednje Kalifornije in šarenk iz porečja reke Sacramento. Analiza molekularne variance podpira tudi nerazčlenjenost evropskih šarenk, saj z delitvijo na šarenke iz ribogojnice, pristne naturalizirane populacije in na populacije s podpornim vlaganjem razložimo zelo malo majhen delež variance (~3 %). Večji delež variance odpade na razlike med vzorčnimi mesti (~33 %) in ostalo na razlike znotraj vzorčnih mest. Višji delež variance, ki odpade na razlike med vzorčnimi mesti, govori v prid temu, da v Evropi vseeno obstaja nekakšna strukturiranost, ki je najverjetneje posledica administrativnih meja in različnih upravljavcev voda, ki do določene mere uporabljajo različne ribogojniške linije. Analiza variance ter nukleotidna in haplotipska raznolikost so pokazale tudi na razlike med evropskimi in kalifornijskimi ribogojnicami. Gensko strukturo ribogojniških šarenk iz

srednje in vzhodne Evrope na osnovi mikrosatelitov so preučevali tudi Gross in sod. (2007) in jo primerjal še z dvema divjima populacijama iz Kanade in z dvema ribogojniškima linijama (shasta linija iz Kalifornije in Donaldson iz zvezne države Washington). Naša raziskava tako potrdi zaključke Grossa in sod. (2007), da so si evropske šarenke med seboj zelo podobne in da so po genetski strukturi bolj podobne kalifornijskim populacijam kot tistim iz Kaskadije (bioregia, ki združuje zvezne države Oregon, Washington in kanadsko provinco Columbia). Poleg tega smo celo ugotovili, katere linije so pri translokaciji v Evropo najverjetneje sodelovale – anadromne šarenke iz osrednje Kalifornije in šarenke iz porečja reke Sacramento. Zagotovo pa je pri analizi molekulske variance potrebna previdnost. Pri združevanju tujerodne populacije s potencialnimi izvornimi domorodnimi populacijami namreč predvidevamo, da je genski sklad tujerodne populacije reprezentativen vzorec genskega sklada izvorne populacije in ne upoštevamo morebitnih populacijsko demografskih sprememb kot so na primer ustanoviteljev učinek, genski zdrs ali ekspanzija. Vendar se v primeru večkratnega izvora odstopanje zaradi našega idealiziranega izhodišča omili. Namreč, populacijsko demografske spremembe so nastopile večkrat in neodvisno druga od druge, zaradi česar so se do neke mere tudi izničile. Drugače povedano, tujerodne šarenke niso bile povsod podvržene istemu ustanoviteljevemu učinku ali genskemu zdrsu.

Hipoteza mešanega vnosa je verjetna kljub relativnemu primanjkljaju nukleotidne raznolikosti pri evropskih šarenkah. Na to lahko sklepamo, ker smo za simulacijo odnosa med nukleotidno in haplotipsko raznolikostjo uporabili precenjene efektivne velikosti populacij, kar posledično vodi v previsoko oceno nukleotidne raznolikosti glede na haplotipsko. Efektivne velikosti smo namreč na osnovi populacij iz Kalifornije, ki so bile tudi mešanega izvora zaradi zgodovinskih introgresij, ocenili v programu MIGRATE-n ob predvidevanju genskega ravnovesja in odsotnosti migracij. Za uporabo teh populacij smo se odločili, saj za simulacijo nismo imeli dovolj primernih populacij, ki niso bile mešane. Poleg tega so algoritmi, ki jih uporablja program MIGRATE-n, prilagojeni za uporabo na populacijah, ki so stabilne vsaj približno $4N$ generacij (Kuhner, 2009), kar pomeni, da zaradi glacijskih ciklov ni primeren za večino sladkovodnih vrst rib, ki naseljujejo zmerni pas.

Kljub večkratnim vnosom in posledično precej visoki genetski pestrosti pri tujerodnih populacijah je bil prenos šarenk iz Amerike v Evropo verjetno podvržen tudi učinku ustanovitelja. Različne genske posledice geografske ekspanzije namreč odražajo prevladovanje posameznih alelov in različne oblike genealoških dreves, kar smo potrdili s testom nenadne ekspanzije (angl. mismatch analysis). Tako smo pri primerjavi porazdelitve paroma primerjanih razlik med haplotipi tujerodnih populacij odkrili dobro ujemanje z modelno eno-modalno porazdelitvijo, medtem ko je bilo pri domorodnih populacijah ujemanje slabše. Iz tega lahko sklepamo na recentno ekspanzijo pri tujerodnih šarenkah.

Čeprav analiza *OmyY1* spolnega kromosoma ni razkrila nobene raznolikosti znotraj evropskih populacij, pa prisotnost obalnega haplotipa C1 med tujerodnimi populacijami ni v nasprotju s predlaganim izvorom evropskih populacij iz anadromnih šarenk osrednje Kalifornije in šarenk iz porečja reke Sacramento. Ta haplotip je namreč značilen tako za obalne populacije kot tudi za šarenke iz porečja reke Sacramento (glej zgoraj). Prisotnost obalnega haplotipa C7 pri šarenkah iz ribogojnice Coleman in Pit kaže, da ti dve ribogojniški liniji nista bili izvor evropskih šarenk.

V sklopu naše analize smo med evropskimi šarenkami odkrili tudi nekaj haplotipov mtDNA, ki predhodno med divjimi domorodnimi populacijami še niso bili zabeleženi. Ti haplotipi verjetno predstavljajo le majhen delež haplotipov domorodnih šarenk; verjeten razlog za to je, da še niso bili odkriti, ali pa so izginili zaradi lokalnih izumrtij in vlaganja. Na slabše vzorčenje nekaterih domorodnih linij je pokazala tudi krivulja kopičenja haplotipov. Na osnovi cenilke ICE na slabše vzorčenje lahko sklepamo predvsem pri šarenkah s severnega dela območja Great Basin, kjer smo povzorčili manj kot 80 % haplotipov. Ne pričakujemo, da bi nezadostno vzorčenje šarenk z območja Great Basin bistveno vplivalo na naše rezultate, saj na osnovi analize molekularne variance, ki je pri primerjavi te domorodne linije z evropskimi šarenkami znašala 41 %, to območje ni verjeten vir za evropske šarenke.

Rezultati analize mikrosatelitnih lokusov so se skladali z rezultati analize mitohondrijske DNA in kažejo, da imajo tujerodne populacije višjo alelno pestrost kot posamezne linije oz. skupine domorodnih populacij, in nižjo genetsko pestrost kot vse

domorodne populacije skupaj. To kaže na mešanje tujerodnih populacij, kar se odraža tudi v nekoliko manjšem številu redkih in večjem številu pogostih alelov v primerjavi z domorodnimi populacijami. Višja diferenciranost domorodnih populacij omogoča obstoj večjega števila redkih alelov kljub manjšim efektivnim velikostim. Aleli, ki so redki na nivoju vseh populacij, namreč niso nujno tudi redki na nivoju linij oz. skupin ali posameznih vzorčnih mest. Tudi na nivoju mikrosatelitov so bile edine razlike, ki smo jih ugotovili med pristnimi evropskimi naturaliziranimi populacijami in populacijami s podpornim vlaganjem, razlike v številu alelov na posamezni lokus, medtem ko koeficient parjenja v sorodstvu, paroma izračunane vrednosti F_{ST} , populacijsko drevo, DAPC in STRUCTURE analiza niso razkrile nobenih razlik. To potrjuje, da med pristnimi naturaliziranimi populacijami in populacijami s podpornim vlaganjem ni nobenih razlik, vsaj ne na nivoju nevtralnih genetskih znakov.

Znotraj vseh tujerodnih populacij smo zabeležili velike razlike med evropskimi šarenkami in šarenkami z otoka Reunion. Medtem ko so evropske šarenke na osnovi populacijskega drevesa, DAPC in STRUCTURE analize najbližje šarenkam iz porečja reke Sacramento, sta populaciji z otoka Reunion bližje skupini, ki se med analiziranimi vzorci ne pojavlja homogeno, ampak je značilna za nekatere populacije iz zgornjega dela porečja reke Pit, njeni geni pa so v večini tudi v jezeru Eagle, deloma pa tudi v nekaterih pritokih jezera Goose (skupina III). Na otoku Reunion so ti genotipi značilni predvsem za naturalizirano populacijo iz Bras de Ste-Suzanne, medtem ko ima populacija iz Bras Caron, ki jo podpirajo z vlaganjem, mešan genotip. Naturalizirane šarenke z otoka Reunion torej verjetno ne izvirajo iz porečja reke Sacramento, ampak pripadajo neki drugi liniji. Na osnovi mikrosatelitne analize domorodnih vzorcev, ki smo jih vključili v raziskavo, nismo uspeli ugotoviti, katera linija naj bi to bila, saj za primerjavo nismo razpolagali z vzorci oz. mikrosatelitnimi genotipi iz drugih povodij, ki jih naseljujejo avtohtone šarenke (porečje reke Klamath, severni del jezera Goose, porečje reke Columbia ...). Da bi bile donorske populacije za otok Reunion iz porečja reke Sacramento, je malo verjetno, saj genotipi, karakteristični za skupino III, ne nastopajo v čistih ampak le v mešanih populacijah, medtem ko je pri šarenkah iz Bras de Ste-Suzanne, ki je pristna naturalizirana populacija z otoka Reunion, prisoten čisti genotip (skupina III). Bolj verjetno je, da šarenke z otoka Reunion izvirajo iz katerega

od nevzorčenih povodij, kjer so ravno tako množično odvzemali ikre iz narave in jih gojili ter izvažali. Glede na evlucijsko zgodovino šarenk lahko genotipe iz skupine III oz. njim sorodne genotipe pričakujemo v porečjih rek Klamath in Columbia, ki sta bili preko jezera Goose in reke Pit v zadnjih 100 000 letih večkrat povezani s porečjem reke Sacramento (glej poglavje 5.2).

Analiza v programu STRUCTURE je tako kot tudi analiza molekularne variance mtDNA potrdila mešan izvor evropskih šarenk. Ugotovili smo, da največji delež genotipov izvira iz porečja reke Sacramento (skupina II), manjši del iz zgornjega dela porečja reke McCloud (skupina II), v sledeh pa je vidna tudi prisotnost genotipov, ki so značilni za skupino III, ki se v porečju reke Sacramento pojavlja nehomogeno. Zgolj na osnovi prisotnosti genov, ki so značilni za zgornji del porečja reke McCloud, ne moremo zaključiti, da so te populacije prav tako prispevale k izvoru evropskih šarenk. Ti geni so namreč, vsaj danes, prisotni tudi pri mešanih genotipih v spodnjem delu porečja reke Sacramento. Hierarhična analiza je pokazala tudi razlike med domorodnimi populacijami šarenk, vsemi evropskimi populacijami in šarenkami iz kalifornijskih ribogojnic. Poseben položaj evropskih šarenk lahko razumemo kot posledico učinka ustanovitelja ali pa kot posledico domestikacije in s tem povezanega intenzivnega selekcijskega pritiska, ki je privedel do specifičnega genetskega profila ali pa tudi kot posledico naključnega toka genov. Učinek ustanovitelja smo kljub potrjenemu mešanemu in večkratnemu vnosu in posledično precej visoki genetski pestrosti zaznali tudi s testom nenadne ekspanzije. Čeprav smo uporabljali nevtralne mikrosatelite se selekcijski pritisk, še posebej, če je tako močan, kot je to pri umetni vzreji, lahko odraža kot posledica vezanega dedovanja z ne-nevtralnimi geni.

Pri interpretaciji rezultatov analize mikrosatelitov moramo biti nekoliko previdni, saj smo vzorce genotipizirali v dveh različnih genetskih laboratorijih. Medtem ko smo v svojem laboratoriju genotipizirali tujerodne populacije, vključno s šarenkami iz ameriških ribogojnic, smo v laboratoriju prof. dr. Bernie May v UC Davis genotipizirali domorodne populacije šarenk in del ribogojniških populacij. Čeprav smo alelne dolžine uskladili na podmnožici vzorcev z različnih evropskih vzorčnih mest, ki smo jih analizirali v obeh laboratorijih, so manjši zamiki v branju alelnih dolžin možni. Da ti

odstopi niso veliki, smo dodatno potrdili še z analizo šarenk iz kalifornijskih ribogojnic Pit in Coleman. V obeh laboratorijih smo namreč analizirali različne vzorce obeh ribogojniških linij, pri čemer pri nobeni liniji nismo našli večjih odstopov. Torej napaka genotipizacije verjetno ni razlog za zgoraj omenjene razlike med evropskimi populacijami in populacijami iz porečja reke Sacramento (skupina II) pri drugem koraku hierarhične analize s programom STRUCTURE (glej poglavje 5.2). Poleg tega so zaradi svoje zelo visoke polimorfности izbrani mikrosatelitni označevalci manj primerni za analizo v programu STRUCTURE, saj pri lahko pričakujemo več homoplazij kot bi jih pričakovali pri manj polimorfni mikrosatelitnih označevalcih.

Na osnovi naše analize lahko ovržemo hipotezo o različnem genetskem profilu evropskih ribogojniških in naturaliziranih populacij, ki naj bi nastal zaradi različnega selekcijskega pritiska. Ta hipoteza izhaja iz starejših virov (Franke, 1908, 1913; Ehrenbaum, 1926; Mršić, 1935) in je pogosto prevladujoč pogled med mnogimi ribiškimi deležniki. Hipoteza predvideva, da so populacije, uporabljene v začetnih letih translokacije, pripadale drugim linijam kot populacije, uporabljene kasneje, in da so današnje ribogojniške populacije manj primerne za naturalizacijo, kot so bile zgodovinske pošiljke šarenk. Po tej hipotezi zgodnje evropske pošiljke šarenk temeljijo predvsem na rezidentih populacijah, ki naj bi bile zaradi svojega načina življenja bolj prilagojene na življenje v bolj notranjih celinskih vodah, medtem ko kasnejše pošiljke v večji meri temeljijo na anadromnih populacijah, ki naj bi se v takih vodah težje obdržale. Že v čau zgodnjih prenosov šarenke iz ZDA so predvsem v nemških ribogojnicah vzpostavili številne plemenske jate, iz katerih so to vrsto raznesli po srednji Evropi (takratna Nemčija in Avstro-Ogrska) in jo vnašali v številne potencialno primerne vode gričevnatega sveta (Mršić, 1935). Posledica tega naj bi bila asimetrična distribucija naturaliziranih populacij v Evropi, saj v predalpskem svetu srednje Evrope najdemo veliko večjo gostoto naturaliziranih populacij kot v drugih podobnih gričevnatih območjih (Apenini, Dinaridi, Karpati, Pireneji). Pri vzpostavitvi zgodnjih plemenskih jat, tudi takih, ki so bile nemalokrat vir za zgodnje evropske uvoze, je ključno vlogo odigrala ribogojnica Baird Station na reki McCloud. Čeprav prisotnost rezidentne podvrste (*O. m. stoeni*) v reki McCloud govori v prid tej hipotezi, so bile konec 19. stoletja na območju spodnjega in srednjega toka te reke, tudi v bližini Baird

Station, redno prisotne tudi anadromne šarenke (*O. m. irideus*), ki so tja prihajale na drst. O prisotnosti dveh različnih tipov šarenke na tem območju je poročal že prvi upravitelj te ribogojnice, Livningston Stone, pri čemer je tudi zapisal, da so za vzpostavitev plemenskih jat uporabljali ikre obeh linij (Needham in Behnke, 1962). To pomeni, da že zgodnje linije niso izvirale iz čistih rezidentnih populacij, ampak so bile križane z anadromnimi.

Čeprav zgodovinski podatki ne dovoljujejo primerjave uspeha naturalizacije skozi zgodovino, tej hipotezi nasprotuje prisotnost anadromnih šarenk med zgodnjimi uvozi v Evropo in predvsem rezultati naših populacijsko genetskih analiz. Med pristnimi naturaliziranimi populacijami, populacijami s podpornim vlaganjem in ribogojniškimi šarenkami namreč nismo našli nobenih genskih razlik. Nizka diferenciranost populacij in veliko skupnih haplotipov med različnimi evropskimi regijami so odsev nacionalnih praks vlaganja rib v Evropi. Te prakse prvenstveno podpirajo močno razvito rekreacijsko ribištvo in vključujejo slabo regulirano vnašanje šarenk v večino evropskih voda (Crawfor in Muir, 2008; Gherardi, 2010).

Izpostaviti pa velja, da so naše analize temeljile na nevtralnih označevalcih, na osnovi katerih ni mogoče razlikovati med anadromnimi in rezidentnimi populacijami, medtem ko bi adaptivni geni, ki določajo način življenja pri šarenkah (anadromni oz. rezidentni ekotip) lahko pokazali popolnoma drugačno sliko. Pri šarenkah je namreč način življenja le do neke mere določen genetsko, saj obstajajo primeri, ko celotne populacije prehajajo iz enega na drugi način le pod vplivom okoljskih dejavnikov (Pascual in sod. 2001; Riva Rossi in sod., 2004). Vprašanja, kolikšno vlogo igra gensko ozadje pri naturalizaciji, torej nismo uspeli dokončno razrešiti. Tekom naših raziskav smo poskušali dobiti tudi vpogled v vlogo adaptivnih genov pri naturalizaciji šarenk. Osredotočili smo se na štiri mikrosatelitne lokuse, ki se dedujejo vezano z elementi MHC kompleksa, ker pa pri genotipizaciji, kljub različnim modifikacijam protokola, nismo bili uspešni, rezultatov ne moremo prikazati.

V primerjavi z domesticiranimi šarenkami imajo potočne postrvi precej drugačno genetsko strukturo. Čeprav sta obe vrsti podvrženi podobnim umetnim selekcijskim pritiskom, ki večinoma delujejo v smeri hitrejšje rasti in večje plodnosti, med njima

najdemo izrazite razlike. Medtem ko so evropske šarenke zadržale visoko alelno pestrost in genetsko raznolikost v primerjavi z domorodnimi linijami, je pestrost pri komercialnih ribgojniških potočnih postrveh veliko nižja kot pri domorodnih linijah (Aurelle in Berrebi, 1998; Aurelle in sod., 2002; Jug in sod., 2005; Weiss in sod., 2000). Razlogi za to nesorazmerje verjetno ležijo v različni filogeografiji donorskih populacij in ne v različni zgodovini domestikacije. Medtem ko evropske šarenke izvirajo iz Kalifornije, ki je bila med pleistocenskimi poledenitvami pomemben refugij za mnogo vrst, tudi za šarenko, domesticirane potočne postrvi izvirajo iz severne in srednje Evrope (Danska, Francija, Nemčija), ki jo je moderna atlantska linija kolonizirala šele po koncu ledenih dob, kar se odraža v njeni relativno nizki genetski pestrosti (Aurelle in sod., 2002; Hamilton in sod., 1989).

Genski profil igra različno vlogo pri naturalizaciji tujerodnih sladkovodnih rib. Medtem ko večkratni vnos in mešanje linij pri nekaterih vrstah ohranja visok nivo genetske raznolikosti, so druge vrste enako uspešne kljub očitni izgubi genetske pestrosti (Roman and Darling, 2007; Hänfling, 2007). Večkratni vnos ločenih linij je očitno pri kompleksu *Carassius auratus* v Evropi (Rylková et. al., 2013), vnos predhodno mešanih linij pa pri škodljivcu psevdorazbori, ki povzroča težave v akvakulturi krapovcev (Simon in sod., 2011). Genetska raznolikost sama po sebi ni vedno dovolj za uspešno invazijo, ampak je lahko tudi pomemben genetski izvor v povezavi s specifičnimi adaptacijami. V Renu so v zadnjih desetletjih zabeležili novo linijo kaplja (*Cottus* sp.), ki je nastala s hibridizacijo dveh »starih« filogeografskih skupin. Taka hibridizacija je vodila k nastanku novih fenotipskih prilagoditev, ki tej liniji omogočajo kolonizacijo novih območji (Nolte in sod. 2005). Pogosto pa opažena genetska raznolikost ne odraža genske variacije, ki je ključna za ekološki uspeh, saj nevtralni označevalci večkrat niso v povezavi z aditivnimi genetskimi vplivi. Ta pojav so Lindholm in sod. (2005) opazili pri gupijih (*Poecilia reticulata*) v Avstraliji in Koskinen in sod. (2002) pri lipanih na Norveškem. Pomembnost aditivnih genetskih vplivov pri šarenkah pa razkrivajo tudi nove tehnologije, tako so šele s pomočjo sekvenciranja naslednje generacije našli genetske razlike med anadromnimi in rezidentnimi populacijami (Hecht in sod., 2012; Hecht in sod., 2013).

Povzamemo lahko, da visoka genetska pestrost in nizka diferenciacija med tujerodnimi populacijami kaže, da evropske šarenke verjetno izvirajo iz več že predhodno mešanih virov, pri čemer jih večina pripada anadromnim šarenkam iz osrednje Kalifornije in šarenkam iz porečja reke Sacramento. Poleg tega smo ugotovili tudi, da je genetska pestrost pri tujerodnih populacijah v primerjavi z domorodnimi nižja, saj se v njej odražata genski zdrsi in umetna selekcija, povezana z ribogojniškim okoljem, ki so ji bile podvržene tujerodne populacije tekom stotridesetletne zgodovine intenzivnega prenašanja in ribogojstva. Čeprav v naši raziskavi nismo odkrili nobenih izrazitih razlik med pristnimi naturaliziranimi populacijami, potencialnimi naturaliziranimi populacijami s podpornim vlaganjem in ribogojniškimi populacijami, pa ne izvirajo vse tujerodne populacije iz istih virov. Po genetski strukturi populacije z otoka Reunion namreč ne izvirajo iz istih domorodnih linij kot evropske šarenke, ampak pripadajo svoji liniji, ki je v porečju reke Sacramento prisotna le v sledovih in je posledica zgodovinskih sekundarnih stikov z drugimi bolj severnimi porečji.

6 SKLEPI

V okviru prvega sklopa raziskave »Razširjenost naturaliziranih populacij šarenke v Evropi« smo zbrali in ovrednotili podatke o naturaliziranih šarenkah s 132-ih območji iz 16-ih držav in tako zelo povečali poznavanje razširjenosti naturaliziranih populacij. Najvišjo gostoto takšnih populacij najdemo v Predalpskem hribovju, predvsem v Sloveniji in Avstriji, medtem ko je v drugih gričevnatih območjih Evrope veliko redkejša. Pogostost naturaliziranih šarenk v Sloveniji se v grobem sklada z modelom, ki so ga predstavil Fausch in sod. (2001). Po tem modelu naturalizacijo šarenk omejuje predvsem poplavni režim v odvisnosti od časa izvalitve mladice.

Rezultati drugega sklopa raziskave »Populacijsko genetska struktura domorodnih šarenk v severni Kaliforniji, ki je pomembna za razumevanje odnosov med tujerodnimi populacijami« so pokazali, da je populacijsko genetska strukturiranost šarenk v porečju reke Sacramento večja, kot so to domnevali Simmons in sod. (2009). Z analizo razvrščanja v populacijske skupine smo poleg skupine iz zgornjega porečja reke McCloud in skupine, ki naseljuje večji del porečja reke Sacramento, prepoznali še eno nehomogeno skupino. Genotipi te skupine se pojavljajo predvsem pri delu osebkov iz zgornjega dela porečja reke Pit, jezera Eagle in deloma iz pritokov jezera Goose. Poleg tega smo s hierarhično analizo razvrščanja potrdili tudi domnevo Behnke-ja (2002), ki znotraj zgornjega dela porečja reke McCloud šarenke iz potoka Sheepheaven obravnava kot ločeno enoto.

V tretjem sklopu »Izvor in populacijska struktura tujerodnih šarenk« pa smo ugotovili, da evropske šarenke najverjetneje izvirajo iz več že predhodno mešanih virov, pri čemer jih večina pripada anadromnim šarenkam iz osrednje Kalifornije in šarenkam iz porečja reke Sacramento. Čeprav v svoji raziskavi nismo odkrili nobenih izrazitih razlik med pristnimi naturaliziranimi populacijami, potencialnimi naturaliziranimi populacijami s podpornim vlaganjem in ribogojniškimi populacijami, pa ne izvirajo vse tujerodne populacije iz istih virov. Po genetski strukturi populacije z otoka Reunion namreč zelo verjetno ne izvirajo iz porečja reke Sacramento.

7 POVZETEK (SUMMARY)

7.1 POVZETEK

Vnos tujerodnih vrst je eden najbolj aktualnih naravovarstvenih problemov. Med tujerodimi ribami je šarenka ena najpogostejši in najbolj razširjenih vrst. Od konca 19. stoletja pa do danes so jo za namene rekreativnega ribištva in vzreje raznesli že v več kot sto držav. Zaradi visoke prilagodljivosti je ta vrsta vzpostavila naturalizirane populacije na različnih koncih sveta. Takšne populacije še bolj negativno vplivajo na domorodno favno, saj za svoj obstoj in širjenje ne potrebujejo več človeške pomoči. Organizacija IUCN je šarenko zaradi globalnih negativnih vplivov celo uvrstila na seznam stotih najbolj invazivnih tujerodnih vrst.

Kljub pomembnosti te vrste je razširjenost naturaliziranih populacij v Evropi slabo raziskana. Uspeh naturalizacije naj bi bil v Evropi slab navkljub rednim in pogostim vnosom ter številčnim potencialno primernim vodam. Za boljši uvid v razširjenost in stanje naturaliziranih populacij smo v sklopu naših raziskav opravili izčrpen pregled literature. Prisotnost vsaj ene naturalizirane populacije smo potrdili v šestnajstih državah (Švedska, Norveška, Finska, Nemčija, Avstrija, Švica, Lihtenštajn, Madžarska, Slovenija, Hrvaška in Bosna in Hercegovina, Združeno kraljestvo, Francija, Italija, Španija in Portugalska). Kritično smo ovrednotili 132 območji, kjer se šarenke v naravi redno ali občasno razmnožujejo. Največ naturaliziranih populacij smo zabeležili v Predalpskem hribovju, predvsem v Sloveniji in Avstriji, kjer so prisotne tudi populacije, ki ne naseljujejo le reguliranih ampak tudi ohranjene tekoče vode.

Pogostost naturaliziranih šarenk v Sloveniji se v grobem sklada z modelom, ki so ga predstavili Fausch in sod. (2001). Po tem modelu naturalizacijo omejuje predvsem poplavni režim v odvisnosti od časa izvalitve mladice. Pri nas so namreč poplave značilne za prvi del pomladi in jesen, medtem ko je njihova pogostost pozno spomladi in zgodaj poleti dovolj nizka, da lahko mladice, ki se takrat izvalijo, preživijo.

Za ustrezno vrednotenje populacijsko genetske strukture tujerodnih populacij smo v raziskavo vključili genske podatke več kot stotih domorodnih populacij iz Severne Amerike. Med temi populacijami smo posebno pozornost posvetili šarenkam iz orečja

reke Sacramento v severni Kaliforniji. Populacijsko genetska analiza enajstih mikrosatelitnih lokusov je razkrila veliko strukturiranost med triindvajsetimi analiziranimi domorodnimi populacijami. Z analizo razvrščanja v populacijske skupine v smo v porečju reke Sacramento prepoznali tri in ne smo dveh skupin, kot je to veljalo prej (Simmons in sod., 2009). Poleg skupine iz zgornjega porečja reke McCloud in skupine, ki naseljuje večji del porečja reke Sacramento, smo mi prepoznali še nehomogeno skupino, katere genotipi se pojavljajo predvsem v mešanih populacijah zgornjega dela porečja reke Pit, jezera Eagle in deloma v pritokih jezera Goose, ki je del endoreičnega območja Northern Great Basin.

Potrdili smo tudi domnevo, ki jo je postavil Behnke (2002), in sicer da lahko znotraj zgornjega dela porečja reke McCloud šarenke iz potoka Sheepheaven obravnavamo kot ločeno enoto. Poznavanje dejanske populacijske strukture je ključno za pripravo dolgoročnih upravljaljskih načrtov pri sladkovodnih ribolovnih vrstah. Vse tri skupine bi kljub intenzivnemu vlaganju tujerodnih šarenk v 20. stoletju morali obravnavati kot evolucijsko pomembne enote (ESU).

Glavnina našega dela je bila osredotočena na ugotavljanje populacijske strukture tujerodnih šarenk in rekonstrukcijo njihovega izvora. Populacijska študija je obsegala analizo polimorfizma kontrolne regije mtDNA, odseka spolnega kromosoma OmyY1 in enajst mikrosatelitnih lokusov. Pri nukleotidnih sekvencah smo populacijske parametre ocenili s pomočjo krivulje kopičenja haplotipov, s F_{ST} ter H in π . Odstopanja med obema pestrostma (H in π) smo ocenili s pomočjo koalescenčne simulacije na osnovi domorodnih populacij. Filogenetske odnose med haplotipi šarenk smo rekonstruirali z metodo najmanjše vpete mreže. Na osnovi te smo preučevali filogeografsko distribucijo po vzorčnih mestih tako domorodnih kot tudi tujerodnih populacij. Ugotovili smo mešan in mnogokratni izvor tujerodnih populacij in ga potrdili z AMOVA analizo. Za donorski skupini, ki sta največ prispevali k tujerodnim populacijam, smo določili anadromne šarenke iz osrednje Kalifornije in šarenke iz porečja reke Sacramento. Kljub potrjenemu mešanemu in večkratnemu vnosu ter precej visoki genetski pestrosti smo pri tujerodnih populacijah s testom nenadne ekspanzije zaznali učinek ustanovitelja.

Pri mikrosatelitnih lokusih smo genetsko raznolikost skupin ocenili s standardnimi populacijsko genetskimi parametri. S populacijskim drevesom, DAPC analizo ter analizo razvrščanja v populacijske skupine smo tudi s temi označevalci potrdili prej ugotovljen mešan in večkratni izvor tujerodnih populacij. Ugotovili smo tudi, da je genetska pestrost pri tujerodnih populacijah v primerjavi z domorodnimi nižja, saj se v njej odražata genski zdrsi in umetna selekcija.

Čeprav v naši raziskavi nismo odkrili nobenih izrazitih razlik med pristnimi naturaliziranimi populacijami, potencialnimi naturaliziranimi populacijami s podpornim vlaganjem in ribogojniškimi populacijami, pa ne izvirajo vse tujerodne populacije iz istih virov. Po genetski strukturi populacije z otoka Reunion namreč ne izvirajo iz istih domorodnih skupin kot evropske šarenke, temveč pripadajo svoji. Čeprav smo to skupino odkrili tudi v porečju reke Sacramento, je bolj verjetno, da šarenke z otoka Reunion ne izvirajo iz tega porečja. Omenjena skupina je namreč v tem porečju prisotna le v sledovih in še to v pretežno mešanih genotipih. Njena prisotnost je zato najverjetneje posledica zgodovinskih sekundarnih stikov z drugimi severnejšimi porečji.

Pri interpretaciji rezultatov o razlikah med naturaliziranimi in ne-naturaliziranimi populacijami je potrebna previdnost, saj so naše analize temeljile le na nevtralnih označevalcih, medtem ko sposobnost naturalizacije, če je ta pogojena gensko, določajo adaptivni geni.

7.2 SUMMARY

Biological invasions are a major threat to biodiversity and even ecosystem functioning and thus represent a significant risk to receiving environments. Following direct habitat destruction, invasive alien species are considered as the second most important cause for species decline. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is the most widely introduced salmonid worldwide and one of the most widely introduced fish species in general. Since 1874 acclimatization societies, anglers and aquaculturists have introduced the rainbow trout into at least 109 countries. The global success of this species can be ascribed to a combination of factors: its social importance as a valued game-fish, tolerance for higher temperatures, manipulation of lifestyle histories through selective breeding, its adequacy for hatchery cultivation and therefore a source of food-fish worldwide. As a result, rainbow trout has also successfully invaded many regions and even produced self-sustaining populations that can have strong effects on native ecosystems. As evidence of negative effects have been reported worldwide it was listed among the top 100 of the World's Worst Invasive Alien Species by the IUCN.

In spite of its importance there has been little work done to study the process of naturalization in Europe. Here, it remains unclear whether rainbow trout has become naturalized and invasive, despite more than decades of widespread and continuous introductions of fry, juveniles and adults into potentially appropriate waters ($10^5 - 10^7$). Only a small amount of data on European self-sustaining populations is available in English scientific literature, while more information exists in other languages and in the grey literature. In order to fill this gap a comprehensive overview of the literature and other sources of information on European self-sustaining rainbow trout populations was conducted. Self-sustaining populations and potentially self-sustaining populations with supportive stocking were registered on 132 localities spread through sixteen countries (Sweden, Norway, Finland, Germany, Austria, Switzerland, Liechtenstein, Hungary, Slovenia, Croatia, Bosnia and Herzegovina, United Kingdom, France, Italy, Spain and Portugal). The highest abundance of self-sustaining populations has been observed in Alpine foothills, specifically in Rhine in Switzerland and Liechtenstein, in many Austrian Alpine waters and in Slovenia. Some populations also exist in Oberbayern,

Germany, in Northern Italy and perhaps even in south-eastern France. Other foothills and mountainous areas where naturalized populations have also been recorded include the Dinaric Alps, the Apennines, the French Pyrenees, the mountains of Northern Hungary and those of Scandinavia. In contrast, the species is very rare in European lowlands.

Rainbow trout in Europe is generally considered to be susceptible to naturalization only in waters that are highly modified, where native salmonids struggle to survive. Yet this is not always the case, at least with some populations in Austria and especially in Slovenia.

In Europe, there is no consensus on the reasons for the general absence of self-sustaining rainbow trout populations. Nevertheless, Fausch et al. (2001) showed that degree of invasion is often inversely related to the probability of flooding during fry emergence. Even though abiotic factors alone cannot explain the absence of self-sustaining populations all over Europe, Slovenian populations in general correspond with this model. In Slovenia, floods usually occur in early spring and fall and seldom in late spring and early summer, allowing the emerged juveniles to survive. The flood regime here is in general similar to the situation in Hokkaido where Fausch et al. (2001) rate the naturalization success as moderate.

To get a better understanding of many different lineages and evolutionary groups of rainbow trout that played their role in the formation of translocated populations we included a dataset with genetic information on over a hundred native populations from North America. Among these populations we focused on rainbow trout from the Sacramento River Basin in North California. For reconstruction of population structure a dataset constructed from 754 samples and eleven microsatellite loci was used. Standard population genetic parameters identified significant structuring among twenty-three analyzed native populations. A Bayesian clustering algorithm in STRUCTURE recognized three and not only two distinct evolutionary groups inhabiting the Sacramento River Basin, as was suggested by Simmons et al. (2009) and Simmons (2011). Besides the redband trout of the Upper McLeod and the rainbow trout inhabiting most of the Sacramento River Basin, our analysis also revealed a new cluster, which is

not spread homogenously but mostly appears in mixed genotypes of Upper Pit, Eagle Lake and partially also Goose Lake. Special position of this group was also partially revealed by the population tree and the DAPC analysis. Presence of this evolutionary group is probably a consequence of secondary contacts and historical introgressions of the Upper Sacramento Basin, as this region was in occasional communications during glaciations and interglaciations since the late Pleistocene. Therefore, this group could be a remainder of recent colonization by an archaic rainbow trout from the Klamath River some 100,000 years ago, or a consequence of secondary contacts with the Columbia River Basin through Snake River and the Northern Great Basin.

Furthermore, hierarchical clustering approach also showed some additional structuring within the Sacramento River Basin and confirmed a distinctive position of Sheepheaven creek population inside the McCloud River redband trout, which was previously proposed by Behnke (2002) on the basis of morphological characters.

The main focus of our work was aimed at recovering the origins of translocated rainbow trout and reconstructing the relationships within them by analyzing the polymorphism of the mtDNA control region, OmyY1 Y-linked marker and eleven microsatellite loci. Seventeen variable nucleotide positions within the mtDNA fragment, determining sixteen haplotypes, were found among translocated rainbow trout, while OmyY1 fragment revealed virtually no variation. Population parameters of nucleotide sequences were assessed with a rarefaction analysis, AMOVA and by F_{ST} , H and π . Deviations of both diversities (H and π) were assessed by coalescent simulation of native lineages under mutation-drift equilibrium. Phylogenetic relations between found haplotypes were reconstructed with minimum spanning network, which also served as a basis for the phylogeographic analysis of both native and translocated populations. Presence of multiple native lineages and high level of allelic richness and genetic diversity in translocated populations support multiple origins of translocated rainbow trout. Although low levels of genetic differentiation among translocated populations present observe a potential discrepancy, this may be explained by introductions from previously mixed source populations. Additional evidence of potentially admixed source origins comes from the AMOVA, where we compared the translocated populations with native

lineages and their combinations. The AMOVA results were most consistent with a mixed origin, composed of a combination of steelhead populations from Central California and Sacramento River coastal rainbow trout lineages.

In spite of multiple origins, admixture and relatively high genetic diversity mismatch analysis showed recent expansion within translocated populations most probably due to the founder effect.

Standard measures of population diversities for microsatellite data (N_A , N_E , H_O , H_E , F_{ST} , F_{IS} , F_{IT}) and population tree based on shared allelic distances, DAPC and Bayesian clustering were all in concordance with multiple origins and admixture hypothesis. Furthermore, higher levels of genetic diversity within translocated populations in comparison with native populations were also confirmed, which can be ascribed to genetic drift and intensive strong artificial selection since the first artificial breeding experiments on rainbow trout more than 130 years ago.

Even though no significant differences between genuine self-sustaining populations, potential self-sustaining populations with supportive stocking and hatchery populations were discovered, not all translocated populations have the same origin. According to our analysis, translocated populations from Réunion originate from a different evolutionary group than do the European populations. As this cluster is very rare in the Sacramento River Basin and mostly present in mixed genotypes, it is highly unlikely Réunion rainbow trout originates from this watershed. Presence of this group in the Sacramento River basin is probably a consequence of historical introgressions and secondary contacts with northern watersheds as described above.

Our conclusions on the differences between genuine self-sustaining populations, potential self-sustaining populations with supportive stocking and hatchery populations should be interpreted with care as we included only neutral markers in our analysis. However, if naturalization is genetically conditioned, adaptive genes define it and thus they should be investigated.

8 VIRI

- Aaleurd C., Fløgstad J., Borgstrøm R. 2003. Etablert bestand av regnbueøret *Oncorhynchus mykiss* i Kråkstadelva. Fauna, 56, 4: 162–167
- Allendorf F.W., Leary R.F. 1988. Conservation and Distribution of Genetic Variation in a Polytropic Species, the Cutthroat Trout. Conservation Biology, 2, 2: 170–184
- Allendorf F.W., Utter F.M. 1979. Population genetics. V: Fish Physiology, Vol. VIII. Hoar W.S., Randall D.J. (eds.). London, Academic Press: 407–454
- Allison I.S., Bond C.E. 1983. Identity and probable age of salmonids from surface deposits at Fossil Lake, Oregon. Copeia, 1983: 563–564
- Arthington A.H., Blühdorn D.R. 1995. Improved management of exotic aquatic fauna: R&D for Australian rivers. LWRRDC Occasional Paper No. 4/95. Canberra, The Land and Water Resources Research and Development Corporation: 36 str.
- Avice J.C. 2000. Phylogeography: The History and Formation of Species. Harvard, Harvard University Press: 447 str.
- Bagley M.J., Gall G.A.E. 1998. Mitochondrial and nuclear DNA sequence variability among populations of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Molecular Ecology, 7, 8: 945–961
- Baird S.F. 1886. Report of the Commissioner. V: United States Commission for fish and fisheries. Part XII. Report of the Commissioner for 1884. Washington, United States Commission for fish and fisheries: XII–LXXI
- Baird S.F. 1889. Report of the Commissioner. V: United States Commission for fish and fisheries. Part XIV. Report of the Commissioner for 1886. Washington, United States Commission for fish and fisheries: IX–LLVII
- Bakke T.A., Harris P.D. 2011. Diseases and parasites in wild Atlantic salmon (*Salmo salar*) populations. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 55, S1: 247–266
- Balon E. 2004. About the oldest domesticates among fishes. Journal of Fish Biology, 65, S1: 1–27
- Bartholomew J.L., Reno P.W. 2002. The history and dissemination of whirling disease. V: Bartholomew J.L, Wilson J.C (eds.) Whirling disease: Reviews and current topics. American Fisheries Society Symposium 29. Bethesda, American Fisheries Society: 3–24
- Bastian Ma., Heymann S., JacomyMathieu. 2009. Gephi: an open source software for exploring and manipulating networks. V: Third International AAAI Conference on

- Weblogs and Social Media, 17. – 20. maj 2009. San Jose, AAAI publications.
<http://www.aaai.org/ocs/index.php/ICWSM/09/paper/view/154> (20. sep. 2014):
361 -362.
- Bean T.H. 1895. The rainbow trout. V: Annual Report of the Commissioners of Fisheries, Game and Forest of the State of New York Vol. 1. Albany, The Commission: 135–140
- Bean T.H. 1896. Report on the propagation and distribution of food-fishes. V: United States Commission for fish and fisheries. Part XX. Report of the Commissioner for the year ending June 30, 1894. Washington, United States Commission for fish and fisheries: 20–80
- Beaumont M.A. 1999. Detecting Population Expansion and Decline Using Microsatellites. *Genetics*, 153, 4: 2013–2029
- Beerli P. 2006. Comparison of Bayesian and maximum-likelihood inference of population genetic parameters. *Bioinformatics*, 22, 3: 341–345
- Beerli P., Felsenstein J. 1999. Maximum-Likelihood Estimation of Migration Rates and Effective Population Numbers in Two Populations Using a Coalescent Approach. *Genetics*, 152, 2: 763–773
- Behnke R.J. 1992. Native trout of western North America. Bethesda, American Fisheries Society: 275 str.
- Behnke R.J. 2002. Trout and salmon of North America. New York, Free Press: 359 str.
- Behr H. von. 1882. Five American Salmonidae in Germany. *Bulletin of the United States Fish Commission*, 2: 237–246
- Bellesme J. De. 1897. New Method of Pond Culture. *Transactions of the American Fisheries Society*, 25: 69–94
- Bennett P. 2000. Demystified ... microsatellites. *Molecular Pathology*, 53, 4: 177–183
- Beranek L.P., Link P.K., Fanning C.M. 2006. Miocene to Holocene landscape evolution of the western Snake River Plain region, Idaho: Using the SHRIMP detrital zircon provenance record to track eastward migration of the Yellowstone hotspot. *Geological Society of America Bulletin*, 118, 9/10: 1027–1050
- Berg K. 2005. Fish stocks examinations in the Nationalpark Kalkalpen considering in particular the development and evaluation of the reduction of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). Diplomarbeit / Masterarbeit. Wien, Universität für Bodenkultur: 76 str.
- Bernatchez L., Danzmann R. 1993. Congruence in Control-Region Sequence and

- Restriction-Site Variation in Mitochondrial DNA of Brook Charr (*Salvelinus Fontinalis* Mitchell). *Molecular Biology and Evolution*, 10, 5: 1002–1014
- Bernini F., Candiotta A., Nardi P.A., Rossi S., Razzetti E. 2006. Reptiles in the diet of a *Oncorhynchus mykiss* (Osteichthyes: Salmonidae) naturalized population in Piedmont (N Italy). *Acta Herpetologica*, 1, 1: 61–63
- Berrebi P. 2006. Analyse génétique (microsatellites) des populations de truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) de l’île de La Réunion. Montpellier, Université Montpellier 2: 18 str.
- Bertok M., Budihna N. 1999. Vpliv vlaganja šarenk (*Oncorhynchus mykiss*) na avtohtono ihtiofavno v Sloveniji. Ljubljana, Zavod za ribištvo Slovenije: 154 str.
- Bianco P.G. 1998. Freshwater fish transfers in Italy: history, local changes in fish fauna and a prediction on the future of native populations. V: *Stocking and Introductions of fishes*. Cowx J. (ed.). Oxford, Fishing News Book, Blackwell Science: 167–185
- Bianco P.G., Ketmaier V. 2001. Anthropogenic changes in the freshwater fish fauna of Italy, with reference to the central region and *Barbus graellsii*, a newly established alien species of Iberian origin. *Journal of Fish Biology*, 59, Issue Supplemental sA: 190–208
- Blanchet S., Loot G., Grenouillet G., Brosse S. 2007. Competitive interactions between native and exotic salmonids: a combined field and laboratory demonstration. *Ecology of Freshwater Fish*, 16, 2: 133–143
- Bon M., Semenzato M., Fracasso G., Marconato E. 2008. Sintesi delle conoscenze sui Vertebrati alloctoni del Veneto. *Bollettino Del Museo Civico Di Storia Naturale Di Venezia*, 58: 37–64
- Bowers G.M. 1909. The distribution of fish and fish eggs during the fiscal year 1907. Bureau of Fisheries Document No. 630. V: Report of the Commissioner of Fisheries for the fiscal year 1907 and special papers. Washington, Bureau of Fisheries: 78 str.
- Bowers G.M. 1911. The distribution of fish and fish eggs during the fiscal year 1909. Bureau of Fisheries Document No. 728. V: Report of the Commissioner of Fisheries for the fiscal year 1909 and special papers. Washington, Bureau of Fisheries: 103 str.
- Bowers G.M. 1913. Report of the Commissioner of Fisheries for the fiscal year ended June 30, 1911. Bureau of Fisheries Document No. 753. V: Report of the Commissioner of Fisheries for the fiscal year 1911 and special papers. Washington, Bureau of Fisheries: 70 str.

- Bowers G.M. 1914. The distribution of fish and fish eggs during the fiscal year 1912. Bureau of Fisheries Document No. 770. V: Report of the Commissioner of Fisheries for the fiscal year 1912 and special papers. Washington, Bureau of Fisheries: 108 str.
- Brunelli J. P., Wertzler K. J., Sundin K., Thorgaard G. H. 2008. Y-specific sequences and polymorphisms in rainbow trout and Chinook salmon. *Genome*, 51, 9: 739–748.
- Brunelli J.P., Steele C.A, Thorgaard G.H. 2010. Deep divergence and apparent sex-biased dispersal revealed by a Y-linked marker in rainbow trout. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56, 3: 983–990
- Budihna N., Pleško S., Zabrc D. 1998. Ribe v Poljanski Sori s poudarkom na ugotavljanju velikosti populacije šarenke. Ljubljana, Zavod za ribištvo Slovenija: 16 str.
- Busack C.A., Gall G.A.E. 1980. Ancestry of artificially propagated California rainbow trout strains. *California Fish and Game*, 66, 1: 17–24
- Cabin R.J., Mitchell R.J. 2000. To Bonferroni or not to Bonferroni: when and how are the questions. *Bulletin of the Ecological Society of America*, 81: 246–248
- Caiola N., Sostoa A. 2005. Possible reasons for the decline of two native toothcarps in the Iberian Peninsula: evidence of competition with the introduced Eastern mosquitofish. *Journal of Applied Ichthyology*, 21, 4: 358–363
- Camarena-Rosales F., Ruiz-Campos G., De La Rosa-Vélez J., Mayden R.L., Hendrickson D.A., Varela-Romero A., García de León F.J. 2007. Mitochondrial haplotype variation in wild trout populations (Teleostei: Salmonidae) from northwestern Mexico. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 18, 1: 33–45
- Cambray J.A. 2003. Impact on indigenous species biodiversity caused by the globalisation of alien recreational freshwater fisheries. *Hydrobiologia*, 500, 1: 217–230
- Candiotto A., Bo T., Fenoglio S. 2011. Biological and ecological data on an established rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) population in an Italian stream. *Fundamental and Applied Limnology / Archiv Für Hydrobiologie*, 179, 1: 67–76
- Carcamo C.B., Diaz N.F., Winkler F.M. 2015. Genetic diversity in Chilean populations of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 43, 1: 59–70
- Colwell R.K., Chao A., Gotelli N.J., Lin S.-Y., Mao C.X., Chazdon R.L., Longino J.T. 2012. Models and estimators linking individual-based and sample-based

- rarefaction, extrapolation and comparison of assemblages. *Journal of Plant Ecology*, 5, 1: 3–21
- Colwell R.K., Coddington J.A. 1994. Estimating terrestrial biodiversity through extrapolation. *Philosophical Transactions B*, 345, 1311: 101–118
- Colwell R.K., Mao C.X., Chang J. 2004. Interpolating, extrapolating, and comparing incidence-based species accumulation curves. *Ecology*, 85, 10: 2717–2727
- Consuegra S., Phillips N., Gajardo G., de Leaniz C.G. 2011. Winning the invasion roulette: escapes from fish farms increase admixture and facilitate establishment of non-native rainbow trout. *Evolutionary Applications*, 4, 5: 660–671
- Copp G.H., Bianco P.G., Bogutskaya N.G., Eros T., Falka I., Ferreira M.T., Fox M.G., Freyhof J., Gozlan R.E., Grabowska J., Kováč V., Moreno-Amich R., Naseka A.M., Peňáz M., Povž M., Przybylski M., Robillard M., Russell I.C., Stakėnas S., Šumer S., Vila-Gispert A., Wiesner C. 2005. To be, or not to be, a non-native freshwater fish? *Journal of Applied Ichthyology*, 21, 4: 242–262
- Coulibaly I., Gharbi K., Danzmann R.G., Yao J., Rexroad C.E. 2005. Characterization and comparison of microsatellites derived from repeat-enriched libraries and expressed sequence tags. *Animal Genetics*, 36, 4: 309–315
- Crawford S.S. 2001. Salmonine Introductions to the Laurentian Great Lakes: An Historical Review and Evaluation of Ecological Effects. Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences 132. Ontario, Fisheries and Aquatic Sciences: 205 str.
- Crawford S.S., Muir A.M. 2008. Global introductions of salmon and trout in the genus *Oncorhynchus*: 1870–2007. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 18, 3: 313–344
- Crivelli A.J. 1995. Are fish introductions a threat to endemic freshwater fishes in the northern Mediterranean region? *Biological Conservation*, 72, 2: 311–319
- Crow J.F. 1999. Hardy, Weinberg and Language Impediments. *Genetics*, 152, 3: 821–825
- Crowl T.A., Townsend C.R., Mcintosh A.R. 1992. The impact of introduced brown and rainbow trout on native fish: the case of Australasia. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 2: 217–241
- Currens K.P., Schreck C.B., Li H.W. 2009. Evolutionary Ecology of Redband Trout. *Transactions of the American Fisheries Society*, 138, 4: 797–817
- Curry-Lindahl K. 1985. *Våra fiskar: havs- och sötvattensfiskar i Norden och övriga Europa*. Stockholm, Norstedt: 258 str.

- Delacoste M., Baran P., Lascaux J.M., Abad N., P. B.J. 1997. Bilan des introductions de salmonidés dans les lacs et ruisseaux d'altitude des Hautes-Pyrénées. Bulletin Français de La Pêche et de La Pisciculture, 344/345: 205–219
- Denoël M., Scime P., Zambelli N. 2015. Newt life after fish introduction: extirpation of paedomorphosis in a mountain fish lake and newt use of satellite pools. Current Zoology, 62 (v tisku)
- Dollar A.M., Katz M. 1964. Rainbow trout brood stocks and strains in American hatcheries as factors in the occurrence of hepatoma. The Progressive Fish-Culturist, 24: 167–174
- Dumas J. 1976. Dynamique et sédentarité d'une population naturalisée de truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri* Richardson) dans un ruisseau de montagne l'Estibère (Hautes-Pyrénées). Annales D'hydrobiologie, 7: 115–139
- Dunn P. 2005. 2004 survey of trout production in England and Wales. Trout News (Cefas), 40: 5–8
- Dußling U., Berg R. 2001. Fische in Baden-Württemberg Hinweise zur Verbreitung und Gefährdung der freilebenden Neunaugen und Fische. Stuttgart, Ministerium für Ernährung und Ländlichen Raum Baden-Württemberg: 176 str.
- Earl D.A., Holdt B.M. von. 2011. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. Conservation Genetics Resources, 4, 2: 359–361
- Ehrenbaum E. 1926. Ueber regenbogenforellen und Steelheadforellen. Allgemeine Fischerei-Zeitung, 51: 288–292
- Emigh T.H. 1980. A Comparison of Tests for Hardy-Weinberg Equilibrium. Biometrics, 36, 4: 627–642
- Evanno G., Regnaut S., Goudet J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. Molecular Ecology, 14, 8: 2611–2620
- Excoffier L., Laval G., Schneider S. 2005. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. Evolutionary Bioinformatics Online, 1: 47–50
- Excoffier L., Lischer H.E.L. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Molecular Ecology Resources, 10, 3: 564–567
- Falconer D.S., Mackey T.F.C. 1996. Introduction to Quantitative Genetics. 4th ed.

- Harlow, Essex, Addison Wesley Longman: 464 str.
- Falush D., Stephens M., Pritchard J.K. 2003. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*, 164, 4: 1567–1587
- Falush D., Stephens M., Pritchard J.K. 2007. Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Molecular Ecology Notes*, 7, 4: 574–578
- Farrington L.W., Austin C.M., Burrige C.P., Gooley G.J., Ingram B.A., Talbot B. 2004. Allozyme diversity in Australian rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fisheries Management and Ecology*, 11: 97–106
- Fausch K.D. 2007a. A paradox of trout invasions in North America. *Biological Invasions*, 10: 685–701
- Fausch K.D. 2007b. Introduction, establishment and effects of non-native salmonids: considering the risk of rainbow trout invasion in the United Kingdom*. *Journal of Fish Biology*, 71, Issue Supplement sd: 1–32
- Fausch K.D., Taniguchi Y., Nakano S., Grossman G., Townsend C. 2001. Flood disturbance regimes influence rainbow trout invasion success among five holarctic regions. *Ecological Applications*, 11: 1438–1455
- Finger A.J., Stephens M.R., Clipperton N.W., May B. 2009. Six diagnostic single nucleotide polymorphism markers for detecting introgression between cutthroat and rainbow trouts. *Molecular Ecology Resources*, 9: 759–763
- Foramitti A. 2008. Vergleichende Fischbestandserhebungen an den Flüssen Mur und Enns. Diplomarbeit. Wien, Universität für Bodenkultur: 100 str.
- Franke I. 1913. Šarena postrv (*Trutta iridea*) in rdeča postrv (*Salmo fontinalis*). *Lovec*, 4: 130–131
- Frankham R., Briscoe D.A., Ballou J.D. 2002. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge, Cambridge University Press: 617 str.
- Fratnar P. 2008. Poplave njihove značilnosti in poplavne razmere v Sloveniji. *Geografski Obzornik*, 55: 10–16
- Frost W.E. 1974. A survey of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in Britain and Ireland. London, Salmon and trout association: 36 str.
- Füllner G., Pfeifer M., Sieg S., Zarske A. 1996. Die Fischfauna von Sachsen. Rundmäuler, Fische, Krebse. Dresden, Sächsische Landesanstalt für Landwirtschaft: 166 str.

- Gajardo G., Díaz O., Crespo J.E. 1998. Allozymic variation and differentiation in naturalized populations of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), from southern Chile. *Aquaculture Research*, 29, 11: 785–790
- Galbraith M.G. 1967. Size-selective Predation on *Daphnia* by Rainbow Trout and Yellow Perch. *Transactions of the American Fisheries Society*, 96: 1–10
- Gammelsæter M., Dønnum B.O. 1994. Varig bestand av regnbueørret påvist i Setervatna ved Åndalsnes. *Fauna*, 47: 290–298
- Gherardi F. 2010. Invasive crayfish and freshwater fishes of the world. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, 29, 2: 241–254
- Glover K.A. 2008. Genetic characterisation of farmed rainbow trout in Norway: intra- and inter-strain variation reveals potential for identification of escapees. *BMC Genetics*, 9: 87, doi:10.1186/1471-2156-9-87: 10 str.
- Gold J.R. 1977. Systematics of western North American trout (*Salmo*), with notes on the redband trout of Sheepheaven Creek, California. *Canadian Journal of Zoology*, 55, 11: 1858–1873
- Goldstein D.B., Schlötter C. 1999. *Microsatellites: Evolution and Applications*. Oxford, Oxford University Press: 352 str.
- Gopalakrishnan A., Lal K.K., Ponniah A.G. 1999. Conservation of the Nilgiri rainbow trout in India. *Naga, the ICLARM Quarterly*, 22, 3: 16–19
- Goren M., Galil B.S. 2005. A review of changes in the fish assemblages of Levantine inland and marine ecosystems following the introduction of non-native fishes. *Journal of Applied Ichthyology*, 21, 4: 364–370
- Greenberg B.D., Newbold J.E., Sugino A. 1983. Intraspecific nucleotide sequence variability surrounding the origin of replication in human mitochondrial DNA. *Gene*, 21, 1-2: 33–49
- Gross R., Lulla P., Paaver T. 2007. Genetic variability and differentiation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) strains in northern and Eastern Europe. *Aquaculture*, 272, Supplement 1: S139–S146
- Guo S.W., Thompson E.A. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics*, 48, 2: 361–372
- Haack H. 1882. *Raising Salmonids in Enclosed Waters. Report of the Commissioner*. Washington, US Fish Commission, 7: 675–686
- Hager F. 1964. Ortstreue Regenbogenforellen in den Wildbächen des Innviertels. V: Die Regenbogenforelle als Neubürger unserer Gewässer Biologisch, ökologisch,

- züchterisch u. fischereiwirtschaftlich gesehen, Österreichischer Fischerei 17(11/12). Einsele W. (ed.). Scharfling/Mondsee, Österreichischer Fischereiverband: 189–190
- Halverson M.A. 2008. Stocking Trends: A Quantitative Review of Governmental Fish Stocking in the United States, 1931 to 2004. *Fisheries*, 33, 2: 69–75
- Harka A., Sallai Z. 2004. Magyarország halfaunája. Nimfea Természetvédelmi Egyesület, Szarvas. Szarvas, "NIMFEA" Természetvédelmi Egyesüle: 269 str.
- Hauer W. 2007. Fische Krebse Muscheln in heimischen Seen und Flüssen. Graz & Stuttgart, Leopold Stocker Verlag: 231 str.
- Heath D.D., Bettles C.M., Jamieson S., Stasiak I., Docker M.F. 2008. Genetic Differentiation among Sympatric Migratory and Resident Life History Forms of Rainbow Trout in British Columbia. *Transactions of the American Fisheries Society*, 137, 4: 1268–1277
- Hecht B.C., Campbell N.R., Holecek D.E., Narum S.R. 2013. Genome-wide association reveals genetic basis for the propensity to migrate in wild populations of rainbow and steelhead trout. *Molecular Ecology*, 22, 11: 3061–3076
- Hecht B.C., Thrower F.P., Hale M.C., Miller M.R., Nichols K.M. 2012. Genetic architecture of migration-related traits in rainbow and steelhead trout, *Oncorhynchus mykiss*. *G3*, 2, 9: 1113–1127
- Hendrickson D.A., Pérez H.E., Findley L.T., Forbes W., Tomelleri J.R., Mayden R.L., Nielsen J.L., ensen B., Ruiz Campos G. Varela Romero A., van der Heiden A., Camarena F., de León F.J.G. 2002. Mexican native trouts: a review of their history and current systematic and conservation status. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 12: 273–316
- Hey J., Nielsen R. 2007. Integration within the Felsenstein equation for improved Markov chain Monte Carlo methods in population genetics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104, 8: 2785–2790
- Hindar K., Fleming I.A., Jonsson N., Breistein J., Sægrov H., Karlsbakk E., Gammelsæter M, Dønnum B.O. 1996. Regnbueørret i Norge: forekomst, reproduksjon og etablering. NINA Oppdragsmelding, 454, 1–32
- Honsing-Erleburg W. 2005. Zum Einfluß der Regenbogenforelle und des Bachsaiblings auf Bachforellenpopulationen. *Österreichs Fischerei*, 58: 286–289
- Hubisz M.J., Falush D., Stephens M., Pritchard J.K. 2009. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular Ecology Resources*, 9, 5: 1322–1332

- Husseneder C., Simms D.M., Delatte J.R., Wang C., Grace J.K., Vargo E.L. 2012. Genetic diversity and colony breeding structure in native and introduced ranges of the Formosan subterranean termite, *Coptotermes formosanus*. *Biological Invasions*, 14, 2: 419–437
- Hwang U.W., Kim W. 1999. General properties and phylogenetic utilities of nuclear ribosomal DNA and mitochondrial DNA commonly used in molecular systematics. *The Korean Journal of Parasitology*, 37, 4: 215–228
- Inoue M., Miyata H., Tange Y., Taniguchi Y. 2009. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) invasion in Hokkaido streams, northern Japan, in relation to flow variability and biotic interactions. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 66, 9: 1423–1434
- Jakobsson M., Rosenberg N.A. 2007. CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics*, 23, 14: 1801–1806
- Jin L., Chakraborty R. 1994. Estimation of genetic distance and coefficient of gene diversity from single-probe multilocus DNA fingerprinting data. *Molecular Biology and Evolution*, 11, 1: 120–127
- Jinadasa J., Kothalawala A., Herath H. 2005. Status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*-Waldaum 1792) population after the cessation of stocking in waterways of Horton Plains, Sri Lanka. *Vidyodaya Journal of Science*, 12: 9–27
- Johnson N.A., Rexroad C.E., Hallerman E.M., Vallejo R.L., Palti Y. 2007. Development and evaluation of a new microsatellite multiplex system for parental allocation and management of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) broodstocks. *Aquaculture*, 266, 1-4: 53–62
- Jombart T., Ahmed I. 2011. adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. *Bioinformatics*, doi:10.1093/bioinformatics/btr521: 2 str.
- Jombart T., Devillard S., Balloux F. 2010. Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics*, 11: 94, doi:10.1186/1471-2156-11-94: 15 str.
- Jombart T., Pontier D., Dufour A.-B. 2009. Genetic markers in the playground of multivariate analysis. *Heredity*, 102: 330–341
- Jones M.L., Stanfield L.W. 1993. Effects of exotic juvenile salmonines on growth and survival of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) in a Lake Ontario tributary. V: Production of juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar*, in natural waters. *Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences* 118. Gibson R.J., Cutting

- R.E. (eds.). Ottawa, National Research Council: 71–79
- Jonsson N., Jonsson B., Hansen L.P., Aass P. 1993. Coastal movement and growth of domesticated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)) in Norway. *Ecology of Freshwater Fishes*, 2, 4: 152–159
- Juncos R. 2013. Modeling prey consumption by native and nonnative piscivorous fishes: implications for competition and impacts on shared prey in an ultraoligotrophic lake in Patagonia. *Transactions of the American Fisheries Society*, 142, 1: 268–281
- Jungwirth M., Moog O., Winkler H. 1980. Vergleichende Fischbestandsuntersuchungen an elf niederösterreichischen Fließgewässerstrecken. V: Österreichische Fischereigesellschaft 1880-1980 - 100 Jahre Hege und Pflege. Himberg, Wiener Verlag: 81–104
- Kadye W.T., Chakona A., Marufu L.T., Samukange T. 2013. The impact of non-native rainbow trout within Afro-montane streams in eastern Zimbabwe. *Hydrobiologia*, 720, 1: 75-88
- Kalish J. 1990. Use of otolith microchemistry to distinguish the progeny of sympatric anadromous and non-anadromous salmonids. *Fishery Bulletin*, 88, 4: 657–666
- Katoh K., Standley D.M. 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*, 30, 4: 772–780
- Kats L.B., Ferrer R.P. 2003. Alien predators and amphibian declines: review of two decades of science and the transition to conservation. *Diversity and Distributions*, 9, 2: 99–110
- Keller R.P., Geist J., Jeschke J.M., Kühn I. 2011. Invasive species in Europe: ecology, status, and policy. *Environmental Sciences Europe*, 23: 23
doi:10.1186/2190-4715-23-23
- Kiener A. 1986. Au fil de l'eau en pays méditerranéen: milieux aquatiques, poissons et pêche, gestion. Avignon, Aubanel Publisher: 307 str.
- Kindle T. 1983. Natürliche Vermehrung der Regenbogenforellen im Liechtensteiner Binnenkanal. *Österreichische Fischerei*, 1: 7–8
- Kindle T. 2006. Fischneozoen im Fürstentum Liechtenstein. V: Neobiota im Fürstentum Liechtenstein. Vaduz, Amt für Wald, Natur und Landschaft des Fürstentums Liechtenste: 131–136
- Kingman J.F.C. 1982. The coalescent. *Stochastic Processes and Their Applications*, 13, 3: 235–248

- Kitano S. 2004. Ecological impacts of rainbow, brown and brook trout in Japanese inland waters. *Global Environmental Research*, 8, 1: 41–50
- Kitano S., Yoshito K., Hideyuki I. 2003. Ecological aspects of rainbow trout and white-spotted charr in a headwater tributary of Zako Stream, central Japan (v japonščini z angleškim izvlečkom). *Bulletin of the Institute of Nature Education in Shiga Heights*, 40: 9–13
- Krueger C.C., May B. 1991. Ecological and genetic effects of salmonid introductions in North America. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48, Supplemental 1: 66–77
- Kuhner M.K. 2009. Coalescent genealogy samplers: windows into population history. *Trends in Ecology & Evolution*, 24, 2: 86–93
- Kuhner M.K., Yamato J., Felsenstein J. 2000. Maximum Likelihood Estimation of Recombination Rates From Population Data. *Genetics*, 156, 3: 1393–1401
- Kus Veenvliet J., Veenvliet P. 2009. Uvod. V: *Tujerodne vrste, priročnik za naravovarstvenike*. Kus Veenvliet J. (ed.). Grahovo, Zavod Symbiosis: 1–13
- Landergren P. 1999. Spawning of anadromous rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum): a threat to sea trout, *Salmo trutta* L., populations? *Fisheries Research*, 40, 1: 55–63
- Langella O. 2002. POPULATIONS 1.2.28. Population genetic software (individuals or populations distances, phylogenetic trees).
<http://bioinformatics.org/~tryphon/populations/> (20. sep. 2014)
- Larson G.L., Moore S.E., Carter B. 1995. Ebb and Flow of Encroachment by Nonnative Rainbow Trout in a Small Stream in the Southern Appalachian Mountains. *Transactions of the American Fisheries Society*, 124, 4: 613–622
- Larsson A. 2014. AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. *Bioinformatics*, 30, 22: 3276–3278
- Laßleben P. 1964. Wohin gehört die Regenbogenforelle. V: *Die Regenbogenforelle als Neubürger unserer Gewässer Biologisch, ökologisch, züchterisch u. fischereiwirtschaftlich gesehen*, Österreichischer Fischerei 17(11/12). Einsele W. (ed.). Scharfling/Mondsee, Österreichischer Fischereiverband: 191–193
- Leach G.C. 1924. Propagation and distribution of food fishes, fiscal year 1923. Appendix XIII to the Report of the U. S. Commissioner for 1923. B. F. Doc. No. 964. V: *Report of the United States Commissioner of Fisheries for the fiscal year 1923 with Appendixes*. Washington, Bureau of Fisheries: 108 str.

- Leach G.C. 1928. Propagation and distribution of food fishes, fiscal year 1927. Appendix VIII to the Report of the U. S. Commissioner for 1927. B. F. Doc. No. 1033. V: Report of the United States Commissioner of Fisheries for the fiscal 1927 with Appendixes. Washington, Department of Commerce, Bureau of Fisheries: 683–736
- Leach G.C. 1929. Propagation and distribution of food fishes, fiscal year 1928. Appendix VIII to the Report of the U. S. Commissioner of Fisheries for 1928. B. F. Doc. No. 1040. V: Report of the United States Commissioner for the fiscal year 1928 with Appendixes. In two parts. Part I. Washington, U. S. Department of Commerce, Bureau of Fisheries: 376–436
- Leach G.C. 1932. Propagation and distribution of food fishes, fiscal year 1931. V: Report of the United States Commissioner for the fiscal year 1931 with Appendixes. Washington, U. S. Department of Commerce, Bureau of Fisheries: 627-690
- Leach G.C., James M.C., Douglass E.J. 1941. Propagation and distribution of food fishes, fiscal year 1940. Administrative report No. 42, Appendix to the Report of the U. S. Commissioner of Fisheries for the fiscal year 1940. V: Report of the United States Commissioner for the fiscal year 1940 with Appendixes. Washington, U. S. Department of Interior, Bureau of Fisheries: 555-603.
- Leitritz E. 1970. A history of California's fish hatcheries, 1870-1960. Fish Bulletin, 150: 1–87
- Leuner E., Kleine M., Bohl E., Jungbluth J.H., Gerber J., Groh K. 2000. Ergebnisse der Artenkartierungen in den Fließgewässern Bayerns: Fische, Krebse, Muscheln. München, Bayerisches Staatsministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten: 212 str.
- Lever C. 1996. Naturalized fishes of the world. San Diego, Academic Press: 408 str.
- Li W.H. 1977. Distribution of nucleotide differences between two randomly chosen cistrons in a finite population. Genetics, 85, 2: 331–337
- Librado P., Rozas J. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Bioinformatics, 25, 11: 1451–1452
- Light J.T., Harris C.K., Burgner R.L. 1989. Ocean distribution and migration of steelhead (*Oncorhynchus mykiss*, formerly *Salmo gairdneri*). Seattle, Fisheries Research Institute: 50 str.
- Lintermans M. 2000. Recolonization by mountain galaxias *Galaxias olidus* of a montane stream after the eradication of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*.

- Marine & Freshwater Research, 51, 8: 799–804
- Lorenzoni M., Mearelli M., Ghetti L. 2006. Native and exotic fish species in the Tiber River watershed (Umbria–Italy) and their relationship to the longitudinal gradient. *Bulletin Francais de La Peche et de La Pisciculture*, 382: 19–44
- Lowe S., Browne M., Boudjelas S., Poorter M. De. 2000. 100 of the world's worst invasive alien species: a selection from the global invasive species database. A selection from the global invasive species database. The Invasive Species Specialist Group of the IUCN: 16 str.
- Lund E. 2007. Fremmed fisk i to fylker. Introduserte fiskearter i Buskerud og Oppland. Hamar, Naturkompetanse AS: 58 str.
- Lužnik M., Kryštufek B., Bužan E.V. 2011. Mitochondrial sequences do not support the independent taxonomic position of the extinct Alpine newt subspecies *Mesotriton alpestris lacusnigri*. *Amphibia-Reptilia*, 32, 3: 435–440
- Macchi P.J., Cussac V.E., Alonso M.F., Denegri M.A. 1999. Predation relationships between introduced salmonids and the native fish fauna in lakes and reservoirs in northern Patagonia. *Ecology of Freshwater Fish*, 8, 4: 227–236
- Macchi P.J., Pascual M. a., Vigliano P.H. 2007. Differential piscivory of the native *Percichthys trucha* and exotic salmonids upon the native forage fish *Galaxias maculatus* in Patagonian Andean lakes. *Limnologica - Ecology and Management of Inland Waters*, 37, 1: 76–87
- MacCrimmon H.R. 1971. World distribution of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 28, 5: 663–704
- MacCrimmon H.R. 1972. World Distribution of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*): Further Observations. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 29, 12: 1788–1791
- Macdonald J., Tonkin Z. 2008. A review of the impact of eastern gambusia on native fishes of the Murray–Darling Basin. Heidelberg, Murray-Darling Basin Authority: 42 str.
- MacNeil C., Dick J., Alexander M., Dodd J., Ricciardi A. 2013. Predators vs. alien: differential biotic resistance to an invasive species by two resident predators. *NeoBiota*, 19: 1–19
- Marschall E.A., Crowder L.B. 1996. Assessing population responses to multiple anthropogenic effects: a case study with brook trout. *Ecological Applications*, 6: 152–167

- Martsikalis P., Gkafas G.A., Apostolidis A.P., Athanasios E. 2014. Genetic Structure Profile of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Farmed Strains in Greece. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 14, 3: 749–757
- Mather F. 1885. Account of eggs repacked and shipped to foreign countries under direction of the United States Fish Commission during the season of 1883-'84. V: United States Commission for fish and fisheries. Part XI. Report of the Commissioner for 1883. Washington, United States Commission for fish and fisheries: 973–974
- Mather F. 1887. Report of eggs shipped to and received from foreign countries at the Cold Spring Harbor, New York, Station during the season of 1885-'86, and the distribution in the spring of 1886. V: United States Commission for fish and fisheries. Part XIII. Report of the Commissioner for 1885. Washington, United States Commission for fish and fisheries: 117–120
- Matschiner M., Salzburger W. 2009. TANDEM: integrating automated allele binning into genetics and genomics workflows. Bioinformatics, 25, 15: 1982–1983
- May G.E., Gelembiuk G.W., Panov V.E., Orlova M.I., Lee C.E. 2006. Molecular ecology of zebra mussel invasions. Molecular Ecology, 15, 4: 1021–1031
- McCusker M.R., Parkinson E., Taylor E.B. 2000. Mitochondrial DNA variation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) across its native range: testing biogeographical hypotheses and their relevance to conservation. Molecular Ecology, 9, 12: 2089–2108
- McDonald M. 1891. Report of the Commissioner. V: United States Commission for fish and fisheries. Part XV. Report of the Commissioner for 1887. Washington, United States Commission for fish and fisheries: I–LXIII
- McDonald M. 1892. Report of distribution of fish and eggs from July 1, 1888, to June 30, 1889. V: United States Commission for fish and fisheries. Part XVI. Report of the Commissioner for 1888. Washington, United States Commission for fish and fisheries: 379–394
- McDonald M. 1893. Report of the United States Commissioner of Fish and Fisheries for the fiscal years 1889-90 and 1890-91. V: United States Commission for fish and fisheries. Part XVII. Report of the Commissioner for 1889 to 1891. Washington, United States Commission for fish and fisheries: 1–96
- McDowall R. 2003. Impacts of introduced salmonids on native galaxiids in New Zealand upland streams: a new look at an old problem. Transactions of the American Fisheries Society, 132, 2: 229–238

- McDowall R.M. 2006. Crying wolf, crying foul, or crying shame: alien salmonids and a biodiversity crisis in the southern cool-temperate galaxioid fishes? *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 16, 3: 233–422
- Messier W., Li S.H., Stewart C.B. 1996. The birth of microsatellites. *Nature*, 381: 483–487. doi:10.1038/381483a0
- Modic T. 1995. Izbira mikrohabitata pri potočni postrvi (*Salmo trutta* f. *fario*) in šarenki (*Oncorhynchus mykiss*) v tolmunu reke Iške (Slovenija). *Diplomska naloga*. Ljubljana, Univerza v Ljubljani: 48 str.
- Modin J. 1998. Whirling Disease in California: A Review of Its History, Distribution, and Impacts, 1965–1997. *Journal of Aquatic Animal Health*, 10, 2: 132–142
- Monzón-Argüello C., Garcia de Leaniz C., Gajardo G., Consuegra S. 2013. Less can be more: loss of MHC functional diversity can reflect adaptation to novel conditions during fish invasions. *Ecology and Evolution*, 3, 10: 3359–3368
- Morita K., Kishi D., Tsuboi J., Morita S.H., Arai T. 2002. Rainbow trout and brown trout in Shiretoko Peninsula, Hokkaido, Japan (v japonščini z angleškim izvečkom). *Bulletins of the Shiretoko Museum*, 24: 17–26
- Mršić V. 1935. Iskustva sa udomaćenjem dužičaste pastrve u Jugoslaviji. Zagreb, Tisak Zaklade Narodnih Novina: 30 str.
- Murgia C., Pritchard J.K., Kim S.Y., Fassati A., Weiss R.A. 2006. Clonal origin and evolution of a transmissible cancer. *Cell*, 126, 3: 477–487
- Narum S.R., Zendt J.S., Graves D., Sharp W.R. 2008. Influence of landscape on resident and anadromous life history types of *Oncorhynchus mykiss*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 65, 6: 1013–1023
- Needham P.R., Behnke R.J. 1962. The Origin of Hatchery Rainbow Trout. *The Progressive Fish-Culturist*, 24: 156–158
- Nehring R.B., Walker P.G. 1996. Whirling disease in the wild: The new reality in the Intermountain West. *Fisheries*, 21, 6: 28–30
- Nei M., Li W.H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76, 10: 5269–5273
- Ngugi C.C. 1999. The biology of naturalized rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) in Kenya cold water streams and implications for future management. Doctoral (PhD) thesis. Newfoundland, Memorial University of Newfoundland: 167 str.

- Nielsen J. 1999. The evolutionary history of steelhead (*Oncorhynchus mykiss*) along the US Pacific Coast: Developing a conservation strategy using genetic diversity. *ICES Journal of Marine Science*, 56: 449–458
- Nistor C.E., Pagu I.B., Albu A., Păsărin B. 2014, October 31. Study of Meat Physical-Chemical Composition of Three Trout Breeds Farmed in Salmonid Exploitations from Moldova. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies*, 47, 2: 190–195
- Nomoto K., Omiya H., Sugimoto T., Akiba K., Edo K., Higashi S. 2010. Potential negative impacts of introduced rainbow trout on endangered Sakhalin taimen through redd disturbance in an agricultural stream, eastern Hokkaido. *Ecology of Freshwater Fish*, 19, 1: 116–126
- O'Malley H. 1917. The distribution of fish and fish eggs during the fiscal year 1916. Appendix I, Document No. 844. V: Report of the United States Commissioner of Fisheries for the fiscal year 1923 with Appendixes. Washington, Bureau of Fisheries: 111 str.
- O'Malley H. 1925. Report of the Commissioner of Fisheries. Bureau of Fisheries Document No. 966. V: Report of the United States Commissioner of Fisheries for the fiscal year 1924 with Appendixes. Washington, Department of Commerce. Bureau of Fisheries.: I–XL
- O'Malley H. 1926. Report of the Commissioner. Bureau of Fisheries Document No. 982. V: Report of the United States Commissioner of Fisheries for the fiscal year 1925 with Appendixes. Washington, Department of Commerce, Bureau of Fisheries: I–XL
- O'Malley H. 1927. Report of the Commissioner. Bureau of Fisheries Document No. 1002. V: Report of the United States Commissioner of Fisheries for the fiscal 1926 with Appendixes. Washington, Department of Commerce, Bureau of Fisheries: I–XLVI
- Okasha S. 2008. Population Genetics. V: . Zalta E.N. (ed.). The Metaphysics Research Lab Center for the Study of Language and Information, Stanford University.
<http://plato.stanford.edu/archives/fall2008/entries/population-genetics/>
(17. feb. 2015)
- Orizaola G., Braña F. 2006. Effect of salmonid introduction and other environmental characteristics on amphibian distribution and abundance in mountain lakes of northern Spain. *Animal Conservation*, 9, 2: 171–178
- Orrù F., Deiana A.M., Cau A. 2010. Introduction and distribution of alien freshwater

- fishes on the island of Sardinia (Italy): an assessment on the basis of existing data sources. *Journal of Applied Ichthyology*, 26, S2: 46–52
- Ortubay S. 2000. Threatened fishes of the world: *Gymnocharacinus bergi* Steindachner, 1903 (Characidae). *Environmental Biology of Fishes*, 58, 2: 144
- Parajka J., Kohnová S., Bálint G., Barbuc M., Borga M., Claps P., Cheval, S., Dumitrescu A., Gaume E., Hlačova, K., Merz, R., Pfaundler M., Stancalie G., Szolgay J., Blöschl G. 2010. Seasonal characteristics of flood regimes across the Alpine–Carpathian range. *Journal of Hydrology*, 394, 1-2: 78–89
- Pascual M., Bentzen P. 2001. First documented case of anadromy in a population of introduced rainbow trout in Patagonia, Argentina. *Transactions of the American Fisheries Society*, 130, 1: 53–67
- Pascual M., Macchi P., Urbanski J., Marcos F., Rossi C.R., Novara M., Arciprete P.D. 2002. Evaluating potential effects of exotic freshwater fish from incomplete species presence – absence data. *Biological Invasions*, 4, 1: 101–113
- 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
- Pearse D.E., Martinez E., Garza J.C. 2010. Disruption of historical patterns of isolation by distance in coastal steelhead. *Conservation Genetics*, 12, 3: 691–700
- Pearson K.J., Goater C.P. 2009. Effects of predaceous and nonpredaceous introduced fish on the survival, growth, and antipredation behaviours of long-toed salamanders. *Canadian Journal of Zoology*, 87, 10: 948–955
- Peter A. 1997. Untersuchungen zur Konkurrenz zwischen Bachforellen und Regenbogenforellen im Einzugsgebiet des Bodensees. Dübendorf, Internationalen Bevollmächtigtenkonferenz für die Bodenseefischerei: 119 str.
- Pethiyagoda R. 1994. Threats to the indigenous freshwater fishes of Sri Lanka and remarks on their conservation, 285, 1: 189–201
- Pliberšek K., Podgornik S. 2014. Ihtiološka raziskava Save Bohinjke. *Ribič*, 73, 6: 168–170
- Porras-Hurtado L., Ruiz Y., Santos C., Phillips C., Carracedo A., Lareu M. V. 2013. An overview of STRUCTURE: applications, parameter settings, and supporting software. *Frontiers in Genetics*, 4: 98, doi: 10.3389/fgene.2013.00098
- Povž M., Ocvirk A. 1990. Freshwater fish introductions and transplantations in Slovenia. *Ichthyos*, 9: 1–9

- Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155, 2: 945–959
- Pustovrh G., Sušnik Bajec S., Snoj A. 2012. A set of SNPs for *Salmo trutta* and its application in supplementary breeding programs. *Aquaculture*, 370-371: 102–108
- R Core Team. 2013. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, R Foundation for Statistical Computing.
<http://www.r-project.org/> (10. avg. 2014)
- Rahel F.J., Bierwagen B., Taniguchi Y. 2008. Managing aquatic species of conservation concern in the face of climate change and invasive species. *Conservation Biology*, 22, 3: 551–561
- Ravenel W. de C. 1896. Report on the propagation and distribution of food-fishes. V: United States Commission for fish and fisheries. Part XXI. Report of the Commissioner for the year ending June 30, 1895. Washington, United States Commission for fish and fisheries: 6–72
- Ravenel W. de C. 1898a. Report on the propagation and distribution of food-fishes. V: U. S. Commission for fish and fisheries. Part XXII. Report of the Commissioner for the year ending June 30, 1896. Washington, U. S. Commission for fish and fisheries: 11–92
- Ravenel W. de C. 1898b. Report on the propagation and distribution of food-fishes. V: U. S. Commission for fish and fisheries. Part XXIII. Report of the Commissioner for the year ending June 30, 1897. Washington, United States Commission for fish and fisheries: XVII–XC
- Ravenel W. de C. 1899. Report on the propagation and distribution of food-fishes. V: U. S. Commission for fish and fisheries. Part XXIV. Report of the Commissioner for the year ending June 30, 1898. Washington, U. S. Commission for fish and fisheries: XXXI–CXXII
- Ravenel W. de C. 1900. Report on the propagation and distribution of food-fishes. V: U. S. Commission for fish and fisheries. Part XXV. Report of the Commissioner for the year ending June 30, 1899. Washington, U. S. Commission for fish and fisheries: XXXV–CXVIII
- Ravenel W. de C. 1901. Report on the propagation and distribution of food-fishes. V: U. S. Commission for fish and fisheries. Part XXVI. Report of the Commissioner for the year ending June 30, 1900. Washington, U. S. Commission for fish and fisheries: 25–118
- Ravenel W. de C. 1902. Report on propagation and distribution of food fishes. V: Report of the Commissioner for the year ending June 30, 1901. Washington, U. S.

- Commission for fish and fisheries: 21–110
- Raymond M., Rousset F. 1995. GENEPOP (Version 1.2): Population Genetics Software for Exact Tests and Ecumenicism. *The Journal of Heredity*, 86, 3: 248–249
- Rexroad C.E., Coleman R.L., Gustafson A.L., Hershberger W.K., Killefer J. 2002. Development of rainbow trout microsatellite markers from repeat enriched libraries. *Marine Biotechnology*, 4, 1: 12–16
- Rexroad C.E., Coleman R.L., Hershberger W.K., Killefer J. 2002. Rapid communication: Thirty-eight polymorphic microsatellite markers for mapping in rainbow trout. *Journal of Animal Science*, 80, 2: 541–542
- Rexroad C.E., Coleman R.L., Martin A.M., Hershberger W.K., Killefer J. 2001. Thirty-five polymorphic microsatellite markers for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Genetics*, 32, 5: 317–319
- Ribeiro F., Collares-Pereira M.J., Moyle P.B. 2009. Non-native fish in the fresh waters of Portugal, Azores and Madeira Islands: a growing threat to aquatic biodiversity. *Fisheries Management and Ecology*, 16, 4: 255–264
- Rice W.R. 1989. Analysing tables of statistical tests. *Evolution*, 43, 1: 223–225
- Rinne J.N., Alexander M. 1994. Non native salmonid predation on two threatened native species: preliminary observations from field and laboratory studies. V: *Proceedings of the Desert Fish Council, Vol. XXVI, 1994 Annual Symposium*, r, Death Valley National Park, Furnace Creek, California U.S.A., 17.-20. nov. 1994. Hendrickson D.A. (ed.). Furnace Creek, Desert Fishes Council:113–115
- Riva Rossi C.M., Lessa E.P., Pascual M.A. 2004. The origin of introduced rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in the Santa Cruz River, Patagonia, Argentina, as inferred from mitochondrial DNA. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 61, 7: 1095–1101
- Rizzoli M., Falconi R., F, Zaccanti F. 1996. Osservazioni preliminari su una popolazione inselvatichita di *Oncorhynchus mykiss* nell' Appennino bolognese. *Associazione Italiana Itiologi Acqua Dolce. Varese Ligure*, 6: 317–322
- Roman J., Darling J.A. 2007. Paradox lost: genetic diversity and the success of aquatic invasions. *Trends in Ecology & Evolution*, 22, 9: 454–464
- Rousset F. 2008. genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*, 8, 1: 103–106
- Ruhlé C. 1996. Decline and conservation of migrating brown trout (*Salmo trutta f. lacustris* L.) of Lake Constance. V: *Conservation of endangered freshwater fish in*

- Europe. Kirchhofer A., Hefti D. (eds.). Basel, Birkhäuser Verlag: 203–211
- Rulé C., Ackermann G., Berg R., Kindle T., Kistler R., Klein M., Konrad M., Löffler H., Michel M., Wagner B. 2005. Die Seeforelle im Bodensee und seinen Zuflüssen: Biologie und Management. Österreichs Fischerei, 58: 230–262
- Sægrov H., Hindar K., Urdal K. 1996. Natural reproduction of anadromous rainbow trout in Norway. *Journal of Fish Biology*, 48, 2: 292–294
- Sartorio A. 2003. Tropical adaptation of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aliens Newsletter of Invasive Species Specialist Group*, 17: 30–31
- Saura A., Könönen K., Yrjölä R., Rinne J. 2003. Vantaanjoen yhteistarkkailu. Kalasto ja pohjaeläimet vuonna 2002. Helsinki, Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos: 50 str.
- Schneider S., Excoffier L. 1999. Estimation of past demographic parameters from the distribution of pairwise differences when the mutation rates vary among sites: application to human mitochondrial DNA. *Genetics*, 152, 3: 1079–1089
- Schwevers U., Adam B. 1990. Zur Reproduktivität allochthoner Salmoniden in hessischen Fließgewässern. *Fischökologie Aktuell*, 2: 11–13
- Schwevers U., Adam B., Engler O. 2005. Fischökologische Untersuchung der hessischen Anteile der Fließgewässersysteme von Weser und Werra Band II. Gießen, Hessen-Forst: 221 str.
- Scott D., Hewitson J., Fraser J. 1978. The origins of rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson in New Zealand. *California Fish and Game*, 64: 210–218
- Scott D., Irvine J.R. 2000. Competitive exclusion of brown trout *Salmo trutta* L., by rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* Walbaum, in lake tributaries, New Zealand. *Fisheries Management and Ecology*, 7, 3: 225–237
- Seiler S.M., Keeley E.R. 2009. Competition between native and introduced salmonid fishes: cutthroat trout have lower growth rate in the presence of cutthroat–rainbow trout hybrids. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 66, 1: 133–141
- Semenchenko V., K. R.V., Mastitsky S.E., Vezhnovets V. V., Pluta M. V., Razlutsky V.I., Laenko T. 2009. Checklist of aquatic alien species established in large river basins of Belarus. *Aquatic Invasions*, 4, 2: 337–347
- Senanayake F.R., Moyle P. 1982. Conservation of freshwater fishes of Sri Lanka. *Biological Conservation*, 22, 3: 181–195
- Shedlock A.M., Parker J.D., Crispin D.A., Pietsch T.W., Burmer G.C. 1992. Evolution of the salmonid mitochondrial control region. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1, 3: 179–192

- Silligato S., Gumpinger C. 2005. Fischökologischer Zustand Oberösterreichischer Fließgewässerstrecken. Gewässerschutz Bericht 31/2004. Linz Vol. 2004. Linz, Jagd, Fischerei, Wasserbau, Wirtschaftliche Verhältnisse, Bearbeitungen: 122 str.
- Simmons R.E. 2011. Conservation Genetics of California Redband Trout (*Oncorhynchus mykiss* subsp.). Davis, University of California, Davis: 230 str.
- Simmons R.E., Lavretsky P., May B. 2009. Introgressive Hybridization of Redband Trout in the Upper McCloud River Watershed. Transactions of the American Fisheries Society, 139: 201–213
- Simon A., Britton R., Gozlan R., van Oosterhout C., Volckaert F.A.M., Hänfling B. 2011. Invasive cyprinid fish in Europe originate from the single introduction of an admixed source population followed by a complex pattern of spread. PloS One, 6: e18560, doi: 10.1371/journal.pone.0018560: 13 str.
- Skelton P.H. 1987. South African Red Data Book. Fishes. South African National Scientific Programmes Report 137. Pretoria, National Scientific Programmes Unit, CSIR: 207 str.
- Slatkin M. 1994. Linkage disequilibrium in growing and stable populations. Genetics, 137, 1: 331–336
- Slatkin M., Excoffier L. 1996. Testing for linkage disequilibrium in genotypic data using the Expectation-Maximization algorithm. Heredity, 76, Pt 4: 377–383
- Smith H.M. 1914. The distribution of fish and fish eggs during the fiscal year 1913. Appendix I to the Report of the Commissioner of Fisheries for 1913. Document 794. V: Report of the United States Commissioner of Fisheries for the fiscal year 1913 with Appendixes. Washington, Bureau of Fisheries: 122 str.
- Snoj A., Glamuzina B., Razpet A., Zablocki J., Bogut I., Lerceteau-Köhler E., Pojskić N., Sušnik S. 2010. Resolving taxonomic uncertainties using molecular systematics: *Salmo dentex* and the Balkan trout community. Hydrobiologia, 651, 1: 199–212
- Stanback M. 2010. *Gambusia holbrooki* predation on *Pseudacris feriarum* tadpoles. Herpetological Conservation and Biology, 5: 486–489
- Standhartinger S. 2012. Fischökologisches Monitoring an der Oberen Drau 2010. Abschlussaufnahme im Rahmen des LIFE-Projektes „Lebensader Obere Drau“. Diplomarbeit zur Erlangung des akademischen Grades Diplomingenieur. Wien, Universität für Bodenkultur: 101 str.
- Stanković D., Crivelli A.J., Snoj A. 2015. Rainbow Trout in Europe: Introduction, Naturalization, and Impacts. Reviews in Fisheries Science & Aquaculture, 23, 1:

39–71

- Stanković D., Stephens M.R., Snoj A. 2015. Origin and introduction history of self-sustaining rainbow trout populations in Europe as inferred from mitochondrial DNA and a Y-linked marker. *Hydrobiologia* (v tisku), doi: 10.1007/s10750-015-2577-6: 16 str.
- Stephens M.R. 2007. Systematics, genetics and conservation of golden trout. Davis, University of California, Davis: 15 str.
- Stephens M.R., Clipperton N.W., May B. 2009. Subspecies-informative SNP assays for evaluating introgression between native golden trout and introduced rainbow trout. *Molecular Ecology Resources*, 9, 1: 339–343
- Stickney R.R., Treece G.D. 2012. History of Aquaculture. V: Aquaculture Production Systems. Tidwell J.H. (ed.). Iowa, World Aquaculture Society: 15–50
- Sušnik Bajec S., Pustovrh G., Jesenšek D., Snoj A. 2015. Population genetic SNP analysis of marble and brown trout in a hybridization zone of the Adriatic watershed in Slovenia. *Biological Conservation*, 184: 239–250
- Svärdson G., Nilsson N.-A. 1985. Fiskebiologi. 2:a revider. Stockholm, LTs förlag: 310 str.
- Taniguchi Y., Miyake Y., Saito T., Urabe H., Nakano S. 2000. Redd superimposition by introduced rainbow trout on native charrs in a Japanese stream. *Ichthyological Research*, 47, 2: 149–156
- Thrower F., Hard J., Joyce J. 2004. Genetic architecture of growth and early life-history transitions in anadromous and derived freshwater populations of steelhead. *Journal of Fish Biology*, 65, Issue Supplement S1: 286–307
- Titcomb J.W. 1904. Report on propagation and distribution of food fishes. V: Report of the Commissioner for the year ending June 30, 1902. Washington, U. S. Commission for fish and fisheries: 22–110
- Titcomb J.W. 1905. Report on propagation and distribution of food fishes. V: Report of the Bureau of Fisheries. 1904. Washington, Department of Commerce and Labour: 25–80
- Uiblein F. 2001. Status, habitat use, and vulnerability of the European grayling in Austrian waters. *Journal of Fish Biology*, 59, Issue Supplement sA: 223–247
- Uiblein F., Jagsch A., Kössner G., Weiss S., Gollmann P., Kainz E. 2000. Untersuchungen zu lokaler Anpassung, Gefährdung und Schutz der Äsche (*Thymallus thymallus*) in drei Gewässern in Oberösterreich. Österreichs Fischerei,

4: 88–165

- Urho L., Lehtonen H. 2008. Fish species in Finland. Helsinki, Finnish Game and Fisheries Research Institute: 36 str.
- Vähä J.-P., Erkinaro J., Niemelä E., Primmer C.R. 2007. Life-history and habitat features influence the within-river genetic structure of Atlantic salmon. *Molecular Ecology*, 16, 13: 2638–2654
- Valiente A.G., Juanes F., Nuñez P., Garcia-Vazquez E. 2007. Is genetic variability so important? Non-native salmonids in South America. *Journal of Fish Biology*, 71, Issue Supplementd sd: 136–147
- Van Oosterhout C., Hutchinson W.F., Wills D.P.M., Shipley P. 2004. Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4, 3: 535–538
- Van Zwol J.A., Neff B.D., Wilson C.C. 2012a. The Effect of Nonnative Salmonids on Social Dominance and Growth of Juvenile Atlantic Salmon. *Transactions of the American Fisheries Society*, 141, 4: 907–918
- Van Zwol J.A., Neff B.D., Wilson C.C. 2012b. The influence of non-native salmonids on circulating hormone concentrations in juvenile Atlantic salmon. *Animal Behaviour*, 83, 1: 119–129
- Veenvliet P., Kus Veenvliet J. 2008. Amphibians of the Eastern Julian Alps (Slovenia) with special attention to endemic forms of the Alpine newt (*Mesotriton alpestris*). *Zeitschrift Für Feldherpetologie*, 15, 49–60
- Vincent E.R. 1996. Whirling disease and wild trout: The Montana experience. *Fisheries*, 21, 6: 32–33
- Vincenzi S., Crivelli A.J., Jesenšek D., Rossi G., De Leo G. a. 2011. Innocent until proven guilty? Stable coexistence of alien rainbow trout and native marble trout in a Slovenian stream. *Die Naturwissenschaften*, 98, 1: 57–66
- Vitule J.R.S., Freire C.A., Simberloff D. 2009. Introduction of non-native freshwater fish can certainly be bad. *Fish and Fisheries*, 10, 1: 98–108
- Vivier P. 1955. Sur l'introduction des salmonidés exotiques en France. *Verhandlungen Des Internationalen Verein Limnologie*, 12: 527–535
- Von Hardenberg A., Tiberti R. 2012. Impact of introduced fish on Common frog (*Rana temporaria*) close to its altitudinal limit in alpine lakes. *Amphibia-Reptilia*, 33, 2: 303–307
- Wales J.H. 1939. General report of investigations on the McCloud River drainage in

1938. California Fish and Game, 4: 272–309
- Walker A.F. 2003. Status of rainbow trout in Scotland: The Results from a Questionnaire Survey. Scottish Fisheries Information Pamphlet No. 23. Fisheries research servis: 28 str.
- Ward R.D., Jorstad K.E., Maguire G.B. 2003. Microsatellite diversity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) introduced to Western Australia. *Aquaculture*, 219, 1-4: 169–179
- Welcomme R.L. 1988. International introductions of inland aquatic species. Rome, FAO: 294 str.
- Welsh H.H., Pope K.L., Boiano D. 2006. Sub-alpine amphibian distributions related to species palatability to non-native salmonids in the Klamath mountains of northern California. *Diversity and Distributions*, 12: 298–309
- Welton J.S., Ibbotson A.T., Ladle M., Brookes A.M. 1995. Impact of stocked rainbow trout on resident salmonid populations. Phase 1, Scoping Study. R & D Technical report W61. Bristol, Institute of Freshwater Ecology: 66 str.
- Wiesbauer H., Bauer T., Jagsch A., Jungwirth M., Uiblein F. 1991. Fischökologische Studie, Mittlere Salzach. Wien, Tauernkraftwerke AG: 170 str.
- Wiesner C., Wolter C., Rabitsch W., Nehring S. 2010. Gebietsfremde Fische in Deutschland und Österreich und mögliche Auswirkungen des Klimawandels. Bonn, Bundesamt für Naturschutz: 192
- Winzeler T. 1998. Marginale Bedeutung des Konkurrenzdruckes von Regenbogenforellen auf Bachforellen. Bern, Schweizerischer Fischerei-Verband: 54 str.
- Wittenberg R. 2005. Vertebrates – Vertebrata. V: An inventory of alien species and their threat to biodiversity and economy in Switzerland. CABI Bioscience Switzerland Centre report. Wittenberg R. (ed.). Delémont, Swiss Agency for Environment, Forests and Landscape: 33–106
- Wolfram G., Mikschi E. 2007. Rote Liste der Fische (Pisces) Österreichs. V: Rote Listen gefährdeter Tiere Österreichs: Checklisten, Gefährdungsanalysen, Handlungsbedarf. Teil 2. Grüne Reihe des Lebensministeriums Band 14/2. Zulka K.P. (ed.). Wien, Köln, Weimar, Böhlau-Verlag: 61–198
- Wolkovich E.M., Davies T.J., Schaefer H., Cleland E.E., Cook B.I., Travers S.E., Willis C.G., Davis C.C. 2013. Temperature-dependent shifts in phenology contribute to the success of exotic species with climate change. *American Journal of Botany*, 100, 7: 1407–1421

- Worth S.G. 1895. Report on the propagation and distribution of food-fishes. V: U. S. Commission for fish and fisheries. Part XIX. Report of the Commissioner for the year ending June 30, 1893. Washington, United States Commission for fish and fisheries: 78–138
- Worthington E.B. 1941. Rainbow Trout in Britain. Manchester, National Association of Fishery Boards: 37 str.
- Woynarovich A., Hoitsy G., Moth-Poulsen T. 2011. Small-scale rainbow trout farming. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper No. 561. Rome, FAO: 81
- Wright A. 1980. Fish and fisher people of the Kandep Lakes. Harvest, 6: 76–81
- Wright S. 1984. Evolution and the Genetics of Populations, Vol. 4: Variability Within and Among Natural Populations. Chicago, University of Chicago Press: 590
- Young K. a., Dunham J.B., Stephenson J.F., Terreau A., Thailly a. F., Gajardo G., Garcia de Leaniz C. 2010. A trial of two trouts: comparing the impacts of rainbow and brown trout on a native galaxiid. Animal Conservation, 13, 4: 399–410
- Zaugg W.S., Wagner H.H. 1973. Gill atpase activity related to parr-smolt transformation and migration in steelhead trout (*Salmo gairdneri*): Influence of photoperiod and temperature. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry, 45, 4: 955–965
- Zhao Y., Zhu X., Sun X. 2008. Microsatellite diversity in cultured populations of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in China. Journal of Fish Biology, 73, 5: 1249–1255
- Zimmerman C.E., Reeves G.H. 2000. Population structure of sympatric anadromous and nonanadromous *Oncorhynchus mykiss*: evidence from spawning surveys and otolith microchemistry. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 57, 10: 2152–2162
- Zupančič P. 2008. Rijetke i ugrozene slatkovodne ribe Jadranskog slijeva Hrvatske, Slovenije i Bosne i Hercegovine. Dolsko, Slovenia, AZV: 79 str.
- Zupančič P., Bogutskaya N. 2002. Description of two new species, *Phoxinellus krbavensis* and *P. jadovensis*, re-description of *P. fontinalis* Karaman, 1972 , and discussion of the distribution of *Phoxinellus* species (Teleostei: Cyprinidae) in Croatia and Bosnia and Herzegovina. Natura Croatica, 11, 4: 23–37
- ZZRS. 2010a. Načrt za izvajanje ribiškega upravljanja v gorenjsavskem ribiškem območju za obdobje 2011-2016. Sp. Gameljne, Zavod za Ribištvu Slovenije: 79 str.

ZZRS. 2010b. Načrt za izvajanje ribiškega upravljanja v notranjsko-ljubljanskem ribiškem območju za obdobje 2011-2016. Sp. Gameljne, Zavod za Ribišтво Slovenije: 55 str.

ZZRS. 2010c. Načrt za izvajanje ribiškega upravljanja v novomeškem ribiškem območju za obdobje 2011-2016. Sp. Gameljne, Zavod za Ribišťvo Slovenije: 84 str.

ZZRS. 2010d. Načrt za izvajanje ribiškega upravljanja v soškem ribiškem območju za obdobje 2011-2016. Sp. Gameljne, Zavod za Ribišťvo Slovenije: 64 str.

ZZRS. 2010e. Načrt za izvajanje ribiškega upravljanja v zgornjedravskem območju za obdobje 2011-2016. Sp. Gameljne, Zavod za Ribišťvo Slovenije: 93 str.

ZAHVALA

Mentorju dr. Alešu Snoju se zahvaljujem za strokovno vodstvo, podporo in pomoč.

Hvala članom komisije, prof. dr. Petru Trontlju, prof. dr. Simoni Sušnik in prof. dr. Borisu Kryštufku za pregled doktorske disertacije in tehtne pripombe ter koristne nasvete. Dr. Kryštufku pa se zahvaljujem tudi za pomoč pri pridobivanju muzejskih vzorcev.

Hvala vsem prijateljem s katerimi sem v preteklih letih izmenjeval ideje in so mi pomagali s koristnimi nasveti predvsem dr. Anji Palandačič, dr. Gašperju Pustovrh, dr. Saši Mariću, Nejcju Bravničar, Teotu Deliću, Adreju Renčlju in drugim sodelavcem.

Hvala vsem, ki so mi pomagali pri vzorčenju in pridobivanju informacij o tujerodnih šarenkah predvsem dr. Alainu Crivelliju, Dušanu Jesenšku, dr. Patricku Berrebiju, Marijanu Govediču, dr. Nikici Špremu, dr. Branku Glamuzini, Klavdiji Bogataj, Charlesu Cathcartu, Stafanu Fenogliu, Güntherju Feuersteinu, dr. Christophu Hahnu, dr. Güntherju Unferju, dr. Akosu Horváthu, Marjanu Vaupotiču in Stefanu Tigliu.

Za pomoč pri pridobivanju vzorcev iz Amerike in za znanje o biologiji šarenk se zahvaljujem še prof. dr. Bernieju Mayu iz UC Davis ter dr. Molly R. Stephens in dr. Rachel E. Simmons.

Ani, mami, tati, Anji, Tamari in Vanji se zahvaljujem za podporo in vzpodbudo hčeri Milevi pa za veselje, ki ga je prinesla.

PRILOGE

Priloga A: Mesta vzorčenja za sekvenčna zaporedja z oznako oz. številko lokalitete (Lo; številka lokalitete ustreza tistim iz Slike R) s pripadajočimi koordinatami (podane so le koordinate lastnih vzorcev). Navedeno je število vzorcev iz posameznega mesta, vir vzorcev (Patrick Berrebi (PB), Klavdija Bogataj (KB), Nejc Bravničar (NB), Charles Cathcart (CC); Alain Crivelli (AC), Stefano Fenoglio (SF), Günter Feuerstein (GU), Marijan Govedič (MG), Christopher Hahn (CH), Gašper Pustovrh (GP), Molly R. Stephens (MS) Nikica Šprem (NŠ), Günther Unfer (GU) in Marjan Vaupotič (MV)) ter linija, kateri pripadajo domorodni vzorci (anadromne šarenke severno od rta Mendocino (N-RBT), anadromne šarenke iz osrednje Kalifornije (CCA-RBT), anadromne šarenke iz južne Kalifornije (SCA-RBT), šarenke iz porečja reke Columbia (COL), šarenke iz severnega dela endoreičnega območja Great Basin (NGB), šarenke iz porečja reke McCloud (M-RT), šarenke iz porečja reke Sacramento (SAC-RBT) in šarenke iz porečja reke Kern (GT)). Ob vsakem vzorčnem mestu so podani najdeni haplotipi, ker so bile sekvence iz raziskave Brunelli in sod. (2010) pomnoženimi z drugačnimi začetnimi oligonukleotidi, je ujemanje s haplotipi iz naše raziskave le delno (oglati oklepaji). Pri vzorcih iz Bagley in Gall (1998) in Brunelli in sod. (2010) je podana le frekvenca haplotipov, ki so bili najdeni med tujerodnimi populacijami (*).

Supplementary A: Sample location for DNA sequences name with the location number (Lo; location number is same to the number of the sample in Figure 4); size of the sample (No); Lineage of native rainbow trout populations where available - Steelhead populations north of Cape Mendocino (N-RBT), Columbia River basin redband trout (COL), Northern Great Basin redband trout (NGB), Steelhead populations from Central California (CCA-RBT), Steelhead populations from South California (SCA-RBT), McCloud River redband trout (M-RT), Sacramento River coastal rainbow trout (SAC-RBT) and Kern River Basin golden trout (GT); Source – Patrick Berrebi (PB), Klavdija Bogataj (KB), Nejc Bravničar (NB), Charles Cathcart (CC); Alain Crivelli (AC), Stefano Fenoglio (SF), Günter Feuerstein (GU), Marijan Govedič (MG), Christopher Hahn (CH), Gašper Pustovrh (GP), Molly R. Stephens (MS), Nikica Šprem (NŠ), Günther Unfer (GU) and Marjan Vaupotič (MV); geographic coordinates for own data (coordinates for data from Bagley and Gall, 1998 and from Brunelli et al., 2010 can be found in those publications); mtDNA haplotype frequencies (sequences in Brunelli et al., 2010 are shorter - where a sequence matched more than one of our haplotypes square brackets were used); and OmyY1 haplotype frequencies. For samples from Bagley and Gall (1998) and Brunelli et al. (2010) only frequencies of haplotypes recorded in translocated populations are shown (*).

Lo	Vzorčno mesto	No	Linija	Vir	Koordinate	Kontrolna regija											OmyY1						
						MYS03A-EU	MYS03B-RTDL16-EU	MYS03B-RTDL20-EU	MYS03B-1-EU	MYS03B-2-EU	MYS03C-RTDL34-EU	MYS10-EU	RTDL21-EU	MYS01G-RTDL27-EU	MYS01G-1-EU	MYS01H-EU	MYS01K-RTDL01-EU	MYS01K-RTDL28-EU	MYS01K-1-EU	MYS01L-EU	MYS08-RTDL07-EU	RTDL04-EU	C1
18	Ren (Rhein) na iztoku iz Bodenskega jezera (Bodensee), CH	5		GF	47.68 °N 8.78 °E	1				1	1				2				5				
POPULACIJE S PODPORNIM VLAGANJEM						10	13	17	2		3	4		2	1	7	14		8		5	1	87
19	Gameljščica, pritok Save pri Ljubljani, SI	4			46.13 °N 14.49 °E			1						2	1							4	
20	Hubelj, pritok Vipave pri Ajdovščini, SI	8		MV	45.88 °N 13.91 °E		2								6							8	
21	Jadro pri Splitu, HR	5		NŠ	43.54 °N 16.51 °E	2		2		1												5	
22	Konjščak, pritok Hublja, SI	2		MG	45.90 °N 13.76 °E							2										2	
23	Lepenca, pritok Soče pri Bovcu, SI	2		GP	46.30 °N 13.65 °E			1													1	2	
24	Lipnica, pritok Save pri Kamni Gorica, SI	5			46.30 °N 14.22 °E		1		1		1			1							1	5	
25	Lago di Livigno, pri Livigno, CH	5		GF	46.63 °N 10.19 °E		1							1			3					5	
26	Ljuta pri Cavtatu, HR	6			42.53 °N 18.36 °E	1	1	4														6	
27	Posavec, mrtvica Save, pri Podbrezju, SI	6			46.30 °N 14.20 °E			1						2	2						1	6	
28	Prelog, kanal Drave pri Varaždinu, HR	5		NŠ	46.31 °N 16.52 °E	1		3		1												5	
29	Reka Reka pri Pivki, SI	1		MG	45.47 °N 14.13 °E					1												1	
30	Ribnica, pritok Save, pri Bohinjski Beli, SI	5			46.29 °N 13.92 °E	1	1	1						1							1	5	
31	Soča pri Tolminu, SI	4		AC	46.18 °N 13.30 °E			1				1		2								4	
32	Sopota, pritok Save pri Radečah, SI	5			46.07 °N 15.13 °E												4			1		5	
33	Tržiška Bistrica pri Tržiču, SI	4		KB	46.33 °N 14.29 °E		2	1									1					4	

Lo	Vzorčno mesto	No	Linija	Vir	Koordinate	Kontrolna regija											OmyY1				
						MYS03A-EU	MYS03B-RTDL16-EU	MYS03B-RTDL20-EU	MYS03B-1-EU	MY03B-2-EU	MYS03C-RTDL34-EU	MYS10-EU	RTDL21-EU	MYS01G-RTDL27-EU	MYS01G-1-EU	MYS01H-EU	MYS01K-RTDL01-EU	MYS01K-RTDL28-EU	MYS01K-1-EU	MYS01L-EU	MYS08-RTDL07-EU
34	Alpsko jezero, CH	5		GF		2						1	1				1		5		
35	Žrnovnica pri Splitu, CH	4		NŠ	43.51 °N 16.54 °E	3		1											4		
36	Zadnja Smoleva, pritok Selške Sore pri Železnikih, SI	11			46.20 °N 14.11 °E	5	2			3				1					11		
EVROPSKE RIBOGOJNICE						8	2				2		5		5	1	4	1	3	32	
37	Ribogojnica Glavatićevo pri Konjicu, BIH	6			43.50 °N 18.11 °E	1								3		2			6		
38	Ribogojnica Ramsko jezero, BIH	5			43.79 °N 17.60 °E			1			1							3	5		
38	Ribogojnica Ramsko jezero, BIH	5			43.79 °N 17.60 °E			1			1							3	5		
39	Komercialna ribogojnica, N	5		GP									5						5		
40	Ribogojnica Povodje, SI	6		GP	46.14 °N 14.48 °E			1			1			1	1	1	1		6		
41	Ribogojnica Pšata, SI	5			46.10 °N 14.62 °E	5													5		
42	Ribogojnica Železniki, SI					2								1		2			5		
KALIFORNIJSKE RIBOGOJNICE						4	3					1		2	10			31	4		
43	Ribogojnica Coleman, CA-USA	10		NC		2						1			2				7	3	
44	Ribogojnica Pit, CA-USA	10		NC		2									3				9	1	
45	Ribogojnica Mount Shasta, CA-USA	10		NC											5				10		
46	Ribogojnica Mount Whitney, CA-USA	5		NC				3						2					5		

Lo	Vzorčno mesto	No	Linija	Vir	Koordinate	Kontrolna regija													OmyY1		
						MYS03A-EU	MYS03B-RTDL16-EU	MYS03B-RTDL20-EU	MYS03B-1-EU	MY03B-2-EU	MYS03C-RTDL34-EU	MYS10-EU	RTDL21-EU	MYS01G-RTDL27-EU	MYS01G-1-EU	MYS01H-EU	MYS01K-RTDL01-EU	MYS01K-RTDL28-EU	MYS01K-1-EU	MYS01L-EU	MYS08-RTDL07-EU
DOMORODNE POPULACIJE, ZDA (lastni podatki)																			62	3	1
47	Potok Sheepheaven Crk, pritok zgornjega dela reke McCloud R, CA-USA	4	M-RT	MS	41.33 °N 121.83 °W														4		
48	Potok Edson Crk, pritok zgornjega dela reke McCloud R, CA-USA	5	M-RT	MS	41.34 °N 121.93 °W														5		
49	Potok Mooshead Crk, pritok zgornjega dela reke McCloud R, CA-USA	5	M-RT	MS	41.18 °N 121.82 °W														5		
50	Potok Bull Crk, pritok zgornjega dela reke McCloud R, CA-USA	3	M-RT	MS	41.19 °N 121.87 °W														3		
51	Potok Butcherknife Crk, pritoko spodnjega dela reke McCloud R, CA-USA	3	SAC-RBT	MS	41.11 °N 122.03 °W														3		
52	Potok Claiborne Crk, pritoko spodnjega dela reke McCloud R, CA-USA	4	SAC-RBT	MS	41.04 °N 122.18 °W														4		
53	Potok North Fork Fitzhugh Crk, pritok zgornjega dela reke Pit R, CA-USA	5	SAC-RT	MS	41.36 °N 120.30 °W														5		
54	Potok Dismal Crk, Warner Valley, OR-USA	6	NGB	MS	41.99 °N 120.17 °W														3	2	
55	Pootok Cedar Crk, Surprise Valley, CA-USA	5	NGB	MS	41.54 °N 120.23 °W														4	1	
56	Potok North Arm Rice Crk, pritok reke Feather R, CA-USA	1	SAC-RBT	MS	40.38 °N 121.45 °W														1		

Priloga B: Mesta vzorčenja za mikrosatelitne analize z oznako oz. številko lokalitete (Lo; številka lokalitete ustreza tistim iz Slike R) s pripadajočimi koordinatami (podane so le koordinate vzorcev pridobljenih v tej raziskavi). Navedeno je število vzorcev s posameznega mesta, vir vzorcev (Patrick Berrebi (PB), Klavdija Bogataj (KB), Nejc Bravničar (NB), Charles Cathcart (CC); Alain Crivelli (AC), Stefano Fenoglio (SF), Günter Feuerstein (GU), Marijan Govedič (MG), Christopher Hahn (CH), Gašper Pustovrh (GP), Molly R. Stephens (MS), Rachel E. Simmons (RE), Nikica Šprem (NŠ), Günther Unfer (GU) in Marjan Vaupotič (MV)) ter linija, kateri pripadajo domorodni vzorci – šarenke iz porečja reke McCloud (M), križane populacije iz spodnjega dela porečja reke McCloud (HIB); šarenke iz porečja reke Sacramento (SAC), šarenke iz porečja reke Pit (PIT), šarenke iz jezera Eagle (EL), šarenke iz severnega dela endoreičnega območja Great Basin (NGB). Ob vsakem vzorčnem mestu so podani osnovni populacijsko genetski parametri – pričakovana (HE) in opažena heterozigotnost (HO), koeficient parjenja sorodstvu (FIS), povprečno število alelov na lokus (Na) in povprečno efektivno število alelov na lokus (Ne). Manjkajočih vrednosti (?) nismo mogli izračunati.

Supplementary A: Sample location for microsatellite analysis name with the location number (Lo; location number is same to the number of the sample in Figure 4); size of the sample (No); Lineage of native rainbow trout populations where available - McCloud River redband trout (M); Lower McCloud hybrid populations (HIB); Sacramento River Basin coastal rainbow trout (SAC); Pit River redband trout (PIT); Eagle Lake rainbow trout (EL); Northern Great Basin redband trout (NGB). Source – Patrick Berrebi (PB), Klavdija Bogataj (KB), Nejc Bravničar (NB), Charles Cathcart (CC); Alain Crivelli (AC), Stefano Fenoglio (SF), Günter Feuerstein (GU), Marijan Govedič (MG), Christopher Hahn (CH), Gašper Pustovrh (GP), Molly R. Stephens (MS), Nikica Šprem (NŠ), Günther Unfer (GU) and Marjan Vaupotič (MV); geographic coordinates. Following population parameters are given for each population: expected (HE) and observed heterozygosity (HO), inbreeding coefficient (FIS), number of alleles (Ar), effective number of alleles (Ne) and missing values (?).

Lo	Vzorčno mesto	No	Linija	Vir	Koordinate	HE	HO	FIS	Na	Ne	Ar
PRISTNE NATURALIZIRANE POPULACIJE		323									
1	Bela, pritok Idrijica prr Idriji, SI	10		AC	45.96 °N 13.97 °E	0,578	0,629	-0,132	3,364	2,416	3,196
2	Bouillouses, akumulacija v Pirinejih FR	29		PB	42.57 °N 2.01 °E	0,559	0,585	-0,045	5,364	2,916	5,209
3	Brinta, pritok Soče pri Kamnem, SI	28		AC	46.22 °N 13.67 °E	0,507	0,510	-0,041	2,818	2,067	2,802
4	Črni potok v Logatcu, SI	32			45.91 °N 14.20 °E	0,601	0,554	0,091	5,273	3,057	5,253
5	Dabršček, pritok Idrijice pri D. Trebuši, SI	29		AC	46.12 °N 13.89 °E	0,708	0,725	-0,071	7,273	4,055	5,438
6	Hotenja, pritok Trebuščice pri D. Trebuši, SI	16		AC	46.09 °N 13.86 °E	0,705	0,665	0,000	6,364	3,982	5,555
7	Hribski potok, Vrhnika	10		NB	45.96 °N 14.29 °E	0,619	0,599	-0,100	3,727	2,794	1,619
8	Zgornja Idrijica pri Idriji, SI	18		AC	45.97 °N 13.98 °E	0,557	0,485	0,075	3,723	2,313	2,955
9	Iška pri Ljubljani, SI	19			45.88 °N 15.52 °E	0,552	0,464	0,131	4,455	3,017	4,035

Lo	Vzorčno mesto	No	Linija	Vir	Koordinate	HE	HO	FIS	Na	Ne	A
10	Lemme, pritok Orba, Alessandria, IT	24		SF	44.59 °N 8.86 °E	0,655	0,650	-0,033	6,818	3,660	6,357
11	Majnški potok, pritok Idrijce, pri Idrijski Beli, SI	15		AC	45.98 °N 13.96 °E	0,575	0,671	-0,208	3,364	2,568	3,259
12	Predjamski potok pri Postojni, SI	30			45.82 °N 14.13 °E	0,573	0,575	-0,016	4,273	3,012	4,137
13	Ren (Rhein) na iztoku iz Bodenskega jezera (Bodensee), CH	11		GF	47.68 °N 8.78 °E	0,741	0,717	-0,034	6,545	4,267	6,038
14	Mola (Möll), pritok Drave, AT	23		GU	45.87 °N 13.30 °E	0,741	0,717	-0,005	8,455	5,272	7,816
15	La Roya, potok v Alpes-maritimes, FR	29		PB	43.97 °N 7.54 °E	0,647	0,657	-0,041	6,091	3,427	5,709
POPULACIJE S PODPORNIM VLAGANJEM		351									
16	Gameljščica, pritok Save pri Ljubljani, SI	25			46.13 °N 14.49 °E	0,747	0,731	0,017	8,455	5,272	9,223
17	Hubelj, pritok Vipave pri Ajdovščini, SI	34		MV	45.88 °N 13.91 °E	0,725	0,714	-0,002	7,273	4,319	5,415
18	Jadro pri Splitu, HR	13		NŠ	43.54 °N 16.51 °E	0,691	0,683	-0,034	5,636	3,675	5,39
19	Lipnica, pritok Save pri Kamni Gorica, SI	29			46.30 °N 14.22 °E	0,737	0,676	0,048	8,091	5,172	5,767
20	Lago di Livigno, pri Livigno, CH	19		GF	46.63 °N 10.19 °E	0,724	0,717	-0,016	7,455	4,571	7,307
21	Ljuta pri Cavtatu, HR	34			42.53 °N 18.36 °E	0,675	0,662	0,007	7,000	3,464	6,885
22	Posavec, mrtvica Save, pri Podbrezju, SI	33			46.30 °N 14.20 °E	0,743	0,730	-0,022	9,000	5,185	4,494
23	Prelog, kanal Drave pri Varaždinu, HR	22		NŠ	46.31 °N 16.52 °E	0,719	0,728	-0,013	9,636	5,526	7,711
24	Ribnica, pritok Save, pri Bohinjski Beli, SI	30			46.29 °N 13.92 °E	0,727	0,678	0,025	9,455	5,031	9,390
25	Soča pri Tolminu, SI	16		AC	46.18 °N 13.30 °E	0,729	0,626	0,071	7,364	4,661	3,707
26	Sopota, pritok Save pri Radečah, SI	24			46.07 °N 15.13 °E	0,658	0,659	-0,035	4,455	3,017	6,590
27	Tržiška Bistrica pri Trziču, SI	15		KB	46.33 °N 14.29 °E	0,697	0,716	-0,066	5,818	3,858	4,654
28	Alpsko jezero, CH	18		GF		0,725	0,674	0,056	8,364	5,003	8,234
29	Žrnovnica pri Splitu, CH	19		NŠ	43.51 °N 16.54 °E	0,699	0,669	0,003	7,091	3,754	5,181
30	Zadnja Smoleva, pritok Selške Sore pri Železnikih, SI	20			46.20 °N 14.11 °E	0,704	0,658	0,001	5,636	3,678	2,692
LA REUNION		?									
31	Bras de Ste-Suzanne, Bras de La Plaine otok La Reunion	15		PB	21.17 °S 55.25 °E	0,455	0,374	0,296	3,818	2,267	?

Lo	Vzorčno mesto	No	Linija	Vir	Koordinate	HE	HO	FIS	Na	Ne	A
EVROPSKE RIBOGOJNICE											
32	Bras Caron, Remparts, otok La Reunion	13		PB	21.23 °S 55.63 °E	0,848	0,664	0,138	8,545	6,333	3,272
33	Ribogojnica Glavatićevo pri Konjicu, BIH	12			43.50 °N 18.11 °E	0,786	0,746	0,008	7,182	4,766	5,132
34	Ribogojnica Ramsko jezero, BIH	17			43.79 °N 17.60 °E	0,771	0,758	0,012	8,273	5,411	6,584
35	Komercialna ribogojnica, N	26		GP		0,668	0,673	-0,029	5,636	3,675	5,501
36	Ribogojnica Povodje, SI	25		GP	46.14 °N 14.48 °E	0,740	0,764	-0,059	8,364	4,816	8,189
37	Ribogojnica Pšata, SI	20			46.10 °N 14.62 °E	0,619	0,654	-0,084	5,364	3,226	5,322
38	Ribogojnica Železniki, SI	19			46.23 °N 14.17 °E	0,683	0,658	0,004	6,636	3,835	5,699
KALIFORNIJSKE RIBOGOJNICE											
39	Ribogojnica Coleman, CA-USA	42		NC,RS		0,782	0,609	0,218	15,091	5,980	13,729
40	Ribogojnica Pit, CA-USA	44		NC,RS		0,493	0,393	0,202	7,636	2,504	7,485
41	Ribogojnica Mount Shasta, CA-USA	17		NC		0,585	0,576	-0,045	4,727	2,961	4,652
42	Ribogojnica Mount Whitney, CA-USA	20		NC		0,685	0,656	0,011	6,000	3,565	5,612
DOMORODNE POPULACIJE											
1	Potok Sheepheaven Crk, pritok zgornjega dela reke McCloud, CA-USA	75	M	MS	41.33 °N 121.83 °W	0,408	0,513	0,236	9,273	2,226	8,358
2	Potok Edson Crk, pritok zgornjega dela reke McCloud, CA-USA	26	M	MS	41.34 °N 121.93 °W	0,392	0,377	0,165	3,818	1,846	3,745
3	Potok Mooshead Crk, pritok zgornjega dela reke McCloud, CA-USA	29	M	MS	41.18 °N 121.82 °W	0,503	0,431	0,199	5,818	2,409	4,944
4	Potok Dry Crk, pritok zgornjega dela reke McCloud, CA-USA	15	M	MS	41.20 °N 121.84 °W	0,517	0,478	0,115	2,771	4,000	3,975
5	Potok Tate Crk, pritok zgornjega dela reke McCloud, CA-USA	42	HIB	MS	41.18 °N 121.91 °W	0,704	0,677	0,028	10,273	4,546	10,114
6	Potok Blue Heron Crk, pritok zgornjega dela reke McCloud, CA-USA	8	HIB	MS	41.24 °N 121.96 °W	0,649	0,580	0,073	4,182	3,114	4,070
7	Potok McKay Crk, pritok zgornjega dela reke McCloud, CA-USA	29	HIB	MS	41.29 °N 121.84 °W	0,701	0,656	0,085	11,727	5,127	11,108
8	Potok Raccoon Crk, pritok zgornjega dela reke McCloud, CA-USA	17	HIB	MS	41.23 °N 121.87 °W	0,821	0,679	0,149	10,909	5,683	9,536
9	Reka McCloud	61	HIB	MS	41.24 °N 121.99 °W	0,822	0,728	0,098	21,091	8,318	18,191
10	Akumulacija McCloud Reservoir na spodnjem delu reke McCloud	29	SAC	MS	41.18 °N 122.07 °W	0,814	0,745	0,090	16,364	8,833	15,255

Lo	Vzorčno mesto	No	Linija	Vir	Koordinate	HE	HO	FIS	Na	Ne	A
11	Potok Butcherknife Crk, pritoko spodnjega dela reke McCloud R, CA-USA	37	SAC	MS	41.11 °N 122.03 °W	0,685	0,443	0,362	9,818	3,807	8,351
12	Potok Claiborne Crk, pritoko spodnjega dela reke McCloud R, CA-USA	24	SAC	MS	41.04 °N 122.18 °W	0,830	0,714	0,127	13,545	7,471	12,253
13	Reka North Fork American R, CA-USA	29	SAC	MS	39.20 °N 120.26 °W	0,798	0,757	0,040	13,000	7,107	12,509
14	East Fork Nelson Creek, pritok spodnjega dela reke Pit	30	PIT	MS	41.03 °N 121.83 °W	0,662	0,507	0,266	7,545	3,255	6,148
15	Potok Davis Crk, pritok srednjega dela reke Pit	34	PIT	MS	40.84 °N 121.12 °W	0,662	0,507	0,187	13,128	5,096	10,804
16	Potok North Fork Fitzhugh Crk, pritok zgornjega dela reke Pit R, CA-USA	26	PIT	MS	41.36 °N 120.30 °W	0,754	0,615	0,168	12,091	5,947	7,869
17	Potok Parke Crk, pritok zgornjega dela reke Pit R, CA-USA	22	PIT	MS	41.36 °N 120.30 °W	0,795	0,621	0,190	11,273	7,784	?
18	Potok Couch Crk, pritok zgornjega dela reke Pit R, CA-USA	22	PIT	MS	41.61 °N 120.34 °W	0,771	0,661	0,112	8,188	5,504	7,707
19	Jezero Eagle Lake, CA-USA	86	EL	MS	40.65 °N 120.75 °W	0,858	0,665	0,228	20,545	8,169	17,797
20	Potok Twelve Mile Crk, Warner Valley, OR-USA	30	NGB	MS	41.99 °N 120.17 °W	0,711	0,632	0,100	9,364	3,891	8,961
21	Potok Upper Pine Crk, Goose Lake Valley, CA-USA	28	NGB	MS	41.99 °N 120.17 °W	0,662	0,524	0,189	8,818	4,052	7,557
22	Potok Cottonwood Crk, p Goose Lake Valley y, CA-USA	28	NGB	MS	41.95 °N 120.29 °W	0,627	0,506	0,206	8,273	3,140	7,443
23	Potok Lassen Crk, Goose Lake Valley, CA-USA	27	NGB	MS	41.84 °N 120.30	0,848	0,719	0,137	15,545	7,554	13,632

Priloga C: Prikaz skripte v programu R za diskriminantno analizo glavnih komponent s paketom adegenet. Angleške sprotne opombe so napisane s sivo barvo.

Appendix C: Script for the discriminant analysis of principal components (DAPC) with adegenet package in R. The notes to the script are in gray.

```
#Install adegenet and other necessary packages.
install.packages("adegenet", dep=TRUE)
install.packages("ape", dep=TRUE)
install.packages("ade4", dep=TRUE)
install.packages("poppr", dep=TRUE)
source("http://bioconductor.org/biocLite.R")
biocLite("graph")
library(adegenet)
library(ape)
library(ade4)
library(poppr)

#Set your working directory.
setwd("/home/david/MEGAsync/doktorat/0_marec/dapc")

#Load your genepop file and transform it to genind object.
Omyk <- read.genepop("All_subset-genepop.gen")

#Find clusters with; k-means, BIC
par(mfrow=c(1,1))
#Find clusters
grp <- find.clusters(Omyk)

#Run DAPC and optimize a-score to retain the optimal number of PCs in
the PCA step of the DAPC.
dapc <- dapc(Omyk, grp$grp)

optim.a.score(dapc, smart=F)

dapc <- dapc(Omyk, grp$grp)
```

```

table(pop(Omyk), grp$grp)

#Make scatterplots.
x1 <- (dapc$ind.coord[,1])
x2 <- (dapc$ind.coord[,2])
x3 <- (dapc$ind.coord[,3])

df23<-data.frame(x2,x3)
df13<-data.frame(x1,x3)

s.label(dapc$ind.coord[,1:2], clab=0, sub="Axes 1-2", cpoint=0)
par(xpd=T)
colorplot(dapc$ind.coord[,1:2],dapc$ind.coord, cex=1.5, add=TRUE,
transp=T)
add.scatter.eig(dapc$eig,19,1,2, posi="topleft", ratio=.3, csub=1.25)

s.label(dapc$ind.coord,xax=1, yax=3, clab=0, cpoint=0)
par(xpd=T)
colorplot(df13, dapc$ind.coord, cex=1.5, add=TRUE, transp=T)
add.scatter.eig(dapc$eig,18,1,3, posi="bottomright", ratio=.3,
csub=1.25)

s.label(dapc$ind.coord,xax=2, yax=3, clab=0, cpoint=0)
par(xpd=T)
colorplot(df23, dapc$ind.coord, cex=1.5, add=TRUE, transp=T)
add.scatter.eig(dapc$eig,18,2,3, posi="bottomright", ratio=.3,
csub=1.25)

barplot(dapc$eig, main="eHGDP - DAPC eigenvalues",
col=c("red","green","blue", rep("grey",15)))

#Save the coordinates of PC into a csv file.
write.csv(dapc$ind.coord[,1:3],file="ColCoding.csv")

#####
#####

```

To give different colors to groups edit the csv file; each PC defines one color - PC1 is red, PC2 is green and PC3 is blue. By editing the csv file you can also code the third PC as a greyscale.

```
#####  
#####
```

```
#Import edited csv
```

```
temp=read.csv("ColCoding_RT2.csv",sep=" ",row.names=1)
```

```
ColCodes<-as.matrix(temp)
```

```
temp=read.csv("xy.csv",sep=" ",row.names=1)
```

```
xy<-as.data.frame(temp)
```

```
#Make the colourplot.
```

```
s.label(dapc$ind.coord[,1:2], clab=0, sub="Axes 1-2", cpoint=0)
```

```
par(xpd=T)
```

```
colorplot(dapc$ind.coord[,1:2], ColCodes, cex=1,add=T,transp=F)
```

```
add.scatter.eig(dapc$eig,19,1,2, posi="topleft", ratio=.3, csub=1.25)
```

```
## Show other PCs.
```

```
s.label(dapc$ind.coord[,15:16], clab=0, sub="Axes 1-2", cpoint=0)
```

```
par(xpd=T)
```

```
colorplot(dapc$ind.coord[,15:16], ColCodes, cex=0.7,add=T,transp=F)
```

```
add.scatter.eig(dapc$eig,19,4,5, posi="bottomright", ratio=.3,  
csub=1.25)
```

```
s.label(dapc$ind.coord[,1:2], clab=0, sub="Axes 1-2", cpoint=0)
```

```
par(xpd=T)
```

```
colorplot(dapc$ind.coord[,1:2], ColCodesBW, cex=1.5,add=T,transp=F)
```

```
add.scatter.eig(dapc$eig,18,1,2, posi="topleft", ratio=.3, csub=1.25)
```

```
#Show the DAPC values of populations/sampling localities on a map.  
First three PCs are represented with color. Each component is  
represented by one of the RGB color components.
```

```
#Latitude and longitude coordinates
```

```
OmykLat
```

```
<-
```

```
c(43.5,43.79,59.7,46.1,46.14,46.24,45.96,46.22,46.12,46.09,45.88,45.97  
,45.98,46.18,45.88,46.07,45.91,45.96,46.29,46.3,45.82,46.3,46.2,46.13,  
46.33,46.63,45.87,47.68,47.03,43.54,42.53,46.31,43.15,44.59,42.57,43.9
```

```
7,-21.16,-  
21.25,41.1,41.1,41.1,41.1,39.2,40.65,41.04,41.11,41.18,41.24,41.25,41.  
29,41.23,41.2,41.24,41.33,41.18,41.34,41.03,40.84,41.36,41.45,41.61,42  
,41.99,41.95,41.84)
```

```
OmykLon <-  
c(18.11,17.6,11.24,14.62,14.48,14.17,13.97,13.67,13.89,13.86,13.91,13.  
98,13.96,13.3,15.52,15.13,14.2,14.29,13.92,13.65,14.13,14.2,14.11,14.4  
9,14.29,10.19,13.3,8.87,8.98,16.51,18.36,16.52,16.54,8.86,2.01,7.54,55  
.51,55.65,-123,-123.2,-123.4,-123.6,-120.62,-120.74,-122.18,-122.04,-  
122.07,-121.99,-121.93,-121.84,-121.87,-121.84,-121.96,-121.83,-  
121.82,-121.93,-121.82,-121.12,-120.31,-120.33,-120.33,-120,-120.25,-  
120.29,-120.3)
```

```
OmykLatEU <-  
c(43.5,43.79,59.7,46.1,46.14,46.24,45.96,46.22,46.12,46.09,45.88,45.97  
,45.98,46.18,45.88,46.07,45.91,45.96,46.29,46.3,45.82,46.3,46.2,46.13,  
46.33,46.63,45.87,47.68,47.03,43.54,42.53,46.31,43.15,44.59,42.57,43.9  
7)
```

```
OmykLonEU <-  
c(18.11,17.6,11.24,14.62,14.48,14.17,13.97,13.67,13.89,13.86,13.91,13.  
98,13.96,13.3,15.52,15.13,14.2,14.29,13.92,13.65,14.13,14.2,14.11,14.4  
9,14.29,10.19,13.3,8.87,8.98,16.51,18.36,16.52,16.54,8.86,2.01,7.54)
```

```
OmykLatSLO <- c(45,47)
```

```
OmykLonSLO <- c(13,17)
```

```
OmykLatR <- c(-20,-22)
```

```
OmykLonR <- c(55,56)
```

```
OmykLatUSA <-  
c(41,41,41,41,39.2,40.65,41.04,41.11,41.18,41.24,41.25,41.29,41.23,41.  
2,41.24,41.33,41.18,41.34,41.03,40.84,41.36,41.45,41.61,42,41.99,41.95  
,41.84)
```

```
OmykLonUSA <- c(-121,-121.25,-121.5,-121.75,-120.62,-120.74,-122.18,-  
122.04,-122.07,-121.99,-121.93,-121.84,-121.87,-121.84,-121.96,-
```

```

121.83,-121.82,-121.93,-121.82,-121.12,-120.31,-120.33,-120.33,-120,-
120.25,-120.29,-120.3)
OmykLatMC <- c(41.4,41)
OmykLonMC <- c(-122,-121.75)

#Project your values on a default world map.
if(require(maps)){
  xy <- cbind((OmykLon),OmykLat)
  myCoords <- apply(dapc$ind.coord, 2, tapply, pop(Omyk), mean)
  par(mar=rep(.1,4))
  map(fill=TRUE, col="lightgrey", xlim = range(OmykLonUSA), ylim =
range(OmykLatUSA))
  colorplot(xy, myCoords, cex=3, add=TRUE, trans=FALSE)
}

par(xpd=T)
if(require(maps)){
  par(mar=rep(.1,4))
  map(fill=TRUE, col="lightgrey", xlim = range(OmykLonSLO), ylim =
range(OmykLatSLO))
  s.label(xy, lab=Omyk$pop.names, inc=F, addaxes = F, add=T)
}

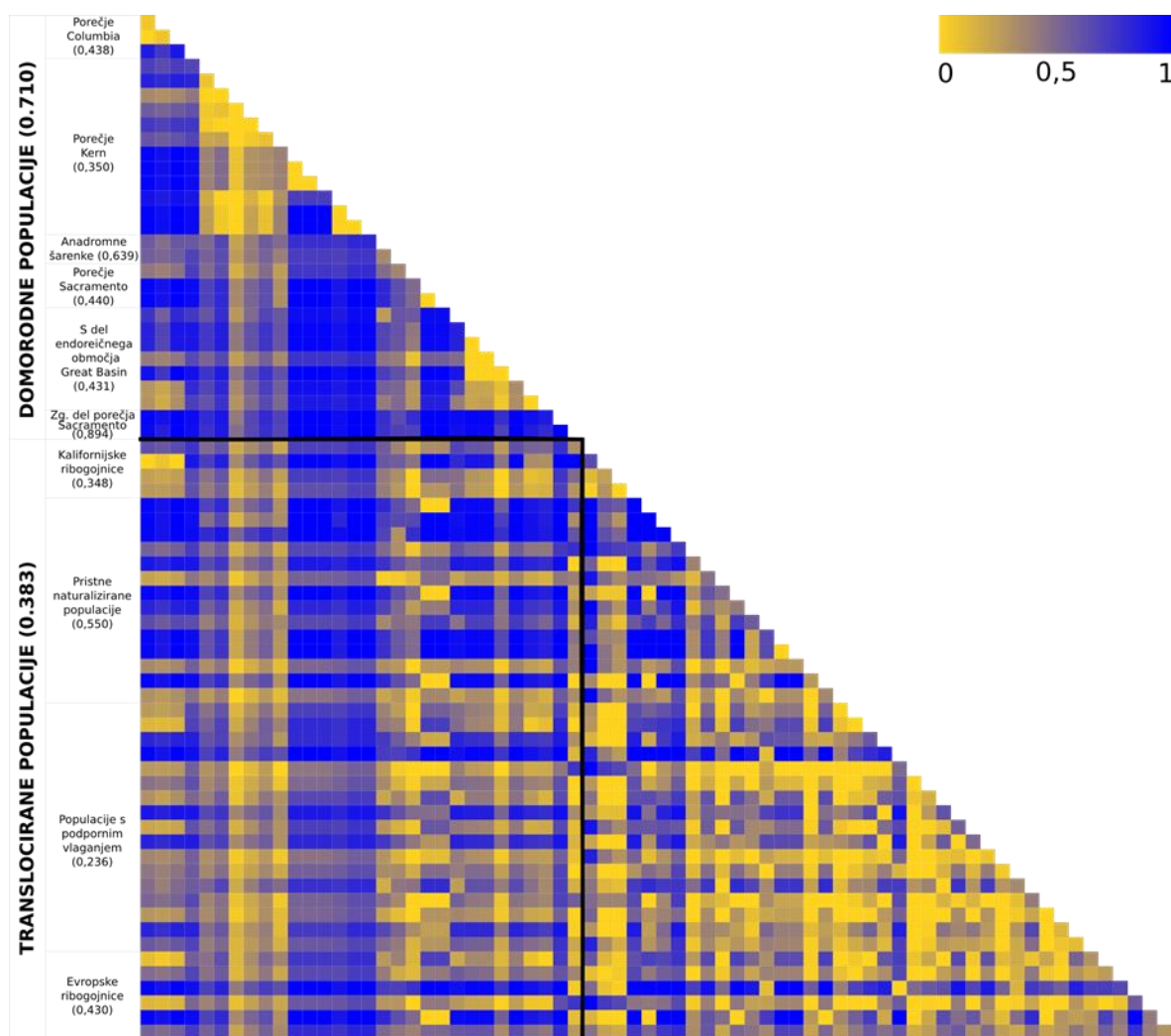
#####
#####
      You can export your maps as svg images and edit them by hand.
#####
#####

# Make a colorplot of sampling localities
s.label(myCoords[,1:2], lab=Omyk$pop.names, sub="Axes 1-2", cpoint=0)
par(xpd=T)
colorplot(myCoords[,1:2], myCoords, cex=3,add=T,transp=F)
add.scatter.eig(dapc$eig,18,1,2, posi="topleft", ratio=.3, csub=1.25)

```

Priloga D: Paroma primerjane genetske razdalje med vzorčnimi mesti na osnovi mitohondrijske DNA (F_{ST}). Vključene so tako domorodne kot tujerodne populacije. Vrednosti so bile izračunane na osnovi dataseta B. Vrednost je podana kot barva iz barvne lestvice med rumeno in modro (zgoraj desno).

Appendix D: Pairwise genetic distances between sampling sites on the basis of mitochondrial DNA (F_{ST}) of both native and translocated populations. F_{ST} values were calculated from dataset B. Each value corresponds to a specific colour on the yellow-blue colour scale (upper left corner).



Priloga E: Efektivno število alelov na posamezni lokus. Oznake populacij so enake oznakam iz Priloge B.
Appendix E: Effective number of alleles per locus. Population numbers are same to those from Appendix B.

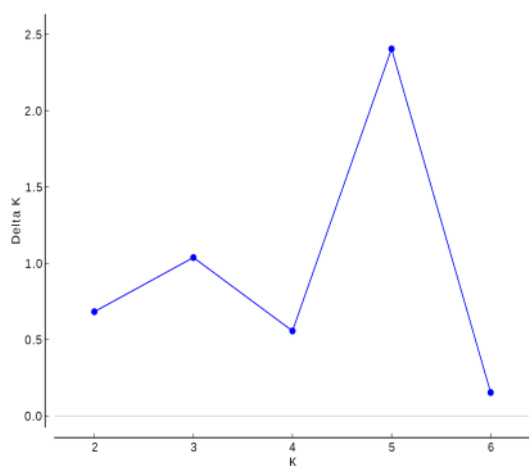
	omm 1050	omm 5186	omm 1077	omm 1086	omm 1089	omm 1070	omm 1108	omm 1279	omm 1046	omm 1083	omm 1130
PRISTNE NATURALIZIRANE POPULACIJE											
1	2.74	1.92	1.11	1.86	2.11	3.03	2.30	2.60	3.23	3.38	2.33
2	4.76	1.40	1.07	1.91	3.99	3.36	1.20	2.42	3.65	3.17	5.14
3	2.04	1.77	1.28	2.64	1.84	2.36	1.95	2.71	1.99	2.04	2.13
4	5.99	1.170	1.24	2.79	3.79	3.09	2.45	2.02	3.75	3.34	4.01
5	4.37	1.65	2.43	2.24	2.65	6.92	4.77	4.17	2.47	5.79	7.15
6	5.17	1.44	1.30	2.66	4.79	4.88	3.97	3.97	4.05	6.00	5.59
7	3.77	1.60	1.00	2.06	3.51	5.13	1.36	2.94	4.38	2.98	2.00
8	2.16	1.18	2.73	2.32	2.52	1.70	3.16	1.89	2.07	2.57	3.13
9	4.54	1.87	2.89	1.00	1.58	3.00	1.05	3.88	2.04	5.78	5.56
10	3.21	1.23	1.31	2.64	3.18	5.67	3.02	3.11	4.99	5.73	6.16
11	2.11	1.00	2.23	1.99	3.02	4.33	2.63	2.87	1.84	3.31	2.92
12	3.76	1.00	1.00	3.75	3.83	3.16	2.51	2.13	6.05	2.98	2.96
13	7.81	1.66	2.44	2.99	5.76	7.36	2.74	2.86	2.53	5.23	5.57
14	5.78	1.52	2.29	3.74	3.85	11.76	5.40	3.65	8.20	7.55	4.27
15	6.76	1.92	1.11	2.24	2.70	4.51	3.12	4.10	2.64	4.35	4.25
POPULACIJE S PODPORNIM VLAGANJEM											
16	8.12	1.89	1.47	2.70	5.79	8.53	3.96	4.62	4.31	6.36	9.09
17	6.78	1.87	2.55	1.99	4.24	5.71	2.65	5.18	5.93	7.62	2.98
18	5.12	1.99	1.45	2.94	4.63	4.06	2.37	3.98	2.02	5.83	6.04
19	6.60	1.67	1.43	2.22	6.76	10.58	3.43	4.89	5.19	7.14	7.00
20	9.76	1.57	1.66	3.70	6.35	8.00	3.44	3.38	2.84	5.23	4.35
21	3.25	1.98	1.39	2.62	3.72	4.61	3.25	3.09	3.70	5.15	5.35
22	4.84	1.64	1.55	2.92	5.26	7.43	3.33	4.92	4.71	14.04	6.40
23	10.91	1.73	1.14	2.59	4.57	9.00	3.59	3.89	5.76	10.08	7.53
24	3.00	1.34	1.68	2.95	7.96	7.56	4.84	4.29	5.68	6.79	9.24
25	8.53	1.36	1.38	3.12	8.53	4.83	3.53	4.92	6.23	2.57	6.25
26	4.40	1.49	1.47	2.57	2.15	4.74	2.11	3.47	4.12	7.84	7.14
27	5.00	1.22	1.80	3.04	5.23	5.84	1.99	3.52	4.10	5.54	5.16
28	5.78	1.84	1.38	3.09	7.51	10.45	2.96	2.96	2.99	9.97	6.10
29	4.20	1.98	1.69	2.55	4.10	5.69	1.79	4.95	3.68	5.33	5.33
30	5.94	1.16	2.46	1.89	4.02	5.48	3.67	4.44	4.72	4.00	2.67
LA REUNION											
31	1.86	1.17	1.17	2.06	2.91	1.17	1.27	4.00	4.00	5.33	0.00
32	5.76	1.99	1.91	9.93	8.00	8.96	10.29	6.23	9.00	3.60	4.00
EVROPSKE RIBOGOJNICE											
33	6.70	2.20	2.94	3.06	5.76	7.58	2.85	3.06	4.94	8.33	5.00
34	9.32	1.94	1.74	3.42	4.25	9.66	3.66	3.57	6.15	8.71	7.11
35	6.50	1.93	1.96	1.43	4.58	3.40	1.96	4.15	6.36	4.69	3.47
36	6.87	1.68	1.41	4.06	4.01	6.94	4.13	4.25	5.48	6.70	7.45
37	3.01	1.00	1.95	1.63	4.49	4.78	3.59	3.14	4.60	5.13	2.17
38	4.72	1.11	2.07	2.30	3.21	6.17	2.81	3.54	4.20	5.64	6.42
KALIFORNIJSKE RIBOGOJNICE											
39	10.29	2.45	3.57	2.78	11.24	5.61	5.29	2.03	7.95	8.64	5.94
40	6.76	1.05	1.58	3.25	1.44	2.28	2.33	1.33	3.44	1.78	2.28
41	4.45	1.64	1.26	2.56	3.97	2.34	2.05	1.13	4.28	4.13	4.78
42	3.48	1.22	2.00	4.23	4.68	5.05	2.82	3.41	3.74	3.15	5.45
DOMORODNE POPULACIJE											
1	2.77	1.21	1.63	1.72	1.52	2.57	2.13	3.44	2.34	2.70	2.45
2	2.08	1.08	2.15	2.44	1.08	2.87	2.32	1.57	1.08	2.40	1.23
3	2.26	1.24	1.11	1.79	1.15	3.16	4.38	2.29	2.41	3.70	3.00
4	3.24	1.00	1.30	3.41	2.07	3.49	3.81	1.00	1.52	6.08	3.56
5	3.12	1.58	2.87	1.87	3.26	8.40	3.27	2.67	6.81	6.29	9.88

	omm	omm	omm	omm	omm	omm	omm	omm	omm	omm	omm
	1050	5186	1077	1086	1089	1070	1108	1279	1046	1083	1130
6	2.51	1.28	2.00	2.56	1.47	4.13	2.67	4.41	3.20	5.57	4.45
7	3.59	1.15	2.57	2.50	3.23	11.93	4.38	1.96	8.00	8.52	8.56
8	6.02	2.40	4.22	5.72	5.56	7.51	3.73	3.25	8.68	8.05	7.38
9	5.99	1.66	4.39	4.23	5.55	16.57	7.71	5.10	16.45	14.67	9.18
10	14.25	1.54	1.70	4.56	10.71	12.84	9.29	7.51	10.32	10.73	13.71
11	4.85	2.01	3.26	1.73	1.81	2.65	3.97	3.95	4.22	8.54	4.87
12	15.16	1.66	3.28	8.35	8.79	7.38	6.55	5.43	9.91	10.53	5.14
13	10.01	2.20	1.55	3.18	7.28	11.36	6.62	5.46	8.14	12.75	9.62
14	2.54	2.42	1.32	2.50	3.11	3.20	2.99	4.17	5.52	4.18	3.85
15	5.60	1.41	5.34	4.35	6.72	5.58	7.95	5.08	6.18	3.29	4.55
16	6.69	2.20	1.83	1.74	7.91	12.52	6.44	5.28	9.00	9.28	2.53
17	9.97	2.58	3.25	5.45	13.76	11.33	9.97	13.76	10.00	5.56	0.00
18	9.38	1.72	2.40	2.49	6.69	5.37	6.72	3.28	4.10	9.41	8.99
19	7.63	3.18	6.32	6.91	11.16	10.63	4.95	10.54	12.92	11.10	4.53
20	6.74	2.05	1.65	3.47	2.74	4.50	6.00	3.40	4.06	4.44	3.75
21	2.12	1.98	2.38	1.16	2.32	4.33	4.68	9.17	7.54	5.52	3.38
22	6.27	2.72	1.98	1.59	1.66	1.85	4.75	3.03	2.71	4.96	3.00
23	17.15	3.92	4.54	3.91	3.74	10.64	4.46	5.98	8.49	11.45	8.80

Priloga F: Grafi vrednosti ΔK za oba podatkovna niza (domorodne in tujerodne populacije) in za hierarhično analizo združenega dataseta: a) združen dataset, b) šarenke iz porečja reke Sacramento in tujerodne populacije brez otoka Reunion, c) šarenke iz porečja reke McCloud, d) šarenke iz jezera Eagle in zgornjega dela porečja reke Pit ter iz otoka Reunion, e) tujerodne populacije brez otoka Reunion, f) šarenke iz porečja reke Sacramento, g) šarenke iz porečja reke McCloud brez potoka Sheepheaven, h) evropske populacije šarenk, i) šarenke iz kalifornijskih ribogojnic, j) vse domorodne populacije šarenk, k) vse tujerodne populacije šarenk. Pod vsakim grafom so podane vrednosti H' .

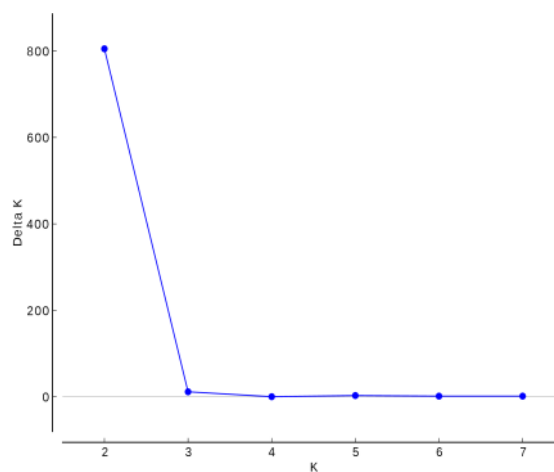
Appendix F: Plots of ΔK values for both native and translocated dataset and for the hierarchical analysis of the combined dataset: a) combined dataset (native and translocated populations), b) Sacramento river basin coastal rainbow trout and translocated populations without La Reunion populations, c) McCloud River redband trout, d) Eagle Lake and Upper Pit River rainbow trout and La Reunion populations, e) translocated rainbow trout without La Reunion populations, f) Sacramento river basin coastal rainbow trout; g) McCloud River redband trout without Sheepheaven Creek redband trout, h) European rainbow trout populations, i) Californian hatchery rainbow trout, j) all native populations, and k) all translocated populations.

a)

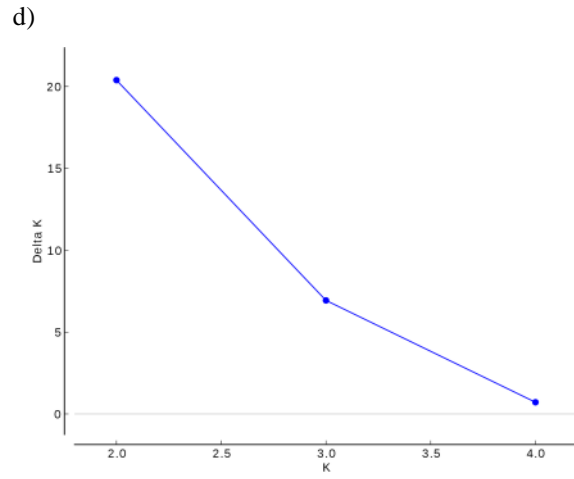
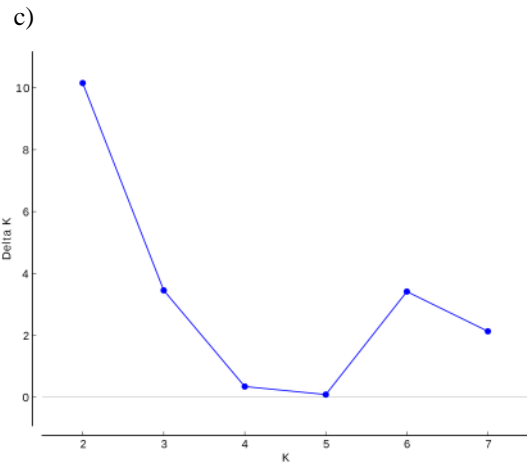


$K = 3 \rightarrow H' = 0,99$ $K = 5 \rightarrow H' = 0,76$

b)

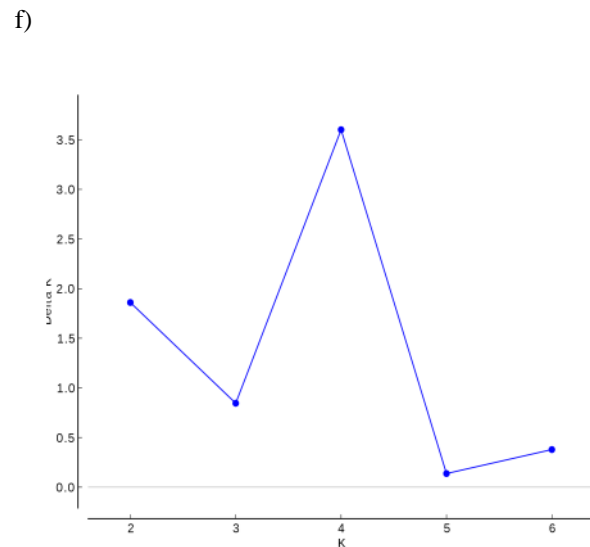
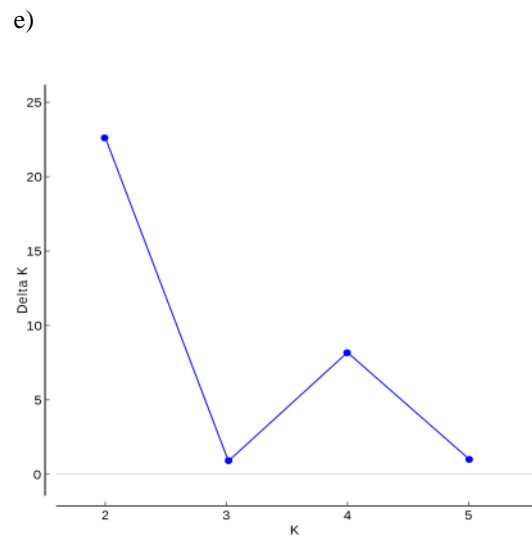


$K = 2 \rightarrow H' = 1,00$



$K = 2 \rightarrow H' = 0,90; K = 6 \rightarrow H' = 0,77$

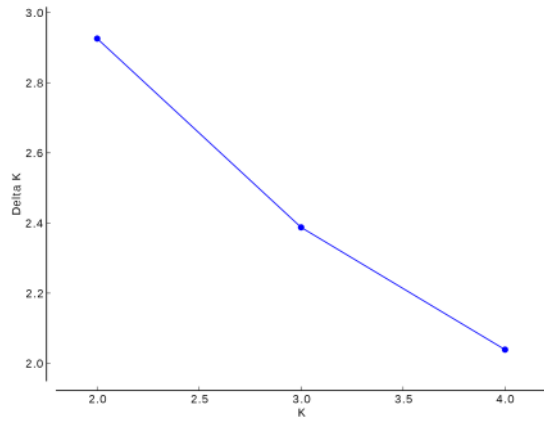
$K = 2 \rightarrow H' = 0,98$



$K = 2 \rightarrow H' = 0,98$

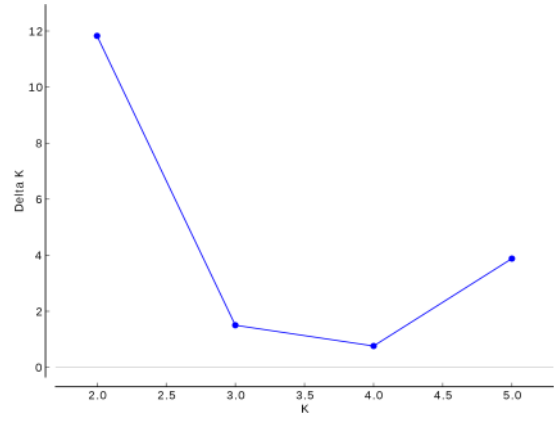
$K = 4 \rightarrow H' = 0,58$

g)



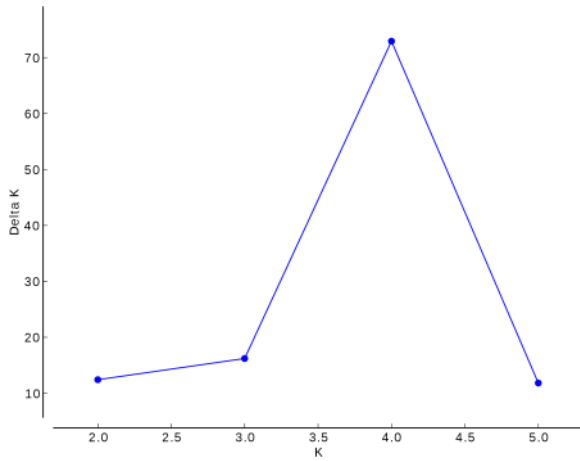
$K = 2 \rightarrow H' = 0,77$

h)



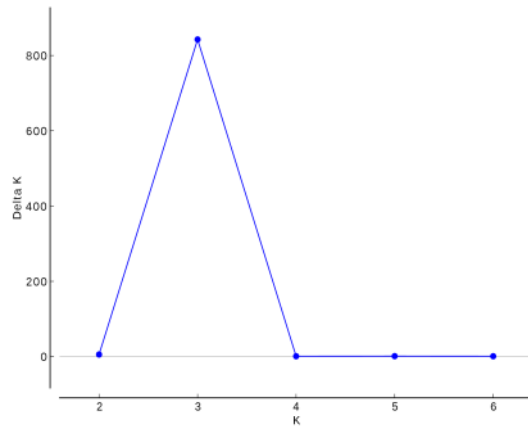
$K = 2 \rightarrow H' = 0,81$; $K = 5 \rightarrow H' = 0,63$

i)



$K = 4 \rightarrow H' = 0,99$

j)



$K = 2 \rightarrow H' = 1,00$