



STÁTNÍ FOND
ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ
ČESKÉ REPUBLIKY



Tento projekt byl podpořen grantem z Norských fondů

Využití environmentální DNA pro monitoring raků a původce račího moru



Adam Petrusek & Michaela Mojžišová

katedra ekologie PŘF UK, Praha



O čem to bude

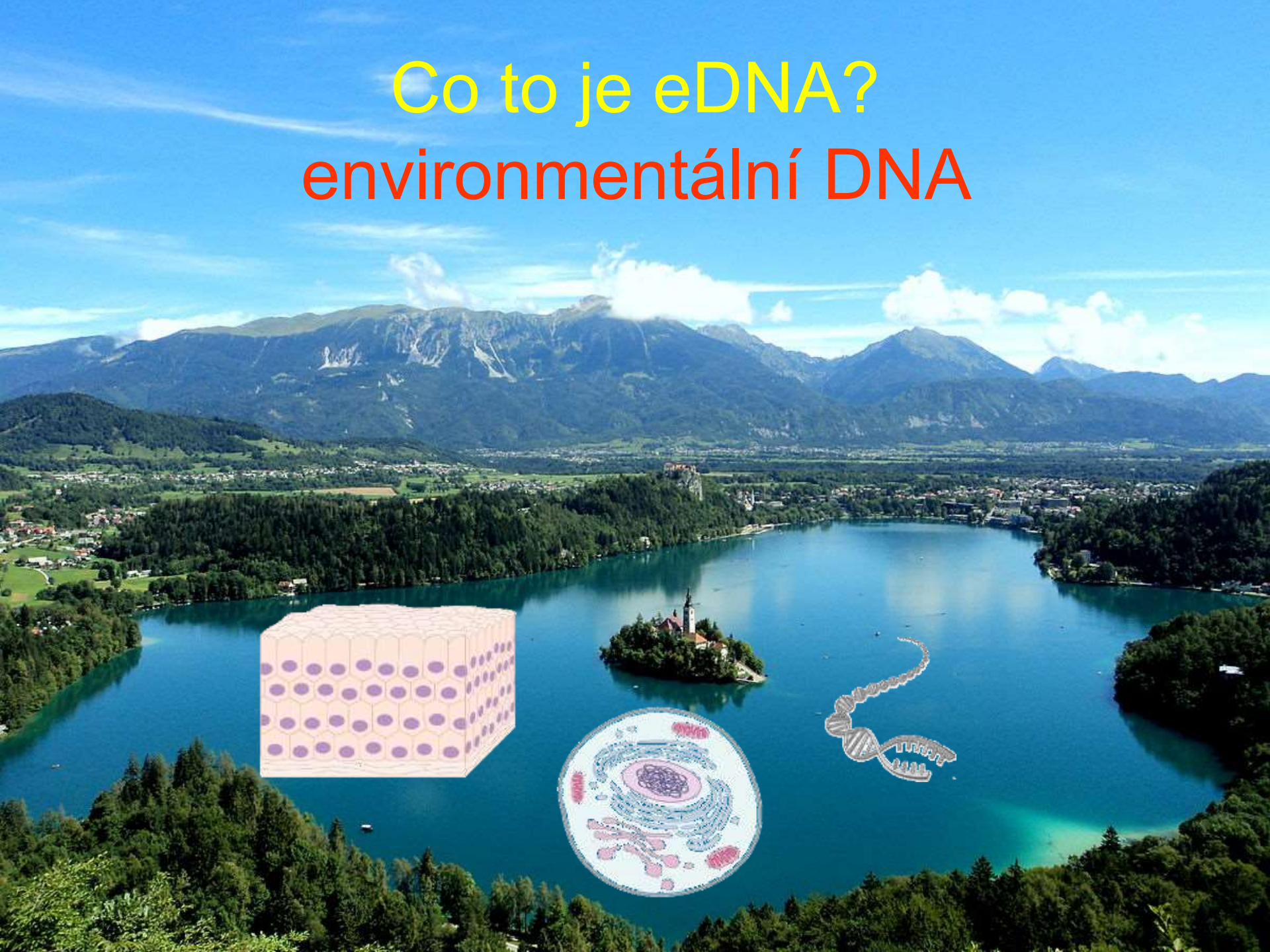
- co to je eDNA
- představení račího moru
- jak eDNA odebíráme
- co už v CZ funguje při výzkumu raků



Co to je eDNA? environmentální DNA



Co to je eDNA? environmentální DNA



Co to je eDNA? environmentální DNA

výkaly

sliz

šupiny

mlíčí



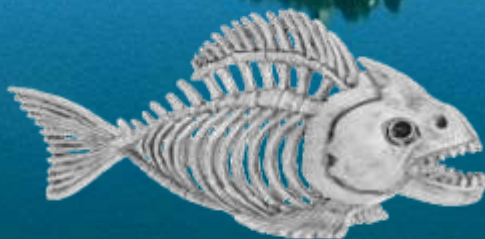
Co to je eDNA? environmentální DNA

výkaly

sliz

šupiny

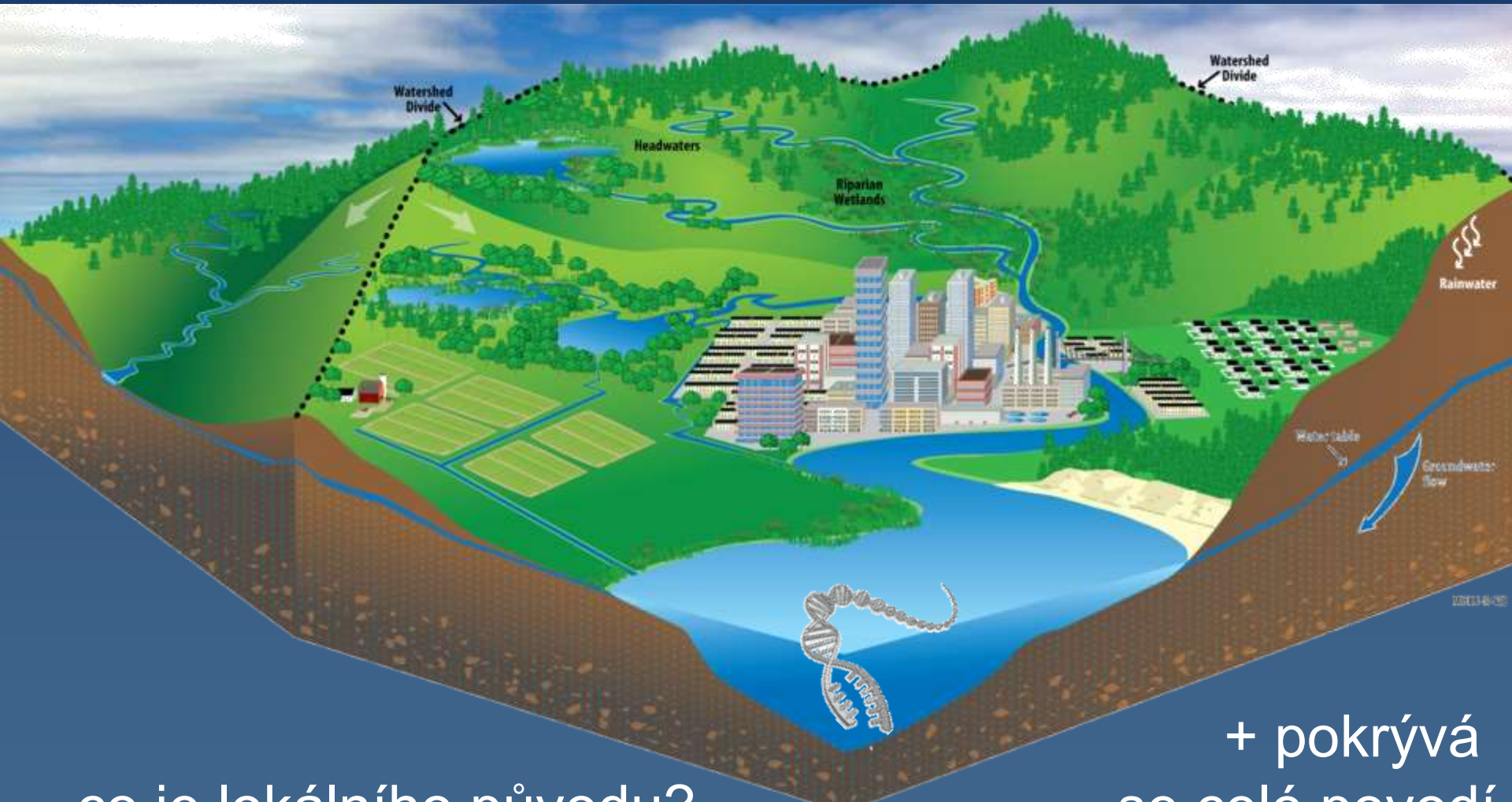
mlíčí



Co to je eDNA? environmentální DNA



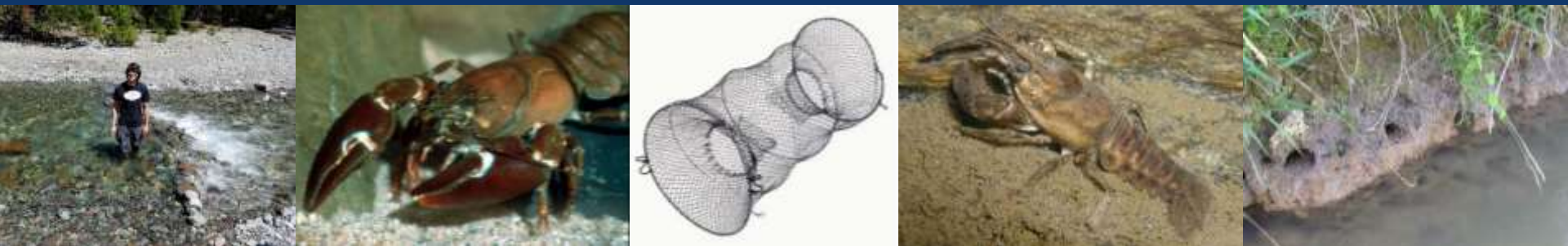
Co to je eDNA? environmentální DNA



– co je lokálního původu?

+ pokrývá
se celé povodí

Tradiční přístupy



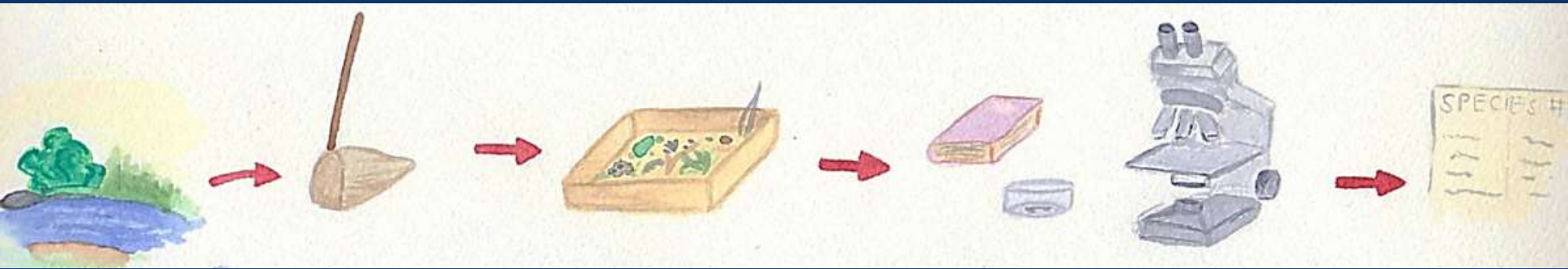
Klasické přístupy při monitoringu raků:

- otáčení kamenů
- prohledávání kořenů, nor v březích
- použití vrší a sítí

Méně běžné přístupy:

- využití agregátu
- zkoumání trusu savčích predátorů a žaludků ryb
- hledání fotografií a videí na webu a sociálních sítích
- data od dobrovolníků / občanských vědců

Tradiční přístupy



Klasické přístupy pro studium biodiverzity ve vodě:

- lov do sítí (či cedníků), seškrabávání biofilmu...
- odchyt větších živočichů do ruky či do pastí
- technologie: sonary, kamery, miniponorky...

determinace

Vybrané problémy:

- vzorkovací metody bývají destruktivní
- málo početné nebo skrytě žijící druhy se těžko najdou
- určování je obtížné a experti odcházejí do důchodu
- spousta "běžných" taxonů jsou druhové komplexy
- rak není na místě, kde ho hledám, ale o 500 m výš

eDNA

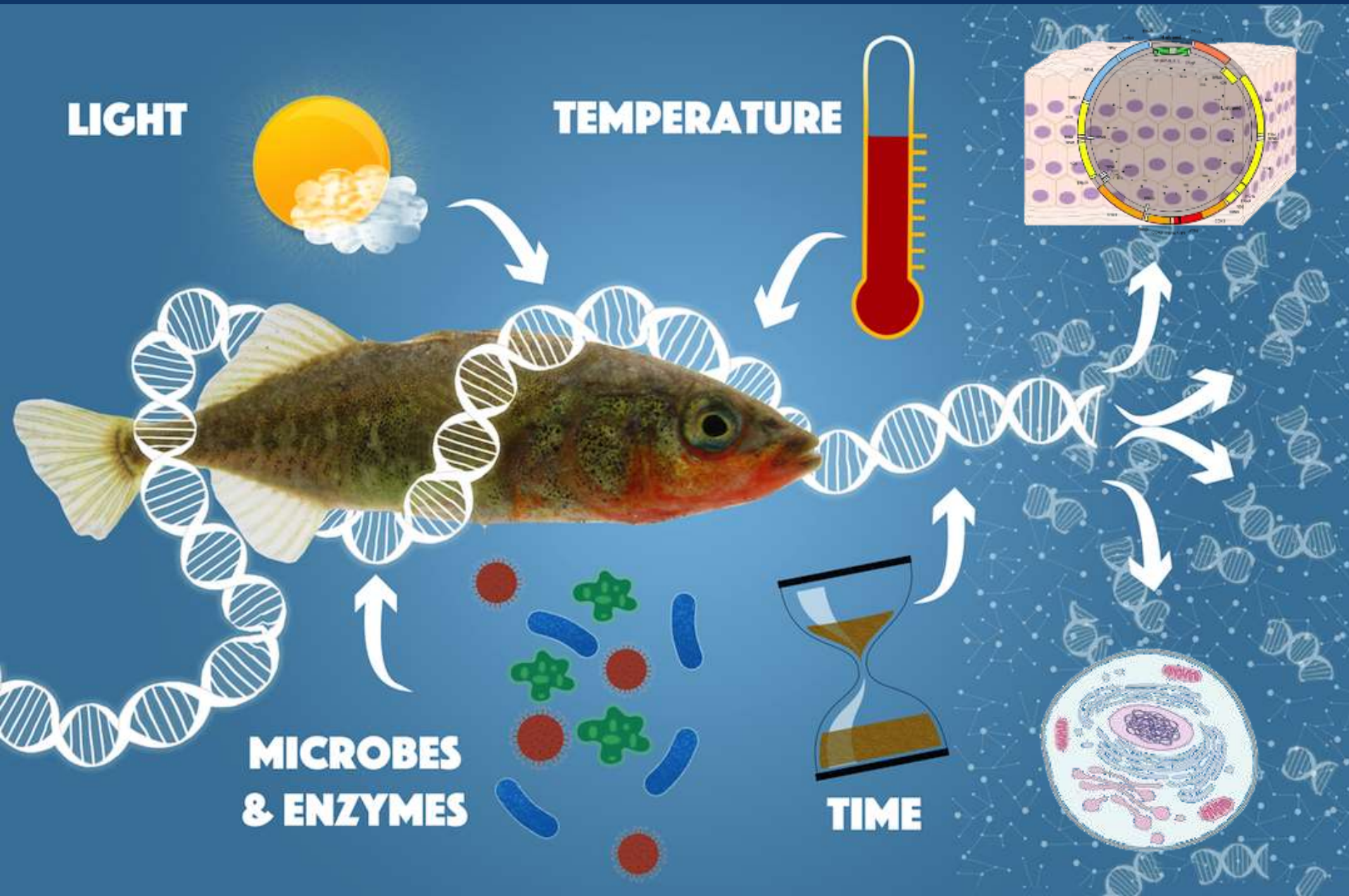
Idea



Realita



Co se s eDNA děje?



Vzorkování eDNA



Vzorkování eDNA



Základní cesty analýzy eDNA

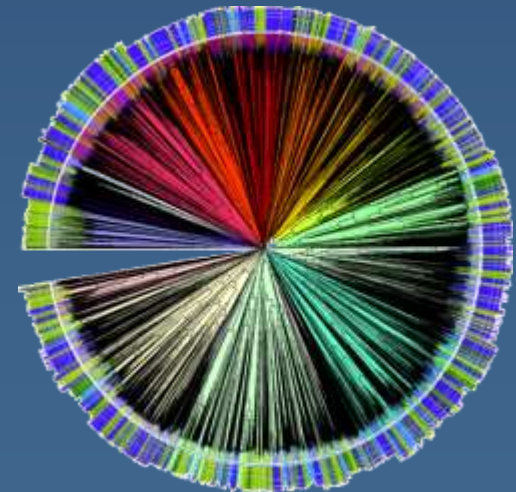
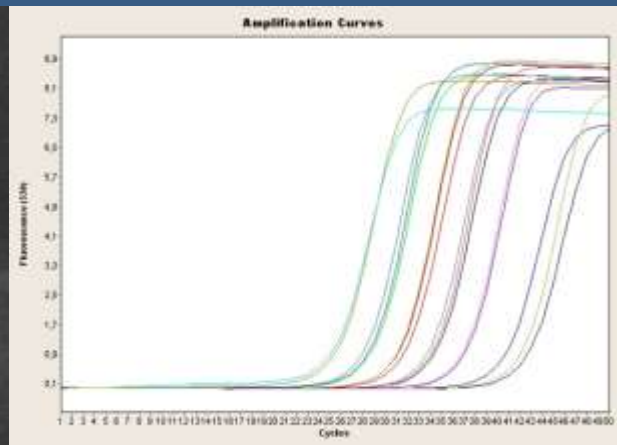
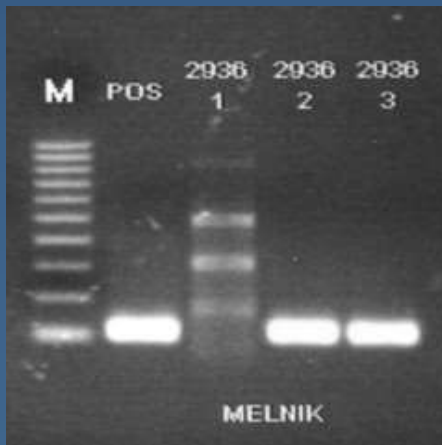
detekce konkrétního
cílového druhu



(kvantitativní)
PCR

analýza složení
společenstva
(*metabarcoding*)

NGS



Detekce chráněných / ohrožených druhů



Triturus cristatus

Detekce invazních druhů

Lithobates catesbeianus



Detekce invazních druhů

Procambarus clarkii

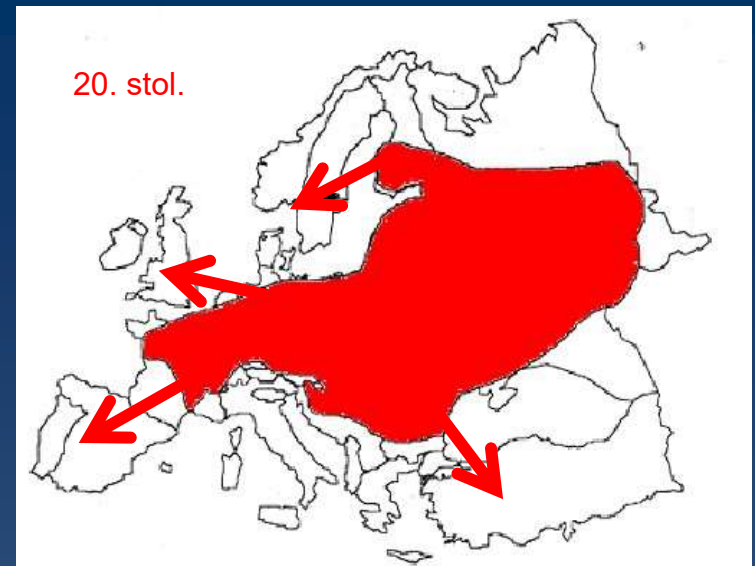


Detekce patogenů



Račí mor

masové hynutí začalo v Itálii
roku 1859, od 70. let 19.
století se nemoc rychle šíří



vzhledem k devastujícím účinků nazvána „**račí mor**”

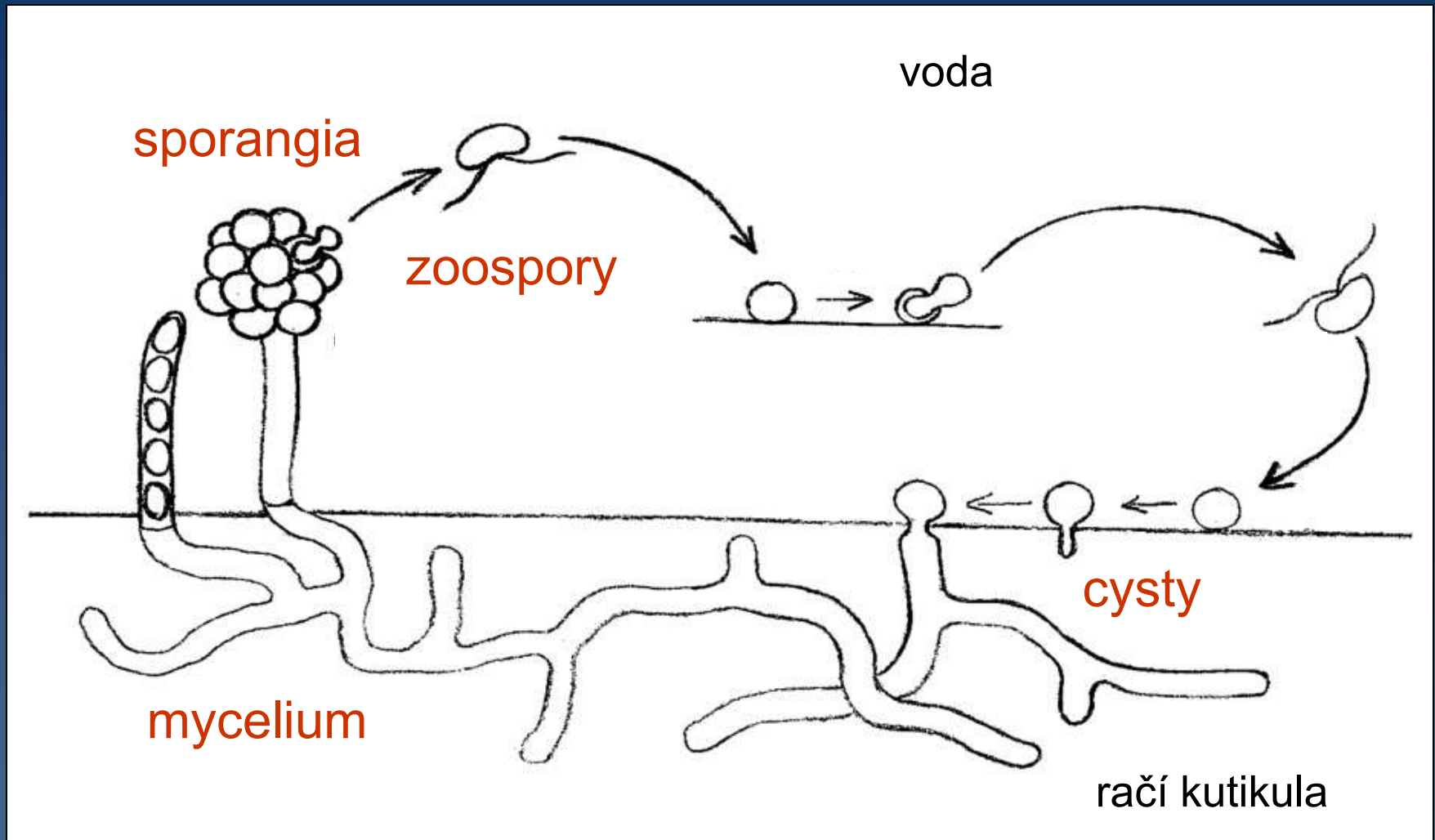
patogen identifikován až r. 1903 a potvrzen
jako původce nemoci až v r. 1934:

oomycet (řasovka)
Aphanomyces astaci



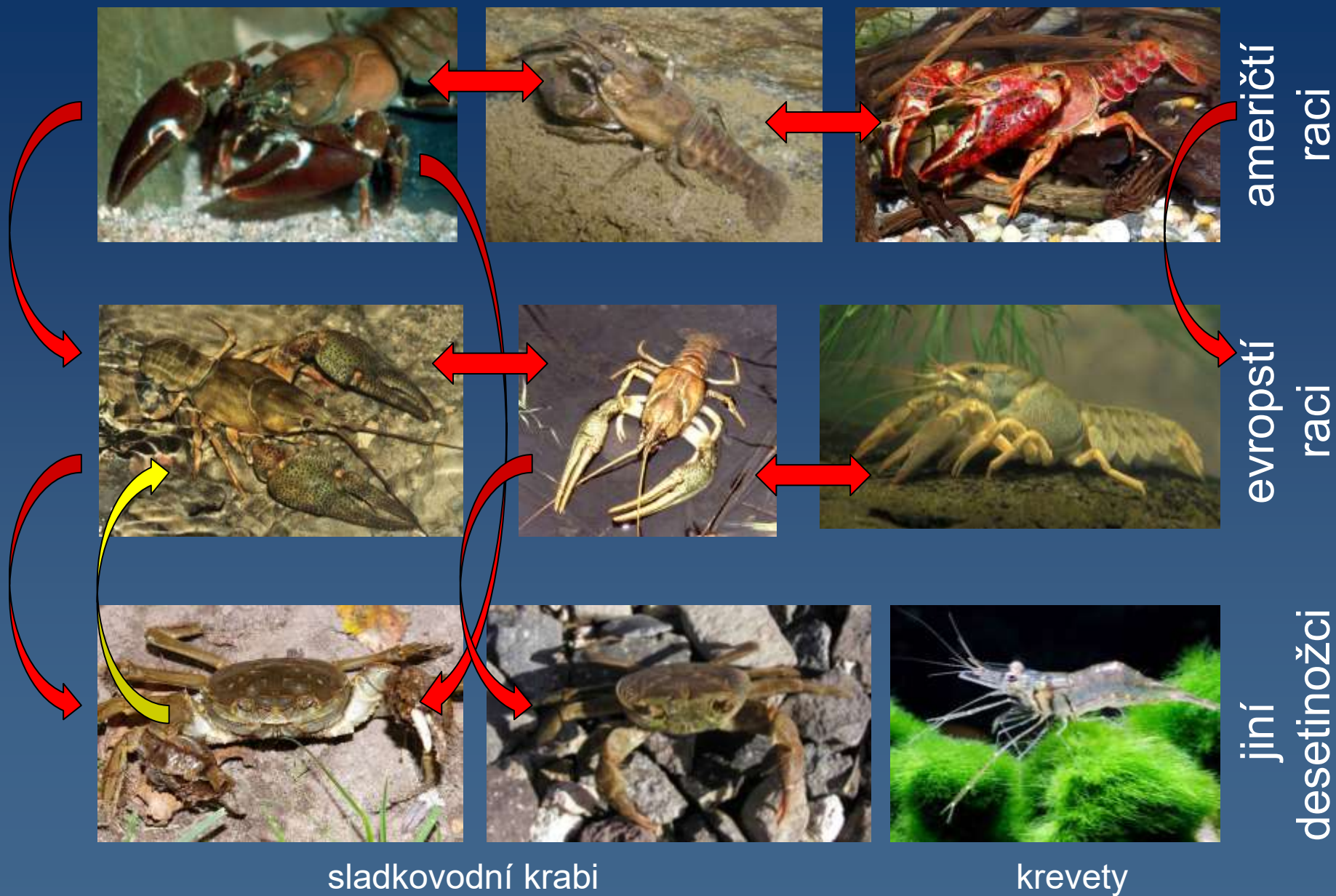
Aphanomyces astaci Schikora, 1903

Životní cyklus *Aphanomyces astaci*

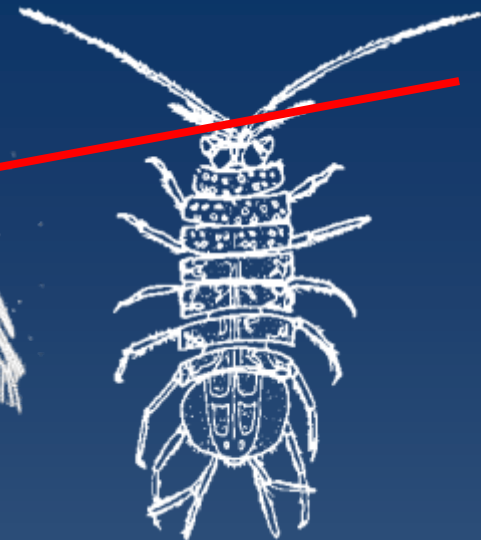


parazit úzce vázaný na hostitele

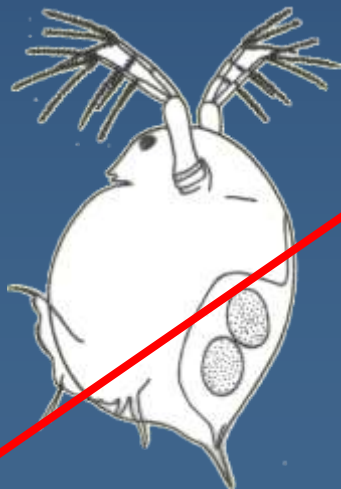
Hostitelské spektrum *Aphanomyces astaci*



Hostitelské spektrum *Aphanomyces astaci*



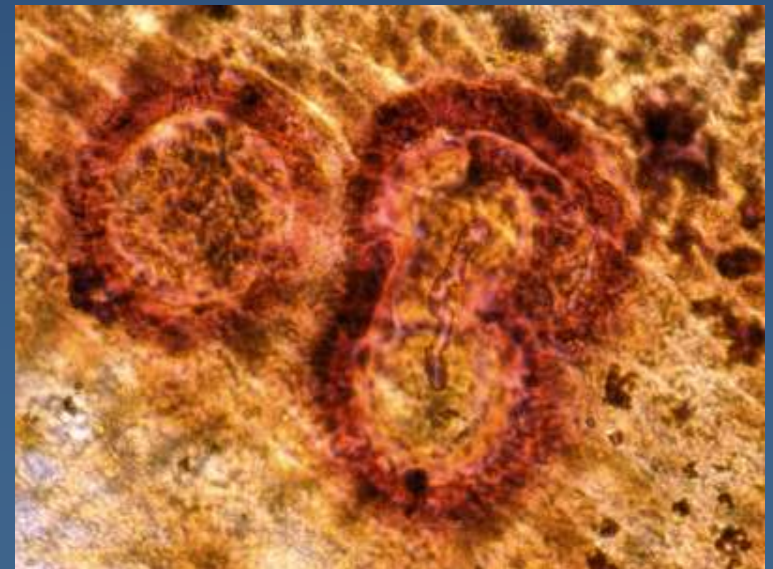
jiní vyšší korýši?



zooplankton?

Američtí raci: přenašeči moru

- *A. astaci* je dle všeho severoamerického původu
- v důsledku koevoluce jsou američtí raci schopni dobře tolerovat infekci
- silná a včasná imunitní odpověď vede k obklopení hyf patogenu melaninem
- odolné druhy raků včas zastaví růst *A. astaci*
- citlivé druhy to nezvládají a na infekci obvykle hynou



Severoameričtí invazní raci

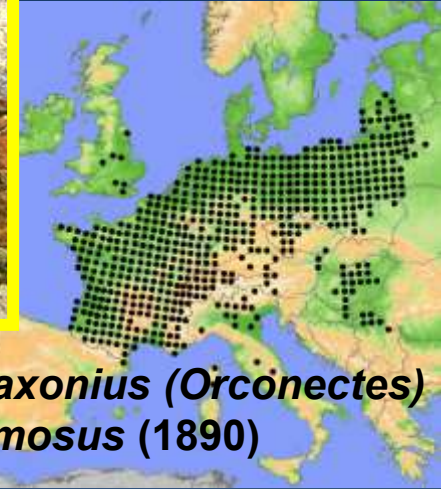


„staří
Američané“



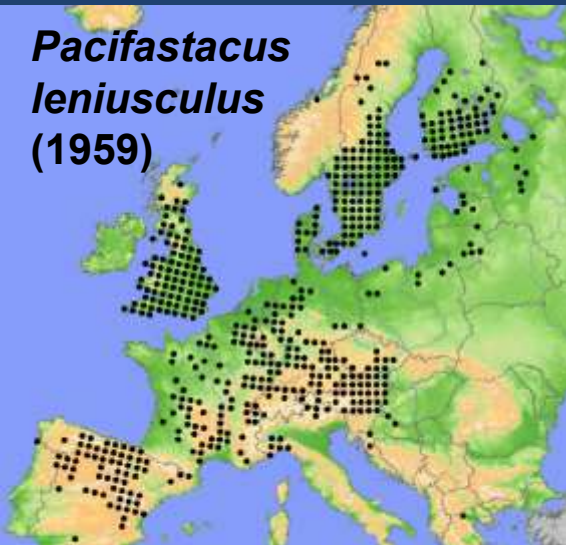
Foto: J. Maté

pruhovaný



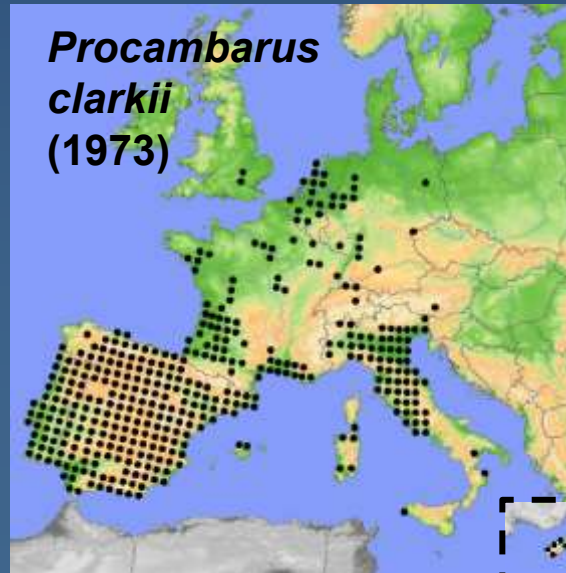
*Faxonius (Orconectes)
limosus* (1890)

*Pacifastacus
leniusculus*
(1959)



signální

*Procambarus
clarkii*
(1973)

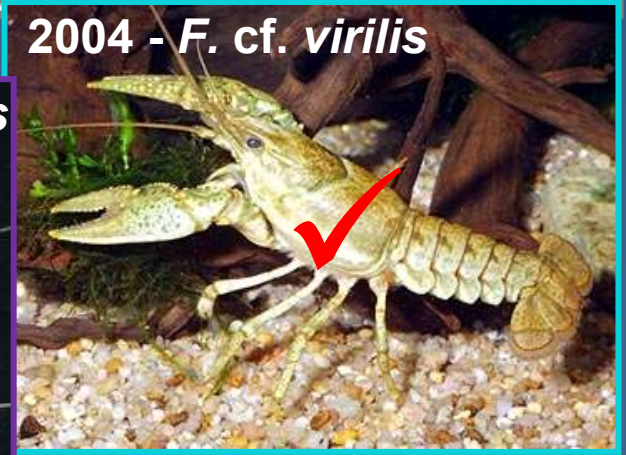
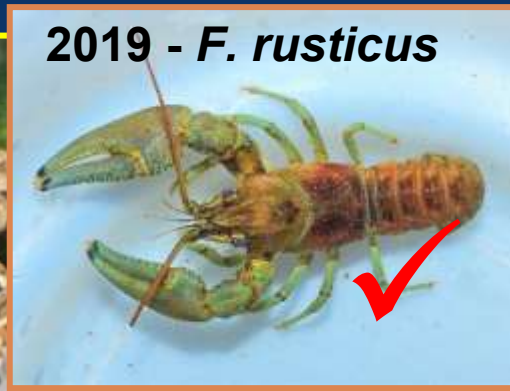
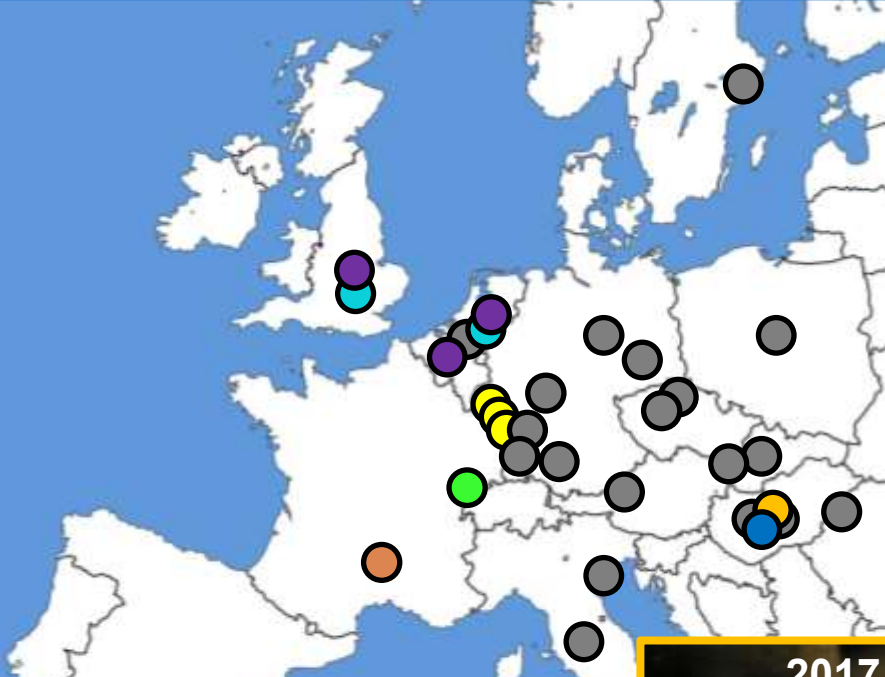


červený



Foto: J. Maté

„noví Američané“



Kdy máme mít podezření na račí mor?

- masově hynou raci; ryby a jiní vodní živočichové nejsou ovlivněni
- nejsou známky nedostatku kyslíku či znečištění
- mrtví, hynoucí a zdánlivě “zdraví” jedinci se mohou vyskytovat na témže místě
- raci *mohou* být neobvykle aktivní ve dne
- hynutí se posouvá proti proudu
- jedinci v pozdním stádiu choroby vypadají zmateně, ztrácejí končetiny a hynou
- raci na lokalitě *obvykle* vymřou







Šíření račího moru

- primárním zdrojem vždy **nakažení hostitelé**
- migrace nebo pasivní transport raků
(nakažení jedinci původních druhů, američtí vetřelci)
- kontakt původních a nepůvodních druhů
- vypuštění nakažených akvarijských raků
- alternativní hostitelé ???
- „nakažená“ voda obsahující **zoospory**
(převoz ryb, voda vylitá z akvária...)
- kontaminované vybavení (holinky, sítě...)
- přirození přenašeči (ryby uvnitř, ptáci zvenku) ???



Náš přístup k eDNA odběrům

NeoBiota 58: 1–32 (2020)
doi: 10.3897/neobiota.58.49358
<http://neobiota.pensoft.net>


RESEARCH ARTICLE

A peer-reviewed open-access journal
 NeoBiota
Advancing research on alien species and biological invasions

Simultaneous detection of native and invasive crayfish and *Aphanomyces astaci* from environmental DNA samples in a wide range of habitats in Central Europe

Johannes C. Rusch^{1,2}, Michaela Mojžišová³, David A. Strand¹, Jitka Svobodová⁴,
Trude Vrålstad¹, Adam Petrušek³



metoda 
otestovaná
ve spolupráci
s NVI, Oslo

cenově přijatelný
systém “hobymarket”

=

možnost zapojení různých
subjektů do vzorkování
(podniky Povodí, AOPK...)

Klíčové komponenty

vrtačka + „zahradní“ čerpadlo

- nutný dostatečný výkon (nasátí vody do prázdných hadic)
- velká kapacita baterií je plus



zahradní hadice

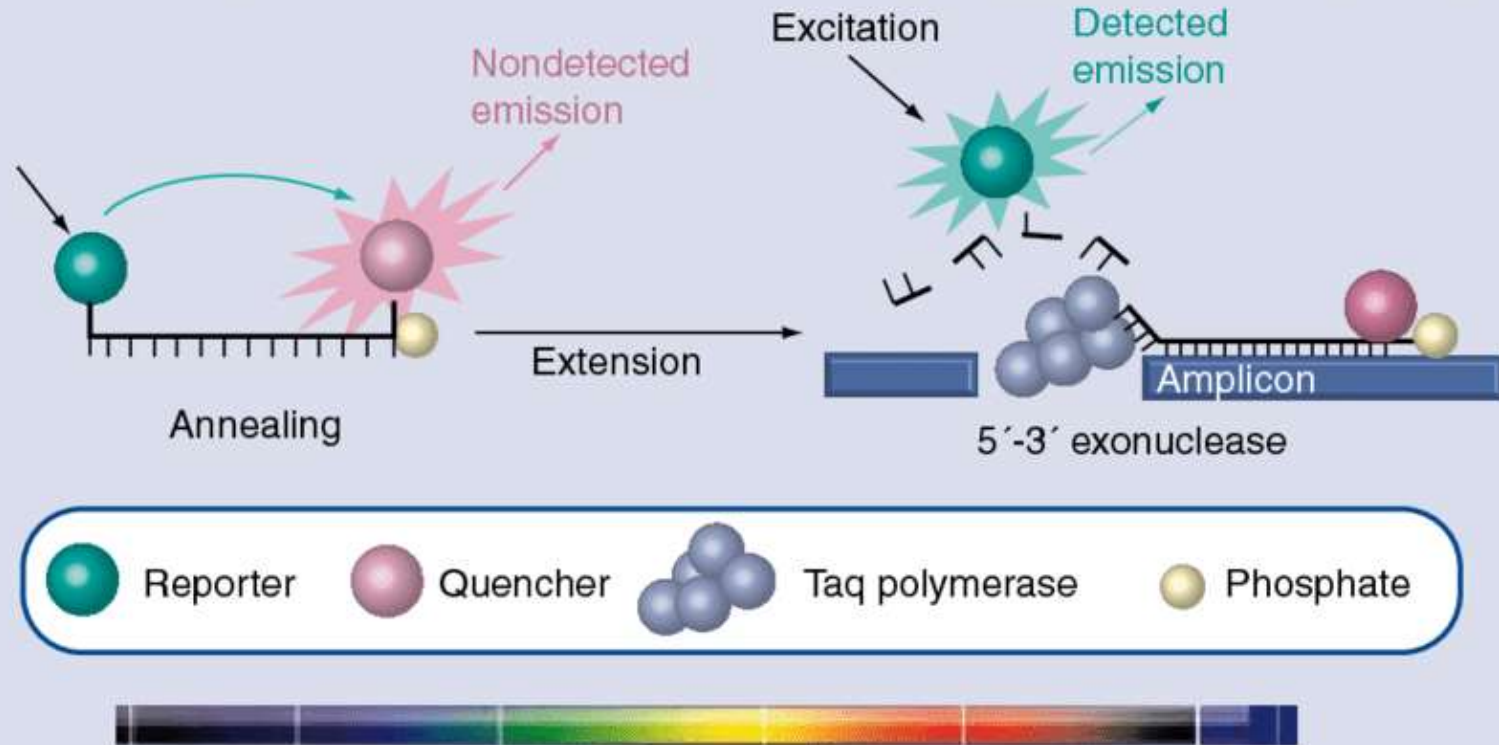
- lze připravit několik sad

Alternativa s peristaltickou pumpou (VÚV)



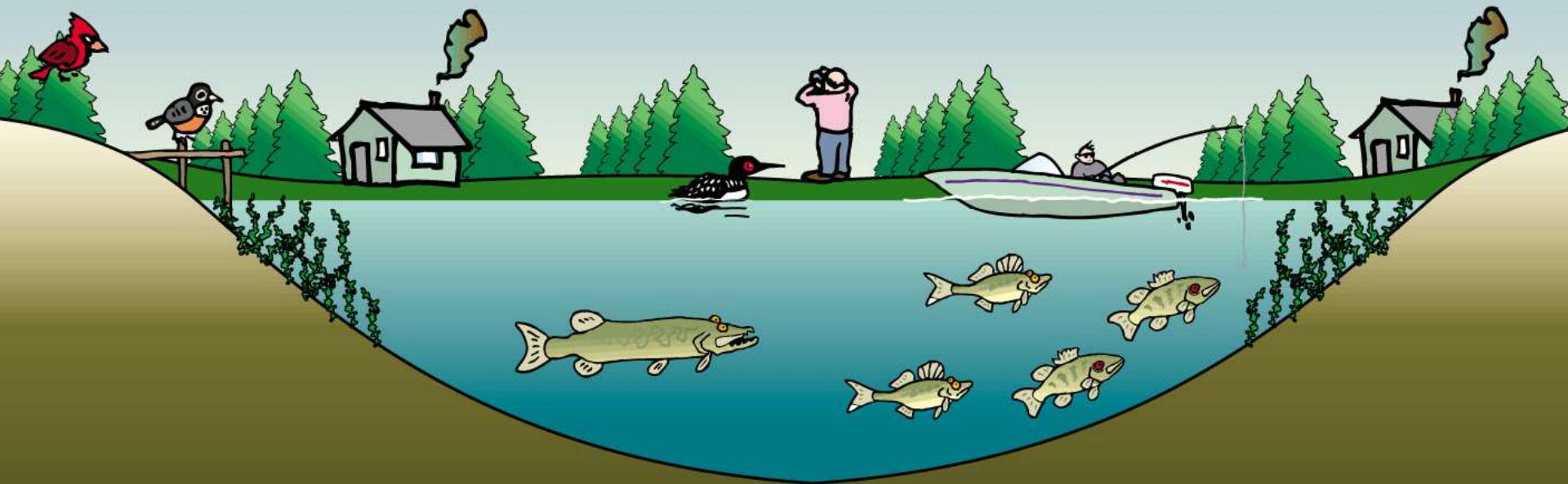
Metoda detekce DNA raků a *A. astaci*

- kvantitativní PCR (*TaqMan*) se specifickými sondami na jednotlivé cílové druhy



Co když nic ve vzorku nenajdu?

- **cílový druh na lokalitě není**
- je ho málo nebo je jinde
- vzal jsem málo vody
- extrakce DNA nebyla efektivní
- cílová DNA se nedaří z nějakého důvodu namnožit



Co když ve vzorku cílovou DNA najdu?

- **cílový druh na lokalitě je**
- eDNA přitekla odjinud
- vykálel se tam orel
- eDNA přivezl rybář na lodičce
- byl tam, ale už není (zachovala se jen eDNA)
- moje metoda reaguje i na jinou DNA





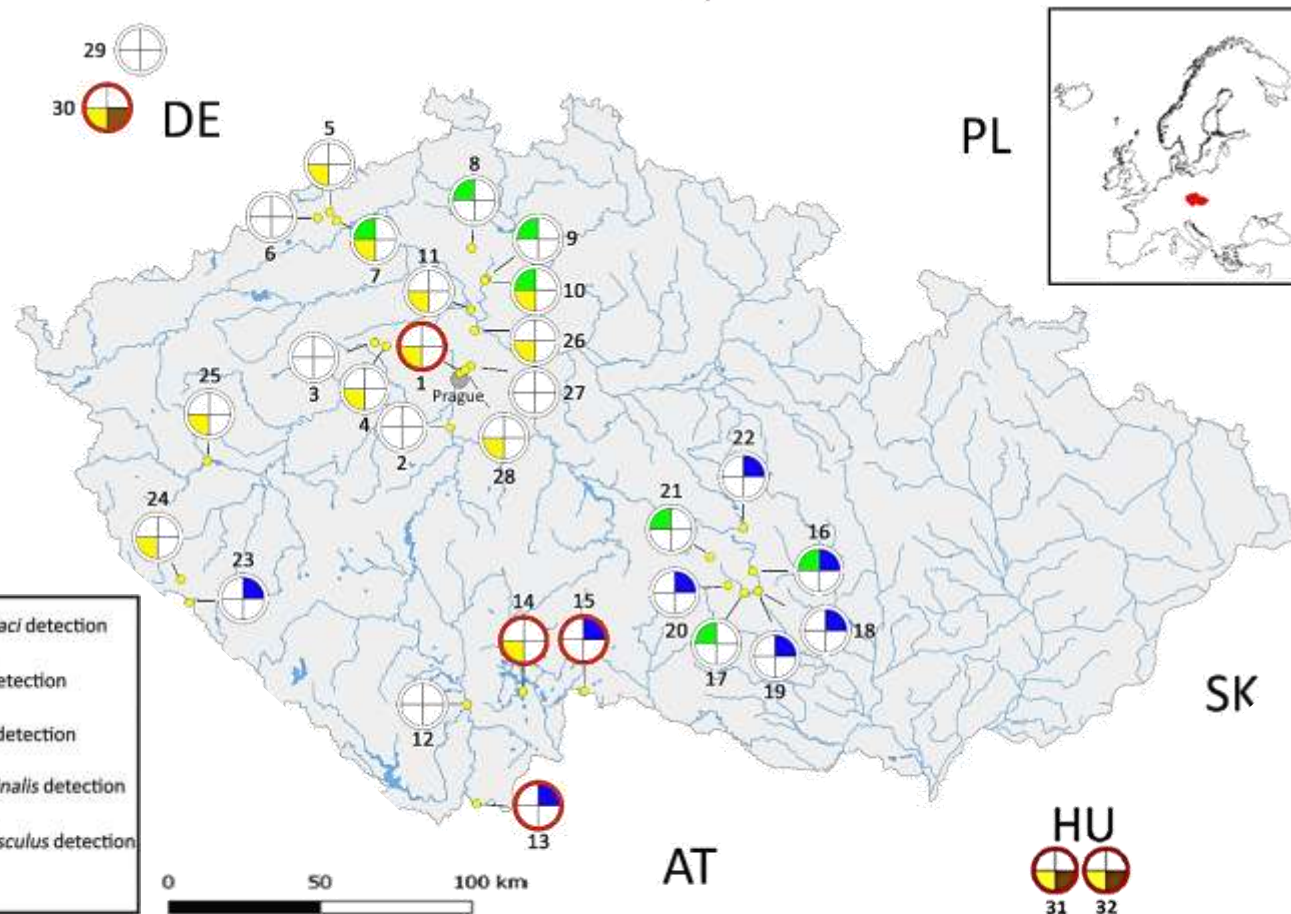
Příklady aplikací



- hledání raků a jejich moru v našich vodách
- rak mramorovaný na výsypce a v Praze
- monitoring lokalit zasažených račím morem v minulosti i přítomnosti
- odběr patogenu z lokality zasažené račím morem přímo z vody
- sledování šíření raka signálního na kontaktu s rakem říčním

Simultaneous detection of native and invasive crayfish and *Aphanomyces astaci* from environmental DNA samples in a wide range of habitats in Central Europe

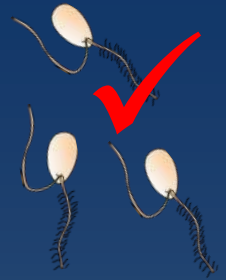
Johannes C. Rusch^{1,2}, Michaela Mojžišová³, David A. Strand¹, Jitka Svobodová⁴,
 Trude Vrålstad¹, Adam Petrušek³



lokality v minulosti zasažené morem

EVL Zákolanský potok (rak kamenáč, rak říční)

- úhyny na račí mor 2009+, zdroj patogenu: rak pruhovaný
- populace nevyhynula kompletně
- eDNA potvrzuje přetrvávající přítomnost raka kamenáče i raka říčního v povodí
- při ústí potoka do Vltavy potvrzeno pronikání raka pruhovaného



EVL Stroupínský potok (rak kamenáč, rak říční)

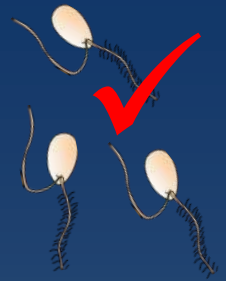
- úhyn na račí mor 2018, zdroj patogenu neznámý, akvarijní (?)
- původní raky nenacházíme, žádný americký rak nepotvrzen
- eDNA opakovaně naznačuje zdroj *A. astaci* v povodí
- v letošních odběrech slabý, ale konzistentní záchyt eDNA raka říčního
- přežívání raků v povodí, chronické infekce?



lokality nedávno zasažené morem

Lánský potok (rak říční)

- podezřelé vymizení raků 2023
- přítomnost raka říčního potvrzena z eDNA
- ale: zároveň s tím konzistentní záchyt *A. astaci*
- s velkou pravděpodobností to znamená, že byl podchycen zrovna dobíhající úhyn na račí mor



Bystřice (rak říční)

- úhyny na račí mor 2023, zdroj patogenu: zatím nezjištěn
- odběr eDNA pod zasaženou oblastí
- vysoké koncentrace cílové DNA umožní **určení genotypu *A. astaci***



hledání invazních druhů

Besének (rak signální, rak říční)

- úhyny na rači mor 2009, zdroj patogenu: „domácí“
- o dekádu později návrat raka říčního a pronikání raka signálního
- pokusy s využitím migrační bariéry
- eDNA potvrdila výskyt raka signálního i v úseku toku, kde ještě nebyl nalezen tradičním monitoringem

Radovesická výsypka (rak mramorovaný)

Dolní Chabry (rak mramorovaný)



rak mramorovaný v Čechách



Vranka.cz
rybářství na internetu

Radovesická výsypka

ČESKÝ RYBÁŘSKÝ SVAZ, z. s. o.
MO MLINA
06 441 146

Praha – Dolní Chabry



Tento projekt byl podpořen grantem z Norských fondů



Děkuji za pozornost