

XVIII. KONFERENCE
České limnologické společnosti
a Slovenskej limnologickej spoločnosti

SBORNÍK PŘÍSPĚVKŮ



LIMNOSPOL 2018

25. - 29. 6. Kořenov

25. – 29. června 2018, Kořenov
Veronika Sacherová (ed.)

Biomonitoring 2.0 – nový „vietor“ v hodnotení stavu a kvality našich vôd

Biomonitoring 2.0 – a „breath of fresh air“ in water quality assessment

plenárni prednáška

Fedor Čiampor Jr & Zuzana Čiamporová-Zaťovičová

ZooLab, Centrum Biológie rastlín a biodiverzity SAV, Slovensko

Zdravie jazier, riek, a podzemných vôd je dnes pod silným antropogénnym tlakom, ale pre ich efektívnu ochranu je nevyhnutné poznať súčasný stav, prípadne identifikovať zmeny. Aj preto je biomonitoring akvatických ekosystémov jednou z environmentálnych priorít v Európe aj mnohých ďalších regiónoch. Súčasnú hodnotenie ekologického stavu vôd je založené na porovnaní zloženia spoločenstiev vodných organizmov hodnotených ekosystémov s referenčnými údajmi, pričom jednotlivé zložky bioty sú identifikované pomocou morfológických kritérií. Následnou interkalibráciou zdrojových dát sa získavajú indexy porovnávané v rámci celej EÚ. Nanešťastie, tento prístup je založený na desiatkach rôznych protokolov, čo spôsobuje problémy s ich porovnatelnosťou. Získavanie údajov je často pomalé z dôvodu nedostatku taxonomických expertov pre mnohé taxóny a regióny a časovo náročnej morfológickej identifikácie organizmov.

Ako možné riešenie týchto nedostatkov sú dnes navrhované vysoko výkonné metódy genetického skríningu, ako je (e)DNA metabarkóding. Takýto „biomonitoring novej generácie“, nazývaný tiež „Biomonitoring 2.0“, má mnoho výhod oproti tradičnému prístupu z hľadiska rýchlosti, porovnatelnosti a nákladov. Takisto vytvára priestor pre zahrnutie nových biologických ukazovateľov, a tým ďalej skvalitňuje hodnotenie stavu vodných ekosystémov. Niektoré koncepčné a technologické slabiny však stále brzdia jeho implementáciu (napr. kvantifikácia abundancie alebo biomasy či funkčnosť DNA markerov stále predstavujú slabé miesta).

Kľúčovou podmienkou pre navrhovaný nový spôsob biologického monitoringu je aj existencia kvalitných a robustných referenčných dát, uložených predovšetkým vo voľne prístupnej medzinárodnej databáze BOLD (Barcoding of Life Data System), umožňujúcich determináciu metabarkódingových dát. Súčasná situácia je stále ďaleko od uspokojivého stavu. Napriek tomu, že databáza BOLD obsahuje dnes vyše 5 miliónov sekvencií, pokrytie vodnej fauny Európy je relatívne nízke. Napriek tomu, že vďaka viacerým barkódingovým aktivitám vyspelých krajín (napr. GeBOL – Nemecko, NorBOL – Nórsko) sú k dispozícii DNA barkódy mnohých druhov, stále existujú výrazné medzery v pokrytí vodnej bioty Európy. Okrem sekvencií druhov je veľmi dôležitá informácia aj o lokálnej vnútrodrohovej diverzite, čo podčiarkuje potrebu podpory lokálnych barkódingových aktivít. A to je, bohužiaľ, ďalšia slabina.

Ako odpoveď na potenciál navrhovanej metódy a prekážky v jej implementácii, ktoré zatiaľ existujú, prebieha od roku 2016 COST projekt DNAqua.Net. Táto „networkingová“ akcia združuje vyše 300 expertov z celého sveta a jej prioritou je identifikácia a vypĺňanie medzier, špecifikácia a štandardizácia postupov, či vytváranie vhodných indexov tak, aby v čase schvaľovania nových smerníc (2027) mohol byť Biomonitoring 2.0 ich plnohodnotnou, funkčnou a efektívnou súčasťou.

Genetická diverzita vodných bezstavovcov západných Karpát

Genetic diversity of aquatic invertebrates in the Western Carpathians

přednáška

Jana Bozáňová^{1,2}, Fedor Čiampor Jr.², Tomasz Mamos³, Michal Grabowski³ & Zuzana Čiamporová-Zaťovičová²

1 Katedra ekológie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského, Bratislava, Slovensko

2 ZooLab, Centrum Biológie rastlín a biodiverzity SAV, Bratislava, Slovensko

3 Department of Invertebrate Zoology and Hydrobiology, University of Lodz, Lodz, Poland

Rozsiahle horské systémy karpatského oblúka, ktoré sa tiahnu naprieč strednou a východnou Európou, patria medzi najcennejšie oblasti (hotspots) biodiverzity v Európe. Veľmi zaujímavou je oblasť Západných Karpát aj s rozsiahlym krasovým systémom. Tá bola, aj napriek vysokej nadmorskej výške a relatívnej blízkosti pleistocénnych ľadovcov, dlhodobým glaciálnym paleorefúgiom mnohých, aj endemických druhov, čo podporujú recentné údaje založené na analýze molekulárnych dát. Napriek tomu je biota Západných Karpát, z pohľadu genetickej diverzity, stále nedostatočne preskúmaná. Táto štúdia sa po prvýkrát zameriava na populačno-genetický výskum vodných bezstavovcov práve v krasových vyvierackách. Naším hlavným cieľom je zhodnotiť a porovnať genetickú diverzitu populácií bentických bezstavovcov s odlišnými životnými stratégiami v pramenných ekosystémoch spomínanej oblasti. Študované lokality sme doplnili o horské a podhorské toky rôznych oblastí Karpát. Medzi modelové organizmy sme zatiaľ zaradili reofilné druhy chrobákov *Elmis aenea* a *Limnius perrisi* (Coleoptera, Elmidae) a druhový komplex kôrovcov *Gammarus fossarum* (Crustacea, Amphipoda), ako súčasť permanentnej zložky makrozoobentosu. Analyzovali sme barkodingový fragment mtDNA (COI). Zistili sme, že subpopulácie druhu *Elmis aenea* a *Limnius perrisi* sú geneticky značne homogénne, pričom v subpopuláciách oboch druhov sa vyskytuje jeden výrazný, dominantný haplotyp. Výsledky naznačujú, že v genetickej štruktúre populácie druhu *Elmis aenea* významnú úlohu zohral „bottleneck“ efekt. Naopak, úplne iný vzor genetickej variability bol zistený v druhovom komplexe *Gammarus fossarum*, kde sme už v počiatočných fázach výskumu zaznamenali najmenej 93 haplotypov len v krasových vyvierackách Západných Karpát, ktoré mohli plniť dôležitú funkciu refúgií starobylých línií tohto druhového komplexu.

Táto práca je podporovaná projektami VEGA 1/0255/15 a 2/0030/17.

Genetic structure of the wild, broodstock and stocked sterlets (*Acipenser ruthenus*, L.) suggests negative trends in their genetic diversity in the Middle Danube

poster

Ladislav Pekárik^{1,2}, Zuzana Čiamporová-Zaťovičová¹, Darina Šípošová¹ & Fedor Čiampor Jr¹

1 Zoology Lab, Plant Science and Biodiversity Centre, Slovak Academy of Science, Bratislava

2 Faculty of Education, Trnava University, Trnava

In the past, the Danube river was inhabited by six native sturgeon species, but currently, the sterlet (*Acipenser ruthenus* L.) is the only native sturgeon species still regularly occurring in the Slovak-Hungarian stretch of the Middle Danube. As it was documented in the recent studies, all sturgeon species are facing extinction, suffering from overfishing, water pollution, illegal fishing and poaching or other negative impacts. It is clear, that urgent and proper actions are needed to prevent their extinction, and evaluating its genetic diversity is one of the essential tools in conservation programs.

In this study, we used two fragments of mitochondrial DNA (COI, CYTB) and five microsatellites (LS19, LS34, LS39, Aox27, Aox45) to analyse the genotype of the three groups of sterlets. We analysed eleven wild sterlets – WILD group (W; sampled in 2016 in the Slovak-Hungarian stretch of the Danube river), thirty broodstock – F1 group (F) and ten stocked – STOCK group (S) individuals from Slovak part of the Danube. Within CYTB 13 haplotypes and within COI only 3 HT were detected in Slovak samples. Mitochondrial markers were diversified similarly to populations from other parts of the Danube and confirmed that broodstock and stocked fish belong to the original Danube population. Microsatellites revealed very similar patterns among groups compared, but we detected negative trends reflected in losing polymorphism in few loci in broodstock and stocked individuals.

DNA barkóding juhoamerickej fauny Elmidae (Coleoptera) – rody *Phanocerus*, *Pharceonus*, *Hexanchorus*

DNA barcoding of the South American fauna of Elmidae (Coleoptera) – genera *Phanocerus*, *Pharceonus*, *Hexanchorus*

poster

Marek Linský^{1,2}, Zuzana Čiamporová-Zaťovičová¹ & Fedor Čiampor Jr¹

1 ZooLab, Centrum Biológie rastlín a biodiverzity SAV, Bratislava

2 Katedra zoológie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského, Bratislava

Vodné chrobáky čeľade Elmidae predstavujú dôležitú súčasť fauny tečúcich vôd. Vzhľadom na vyššie nároky na čistotu a okysličenie vody možno údaje o ich rozšírení a diverzite využiť k odhadom stavu a zachovania lotických ekosystémov. Nedávno publikovaný celosvetový katalóg druhov Elmidae uvádza skoro 1500 druhov zaradených do 147 rodov, ale je zrejmé, že výrazná časť diverzity tejto čeľade, predovšetkým z tropických oblastí, ostáva stále nepoznaná. V tejto práci sme sa zamerali na analýzu troch rodov: *Phanocerus*, *Pharceonus* a *Hexanchorus*, ako súčasť štúdia bohatého materiálu z oblastí južnej Ameriky, zozbieraného v predchádzajúcich rokoch. S využitím barkódingového markera (časť génu pre cytochróm c oxidázu podjednotku I - COX) a skúmaním morfológických znakov bolo identifikovaných 21 druhov. Osem druhov z rodu *Phanocerus* a štyri druhy z rodu *Pharceonus*. Rod *Hexanchorus* bol zastúpený šiestimi druhmi, z čoho jeden druh obsahuje dva poddruhy. S veľkou pravdepodobnosťou, na základe morfológických znakov, publikovaných údajov a dát o rozšírení, sú okrem dvoch známych druhov všetky zistené druhy nové pre vedu. Jedince pochádzajú z 18 lokalít z Ekvádora, dvoch lokalít z Venezuely a jednej z Brazílie. Zo všetkých druhov, s výnimkou jedného, bol izolovaný a sekvenovaný COX fragment. Pre každý rod bol zostrojený fylogenetický strom. Fotografie habitusov a nákresy samčích genitálií boli vyhotovené pre všetky druhy okrem troch, u ktorých samce neboli k dispozícii. Morfológické znaky jednoznačne podporili druhy identifikované analýzou molekulárnych dát. Analýza DNA barkódov odhalila výrazne vyššiu úroveň diverzity študovaných rodov oproti doterajším predpokladom. Získané výsledky podporujú hypotézu, že značná časť diverzity chrobákov čeľade Elmidae je zatiaľ neopísaná a dokazujú užitočnosť molekulárnych dát v systematike.

Príspevok bol podporený projektom VEGA 02/0101/16.

Molekulárna diverzita vodných chrobákov (Coleoptera) tatranských jazier**Molecular diversity of water beetles (Coleoptera) in Tatra lakes***poster***Patrik Macko^{1,2}, Fedor Čiampor Jr¹ & Zuzana Čiamporová-Zaťovičová¹**

1 ZooLab, Centrum Biológie rastlín a biodiverzity SAV, Bratislava

2 Katedra ekológie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského, Bratislava

Počas glaciálu bola väčšina územia Tatier pokrytá ľadovcami a firnoviskami. S postupným otepľovaním a ústupom ľadovcov v Tatrách vznikli mnohé alpínske jazerá a plieska. Vodný hmyz obývajúci tieto unikátne habitaty je dobre adaptovaný na chladné podmienky a citlivo reaguje na zmeny prostredia. Druhovú diverzitu hmyzu je dôležitým ukazovateľom stability a fungovania ekosystémov a jej poznanie je preto dôležité. Cieľom tejto práce je získať čo najpodrobnejšie údaje o diverzite chrobákov (Coleoptera) alpínskych plies a pliesok Tatier. Klasické spôsoby identifikácie organizmov pomocou morfológických znakov sa v ostatných rokoch začínajú dopĺňať molekulárnymi dátami (DNA barkóding), molekulárnej diverzite tatranských plies však zatiaľ nebola venovaná takmer žiadna pozornosť. Využitie DNA barkódov umožňuje rýchlu, presnú a lacnú determináciu na základe sekvencie časti mitochondriálneho génu pre cytochróm c oxidázu podjednotku I (COI). V súčasnosti sú v databáze BOLD (Barcoding of Life Data Systems) molekulárne dáta približne 230 000 druhov hmyzu, z chrobákov približne 30 000. V úvodnej fáze výskumu sme databázu BOLD doplnili o 90 nových záznamov (79 barkódov). Získané a odoslané sekvencie mali štandardnú dĺžku 579 - 710 bp. V spracovaných vzorkách z 11 tatranských dolín sme predbežne identifikovali 30 druhov z 5 čeľadí. Až 74 jedincov bolo z čeľade Dytiscidae, kde dominoval rod *Hydroporus*, nájdený v ôsmich dolinách. Niektoré vzorky z tohto rodu sa nepodarilo identifikovať v databáze BOLD, čo naznačuje, že môže ísť o zriedkavé, či lokálne sa vyskytujúce druhy. Získané dáta dopĺňajú globálne údaje o molekulárnej diverzite a v budúcnosti môžu prispieť k využívaniu DNA barkódov v monitoringu a ochrane vodných ekosystémov.

Príspevok bol podporený projektom VEGA 2/0030/17.

Genetická štruktúra populácie *Agabus guttatus* (Coleoptera: Dytiscidae) vodných biotopov (sub)alpínskeho pásma Tatier

Genetic structure of *Agabus guttatus* population (Coleoptera: Dytiscidae) in the (sub)alpine aquatic habitats of the Tatra Mountains

přednáška

Darina Šípošová, Zuzana Čiamporová-Zaťovičová & Fedor Čiampor Jr

ZooLab, Centrum Biológie rastlín a biodiverzity SAV, Bratislava, Slovensko

Počiatky výskumu tatranských plies siahajú do druhej polovice 19 storočia, odkedy pribudlo množstvo kvalitných prác zameraných hlavne na rôzne taxocenózy a ekológiu plies. Vzhľadom na evolučne mladý vek plies, polohu a početnosť nám s pomocou molekulárnych metód môžu plesá poskytnúť oveľa viac cenných informácií, napríklad o postglaciálnych expanziách živočíchov, centrách genetickej diverzity, či migračných trendoch. V posledných rokoch bolo publikovaných viacero prác zameraných hlavne na populácie vodných bezstavovcov tečúcich vôd z rozsiahlych horských ekosystémov. Len málo štúdií sa doteraz zaoberalo vzťahom medzi lokálnou, či regionálnou krajinou a genetickou štruktúrou populácií. Táto práca spĺňa kritérium lokálneho, aj regionálneho charakteru a venuje sa zatiaľ molekulárne nedostatočne prebádaným vysokohorským jazerám. V období ôsmich rokov (2009 – 2016) sa podarilo získať DNA z 276 kusov druhu *Agabus guttatus* z 23 plies, 23 pliesok a 6 potokov v rámci 17 tatranských dolín a 3 lokalít podhorskej oblasti. Celkovo sme použili 1146 bp z dvoch fragmentov mitochondriálnych génov (cytochróm oxidáza c podjednotka I, cytochróm b) a 8 mikrosatelitov. V rámci študovanej oblasti bolo zistených 30 haplotypov druhu *A. guttatus* s výraznou dominanciou dvoch haplotypov. Radiálna štruktúra haplotypovej mapy, malý počet zmien medzi haplotypmi a demografické testy (testy neutrality, Mismatch distribution) potvrdili nedávne rozšírenie študovanej populácie, čo je v súlade s nedávnym vznikom ľadovcových jazier. S pomocou mikrosatelitov boli zistené dva klastre v rámci celého študovaného územia. Okrem iného analýza mitochondriálnych génov a aj mikrosatelitov potvrdila vplyv geomorfológie na štruktúru tatranskej populácie. Výsledky analýzy mikrosatelitov boli tiež porovnané s tatranskou populáciou druhu *Agabus bipustulatus*, kde bol zistený rovnaký počet klastrov naprieč územím Tatier.