

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Fakulta rybářství a ochrany vod

Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Bakalářská práce

**Tajemství chemické komunikace u raků – přehledová
studie a metodické cesty**

Autor: Pavel Erban

Vedoucí bakalářské práce: doc. Ing. Miloš Buřič, Ph.D.

Konzultant bakalářské práce: MSc. Davinder Kaur

Studijní program a obor: Zootechnika, Rybářství

Forma studia: Prezenční

Ročník: 3. ročník

České Budějovice, 2023

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem autorem této kvalifikační práce a že jsem ji vypracoval pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu použitých zdrojů.

V Českých Budějovicích dne 2.5.2023

Pavel Erban

Poděkování

Tímto bych velmi rád poděkoval vedoucímu práce doc. Ing. Milošovi Buřičovi, Ph.D., za odborné vedení při tvorbě bakalářské práce, za jeho ochotu, aktivní přístup a trpělivost. Dále bych chtěl poděkovat konzultantce MSc. Davinder Kaur a Ing. Janu Kubcovi, Ph.D., za odbornou pomoc při pokusu. Velké poděkování také patří mé rodině, která mě podporovala během celého studia.

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Fakulta rybářství a ochrany vod

Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Pavel ERBAN**
Osobní číslo: **V208003P**
Studijní program: **B4103 Zootechnika**
Studijní obor: **Rybářství**
Téma práce: **Tajemství chemické komunikace u raků – přehledová studie a metodické cesty**
Zadávací katedra: **Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický**

Zásady pro vypracování

Stěžejním komunikačním kanálem desetinožých korýšů vázaných na vodní prostředí je bezesporu použití různých chemických signálů. Relativně efektivně a energeticky nenáročně jsou tak schopni vysílat i přijímat informace např. o příslušnosti k druhu, pohlaví, pohlavní zralosti nebo o sociálním statutu. Cílem této bakalářské práce je sumarizovat informace o chemické komunikaci raků týkající se jejich významu, použití v průběhu života raků, fungování chemických signálů a jejich chemické podstatě. Vzhledem k tomu, že informace o chemické podstatě infochemikálií u raků není mnoho známo, bude součástí práce i vývoj a testování metod pro odběr močoviny raků, ve které jsou tyto sloučeniny vylučovány. V průběhu řešení práce tak dojde k experimentálním odběrům močoviny od raka signálního (*Pacifastacus leniusculus* Dana 1852) a raka mramorovaného (*Procambarus virginicus* Lyko 2017). Cílem práce je připravit ucelený informační a metodický základ pro další studium chemické komunikace u raků.

Rozsah pracovní zprávy: **25-50 stran**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

- Alcock J. 2001. *Animal behavior : An evolutionary approach*. Sunderland, Mass.: Sinauer Publishers. xiii, 543 p. p.
- Aquiloni L, Gherardi F. 2008. Extended mother-offspring relationships in crayfish: The return behaviour of juvenile *procambarus clarkii*. *Ethology* 114:946-954.
- Atema J, Steinbach M. 2007. Chemical communication and social behavior of the lobster *Homarus americanus* and other decapod crustacea. *Evolutionary ecology of social and sexual systems: Crustaceans as model organisms*:115-144.
- Barki A, Jones C, Karplus I. 2011. Chemical communication and aquaculture of decapod crustaceans: Needs, problems, and possible solutions. *Chemical communication in crustaceans*: Springer. p 485-506.
- Bergman DA, Kozłowski C, McIntyre JC, Huber R, Daws AG, Moore PA. 2003. Temporal dynamics and communication of winner-effects in the crayfish, *Orconectes rusticus*. *Behaviour* 140:805-825.
- Breithaupt T, Thiel M. 2011. *Chemical communication in crustaceans*. New York: Springer. xviii, 565 p.
- Dill LM. 1987. Animal decision-making and its ecological consequences – the future of aquatic ecology and behavior. *Can J Zool* 65:803-811.
- Figler MH, Blank GS, Peeke HVS. 2001. Maternal territoriality as an offspring defense strategy in red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*, girard). *Aggressive Behav* 27:391-403.
- Gherardi F. 2002. Behaviour. In: Holdich D.M. (ed.): *Biology of Freshwater Crayfish*, Blackwell Science Ltd., London, UK, pp. 258-290.
- Gherardi F, Aquiloni L, Tricarico E. 2012. Behavioral plasticity, behavioral syndromes and animal personality in crustacean decapods: An imperfect map is better than no map. *Curr Zool* 58:567-579.

- Gherardi F, Daniels WH. 2003. Dominance hierarchies and status recognition in the crayfish *Procambarus acutus acutus*. Can J Zool 81:1269-1281.
- Hay ME. 2011. Crustaceans as powerful models in aquatic chemical ecology. Chemical communication in crustaceans: Springer. p 41-62.
- Hock K, Huber R. 2009. Models of winner and loser effects: A cost-benefit analysis. Behaviour 146:69-87.
- Kubec, J., Kouba, A., Buřič, M., 2019. Communication, behavior and decision making in crayfish: A review. Zoologischer Anzeiger 278: 28-37.
- Moore, P. A., & Bergman, D. A. (2005). The smell of success and failure: the role of intrinsic and extrinsic chemical signals on the social behavior of crayfish. Integrative and Comparative Biology, 45(4), 650-657.
- Vogt, G. 2013. Abbreviation of larval development and extension of brood care as key features of the evolution of freshwater decapoda. Biol Rev 88:81-116.
- Vogt, G, Tolley L. 2004. Brood care in freshwater crayfish and relationship with the offspring's sensory deficiencies. J Morphol 262:566-582.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Miloš Buřič, Ph.D.**
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Konzultant bakalářské práce: **MSc. Davinder Kaur**

Datum zadání bakalářské práce: **21. ledna 2022**
Termín odevzdání bakalářské práce: **2. května 2023**


prof. Ing. Pavel Kozák, Ph.D.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDEJOVICÍCH
FAKULTA RYBÁŘSTVÍ A OCEANY VGG
Zámek 73501
220 05 Vodňany


prof. Ing. Tomáš Randák, Ph.D.
ředitel

Obsah

1	Úvod.....	8
2	Literární rešerše.....	9
2.1	Komunikace	9
2.2	Typy komunikace v živočišné říši	9
2.2.1	Akustická komunikace	10
2.2.2	Vizuální komunikace	11
2.3	Chemická komunikace	12
2.3.1	Infochemikálie	13
2.3.1.1	Rozdělení infochemikálií	14
2.3.2	Role chemické komunikace u vodních organismů	15
2.4	Chemická komunikace u raků.....	16
2.4.1	Chemoreceptory	16
2.4.2	Distribuce signálu	17
2.4.3	Detekce signálu.....	17
2.4.4	Agresivní chování	18
2.4.4.1	Efekt vítěze a poraženého	20
2.4.4.2	Hierarchie	20
2.4.5	Reprodukční chování	21
2.4.6	Mateřské chování	22
2.5	Zájmové druhy	23
2.5.1	Rak signální (<i>Pacifastacus leniusculus</i>).....	23
2.5.2	Rak mramorovaný (<i>Procambarus virginalis</i>).....	25
2.6	Chemická podstata chemických signálů.....	27
3	Metodika.....	29
3.1	Experimentální organismy.....	29

3.2	1. pokusný odběr moči	29
3.3	2. pokusný odběr moči	30
3.4	Zpracování dat	31
4	Cíle	38
5	Hypotézy	38
6	Výsledky	39
6.1	Metodické postupy	39
6.2	Odebrané vzorky	39
7	Diskuse.....	43
8	Závěr.....	48
9	Seznam použité literatury	49
10	Abstrakt.....	56
11	Abstract	57

1 Úvod

Vodní živočichové často používají chemickou komunikaci, protože je nejefektivnějším způsobem komunikace i v prostředí, kde zvukové a vizuální signály nejsou nejvhodnější. Mezi tyto podmínky můžeme zařadit kalné vody, prostředí s množstvím překážek, ale i proudné úseky potoků a řek. Ještě více je pak využívána u druhů s noční aktivitou nebo u jeskynních organismů. To je přesně případ například raků, kteří využívají vizuální a taktilní signály jen na krátkou vzdálenost a zvukové pravděpodobně vůbec. Chemický způsob komunikace jim umožňuje zjistit informace o jedincích stejného i jiného druhu díky citlivé detekci i na dlouhou vzdálenost. Tyto signály mohou navíc v prostředí přetrvat po delší dobu.

Chemická komunikace je pro raky velmi důležitá. Komunikují za pomoci feromonů, které mohou být detekovány jinými raky. Feromony mohou signalizovat různé informace, které v podstatě určují fyzický stav, vývoj a postavení jedince a raci je používají k různým účelům, včetně vyhledávání partnera, určování teritoria, stanovení sociální hierarchie nebo signalizování agrese. Raci mohou například uvolňovat feromony, aby signalizovali svou dominanci a chránili své teritorium před ostatními raky bez nutnosti agresivních interakcí, které jsou náročnější a nebezpečnější. Samice raků pak mohou uvolňovat feromony, které indikují jejich připravenost k rozmnožování, nebo pomáhající udržet mateřské pouto s ráčaty. Celkově lze říci, že chemická komunikace je klíčovým aspektem chování raků a hraje důležitou roli po celou dobu jejich života.

Tato práce má za cíl vypracování literární rešerše o chemické komunikaci raků a jejím účelu a zároveň vyzkoušet potenciální metodu odběru moči od raků. Celkově má tato práce má za cíl připravit ucelený informační a metodický základ pro další studium chemické komunikace u raků a odebrat první vzorky pro analýzu látek zodpovědných za přenos informací.

2 Literární rešerše

2.1 Komunikace

Komunikace obecně je přenos informací mezi vysílajícím a příjemcem za pomoci signálů. Vyskytuje se v různých formách u všech skupin organismů od jednobuněčných po ty nejsložitější, u rostlin, hub i živočichů (Veselovský, 2005). Komunikace může probíhat mezi jedinci (či skupinami jedinců) stejného druhu, jiných druhů, a dokonce mezi rostlinnou a živočišnou říší (Alcock, 2001). Výsledkem úspěšného předání informace během komunikace je změna v chování příjemce (Hauser, 1996).

Např. eusociální druhy žijí v úzkých vztazích a komunikace mezi jedinci je důležitá pro určení rolí ve společenstvu, jeho soudržnost a organizovanost (Alcock, 2001; Chak a kol., 2015). Jiné druhy jsou naopak samotářské, ale i tak musí mezi sebou komunikovat proto, aby v populaci ustanovily pravidla hierarchie a mohly předat dále své geny v rámci sexuálního výběru (Danchin a kol., 2008; Holdich, 2002). Nejčastějším způsobem využití komunikace je k soužití a vyhledávání sexuálních i sociálních partnerů, ale je velmi důležitá i při varování před nepřítelem (Veselovský, 2005).

2.2 Typy komunikace v živočišné říši

Komunikace mezi zvířaty se sice liší od komunikace mezi lidmi, využívá však podobné způsoby komunikace. Rozdíl je (pokud je nám známo) zejména v obsahu, složitosti a flexibilitě komunikace (Naguib, 2006). U živočichů známe celou řadu způsobů, které vedou k přenosu informací mezi jednotlivci nebo skupinami v rámci druhu i mezidruhově (Veselovský, 2005). Nejběžnějšími typy přenosu informací, které zvířata využívají při dorozumívání jsou vizuální, akustické, chemické a hmatové signály (Alcock, 2001). Vysílající organismus musí mít schopnost vyhodnotit vhodnost daného signálu v daném prostředí a signál vyslat. Příjemce potom musí být vybaven k tomu signály zachytit pomocí smyslových orgánů, které zprávu zároveň rozšifrují a poté předají informaci konkrétním nervovým centrům (Veselovský, 2005). Organismy mohou prostřednictvím signálů sdělovat informace o svém prostředí a jeho změnách, o svém sociálním postavení a záměrech, o svém fyziologickém stavu a vývoji apod. přičemž komunikace jako taková je do značné míry řízena instinktem (Hauser, 1996).

Tabulka 1: Typy komunikačních signálů (kanálů) a jejich obecná charakteristika z hlediska jejich účinnosti a omezení (upraveno podle Alcocka, 2001).

	Typ signálu/komunikačního kanálu			
vlastnosti	chemický	akustický	optický	hmatový
dosah	daleký	daleký	omezený	krátký
šíření	pomalé	rychlé	rychlé	rychlé
omezení překážkou	ne	ne	ano	ano
lokalizace	variabilní	střední	dokonalá	dokonalá
energetický výdaj	malý	vysoký	malý	malý

2.2.1 Akustická komunikace

Akustická komunikace je procesem skládajícím se z vysílání a přijímání zvukových signálů. Tento typ komunikace je běžně využíván živočichy, kteří žijí v prostředí, kde je obecně slabá viditelnost nebo je nutné přenést signál přes nějakou překážku i na poměrně velkou vzdálenost. Např. hustá vegetace brání účinnému využití vizuálních signálů (Veselovský, 2005). Přesto mohou být akustické signály během jejich šíření utlumeny nebo degradovány vlivem prostředí (Wiley, 2006). Akustická komunikace hraje zásadní roli v biologických funkcích řady organismů (např. ptáci, kytovci). Těmito funkcemi jsou například lákání partnerů, obrana území, koordinace skupin, nebo vyhýbání se predátorům (Brumm a Slabbekoorn, 2005). Různé podoby akustické komunikace se vyskytují takřka v celé živočišné říši a ve většině případů se tento typ komunikace vyznačuje svou nápadností, i když akustické signály mohou být také jemné a nenápadné (Naguib, 2006). Pro měření hladiny intenzity zvuku se používá jednotka decibel (dB). Člověk dokáže zaznamenat zvuk na hranici 0 dB. Horní hranice je zhruba 130 dB. Tato hodnota již ale způsobuje u člověka fyzickou bolest (Veselovský, 2005). Někteří živočichové ale dokonce akusticky komunikují mimo náš sluchový rozsah, například netopýři nebo potkani, kteří používají ultrazvuk nebo sloni, kteří komunikují v infrazvukovém rozsahu (Zeyl, 2020). Ve většině případů hlasité a nápadné signály slouží obvykle k varování a obraně příslušníků stejného druhu nebo zdrojů, jako potravy nebo místa k hnízdění či k přilákání partnera nebo partnerky za účelem kopulace. Akustické signály jsou pro tyto aktivity ideální, protože umožňují rychlé kódování komplexní informace, a hlavně se signál se svou informací vysílá téměř všesměrově. Ptáci akusticky komunikují až na vzdálenosti stovek metrů, sloni a velryby dokážou komunikovat i v rámci mnoha kilometrů (Naguib, 2006).

Akustická komunikace u řádu Decapoda je známa především jako produkce skřípavých či šustivých zvuků. Tyto zvuky jsou vytvářeny při vzájemném tření např. antén o malé hrbolaté výrůstky před očními stopkami nebo pohybem žaber v žaberní dutině. Jejich produkce je známa u humrů, raků, a mnoha druhů krevet a krabů (Budelmann, 1992). Raci mají 3 typy hydrodynamických a akustických receptorů: statocysty, specializované smyslové chloupky na povrchu těla a mechanoreceptory na anténách (Breithaupt a Tautz, 1990). Specializované smyslové chloupky se vyskytují na celém povrchu těla a jsou velmi jemné a citlivé, a tak snadno reagují i na pohyb vody. Tím mohou mechanicky stimulovat smyslové buňky. Tyto smyslové chloupky jsou velmi citlivé na frekvence od 0,05 do 300 Hz v závislosti na druhu raka (Budelmann, 1992). Např. rak ničivý (*Cherax destructor*) je podle Tautze a Sandermana (1980) nejcitlivější na vibrace v rozmezí od 150 do 300 Hz.

2.2.2 Vizuální komunikace

Principem vizuální komunikace obecně je používání vizuálních prvků ke sdělování široké škály informací a myšlenek. V živočišné říši hraje vizuální komunikace zásadní roli pro přežití. Zvířata využívají vizuální komunikaci k hledání partnerů, varování před nebezpečím nebo také k určení dominance či pro vyjádření postavení v populaci a momentálního rozpoložení (např. podráždění, radost) (Alcock, 2001). Jedním z příkladů je používání a rozpoznávání barev a jejich preference. Například samci pávů využívají k přilákání partnerek jasně zbarvená ocasní pera (Veselovský, 2005). Na druhou stranu, ale můžou být barvy použity i při varování. Zvířata totiž často používají kombinace červené, oranžové, žluté a černé jako varovné signály, před svou nebezpečností (Arenas a kol., 2014). Kromě barev používají zvířata ke vzájemné komunikaci také řeč těla. Například u primátů může mimika, jako je cenění zubů nebo svraštělé obočí naznačovat celou škálu emocí, od předvádění sebevědomí přes radost až po agresi (Veselovský, 2005). Ptáci používají ke komunikaci také držení těla a pohyby. Například samci ptáků při ucházení se o partnerku často nafukují hrud' a vějířovitě roztahují ocasní pera (Sebeok, 2001). Tyto neverbální signály jsou zásadní pro komunikaci v živočišné říši, protože umožňují vzájemnou interakci a komunikaci mezi zvířaty bez potřeby spoléhat se na zvukové signály nebo řeč (Veselovský, 2005).

Stejně tak jako u lidí je zrak klíčovým smyslem pro mnoho druhů zvířat. Vzdálenost a směr přenosu vizuálních signálů závisí na struktuře stanoviště, kde daný druh žije. V husté vegetaci jsou tyto signály vhodné pouze pro komunikaci na krátkou vzdálenost, zatímco v otevřených biotopech mohou být využitelné i na velké vzdálenosti. Přesto jsou tyto vzdálenosti obecně kratší než v případě použití akustického signálu (Naguib, 2006). Vizuální signály jsou také více cílené než akustické signály, proto jsou vhodné pro oslovení konkrétního jedince, ale méně vhodné pro obecné oslovení větší skupiny příjemců (Veselovský, 2005).

Raci mají složené oči, které jsou umístěné na pohyblivých stopkách. Tyto stopky jsou umístěny po stranách rostra. Složené oči se sestávají z jednotlivých omatidií jejichž počet a velikost je závislý na velikosti jedince a pohybuje se od 635 do 3000 omatidií na jedno oko (Holdich, 2002). Raci relativně dobře vidí a do jisté míry mohou rozlišovat i některé barvy (Kozák a kol., 2013). Vzhledem k tomu, že raci často žijí ve členitém prostředí, v kalné vodě a zároveň soustředí svou aktivitu spíše na noční hodiny, není u raků vizuální komunikace tak důležitá (Holdich, 2002). Přesto ale může u raků hrát (a hraje) vizuální komunikace roli např. v úvodních fázích agonistického chování (Bruski a Dunham, 1987), při výběru reprodukčního partnera (Aquiloni a Gherardi, 2008a) nebo při poznávání soupeře se kterým se už rak setkal (Van der Velden a kol., 2008). Obecně se rakům zrak hodí k rozpoznání velikosti a kondice soupeře, popř. partnera. Častým signálem je pozice těla jako zvedání klepet jakožto hrozba a stavění se větším jako první fáze agonistického chování (Holdich, 2002; Kubec a kol., 2019a).

2.3 Chemická komunikace

Chemická komunikace je způsob komunikace, při kterém živé organismy používají různé chemické látky vylučované do prostředí pro přenos informace ostatním organismům. Tento typ komunikace využívají v podstatě všechny druhy organismů, hlavně pak členovci a savci (včetně člověka) (Brönmark a Hansson, 2000; Veselovský, 2005), ale dokonce i bakterie (Taga a Bassler, 2003). Chemické látky používané pro komunikaci se označují jako infochemikálie a používají se k signalizaci široké škály informací, jako je připravenost k páření, pohlaví, hierarchický status, označování teritoria nebo jako poplašné signály (Wyatt, 2014). Podle Wyatt (2014) a Veselovského (2005) jsou feromony, které patří mezi infochemikálie často druhově specifické, to znamená, že

je mohou vnímat pouze jedinci stejného druhu. Díky této specifčnosti je zajištěno, že chemické signály různých druhů nejsou zaměňovány, protože tato záměna by mohla vést k chybám v komunikaci. Některé signály ale mohou mít teoreticky platnost i mezidruhovou (Galperin, 2008). I přes to, že jsou feromony druhově specifické, tak se často liší v množství nebo poměru mezi jednotlivými jedinci. Tyto rozdíly přenáší důležité konkrétní informace o jedinci, jako je genetická příbuznost, konkurenceschopnost nebo identita (Müller a kol., 2020).

Zpráva obsažená v infochemikáliích obvykle vyvolává okamžitou reakci. S chemickou komunikací se často spojuje termín feromon, který se také často zaměňuje za slovo pach. Tato formulace není úplně správná, protože termín feromon se omezuje na popis chemických zpráv, které si předávají zvířata stejného druhu. Pach totiž může být pro jednoho tvora feromonem a pro jiného pouhým zápachem. Například když králík zanechá pach, aby předal zprávu jinému králíkovi, jedná se o feromon, ale kojot, který sleduje králíka nemůže tuto chemickou zprávu přechytit. Pro kojota je tedy pach pachem a nikoliv feromonem (Hiller, 1983).

2.3.1 Infochemikálie

Termín infochemikálie se používá pro chemické látky, které přenášejí informace jedincům stejného druhu nebo i příslušníkům jiných druhů (Galperin, 2008). Jedinci díky nim dokáží vnímat přítomnost nebo nepřítomnost chemických faktorů jako jsou potrava, příslušníci stejného druhu, dominantní jedinci, partneři, kořist nebo predátoři (Klaschka, 2009). Proto mají infochemikálie přímý a dramatický vliv na strukturu potravních řetězců jak v suchozemském, tak i ve vodním prostředí (Galperin, 2008; Breithaupt a Thiel, 2011).

Přírodní infochemikálie jsou obvykle pachové látky. K pochopení chemické komunikace za pomoci infochemikálií je proto potřeba znát základní kroky reakční kaskády čichového vjemu. Infochemikálie jsou uvolňovány biotickým nebo abiotickým vysílačem. Mohou se dostat do čichového epitelu příjemce, kde se mohou navázat na specifické proteiny, které jsou schopné vázat odoranty, což vede k vytvoření elektrického signálu, který je převeden do centrálního nervového systému a způsobí vjem. Vnímání infochemikálií může vést k morfologickým, fyziologickým nebo behaviorálním reakcím příjemce (Klaschka, 2009).

2.3.1.1 Rozdělení infochemikálií

Podle Dickeho a Sabelise (1988) se infochemikálie rozdělují (viz Obrázek 1) na dvě hlavní skupiny, a to na feromony a alelochemikálie. Jak už bylo napsáno dříve, tak feromon je chemická látka, která zprostředkovává interakci mezi organismy stejného druhu. Naopak alelochemikálie zprostředkovávají interakce mezi zdrojovým organismem a příjemcem, který nepatří ke stejnému druhu (Dicke a Sabelis, 1988). Může se jednat např. o infochemikálie, pomocí kterých vyhledávají býložravci určitou rostlinu (Müller a kol., 2020). Alelochemikálie lze rozdělit do tří skupin, a to na alomony, kairomony a synomony (Dicke a Sabelis, 1988).

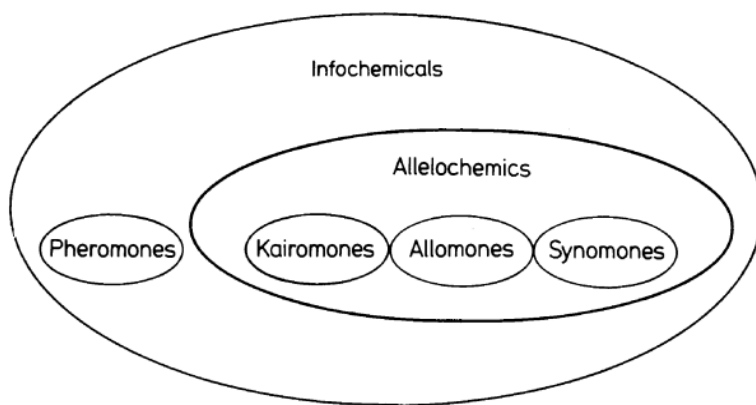
Jiné zdroje jako je např. Sbarbati a Osculati (2006), ale uvádí rozdělení infochemikálií na jiné, ale dosti podobné dvě skupiny, a to na feromony a semiochemikálie. Kde semiochemikálie jsou definovány jako chemické látky používané ke vzájemné komunikaci mezi různými organismy (Sbarbati a Osculati, 2006).

Alomony jsou látky, které jsou produkovány nebo získány organismem a které při kontaktu s jedincem druhého druhu vyvolávají u příjemce behaviorální nebo fyziologickou reakci, která je příznivá pro vysílající organismus, ale nikoliv pro přijímající organismus (Dicke a Sabelis, 1988; Wyatt, 2014). Jsou vylučovány např. pokud se rozdílné druhy snaží o získání stejného zdroje (Sbarbati a Osculati, 2006).

Kairomony jsou alelochemikálie, které u příjemce signálu vyvolávají fyziologickou nebo behaviorální reakci, která je příznivá pro příjemce, ale ne pro vysílače (Dicke a Sabelis, 1988). Nejznámější skupinou kairomonů, jsou pravděpodobně ty, které se podílejí na lokalizaci potravy. Takovéto vyhledávací kairomony využívají predátoři, paraziti, býložravci při hledání potravy nebo míst pro kladení vajíček (Sbarbati a Osculati, 2006). Kairomony často působí společně s dalšími akustickými nebo vizuálními signály. Na kořistní organismy působí silný selekční tlak, aby produkci těchto signálů minimalizovali, a na predátora, aby využíval co nespolehlivější a nejlépe zjistitelné signály (Dicke a Sabelis, 2008).

Chemické látky, které zprostředkovávají vztahy, které jsou prospěšné pro oba organismy se označují jako synomony. Jedná se např. o semiochemikálie používané mezi sasankami a klauny (Wyatt, 2014).

Feromony, jak je původně definoval Karlson a Lüscher (1959) jsou látky, které jsou vylučovány organismem do vnějšího prostředí a způsobují specifickou reakci v organismu stejného druhu, který feromon přijímá. Feromony mají velmi velkou chemickou variabilitu, a proto je výhodné je zařazovat spíše podle jejich funkcí než podle jejich struktury. Např. stopovací feromony umožňují přilákat stejný druh, zatímco poplašné feromony upozorňují ostatní jedince stejného druhu na nebezpečí a mohou také vyvolat agresivní chování (Tirindelli a kol., 2009). Prvním chemicky popsáním feromonem byl bombykol, jedná se o sex feromon, který se vyskytuje u samic bource morušového (*Bombyx mori*). Tento feromon je uvolňován samičkami k přilákání samců (Veselovský, 2005).



Obrázek 1: Rozdělení infochemikálií podle Dicke a Sabelis (1988).

2.3.2 Role chemické komunikace u vodních organismů

U vyšších suchozemských organismů považujeme za samozřejmé, že interakce mezi nimi nejsou ovlivňovány pouze vizuálními signály, ale že se na interakci podílejí také čichové a sluchové signály. Ve vodních ekosystémech se ale kvůli špatné propustnosti světla skrz vodní hladinu, a to zejména v zakalených vodách snižuje využití zraku u zde žijících organismů (Breithaupt a Eger, 2002; Brönmark a Hansson, 2000). Naopak řada studií potvrdila, že mnoho různých druhů vodních organismů reaguje už na nepatrné koncentrace chemických látek uvolňovaných jinými organismy (Brönmark a Hansson, 2000).

Chemická komunikace plní mnoho různých rolí u vodních organismů. Jednou z nich je například predace. Kořist je schopna využívat chemické informace k detekci přítomnosti predátora (Hay, 2010). Na druhou stranu predátory ve vodních systémech přitahují poraněné nebo mrtvé a rozkládající se kořistní organismy, které rovněž uvolňují

různé směsi chemických látek (Brönmark a Hansson, 2000). Velký význam mají i chemické signály pro navádění lososovitých ryb do svých domovských toků, za účelem rozmnožování. Lososovité ryby dokáží za pomoci chemických signálů rozlišovat mezi jednotlivými toky (Liley, 1982; Brönmark a Hansson, 2000). Další podstatnou rolí chemické komunikace je hledání partnera. Například u ryb bylo prokázáno, že uvolňují do vody pohlavní hormony krátce po ovulaci, což ovlivňuje například produkci mlíčí a chování samců (Sorensen, 1992).

2.4 Chemická komunikace u raků

2.4.1 Chemoreceptory

Raci stejně jako ostatní korýši mají na povrchu těla tvrdou kutikulu, která brání v difúzi chemických látek z prostředí do jejich těla. Chemosenzorické orgány si ale u nich vyvinuly speciální morfologické řešení ve formě senzoričkových chloupků (senzil), které umožňují přímý přístup k chemickým látkám. Senzily jsou drobné, často vláskovité kutikulární orgány obsahující smyslové buňky a obalové buňky (Wiese a kol., 1993; Breithaupt a Thiel, 2011). Senzily se nacházejí na mnoha místech těla korýšů. Důležitými místy pro chemoreceptci jsou zejména antény a antenuly (Belanger a Moore, 2006; Bergman a kol., 2003), klepeta nebo čelistní končetiny, u bentických korýšů jako jsou právě raci to jsou i špičky kráčivých nohou (Breithaupt a Thiel, 2011).

Existují dva hlavní typy chemosenzorických senzil a to bimodální chemosenzorické a mechanosenzorické senzily, které se nacházejí na čelistních končetinách, kráčivých nohou a rozprostírají se i na po povrchu těla. Druhým typem jsou unimodální čichové senzily zvané estetasky, které se obvykle nacházejí na antenulách. Bimodální senzily zprostředkovávají chemické podněty z chemických zdrojů, které jsou v přímém kontaktu s živočichem. Na druhou stranu unimodální senzily zprostředkovávají příjem molekul, které prošly vodou na větší vzdálenost (Breithaupt a Thiel, 2011). Jednotlivé chemosenzorické buňky mohou reagovat na aminokyseliny, aminy, nukleotidy a cukry (Wiese a kol., 1993; Breithaupt a Thiel, 2011).

2.4.2 Distribuce signálu

Stejně jako u humrů a krabů, tak i u raků je mnoho chemických signálů obsaženo v moči. Moč je předurčena pro přenos informací, protože obsahuje tělesné metabolity, které flexibilně odrážejí vnitřní procesy raků (Chang, 2010). Moč se uvolňuje v přední části těla raka skrz pár nefroporů (Breithaupt a Thiel, 2011). Nefropory se nacházejí blízko báze antén (Holdich, 2002). Jejich poloha v přední části těla je výhodná, protože umožňuje rozptýl feromonů směrem od přední části těla vysílajícího jedince směrem k příjemcům – ostatním jedincům. Stejně tak jako u ostatních korýšů se nefropory otevírají a uzavírají za pomoci svěračového svalu. Tento sval umožňuje rakům kontrolovat načasování uvolnění feromonů (Breithaupt a Thiel, 2011). Moč je po uvolnění unášena proudem vody, který raci vytváří prouděním vody skrz žábry. Vyústění žaberních štěrbin je totiž umístěno těsně pod samotnými nefropory. Kromě proudu vytvořeným aktivitou žaber se na směr a intenzitě distribuce moči podílí i některé z čelistních končetin označované jako „fan organ“ (Breithaupt, 2001; Breithaupt a Thiel, 2011). Ty mohou proud směřovat dopředu, do stran, nahoru nebo dozadu a zároveň jej více rozptýlovat, kdežto proud vytvořený žábry je limitován jen na pohyb dopředu (Breithaupt, 2001). Moč je takto distribuována do několikanásobně větší vzdálenosti, než je délka těla raka a v nižších koncentracích se může s vodou šířit poměrně daleko (Moore a Bergmann, 2005). Není ovšem známo, zda jsou raci, kteří odesílají chemické signály schopni manipulovat se složením feromonů, vylučovaných v moči. Mají ovšem vynikající možnost řídit jak směr, tak i načasování chemických signálů (Breithaupt, 2001; Breithaupt a Thiel, 2011). Studie Bergmana a kol. (2006) testovala vliv proudění vody na chemickou komunikaci a ukázala, že dominantnější jedinec raka rusobokého (*Orconectes rusticus*) většinou vybíral místa výše proti proudu a uvolňoval více moči než jeho oponent, aby pokryl větší teritorium v toku.

2.4.3 Detekce signálu

„Fan organ“ nebo také vějířovitý orgán hraje i další důležitou roli. Kromě distribuce moči je zároveň – vybaven i k detekci chemických signálů. Proudění tvořené vějířovitým orgánem tedy usnadňuje nejen distribuci ale i příjem chemických signálů tím, že vtahují pachové molekuly k anténám a antenulám, které jsou hlavním místem chemorecepce (Breithaupt, 2001). Vějířovitý orgán může být zásadní pro detekci pachů ve stojatých vodách, tj. jezerech a rybnících, a zároveň méně důležitý pro detekci pachů v proudném

prostředí řek a potoků. Několik studií se shoduje na tom, že místem příjmu feromonů u koryšů jsou chloupky na prvních antenulách (Breithaupt a Thiel, 2011). Tyto soubory chloupků sloužící k čichové funkci se nazývají estetasky (Breithaupt a Thiel, 2011; Kozák a kol., 2013). Množství estatasek se u různých druhů raků liší. Jejich počet a délka se také může měnit na základě prostředí, ve kterém raci žijí (Kozák a kol., 2013).

2.4.4 Agresivní chování

Agresivní setkání mezi jedinci stejného druhu se označuje jako agonistické chování (Holdich, 2002). Při agonistickém chování dochází u raků k výrazně vyššímu uvolňování moči než při ostatních typech chování (Shackelford a Weekes-Shackelford, 2021; Breithaupt a Thiel, 2011).

Agresivní chování je charakteristické pro celý život raků. Objevuje se během konfliktů o potravu, úkryt, preferované stanoviště nebo o partnera (Kubec a kol, 2019a; Moore a Bergmann, 2005). Agonistické chování se projevuje především zvýšenou agresivitou mezi účastníky konfliktu. Použití chemických nebo vizuálních komunikačních signálů k zastrašení protivníka může být náhradou boje a raci se tak mohou vyhnout souboji a tím i vyšším energetickým nákladům. Pokud ale tato komunikace selže, dochází k charakteristickému boji (Holdich, 2002; Kubec a kol., 2019a). Raci jsou samotářská a teritoriální zvířata, proto často dochází k agonistickému chování, pokud se jiný rak vyskytne v teritoriu druhého. Teritorialita slouží k získávání lepších úkrytů, jídla nebo příležitostí k páření (Shackelford a Weekes-Shackelford, 2021).

Agresivní chování se vyskytuje jak u samců, tak i u samic. U samic ale ne tak často, protože u nich převládá potřeba reprodukce nad potřebou velkého teritoria a zároveň jsou obvykle při souboji těmi, o které se bojuje spíše než bojujícími (Kubec a kol., 2019a; Shackelford a Weekes-Shackelford, 2021) i když i samice aktivně přispívají svou volbou (Aquiloni a kol., 2008; Kubec a kol., 2019b). K soubojům ale dochází i při setkání původních a nepůvodních druhů raků. Při těchto setkáních platí samozřejmě pravidlo většího s velkými klepety, ale obvykle dominují agresivnější invazní druhy raků (Kubec a kol., 2019a; Gherardi a kol., 2012).

Interakce je obvykle zahájena přiblížením jednoho raka k druhému, poté následuje rituální předváděcí/zastrašovací chování. Toto chování se skládá z několika částí. První část se vyznačuje zvednutím přední části těla a roztažením klepet (Gherardi a kol., 2012;

Bergman a kol., 2003), když jsou raci od sebe ještě vzdáleni na jednu až dvě délky těla (Shackelford a Weekes-Shackelford, 2021). Následuje taktilní kontakt za použití antén a klepet k ohmatání, a nakonec dochází k finálnímu fyzickému konfliktu. V počátku souboje obvykle dochází k uchopení končetin protivníka (Kubec a kol., 2019a; Gherardi a kol., 2012). Další fáze souboje je charakteristická snahou vytlačit druhého raka z místa souboje. Při této fázi raci ještě nepoužívají klepeta přímo jako zbraň (Bergman a kol., 2003; Gherardi a kol., 2012). Pokud se ani jeden z účastníků nestáhne, raci začínají silou uchopovat protivníka klepety se snahou poškodit či odtrhnout protivníkovi končetiny, popř. používat klepeta k úderům do protivníka (Kubec a kol., 2019a; Bergman a kol., 2003). Souboj může následně eskalovat a způsobit zranění jednoho nebo obou raků, popř. i smrt jedince. Důležité faktory pro vítězství jsou velikost těla, velikost klepet, celková fyziologická kondice (Bergman a kol., 2003; Breithaupt a Thiel, 2011; Shackelford a Weekes-Shackelford, 2021) ale i předchozí zkušenost a historie soubojů mezi danými jedinci (Breithaupt a Thiel, 2011; Bergman a kol., 2003).

Chemické signály, které raci uvolňují v moči před soubojem (v rituální části interakce) i během souboje mají vliv na konečný výsledek souboje. Včasné použití chemické komunikace může, stejně jako zastrašování, pomoci předejít soubojům, které jsou energeticky náročné a často vedou k vážným zraněním (Holdich, 2002; Breithaupt a Thiel, 2011). Rak, který při souboji vylučuje více moči má obvykle vyšší šanci na vítězství. Vypouštění moči má vliv i na ofenzivní a defenzivní chování při souboji. Rak, který vylučuje více moči má tendenci více útočit, zatímco rak, který vylučuje méně moči má tendenci se více bránit a méně útočit (Breithaupt a Thiel, 2011).

Moč raků zároveň obsahuje metabolity současných a nedávných biochemických procesů, a proto může příjemce chemických signálů posoudit potenciál (kondici, zdravotní stav) odesílatele (Breithaupt a Thiel, 2011). S agresivním chováním raků a obecně korýšů jsou spojovány biogenní aminy, jako jsou serotonin a oktopamin. jedinci, kteří vyhráli souboj obecně vykazovali vysokou hladinu serotoninu a zároveň jedinci s vyšší hladinou serotoninu mají menší tendenci se stáhnout ze souboje (Moore a Bergman, 2005).

Korýši také dokážou vycítit tělní tekutiny, které vylučují zranění jedinci jejich druhu. Díky tomu se dokážou vyhnout místům, kde by mohli být napadeni predátorem (Hay,

2010). Stejně tak raci omezují svůj pohyb a krmení, jsou-li vystaveni hemolymfě poškozených jedinců stejného druhu (Acquistapace a kol., 2005).

2.4.4.1 Efekt vítěze a poraženého

Efekt vítěze a poraženého popisuje situaci, kdy výsledek předchozích interakcí ovlivňuje budoucí úspěch. Tento efekt obvykle nemění skutečné fyzické bojové schopnosti jedince, ale spíše ovlivňuje hodnocení pravděpodobnosti jeho budoucích výsledků v interakcích (Huber a Hock, 2009; Gherardi a kol., 2012). Tyto změny se projevují v agresivní motivaci. Ochota zapojit se do boje s protivníkem nebo načasování rozhodnutí o ústupu, jsou založeny na vnímání vysílaných signálů vítěz/poražený ze strany příjemce signálu (Huber a Hock, 2009). Jedinec, který při předchozí agonistické interakci vyhrál, má vyšší pravděpodobnost, že vyhraje i při následujícím střetu se známým, ale i neznámým jedincem. Tento jev zvýšení pravděpodobnosti se nazývá efekt vítěze (Bergman a kol., 2003). Toto platí i obráceně pro poraženého, což má za následek vyšší pravděpodobnost prohry/ústupu při dalším střetnutí. Efekt vítěze a poraženého může změnit pravděpodobnost vítězství jedince v následujícím souboji i přes zjevný rozdíl ve velikosti soupeřů, který by jinak byl hlavním důvodem vítězství (Bergman a kol., 2003; Huber a Hock, 2009). Vítěz agonistického souboje uvolňuje moč častěji než poražený (Moore a Bergman, 2005; Breithaupt a Thiel, 2011). Délka trvání efektu vítěze je variabilní a druhově specifická, ale vždy platí že se souboje díky tomuto efektu zkracují (Bergman a kol., 2003).

2.4.4.2 Hierarchie

Agonistické chování a sním spojené chemické signály zprostředkovávají vytvoření sociální hierarchie (Breithaupt a Thiel, 2011). Hierarchie je založena na dominanci od nejsilnějšího po nejslabšího (Kubec a kol., 2019a). Sociální hierarchie se začíná u raků ustanovovat již v juvenilním období. Ráčata začínají být agresivní a začínají zakládat hierarchii, jakmile jsou jejich klepeta slerotizována a připravena k agonistickým interakcím (Holdich, 2002).

Studie Fero a Moore (2014) ukázala, že existence úkrytů v habitatu je jedním z faktorů, který ovlivňuje strukturu hierarchie. Dalšími ovlivňujícími faktory jsou stejně jako u soubojů velikost jedince, výměna chemických informací nebo předchozí sociální

historie (Moore a Bergman, 2005). Vyšší sociální status v rámci sociální hierarchie umožňuje lepší přístup k potravě, partnerům nebo úkrytům (Aquiloni a Gherardi, 2008b; Fero a Moore, 2014). Studie Hubera a Hocka (2006) ukázala, že i velikost efektu vítěze a poraženého byla důležitá při nastolení hierarchie. Efekt vítěze byl zejména důležitý pro rychlé nastolení hierarchie a efekt poraženého pro její dlouhodobou stabilitu.

2.4.5 Reprodukční chování

U raků je rozmnožování vázáno na řadu faktorů, jako jsou teplota, fotoperioda nebo roční období. Při výběru partnera se jedinci snaží zvýšit šance úspěšné reprodukce a fitness potomků, tím, že si vybírají nejlepšího dostupného partnera na základě určitých vlastností. Jedná se mimo jiné o vizuální vlastnosti, jako jsou velikost nebo zbarvení, ale také chemické signály ve formě feromonů, určujících status a kondici partnera (Gherardi a kol., 2012; Kubec a kol., 2019a,b). Během výběru potencionálního reprodukčního partnera často dochází k agonistickým interakcím s konkurenty (Holdich, 2002).

Samice raka velkookého (*Faxonius quinebaugensis*), u kterých ještě neproběhlo páření jsou např. přitahovány chemickými signály samců, zatímco samice, které už se pářily se těmito chemickým signálům vyhýbají (Mellan a kol., 2014).

Samci raků neprojevují specifické chování při námluvách a jejich reakce na podněty od samic jsou nejednoznačné (Breithaupt a Thiel, 2011). Na druhou stranu studie Stebbing a kol. (2003) prokázala, že pohlavně dospělé samice raka signálního (*Pacifastacus leniusculus*) uvolňují feromon, který stimuluje páření samců. Samci se ale nezdaří být speciálně vybíraví, spíše jsou motivováni počtem samic, se kterými se spáří než jejich kvalitou (Kubec a kol., 2019b).

Studie Simon a Moore (2007) dokazuje, že při páření je moč vylučována jak samci, tak i samicemi. Studie také naznačuje to, že používání chemických signálů se mění v závislosti na reprodukčních podmínkách a také že pravděpodobně indikují připravenost obou pohlaví k páření. Díky vizualizaci moči během páření raka signálního bylo zjištěno, že samci raků uvolňují výrazně méně moči během páření než při agonistických interakcích (Berry a Breithaupt, 2010).

U některých druhů je potřeba stimulace jak chemická, tak i vizuální, aby došlo u samců k rozpoznání opačného pohlaví. Děje se tak např. u raka bělonohého

(*Austropotamobius pallipes*), který obývá především prostředí s turbulentním prouděním. Při vystavení samců pouze chemickým podnětům nedochází k reakci. Ale v případě, že je chemický podnět doprovázen vizuálním podnětem tedy pohledem na raka, vyvolají podněty zvýšenou aktivitu (Breithaupt a Thiel, 2011). Podobně je to u raka červeného (*Procambarus clarkii*), u kterého samice potřebuje jak chemický, tak vizuální podnět od samce, aby snížila svou agresivitu a přijala ho (Aquiloni a Gherardi, 2010).

2.4.6 Mateřské chování

Raci vykazují relativně komplexní rodičovskou péči o potomky v porovnání s ostatními bezobratlými (Figler a kol., 2001). Samice raků nosí oplodněná vajíčka připevněná na nožkách abdomenu (pleopodech). U některých druhů je inkubace dlouhá a samice nosí vajíčka přes zimní období (jako u původních evropských druhů), jiné druhy, jako např. původem severoamerické druhy (rak pruhovaný *Faxonius limosus* nebo rak mramorovaný), mají inkubační dobu okolo jednoho až dvou měsíců od naklazení vajíček (Kozák a kol., 2013). Po vylíhnutí navíc ráčata zůstávají spojena telsonovým vláknem s obalem vajíčka, který se nachází na pleopodech samice a po dobu dalšího jednoho či dvou vývojových stádií jsou závislá na svých matkách (Vogt a Tolley, 2004; Kozák a kol., 2013). V období osamostatňování (u raka mramorovaného po dvou svlékáních, tj. ve třetím vývojovém stádiu) ráčata začínají přijímat potravu a občasné opouští bezpečí matky, aby prozkoumala okolí. (Vogt a Tolley, 2004; Kozák a kol., 2013). Pokud jsou vyrušena nebo jim hrozí nebezpečí vrátí se pod abdomen matky nebo na jiné části jejího těla (Aquiloni a Gherardi, 2008b; Vogt a Tolley, 2004). Toto chování zabezpečuje a umožňuje mateřský feromon, který je zřejmě druhově specifický (Little, 1976), ale pravděpodobně není specifický pro konkrétní matku (Vogt a Tolley, 2004). Bohužel tento feromon dosud nebyl biochemicky izolován a charakterizován (Vogt, 2013). Samice, které mají vlastní mláďata nejenže nosí svá mláďata, ale mohou nosit i mláďata jiných samic. Agresivní chování samic, které mají mláďata je obecně vůči juvenilním jedincům a ostatním matkám inhibováno (Vogt, 2013). Nicméně u raka červeného se vyskytuje i tzv. mateřská agrese (Figler a kol., 2001). Studie Figlera a kol. (2001) testovala míru agrese u mateřských a nemateřských jedinců raka červeného. Výsledky ukázaly, že mateřské samice vyhrály výrazně více soubojů než samice, které se o potomstvo nestaraly.

2.5 Zájmové druhy

2.5.1 Rak signální (*Pacifastacus leniusculus*)

Samci raka signálního dorůstají délky těla až 16 cm a délka těla u samic bývá zpravidla do 12 cm. Ojediněle se lze setkat i s větším jedincem kdy se nejvyšší hmotnost pohybuje v rozmezí 200 a 250 g (Kozák a kol., 2013). Rak signální se může dožít až 20 let (Kozák a kol., 2013; Štambergová a kol., 2009). Zbarvení těla se pohybuje od světle hnědé přes hnědočervenou až po tmavě hnědou. Někteří jedinci mohou mít i modré zbarvení (Holdich a kol., 2006). Rak signální dostal své jméno díky signální skvrně, která se nachází na svrchní straně pohyblivého prstu klepete (Obrázek 2). Její barva je nápadně bílá či namodralá (Štambergová a kol., 2009). Spodní barva klepet je červená. Obě strany klepet jsou stejně jako povrch hlavohrudi zcela hladké. Klepeta jsou u samců robustní. Jeho rostrum na konci tvoří trny, je středně dlouhé s hladkými rovnoběžnými okraji. Rak signální má dva páry postorbitálních listů (Štambergová a kol., 2009; Souty-Grosset a kol., 2006). Juvenilní jedinci raka signálního se dají zaměnit s juvenilními jedinci raka říčního (*Astacus astacus*), ale jedinci raka signálního mají vždy naprosto hladký povrch klepet a hlavohrudi (Štambergová a kol., 2009).

Rak signální pochází ze Severní Ameriky, kde obývá nejrozličnější biotopy od malých potoků až po jezera a velké řeky. Na evropském kontinentu vyhledává podobné biotopy jako původní druhy raků, zejména jako rak říční (Souty-Grosset a kol., 2006). Oproti původním evropským druhům je rak signální více odolný vůči nepříznivým podmínkám prostředí a dobře snáší i vyšší teploty (Pöckl a kol., 2006). Limitním je pro něj hodnota pH, protože se nevyskytuje ve vodách s pH nižším než 6,0 (Goldman, 1973). Rak signální je schopen aktivně migrovat a šířit se po proudu i proti proudu, ale rychlost jeho šíření je poměrně malá (v porovnání s ostatními invazními druhy), zhruba 1,5 km za rok po proudu a asi 0,5 km proti proudu (Bubb a kol., 2004). Rak signální je také agresivnější než původní druhy raků a zároveň je přenašečem patogenu onemocnění nazvaného račí mor. To je pro naše původní druhy smrtelné. Při kontaktu nakažených raků signálních s populacemi původních raků dochází k přenosu nemoci a masivním úhynům původních raků (Filipová a kol., 2006).

Původním areálem rozšíření raka signálního je severozápad USA a jihozápad Kanady (Henttonen a Huner, 1999). Mimo Severní Ameriku byl introdukován mezi lety 1926 a 1930 do Japonska za účelem komerčního využití. Došlo zde, ale k jeho rychlému rozšíření v řekách a jezerech, což způsobilo vytlačení mnoha populací původního raka

Cambaroides japonicus (Kawai a kol., 2002). Rak signální byl později také introdukován i do Evropy. První dovoz se uskutečnil v roce 1959 do Švédska z důvodu ekologické a gastronomické podoby s rakem říčním, který byl ve Švédsku od roku 1907 decimován račím morem (Abrahamsson, 1971). Vysazení do volné přírody bylo úspěšné a následovala další rozsáhlá vysazování. Na území České republiky byli jedinci raka signálního poprvé dovezeni ze Švédska v roce 1980 (Štambergová a kol., 2009; Kozák a kol., 2013).

Rak signální dospívá ve 2-3 roce života, při velikosti 6-9 cm, ale jsou známy i případy, kdy byl samec raka signálního pohlavně dospělý už po prvním roce života. K páření a kladení vajíček dochází podobně jako u raka říčního na podzim, nejčastěji v průběhu října (Abrahamsson, 1971; Kozák a kol., 2013). Plodnost samic se pohybuje mezi 200 a 400 vajíčky, jsou známy ale i případy kdy samice měla až 500 vajíček. Ráčata se líhnou od konce března do konce července v závislosti na teplotě vody na lokalitě, obvykle však dříve než ráčata raka říčního (Štambergová a kol., 2009; Kozák a kol., 2013).



Obrázek 2: Samec raka signálního při vážení na elektronické váze (foto: autor).

2.5.2 Rak mramorovaný (*Procambarus virginalis*)

Rak mramorovaný patří mezi menší druhy raků. Jeho zvláštností je, že se rozmnožuje partenogeneticky tj. bez přítomnosti samců. Výslední potomci jsou opět pouze samice, které jsou geneticky identické a samci se proto vůbec nevyskytují (Vogt a Tolley, 2004). Obvykle dorůstá délky maximálně 10 cm, ale může dorůstat až 13 cm. Jedná se o druh s velmi krátkou dobou života, která obvykle nepřesáhne 2 roky. Maximální délka života pak je 3 ojedinele 4 roky (Hossain a kol., 2018). Povrch hlavohrudi raka mramorovaného je hladký s několika trny za týlní brázdou. Za očima se nachází jeden pár postorbitálních lišt. Tělo raka je obvykle zbarveno hnědě, tmavohnědě nebo nazelenale s charakteristickým mramorováním, které je patrné hlavně na bocích hlavohrudi (Obrázek 3) (Kozák a kol., 2013; Štambergová a kol., 2009). Rak má výrazné rostrum s hladkými okraji, které se sbíhají dohromady a tvoří vrcholek ve tvaru trojúhelníku (Kozák a kol., 2013). Klepeta jsou slabě zrnitá a jsou také poměrně malá. Na obou zápěstích klepet má rak mramorovaný vyvinut výrazný trn (Souty-Grosset a kol., 2006). Na břišní straně mají samice mezi posledními dvěma páry kráčivých nohou otvor tzv. *annulus ventralis*. Je to pozůstatek pohlavního rozmnožování, kdy do něho samci ukládají spermatofory sloužící později k oplodnění vajíček (Štambergová a kol., 2009).

Rak mramorovaný nemá známý původní areál výskytu, ale je velmi podobný raku klamavému (*Procambarus fallax*), nebo je spíše jeho triploidní formou (Martin a kol., 2016). Ten pochází z amerických států Florida a Georgia. Rak klamavý obývá nevysychající lokality s tekoucí i stojatou vodou a buduje si i jednoduché nory (Dorn a Trexler, 2007). V místě výskytu raka klamavého se ale pravděpodobně nevyskytuje jeho partenogeneticky se rozmnožující forma. První případ výskytu raka mramorovaného pochází až v Evropě, kde se objevil v rámci akvaristických odchovů a obchodů (Hossain a kol., 2018). Rak mramorovaný je velmi populární u akvaristů pro jeho snadný odchov, rychlé rozmnožování a mramorované zbarvení. Volně žijící jedinci byli zaznamenáni v mnoha zemích Evropy, jako jsou např. Německo, Nizozemí, Itálie a Slovensko (Chucholl a kol., 2012). V roce 2012 bylo reportováno 13 jedinců nalezených ve Švédsku (Kouba a kol., 2014) a v roce 2017 byla nalezena populace raka mramorovaného i na severovýchodě Rumunska (Pârvulescu a kol., 2017). V roce 2016 byly nalezeny první populace i v ČR (Patoka a kol., 2016).

Rak mramorovaný je velmi tolerantní a adaptabilní druh. Optimální teplota pro chov se pohybuje od 18 do 25 °C, je však schopný tolerovat i teplotu pod 8 a nad 30°C. Jak je

známo z přírodních evropských lokalit, tak dokáže přežívat i v podmínkách mírného klimatu, tj. na zamrzajících lokalitách (Souty-Grosset a kol., 2006; Kozák a kol., 2013) a je zároveň odolný teplotním šokům, vysychání a je schopen si rovněž budovat nory (Haubrock a kol., 2019; Guo a kol., 2019; Kouba a kol., 2016).

Jak již bylo zmíněno výše, tak se u raka mramorovaného vyskytují pouze samice, které se rozmnožují za pomoci partenogeneze. V závislosti na teplotě jsou samice schopny se rozmnožovat již ve stáří cca 2 až 3 měsíců, při délce těla okolo 4 cm (Souty-Grosset a kol., 2006; Štambergová a kol., 2009). K rozmnožování dochází po celý rok v intervalu 8 až 9 týdnů. Plodnost samic se pohybuje od 50 do 150 vajíček v závislosti na velikosti a u velkých samic může výrazně přesáhnout 500 vajíček (Hossain a kol., 2018). Díky popularitě u chovatelů společně s častým partenogenetickým rozmnožováním dochází k častým problémům s přemnožením. Může se proto stát, že přebyteční jedinci jsou vypuštěni do volné přírody. Jelikož je tento druh zřejmě přenašečem račího moru, představuje toto řešení velký problém pro původní populace raků (Kozák a kol., 2013; Štambergová a kol., 2009). V současné době je rak mramorovaný (stejně jako rak signální) uveden na unijním seznamu nebezpečných invazních druhů, u kterých je zakázán jejich chov, přechovávání, transport či vysazování (nařízení EU č. 1143/2014). V letošním roce už platí i implementace tohoto zařízení pro ČR (Zákon č. 364/2021 Sb.) a pro jakoukoli manipulaci s tímto druhem je nutné mít výjimku. Rozhodně je práce se zmíněnými druhy vázána opatrností, aby nedocházelo k pochybení a úniku do volné přírody.

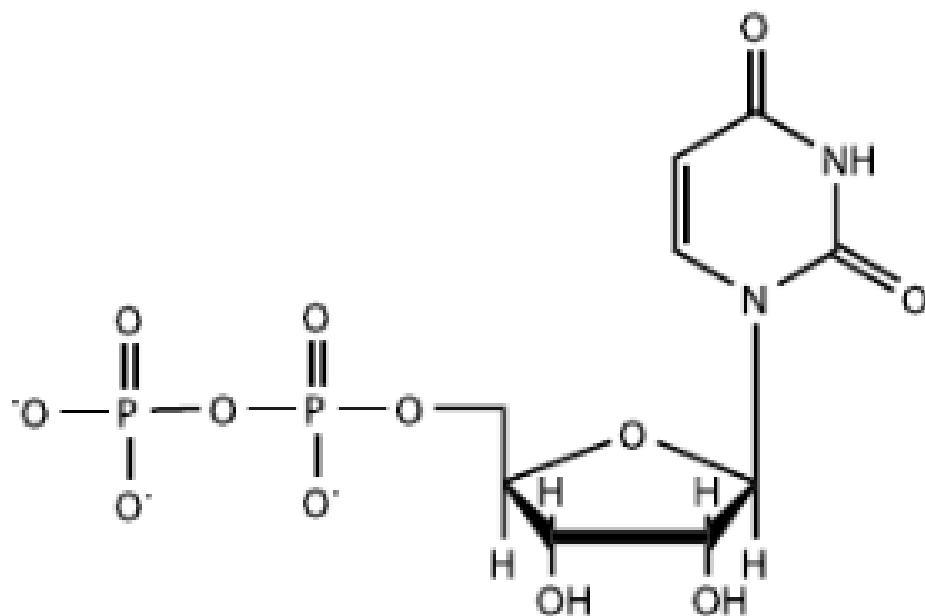


Obrázek 3: Rak mramorovaný použitý pro otestování odběru moči. Na spodní části abdomenu je patrné modré zbarvení způsobené injikováním roztoku modrého potravinářského barviva do krevního oběhu raka (foto: autor).

2.6 Chemická podstata chemických signálů

Dosud není známo, zda korýši při chemické komunikaci používají chemikálie, které jsou specificky modifikovány jako signály. Je mnoho případů a publikací mluvících o pachu vítěze, dominanci, mateřském feromonu, nebo o chemickém rozeznání zralosti, a kondice u raků (Bergman a kol., 2003; Breithaupt a Thiel, 2011; Kubec a kol., 2019a), konkrétní sloučeniny ale stále nebyly identifikovány. Jako první odpovědná látka byl identifikován sex feromon u krabů. Tato látka se nazývá uridin difosfát (Obrázek 4), který je vedlejším produktem posledního kroku syntézy chitinu (Hardege a Terschak, 2010). Uridin difosfát vyvolává u samců krabů sexuální chování (Bublitz a kol., 2008).

Protože dosud není známa chemická podstata chemických signálů u raků, tak se tato bakalářská práce zabývá (kromě literární rešerše) i metodikou odběru moči u raků, která následně může posloužit pro další výzkum.



Obrázek 4: Strukturální vzorec uridin difosfátu, sloučeniny identifikované jako sex feromon u krabů (Hardege a Terschak, 2010).

3 Metodika

3.1 Experimentální organismy

Pro experimentální odběry moči u raků byly použity dva druhy raků. Prvním druhem byl rak mramorovaný, jehož jedinci pocházeli z vlastního chovu na Experimentálním rybochovném pracovišti Fakulty rybářství a ochrany vod ve Vodňanech. Druhým druhem pak byl rak signální. Pro experiment byli použiti jedinci tohoto druhu odlovení při eradikaci na řece Malši.

Při prvním pokusném odběru moči byli použiti jak jedinci raka mramorovaného, tak i jedinci raka signálního. Při druhém pokusném odběru moči byli použiti jen jedinci raka signálního.

U všech použitých raků byla změřena délka hlavohrudi v mm (od špičky rostra po okraj hlavohrudi) pomocí posuvného měřítka (Obrázek 5) a zjištěna hmotnost s přesností na desetinu gramu (pomocí elektronické váhy KERN (CM150-1N)).

3.2 1. pokusný odběr moči

První pokusný odběr moči se konal 25.5.2022 na Experimentálním rybochovném pracovišti FROV v Laboratoři sladkovodních ekosystémů. Cílem prvního experimentu bylo zjistit, zda lze od raků úspěšně odebrat vzorky moči a zda odebíranou tekutinou je skutečně moč, a ne okolní voda např. vypouštěná ze žaber.

Na odběr byli použiti čtyři jedinci raka mramorovaného a čtyři jedinci raka signálního. Poměr pohlaví u raka signálního byl 1:1 tj. dva samci a dvě samice.

Pro ověření, zda nedochází k záměně moči za vodu unikající z žaberní dutiny při odběru, byl prvnímu raku mramorovanému aplikován roztok fyziologického roztoku s modrým potravinářským barvivem (brilantní modř. E133) do hemolymfy. Barvicí roztok (1 ml) byl aplikován za pomoci inzulinové injekční stříkačky vpichem přímo do oblasti srdce (Obrázek 6). Již po několika vteřinách bylo možné pozorovat promodrání svaloviny pod průhlednou kutikulou na abdomenu (Obrázek 4 a 7). Následně jsme čekali 30 minut, zda se během této doby barvivo dostane do moči. Po 30 minutách byl proveden pokus o odběr moči z jednoho nefroporu, ale odebraná tekutina byla stále čirá. Po dalších 10 minutách byl pokus opakován z druhého nefroporu. Do zkumavky se povedlo odebrat měřitelné množství moči, která byla zbarvena do modra potravinářským barvivem.

Následně se provedl odběr u všech ostatních raků. U ostatních raků se neprováděla aplikace barviva do hemolymfy, aby bylo možné vzorky později v laboratoři analyzovat. Použité barvivo by vzorek znehodnotilo.

Odběr moči byl proveden za pomoci injekční stříkačky o objemu 6 ml, speciálně upravené pro tyto odběry. Úprava spočívala v použití nástavce ze silikonové hadičky nasazené na hrdlo injekční stříkačky (Obrázek 8). Tato úprava umožnila přisátí se k nefroporu a vytvoření podtlaku při odběru moči (Obrázek 9). Samotný odběr spočíval v přiložení konce silikonové hadičky a jeho lehké přitisknutí k nefroporu raka a následně ve vytvoření podtlaku posunutím pístu injekční stříkačky. Raka bylo zapotřebí řádně uchopit, aby nedošlo k poranění raka nebo odběratele. Úchop byl proveden jako na obrázku 7, tedy uchopením raka za první pár klepet. Po vyčerpání zásob moči v jednom nefroporu se pokračovalo stejným postupem i u druhého nefroporu. Vzhledem k tomu, že rak vylučuje moč i v případě manipulace s ním (zastrašení, informace o stresu), v druhém nefroporu bylo obvykle menší množství moči. Odebraná moč poté byla přesunuta z injekční stříkačky do předem označené a zvážené zkumavky a následně zvážena znovu se vzorkem pro zjištění hmotnosti odebraného vzorku. Zkumavky se vážily za pomoci analytických vah s přesností na 0,1 mg. Navážené hodnoty byly následně zaznamenány. Pro vzorkování bylo nutné vždy použít jednu injekční stříkačku na odběr z jednoho raka, aby nedošlo ke kontaminaci vzorku. Každý rak byl po ukončení odběru umístěn do samostatného boxu a následně vrácen do nádrže odkud byl vybrán. Odebrané vzorky byly umístěny v hlubokomrazícím boxu při teplotě -80 °C.

3.3 2. pokusný odběr moči

Druhý pokusný odběr moči se konal 14.2.2023 opět na Experimentálním rybochovném pracovišti FROV v Laboratoři sladkovodních ekosystémů. Cílem experimentu bylo odebrání moči rakům po vzájemných interakcích, abychom získali vzorky od dominantních i podřízených raků.

K experimentu bylo použito šest jedinců raka signálního. Všech šest jedinců bylo samčího pohlaví. Raci se rozdělili do tří párů. V každém páru byl jeden rak větší a jeden menší, aby bylo rychlejší a snazší ustanovení dominance v daném páru raků. Každá dvojice se umístila do samostatné oválné nádoby, která byla naplněna 10 litry vody (Obrázek 10). Do nádoby byla také umístěna polovina hliněného květináče, který

představoval úkryt. Každá nádoba s párem raků byla monitorována kamerou s infračerveným přísvitem, protože interakce raků probíhaly ve tmě. Následně se dvojice raků nechaly interagovat po dobu 30 minut.

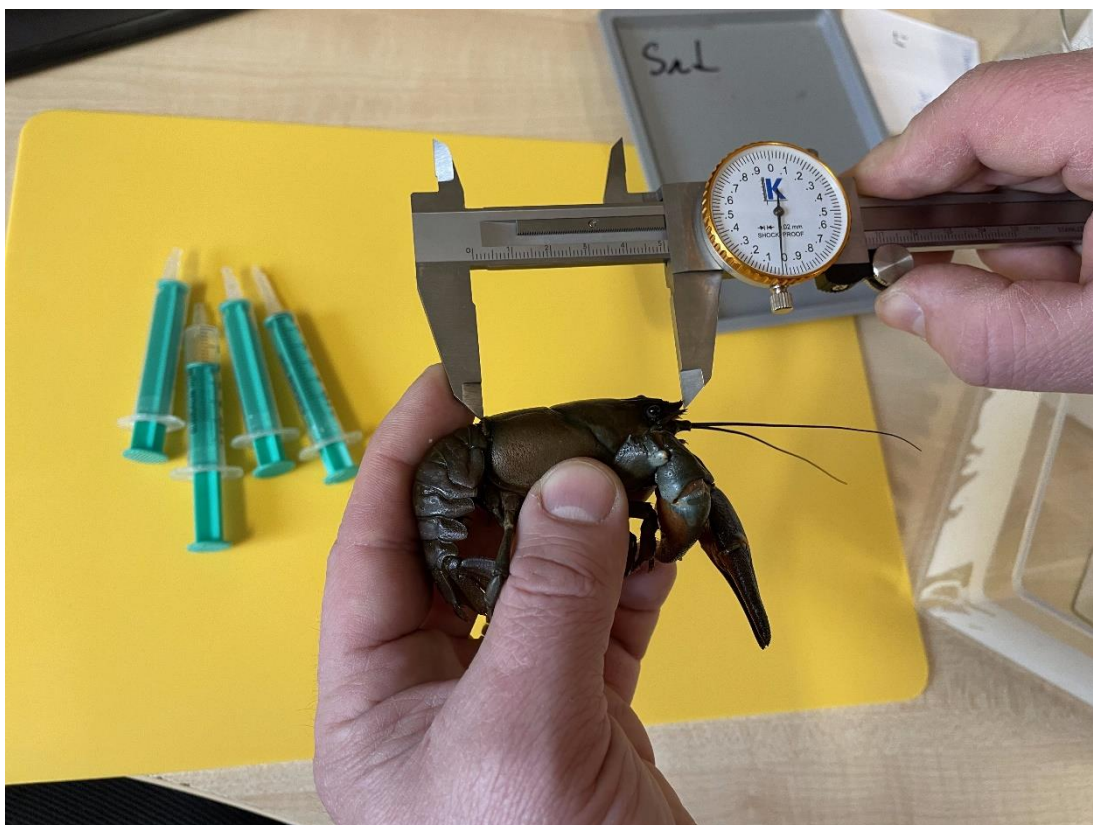
Po 30 minutách byli raci z nádob odloveni a proběhl u nich odběr moči podobným způsobem jako při předchozím pokusu. Stejně tak proběhlo měření a vážení raků a vážení a uchování odebraných vzorků.

Analýza chování jednotlivých párů proběhla později a nebyla součástí této práce. Její výsledky budou důležité až při následném porovnání odebraných vzorků po biochemické analýze.

Při odběru byl testován i typ s pevnějším a tenčím nástavcem (Obrázek 8), ten ale špatně nasedal na nefropory raků. Proto byl tento nástavec použit pouze u prvního raka.

3.4 Zpracování dat

Data z odběru byla editována v programu Microsoft Excel a následně přenesena do programu Statistica (Tibco software, Inc.). Pro porovnání dvou skupin vzorků bylo použito *t*-testu. Pro závislost hmotnosti vzorku na délce hlavohrudi a hmotnosti byla použita jednoduchá lineární regrese. Rozdíly byly uznány jako statisticky významné, pokud *p*-value byla menší než 0,05.



Obrázek 5: Měření délky hlavohrudi raka signálního posuvným měřítkem. Měření se provádí od začátku rostra po konec hlavohrudě (carapaxu) (foto: autor).



Obrázek 6: Aplikace fyziologického roztoku s modrým potravinářským barvivem do hemolymfy raka mramorovaného za pomoci injekční stříkačky (foto: autor).



Obrázek 7: Kontrola distribuce barviva v hemolymfě u raka mramorovaného. V horní části abdomenu (šipka) je patrný začátek promodrávání svaloviny, jak se barvivo šíří v těle raka (foto: autor).



Obrázek 8: Ukázka dvou typů speciálně upravených injekčních stříkaček. Více vhodný se ukázal typ s širší a měkčí špičkou (vlevo) a méně vhodný typ s užší a tužší špičkou (napravo) (foto: autor).



Obrázek 9: Odběr moči u raka signálního z levého nefroporu za pomoci speciálně upravené injekční stříkačky (foto: autor).



Obrázek 10: Pracovní místnost s nádobami použitými před druhým odběrem moči pro ustanovení dominance mezi dvěma raky (nahore) a pohled do nádoby s úkrytem a interagující dvojicí raků (dole) (foto: autor).

4 Cíle

- 1) Vypracování ucelené rešerše o známých aspektech chemické komunikace u raků
- 2) Otestování odběru moči u raků
- 3) Aplikace barviva do krevního oběhu raka a jeho detekce ve vylučované moči
- 4) Zaznamenání množství odebrané moči u raků po jejich interakci
- 5) Sledování množství odebrané moči v závislosti na velikosti raků

5 Hypotézy

- 1) Kontrolní barvivo bude detekovatelné ve vylučované moči
- 2) I po interakcích bude možné od raků odebrat vzorek moči pro další analýzy
- 3) Velikost vzorku bude ovlivněna předchozí interakcí
- 4) Velikost vzorku bude závislá na velikosti jedince

6 Výsledky

6.1 Metodické postupy

Při obou pokusech se nám povedlo od všech raků odebrat měřitelné množství moči. Že se jedná skutečně o moč jsme dokázali pomocí aplikace modrého potravinářského barviva. Při odběrech jsme zjistili, že pro odběr moči z nefropor je lepší injekční stříkačka s pružnou koncovkou ze silikonové trubičky než koncovka tužší. Díky větší pružnosti jsme dosáhli lepší přilnavosti a lepšího odběru moči. Dále jsme zjistili, že je vhodné a zároveň technicky možné jedním prstem blokovat jeden ze dvou nefroporů, zatímco z druhého je odebírána moč. Blokování nefroporu slouží k zabránění předčasného úniku moči. Množství odebraných vzorků je dostatečné pro další analýzy.

6.2 Odebrané vzorky

V tabulce 2 jsou zaznamenány naměřené hodnoty z prvního odběru moči, který se konal 25.5.2022 na Experimentálním rybochovném pracovišti FROV v Laboratoři sladkovodních ekosystémů. Vzorky byly odebrány bez předchozí interakce raků od raka mramorovaného a raka signálního. U raka mramorovaného se hmotnost odebraného vzorku moči pohybovala v rozmezí od 0,04 g do 0,45 g, což odpovídalo v průměru $0,93 \pm 0,65$ % hmotnosti raka, od kterého se moč odebírala. U raka signálního se hmotnost odebraného vzorku moči pohybovala v rozmezí od 0,15 g do 0,33 g, což odpovídalo v průměru $1,00 \pm 0,37$ % hmotnosti raka, od kterého se moč odebírala. Rozdíl v hmotnosti vzorku získaného na hmotnost těla raka nebyl statisticky významný mezi rakem mramorovaným a rakem signálním (t -test; $t = -0,181$; $p = 0,862$) a nelišila se ani jejich absolutní hmotnost (t -test; $t = 0,254$; $p = 0,808$). Raci obou druhů byli podobně velcí (t -test; $t = 1,388$; $p = 0,214$) a podobně vážili (t -test; $t = 0,733$; $p = 0,491$).

V tabulce 3 jsou zaznamenány naměřené hodnoty z druhého odběru moči ze 14.2.2023. Vzorky od raků signálních byly odebrány po jejich vzájemných interakcích. Hmotnost odebraného vzorku moči se pohybovala v rozmezí od 0,11 g do 0,33 g, což odpovídalo v průměru $0,54 \pm 0,26$ % hmotnosti raka, od kterého se moč odebírala. Při porovnání s relativním množstvím vzorku odebraného při prvním odběru je vidět výrazně menší množství moči. I když tento rozdíl není statisticky významný, má k tomu velmi blízko (t -test; $t = 2,245$; $p = 0,055$) a při větším počtu vzorků už by asi významný byl. Porovnání je viditelné na Grafu 1.

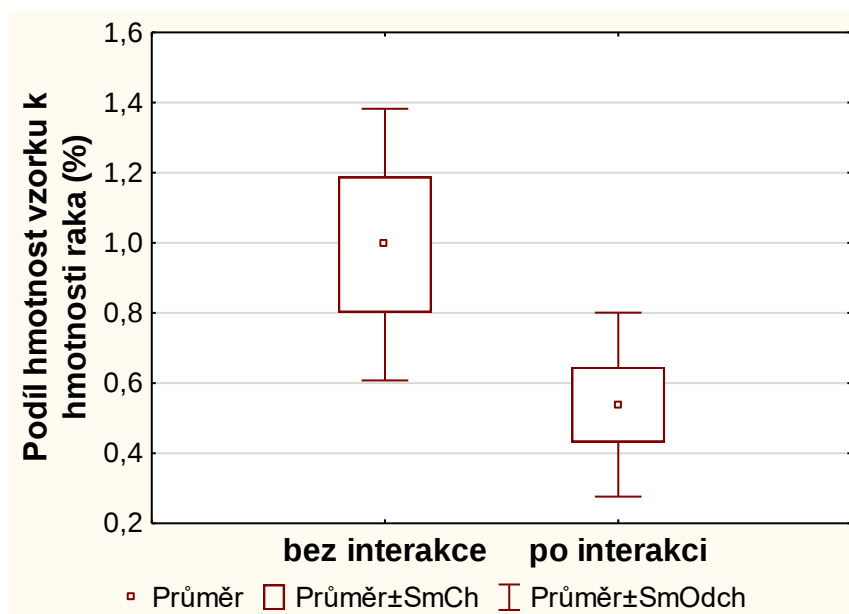
Na Grafu 2 a 3 je znázorněna závislost velikosti odebraného vzorku moči od raků bez i s předchozí interakcí na jejich hmotnosti a délce hlavohrudi. Tyto závislosti jsou jen pro představu, protože vzhledem k malému množství vzorkovaných jedinců závislost není statisticky významná i když je patrná. Zejména u raka mramorovaného (Graf 2) a raka signálního po předchozí interakci (Graf 3 dole) je vidět vzrůstající velikost vzorku s rostoucí velikostí i hmotností raka.

Tabulka 2: Naměřené hodnoty z prvního odběru moči s uvedením navážek zkumavek bez a se vzorkem, hmotnosti vzorku, druhu raka a jeho pohlaví, jeho délky hlavohrudi (DH) a hmotnosti.

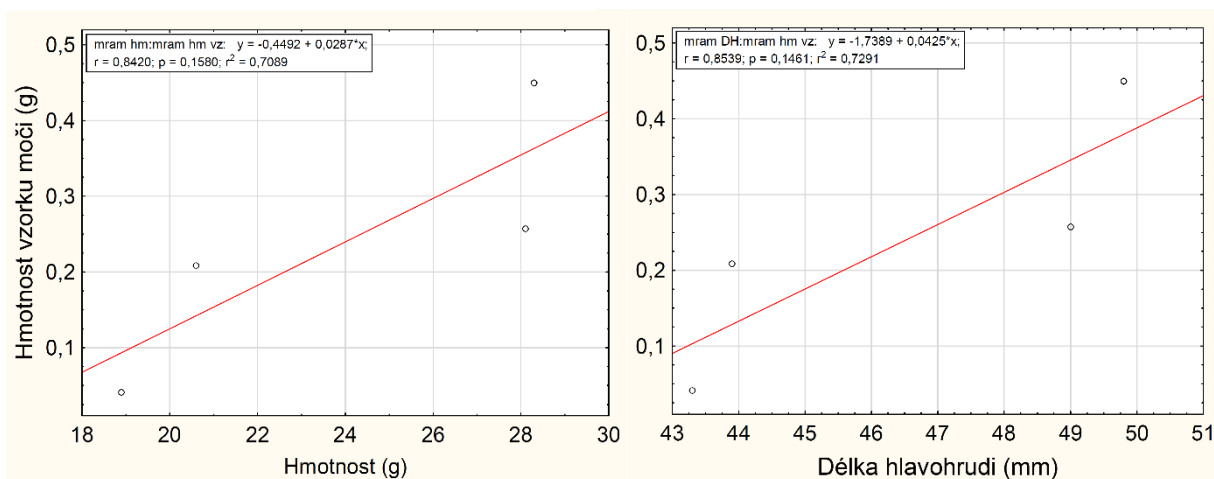
zk. č.	hmotnost [g]			druh raka	pohlaví	délka hlavohrudi [mm]	hmotnost [g]
	zk. prázdná	zk. se vzorkem	vzorek				
M1	0,9828	1,0239	0,0411	mramorovaný	samice	43,3	18,9
M2	0,9969	1,254	0,2571	mramorovaný	samice	49	28,1
M3	0,9865	1,436	0,4495	mramorovaný	samice	49,8	28,3
M4	0,9986	1,2072	0,2086	mramorovaný	samice	43,9	20,6
S1	0,99	1,2127	0,2227	signální	samec	40,1	19,5
S2	0,9881	1,3199	0,3318	signální	samice	46,5	22,6
S3	0,9938	1,1496	0,1558	signální	samec	44,5	25,7
S4	0,9869	1,1374	0,1505	signální	samice	42,9	19,7

Tabulka 3: Naměřené hodnoty z druhého odběru moči (po interakcích raků) s uvedením navážek zkumavek bez a se vzorkem, hmotnosti vzorku, druhu raka a jeho pohlaví, jeho délky hlavohrudi (DH) a hmotnosti.

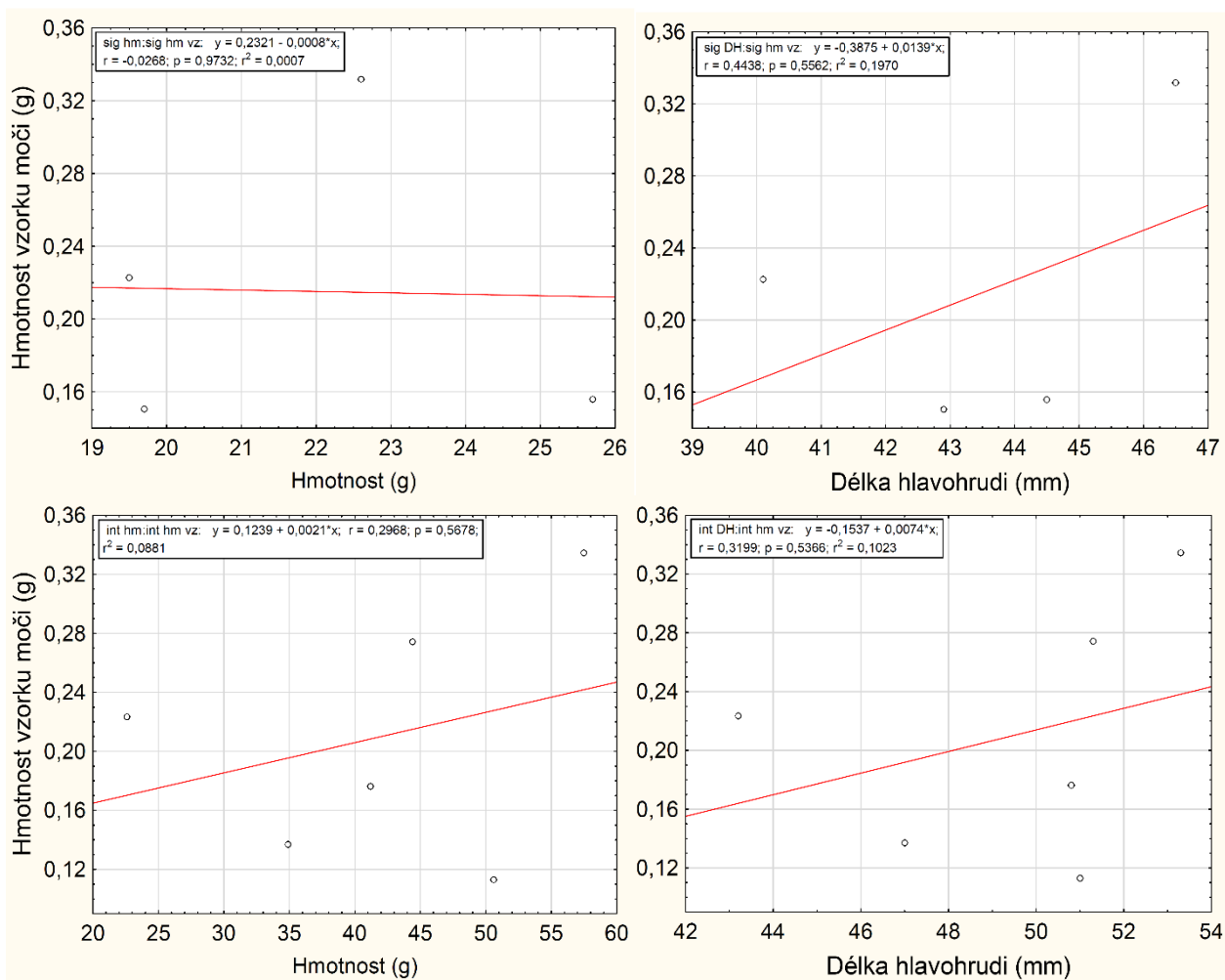
zk. č.	hmotnost [g]			druh raka	pohlaví	délka hlavohrudi [mm]	hmotnost [g]
	zk. prázdná	zk. se vzorkem	vzorek				
1	8,7998	8,9128	0,113	signální	samec	51	50,6
2	8,8532	8,9902	0,137	signální	samec	47	34,9
3	8,8345	9,169	0,3345	signální	samec	53,3	57,5
4	8,8652	9,0887	0,2235	signální	samec	43,2	22,6
5	8,836	9,1102	0,2742	signální	samec	51,3	44,4
6	8,8183	8,9945	0,1762	signální	samec	50,8	41,2



Graf 1: Porovnání relativní hmotnosti odebraného vzorku moči (v % hmotnosti raka, od kterého odběr proběhl) mezi raky signálními, u kterých před odběrem nedošlo k interakcím a raky, kteří před odběrem interagovali v arénách. Graf uvádí průměr (střed boxu), směrodatnou odchylku (chybové úsečky).



Graf 2: Závislost hmotnosti odebraného vzorku moči na hmotnosti a délce hlavohrudi raka mramorovaného.



Graf 3: Závislost hmotnosti odebraného vzorku moči na hmotnosti a délce hlavohrudi raka signálního. Nahoře pro raky, u kterých byl proveden odběr bez předchozí interakce, dole pro raky, u kterých před odběrem došlo k interakcím v arénách.

7 Diskuse

Chemická komunikace je pro raky životně důležitá, umožňuje jim totiž nejefektivněji přijímat a přenášet informace v prostředí ve kterém žijí (Breithaupt a Eger, 2002; Brönmark a Hansson, 2000). Vodní prostředí je často pro jiný způsob komunikace nesnadné díky proudění vody, velmi členitému prostředí na dně, kde raci žijí anebo prostě proto, že jsou aktivní především v noci, a proto zde jiné typy komunikace jako např. vizuální nebo akustická prostě nejsou nejlepším řešením (Breithaupt a Thiel, 2011; Kubec a kol., 2019a).

Chemická komunikace se uskutečňuje za pomoci tzv. infochemikálií, tj. chemických látek, které informaci přenášejí. Infochemikálie se obecně rozdělují na alelochemikálie a feromony. Alelochemikálie zprostředkovávají předávání informací mezi jedinci různých druhů a feromony jsou důležité při komunikaci mezi jedinci stejného druhu (Dicke a Sabelis, 1988).

Raci nejsou schopni přijímat infochemikálie celým povrchem těla kvůli tvrdé periodicky vyměňované kutikule (během svlékání), která brání difúzi chemických látek do račího těla. Raci si ale kvůli tomu vytvořili speciální morfologické řešení chemosenzorů ve formě senzil-chloupků. Tyto senzily se nachází téměř na celém těle zejména pak na antenulách, anténách, čelistních končetinách a kráčivých nohách včetně klepet (Wiese a kol., 1993; Breithaupt a Thiel, 2011).

Infochemikálie raci vylučují spolu s močí, která obsahuje tělesné metabolity, a proto flexibilně odráží vnitřní procesy (Chang, 2010). Moč je uvolňována z páru nefropor (Breithaupt a Thiel, 2011), které jsou umístěny v přední části raka blízko báze antén (Holdich, 2002). Raci jsou schopni díky jejich poloze uvolňovat moč směrem k příjemcům. Směr a intenzita distribuce je ovlivňována proudem vody, který je vytvářen průchodem vody skrz žábry a také pohybem některých čelistních končetin, které se označují jako tzv. „fan organ“ (Breithaupt, 2001; Breithaupt a Thiel, 2011). Vzdálenost, na kterou jsou raci schopni moč distribuovat je i díky tomu několikanásobně větší než délka těla raka (Moore a Bergmann, 2005). V proudící vodě se pak infochemikálie mohou s proudem vody šířit na značnou vzdálenost a lákat tak např. jedince opačného pohlaví v období páření (Breithaupt a Thiel, 2011).

Chemickou komunikaci využívají raci v různých životních situacích po celý život. Jedním z nejdůležitějších, a hlavně nejčastějších případů je agresivní chování, které je

charakteristické pro celý jejich život. Raci soupeří o potravu, brání úkryt, preferované stanoviště nebo se účastní interakcí o partnera pro reprodukci (Kubec a kol., 2019a; Moore a Bergmann, 2005). Použití chemických signálů k zastrašení protivníka může být účinnou náhradou boje a raci se tak mohou vyhnout fyzickému souboji a tím i vyšším energetickým nákladům. Pokud tato komunikace selže, dochází k charakteristickému souboji, který může často vyústit ve zranění nebo smrt jednoho nebo dokonce obou raků. Chemické signály, které raci uvolňují v moči před soubojem i během souboje mají vliv na délku souboje i na jeho konečný výsledek (Holdich, 2002; Breithaupt a Thiel, 2011).

S agresivním chováním je spjatý i efekt vítěze a poraženého. Tento efekt popisuje situaci, kdy výsledek předchozích interakcí ovlivňuje budoucí úspěch jedince. Jedinec, který při předchozí agonistické interakci vyhrál, má vyšší pravděpodobnost, že vyhraje i při následujícím střetu se známým, ale i s neznámým jedincem. Tento jev zvýšení pravděpodobnosti se nazývá efekt vítěze a v případě člověka bychom ho mohli nazvat zvýšeným sebevědomím (Bergman a kol., 2003). Toto platí i obráceně pro poraženého, což má za následek vyšší pravděpodobnost prohry/ústupu při dalším střetnutí. Efekt vítěze a poraženého může změnit pravděpodobnost vítězství jedince v následujících soubojích i přes zjevný rozdíl ve velikosti soupeřů, který by jinak byl hlavním důvodem vítězství (Bergman a kol., 2003; Huber a Hock, 2009).

Agresivní chování a sním spojené souboje včetně efektu vítěze a poraženého zároveň pomáhají k vytvoření dlouhodobější sociální hierarchie (Breithaupt a Thiel, 2011). Sociální hierarchie je u raků založena na dominanci od nejsilnějšího po nejslabšího jedince v dané skupině jedinců (Kubec a kol., 2019a). Vyšší sociální status v rámci sociální hierarchie umožňuje lepší (přednostní) přístup k potravě, určuje velikost a kvalitu teritoria, úspěšné získání a udržení nejlepších úkrytů nebo vyšší kvalitu i kvantitu partnerů (Aquiloni a kol., 2008; Fero a Moore, 2014). Sociální hierarchie se začíná zakládat, jakmile jsou ráčata připravena k agonistickým interakcím, což je v podstatě hned po dosažení samostatnosti (Holdich, 2002).

Raci vykazují relativně dlouhou a komplexní rodičovskou péči o potomky v porovnání s většinou ostatních bezobratlých (Figler a kol., 2001). V období osamostatňování (např. u raka mramorovaného po dvou svlékáních, tj. ve třetím vývojovém stádiu) ráčata začínají přijímat potravu a občasně opouští bezpečí matky, aby prozkoumali okolí a samostatně vyhledávali potravu (Vogt a Tolley, 2004; Kozák a kol.,

2013). Pokud jsou vyrušeni nebo jim hrozí nebezpečí vrátí se pod abdomen matky nebo na jiné části jejího těla (Aquiloni a Gherardi, 2008b; Vogt a Tolley, 2004). Matka takto akceptuje ráčata ještě poměrně dlouhou dobu (Kubec a kol., 2019a). Toto chování zabezpečuje a umožňuje mateřský feromon, který je zřejmě druhově specifický (Little, 1976), ale pravděpodobně není specifický pro konkrétní matku (Vogt a Tolley, 2004). Samice, které mají vlastní mláďata nejenže nosí svá mláďata, ale mohou nosit i mláďata jiných samic (Vogt, 2013). Zdá se, že ráčata při návratu k matce reagují i na její aktuální stav a pokud volí mezi dominantní a podřízenou matkou, vždy volí dominantní matku, nehledě na to, jestli je to jejich vlastní (Buřič, osobní sdělení).

Chemická komunikace se výrazně uplatňuje i při rozmnožování např. Simon a Moore (2007) popisují, že při páření je moč vylučována jak samci, tak i samicemi. Studie také naznačuje to, že používání chemických signálů se mění v závislosti na reprodukčních podmínkách a že také pravděpodobně indikují připravenost obou pohlaví k páření. Dále pak studie Stebbing a kol. (2003) prokázala, že pohlavně dospělé samice raka signálního uvolňují feromon, který stimuluje páření samců. Rozhodně i v průběhu páření jsou raci schopni poznat dominantní silnější jedince, které preferují, přičemž platí pravidlo, že samice jsou vybíravější (Kubec a kol., 2019a,b).

Dosud není známo, zda korýši při chemické komunikaci používají chemikálie, které jsou specificky a cíleně modifikovány jako signály. Je mnoho případů a publikací mluvících o pachu vítěze, dominanci, mateřském feromonu, nebo o chemickém rozeznání zralosti, a kondice u raků (Bergman a kol., 2003; Breithaupt a Thiel, 2011; Kubec a kol., 2019a,b), konkrétní odpovědné sloučeniny ale stále nebyly identifikovány. Protože dosud není známa chemická podstata chemických signálů u raků, tak se tato bakalářská práce zabývá, kromě vypracování literární rešerše, i prvními pokusy pro vytvoření metodiky odběru moči u raků, která následně může posloužit pro další výzkum.

Vzorky moči už v minulosti odebíraly zejména týmy okolo prof. Breithaupt a prof. Moora z Velké Británie, respektive z USA, ale jednalo se o odběry od raků na odsávací zařízení, které je mohlo limitovat či stresovat, nebo o vizualizační studie, které pracovaly s objemem vypouštěné obarvené moči (shrnutí v Breithaupt a Thiel, 2011). Naším úkolem bylo vyzkoušet odběr moči rychlým uchopením raka a odsátím veškeré moči přes nefropory. Vzorky moči jsme odebírali ve dvou termínech. V tom prvním byl vyzkoušen odběr u dvou druhů raků (rak mramorovaný a rak signální) bez předchozích interakcí u

druhého termínu se odebíralo po interakci pouze u raka signálního. Jako první informaci jsme museli zjistit, jestli vůbec lze moč od raků tímto způsobem odebrat, což byla zároveň námi stanovená hypotéza. Tuto informaci jsme si ověřili obarvením hemolymfy raka, který by následně měl barvivo vylučovat z těla močí. Pokud tedy odebereme barevný vzorek, jedná se o moč, a ne například pouze o zbytkovou vodu z žaberní dutiny (pokud by nám netěsnil konec odběrné stříkačky na nefropory). Obarvení nám umožnila aplikace fyziologického roztoku spolu s modrým potravinářským barvivem do hemolymfy raka mramorovaného, od kterého se nám následně podařilo odebrat modře zbarvenou moč, a tím se nám potvrdila hypotéza, že jsme schopni moč takto odebrat. Tento pokus již demonstrovali studie od Berry a Breithaupt (2010) a Breithaupt a Egera (2002), ti ale namísto fyziologického roztoku spolu s modrým potravinářským barvivem použili pro vizualizaci moči roztok fluoresceinu sodného a neodebírali moč přímo z nefropor, ale pozorovali její uvolňování v průběhu interakcí.

Při porovnání množství odebraných vzorků jsme dbali na porovnání relativního množství moči (jako procento hmotnosti daného raka) abychom zohlednili různou velikost raků. Raci mramorovaní i raci signální vzhledem ke své velikosti uvolňovali podobné množství moči. Dále jsme z výše uvedených výsledků zjistili, že množství moči odebrané od raků, kteří nebyli vystaveni vzájemným interakcím je vyšší než množství odebrané moči od raků, kteří byli vystaveni vzájemným interakcím v arénách. Tito raci mezi sebou soupeřili v oválné nádobě s úkrytem v podobě půlky hliněného květináče a 10 litry vody. Raci byli umístěni v párech, kdy jeden z raků byl vždy menší a představoval submisivního jedince a druhý z raků byl větší a představoval dominantního jedince. Raci mezi sebou v průběhu interakce komunikují za pomoci moči a při agonistickém chování má rak co vylučuje více moči vyšší pravděpodobnost, že vyhraje (Breithaupt a Thiel, 2011). Proto jsme při následném odběru zaznamenali její menší množství než v případě odběru bez předchozích interakcí. Nic ale nenasvědčovalo tomu, že by někteří raci měli po interakcích významně méně moči (dominantní obvykle vylučují více, jak je uvedeno výše). Tyto výsledky jsou patrné na Grafu 1, a i když tento rozdíl není statisticky významný, ale má k tomu velmi blízko ($p = 0,055$) a při větším počtu vzorků by zřejmě významný byl. Zároveň se nám těmito výsledky potvrdila hypotéza č. 2, tj. že bude možné odebrat vzorek moči i po vzájemných interakcích mezi raky a hypotéza č.3, tj. že velikost vzorku bude ovlivněna předchozími interakcemi, kdy se od raků, kteří podstoupili vzájemné interakce odebralo viditelně menší množství vzorku než při odběru bez

interakcí. Z grafu 2 a 3 jsme zjistili, že naše hypotéza č. 4 tj., že velikost odebraného vzorku bude závislá na velikosti jedince může být při vyšším množství vzorků pravdivá v případě raků mramorovaných, u kterých se lineárně zvyšovalo množství odebraného vzorku moči se vzrůstající délkou hlavohrudi spolu se vzrůstající hmotností těla. Přestože se jednalo o odběr jen od několika jedinců tak výsledky vykazovaly poměrně jasný trend. Proto předpokládáme, že při použití vyššího počtu vzorků by výsledky u raka mramorovaného byly statisticky významné. Menší počet vzorků byl dán povahou testování. V rámci bakalářské práce šlo zejména o vytvoření rešerše a o zkoušku, zda vůbec takto vzorky můžeme odebírat. U raků signálních nám výsledky při odběrech bez předchozích interakcí žádný trend neukazují. Nicméně u vzorků, které byly odebrány od raků signálních po jejich vzájemných interakcích je vidět trend vzrůstající relativní velikosti vzorku s rostoucí velikostí i hmotností raka. Tyto výsledky jsou opět zapříčiněny malým množstvím testovaných jedinců a mohou být zapříčiněny i druhovou příslušností raků, jelikož rak mramorovaný vykazoval trend i u raků bez interakce.

Je třeba brát v potaz, že všechny tyto výsledky mohou být zároveň ovlivněny faktory jako jsou např. samovolné fyziologické vyloučení moči rakem ještě před navzorkováním nebo únik moči při manipulaci s raky. V tomto ohledu je přesnější druhý odběr vzhledem k předchozí zkušenosti a drobnými úpravami při vzorkování.

Při realizování odběrů jsme totiž zjistili, že pro odebírání moči z nefropor raků je lepší použít injekční stříkačku s pružnou koncovkou ze silikonové trubičky nežli koncovku tužší. Pružnější koncovka nám umožnila dosáhnout lepší přilnavosti k okrajům nefroporů a tím dosažení kýženého menšího podtlaku a jistého odběru moči. Oproti prvnímu termínu odlovu jsme zároveň zjistili, že pro nejpresnější odběr moči z obou nefroporů je vhodné a zároveň technicky možné jedním prstem blokovat druhý nefropor zatímco z prvního je odebírána moč. Takovým blokováním nefroporu zabráníme předčasnému úniku moči v průběhu odběru z prvního nefroporu.

Námi odebrané vzorky moči byly pečlivě zváženy a zmrazeny ($-80\text{ }^{\circ}\text{C}$) do doby jejich použití pro chemickou analýzu. Testované metody odběru moči se ukázaly jako vhodné, proto by v budoucnu mohly být použity k dalším odběrům, které by eventuálně mohly rozkrýt biochemickou strukturu vylučovaných látek a mohly pomoci ještě lépe porozumět chemické komunikaci u raků, popř. ji využít v boji s invazními druhy.

8 Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo zejména vypracovat ucelenou literární rešerši o známých aspektech chemické komunikace u raků. Literární rešerše byla doplněna o testování metody odběru moči u raků, zjištění její funkčnosti za pomoci aplikace barviva do krevního oběhu raka a jeho detekce ve vylučované moči a následné zaznamenávání množství odebrané moči bez i po vzájemných interakcích a sledování množství odebrané moči v závislosti na velikosti raků.

Chemická komunikace je pro raky velmi důležitá a provází je po celý jejich život. Jedná se o nejefektivnější způsob komunikace v prostředí, ve kterém raci žijí, jelikož často obývají např. proudné úseky toků a jsou aktivní zejména v noci, kdy jsou jiné formy komunikace nevhodné. Raci vysílají chemické signály spolu s močí. Tyto signály využívají např. při vzájemných setkáních, agresivním chování, sestavování sociální hierarchie, reprodukčním chování nebo při péči o potomky, která není u bezobratlých běžná.

Při testování odběru moči jsme zjišťovali, zdali naše metoda opravdu odebírá moč. Tuto informaci jsme zjistili pomocí aplikace modrého potravinářského barviva do hemolymfy raka mramorovaného. Následný odběr proběhl úspěšně a nám se podařilo odebrat modře zbarvenou moč. Poté jsme odebírali moč ve dvou situacích, a to od raků, kteří nepodstoupili vzájemné interakce a od raků, kteří vzájemné interakce podstoupili. Po uskutečnění odběrů jsme vyhodnotili, že u raka mramorovaného byl vidět trend zvyšujícího se množství odebraného vzorku moči s rostoucí hmotností a délkou hlavohrudi raka, zatímco u raka signálního nikoli. Zároveň se nám potvrdila i hypotéza, že bude možné odebrat moč i od raků, kteří podstoupili vzájemné interakce. Množství vzorku bylo v tomto případě nižší než v případě raků, kteří tyto interakce nepodstoupili.

Tato bakalářská práce tvoří podklad pro další studium chemické komunikace u raků. Metoda odběru může být použita pro další odběry a následné analýzy chemického složení moči raků.

9 Seznam použité literatury

Abrahamsson, A.A., 1971. Density, growth and reproduction in populations of *Astacus astacus* and *Pacifastacus Leniusculus* in an isolated pond. *Oikos* 22, 373–380.

Acquistapace, P., Calamai, L., Hazlett, B.A., Gherardi, F., 2005. Source of alarm substances in crayfish and their preliminary chemical characterization. *Canadian Journal of Zoology* 83, 1624–1630.

Alcock, J., 2001. *Animal behavior: an Evolutionary Approach*, seventh ed. Sinauer Publisher, Sunderland, Mass.

Aquiloni, L., Buřič, M., Gherardi, F., 2008. Crayfish females eavesdrop on fighting males before choosing the dominant mate. *Current Biology* 18, R462–R463.

Aquiloni, L., Gherardi, F., 2008a. Mutual mate choice in crayfish: large body size is selected by both sexes, virginity by males only. *Journal of Zoology* 274, 171–179.

Aquiloni, L., Gherardi, F., 2008b. Extended mother-offspring relationships in crayfish: The return behaviour of juvenile *Procambarus clarkii*. *Ethology* 114, 946–954.

Aquiloni, L., Gherardi, F., 2010. The use of sex pheromones for the control of invasive populations of the crayfish *Procambarus clarkii*: a field study. *Hydrobiologia* 649, 249–254.

Arenas, L.M., Troscianko, J., Stevens, M., 2014. Color contrast and stability as key elements for effective warning signals. *Frontiers in Ecology and Evolution* 2, 25.

Belanger, R.M., Moore, P.A., 2006. The use of the major chelae by reproductive male crayfish (*Orconectes rusticus*) for discrimination of female odours. *Behaviour* 143, 713–731.

Bergman, D.A., Kozłowski, C.P., McIntyre, J.C., Huber, R., Daws, A.G., Moore, P.A., 2003. Temporal dynamics and communication of winner-effects in the crayfish, *Orconectes rusticus*. *Behaviour* 140, 805–825.

Bergman, D.A., Redman, C.N., Fero, K.C., Simon, J.L., Moore, P.A., 2006. The impacts of flow on chemical communication strategies and fight dynamics of crayfish. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology* 39, 245–258.

Berry, F.C., Breithaupt, T., 2010. To signal or not to signal? Chemical communication by urine-borne signals mirrors sexual conflict in crayfish. *BMC Biology* 8, 25.

Breithaupt, T., 2001. Fan organs of crayfish enhance chemical information flow. *The Biological Bulletin* 200, 150–154.

- Breithaupt, T., Eger P., 2002. Urine makes the difference: chemical communication in fighting crayfish made visible. *Journal of Experimental Biology* 205, 1221–1231.
- Breithaupt, T., Tautz, J., 1990. The sensitivity of crayfish mechanoreceptors to hydrodynamic and acoustic stimuli. *Frontiers in Crustacean Neurobiology*, 114–120.
- Breithaupt, T., Thiel, M., 2011. Chemical communication in crustaceans. Springer, New York.
- Brönmark, C., Hansson, L.A., 2000. Chemical communication in aquatic systems: an introduction. *Oikos* 88, 103–109.
- Brumm, H., Slabbekoorn, H., 2005. Acoustic communication in noise. *Advances in the Study of Behavior*, 151–209.
- Bruski, C.A., Dunham, D.W., 1987. The importance of cision in agonistic communication of the crayfish *Orconectes Rusticus*. I: an Analysis of Bout Dynamics. *Behaviour* 103, 83–107.
- Bubb, D.H., Thom, T.J., Lucas, M.C., 2004. Movement and dispersal of the invasive signal crayfish *Pacifastacus leniusculus* in upland rivers. *Freshwater Biology* 49, 357–368.
- Bublitz, R., Sainte-Marie, B., Newcomb-Hodgetts, C., Fletcher, N., Smith, M., Hardege, J., 2008. Interspecific activity of the sex pheromone of the European shore crab (*Carcinus maenas*). *Behaviour* 145, 1465–1478.
- Budelmann, B.U., 1992. Hearing in crustacea. *The Evolutionary Biology of Hearing*, 131–139.
- Danchin, E.G., Giraldeau, L.A., Cézilly, F., 2008. *Behavioural ecology* 872, Oxford University Press.
- Dicke, M., Sabelis, M.W., 1988. Infochemical terminology: based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds?. *Functional Ecology* 2, 131–139.
- Dorn, N.J., Trexler, J.C., 2007. Crayfish assemblage shifts in a large drought-prone wetland: the roles of hydrology and competition. *Freshwater Biology* 52, 2399–2411.
- Fero, K., Moore, P., 2014. Shelter availability influences social behavior and habitat choice in crayfish, *Orconectes virilis*. *Behaviour* 151, 103–123.
- Figler, M.H., Blank, G.S., Peeke, H.V.S., 2001. Maternal territoriality as an offspring defense strategy in red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*, girard). *Aggressive Behavior* 27, 391–403.

Filipová, L., Petrusek, A., Kozák, P., Policar, T., 2006. *Pacifastacus leniusculus* (Dana, 1852) - rak signální. - In: J. Mlíkovský & P. Stýblo (eds.). Nepůvodní druhy fauny a flóry České republiky. ČSOP. 239-240. Praha.

Gelperin, A., 2008. Neural computations with mammalian infochemicals. *Journal of Chemical Ecology* 34, 928–942.

Gherardi, F., Aquiloni, L., Tricarico, E., 2012. Behavioral plasticity, behavioral syndromes and animal personality in crustacean decapods: An imperfect map is better than no map. *Current Zoology* 58, 567–579.

Goldman, C.R., 1973. Ecology and physiology of the California crayfish *Pacifastacus leniusculus* (Dana) in relation to its suitability for introduction into European waters. *Freshwater Crayfish* 1, 106–120.

Guo, W., Kubec, J., Veselý, L., Hossain, M.S., Buřič, M., McClain, R., Kouba, A., 2019. High air humidity is sufficient for successful egg incubation and early post-embryonic development in the marbled crayfish (*Procambarus virginalis*). *Freshwater Biology* 64, 1603–1612.

Hardege, J.D., Terschak, J.A., 2010. Identification of crustacean sex pheromones. In: Breithaupt, T., Thiel, M. (eds) *Chemical Communication in Crustaceans*. Springer, New York, NY.

Haubrock, P.J., Kubec, J., Veselý, L., Buřič, M., Tricarico, E., Kouba, A., 2019. Water temperature as a hindrance, but not limiting factor for the survival of warm water invasive crayfish introduced in cold periods. *Journal of Great Lakes Research* 45, 788–794.

Hauser, M.D., 1996. *The evolution of communication*. Cambridge.MIT press.

Hay, M.E., 2010. Crustaceans as powerful models in aquatic chemical ecology. In: Breithaupt, T., Thiel, M., (eds) *Chemical Communication in Crustaceans*. Springer, New York, NY.

Henttonen, P., Huner, J.V., 1999. The introduction of alien species of crayfish in Europe: A historical introduction. - In: F. Gherardi & D.M. Holdich (eds.). *Crayfish in Europe as alien species. How to make the best of a bad situation?* *Crustacean Issues* 11, 13–22. Rotterdam.

Hiller, I., 1983. Chemical communication. *Young Naturalist*. The Louise Lindsey Merrick Texas Environment Series 6, 55-58. Texas A&M University Press, College Station.

Holdich, D.M., 2002. *Biology of freshwater crayfish*. Oxford: Blackwell Science.

Hossain, M.S., Patoka, J., Kouba, A., Buřič, M., 2018. Clonal crayfish as biological model: a review on marbled crayfish. *Biologia* 73, 841–855.

Huber, R., Hock, K., 2006. Modeling the acquisition of social rank in crayfish: winner and loser effects and self-structuring properties. *Behaviour* 143, 325–346.

Huber, R., Hock, K., 2009. Models of winner and loser effects: a cost–benefit analysis. *Behaviour* 146, 69–87.

Chak, S.T., Rubenstein, D.R., Duffy, J.E., 2015. Social control of reproduction and breeding monopolization in the eusocial snapping shrimp *Synalpheus elizabethae*. *The American Naturalist* 186, 660–668.

Chang, E.S., 2010. The crustacean endocrine system and pleiotropic chemical messengers. In: Breithaupt, T., Thiel, M. (eds) *Chemical Communication in Crustaceans*. Springer, New York, NY.

Chucholl, C., Morawetz K., Groß H., 2012. The clones are coming—strong increase in Marmorkrebs [*Procambarus fallax* (Hagen, 1870) f. *virginialis*] records from Europe. *Aquatic Invasions* 7, 511–519.

Karlson, P., Lüscher, M., 1959. Pheromones: a new term for a class of biologically active substances. *Nature* 183, 55–56.

Kawai, T., Nakata, K., Hamano, T., 2002. Temporal changes of the density for two crayfish species, the native *Cambaroides japonicus* (De Haan) and the alien *Pacifastacus leniusculus* (Dana), in natural habitats of Hokkaido, Japan. *Freshwater Crayfish* 13, 198–206.

Klaschka, U., 2009. Chemical communication by infochemicals. *Environmental Science and Pollution Research* 16, 367–369.

Kozák, P., Ďuriš, Z., Petrusek, A., Buřič, M., Horká, I., Kouba, A., Kozubíková-Balcarová, A., Policar, T., 2013. *Biologie a chov raků*. Vodňany: Jihočeská univerzita, Fakulta rybářství a ochrany vod, ISBN 978-80—87437-42-1.

Kouba, A., Petrusek, A., Kozák, P., 2014. Continental-wide distribution of crayfish species in Europe: update and maps. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 413, 5.

Kouba, A., Tíkal, J., Císař, P., Veselý, L., Fořt, M., Příborský, J., Patoka, J., Buřič, M., 2016. The significance of droughts for hyporheic dwellers: evidence from freshwater crayfish. *Scientific Reports* 6, 265–269.

Kubec, J., Kouba, A., Buřič, M., 2019a. Communication, behavior and decision making in crayfish: A review. *Zoologischer Anzeiger* 278, 28–37.

Kubec, J., Kouba, A., Kozák, P., Buřič, M., 2019b. Females bet on the known: crayfish females recognize and prefer males from familiar population, males are not picky. *Hydrobiologia* 842, 31–38.

Liley, N.R., 1982. Chemical communication in fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 39, 22–35.

Little, E.E., 1976. Ontogeny of maternal behavior and brood pheromone in crayfish. *Journal of Comparative Physiology* 112, 133–142.

Martin, P., Thonagel, S., Scholtz, G., 2016. The parthenogenetic Marmorkrebs (*Malacostraca: Decapoda: Cambaridae*) is a triploid organism. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 54, 13–21.

Mellan, D., Warren, A., Buckholt, M.A., Mathews, L.M., 2014. Sexual history affects mating behavior and mate choice in the crayfish *Orconectes limosus*. *Ethology* 120, 681–692.

Moore, P.A., Bergman, D.A., 2005. The smell of success and failure: the role of intrinsic and extrinsic chemical signals on the social behavior of crayfish. *Integrative and Comparative Biology* 45, 650–657.

Müller, C., Caspers, B.A., Gadau, J., Kaiser, S., 2020. The power of infochemicals in mediating individualized niches. *Trends in Ecology & Evolution* 35, 981–989.

Naguib, M., 2006. Animal communication: overview. *Encyclopedia of Language & Linguistics*. 276–284.

Pârvulescu, L., Togor, A., Lele, S., Scheu, S.J., Șinca, D., Panteleit, J., 2017. First established population of marbled crayfish *Procambarus fallax* (Hagen, 1870) f. *virginalis* (Decapoda, Cambaridae) in Romania. *BioInvasions Records* 6, 357–362.

Patoka, J., Buřič, M., Kolář, V., Bláha, M., Petrtyl, M., Franta, P., Tropek, R., Kalous, L., Petrusek, A., Kouba, A., 2016. Predictions of marbled crayfish establishment in conurbations fulfilled: Evidences from the Czech Republic. *Biologia* 71, 1380–1385.

Pöckl, M., Holdich, D.M. Pennerstorfer, J., 2006. Identifying native and alien crayfish species in Europe. *European Project CRAYNET*, 47.

Sbarbati, A., Osculati, F., 2006. Allelochemical communication in vertebrates: kairomones, allomones and synomones. *Cells Tissues Organs* 183, 206–219.

Sebeok, T., 2001. *Nonverbal communication; The Routledge companion to semiotic and linguistics*.

Shackelford, T.K., Weekes-Shackelford, V.A., 2021. Encyclopedia of evolutionary psychological science. Cham: Springer International Publishing.

Simon, J.L. Moore, P.A., 2007. Male–female communication in the crayfish *Orconectes rusticus*: the use of urinary signals in reproductive and non-reproductive pairings. *Ethology* 113, 740–754.

Sorensen, P.W., 1992. Hormones, pheromones and chemoreception. In: Hara, T.J. (ed.), *Fish chemoreception*. Chapman and Hall, London, 199–228.

Souty-Grosset, C., Holdich, D.M., Noël, P.Y., Reynolds, J.D. Haffner, P., 2006. Atlas of crayfish in Europe. *Muséum National d'Histoire Naturelle, Patrimoines Naturels* 64, 187s. Paris.

Stebbing, P.D., Bentley, M.G., Watson, G.J., 2003. Mating behaviour and evidence for a female released courtship pheromone in the signal crayfish *Pacifastacus leniusculus*. *Journal of Chemical Ecology* 29, 465–475.

Štambergová, M., Svobodová, J., Kozubíková, E., 2009. Raci v České republice. Agentura ochrany přírody a krajiny ČR. Praha. 255 s.

Taga, M.E., Bassler, B.L., 2003. Chemical communication among bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100, 14549–14554.

Tautz, J., Sandeman, D.C., 1980. The detection of waterborne vibration by sensory hairs on the chelae of the crayfish. *The Journal of Experimental Biology* 88, 351–356.

Tirindelli, R., Dibattista, M., Pifferi, S., Menini, A., 2009. From pheromones to behavior. *Physiological Reviews* 89, 921–956.

Van der Velden, J., Zheng, Y., Patullo, B.W., Macmillan, D.L., 2008. Crayfish recognize the faces of fight opponents. *PLoS ONE* 3, 1695.

Veselovský, Z., 2005. *Etologie: Biologie chování zvířat*. Academia Praha. 408s.

Vogt, G., 2013. Abbreviation of larval development and extension of brood care as key features of the evolution of freshwater Decapoda. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society* 88, 81–116.

Vogt, G., Tolley, L., 2004. Brood care in freshwater crayfish and relationship with the offspring's sensory deficiencies. *Journal of Morphology* 262, 566–582.

Wiese, K., Gribakin, F.G., Popov, A.V., 1993. *Sensory systems of arthropods*. Birkhäuser Verlag, Basel. Boston.

Wiley, R.H., 2006. Signal detection and animal communication. *Advances in the Study of Behavior* 36, 217–247.

Wyatt, T., 2014. *Pheromones and animal behavior: Chemical signals and signatures*, second edition. Cambridge University Press. Cambridge. 405s.

Zeyl, J.N., den Ouden, O., Köppl, C., Assink, J., Christensen-Dalsgaard, J., Patrick, S.C., Clusella-Trullas, S., 2020. Infrasonic hearing in birds: a review of audiometry and hypothesized structure-function relationships. *Biological Reviews* 95, 1036–1054.

10 Abstrakt

Tajemství chemické komunikace u raků – přehledová studie a metodické cesty

Chemická komunikace je jedním z nejdůležitějších aspektů račího života. Díky ní mohou raci přenášet informace ve velmi složitém vodním prostředí. Jedná se o pro ně nejefektivnější způsob komunikace. Raci chemickou komunikaci používají při vzájemných setkáních, sestavování sociální hierarchie, agresivním chování nebo při péči o potomky.

Cílem této práce bylo vytvořit literární rešerši o známých aspektech chemické komunikace u raků spolu s otestováním odběrové metody moči a její funkčnosti. Použité metody se potvrdily jako funkční a použitelné pro další odběry s metodickými poznámkami a úpravami. Při dalších odběrech bylo patrné, že u raků po interakcích došlo ke snížení množství odebratelného vzorku moči. U raků mramorovaných byl viditelný trend zvyšujícího se množství odebraného vzorku moči s rostoucí hmotností a délkou hlavohrudi. U raků signálních nebyl tento trend patrný u raků bez interakce.

Tato bakalářská práce tvoří podklad pro další studium chemické komunikace u raků a zároveň nabízí funkční metodu odběru moči od raků pro její další chemické analýzy.

Klíčová slova: interakce, komunikace, odběr moči, rak, velikost

11 Abstract

The secrets of chemical communication in crayfish - a literature review and methodological pathways

Chemical communication is one of the most important aspects of crayfish life and this is the most effective way of communication for them. Thanks to it, crayfish can effectively transmit information in a complex aquatic environment. Crayfish use chemical communication when interact in the environment, during building a social hierarchy, aggressive behaviour or during maternal care.

The aim of this work was to create a concise literature review on known aspects of chemical communication in crayfish, together with testing urine sampling methods and their functionality. The methods used were confirmed to be functional and usable for further sampling with methodological notes and adjustments. In accordance with our results, it was evident that the amount of urine samples was lower when crayfish underwent previous interactions. For marbled crayfish, a positive linear trend of the samples size was visible with increasing weight and cephalothorax length of individuals. For signal crayfish, this trend was not evident for crayfish without previous interactions.

This bachelor thesis forms the basis for further study of chemical communication in crayfish and at the same time offers a first confirmation of a functional method of urine sampling from crayfish for its further chemical analyses.

Keywords: communication, crayfish, interaction, size, urine sampling