

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra zoologie a rybářství



**Růst a přežívání juvenilních jedinců perlorodky říční
v závislost na charakteru potravních zdrojů**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Jana Mastíková

Vedoucí práce: Ing. Karel Douda, Ph.D.

© 2016 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci „Růst a přežívání juvenilních jedinců perlorodky říční v závislost na charakteru potravních zdrojů“ jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu odborné literatury na konci této práce.

Datum: 8. 4. 2016

Podpis studenta:.....

Poděkování

Velmi ráda bych poděkovala svému vedoucímu diplomové práce Ing. Karlu Doudovi Ph.D. za cenné rady, odborné vedení, vstřícnost a poskytnutí dat k mému tématu.

Souhrn

Přežití perlorodky říční (*Margaritifera margaritifera*) je závislé na ochraně a zachování vhodných biotopů, proto je nezbytné znát její nároky na životní podmínky. Tento druh svými specifickými nároky na potravu a prostředí, indikuje kvalitu vhodných biotopů. Perlorodka říční během svého života prochází složitým vývojovým cyklem a v každé fázi má odlišné nároky na potravu. V juvenilní fázi vývoje, je velmi citlivá nejen na kvalitu prostředí, ale i na kvalitu a složení potravy. Její potravu tvoří organogenní detrit, což je převážně rozložená hmota rostlinných a živočišných složek spolu s bakteriemi. Potrava vzniká na ploše povodí, ale i v pramenných oblastech toku – prameništích, odkud je proudem unášen do nižších částí toku a perlorodky ji mohou filtrováním z vody přijímat.

Tento úzce specializovaný druh, citlivě reagující na změny prostředí zejména v juvenilní fázi života má proto velký bioindikační význam. Experimentální část této práce byla zaměřena na hodnocení úživnosti detritu, prováděnou bioindikační metodou ex-situ v laboratoři mimo přirozené prostředí. Pro hodnocení úživnosti a kvality testovaného detritu za optimálních teplotních podmínek ex-situ po dobu 10 dnů, byly použity juvenilní perlorodky z polopřirozeného odchovu. Testované vzorky detritu byly odebrány dle standardní metodiky v letních měsících v roce 2015 z lokality pramenišť řeky Blanice. Celkem bylo hodnoceno 100 vzorků detritu ze 100 pramenišť. Cílem bylo vyhodnotit velikost přírůstku schránek juvenilních jedinců v závislosti na fyzikálně-chemických vlastnostech vzorku. Hlavními analyzovanými daty byly velikosti přírůstku perlorodka parametry detritu - pH, konduktivita a nadmořská výška pramenišť.

Klíčová slova: perlorodka říční, ekologie, bioindikace, potravu, přírůstek

Summary

The survival of the freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*) depends on the protection and preservation of the suitable biotypes that is why it is necessary to know its requirements for environmental conditions. This species indicates the quality of suitable biotypes with its specific requirements for food and environment. During its life, the freshwater pearl mussel is undergoing complicated development cycle and in each phase it has different requirements for food. In the juvenile phase, it is very sensitive to quality of environment as well as quality and composition of its food, which consists of organogenic detritus, which is mainly decomposed mass of vegetable and animal origin together with bacteria. Its food arises in river basin areas as well as in river spring areas – from where it is carried downstream by a river and so pearl mussels may ingest it filtering the water.

This highly specialized species that is sensitive to environmental changes, especially within its juvenile life phase, is very important as to its bio-indicating ability. The experimental part of this work was focused on the evaluation of the detritus carrying-capacity performed by the bio-indication method ex-situ in a laboratory out of its natural environment. For evaluating the carrying-capacity and quality of the tested detritus under optimal temperature conditions ex-situ for 10 days, there were used juvenile pearl mussels from a semi-natural breeding. The tested samples of detritus were collected according to the standard procedures in the summer 2015 from the locality of Blanice river spring area. There were collected totally 100 samples of detritus from 100 spring areas. The goal was to evaluate the growth of shells of juveniles depending on physico-chemical properties of the sample. The main analyzed data were the value of the pearl mussel growth and detritus parameters - pH, conductivity and altitude of the springs.

Key words: freshwater pearl mussel, ecology, bioindication, food, growth

Obsah

1	Úvod.....	8
2	Vědecká hypotéze a cíle práce.....	9
3	Přehled literatury.....	10
	3.1. Popis druhu a systematické dělení.....	10
	3.2. Rozšíření druhu.....	11
	3.2.1. Celkové rozšíření.....	11
	3.2.2. Rozšíření v České republice.....	11
	3.3. Přehled biologie z hlediska příjmu a využití potravy.....	14
	3.4. Rozmnožování a vývojový cyklus.....	15
	3.5. Výživa a potravní strategie.....	17
	3.5.1. Hlavní složky potravy.....	17
	3.5.2. Faktory ovlivňující složení a dostupnost potravy.....	18
	3.6. Bioindikační studie.....	20
	3.6.1. Metodika bioindikací.....	20
	3.6.2. Dělení bioindikačních metod.....	21
	3.6.3. Bioindiacie In-situ.....	22
	3.6.4. Bioindiacie Ex-situ.....	25
	3.6.5. Bioindikační studie v České republice.....	26
	3.7. Monitoring pramenišť a pramenných stružek.....	28
	3.7.1. Chemická analýza detritu z prameniště.....	29
	3.7.1.1. Celkový obsah vápníku v detritu.....	30
	3.7.1.2. Biologický přírůstek konduktivity v detritu.....	30
	3.7.1.3. Stanovení poměru organického uhlíku a dusíku C/N.....	31
	3.7.2. Kategorie úživnosti detritu.....	31
	3.8. Stanovení optimálního složení a úživnosti potravy v umělém odchovu.....	31
4	Materiál a metody.....	41
	4.1. Zaměření vědeckého experimentu.....	41
	4.2. Popis stanoviště pramenišť.....	41
	4.3. Metodika odběru vzorků.....	42
	4.4. Laboratorní postup.....	42
	4.5. Metodika zpracování dat.....	43
	4.5.1. Statistický analýza dat.....	45

5	Výsledky	47
	5.1. Výsledky modelu A a B.....	47
	5.1.1. Model A.....	47
	5.1.2. Model B.....	50
6	Diskuze	54
7	Závěr	58
8	Seznam literatury	60

1 Úvod

Perlorodka říční (*Margaritifera margaritifera*) je náš původní druh mlže, který byl dříve hojně rozšířen, ale v současnosti je jedním z nejvíce ohrožených živočišných sladkovodních druhů Evropy. Úbytek tohoto druh je způsoben negativní lidskou činností, zejména znečišťováním a degradací biotopů, eutrofizací vod, ztrátou vhodného organického materiálu, který slouží perlorodkám jako potrava a také úbytek hostitelských ryb (Absolon et Hruška, 1999).

Početnost perlorodky říční se stále snižuje a stala se proto předmětem ochrany národních, evropských i mezinárodních organizací. V České republice je tento druh zapsán v Červeném seznamu bezobratlých, jako kriticky ohrožený. Perlorodka říční je chráněna zákonem a je pro ni vytvořen záchranný program a také jsou zakládány aktivní odchovy na podporu zvýšení početnosti populací. Aby byly tyto záchranné činnosti účinné, je třeba znát specifické životní potřeby tohoto druhu. Biotopem perlorodky říční jsou oligotrofní – na živiny chudé toky, které pramení na geologických podložích s nízkým obsahem vápníku. Vědecké činnosti, zaměřující se na biomonitoring a biodiagnostické testy, které hodnotí kvalitu stanovišť, úživnost organické potravy, využívají právě tento druh. Perlorodka říční je zejména v juvenilní fázi vývoje velmi citlivá na znečištění prostředí a proto je vhodným bioindikátorem kvality vod, úživnosti detritu, ale také k hodnocení vlivu managementu v krajině (Hruška, 1993).

Hodnocení úživnosti detritu a vlivu jeho fyzikálně-chemických vlastností na přírůstky juvenilních perlorodek bioindikační metodou *ex-situ*, byly předmětem této práce.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Hlavními cíli bylo vyhodnotit závislost přírůstků juvenilních jedinců perlorodky říční na charakteru potravy. Hodnotila se úživnost testovaných vzorků detritu na základě změřených přírůstků schránek perlorodek po dobu 10 dnů. Dále se analyzovaly fyzikálně-chemické vlastnosti vzorků, zejména konduktivita, pH a nadmořská výška prameniště a vyhodnotil se vliv těchto parametrů na růst perlorodek.

Vědecká hypotéza: Charakter růstu a přežívání juvenilních jedinců perlorodky říční závisí na potravních zdrojích a je možné jej identifikovat pomocí bioindikačních experimentů.

3 Přehled literatury

3.1. Popis druhu a systematické dělení

Perlorodka říční (*Margaritifera margaritifera*) je velký sladkovodní mlž, který je v současné době kriticky ohroženým druhem v celém areálu svého výskytu. V uplynulém století se snížily počty lokalit, které tento druh obývá, ale i velikosti populací. Perlorodka říční má složitý životní cyklus a je velice náročná na čistotu vody, lze ji tedy označit, jako indikátor oligotrofních toků (Beran, 2002; Simon, 2010).

Lima et al. (2016) uvádí, že jsou perlorodky důležitým komponentem vodních ekosystémů, filtrují částice z vodního sloupce, které přenášejí do bentosu, tím ovlivňují primární a sekundární produkci, biochemické cykly, sedimentaci a jasnost vody. Navíc, jsou jejich schránky důležitým substrátem pro mnoho dalších organismů (Lima et al., 2016). V České republice je perlorodka říční chráněna zákonem č. 114/1992 Sb. o ochraně přírody a krajiny a evropskou směrnicí o stanovištích – 92/43/EEC v rámci NATURA 2000 (Farkač et al., 2005).

Perlorodku říční pojmenoval v roce 1758 Carl Linné. AOPK (2013) uvádí systematické zařazení tohoto druhu:

kmen: Měkkýši (*Mollusca*)

třída: Mlži (*Bivalvia*)

podtřída: Listožábří (*Eulamelibranchiata*)

řád: (*Unionoidea*)

čeleď: Perlorodkovití (*Margaritiferidae*)

rod: Perlorodka (*Margaritifera*)

druh: Perlorodka říční (*Margaritifera margaritifera*)

3.2. Rozšíření druhu

3.2.1. Celkové rozšíření

Tento druh je s holoarktickým rozšířením (Geist, 2010). V Evropě se vyskytuje od severního Portugalska a západního Španělska, přes západní Pyreneje, Bretaň, Normandii, Ardeny, Britské ostrovy, střední Evropu až po severní Evropu. Výskyt perlorodky je také limitován nadmořskou výškou a geografickou polohou (Švanyga et al., 2013).

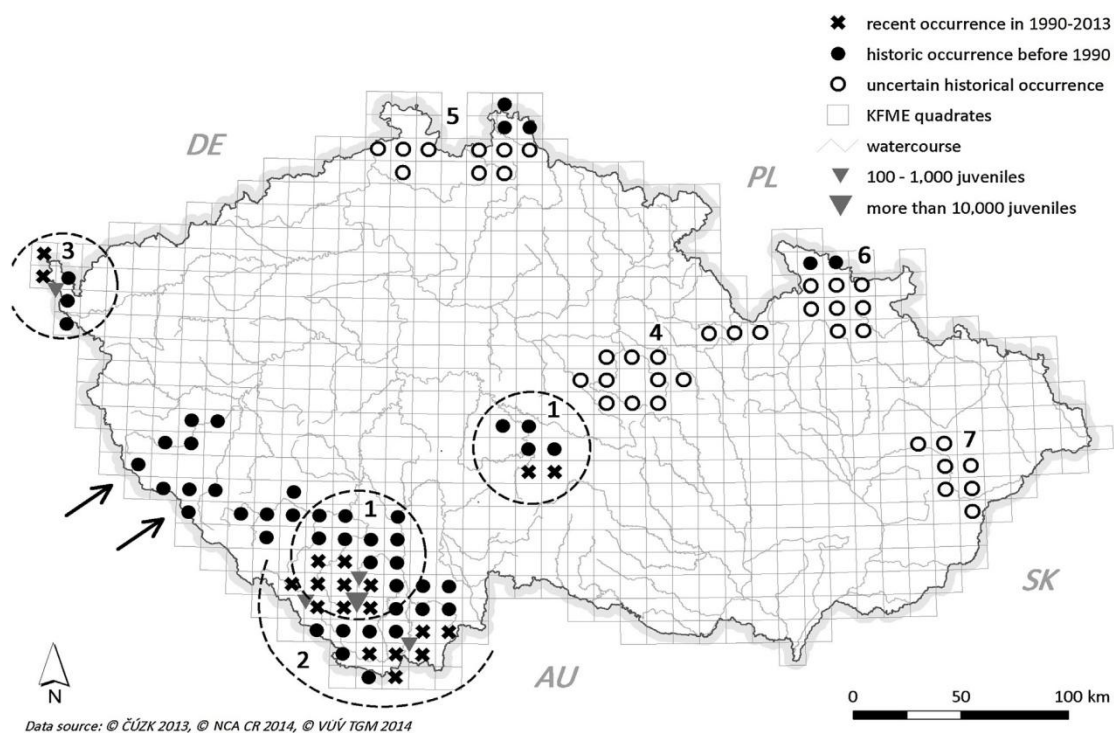
Geist (2010) uvádí, že těžištěm současného výskytu tohoto druhu je Rusko, Velké Británii, Švédsku a Irsko. Další výskyt početné populace perlorodky je v Norsku a Finsku, dále pak v Belgii, Dánsku, Německu, Estonsku a České republice. V severní Americe se je výskyt omezen na sladké vody od Newfoundlandu přes Kanadu a USA až k Apalačskému pohoří, ovšem současný počet perlorodek zde není znám (Geist, 2010).

3.2.2. Rozšíření v České republice

Dříve se perlorodka říční vyskytovala v České republice na mnoha místech. Obývala hlavně řeky v jižních Čechách, ale též toky v západním a severním pohraničí i na severních svazích Rychlebských hor - severní Morava. Její výskyt byl zaznamenán také na Vysočině. Z historických pramenů byl nejvýznamnější výskyt tohoto druhu v řece Otavě a v mnoha přítocích Vltavy i ve Vltavě samotné (Simon et al., 2010).

Současný výskyt perlorodky je vázán na západní a jižní Čechy a mimo jiné, je také limitován nadmořskou výškou a geografickou polohou (Švanyga et al., 2013).

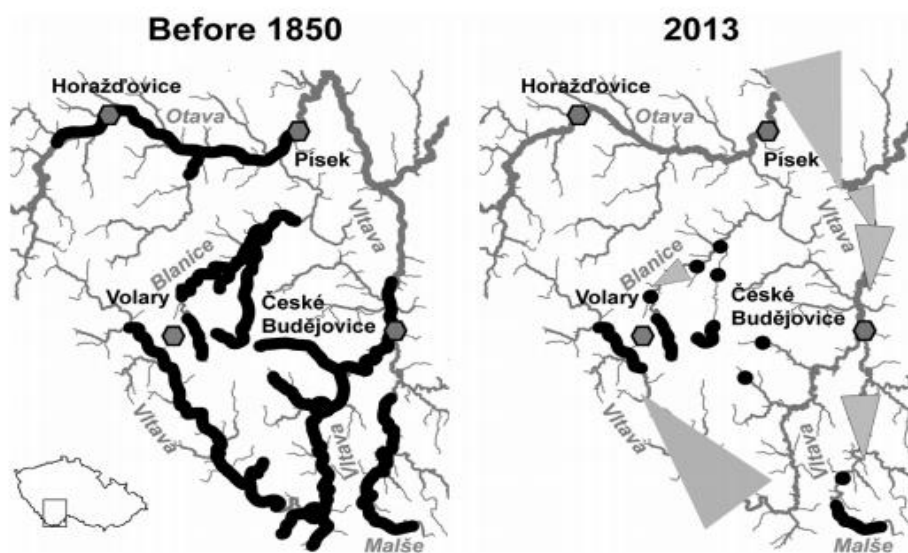
Simon et al. (2015) uvádí, že populace perlorodky vymizely v nižších a středních polohách a v současné době se vyskytují pouze v blízkosti horní hranice svého přirozeného vývoje (obr. 1.). Současná populace tohoto mlže se odhaduje na pouhé 1 % z původní početnosti. Celková početnost perlorodky říční v ČR se odhaduje na 16 000 jedinců (tab. 1.). Výskyt je vázán na toky Blanice, Zlatého potoka, Teplé Vltavy, Maše v jižních Čechách (obr. 2.) (Simon et al., 2015). V Blanici se doposud zachovala nejpočetnější stredoevropská populace tohoto mlže s početností větší než 10 000 jedinců. V Ašském výběžku - Lužní potok, řeka Rokytnice, Bystřina. Na Vysočině v Jankovském a Kladinském potoce se nachází zbytková populace perlorodky (Švanyga et al., 2013).



Obr. 1. Výskyt perlorodky v České republice. Č. 1. znázorňuje výskyt perlorodky v řece Blanici a Zlatého potoka, který jsou součástí Teplé Vltavy (jihozápadní Čechy) a Jankovský potok (střední Čechy), č. 2. výskyt v řece Malši a v části Teplé Vltavy, č. 3. populace v Lužním potoce a Bystřině. (Zbytek tvoří lokality, kde populace perlorodky již vymizely, č. 4. řeka Orlice, Doubrava, Chrudimka, č. 5. Lužická Nisa, Ploučnice, č. 6. Kladská Nisa a č. 7. Bečva (Simon et al., 2015).

Basin	Localbasin	River	Locality	Country	Legal protection		Population reinforcement	Population screening	Population size(N _{ind})	Subadults
							(N _{ind} ,Year)	(year)		
Elbe(CZ/DE)	Vltava(CZ)	Blanice	Blaniceupper	CZ	EVL,	IV,BG	F(1984-1995);49,468 (1995-2005)	2010	10120	>1% locally >10%
			Blanicelower andZlatý potok lower	CZ	EVL,	IV	0	2011	358	>1%
			Zlatý potok upper	CZ	EVL		887(2002-2003)	2005	1720	>10%184ind.
		Vltava	Dluhošský potok	CZ	IV		0	2011	0	0
			Chvalšinský potok	CZ	IV		0	2006	6	n.a.
			Kremský potok	CZ	IV		0	2005	50	n.a.
			Maške upper	CZ/AU	EVL,	IV	438(2005)	2012	>440	>10%49ind.
			Maškelower	CZ	EVL		0	1996	202	n.a.
			Teplá Vltava	CZ	EVL,II		F(1999-2003);1180 -1998	2013	>331	>1%18ind.
		Sázava	Jankovský potok andKladinský potok	CZ	EVL,	IV	42(2005)	2012	2	2ind.
	Saale(DE)	Regnitz (DE)	Bystrina	CZ/DE	EVL,	III	34(2003)	2009	594	n.a.
			Rokytniceupper	CZ/DE	EVL,	IV	0	2013	1	1ind.
			Lužnípotok	CZ/DE	EVL,	IV	1,329(1995-2001)	2013	2034	1%19ind.
		Schwenitz(DE)	Újezdský potok	CZ/DE	-		0	2012	12	0
			Pekelský potok	CZ/DE	-		0	2012	0	0
Order(CZ/PL)	Odra(PL)	NysaKłodzka(PL)	Černý potok	CZ	-		0	1992	0	0
	LausitzerNeisse (CZ/PL/DE)	Smedá	Koččící potok	CZ/PL	-		0	1977	0	0
			Smědá	CZ	-		0	1977	0	0

Tab. 1. Početnost perlorodky říční v různých lokalitách ČR (Simon et al., 2015).



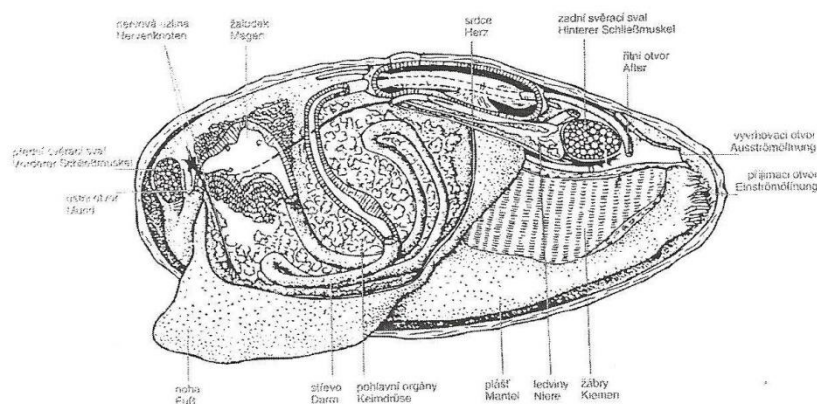
Obr. 2. Podrobný přehled o snížení výskytu perlorodky říční v jihozápadní části povodí Vltavy mezi rokem 1850 a 2013. Přítomnost perlorodek je vyznačen černou čarou. Trojúhelníky vyznačují vystavěné přehrad (Simon et al., 2015).

3.3. Přehled biologie z hlediska příjmu a využití potravy

Dospělá perlorodka říční má schránku protáhlého ledvinovitého tvaru, spojenou elastickým zámekem (Ašmera, 1993). Zámek je tvořen systémem do sebe zapadajících silných zubů. Vnější vrstva lastury je tvořena konchiolinem, pod ní je vrstva, tvořena krystaly uhličitanu vápenatého a vnitřní část tvoří perleťová vrstva, která je složena z aragonitu a z konchiolinu. Délka lastur dospělého jedince je 95 až 140 mm, výška 50 až 60 mm a 30 až 40 mm silné. Barva schránek mladých jedinců je tmavě hnědá, ve stáří až černá. Povrch je zpravidla dosti hrubý s hustými nepravidelnými přírůstkovými liniemi, které lze přirovnat k letokruhům, podle nichž se dá určit věk perlorodky (Beran, 1998). Pfleger (1998) uvádí, že přírůstkové linie nejsou spolehlivým znakem, neboť při delším přerušení příjmu potravy se mohou vytvořit druhotné linie i během období kdy perlorodka roste. Proto je spolehlivějším ukazatelem pro určení stáří, počet pruhů na tzv. ligamentu (Pfleger, 1998).

Tělo perlorodky je tvořeno svalnatou nohou a vnitřními orgány (obr. 3.). Hlava je redukována, čelisti chybějí. Nervový systém se skládá ze tří párů ganglií a jejich spojení. Párové žábry jsou umístěny pod pláštěm. Lupeny pláště k sobě přiléhají a vytvářejí tři otvory. Vpředu pro nohu, vzadu pro přívod a odvod vody. Pohybem žaberních řas, nebo epitelem je voda přiváděna do pláštěvé dutiny. Z proudu vody, procházejícími žábry jsou filtrovány částice potravy. Perlorodka má velice jemně třásnitý okraj přijímacího aparátu (obr. 4.) a pomocí složitého mechanismu je schopna zachytit velmi drobné částičky až do velikosti tisícin milimetru. Z těchto částiček vytvoří balíček, který posune k ústnímu otvoru, uvnitř schránky. Nepoživatelné částice, jako je jííl nebo sražené železo dokáže oddělit od zbytku potravy a vyvrhne je v jiném typu baličku. Jedna perlorodka dokáže přefiltrovat až 50 l vody denně a pokud jsou v řece ve velkých počtech, jsou schopny kvalitně odfiltrovat vznášející se částice a tím vyčistit velké množství vody. Takto mohou i na desítek let akumulovat ve svých tělech velkou část přijatého materiálu nebo jo vyvrhovat pod sebe do substrátu ve dně v podobě fekálních pelet i pseudopelet (Beran, 1998).

anatomie perlorodky říční



Obr. 3. Anatomie perlorodky říční.

<http://absolventi.gymcheb.cz/2009/marie/ge/zakludaje2.html>



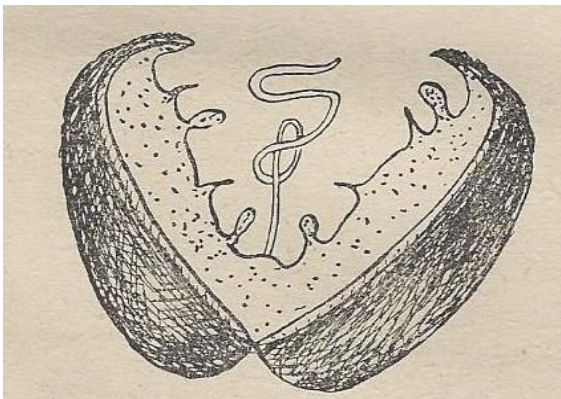
Obr. 4. Trásnitý přijímací aparát perlorodky říční.

<http://cs.wikipedia.org/wiki/Perlorodka>

3.4. Rozmnožování a vývojový cyklus

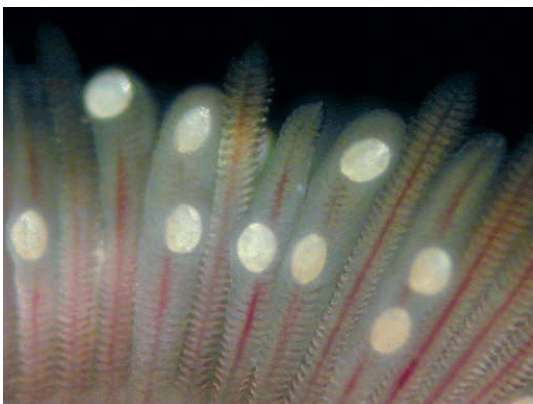
Thomas et al. (2010) uvádí, že perlorodka dosahuje pohlavní dospělosti ve věku od 10 do 20 let. Podle Absolon et Hruška (1999) je doba pohlavního dospívání, ovlivněna typem biotopu, v mezotrofním prostředí nastává dříve než v prostředí oligotrofním. Spermie vypuštěné do vody nasává samička do svého těla a zde probíhá oplodnění vajíček. Z oplodněných vajíček se během 4 – 6 týdnů v mezižebních prostorách (váčky marsupia) vyvinou invazivní larvy – glochidia, které jsou vyvrhovány

do volné vody (Absolon et Hruška, 1999) (obr. 5.). Ze všech druhů mlžů, má perlododka říční nejjednodušší a nejmenší glochidia (60 - 80 μm) (Hruška, 1999).



Obr. 5. Glochidium s hákovitě zakončenými lasturami a lepkavým vláknem (Dyk, 1947).

Larvy pro svůj další vývoj vyžadují hostitelské ryby -pstruh obecný (*Salmo trutta*) a losos obecný (*Salmo salar*), na nichž se uchycují pouze na žaberním aparátu (žaberní lupeny, tyčinky, výjimečně žaberní oblouky) (obr. 6.), kde vytvoří cystu a zde započnou metamorfózu (3 – 13 měsíců) do stadia juvenilních perlorodek (Dyk, 1947). Po dokončení metamorfózy je velikost juvenilních perlorodek od 0,3 do 0,5 mm, začínají opouštět hostitelskou rybu a žijí skrytě 5 – 10 let v intersticiálním prostředí dna toku, avšak pokud nedopadnou na vhodný substrát, kde by mohly skrytě žít, hynou. Až ve vyšším věku zaujímají stabilní pozici na povrchu dna (Hruška, 1999). Jednotlivá vývojová stadia a přibližné velikosti perlorodky říční jsou uvedeny v (tab. 2.) (Hastie et Young, 2003).



Obr. 6. Larvy přichycené na žaberním aparátu hostitelské ryby.

<http://www.emporia.edu/ksn/v53n2-december2006/>

Stádium	Velikost (mm)
Neuchycené glochidium	0,06 – 0,08
Uchycené glochidium	0,1 – 0,4
Nově zahrabaný jedinec	0,4
1 rok po zahrabání	Více než 0,4
3letá perlorodka	12
4 – 5letá perlorodka	20
Dospělý jedinec (nad 12 let)	Nad 65

Tab. 2. Velikosti perlorodky říční v jednotlivých vývojových stádiích (Hastie et Young, 2003).

3.5. Výživa a potravní strategie

3.5.1. Hlavní složky potravy

Perlorodka říční je filtrátorem mikroskopických částic z proudící vody (Hruška, 1999). Potravu tvoří organogenní detrit, který vzniká na ploše povodí, jako částečně rozložená hmota biologických složek ekosystému - živočišných složek, odumřelých částí rostlin nadzemních i podzemních, baterií a minerální složky. Složení a kvalitu organického detritu ovlivňuje typ ekosystému. Z vodního toku perlorodka také filtruje jednobuněčné řasy a další patamopankoton, ten ale z větší části nebývá v trávicím traktu využit. Je také schopna využívat detrit z makrofytní vegetace v toku. Ve specifických podmínkách mohou bohaté porosty vodních makrofyt stačit k dostatečnému potravnímu zásobení perlorodky a nemusí být přímo závislé na stavu celého povodí. V prameništích a vodních stružkách je opad rostlinných částí podroben důležitým rozkladným procesům, které zajišťují různí vodní bezobratlí živočichové, např. blešivec potoční (*Gammarus gamarus*), larvy vodního hmyzu (*Trichoptera*, *Ephemeroptera*) a mikroorganismy, kteří dokončují dekompozici (Absolon et Hruška, 1999). Takto zpracovaný organický materiál může být snadněji unášen proudem v dnové vrstvě, kde je filtrován a přijímán perlorodkou (Švanyga et al., 2013).

Detrit má podstatný vliv na utváření různých forem perlorodek, které se liší dobou dožívání a velikostí. Další důležitou složkou potravy je organický vápník, který

získávají také z detritu a slouží ke stavbě schránky. Platí závislost, že detrit dostatečně zásobený vápníkem, ale málo úživný, podmiňuje existenci perlorodek s velkými tělesnými rozměry a dlouhověkou populací. Kdežto, anorganický vápník působí na perlorodku nepříznivě. Zvyšuje konduktivitu vodního prostředí, což může vést ke koagulaci organického detritu a tím snížit dostupnost organického detritu. Anorganický vápník se dostává do vodních toků prostřednictvím výluhu z půd (Spisar, 2013).

3.5.2. Faktory ovlivňující složení a dostupnost potravy

Dalšími faktory, ovlivňující kvalitu detritu, ale i jeho dostupnost jsou antropogenní činitelé, zejména intenzita zemědělské výroby, používání hnojiv a biocidů, typ managementu, nebo i soli ze zimního ošetření atd. (Švanyga et al. 2013).

Důsledkem nešetrného zemědělského hospodaření může docházet k postupnému přerušování jemné vodní sítě od pramenišť do hlavního toku. Na nevyužívaných pozemcích pak převládají sukcesní dřeviny, které svým zastíněním zabraňují, aby pobřežní pozemky byly dostatečně prohřívány slunečním svitem. Nedostatečně prohřátá voda má za následek nižší rozklad organické hmoty a tím i snížení mikrobiálního oživení detritu. Dalším nepříznivým dopadem nevhodného managementu na kvalitu vody i charakter detritu jsou vznikající luční lody a tím spojená snižující se druhová pestrost nivního rostlinného společenstva lipnice obecné (*Poa trivialis*) a psárky luční (*Alopecurus pratensis*). Dominantním druhem, nahrazující původní rostlinné společenstvo, se pak většinou stává ostřice obecná (*Carex brizoides*). Jednotlivá rostlinná společenstva výrazně ovlivňují obsah bazických živin v půdě, což se následně projeví i výslednou hodnotou chemických parametrů půdy i vodního prostředí (Chytrý et al., 2001).

Chytrý et al. (2001) popisují výrazné rozdíly obsahu živin v půdě pod porostem a v podzemní biomase mezi psárkou luční (*Alopecurus pratensis*) a ostřicí třeslicovitou (*Carex brizoides*). V půdě o hloubce 0 – 6 cm pod porostem psárky luční je obsah vápníku 8396 mg/kg a hořčíku 848 mg/kg. V biomase kořenů psárky je obsah vápníku 1920 mg/kg, hořčíku 1030 mg/kg. Kdežto v půdě s porosty ostřice je obsah vápníku 1823 mg/kg, hořčíku 369 mg/kg a v podzemní biomase tvoří obsah vápníku 260 mg/kg, hořčíku 1110 mg/kg (Chytrý et al., 2001).

Nejen kvalita detritu, ale i jeho dostupnost v průběhu roku je velmi důležitá.

Celoroční požadavky perlorodek na dostatečně kvalitní potravu nemohou být zcela pokryty jen z produkce nadzemních částí rostlin, důležitá je i produkce z podzemní kořenové biomasy rostlin. Prostřednictvím koloběhu vody se opady kořenové biomasy dostávají do vodního toku. Přirozené meandrování koryta napomáhá tomu, aby se části podzemní biomasy dostaly do toku prostřednictvím převislých břehů, v nichž dochází k přímému kontaktu kořenů rostlin s proudem vody. Velkou úlohu v potravní síti perlorodky také sehrává půdní fauna, která významně ovlivňuje množství potravy a úroveň dekompozičních procesů rostlinného opadu, která svou bioturbační aktivitou - rozrušováním půdy a kořenových systémů chodbičkami, umožňuje distribuci vzniklého detritu intersticiální prostory. Zaplavením těchto půdních prostor se připravený organický materiál dostává do toků k perlorodkám. Významnou činnost tedy vykonávají zejména druhy půdních kroužkovic (*Lumbricidae*), krtek obecný (*Talpa europea*), nebo hryzec vodní (*Arvicola terrestris*) (Absolon et Hruška, 1999).

Příjem potravy perlorodek je ovlivněn i charakterem dna toku, zejména velikost frakce a kvalita substrátu. Pro juvenilní jedince je nejdůležitější povrchová dnová vrstva do hloubky 10 cm a vysoký počet drobných prostor v intersticiálu dna, kterými k nim může voda volně proudit. To umožňuje dostatečné zásobení jedinců detritem i kyslíkem. Při vyšším poměru jemnozrných částic v intersticiálu se s klesající hloubkou výrazně snižuje obsah rozpuštěného kyslíku ve zvodnělé části a zároveň stoupá konduktivita. Fungování celého ekosystému je silně ovlivněno změnami proudění vody, které ovlivňuje usazování jemnozrných splavenin, které pak mohou mít negativní vliv na procesy v intersticiálu (Geist et Auerswald, 2007).

Dostatečné zásobení kvalitním detritem s přiměřeným obsahem vápníku umožňuje intenzivní růst schránek perlorodek. Juvenilní jedinci, kteří dosáhli velikosti 2 mm, již mají vytvořen filtrační aparát přijímacího otvoru. U menších jedinců, tento aparát není vyvinut, proto získávají potravu jiným způsobem. První způsob příjmu potravy, je nasávání rozptýlené jemné organominerální suspenze, podmínkou je dostatečné množství této suspenze ve vodě. Potravu nasávají pootevřenou schránkou k ústnímu otvoru pomocí vířivých brv, které jsou na povrchu pláště, žáber a nohy. Nasátou potravu v plášťovém prostoru třídí pomocí brv. Nežádoucí částičky i hned vyvrhují ven jako pseudokomponenty. Pokud je ve vodě nedostatečný obsah rozptýlené suspenze, přijímají juvenilové potravu druhým způsobem. Vyhledávají ji ve svém okolním prostoru pomocí nohy, kterou se pohybují po povrchu kamenů a písku.

Pohybem brv na noze zvíří potravu a tu si pak nahání do prostoru mezi schránky (Hruška, 1999).

3.6. Bioindikační studie

Perlorodka říční je výrazně specializovaný druh, citlivě reagující na změny prostředí zejména v juvenilní fázi života. Z tohoto důvodu má velký bioindikační význam, indikuje kvalitu prostředí velmi přísným měřítkem. Perlorodka představuje deštníkový druh (Umbrella species) pro ochranu ekosystémů oligotrofních toků. Je velmi citlivá na narušení přírodních procesů v celém povodí, což konkrétně znamená, že pokud budeme chránit perlorodku, budeme chránit i celé pestré společenstvo např. vážek, mihulí, raků, vranek, pstruhů, ledňáčků nebo vydrou a také navazující biotopy luk, mokřadů, olšových luhů nebo smíšených či listnatých lesů (Beran, 2002).

Perlorodka říční, tedy splňuje definici indikátorového druhu – svojí přítomností spolehlivě indikuje nenarušené oligotrofní toky. Z tohoto důvodu se využívá k bioindikačním testům, které slouží k hodnocení různých typů vodních prostředí (Geist, 2010).

3.6.1. Metodika bioindikací

Bioindikace jsou experimentální metody, které na základě nároků druhů a přímé odezvy organismů (růst, mortalita) umožňují hodnotit podmínky prostředí. V rámci záchranného programu perlorodky, jsou bioindikační testy primárně využívány k zjištění vlivu abiotických faktorů na životní cyklus perlorodky. Pro účel a hodnocení těchto testů se používají jedinci získaní z polopřirozených odchovů, kteří jsou vitální, bez viditelných deformací a nejlépe na počátku druhé růstové periody (1⁺). Je nutno použít stejnou věkovou kategorii, aby bylo možné zjištěné výsledky porovnat. Starší jedince je možné také použít, ale test pak trvá déle. Tyto testy umožňují sledovat přirůstání juvenilních jedinců přímo v daném prostředí. Jejich prostřednictvím lze na dané lokalitě hodnotit kvalitu prostředí, podmínky pro růst a přežívání juvenilních stádií perlorodky. Sleduje se vitalita a přirůstky za určitou dobu v destičkových izolátech. Tyto metody také umožňují vzájemné srovnání stavu jednotlivých lokalit, ale i ohodnotit stav mateřských pramenišť a pramenných stružek. Bioindikace lze také využít

pro vyhodnocení efektivity managementu, prováděného za účelem zlepšení stavu biotopu a opatření k plnému zprůtočnění pramenných stružek (Spisar, 2013).

Biomonitoring využívající perlorodky, je ovlivněn vhodným výběrem terénu a výběrem konkrétních metod. Při testech je tedy nutné používat juvenilní jednice, protože jsou v tomto období nejvnímavější. Malé rozměry juvenilů zároveň umožňují jejich použití i v malých tocích a i pro plošné testování v celém povodí včetně drobné kapilární sítě. Takto bioindikované lokality, ale musí umožňovat přežívání samotného druhu, jinak nelze bioindikace provádět. Tímto je určité omezené využití juvenilních perlorodek k bioindikačním účelům přímo v terénu, protože vybrané testované lokality musí splňovat vysoké parametry dané biologickými požadavky perlorodek (Spisar, 2012).

3.6.2. Dělení bioindikačních metod

Dle způsobu provedení testu:

- a) In-situ bioindikace se provádějí přímo v přirozeném prostředí
- b) Ex-situ bioindikace se provádějí mimo přirozené prostředí

Dle účelu získaných dat:

In-situ metody:

- a) standardní krátkodobé testy
- b) standardní dlouhodobé testy
- c) orientační testy
- d) speciální testy pro výzkum biologie druhu a zjištění vlivu mikrohabitatu

Ex-situ metody:

- a) standardní krátkodobé testy (AOPK, 2013).

3.6.3. Bioindikace In-situ

Pro přímé hodnocení biotopu in-situ se používají bioindikační destičky, dle Buddensieka (1995) (obr. 7.) nebo průtočné klíčky, které jsou naplněné pískem, aby co nejvěrněji napodobily habitat v intersticiálu (Hruška, 1995).

Gum et al. (2011) uvádí, že bioindikační destičky obsahují 20 (10 x 2) oddělených komůrek pro perlodky. Skládají ze tří vrstev, kterými jsou provrtány otvory a mezi jednotlivé vrstvy se vkládá filtrační tkanina o velikosti ok 40 μm , je to stejná tkanina, jaká se používá při odběru vzorku pro krátkodobé bioindikace. Destičky jsou v substrátu fixovány pomocí železných trnů kolmo na proud. Během celého testu je nutné pravidelně kartáčkem čistit filtrační tkaninu, aby nedošlo k jejímu zanesení a nezmenšila se velikost ok a filtrační plocha. Čištění se provádí, aniž by došlo k přemístění z místa fixace ve vodním toku. Destičky jsou umístovány v hlavní vegetační sezóně, tedy od 1. 6. – 31. 8. v daném roce. Délka testu je 92 dní a po celou dobu je v dané lokalitě umístěno automatické teplotní čidlo, které snímá denní průběh teploty. V průběhu testu jsou prováděny i další doplňující fyzikálně-chemické měření, která zejména sledují pH, vodivost NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- a Fe pomocí digitálního refraktometru Merck (Hruška, 1995).

Dle poznatků, se pro tento typ bioindikace doporučuje používat juvenilní jedince se srovnatelnou počáteční délkou schránky. Nejčastěji ve druhé růstové periodě, což je velikost 800 – 1120 μm . Před zahájením testu se perlodky nejprve fotodokumentují a přeměří se velikost jejich schránky. Následně jsou vloženy do bioindikačních destiček či klíček s následnou expozicí v předem stanoveném vodním profilu, jehož umístění je dáno cílem pokusu. Při použití Buddensikových destiček se doporučuje umístit jedince samostatně do jednotlivých buněk. Takto umístění jedinci umožní získat individuální záznam o růstu a zároveň se snižují nároky na množství použitých juvenilů. Po ukončení testu se přírůstky vyhodnocují z fotografického záznamu pořízeného při zahájení a na konci testu v softwaru na analýzu obrazu nebo pomocí okulárového měřítka. Při použití destiček, lze i získat statistická data, která mnohem více vypovídají o růstu přežívání a mortalitě, než průměr všech jedinců v klícce. V tomto případě, aby byla získána data o možné variabilitě reakcí juvenilů na dané podmínky, je vhodné umístit na jedno místo více klíček s menším počtem jedinců. K vyhodnocení jsou voleny statistické metody, podle konkrétního experimentálního designu. Jsou to především zobecněné lineární modely (GML) a mnohonásobné analýzy (RDA, FA)

(Hruška, 2000). Získaná data z teplotního čidla se dále podle Spisar (2013) zpracují, jako denní teplotní průměry a procenticky rozloží do kategorií: a) $< 12\text{ }^{\circ}\text{C}$, b) $12 ; 15\text{ }^{\circ}\text{C}$, c) $<15 ; 18\text{ }^{\circ}\text{C}$, d) $>18\text{ }^{\circ}\text{C}$.



Obr. 7. Bioindikační destička dle Buddensieka.

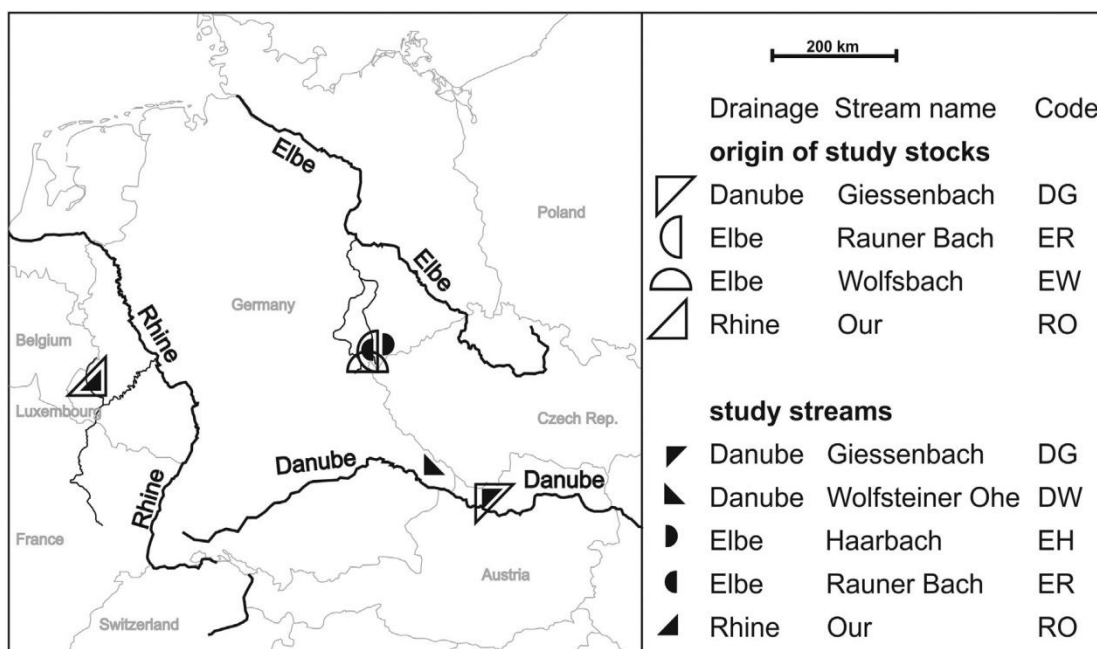
<http://gammarus-cz.webnode.cz/aktuality-nf/>

Denic et al. (2014) popisují in-situ metodu, která se použila v křížovém experimentu a byla uskutečněna v povodí Rýnu, Dunaje a Labi. V experimentu byly testovány následující parametry:

- a) environmentální faktory určující tempo růstu a přežití perlorodek
- b) pravděpodobnost přežití zimního období se zvyšující s velikostí schránky perlorodek
- c) vliv populace
- d) testování vysoké a nízké kvality stanoviště

Kontrola růstu a míra přežití perlorodek se prováděla po třech měsících, tedy před prvním zimním obdobím a po devíti měsících, po prvním zimním období. Velikost juvenilních perlorodek byla stanovena pomocí binokulárního mikroskopu připojeného k softwarového programu. Bioindikační destičky byly rozmístěny do povodí tří velkých středoevropských toků - Rýn, Dunaj a Labe. Základní parametry studijních toků jsou znázorněny v (obr. 8.). Zkratky jsou složeny s počátečních písmen třech hlavních středoevropských toku a druhé písmeno jsou původní testované populace nebo

testované toky. Tři studijní toky (DG, ER, RO) byly nativní toky s původním výskytem populací perlorodek. Dále byl do experimentu zařazen ještě jeden tok (DW) s původní populací a jeden tok, kde je perlorodka považována již za vyhynulou (EH) (Denic et al., 2014).



Obr. 8. Rozmístění perlorodek ve vybraných studijních tocích (Denic et al., 2014).

Toky byly vybrány dle několika kritérií, musely se lišit fyzikálně-chemickými vlastnostmi vody (tab. 3.) a původní populace perlorodek musely být geneticky odlišné od testovaných jedinců (Denic et al., 2014).

Study stream	Exposed study stocks	Native mussel population	NO ₃ -N	NH ₄ -N	pH	Sp.	Water	Organic carbon [%]	C/N	13C	15N
			[mg/l]	[mg/l]		conductance [S/cm]	temperature [°C]		Ratio	[%]	[%]
DG	DG, ER,EW,RO	Non-recruiting	2.IV	0.02	7.II	165	13.V	12.I	13.IX	-28.7	2.IX
DW	DG, ER,EW,RO	Recruiting	1.V	0.15	7.II	103	13.V	11.VIII	14.III	-28.6	3.I
EH	DG, ER,EW,RO	Extinct	3.VI	0.05	7.II	117	12.VIII	9.II	13.VIII	-29.1	3.V
ER	DG, ER,RO	Non-recruiting	1.VIII	0.05	7.IV	210	n.d.	8.I	11.III	-28.5	4.III
RO	DG, RO	Non-recruiting	4.IV	0.05	7.III	166	14.III	8.I	11.IX	-28.5	3.IX

Tab. 3. Základní charakteristiky testovaných toků použitých při křížovém experimentu (Denic et al., 2014).

Po devíti měsících expozice byly vyhodnoceny přírůstky a míra přežití, tato studie testovala nejen kvalitu testovaných stanovišť, ale také lokální adaptace juvenilních perlorodek. Některé studie ukazují, že klíčové parametry stanovišť určují míru přežití a růst perlorodek. Například Buddensiek (1995) a Hruška (1992) zjistili korelaci mezi růstem juvenilů a teplotou vody v letním vegetačním období. Větší délky schránek jedinců jsou předpokladem ke zvýšení pravděpodobnosti přežití zimního období (Lange et Selheim, 2011).

Tyto poznatky byly potvrzeny v této studii, kde z výsledných dat bylo patrné, že perlorodky v tocích s nejteplejší vodou, nejrychleji rostly v letním období a také byla zjištěna korelace mezi délkou schránek a mírou přežití přes zimu. Nejvyšší přírůstky byly zjištěny v tocích (DW, DG, RO) s průměrnými teplotami vody v letním období nejméně 13,5 °C, zatímco nižší průměrná teplota vody 12,8 °C v EH, vedla ke snížení růstu perlorodek. Nejvyšší rychlost růstu perlorodek byla zjištěna před zimou v DW, kde byla nejen vyšší teplota vody, ale také nejvyšší poměr C/N ve vzorcích detritu. Míra přežití v tomto experimentu byla srovnatelná nebo vyšší, než přežití perlorodek v přirozených podmínkách, které se odhadují kolem 5 % ve fázi juvenilního období Young et Williams (1984) a ukázalo se na různou úroveň lokální adaptace, ale konkrétní příčina tohoto pozorování zůstává nejasná. Tento systém experimentu, se jeví jako vhodný pro bioindikační studie, které se zaměřují na testování kvality vody a úživnosti toků (Denic et al., 2014).

3.6.4. Bioindikace Ex-situ

Ex-situ metoda se provádí v laboratoři mimo přirozené prostředí. Tento test slouží k hodnocení úživnosti a kvality detritu za optimálních teplotních podmínek ex-situ. Pro tento typ bioindikace se používá vzorek detritu odebraný v jarním nebo letním období. Směsný vzorek je odebírán na počátku pramenné stružky a z celé plochy prameniště. Vzorek je odebírán a přesíván přes dvě síta. První síto je hrubší s velikostí ok 1 mm a druhé o velikosti ok 40 µm. K odběru vzorku se používá 1,5 litrová lahev a v chladicím boxu je transportována do laboratoře, zde je vzorek pečlivě promíchán a je z něho odebráno třikrát 10 ml a poté je přenesen do kádinky o objemu 0,7 litru. Do této kádinky je přilije voda do výšky 2 cm. Voda, která se používá k doplňování kádinky, musí pocházet z toku, kde se vyskytují perlorodky, dále nesmí být chemicky ani

biologicky upravena a u všech vzorků testované sady musí být stejná (Hruška, 2000).

K testování jsou nejvhodnější juvenilní stádia perlorodky na počátku druhé růstové periody s minimální velikostí schránky 1000 μm . Pro testování se používají speciální bioindikační dózy naplněné 150 ml detritem na jednu perlorodku. Na začátku testu se provede fotodokumentace jedinců a přeměření schránek. Poté jsou perlorodky uloženy do nádob s testovaným detritem. Doba testu je 2 x 10 dnů, kdy se v polovině testu detrit vymění za nový. V laboratorních podmínkách jsou dózy v teplotně řízených podmínkách při teplotě 17 – 18 °C. Po ukončení testu se provede další fotodokumentace a perlorodky se opět přeměří. Srovnáním vstupních dat s konečnými přinese výsledky o úživnosti testovaného detritu, případně jeho nezávadnosti v podobě přírůstků schránek a mortality (Dort et Hruška, 2008).

3.6.5. Bioindikační studie v České republice

Statistická data sesbíraná během dlouhodobých bioindikačních testů kvality biotopu a managementových opatření v roce 2011 – 2012 v rámci Záchraného programu perlorodky říční v České republice byla použita k hlubší analýze, které testovaly:

- a) přežívání perlorodek ve vztahu k fyzikálně-chemickým vlastnostem vody daných lokalitách
- b) přírůstky perlorodek ve vztahu k fyzikálně-chemickým vlastnostem vody daných lokalitách

Z výsledných dat je patrné, že míra přežívání juvenilních jedinců se liší jak v jednotlivých lokalitách, tak i v jednotlivých bioindikačních destičkách. To poukazuje na velký význam, jak mikrohabitatových podmínek v toku tak jednotlivých lokalit. Na přežití perlorodek má také vliv jejich velikost na počátku testu, přežití jedinců se tedy zvyšuje s jejich velikostí. Míra přírůstků se lišila, jak testovanou lokalitou, tak destičkami v nich. Rozdílné přírůstky perlorodek mezi jednotlivými destičkami byly nalezen ve všech lokalitách. Potvrdila se souvislost mezi přírůstkem schránek perlorodek a jejich úmrtností. V lokalitách, kde hůře přirůstaly, více umíraly a naopak, perlorodky, které byly na počátku testu větší, lépe rostly (Peltanová et Švanyga, 2013).

Bioindikace in-situ s perlorodkou říční byla využity např. v projekt „Revitalizace povodí, optimalizace funkčních prvků a monitoring v klíčové lokalitě perlorodky říční Blanice a Zlatý potok“. Bylo zde použito 34 kusů bioindikačních boxů s juvenilními jedinci s následným uložením do vybraných toků do míst nad a pod, kde by eventuálně mohlo dojít k ovlivnění biotopu při obnově přítoků. V průběhu biomonitoringu byly boxy kontrolovány a čištěny v intervalu minimálně 14 dnů. Před zahájení prací obnovy přítoků byly nad pod místem prací odebrány vzorky detritu. Odebrané vzorky byly podrobeny testu úživnosti za optimálních podmínek dle standardní metodiky. Byly sledovány přírůstky schránek a mortalita juvenilních perlorodek stáří (1⁺). Test trval 2 x 10 dní s počtem 10 použitých perlorodek na test. Vyhodnocení dat se provedlo dle standardní metodiky (AOPK, 2013).

V lokalitě povodí Sněžného potoka a Blanice byly v roce 2013 provedeny krátkodobé a dlouhodobé bioindikační testy. Při testování byl sledován zdravotní stav jedinců a zejména přírůstky schránek, délka ligamentu a jeho narušení před a po expozici v tocích. Zpracovaná získaná data v rámci bioindikace slouží ke zjištění charakteristik hodnocených toků. Cílem krátkodobých testů bylo vyhodnotit úživnost detritu v prameništi a potravních prvcích. Hodnoceno bylo 12 profilů jedním či dvěma testy. Výše uvedená použitá metoda, poukazuje ve všech hodnocených profilech na nižší až střední úživnost detritu. V meziročním porovnání byla zjištěna zřejmá variabilita v kvalitě detritu. Například v roce 2012 daný profil opakovaně dosahoval středně úživné a jednou i mimořádně úživné hodnoty, kdežto v roce 2013 byl hodnocen jako podprůměrně úživný (Spisar, 2013).

Dlouhodobými bioindikačními testy byla sledována kvalita managementu na odchovném prameni Sněžného potoka a Blanice. Hodnoceno bylo celkem 16 profilů. Výsledky bioindikace se zpracovávají dvěma způsoby. Po ukončení testu byly hodnoty relativního přírůstku jedinců z každé destičky průměrovány pro další práci. Poté se z každé destičky vybraly, tři nejlépe přirůstající jedinci a zprůměrovaly se jejich relativní přírůstky. Vyhodnocená data vedla k závěru, že perlorodky vstupujících do druhé růstové periody (1⁺) s průměrnými přírůstky 116 % a 121 % (TOP3) se pohybují hluboko pod hranicí 150 % tedy nedostatečného růstu. Jedinci vstupující do desáté růstové periody (9⁺), patnácté (14⁺) a sedmnácté (16⁺) již dorůstaly kolem optimální hranice růstu (Peltanová et Švanyga, 2013).

Krátkodobé bioindikační testy provedené v povodí Teplé Vltavy hodnotily

kvalitu biotopu z hlediska poskytování detritu vhodného pro nejmladší věková stádia perlorodek. Výsledná data z relativních přírůstků schránek jedinců v tomto roce s porovnáním s výsledky předchozích let naznačují, že růst jedinců byl zde ovlivněn různými faktory, které sebou přineslo toto vegetační období. Chladný průběh července spojený se suchem v polovině vegetačního období, ovlivnily růst perlorodek, zejména skupiny druhé růstové periody (1⁺). Přestože tato skupina perlorodek neměla optimální podmínky, lze předpokládat, že budou schopny dosáhnout dospělosti. Napovídají tomu výsledky testů z předchozích let, nejstarší perlorodky použité v testech v minulých letech, které jsou dále v odchovných klíčkách, ukončují již IV. růstovou periodu a jejich schránka dosahuje až 1 cm. Na růst perlorodek stáří (0⁺) měly nepříznivé podmínky vegetačního období vliv jen částečně, neboť na počátku první růstové periody využívají živiny i z tukových zásob, které získaly při parazitaci na hostiteli (Dort, 2010).

3.7. Monitoring prameništ' a pramenných stružek

Bioindikace prameništ' lze provést metodou in-situ i ex-situ. Prameništ' jsou místa, kde díky přítomnosti specifické flóry a fauny dochází k tvorbě kvalitního organogenního detritu, který prostřednictvím komunikujících pramenných stružek zásobujících říční síť vodou ji transportuje do níže položených míst. Proto je důležité, aby se minimalizovalo poškození prameništ', neboť se mohlo narušit potravní zásobení toku, s negativním dopadem zejména na juvenilní stádia perlorodek (Absolon et Hruška, 1999).

Vyhledaná prameništ' jsou zaměřena pomocí GPS souřadnic a zakreslena do mapy. Určí se typ prameništ', které dělíme na tři základní typy:

- 1) rheokren – pramenný vývěr
- 2) limnokren – vývěr charakteru studánky
- 3) helokren – vývěr bažinného typu, který je nejvýznamnější, neboť v zimě nezamrzá. Dále se popíše dominantní flóra a fauna prameništ' a pramenných stružek (Just, 2005).

U prameništ' helokrenového typu se měří základní fyzikálně-chemické veličiny: teplota, konduktivita, pH. Teplota se měří pro posouzení teplotního režimu prameništ'. Teplotní poměry v tocích ovlivňují tvorbu potravy, průběh reprodukčního cyklu, ale i

toxicitu při vyšších hodnotách. Velké teplotní výkyvy vody působí na perlorodky nepříznivě. Toky, které jsou zastíněné břehovým porostem, vytvářejí optimální teploty vody, neboť ovlivňují teplotní stabilitu mezi dnem a nocí, kdy dochází k prohřátí půd říční nebo potoční nivy. Vhodné jsou biotopy, kde se teplota pohybuje v rozsahu 0 – 20 °C a po souvislou dobu 10ti dnů je vrchol letní teplotní křivky denních průměrů 15,5 °C (Absolon et Hruška, 1999).

Konduktivita – měrná vodivost vody je ukazatelem obsahu iontových forem látek rozpuštěných ve vodě. Poskytuje informace o stupni přirozené mineralizace vody, ale i případném znečištění. Konduktivita se měří, jak na místě, tak i následně po provzdušnění odebraného vzorku. Biotopy s nízkou konduktivitou vody (do 100 $\mu\text{C}\cdot\text{cm}^{-1}/25\text{ }^\circ\text{C}$) jsou vhodné pro reprodukci perlorodky. Při zvýšené konduktivity vody v prameništi se měří obsahy nitrátu a amonných iontů pro zjištění detailních informací o typu znečištění (Absolon et Hruška, 1999).

pH vody je ukazatelem kyselosti či zásaditosti. Vhodné biotopy pro perlorodky jsou v rozsahu pH 6,0 – 7,1. Kolísání hodnot pH mimo toto rozmezí je pro perlorodky velmi nepříznivé. Nárazové okyselení vody – acidifikace, pod pH 6 vede k celkovému poškození biotopu. Právě acidifikace je jedním z hlavních důvodů současné 20 – 30 let trvající stagnace reprodukce perlorodek říčních v západní a střední Evropě (Bílý et Simon, 2007).

V rámci vegetačního hodnocení prameniště se popisuje rostlinný pokryv, zejména rody: ptačinec (*Stellaria*), rozrazil (*Veronica*), řeřišnice (*Cadamine*), rašeliník (*Sphagnum*) a zblochan (*Glyceria*). Hydrobiologické hodnocení se zaměřuje na výskyt jedinců druhů: blešivec potoční (*Gammarus fossarum*), ploštěnka potoční (*Dugesia gonocephala*), pošvatka sp. (*Plecoptera* sp.), perloočka sp. (*Cladocera* sp.) (Absolon et Hruška, 1999).

3.7.1. Chemická analýza organického detritu z prameniště

V závislosti na charakteru prameniště, je nezbytné při odebírání vzorku provést některé chemické analýzy. Při zaznamenání železitého výluhu oranžové barvy je nutno provést test na obsah železa. V případě zaznamenání výskytu fekálních kalů (zápach, exkrementy) nebo amoniaku (zápach), je potřeba provést test na obsah NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- a Fe. Měření se provádí např. digitálním refraktometrem Merck. V případě

zjištění nadlimitních hodnot některého z těchto parametrů se vzorek detritu pro analýzu vápníku neodebírání, resp. odebírání se pouze vzorek na základě pozitivního výsledku. Odběr vzorku se provádí dvojitým filtrováním do 2 litrové vzorkovnice. Obsah detritové vodní suspenze by měl být min. 20 %, aby hmotnost vzorku po vysušení byla alespoň 10g. Suchý vzorek se dále upravuje dle zvolené metody a stanovuje se celkový obsah vápníku a vyhodnotí se biologický přírůstek konduktivity při teplotě 12 °C a 18 °C (Spisar, 2013).

3.7.1.1. Celkový obsahu vápníku v detritu

Stanovení celkového obsahu vápníku (Ca) v detritu – perlorodky pro stavbu svých schránek získávají vápník z organogenního detritu, pokud je jeho obsah v detritu dostatečný. Detrit, který je málo úživný, ale vápníkem dostatečně zásobený, má vliv na existenci dlouhověkých populací perlorodek s délkou života 80 – 140 roků s velkými rozměry schránek. Zatímco detrit, který je úživnější a snadněji rozkladný, způsobuje zrychlení látkové výměny, což vede k vytvoření populací s malými tělesnými rozměry, pod 100 mm a kratší délkou života 30 – 50 roků (Just, 2005).

3.7.1.2. Biologický přírůstek konduktivity v detritu

Biologický přírůstek konduktivity v detritu – BPK je metoda, která posuzuje úživnost detritu na základě biochemických změn konduktivity ve vzorku. Odumřelá organická hmota v detritu podléhá rozkladným anaerobním i aerobním procesům, které lze posoudit podle mineralizace měřitelné, jako nárůst konduktivity vzorku. V tocích by neměla být mineralizace detritu započata dřív, než doputuje z pramenné oblasti do hlavního toku, kde se perlorodky vyskytují. U kvalitního detritu nedochází při nižších teplotách k žádnému, nebo jen velmi mírnému navýšení konduktivity v průběhu 10ti denního měření. Měření se provádí v odměrném válci při teplotě 12 °C a 18 °C a bez přímého slunečního záření (Absolon et Hruška, 1999).

3.7.1.3. Stanovení poměru organického uhlíku a dusíku C/N

Analýza detritu pro zjištění poměru C/N testuje kvalitu a úživnosti detritu, ale i o jeho původ (Denic et al., 2014). Podstata stanovení spočívá ve spalování navážky vzorku v přebytku kyslíku při teplotě 900 °C, kde vzniklé oxidy (Nox, CO₂, H₂O a SO₂) se redukuje na mědi a jsou unášeni héliem přes chromatografickou kolonu, kde jsou jednotlivé složky směsi zadržované a po určitém čase z kolony vystupují v pořadí N, C, S do detektoru. Ten zaregistruje chromatogram a vyhodnotí koncentraci jednotlivých složek. Vyhodnocení chromatogramu je automatické; začíná dávkováním vzorku a končí vysláním elektrického signálu, úměrného koncentraci sledované složky (Spisar, 2013).

3.7.2. Kategorie úživnosti detritu

Denic et al. (2014) rozdělili úživnost detritu do 7 kategorií, na základě velikosti přírůstku (μm) za sledované období:

- 1) mimořádně úživný $> 150 \mu\text{m}$
- 2) velmi dobře úživný $150 - 100 \mu\text{m}$
- 3) středně úživný $99 - 76 \mu\text{m}$
- 4) podprůměrně úživný $75 - 50 \mu\text{m}$
- 5) nedostatečně úživný $49 - 30 \mu\text{m}$
- 6) téměř neúživný $29 - 10 \mu\text{m}$
- 7) neúživný $< 10 \mu\text{m}$

3.8. Stanovení optimálního složení a úživnosti potravy v umělém odchovu

Nutriční požadavky, zejména juvenilních perlorodek, zůstávají částečně do jisté míry stále neznámé. Současné vědecké studie o tomto druhu, přispívají k získání nejnovějších informací o potravních nárocích, výživě a dalších požadavcích tohoto druhu, které se uplatňují nejen v záchranných projektech. Umělými odchovy perlorodek se získávají jednak vitální jedinci, ale také umožňují testovat různé parametry. V laboratorních podmínkách se testují různé druhy potravy, jejich vliv na efektivní růst, vitalitu a míru přežití perlorodek (Bernhard, 2012).

Hruška (1999) ve svých experimentech testoval nutriční hodnoty různých potravních směsí (směs řas, rozdrčených červených larev pakomárů, organické hmoty) a vzorky říčního detritu. Výsledná data experimentu, hodnotí nejen velikosti přírůstku v závislosti na úživnosti testované potravy, ale také vypovídají o kvalitě říčního detritu, substrátu, vody a její nezávadnosti (např. koncentrace amoniaku, dusitanů, dusičnanů). Cílem testů je optimalizace podmínek chovu a potravní strategie juvenilních perlorodek. Získané informace se využívají v záchranných projektech pro obnovu či posílení zbývajících populací perlorodky říční, v lokalitách, kde se jejich počty výrazně snížily, nebo jsou na pokraji vyhynutí a kde je hlavním důvodem absence juvenilů, způsobená eutrofizací prostředí (Lange et Selheim, 2011).

Hruška (1999, 2001) v roce 1980 založil první úspěšný způsob umělého odchovu perlorodek v laboratorních podmínkách. Jeho metodu převzal a pozměnil Lange, přidáním živočišných bílkovin do nádob s cílem zlepšit vstřebávání aminokyselin. Hruška (1999) uvádí, že pro testování jsou nejvíce vhodné juvenilní perlorodky po čerstvě dokončené metamorfóze. Glochidia se získávají od gravidní samice, v tomto případě z populace perlorodky říční z řeky Our (Lucembursko). Hostitelské ryby se larvami infikují v srpnu o rok dříve, přidáním glochidií do 60 litrové nádrže s 250 hostitelskými rybami (délka 8 – 9 cm). Vodu v nádrži je potřeba pravidelně a pečlivě promíchávat každých 10 minut po dobu 45 minut. Během zimy se infikované ryby drží s perlorodkami v odchovném zařízení a na jaře se náhodně vybere 70 ryb a přenesou do „sběrné stanice juvenilních perlorodek“. Voda se zahřívá během 10 dnů na teplotu 17 °C a poté, přibližně během 2 týdnů dochází k metamorfóze glochidií na juvenilní stádia perlorodky s délkou 0,30 – 0,48 mm. Tito jedinci se do 24 hodin po přeměně, přemístí do plastových nádob velikosti (10 x 10 x 7 cm) s volně uzavřeným krytem, aby byla umožněna výměna vzduchu při konstantní teplotě 17 – 18 °C po dobu 110 dnů. Při testování se použilo celkem 500 juvenilů v 500 ml nádobě s říční vodou, která se mění 1x týdně, kdy se perlorodky zároveň i fotografovaly. Pro stanovení jejich délky se použil počítačový softwaru ImageJ. Uhynulí jedinci byli odstraněni, vizuálně prohlédnuti a spočítáni. Perlorodkám se během testu podává potrava, což jsou testované krmené směsi (Hruška, 1999).

Lange et Selheim (2011) uvádějí složení směsí Nanno3600 a Shellfishdiet1800, které byly použity v testování úživnosti potravy. Nanno3600 obsahuje (*Nannochloropsis* sp.) o průměru 1 - 2 μm a Shellfishdiet1800 obsahuje směs různých řas (*Isochrysis* sp., *Pavlova* sp., *Thalassiosira weissflogii*, *Tetraselmis* sp.) o průměru 4

- 20 µm. Analytickým rozbohem se zjistilo, že Nanno3600 obsahuje: proteiny 58,6 %, tuky 14,5 %, sacharidy 20,0 %, popel 5,9 % a Shellfishdiet1800 obsahuje: proteiny 52,0 %, tuky 16,1 %, sacharidy 22,0 %, popel 9,9 %.

Podle Hrušky (2001) biomasa v krmivu Shellfishdiet1800 pochází z podmáčené louky ve Wilwerdange v Lucembursku. Tuto metodu odběru vzorku detritu popsal Hruška (2001) a Lange (2009). Tento detrit je tedy přírodní směs rozličných komponentů v závislosti na sezóně, teplotě, množství srážek a rostlinného společenstva. Za normálních podmínek je složen z 50 % řas, zbytek tvoří organický materiál, zooplankton, velké množství bakterií a plísní a sediment, který v proměnlivých poměrech obsahuje jíl, bahno a jemný písek. Analytický rozbor detritu vykazuje hodnoty pH 6,5 vodní fáze, konduktivita 90 uS cm⁻¹, 225 000 mg kg⁻¹ TOC a celkový obsah dusíku 11 400 mg kg⁻¹ (Hruška, 1999).

Tento způsob krmení směsmi Shellfishdiet a Nanno v umělých odchovech se již úspěšně používá v odchovném zařízení v Německu (Perlenbach) a Rakousku (Waldaist) a vykazuje dobré výsledky. Také druh (*Margaritifera falcata*) ze Severní Ameriky chovaný v laboratorních podmínkách a krmený těmito směsmi vykazuje dobrou vitalitu jedinců a velké přírůstky (Barnhart, 2012).

Lange et Selheim (2011) ve svých experimentech testovali úživnost různých složek potravy, které kombinovali v různých poměrech s cílem získat směsi, s co nejpříznivějším vlivem na růst a vitalitu perlorodek. Testované směsi rozdělili do 6 kategorií:

1) AP = A:Řasy

P: Protein obsahující aditivum, 200 mg (hmotnost za vlhka) drcených červených larev pakomárů (*Chironomidae*), které byly přidány po každé výměně vody do jedné 500 ml nádoby s říční vodou

2) DP = D: Detrit - 25 ml byl přidán po každé výměně vody

P: Protein obsahující aditivum, 200 mg (hmotnost za vlhka) drcených červených larev pakomárů (*Chironomidae*), které byly přidány po každé výměně vody do jedné 500 ml nádoby s říční vodou

3) DA = Detrit a řasy

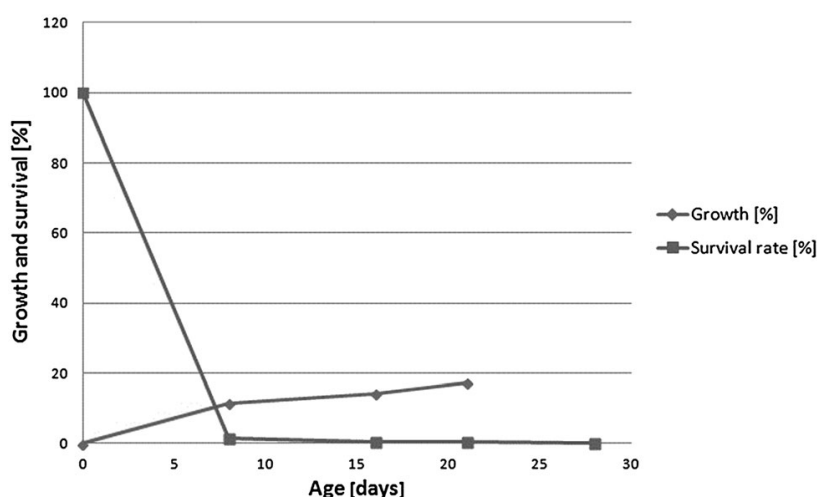
4) DAP = Detrit, řasy a přídatná látka obsahující protein

5) D(2A)P = Detrit, dvojnásobné množství řasa protein obsahující aditivum

6) Combi = Prvních 30 dnů: DA a posledních 80 dnů: D(2a)

Lange et Selheim (2011) uvádějí, že perlorodky, které byly krmeny krmnou směsí D(2A)P vykazují nejvyšší přírůstky, ale nízkou míru přežití. Většina těchto muší zemřela během 30 dní, což by mohlo naznačovat, že vysoká koncentrace řas a produktů rozkladu byla pro perlorodky škodlivá. Z toho vyplývá, že je vhodnější použít krmnou směs Combi s nižší koncentrací řas v průběhu prvního měsíce, kdy pak míra přežití činí 80 % a v průběhu následujících dvou měsíců použít směs s vyšší koncentrací řas. Kombinace směsí D(2A)P a Combi v řízených optimálních teplotách má nejpříznivější vliv na přírůstky > 1 mm (1,16 a 1,13 mm) za 110 dnů. Se srovnáním přírůstků perlorodek držených v destičkách umístěných v tocích v řekách v Německu a Skotsku dosáhly přírůstků od 1,1 do 1,8 mm za dvě vegetační období (Lange et Selheim, 2011).

Geist et Auerswald (2007) zjistili, že zdravotní stav, přírůstky a mortalita perlorodek při testování silně koreluje s potravním režimem a obsahem přítomné potravy. Pokud byly perlorodky chovány v říční vodě, aniž by jim byla dodávána další potrava, postupně docházelo k vyčerpání živin a z 200 juvenilů nepřežil žádný ve sledovaném období. Míra přežití byla tedy po 8 dnech 1,5 % a po 28 dnech 100 % mortalita (obr. 9.) (Geist et Auerswald, 2007).

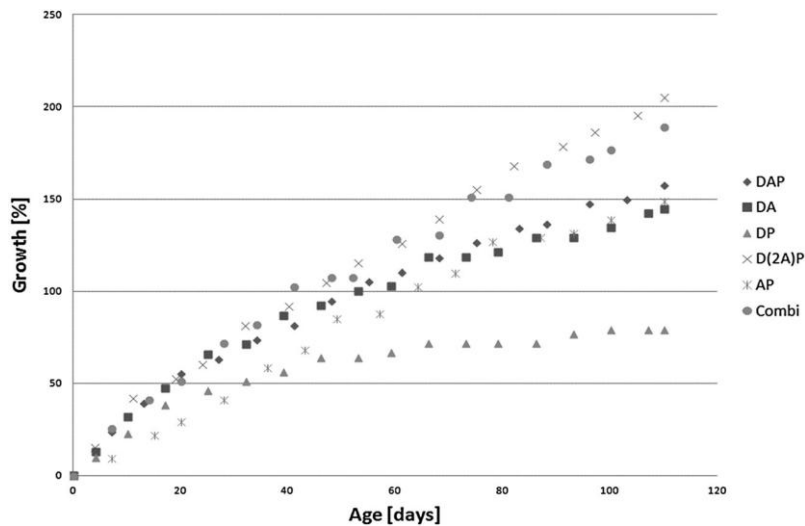


Obr. 9. Znázorňuje přežití (%) a růst (%) juvenilních perlorodek chovaných v říční vodě, kde postupně došlo k vyčerpání potravy (Geist et Auerswald, 2007).

Výsledky ukazují, že juvenilní perlorodky, mají potravní rezervy, získané z larválního parazitického období, na méně jak 8 dní. Proto, je důležité, aby v období, kdy dokončují přeměnu a opouštějí hostitelské ryby, bylo v nádobách, ale i v přírodě dostatečné množství vhodné a kvalitní potravy. Perlorodky v období 2 týdnů po metamorfóze, mění výběr primární potravy, tedy různá stadia perlorodek vyžadují odlišné složení potravy, což ovlivňuje strategii krmení juvenilů v umělých odchovech. Toto období je pro perlorodky kritické, jednak z hlediska nároků na potravu, ale i specifickými požadavky na substrát. Aby se předešlo a minimalizovala úmrtnost perlorodek, bylo zapotřebí zvolit vhodný způsob krmení, tj. kombinací různých složek potravy, přírodního detritu, ale i odlišnou velikostí jednotlivých složek (např. řasy). V experimentech se používaly čerstvé vzorky detritu (25 ml), což byla směs organického materiálu, řas, zooplanktonu, plísňe, bakterie, ale i sediment. Detrit se odebíral každé 2 – 3 týdny, poté uložil v nádobě v laboratoři a pomocí čerpadla provzdušňoval. Před použitím se detrit přefiltroval přes síto o velikosti ok 180 μm . Červené larvy pakomárů (*Chironomidae*), byly také rozdrceny a přefiltrovány přes síto o stejné velikosti ok 180 μm a poté smíchány s detritem případně s řasami a tato směs se přidala do nádob s perlorodkami po každé výměně vody, jak je navrženo podle metodiky Lange (2009).

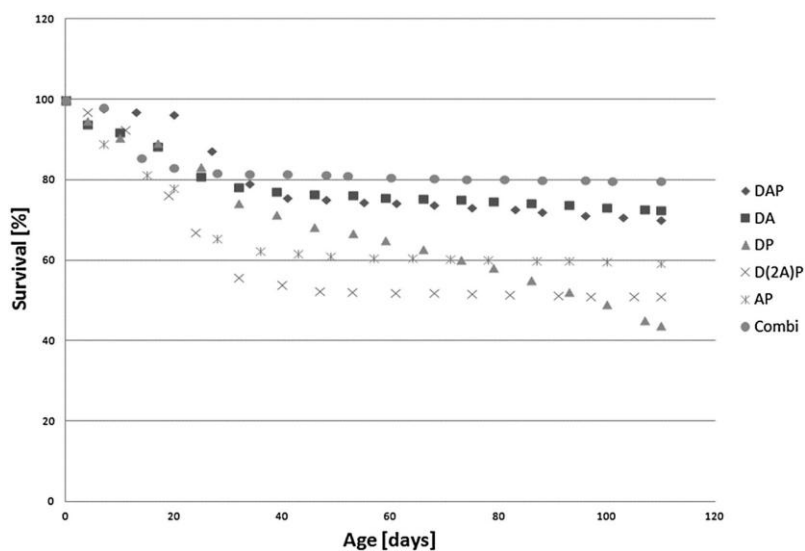
Je dokázáno, že přidáváním směsí různých druhů řas vede k větším přírůstkům a zároveň i k vyššímu procentu přežití perlorodek. Zásadní vliv na růst perlorodek, má koncentrace řas a míra přežití, na přítomnosti řas. V nádobách, které obsahovaly pouze vzorek říčního detritu s rozdrcenými červenými larvami pakomárů s absencí řas, se projevila vyšší úmrtností perlorodek během jednoho měsíce. Ostatní nádoby, do kterých, byly řasy přidávány, vykazovaly nulové nebo velmi nízké procento úmrtnosti za stejné období (Lange et Selheim 2011).

Perlorodky, které byly krmeny směsí Combi a D(2A)P, která obsahuje koncentraci řas 2x větší a směs Combi, vykazovaly nejvyšší vliv na přírůstky (obr. 10.). U směsi Combi 1,13 mm a u D(2A)P 1,16 mm. U směsi DAP nebyl prokázán žádný významný rozdíl v růstu ve srovnání se směsí AP DA. Jedinci krmení bez přídatku řas a DP měli nejmenší přírůstek 0,70 mm a byli podstatně menší v porovnání s ostatními jedinci, krmenými jinými směsmi (Lange et Selheim 2011).



Obr. 10. Znázornění přírůstky (délka v %) juvenilních perlrodek v závislosti na typu směsi za období 110 dnů (A: řasy, 2A: 2× řasy, D: Detritus, P: drcené červené larvy pakomárů (aditivní látky obsahující protein) Combi: prvních 30 dní: DA, posledních 80 dní: D(2A)) (Lange et Selheim, 2011).

Nevyšší míru přežití 80 % vykazují perlrodky, krmené směsí Combi, kdežto směsi DP a D(2A)P vykazují největší úmrtnost jedinců (obr. 11.) (Lange et Selheim, 2011).

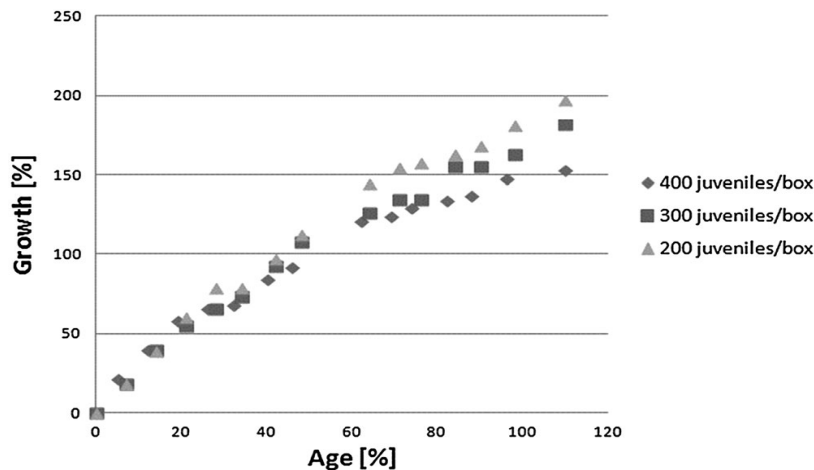


Obr. 11. Znázornění míry přežití (%) juvenilních perlrodek, krmených různými druhy směsí potravy za období 110 dnů (A: řasy, 2A: 2× řasy, D: Detritus, P: drcené červené larvy pakomárů (aditivní látky obsahující protein), Combi: prvních 30 dní: DA, posledních 80 dní: D(2A)) (Lange et Selheim, 2011).

Vzhledem k zjevné důležitosti přítomnosti řas v potravě a kombinací různých druhů např. (*Nannochloropsis*) v optimálním poměru, tvoří řasy s detritem hlavní komponenty potravy (Gatenby et al. 1996, Obeirn et al. 1998, Barhnart, 2006)

Výše zmíněný detrit (25 ml), přidávaný do nádob k perlorodkám, obsahuje i důležité sedimenty, které jsou tvořeny jílem, bahnem a jemným pískem v různém poměru. Jones et al. (2005) doporučují přidávat říční sedimenty ke zlepšení vitality a růstu juvenilních perlorodek. Bylo také zjištěno, že přidavek sedimentu má pozitivní vliv i na další druhy sladkovodních mlžů (*Epioblasma capsaeformis* Lea a *Villosa iris* Lea). Podobně i u mořských mlžů (*Mytilus edulis*) vykazovali juvenilní jedinci krmení řasami s přidavkem bahna zvýšené přírůstky o 30 – 70 %. Bahno obsažené v sedimentech absorbují draslík, vápník, hořčík, jiné prvky, živiny a tvoří tak zásobní místo, těchto látek (Kelley, 1942) Mimo jiné některé sloučeniny a aminokyseliny jsou adsorbovány na povrchu částic sedimentu a při přijetí těchto částic perlorodkami, získají minerály a živiny nezbytné pro optimální růst a život (Weiss, 1969).

Hruška (2001) při testech úživnosti potravy, doporučuje optimální počet 200 perlorodek v chovných nádobách o objemu 500 ml. Ačkoliv počet perlorodek nevykazoval žádný vliv na míru přežití, perlorodek, které byly umístěny po 300 nebo 400 jedincích v nádobě, vykazovaly výrazně menší přírůstky, než v nádobách po 200 jedincích, pravděpodobně z důvodu potravní soutěživosti (obr. 12.). Použit méně než 200 perlorodek v jedné nádobě se nedoporučuje z prostorových a časových důvodů zejména při výměně vody, avšak při osazení nádoby 500 perlorodkami se zvyšuje riziko plísňových infekcí. Výsledná data ukazují, že rychlost růstu perlorodek je závislý na počtu chovaných jedinců v nádobě. 200 perlorodek v jedné nádobě vykazují nejvyšší přírůstky 1,13 mm, kdežto po 300 jedincích 1,07 mm a 400 jedinců 0,96 mm (Skinnner et al., 2003).



Obr. 12. Růst (v %) a přežití juvenilních perlorodek v závislosti na počtu jedinců v 500 ml nádobě po dobu 110 dnů.

Chemizmus vody je důležitým faktorem ovlivňující přežití perlorodek nejen v přírodě, ale i v umělých odchovech. Voda používaná pro odchov se analyzuje pomocí spektrofotometru 6100 ke stanovení koncentrace NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- (Tanja et al., 2013). I nízká koncentrace znečišťujících látek může způsobit dokonce i 100 % mortalitu především v období, kdy perlorodky v přírodě opouštějí hostitelské ryby a pokoušejí se usadit v substrátu říčního dna (Skinner et al., 2003).

Z toho vyplývá, že juvenilní perlorodky jsou mnohem méně tolerantní na škodlivé látky než dospělí jedinci. Zejména již uvedené dusičnany NO_3^- , dusitany NO_2^- a amoniak NH_4^+ jsou potenciálně škodlivé. Vstřebávání dusičnanů vodními živočichy je menší, a proto, jsou pro ně méně toxické, než jsou dusitany a amoniak, které jsou vstřebávány ve větší míře. Bylo pozorováno, že některé druhy mlžů uzavřou schránky a přestanou filtrovat a přijímat potravu, pokud jsou vystaveny vysoké hladině amoniaku, zatímco jiné druhy mlžů, filtrují vodu nadále. Není známo, jakou strategii mají juvenilních sladkovodní perlorodky, ale pokud uzavřou přijímací otvor, což bude bránit k přijímání potravy, může to vést až k vyhladovění, pakliže bude hladina amoniaku ve vodě stále vysoká (Horne et Mcintosh, 1979).

Skinner et al. (2003) uvádí, že sladkovodní perlorodky vyžadují kvalitní vodu, kdy obsah dusičnanů nepřesáhne hodnotu $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, fosfáty $< 0,03 \text{ mg L}^{-1}$. Test toxicity na juvenilních sladkovodních perlorodkách (*Lampsilis siliquoidea*, *Lampsilis fasciola* a *Villosa iris*) ukázal, že hodnoty amoniaku mezi $0,37$ a $1,2 \text{ mg L}^{-1}$ měly zásadní vliv na přežití jevenilů a hodnoty mezi $0,37 - 0,67 \text{ mg L}^{-1}$ ovlivnily růst jedinců (Wang et al., 2007). Amoniak je v primárním stupni nitrifikaci oxidován bakteriemi

např. (*Nitrosomonas* sp.), který přeměňuje amoniak na dusitaný. Ostatní druhy bakterií např. (*Nitrobacter* sp.) jsou odpovědní za oxidaci dusitanů na dusičnany (Schlegel et Zaborosch, 1999).

V odchovných nádobách bez detritu k žádné nitrifikaci nedošlo a koncentrace dusitanů a amonných iontů výrazně vzrostla a tím byly překročeny jejich limity. Pokud byl detrit (25 ml) přidán do odchovných nádob, hodnoty dusitanů a amoniaku se snížily o 50 % nejpozději do 8 dnů ve srovnání s hodnotami na počátku, což ukazuje, na proběhlou nitrifikaci (Skinnner et al., 2003).

Z několika studií vyplývá, že sladkovodní mlži patří do jedné z nejvíce citlivých skupin živočichů na tyto znečišťující látky a to zejména na přítomnost amoniaku (Simon et Reed, 1973).

Pomocí juvenilních jedinců je též možné testovat vliv vysokého obsahu sedimentu ve vodě na životní pochody perlorodek. Vzorčky se odebírají z řek bohatých na sedimenty s cílem zjistit, jak jedinci reagují na testovaný vzorek a jakým způsobem, lze zvýšit pravděpodobnost přežití juvenilních perlorodek v tocích s vysokým obsahem sedimentu. Tato laboratorní metoda se ukázala, jako efektivní, jak z hlediska praktického (snadné ovládání a manipulace s nádobami) tak z hlediska získaných dat. Intenzivní péče byla potřeba pouze 1x týdně, při výměně vody a krmení. Během výměny vody bylo možné snadno odstranit dravou mikrofaunu i potravní konkurenty např. (*Daphnia* sp.), které lze snadno odstranit pipetou. Tato dravá či potravně konkurenční makrofauna, může být důležitým faktorem, zvyšující úmrtnost juvenilů. Např. rod (*Macrostomum*) je znám, jako dravý druh pro juvenilní perlorodky. Často byly pozorovány perloočky (potravní konkurenti), které se živily řasami, proto byly pipetou odstraněny. Během výměny vody bylo možné snadno udělat fotodokumentaci perlorodek a změřit délku jejich schránek. Jedinci, kteří byli napadeni houbami, museli být odstraněni. Nevýhodou této testovací metody v nádobách je rychlé šíření houbové nákazy mezi jednotlivci, z důvodu malého objemu vody 500 ml s velkým počtem (500) perlorodek. Z tohoto důvodu se doporučuje, občas vyčistit prázdné nádoby teplou vodou nebo 70 % alkoholem (Zimmerman et al., 2003).

V Severní Americe byl testován recirkulační systém pro odchovu různých druhů sladkovodních mlžů, kromě perlorodky říční (Gatenby et al., 1996, Jones et Neves, 2002, Barhnart, 2006). Uvádí se, že chov v recirkulačních systémech, je nezbytné doplňovat výživou jednobuněčnými řasami. Barhnart (2006) zjistil, že růst a přežívání juvenilních mlžů, je vyšší v průtokovém systému než ve srovnání s recirkulačním

systemem. Výše uvedené metody odchovu pro perlorodku říční nejsou příliš vhodné, vzhledem k vysokému množství sedimentu v některých řekách. Použité chovné nádoby, musí mít velikost ok menší než 0,3 mm, aby se předešlo vypadnutí juvenilů, neboť čerstvě vylíhlé juvenilní perlorodky měří 0,3 – 0,4 mm. Navíc takto malé otvory, by pak byly rychle zaneseny a ucpány sedimenty a musely být ručně vyčištěny, což by zvýšilo narušení jejich vývoje. Kromě toho by mohlo doslova dojít k pohřbení juvenilů pod nánosy sedimentu (Barhnart, 2006).

Obecně lze tedy konstatovat, že tyto laboratorní metody dokazují, že jsou nejen vhodnou variantou k získání informací o optimální krmné strategii v podobě speciálních krmných směsí, ale také efektivní metodou, pro získání zdravých jedinců s délkou schránky > 1 mm za 110 dnů (Wade, 1999). Velikost 1 mm se považuje za minimální, aby perlorodka přežila v přírodě první období zimy (Lange et Selheim, 2011). Buddensiek (1995) uvádí, že přežití první zimy, perlorodek, které jsou umístěné v klíčkách volně v přírodě, je závislé na jejich velikosti. Jedinci < 700 μm uhynuli a ti kteří dosahovali > 900 μm měli 50 % šanci na přežití první zimní sezóny.

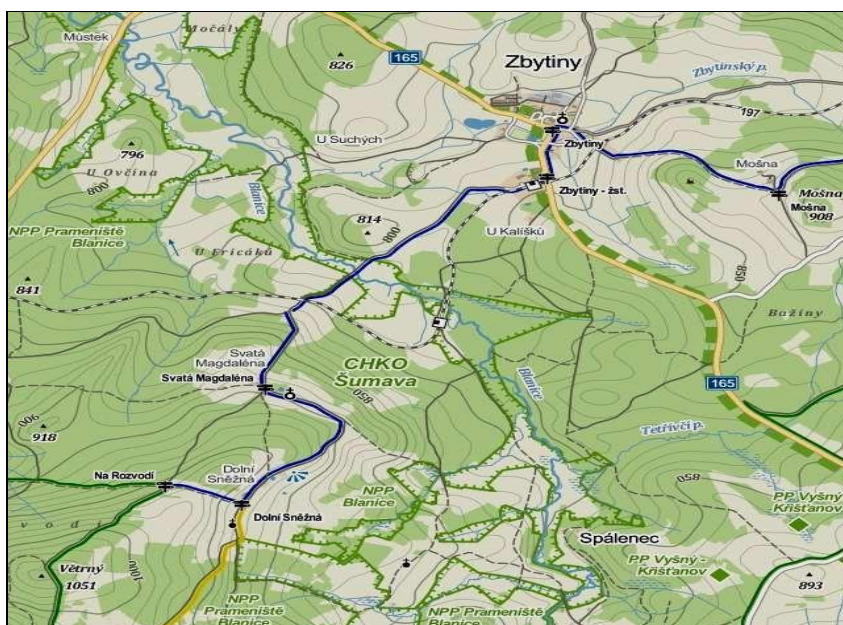
4 Materiál a metody

4.1. Zaměření vědeckého experimentu

Experiment byl zaměřen na test úživnosti a fyzikálně-chemických vlastností detritu a jejich vliv na přírůstky juvenilních perlorodek. Hlavní analyzované parametry byly hodnoty konduktivity a pH vzorků. Do analýzy se také prolnula data o nadmořské výšce pramenišť, kde byly vzorky odebrány.

4.2. Popis stanoviště pramenišť

Experiment se prováděl, na vzorcích pocházejících z pramenišť řeky Blanice viz (mapa 1.), která pramení pod Knížecím Stolcem v Želnavské hornatině, nebo také VVP Boletice. V prameništích a rozsáhlých mokřinách v této lokalitě se v současnosti juvenilní stádia perlorodek nevyskytují, ale jsou potenciálně vhodným biotopem. Prameniště jsou zdrojem detritu, která zásobují živinami dolní části toku Blanice. Rostlinný pokryv většiny testovaných pramenišť (90 %) tvoří smrkové porosty, zbytek pramenišť se nachází v lokalitě s travním porostem. Nadmořská výška testovaných pramenišť je v rozmezí od 780 – 1143 m. n. m. Fyzikálně-chemické parametry vzorků byly stanoveny v laboratoři až po převozu.



Mapa 1. Lokalizace řeky Blanice (AOPK, 2013).

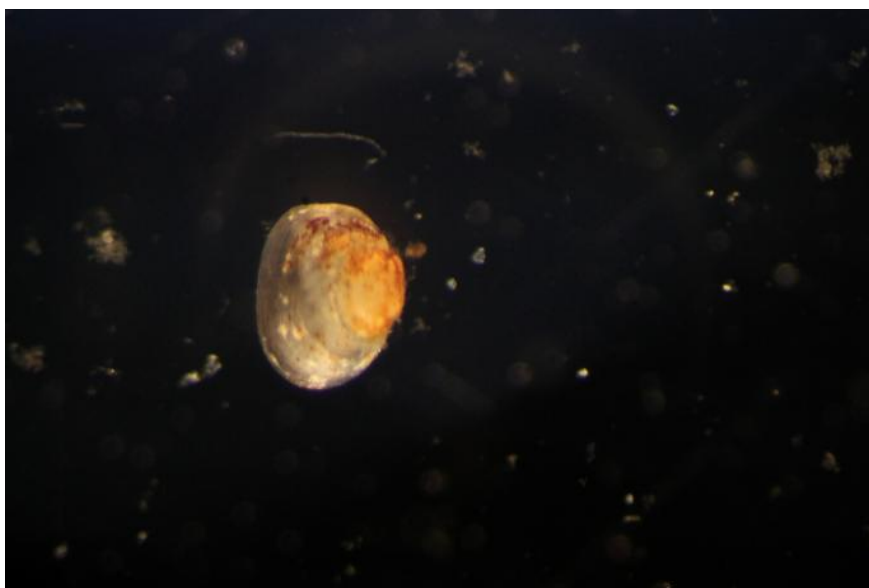
4.3. Metodika odběru vzorků

Vzorky detritu byly odebrány v červnu 2015, dle standardní metodiky Záchraného programu pro perlorodku říční (AOPK, 2013). Celkem bylo odebráno a analyzováno 100 vzorků detritu ze 100 různých pramenišť. Vzorky byly nejprve přímo v místě odběru přefiltrovány přes síto o velikosti ok 100 μm , aby se odstranily hrubé nečistoty. Odběr se prováděl do 1,5 litrových nádob, které byly do laboratoře transportovány v chladicích boxech, aby se zamezilo teplotním výkyvům vody a předešlo se tak k případným změnám fyzikálně-chemických vlastností vzorků.

4.4. Laboratorní postup

Transportované vzorky byly v laboratoři opět filtrovány přes filtrační síto velikosti 40 μm a u každého vzorku byla změřena a zaznamenána konduktivita a pH. Perlorodky použité k testování byly dodány společností Gammarus CZ – zakladatelem je p. Bohuslav Dort. Tato společnost se zabývá problematikou záchrany tohoto druhu v rámci Záchraného programu pro perlorodku říční ČR. Odchov juvenilních perlorodek v tomto zařízení probíhá v polopřirozených odchovech in-situ a následně ex-situ tzv. českou cestou dle metody J. Hrušky. Perlorodky byly do laboratoře transportovány ve speciálních chladicích boxech s konstantní teplotou a v co nejkratším čase, aby byl pro ně převoz co nejméně stresující. Dodané juvenilní perlorodky byly v druhé růstové periodě (1⁺).

V laboratoři byla nejprve provedena fotodokumentace perlorodek stereoskopickým mikroskopem + digitální fotoaparát (obr. 13.). Každý jedinec byl nabrán pipetou na Petriho misku a 2x vyfocen, čísla fotek každého jedince byla zapsána do sešitu k příslušnému prameništi. Poté byly perlorodky vloženy jednotlivě do 8 testovacích nádob o objemu 20 ml, ve které byla připravena voda a testovací vzorek detritu. Množství detritu v nádobě po sedimentaci tvořilo přibližně 1 mm silná vrstva sedimentu. Tímto způsobem se připravilo 800 testovacích nádob s testovaným detritem. Test trval 10 dní, při konstantní řízené teplotě 18 °C, bez výměny vody. Po ukončení testu, se opět změřila konduktivita, pH a provedla se druhá fotodokumentace perlorodek.



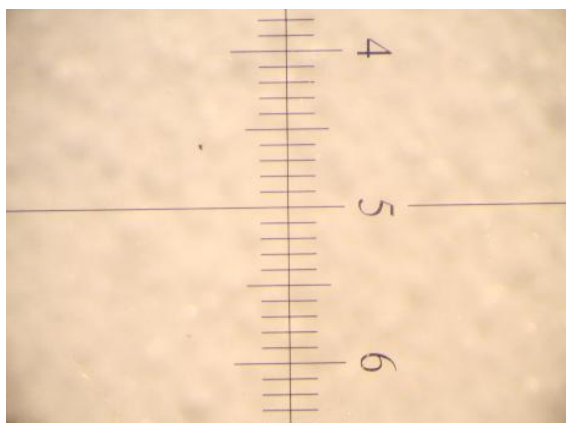
Obr. 13. Fotka juvenilní perlorodky zhotovená stereoskopickým mikroskopem + digitálním fotoaparátem.

4.5. Metodika zpracování dat

Všechny naměřené hodnoty tj. konduktivita, pH z počátku i z konce testu, včetně čísel fotek jedinců, na začátku i na konci testu se vložily do Excelové tabulky. Do tabulky se postupně doplňily změřené rozměry schránek perlorodek. Měření se provádělo v počítačovém softwaru ImageJ, do kterého byly fotky nahrány. Každý jedinec byl focen 2x pro možnost výběru ostřejší a kvalitnější fotografie, aby změřené délky schránek byly pro testovací analýzu co nejpřesnější. Vždy se měřila nejdelší osa schránky a zjištěné rozměry v pixelech se doplňily do tabulky k příslušnému číslu fotky jedince v daném prameništi (tab. 4.). Po změření 8 jedinců se vždy provedla kalibrace přeměření měřítka (obr. 14.) v softwaru ImageJ a hodnota odchylky se taktéž zaznamenala a zohlednila při analýze. Stejným způsobem měření se postupovalo i při měření fotek schránek jedinců z konce testu. Všechny změřené rozměry se převedly z jednotek pixelů do jednotek mikrometrů se zohledněním kalibrační odchylky. Výslednou hodnotou, byl rozdíl velikosti přírůstku schránek na začátku testu a přírůstek na konci testu, tedy celkový přírůstek schránky jedince po 10 dnech testu (tab. 5.).

jedinec	konduktivita start	pH start	teplota start	přežití	fotka použitá pro měření	délka jedince (pixely)	délka jedince (μm)
					4252	1062,153	
1_1	57,4	6	16,2	1	4249	987,114	0,926772
1_2	57,4	6	16,2	1	4254	881,837	0,82793
1_3	57,4	6	16,2	1	4257	939,307	0,881887
1_4	57,4	6	16,2	1	4258	941,947	0,884366
1_5	57,4	6	16,2	1	4261	1095,226	1,028275
1_6	57,4	6	16,2	1	4263	960,675	0,901949
1_7	57,4	6	16,2	1	4264	993,018	0,932315
1_8	57,4	6	16,2	1	4267	1005,645	0,94417
					4269	1068,067	

Tab. 4. Tabulka (první vzorek) na začátku testu s doplněnými změřenými hodnotami vzorku (konduktivita, pH, teplota), hodnotou kalibrační odchylky číslem fotek jedinců a délkami schránek perlorodek v pixelech s přepočtem na mikrometry.



Obr. 14. Měřítko používané pro kalibraci a pro zjištění odchylek měření v softwaru ImageJ.

jedinec	fotka použitá pro měření	délka jedince (pixely)	délka jedince (μm)	konduktivita konec	pH konec	O ₂ konec	přírůstek (μm)
	5154	1068,152	1000				
1_1	5156	999,63	0,938366	43,1	6,4	103,8	0,011594
1_2	5157	899,816	0,844669	43,1	6,4	103,8	0,016739
1_3	5160	978,207	0,918256	43,1	6,4	103,8	0,036369
1_4	5162	951,109	0,892819	43,1	6,4	103,8	0,008453
1_5	5163	1125,268	1,056304	43,1	6,4	103,8	0,028029
1_6	5166	993,358	0,932478	43,1	6,4	103,8	0,030529
1_7	5167	1029,857	0,96674	43,1	6,4	103,8	0,034425
1_8	5170	1035,852	0,972368	43,1	6,4	103,8	0,028198
	5172	1062,424					

Tab. 5. Tabulka (první vzorek) po ukončení 10 denního pokusu s doplněnými změřenými hodnotami vzorku (konduktivita, pH, obsah rozpuštěného kyslíku), hodnotou kalibrační odchylky, číslem fotek jedinců a délkami schránek perlorodek v pixelech s přepočtem na mikrometry a konečným přírůstkem (μm).

4.5.1. Statistická analýza dat

Data byla testována pomocí obecného lineárního modelu v softwaru R.

Byl použitý model, ve kterém byla jako vysvětlovaná proměnná průměrný přírůstek jedince ve vzorku za dobu 10 dní. Data pro statistickou analýzu v softwaru R prvních 10 vzorků jsou znázorněny v (tab. 6.).

Vysvětlující proměnné byly:

Model A:

- 1) konduktivita počátečního vzorku
- 2) pH počátečního vzorku
- 3) nadmořská výška prameniště - zdroje detritu

Model B:

- 1) konduktivita vzorku po skončení experimentu
- 2) pH vzorku po skončení experimentu
- 3) nadmořská výška prameniště - zdroje detritu

vzorek	kstartopr	phstart	delkazac	delkakonec	konkonec	phkonec	prirustek	nadmorem
1	57,4	6	0,915958	0,94025	43,1	6,4	0,024292	850
2	78,5	6,2	0,910017	0,920446	50,9	6,7	0,01043	853
3	74,9	6,25	0,867901	0,898061	44,2	6	0,03016	813
4	48,47	5,7	0,856013	0,868436	33	6,7	0,012423	1142
5	52,27	6,2	0,909485	0,937707	36,7	6,6	0,028222	1008
6	50,47	5,8	0,86081	0,879544	33,5	6,5	0,018733	1036
7	50,77	6	0,906964	0,932103	35,6	6,36	0,025139	1019
8	53,47	6,35	0,842408	0,866539	37,1	6,5	0,024131	1032
9	54,77	5,7	0,900839	0,912255	43,3	6,35	0,011569	1002
10	58,37	5,2	0,834909	0,849059	49,8	5,8	0,020182	970

Tab. 6. Finální hodnoty prvních deseti ze sta testovaných vzorků detritu použitých v testovací analýze obou modelů A i B.

5 Výsledky

5.1. Výsledky modelu A a B

V modelu A i B vyšel jako signifikantní faktor konduktivita ($p < 0,01$).

V obou případech bylo zaznamenáno, že se vzrůstající konduktivitou (mineralizací) vzorku, roste přírůst jedinců ve vzorcích.

5.1.1. Model A

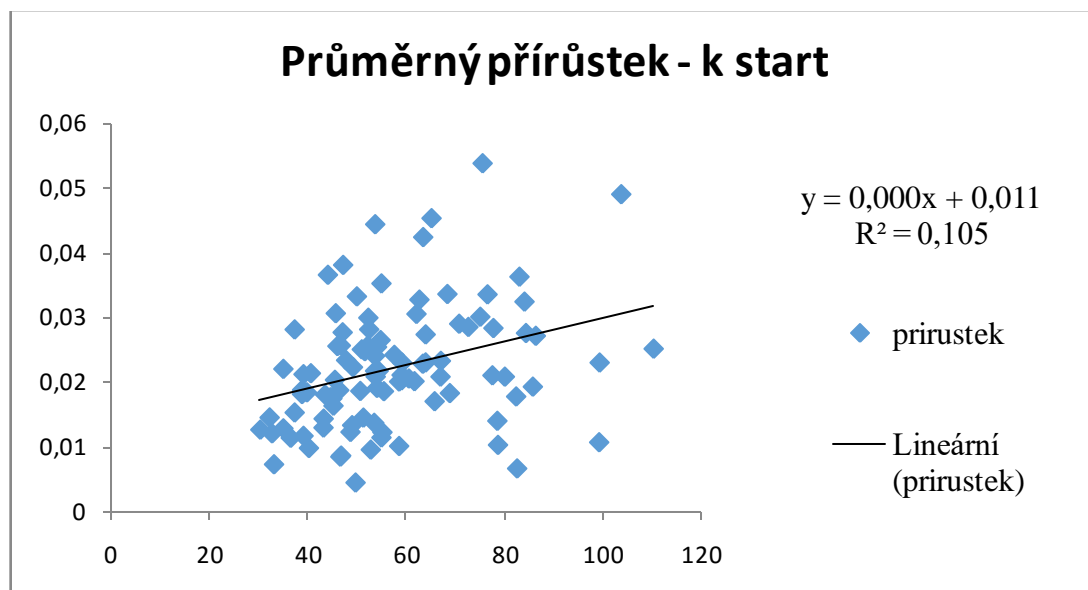
1) Konduktivita počátečního vzorku

Při měření konduktivity na začátku testu se používaly dva různé přístroje s odlišnými výslednými hodnotami, proto se nejprve tyto systematické chyby opravily posunem střední hodnoty a následně se pro analýzu použily pouze tyto opravené hodnoty konduktivity. Statistickou analýzou byla hodnocena souvislost mezi konduktivitou jednotlivých vzorků detritu na začátku testu a jeho vliv na konečný přírůstek perlorodek v daném vzorku. Vstupní hodnoty pro testovací analýzu byly hodnoty konduktivity (start opravená) a průměrný přírůstek perlorodek v daném vzorku (tab. 7.).

vzorek	konduktivita start	Konduktivita start opravená	pH start	délka začátek	délka konec	konduktivita konec	pH konec	přírůstek	nadmořská výška
1	57,4	57,4	6	0,915958	0,94025	43,1	6,4	0,024292	850

Tab. 7. Vyznačené vstupní hodnoty (první vzorek) pro analýzu vztahu mezi konduktivitou (start opravená) a přírůstkem perlorodek.

Statistickou analýzou byla prokázána vzájemná souvislost hodnot konduktivity na začátku testu a průměrného přírůstku perlorodek po 10 dnech testu. Čím byla hodnota konduktivity vzorku na začátku testu vyšší, tím byl i vyšší přírůstek schráněk perlorodek na konci testu (Graf 1.).



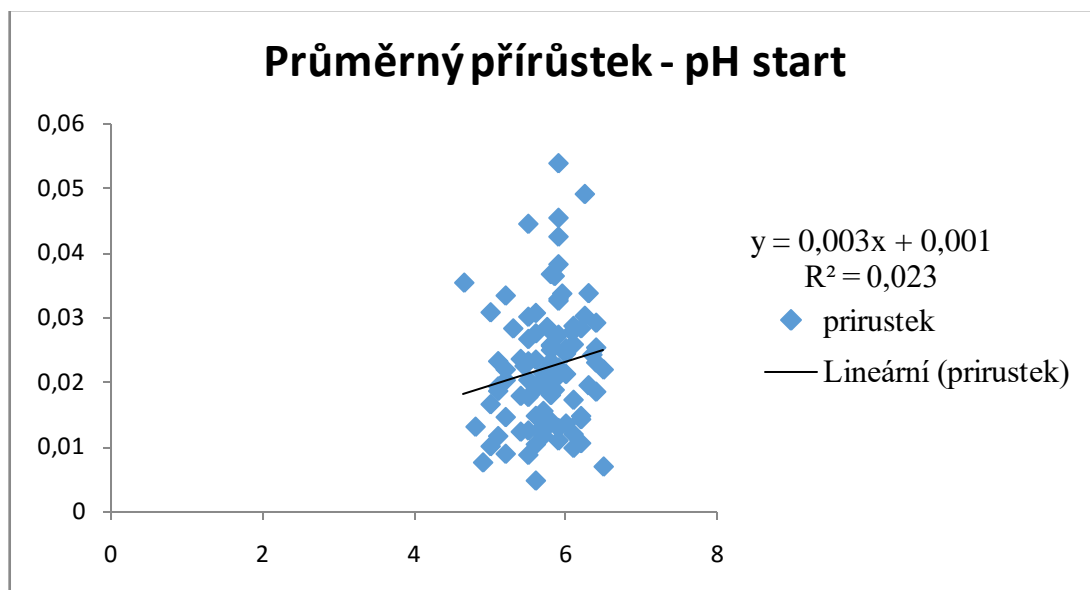
Graf. 1. Vztah konduktivity vzorku na začátku testu a průměrného přírůstu perlorodek.

2) pH počátečního vzorku

Analýza testovala vzájemný vztah mezi pH vzorku na začátku testu a velikosti přírůstu. Testovalo se tedy, zda hodnoty pH vzorku, které byly v rozmezí hodnot 4,65 – 6,5 ovlivnily růst testovaných perlorodek, vzájemným srovnáním pH hodnot jednotlivých vzorků skončeným průměrným přírůstkem perlorodek. Vstupní hodnoty pro analýzu jsou znázorněny v (tab. 8.). Výsledky ukazují, že hodnoty pH vzorků na začátku testu, neměly žádný vliv na průměrný přírůstek perlorodek (graf 2.).

vzorek	konduktivita start	konduktivita start opravená	pH start	délka začátek	délka konec	konduktivita konec	pH konec	přírůstek	nadmožská výška
1	57,4	57,4	6	0,915958	0,94025	43,1	6,4	0,024292	850

Tab. 8. Vstupní hodnoty (první zorek) pro vztahu mezi pH (start) a průměrného přírůstu.



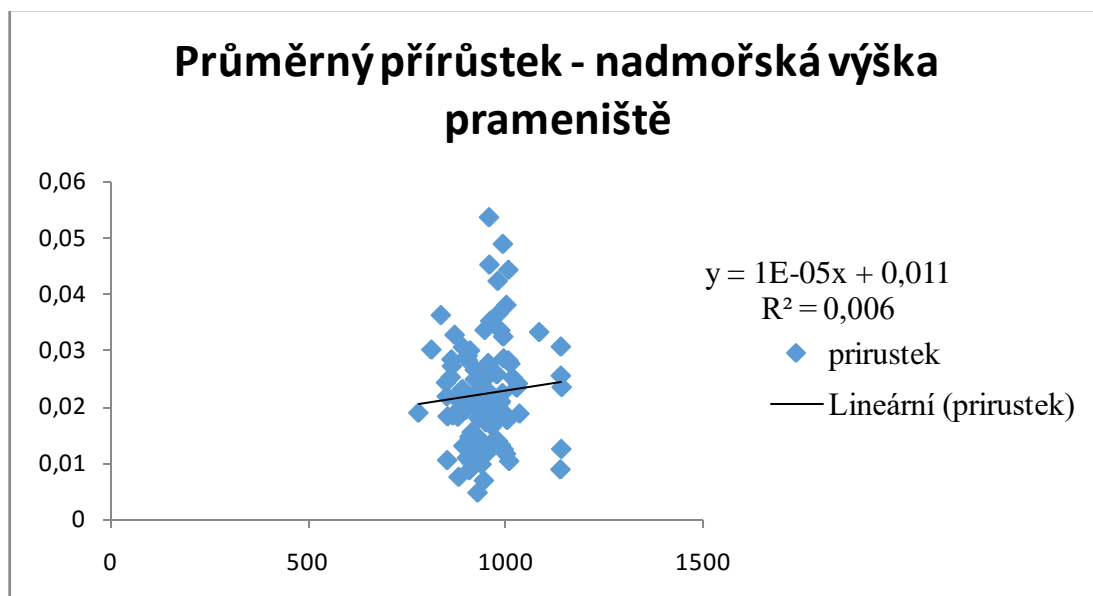
Graf 2. Vztah pH vzorku na začátku testu a přírůstku perlorodek.

3) Nadmořská výška prameniště – zdroj detritu

Analyzovala se vzájemná souvislost mezi nadmořskou výškou prameniště, kde byl vzorek odebrána úživností detritu a tedy jeho vliv na přírůstkem perlorodek. Vstupní hodnoty použité v analýze jsou znázorněny v (tab. 9.). Výsledky analýzy prokazují, že nebyl zjištěný žádný vliv nadmořské výšky na úživnost detritu a tedy ani na přírůstek perlorodek (graf 3.).

vzorek	konduktivita start	konduktivita start opravená	pH start	délka začátek	délka konec	konduktivita konec	pH konec	přírůstek	nadmořská výška
1	57,4	57,4	6	0,915958	0,94025	43,1	6,4	0,024292	850

Tab. 9. Vstupní hodnoty (první vzorek) pro zjištění vztahu mezi nadmořskou výškou, úživností detritu a růstem perlorodek.



Graf 3. Z hodnot v grafu je patrné, že nadmořská výška prameniště neměla vliv na úživnost detritu a tedy ani na růst perlorodek.

5.1.2. Model B

Statistické analýzy testovaly stejně jako u modelu A hodnoty konduktivity, pH vzorku a nadmořské výšky prameniště a jejich vzájemný vztah na přírůstek perlorodek. Avšak oproti modelu A byly vstupními daty, hodnoty daných veličin změřené na konci testu, tedy po 10 dnech.

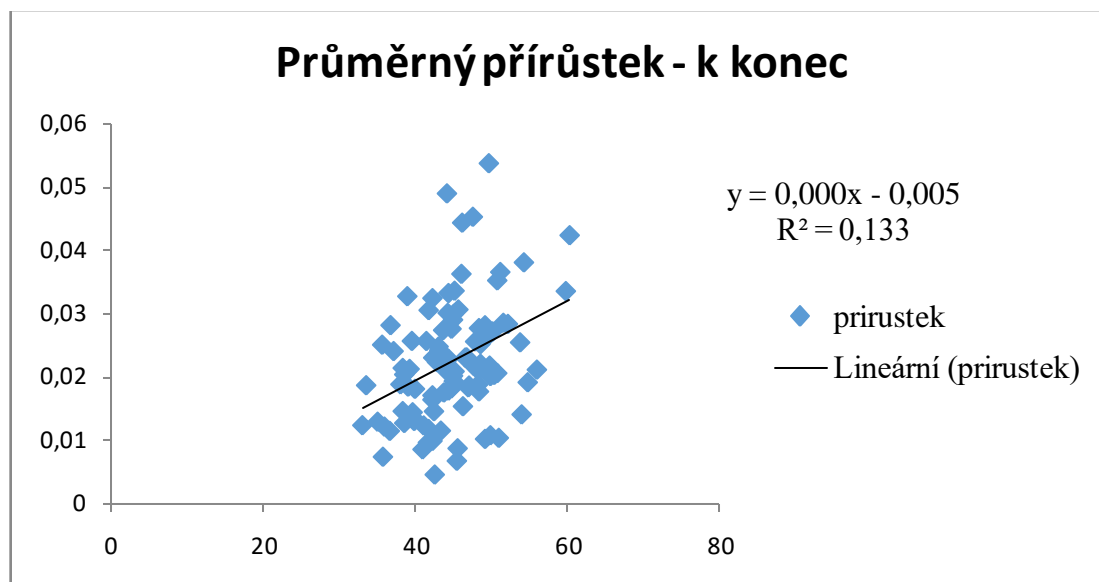
1) **Konduktivita vzorku po skončení experimentu**

Analyzovaly se změněné hodnoty konduktivity, které byly změřeny po 10 dnech experimentu a jejich vliv na přírůstek perlorodek. Vstupní hodnoty použité v analýze jsou znázorněny v (tab. 10.).

vzorek	konduktivita start	konduktivita start opravená	pH start	délka začátek	délka konec	konduktivita konec	pH konec	přírůstek	nadmořská výška
1	57,4	57,4	6	0,915958	0,94025	43,1	6,4	0,024292	850

Tab. 10. Vstupní hodnoty (první vzorek) pro analýzu vztahu mezi konečnou konduktivitou vzorku a průměrného přírůstku perlorodek.

Výsledky analýzy dokazují vzájemnou souvislost velikosti konduktivity na konci testu a velikosti přírůstku jedinců po 10 dnech testu. Se zvyšující se hodnotou konduktivity roste i velikost přírůstku jedinců (graf 4.).



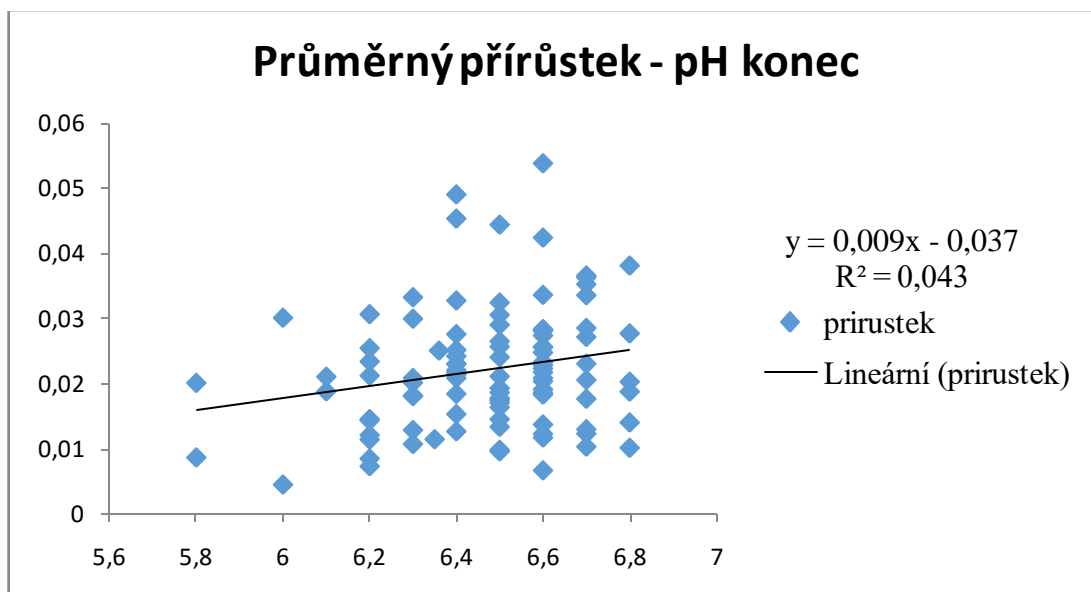
Graf 4. Konduktivita vzorku na konci testu a průměrný přírůstek perlorodek.

2) pH vzorku po skončení experimentu

Analýzou se testovalo, zda hodnoty pH, které se nepatrně zvýšily během 10 dnů testování a pohybovaly se v rozmezí hodnot 5,8 – 6,8 měly vliv na přírůstek perlorodek. Vstupní data viz (tab. 11.). Výsledky analýzy potvrzují, že i přes mírné zvýšení pH vzorků během testu, nebyl pozorován žádný vliv na průměrný přírůstek perlorodek (graf 5.).

Vzorek	konduktivita start	konduktivita start opravená	pH start	délka začátek	délka konec	konduktivita konec	pH konec	přírůstek	nadmořská výška
1	57,4	57,4	6	0,915958	0,94025	43,1	6,4	0,024292	850

Tab. 11. Vstupní hodnoty (první vzorek) pro analýzu vztahu mezi pH na konci testu a průměrného přírůstku perlorodek.

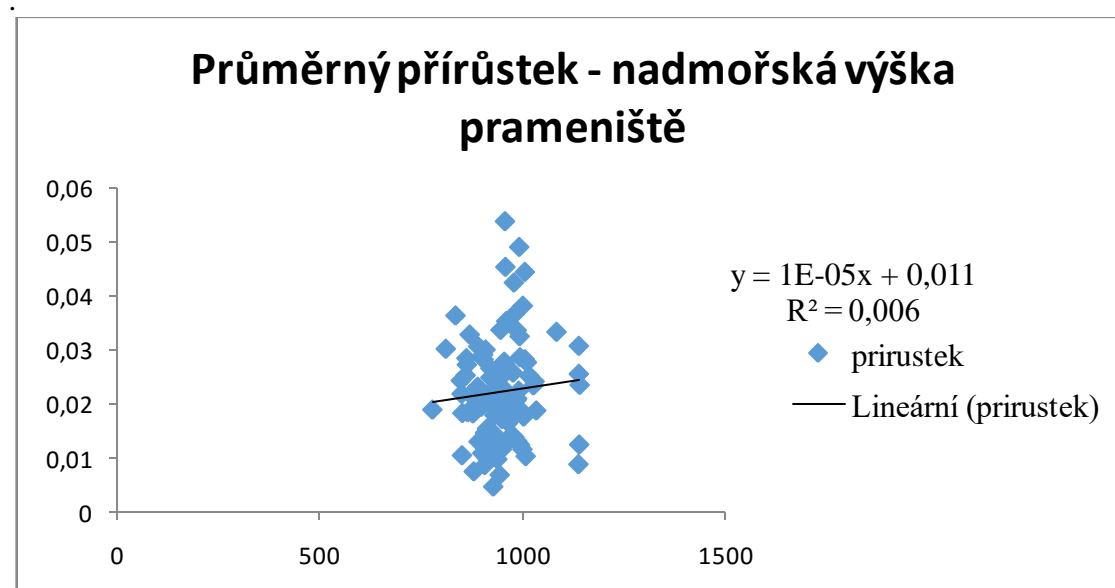


Graf 5. Znáznorňuje hodnoty pH vzorku na konci experimentu ve vztahu k průměrnému přírůstku perlorodek.

3) Nadmořská výška prameniště - zdroje detritu

Stejně jako u modelu A byl hodnocen vzájemný vztah nadmořské výšky prameniště, odkud byl vzorek odebrán na úživnost detritu a na přírůstek perlorodek.

Výsledky analýzy modelu B jsou stejné, jako výsledky v modelu A, potvrdilo se, že nadmořská výška neměla vliv na úživnost detritu na konci experimentu a tedy ani vliv na konečný průměrný přírůstek perlorodek (graf 6.).

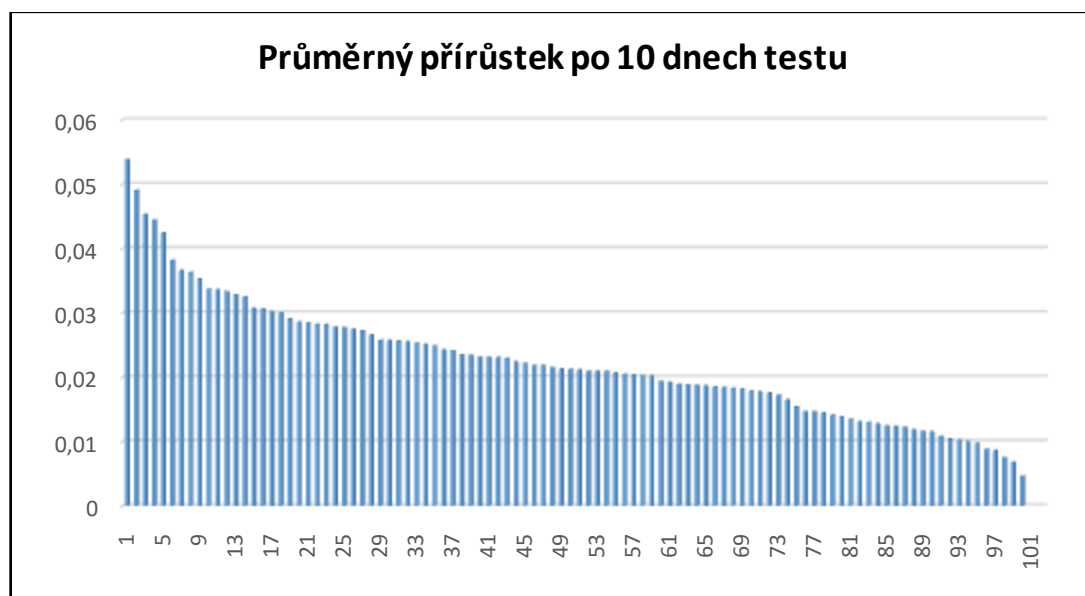


Graf 6. Nadmořská výška jednotlivých pramenišť a průměrné přírůstky perlorodek na konci testu.

Průměrné přírůstky perlorodek na konci testu lze rozdělit do 6 kategorií, které jsou znázorněny v (tab. 12.). Ze 100 testovaných vzorků byla kategorie č. 4 nejvíce zastoupena s počtem 41 vzorků, naopak kategorie č. 1 se vyskytla pouze v 1 vzorku. Z toho vyplývá, že po 10 dnech testu byl přírůst perlorodek nejčastěji 20 – 30 μm . Grafické znázornění průměrných přírůstků perlorodek na konci testu viz (graf 7.).

kategorie	přírůstek (mm)	počet	průměr
1	> 0,05	1	0,053
2	> 0,04	4	0,045
3	> 0,03	13	0,033
4	> 0,02	41	0,023
5	> 0,01	34	0,015
6	< 0,01	7	0,007

Tab. 12. Kategorie průměrných přírůstků perlorodek po ukončení testu.



Graf 7. Grafické znázornění průměrných přírůstků perlorodek ve 100 testovaných vzorcích detritu po ukončení 10 denního testu

6 Diskuse

V České republice jsou kromě Ašského výběžku tři hlavní lokality perlorodkových toků, do kterých patří řeka Blanice, Zlatý potok a Teplá Vltava. V těchto lokalitách jsou realizovány aktivity pro záchranu a obnovu populací perlorodky říční. V řece Blanici se nachází doposud nejpočetnější populace perlorodky říční, čítající řádově deset tisíc adultních jedinců. Dle genetických analýz tvoří perlorodky v této lokalitě samostatnou Blanickou CU (conservation unit = ochranná jednotka). Lokální populace perlorodek adaptované na místní podmínky nebo na místní formu pstruha potočního vytvářejí v této řece vysokou genetickou variabilitu (Machorodon et al., 2003). V současné době se v této oblasti výzkumné práce soustředí na procesy spojené s tvorbou detritu a jeho následným transportem v povodí. Hlubší poznatky o fungování detritových řetězců pak umožňují navrhnout účinnější opatření k podpoře přežívání juvenilních jedinců. Bioindikační metody a sledování fyzikálně-chemických vlastností vody jsou v České republice součástí standardního monitoringu kvality prostředí. Pro perlorodku říční je důležitá kvalita i kvantita potravy – detritu, vznikajícího v prameništích a mechanismu jeho transportu v toku. Tvorba detritu je ovlivněna druhovým zastoupením lučních společenstev a kvalita vyplavovaného detritu je ovlivněna půdními poměry a intenzitou komunikace s povrchovou vodou. Další důležitou vlastností detritu je jeho chemické složení, které se může měnit v závislosti na hloubce výskytu v toku. Bylo pozorováno jiné složení detritu v intersticiálu dna nebo na jeho povrchu (Peltanová et Švanyga, 2013). Nové metody umožňují rozlišit detrit s různým stupněm úživnosti pro jednotlivé věkové fáze perlorodky (Denic et al., 2014).

Hodnocení úživnosti detritu v této diplomové práci bylo prováděno metodou ex-situ na 100 odebraných vzorcích v laboratorních podmínkách za standardní teploty. To umožňovalo eliminovat působení faktoru teploty a ovlivnit tak výsledná data, vypovídající o kvalitě a úživnosti testovaného detritu. Výsledek statistické analýzy ukazuje, že mineralizace vody ve vzorku významně souvisí s přírůstkem juvenilních jedinců, a to i při konstantní teplotě. Dále nebyl zaznamenán žádný vliv pH vzorku na přírůstek jedinců, ani souvislost nadmořské výšky zdroje a jeho úživnosti. Data ukazují, že mortalita jedinců je minimální ve všech detritech ze studovaných pramenišť.

Při srovnání výsledných dat, které uvádí AOPK (2013) z krátkodobých testů metodou ex-situ prováděných na vzorcích detritu z pramenišť řeky Blanice se potvrzuje,

že tento detrit vykazuje dobrou úživnost. Hodnocený detrit se testoval v laboratorních nádobách s 5 až 10 juvenilů (50 ml vody/exemplář, výška hladiny max. 10 mm), při stabilní teplotě prostředí 17 - 18 °C. Juvenilní perlorodky, které byly v druhé růstové periodě a měly velikost větší než 1000 µm, byly vloženy do misky po 5 až 10 jedincích. Testovaný detrit byl upraven filtrací a výška vrstvy v nádobách byla max. 1 mm. Doporučená doba testu byla 20 dní s výměnou detritu po 10 dnech. Tento uvedený typ testu, byl proveden k přímému hodnocení úživnosti vzorků detritu, testování podmínek pro přežívání druhu, vyhodnocení efektivity prováděných managementových zásahů (OPK, 2013).

Lokalita, z které byly vzorky detritu odebrány a hodnoceny v této práci, byla již také testována v roce 2009, 2012 a 2013 bioindikačními testy in-situ v přirozeném prostředí. Cílem testů v této lokalitě bylo vyhodnotit úživnost detritu v hlavním toku Blanice. Hlavními hodnocenými daty byly velikosti schránek perlorodek a délky nekoroďované části ligamentu vůči koroďované části v konkrétní růstové periodě po předem stanovenou dobu. Získaná data byla následně hodnocena dle standardní metodiky. Výsledky poukazují na nižší až střední úživnost detritu a jeho zřejmou variabilitu v kvalitě při meziročním porovnání (Spisar, 2013). Postupné snižování úživnosti toku je důsledkem obsáhlého rašelinění v pramenné části, což potvrzuje bioindikace z roku 2009, které porovnávaly přírůstky juvenilních jedinců na Blanici, Teplé Vltavě a Zlatém potoce. Výsledky potvrzují, že v hlavním toku Blanice nejmladší vývojová stadia perlorodek vůbec nepřirůstala. V roce 2012 daný profil opakovaně dosahoval středně úživné a jednou i mimořádně úživné hodnoty, kdežto v roce 2013 byl hodnocen jako podprůměrně úživný (Peltanová et Švanyga, 2013).

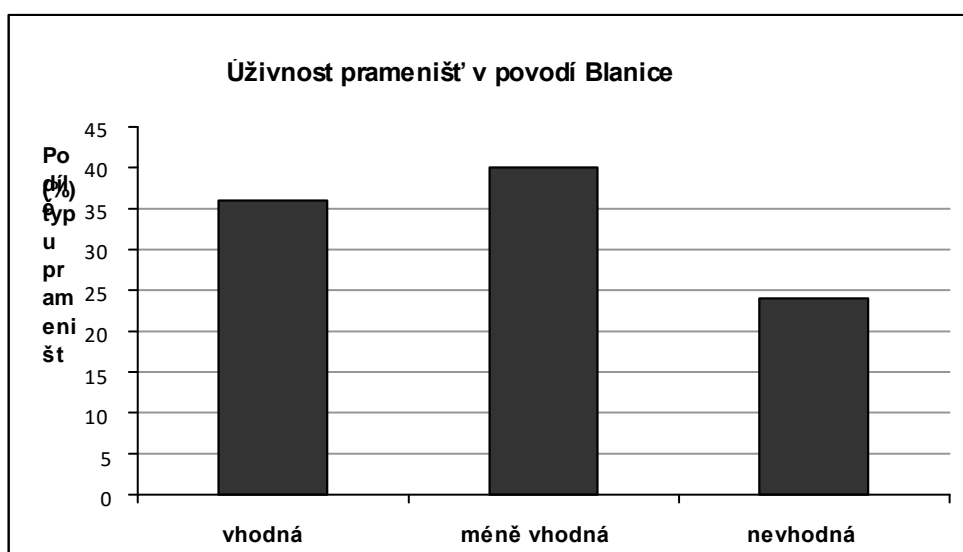
Podle kategorizace úživnosti detritu, který uvádějí Denic et al. (2014), by se testovaný detrit v roce 2012 řadil do kategorie č. 3. středně úživný s přírůstkem 99 – 76 µm a do kategorie č. 1. mimořádně úživný, s přírůstkem > 150 µm a v roce 2013 do kategorie č. 4. tedy podprůměrně úživný s přírůstkem 75 – 50 µm.

Další test úživnosti detritu byl prováděn na odchovném prameni řeky Blanice, kde se sledovala kvalita managementu a jeho vliv na růst a přežívání perlorodek. Po ukončení testu byly hodnoty relativního přírůstku jedinců z každé destičky průměrovány pro další analýzy. Poté se z každé destičky, vybraly, tři nejlépe přirůstající jedinci a zprůměrovaly se jejich relativní přírůstky. Výsledky vedou k závěru, že perlorodky vstupujících do druhé růstové periody (1⁺) s průměrnými přírůstkem 116 % a 121 % (TOP3) se pohybují hluboko pod hranicí 150 % tedy nedostatečného růstu.

Jedinci vstupující do desáté růstové periody (9⁺), patnácté (14⁺) a sedmnácté (16⁺) již dorůstaly kolem optimální hranice růstu. Z toho je patrné, že místní management má vliv na kvalitu potravy, která je pro juvenilní perlorodky v druhé růstové periodě (1⁺), ne zcela vyhovující a vykazují nedostatečný růst, ve srovnání s jedinci ve vyšších růstových periodách. (Peltanová et Švanyga, 2013).

Studie ukazují, že potravní zásobení Blanice je relativně dobré oproti lokalitám na Ašsku. Avšak porovnáním výsledků z bioindikací na Teplé Vltavě bylo zjištěno, že zde submerzní vegetace tvořící pro perlorodku hlavní zdroj potravy a následný rozklad rostlinných těl, je zde vzniklý organogenní detrit ve srovnání s ostatními lokalitami nejuživnější (Švanyga et al., 2013). I přesto, že je potravní zásobení Blanice relativně dobré, výsledky bioindikací stále vykazující nedostatečný růst až jeho stagnaci juvenilních stádií perlorodek, pravděpodobně z nedostatku vhodného detritu, teploty a parametry kvality vody – celkový fosfor. Potravní zásobení Blanice pochází z rozsáhlé sítě pramenišť, nebo z mezotrofních lučních společenstev zejména (*Alopecurium pratensis*) s dominantním zastoupením lipnicovitých trav. Detrit z pramenišť Blanice přibližně obsahuje 25 % partikulí, které velikostně odpovídají přijímané potravě juvenilními perlorodkami. Dalšími složkami jsou fekální pelety 50 % a rostlinné zbytky 20 % (Hruška, 2000).

Hruška (2004) uvádí, že při mapování přibližně 1000 nezamrzajících pramenišť řeky Blanice, bylo provedenými bioindikacemi prokázána dobrá úživnost detritu (graf 8.). Avšak významná část pramenišť není na hlavní tok Blanice napojena.



Graf 8. Vyhodnocení úživnosti pramenišť v povodí řeky Blanice (Hruška, 2004).

Dalším významným problémem úživnosti některých toků a pramenných oblastí je postupné ochlazování povodí vlivem zarůstání sukcesními porosty. Teplota vody ovlivňuje rozklad organického detritu a množství rozpuštěných látek, které pak perlorodky mohou přijímat jako potravu. Čím je teplota vody nižší, tím se i snižuje rozklad detritu a jeho využitelnost pro perlorodky. V teplejší sezóně roku se ve vodě vyskytuje vyšší počet larev hmyzu, jejichž exkrementy mohou sloužit jako zdroj potravy perlorodkám (Hruška, 2004). Tento poznatek potvrzují Saucedo et al. (2009) svým experimentem závislosti teploty a potravy prováděném na druhu (*Pinctada mazatlantica*) s výsledným závěrem, že je výhodnější vyšší teplota.

7 Závěr

Hlavním cílem této práce bylo vyhodnotit růst juvenilních jedinců perlorodky říční v závislosti na úživnosti potravy a její fyzikálně-chemickým vlastnostem. Hodnocení se provádělo krátkodobou bioindikací metodou ex-situ v řízených laboratorních podmínkách.

- 1) Testovalo se 100 vzorků detritu z pramenišť řeky Blanice, do kterých se po úpravě dle standardní metodiky umístily juvenilní perlorodky, v druhé růstové vývojové fázi (1⁺).
- 2) Testovaný detrit po změření fyzikálně-chemických parametrů na začátku a na konci testu nevykazoval nadlimitní hodnoty hlavních analyzovaných parametrů (pH, konduktivita).
- 3) Výsledek statistické analýzy, závislosti konduktivity na velikosti přírůstků vyšel jako signifikantní ($p < 0,01$) pro oba modely A i B (na počátku a na konci testu). V obou případech bylo zaznamenáno, že se vzrůstající konduktivitou (mineralizací) vzorku, roste přírůstek jedinců ve vzorcích. Průměrný přírůstek na 100 testovaných vzorků byl 0,029 mm, z toho (1 %) jedinců vykazovalo průměrný přírůstek 0,053 mm, (7 %) 0,049 mm, (10 %) 0,035 mm, (41 %) 0,029 mm, (34 %) 0,019 mm, (7 %) 0,009 mm.
- 4) Statistickou analýzou hodnotící vztah parametru pH a nadmořské výšky prameniště na přírůstek perlorodek nebyl zaznamenán žádný vliv.
- 5) Data ukazují, že mortalita jedinců byla minimální ve všech detritech z testovaných pramenišť.

Celkové výsledky potvrzují, že detrit v prameništích ve studovaném území řeky Blanice vykazuje dobrou kvalitu i dobré fyzikálně-chemické vlastnosti a je netoxický. Proto, je ochrana těchto pramenišť důležitá pro záchranu a obnovu populací perlorodky říční v Blanici. Ochrana spočívá v realizaci různých opatření, jako je např. odstranění náletových dřevin v okolí pramenišť a drobných přítoků s cílem prosvětlit a tedy i

následně prohřát půdy v okolí. Očekávaným efektem je podpora tvorby potravy, zrychlením rozkladu rostlinné a živočišné biomasy, díky mikrobiálnímu oživení. Další ochranné opatření je obnova drobných přítoků v povodí, která umožňují transport detritu z pramenišť do hlavního toku. Také je důležitá eliminace rizik znečištění nejen v prameništích, ale i v hlavním toku řeky a stabilizace tepelných poměrů vody.

8 Seznam literatury

Absolon, K., a Hruška, J. 1999. Záchranný program: Perlorodka říční *Margaritifera margaritifera* Linnaeus, 1758. Praha: AOPK ČR.

AOPK ČR. 2013. Záchranný program perlorodky říční *Margaritifera margaritifera* v České republice. 77 s.

Barnhart, MC. 2006. Buckets of muckets a compact system for rearing juvenile freshwater mussels. *Aquaculture*. p. 254. ISBN: 227233.

Beran, L. 1998. Vodní měkkýši ČR. 1. vydání. Vlašim ZO ČSOP Vlašim. Metodika Českého svazu ochránců přírody. 17. 113 s. ISBN: 809024694.

Beran, L. 2002. Vodní měkkýši České republiky rozšíření a jeho změny, stanoviště, šíření, ohrožení a ochrana, červený seznam. Zlín. Muzeum jihovýchodní Moravy. Sborník Přírodovědného klubu v Uherském Hradišti. 258 s. ISBN: 8086485056.

Bílý, M., Simon, O. 2007. Water quality issues in the protection of oligotrophic streams with the occurrence of pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*) in the Czech Republic. *Acta Universitatis Carolinae Environmentalica*. 21. 21–30.

Bolland, J. D., Bracken, L. J., Marin, R., Lucas, M. C. 2010. A protocol for stocking hatchery reared freshwater pearl mussel *Margaritifera*. *Aquatic Conservation. Marine and Freshwater Ecosystems*. 20. 695–707.

Buddensiek, V. 1991. Untersuchungen zu den Aufwuchsbedingungen der Flußperlmuschel *Margaritifera margaritifera* L. (Bivalvia) in ihrer frühen postparasitären Phase. PhD Thesis. University of Hannover. Germany.

Buddensiek, V. 1995. The culture of juvenile freshwater pearl mussels *Margaritifera margaritifera* L. in cages: a contribution to conservation programmes and the knowledge of habitat requirements. *Biological Conservation*. 74. 33–40.

- Dort, B. 2010. Perlorodka říční *Margaritifera margaritifera* L. v povodí horního toku Teplé Vltavy 2010. Freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* L. in the Teplá Vltava basin in 2010. Ms. Unpublished report. p. 38.
- Dyk, V. 1947. České perly: život, ochrana a národohospodářský význam perlorodek. 1. vydání, Praha. Jos. R. Vilímek. Světem a přírodou.
- Gatenby, C. M., Neves, R. J., Parker, B. C. 1996. Influence of sediment and algal food on cultured juvenile freshwater mussels. *Journal of the North American Benthological Society*. 15. 597–609.
- Geist, J., Auerswald, K. 2007. Physicochemical stream bed characteristics and recruitment of the freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*). *Freshwater Biology*. 52 (12). 2299-2316.
- Geist, J. 2010. Strategies for the conservation of endangered freshwater pearl mussels *Margaritifera margaritifera* L. a synthesis of Conservation Genetics and Ecology. *Hydrobiologia*. 644. 69-88.
- Geist, J., Kuehn, R. 2005. Genetic diversity and differentiation of Central European freshwaterpearlmussel *Margaritifera margaritifera* L. populations. Implications for conservation and management. *Mol. Ecol.* 14. 425–439.
- Gum, B., Lange, M., Geist, J. 2011. A critical reflection on the success of rearing and culturing juvenile freshwater mussels with a focus on the endangered freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* L. *Aquatic Conservation. Marine and Freshwater Ecosystems*. 21. 743–751.
- Hastie, L. C., Young, M. R. 2003. Conservation of the freshwater pearl mussel I. Captive breeding techniques. In *Conserving Natura 2000 Rivers Ecology Series*. No. 2. English Nature. Peterborough.
- Horne, F. R., McIntosh, S. 1979. Factors influencing distribution of mussels in the Blanco River of Central Texas. *Nautilus*. 94. 119–133.
- Hruška, J. 1995. Program *Margaritifera*. Záchrana genofondu oligotrofních vod v ČR metodou aktivní ochrany biotopu a populace perlorodky říční. Výsledná zpráva za období 1993 - 1994. Manuscript. depon. in AOPK. Praha. 108 s.

- Hruška, J. 2000. Projekt komplexní péče o NPP Blanice. Závěrečná zpráva za období 1996 – 1999. Manuscript. depon. in AOPK. Praha. 101 s.
- Hruška, J. 2001. Záchranný program perlorodky říční v NPP Blanice. Závěrečná zpráva za rok 2000. Manuscript, depon. in AOPK. Praha. 21 s.
- Hruška, J. 2004. Vyhodnocení úživnosti detritu z vybraných pramenišť a částech toku pramenných oblastí Blanice a Zlatého potoka a využitím juvenilních perlorodek. Depon. AOPK ČR. 23 s.
- Hruška, J. 2005. Perlorodka říční *Margaritifera margaritifera* L. na Zlatém potoce. Stav populace v roce 2005 The freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera* L.) in the Zlatý Potok stream. The population state in 2005. AOPK ČR Praha.
- Chytrý, M., Kučera, T., Kočí, M. 2001. Acidofilní doubravy Katalog biotopů České republiky. Agentura ochrany přírody a krajiny ČR. Praha. 206-212
- Jones, J. W., Neves, R. J., Ahlstedt, S. A., Mair, R. A., 2004. Life history and propagation of the endangered dromedary pearlymussel *Dromus dromas* (Bivalvia:Unionidae). Journal of the North American Benthological Society. 23. 515–525.
- Jones, J. W., Mair, R. A., Neves, R. J. 2005. Factors affecting survival and growth of juvenile freshwater mussels cultured in recirculating aquaculture systems. North American Journal of Aquaculture. 67. 210–220.
- Kelley, W. P. 1942. Modern clay researches in relation to agriculture. Journal of Geology. 50. 307–319.
- Lange, M., Selheim, H. 2011. Growing factors of juvenile freshwater pearl mussels and their characteristics in selected pearl mussel habitats in Saxony (Germany). Ferrantia. 64. 30–37.
- Lopes-Lima, M., Ronaldo, (eds.) S. 2016. Conservation status of freshwater mussels in Europe: state of the art and future challenges. Biological. 1-36.
- Machordom, A., Araujo, R., Erpenbeck, D., Ramos, A. M. 2003. Phylogeography and conservation genetics of endangered European Margaritiferidae (Bivalvia: Unionoidea). Biological Journal of the Linnean Society. 78 (2). 235-252.

O'Beirn, F. X., Neves, R. J., Steg, M. B. 1998. Survival and growth of juvenile freshwater mussels (Unionidae) in a recirculating aquaculture system. *American Malacological Bulletin*. 14. 165–171.

Peltanová, A., Švanyga, J. 2013. Vyhodnocení realizačního projektu záchranného programu perlorodky říční v ČR pro rok 2012. p. 49.

Preston S. J., Keys, A., Roberts, D. 2007. Culturing freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera*: a breakthrough in the conservation of an endangered species. *Aquatic Conservation. Marine and Freshwater Ecosystems*. 17. 539–549.

Saucedo, P. E., Martinez-López, A., Cáceres-Puig, J. 2009. Interactive effects of temperature and diet on the growth and biochemical composition of juveniles of the pearl oyster *Pinctata mazatlanica*. *Aquaculture*. 40. 1301–1309

Schlegel, H. G., Zaborosch, C. 1992. *Allgemeine Mikrobiologie*. Thieme Verlag. Stuttgart.

Simmons, G. M., Reed, J. R. 1973. Mussels as indicators of biological recovery zone. *Journal of the Water Pollution Control Federation* 45. 2480–2492.

Simon, O. P., Douda K., Kubíková, L. 2010 Perlorodka říční: a naši další velcí mlži. Výzkumný ústav vodo hospodářský T. G. Masaryka.

Simon, O. P., Vaníčková, I., Bílý M., Douda, K., Patzenhauerová, H., Hruška, K., Peltánová, A. 2014. The status of freshwater pearl mussel in the Czech Republic: Several successfully rejuvenated populations but the absence of natural reproduction. *Limnologica*. 50. 11-20.

Skinner, A., Young, M. R., Hastie, L. C. 2003. Ecology of the freshwater pearl mussel. In *Conserving Natura 2000 Rivers Ecology Series No. 2*. English Nature. Peterborough.

Spisar, O. 2012. Inventarizace perlorodky říční *Margaritifera margaritifera* v povodí Rokytnice. Závěrečná práce za roky 2011 a 2012. Depon. Archiv Bund. Naturschutz. Hof. Německo. 59 s.

Spisar, O. 2013. Polopřirozený chov perlorodek říčních *Margaritifera margaritifera* a studium jejich nutričních požadavků. České Budějovice. Disertační práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Zemědělská fakulta.

- Švanyga, J., Simon, O., Mináriková, T., Spisar, O., Bílý, M. 2013. Záchranný program perlorodky říční *Margaritifera margaritifera* v České republice. Praha. AOPK ČR. 151 s.
- Tanja, E., Frankie T., Torsten, B., Bernd, S. 2013. Aquatic conservation: marine and freshwater ecosystems Aquatic Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst. 23. 964–975.
- Wade, D. C. 1992. Definitive evaluation of Wheeler Reservoir sediment toxicity using juvenile freshwater mussels *Anodonta imbecillis*. Tennessee Valley Authority. Muscle Shoals. Alabama. USA.
- Weiss, A. 1969. Organic derivatives of clay minerals, zeolites, and related minerals. In Organic Geochemistry, Methods and Results, Elington G, Murphy MTJ (eds). Springer. Verlag. New York. p. 737–775.
- Wang, N., Ingersoll, C. G., Greer, E., Hardesty, D. K., Ivey, C. D., Kunz, J. L., Brumbaugh, W. G., Dwyer, F. J., Roberts, A. D., Augspurger, T. 2007. Chronic toxicity of copper and ammonia to juvenile freshwater mussels *Unionidae*. Environmental Toxicology and Chemistry. 26. 2048–2056.
- Zimmerman, L. L., Neves, R. J., Smith, D. G. 2003. Control of predacious flatworms *Macrostomum* sp. in culturing juvenile freshwater mussels. North American Journal of Aquaculture 65. 28–32.