

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: N4106 Zemědělská specializace  
Studijní obor: Biologie a ochrana zájmových organismů  
Katedra: Katedra biologických disciplín  
Vedoucí katedry: doc. RNDr. Ing. Josef Rajchard, Ph.D.

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Odhad věku a přírůstků lastur perlorodky říční  
(*Margaritifera margaritifera*)

Vedoucí diplomové práce: doc. RNDr. Irena Šetlíková, Ph.D.  
Konzultant: Ing. Ondřej Spisar, Ph.D.  
  
Autor diplomové práce: Bc. Karolína Holečková

České Budějovice, 2018

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Zemědělská fakulta

Akademický rok: 2017/2018

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Karolína HOLEČKOVÁ**  
Osobní číslo: **Z16326**  
Studijní program: **N4106 Zemědělská specializace**  
Studijní obor: **Biologie a ochrana zájmových organismů**  
Název tématu: **Odhad věku a přírůstků lastur perlorodky říční (*Margaritifera margaritifera*)**  
Zadávací katedra: **Katedra biologických disciplin**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :


Věk mlžů lze odhadovat z přírůstkových linií z vnější strany lastur, na jejich příčném řezu či z řezu ligamentem. Přírůstkové linie jsou vytvářeny každý rok. Mezi dvěma tmavšími (zimními) přírůstkovými liniemi by měla být vždy širší linie, která představuje přírůstek mlže za vegetační sezónu. Cílem této práce je na základě (1) morfometrických parametrů lastur perlorodky říční (*Margaritifera margaritifera*) a (2) odhadu věku a přírůstků z příčného řezu lasturou vyhodnotit kvalitu lokalit z hlediska jejich vhodnosti pro život tohoto kriticky ohroženého druhu mlže. Součástí literární rešerše bude jak přehled metod určování věku mlžů, tak faktorů ovlivňujících jejich růst.

Rozsah grafických prací: dle potřeby  
Rozsah pracovní zprávy: 50  
Forma zpracování diplomové práce: tištěná/elektronická  
Seznam odborné literatury:


- Dunca, E., Söderberg, H., Norrgrann, O., 2011. Shell growth and age determination in the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* in Sweden: natural versus limed streams. *Ferrantia*, 64: 48-58.
- Gosling, E., 2015. Marine bivalve molluscs. 2nd edition, John Wiley & Sons, UK. pp. 203-232.
- Helama, S., Valovirta, I., 2008. Ontogenetic morphometrics of individual freshwater pearl mussels (*Margaritifera margaritifera* (L.)) reconstructed from geometric conchology and trigonometric sclerochronology. *Hydrobiologia*, 610(1): 43-53.
- Mutvei, H., Westermark, T., 2001. How environmental information can be obtained from Naiad shells. In *Ecology and evolution of the freshwater mussels Unionoida*. Springer Berlin Heidelberg. pp. 367-379.
- Neves, R.J., Moyer, S.N., 1988. Evaluation of techniques for age determination of freshwater mussels (Unionidae). *American Malacological Bulletin*, 6(2): 179-188.
- Schöne, B.R., Dunca, E., Fiebig, J., Pfeiffer, M., 2005. Mutvei's solution: an ideal agent for resolving microgrowth structures of biogenic carbonates. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 228(1): 149-166.

Vedoucí diplomové práce: doc. RNDr. Irena Šetlíková, Ph.D.  
Katedra biologických disciplin  
Konzultant diplomové práce: Ing. Ondřej Spisar, Ph.D.

Datum zadání diplomové práce: 28. března 2018  
Termín odevzdání diplomové práce: 15. dubna 2018

  
prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h. c.  
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA  
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA  
studijní oddělení  
Studentstvá 1668, 370 05 České Budějovice

  
doc. RNDr. Ing. Josef Rajchard, Ph.D.  
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 28. března 2018

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem svou diplomovou práci na téma Odhad věku a přírůstků lastur perlorodky říční zpracovala samostatně s použitím pramenů a literatury uvedených na seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s §47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích, dne 11. 4. 2018

Podpis .....

## **Poděkování**

Tímto bych ráda poděkovala doc. RNDr. Ireně Šetlíkové, Ph.D. za vedení mé diplomové práce, za cenné rady, připomínky a pomoc při řešení problémů. Také děkuji Ing. Ondřeji Spisarovi, Ph.D. za pomoc při sběru lastur a za užitečné rady a informace.

## ABSTRAKT

Cílem diplomové práce bylo podle morfometrických parametrů a stáří uhynulých perlorodek říčních vyhodnotit kvalitu lokalit výskytu perlorodky říční (*Margaritifera margaritifera*) a posoudit jejich vhodnost pro případné vysazení juvenilních jedinců. Věk uhynulých jedinců byl určován z obarveného příčného řezu lasturou z perleťové vrstvy. Sběr lastur probíhal v roce 2015 a 2017 na lokalitách v ašské (Bystřina, Lužní potok, Rokytnice a Újezdský potok) a šumavské (Blanice, Kleine Ohe, Zlatý potok) oblasti výskytu v České republice a v přilehlých částech Německa. Celkem bylo použito 77 lastur. Větší rozměry lastur byly zjištěny v ašské oblasti. Průměrný věk lastur byl 46 let a mezi oblastmi se nelišil. Mezi oblastmi se nelišil se ani průměrný roční přírůstek. Ten byl  $72,5 \mu\text{m}\cdot\text{rok}^{-1}$ . Nejvyššího věku a největších přírůstků dosahovaly lastury jedinců z lokality Rokytnice a Újezského potoka. Nejnižšího věku a nejmenších přírůstků dosahovaly lastury jedinců ze Zlatého potoka.

**Klíčová slova:** perlorodka říční, lastura, věk, přírůstek

## ABSTRACT

The aim of the diploma thesis was to assess the quality of localities and their suitability for possible juvenile reintroduction based on the morphometric parameters and the age of dead freshwater pearl mussels (*Margaritifera margaritifera*). The age of the dead individuals was determined from the stained cross section of pearl shell layer. Shells were sampled on localities in Aš (Bystřina, Lužní potok, Rokytnice and Újezdský potok) and Šumava (Blanice, Kleine Ohe and Zlatý potok) in the Czech Republic and in the adjacent parts of Germany in 2015 and 2017. A total of 77 shells were used. Shells of larger sizes were found out in the Aš region. The average age of the shells was 46 years and did not differ between the regions. The average annual increments did also not differ between regions. It was  $72,5 \mu\text{m}\cdot\text{year}^{-1}$ . Shells of individuals originated from Rokytnice and Újezdský potok reached the highest age and had the greatest annual increments. Shells of individuals originated from Zlatý potok reached the lowest age and their annual increments were the lowest.

**Key words:** freshwater pearl mussel, shell, age, annual increment

# OBSAH

1. ÚVOD A CÍL PRÁCE .....	10
2. LITERÁRNÍ REŠERŠE .....	12
2.1. Perlorodka říční ( <i>Margaritifera margaritifera</i> ) .....	12
2.1.1. Lastura: morfologie a vrstvy .....	12
2.2. Metody určování věku a růstu mlžů .....	16
2.2.1. Počítání přírůstkových linií na vnějším povrchu lastury .....	18
2.2.2. Počítání přírůstkových linií na příčném řezu lasturou .....	18
2.2.3. Počítání přírůstkových linií z řezu ligamentem .....	21
2.2.4. Zjišťování přírůstků pomocí značkování a zpětného odchyty jedinců .....	21
2.2.5. Analýza distribuce četnosti délek (LFDs) .....	21
2.3. Faktory ovlivňující růst mlžů .....	23
2.3.1. Potrava .....	23
2.3.2. Hydrologické procesy, teplota a chemizmus vody .....	24
3. METODIKA .....	27
3.1. Původ jedinců a charakteristika lokalit .....	27
3.1.1. Šumavské lokality .....	28
3.1.2. Lokalita u Passova .....	29
3.1.3. Ašské lokality .....	30
3.2. Zpracování lastur .....	32
3.3. Vyhodnocení řezů pod mikroskopem .....	36
3.4. Statistické vyhodnocení .....	38
4. VÝSLEDKY .....	40
4.1. Morfologie lastur .....	40
4.1.1. Délka lastur .....	40
4.1.2. Tloušťka lastur .....	41
4.1.3. Výška lastury .....	43
4.1.4. Délka a eroze ligamentu .....	44
4.1.5. Eroze lastur .....	47
4.1.6. Hmotnost lastur .....	48



4.2. Mikroskopické parametry řezu lastur .....	51
4.2.1. Věk lastur .....	51
4.2.2. Růst lastur .....	53
4.2.3. Konchiolinové linie.....	60
4.3. Závislosti měřených parametrů .....	64
5. DISKUSE .....	71
5.1. Morfologie lastur .....	71
5.2. Mikroskopické parametry řezu lastur .....	73
5.3. Vyhodnocení kvality lokalit .....	76
6. ZÁVĚR .....	78
7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....	79

# 1. ÚVOD A CÍL PRÁCE

Perlorodka říční (*Margaritifera margaritifera*) je druh celosvětově kriticky ohroženého, sladkovodního mlže z čeledi *Margaritiferidae*. Je považována za jednoho z nejohroženějších mlžů na světě. Jedná se o druh, který splňuje kritéria indikátorového, deštníkového, klíčového a vlajkového druhu. Počty perlorodky říční v posledních letech dramaticky klesají a v některých částech areálu výskytu čelí vyhnutí (Geist, 2010). Podle IUCN je perlorodka říční hodnocena jako ohrožená (endangered; EN) (IUCN Red List, 2017). Směrnice o stanovištích ji řadí do přílohy II. a IV. a Bernská úmluva do přílohy III. Na seznamech CITES se neobjevuje. V ČR je perlorodka říční chráněna zákonem č. 114/1992 Sb. o ochraně přírody a krajiny. Na Červeném seznamu ohrožených druhů ČR je hodnocena jako kriticky ohrožená (Švanyga *et al.*, 2013).

Nejvýznamnějšími příčinami ohrožení jsou degradace biotopů a jejich fragmentace, dále negativní vliv lidské činnosti (zemědělství, eutrofizace, znečišťování a okyselování prostředí) (Geist, 2010; Sousa *et al.*, 2013). Významným problémem je i velmi malá schopnost přirozené reprodukce a nedostatek hostitelských ryb pro vývoj larev (Geist, 2010; Patzenhauerová, 2011).

Klíčovou roli má především ochrana samotného biotopu. Součástí ochrany biotopu perlorodky v ČR je i vyhlášení zvláště chráněných území (ZCHÚ) a evropsky významných lokalit (EVL) v rámci soustavy NATURA 2000. Jedná se o EVL Blanice, EVL Boletice, EVL Šumava, EVL Bystřina a Lužní potok a EVL Horní Malše (Müllerová *et Stejskal*, 2013). Významnou součástí péče o druh jsou polopřirozené odchovy juvenilních jedinců v ideálních podmínkách (tj. vhodné parametry vody a dostatek potravy) a zajištění dostatku hostitelských ryb (Švanyga *et al.*, 2013). Starší perlorodky ve věku 3 až 5 let jsou postupně navraceny na dna toků (Simon *et al.*, 2010). Navracení juvenilních jedinců do volné přírody je důležité proto, že naše populace mají obecně malou či téměř žádnou schopnost reprodukce, neboť jsou přestárlé (Patzenhauerová *et al.*, 2011).

Aby bylo možné perlorodku navracet do volné přírody, je nutno detailně monitorovat zejména abiotické podmínky (tj. teplotu a chemismus vody) v biotopech

původního výskytu. Tím dokážeme vyhodnotit kvalitu jednotlivých lokalit a zvolit tak tu nejvhodnější pro vysazení juvenilních stádií. Bioindikačně může sloužit vysazování juvenilních perlorodek do biotopů a sledování jejich přežívání a růstu (Absolon *et* Hruška, 1999; Spisar, 2010; Spisar, 2012a; Švanyga *et al.*, 2013). Z uhynulých lastur můžeme získat dlouhodobé informace o populacích. Dlouhověcí mlži jako je perlorodka říční mohou vzhledem k délce života poskytovat informace o environmentálních a klimatických změnách v dlouhém časovém horizontu. Jsou tudíž vhodné jako modelové organizmy pro nejrůznější analýzy. Podstatou těchto analýz je odhad věku a v optimálním případě i přírůstků uhynulých jedinců. Lastury uhynulých jedinců v sobě navíc odráží i chemické složení vody (Mutvei *et* Westermarck, 2001).

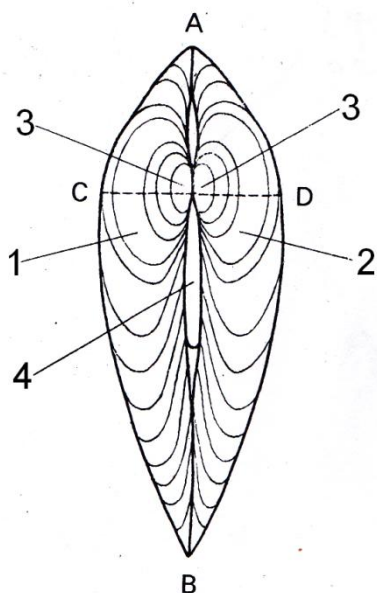
Cílem diplomové práce bylo na základě (1) morfometrických parametrů lastur perlorodky říční (*Margaritifera margaritifera*) a (2) odhadu věku a přírůstků z příčného řezu lasturou vyhodnotit kvalitu lokalit z hlediska jejich vhodnosti pro život tohoto kriticky ohroženého druhu mlže.

## 2. LITERÁRNÍ REŠERŠE

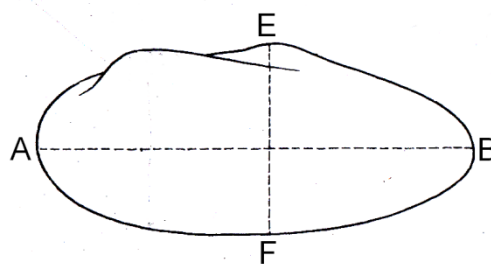
### 2.1. Perlorodka říční (*Margaritifera margaritifera*)

#### 2.1.1. Lastura: morfologie a vrstvy

Schránka mlžů neboli lastura se skládá ze dvou symetrických, konvexních polovin, které jsou na dorzální straně spojeny pevným vazivem, tzv. ligamentem. Na vnitřní straně lastur se u ligamentu nachází u perlorodky říční i systém zubů a lišt. Tento systém se nazývá zámek a brání pohybu obou lastur do stran. Lastury však drží u sebe pomocí svalů, díky nimž je ovládáno otevírání lastur či jejich zavírání.



**Obr. 1:** Lastura mlže shora (1 – levá miska, 2 – pravá miska, 3 – vrcholy (umbo), 4 – vaz (ligament), A-B – délka lastury, C-D – tloušťka lastury) (upraveno dle Pflieger, 1988)



**Obr. 2:** Lastura mlže – boční pohled (A-B – délka lastury, E-F – výška lastury (upraveno dle Pflieger, 1988))

Nejstarší část lastury je vrchol neboli umbo (Obr. 1). Jak jedinec stárne, umbo podléhá erozi (King, 2013). Lasturu lze charakterizovat několika morfologickými parametry: délka (Obr. 1; Obr. 2), výška (Obr. 2) a tloušťka lastury (Obr. 1), dále

celková délka ligamentu, délka zachovalé části ligamentu a erodovaná plocha lastury (Obr. 3).



**Obr. 3:** Eroze lastury (světlá část) perlorodky říční v oblasti vrcholu (<http://www.jcted.cz>)

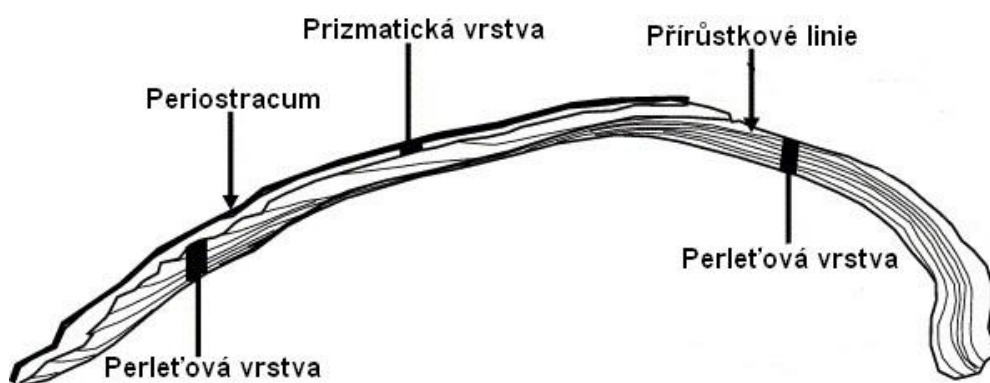
Na vnějším povrchu lastury se nacházejí zřetelně viditelné, tmavé (přirůstkové) linie, které se od vrcholu lastury obvodově rozšiřují. Mezi tmavými liniemi se nacházejí světlejší, méně pravidelné pruhy. Tmavé linie vznikají v zimě, kdy se v důsledku působení nízkých teplot růst zpomaluje. Světlejší pruhy se vytvářejí naopak v letním období, i když při příliš vysokých teplotách, tj. nad 23°C, se růst také zpomaluje. V každém případě však linie a pruhy poskytují informace o věkové struktuře populace, ročních přirůstcích, resp. rychlosti růstu a i období úhynu (Tevesz *et Carter*, 1980; Švanyga *et al.*, 2013).

Mezi přirůstkovými liniemi mohou být patrné ještě méně výrazné disturbanční linie, které vznikají vlivem bouřek, vichřic, tření ryb nebo lidského zásahu. Tyto linie nejsou viditelné po celém povrchu lastury, neboť u okrajů lastur blednou. Z tohoto důvodu někdy nelze odlišit disturbanční linie od přirůstkových. Navíc, není možné jednoznačně určit faktor, který způsobil vznik disturbanční linie (Richardson, 2001).

Kromě disturbančních linií mohou být přítomné také konchiolinové linie. Tyto linie se vyskytují pouze u některých sladkovodních druhů z čeledi

*Margaritiferidae* a *Unionidae* (především rody *Margaritifera*, *Unio* a *Anodonta*). Jedná se o tenké vrstvy (0,01 – 0,03 mm silné) podobající se periostracu. Jsou tvořeny sloučeninami bílkovin (především aminokyselinami glycinem a alaninem) a sacharidů a strukturálně jsou na hranici mezi aragonitem a kalcitem. Normálně je konchiolin součástí periostraca na vnějším povrchu lastury a přirozeně se vyskytuje v malém množství i v prizmatické a perleťové vrstvě, kde zajišťuje pevnost a zvyšuje odolnost vůči podmínkám prostředí. Někdy se však tvoří souvislá konchiolinová vrstva (viditelná na příčném řezu lasturou jako výrazně tmavá linie) v perleťové vrstvě lastury souběžně s povrchem lastury, nejčastěji v oblasti umba. Příčiny vzniku těchto linií nejsou prozatím známy, ale má se za to, že vznikají v důsledku působení stresu a jako obrana před aciditou vody (Kat, 1983; Harper, 1994; Bowen *et* Tang, 1996; Araujo *et al.*, 2014; Williams *et al.*, 2014).

Lastura roste ukládáním po sobě jdoucích vrstev uhličitanu vápenatého ( $\text{CaCO}_3$ , a to ve formě aragonitu, kalcitu nebo obojího) procesem zvaným biomineralizace. Při tomto procesu jsou vlastním tělem vytvořené anorganické látky využívány ke stavbě lastury. Sekrece  $\text{CaCO}_3$  probíhá pouze v období růstu a vrstvy jsou ukládány obvodově od okraje lastury. Lastura se skládá ze tří základních vrstev (od nejsvrchnější po vnitřní): periostracum, prizmatická vrstva a vrstva perleťová (Obr. 4). Vrstva periostraca se skládá z vláknitých glykoproteinových lamel a člení



**Obr. 4:** Základní vrstvy lastury: periostracum, prizmatická vrstva a perleťová vrstva se znázorněnými přirůstkovými liniemi (upraveno podle Carroll *et al.*, 2006).

se na další tři vrstvy: vnější, střední a vnitřní. Vnější a střední periostracum se zakládá v drážce periostraca, vnitřní periostracum vzniká z epitelu pláště. Střední vrstva produkuje vnější prizmatickou vrstvu lastury procesem zvaným vakuolizace. Podobným procesem vzniká perleťová vrstva na vnitřní straně periostraca (Checa, 2000; Mutvei *et* Westermark, 2001).

Na příčném řezu prizmatické vrstvy je vidět, že každá roční přírůstková linie je tvořená mikrolamelami. U mladých jedinců dosahuje tloušťka těchto lamel 2 – 3  $\mu\text{m}$ . U starších (pohlavně dospělých) jedinců se tloušťka pohybuje mezi 0,1 – 0,2  $\mu\text{m}$ . Silné lamely indikují rychlejší růst, tenké pomalejší. Počet lamel v ročních přírůstkových liniích se uvádí mezi 160 – 180 a odpovídá počtu dní, během kterých lastura roste během letního období (Mutvei *et* Westermark, 2001).

## 2.2. Metody určování věku a růstu mlžů

K odhadu věku a růstu u bezobratlých se podobně jako u obratlovců používají (pokud je to možné) kalcifikované struktury těl (lastury, krunýře či otolity). V kalcifikovaných strukturách jsou vidět přírůstky, které poskytují informace o růstu a o environmentálních změnách (Panfili *et al.*, 2002; Gordillo *et al.*, 2014; Kozák *et al.*, 2014). Paralelní alternativou odhadu věku je stanovení množství lipofuscinu v nervové tkáni, který se s věkem hromadí. Jinou možností je využití velikostního histogramu. Na základě velikosti (tj. délky těla) můžeme získat představu o věkové struktuře populace (Kozák *et al.*, 2014).

King (2013) definuje růst jako změny v délce, šířce, hmotnosti a jiných parametrech, přičemž nejčastěji se využívá délka, jelikož je nejsnazší ji změřit přímo v terénu. Hastie *et al.* (2000) uvádí, že mezi hlavní parametry růstu patří rychlost růstu, maximální rozměry a délka života.

Perlorodka říční roste rychlostí 1,0 – 1,5 mm za rok, v závislosti na teplotě vody a dožívá se až 200 a více let (Geist, 2010). Bylo zjištěno, že maximální rychlosti růstu dosahuje perlorodka ve věku 5 – 6 let (Helama *et al.*, 2007), s přibývajícím věkem se růst exponenciálně zpomaluje. Rychlost metabolismu je přímo úměrná hmotnosti těla podle rovnice ve tvaru  $y = ax^b$ , kde  $y$  je rychlost metabolismu měřená jako spotřeba kyslíku,  $x$  je velikost těla,  $b$  je exponent a  $a$  označuje rychlost metabolismu živočicha o určité hmotnosti. Z tohoto vztahu lze odvodit, že se zvyšující se hmotností rychlost metabolismu klesá. Relativní rychlost růstu je vyšší u menších jedinců, protože mají efektivnější metabolismus (Gosling, 2004).

Individuální rychlost růstu může být určována na základě von Bertalanffyho křivky (specifický typ asymptotického logistického modelu). Jejím předpokladem je, že věk mlžů lze odhadovat na základě jejich délky. Tato metoda však nebyla důkladněji testována a nelze ji tedy považovat za stoprocentně spolehlivou. Pro přesnost je třeba porovnat výsledky s jinou metodou (Hastie *et al.*, 2000). Ačkoliv byla von Bertalanffyho rovnice široce využívána k určování rychlosti růstu mlžů, existují skupiny, u kterých využít nelze. Jedná se např. o hřebenatky, u kterých



je růst při malých rozměrech sigmoidní (Gosling, 2015). Björk (1962) zjistil, že existuje korelace mezi věkem a výškou lastury v jejím nejvyšším bodě.

K určení charakteristik růstu populace může být využito několik nelineárních modelů, pracujících s délkou lastury v určitém věku (Hastie *et al.*, 2000):

1) jednoduchý model ve tvaru:  $L_t = at^b$

$L_t$  ..... délka lastury ve věku  $t$

$t$  ..... věku lastury (roky)

$a; b$  ..... konstanty

2) standardní logistická rovnice:  $L_t = a \ln(t) + b$

$a; b$  ..... logistické parametry

3) von Bertalanffyho křivka:  $L_t = L_\infty [1 - e^{-k(t-t_0)}]$

$L_\infty$  ..... teoretická maximální délka

$k$  ..... růstový koeficient; vysvětluje, jak environmentální faktory ovlivňují růst lastury

$t_0$  ..... teoretický věk v délce 0

K určování věků mlžů či jejich rychlosti růstu je možné využít několik metod:

- 1) počítáním přírůstkových linií (a) na vnějším povrchu lastury (kapitola 2.2.1.), (b) na příčném řezu lasturou (kapitola 2.2.2.) a (c) z řezu ligamentu (kapitola 2.2.3.);
- 2) zjišťování přírůstků pomocí značkování a zpětného odchytu jedinců (kapitola 2.2.4.) a 3) analýzou distribuce četnosti délek (length-frequency distribution analysis) (kapitola 2.2.5.); Pro dosažení přesných výsledků je ideální je využít paralelně více metod (Neves *et Moyer*, 1988; Daniel *et James*, 2013).

Na základě stanovení izotopového složení (poměr izotopů v lastuře, např.  $^{18}\text{O}$  a  $^{16}\text{O}$ ) a poločasu rozpadu radioizotopů ( $^{228}\text{Ra}$ ,  $^{232}\text{Th}$ ) lze také odhadnout věk, resp. rychlost růstu (Richardson, 2001). Další metody využívají optické techniky (laserová difrakce a fotografické techniky) (Gosling, 2015).

### 2.2.1. Počítání přírůstkových linií na vnějším povrchu lastury

Věk mlžů může být určován počítáním linií na vnějším povrchu lastury. Lastura roste celoročně, ovšem v zimním období jsou vzdálenosti mezi liniemi (tj. přírůstky) výrazně menší, a jednotlivé linie mohou splývat do jedné velké. A právě tyto linie jsou viditelné na povrchu lastury. Před odečítáním linií na povrchu lastury lze lastury naložit do 50% hydroxidu sodného (studeného nebo teplého), čímž se odstraní vrstva periostraca a přírůstkové linie se zviditelní (Björk, 1962; Půbalová, 2017).

Počítání linií na povrchu lastury může však být problematické, neboť linie mohou být málo viditelné nebo úplně chybět. Také je lze obtížně odlišit od disturbančních linií (kapitola 2.1.1.). Použití této metody nelze u jedinců v prvních letech života (nezřetelné linie) či naopak u starých jedinců (splývající linie či erodované lastury) považovat za spolehlivé (Neves *et* Moyer, 1988; Gosling, 2015). Výsledky této metody slouží tedy spíše jako vodítko pro metody následující (Daniel *et* James, 2013).

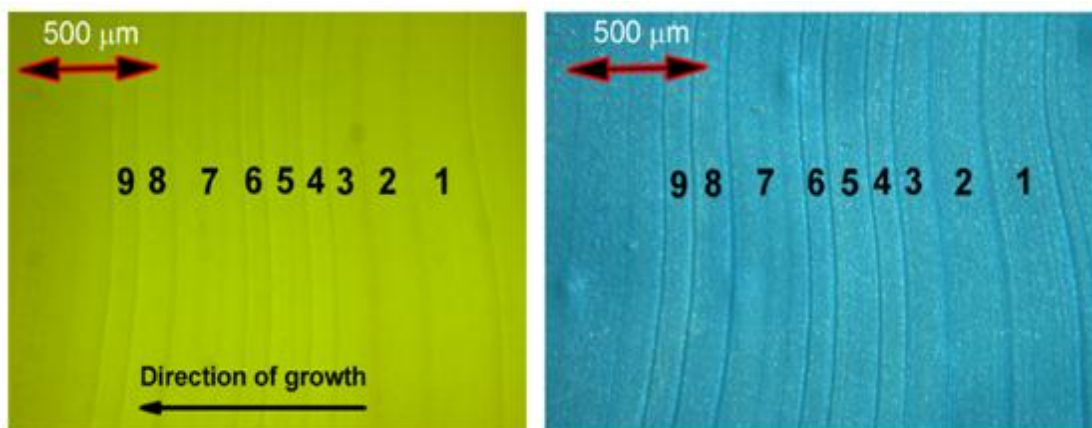
### 2.2.2. Počítání přírůstkových linií na příčném řezu lasturou

Počítání linií na příčném řezu lasturou se považuje za nejvhodnější metodu k určování věku mlžů, a využívá se i v případech, kdy není možné linie na povrchu lastury spočítat. Na jedné polovině lastury (nejlépe té zachovalejší) se provede příčný řez od oblasti umba po ventrální okraj. Na lasturu lze také nejprve od umbální oblasti po ventrální okraj nanést vrstvu epoxidového lepidla, která lasturu zpevní a ochrání její povrch před působením dalších případně používaných chemikálií. Po zaschnutí lepidla se provádí cca 3 mm silný řez od umbální oblasti po ventrální okraj za použití diamantové brusky. Řezy jsou následně vybroušeny brusným papírem a vyleštěny diamantovou pastou. Při určování počtu a vzdálenosti přírůstkových linií je možné

využít jeden ze tří způsobů zviditelnění růstových struktur: (a) obarvení Mutvei roztokem a pozorování pod světelným mikroskopem nebo (b) neobarvený řez sledovat pod fluorescenčním mikroskopem nebo využít (c) techniku acetátové vrstvy. Po zabroušení a vyleštění je řez obarven a leptán Mutvei roztokem, který zvyšuje viditelnosti zimních linií a tím zvyšuje přesnost určení věku. Roční přírůstky se určují z prizmatické vrstvy pod světelným mikroskopem a počítají se od ventrální části až po začátek erodované části lastury (Schöne *et al.*, 2005).

Mutvei technika je základní technikou pro tvorbu a zpracování řezu. Řezy jsou odmaštěny etanolem a umístěny do Mutvei roztoku při teplotě 37 – 40°C po dobu od 5 minut do 4 hodin v závislosti na materiálu a typu analýzy. Mutvei roztok je složen z glutaraldehydu (25%) a kyseliny octové (1%) v poměru 1:1 a 5 – 10 g.l<sup>-1</sup> alciánové modři v prášku. Mutvei roztok má několik funkcí: 1) naleptává uhličitany a fosforečnany vápníku vzniklé biogenně, 2) fixuje rozpustnou a nerozpustnou organickou hmotu a 3) barví mukopolysacharidy, a tak umožňuje rozlišit roční přírůstky pod světelným mikroskopem. Nakonec jsou řezy opláchnuty destilovanou vodou a nechají se oschnout na vzduchu (Schöne *et al.*, 2005). Roční přírůstky se měří pod světelným mikroskopem a počítají se od ventrální části až po začátek erodované části lastury. Nevýhodou této techniky je, že Mutvei roztok je pro lasturu částečně destruktivní v čase a povrch lastury může být po leptání snadno poškrábán. Součástí Mutvei roztoku je mimo jiné glutaraldehyd, který je toxický (Masu *et al.*, 2008; Wanamaker *et al.*, 2009).

Alternativou pro barvení roztokem Mutvei je pozorování neobarveného řezu pomocí fluorescenčního mikroskopu. Využívá též řezy 3 mm široké. Přírůstkové linie jsou nejlépe viditelné při modré excitaci o vlnové délce 450 – 490 nm, lze ale využít i další fluorescenční sety: ultrafialový (excitace 360 – 370 nm; emise >397 nm) a modro-fialový (excitace 320 – 380 nm; emise >420 nm) (Wanamaker *et al.*, 2009; Gosling, 2015). Tato metoda nevyžaduje použití chemikálií a v porovnání s následující technikou acetátové vrstvy lze s její pomocí dosáhnout lepších výsledků (Obr. 5). Nicméně Wanamaker *et al.* (2009) zjistili, že pod světelným mikroskopem a obarvením Mutvei roztokem byly přírůstkové linie zřetelnější než při pozorování pod mikroskopem fluorescenčním. Nicméně využití fluorescenčního mikroskopu je rychlejší, neboť nevyžaduje barvení řezů.



**Obr. 5:** Zimní přírůstkové linie při využití fluorescenční mikroskopie v modrém světle o vlnové délce 450 – 490 nm (vlevo) a barvené Mutvei roztokem (vpravo) pod světelným mikroskopem. Čísla 1 – 9 znázorňují jednotlivé přírůstky (Wanamaker *et al.*, 2009)

Technika acetátové vrstvy (acetate peel technique) využívá stejné řezy jako předchozí dvě metody, jen jsou ještě naleptány odvápnujícím prostředkem (např. 10% kyselinou chlorovodíkovou) a poté buď přímo pozorovány, anebo je naleptaný povrch ještě namočen do acetonu a na jeho povrch je aplikována tenká vrstva acetátu celulózy (cca 3 mm). Přibližně po 30 minutách je acetátová vrstva odstraněna a umístěna na podložní sklíčko a pozorována pod mikroskopem (Neves *et Moyer*, 1988; Füsün *et al.*, 2005; Gosling, 2015). Linie se počítají co nejbližší vrcholu lastury (umbo). Nevýhodou této metody je, že jednotlivé přírůstky nemusí být v odloupnuté vrstvě dostatečně viditelné (Wanamaker *et al.*, 2009).

K určení věku *i* na zerodované části lastury se věk určuje nejprve u nejmladších jedinců (do cca 10 let věku) z dané populace. U mladých jedinců není umbální oblast tolik zerodovaná a přírůstkové linie jsou plně viditelné. Šířka umbální oblasti nejmladších lastur je následně porovnána s šířkou zkorodované oblasti u starších lastur (Mutvei *et Westermarck*, 2001; Moorkens *et Killeen*, 2013). Jinou možností je zjistit vztah mezi počtem přírůstkových linií na vnější straně a uvnitř lastury a podle vztahu poté odhadnout teoretický počet linií ve zkorodované oblasti (Helama *et Valovirta*, 2007).

### 2.2.3. Počítání přírůstkových linií z řezu ligamentem

Podmínkou použití této metody je zachovalý ligament, který ovšem podléhá, vzhledem ke svému charakteru, erozi mnohem snáze než lastura. Pro použití této metody je zároveň nutné, aby řez byl přímý a bez zlomů (Tevesz *et* Carter, 1980). Z tohoto důvodu je vhodné lasturu na určitou dobu namočit ve vodě, případně alkoholu. Ligament tak výrazně změkne a je snazší ho rozříznout (Björk, 1962). Přírůstkové linie se počítají obdobně jako u předchozích metod, pod světelným mikroskopem, resp. binolupou (Půbalová, 2017).

### 2.2.4. Zjišťování přírůstků pomocí značkování a zpětného odchyту jedinců

Při této metodě se lastury nejprve sesbírají a podle velikosti se roztrídí do skupin. Jednotlivé lastury se následně individuálně označí (např. číslem na lastuře, plastovou značkou nebo výřezem v lastuře) a uloží do boxů, ve kterých se opatrně umístí na dno řeky. Předpokladem je, že se lastury změní na začátku experimentu a pak každé dva měsíce. Přírůstky v délce (od výřezu po okraj lastury) jsou zaznamenávány a dále statisticky vyhodnocovány (např. programem FISAT II) (Daniel *et* James, 2013). Za jistých okolností může být tato metoda použita k odhadu početnosti populace, rychlosti růstu, migraci nebo určování přírodních podmínek. Výhodami této metody jsou přesnost a možnost sledovat denní přírůstky na malém vzorku populace. Nevýhodou této metody je vysoká časová náročnost. Oproti LFDs se touto metodou lastury poškozují (King, 2013; Gosling, 2015).

### 2.2.5. Analýza distribuce četnosti délek (LFDs)

Metoda LFDs (length-frequency distribution analysis) slouží k určování věku mlžů na základě individuální délky těla. Přesnost analýzy závisí na tom, jak dobře postihují odebrané vzorky velikostní strukturu celé populace. V odebraném vzorku populace musí být dostatečné množství jedinců, tj. ideálně kolem 1500. Data se následně rozdělí do velikostních tříd. Intervaly mezi jednotlivými třídami jsou obvykle velmi malé (1-5 % délky největšího vzorku v populaci). U dlouhožijících mlžů dochází vzhledem k jejich variabilní individuální rychlosti růstu a sběrem vzorků po dobu několika málo let k splnutí ročních tříd. Tyto mlže lze graficky

rozdělit do tříd podle určitých modelů, ale nelze tak určit jejich věk (Gosling, 2015). Pro určení věku se dříve využívaly převážně grafické metody. Dnes se využívají specializované programy obsahující celou řadu modelů (FISAT II, ELEFAN, MULTIFAN, C.A. MAN nebo SCLA) (Daniel *et James*, 2013; Gosling, 2015).

## 2.3. Faktory ovlivňující růst mlžů

Faktory ovlivňující růst mlžů můžeme rozdělit na vnitřní (genotyp) a vnější. Vnější faktory lze pak dělit na biotické a abiotické. Mezi biotické faktory patří zejména potrava (kapitola 2.3.1.). Mezi abiotické faktory řadíme následující: hydrologické procesy, teplotu a chemismus vody (kapitola 2.3.2.).

Růst je primárně ovlivněn genotypem. V ČR se vyskytují dvě geneticky odlišné populace perlorodky říční, šumavská a ašská. Existuje ještě populace na Vysočině, ale ta je geneticky téměř totožná s populací šumavskou. V případě smíšení šumavské populace s ašskou by mohlo dojít k outbreední depresi (tj. narušení lokálních adaptací a snížení životaschopnosti populace). Byla pozorována korelace mezi heterozygotností a rychlostí růstu, heterozygotnost však vysvětluje pouze malé procento změn v růstu, tj. 4 % (Gosling, 2004; Patzenhauerová *et al.*, 2011).

Mimo výše uvedených hlavních faktorů růst ovlivňuje například hustota populace. Pro optimální růst populace je důležitá odpovídající hustota populace. Byla zjištěna závislost mezi hustotou populace a rychlostí růstu. Tato závislost je inverzní, tzn. čím je populace početnější, tím méně jedinci rostou a mají nižší celkovou hmotnost. Příčinou je snížení dostupnosti potravy a omezení osobního prostoru, které má negativní vliv na vitalitu jedinců (Gosling 2004).

### 2.3.1. Potrava

Potrava je považována za nejvýznamnější faktor prostředí. I přesto, že jsou perlorodky obecně dobře adaptované na život v oligotrofním prostředí, dostatek potravy zvyšuje rychlost jejich růstu (Mutvei *et* Westermarck, 2001). Se zvyšující se hustotou fytoplanktonu je růst rychlejší. Vedle kvantity fytoplanktonu záleží i na jeho složení, neboť některé druhy řas vylučují toxické produkty. Perlorodky získávají uhlík nejen z fytoplanktonu, ale i z jiných zdrojů, a to z resuspendovaného sedimentu obsahujícího směs bentické mikroflóry, řas, detritu a anorganického materiálu. Dostupnost resuspendovaného materiálu je závislá na několika faktorech. Potrava je snadno dostupná pro mlže žijící v místech s bahnitým dnem, kde je voda nade dnem trvale zakalena rozpuštěným sedimentem. Oproti tomu, mlži žijící

v místech s písčitým dnem mají dostupnost potravy obecně horší. Resuspenzi sedimentu také ovlivňuje hydrografie a počasí (Gosling, 2004).

Při hodnocení potravního zásobení toku se využívá termín úživnost detritu. Tento termín vyjadřuje množství mikroskopických částic organické hmoty v různém stádiu rozkladu. Tyto částičky organické hmoty slouží jako potrava pro perlorodky. Úživnost detritu nemusí být vysoká. Dokonce platí, že čím vyšší úživnost, tím kratší délka života. Vyšší úživnost detritu vyžadují zejména nejmladší stádia perlorodky (Růžičková, 2008; Patzenhauerová *et al.*, 2011).

Významný vliv na růst perlorodky říční má obsah iontových forem vápníku ve vodě a zejména v potravě. Perlorodka preferuje vody s velmi nízkým obsahem vápníku, a tak ho pro stavbu lastury nutně potřebuje přijímat v potravě, tj. z detritu. Perlorodka vyžaduje detrit bohatý na obsah vápníku, přičemž úživnost detritu může být malá (Másilko, 2009).

### **2.3.2. Hydrologické procesy, teplota a chemismus vody**

Hydrologické procesy včetně proudů významně ovlivňují mikrohabitat, prostorovou strukturu populací a přežití juvenilních jedinců perlorodky říční. Hydrologické procesy a jejich vlivy nejsou prozatím zcela objasněny. Nicméně i malé hydrologické změny mohou vyústit ve vážné poškození habitatu (Hastie *et al.*, 2000).

U mlžů byla obecně prokázána závislost rychlosti růstu na hloubce vody. Jedinci obývající pobřežní, mělké vody rostou rychleji a dosahují větších rozměrů než jedinci obývající vody hlubší. V mělkých vodách je totiž vyšší teplota vody i lepší zásobení potravou, což má pozitivní vliv na růst (Gosling, 2004). Maximální naměřená hloubka výskytu se pohybuje okolo dvou metrů. Optimální hloubka výskytu je 0,3 – 0,4 m a rychlost toku 0,25 – 0,75 m.s<sup>-1</sup> (Hastie *et al.*, 2000). Rychlost růstu je negativně korelována s rychlostí toku (Haag, 2012).

Teplota prostředí obecně silně ovlivňuje rychlost metabolismu a tím i růst živočichů. Má vliv na nervový systém a enzymatické reakce v organizmu (Gosling, 2004). Bylo prokázáno, že mlži obývající teplejší vody v jižním areálu výskytu rostou rychleji, jsou menší a krátkověké (pouze okolo 35 let), zatímco mlži obývající



chladnější vody v severním areálu výskytu rostou pomaleji, jsou větší a dlouhověké (i přes 200 let). Mlži obývající vody v mírném pásu rostou nejrychleji v teplé části roku (od dubna do října), naopak nejpomaleji (případně vůbec) na podzim a v zimě (Tevesz *et* Carter, 1980; Hastie *et al.*, 2000; Gosling, 2004; Geist, 2010; Daniel *et* James, 2013).

Optimální teplota pro růst se pohybuje mezi 3 – 20 °C (Gosling, 2004). Strack (2015) uvádí optimální teplotu 4 – 23 °C, Hruška *et* Absolon (1999) uvádějí 0 – 23 °C. Při teplotách pod 3 – 5 °C se růst pomalu zpomaluje, při teplotách nad 20 °C výrazně klesá. Teplota vody též ovlivňuje množství potravy, zejména fytoplanktonu. Pro optimální množství fytoplanktonu a jeho růst je ideální teplota 10 – 18 °C (Gosling, 2004).

Značné změny v růstu (a velikosti) byly pozorovány ve spojitosti s chemizmem vody. Přítomnost alkalické nebo tvrdé vody často koreluje s tloušťkou lastury. Lastury mlžů obývajících vody s nízkým obsahem vápníku jsou obvykle tenkostěnné, zatímco lastury mlžů obývajících vody s vysokým obsahem vápníku jsou silnostěnné. Optimálně by obsah iontů vápníku neměl překročit hodnotu 4,5 – 15,3 mg.l<sup>-1</sup> (Strack, 2015). Hodnota pH by se měla pohybovat mezi 6,0 až 7,1 (Hruška *et* Absolon, 1999). Výrazné kolísání pH má negativní vliv na populace perlorodky říční (Bötzl, 2004). Tenkostěnné lastury se také nacházejí v kyselých vodách. Čím nižší je pH, tím tenčí je lastura (Tevesz *et* Carter, 1980; Mutvei *et* Westermarck, 2001). Pro optimální růst perlorodky je nutná odpovídající koncentrace kyslíku ve vodě (optimálně 7,6 – 16,2 mg.l<sup>-1</sup>). Saturace kyslíku by se měla pohybovat mezi 90 – 110 %. Nízká koncentrace snižuje rychlost růstu (Oliver, 2000; Dunca *et al.*, 2011; Gosling, 2015).

Obsah sloučenin fosforu by měl být nižší než 20 – 35 µg.l<sup>-1</sup> a obsah dusičnanů pod 2,5 mg.l<sup>-1</sup> (Hruška *et* Absolon, 1999). Degerman *et al.* (2009) uvádějí, že koncentrace dusíku by neměla překročit hodnotu 1 mg.l<sup>-1</sup>. Při cíleném zvýšení pH vody za současného zvýšení množství potravy byl zaznamenán rychlejší růst perlorodky (Helama *et* Valovirta, 2007). Růst mlžů obecně mohou ovlivňovat také polutanty obsažené ve vodě. Jde například o DDT (dichlordifenyltrichlorethan), PCBs (polychlorované bifenyly), a HCH (hexachlorcyklohexan), jejichž přítomnost negativně koreluje s růstem. Naproti tomu nebyla zjištěna žádná spojitost mezi

růstem a množstvím těžkých kovů (Cd, Co, Cu, Fe, Hg, Mn a Pb) v organismu (Gosling, 2015).

### 3. METODIKA

#### 3.1. Původ jedinců a charakteristika lokalit

Lastury pro tuto práci byly sesbírány v roce 2015 a 2017. V roce 2015 byly sesbírány na řece Blanici v šumavské oblasti a řekách Bystřina a Rokytnice v ašské oblasti. Tyto lastury byly dodány Ing. Ondřejem Spisarem, Ph.D. V roce 2017 byly sesbírány na Zlatém potoce v šumavské oblasti, na řece Kleine Ohe v oblasti Passau (Německo) a na řece Rokytnici, Lužním a Újezdském potoce v ašské oblasti. Tyto lastury jsem nasbírala sama. V roce 2015 bylo celkem sesbíráno 31 lastur, v roce 2017 to bylo 46 lastur (Tab. 1). Sbírány byly lastury nedávno uhynulých jedinců, tj. lastura je buď uzavřená, ale uvolněná tkáň z velké části vyčnívá ven z lastury nebo je lastura otevřená a má v sobě zbytky tkáně nebo je bez zbytků této tkáně, ale ještě nemá erodovanou perleťovou vrstvu. Pro zjednodušení byly při výpočtech lastury z oblasti Passau zařazeny do šumavské oblasti (přestože jsou geneticky odlišné) (Spisar, 2018).

Důležitými parametry při hodnocení kvality lokalit jsou teplota vody, obsah dusíku a vápníku ve vodě a úživnost detritu. Teplota vody nevyhovuje na většině lokalit. Častým problémem je zvýšený obsah dusíku ve vodě a malá úživnost detritu. Na kvalitu lokalit ukazuje probíhající přirozená reprodukce. Ta v současnosti probíhá pouze na lokalitách Kleine Ohe a Újezdském potoce. Jako nejhorší se z hlediska parametrů vody jeví lokality Lužní potok a Zlatý potok (Tab. 2A; 2B).

**Tab. 1:** Počty sesbíraných lastur perlorodky říční na daných lokalitách v jednotlivých letech

Oblast	Lokalita/rok sběru	2015	2017
ašská	Bystřina	11	
	Rokytnice	10	3
	Lužní potok		5
	Újezdský potok		20
šumavská	Blanice	10	
	Zlatý potok		13
	Kleine Ohe (Passau)		5

### 3.1.1. Šumavské lokality

Řeka Blanice (Obr. 6) je nejvýznamnější lokalitou ve střední Evropě, která má dobré vyhlídky na trvalé zachování populace perlorodky říční. Území Blanice, osídlené perlorodkami, je poměrně málo antropogenně dotčené. Z hlediska znečištění se řadí mezi neznečištěné až málo znečištěné toky (Simon *et al.*, 2006; Hryzáková, 2008). Z tohoto důvodu je na této lokalitě možné přirozené rozmnožování. Vedle vyhovujících vlastností vody je limitujícím faktorem malá úživnost prostředí.



**Obr. 6:** Šumavské lokality sběru lastur – Blanice a Zlatý potok (<https://mapy.cz>; <https://www.pinterest.co.uk>)

Pro starší jedince je úživnost dobrá, ale pro mladé jedince po odpadnutí z hostitelských ryb je nedostačující a brání tak jejich vývoji. Pro ochranu nejcitlivějších stádií byla na Blanici vybudována boční ramena s dobrou úživností. Na území Blanice probíhá celá řada výzkumných prací. Zde byly také prvně aplikovány postupy na zvýšení početnosti s využitím polopřirozenému odchovu perlorodky. Probíhá zde také dlouhodobý monitoring vodního prostředí a chemizmu vody. Hodnoty  $\text{NO}_3^-$  jsou na této lokalitě dlouhodobě příznivé, pH je též optimální. Naopak koncentrace celkového fosforu a vápníku je dlouhodobě zvýšená a představuje významný problém. V roce 2010 bylo na této lokalitě zaznamenáno 10 120 jedinců a v témže roce vysazeno dalších 49 468 juvenilních jedinců. Tato hodnota je poměrně vysoká, v roce 2005 zde však bylo zaznamenáno 44 000 jedinců

(adultních + juvenilních) a v roce 1999 dokonce 115 000 jedinců (Simon *et al.*, 2006; Švanyga *et al.*, 2013).

Zlatý potok (Obr. 6) spadá do širšího povodí Blanice. Podmínky pro perlorodky jsou v povodí Zlatého potoka příznivé s relativně málo narušeným prostředím. Výhodami této lokality je velmi dobrá úživnost detritu, malá hustota osídlení a přirozeně existující společenstva perlorodky říční. Přirozená reprodukce zde však dlouhodobě stagnuje (Simon *et al.*, 2006; Švanyga *et al.*, 2013). Významným problémem Zlatého potoka je postupně se snižující teplota vody v důsledku zarůstání okolí toku smrkovými porosty. Teplota se tak pohybuje pod hranicí optima. Problémem jsou i vyšší hodnoty některých chemických parametrů a eroze lastur. Chemické parametry vody jsou vyhovující. Koncentrace fosforu a amoniaku jsou poměrně nízké, pH nekolísá (Švanyga *et al.*, 2013). V roce 2002 a 2003 bylo celkem vysazeno 887 jedinců a v roce 2005 byla početnost 1710 jedinců (adultních + juvenilních). Od roku 2000 zde probíhá monitoring parametrů vody (Simon *et al.*, 2006; Švanyga *et al.*, 2013).

### 3.1.2. Lokalita u Passova

Kleine Ohe je bavorská řeka a jedna z lokalit výskytu perlorodky říční na německé straně (Obr. 7). Kleine Ohe vtéká jižně od města Grafenau do řeky Ilz. Ta se v Pasově stéká s Dunajem a Innem (<http://www.sumava.cz>). Parametry vody zde nejsou ideální, avšak nedochází zde k výraznému kolísání pH při deštích.

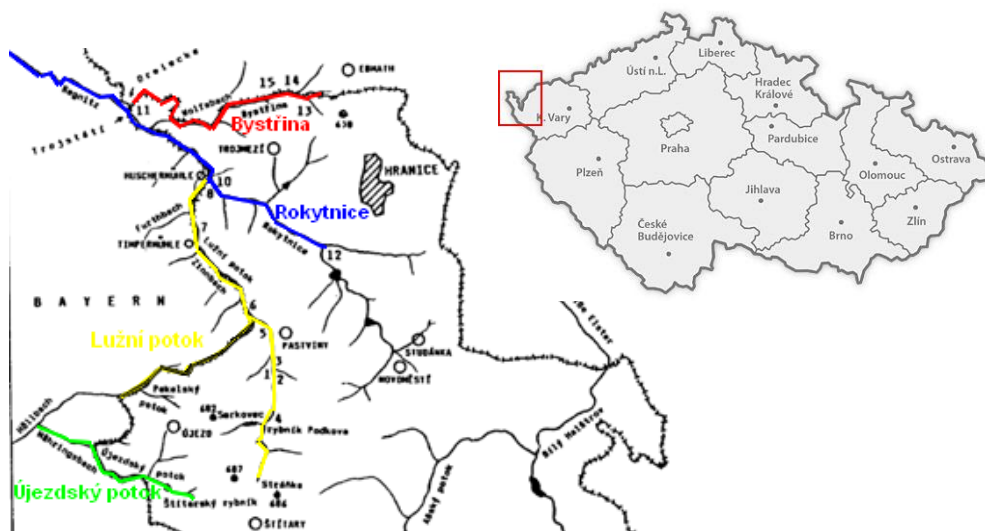


**Obr. 7:** Kleine Ohe – lokalita sběru lastur v oblasti Passau (Německo – Bavorsko) (<https://mapy.cz>; <https://www.pinterest.co.uk>)

V roce 1998 žilo v Kleine Ohe ještě asi 13 000 jedinců perlorodky říční v relativně stabilní populaci. V současnosti zde probíhá monitoring toku a opatření na udržení vhodného prostředí pro perlorodku říční (Bötzl, 2004; <http://www.flussmuscheln.de>).

### 3.1.3. Ašské lokality

Ašské lokality (Obr. 8) byly a jsou díky své poloze málo dotčeny, proto si také udržely odpovídající podmínky pro zachování nejcitlivějších druhů, mimo jiné i perlorodky říční. Toky v ašské oblasti leží na rozmezí tří států – Česko, Bavorsko a Sasko. Vzhledem k poloze je třeba se při ochraně perlorodky říční zabývat i mezinárodní spoluprací. Obecně je velkým problémem těchto lokalit postupné ochlazování vody v důsledku zarůstání okolí toku smrkovými porosty. V současnosti se teploty pohybují pod hranici optima. Populace jsou zde dostatečně početné. Umělé posilování populací v ašském výběžku proto prozatím není nutné (Švanyga *et al.*, 2013).



**Obr. 8:** Ašské lokality sběru lastur – Rokytnice, Lužní potok, Bystřina a Újezdský potok (<https://www.pinterest.co.uk>; Flasar, 1991-1992).

Rokytnice (Ziegenbach; Regnitz) je rozsáhlý tok na rozmezí Čech, Bavorska a Saska. Její povodí zahrnuje i následující dva toky – Lužní potok a Bystřinu. Přimo v Rokytnici se perlorodky vyskytují až na bavorské straně. Mezi hlavní problémy Rokytnice patří nevyhovující teplota vody, nedostatečná úživnost substrátu, zejména

pro nejmladší stádia perlorodky a zvýšené vnášení splavenin do toku (Slezáková *et Volf*, 2016). V roce 2011 nebyl nalezen žádný jedinec (Švanyga *et al.*, 2013).

Lužní potok (Zinnbach) protéká na rozhraní Česka a Bavorska. Celkově jsou podmínky Lužního potoka neuspokojivé. Chemismus vody není optimální. Je ovlivňován zejména pasoucím se dobytkem. Dochází jak k nárůstu dusičnanů, tak i konduktivity vody. Nevyhovující jsou zde i teplota vody (příliš chladná) a malá úživnost detritu důležitého zejména pro nejmladší stádia perlorodky říční. Úživnost detritu je velmi nízká. Vzhledem k malé úživnosti detritu dochází ke zpomalenému růstu mladých perlorodek. V letech 1995 – 2001 bylo na lokalitě vysazeno 1329 juvenilních jedinců a v roce 2011 populace čítala 1729 jedinců (Švanyga *et al.*, 2013).

Bystřina (Wolfsbach) je drobný vodní tok s problematickým vodním režimem. Převážná část toku tvoří hranici mezi Českem a Saskem. Hlavními problémy jsou nízký průtok, nedostatečná úživnost detritu pro nejmladší stádia perlorodky a nevyhovující chemismus vody. Hodnoty koncentrací vápníku, dusičnanů a konduktivity vody vysoce přesahují optimální hodnoty. Ani tento tok nedosahuje optimálních teplot vody (Tab. 2A, 2B.). Výhodou tohoto toku je tvar koryta, které je mělké a dostatečně zahloubené. V letech 2009 – 2010 populace čítala 2008 jedinců, s tím, že dalších 36 juvenilních jedinců bylo vysazeno (Švanyga *et al.*, 2013).

**Tab. 2A:** Vybrané parametry vody na lokalitách sběru lastur v šumavské oblasti (upraveno dle Švanyga *et al.*, 2013; Spisar, 2018)

Oblast	šumavská		
	Blanice	Zlatý potok	Kleine Ohe (Passau)
teplota [°C]	+	-	?
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> [mg.l <sup>-1</sup> ]	+	-	?
úživnost	-	+	?
vápník [mg.l <sup>-1</sup> ]	+	přirozeně zvýšen	?
pH	+	+	?
rybí obsádka	+	+	?
přirozená reprodukce	?	NE	ANO
početnost populace	6000 (2016)	max. 500 (2016)	1 500 – 2 000 (2014)

Vysvětlivky: + vyhovuje; - nevyhovuje; ? chybí data

Újezdský potok (Mähringsbach) pramení na české straně a protéká na bavorské území. V Újezdském potoce se perlorodka říční vyskytuje pouze na bavorském území, kde se předpokládá i přirozená reprodukce (Švanyga *et al.*, 2013).

**Tab. 2B:** Vybrané parametry vody na lokalitách sběru lastur v ašské oblasti (upraveno dle Švanyga *et al.*, 2013; Spisar, 2018)

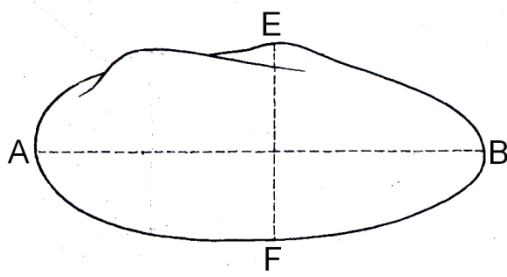
Oblast	ašská			
	Bystřina	Rokytnice	Lužní potok	Újezdský potok
teplota [°C]	-	-	-	-
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> [mg.l <sup>-1</sup> ]	-	+	-	?
úživnost	-	-	-	?
vápník [mg.l <sup>-1</sup> ]	-	+	-	?
pH	?	?	-	?
rybí obsádka	?	?	+	?
přirozená reprodukce	?	?	?	ANO
početnost populace	2008 (r. 2009 – 2010)	0 (r. 2011)	1 600 (r. 2016)	6 000 (2017)

Vysvětlivky: + vyhovuje; - nevyhovuje; ? chybí data

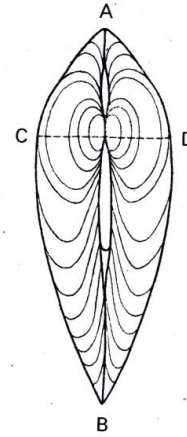
### 3.2. Zpracování lastur

Lastury byly po sesbírání na lokalitách vyčištěny od případných zbytků biologického materiálu a usušeny při pokojové teplotě, aby se zabránilo jejich popraskání a rozpadu. U všech lastur byla změřena jejich délka, šířka a výška (Obr. 9A; 9B). Na obou polovinách lastury byla též změřena délka a výška erodované oblasti v místě vrcholu (umbo) (Obr. 10) a dle vzorce pro výpočet plochy elipsy ( $S = \pi \cdot a \cdot b$ ; kdy  $a$  je délka poloosy  $a$  a  $b$  je délka poloosy  $b$ ) byla odhadnuta plocha eroze. Následně bylo vypočteno procento erodované plochy lastury z její celkové plochy. Změřen byl i ligament, a to jeho celková délka a délka zachovalé části (Obr. 11). Všechny parametry byly změřeny digitálním posuvným měřítkem Extol<sup>®</sup> premium 150 mm s přesností na dvě desetinná místa. Na analytických vahách (Sartorius MC1 AnalyticAC 210 S) byla zjištěna hmotnost každé poloviny lastury s přesností na tři desetinná místa.

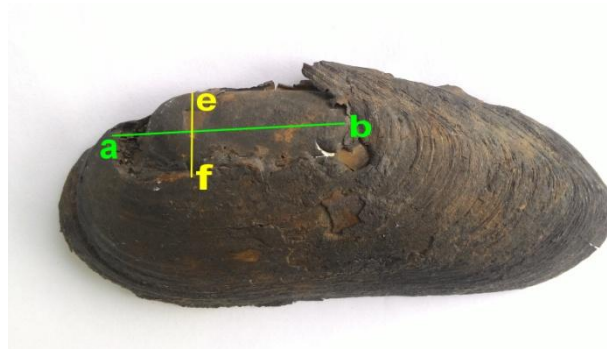




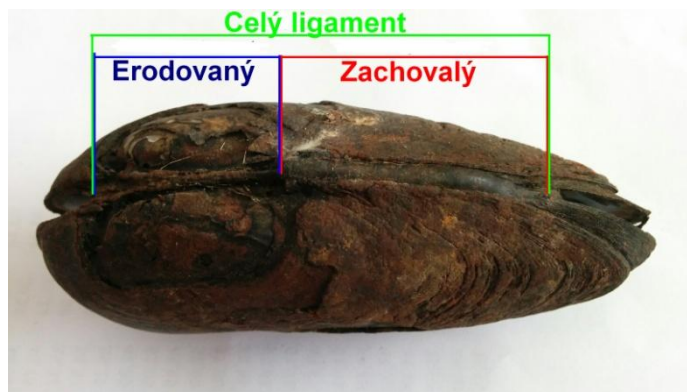
**Obr. 9A:** Měřené parametry lastury: délka (A-B) a výška (E-F) (Pfleger, 1988, upraveno)



**Obr. 9B:** Měřené parametry lastury: délka (A-B) a tloušťka (C-D) (Pfleger, 1988, upraveno)



**Obr. 10:** Délka (a-b) a výška (e-f) zkorodované oblasti na lastuře (Holečková, 2017)



**Obr. 11:** Ligament – celková délka (zeleně), jeho erodovaná část (modře) a zachovalá část (červeně) (Holečková, 2017)

V dalším kroku byly lastury připraveny na samotné měření přírůstků a dalších mikroskopických parametrů (počet přírůstkových linií (ve výsledcích označováno jako věk) v umbální oblasti, vzdálenost mezi dvěma přírůstkovými liniemi, počet konchiolinových linií a jejich délka, součty ročních přírůstků do vzniku jednotlivých konchiolinových linií). Při tomto měření byly využity pouze lastury z roku 2017, jelikož byly nejzachovalejší. Všechny lastury byly vyčištěny v etanolu (99,5 %) v ultrazvukové lázni KRAINTEK (K-9LE) po dobu 5 minut. Následně se nechaly oschnout na vzduchu. Jedna polovina lastury (ta zachovalejší) byla kvůli zpevnění natřena od oblasti umbo po ventrální okraj dvousložkovým epoxidovým lepidlem na kov (WersaChem Steel Weld Epoxy; BISON EPOXY METAL; Pattex REPAIR EPOXY). Po vytvrdnutí lepidla byl z každé lastury vyříznut kus (řez) o tloušťce 3 mm (od umbo po ventrální okraj) (Obr. 12) a jeho délka byla změřena.



**Obr. 12:** Oblast lastury natřená dvousložkovým epoxidovým lepidlem na kov s vyříznutým řezem (Holečková, 2017)

Použita byla pilka na železo s velmi jemnými zuby (30 zubů/palec). Řezy byly následně zabroušeny brusným papírem o hrubosti 180, 600 a 1000 zrn.cm<sup>-2</sup> a vyhlazeny a vyleštěny diamantovou pastou značky DIMAPA (0,25 μm (5 gramů))



**Obr. 13:** Vybroušený a vyleštěný řez lasturou před barvením Mutvei roztokem (Holečková, 2017)

(Obr. 13). Řezy byly dále opět vyčištěny v ultrazvukové lázni v etanolu (99,5 %) a obarveny v Mutvei roztoku za stálého míchání magnetickým míchadlem s ohřevem při teplotě 37-40°C po dobu cca 1 hodiny. Mutvei roztok, ve kterém byly lastury barveny, byl připraven těsně před barvením v digestoři. Na přípravu 1 litru roztoku bylo potřeba: 500 ml 1% kyseliny octové, 500 ml 25% glutaraldehydu a několik kapek Coomassie Blue® (Schöne *et al.*, 2005). Řezy byly jednotlivě vloženy do zkumavek s Mutvei roztokem a do každé zkumavky byl vložen magnetický kamínek. Každá zkumavka byla označena číslem řezu, který do ní byl umístěn. Všechny zkumavky byly vloženy do 500 ml kádinky s vodou a umístěny na magnetické míchadlo RCT basic IKAMAG safety control s ohřevem (Obr. 14). Po 1 hodině byly řezy vyndány ze zkumavek, opláchnuty destilovanou vodou a ponechány na vzduchu, aby oschly.



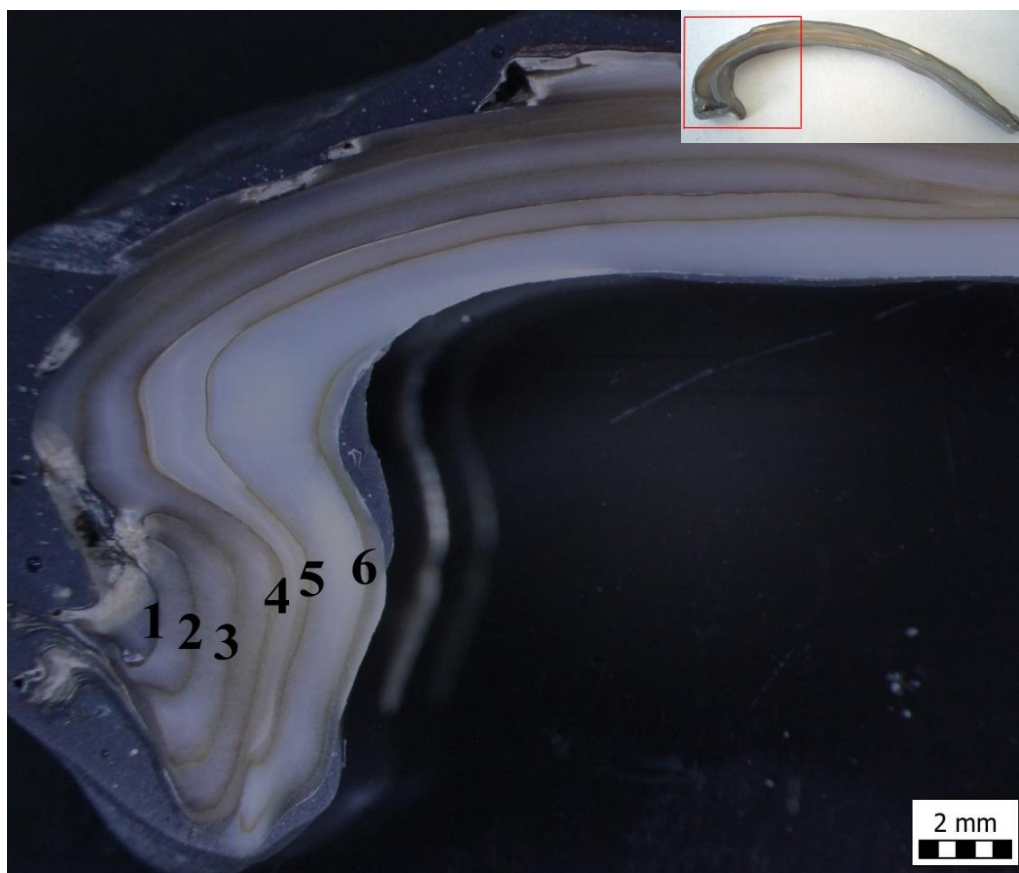
**Obr. 14:** Zkumavky s Mutvei roztokem a jednotlivými řezy na magnetickém míchadle s ohřevem (Holečková, 2017)

V dalším kroku byly jednotlivé řezy pozorovány binolupou a světelným mikroskopem a naměřená data byla zaznamenána. Pro porovnání obrazu řezu získaného pod světelným mikroskopem, byl jeden řez pozorován i pod fluorescenčním mikroskopem (Nikon Eclipse E200). Tento řez byl pozorován při zvětšení 10x10 při 100 % osvětlení (zdroj světla: 6V/20W halogenová žárovka). Získané obrazy byly porovnány s cílem ověřit, zda jsou přírůstkové linie pod světelným mikroskopem viditelné lépe než pod fluorescenčním.

### 3.3. Vyhodnocení řezů pod mikroskopem

Kromě makroskopických parametrů (délka, tloušťka a výška lastury, délka ligamentu, eroze lastur a hmotnost lastur) byly měřeny a vyhodnocovány i mikroskopické parametry (Obr. 15 – 17):

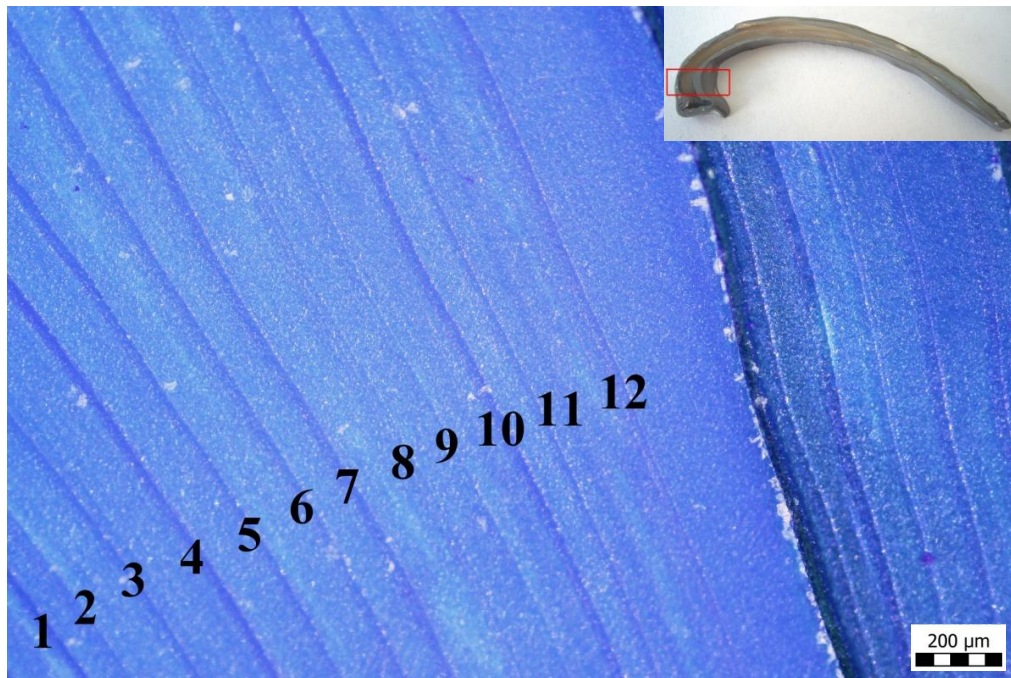
- Počet a délka konchiolinových linií (Obr. 15)



**Obr. 15:** Konchiolinové linie na vrcholu (umba) lastury. Čísla 1-5 označují jednotlivé konchiolinové linie (Holečková, 2017).

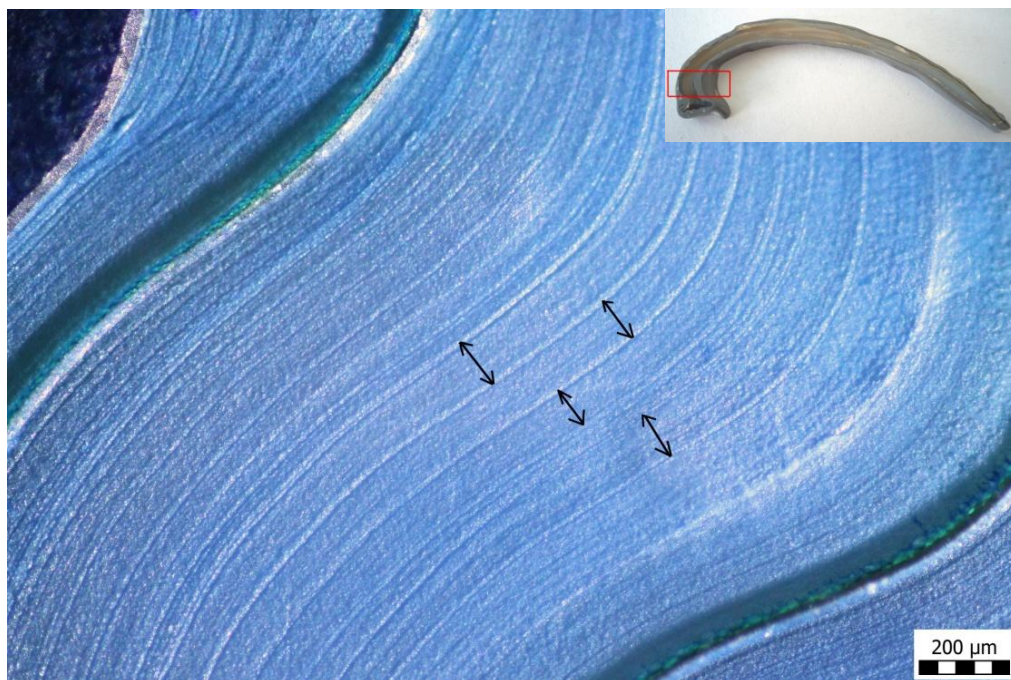


- Počet přírůstkových linií (tj. věk lastury) v perleťové vrstvě (Obr. 16)



**Obr. 16:** Přírůstkové linie. Čísla 1-12 označují jednotlivé přírůstkové linie (tj. roky). Dvě silné černé linie jsou konchiolinové (Holečková, 2017).

- Průměrné roční přírůstky (tj. vzdálenosti mezi dvěma přírůstkovými liniemi) v perleťové vrstvě (Obr. 17)



**Obr. 17:** Průměrné roční přírůstky. Šipky znázorňují přírůstek za jeden rok (Holečková, 2017).

### 3.4. Statistické vyhodnocení

Ke statistickému vyhodnocení byly využity programy Microsoft Excel a StatSoft® STATISTICA 12. Normalita dat byla otestována Shapiro-Wilkovým testem na hladině významnosti  $p = 0,05$ . V případě normality dat byla následně testována homogenita dat Levenovým testem. Metody testování a přehled měřených parametrů na lasture jsou uvedeny níže. Rozdíly v parametrech byly testovány mezi oblastmi a lokalitami výskytu. Při porovnávání morfologie lastur mezi lokalitami nebyly použity lastury z lokalit Kleine Ohe a Lužní potok, protože na obou těchto lokalitách bylo nalezeno pouze pět lastur. V případě statistického hodnocení mikroskopických parametrů řezů lastur mezi lokalitami bylo počítáno pouze s lokalitami Újezdský potok a Zlatý potok, protože ostatní tři lokality výskytu (Kleine Ohe, Lužní potok a Rokytnice) nezahrnovaly dostatečné množství lastur pro testování.

- Dvouvýběrový t-test (rozdíly mezi oblastmi) (testové kritérium  $t$ )
  - Tloušťka, výška
  - Hmotnost lastur
  - Relativní poměr hmotnosti lastur vůči délce
  - Věk lastur
  - Věk lastur (rozdíly mezi Újezdským a Zlatým potokem)
  - Průměrný roční přírůstek
  - Průměrný roční přírůstek (rozdíly mezi Újezdským a Zlatým potokem)
  - Poměr délky 1. konchiolinové linie k délce lastury
- Jednocestná ANOVA (rozdíly mezi lokalitami) (testové kritérium  $F$ )
  - Tloušťka, výška
  - Hmotnost lastur
  - Relativní poměr hmotnosti lastur vůči délce
- Párový t-test (testové kritérium  $t$ )
  - Rozdíl mezi hmotností pravé a levé misky
- Man-Whitney test (rozdíly mezi oblastmi) (testové kritérium  $U$ )
  - Délka

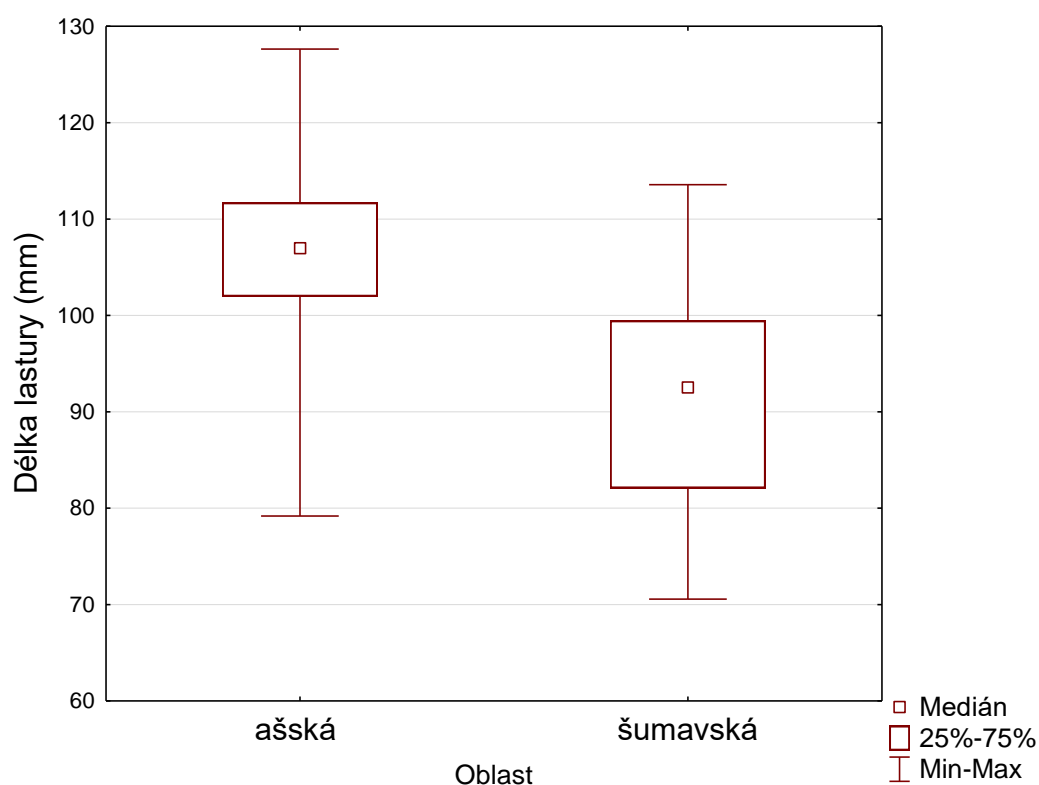
- Celková délka ligamentu a % erodovaného ligamentu
- Erovaná plocha lastury z celkové plochy lastury
- Průměrný počet přírůstkových linií do vzniku první konchiolinové linie (rozdíly mezi oblastmi a lokalitami (Újezdským a Zlatým potokem))
- Průměrný přírůstek za první rok (rozdíly mezi oblastmi a lokalitami (Újezdským a Zlatým potokem))
- Počet konchiolinových linií
- Poměr délky 1., 2., a 3. konchiolinové linie k délce řezu
- Součet přírůstků do vzniku první, druhé a třetí konchiolinové linie
- Součet přírůstků do vzniku první, druhé a třetí konchiolinové linie (rozdíly mezi Újezdským a Zlatým potokem)
- Kruskal-Wallis test (rozdíly mezi lokalitami) (testové kritérium  $H$ )
  - Délka
  - Průměrný přírůstek za první rok
  - Poměr délek 1., 2., a 3. konchiolinové linie a délky řezu
- Wilcoxon test (testové kritérium  $T$ )
  - Eroze pravé a levé misky
  - Průměrná velikost v pořadí prvního a druhého přírůstku po vzniku konchiolinové linie
- Závislosti mezi: (testové kritérium  $F$ )
  - tloušťkou řezu a délkou lastury
  - tloušťkou řezu a hmotností lastury
  - délkou lastury a počtem přírůstkových linií (věkem)
  - hmotností lastury a počtem přírůstkových linií (věkem)
  - erodovanou plochou lastury (%) a počtem přírůstkových linií (věkem)
  - průměrným přírůstkem (tloušťkou linie) a počtem přírůstkových linií (věkem)
  - průměrným přírůstkem a tloušťkou řezu

## 4. VÝSLEDKY

### 4.1. Morfologie lastur

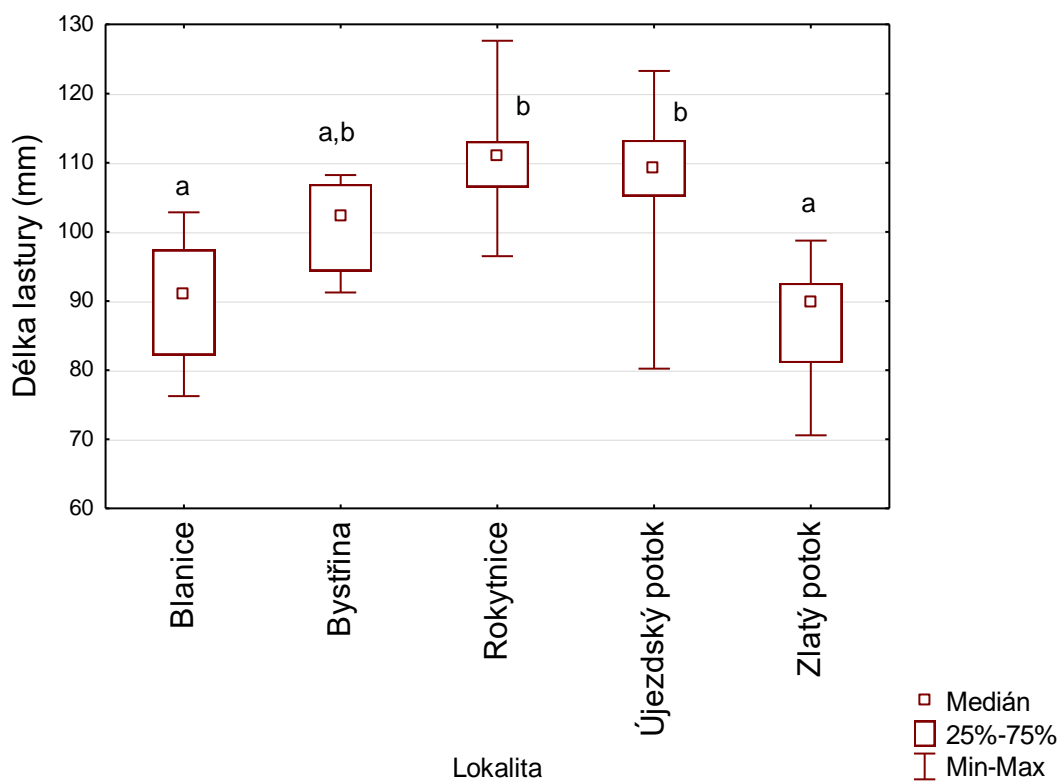
#### 4.1.1. Délka lastur

Délka lastur se mezi ašskou a šumavskou oblastí statisticky významně lišila ( $U = 238,00$ ;  $p < 0,01$ ) (Graf 1). Průměrná délka lastury byla 106 mm ( $n = 49$ ) v ašské a 91 mm ( $n = 28$ ) v šumavské oblasti. Nejdelší lastura měřila 128 mm a byla nalezena v roce 2017 na řece Rokytnici v ašské oblasti. Nejkratší lastura měřila 71 mm a byla nalezena v roce 2017 na Zlatém potoce v šumavské oblasti. Délka lastur se mezi jednotlivými lokalitami statisticky významně lišila ( $H(4; N = 67) = 42,12$ ;  $p = 0,00$ ) (Graf 2). Nejdelší lastury pocházely z Rokytnice a Újezdského potoka, nejkratší ze Zlatého potoka. Délka lastur nalezených na Bystřině (ašská oblast) se nelišila od ašských (Rokytnice, Újezdský potok), ani šumavských (Blanice, Zlatý potok) lokalit.



**Graf 1:** Délka lastur (mm) v ašské a šumavské oblasti.

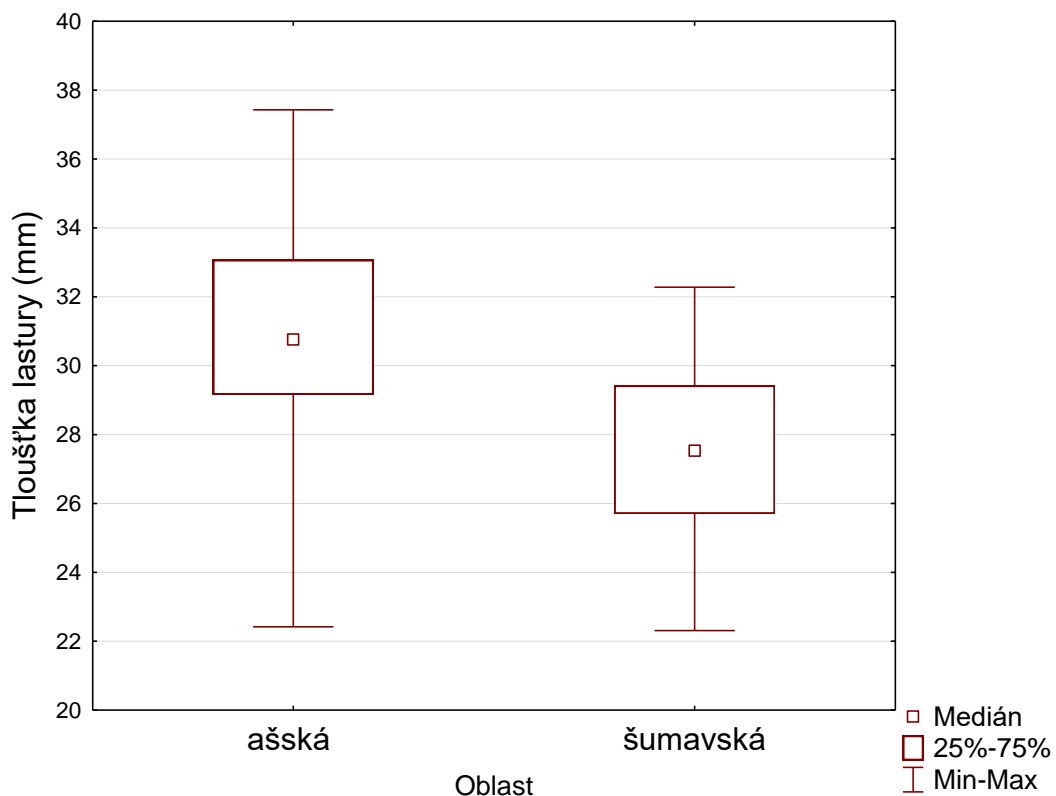




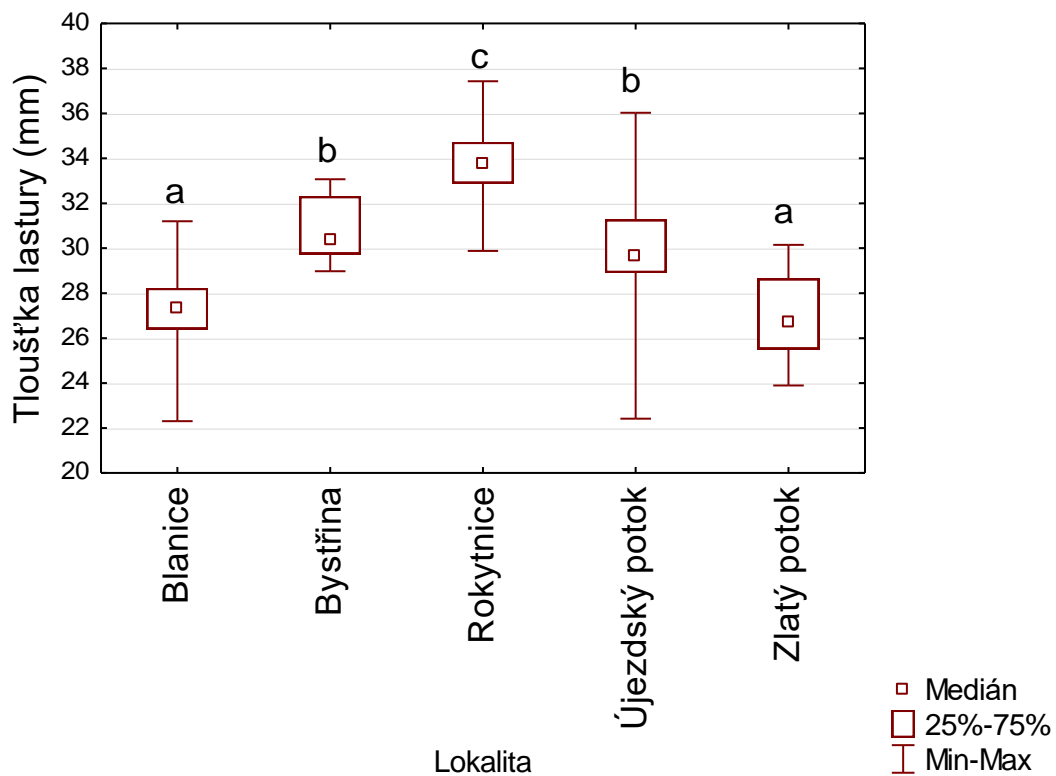
**Graf 2:** Délka lastur (mm) na jednotlivých lokalitách výskytu. Odlišný horní index označuje lokality, které se mezi sebou lišily.

#### 4.1.2. Tloušťka lastur

Tloušťka lastur se mezi ašskou a šumavskou oblastí statisticky významně lišila ( $t = 5,00$ ;  $p < 0,01$ ) (Graf 3). Průměrná tloušťka lastury byla 31 mm ( $n = 49$ ) v ašské a 27 mm ( $n = 28$ ) v šumavské oblasti. Lastura s největší tloušťkou měřila 37 mm a byla nalezena v roce 2015 na řece Rokytnice v ašské oblasti. Lastura s nejmenší tloušťkou měřila 22 mm a byla nalezena v roce 2015 na řece Blanici v šumavské oblasti. Tloušťka lastur se mezi jednotlivými lokalitami statisticky významně lišila ( $F(4;62) = 19,50$ ;  $p < 0,01$ ) (Graf 4).



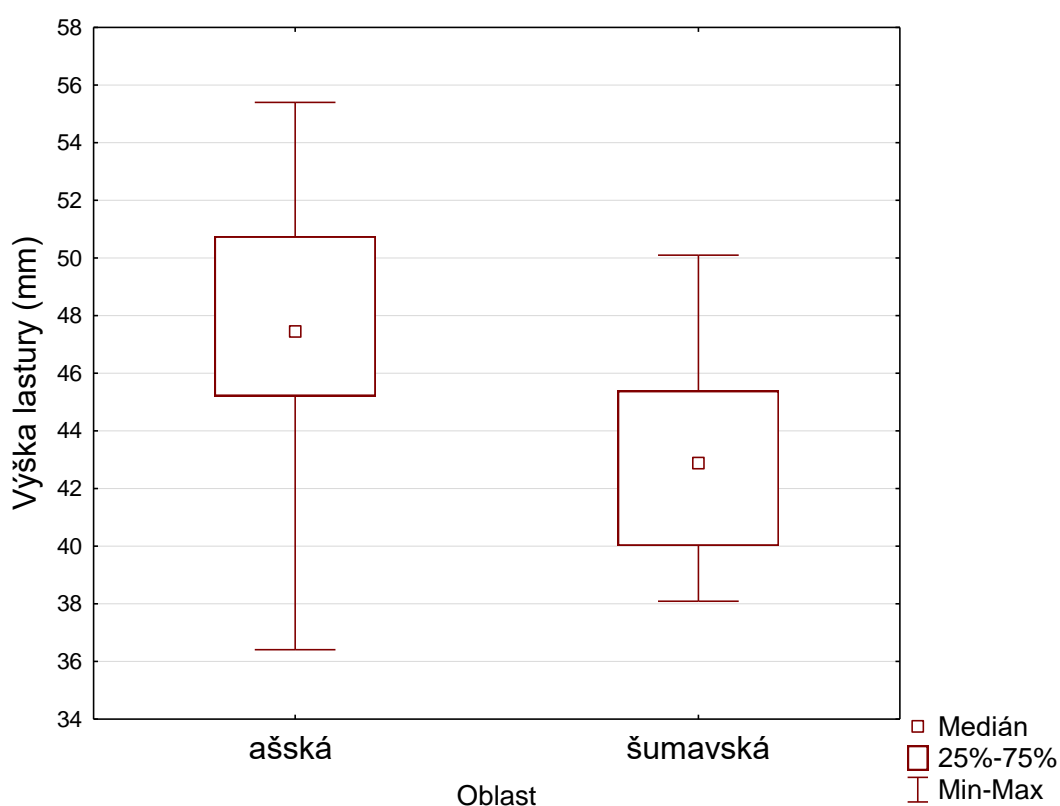
**Graf 3:** Tloušťka lastur (mm) v ašské a šumavské oblasti.



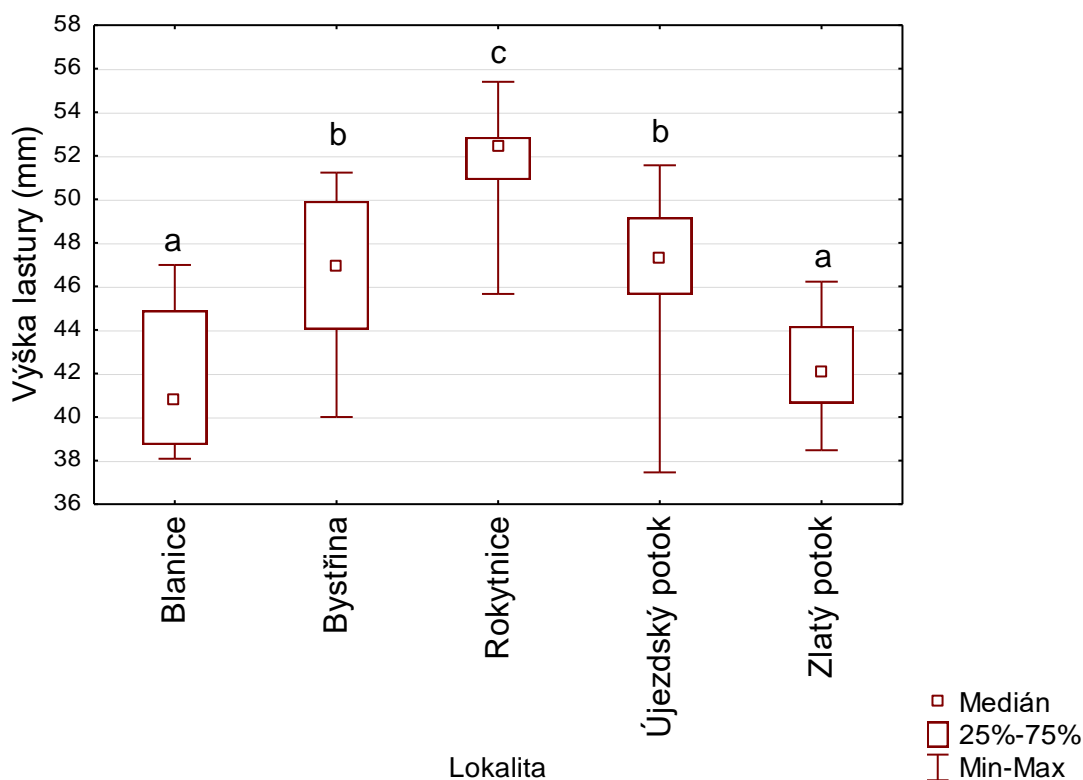
**Graf 4:** Tloušťka lastur (mm) na jednotlivých lokalitách výskytu. Odlišný horní index označuje lokality, které se mezi sebou lišily.

### 4.1.3. Výška lastury

Výška lastur se mezi ašskou a šumavskou oblastí statisticky významně lišila ( $t = 4,79$ ;  $p < 0,01$ ) (Graf 5). Průměrná výška lastury byla 48 mm ( $n = 49$ ) v ašské a 43 mm ( $n = 28$ ) v šumavské oblasti. Nejvyšší lastura měřila 55 mm a byla nalezena v roce 2017 na řece Rokytnici v ašské oblasti. Lastura s nejmenší výškou měřila 36 mm a byla nalezena v roce 2017 na Lužním potoce v ašské oblasti. Výška lastur se mezi jednotlivými lokalitami statisticky významně lišila ( $F(4;62) = 23,56$ ;  $p < 0,01$ ) (Graf 6).



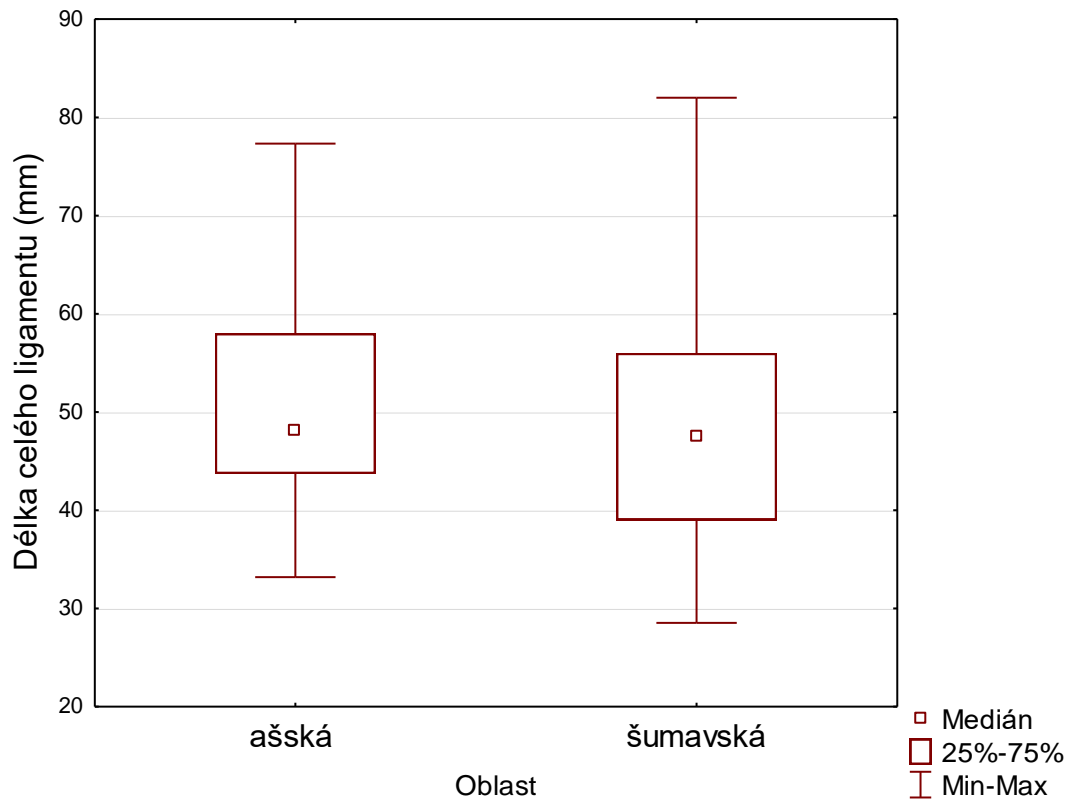
**Graf 5:** Výška lastur (mm) v ašské a šumavské oblasti.



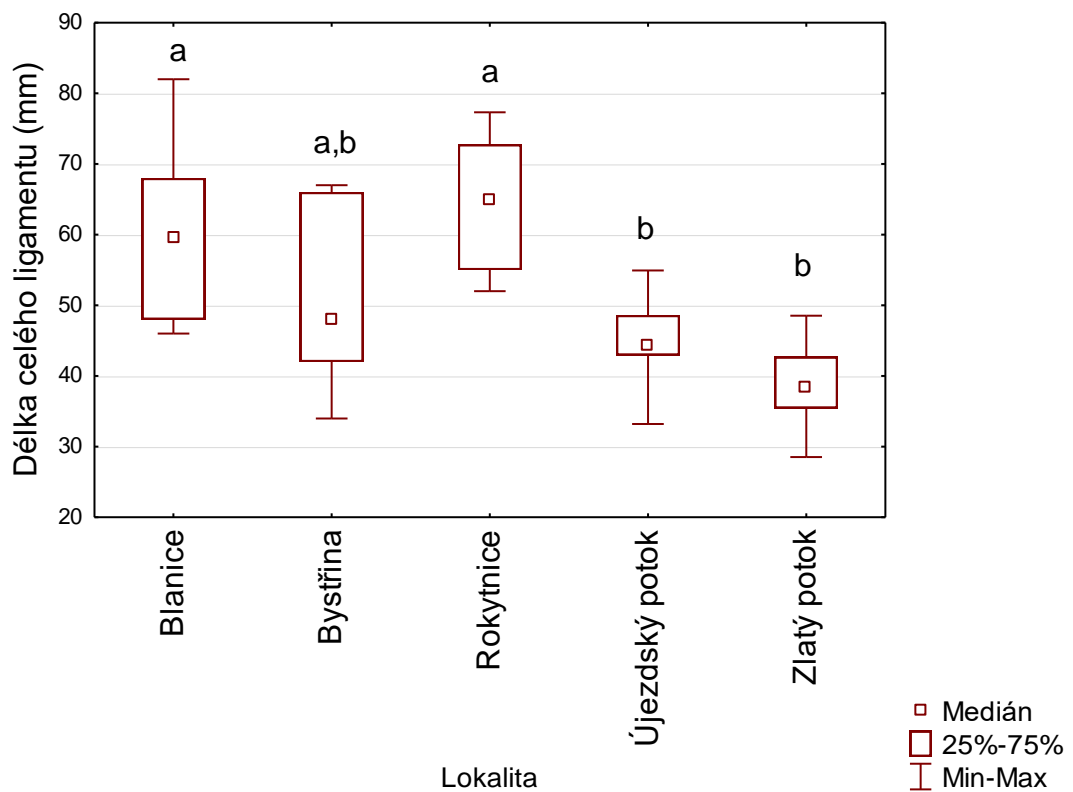
**Graf 6:** Výška lastury (mm) na jednotlivých lokalitách výskytu. Odlišný horní index označuje lokality, které se mezi sebou lišily.

#### 4.1.4. Délka a eroze ligamentu

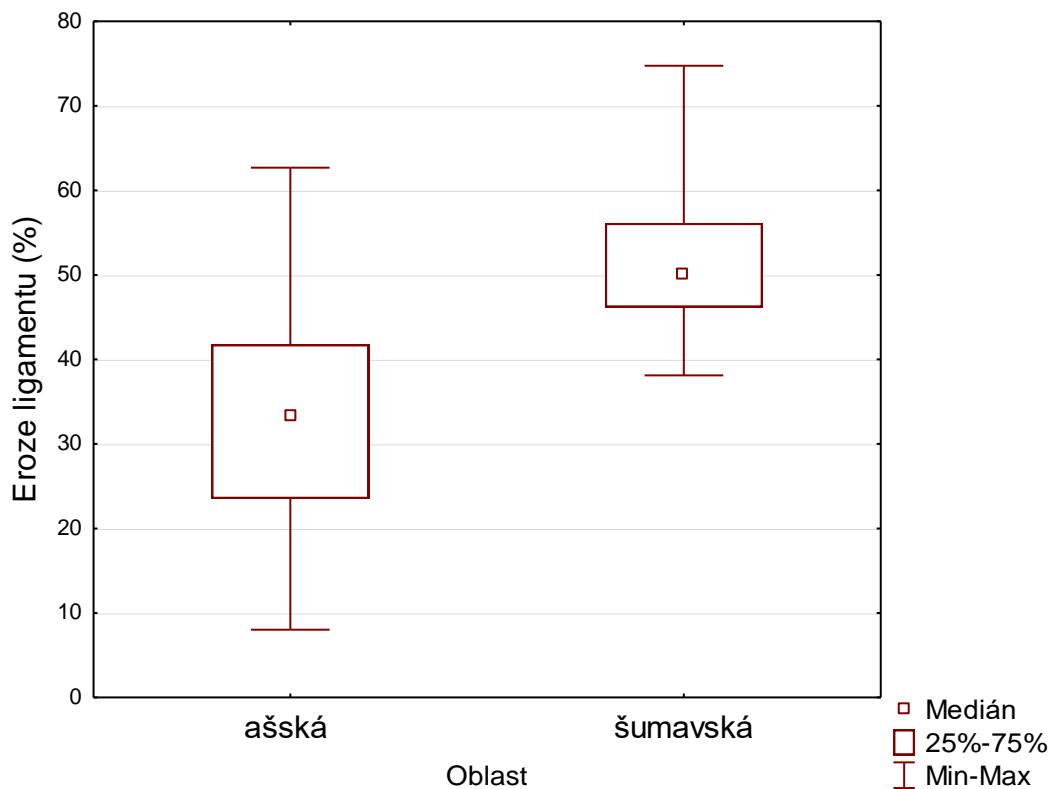
Celková délka ligamentu se mezi ašskou a šumavskou oblastí nelišila ( $U = 594,50$ ;  $p = 0,34$ ) (Graf 7). Průměrná celková délka ligamentu byla 52 mm ( $n = 49$ ) v ašské a 48 mm ( $n = 28$ ) v šumavské oblasti. Celková délka ligamentu se mezi jednotlivými lokalitami výskytu statisticky významně lišila ( $H(4; N = 67) = 38,36$ ;  $p < 0,01$ ) (Graf 8). Procento erodovaného ligamentu se mezi ašskou a šumavskou oblastí statisticky významně lišilo ( $U = 206,00$ ;  $p < 0,01$ ) (Graf 9). Eroze ligamentu se rozkládala přibližně na  $35 \pm 15$  % celkové délky ligamentu u lastur z ašské oblasti a přibližně na  $51 \pm 8$  % (průměr  $\pm$  S. D.) celkové délky ligamentu u lastur z šumavské oblasti. Procento erodovaného ligamentu se mezi jednotlivými lokalitami výskytu statisticky významně lišilo ( $H(4; N = 67) = 45,29$ ;  $p < 0,01$ ) (Graf 10).



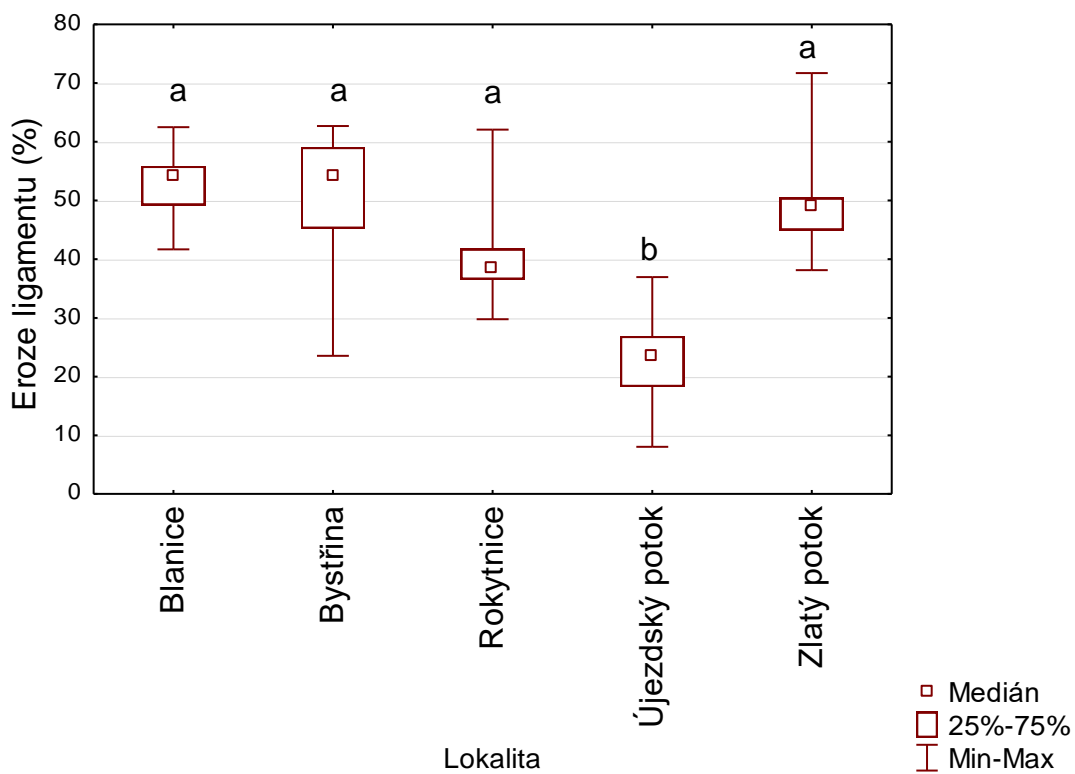
**Graf 7:** Délka celého ligamentu (mm) v ašské a šumavské oblasti



**Graf 8:** Délka celého ligamentu (mm) na jednotlivých lokalitách výskytu. Odlišný horní index označuje lokality, které se mezi sebou lišily.



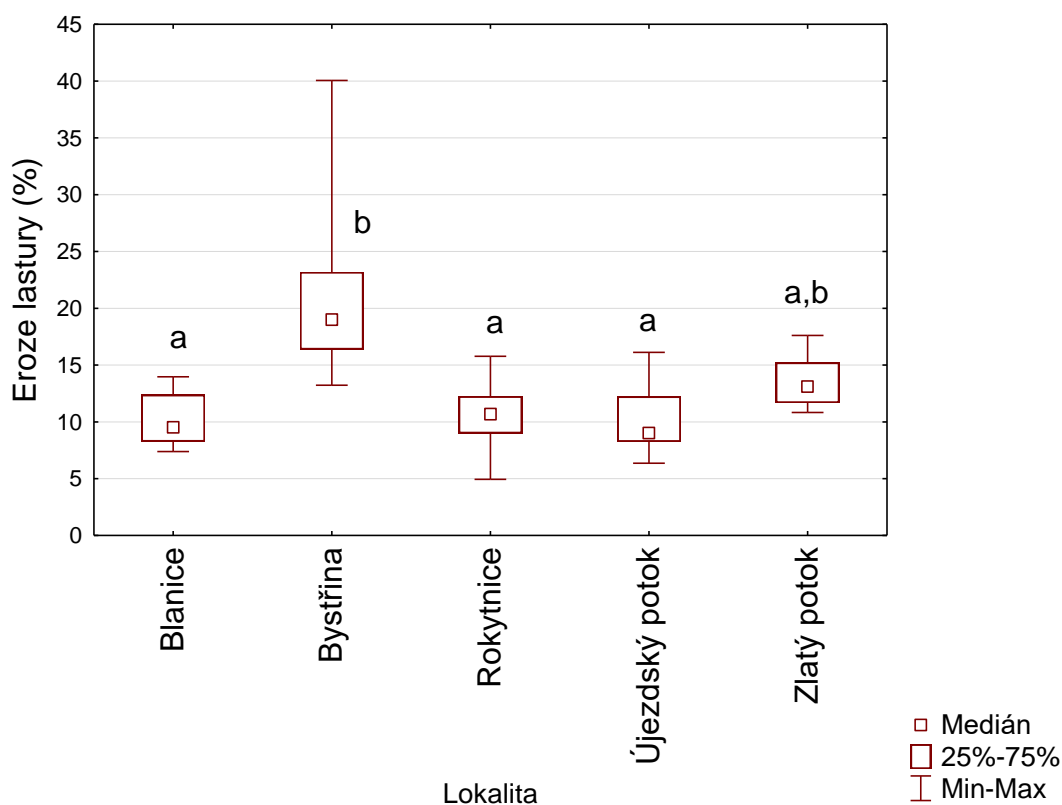
**Graf 9:** Eroze ligamentu (%) v ašské a šumavské oblasti.



**Graf 10:** Eroze ligamentu (%) na jednotlivých lokalitách výskytu. Odlišný horní index označuje lokality, které se mezi sebou lišily.

#### 4.1.5. Eroze lastur

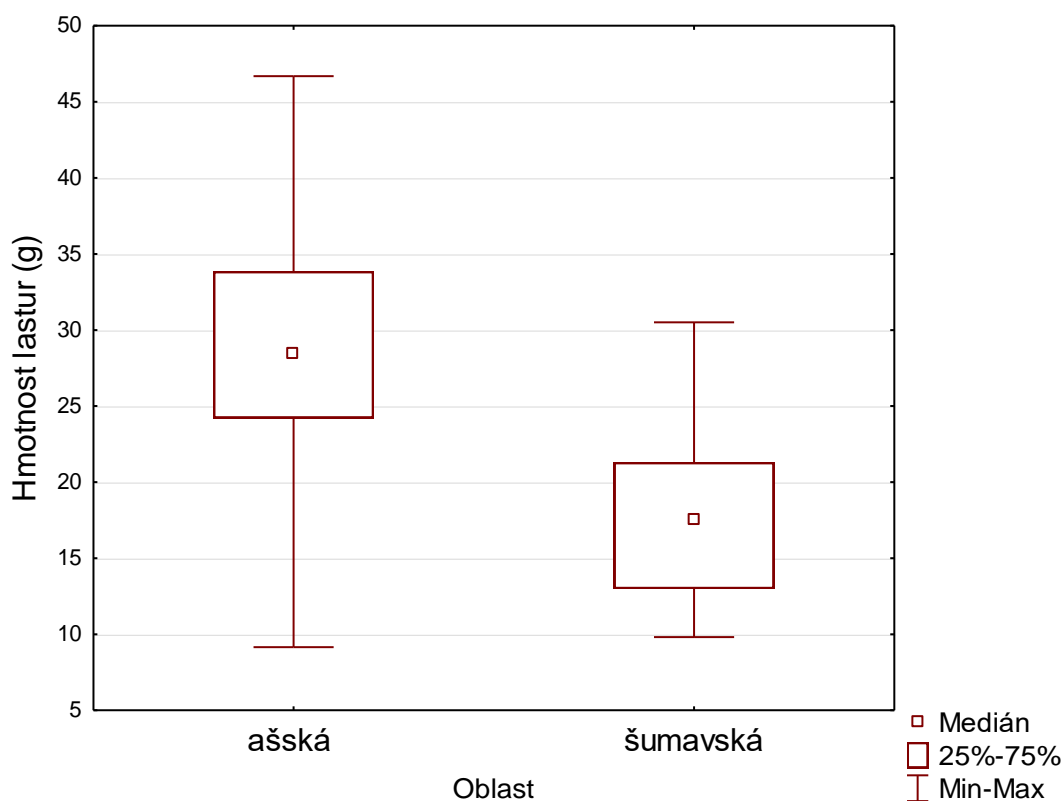
Procento erodované plochy z celkové plochy lastury se mezi ašskou a šumavskou oblastí nelišilo ( $U = 555,00$ ;  $p = 0,17$ ). Eroze se rozkládala přibližně na  $13 \pm 6$  % plochy lastury v ašské a přibližně na  $15 \pm 9$  % (průměr  $\pm$  S. D.) plochy lastury v šumavské oblasti. Procento erodované plochy se mezi jednotlivými lokalitami výskytu statisticky významně lišilo ( $H(4; N = 67) = 31,81$ ;  $p < 0,01$ ) (Graf 11). Plocha eroze pravé a levé misky se vzájemně nelišila ( $T = 1407,00$ ;  $p = 0,63$ ). Průměrná plocha eroze byla  $505 \text{ mm}^2$  na pravé misce a  $498 \text{ mm}^2$  na levé misce.



**Graf 11:** Eroze lastury (%) na jednotlivých lokalitách výskytu. Odlišný horní index označuje lokality, které se mezi sebou lišily.

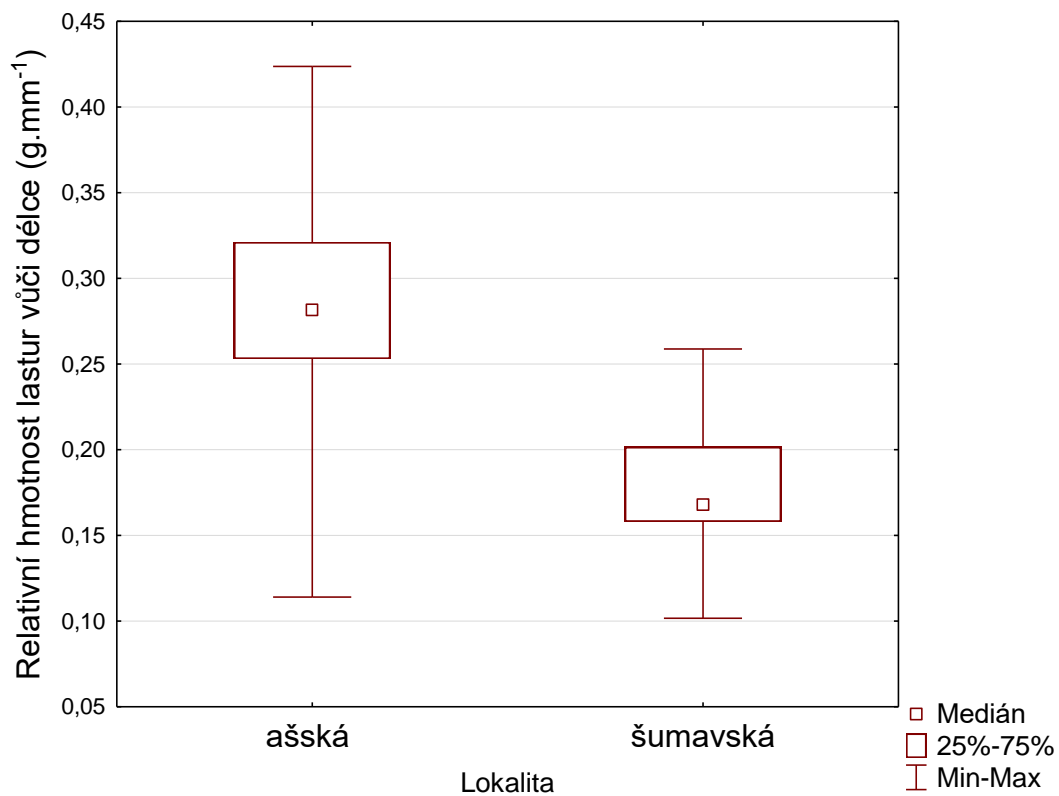
#### 4.1.6. Hmotnost lastur

Průměrná hmotnost lastur se mezi ašskou a šumavskou oblastí statisticky významně lišila ( $t = 6,37$ ;  $p < 0,01$ ) (Graf 12). Relativní hmotnost lastur vůči délce se mezi ašskou a šumavskou oblastí statisticky významně lišila ( $t = 8,19$ ;  $p < 0,01$ ) (Graf 13). Průměrná investice jedince do hmotnosti lastury byla  $0,29 \pm 0,06 \text{ g.mm}^{-1}$  v ašské oblasti a  $0,18 \pm 0,04 \text{ g.mm}^{-1}$  v šumavské oblasti. Průměrná hmotnost lastur se mezi lokalitami výskytu statisticky významně lišila ( $F(4;62) = 8,59$ ;  $p < 0,01$ ) (Graf 14). Relativní hmotnost lastur vůči délce se mezi lokalitami výskytu statisticky významně lišila ( $F(4; 62) = 24,38$ ;  $p < 0,01$ ) (Graf 15). Hmotnost levé a pravé misky lastury se mezi sebou statisticky významně lišila ( $t = 2,85$ ;  $p = 0,01$ ) (Graf 16). Hmotnost levé misky byla  $25,23 \pm 9,15$  gramů a hmotnost pravé misky byla  $24,68 \pm 8,82$  gramů (průměr  $\pm$  směrodatná odchylka).

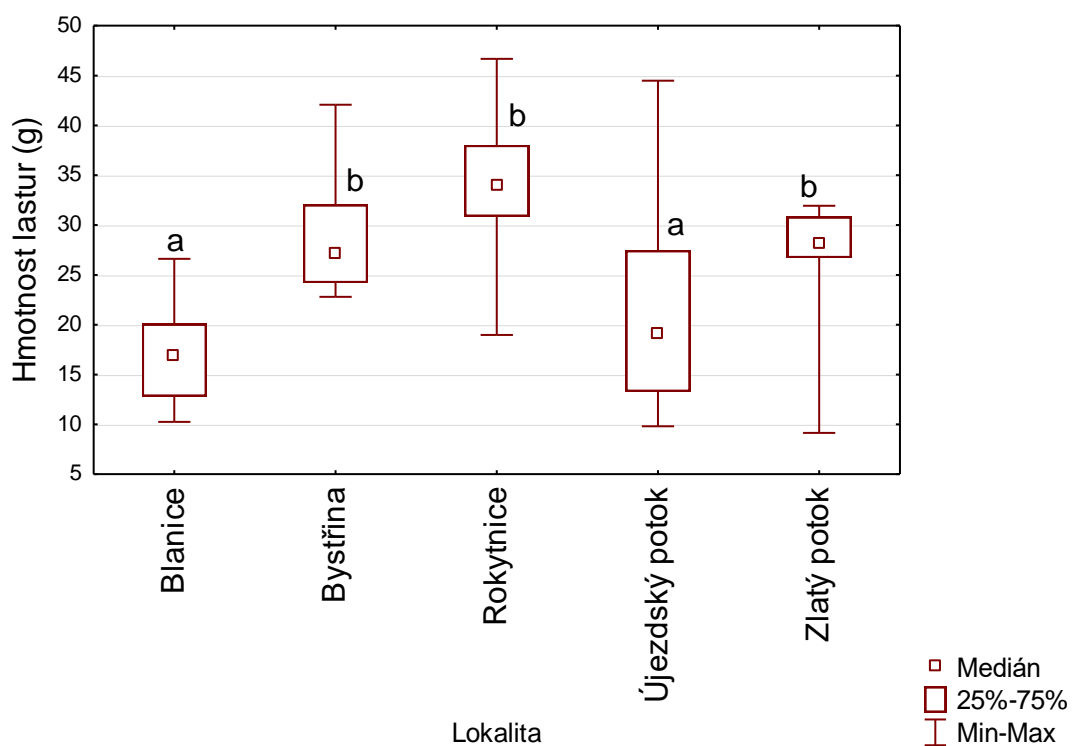


**Graf 12:** Hmotnost lastur (g) v ašské a šumavské oblasti.

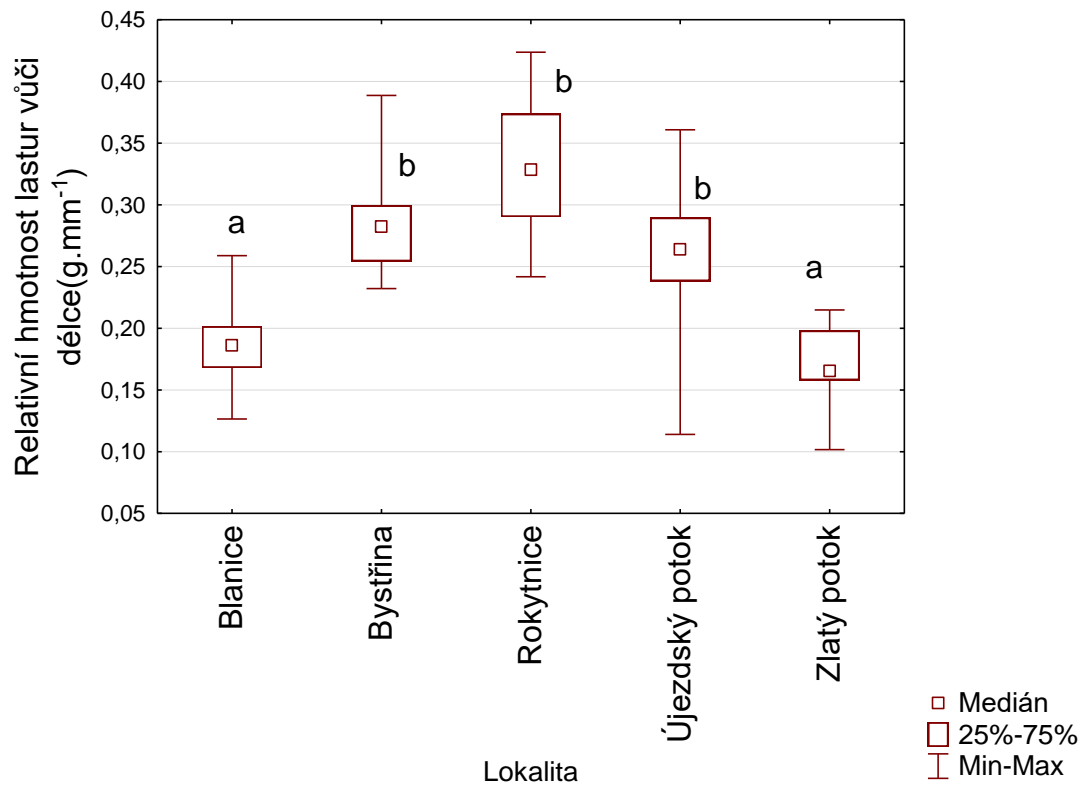




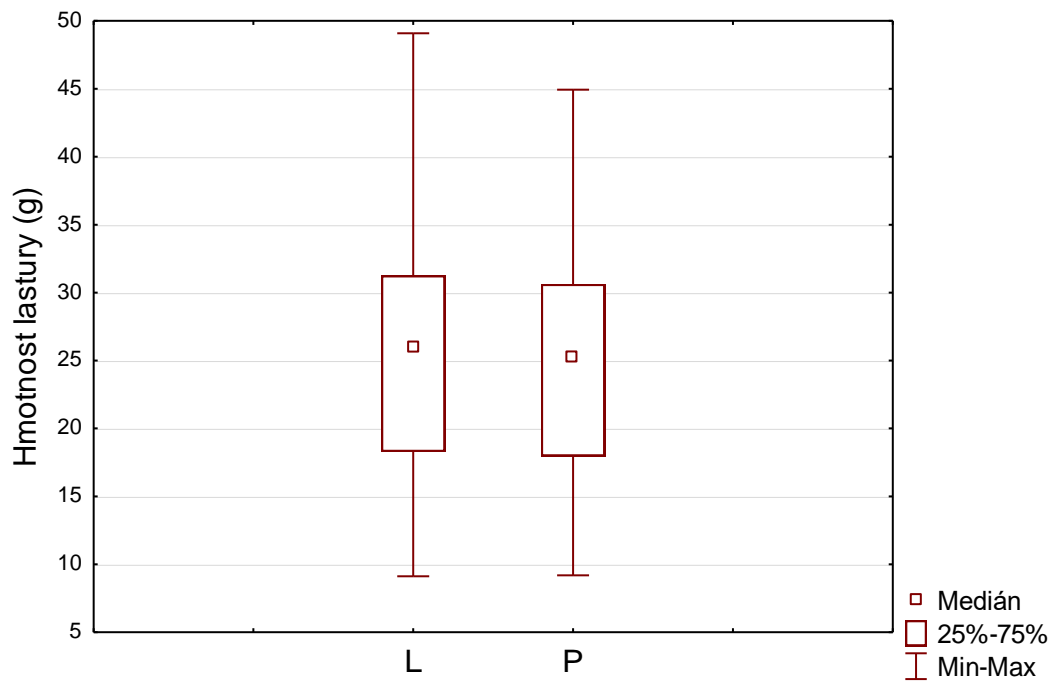
**Graf 13:** Relativní hmotnost lastur vůči délce ( $\text{g}\cdot\text{mm}^{-1}$ ), vyjadřující investice jedince do hmotnosti lastury.



**Graf 14:** Hmotnost lastur (g) na jednotlivých lokalitách výskytu. Odlišný horní index označuje lokality, které se mezi sebou lišily.



**Graf 15:** Relativní hmotnost lastur vůči délce (g.mm<sup>-1</sup>), vyjadřující investice jedince do hmotnosti lastury. Odlišný horní index označuje lokality, které se mezi sebou lišily.

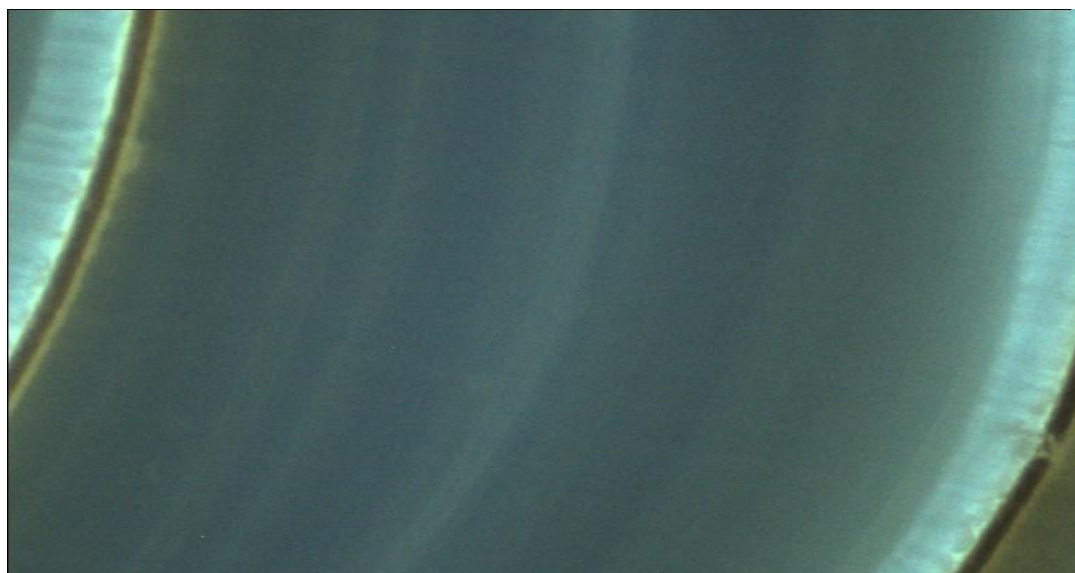


**Graf 16:** Hmotnost (g) levé (L) a pravé (P) misky.

## 4.2. Mikroskopické parametry řezu lastur

### 4.2.1. Věk lastur

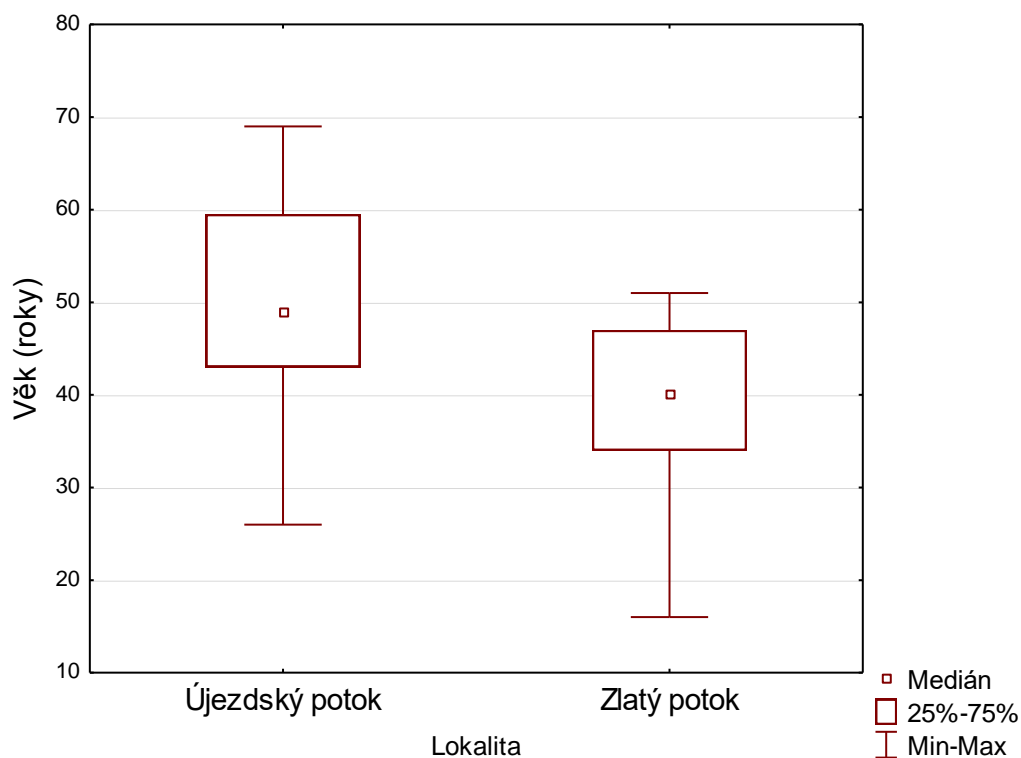
Průměrný věk uhynulých jedinců byl určován podle počtu přírůstkových linií v perleťové vrstvě barveného řezu lastur. Pro porovnání kvality zobrazení linií ve světelném mikroskopu byl jeden neobarvený řez zkoumán pod fluorescenčním mikroskopem (Obr. 18). Linie byly pod fluorescenčním mikroskopem viditelné, ale kvalita zobrazení byla v porovnání se světelným mikroskopem výrazně horší (viz Obr. 16).



**Obr. 18:** Přírůstkové linie (světlé linie) pod fluorescenčním mikroskopem (zvětšení 10x10, vlnová délka 330 – 390 nm). Černé linie na krajích jsou konchiolinové vrstvy a světlá vrstva vlevo od nich je prizmatická vrstva (Holečková, 2017).

Průměrný věk se mezi ašskou a šumavskou oblastí nelišil ( $t = 1,85$ ;  $p = 0,07$ ). Lastury uhynulých jedinců pocházející z ašské oblasti dosáhly průměrně věku 50 let a v šumavské oblasti byly lastury průměrně ve věku 42 let. Lišil se však věk uhynulých jedinců mezi lokalitami výskytu ( $t = 2,46$ ;  $p = 0,02$ ) (Graf 17). Porovnávána byla pouze data z lokalit Újezdský potok a Zlatý potok, protože ostatní tři lokality výskytu (Kleine Ohe, Lužní potok a Rokytnice) nezahrnovaly dostatečné množství lastur pro testování. Nicméně, nejstarší lastura (91 let) byla nalezena

na řece Rokytnici. Nejmladší lastura (16 let) byla nalezena na šumavské lokalitě, Zlatém potoce. Maximální dosažený věk uhynulých jedinců nalezených na jednotlivých lokalitách se pohyboval mezi 46 – 91 lety (Tab. 3).



**Graf 17:** Průměrný věk (roky) dle lastur uhynulých perlorodek říčních na lokalitách výskytu (Újezdský potok a Zlatý potok).

**Tab. 3:** Nejdelší ( $L_{max}$ ) a nejstarší ( $A_{max}$ ) lastury nalezené na jednotlivých lokalitách výskytu a průměrné hodnoty  $\pm$  směrodatné odchylky (S. D.) těchto parametrů ( $L_{průměr}$ ,  $A_{průměr}$ ).

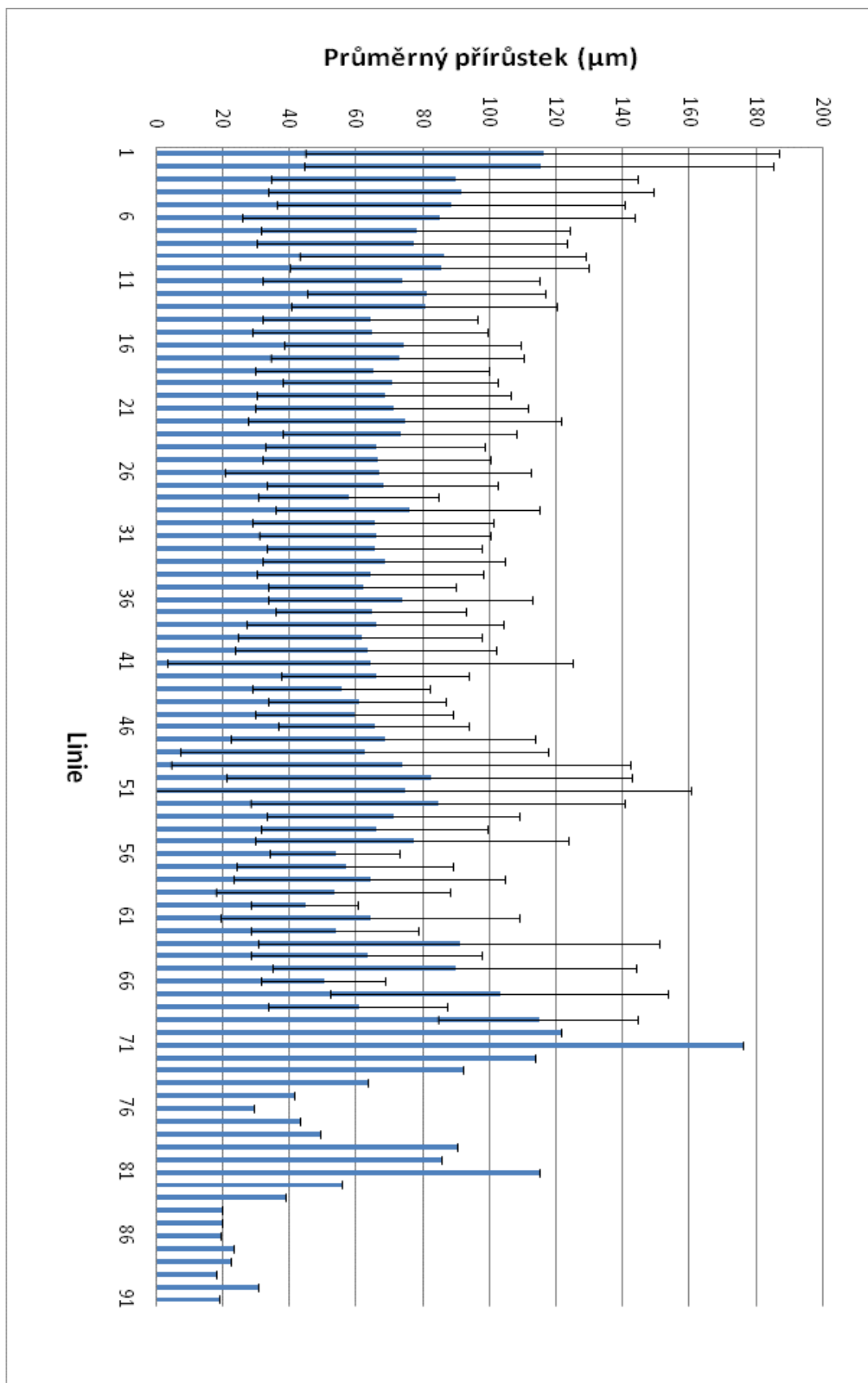
Lokalita	$L_{max}$ (mm)	$L_{průměr}$ (mm)	$A_{max}$ (roky)	$A_{průměr}$ (roky)
Kleine Ohe (n = 5)	114	$107 \pm 4$	65	$40 \pm 10$
Lužní potok (n = 5)	109	$92 \pm 11$	46	$40 \pm 7$
Rokytnice (n = 3)	128	$119 \pm 7$	91	$65 \pm 20$
Újezdský potok (n = 20)	123	$109 \pm 9$	69	$50 \pm 12$
Zlatý potok (n = 13)	99	$86 \pm 9$	51	$40 \pm 9$

#### 4.2.2. Růst lastur

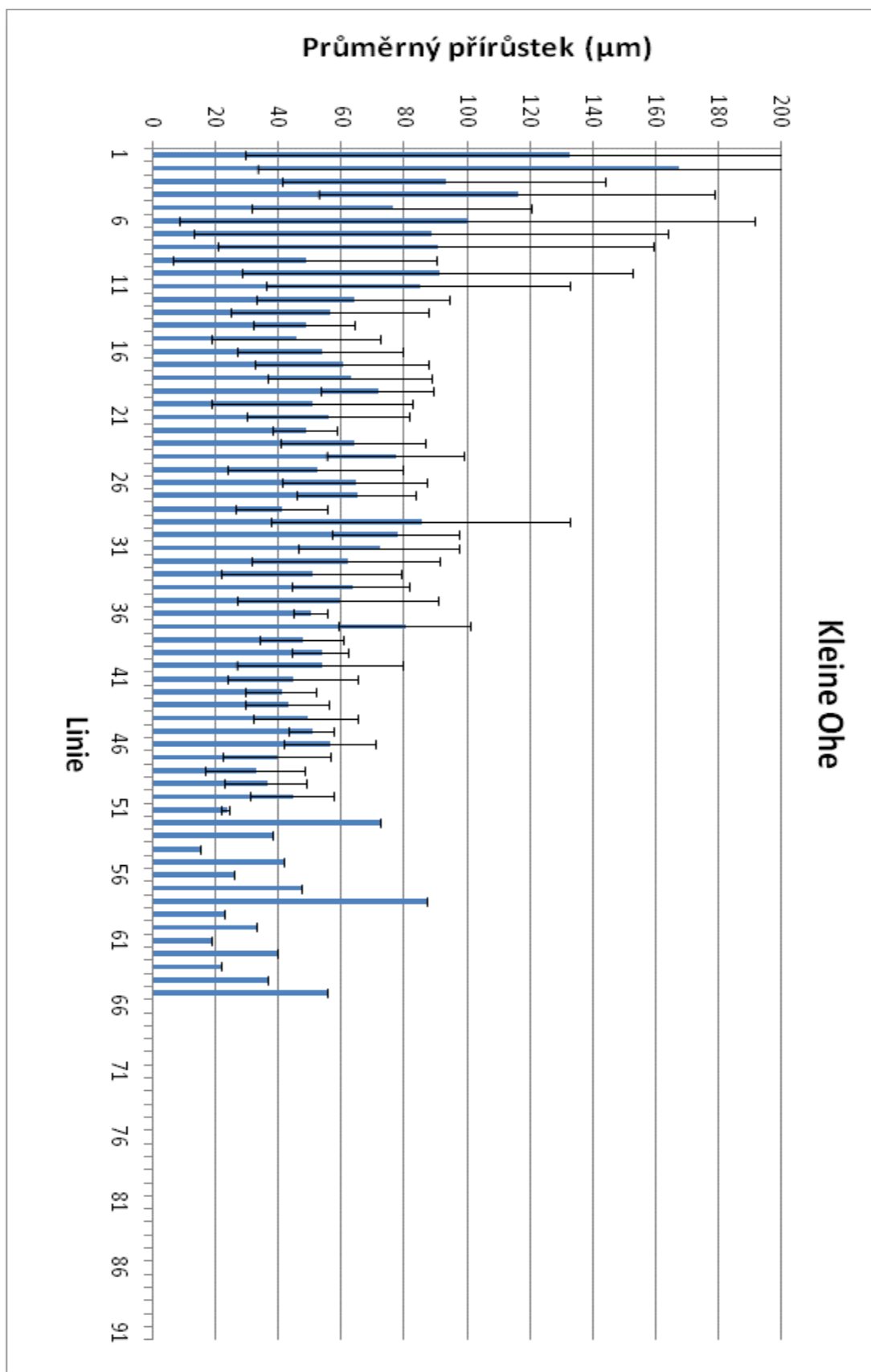
Průměrný roční přírůstek bez ohledu na oblasti (lokality) byl  $73 \pm 19 \mu\text{m}$  (Graf 18 – 23). Průměrný roční přírůstek se mezi ašskou a šumavskou oblastí nelišil ( $t = 0,51$ ;  $p = 0,62$ ). Průměrný roční přírůstek byl  $74 \mu\text{m.rok}^{-1}$  v ašské oblasti a  $71 \mu\text{m.rok}^{-1}$  v šumavské oblasti. Přírůstky na jednotlivých lokalitách výskytu (Újezdský a Zlatý potok) se mezi sebou také nelišily ( $t = 0,70$ ;  $p = 0,49$ ) (Tab. 4). Průměrná velikost přírůstku za první rok se nelišila mezi oblastmi ( $U = 246$ ;  $p = 0,90$ ), ani mezi lokalitami ( $U = 97,5$ ;  $p = 0,24$ ).

**Tab. 4:** Maximální ( $I_{\text{max}}$ ) a minimální ( $I_{\text{min}}$ ) přírůstek a průměrný přírůstek ( $I_{\text{průměr}}$ )  $\pm$  směrodatná odchylka (S. D.) na jednotlivých lokalitách výskytu.

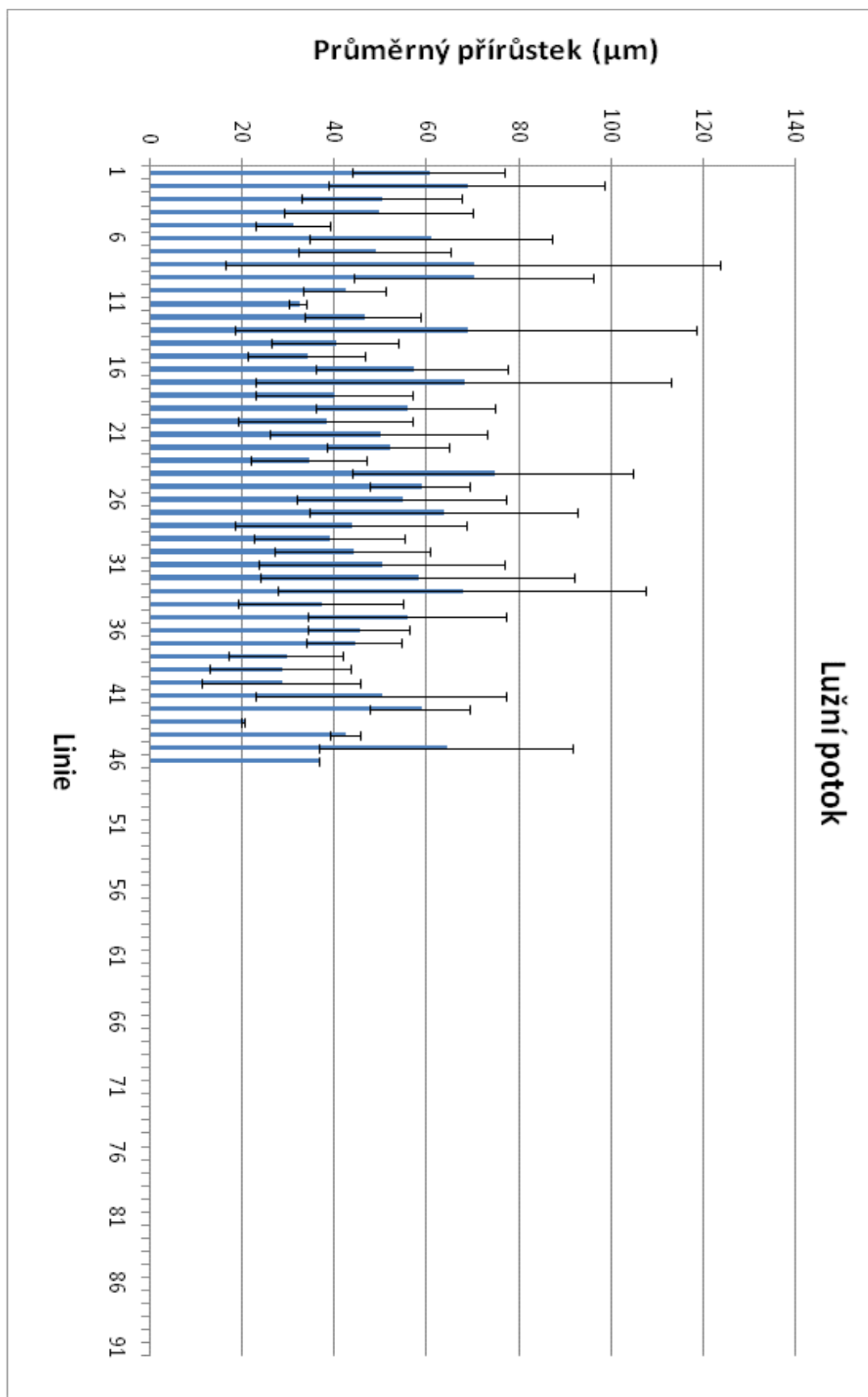
Lokalita	$I_{\text{max}}$ ( $\mu\text{m}$ )	$I_{\text{průměr}}$ ( $\mu\text{m}$ )	$I_{\text{min}}$ ( $\mu\text{m}$ )
Kleine Ohe (n = 5)	419	$65 \pm 49$	11
Lužní potok (n = 5)	154	$50 \pm 27$	9
Rokytnice (n = 3)	360	$86 \pm 52$	16
Újezdský potok (n = 20)	177	$77 \pm 45$	11
Zlatý potok (n = 13)	283	$73 \pm 41$	12



**Graf 18:** Průměrný roční přírůstek (μm) bez ohledu na oblasti (resp. lokality) podle pořadí přírůstkových linií (1-91) (průměr ± směrodatná odchylka).

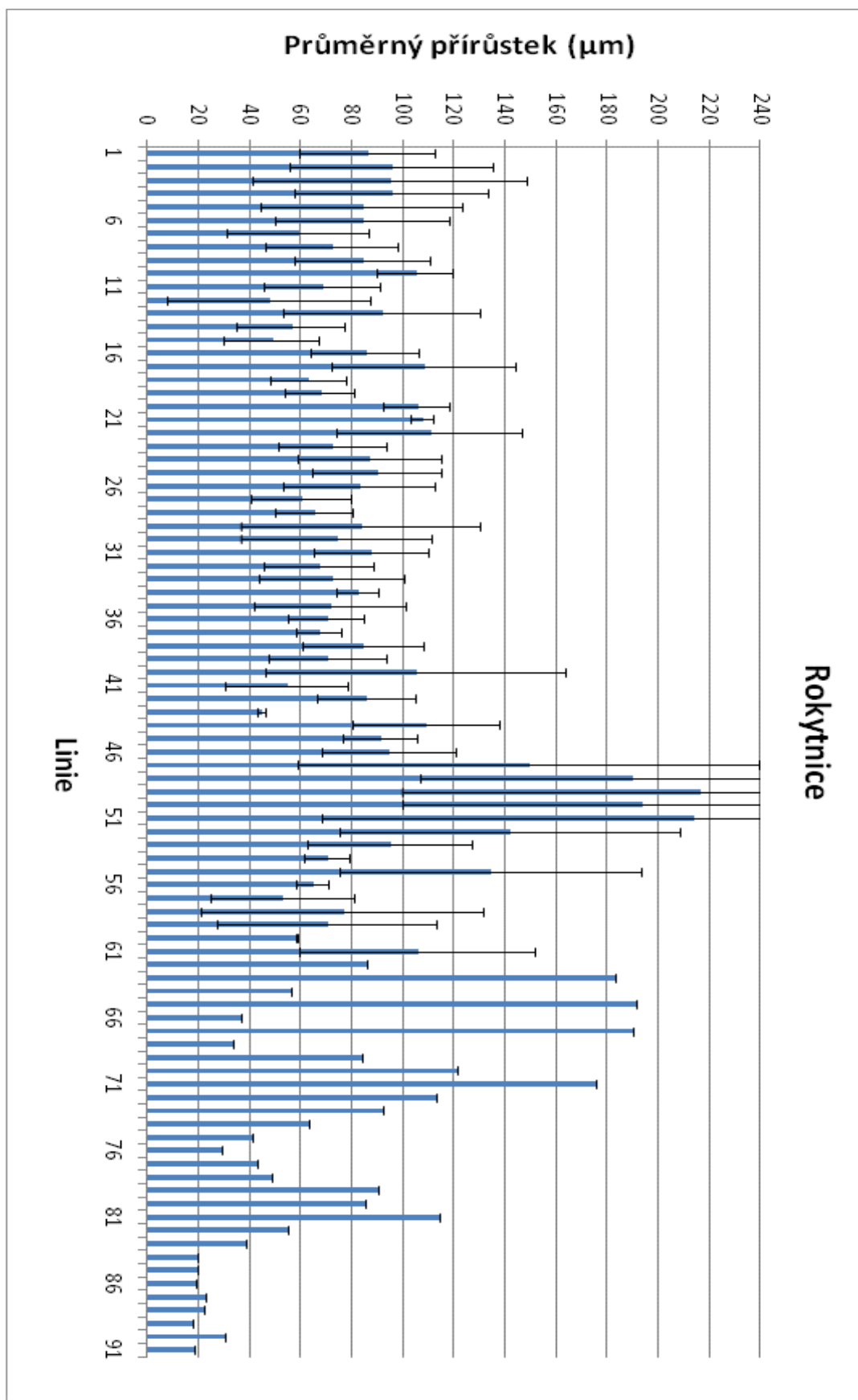


**Graf 19:** Průměrný roční přírůstek (μm) na řece Kleine Ohe podle pořadí přírůstkových linií (1-65) (průměr ± směrodatná odchylka).

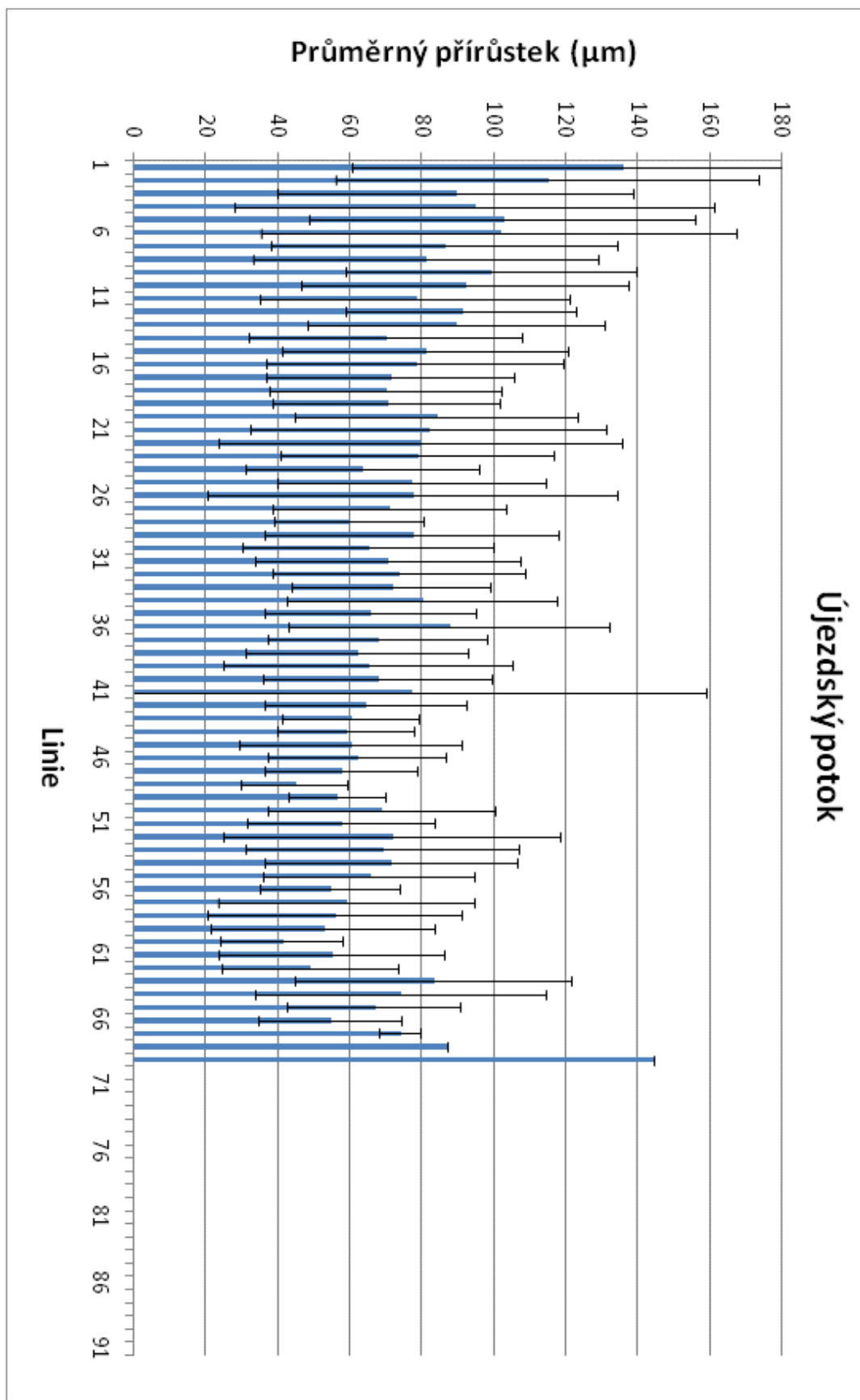


**Graf 20:** Průměrný roční přírůstek ( $\mu\text{m}$ ) na Lužním potoce podle pořadí přírůstkových linií (1-46) (průměr  $\pm$  směrodatná odchylka).

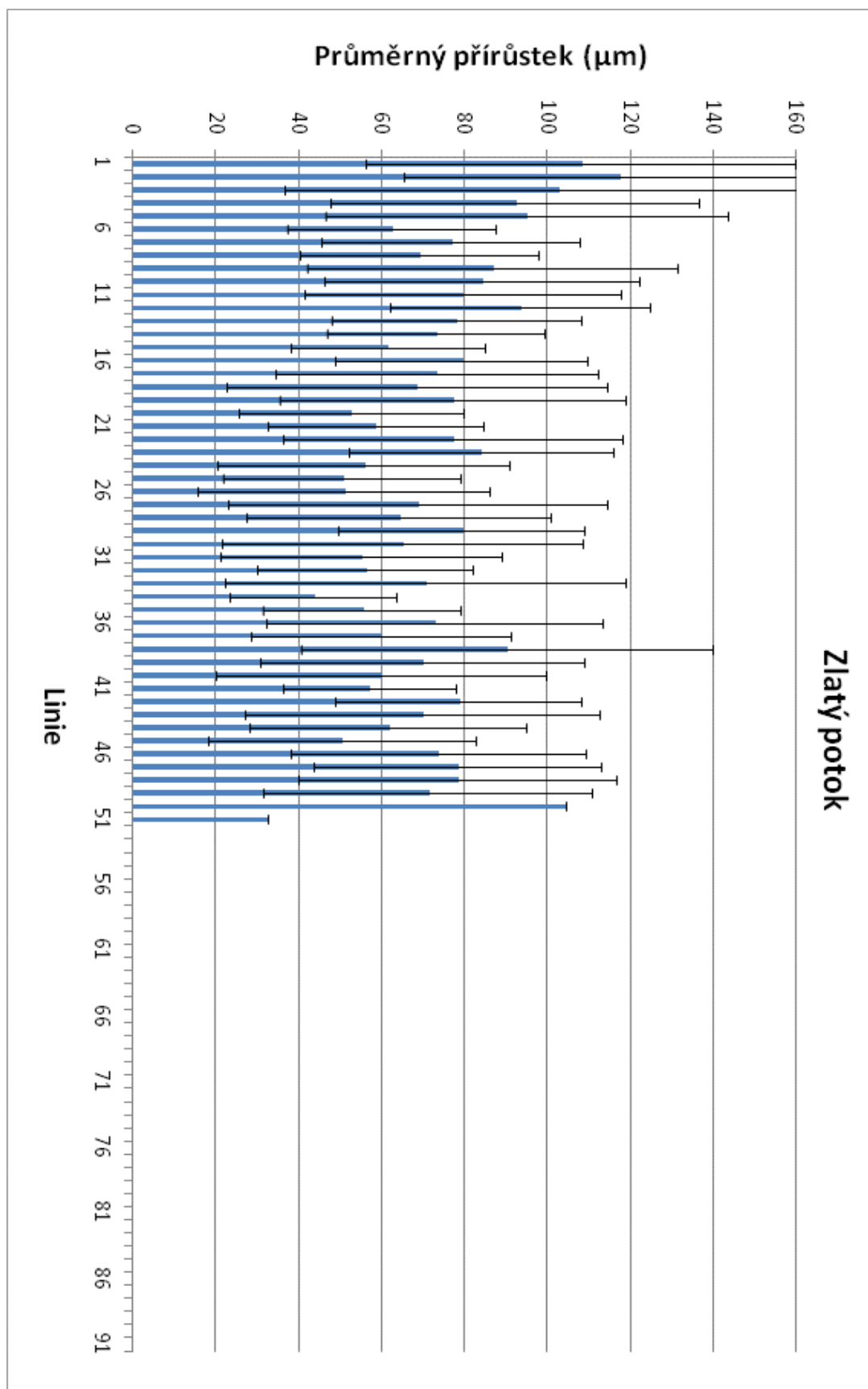




**Graf 21:** Průměrný roční přírůstek (μm) na řece Rokytnici podle pořadí přírůstkových linií (1-91) (průměr ± směrodatná odchylka).



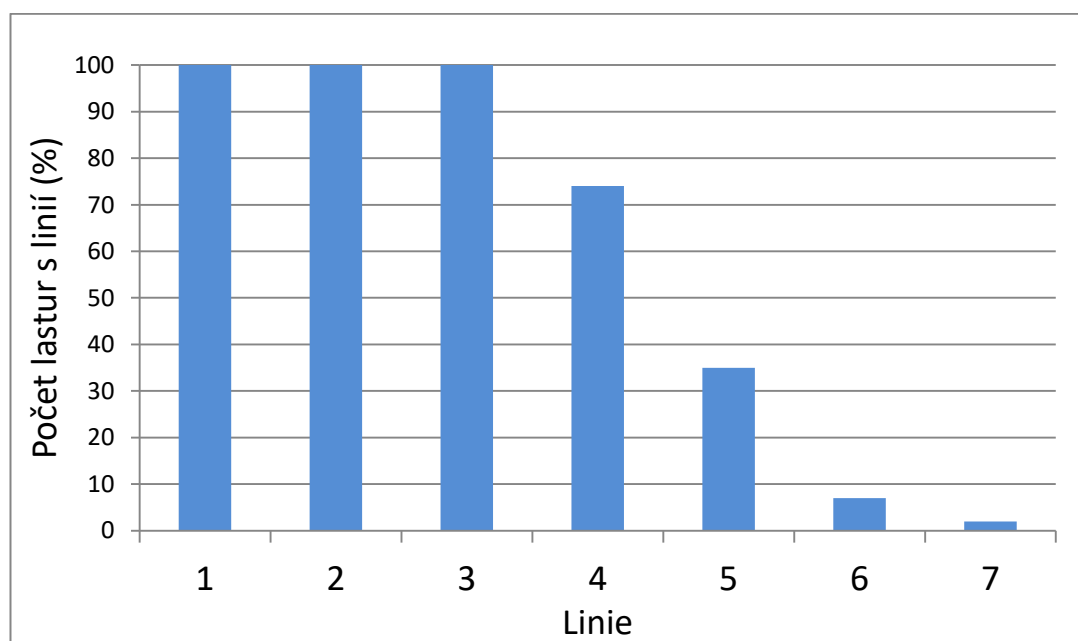
**Graf 22:** Průměrný roční přírůstek (μm) na Újezdském potoce podle pořadí přírůstkových linií (1-69) (průměr ± směrodatná odchylka).



**Graf 23:** Průměrný roční přírůstek ( $\mu\text{m}$ ) na Zlatém potoce podle pořadí přírůstkových linií (1-51) (průměr  $\pm$  směrodatná odchylka).

### 4.2.3. Konchiolinové linie

V oblasti vrcholu lastury se průměrně vyskytovaly čtyři  $\pm$  jedna konchiolinové linie (průměr  $\pm$  S. D.), ale jejich počet byl variabilní. Mimo oblast umbra se průměrně vyskytovala jedna další linie. Celkem se tedy v řezu lasturou vyskytovalo průměrně pět konchiolinových linií. U všech lastur ( $n = 46$ ) se vyskytovalo tři a více konchiolinových linií. U jedné lastury bylo nalezeno sedm konchiolinových linií (Graf 24). Počet konchiolinových linií v oblasti umbra se nelišil mezi ašskou a šumavskou oblastí ( $U = 184,50$ ;  $p = 0,16$ ), ani mezi lokalitami výskytu (Újezdským a Zlatým potokem) ( $U = 88,00$ ;  $p = 0,13$ ). Většina konchiolinových linií byla přerušovaná (necelistvá) (61 %) a rovná (nezvlněná) (74 %).



**Graf 24:** Počet lastur (%), u kterých se vyskytovaly jednotlivé konchiolinové linie v oblasti vrcholu lastury ( $n = 46$ ). Číslo linie: od povrchu lastury (1 – 7).

Poměry délek 1., 2., a 3. konchiolinových linií a délek řezů lasturou se mezi sebou vzájemně nelišily ( $H(2; N = 138) = 1,40$ ;  $p = 0,50$ ). První a druhá konchiolinová linie sahaly průměrně do 25 % délky řezu, třetí konchiolinová linie sahala průměrně do 22 % délky řezu. Poměry délek konchiolinových linií a délek řezů lasturou byly větší u lastur pocházejících z ašské oblasti, a to průměrně o 5 %,

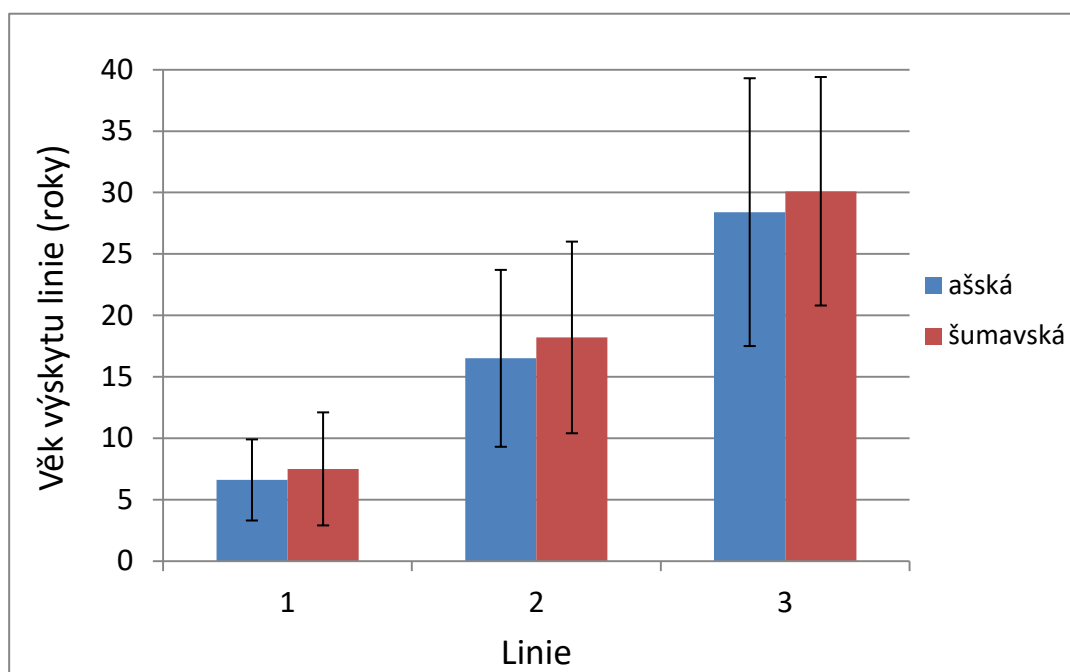
příčemž konchiolinové linie lastur pocházejících z této oblasti sahaly průměrně do 26 % délky řezu lasturou (Tab. 5).

Poměr délky 1. konchiolinové linie a délky řezu lasturou se mezi ašskou a šumavskou oblastí nelišil ( $U = 242,00$ ;  $p = 0,83$ ). Stejně tak se nelišil poměr délky 2. konchiolinové linie a délky řezu ( $U = 206,00$ ;  $p = 0,31$ ) mezi oblastmi. Poměr 3. konchiolinové linie a délky řezu se mezi ašskou a šumavskou oblastí statisticky významně lišil ( $U = 151,00$ ;  $p = 0,02$ ) (Tab. 5).

**Tab. 5:** Poměr (%) délky jednotlivých konchiolinových linií k délce řezu lasturou (průměr  $\pm$  směrodatná odchylka). Odlišný horní index označuje konchiolinové linie, resp. oblasti, jejichž poměry se mezi sebou lišily.

Délka linie/oblast	ašská (n = 49)	šumavská (n = 28)
1.	25 $\pm$ 14 <sup>a</sup>	24 $\pm$ 17 <sup>a</sup>
2.	27 $\pm$ 14 <sup>a</sup>	22 $\pm$ 19 <sup>a</sup>
3.	26 $\pm$ 15 <sup>a</sup>	16 $\pm$ 13 <sup>b</sup>
Průměr $\pm$ S. D.	26 $\pm$ 14 <sup>a</sup>	21 $\pm$ 16 <sup>a</sup>

První (nejstarší) konchiolinové linie se vytvářely průměrně ve věku 7 let. Další konchiolinové linie vznikaly s přibližně pravidelným intervalem deseti let (Graf 25). Průměrný věk výskytu jednotlivých konchiolinových linií se statisticky nelišil mezi oblastmi ( $U = 237,50$ ;  $p = 0,75$ ), ani mezi lokalitami (Újezdským a Zlatým potokem) ( $U = 122,50$ ;  $p = 0,80$ ).



**Graf 25:** Průměrný věk (roky) ( $\pm$  směrodatná odchylka) výskytu jednotlivých konchiolinových linií (1- nejbliže k povrchu, 3 - nejdále k povrchu) v oblastech výskytu.

Průměrná velikost prvního a druhého přírůstku po vzniku konchiolinové linie se sice statisticky nelišila ( $T = 6032, 00$ ;  $p = 0,18$ ), přesto byly první přírůstky po vzniku konchiolinové linie často větší než přírůstek následující.

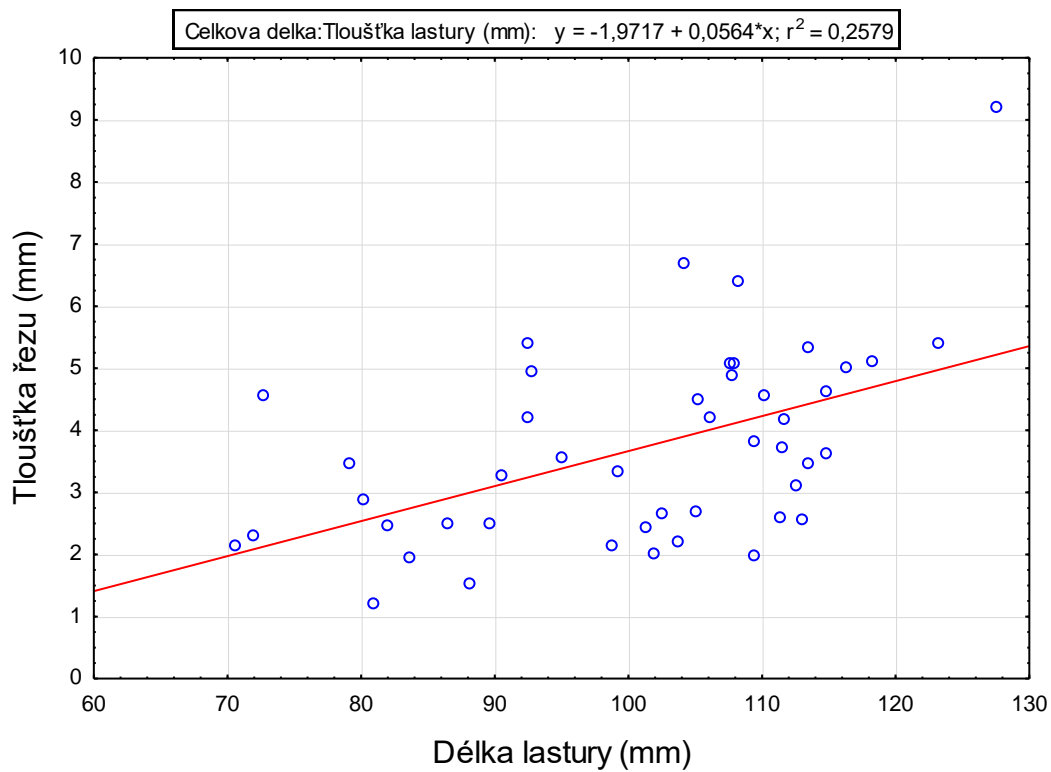
Součet přírůstků do vzniku první konchiolinové linie se mezi ašskou a šumavskou oblastí statisticky nelišil ( $U = 181,00$ ;  $p = 0,99$ ). Stejně tak se mezi oblastmi nelišil součet přírůstků do vzniku druhé ( $U = 172,00$ ;  $p = 0,79$ ) a třetí ( $U = 181,00$ ;  $p = 0,99$ ) konchiolinové linie. Součet přírůstků do vzniku první konchiolinové linie byl  $600 \mu\text{m}$  v ašské a  $645 \mu\text{m}$  v šumavské oblasti. Součet přírůstků do vzniku druhé konchiolinové linie byl  $1391 \mu\text{m}$  v ašské oblasti

a 1423  $\mu\text{m}$  v šumavské oblasti. Součet přírůstků do vzniku třetí konchiolinové linie byl 2208  $\mu\text{m}$  v ašské oblasti a 2277  $\mu\text{m}$  v šumavské oblasti.

Mezi lokalitami výskytu (Újezdský a Zlatý potok) se součet přírůstků do vzniku první ( $U = 121,00$ ;  $p = 0,75$ ), druhé ( $U = 123,00$ ;  $p = 0,81$ ), ani třetí konchiolinové linie ( $U = 109,00$ ;  $p = 0,45$ ) statisticky neliší.

### 4.3. Závislosti měřených parametrů

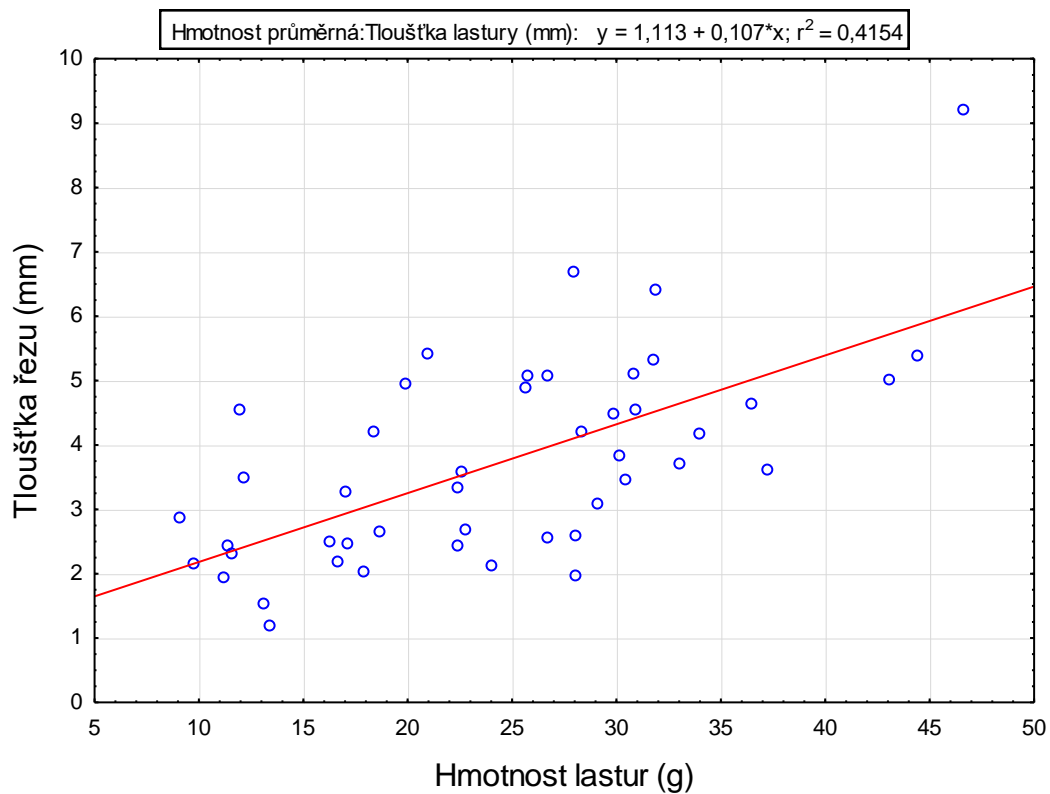
Závislost mezi tloušťkou řezu v místě měření a délkou lastury byla prokázána ( $F = 15,29$ ;  $p < 0,01$ ;  $R^2 = 0,26$ ). Delší lastury vykazovaly větší tloušťky řezů (Graf 26).



**Graf 26:** Závislost mezi tloušťkou řezu v místě měření (mm) a délkou lastur (mm).

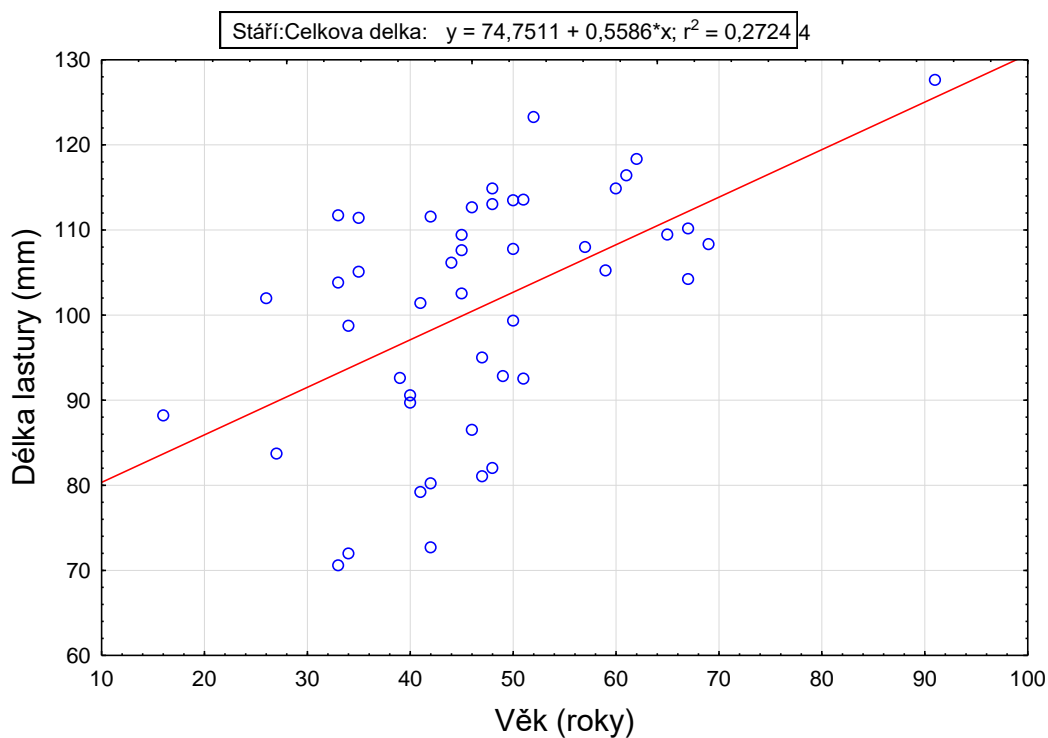


Závislost mezi tloušťkou řezu v místě měření a hmotností lastury byla prokázána ( $F = 31,27$ ;  $p < 0,01$ ;  $R^2 = 0,42$ ). Těžší lastury vykazovaly větší tloušťky řezů (Graf 27).

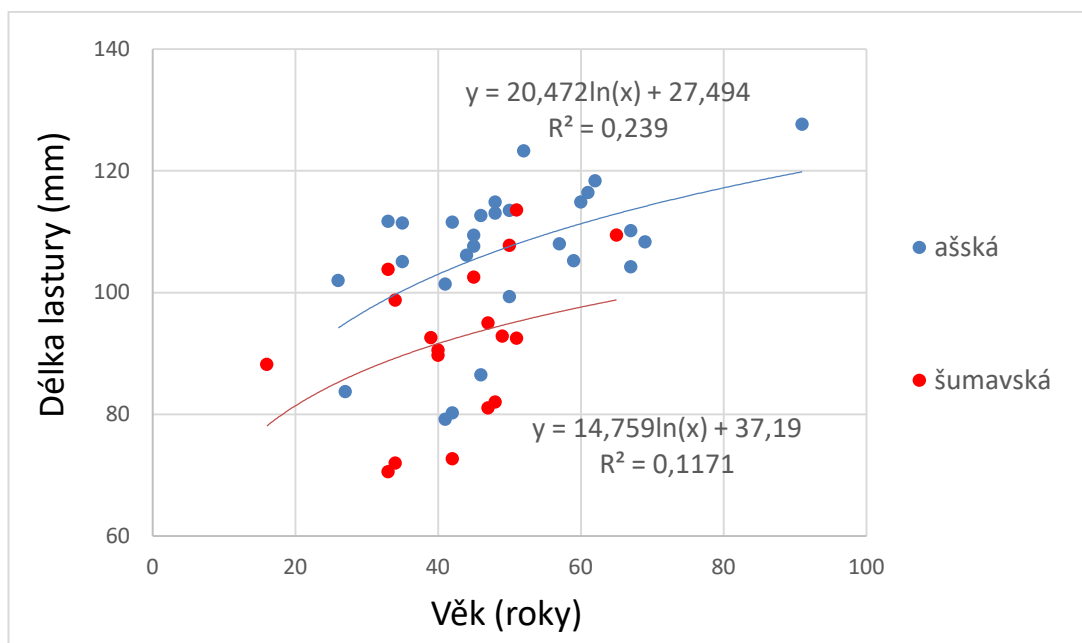


**Graf 27:** Závislost mezi tloušťkou řezu v místě měření (mm) a hmotností lastur (g).

Závislost mezi délkou lastury a počtem přírůstkových linií (věkem) byla prokázána ( $F = 16,47$ ;  $p = 0,00$ ;  $R^2 = 0,27$ ). Delší lastury byly starší (Graf 28). Lastury z Ašska byly průměrně delší, ale věk lastur z obou oblastí výskytu byl srovnatelný (Graf. 29).

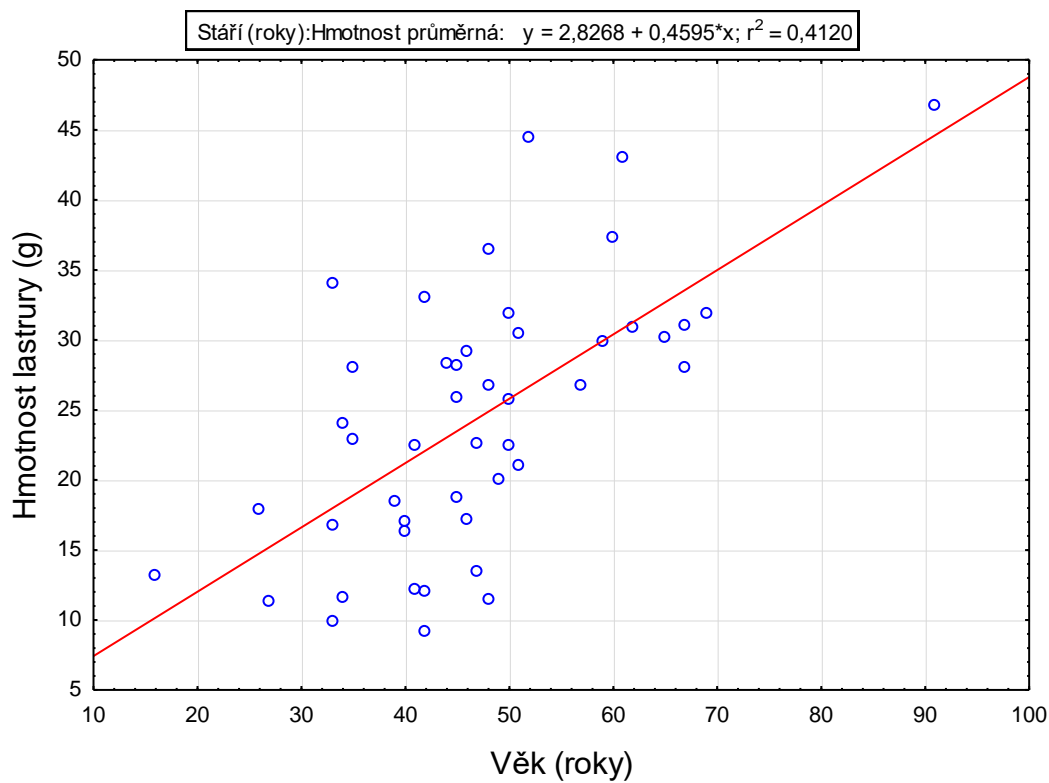


**Graf 28:** Závislost mezi věkem (roky) a délkou lastury (mm).

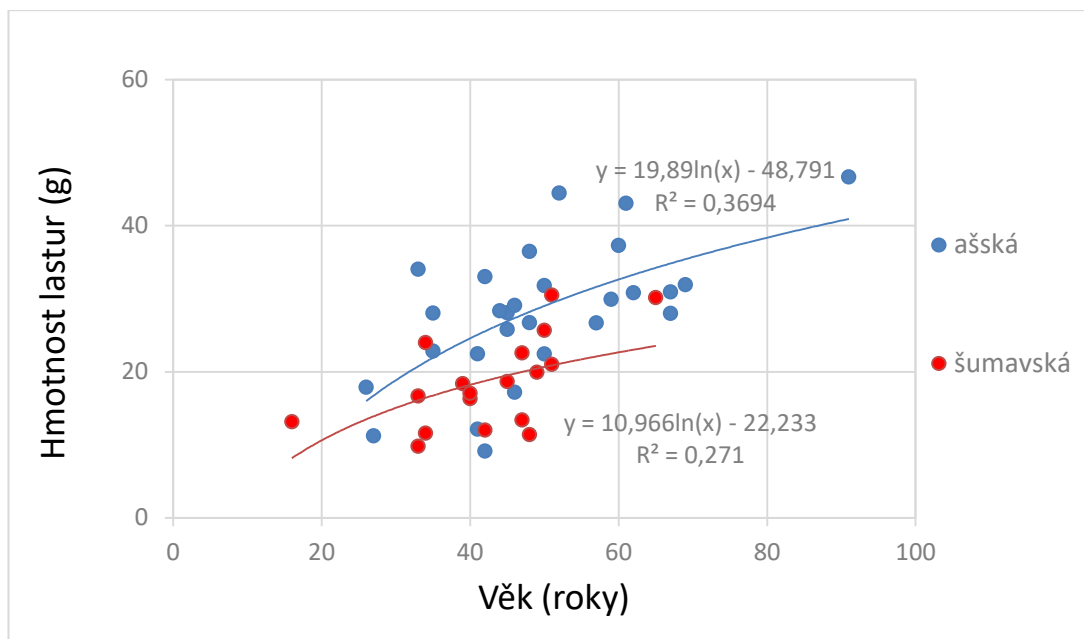


**Graf 29:** Závislost mezi věkem (roky) a délkou lastury (mm) v ašské a šumavské oblasti.

Závislost mezi hmotností lastury a počtem přírůstkových linií (věkem) byla prokázána ( $F = 30,83$ ;  $p < 0,01$ ;  $R^2 = 0,41$ ). Těžší lastury byly starší (Graf 30). Lastury z Ašska byly průměrně těžší, ale věk lastur z obou oblastí výskytu byl srovnatelný (Graf. 31).

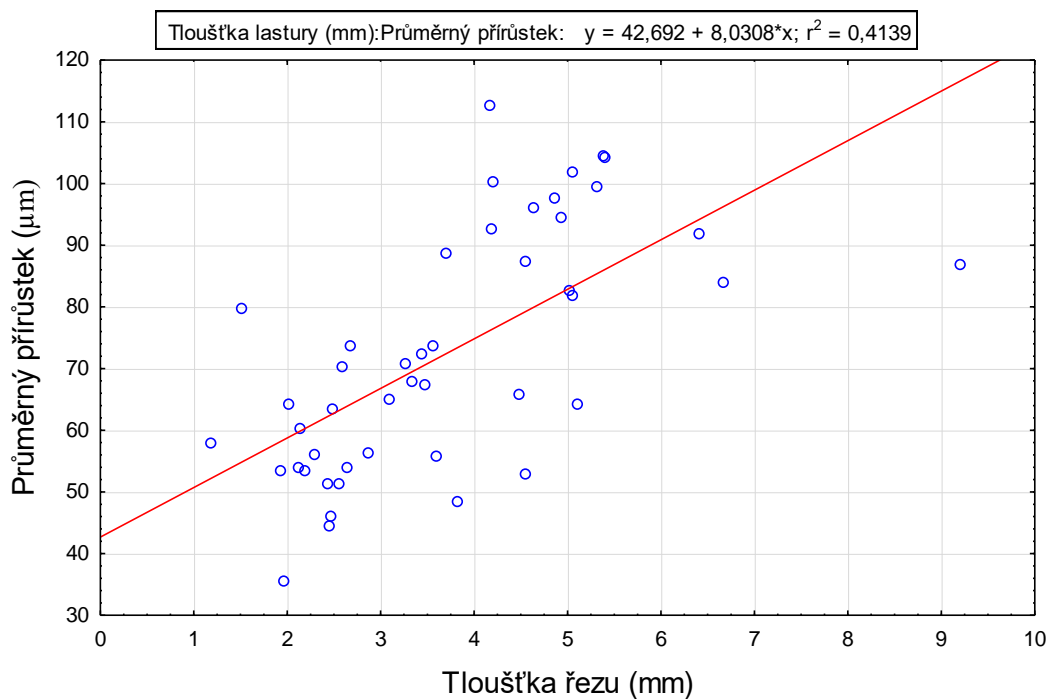


**Graf 30:** Závislost mezi hmotností lastury (g) a počtem přírůstkových linií (věkem).

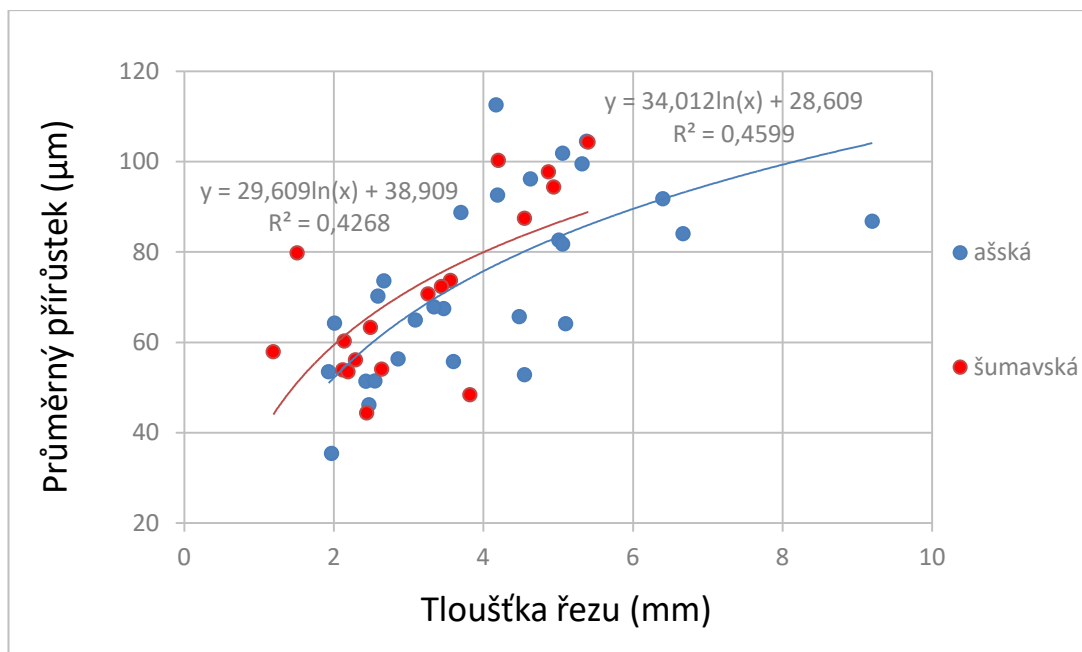


**Graf 31:** Závislost mezi hmotnostmi lastury (g) a počtem přírůstkových linií (věkem) v ašské a šumavské oblasti.

Závislost mezi průměrným ročním přírůstkem a tloušťkou řezu v místě měření byla prokázána ( $F = 31,08$ ;  $p = 0,00$ ;  $R^2 = 0,41$ ). Lastury s větším tloušťkou řezů vykazovaly větší průměrné roční přírůstky (Graf 32). Závislost průměrného ročního přírůstku na tloušťce řezu byla v obou oblastech výskytu srovnatelná (Graf. 33).



**Graf 32:** Závislost mezi průměrným ročním přírůstkem ( $\mu\text{m}$ ) a tloušťkou řezu (mm) v místě měření.



**Graf 33:** Závislost mezi průměrným ročním přírůstkem ( $\mu\text{m}$ ) a tloušťkou řezu (mm) v místě měření v ašské a šumavské oblasti.

Naproti tomu, procento erodované plochy lastury se s věkem neměnilo ( $F = 0,63$ ;  $p = 0,43$ ;  $R^2 = 0,01$ ).

## 5. DISKUSE

### 5.1. Morfologie lastur

V této diplomové práci bylo zjištěno, že lastury uhynulých jedinců nalezené v ašské oblasti byly ve většině měřených parametrů větší (délka, šířka, výška, celková délka ligamentu a hmotnost). Jejich průměrná délka byla 106 mm, tloušťka 31 mm a výška 48 mm. Celková délka ligamentu byla 52 mm a hmotnost 29 g. Průměrná délka šumavských lastur byla 91 mm, tloušťka 27 mm a výška 43 mm. Celková délka ligamentu byla 48 mm a hmotnost 18 g. Ašské lastury byly tedy v průměru o 15 cm delší, o 4 cm tlustší, o 5 cm vyšší, měly o 4 mm delší ligament a byly o 11 g těžší. Tento výsledek podporuje i Půbalová (2017), která též zjistila, že rozměry lastur byly větší v ašské oblasti. A to průměrně o 5 mm delší, o 5 mm tlustší, o 4 mm vyšší a měly o 5 mm delší ligament. Půbalová (2017) hmotnost lastur neměřila, tudíž není možné porovnat moje data s jejími.

Jedna z nejdelších lastur vůbec byla nalezena ve Skotsku a měřila 150 mm (Hastie *et al.*, 2000). Helama *et Valovirta* (2007) stanovili průměrnou délku lastur sbíraných ve Finsku na 79 mm, s rozmezím hodnot 38 – 126 mm. O rok později stanovili průměrnou délku lastur na 114 mm, přičemž rozmezí hodnot se pohybovalo mezi 99 – 128 mm (Helama *et Valovirta*, 2008). Oproti tomu Sousa *et al.* (2013) stanovili průměrnou délku lastur sbíraných v Portugalsku na 83 mm, přičemž rozmezí hodnot se pohybovalo mezi 25 – 110 mm. Z těchto údajů vyplývá, že rozměry lastur jedinců žijících na území ČR jsou v porovnání s rozměry lastur ze severního areálu výskytu (Finsko, Švédsko atd.) menší. Tak by tomu teoreticky mělo být, jelikož teplota vody v ČR je vyšší než v severním areálem výskytu, tudíž zde lastury rostou rychleji, dosahují však menších rozměrů a dříve hynou (Tevesz *et Carter*, 1980; Hastie *et al.*, 2000; Gosling, 2004; Geist, 2010; Daniel *et James*, 2013).

Z jednotlivých lokalit dosahovaly největších rozměrů lastury z Rokytnice (délka 111 mm, tloušťka 34 mm a výška 52 mm) a Újezdského potoka (délka 109 mm, tloušťka 30 mm a výška 47 mm), nejmenších naopak Zlatý potok (délka 86 mm, tloušťka 27 mm a výška 42 mm). Lastury z Bystřiny byly rozměrově na rozhraní ašských a šumavských (délka 100 mm, tloušťka 31 mm, výška 47 mm).

Ašské lastury byly o 11 gramů těžší v porovnání s šumavskými, přičemž u ašských lastur byla zjištěna o  $0,11 \text{ g.mm}^{-1}$  větší investice jedince do hmotnosti lastury. Investice jedinců do hmotnosti lastur byla  $0,29 \text{ g.mm}^{-1}$  v ašské oblasti a  $0,18 \text{ g.mm}^{-1}$  v šumavské oblasti, průměrně tedy přibližně  $0,24 \text{ g.mm}^{-1}$ . Haag *et al.* (2011) zjistili při studii v USA, že investice lastur do hmotnosti byla  $0,23 \text{ g.mm}^{-1}$ , což je přibližně stejná hodnota jako u mých lastur.

Hmotnost pravé a levé misky se vzájemně lišila, přičemž hmotnost levé misky byla  $25,23 \pm 9,15$  gramů a hmotnost pravé misky byla  $24,68 \pm 8,82$  gramů (průměr  $\pm$  směrodatná odchylka). U levé misky byla tedy hmotnost mírně větší. Vysvětlením je, že na levé misce se vyskytují dva zuby jako součást zámku, na pravé misce pouze jeden. Celková hmotnost lastur byla větší u lastur z ašské oblasti. Opět lze předpokládat, že hmotnost je odvozená od rozměrů lastur. Hmotností lastur se autoři ve svých pracích nezabývali, proto není možné porovnání mých dat s ostatními.

Eroze ligamentu byla u lastur z ašské oblasti o 33 % menší, přičemž délka ligamentu a eroze na lastuře byla v obou oblastech srovnatelná. Lze předpokládat, že celková délka ligamentu je odvozená od celkové délky lastury, přičemž oba tyto parametry dosahují větších hodnot u lastur v ašské oblasti. Otázkou však zůstává, jak vysvětlit menší procento erodovaného ligamentu u lastur z ašské oblasti, když celková délka ligamentu je v obou oblastech srovnatelná. Situace může pravděpodobně souviset s faktory prostředí, přičemž ty jsou na Ašsku nejspíš příznivější (Švanyga *et al.*, 2013; Spisar, 2018). Avšak, průměrná plocha eroze na lastuře se mezi oblastmi nelišila, což odporuje odůvodnění spočívající v příznivějších podmínkách. Je však možné, že eroze postupuje s věkem spíše do hloubky než do plochy lastury. U lastur uhynulých jedinců, které leží na lokalitě více let, zasahuje eroze i perleťovou vrstvu. Tento fakt je nepřímo podpořen tím, že plocha eroze lastury se s věkem neměnila. Hloubka eroze však nebyla z důvodu metodické náročnosti změřena.

Velikost erodované plochy na obou miskách se statisticky nelišila, tedy neplatí, že miska, kterou leží lastura v substrátu, má plochu eroze menší. Erozí lastury, resp. ligamentu se stejně jako hmotností lastur autoři prozatím nezabývali. Výjimkou byla Půbalová (2017), která zjistila, že procento erodovaného ligamentu



bylo větší u ašských lastur. Dosáhla tedy opačného výsledku než já. Tuto skutečnost lze zdůvodnit tím, že Půbalová prováděla testování na lasturách sesbíraných pouze na čtyřech z mých sedmi lokalit (Blanice, Bystřina, Rokytnice a Zlatý potok) a nepracovala pouze s čerstvými úhyny. Eroze ligamentu u jejích lastur mohla být tudíž rozsáhlejší, protože rozevřené lastury uhynulých jedinců podléhají snadněji erozi.

## 5.2. Mikroskopické parametry řezu lastur

Prvním zkoumaným mikroskopických parametrem bylo stáří uhynulých jedinců určované dle lastur. Odhad stáří uhynulých jedinců byl prováděn z perleťové vrstvy, ve které byly přírůstkové linie dobře viditelné. Mnozí autoři (Helama *et al.*, 2008; Masu *et al.*, 2008; Wanamaker *et al.*, 2009; Dunca *et al.*, 2011) však odhad věku prováděli z prizmatické vrstvy, ve které velikosti přírůstků spíše odpovídají ročním přírůstkům na povrchu lastury, avšak u mých lastur nebylo možné tuto metodu použít, protože v prizmatické vrstvě nebyly přírůstkové linie viditelné. Na druhou stranu, odhad stáří z perleťové vrstvy má své výhody. Perleťová vrstva se totiž, na rozdíl od periostraca a prizmatické vrstvy, sekretuje periodicky na celém vnitřním povrchu lastury. U čerstvých úhynů by tak perleťová vrstva neměla být zerodovaná. Periostracum a prizmatická vrstva se sekretují pouze na okrajích lastury, tudíž teoreticky podléhají erozi dříve (Haag, 2012).

Průměrný věk lastur se mezi šumavskou a ašskou oblastí nelišil, přičemž v ašské oblasti byl 50 let, v šumavské oblasti 42 let. Celkově se věk pohyboval mezi 16 – 91 roky. Bylo však zjištěno, že věk lastur se lišil mezi Újezdským potokem (ašská oblast) a Zlatým potokem (šumavská oblast). Průměrný věk lastur nalezených na Újezdském potoce byl 50 let, na Zlatém potoce to bylo pouze 40 let. Toto zjištění podporuje Spisar (2018), podle kterého je chemizmus vody na Zlatém potoce nevyhovující a proto může docházet k úhynu lastur v nižším věku. Hastie *et al.* (2000) zjistili, že věk uhynulých perlorodek říčních nalezených v severním Skotsku se pohyboval mezi 48 – 123 roky. Helama *et al.* (2007) v severním Finsku stanovili stáří perlorodek mezi 8 – 161 roky. A zmiňují, že oblast umba byla erodovaná, tedy počet přírůstkových linií byl pravděpodobně podhodnocený,

a to i přesto, že do výpočtů byla zahrnuta i erodovaná oblast a počet linií byl určen podle šířky erodované oblasti, kterou následně porovnaly se zachovalou částí lastury. V mém případě bylo počítáno pouze s přítomnými liniemi, tj. nebylo kalkulováno s teoretickým počtem chybějících linií v důsledku eroze. Jelikož jsem pracovala s čerstvě uhynulými jedinci (uhynulými v roce sběru), lze předpokládat, že perleťovou vrstvu eroze nezasáhla. Stáří lastur nalezených ve Švédsku se pohybovalo 10 – 102 roky (Moorkens *et* Killeen, 2013). Ridgway *et al.* (2014) stanovili v USA průměrný věk na 63 let. Porovnání mnou získaných údajů o stáří s údaji ze severní Evropy podporuje fakt, že perlorodky vyskytující se na území ČR jsou středněvěké. Půbalová (2017) stanovila průměrný věk dle přírůstkových linií na ligamentu na 36 let. Průměrný věk také odečítala z povrchu lastury a ten byl 30 let. Tento výzkum byl prováděn na lasturách sesbíraných na ašských a šumavských lokalitách, stejně jako moje práce. Obě předešlé metody určování věku však mohou být zatíženy zejména u starších jedinců chybou, protože přírůstkové linie na okraji lastury mohou u starších jedinců splývat a eroze ligamentu se s věkem zvětšuje, tudíž může docházet ke ztrátě linií.

Průměrný roční přírůstkem byl bez ohledu na oblasti (lokality) 72,5  $\mu\text{m}$ . Průměrný přírůstek byl 74  $\mu\text{m}\cdot\text{rok}^{-1}$  v ašské oblasti a 71  $\mu\text{m}\cdot\text{rok}^{-1}$  v šumavské oblasti. Největší roční přírůstky byly zjištěny na řece Rokytnici (86  $\mu\text{m}$ ) a Újezdském potoce (77  $\mu\text{m}$ ), nejmenší na Lužním potoce (50  $\mu\text{m}$ ) a řece Kleine Ohe (65  $\mu\text{m}$ ). Statisticky nebyl zjištěn trend, že v prvních letech života roste perlorodka rychleji (tj. roční přírůstky jsou větší) než v dalším průběhu života. Přesto si lze všimnout (Graf 18 – 23), že přírůstky v prvních letech života jsou často větší než v jeho polovině. Neplatí to však vždy a pro všechny lokality, tudíž to statistika neprokázala. Přírůstky byly určovány i dalšími autory (Neves *et* Moyer, 1988; Helama *et* Valovirta, 2007; Masu *et al.*, 2008; Moorkens *et* Killeen, 2013; Niedlová, 2015), ale byly měřeny převážně na mladých a živých perlorodkách a jako přírůstek do délky lastury, ne z příčného řezu lasturou jako tomu bylo v mé práci, a tudíž nelze tyto hodnoty porovnávat.

Jako poslední z mikroskopických parametrů lastur byl určován počet a délka jednotlivých konchiolinových linií. V řezu se průměrně vyskytovalo pět konchiolinových linií. Délky těchto linií se statisticky nelišily, přičemž první a druhá linie (počítáno od povrchu lastury) byly delší, ale kvůli variabilitě délek tuto odlišnost nelze prokázat. Toto zjištění odporuje logickému předpokladu, že nejdelší

by měly být linie, které vznikají v pozdějším věku. Je ale možné, že toto zjištění bylo zkruseno erozí na lastuře, kvůli které nebylo možné zaznamenat linie a přírůstky v prvních letech růstu lastury. Ani na relativně zachovalé lastuře však bohužel nelze často jednoznačně určit, co je a co není konchiolinová linie a kde konkrétní linie začíná a kde končí.

Poměr délky třetí konchiolinové linie a délky řezu lasturou se mezi oblastmi výskytu statisticky lišil, přičemž poměr první a druhé konchiolinové linie ne. Délka třetí konchiolinové linie zaujímala v ašské oblasti 26 % délky řezu lasturou, v šumavské pouze 16 %. Důvodem může být to, že u ašských lastur byla eroze na lasturách menší, tudíž se linie zachovaly. U šumavských lastur mohlo dojít vzhledem k rozsáhlé erozi ke ztrátě části délek těchto linií.

Průměrný věk výskytu 1. konchiolinové linie byl 7 let v ašské a 8 let v šumavské oblasti. Průměrný věk výskytu 2. konchiolinové linie byl 17 let v ašské a 18 let v šumavské oblasti. Průměrný věk výskytu 3. konchiolinové linie byl 28 let v ašské a 30 let v šumavské oblasti. Lze si tedy všimnout, že linie vznikají ve víceméně pravidelném intervalu. A jelikož všechny lastury měly minimálně tři konchiolinové linie, zdá se pravděpodobnější, že vznikají jako ochrana před nepříznivými podmínkami prostředí než jako následek působení stresu.

Přestože to nebylo statisticky prokázáno, při měření velikosti přírůstků bylo zajímavé, že první přírůstek po vzniku konchiolinové linie byl často výrazně větší než následující přírůstky.

Konchiolinovými liniemi se zabývali mnozí autoři, zkoumali však převážně taxonomické skupiny, u kterých se vyskytují (čeledi *Margaritiferidae* a *Unionidae*; rody *Margaritifera*, *Unio* a *Anodonta*; pouze však u některých druhů), příčiny vzniku a jejich chemické složení (Kat, 1983; Kat, 1985; Harper, 1994; Bowen *et al.*, 1996; Araujo *et al.*, 2014; Williams *et al.*, 2014). Počty, délky, ani věk výskytu konchiolinových linií zkoumány nebyly.

Z porovnávaných závislostí byly nejsilnější následující: závislost mezi tloušťkou řezu a hmotností lastury (42 %) a závislost mezi hmotností lastury a věkem (41 %). Tloušťka řezu i stáří jedince byly lépe vysvětlovány hmotností lastury než délkou lastury. Naproti tomu nebyla prokázána závislost mezi erodovanou

plochou lastury a věkem. Ve většině ostatních prací byla vynášena převážně závislost délky lastury na věku (Hastie *et al.*, 2000; Helama *et Valovirta*, 2007; Helama *et Valovirta*, 2008; Dunca *et al.*, 2011; Haag *et Rypel*, 2011; Daniel *et James*, 2013; Moorkens *et Killeen*, 2013). Jiné z mnou určovaných závislostí v ostatních pracích hodnoceny nebyly.

Při grafickém vyjádření závislostí v mé práci nebyly použity klasické růstové křivky, protože moje práce byla prováděna na lasturách uhynulých jedinců, a tudíž nebyla k dispozici data z počátku jejich života.

### **5.3. Vyhodnocení kvality lokalit**

Důležitou roli při hodnocení kvality lokalit hrají především parametry prostředí (teplota vody, obsah dušičnanů, vápníku, pH vody a úživnost detritu) (Absolon *et Hruška*, 1999; Outeiro *et al.*, 2008; Sousa *et al.*, 2013; Švanyga *et al.*, 2013). Mají zásadní vliv zejména na přežívání juvenilních jedinců v několika prvních měsících života. Chemizmus vody má pravděpodobně vliv i na stupeň eroze lastury. Dle dostupných údajů týkajících se parametrů prostředí se jako nejlepší jeví řeka Rokytnice a Újezdský potok, jako nejhorší naopak Zlatý potok a Bystřina.

Právě pro nejmladší stádia perlorodky říční je optimální chemizmus vody naprosto zásadní. U velmi mladých jedinců v prvních letech života se úmrtnost na českých lokalitách výskytu pohybuje až okolo 35 %. Nejmenší úmrtnost jedinců v prvních letech života byla zjištěna na Újezdském potoce (24 %) a potoce Bockbach (30 %). Z hlediska přežívání nejmladších jedinců jsou tedy právě tyto lokality nejvhodnější (Niedlová, 2015).

Při posuzování vhodnosti lokalit pro introdukci perlorodky říční je jedním z nejvhodnějších indikátorů přirozená reprodukce. Ta v současnosti prokazatelně probíhá pouze na lokalitách Kleine Ohe a Újezdský potok. Na lokalitách Blanice, Bystřina, Lužní potok a Rokytnice je přirozená reprodukce možná, ale nebyla prokázána a na Zlatém potoce přirozená reprodukce neprobíhá vůbec. Z tohoto hlediska je Zlatý potok nejméně vhodnou lokalitou (Spisar, 2018).

Podle mnou získaných údajů o stáří uhynulých perlorodek říčních byla vhodnější ašská oblast výskytu. Věk uhynulých perlorodek se sice mezi oblastmi statisticky nelišil, ale v ašské oblasti byly nalezeny průměrně o 8 let starší jedinci. Nejstarší byly jedinci z řeky Rokytnice a Újezdského potoka.

Při současném posouzení všech měřených parametrů, včetně chemizmu vodního prostředí, probíhající přirozené reprodukce a stáří uhynulých jedinců byla jako vhodnější určena ašská oblast. Perlorodky zde dorůstají větších rozměrů, mají průměrně větší roční přírůstky, ačkoliv to statistika neprokázala, a průměrně hynou v mírně vyšším věku než perlorodky v šumavské oblasti. Jako nejvhodnější byly určeny lokality Rokytnice a Újezdský potok, kde probíhá i přirozená reprodukce. Naopak jako nejméně vhodný se jeví Zlatý potok, kde jsou nevyhovující parametry vody, a neprobíhá zde ani přirozená reprodukce. Niedlová (2015) podle průměrných ročních přírůstků a přežívání jednoletých a dvouletých perlorodek říčních na lokalitách vyhodnotila stejně jako já jako nejvhodnější lokalitu pro život mladých perlorodek řeku Rokytnici (a potok Bockbach). Jako, z hlediska těchto parametrů, kvalitní hodnotila i lokality na Újezdském potoce.

Celkově byl k dispozici relativně malý počet vzorků z jednotlivých lokalit, zejména pro hodnocení věku a růstu lastur. Z těchto důvodů mohlo dojít k určitému zkreslení výsledků. Bylo by proto vhodné provést obdobné testování na větším počtu lastur. Přesto však výsledky této práce mohou být určitým vodítkem pro další výzkum. Přínos této práce spočívá především ve zvládnutí metodiky příčného řezu lasturou a jeho obarvení.

## 6. ZÁVĚR

Byla otestována metoda určování věku mlžů z řezů barvených v Mutvei roztoku. Barvené řezy byly pozorovány pod světelným mikroskopem. Přírůstkové linie byly v obarvených řezech dobře viditelné. Pro porovnání bylo několik neobarvených řezů pozorováno pod fluorescenčním mikroskopem. Kvalita zobrazení přírůstkových linií pod fluorescenčním mikroskopem byla v porovnání s řezy barvenými v Mutvei roztoku výrazně horší.

Ze získaných dat a současného porovnání morfometrických parametrů lastur, parametrů vodního prostředí, případně probíhající přirozené reprodukce, věku a přírůstků uhynulých jedinců byly jako nejvhodnější lokality pro život a případnou reintrodukci zvoleny řeka Rokytnice a Újezdský potok.

Vhledem k tomu, že perlorodka říční je celosvětově kriticky ohrožený druh, je získávání informací z lastur uhynulých jedinců pravděpodobně nejvhodnější a nejméně invazivní metodou výzkumu tohoto sladkovodního mlže.

## 7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY A ZDROJŮ

- 1) ABSOLON K., HRUŠKA J. 1999. Perlorodka říční v ČR. *AOPK ČR Praha*.
- 2) ARAUJO R., DELVENE G., MUNT M. 2014. Presence of organic layers in shells of fossil and recent Unionoida (Bivalvia) and their implications. *Journal of Molluscan Studies*. 80: 74-83.
- 3) BJÖRK S. 1962. Investigations on *Margaritifera margaritifera* and *Unio crassus*. Limnologic studies in Rivers in South Sweden. *Acta Limnologica*. 109 s.
- 4) BÖTZL F. 2004. Muscheln, geheimnisvolle Schätze des Bayerwaldes. 14-25.
- 5) BOWEN CH. E., TANG H. 1996. Conchiolin-protein in aragonite shells of mollusks. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 115A (4): 269-275.
- 6) CARROLL M., ROMANEK C., PADDOCK L. 2006. The relationship between the hydrogen and oxygen isotopes of freshwater bivalve shells and their home streams. *Chemical Geology*. 234 (3-4): 211-222.
- 7) DANIEL A. B., JAMES W. G. 2013. Age determination and growth rate of the freshwater clam *Galatea paradoxa* (Born 1778) from the Volta River Estuary, Ghana. *Journal of Aquatic Science*. 1 (2): 31-38.
- 8) DEGERMANN E., ALEXANDERSON S., BERGERGREN J., HENRIKSON L., JOHANSSON B.-E., LARSEN B. M., SÖDERBERG H. 2009. Restoration of freshwater pearl mussel streams. *WWF Sweden, Solna*. 64 s.
- 9) DUNCA E., SÖDERBERG H., NORRGRANN O. 2011. Shell growth and age determination in the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* in Sweden: natural versus limed streams. In: Thielen F. Rearing of unionoid mussels (with special emphasis on the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera*). *Ferrantia*. 64: 48-58.
- 10) FLASAR I. Perlorodka říční (*Margaritifera margaritifera* (L.)) v Ašském výběžku (*Eulamellibranchiata: Margaritiferae*). 1991-1992. *Sborník Okresního muzea v Mostě. Řada přírodovědná*. 13-14: 7-25.

- 11) FÜSUN A., FÜSUN O., SEMA B., SOLEN K. 2005. Acetate peel technique: a rapid way of preparing sequential surface replicas of dental hard tissues for microscopic examination. *Archives of Oral Biology*. 50: 837-842.
- 12) 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.
- 13) GORDILLO S., BAYER M. S., BORETTO G., CHARÓ M. 2014. Mollusk shells as bio-geo-archives. Evaluating environmental changes during the Quaternary. *Springer*. 78 s.
- 14) GOSLING E. 2004. Bivalve molluscs. Biology, ecology and culture. *Fishing News Books*. 455 s.
- 15) GOSLING E. 2015. Marine bivalve molluscs. 2nd edition. *John Wiley & Sons*. 536 s.
- 16) HAAG W. R., RYPEL A. L. 2011. Growth and longevity in freshwater mussels: evolutionary and conservation implications. *Biological reviews*. 86: 225-247.
- 17) HAAG W. R. 2012. North American freshwater mussels. Natural history, ecology and conservation. *Cambridge University Press*. 505 s.
- 18) HARPER E. M. 1994. Are conchiolin sheets in corbulid bivalves primarily defensive? *Palaeontology*. 37: 551-578.
- 19) HASTIE L. C., YOUNG M. R., BOON P. J. 2000. Growth characteristics of freshwater pearl mussels, *Margaritifera margaritifera* (L.). *Freshwater Biology*. 43: 243-256.
- 20) HELAMA S., VALOVIRTA I. 2007. Shell morphometry, pre-mortal taphonomy and ontogeny-related growth characteristics of freshwater pearl mussel in northern Finland. *Annales Zoologici Fennici*. 44: 285-302.
- 21) HELAMA S., VALOVIRTA I. 2008. Ontogenetic morphometrics of individual freshwater pearl mussels (*Margaritifera margaritifera* (L.)) reconstructed from



geometric conchology and trigonometric sclerochronology. *Hydrobiologia*. 610 (1): 43-53.

22) HRYZÁKOVÁ, K. 2008. Srovnávací analýza jakosti povrchových vod v povodích horní Blanice, Liběchovky a Rolavy. *Diplomová práce PřF UK v Praze*. 67 s.

23) CHECA A. 2000. A new model for periostracum and shell formation in Unionidae (Bivalvia, Mollusca). *Tissue & Cell*. 32 (5): 405-416.

24) The IUCN Red List of Threatened Species. *The IUCN Red List of Threatened Species*. [online]. Dostupné z: <http://www.iucnredlist.org/>. [cit. 02.04.2018].

25) Jihočeský kraj se podílí na záchraně kriticky ohrožené perlorodky říční v Malši. *Jižní Čechy Ted'*. [online]. Dostupné z: <http://www.jcted.cz/jihocesky-kraj-se-podili-na-zachrane-kriticky-ohrozene-perlorodky-ricni-v-malsi/>. [cit. 02.04.2018].

26) KAT P. W. 1983. Conchiolin layers among the Unionidae and Margaritiferidae (Bivalvia): microstructural characteristics and taxonomic implications. *Malacologia*. 24 (1-2): 298-311.

27) KAT P. W. 1985. Convergence in Bivalve conchiolin layer microstructure. *Malacological Review*. 18: 97-106.

28) KING M. 2013. Fisheries biology, assessment and management. 2nd ed. *Blacwell Publishing*. 405 s.

29) KOZÁK P., Z. Ď., PETRUSEK A., BUŘIČ M., HORKÁ I., KOUBA A., KOZUBÍKOVÁ E., POLICAR T. 2014. Biologie a chov raků. *Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. České Budějovice*. 418 s.

30) [Mapy.cz](https://mapy.cz). *Mapy.cz*. [online]. Dostupné z: <https://mapy.cz/zakladni?x=14.4418000&y=48.9859000&z=11>. [cit. 02.04.2018].

31) Mapa ČR. Vlastivěda. *Pinterest*. [online]. Dostupné z: <https://www.pinterest.co.uk/pin/500744052299439230/>. [cit. 02.04.2018].

- 32) MÁŠILKO J. 2009. Ekologie perlorodky říční (*Margaritifera margaritifera* L.) a vyhodnocení její úmrtnosti na lokalitách v České republice. *Diplomová práce JČU v Českých Budějovicích*. 56 s.
- 33) MASU T., WATANABE S., AOKI S., KATAYAMA S., FUKUDA M., HINO A. 2008. Establishment of shell growth analysis technique of juvenile Manila clam *Ruditapes philippinarum*: semidiurnal shell increment formation. *Fisheries Science*. 74: 41-47.
- 34) MOORKENS E., KILLEEN I. 2013. Study to age the population of freshwater pearl mussels (*Margaritifera margaritifera*) in the River Ehen, Cumbria. 9 s.
- 35) MÜLLEROVÁ H., STEJSKAL V. 2013. Ochrana zvířat v právu. *Academia*. 492 s.
- 36) MUTVEI H., WESTERMARK T. 2001. How environmental information can be obtained from naiad shells. In: Bauer G., Wächtler K. (eds) Ecology and evolution of the freshwater mussels Unionoida. *Ecological Studies (Analysis and Synthesis)*, Springer, Berlin. 145: 367-379.
- 37) NEVES R. J., MOYER S. N. 1988. Evaluation of techniques for age determination of freshwater mussels (Unionidae). *American Malacological Bulletin*. 6 (2): 179-188.
- 38) NIEDLOVÁ E. 2015. Růst a přežívání perlorodky říční (*Margaritifera margaritifera*) pro bioindikační účely. *Diplomová práce JČU v Českých Budějovicích*. 61 s.
- 39) OLIVER, G. 2000. Conservation objectives for the freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*). *Report to English Nature*. Peterborough.
- 40) OUTEIRO A., ONDINA P., FERNÁNDEZ C., AMARO R., SAN MIGUEL E. 2008. Population density and age structure of the freshwater pearl mussel, *Margaritifera margaritifera*, in two Iberian rivers. *Freshwater Biology*. 53: 485-496.
- 41) PANFILI J., PONTUAL H., TROADEC H., WRIGHT P. J. 2002. Manual of fish sclerochronology. *Brest, Francie: Ifremer-I.R.D. coedition*. 464 s.

- 42) PATZENHAUEROVÁ H., SPISAR O., BRYJA J. 2011. Perlorodka říční – mlž na rozcestí. *Živa*. 2: 80-81.
- 43) PFLEGER V. 1988. Měkkýši. *Artia*, Praha. 191 s.
- 44) Projektgebiete zum Schutz der Flussperlmuschel – ArKoNaVera. *ArKoNaVera - Umsetzung regionaler Schutzmaßnahmen und Entwicklung eines neuen überregionalen Artenschutzkonzeptes für die Nationalen Verantwortungsarten: Flussperlmuschel (Margaritifera margaritifera) und Malermuschel (Unio pictorum)*. [online]. Dostupné z: <http://www.flussmuscheln.de/gebiete/flussperlmuschel/>. [cit. 02.04.2018].
- 45) PŮBALOVÁ L. 2017. Morfologie lastur perlorodky říční (*Margaritifera margaritifera*). *Diplomová práce JČU v Českých Budějovicích*. 62 s.
- 46) RIDGWAY I., BOWDEN T. J., ROMAN-GONZALES A., RICHARDSON C. A. 2014. Resistance to oxidative stress is not associated with the exceptional longevity of the freshwater pearl mussel, *Margaritifera margaritifera* nor three unionid species. *Aquatic Sciences*. 76: 259-267.
- 47) RICHARDSON C. A. 2001. Molluscs as archives of environmental change. *Oceanography and marine biology: an annual review*. 39: 103-164.
- 48) RŮŽIČKOVÁ M. 2008. Zprůtočnění odstaveného ramene Blanice. Významná stavba perlorodky říční. *Ochrana přírody, AOPK ČR*.
- 49) SCHÖNE B. R., DUNCA E., FIEBIG J., PFEIFFER M. 2005. Mutvei's solution: an ideal agent for resolving microgrowth structures of biogenic carbonates. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 228: 149-166.
- 50) SIMON O., DOUDA K., KUBÍKOVÁ K. A KOLEKTIV. 2010. Perlorodka říční a naši další velcí mlži. *Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, v.v.i.*
- 51) SIMON O., KLADIVOVÁ V., SVOBODOVÁ J., HRUŠKA J., VEJMELKOVÁ J., BÍLÝ M. 2006. Ochrana oligotrofních povodí s perspektivními lokalitami výskytu perlorodky říční v ČR. *Příroda*. 25: 11-27.
- 52) SLEZÁKOVÁ J., VOLF O. 2016. Studie proveditelnosti revitalizace toků významných pro perlorodku říční. *Fórum ochrany přírody*. 2: 35-37.

- 53) SOUSA R., AMORIM A., SOBRAL C., FROUFE E., VARANDAS S., TEIXEIRA A., LOPES-LIMA M. 2013. Ecological status of a *Margaritifera margaritifera* (Linnaeus, 1758). Population at the southern edge of its distribution (River Paiva, Portugal). *Environmental Management*. 52: 1230-1238.
- 54) SPISAR O. 2010. Závěrečná zpráva – Monitoring 2010 – Záchraný program perlorodky říční v České republice. Mns. depon. AOPK ČR, Praha. 18 s.
- 55) SPISAR O. 2012a. Monitoring 2012 – závěrečná zpráva. Zadavatel: AOPK ČR, Praha. Zpráva depon. in. AOPK ČR, 40 s.
- 56) SPISAR O., MINÁRIKOVÁ T., DORT B. Metodika k řešení revitalizační studie v Trojstátí Bavorsko-Čechy-Sasko.
- 57) SPISAR O. 2018. Písemné sdělení.
- 58) STRACK E. 2015. European freshwater pecls: part 1-Russia. *The Journal of Gemmology*. 34 (7): 580-592.
- 59) Šumavský rozcestník: Kleine Ohe (D). *Šumava*. [online]. Dostupné z: [http://www.sumava.cz/objekt\\_az/3436-kleine-ohe-d/](http://www.sumava.cz/objekt_az/3436-kleine-ohe-d/). [cit. 02.04.2018].
- 60) ŠVANYGA J., SIMON O., MINÁRIKOVÁ T., SPISAR O., BÍLÝ M. 2013. Záchraný program perlorodky říční *Margaritifera margaritifera* v České republice. AOPK ČR, Praha. 77 s.
- 61) TEVESZ M. J. S., CARTER J. G. 1980. Environmental relationships of shell form and structure of unionacean bivalves. In: Rhoads D. C., Lutz R. A. (eds). Skeletal growth of aquatic organisms: biological records of environmental change. *New York Plenum Press*. 295-322.
- 62) WANAMAKER A. D., BAKER A., BUTLER P. G., RICHARDSON C. A., SCOURSE J. D. 2009. A novel method for imaging internal growth patterns in marine mollusks: A fluorescence case study on the aragonitic shell of the marine bivalve *Arctica islandica* (Linnaeus). *Limnology and Oceanography: Methods*. 7: 673-681.
- 63) WILLIAMS J. D., BUTLER R. S., WARREN G. L., JOHNSON N. A. 2014. Freshwater mussels of Florida. *University of Alabama Press*. 523 s.