



Fakulta zemědělská
a technologická
Faculty of Agriculture
and Technology

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
FAKULTA ZEMĚDĚLSKÁ A TECHNOLOGICKÁ**

Katedra biologických disciplín

Diplomová práce

Vztah věku perlorodky říční a počtu přírůstků na řezu lastury

Autor práce: Ing. Jan Toman

Vedoucí práce: doc. RNDr. Irena Šetlíková, Ph.D.

České Budějovice, 2023

Prohlášení

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

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

.....
Podpis

Abstrakt

Cílem této diplomové práce bylo stanovit souvislost mezi věkem uhynulých jedinců perlorodky říční (*Margaritifera margaritifera*) a počtem přírůstkových linií na řezu lastury jedince. Celkem bylo shromážděno 124 ks lastur perlorodek známého věku z několika českých, německých a finských lokalit. Byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl mezi skutečným věkem a věkem dle přírůstkových linií na obarveném řezu lastury. V průměru byl věk určený dle přírůstků na obarveném řezu větší než skutečný věk o 2,6 roku, což je o $42 \pm 25\%$ (\pm S.D.). Přírůstkové linie na řezu lastury perlorodky tedy neodpovídají ročním přírůstkům. Potvrdilo se, že odečet přírůstkových linií na povrchu lastury či odhad věku dle velikosti lastury jsou méně spolehlivými přístupy ke zjištění skutečného věku jedinců.

Klíčová slova: perlorodka říční, *Margaritifera margaritifera*, sklerochronologie, odhad věku, přírůstky, morfologie lastur

Abstract

The aim of this thesis was to determine the relationship between the age of dead individuals of the freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*) and the number of incremental lines on the shell section. A total of 124 pearl mussel shells of known age were collected from several Czech, German and Finnish localities. There was a statistically significant difference between the actual age and the age according to the number of incremental lines on shell section. On average, the age determined by increment lines was higher than the actual age by 2.6 years, which is $42 \pm 25\%$ (\pm S.D.). Thus, the increment lines on the section of the pearl mussel shell do not correspond to the annual increments. It was confirmed that increment lines count on the shell surface or estimating age from shell size are less reliable approaches to determine the true age of individuals.

Keywords: freshwater pearl mussel, *Margaritifera margaritifera*, sclerochronology, age estimation, growth, shell morphology

Poděkování

Tímto bych rád poděkoval své vedoucí doc. RNDr. Ireně Šetlíkové, Ph.D. za vedení mé diplomové práce, a za všechnu snahu dovést tuto práci ke společnému cíli. Dále bych rád poděkoval Mgr. Kateřině Soukalové za odbornou pomoc s přípravou vzorků a Ing. Ondřeji Spisarovi, Ph.D. za dodání potřebných lastur perlorodky říční. Na závěr bych rád poděkoval i všem ostatním, co se jakýmkoliv způsobem podíleli na vzniku této práce.

Obsah

Úvod.....	8
1 Literární rešerše.....	9
1.1 Ochrana a záchranné projekty populací perlorodky říční.....	9
1.1.1 Stav populací perlorodky v ČR.....	10
1.1.2 Stav populací perlorodky říční a perlorodky velké v Evropě	13
1.1.3 Faktory ovlivňující velikost a stav populací perlorodky říční	16
1.2 Lastura perlorodky říční a její růst	19
1.3 Metody určování věku mlžů.....	22
1.3.1 Počítání přírůstků na povrchu lastury	23
1.3.2 Počítání přírůstků na příčném řezu lastury.....	24
1.3.3 Počítání přírůstků na příčném řezu ligamentu	24
1.3.4 Další alternativní metody určení věku	24
1.4 Metody určování věku u dalších živočichů a rostlin.....	25
1.5 Růst perlorodky říční, jeho měření a faktory, které jej ovlivňují	30
2 Cíle práce a hypotézy	33
3 Metodika	34
3.1 Původ jedinců	34
3.2 Popis lokalit	36
3.3 Zpracování lastur	41
3.3.1 Příprava Mutvei roztoku a barvení řezů lastur.....	46
3.3.2 Pozorování a měření obarvených řezů pod mikroskopem	47
3.4 Statistické zpracování dat	47
4 Výsledky	49
4.1 Skutečný věk versus počet přírůstků na obarveném řezu lastury.....	49
4.1.1 Velikost přírůstků na obarveném řezu lastury	51

4.2	Skutečný věk versus linie na povrchu lastury	53
4.2.1	Eroze největší lastury	57
4.3	Věk versus velikost (délka a výška) lastur	58
4.4	Věk versus tloušťka lastury a jejich jednotlivých vrstev (prizmatická a perleťová)	60
4.5	Konchiolinové linie a rozdíl mezi velikostí přírůstku před a po vzniku konchiolinové linie	62
5	Diskuse	65
	Závěr	70
	Seznam použité literatury	71
	Seznam obrázků	84
	Seznam tabulek a grafů	87

Úvod

Perlorodka říční (*Margaritifera margaritifera* (Linnaeus, 1758)) je druh celosvětově kriticky ohroženého sladkovodního mlže z čeledi Margaritiferidae. Ve sladkých vodách je tento druh považován za možná jednoho z nejohroženějších mlžů celého světa. Je velmi významným druhem fungujícím jako bioindikátor, který dále zastřešuje i další širokou škálu sladkovodních organismů jako deštníkový druh. Ohrožení perlorodky říční roste, přičemž pokles početnosti v posledních letech je tak velký, že hrozí v určitých oblastech její úplné vyhynutí (Geist, 2010). V České republice je tento druh chráněn zákonem číslo 114/1992 Sb. o ochraně přírody a krajiny, kde je veden jako kriticky ohrožený (Farkač et al. 2005; AOPK ČR, 2013). Na Červeném seznamu má podle IUCN perlorodka říční statut ohroženého druhu (IUCN Red List, 2017).

Pro hodnocení populací perlorodky říční je potřeba nejenom znát její početnost, ale i velikostní či ještě lépe věkovou strukturu (přítomnost juvenilních jedinců a věk uhynulých jedinců). Tyto údaje jsou ukazatelem vhodnosti dané lokality. Pro tuto práci bylo shromážděno několik skupin juvenilních perlorodek známého věku z různých lokalit. Odhad věku jedinců perlorodky říční vychází z předpokladu, že jsou přírůstkové linie vytvářeny každý rok. Výhodou měření morfologických parametrů juvenilních lastur je kvantifikace růstu, který proběhl v rané fázi ontogeneze, což již u dospělých jedinců kvůli erozi lastury nelze. Předmětem práce bylo metodicky zvládnout zhotovení příčných řezů juvenilních lastur perlorodky, jejich obarvení daným roztokem a stanovení počtu přírůstků pod mikroskopem. Cíle práce jsou uvedeny v kapitole 2.

1 Literární rešerše

1.1 Ochrana a záchranné projekty populací perlorodky říční

Počet populací perlorodky říční a jejich početnost se stále snižuje, a proto je tento druh předmětem intenzivní ochrany (AOPK ČR, 2013). V České republice je perlorodka říční vedena vyhláškou č. 395/1992 Sb. jako kriticky ohrožený zvláště chráněný druh. Podle zákona č. 114/1992 Sb. o ochraně přírody a krajiny je ochrana perlorodky zajišťována primárně zvláštní druhovou ochranou, ale také jako předmět ochrany v různých chráněných územích např. ve zvláště chráněných územích (ZCHÚ), kam řadíme zejména přírodní památky, přírodní rezervace nebo národní přírodní rezervace. Různé aktivity na ochranu druhu byly prováděny už od roku 1983 (Hruška, 1982). V roce 1999 byl v ČR pro perlorodku říční vytvořen první záchranný program (Absolon et Hruška 1999), na který navazuje nový druhý novelizovaný, revidovaný a upravený záchranný program (AOPK ČR, 2013). Dále je perlorodka předmětem ochrany i ve významných lokalitách Evropy (EVL) v rámci Evropou chráněných území NATURA 2000. Perlorodka říční je uvedena i v Bernské úmluvě o ochraně volně žijících živočichů, planě rostoucích rostlin a přírodních stanovišť (směrnice Rady Evropy 92/43/EEC příloha II, III, V; Araujo et Ramos, 2001). Kromě ČR a Evropy jako celku se záchrannými projekty zabývají i další jednotlivé evropské státy, například Irsko (zákaz lovu a sběru), Litva (ochrana zákonem), Norsko (záchranné projekty), Rakousko (ochrana zákonem), Švédsko (záchranné projekty), Velká Británie (záchranné projekty), Finsko a Lotyšsko (druh uveden na červený seznam), Německo (ochrana zákonem) (AOPK ČR, 2013).

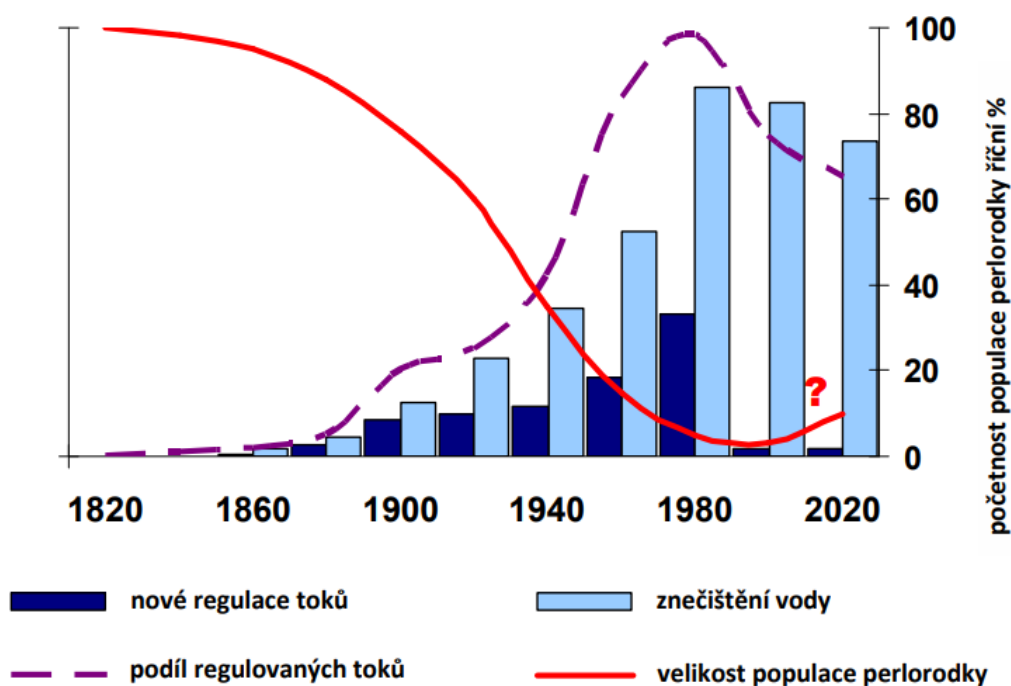
V dnešní době bohužel pouhá legislativa a snahy orgánů ochrany přírody v rámci záchranných programů perlorodky nestačí a stav současných populací perlorodky říční se v České republice většinou nelepší. Je tak zapotřebí i pomoc dalších uživatelů zejména pozemků kolem vodních toků s přirozeným výskytem perlorodky říční. Mezi tyto uživatele můžeme řadit například celé obce, rybáře, zemědělce, lesníky, stavbaře, chataře a další osoby. Důležité je uvést veřejnost do problematiky a podpořit tak ochranu a aktivity, které zlepšují stav populací perlorodky (Simon et al., 2018).

V uplynulých letech také proběhlo hned několik revitalizačních studií pro vybraná povodí, jež měly za úkol zhodnotit stav lokalit a v případě negativních jevů navrhnout a provést opatření, která tyto jevy odstraní a obnoví tak stav dané lokality. Konkrétně v roce 2008 byla provedena studie pro pramenné oblasti Blanice a Zlatého potoka

(Dort et Hruška 2008), v roce 2009 pro pramenné oblasti Malše i pro povodí Lužního potoka a Bystřiny (Bílý et al., 2008; Spisar, 2009).

1.1.1 Stav populací perlorodky v ČR

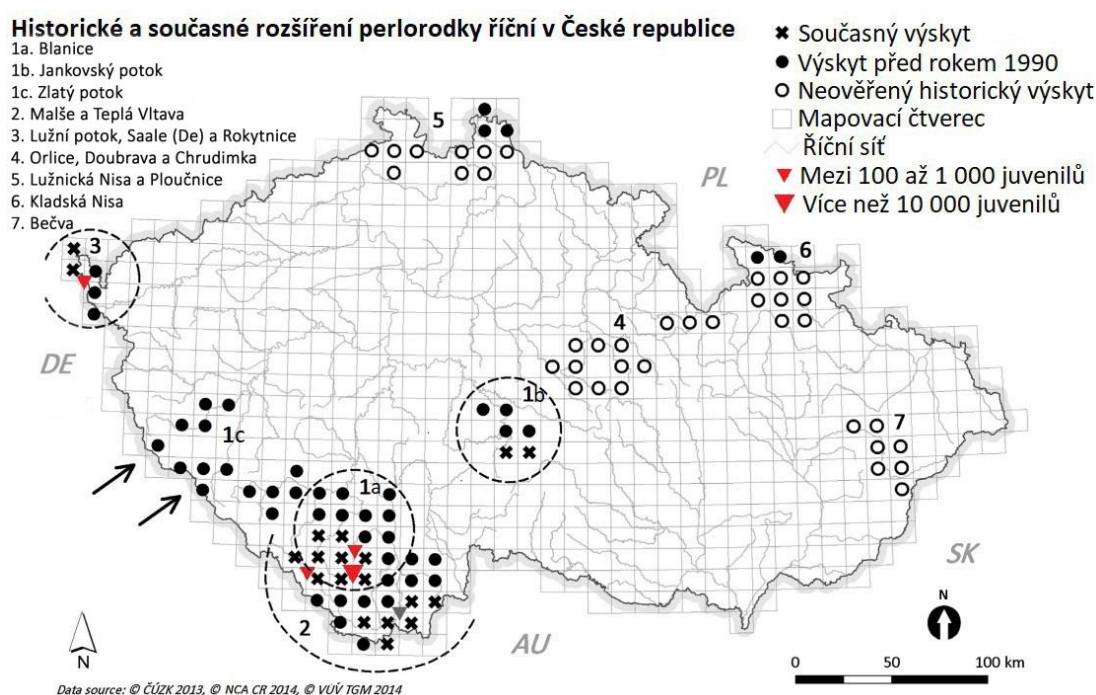
Stav populací perlorodky říční na území České republiky je v dnešní době velmi špatný. Populace vymřely na více jak 95 % původního areálu. Na našem území se nachází už jen pár původních lokalit (Matasová et al. 2013, Simon et al. 2015). Faktory, které ovlivnily masivní vymření tohoto druhu, jsou podrobně uvedeny v podkapitole (1.1.3.), nejčastějšími důvody úhynu byla regulace toků a jejich znečištění (Obr. 1.1.). U větších toků bylo příčinou primárně vypouštění odpadních a komunálních vod z průmyslu a měst. Naopak u menších toků byl úhyn způsoben různými pracemi a hospodařením a to jak v tocích samotných tak v jejich okolí (Dyk, 1947; 1992; Hruška, 1991; Flasar; 1992).



Obr. 1.1. Stav perlorodky říční za posledních 200 let ovlivněný znečištěním a regulací toků na českém území (převzato ze Simon et al., 2018).

Na Obr. 1.2. je znázorněna mapa České republiky s vyznačenými posledními lokalitami, kde jsou stále prokazatelně potvrzené výskyty jedinců perlorodky. Jedná se o lokality v povodích šesti řek nacházejících se vesměs v pohraničních oblastech. Konkrétně pohraničí jižních Čech (Blanice, Teplá Vltava, Zlatý potok a Malše), Ašsko

(Lužní potok a Rokytnice) a Českomoravská vrchovina (Jankovský potok). Tyto vodní toky jsou posledními v Čechách, které alespoň částečně ještě odpovídají požadavkům perlorodky říční na chemismus vody. Bohužel i zde je spíše více negativních faktorů jako jsou například nevyhovující teplotní parametry, vysychání koryta, povodně, eroze, ledové kry nebo nedostatečně pevné dno. Pokud bude současná ochrana neúčinná, tak je vzhledem k těmto faktorům možný radikální úbytek jedinců i na současných lokalitách výskytu (Dort, 2012; Simon et al., 2015; Simon et al., 2018).



Obr. 1.2. Historické a současné rozšíření perlorodky říční v České republice. První skupina rozdělena pro lepší geografickou orientaci (převzato ze Simon et al., 2015 a upraveno autorem).

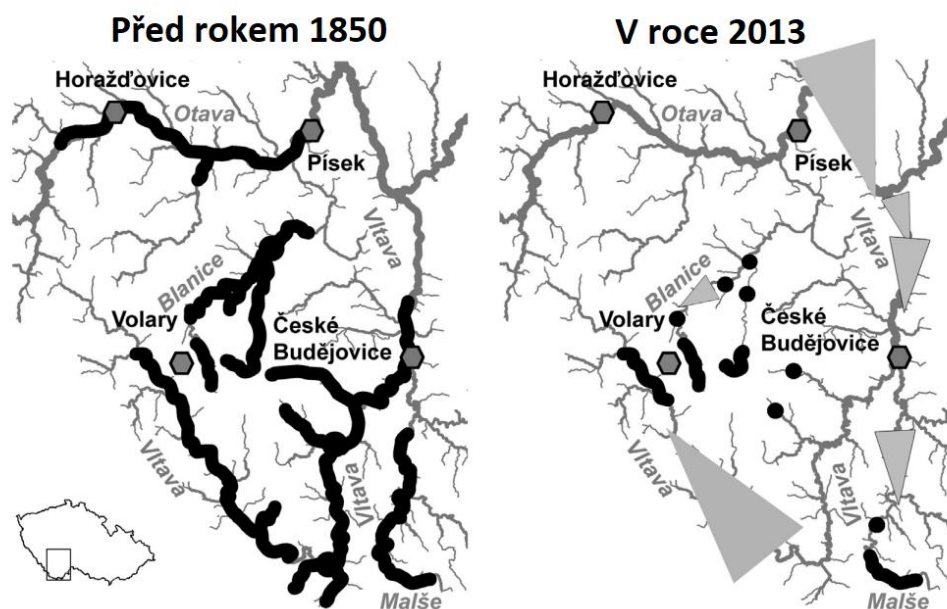
Konkrétní údaje o stavu populací a samotných toků zde uvedu jen stručně. Blanice a Zlatý potok jsou poměrně dobře zdokumentované toky a populace jsou zde současně v ČR asi nejpočetnější. Na Zlatém potoce bylo k roku 2005 zaznamenáno 1710 jedinců (Hruška, 2003; 2005), nicméně Spisar (2012a) už uvádí populaci nižší než 1000 jedinců. Dále podle Spisara (2010) je na Blanici počet perlorodek stanoven na 10 120 kusů. Od roku 2016 do roku 2021 proběhl na Blanici polopřirozený odchov perlorodky říční, kdy se každý rok lokality doplňovaly novými jedinci. Průběh tohoto odchovu můžeme názorně vidět v Tab.1.1.

Tab. 1.1. Polopřirozený odchov perlorodky říční na Blanici od roku 2016 do roku 2021. Číslo a + značí rok života (převzato z Dort, 2021 a upraveno autorem).

Rok	Vstup 0+ (ks)	Výstup 1+ (ks)	Výstup 2+ (ks)	Výstup 3+ (ks)	Výstup 4+ (ks)	Výstup 5+ (ks)	Výstup 6+ (ks)
2016	50937	1139	542	-	-	-	-
2017	103385	2751	747	-	-	-	-
2018	81887	3380	1372	425	-	-	-
2019	81690	9390	1482	295	315	-	-
2020	80900	7920	4300	995	250	263	-
2021	83000	2964	3365	2445	895	235	235

Lokality na úseku Teplé Vltavy jsou uvedeny zejména v publikaci Horáčková et al., (2014). V této publikaci jsou uvedeny i historické záznamy výskytu perlorodky v centru Českého Krumlova (Frankenberger, 1910), Rožmberku nad Vltavou (Slavík, 1868), Vyššího Brodu (Slavík, 1868) nebo i v Českých Budějovicích. Dvořák et Beran, (2004) uvádějí asi 70 jedinců u obce Dobrá a 7 jedinců u obce Pěkná (jihovýchodně od města Volary). Další měření probíhalo mezi lety 2009–2012, kdy bylo nalezeno 288 jedinců (Dort, 2009; 2010). Současně se snaží Národní park Šumava udržovat a ochraňovat vltavskou populaci. Podle posledních zpráv z roku 2022 je současný odhadovaný stav zhruba 1500 jedinců (NP Šumava, 2022). Současné akce prováděné na řece Malši jsou publikované od roku 2009, kdy bylo nalezeno 36 jedinců v náhonu Velíškova mlýna v Ješkově (Dort et Hruška, 2009). Poté mezi lety 2009–2012 byl proveden rozsáhlý monitoring, při kterém bylo nalezeno 444 jedinců (Dort, 2012; Spisar, 2012b). V Jankovském potoce bylo k roku 2011 zaznamenáno pouze 7 kusů, které byly zřejmě pozůstatky umělého vysazení z roku 1996, nicméně podle Spisar (2012c) má tato populace až 30 jedinců. Hlavní toky západočeských ašských lokalit jsou na tom, co se týká počtu jedinců, průměrně. Rokytnice a Lužní potok obývá okolo 3000 jedinců. Dále v toku Bystřina je odhadováno až 600 jedinců (Spisar, 2012d). Podle (Spisar, 2013) je na všech výše uvedených lokalitách (vyjma Jankovského potoka) potvrzen výskyt juvenilních jedinců, ovšem trvale udržitelný rozvoj je zatím možný pouze na Blanici a Teplé Vltavě, kde se provádí rozsáhlé záchranné práce (Dort, 2021; NP Šumava, 2022).

Od roku 1850 do roku 2013 se vzhled areálu perlorodky říční na jihozápadní straně Čech změnil opravdu rapidně. Na Obr. 1.3. můžeme vidět stav osídlení perlorodky před rokem 1850 a stav z roku 2013 už ovlivněný časem a lidskou činností (Simon et al., 2015).



Obr. 1.3. Detailní přehled úbytku areálu perlorodky říční na jihozápadní části povodí Vltavy od roku 1850 do roku 2013. Přítomnost jedinců označují černě vyznačené čáry a body. Trojúhelníky označují vybudované přehradní nádrže (Římov, Husinec, Kořensko, Hněvkovice a Homole.; převzato ze Simon et al., 2015 a upraveno autorem).

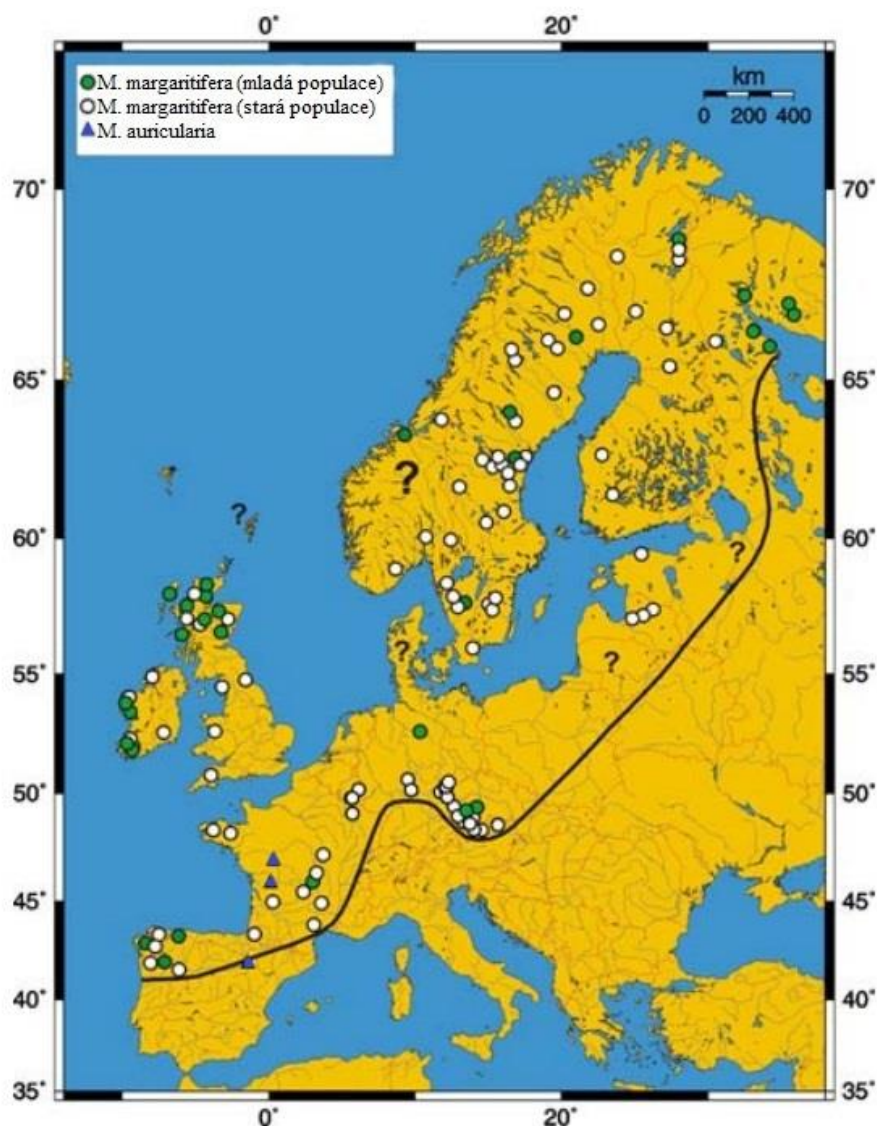
1.1.2 Stav populací perlorodky říční a perlorodky velké v Evropě

Jelikož bylo v této práci využito i jedinců z evropských lokalit, uvedu zde i krátce pár informací o rozšíření perlorodky říční v celé Evropě. Evropský areál perlorodky je velmi rozlehlý táhnoucí se od severního Portugalska přes Pyreneje, Francii, Velkou Británii, střední Evropu až po severní Evropu, kde ve Skandinávii a severním Rusku dnes nachází lokality s nejbohatším výskytem tohoto druhu (Obr. 1.4.). Důležitým aspektem výskytu je i nadmořská výška, která se v jednotlivých územích Evropy značně mění. Například Česká republika 800 m n. m., lokality u polárního kruhu 430 m n. m., nebo severní Norsko 200 m n. m. (Dolmen et Kleiven, 2008). Tento fakt může ovlivňovat rozšíření pstruha potočního jako hostitele perlorodky říční, který preferuje spíše vyšší nadmořské výšky (AOPK ČR, 2013).

Stejně jako lokality na Českém území jsou i ty evropské značně ovlivňovány lidskou činností. Dle Araujo et Ramos (2001) se za poslední dobu počet perlorodek ve

střední Evropě snížil o více než 90 %. Příklady jednotlivých států a stav výskytu perlorodky říční v nich jsou uvedeny v Tab. 1.2.

Rod *Margaritifera* má na území Evropy ještě druh *Margaritifera auricularia* (Spengler, 1793) (syn. *Pseudunio auricularia*). Výskyt tohoto druhu je ovšem na území Evropy potvrzen pouze na území Francie a Španělska (Obr. 1.4.) (Araujo et Ramos, 2000b; Prié et al., 2018). Podle IUCN je tento druh od roku 2020 vedený jako kriticky ohrožený (IUCN Red List, 2020).



Obr. 1.4. Rozšíření perlorodky říční na evropském kontinentu. Zelené kroužky označují výskyt perlorodky říční s potvrzenou reprodukcí; bílé kroužky populace s nepotvrzenou reprodukcí; modré trojúhelníky označují poslední výskyty perlorodky velké (*M. auricularia*) a otazníky označují nejasné místa a oblasti výskytu. Černá čára vyznačuje jižní hranici výskytu perlorodky říční (převzato z Geist, 2010 a upraveno autorem).

Tab. 1.2. Informace o stavu perlorodky říční v evropských státech. N/A: Není známý počet; +: hrubý odhad; převzato z Araujo et Ramos, 2000a; Young et al., 2001; Geist, 2010; Lopes-Lima et al., 2017 a upraveno autorem).

Země	Odhad počtu populací	Odhad počtu jedinců	Poznámka	Reference
Belgie	6	2 750	Téměř vyhynulá populace	Motte, 2012
Bělorusko	0	0	Vyhynulý	Laenko, 2006
Česko	6	80 000	Tři velké populace (pouze jedna velká)	Farkač et al., 2005
Dánsko	1	N/A	Pravděpodobně vyhynulý od roku 1970	Geist, 2010
Estonsko	1	37 500	Nízká reprodukce; stav klesá	Geist, 2010
Finsko	50	1 500 000	Nejvíce v povodí Lutto; malý růst	Rassi et al., 2010
Francie	84	100 000	Dnes pouze 10 řek; malý růst	Cochet, 1999; Geist, 2010
Irsko	135	12 000 000+	Až 3 miliony ks na řeku; silný pokles	Byrne et al., 2009
Litva	1	N/A	Velmi silný pokles z 163 na 1 lokalitu	Balevičius, 1992
Lotyšsko	8	25 000	Velmi vážný pokles na minimum	Spuris, 1998; Rudzīte, 2004; 2005
Lucembursko	1	175	Téměř vyhynulý	Geist, 2010
Německo	69	144 000	Jedna zotavující se populace	Sachteleben et al., 2004; Binot-Hafke et al., 2011
Norsko	345	10 000 000+	Vážný pokles zejména na jihu Norska	Larsen, 2001; Dolmen et al., 2008; Kålås et al., 2010
Polsko	0	0	Vyhynulý	Głowaciński et al., 2004; Dyduch-Falniowska et al., 2011
Portugalsko	6	1 000 000+	Tři velké populace; velmi silný pokles	Velasco Marcos et al., 2002; Reis, 2003
Rakousko	29	50 000	Pouze tři velké populace; silný pokles	Moog et al. 1995; Reischütz et Reischütz, 2007
Rusko	8+	100 milionů+	Čtyři velké populace; vážný pokles	Danilov-Damilian, 2001
Španělsko	36	N/A	Dvě populace schopné reprodukce; pokles populace	Álvarez-Claudio et al., 2000; Morales et al., 2004; Verdú et al., 2006; Outeiro et al., 2008
Švédsko	400+	8 000 000+	Reprodukčně schopné populace; pokles	Degerman et al. 2009; Gärdenfors, 2010
VB Anglie	10	N/A	Velmi málo populací; nejlepší 100 000 ks	Seddon et al., 2014
VB S. Irsko	135	N/A	Dobré populace; pokles	Byrne et al., 2009
VB Skotsko	50	12 000 000+	Nejvíce populací ve Skotsku; jinak pokles	Seddon et al., 2014
VB Walse	10	N/A	Zbývá 10 řek; přesun populací do zajetí	Seddon et al., 2014

1.1.3 Faktory ovlivňující velikost a stav populací perlorodky říční

Faktorů, které negativně ovlivňují početnost a výskyt perlorodky říční je široká škála, od méně závažných až po ty, které způsobují plošný úhyn jedinců. Drtivá většina těchto negativních faktorů je antropogenních. Mezi ty základní a nejdůležitější řadíme:

a) Regulace vodních toků: už od pradávna byly toky člověkem upravovány k vzhledu jemu vyhovujícímu většinou pro jeho vlastní dobro a uspokojení. Hlavní negativní změnou zde chápeme změnu morfologie koryta a zrychlování odtoku napřimováním toků. Jsou zde ovšem i pozitivní aspekty, jako jsou například mlýnské náhony, kde se zvyšovala abundance (početnost) perlorodek (Simon et al., 2018). Řadíme sem i několik možných abiotických faktorů, u kterých může náhlá změna způsobit úhyn nebo úbytek jedinců perlorodky. Mezi ty hlavní patří teplota nebo změny rychlosti průtoku (Hastie et al. 2004).

b) Odvodnění, meliorace a eroze: zde je hlavní efekt odvodnění přirozeně podmačených oblastí z důvodu zemědělské činnosti. V důsledku odvodňování dochází k rozsáhlé erozi, přičemž sediment může perlorodky zanést (Buddensiek, 1995; Spisar et Simon, 2006; Geist et Auerswald, 2007; Simon et al., 2018). Erozi zhoršuje i jiný nevhodný zemědělský či lesnický management (Bílý et al., 2008; Skokanová et al., 2012; Simon et al., 2018).

c) Eutrofizace: znečištění vzniklé zvýšením tzv. trofie (úživnosti toku) vlivem zvýšení koncentrací živin, zejména dusíku a fosforu, které se do vodních toků dostávají přírodní i antropogenní cestou. Vyšší koncentrace dusíku i fosforu působí na perlorodky velmi negativně a většinou způsobují až úhyn jedince (Absolon et Hruška, 1999; Bauer et Wächtler, 2001; Geist et Kuehn, 2005; Geist, 2010; Simon et al., 2018).

d) Nevhodné rybářské obhospodařování: ovlivňuje perlorodky zejména snížením počtu hostitelských jedinců pstruha potočního, a to jak přímo vychytáním (sportovním rybolovem), tak nevhodným managementem řízeného rybolovu (Simon et al., 2018).

e) Nevyhovující systém nakládání s odpadními vodami: vlivem průmyslu a dalších činností, při kterých se do vodních toků dostaly různé látky (toxické, ropné, pesticidy a farmaka) a negativně ovlivňující stav perlorodek (Dyk, 1992; Simon et al., 2015; Simon et al., 2018). Základními zdroji jsou odpadní vody, které negativně ovlivňují chemismus vody a změny koncentrací vápníku (změna může být i vlivem kyselých dešťů; Hruška 1998). Několik autorů se pokusilo stanovit optimální jakost vody pro perlorodku říční. Jednotlivá data různých studií jsou uvedena v Tab. 1.3.

Tab. 1.3. Optimální jakost vody pro perlorodku říční dle tří různých studií. N/A (Not Applicable – nelze aplikovat; převzato z Másílko, 2009; Simon et al., 2021 a upraveno autorem). **Reference: A:** Bauer, 1988; **B:** Absolón et Hruška, 1999; **C:** Oliver, 2000; **D:** Larsen, 2005; **E:** Degerman, 2009.

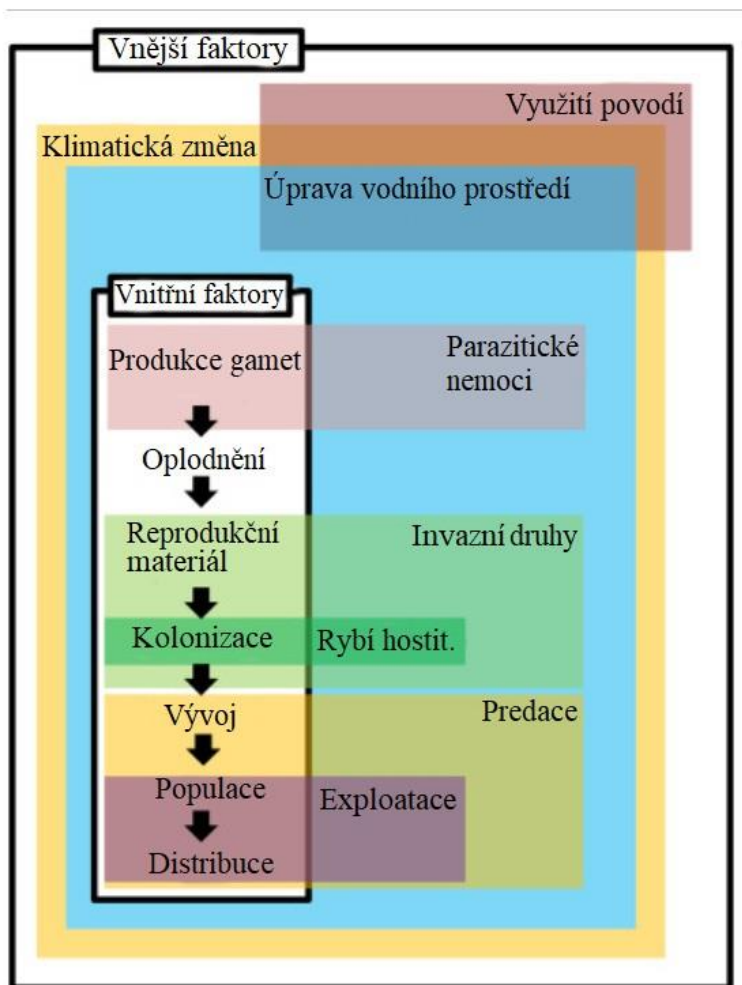
Specifický znak	Ref. A	Ref. B	Ref. C	Ref. D	Ref. E
Dusičnany (mg/l)	<0,5	N/A	<1,0	<1,7	<0,13
Fosforečnany (mg/l)	<0,03	N/A	<0,03	<0,06	N/A
Celkový P (μg/l)	N/A	<30	N/A	<60	<10
pH	N/A	6-7,1	6,5-7,2	6,1-8	6,1-7,7
Konduktivita (μs/cm)	<70	<70	<100	<150	N/A
Vápník (mg/l)	<2	<8	<10	N/A	N/A
BSK (mg/l)	<1,4	<1,5	<1,3	N/A	N/A
Rozpuštěný O ₂ (%)	N/A	N/A	90-100	N/A	N/A
NH ₄ ⁺ (mg/l)	N/A	<0,1	N/A	<0,1	N/A
Max. teplota °C	20	20	20	N/A	25

f) Masový turismus: zde mluvíme zejména o tlaku lidí na životní prostředí, řádíme sem zejména vodáky a rybáře, ale i jiné turisty, kteří se mnohdy nechovají k přírodě tak jak by měli. Při nižších stavech vody zejména vodáci při splouvání vody nevědomě ničí například vodní tak příbřežní makrofyta (například stolístek (*Myriophyllum*), hvězdoš (*Callitriche*) nebo lakušník (*Ranunculus*)), nebo přímo samotné jedince usazené ve dně (Hruška, 1996; Simon et Kladivová, 2006; Dort, 2009; AOPK ČR, 2013; Simon et al., 2018). Odumřelé části zejména příbřežních rostlin jsou důležitým zdrojem detritu, potravy pro perlorodku říční.

g) Introdukce (ať již záměrná či nezáměrná) nepůvodních druhů organismů: tento jev je nejvíce známý u severoamerických raků: rak pruhovaný (*Faxonius limosus*) (Rafinesque, 1817); rak mramorovaný (*Procambarus virginalis*) (Martin, Dorn, Kawai, van der Heiden & Scholtz, 2010); rak červený (*Procambarus clarkii*) (Girard, 1852) a rak signální (*Pacifastacus leniusculus*) (Dana, 1852), kteří negativně ovlivňují celé vodní ekosystémy včetně perlorodek, které raci požírají (Schmidt et Vandré, 2012; Sousa et al., 2015; Simon et al., 2018). Další významnou introdukcí je mlž slávička mnohotvárná (*Dreissena polymorpha*), která perlorodku ovlivňuje hned

několika způsoby. Například znemožňuje uzavírání lastur mlžů (zvyšuje se riziko predace a nemoci); znemožňuje otevírání lastur (snížení dýchací schopnosti a příjmu potravy); snižuje množství potravy v prostředí; využívá mlže jako substrát k přisednutí (zhoršuje samotný pohyb mlžů) nebo můžou vylučovat toxické látky (Lewandowski 1976; Hebert et al., 1991; Mackie, 1991; Schloesser et Kovalak, 1991; Hunter et Bailey, 1992; Ricciardi et al., 1996; Schloesser et al., 1996; Burlakova et al., 2000; Hörmann et Maier, 2006; Jokela et Ricciardi, 2008). Introdukce samozřejmě může mít vliv i na čistotu genofondu pstruha potočního, což může pak negativně ovlivnit i perlorodku (Simon et al., 2018).

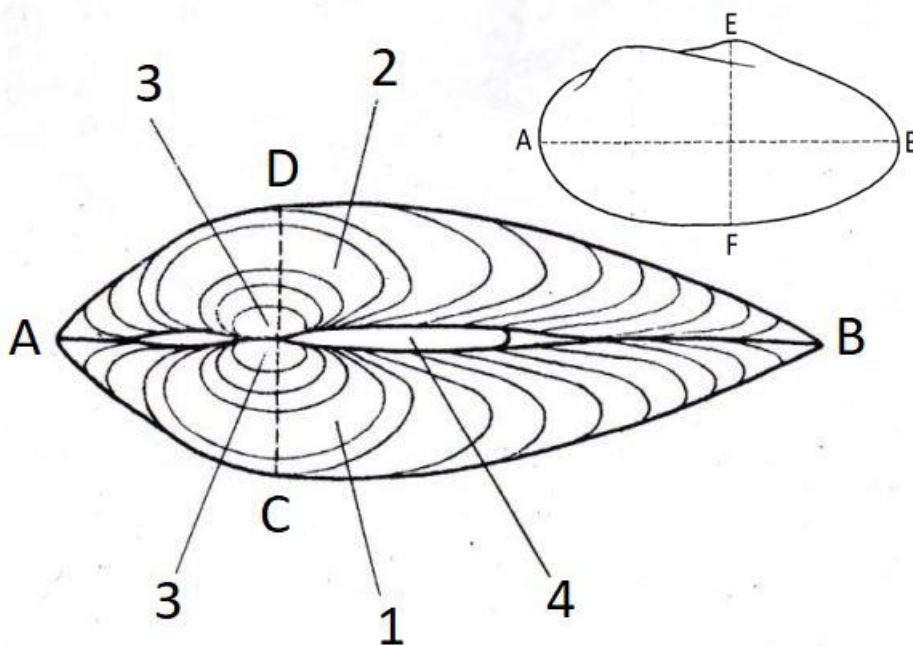
Ferreira-Rodríguez et al., (2019) rozdělili všechny faktory ohrožující sladkovodní mlže na vnější a vnitřní, kdy vnější zahrnují všechny problémy vyvolané okolním prostředím a vnitřní zahrnují problémy na úrovni samotného druhu. Tyto faktory jsou znázorněny na Obr. 1.5.



Obr. 1.5. Vnější a vnitřní faktory pro hodnocení stavu a zachování populací sladkovodních mlžů (převzato z Ferreira-Rodríguez et al., 2019 a upraveno autorem).

1.2 Lastura perlorodky říční a její růst

Každý jedinec je tvořen dvěma zrcadlově souměrnými polovinami (“miskami“), které jsou spojeny pružným kolagenním vazem tzv. ligamentem. Tyto dvě misky tvoří lasturu. Lastura mlžů je z 95 % až 99 % tvořena z uhličitanu vápenatého (ve formě aragonitu) a méně než z 5 % z organické matrice: různé proteiny (konchiolin) a polysacharidy (Zhang et Zhang, 2006). Lasturu lze charakterizovat základními morfologickými parametry: délkou, výškou a šířkou lastury (Obr. 1.6.). Na vnitřní straně lastury můžeme rozeznat patrné zuby, které vytváří zámek držící lasturu pohromadě (podobně jako například u velevrubů, kteří mají zámek oproti perlorodkám kompletní s hlavními zuby i vedlejšími lištami; Smrž, 2013). Každá lastura postupem času roste a zvětšuje tak svou velikost. Nejstarší je vrchol lastury tzv. umbo, které ale postupem času podléhá silné erozi (King, 2013; Obr. 1.7.).

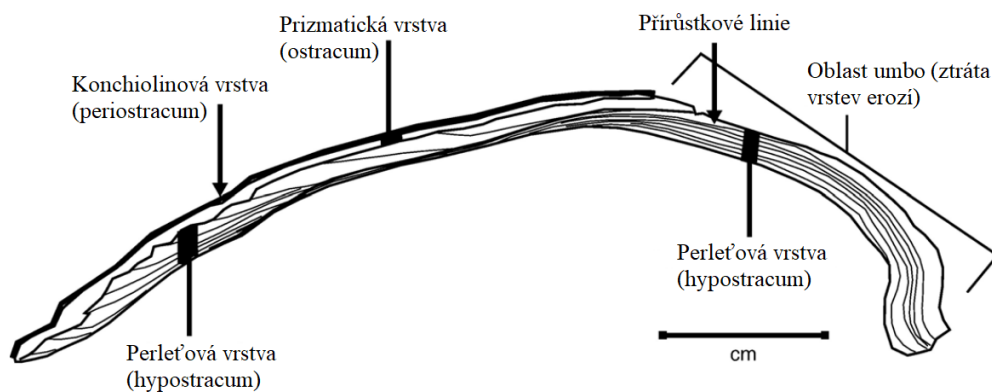


Obr. 1.6. Dorzální (shora) pohled na lasturu mlže. V pravém rohu pohled laterální (boční): A – přední část lastury; B – zadní část lastury; A-B – délka lastury; C-D – šířka lastury; E-F – výška lastury; 1 – levá miska; 2 – pravá miska; 3 – vrchol (umbo); 4 – ligament (převzato z Pflieger, 1988 a upraveno autorem).

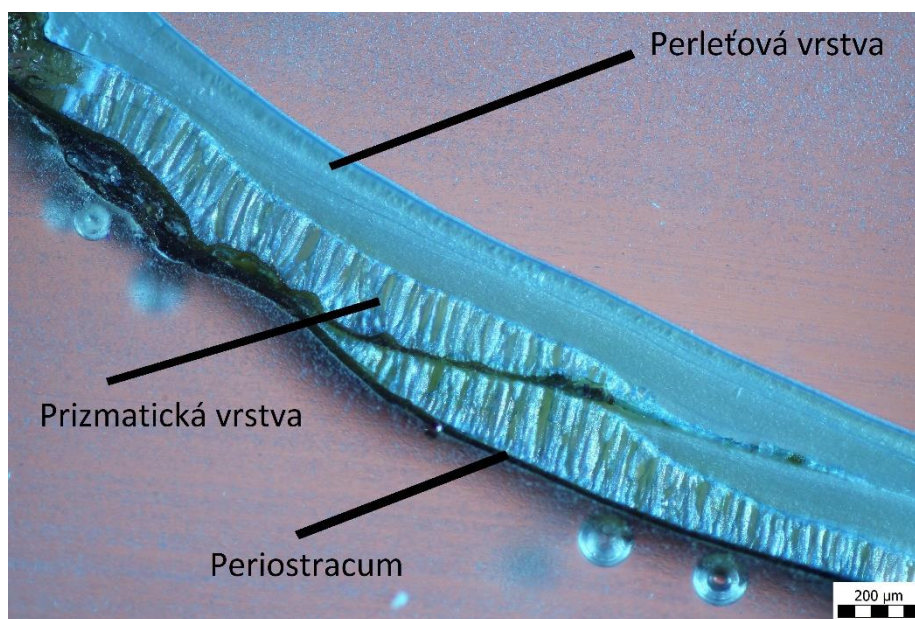


Obr. 1.7. Laterální pohled na lasturu perlorodky říční (věk 26+ let) s erodovaným vrcholem (umbo; označeno obdélníkem; Foto: Autor).

Perlorodky rostou po celý život, kdy postupně vytvářejí tzv. přírůstkové linie ukládáním a vrstvením uhličitanu vápenatého získaného z potravy a vody (Hawkins et Hilbish, 1992). Přírůstky jsou podobné letokruhům u stromů nebo na šupinách a otolitech ryb. Dosud není jasné, zda se tyto linie vytváří pravidelně každý rok (jak si dnes myslíme), nebo jsou tvořeny jen v závislosti na podmínkách prostředí, a tudíž nemusí vznikat v ročním intervalu (Haag et Commens-Carson, 2008). Už při pouhém pohledu na povrch lastury můžeme vidět zřejmé elipsovité linie, které postupně od vrcholu zvětšují svůj obvod. Díky těmto vnějším liniím jsme schopni zjistit přibližný věk, rychlost růstu (podle zimních a letních období) a věk úhynu jedince (Negus, 1966; Tevesz et Carter, 1980; Richardson, 1989; AOPK ČR, 2013). V této práci se ale budu zabývat počtem přírůstkových linií na řezu lastury, kde lze tyto vnější elipsy lépe odlišit od těch na povrchu lastury. Na Obr. 1.8. můžeme na řezu lastury perlorodky říční vidět tři základní vrstvy. Na povrchu lastury, tedy první a nejsvrchnější vrstvou je koncholinová vrstva (periostracum). Poté následuje prizmatická vrstva (ostracum), která je charakteristická strukturami připomínající sloupkovitě uspořádané krystaly uložené kolmo k povrchu lastury (Obr. 1.9.). Spodní a hlavní vrstvou je vrstva perleťová (hypostracum), v této vrstvě se nacházejí všechny přírůstkové linie. Prizmatická a perleťová vrstva obsahuje uhličitan vápenatý ve formě aragonitu (Geist et al., 2005; Carroll et al., 2006; Smrž, 2013; McDougall et Degnan, 2018).



Obr. 1.8.: Základní vrstvy lastury – nejsvrchnější konchiolinová vrstva (periostracum); prizmatická vrstva (ostracum); perleťová vrstva (hyostracum) a znázorněné přirůstkové linie a oblast vrcholu lastury – umbo (převzato z Carroll et al., 2006 a upraveno autorem).



Obr. 1.9. Vrstvy lastury na řezu lastury perlorodky říční; foceno pod mikroskopem při zvětšení 40x (10 x 4) (Foto: Autor).

V perleťové vrstvě mohou být vidět nejen přirůstkové linie, ale i tzv. disturbační linie (tzv. pseudoannuly). Tyto linie vznikají vlivem různých přírodních faktorů a jevů jako jsou například stres, bouřky, tření ryb nebo lidský zásah (Nevez et Moyer, 1988; Kesler et Downing, 1997). Disturbační linie jsou většinou jen málo viditelné, ovšem někdy může bohužel nastat situace, kdy nelze odlišit tyto linie od linií přirůstkových (Richardson, 2001).

Na řezu lastury mohou být přítomny i tzv. konchiolinové linie. Tyto linie jsou lokalizované podobně jako přírůstkové linie ve vrstvě perleťové s rozdílem toho, že jsou často výraznější a mají tmavší barvu. Jsou vlastně velmi podobné nejsvrchnější vrstvě periostracum, ve které je konchiolin nejvíce obsažen. Hlavní funkcí těchto linií je zajišťování pevnosti a odolnosti lastury proti vnějším podmínkám. Příčina vzniku těchto linií doposud není známa, ale s největší pravděpodobností je to reakce či obrana proti podmínkám daného prostředí (Kat, 1983; Harper, 1994; Bowen et Tang, 1996; Araujo et al., 2014; Williams et al., 2014).

1.3 Metody určování věku mlžů

Věk perlorodky říční (mlžů) poskytuje důležitou informaci nejen o samotném jedinci, ale i populaci a stavu lokality, ze které pochází. Obecně můžeme perlorodky říční rozdělit z pohledu délky života do tří věkových skupin: krátkověké, středněvěké a dlouhověké. Toky s méně úživnou a chladnější vodou (sever Evropy) obývají dlouhověké perlorodky, které mají zpravidla růst a metabolismus pomalejší, což prodlužuje i délku jejich života (až 200 let). Naopak toky teplejší s vysokým podílem živin (jih Evropy) obývají krátkověké perlorodky, jejichž růst i metabolismus je rychlejší a hynou o dost dříve než dlouhověké (50 let). Díky určení věku jedinců můžeme přibližně určit, z jaké oblasti areálu jedinec pocházel, jaké byly živinové a teplotní podmínky toku, popřípadě, zda-li nebyl úhyn zapříčiněn jiným faktorem než stářím (například znečištěním).

U bezobratlých živočichů se obecně k odhadu věku používají kalcifikované struktury celých těl, nebo jejich částí jako jsou právě zmíněné lastury u mlžů nebo například otolity ryb. Díky těmto kalcifikovaným strukturám jsme schopni odhadnout věk (Panfili et al., 2002; Gordillo et al., 2014; Kozák et al., 2014). Pro přesnější určení věku jedince je potřeba detailnějších metod, například počítání přírůstkových linií na povrchu lastury (kap. 1.3.1), počítání přírůstků na příčném řezu lastury (kap. 1.3.2) nebo ligamentu (kap. 1.3.3). Kromě kalcifikovaných struktur lze k odhadu věku využít i alternativních metod, například měření množství pigmentu tzv. lipofuscinu, který se postupně s věkem hromadí v nervové tkáni. Hrubou představu o věkové struktuře populace můžeme získat i na základě velikostní struktury populace (Hastie et al., 2000). Pro dosažení spolehlivých výsledků je doporučováno jednotlivé metody mezi sebou paralelně kombinovat (Neves et Moyer, 1988; Daniel et James, 2013).

1.3.1 Počítání přírůstků na povrchu lastury

Tato metoda je nejvyužívanější a dostatečně šetrná i pro živé jedince perlorodek. Jak už bylo výše řečeno, lastura je struktura, která vykazuje celoroční růst, přičemž jarně-letní přírůstek je větší než zimní, který se na lastuře projeví jako linie. Jednoduše se pak tyto linie na povrchu lastury počítají. Problémem této metody jsou ovšem někdy nejasné přírůstkové linie (Dunca et al., 2005). Pokud je jarně-letní přírůstek za daný rok nízký, tak mohou jednotlivé linie spolu splývat. Na základě širších jarně-letních linií jsme schopni spočítat kolik zim daný jedinec už prožil. U uhynulých jedinců se pro lepší čitelnost linií doporučuje lastury před měřením namočit do 50% hydroxidu sodného, který odstraní nejsvrchnější vrstvu - periostracum a linie jsou pak viditelnější (Björk, 1962; Půbalová, 2017; Obr. 1.10.).

Tuto metodu nelze bohužel používat na jedince, kteří jsou velmi mladí (například prožili jen pár zimních období a linie jsou nezřetelné) nebo naopak u starých jedinců, kdy je lastura jednak erodována, a navíc odlišení přírůstků na okraji lastury, kdy jedinec roste již velmi pomalu, je spíše intuitivním odhadem. Metoda je nejspolehlivější pro jedince, kteří jsou dostatečně staří s ještě málo erodovanou lasturou (Neves et Moyer, 1988; Gosling, 2015).



Obr. 1.10. Mechanicky (hydroxidem sodným) odstraněná vrstva periostracum a zviditelnění přírůstkových vrstev (Foto: Autor).

1.3.2 Počítání přírůstků na příčném řezu lastury

Tato metoda je popsána i v metodice této práce. Metoda pracuje s uhynulými jedinci. Oproti předešlé metodě je při použití této metody možné spočítat věk velmi mladých i starých jedinců. Obecně se provede řez pomocí diamantové pilky, popřípadě u větších jedinců se lastura vytvrdí epoxidovým lepidlem a řez je vedený pomocí diamantové brusky. Povrch řezu se poté ještě vyhladí brusnými papíry o různých hrubostech a diamantovou pastou, která povrch vyleští (Masu et al., 2008). Poté lze řez zkoumat v přirozeném stavu nebo jej pro lepší zviditelnění přírůstkových linií obarvit pomocí roztoku Mutvei (Schöne et al., 2005). Přírůstky se pak určují v oblasti perleťové vrstvy pod světelným mikroskopem (Laudien et al., 2003, Fiori et Morsán, 2004; Schöne et al., 2005). Alternativní metodou roztoku Mutvei je pozorování i neobarveného vzorku pomocí fluorescenčního mikroskopu. Nicméně obarvené vzorky pod světelným mikroskopem jsou lépe čitelné, a tudíž vykazují lepší výsledky (Wanamaker et al., 2009; Gosling, 2015). Více o zpracování vzorků pro tuto metodu je uvedeno v metodice této práce v podkapitole 3.2. Zpracování lastur.

1.3.3 Počítání přírůstků na příčném řezu ligamentu

Pro tuto metodu musí být zachován na lastuře ligament (pružné vazivo viz Obr. 1.6.), který bohužel často podléhá erozi, a to vzhledem ke svému charakteru snadněji než samotný vrchol lastury. Další důležitou podmínkou je, že řez musí být veden přímo bez jakýchkoliv odchylek (Tevesz et Carter, 1980). Pro změkčení ligamentu, pro snazší provedení řezu se doporučuje lasturu namočit do alkoholu (ethanol) nebo vody (Björk, 1962).

1.3.4 Další alternativní metody určení věku

K určení věku je možné použít i další méně používané metody. Jedna z nich je například určování věku pomocí pigmentu lipofuscinu, který je obsažen v živočišných tkáních (Bluhm et al., 2001). Rychlost tvorby lipofuscinu je závislá na spotřebě kyslíku, proto se množství tohoto pigmentu s věkem mění (Bluhm et Brey, 2001). Pro tuto metodu se živočišné nervové tkáně (například pojivové tkáně) řežou na velmi tenké řezy (5 μm), které se následně hodnotí pod fluorescenčním mikroskopem. Pod mikroskopem se věk počítá podle růstových linií, kdy využíváme odražejícího světla, ve kterém se střídají průhledné a neprůhledné linie. Průhledné linie charakterizují zimní přírůstky, zatímco linie neprůhledné jsou jarní a letní (Lomovasky et al., 2002). Slabinou

této metody je fakt, že množství lipofuscinu v těle odráží více fyziologické stárnutí než stárnutí chronologické (Kozák et al., 2014)

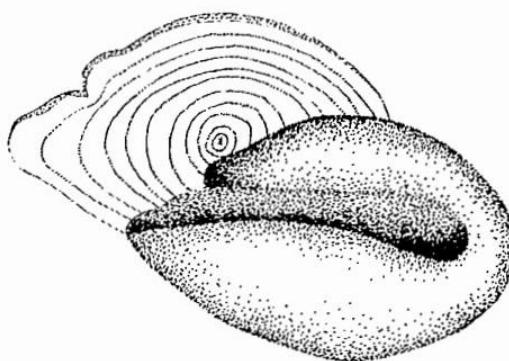
Další metoda je založena na barvení lastur pomocí fluorescenční barvy. Po obarvení se lastura ponoří na 24 hodin do 35% peroxidu vodíku, čímž se odstraní svrchní vrstva periostracum (van der Geest, 2011). Poté se lastury oplachují, suší a ukládají do tmných míst, aby nedošlo k úbytku fluorescence (Wilson et al., 2011). Následně se lastury nařezou na tenké plátky a zkoumají se pod mikroskopem. Pod UV světlem vytváří fluorescenční barva zelené linie, které charakterizují samotné přírůstky. Tato metoda je pracovně velmi náročná a využívá se pro zjištění věku velmi mladých jedinců, kde je rozptyl mezi liniemi přírůstků menší jak 10 μm (Fujikura, 2003; van der Geest, 2011).

1.4 Metody určování věku u dalších živočichů a rostlin

Určit věk z tělesných struktur počítáním přírůstkových linií lze nejen u mlžů, ale i u široké škály dalších organismů, u kterých periodicky dorůstají tvrdé části těla. V této podkapitole bych chtěl pár takových skupin stručně uvést.

Jedna z největších skupin, u kterých je metoda určování věku z tvrdých částí těla hojně využívána, jsou ryby. U této skupiny se určuje věk hned z několika struktur, těmi nejdůležitějšími jsou šupiny, dále otolity (struktury tvořené uhličitánem vápenatým ve vnitřním uchu ryby) nebo i kostěné části (Green et al., 2009). Šupiny ryb jsou pro tuto metodu velmi vhodné, jejich získání je snadné a pro rybu šetrné. Obecně lze šupiny chápat podobně jako lastury mlžů. Na šupině je znázorněno několik prstenců tzv. skleritů, které postupně růstem ryby zvyšují svůj obvod a charakterizují samotný přírůstek. Podobně jako u mlžů jsou i zde tmavší oblasti (vzniklé v zimních obdobích) tzv. annulus. Obecně platí, že počet annulů na šupině znázorňuje počet let, které rybí jedinec prožil (Beckman, 1943; Schneider et al., 2000; Pivnička, 2002; Green et al., 2009; Helfman et al., 2009). Otolity jsou naopak struktury, které se tvoří uvnitř těla ryb (ve vnitřním uchu) a lze je získat jen v momentě úhynu nebo usmrcení jedince. Velikost otolitů je závislá na druhu ryby. Stanovení věku ryb z těchto struktur je daleko přesnější než ze šupin. Věk se stanovuje z řezu těchto otolitů, kde se počítají samotné přírůstky (Obr. 1.11.) (Secor et al., 1991; Stevenson et Campana, 1992; Jenke, 2002; Khan et al., 2009). Blabolil et al. (2018) odhadovali věk ryb z otolitů i živých jedinců pomocí fluorescenčního barviva. Používali roztok hydrochloridu oxytetracyklinu,

který většinou nezvyšuje úmrtnost ryb, je levný a při správné koncentraci je jeho detekovatelnost až 100%. Aplikace je nejčastěji injekčně nebo krmivem, které bylo předem v této látce ponořeno. U menších jedinců jde využívat i koupel celého jedince. Barvivo je na zvápnělých otolitech uloženo dlouhodobě a lze ho detekovat i opakovaně (Brooks et al., 2002; Logsdon et al., 2004). Poslední a nejméně využívanou metodou jsou kostěné části. Nejčastěji se využívají například obratle nebo paprsky a trny prsních ploutví. Tyto struktury jsou velmi podobné otolitům a měření se provádí obdobně. Použití kostěných struktur může být i problematické z důvodu měknutí kostí nebo možné resorpce vápníku a rozkladu kostí (Borkholder et al., 2001; Campana, 2001; Green et al., 2009; Khan et al., 2009).



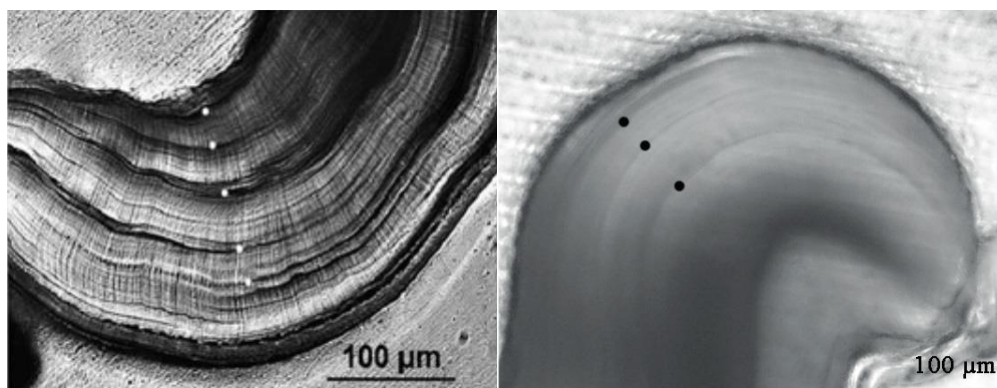
Obr. 1.11. Řez otolitem ryby (převzato ze Secor et al., 1991 a upraveno autorem).

Čtení věku ze zubů se používá také u savců jako je například spárkatá zvěř (například jelen) nebo prase divoké (Obr. 1.12.). Na jejich zubech jsou zaznamenávány v průběhu života vrstvy charakterizující jeden uplynulý rok. Stanovení je u spárkaté zvěře o něco snazší než u prasat, které se živí tvrdou potravou (žaludy, kaštiny a kostmi) a mohou jednotlivé vrstvy i obroušovat.



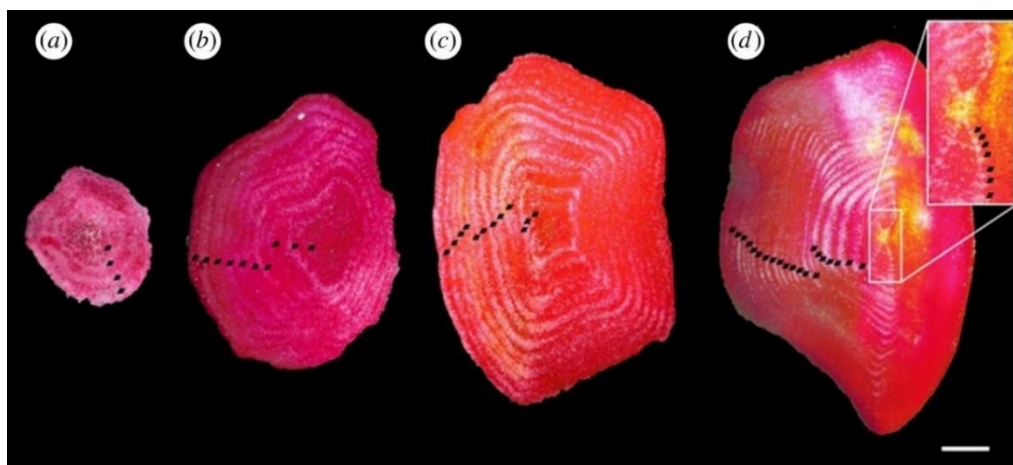
Obr. 1.12. Vlevo: Řez stoličkou jelena evropského, v šestém roce života (převzato z Bádr, 2018); Vpravo: Řez stoličkou divokého prasete, v desátém roce života (první dvě jsou obroušené; převzato z Bádr, 2012).

I u korýšů (raci, krevety, krabi, humři i krill (rod *Euphausia*)) se dá odhadnout přibližný věk jedinců. Používají se různé metody, jako jsou třeba velikostně-frekvenční analýza, množství lipofuscinu nebo počty růstových linií. U korýšů je ovšem problém s měřením kvůli jejich pravidelné obměně exoskeletu (v důsledku růstu jedince), který za svůj život vymění hned několikrát (Hartnoll, 1982; 2001). Vzhledem k tomu je u této skupiny využíváno výše zmíněných nepřímých metod (Kilada et Driscoll, 2017). První ze zmíněných metod je velikostně-frekvenční analýza, která určuje a rozlišuje frekvenci po sobě jdoucích instarů (fáze mezi svlékáními) nebo věkových tříd (Hartnoll, 1982). Tato metoda není tak přesná, ale je využívána zejména pro krátkověké korýše nebo pro raná stádia života, kdy je její použití nejvhodnější (Hartnoll, 1982; Oh et al., 1999; Gendron et Sainte-Marie, 2006; Kilada et al., 2012; Kilada et Driscoll, 2017). Další metodou je měření pigmentu lipofuscinu, který se využívá i u mlžů. Koncentrace tohoto pigmentu se získávají z histologie mozkových oblastí jedince, které se následně hodnotí (Sheehy, 1990; Ju et al., 1999; Sheehy, 2002). Poslední metodou určení věku u korýšů je podle počtu růstových linií (pásů). Tato metoda je odrazem metod zkoumajících zvěnatělé struktury (otolity, šupiny, kosti a lastury). U korýšů tato metoda nelze použít kvůli ztrátě všech vnitřních struktur při každém svlékání. Nicméně Leland et al. (2011) jako první zpracoval struktury malých kůstek (žaludečních mlýnků) v žaludku, na kterých byly zřetelné linie (pásy), které by mohly charakterizovat věk jedince (Obr. 1.13.). Doposud však všechny studie nevyvětlily proces, kterým jsou tyto pásy vytvářeny a je potřeba dalších zkoumání (Kilada et al., 2012; Leland et al., 2015; Kilada et al., 2015; Kilada et Acuña 2015; Sheridan et al., 2015; Tang et al., 2015; Kilada et Ibrahim, 2016; Krafft et al., 2016; Kilada et Driscoll, 2017).

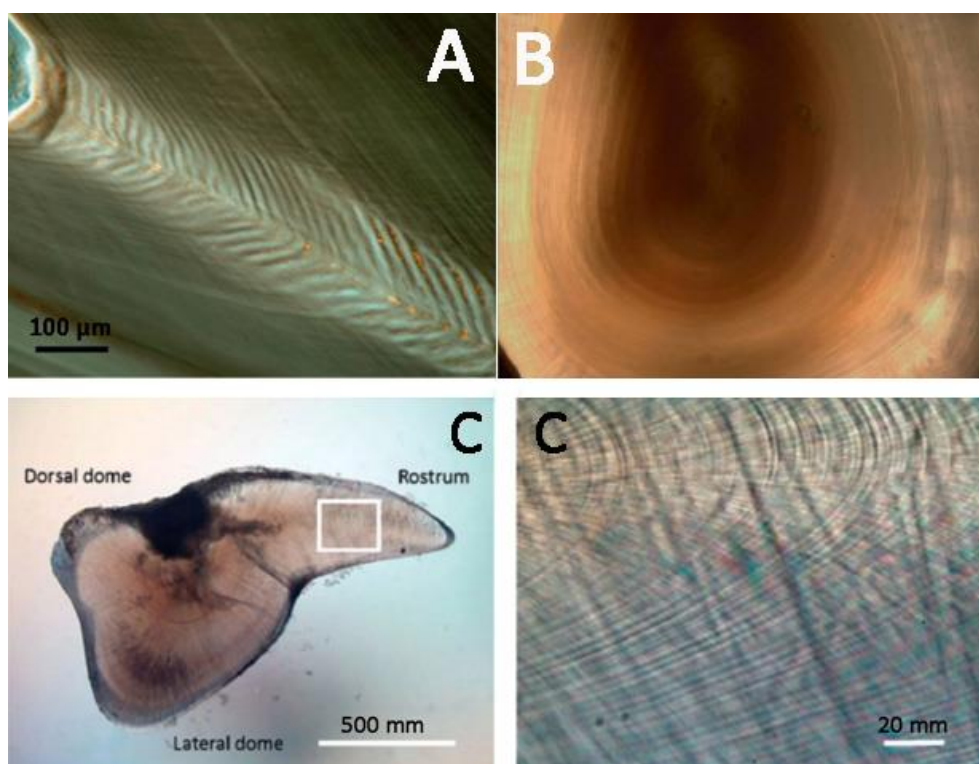


Obr. 1.13. vlevo: Růstové pásy označené tečkami v příčném řezu žaludečních kůstek humra severského (*Nephrops norvegicus*; převzato ze Sheridan et al., 2015); **vpravo:** Růstové pásy označené tečkami v příčném řezu žaludečních kůstek raka červenoklepetého (*Cherax quadricarinatus*; převzato z Leland et al., 2015 a upraveno autorem).

Odhadovat věk lze i u dalších bezobratlých. Například Sun et al. (2019) odhadli věk ostnokožců z kůstek tvořících jejich endoskelet. Jedná se o tvrdou strukturu tvořenou řadou paprskovitých, deskovitých kostic a destiček. V kosticích jsou uloženy četné drobné krystalky kalcitu, které vytvářejí houbovitou mikrostrukturu zvanou stereom, v níž je patrný pruhovaný vzor střídajících se průsvitných a neprůsvitných čar (Green et al., 2009). Studie se zaměřila na taxonomické třídy, které tyto kůstky mají nejlépe vyvinuté: ježovky (Echinozoa) (Ebert et al., 1999; Agatsuma et Nakata, 2004; Brady et Scheibling, 2006)); křehké hadice (Ophiuroidea) (Dahm et Brey, 1998; Gage, 2003)); a hvězdice (Asteroidea) (Stump et Lucas, 1990)). K určení věku bylo využito dvou metod: tzv. mark–recapture a sklerochronologie. U první zmíněné metody se kůstky barví tetracyklinem a kalceinem a následně se měří tloušťka vápenaté struktury skeletu. U sklerochronologie se k odhadu věku využívají linie na kůstkách podobné letokruhům. Obecně se kůstky tzv. zuhelňují nad plamenem ethanolu, dokud nezískají tmavě hnědou barvu. Po vložení do xylenu jsou pak na kůstkách zřetelné střídavě tmavé a světlé zóny (přírůstky) (Jensen, 1969; Green et al., 2009). Alternativně lze i kůstky lehce obrousit a zkoumat pod procházejícím světlem (Sano et al., 2001). Základním předpokladem pro použití sklerochronologie je, že se každý rok vytvoří jedna linie (Green et al., 2009). Sklerochronologie je znázorněna u sumýše *Psolus fabricii* (Obr. 1.14.). Podle Arkhipkin et al. (2018) lze odhadnout věk i u hlavonožců. U hlavonožců se věk stanovuje hned z několika struktur například z tzv. statolitů (vápenaté struktury k udržení rovnováhy, které mají například chobotnice nebo sépie; Green et al., 2009), z tzv. stiletů (což jsou zakrnělé schránky u chobotnic), čelistí (zobák, který mají všichni známí hlavonožci) a za pomoci už známého pigmentu lipofuscinu. Princip ukládání vápníku je podobný jako u otolitů ryb. Předpokládá se, že ukládání vápníku je u statolitů v intervalu jednoho dne (Green et al., 2009; Arkhipkin et al., 2018). Statolity u starších jedinců je potřeba zbrousit například voděodolným brusným papírem (zrnitost 600–1 200). Z řezu pak lze jednoduše detekovat samotné přírůstky (Green et al., 2009; Arkhipkin et Shcherbich, 2012). Trubicovité zakrnělé schránky chobotnic a čelisti lze rovnou řezat a následně zkoumat pomocí světelného mikroskopu (Obr. 1.15.).



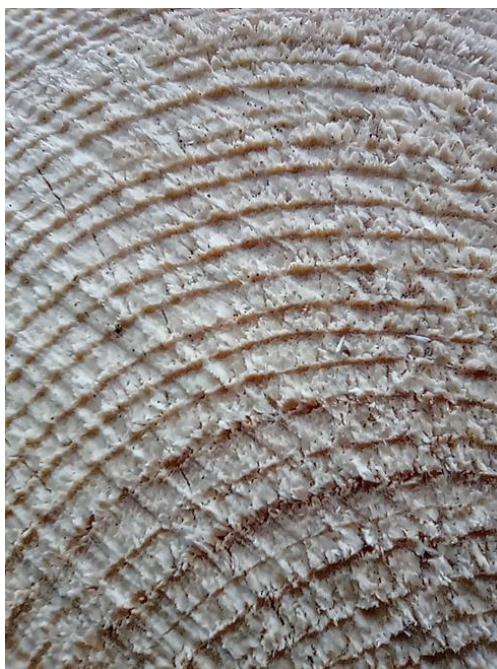
Obr. 1.14. Vápenaté destičky z volně žijících jedinců sumýše *Psolus fabricii*. Kroužky označené tečkami znázorňují jednotlivé roky. **A:** 4 kroužky; **B:** 10 kroužků; **C:** 12 kroužků a **D:** 28 kroužků. Měřítko v pravém dolním rohu představuje 200 μm ; převzato ze Sun et al., 2019).



Obr. 1.15. Vápenaté struktury hlavonožců. **A:** Řez čelistmi chobotnice pobřežní (*Octopus vulgaris*); **B:** Řez styletem chobotnice bledé (*Octopus pallidus*) 400x zvětšený; **C:** Dvojice obrázků řezu statolitem chobotnice *Doryteuthis gahi* s detailem na denní přírůstky; převzato ze Arkhipkin et al., 2018).

V neposlední řadě i u rostlin (dřevin), lze věk spočítat. K počítání se využívá několik metod, jakou jsou například dendrochronologie: počítání letokruhů (doslova kruhu, který přibude za léto, kdy je růst pomalejší než na jaře) nebo měření pomocí průměru kmene/letokruhu. Letokruhy jsou prstencové přírůstky, které jsou viditelné

na řezu samotného kmene (Obr. 1.16.). Každá jedna linie by měla znázorňovat jeden rok. Tato metoda je schopna věk spočítat s přesností až čtvrtiny roku (Rybníček, 2007). Výpočet věku podle průměru kmene a letokruhu je metodou vycházející z tabulkových dat. Potřebné je pouze vědět přesný průměr kmene v cm a průměrnou šířku letokruhů. Hodnoty se pak přiřazují podle tabulek k určitému věku (Kolařík, 2010).



Obr. 1.16. Znázornění letokruhů na řezu kmene smrku (Foto: Irena Šetlíková).

1.5 Růst perlorodky říční, jeho měření a faktory, které jej ovlivňují

Podle Kinga (2013) je růst definován jako určitá změna morfologických parametrů – délka, šířka, hmotnost a další. Nejčastěji se využívá k určení již zmíněná délka lastury, zejména díky jejímu snadnému změření i v terénních podmínkách. Dále podle Hastie et al. (2000) jsou hlavní parametry růstu samotná rychlost růstu, délka života a maximální rozměry jedince. Rychlost růstu jedinců perlorodky říční se odhaduje na 1,0 – 1,5 mm za rok, ovšem velice záleží na teplotě vody. Někteří jedinci se mohou dožít až 200 let, nicméně u nich je růst už velmi nepatrný (Geist, 2010). Obecně platí, že rychlost růstu je vyšší u mladších jedinců, jelikož jejich metabolismus je rychlejší (Gosling, 2004). Helama et Valovirta (2007) zjistili, že nejvyšší rychlost růstu na severu Skandinávie (Finska) je mezi pátým až šestým rokem života. Růst, respektive přírůstky se s věkem exponenciálně zpomalují.

Existuje i metoda na základě které lze určit růst a samotný přírůstek perlorodek přímo na lokalitě. Při této metodě pracujeme s živými jedinci, ke kterým musíme být velmi šetrní. Nejprve jedince odlovíme na přirozené lokalitě a roztřídíme je do skupin

podle velikosti lastur. Lastury se následně označí nějakou předem určenou značkou. Nejčastěji se popisují nebo se na ně upevňují různé plastové štítky. Označené jedince uložíme do boxů na dno přirozeného prostředí a provádíme opětovné měření každé dva měsíce. Výhodami této metody jsou přímý kontakt s jedinci a možnost sledování denních přírůstků i stavu podmínek přirozeného prostředí. Naopak nevýhodou je časové vyčerpání a nutnost být v blízkosti dané lokality (Daniel et James, 2013). Navíc se častým značením (i manipulací) lastury poškozuji (King, 2013; Gosling, 2015).

Samozřejmě existuje i mnoho faktorů, které mohou růst jedinců ovlivnit. Tyto faktory obecně rozdělujeme na genetické, abiotické (neživá složka) a biotické (živá složka). Genetická skladba jedinců tzv. genotyp značně ovlivňuje růst. Na našem území máme pouze dvě genetické linie: šumavskou a ašskou (Gosling, 2004; Patzenhauerová et al., 2011).

Do abiotických faktorů obecně zahrnujeme faktory, které vycházejí z neživé složky přírody, řadíme sem zejména průtok, hloubku, hydrologické procesy, chemismus vody, teplotu nebo samotného člověka (Hastie et al., 2000). Obecně lze říct, že čím vyšší je proud, tím nižší je růst (Haag, 2012). Hloubka je faktor, který značně ovlivňuje růst perlorodky. Podle Goslinga (2004) jedinci obývající příbřežní mělké vody rostou rychleji v důsledku vyšší teploty a většího množství potravy než jedinci obývající hlubší části toku. Optimální hodnoty pro perlorodku jsou hloubka okolo 35 cm a rychlost proudu cca $0,50 \text{ m s}^{-1}$ (Hastie et al., 2000). Jak už bylo naznačeno, teplota je další důležitý faktor. Perlorodky obývající jižní části Evropy s teplejší vodou rostou podstatně rychleji, jsou menšího věku a často krátkověké. Naopak jedinci obývající severní oblasti s chladnější vodou rostou podstatně pomaleji, ovšem jsou většího věku a dožívají se až 200 let. Obecně z těchto tvrzení lze říct, že ve střední části Evropy perlorodky rostou rychleji v teplejší části roku (jaro a léto) a naopak v období zimy pomaleji (Tevesz et Carter, 1980; Hastie et al., 2000; Gosling, 2004; Geist, 2010; Daniel et James, 2013). Podle Stracka (2015) jsou optimální hodnoty pro růst perlorodky od 4 do 23 °C. Lastury perlorodek jsou velmi závislé na obsahu vápníku ve vodě (Másílko, 2009). Vzhledem k tomu je chemismus vody důležitý. Oblasti, kde je obsah vápníku v tocích nízký jsou jedinci s tenčí lasturou a naopak. Optimální hodnoty obsahu vápníku ve vodě jsou okolo 10 mg l^{-1} (Strack, 2015). Optimální pH by mělo být okolo 6,5. Výrazné odchylky pH od této hodnoty jsou pro perlorodky negativní (Ab-

solon a Hruška, 1999; Bötzl, 2004). Poslední a jedním z nejdůležitějších faktorů chemismu vody je samozřejmě kyslík. Optimální koncentrace kyslíku by měla být okolo 11 mg l^{-1} (Oliver, 2000; Dunca et al., 2011; Gosling, 2015).

Základními biotickými faktory jsou hustota populace a potrava. Velké hustoty populací nemusí být pro život perlorodky optimální a je lepší, když jsou jedinci v nižších hustotách na větším prostoru (Gosling 2004). Čím vyšší je množství potravy tím vyšší je růst (Mutvei et Westermarck, 2001). Perlorodky se živí filtrací zejména fytoplanktonu a detritu. Proto je pro perlorodky optimální prostředí s písčito-bahnitým dnem, kde se vlivem sedimentu kalí voda a zvyšuje se tak dostupnost potravy. Naopak oblasti s velkou převahou písčitých koryt jsou z hlediska potravy chudší (Gosling, 2004; Růžičková, 2008; Patzenhauerová et al., 2011).

2 Cíle práce a hypotézy

Hlavním cílem práce bylo z lastur uhynulých jedinců perlorodky říční známého věku odhadnout věk dle: (1) počtu tzv. přírůstkových linií na obarveném řezu lastury, (2) počtu přírůstkových linií na povrchu lastur (3) morfologie lastur (délka a šířka) a srovnat ho s věkem skutečným.

Dalším cílem bylo změřit tloušťku jednotlivých přírůstků viditelných na obarveném řezu lastury a v rámci lokalit porovnat jejich velikost. Dále zjistit celkovou tloušťku řezu relativně mladých lastur (0+, 1+ apod.) a porovnat ji s již publikovanými tloušťkami „starých“ uhynulých lastur. V neposlední řadě najít (případně spočítat) případné konchiolinové linie na obarveném řezu lastury. V případě, že budou konchiolinové linie nalezeny, tak zjistit, zda se liší velikost přírůstku před jejich vznikem a po nich.

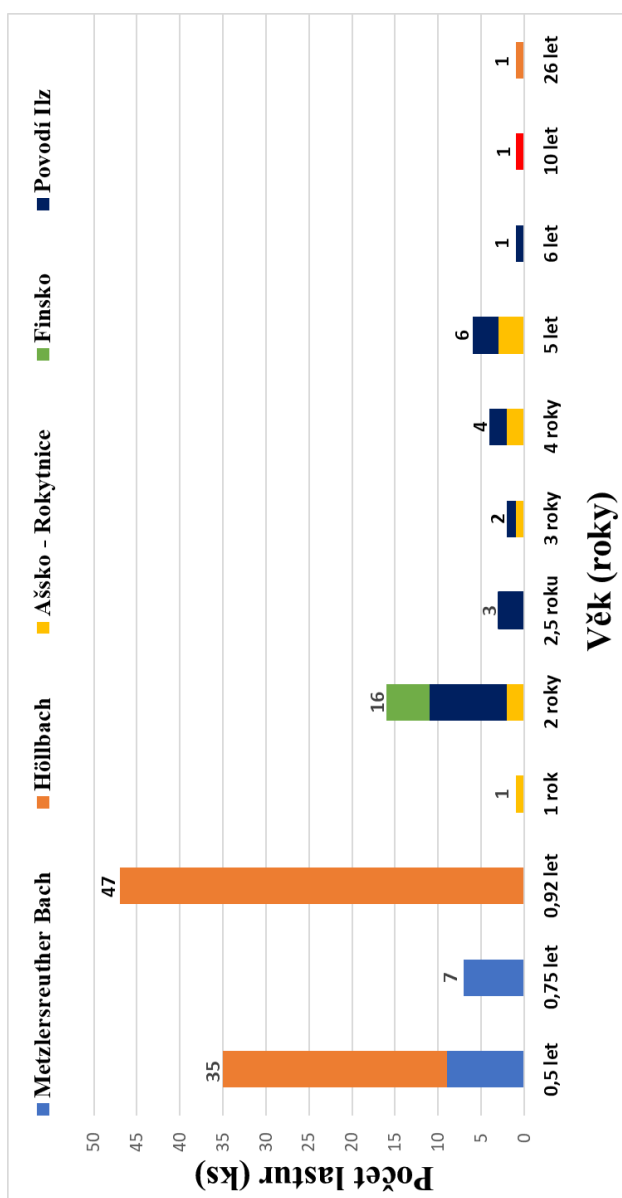
Cíle práce vychází z několika předpokladů hypotéz:

- 1) Pokud vzniká jedna přírůstková linie za rok, tak by měl věk odpovídat počtu přírůstkových linií na řezu lastury.
- 2) U jedinců mladších, než jeden rok nebude na řezu lastury naopak žádná přírůstková linie.
- 3) Pokud jedinci perlorodky říční rostou rychleji v prvních letech života (tzv. alometrický růst), tak bude velikost přírůstků (vzdálenost mezi přírůstkovými liniemi) v prvních letech života širší než v pozdějších fázích ontogeneze. Zároveň tloušťka lastur jedinců mladších, než jeden rok bude tvořit procentuálně významný podíl tloušťky lastur starších jedinců (např. 2+ a 5+).
- 4) Perlorodka říční je poikilothermní organismus (tělesná teplota se odvíjí od teploty vnějšího prostředí), tudíž je její růst výrazně závislý na teplotních podmínkách lokalit. Z tohoto důvodu by bylo zajímavé vyhodnotit velikostní (morfologické) variabilitu lastur stejného věku v rámci lokalit i mezi nimi.
- 5) Konchiolinové linie jsou organické vrstvy, které zřejmě zvyšují pružnost lastury a možná tak chrání hlubší vrstvy lastury před erozí (Araujo et al., 2014; Williams et al., 2014). Holečková (2018) zjistila, že přírůstková vrstva před konchiolinovou linií je průkazně větší než přírůstková vrstva po vzniku konchiolinové linie.

3 Metodika

3.1 Původ jedinců

Pro tuto diplomovou práci bylo shromážděno několik skupin lastur různého věku pocházejících z různých lokalit (Tab. 3.1.). Většina lastur byla ve věku několika měsíců, přičemž optimálními pro zjišťování věkových linií jsou lastury starší jednoho roku (věk: 1+), kterých bylo celkem 35 ks (graf 3.1.). Tři nejstarší jedinci (6+, 10+, 26+) nebyli zahrnuti do výsledných grafů z důvodu výrazně vyššího věku než většina lastur, a i kvůli tomu, že od daného věku jsem měl vždy jen jednoho jedince. Do statistického vyhodnocení odlišnosti skutečného a odhadnutého věku, či porovnání velikosti přírůstků (prvních šesti v případě lastur z lokality Ašsko-Rokytnice a povodí Ilz a prvních pěti v případě lastur z Finska) tyto tři nejstarší lastury použity byly.



Graf 3.1. Absolutní četnost lastur podle věku.

Tab. 3.1.: Lokalita výskytu, počet lastur, věk, průměrná velikost a rok úhynu všech studovaných lastur. Směrodatná odchylka nebyla počítána u skupin s počtem pouze jedné lastury a lastur starých 5 týdnů (nebyly zahrnuty do výsledků).

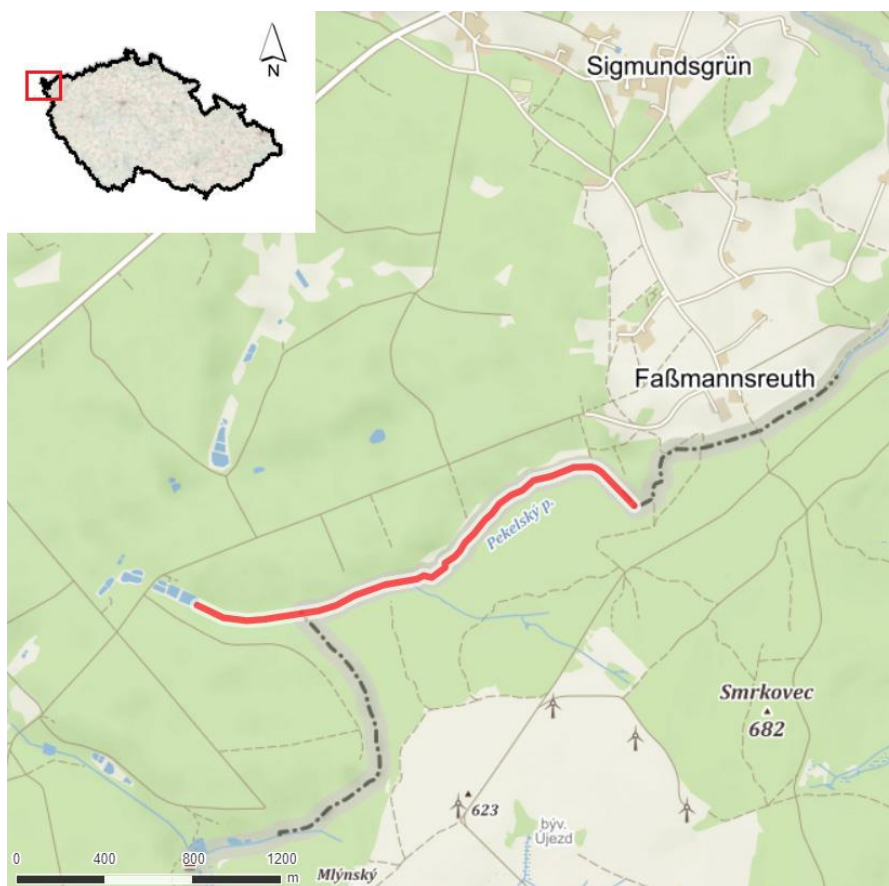
Lokalita	Počet lastur (ks)	Věk	Průměrná velikost (mm)	Směrodatná odchylka
Höllbach – Pekelský potok	15	5 týdnů	0,2	Neměřeno
	26	6 měsíců	1,0	0,053
	47	11 měsíců	1,8	0,075
Metzlersreuther Bach	1	25–30 let	90	-
	9	6 měsíců	1,0	0,037
	7	9 měsíců	1,5	0,052
Ašsko Rokytnice	2	1,5 roku	1,6	0,044
	3	5+ let	12,5	0,493
	2	4+ let	8,0	1,348
	1	3+ let	7,5	-
	1	2+ roky	4,5	-
Finsko (chov Austewol)	5	2+ roky	9,6	0,744
Our – Moulin de Kalborn	1	10+ let	65	-
Povodí Ilz – Wolfsteiner Ohe	1	4+ let	30	-
	1	2+ let	18	-
Povodí Ilz – Passau	1	6+ let	32	-
	2	5+ let	27	0,585
	2	2+ let	19	0,509
	1	3+ let	21	-
Povodí Ilz – Kleine Ohe	4	2+ let	13	0,958
	3	2+ let	11	1,368
Povodí Ilz – Grosse Ohe	2	2+ let	19	2,395
Povodní Ilz – Neznámá	2	4+ a 5+ let	27	0,755

Lastury pocházely z úhynů buďto z umělých odchovů nebo z úhynů z volné přírody. Všechny lastury byly poskytnuty Ing. Ondřejem Spisarem, PhD., který má udělenou výjimku ze zákona č. 114/1992 Sb. o ochraně přírody a krajiny pro nakládání se zvláště chráněnými druhy živočichů.

3.2 Popis lokalit

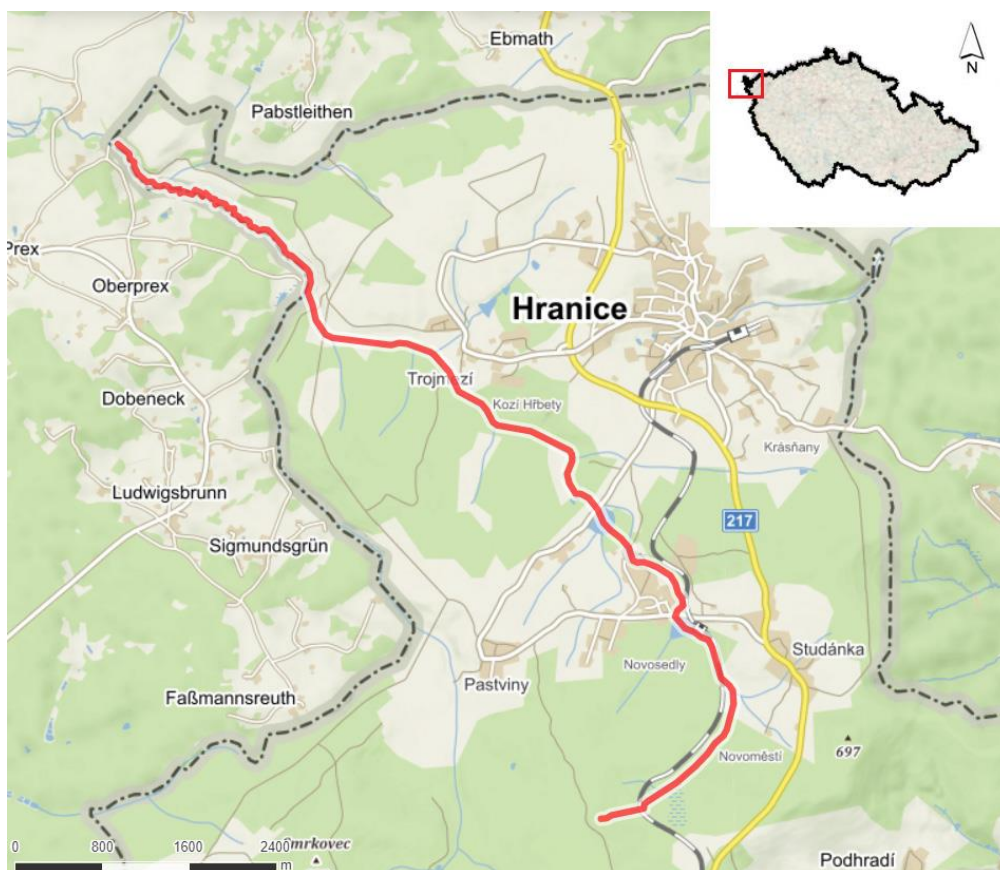
Skupiny jedinců perlorodek byly shromažďovány z několika českých i zahraničních lokalit. V této kapitole uvedu pouze stručný popis lokalit s mapkou, nejprve těch, která jsou i na českém území a poté čistě zahraničních.

Ašsko: Pekelský potok (Höllbach) je velmi krátký potok dlouhý pouhých 3,7 km. Jeho tok kopíruje část státních hranic mezi Českou republikou a Německem (zvaný Höllbach). Krátká část zasahuje i na německou stranu. Jeho hlavním přítokem je Újezdský potok, kde bylo v roce 2005 až 11 000 jedinců (Geist et Kuehn, 2005). Sám Pekelský potok se pak vlévá do dalších menších toků, které končí v Labi. Tato oblast byla i v minulosti pod malým antropogenním vlivem, a proto jsou tu i dnes stále dobré podmínky pro zachování i citlivých druhů jako je perlorodka. Podle AOPK ČR (2013) jsou perlorodky hlavně na německé straně a je zde dokonce i předpoklad přirozené reprodukce, což platí i pro Újezdský potok. Geist et Kuehn (2005) uvádí až 34 000 jedinců různého věku. Hydrologické označení (dle kterého lze daný tok přesně vyhledat) Pekelského potoka je 1-15-05-003 (eAGRI, 2009; Obr. 3.1.).



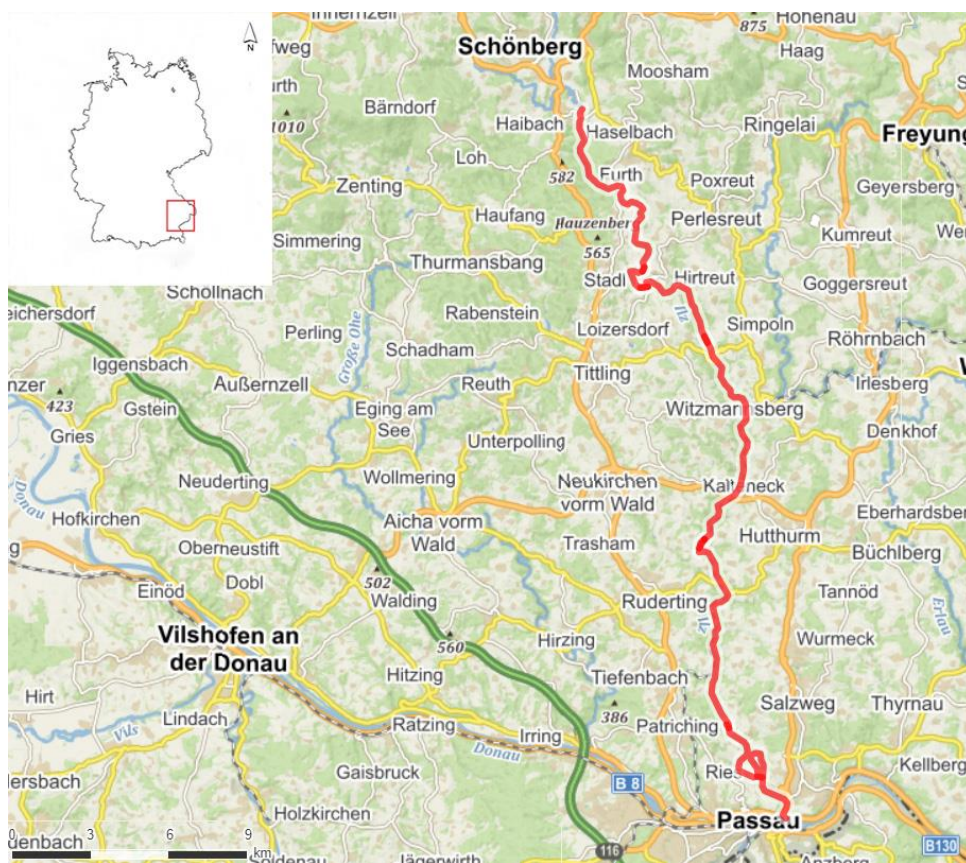
Obr. 3.1. Mapka s vyznačeným Pekelským potokem (převzato z www.mapy.cz a upraveno autorem).

Aško: Rokytnice je druhým potokem ašské oblasti, který je proti Pekelskému potoku značně delší. Jeho celková délka je 33,1 km a přibližně dvě třetiny zasahují na německé území (zvaná Südliche Regnitz), kde se vlévá do řeky Sály. Perlorodky se v Rokytnici vyskytují pouze na německé části, uvádí se asi 13 000 jedinců (Geist et Kuehn, 2005; AOPK ČR, 2013). Významným přítokem Rokytnice je potok Bystřina, kde jsou také potvrzené výskyty perlorodky říční, podle Geist et Kuehn (2005) asi 2 100 kusů, ovšem AOPK ČR (2013) uvádí už pouze pár jedinců v pohraničním úseku. I tato oblast severněji od Pekelského potoka má pro citlivé druhy přijatelné podmínky. Hlavním problémem absence na české straně je nevyhovující teplota vody a nízká úživnost (Slezáková et Volf, 2016). Hydrologické označení Rokytnice je 1-15-05-005 (eA-GRI, 2009; Obr. 3.2.).

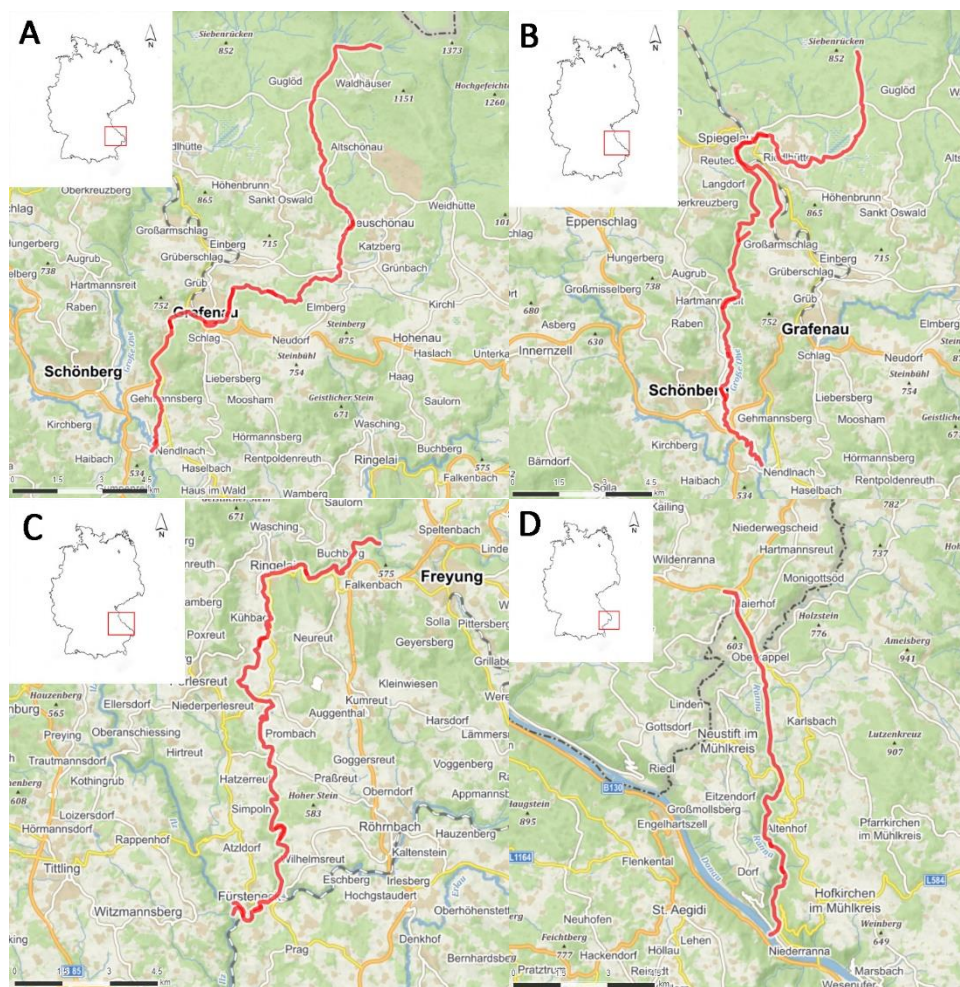


Obr. 3.2. Mapka s vyznačeným tokem Rokytnice (pouze na území ČR; převzato z www.mapy.cz a upraveno autorem).

Passau: Povodí řeky Ilz je rozsáhlé území s několika toky (Kleine Ohe, Grosse Ohe, Obere Ranna a Wolfsteiner Ohe; Obr. 3.3.;3.4). V těchto tocích je potvrzený výskyt perlorodek říčních. Geist et Kuehn (2005) uvádí odhadovanou populaci 600 jedinců v Obere Ranna, 2000 jedinců v Wolfsteiner Ohe a 7000 jedinců v Kleine Ohe. Na Kleine Ohe bylo ještě v roce 1998 potvrzeno až 13 000 jedinců (Lehmann, 1998), nicméně aktuální stav je nejistý. Poslední zmínky z roku 2004 informují o probíhajících záchranných programech pro udržení vhodného prostředí a populací perlorodky říční (Bötzl, 2004). Dále probíhá i vysazování jedinců z úspěšných odchovů (Simon et al., 2018). Podle Bötzl (2004) je v samotné řece Ilz pouze pár jedinců individuálně rozestých po toku.



Obr. 3.3. Mapa s vyznačeným tokem Ilz (převzato z www.mapy.cz a upraveno autorem).



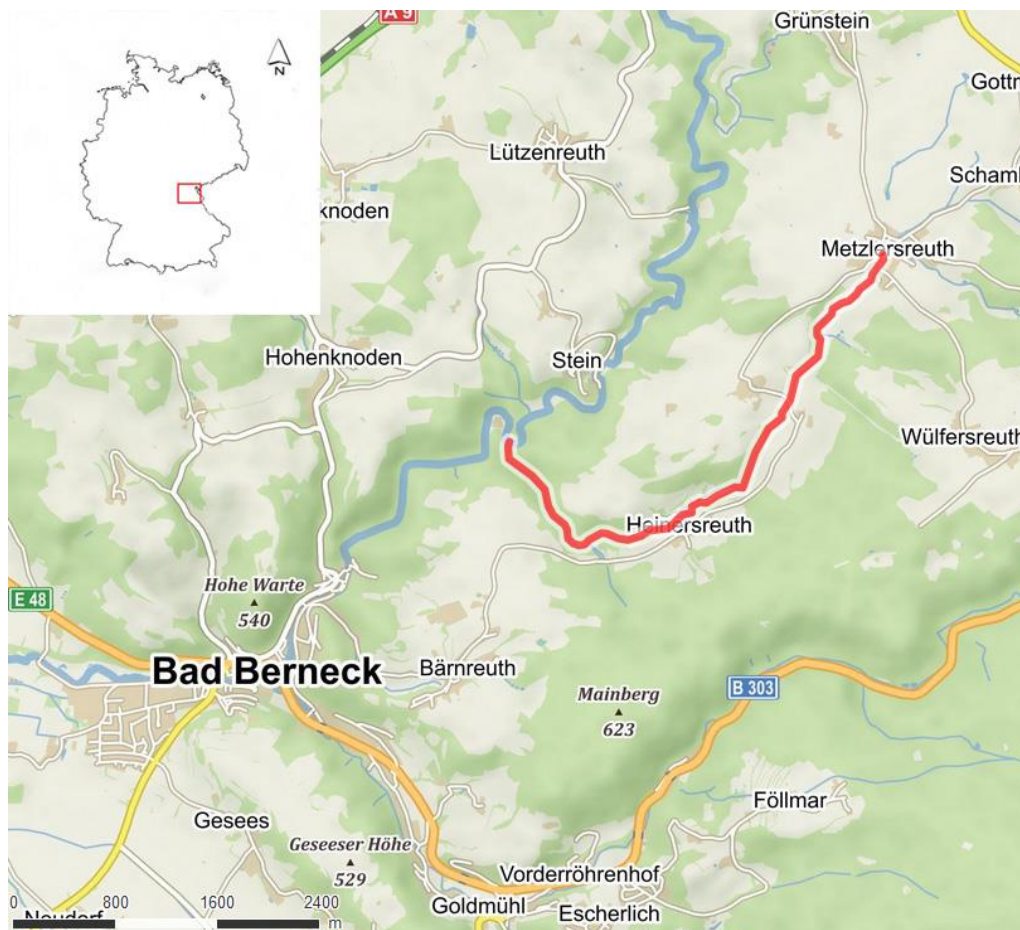
Obr. 3.4. Skupina mapek čtyř hlavních toků v povodí řeky Ilz. **A:** Kleine Ohe; **B:** Grosse Ohe; **C:** Wolfsteiner Ohe; **D:** Obere Ranna (převzato z www.mapy.cz a upraveno autorem).

Řeka Our je tok kopírující nejprve hranici mezi Německem a Belgií a následně i mezi Německem a Lucemburskem (Obr. 3.5.). Jeho celková délka je 78 km a vlévá se do řeky Sauer. Podle Eybe et al. (2013) jsou v této řece už pouze dospělí jedinci, kteří bez managementového zásahu do pár let úplně vymizí. V roce 2003 byl odhad populace 1350 jedinců (Geist et Kuehn, 2005). Přirozená produkce juvenilů je znemožněna jemnými usazeninami, které jedince zanášejí, díky tomu je zde snaha o produkci juvenilů v odchovných zařízeních (Eybe et al., 2013).



Obr. 3.5. Mapa s vyznačeným tokem Our (převzato z www.mapy.cz a upraveno autorem).

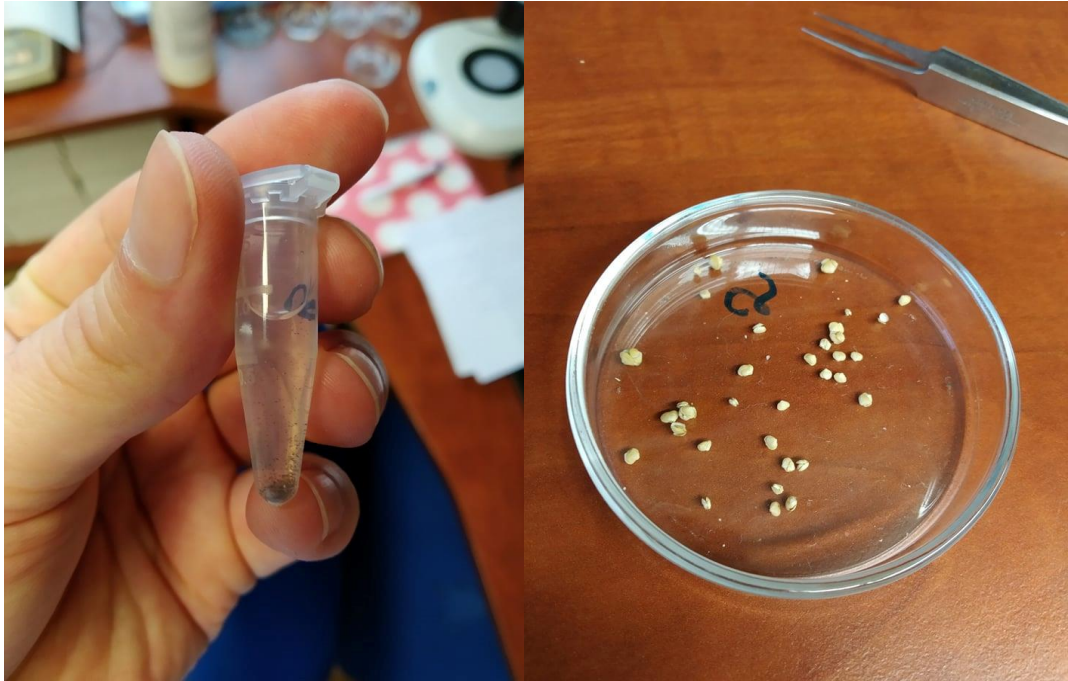
Řeka Metzlersreuther Bach je velmi krátký tok nacházející se na západě Německa v blízkosti ašských lokalit (Obr. 3.6.). Jeho délka je pouhých 4,6 km. V tomto toce se perlorodky nevyskytují ve volné přírodě. Tok je charakteristický odchovnou perlorodky říční, která se na tomto toku u vesnice Metzlersreuth nachází. Geist et Kuehn (2005) uvádí odhadovanou populaci přibližně na 50 jedinců.



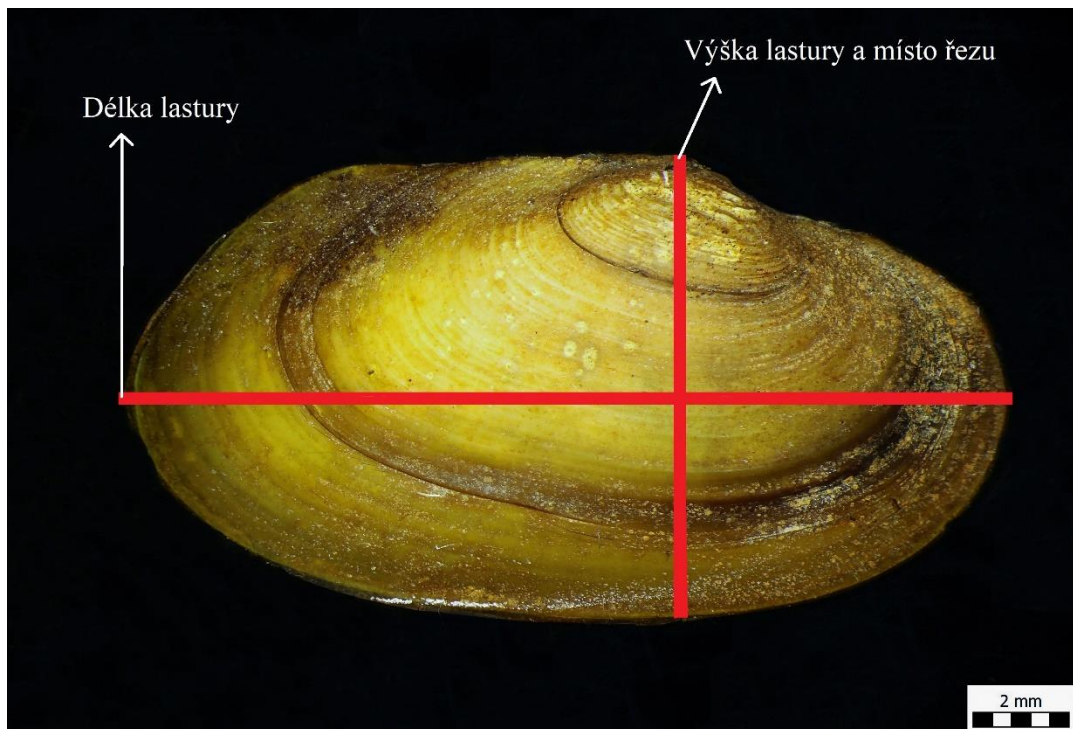
Obr. 3.6. Mapa s vyznačeným tokem Metzlersreuther Bach (převzato z www.mapy.cz a upraveno autorem).

3.3 Zpracování lastur

Všechny lastury byly před zpracováním uchovány v 75% ethanolu v mikro-zkumavkách typu Eppendorf (Obr. 3.7. vlevo), ze kterých jsem je následně vyjmul do Petriho misek a nechal vysušit na vzduchu (Obr. 3.7. vpravo). Jednotlivé lastury jsem dále pomocí skalpelu rozdělil v oblasti ligamentu na levou a pravou polovinu (misku). Obě misky jsem položil na podložní sklíčko pod stereoskopický mikroskop typu STM 823 5410 při čtyřnásobném zvětšení a pomocí softwaru OptikaView7 jsem je s ostřením nejprve na kraj a poté na střed vyfotil. Pro každou lasturu jsem udělal čtyři fotografie, z kterých jsem provedl měření délky a výšky lastur (Obr. 3.8. a viz výsledky).



Obr. 3.7. Prvotní zpracování lastur – **Vlevo:** Vzorky v mikrokumavce; **Vpravo:** Vysušené vzorky na Petriho misce (Foto: Autor).



Obr. 3.8. Zvýrazněná délka, výška a místo řezu na dvouleté lastuře perlorodky říční (Foto: Autor).

Po nafocení jsem jednu misku vložil do předem popsané mikrokumavky a zachoval tak pro případnou kontrolu. Druhou misku jsem vždy pečlivě vložil do komůrky, která byla součástí gumové formičky o celkových rozměrech 28 cm x 15 cm (délka x výška). Každá komůrka (rozměry: 3,8 cm x 0,5 cm x 0,5 cm (délka x výška x

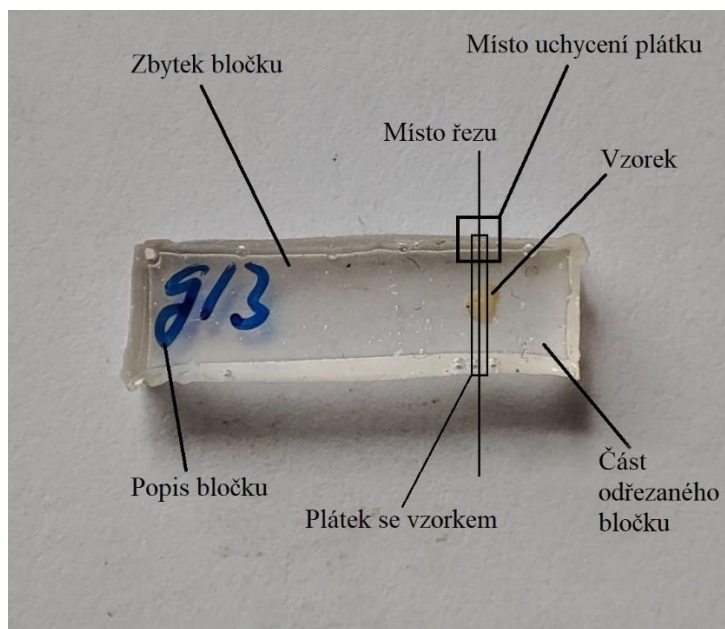
hloubka)) byla následně zalita pryskyřicí. Jednotlivé poloviny lastur (misky) jsem do formiček ukládal tak, aby miska ležela na své vnější straně viz Obr. 3.9.



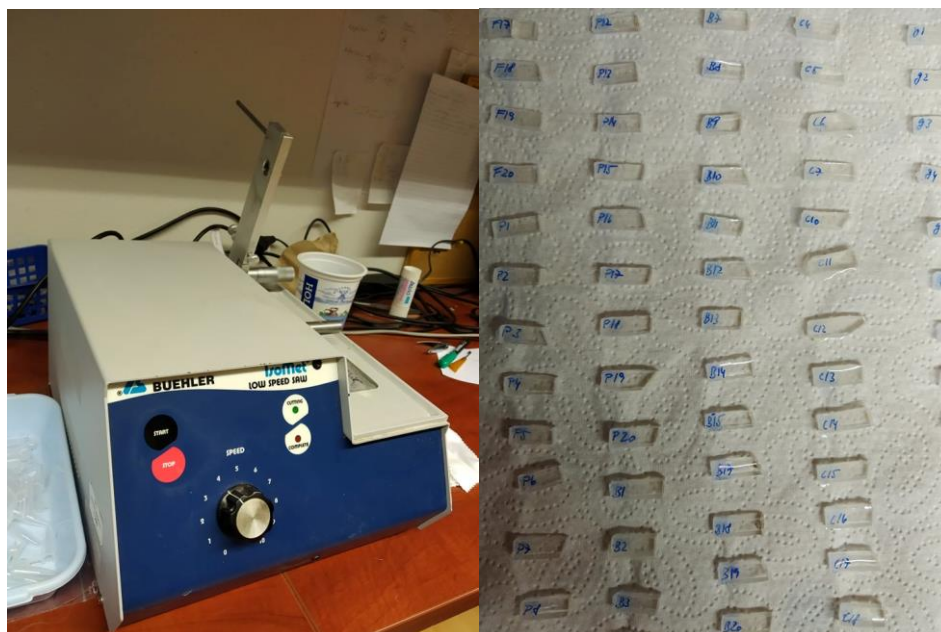
Obr. 3.9. Uložení misky lastury do komůrek gumové formičky (28 x 15 cm) pro zalití pryskyřicí (Foto: Autor).

Po umístění misek do formiček jsem si připravil tekutou pryskyřici (Epoxy G20), kterou jsem pomocí dávkovače rozléval do jednotlivých komůrek formičky. Pro přípravu pryskyřice jsem použil 10 g složky A (Epoxidový tekutý systém obsah 1 kg; výrobce Dawex Chemical s. r. o.; doba vytvrzení při 23 °C je 15-24 hodin) a 10 g složky B (tzv. tužidlo obsah 187 g; výrobce Dawex Chemical s. r. o.), což odpovídalo v tekutém skupenství celkově přibližně 4,6 ml pryskyřice. Důležitý krok byl po zalití, kdy jsem pomocí špejle odstranil všechny problémové bublinky a misky poupravil do správné vodorovné pozice vnější stranou (vypouklou) dolů. Po upravení polohy misek jsem nechal pryskyřici ve formičkách po dobu 24 hodin schnout. Poté jsem všechny bločky vytvrdlé pryskyřice s miskami pečlivě popsal a následně je vyloupal z formiček. Dalším krokem bylo vlastní řezání bločků na malé plátky pomocí diamantové pily Buehler isomet low speed saw (Obr. 3.11. vlevo). Tento krok byl proveden kvalifikovaným pracovníkem Mgr. Kateřinou Soukalovou (HBÚ AV ČR). Každý bloček byl nařezán až do oblasti tzv. umbo, kde se provedl poslední řez. Plátek s posledním řezem se z bločku neodřízнул úplně, ale nechal se na bločku tak, aby držel jen na malém kousku. Díky tomu bylo následné odlomení plátku jednoduché (Obr. 3.10. a Obr. 3.11 vpravo). Následovalo samotné přilepení řezu (plátku) pomocí termostatické pryskyřice

na tužkou popsané podložní sklíčko. Malé množství termostatické pryskyřice v pevném skupenství (Obr. 3.12. vlevo) jsem pomocí dlouhé kovové lžičky přenesl na podložní sklíčko a pomocí plotýnky (Obr. 3.12. vpravo) rozehrál na teplotu 60 °C. Na rozehrátou pryskyřici jsem poté položil řez a nechal zaschnout.



Obr. 3.10. Popis bločku se vzorkem a označením místa uchycení plátku pro snadné odlomení (označeno čtvercem; Foto: Autor).



Obr. 3.11. Řezání vzorků – **Vlevo:** Diamantová pila Buehler isomet low speed saw; **Vpravo:** Popsané nařezané bločky (Foto: Autor).



Obr. 3.12. Připevňování vzorků na podložní sklíčko pomocí termostatické pryskyřice – **Vlevo:** Termostatická pryskyřice v pevném skupenství; **Vpravo:** Plotýnka s podložními sklíčky a rozehřátou pryskyřicí (Foto: Autor).

Řezy nalepené na podložním sklíčku jsem dále vyleštil pomocí diamantové pasty DIMAPA 0,25 mikronu (Obr. 3.13.) a pak jsem je v laboratoři FYRZO (KBD) vyčistil v ultrazvukové lázni v ethanolu (99,5%). Čištění v ultrazvukové lázni probíhalo přibližně hodinu, během této doby byly vzorky čištěny primárně od různých mastných míst zejména od prstů a zbytků diamantové pasty (Obr. 3.14.). Takto vyčištěné vzorky jsem obarvil v Mutvei roztoku.



Obr. 3.13. Diamantová pasta DIMAPA 0,25 mikronu na vyleštění povrchu řezu (Foto: Autor).



Obr. 3.14. Ultrazvuková lázeň Kraintek K-9IE na odstranění jemných nečistot (Foto: Autor).

3.3.1 Příprava Mutvei roztoku a barvení řezů lastur

Na přípravu 0,5 litru Mutvei roztoku v digestoři jsem použil: 250 ml 1% kyseliny octové, 250 ml 25% glutaraldehydu a přibližně 0,5 ml Coomassie Blue® (levnější náhražka alcian blue; Schöne et al., 2005). Roztok 1% kyseliny octové jsem připravil napipetováním 2,53 ml 99% kyseliny octové do odměrné baňky, přičemž zbytek do 250 ml byl dolit destilovanou vodou. Pro přípravu 0,5 ml Coomassie Blue jsem rozpustil přibližně 50 mg Coomassie Blue prášku v 10 ml vody a z těch jsem napipetoval zmíněných 0,5 ml do roztoku 500 ml (250 ml 1% kyselina octová a 250 ml 25% glutaraldehyd). Jak příprava, tak práce s Mutvei roztokem byla prováděna vzhledem k toxickému charakteru zdrojové složky (glutaraldehyd) v rukavicích a v digestoři.

Podložní sklíčka s nalepenými řezy jsem vložil do skleněných nádobek (Obr. 3.15. vlevo) na barvení sklíček a nalil jsem do nich Mutvei roztok. Skleněné nádoby (čtyři) jsem vložil do 500 ml kádinky s vodou z důvodu snazšího udržení stálé teploty při barvení. Kádinku se skleněnými nádobkami jsem umístil na míchadlo RCT basic IKA-MAG safety control s ohřevem a za stálého míchání pomocí malých magnetických kamínků po dobu jedné hodiny při teplotě 37–40 °C byly vzorky barveny (Obr. 3.15. vpravo).



Obr. 3.15. – **Vlevo:** Skleněné nádoby na barvení objektů na podložních sklíčkách; **Vpravo:** Magnetická míchačka (RCT basic IKAMAG safety control) se skleněnými nádobkami na barvení uloženými ve vodní lázni (40 °C) pro snazší udržení teploty (Foto: Autor).

3.3.2 Pozorování a měření obarvených řezů pod mikroskopem

Poslední částí bylo samotné pozorování a měření obarvených řezů, ke kterému jsem používal mikroskop Olympus CX 31 pod zvětšením 20 x a 40 x, na který byl napojený fotoaparát značky Canon EOS 1100D a software QuickPHOTO CAMERA 3.2. Řezy byly pozorovány v odraženém světle (horní LED osvětlení – Photonic F3000). Pod mikroskopem jsem měřil tloušťku řezu lastury, zvláště tloušťku prizmatické i perleťové vrstvy a v perleťové vrstvě jsem hledal a počítal jednotlivé linie značící přírůstek za zimní období. Dále jsem vždy změřil vzdálenost jednotlivých přírůstkových linií od sebe, tj. velikost přírůstku. Na řezu jsem zaznamenával též přítomnost konchiolिनových linií v perleťové vrstvě a velikosti přírůstků před vznikem první konchiolिनové linie a po jejím vzniku. Všechna tato sledování a měření byla prováděna v oblasti vrcholu (umbo) lastury, neboť zde byl proveden řez lastury.

3.4 Statistické zpracování dat

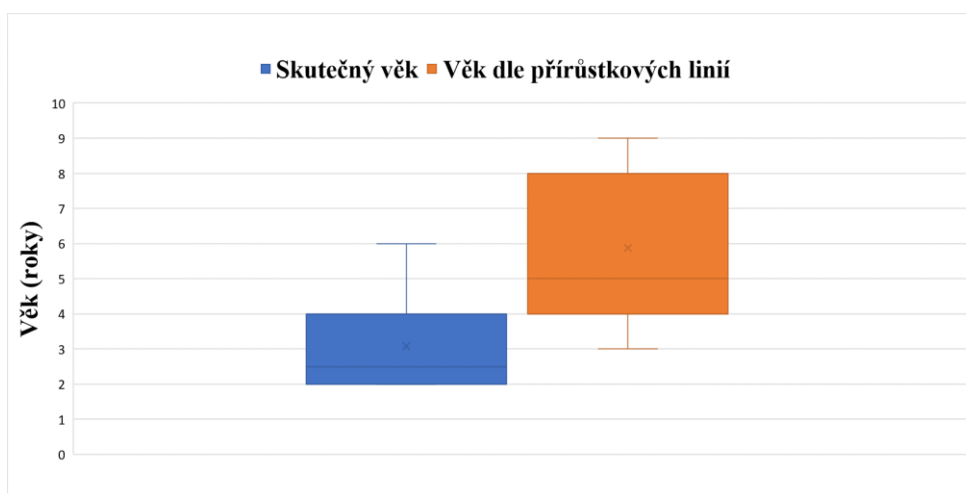
Statisticky jsem testoval rozdíly mezi: (1) známým věkem lastury a věkem určeným dle počtu přírůstkových linií na obarveném řezu lastury (podkapitola 4.1.) a (2) velikostí (tloušťkou) přírůstku před vznikem první konchiolिनové linie a po ní (podkapitola 4.5.). K testování jsem využil jednostranný párový t-test. Pro testování rozdílů

mezi velikostmi (tloušťkami) přírůstků na obarveném řezu lasturou jsem využil Kruskal-Wallisův test. U lastur pocházejících z lokalit Ašsko-Rokytnice a povodí Ilz bylo použito vždy prvních šest přírůstků počítaných od první vnější přírůstkové linie 0-1 ($n = 7$ Ašsko-Rokytnice a $n = 19$ povodí Ilz) a prvních pět přírůstků u lastur pocházejících z Finska ($n = 5$). Normalitu dat jsem ověřil testem Shapiro-Wilk. Všechny statistické testy jsem prováděl v programu Statistica 12.

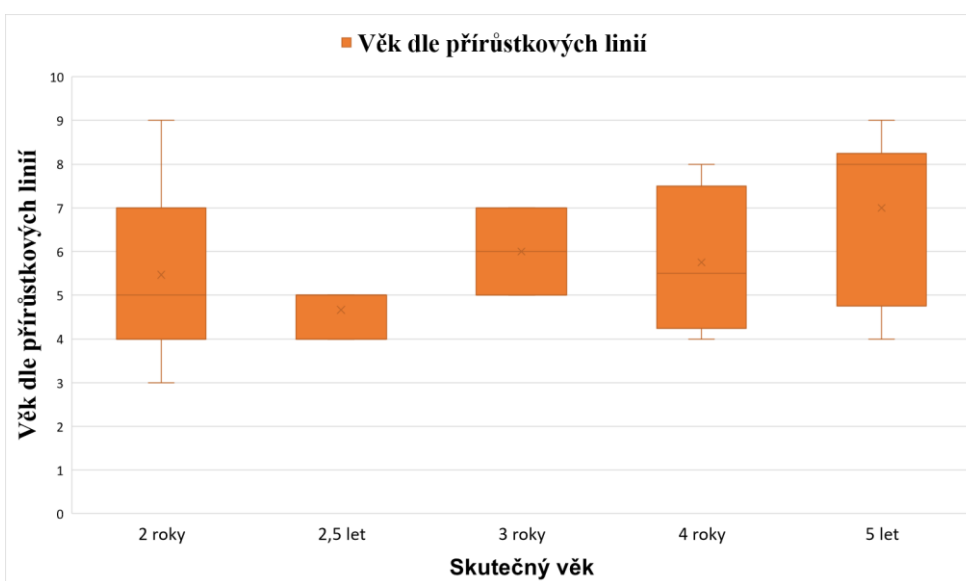
4 Výsledky

4.1 Skutečný věk versus počet přírůstků na obarveném řezu lastury

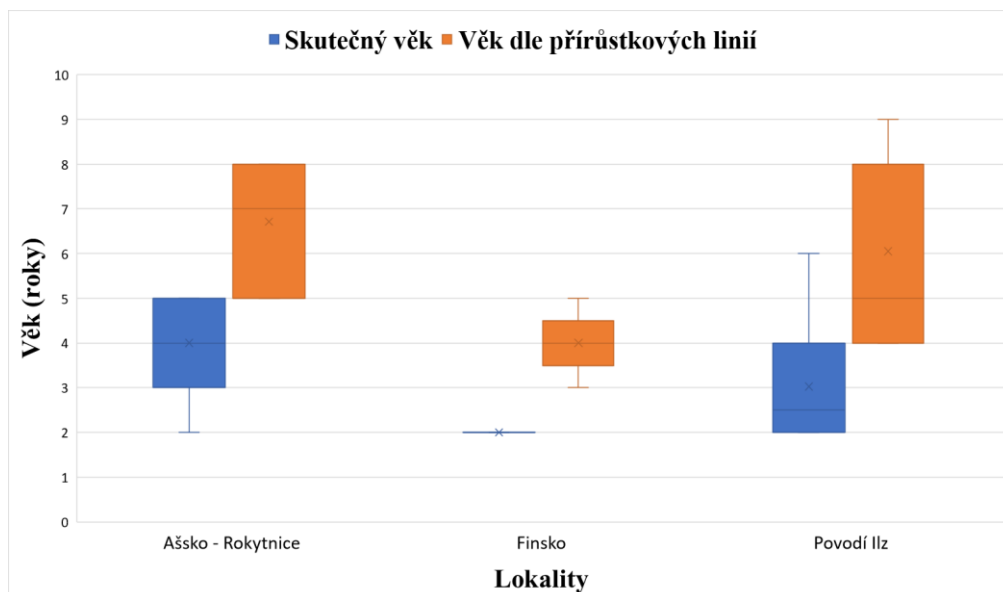
Skutečný věk lastury se statisticky průkazně lišil od věku určeného dle počtu přírůstkových linií na obarveném řezu lastury ($t_{32} = -7,77$; $p = 10^{-6}$). Počet přírůstků na řezu lastury byl v průměru o 2,6 roku větší (S.D. = 1,9 roku; 0 – (-7) min – max) než známý věk lastury (graf 4.1. – 4.3.). V průměru se známý věk od věku stanoveného dle počtu přírůstku na řezu lišil o 42 ± 25 % (\pm S.D.).



Graf 4.1. Rozdíl mezi skutečným věkem jedince a věkem stanoveným dle přírůstkových linií na obarveném řezu lastur. Hranice „krabiček“ (boxů) představuje horní a dolní kvartil, čára uvnitř boxu znázorňuje průměr a křížkem je označen medián. Chybivé úsečky představují minimum a maximum.

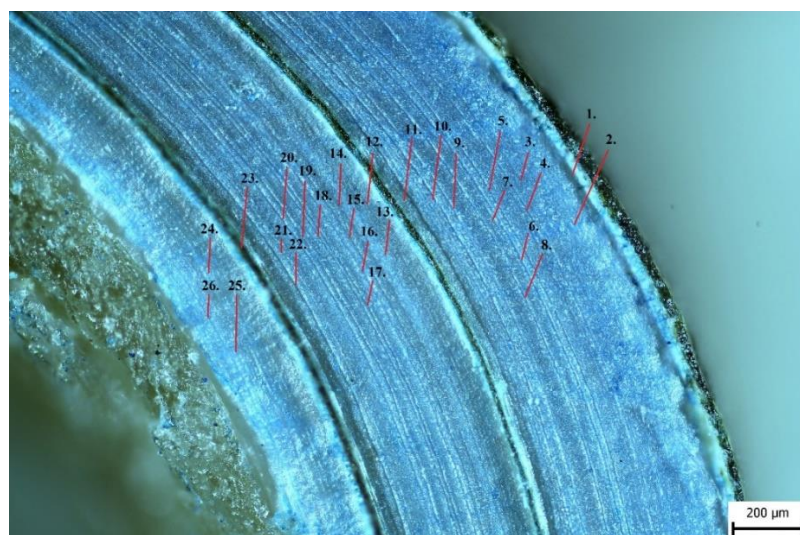


Graf 4.2. Rozdíl mezi skutečným věkem jedince a věkem stanoveným dle přírůstkových linií na obarveném řezu lastur **u jednotlivých věkových skupin**. Hranice „krabiček“ (boxů) představuje horní a dolní kvartil, čára uvnitř boxu znázorňuje průměr a křížkem je označen medián. Chybivé úsečky představují minimum a maximum.

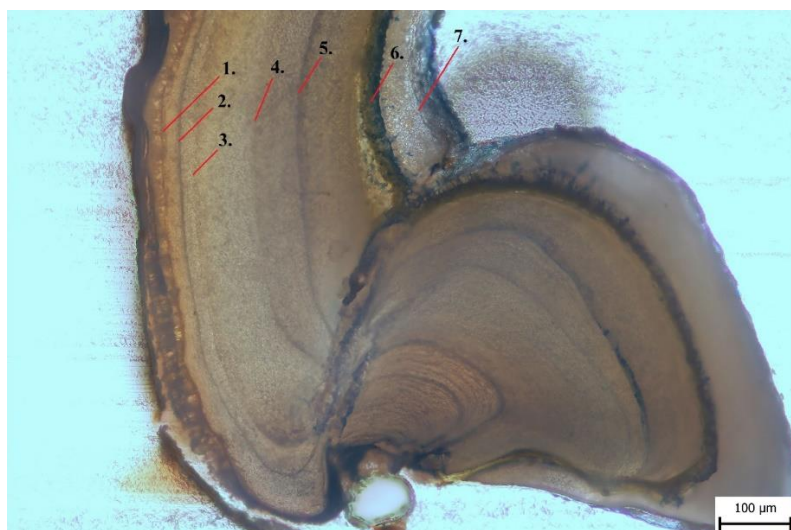


Graf 4.3. Rozdíl mezi skutečným věkem jedince a věkem stanoveným dle přírůstkových linií na obarveném řezu lastur **na jednotlivých lokalitách**. Hranice „krabiček“ (boxů) představuje horní a dolní kvartil, čára uvnitř boxu znázorňuje průměr a křížkem je označen medián. Chybové úsečky představují minimum a maximum.

Věk uhynulých jedinců téměř ve všech případech neodpovídal počtu přírůstkových linií. Pouze u dvou nejstarších jedinců se počet linií shodoval s přibližným věkem úhynu (Obr. 4.1.). U některých jedinců byl počet přírůstkových linií i čtyřnásobně vyšší než věk, ve kterém uhynuli (Obr. 4.2.). Jedinci mladší jednoho roku nevykazovali žádné charakteristické přírůstkové linie. Z výsledků této práce lze tvrdit, že minimálně v počátečních letech života jedinci perlorodky říční netvoří jednu linii za rok.



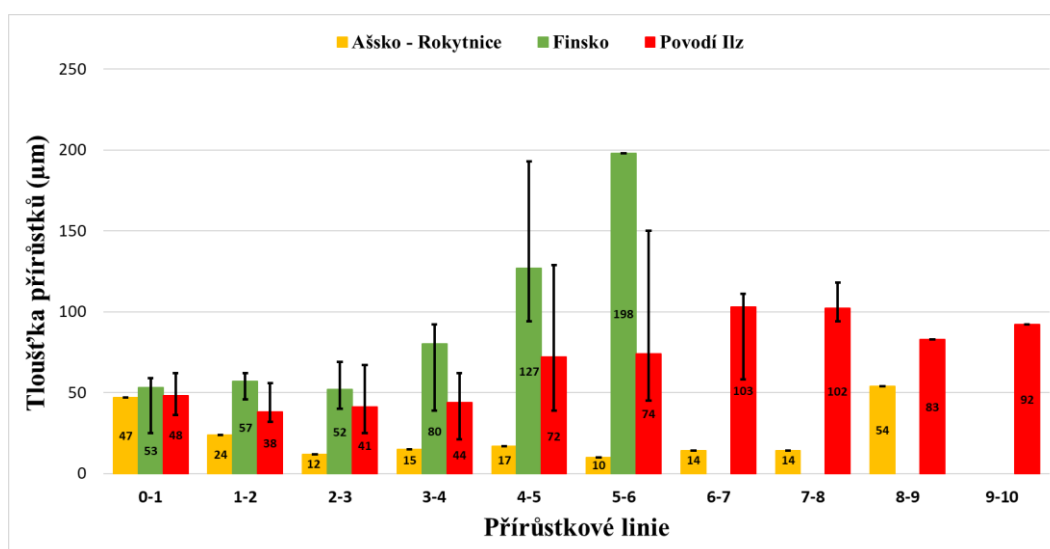
Obr. 4.1. – Obarvený řez nejstarší 26+ leté lastury. Na obrázku je zvýrazněno všech 26 přírůstkových linií. Zvětšeno 10x (Foto: Autor).



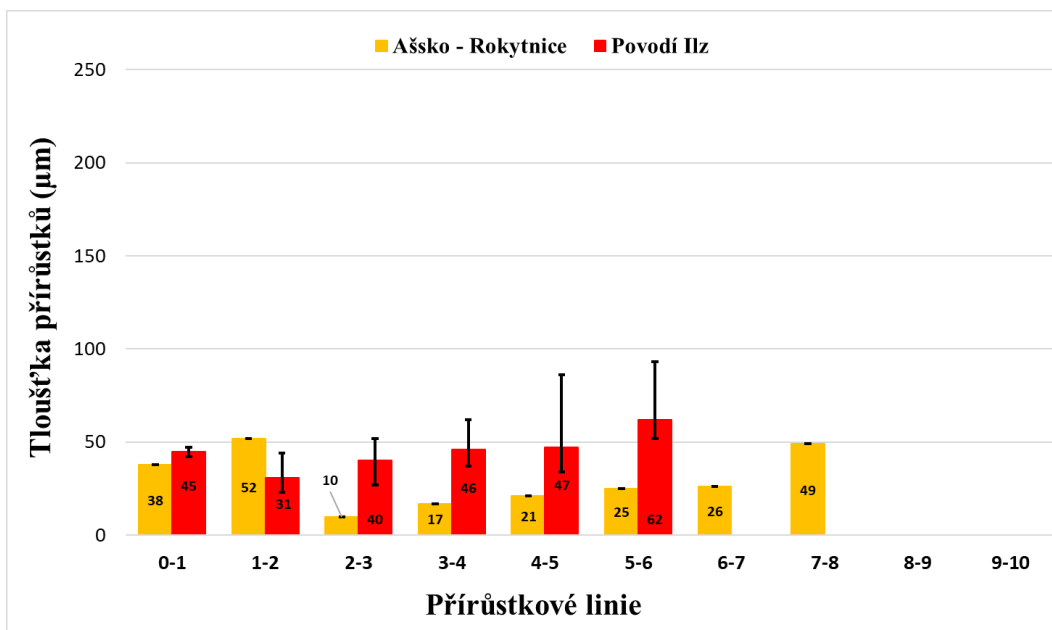
Obr. 4.2. – Obarvený řez lasturou 2+ staré lastury. Na obrázku je zvýrazněno sedm výrazných přírůstkových linií. Zvětšeno 20x (Foto: Autor).

4.1.1 Velikost přírůstků na obarveném řezu lastury

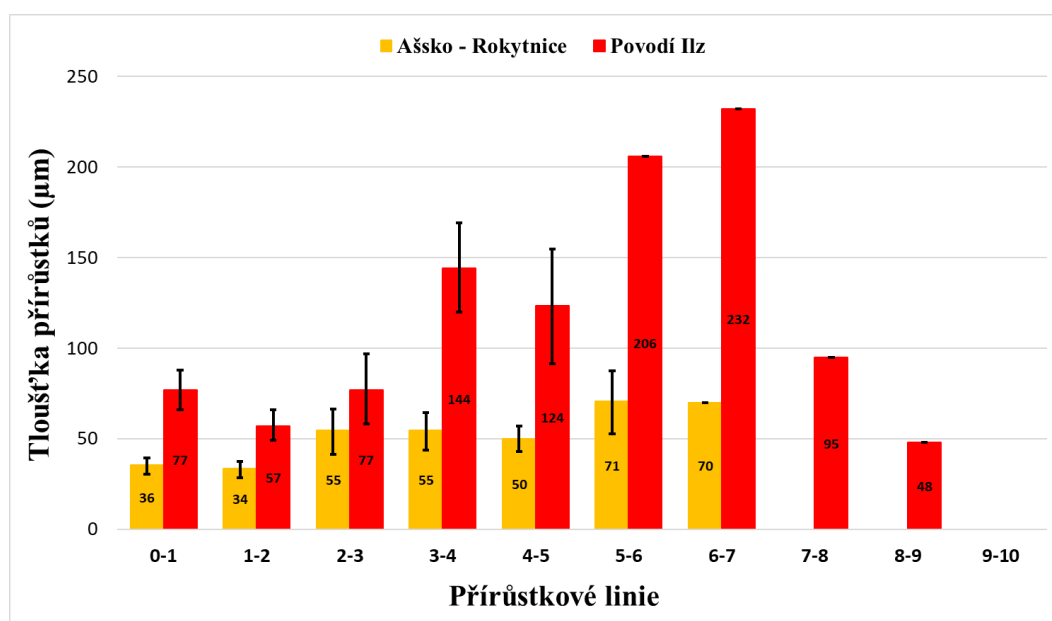
Velikosti přírůstků (tloušťky jednotlivých vrstev) na obarveném řezu lastury se v rámci jednotlivých lokalit statisticky průkazně nelišily (Ašsko-Rokytnice: $H(5, N=42)=1,17$; $p=0,95$); povodí Ilz: $H(5, N=109)=6,04$; $p=0,30$ a Finsko: $H(4, N=24)=4,88$; $p=0,30$). Velikosti přírůstků jedinců daného věku na jednotlivých lokalitách jsou vyneseny na následujících grafech (graf 4.4. – 4.7.).



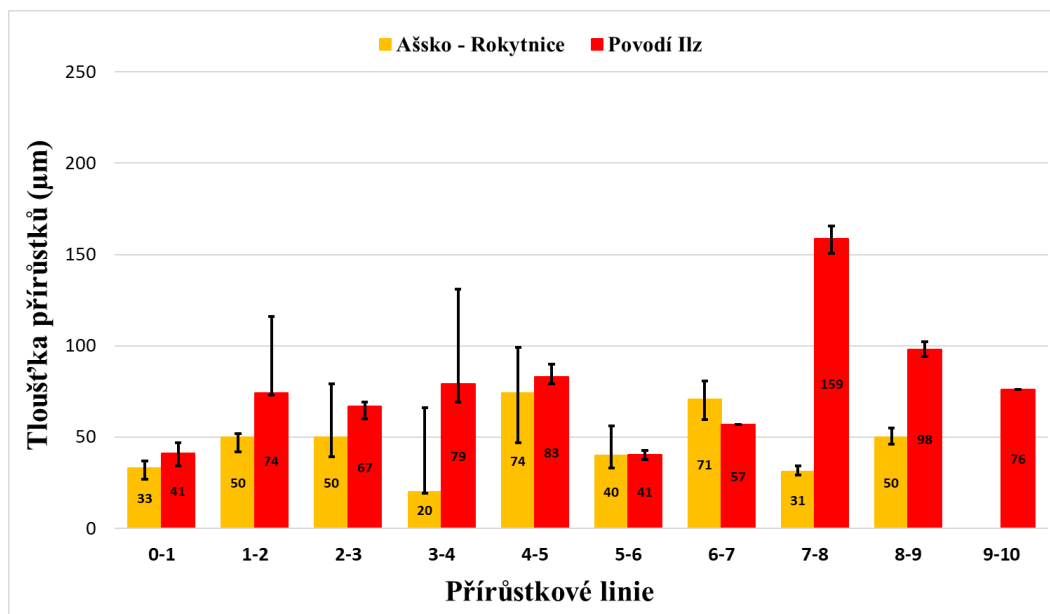
Graf 4.4. Počet přírůstkových linií (počítáno z vnější strany lastury) a střední hodnota (medián) tloušťky jednotlivých přírůstků (µm) u **dvouletých jedinců**. Chybové úsečky znázorňují horní kvartil a dolní kvartil.



Graf 4.5. Počet přírůstkových linií a střední hodnota (medián) tloušťky jednotlivých přírůstků (µm) u **tříletých jedinců**. Chybové úsečky znázorňují horní kvartil a dolní kvartil.



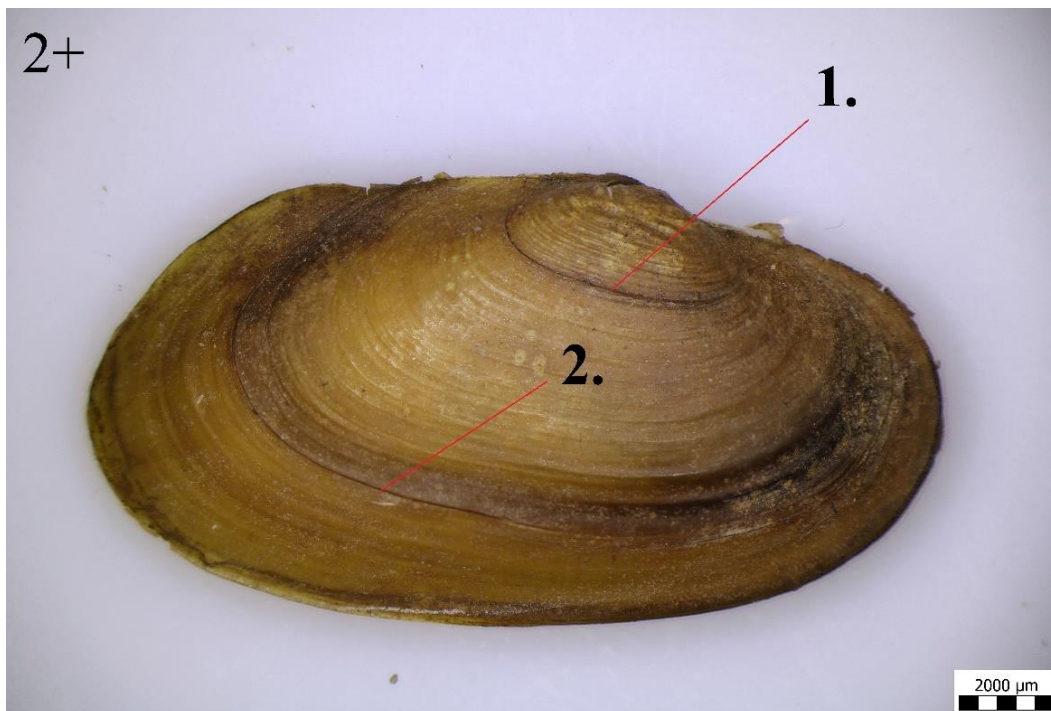
Graf 4.6. Počet přírůstkových linií a střední hodnota (medián) tloušťky jednotlivých přírůstků (µm) u **čtyřletých jedinců**. Chybové úsečky znázorňují horní kvartil a dolní kvartil.



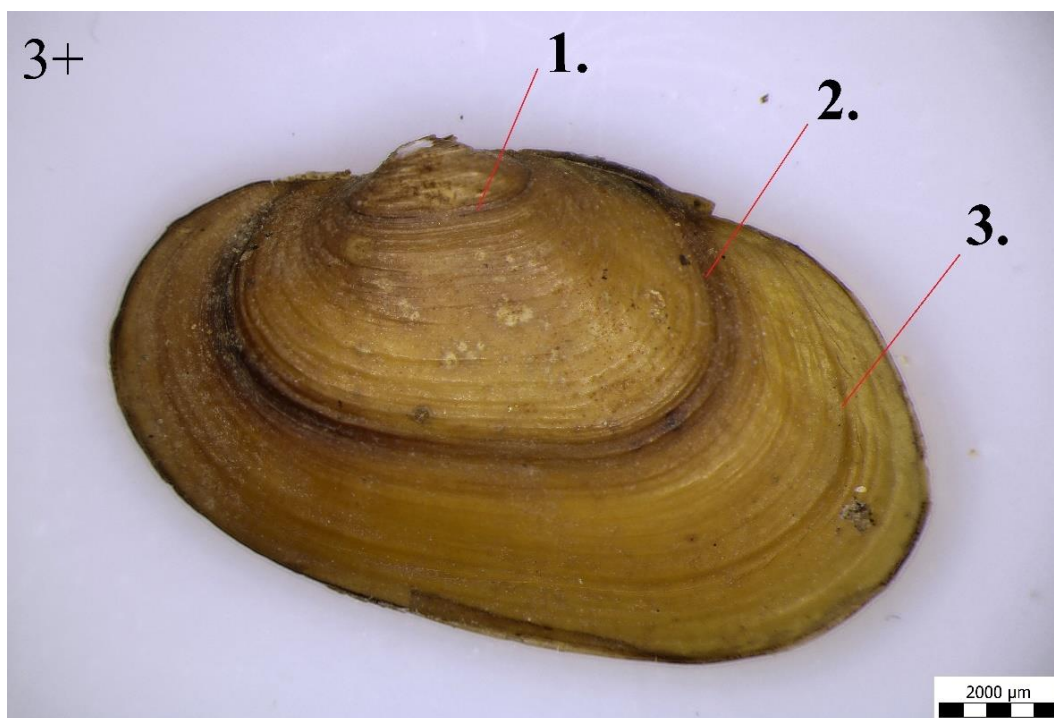
Graf 4.7. Počet přírůstkových linií a střední hodnota (medián) tloušťky jednotlivých přírůstků (μm) u **pětiletých jedinců**. Chybové úsečky znázorňují horní kvartil a dolní kvartil.

4.2 Skutečný věk versus linie na povrchu lastury

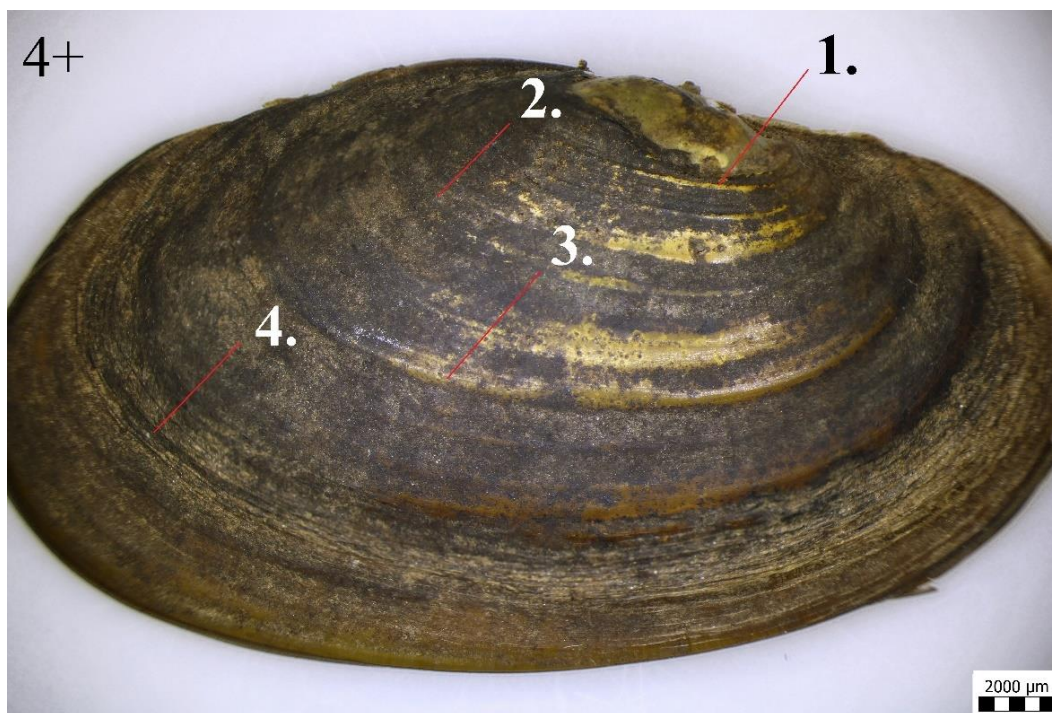
Tato podkapitola má za cíl porovnat sérii obrázků lastur různého věku podle samotného pohledu na vnější povrch lastury. Základem je porovnání možných přírůstkových linií charakteristických na povrchu lastury se známým věkem jedince. Z fotografií je patrné, že na povrchu určitých (ne u všech lastur byly linie na povrchu patrné) lastur je opravdu přesný věk jedince v den úhynu patrný (Obr. 4.3. – 4.7.). Není to ovšem pravidlem a s vyšším věkem jedince je odhad věku z povrchu lastury složitější, a to i vzhledem k erozi lastury (Obr. 4.8.; podkapitola 4.3.1.). Nicméně i u těch nejmladších lastur to bylo velmi složité, neboť linie jsou sice patrné, ale zpravidla jich bylo více než odpovídalo skutečnému věku jedince (Obr. 4.9.).



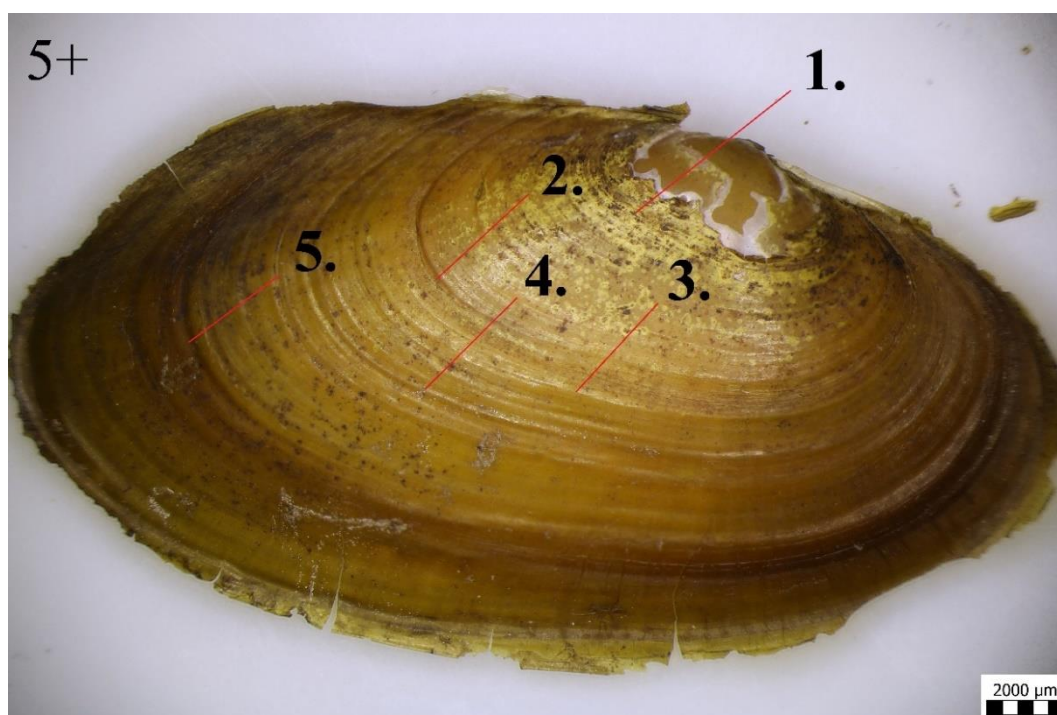
Obr. 4.3. – Lastura ve stáří 2+ (započala třetí rok života) z lokality povodí Ilz. Na lastuře jsou čísla vyznačeny patrné linie značící roční přírůstek (Foto: Autor).



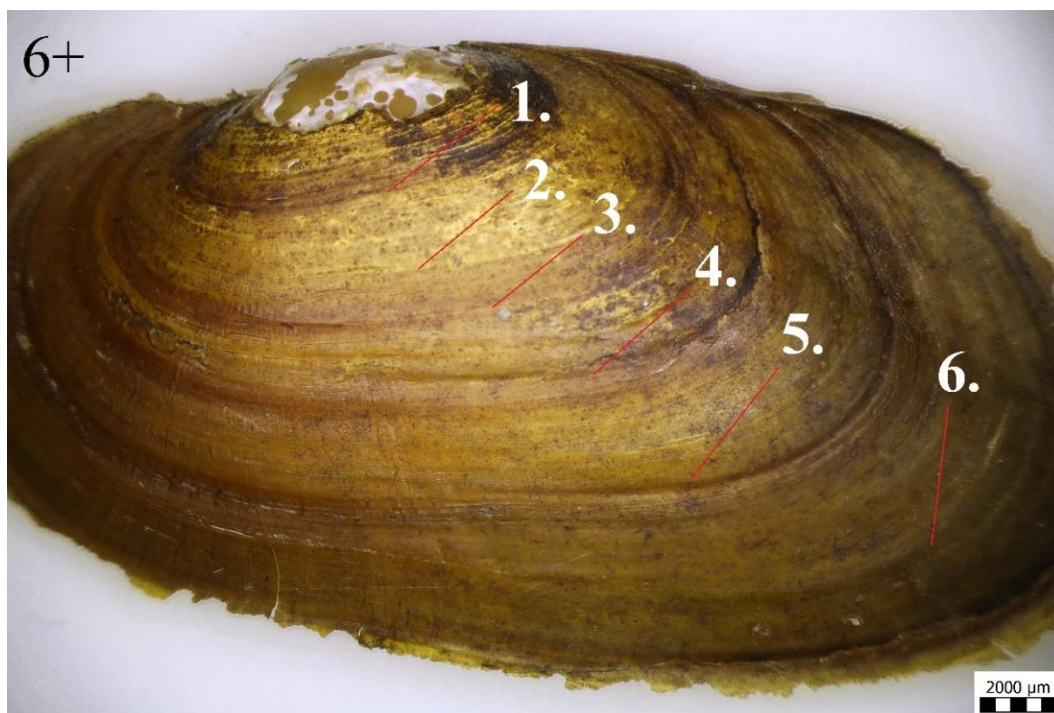
Obr. 4.4. – Lastura ve stáří 3+ (započala čtvrtý rok života) z lokality povodí Ilz. Na lastuře jsou čísla vyznačeny patrné linie značící roční přírůstek (Foto: Autor).



Obr. 4.5. – Lastura ve stáří 4+ (započala pátý rok života) z lokality povodí Ilz. Na lastuře jsou čísla vyznačeny patrné linie značící roční přírůstek (Foto: Autor).



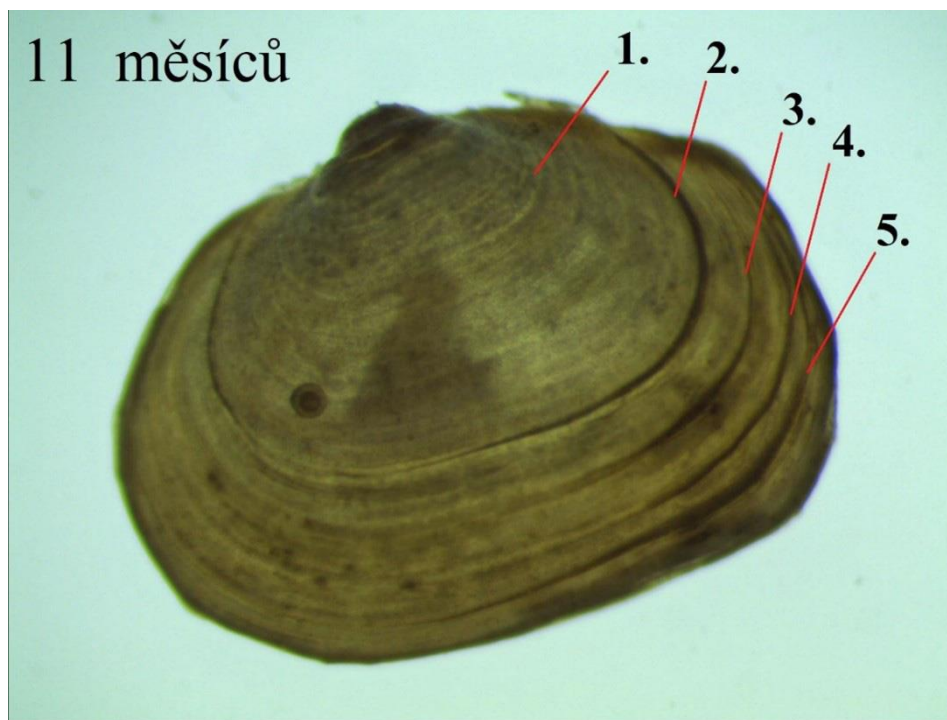
Obr. 4.6. – Lastura ve stáří 5+ (započala šestý rok života) z lokality povodí Ilz. Na lastuře jsou čísla vyznačeny patrné linie značící roční přírůstek (Foto: Autor).



Obr. 4.7. – Lastura ve stáří 6+ (započala sedmý rok života) z lokality povodí Ilz. Na lastuře jsou čísla vyznačeny patrné linie značící roční přírůstek (Foto: Autor).



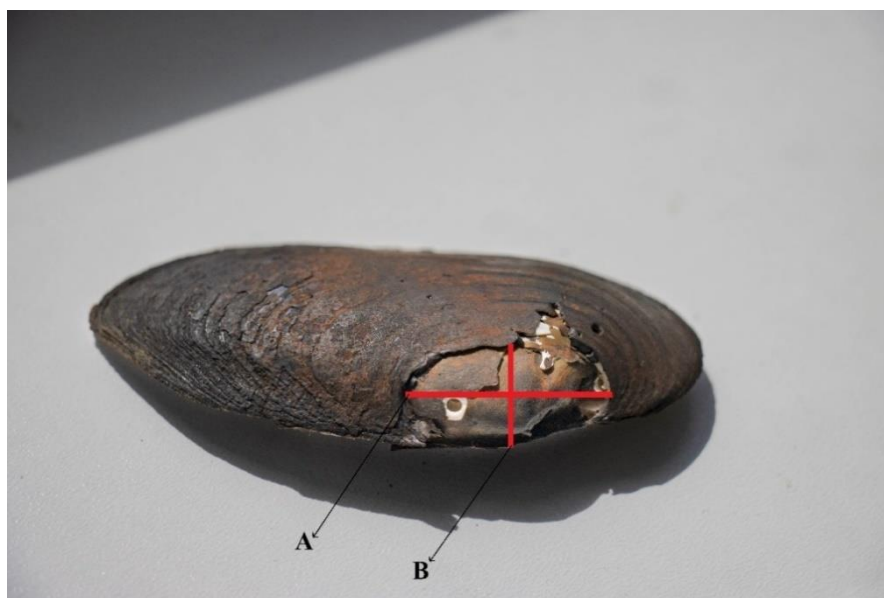
Obr. 4.8. – Dvě nejstarší lastury, u kterých už je velmi složité čtení věku z povrchu lastury. **Vlevo:** Lastura ve stáří 10+ (započala 11 rok života) z lokality Our; **Vpravo:** Lastura ve stáří 26+ (započala 27 rok života) z lokality Höllbach (Foto: Autor).



Obr. 4.9. – Lastura ve stáří 11 měsíců z lokality Höllbach. Na lastuře jsou čísla vyznačeny patrné linie značící chybné linie přírůstku; zvětšeno 4x (délka lastury je 707 μm ; Foto: Autor).

4.2.1 Eroze největší lastury

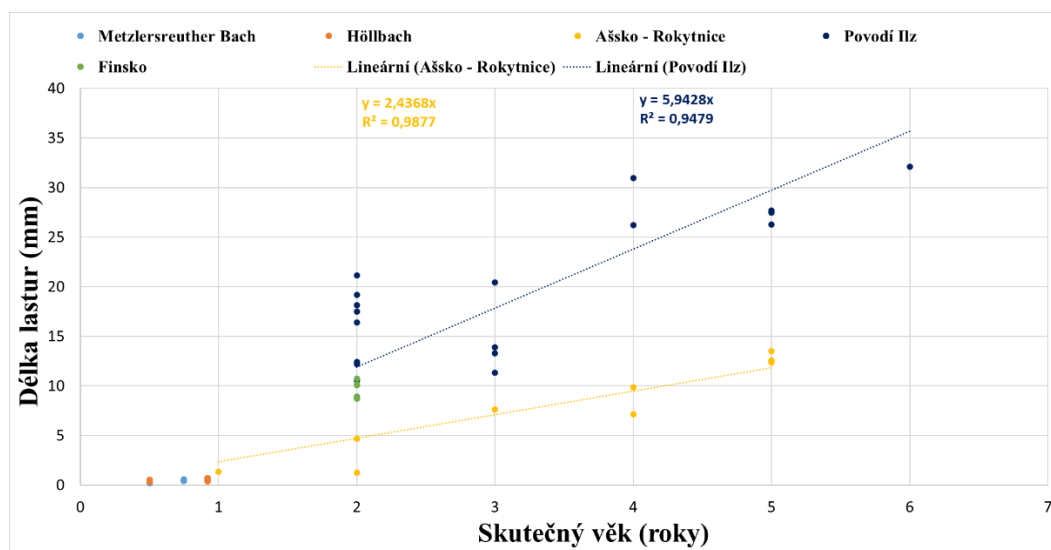
Z lastur, které jsem měl k dispozici byla pouze jediná, u které už byla výrazná eroze lastury. Jednalo se o největší a nejstarší lasturu z lokality Pekelský potok (Höllbach). Rozměry erodované plochy činily na délku 34,7mm (A) a na výšku 13,5mm (B). Což odpovídalo ploše 371,5 mm². Z celkové plochy jedné poloviny lastury eroze činila přibližně 13 % (Obr. 4.10.).



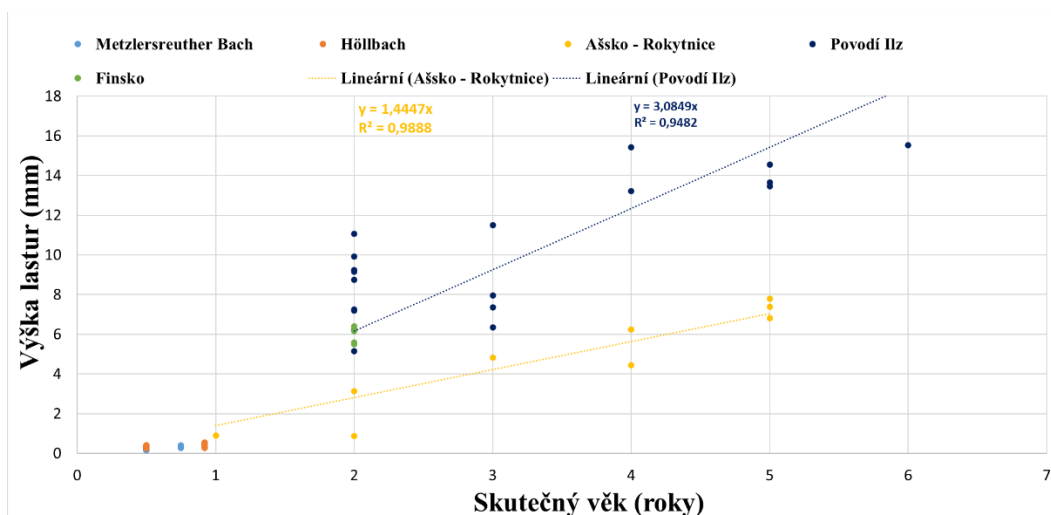
Obr. 4.10. – Polovina největší lastury s výraznou erodovanou plochou; **A**: délka erodované plochy; **B**: výška erodované plochy; (Foto: Autor).

4.3 Věk versus velikost (délka a výška) lastur

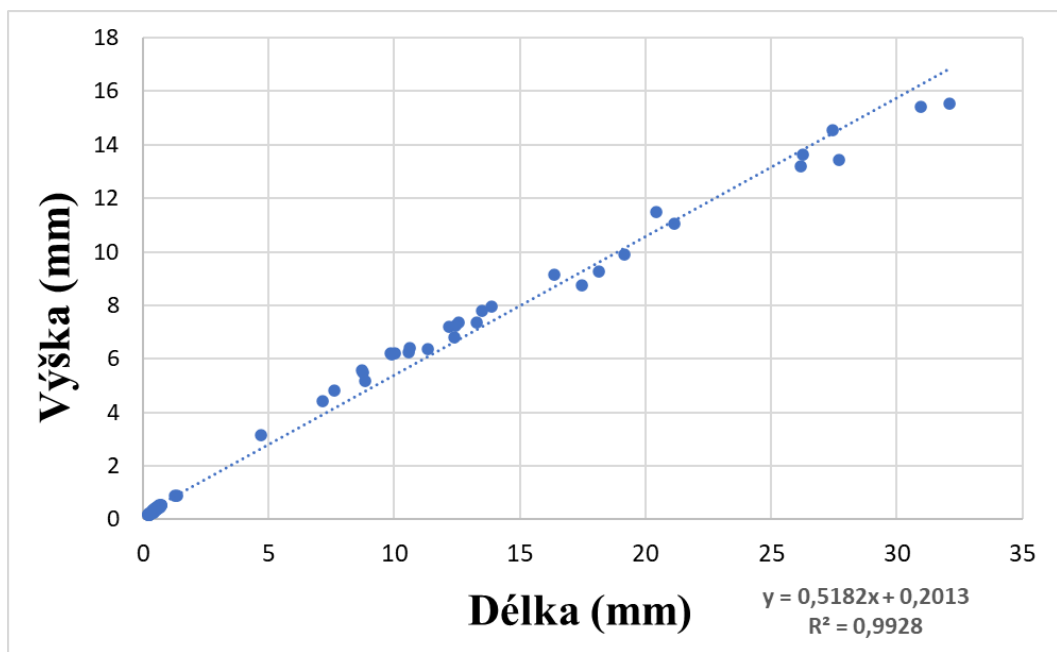
Čím vyšší byl věk tím větší (delší, vyšší) lastura (grafy 4.8. a 4.9.). Vztah délky a výšky lastur dobře koreloval (délka lastury byla přibližně dvojnásobek výšky (graf 4.10.)). Nicméně lastury daného věku byly velikostně (celková délka lastury) velice variabilní, a to nejen mezi lokalitami, ale i jednotliví jedinci pocházející ze stejné lokality (graf 4.11. a sklony přímek grafy 4.8. a 4.9.). Využití morfologických parametrů pro odhad věku lastur je z tohoto důvodu nejméně vhodný (spolehlivý) parametr.



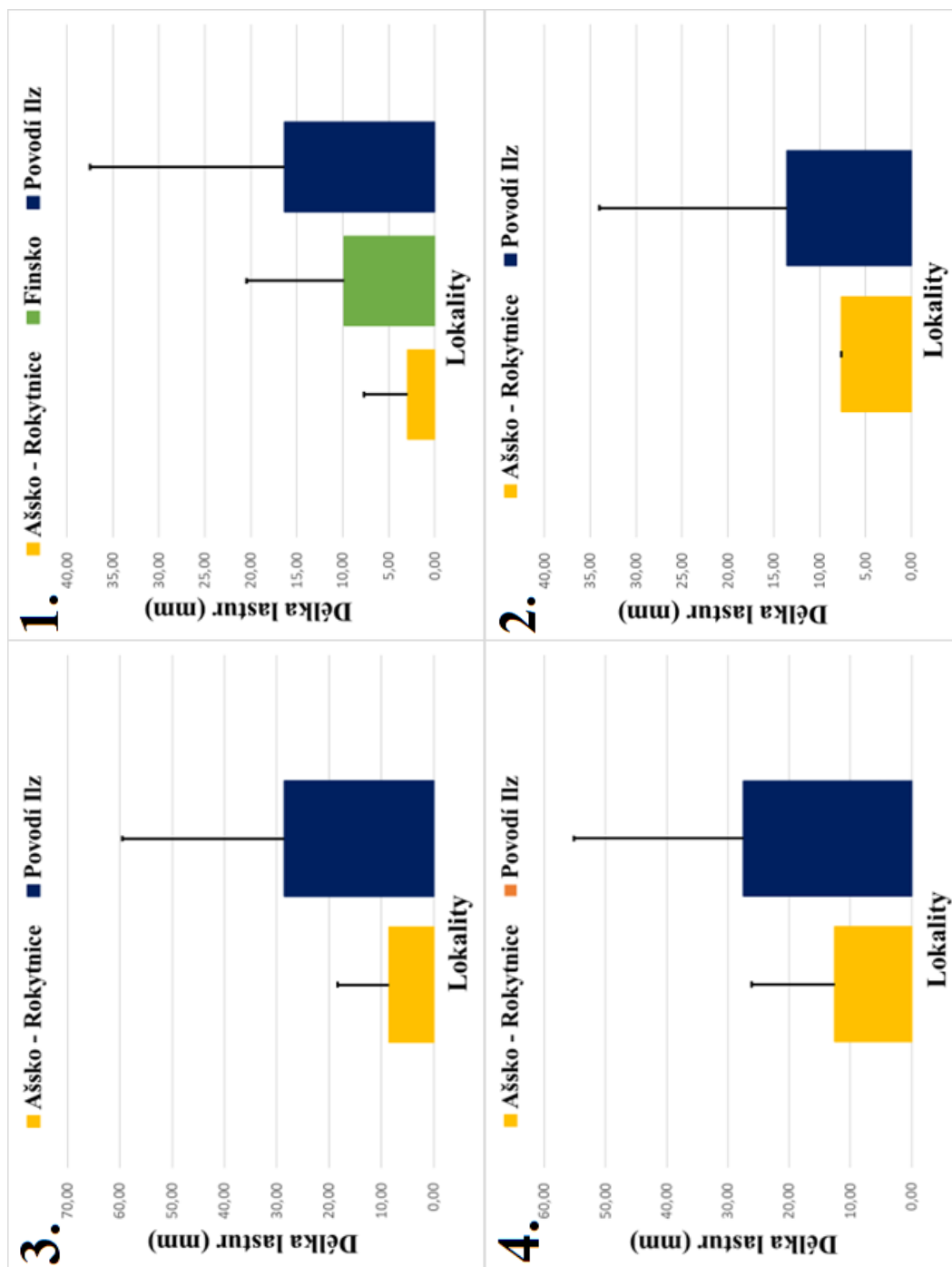
Graf 4.8. Vztah délky lastury a skutečného věku všech měřených lastur dle lokality.



Graf 4.9. Vztah výšky lastury a skutečného věku všech měřených lastur dle lokality.



Graf 4.10. Vztah výšky a délky všech měřených lastur.

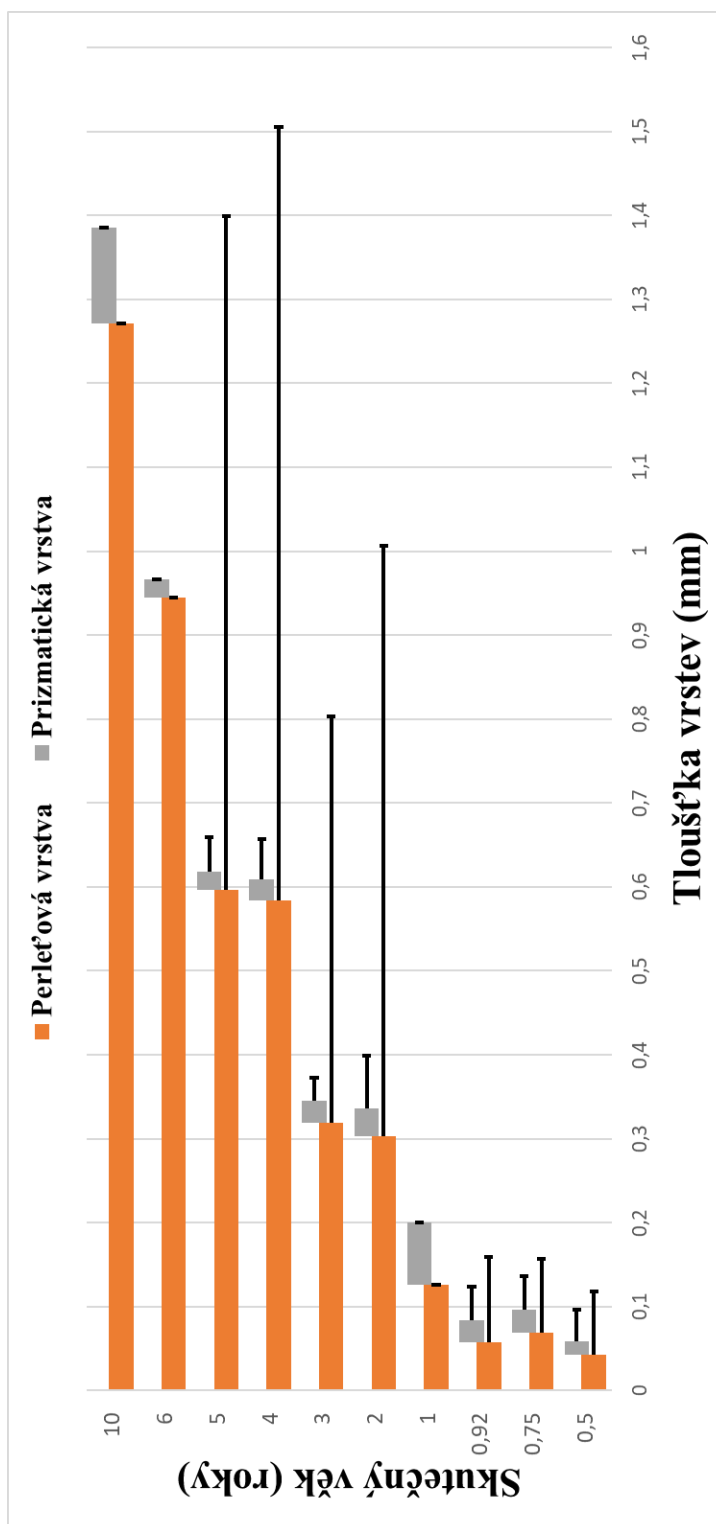


Graf 4.11. – Velikostní variabilita lastur různého věku dle lokalit. **1.** Lastury ve stáří dvou let (2+); **2.** – Lastury ve stáří tří let (3+); **3.** – Lastury ve stáří čtyř let (4+); **4.** – Lastury ve stáří pěti let (5+); chybové úsečky znázorňují maximum.

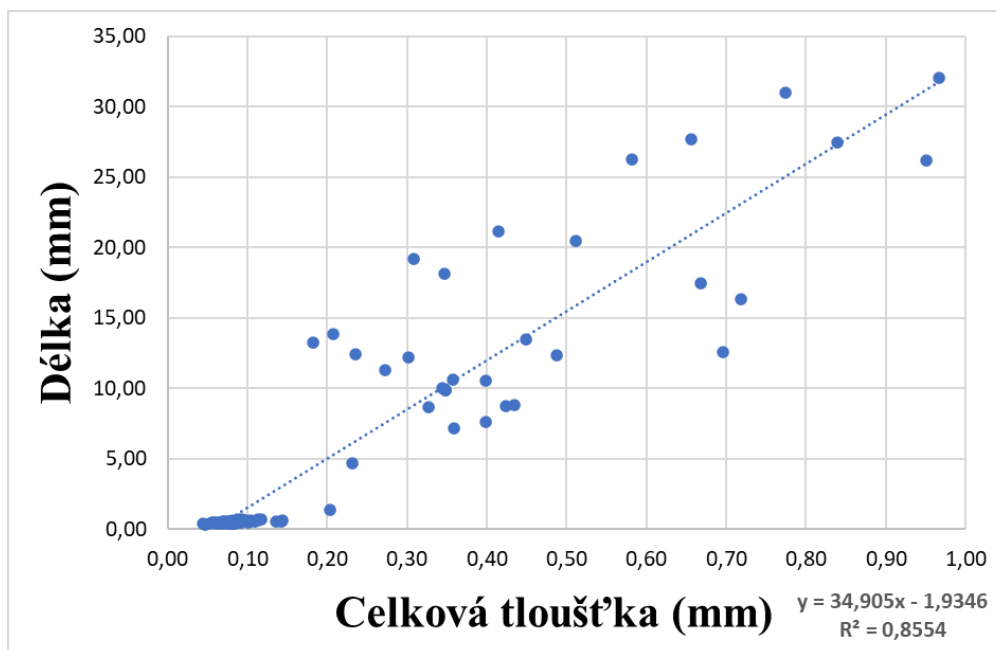
4.4 Věk versus tloušťka lastury a jejich jednotlivých vrstev (prizmatická a perleťová)

Stejně jako u délky a výšky lastury platilo, že čím byla lastura starší, tím se zvětšovala tloušťka lastury i perleťové vrstvy (graf 4.12.). Podle Holečková (2018) vzniká před-

poklad, že v určitém roku života se růst tloušťky lastury začne zpomalovat. Což podporuje fakt, že perlorodky nejrychleji rostou na začátku života. Dle vztahu délky lastury a její tloušťky, resp. jejího R^2 je vidět, že tloušťka lastury méně silně koreluje než délka a výška lastury (graf 4.10. a 4.13.).



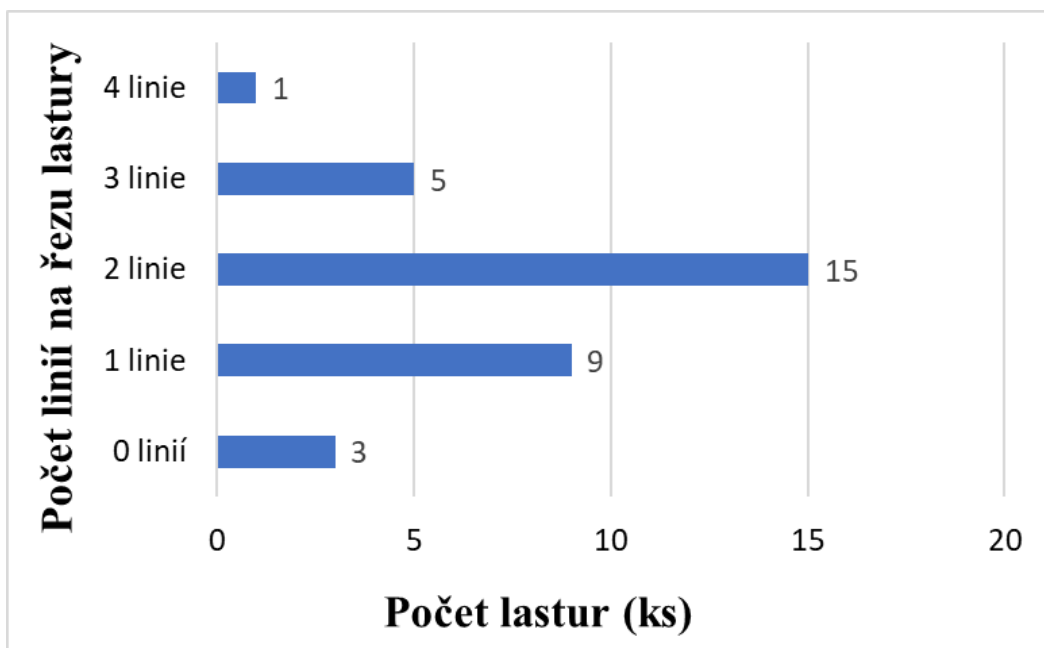
Graf 4.12. Průměrné hodnoty tloušťky perleťové a prizmatické vrstvy, které společně tvoří celkovou tloušťku lastury. Chybové úsečky znázorňují maximální hodnoty.



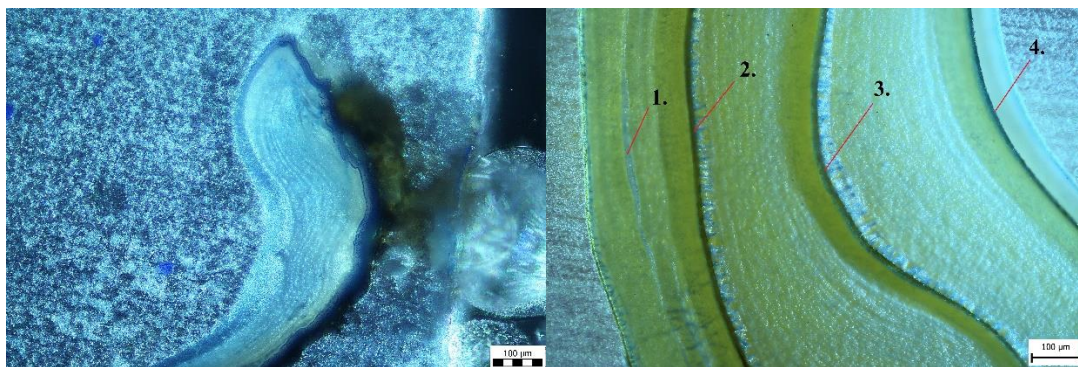
Graf 4.13. Vztah délky a celkové tloušťky všech měřených lastur.

4.5 Konchiolinové linie a rozdíl mezi velikostí přírůstku před a po vzniku konchiolinové linie

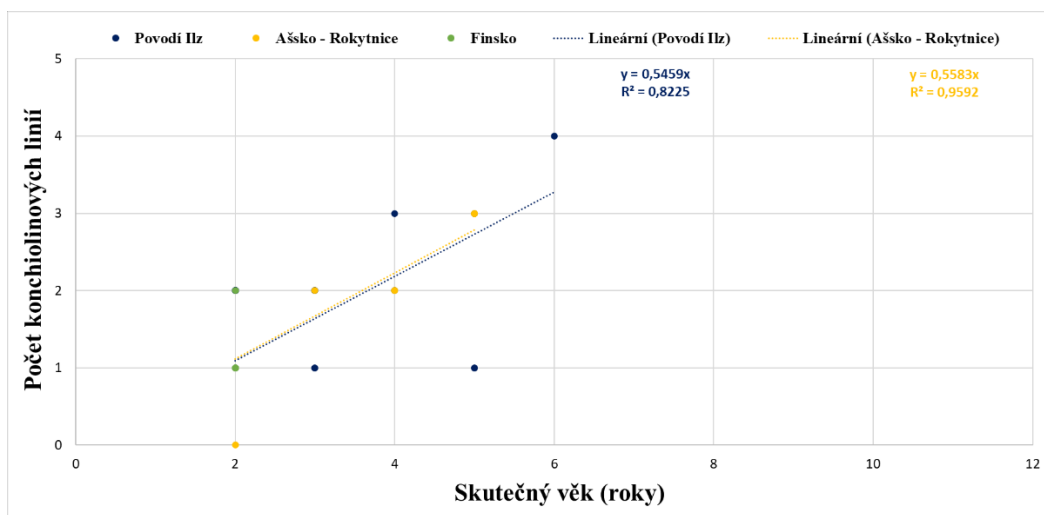
Na řezech lastur se v perleťové vrstvě v průměru vyskytovaly dvě konchiolinové linie. Konchiolinové linie jsem charakterizoval pouze u jedinců, kterým byl alespoň jeden rok (celkem 30 lastur; 86%). Jen u dalších pěti jedinců starších alespoň jednoho roku nebyla nalezena žádná konchiolinová linie (Obr. 4.11. vlevo). Nejvíce linií (čtyři) bylo zaznamenáno u šestileté lastury (Obr. 4.11. vpravo). Většina konchiolinových linií byla pouze v horní (nejstarší) části lastury v oblasti tzv. umbo. Konchiolinové linie byly přerušované a nebyly po celé výšce lastury. Čím starší jedinec (skutečný věk, či věk dle přírůstkových linií na řezu lasturou), tím měl více konchiolinových linií (grafy 4.14. – 4.17.).



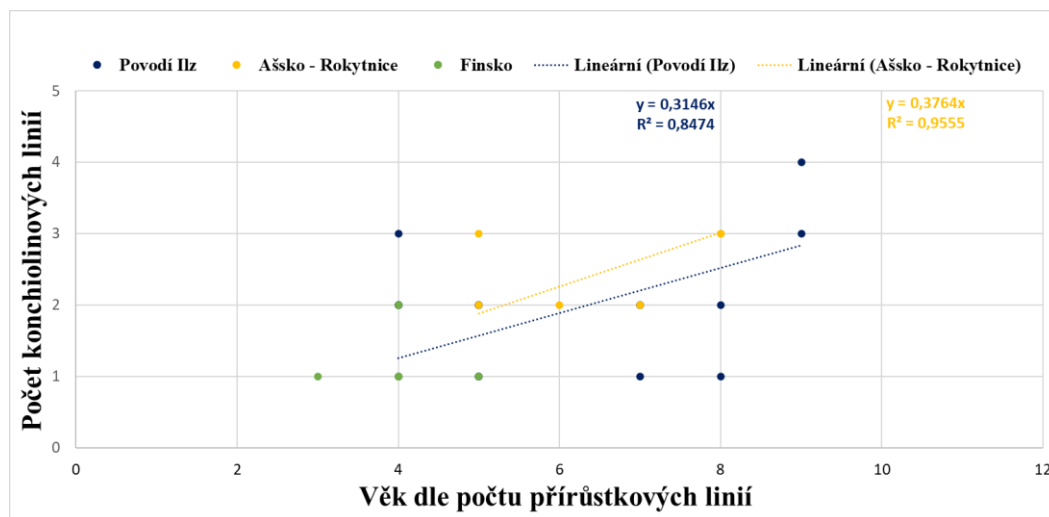
Graf 4.14. Počet konchiolinových linií v perleťové vrstvě na řezu lastury u jedinců 1+ (n = 33).



Obr. 4.11. – **Vlevo:** Dvouletá lastura bez charakteristické konchiolinové linie uvnitř perleťové vrstvy; **Vpravo:** Šestiletá lastura se čtyřmi vyznačenými konchiolinovými liniemi; zvětšeno 10x (Foto: Autor).

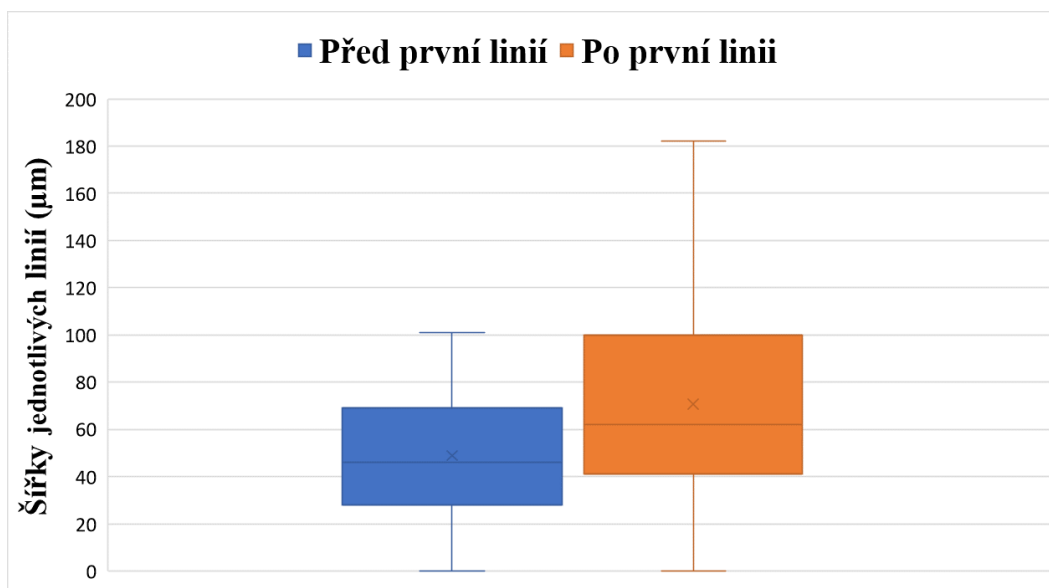


Graf 4.15. Vztah počtu konchiolinových linií a skutečného věku jedinců.



Graf 4.16. Vztah počtu konchiolinových linií a věku dle počtu přírůstkových linií.

Velikost přírůstku před vznikem první konchiolinové linie byla statisticky průkazně menší než velikost přírůstku po, respektive za konchiolinovou linií ($t_{29} = -2,86$; $p = 0,004$). Průměrná velikost přírůstku před konchiolinovou linií byla $54 \mu\text{m}$, tj. v průměru o $24 \mu\text{m}$ (o 31 %) menší než velikost přírůstku za konchiolinovou linií (graf 4.20.).



Graf 4.17. Šířka přírůstkové linie před vznikem první konchiolinové linie a po ní. Hranice „krabiček“ (boxů) představuje horní a dolní kvartil, čára uvnitř boxu znázorňuje průměr a křížkem je označen medián. Chybové úsečky představují minimum a maximum.

5 Diskuse

Záznamy přírůstkových linií na trvale zpevněných strukturách živočichů jsou známy už po mnoho let. Tyto linie jsou pro nás zdrojem informací například k tvorbě modelů růstu daných organismů. Některé záznamy o přítomnosti přírůstkových linií u mlžů jsou staré až 150 let (Chamberlain 1931), ovšem spekulace o tom, zda se tyto linie tvoří každoročně nebo ne, přetrvávají dodnes. Už mnoho studií se pokusilo tyto spekulace vyřešit, resp. ověřit v jakém časovém intervalu se linie tvoří. Jednotlivé studie se ale lišily ve výsledcích a nedošly ke společnému závěru. Hypotézu o tvorbě linií každý rok potvrdila pouze jediná studie vedená Ghent et al. (1978). Howard et Cuffey (2006) uvádějí každoroční přírůstek u perlorodky západní (*Margaritifera falcata*) (Gould, 1850). Novější studie vedená Haag et Commens-Carson, (2008), se zabývala ověřením každoročních přírůstků u 17 druhů severoamerických mlžů. Výsledkem studie bylo potvrzení ročních přírůstků u 94 % (n = 157) zkoumaných vzorků. Mnoho autorů se věk snažilo odhadnout na povrchu lastury z řezu prizmatické vrstvy (Helama et Valovirta, 2008; Masu et al., 2008; Wanamaker et al., 2009; Dunca et al., 2011). U mladších jedinců je čtení přírůstků z povrchu lastury poměrně snadné, ovšem u starších jedinců z důvodu eroze lastury už ne (viz. podkapitola 4.3.). Půbalová (2017) ve své studii stanovila věk pomocí roztoku hydroxidu sodného, kterým mechanicky odstranila svrchní vrstvu lastury a spočetla linie na povrchu lastur u ašských a šumavských perlorodek. Ovšem lze jen polemizovat, zda odpovídal skutečnému věku. Ač se zdá, že prizmatická vrstva neroste do tloušťky, tak je odhad věku z řezu prizmatické vrstvy lepší metodou, jelikož u perleťové vrstvy se linie přikládají zevnitř a růstová linie je vlastně jen předpoklad (který nemůžeme potvrdit), že kopíruje růst lastury. Nicméně odhad věku z řezu prizmatické vrstvy je složitý a náročný. Z tohoto důvodu je využíváno čtení přírůstkových linií v perleťové vrstvě, která nepodléhá erozi tak rychle jako prizmatická vrstva. Dalším negativním faktem odhadu věku z povrchu lastur je i častý výskyt falešných linií tzv. pseudoannulů (linie necharakterizující přírůstek) popřípadě charakter lokality, který může ovlivnit vznik vysrážených sloučenin na povrchu lastury. V této práci bylo zpracováno celkem 124 lastur jedinců různého známého věku. Jako vhodným materiálem ovšem bylo pouhých 35 lastur, které byly starší jednoho roku a byl tak předpoklad výskytu alespoň jedné přírůstkové linie. Skutečný věk se shodoval s věkem dle přírůstkových linií pouze u dvou lastur. Shodou okolností to byly dvě nejstarší lastury ve věku 10 a 26 let. U některých jedinců byl

počet přírůstkových linií i čtyřnásobně vyšší než věk, ve kterém uhynuli. Statisticky byl počet přírůstků na řezu lastury v průměru o 2,6 roku větší než známý věk lastury. V průměru se známý věk od věku stanoveného dle počtu přírůstku na řezu lišil o $42 \pm 25\%$ (\pm S.D.; graf 4.1. – 4.3.). Z výsledků této práce lze tvrdit, že minimálně v počátečních letech života jedinci perlorodky říční tvoří více jak jednu linii za rok. Samotné tloušťky (velikosti) jednotlivých přírůstků se od sebe významně nelišily, což bylo pravděpodobně dáno jejich variabilitou. Možné rozdíly tloušťky přírůstků mohly být dány i způsobem vytvoření samotného řezu, kdy i velmi malá odchylka od kolmého řezu, mohla vytvořit znatelnou chybu. Výhodou mladých lastur je předpoklad, že na řezech lastury je možnost vidět přírůstkové linie i částí, které jsou ve stáří zero-dované. Půbalová (2017) i Holečková (2018) ve svých studiích pracovaly s jedinci starými i několik desítek let, u kterých byla eroze už v pokročilém stádiu. Z tohoto faktu vyplývá, že v této práci vlastně pracujeme s přírůstkovými liniemi, které lastury zmíněných prací z důvodu eroze postrádají.

Holečková (2018) stanovila průměrnou délku ašských lastur na 106 mm v průměrném věku 50 let a u šumavských jedinců na 91 mm v průměrném věku 42 let (věkové rozmezí 46–91 let). Zatímco Půbalová (2017) stanovila průměrnou délku ašských jedinců na 97 mm v průměrném stáří 33 let a šumavských na 92 mm v průměrném věku 30 let (věkové rozmezí 26–35 let). V porovnání s mými vzorky, které ve věku dvou let dosahovaly průměrně 7-9 mm, lze vidět, že lastury perlorodky rostou rychleji v počátečních letech života a poté už jen velmi pomalu. Uvádí se, že perlorodky ze skotských lokalit, které mohou dosahovat průměrné délky 105 mm, mohou být ve věku od 26 do 73 let. Ty největší lastury dosahující délky od 120 až do 150 mm mohou být staré od 28 do 123 let (Hastie a kol., 2000). Ve Švédsku se uvádí, že perlorodka říční, která měří 50 mm je až 20 let stará, z čehož vyplývá, že lastury velké 110 mm mohou být až 190 let staré (Duncan et al., 2011). Helama et Valovirta (2007) stanovili průměrnou délku lastur sbíraných ve Finsku na 79 mm (průměrný věk 43 let v rozmezí 12 až 148 stanoveno dle přírůstkových linií), ovšem po dalších měřeních své tvrzení změnili na 114 mm (Helama et Valovirta, 2008). V Portugalsku se hodnoty průměrné délky pohybovaly okolo 83 mm (měřeno na živých jedincích; Sousa et al., 2013). Vůbec jedna z nejdelších lastur byla nalezena ve Skotsku s délkou 150 mm (Hastie et al., 2000). Průměrná výška lastur podle grafu 4.10. je genetikou druhu dána a zpravidla je přibližně 1,5x nižší než délka. Toto tvrzení podporují i Půbalová (2017) a Holečková (2018).

Naopak tloušťka lastur byla více dána lokálními živinovými parametry dané lokality. Užívanější lokality prokazatelně i logicky vykazují vyšší hodnoty. Podle grafu 4.12. s narůstajícím věkem se zvyšuje i samotná tloušťka celé lastury i perleťové vrstvy. Průměrné hodnoty celkové tloušťky uvádím na grafu 4.12., kde je až na výjimky patrné, že s věkem roste i celková tloušťka. Z předpokladu studie Holečková (2018), vychází, že podíl tloušťky řezu lastury velmi mladých jedinců je vyšší než u jedinců starých i několik desítek. Růst tloušťky lastury je tak na začátku života nejrychlejší a s postupným věkem se zpomaluje (Miguel et al., 2004). Holečková (2018) dále ve své práci uvádí, že lastury v průměrném věku 50 let dosahovali průměrné tloušťky 4-5 mm, zatímco v mé práci dosahovali lastury v průměrném věku pěti let tloušťky lastury už i 0,5 mm (tedy 10% tloušťky v dospělosti).

Poměrně velká variabilita v celkové délce lastur i přírůstcích lze vysvětlit různými lokalitami, z kterých lastury pocházely. Určité lokality jsou pro perlorodku více vyhovující než jiné. Tyto odchylky jsou způsobeny různými abiotickými a biotickými faktory dané lokality. Parametry a lokální podmínky ovlivňují růst lastur lastury. Obecně platí, že lastury ze severních a výše položených lokalit („studených“) rostou pomaleji a jsou podstatně větší a starší než lastury z „teplých“ jižních lokalit (Bauer, 1992; Hastie et al., 2000; Degerman et al., 2009). Průměrná délka lastur dle grafu 4.11. byla prokazatelně vyšší u jedinců pocházejících z lokalit v povodí řeky Ilz oproti jedincům z ašských a finských lokalit. Podobně je tomu i u půlročních lastur, kdy lokalita Metzlersreuther Bach vykazovala podstatně nižší průměrnou délku než lokalita Höllbach. Na tomto rozdílu jde vidět, že geograficky severnější lokality (ašské, finské, Höllbach), vykazovaly ve stejném věku nižší průměrné hodnoty délky lastury (graf 4.11.). Půbalová (2017) a Holečková (2018), studovaly průměrné hodnoty délky, výšky i tloušťky na šumavských a ašských lokalitách. Obě došly k shodnému závěru, že ašské lastury vykazovaly průměrně vyšší hodnoty délky než šumavské. Toto tvrzení si trochu protirečí, protože šumavské lokality jsou jižněji než ašské, nicméně šumavské lokality jsou výše položené v chladných údolích a jsou tak pro perlorodky více nevlídné.

Konchiolinové linie byly nalezeny jen u 30 lastur, kterým byl alespoň jeden rok. Obecně ale platilo, že konchiolinové linie byly přerušované a s narůstajícím věkem jedince rostl i počet konchiolinových linií. Statisticky byl vyhodnocen i průměrný přírůstek před vznikem první konchiolinové linie a po ní. Průměrná velikost přírůstku před konchiolinovou linií byla 54 μm , tj. v průměru o 24 μm (o 31%) menší než velikost přírůstku za konchiolinovou linií (graf 4.17.). Mnoho autorů se zabývalo vznikem

a složením konchiolinovou linií, ovšem jen zlomek i počtem a samotným výskytem na řezu lastury. Holečková (2018) uvedla, že průměrný věk (odhadovaný pomocí linií v perleťové vrstvě na obarveném řezu lastury) výskytu první konchiolinové linie v ašské oblasti byl 7 let a v šumavské oblasti 8 let. Druhé linie v ašské oblasti v 17 letech a v šumavské oblasti v 18 letech. A třetí linie v ašské oblasti ve 28 letech a v šumavské oblasti ve 30 letech. Uvedla, že konchiolinové linie vznikají v pravidelném intervalu. Vzhledem k nízkému věku mých jedinců nemohu toto tvrzení potvrdit ani vyvrátit. V této práci, jsem ovšem výskyt linií potvrdil už u velmi mladých lastur (do 10 let), které často měly i více jak tři konchiolinové linie. Vysvětlit si to lze hlavní funkcí těchto linií, kterou je zajišťování pevnosti a odolnosti lastury proti vnějším podmínkám (Araujo et al., 2014; Williams et al., 2014).

Potrava je u perlorodek jedna z nejdůležitějších podmínek vhodného prostředí. Jedinci této studie byli primárně v počátečních týdnech života krmeny kombinovanou (umělá/přirozená) potravou. Následně buď pouze umělou, nebo pouze přirozenou potravou. Někteří jedinci uhynuli na základě zkažené přirozené potravy (řasy) po přechodu z kombinované potravy. Několik jedinců bylo krmeno umělou potravou na oteplené vodě. Perlorodky se obecně dokážou adaptovat i na velmi málo úživné lokality, nicméně živinově bohaté lokality prospívají k vyššímu růstu jedinců. Gosling (2004) uvádí, že vedle množství potravy na dané lokalitě, je důležitá i druhová skladba potravy (řasy a detrit), jelikož některé druhy potravního spektra mohou být pro perlorodku nevhodné. Dále uvádí, že pro jedince, vyskytující se na bahnitěm dně, je dostupnost potravy vyšší než u jedinců obývajících písčité úseky. Podle Bauer (1992) ale stále platí, že i málo úživné, ovšem vápníkem bohaté lokality vykazují dlouhodobě populace dožívající se i přes 100 let. Z důvodu některých méně úživných toků, se přistupuje i k antropogennímu dokrmování jedinců v toku nebo v různých odchovných. Několik jedinců uvedených v této práci pochází z odchovných stanic zbudovaných na přirozených tocích. V praxi dokrmování většinou znamená, že nemusíme přesně vědět čím dokrmovat, stačí pouze vědět a ověřit, která voda nebo materiál působí pozitivně na růst jedinců (Hruška, 2004; Simon et al., 2018). Pro odchovy perlorodek je možné využívat i různé komerčně vyráběné akvaristické krmné směsi pro chov mlžů (např. Nanoshell), popřípadě je kombinovat s přirozenou potravou (Gum et al., 2011, Eybe et al., 2013; Simon et al., 2018).

Vzhledem k malému počtu vzorků nelze výsledky brát jako prokazatelně vylučující cíl práce, nicméně pro další studie zabývající se stejným tématem, může být prospěšným zdrojem. Pro lepší výsledky je potřeba shromáždit vyšší počet vzorků i starších jedinců, což je v dnešní době velmi obtížné. Další detailnější studium může vést k lepšímu porozumění této problematiky.

Závěr

Tato diplomová práce byla vypracována za účelem stanovení souvislosti mezi věkem uhynulých jedinců perlorodky říční a počtem přírůstkových linií v perlet'ové vrstvě na obarveném řezu lastury. Celkem bylo shromážděno 124 ks vzorků lastur známého věku (89x 0+, 1x 1+, 19x 2+, 2x 3+, 4x 4+, 6x 5+, 1x 6+, 1x 10+ a 1x 26+), ze kterých byly provedeny řezy.

Z jednotlivých vzorků lastur nebylo prokazatelně stanoveno, že jednotlivé přírůstkové linie na řezech lastury značí jeden rok života jedince. U jedinců mladších, než jeden rok nebyla charakterizována linie žádná. Byl zjištěn statisticky znatelný rozdíl mezi skutečným věkem a věkem dle přírůstkových linií. V průměru byl počet přírůstků na řezu o 2,6 roku vyšší než skutečný věk jedince. V průměru se známý věk od věku stanoveného dle počtu přírůstku na řezu lišil o 42 %. Samotné velikosti jednotlivých přírůstků se od sebe prokazatelně nelišily.

Přírůstkové linie na povrchu lastury byly poměrně dobře patrné. S vyšším věkem jedince je odhad věku z povrchu lastury složitější, nicméně tato práce prezentuje, že i u těch nejmladších lastur je poměrně složité, stanovit věk z povrchu lastury, jelikož linií na lastuře bylo zpravidla více než odpovídalo skutečnému věku jedince.

Poměrně velké byly i velikostní rozdíly v délce (výšce) lastury stejně starých jedinců. Tento fakt lze vysvětlit různými faktory dané lokality (teplota, úživnost, potrava, poloha). Porovnáním s předchozími pracemi, lze v této práci stanovit, že nejvyšší růst je v počátečních letech života a věkem se zpomaluje. Tloušťka studovaných lastur odpovídala přibližně 10% tloušťky dospělých jedinců.

Konchiolinové linie jsem charakterizoval u 86 % lastur starších jednoho roku. Statistiky byla průměrná velikost přírůstku před první konchiolinovou linií přibližně o 24 μm (o 31 %) menší než velikost přírůstku za konchiolinovou linií.

Seznam použité literatury

1. Álvarez-Claudio C., García-Rovés P., Ocharan R., Cabal J. A., Ocharan F. J., Alvarez M. A., **2000**. A new record of the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* L. (Bivalvia, Unionoida) from the River Narcea (Asturias, north-western Spain). *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 10(2), 93-102.
2. Absolon K., Hruška J., **1999**. Záchranný program Perlorodka říční (*Margaritifera margaritifera* Linnaeus, 1758) v České republice. – AOPK ČR, Praha, 27 pp.
3. Agatsuma Y., Nakata A., **2004**. Age determination, reproduction and growth of the sea urchin *Hemicentrotus pulcherrimus* in Oshoro Bay, Hokkaido, Japan. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 84(2), 401-405.
4. AOPK ČR, Švanyga J., Simon O., Mináriková T., Spisar O., Bílý M., **2013**. Záchranný program perlorodky říční (*Margaritifera margaritifera*) v České republice. AOPK ČR, Praha, 77 pp.
5. Araujo R., Ramos A., **2000a**. Action plan for *Margaritifera margaritifera* in Europe, Convention on the conservation of European Wildlife and natural habitats, Strasbourg: 41 pp.
6. Araujo R., Ramos M. A., **2000b**. Status and conservation of the giant European freshwater pearl mussel (*Margaritifera auricularia*)(Spengler, 1793)(Bivalvia: Unionoidea). *Biological Conservation*, 96(2), 233-239.
7. Araujo R., Ramos M. A., **2001**. Action plan for *Margaritifera margaritifera* in Europe. *Nature and environment*, No. 117. Council of Europe Publishing, 29-66.
8. 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(1), 74-83.
9. Arkhipkin A. I., Shcherbich Z. N., **2012**. Thirty years' progress in age determination of squid using statoliths. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 92(6), 1389-1398.
10. Arkhipkin A. I., Bizikov V. A., Doubleday Z. A., Laptikhovskiy V. V., Lishchenko F. V., Perales-Raya C., Hollyman, P. R., **2018**. Techniques for estimating the age and growth of molluscs: Cephalopoda. *Journal of Shellfish Research*, 37(4), 783-792.
11. Bádř V., **2012**. Přesné stanovení věku ulovené dospělé černé zvěře. *Myslivost* 60 (1). Dostupné z: <https://zivotni-prostredi.kraj-lbc.cz/get-File/id:1039558/lastUpdateDate:2019-03-25%2013%3A29%3A05> navštíveno dne: 22.8.2022
12. Bádř V., **2018**. Odhad a přesné stanovení věku ulovené spárkaté zvěře. Vydání první. [Praha]: Českomoravská myslivecká jednota. ISBN 978-80-905793-9-2. Dostupné z: <https://www.myslivost.cz/Casopis-Myslivost/MYSLIVOST-Straz-myslivosti/2020/Kveten-2020/Odhad-a-presne-stanoveni-veku-ulovene-spar-kate-zve> navštíveno dne: 13.7.2022
13. Balevičius A., **1992**. Red Data Book of Lithuania. Ministry of Environment, Vilnius (in Lithuanian).
14. Bauer G., **1988**. Threats to the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* L. in central Europe. *Biological Conservation*, 45(4), 239-253.
15. Bauer, G., **1992**. Variation in the life span and size of the freshwater pearl mussel. *Journal of animal ecology*, 425-436.

-
16. Bauer G., Wächtler K., **2001**. Ecology and evolution of the freshwater mussels Unionoida. Springer Verlag, Berlin Heidelberg, 395 pp. ISBN: [978-3-540-67268-5](#)
 17. Beckman W. C., **1943**. Annulus formation on the scales of certain Michigan game fishes. University of Michigan, 168s.
 18. Bötzl F., **2004**. Muscheln, geheimnisvolle Schätze des Bayerwaldes. 14-25.
 19. Binot-Hafke M., Balzer S., Becker N., Gruttke H., Haupt H., Hofbauer N., Ludwig G., Matzke-Hajek G. Strauch M., **2011**. Red List of Endangered Animals, Plants and Fungi Germany, Invertebrates (Part 1) (Volume 3). Bundesamt für Naturschutz, Bonn-Bad Godesberg (in German).
 20. Bílý M., Hruška J., Simon O. P., Hřebík Š., Jäger D., Horký P., Rulík M., Krivánek J., **2008**. Effects of environmental factors on the freshwater pearl mussel population in the National nature monument Lužní Potok. Prague. VUV TGM. Praha. ISBN: [978-80-85900-86-6](#)
 21. Björk S., **1962**. Investigations on *Margaritifera margaritifera* and *Unio crassus*. Limnologic studies in Rivers in South Sweden. Acta Limnologica. 109 s. ISSN [0349-0041](#)
 22. Blabolil P., Frouzová J., Matěna J., Peterka J., **2018**. Immersion mass marking of pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae in oxytetracycline hydrochloride and its detection using fluorescence microscopy. *Biologia*, 73(5), 531-535.
 23. Bluhm B. A., Brey T., **2001**. Age determination in the Antarctic shrimp *Notocrangon antarcticus* (Crustacea: Decapoda), using the autofluorescent pigment lipofuscin. *Marine Biology*, 138(2), 247-257.
 24. Bluhm B. A., Brey T., Klages M., **2001**. The autofluorescent age pigment lipofuscin: key to age, growth and productivity of the Antarctic amphipod *Waldeckia obesa* (Chevreux, 1905). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 258(2), 215-235.
 25. Borkholder B.D., Edwards A.J., **2001**. *North American Journal of Fisheries Management* 21: 935-942.
 26. Bowen C. E., Tang H., **1996**. Conchiolin-protein in aragonite shells of mollusks. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 115(4), 269-275.
 27. Brady S. M., Scheibling R. E., **2006**. Changes in growth and reproduction of green sea urchins, *Strongylocentrotus droebachiensis* (Müller), during repopulation of the shallow subtidal zone after mass mortality. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 335(2), 277-291.
 28. Brooks R. C., Heidinger R. C., Hoxmeier R. J. H., Wahl, D. H., **2002**. Relative survival of three sizes of walleyes stocked into Illinois lakes. *North American Journal of Fisheries Management*, 22(3), 995-1006.
 29. Buddensiek V., **1995**. The culture of juvenile freshwater pearl mussels *Margaritifera margaritifera* L. in cages: a contribution to conservation programmes and the knowledge of habitat requirements. *Biological Conservation*, 74(1), 33-40.
 30. Burlakova L. E., Karatayev A. Y., Padilla D. K., **2000**. The impact of *Dreissena polymorpha* (Pallas) invasion on unionid bivalves. *International Review of Hydrobiology: A Journal Covering All Aspects of Limnology and Marine Biology*, 85(5-6), 529-541.
 31. Byrne A. W., Moorkens E. A., Anderson R., Killeen I. J., Regan E., **2009**. Ireland Red List no. 2: Nonmarine molluscs. National Parks and Wildlife Service, Department of the Environment, Heritage and Local Government.

-
32. Campana S. E., **2001**. Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods. *Journal of fish biology*, 59(2), 197-242.
 33. 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.
 34. Cochet G., **1999**. Le statut des Margaritiferidae de France (Mollusca: Bivalvia: Unionacea: *Margaritiferidae*). *Vertigo*, 6(1996), 27-31.
 35. Dahm C., Brey T., **1998**. Determination of growth and age of slow growing brittle stars (Echinodermata: Ophiuroidea) from natural growth bands. *Journal of the marine biological association of the United Kingdom*, 78(3), 941-951.
 36. 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.
 37. Danilov-Danilian V. I., **2001**. Red Data Book of the Russian federation: Animals. AST and Astrel Publishers, Moscow.
 38. Degerman E., **2009**. Restoration of freshwater pearl mussel streams. WWF Sweden.
 39. Degerman E., Alexanderson S., Bergengren J., Henrikson L., Johansson B-E., Larsen B.M., Söderberg H., **2009**. Restoration of freshwater pearl mussel streams. WWF Sweden, Solna. Dostupné z: <https://westcumbriarivertrust.org/assets/content/projects/downloads/restoration-of-fpm-streams.pdf> navštíveno dne 21.6.2022.
 40. Dolmen D., Kleiven E., **2008**. Distribution, status and threats of the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* (Linnaeus)(Bivalvia, *Margaritiferidae*) in Norway. *Fauna norvegica*, 26(27), 3-14.
 41. Dort B., Hruška J., **2008**. Speciální revitalizační studie pramenných oblastí Blanice. Závěrečná zpráva pro AOPK ČR, NP a CHKO ŠUMAVA, 205 pp.
 42. Dort B., **2009**. Perlorodka říční (*Margaritifera margaritifera* L.) v povodí horního toku Teplé Vltavy . [Freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera* L.) in the upper part of Teplá Vltava stream basin in 2009]. Ms., 147 unpublished report, 16 pp. (in Czech). (deposited in the Šumava National Park Authorities, Vimperk).
 43. Dort B., Hruška J., **2009**. Perlorodka říční (*Margaritifera margaritifera* L.) v povodí horního toku Malše [Freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera* L.) in the upper part of the Malše River basin in 2008]. Ms., unpublished report, 37 pp. (in Czech). (deposited in the regional office of southern Bohemia).
 44. Dort B., **2010**. Perlorodka říční (*Margaritifera margaritifera* L.) v povodí horního toku Teplé Vltavy 2010 [Freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera* L.) in the Teplá Vltava basin in 2010]. Ms., unpublished report, 38 pp. (in Czech) (deposited in the Šumava National Park Authorities, Vimperk).
 45. Dort B., **2012**. Flussperlmuschel (*Margaritifera margaritifera* L.) im oberen Flusslauf der Maltzsch. Ms., Technisches Büro für Gewässerökologie, DI Clemens Gumpinger, 13 pp. (deposited in the Nature Conservation Agency of the Czech Republic, Prague).
 46. Dort B., **2016**. Realizace opatření dle Plánu péče o JE Blanice a Prameniště Blanice – polopřirozený odchov perlorodek říčních – I. Etapa 2016 II. Správa Národního parku ŠUMAVA. Spálenec, 26 pp.
 47. Dort B., **2017**. Realizace opatření dle Plánu péče o JE Blanice a Prameniště Blanice – polopřirozený odchov perlorodek říčních – II. Etapa 2017-2022. Správa Národního parku ŠUMAVA. Spálenec, 36 pp.

-
48. Dort B., **2018**. Realizace opatření dle Plánu péče o JE Blanice a Prameniště Blanice – polopřirozený odchov perlorodek říčních – II. Etapa 2017-2022. Správa Národního parku ŠUMAVA. Spálenec, 38 pp.
 49. Dort B., **2019**. Realizace opatření dle Plánu péče o JE Blanice a Prameniště Blanice – polopřirozený odchov perlorodek říčních – II. Etapa 2017-2022. Rok – 2019. Správa Národního parku ŠUMAVA. Spálenec, 37 pp.
 50. Dort B., **2020**. Realizace opatření dle Plánu péče o NPP Blanice a Prameniště Blanice – polopřirozený odchov perlorodek říčních – II. Etapa 2017-2022. Rok - 2020. Správa Národního parku ŠUMAVA. Spálenec, 35 pp.
 51. Dort B., **2021**. Realizace opatření dle Plánu péče o NPP Blanice a Prameniště Blanice – polopřirozený odchov perlorodek říčních – II. Etapa 2017-2022. Rok - 2021. Správa Národního parku ŠUMAVA. Spálenec, 37 pp.
 52. Dunca E., Schöne B. R., Mutvei H., **2005**. Freshwater bivalves tell of past climates: But how clearly do shells from polluted rivers speak?. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 228(1-2), 43-57.
 53. 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.
 54. Dvořák L., Beran L., **2004**. Remarkable records of aquatic molluscs in the Lipno Reservoir and its environs. *Silva Gabreta*, 10, 97-106.
 55. Dyduch-Falniowska A. Zając K., **2011**. Polska Czerwona Księga Zwierząt: *Margaritifera margaritifera* (Linneaus, 1758). Instytut Ochrony Przyrody PAN.
 56. Dyk V., **1947**. České perly (život, ochrana a národohospodářský význam perlorodek). J. R. Vilímek, Praha, 140 pp.
 57. Dyk V., **1992**. Profilové ohrožovatele lokalit perlorodky říční. *Erica*, Plzeň, 1, 21-38.
 58. eAGRI, **2009**. Seznam významných vodních toků. Dostupné z: <https://ea-gri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/tematicky-prehled/100053393.html> navštíveno dne 25.8.2022.
 59. Ebert T. A., Dixon J. D., Schroeter S. C., Kalvass P. E., Richmond N. T., Bradbury W. A., Woodby D. A., **1999**. Growth and mortality of red sea urchins *Strongylocentrotus franciscanus* across a latitudinal gradient. *Marine Ecology Progress Series*, 190, 189-209.
 60. Eybe T., Thielen F., Bohn T., Sures B., **2013**. The first millimetre-rearing juvenile freshwater pearl mussels (*Margaritifera margaritifera* L.) in plastic boxes. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 23(6), 964-975.
 61. Farkač J., Král D., Škorpík M., **2005**. Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Bezobratlí. Agentura ochrany přírody a krajiny ČR, Praha, 73.
 62. Ferreira-Rodríguez N., Akiyama Y. B., Aksenova O. V., Araujo R., Barnhart M. C., Bernal Y. V., ... & Vaughn, C. C., **2019**. Research priorities for freshwater mussel conservation assessment. *Biological Conservation*, 231, 77-87.
 63. Fiori S. M., Morsán E. M., **2004**. Age and individual growth of *Mesodesma mactroides* (Bivalvia) in the southernmost range of its distribution. *ICES Journal of Marine Science*, 61(8), 1253-1259.
 64. Flasar I., **1992**. Frühere Verbreitung der Flußperlmuschel (*Margaritifera margaritifera* (L.)) im Friedländer Gebiet in Nordböhmen (Eulamellibranchiata: Margaritiferidae). *Malakologische Abh.*, 16, 83-87.
 65. Frankenberger Z., **1910**. Měkkýší fauna Šumavy. – Věstník Klubu přírodovědeckého v Prostějově, 13: 1–24.

-
66. Fujikura K., Okoshi K., Naganuma T., **2003**. Stroncium jako marker pro odhad mikroskopických rychlostí růstu u mlžů. *Marine Ecology Progress Series*, 257, 295-301.
 67. Gage J. D., **2003**. Growth and production of *Ophiocten gracilis* (Ophiuroidea: Echinodermata) on the Scottish continental slope. *Marine Biology*, 143(1), 85-97.
 68. Gärdenfors U., **2010**. Red List of Swedish Species. Artdatabanken, SLU, Uppsala (in Swedish).
 69. Geist J., Kuehn R., **2005**. Genetic diversity and differentiation of central European freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera* L.) populations: implications for conservation and management. *Molecular Ecology*, 14(2), 425-439.
 70. Geist J., Auerswald K., Boom A., **2005**. Stable carbon isotopes in freshwater mussel shells: environmental record or marker for metabolic activity?. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 69(14), 3545-3554.
 71. Geist J., Auerswald K., **2007**. Physicochemical stream bed characteristics and recruitment of the freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*). *Freshwater biology*, 52(12), 2299-2316.
 72. Geist J., **2010**. Strategies for the conservation of endangered freshwater pearl mussels (*Margaritifera margaritifera* L.): a synthesis of conservation genetics and ecology. *Hydrobiologia*, 644(1): 69-88.
 73. Gendron L., Sainte-Marie B., **2006**. Growth of juvenile lobster *Homarus americanus* off the Magdalen Islands (Quebec, Canada) and projection of instar and age at commercial size. *Marine Ecology Progress Series*, 326, 221-233.
 74. Głowaciński Z. Nowacki J., **2004**. Polish Red Data Book. Invertebrates. Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego and Instytut Ochrony Przyrody PAN, Poland (in Polish).
 75. Ghent A.W., Singer R., Johnson-Singer L., **1978**. Depth distributions determined with SCUBA, and associated studies of the freshwater unionid clams *Elliptio complanata* and *Anodonta grandis* in Lake Bernard, Ontario. *Can. J. Zool.* 56: 1654–1663.
 76. Gordillo S., Bayer M. S., Boretto G., Charó M., **2014**. Mollusk shells as bio-geoarchives. Evaluating environmental changes during the Quaternary. Springer, 78 s. ISBN: [978-3319034751](#)
 77. Gosling E., **2004**. Bivalve molluscs: biology, ecology and culture. John Wiley & Sons, 455 s. ISBN: [978-1-405-14757-6](#)
 78. Gosling E., **2015**. Marine bivalve molluscs. 2nd edition. John Wiley & Sons. 536 s. ISBN: [978-0-470-67494-9](#)
 79. Green B. S., Mapstone B. D., Carlos G., Begg G. A., (Eds.), **2009**. Tropical fish otoliths: information for assessment, management and ecology (Vol. 11). Springer Science & Business Media. ISBN: [978-1-4020-5775-5](#)
 80. Gum B., Lange M., Geist J., **2011**. A critical reflection on the success of rearing and culturing juvenile freshwater mussels with a focus on the endangered freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera* L.). *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 21(7), 743-751.
 81. Haag W. R., Commens-Carson A. M., **2008**. Testing the assumption of annual shell ring deposition in freshwater mussels. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 65(3), 493-508.
 82. Haag W. R., **2012**. North American freshwater mussels: natural history, ecology, and conservation. Cambridge University Press, 505s. ISBN: [978-0-521-19938-4](#)

-
83. Harper E. M., **1994**. Are conchiolin sheets in corbulid bivalves primarily defensive? *Palaeontology*, 37(3), 551-578.
 84. Hartnoll R. G., **1982**. Growth. In Bliss, D. E. & L. G. Abele (eds.), *The Biology of Crustacea*, 2, Embryology, Morphology and Genetics. Academic Press, New York: 111–196.
 85. Hartnoll R. G., **2001**. Growth in Crustacea—twenty years on. In *Advances in decapod Crustacean research* (pp. 111-122). Springer, Dordrecht.
 86. Hastie L. C., Young M. R., Boon P. J., **2000**. Growth characteristics of freshwater pearl mussels, *Margaritifera margaritifera* (L.). *Freshwater Biology*, 43(2): 243-256.
 87. Hastie L. C., Cooksley S. L., Scougall F., Young M. R., Boon P. J., Gaywood M. J., **2004**. Applications of extensive survey techniques to describe freshwater pearl mussel distribution and macrohabitat in the River Spey, Scotland. *River Research and applications*, 20(8), 1001-1013.
 88. Hawkins A. J. S., Hilbish, T. J., **1992**. The costs of cell volume regulation: protein metabolism during hyperosmotic adjustment. *Journal of the marine biological association of the United Kingdom*, 72(3), 569-578.
 89. Hebert P. D., Wilson C. C., Murdoch M. H., Lazar R., **1991**. Demography and ecological impacts of the invading mollusc *Dreissena polymorpha*. *Canadian Journal of Zoology*, 69(2), 405-409.
 90. Helfman G.S., Collette B.B., Facey D.E., Bowen B.W., **2009**. *The diversity of fishes: biology, evolution, and ecology*. Oxford, 720 s. ISBN: [978-1-4051-2494-2](#)
 91. Helama S., Valovirta I., **2007**. Shell morphometry, pre-mortal taphonomy and ontogeny-related growth characteristics of freshwater pearl mussel in northern Finland. In *Annales Zoologici Fennici*, 44: 285-302.
 92. 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.
 93. Holečková K., **2018**. Odhad věku a přírůstků lastur perlorodky říční (*Margaritifera margaritifera*). České Budějovice, diplomová práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Zemědělská a technologická fakulta, 75s.
 94. Horáčková J., Ložek V., Beran L., Juříčková L., Podroužková Š., Peterka J., Čech M., **2014**. Měkkýši údolí Vltavy (Čechy). *Malacologica Bohemoslovaca*.
 95. Howard J.K., Cuffey K.M., **2006**. Factors controlling the age structure of *Margaritifera falcata* in 2 northern California streams. *J. North Am. Benthol. Soc.* 25: 677–690.
 96. Hörmann L., Maier G., **2006**. Do zebra mussels grow faster on live unionids than on inanimate substrate? A study with field enclosures. *International Review of Hydrobiology*, 91(2), 113-121.
 97. Hruška J., **1982**. Návrh aktivních opatření k ochraně genofondu perlorodky říční na Blanici. KSSPPOP České Budějovice. 5 pp.
 98. Hruška J., **1991**. Projekt: Záchrana perlorodky říční v České republice [Project Rescue of freshwater pearl mussel in Czech republic]. *Památky a Příroda*, 16, 545-548.
 99. Hruška J., **1996**. Záchrana perlorodky říční v Národním parku Šumava. Závěrečná zpráva, NP Šumava, Vimperk, 7 pp.
 100. Hruška J., **1998**. Záchrana genofondu oligotrofních vod v ČR metodou aktivní ochrany biotopu a populace perlorodky říční a Realizace projektu komplexní péče

-
- o NNP Blanice – hydrologický rok 1997-1998. Výsledná zpráva programu Margaritifera.
101. Hruška J., **2003**. Komplexní vyhodnocení vlivu povodně na přírodu a krajinu – Záchranný program perlorodky říční – Hodnocení vlivu povodně v roce 2002 na biotop a populaci perlorodky říční na horním toku řeky Blanice nad vodní nádrží Husinec. [A comprehensive evaluation of the impact of floods on nature and landscape – Action plan for endangered freshwater pearl mussel in Czech Republic – Evaluation of impact of the floods in 2002 on the habitat and population of freshwater pearl mussels in the upper reaches of the Blanice River upstream the Husinec reservoir]. AOPK ČR Praha: 23 pp. (in Czech). (deposited in the Nature Conservation Agency of the Czech Republic).
 102. Hruška J., **2005**. Záchranný program perlorodky říční v modelovém území Blanice a Zlatý potok – závěrečná zpráva za hydrologický rok 2003–2004. – Ms., AOPK ČR, Praha, 17 pp.
 103. Hruška J., **2005**. Perlorodka říční (*Margaritifera margaritifera* L.) na Zlatém potoce – stav populace v roce 2005. [The freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera* L.) in the Zlatý Potok stream – the population state in 2005]. AOPK ČR Praha: 29 pp. (in Czech). (deposited in Nature Conservation Agency of the Czech Republic, Praha).
 104. Hunter R. D., Bailey J. F., **1992**. *Dreissena polymorpha* (zebra mussel): colonization of soft substrata and some effects on unionid bivalves. The Nautilus (Philadelphia, PA), 106(2), 60-67.
 105. Chamberlain T.K., **1931**. Annual growth of fresh-water mussels. US Bureau of Fisheries, Washington, D.C. Doc. 1103. (Also published in 1930 as Bull. U.S. Bur. Fish. 46: 713–739.).
 106. Jenke J., **2002**. A guide to good otolith cutting. Department of Fisheries, Government of Western Australia.
 107. Jensen M., **1969**. Age determination of echinoids. Sarsia, 37(1), 41-44.
 108. Jokela A., Ricciardi A., **2008**. Predicting zebra mussel fouling on native mussels from physicochemical variables. Freshwater Biology, 53(9), 1845-1856.
 109. Ju S. J., Secor D. H., Harvey H. R., **1999**. Use of extractable lipofuscin for age determination of blue crab *Callinectes sapidus*. Marine Ecology Progress Series, 185, 171-179.
 110. Kat P. W., **1983**. Conchiolin layers among the Unionidae and Margaritiferidae (Bivalvia): microstructural characteristics and taxonomic implications. Malacologia, 24(1-2), 298-311.
 111. Kålås J. A., Viken Å., Henriksen S. Skjelseth S., **2010**. Norwegian Red List of Species. Norwegian Biodiversity Information Centre.
 112. Kesler D., Downing J., **1997**. Internal shell annuli yield inaccurate growth estimates in the freshwater mussels *Elliptio complanata* and *Lampsilis radiata*. Freshwater Biology, 37(2), 325-332.
 113. Khan M. A., Khan S., **2009**. Comparison of age estimates from scale, opercular bone, otolith, vertebrae and dorsal fin ray in *Labeo rohita* (Hamilton), *Catla catla* (Hamilton) and *Channa marulius* (Hamilton). Fisheries Research, 100(3), 255-259.
 114. Kilada R., Sainte-Marie B., Rochette R., Davis N., Vanier C., Campana S., **2012**. Direct determination of age in shrimps, crabs, and lobsters. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 69(11), 1728-1733.

-
115. Kilada R., Acuña E., **2015**. Direct age determination by growth band counts of three commercially important crustacean species in Chile. *Fisheries Research*, 170, 134-143.
116. Kilada R., Ibrahim N. K., **2016**. Preliminary investigation of direct age determination using band counts in the gastric mill of the blue swimmer crab (*Portunus pelagicus*) in two salt-water lakes in the Eastern Mediterranean. *Journal of Crustacean Biology*, 36(2), 119-128.
117. Kilada R., Driscoll J. G., **2017**. Age determination in crustaceans: a review. *Hydrobiologia*, 799(1), 21-36.
118. Kilada R., Reiss C. S., Kawaguchi S., King R. A., Matsuda T., Ichii T., **2017**. Validation of band counts in eyestalks for the determination of age of Antarctic krill, *Euphausia superba*. *PLoS One*, 12(2), e0171773.
119. King M., **2013**. Fisheries biology, assessment and management. John Wiley & Sons. 2nd ed. Blackwell Publishing. 405 s. ISBN: [9781405158312](#)
120. Kolařík J., **2010**. Péče o dřeviny rostoucí mimo les. ČSOP. ISBN: [978-80-86327-85-3](#)
121. Kozák P., Ďuriš Z., Petrušek A., Buřič M., Horká I., Kouba A., Kozubíková E., Polícar T., **2014**. Biologie a chov raků. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. České Budějovice. 418 s. ISBN: [978-80-87437-42-1](#)
122. Krafft B. A., Kvalsund M., Søvik G., Farestveit E., Agnalt A. L., **2016**. Detection of growth zones in the eyestalk of the Antarctic krill *Euphausia superba* (Euphausiacea). *Journal of Crustacean Biology*, 36(3), 267-273.
123. Laenko T. M., **2006**. The Red Book of the Republic of Belarus. Ministry of Natural Resources and Environmental Protection of the Republic of Belarus, Minsk (in Belarusian).
124. Larsen B. M., **2001**. Overvåking av elvemusling *Margaritifera margaritifera* i Norge, Årsrapport 2000. – NINA Oppdragsmelding 725: 1–43.
125. Larsen B. M., **2005**. Handlingsplan for elvemusling *Margaritifera margaritifera* i Norge. Innspill til den faglige delen av handlingsplanen. NINA rapport.
126. Laudien J., Brey T., Arntz W. E., **2003**. Population structure, growth and production of the surf clam *Donax serra* (Bivalvia, Donacidae) on two Namibian sandy beaches. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 58, 105-115.
127. Lehmann S., **1998**. Vergleiche an Perlbächen im Bayerischen Wald. - Unveröffentlichtes Manuskript zu einem Vortrag auf der Veranstaltung „Erhaltung und Wiederansiedlung der Flußperlmuschel“.
128. Leland J. C., Coughran J., Bucher D. J., **2011**. A preliminary investigation into the potential value of gastric mills for ageing crustaceans. In *New frontiers in crustacean biology* (pp. 57-68). Brill.
129. Leland J. C., Bucher D. J., Coughran J., **2015**. Direct age determination of a subtropical freshwater crayfish (redclaw, *Cherax quadricarinatus*) using ossicular growth marks. *PloS one*, 10(8), e0134966.
130. Lewandowski K., **1976**. Unionidae as a substratum for *Dreissena polymorpha* Pall.
131. Logsdon D. E., Pittman B. J., Barnard G. C., **2004**. Oxytetracycline marking of newly hatched walleye fry. *North American Journal of Fisheries Management*, 24(3), 1071-1077.
132. Lomovasky B. J., Morriconi E., Brey T., Calvo J., **2002**. Individual age and connective tissue lipofuscin in the hard clam *Eurhomalea exalbida*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 276(1-2), 83-94.

-
133. Lopes-Lima M., Sousa R., Geist J., Aldridge D. C., Araujo R., Bergengren J., ... Zogaris S., **2017**. Conservation status of freshwater mussels in Europe: state of the art and future challenges. *Biological reviews*, 92(1), 572-607.
134. Mackie G. L., **1991**. Biology of the exotic zebra mussel, *Dreissena polymorpha*, in relation to native bivalves and its potential impact in Lake St. Clair. *Hydrobiologia*, 219(1), 251-268.
135. 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(1), 41-47.
136. Másílko J., **2009**. Ekologie perlorodky říční (*Margaritifera margaritifera* L.) a vyhodnocení její úmrtnosti na lokalitách v České republice. České Budějovice, diplomová práce. JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH. Zemědělská fakulta, 56s.
137. Matasová K., Simon O. P., Dort B., Douda K., Bílý M., **2013**. Recent distribution of freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*) at historical localities in the upper part of the Vltava River basin (Czech Republic). *Silva Gabreta*, 19(3), 139-148.
138. McDougall C., Degan B. M., **2018**. The evolution of mollusc shells. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*, 7(3), e313.
139. Miguel E. S., Monserrat S., Fernández C., Amaro R., Hermida M., Ondina P., Altaba C. R., **2004**. Growth models and longevity of freshwater pearl mussels (*Margaritifera margaritifera*) in Spain. *Canadian Journal of Zoology*, 82(8), 1370-1379.
140. Moog O., Neseemann H., Ofenboeck T., Stundner C., **1995**. The situation of the freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*) in Austria.]. *Artenschutz report*, (4), 1-3.
141. Morales J. J., Negro A. I., Lizana M., Martinez A., Palacios J., **2004**. Preliminary study of the endangered populations of pearl mussel *Margaritifera margaritifera* (L.) in the River Tera (north-west Spain): habitat analysis and management considerations. *Aquatic conservation: marine and freshwater ecosystems*, 14(6), 587-596.
142. Motte G., **2012**. Life nature project Nature/B/8590 Final report 2012, art 17.
143. Mutvei H., Westermarck T., **2001**. How environmental information can be obtained from Naiad shells. In *Ecology and evolution of the freshwater mussels Unionoida* (pp. 367-379). Springer, Berlin, Heidelberg.
144. Neves R. J., Moyer S. N., **1988**. Evaluation of techniques for age determination of freshwater mussels (Unionidae). *American Malacological Bulletin*. 6 (2): 179-188.
145. Negus C. L., **1966**. A quantitative study of growth and production of unionid mussels in the River Thames at Reading. *The Journal of animal ecology*, 513-532.
146. Nevez R., Moyer S., **1988**. Evaluation of techniques for age determination of freshwater mussels (Unionidae). *American Malacological Bulletin*, 6(2), 179 – 188.
147. NP Šumava, **2022**. Populace kriticky ohrožené perlorodky říční se na Šumavě navýší o tisíce | Národní park Šumava | Správa parku a chráněné krajinné oblasti [online]. Dostupné z: <https://www.npsumava.cz/populace-kriticky-ohrozene-perlorodky-ricni-se-na-sumave-navysi-o-tisice/> navštíveno dne 23.8.2022.
148. Oh C. W., Hartnoll R. G., Nash R. D. M., **1999**. Population dynamics of the common shrimp, *Crangon crangon* (L.), in port Erin Bay, Isle of Man, Irish Sea. *ICES Journal of Marine Science*, 56(5), 718-733.

-
149. Oliver G., **2000**. Conservation objectives for the freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*). Report for English Nature, Peterborough.
150. Outeiro A., Ondina P., Fernandez C., Amaro R., Miguel E. S., **2008**. Population density and age structure of the freshwater pearl mussel, *Margaritifera margaritifera*, in two Iberian rivers. *Freshwater Biology*, 53(3), 485-496.
151. Panfili J., Pontual H., Troadec H., Wright P. J., **2002**. Manual of fish sclerochronology. Brest, France: Ifremer-I.R.D. coedition. 464 s. ISBN: 2-7099-1490-5
152. Patzenhauerová H., Spisar O., Bryja J., **2011**. Perlorodka říční - mlž na rozcestí. *Živa*. Praha: Academia, 59(2), 80-81.
153. Pflieger V., **1988**. Měkkýši. Artia, Praha. 191 s. ISBN: 37-003-88
154. Pivnička K., **2002**. Aplikovaná ekologie: dlouhodobá udržitelnost rybářské, zemědělské a lesnické produkce. Karolinum, 185s. ISBN: 80-246-0599-6
155. Prié V., Soler J., Araujo R., Cucherat X., Philippe L., Patry N., Adam B., Legrand N., Jugé P., Richard N., Wantzen, K. M., **2018**. Challenging exploration of troubled waters: a decade of surveys of the giant freshwater pearl mussel *Margaritifera auricularia* in Europe. *Hydrobiologia*, 810(1), 157-175.
156. Půbalová L., **2017**. Morfologie lastur perlorodky říční (*Margaritifera margaritifera*). Diplomová práce JČU v Českých Budějovicích. 62 s.
157. Rassi P., Hyvärinen E., Juslén A., Mannerkoski I., **2010**. Red List of Finnish Species. Ministry of the Environment and Finnish Environment Institute, Helsinki (in Finnish).
158. Reis J., **2003**. The freshwater pearl mussel [*Margaritifera margaritifera* (L.)](Bivalvia, Unionoida) rediscovered in Portugal and threats to its survival. *Biological Conservation*, 114(3), 447-452.
159. Reischütz A., Reischütz, L. P., **2007**. Austria red list of molluscs. In Red List of Endangered Animals of Austria (part 2; eds K. P. Zulka), pp. 363–433. Böhlau Verlag, Wien (in German).
160. Ricciardi A., Whoriskey F. G., Rasmussen J. B., **1996**. Impact of the (*Dreissena*) invasion on native unionid bivalves in the upper St. Lawrence River. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53(6), 1434-1444.
161. Richardson C. A., **1989**. An analysis of the microgrowth bands in the shell of the common mussel *Mytilus edulis*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 69(2), 477-491.
162. Richardson C. A., **2001**. Molluscs as archives of environmental change. *Oceanography and marine biology: an annual review*, 39: 103-164.
163. Rudzīte M., **2004**. Distribution of the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* (Linnaeus 1758) in Latvia *argaritifera* in relation to water quality. *Acta Universitatis Latviensis*, 676, 79-85.
164. Rudzīte M., **2005**. Assessment of the condition of freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* (Linnaeus 1758) populations in Latvia. *Acta Universitatis Latviensis*, 691, 121-128.
165. Růžicková M., **2008**. Zprůvoznění odstaveného ramene Blanice. Významná stavba perlorodky říční. Ochrana přírody, AOPK ČR.
166. Rybníček M., **2007**. Dendrochronologické datování dřevěných částí historických staveb, archeologických vzorků a výrobků ze dřeva – sestavení národní dubové standardní chronologie (Building of the oak standard chronology for the Czech Republic) (Doctoral dissertation, Disertační práce, MZLU v Brně: 111pp (in Czech)).
167. Sachtleben J., **2004**. Leitfaden Flussperlmuschelschutz. Bayer. Landesamt für Umweltschutz.

-
- 168.Sano M., Omori M., Taniguchi K., Seki T., **2001**. Age distribution of the sea urchin *Strongylocentrotus nudus* (A. Agassiz) in relation to algal zonation in a rocky coastal area on Oshika Peninsula, northern Japan. *Fisheries science*, 67(4), 628-639.
- 169.Secor D. H., White M. G., Dean J. M., **1991**. Immersion marking of larval and juvenile hatchery-produced striped bass with oxytetracycline. *Transactions of the American Fisheries Society*, 120(2), 261-266.
- 170.Seddon M. B., Killeen I. J., Fowles A. P., **2014**. A Review of the Non-Marine Mollusca of Great Britain: Species.
- 171.Sheehy M. R. J., **1990**. Potential of morphological lipofuscin age-pigment as an index of crustacean age. *Marine Biology*, 107(3), 439-442.
- 172.Sheehy M. R. J., **2002**. A flow-cytometric method for quantification of neurolipofuscin and comparison with existing histological and biochemical approaches. *Archives of gerontology and geriatrics*, 34(3), 233-248.
- 173.Sheridan M., Officer R., O'Connor I., Lordan C., **2015**. Investigating the feasibility of using growth increments for age determination of Norway lobster (*Nephrops norvegicus*) and brown crab (*Cancer pagurus*). *Journal of Crustacean Biology*, 35(4), 495-498.
- 174.Schloesser D. W., Kovalak W. P., **1991**. Infestation of unionids by *Dreissena polymorpha* in a power plant canal in Lake Erie. *Journal of Shellfish Research*, 10(2), 355-359.
- 175.Schloesser D. W., Nalepa T. F., Mackie G. L., **1996**. Zebra mussel infestation of unionid bivalves (Unionidae) in North America. *American zoologist*, 36(3), 300-310.
- 176.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(1-2): 149-166.
- 177.Schmidt C., Vandr  R., **2012**. Do signal crayfish *Pacifastacus leniusculus* harm freshwater pearl mussels? Some field observations. *Aquatic conservation with focus on *Margaritifera margaritifera**. *Karlstad University Studies*, 40, 171-183.
- 178.Schneider J. C., Laarman P. W., Gowing H., Gowing H., **2000**. Age and growth methods and state averages.
- 179.Simon O., Kladivov V., **2006**. Vyzkum změn pokryvnosti makrofyt na Tepl Vltav v turisticky zatezovan části toku. – In: Mekotov J., Štěrba O., (eds), sborník prispěvk z konference Řıční krajina 4, PřF UP Olomouc, 18. řıjna 2006: 96–104.
- 180.Simon O. P., Vanıckov I., Bıly M., Douda K., Patzenhauerov H., Hruška J., Peltanov A., **2015**. The status of freshwater pearl mussel in the Czech Republic: several successfully rejuvenated populations but the absence of natural reproduction. *Limnologia*, 50, 11-20.
- 181.Simon O., Tich K., Rambouskov K., Bıly M., ˇCern M., Dort B., Horckov J., Hruška J., Kladivov V., Švanyga J., Vydrov A., **2018**. Metodika podpory perlorodky řıční (*Margaritifera margaritifera*). Vyzkumny ustav vodohospodarsky TG Masaryka, ISBN: 978-80-87402-64-1 (on-line).
- 182.Simon O.P., Horckov J., **2021**. Co nam prozrazuje vymırnı perlorodky řıční o nasich oligotrofnıch řekch? *Živa* 5: 243-247.
- 183.Skokanov H., Havlıcek M., Borovec R., Demek J., Eremiasov R., Chrudina Z., Mackovcin P., Ryskov R., Slavık P., Stransk T., Svoboda J., **2012**. Development of land use and main land use change processes in the period 1836–2006: case study in the Czech Republic. *Journal of maps*, 8(1), 88-96.

-
184. Slavík A., **1868**. Monografie českých měkkýšů zemských i sladkovodních. – Archiv pro přírodovědné prozkoumání Čech, Praha, 1(4): 79–135.
185. Slezáková J., Volf O., **2016**. Studie proveditelnosti revitalizace toků významných pro perlorodku říční. Fórum ochrany přírody. Dostupné z: http://perlorodka.nkovsky.cz/downloads/1461855688_0_8-studie-proveditelnosti-revitalizace-toku-vyznamnych-pro-perlorodku-ricni.pdf navštíveno dne 25.8.2022.
186. Smrž J., **2013**. Základy biologie, ekologie a systému bezobratlých živočichů. Karolinum. 82 – 84 s. ISBN: 978-80-246-2990-2
187. Sousa R., Amorim Â., 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(5): 1230-1238.
188. Sousa R., Amorim Â., Froufe E., Varandas S., Teixeira A., Lopes-Lima M., **2015**. Conservation status of the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* in Portugal. *Limnologica*, 50, 4-10.
189. Spisar O., Simon O., **2006**. Revitalizace Zbytinského potoka ve vztahu k populaci perlorodky říční v NPP Blanice. In: Měkotová, J., Štěrba, O. (Eds.) Říční krajina 4, 284–291.
190. Spisar O., **2009**. Revitalizační studie Lužní potok – Závěrečná zpráva pro AOPK ČR.
191. Spisar O., **2010**. Závěrečná zpráva – Monitoring 2010 – Záchranný program perlorodky říční v České republice. [Final report – Monitoring 2010 – Action plan for endangered freshwater pearl mussel in Czech Republic]. Ms., unpublished report, 18 pp. (in Czech). (deposited in the Nature Conservation Agency of the Czech Republic, Praha).
192. Spisar O., **2012a**. Inventarizace populace perlorodky říční v EVL Šumava. Depon. Archiv Krajského úřadu Jihočeského kraje. 36 pp.
193. Spisar O., **2012b**. Inventarizace populace perlorodky říční v EVL Horní Malše. Depon. Archiv Krajského úřadu Jihočeského kraje. 36 pp.
194. Spisar O., **2012c**. Monitoring 2012. Závěrečná zpráva. Depon. Archiv AOPK ČR. Praha, 40 pp.
195. Spisar O., **2012d**. Untersuchung der Flussperlmuschelpopulation (*Margaritifera margaritifera*) in dem Einzugsgebiet der Regnitz, Abschlussbericht für die Jahre 2011 und 2012. Depon. Archiv Bund-Naturschutz. Hof. Německo, 59 pp.
196. Spisar O., **2013**. Polopřirozený chov perlorodek říčních (*Margaritifera margaritifera*) a studium jejich nutričních požadavků. Disertační práce JČU v Českých Budějovicích. 94 s.
197. Spuris Z., **1998**. Red Data Book of Latvia, Rare and Threatened Species of Plants and Animals, Invertebrates (Volume 4). LU Bioloimageijas institūts, Rīga (in Latvian).
198. Stevenson D. K., Campana S. E., **1992**. Otolith microstructure examination and analysis. Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences 117: 126 p. ISBN: 0-660-14747-5
199. Strack E., **2015**. European freshwater pearls: part 1-Russia. *J. Gemmol*, 34, 580-92.
200. Stump R. J. W., Lucas J. S., **1990**. Linear growth in spines from *Acanthaster planci* (L.) involving growth lines and periodic pigment bands. *Coral Reefs*, 9(3), 149-154.

-
201. Sun J., Hamel J. F., Gianasi B. L., Mercier A., **2019**. Age determination in echinoderms: first evidence of annual growth rings in holothuroids. *Proceedings of the Royal Society B*, 286(1906), 20190858.
202. Tang F., Minch T., Dinning K., Martyniuk C. J., Kilada R., Rochette R., **2015**. Size-at-age and body condition of juvenile American lobsters (*Homarus americanus*) living on cobble and mud in a mixed-bottom embayment in the Bay of Fundy. *Marine Biology*, 162(1), 69-79.
203. 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.
204. The IUCN Red List of Threatened Species. Dostupné z: [<http://www.iucnredlist.org/>]. Navštíveno dne **26. 2. 2022**.
205. 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.
206. van der Geest M., van Gils J. A., van der Meer J., Olf H., Piersma T., **2011**. Suitability of calcein as an in situ growth marker in burrowing bivalves. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 399(1), 1-7.
207. Velasco Marcos J. C., Araujo R., Bueno Hernández R., Laguna Gumiel A., **2002**. Descubierta la población europea más meridional conocida de la madreperla de río *Margaritifera margaritifera* L. (Bivalvia, Unionoida), en la Península Ibérica (Río Águeda, Salamanca).
208. Verdú J. Y. G. Galante E. E., **2006**. Spanish Red Book of Invertebrates. Dirección General Biodiversidad, Ministerio de Medio Ambiente, Madrid (in Spanish).
209. Wanamaker Jr. A. D., Baker A., Butler P. G., Richardson C. A., Scourse J. D., Ridgway I., Reynolds D. J., **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(9): 673-681.
210. Williams J. D., Butler R. S., Warren G. L., Johnson N. A., **2014**. *Freshwater mussels of Florida*. University of Alabama Press. 523s. ISBN: [978-0-8173-8779-2](https://doi.org/10.1017/9780817387792)
211. Wilson Ch. A., Beckman D. W., Dean J. M., **2011**. Calcein a fluorescent marker of otoliths of larval and juvenile fish. *Transactions of the American Fisheries Society*, 116(4), 668 – 670.
212. Young M. R., Cosgrove P. J., Hastie L. C., **2001**. The extent of, and causes for, the decline of a highly threatened naiad: *Margaritifera margaritifera*. In *Ecology and evolution of the freshwater mussels Unionoida* (pp. 337-357). Springer, Berlin, Heidelberg.
213. Zhang C., Zhang R., **2006**. Matrix proteins in the outer shells of molluscs. *Marine Biotechnology*, 8(6), 572-586.

Seznam obrázků

- Obr. 1.1.** Stav perlorodky říční za posledních 200 let ovlivněný znečištěním a regulací toků na českém území (převzato ze Simon et al., 2018).
- Obr. 1.2.** Historické a současné rozšíření perlorodky říční v České republice. První skupina rozdělena pro lepší geografickou orientaci (převzato ze Simon et al., 2015 a upraveno autorem).
- Obr. 1.3.** Detailní přehled úbytku areálu perlorodky říční na jihozápadní části povodí Vltavy od roku 1850 do roku 2013. Přítomnost jedinců označují černě vyznačené čáry a body. Trojúhelníky označují vybudované přehradní nádrže (Římov, Husinec, Kořensko, Hněvkovice a Homole.; převzato ze Simon et al., 2015 a upraveno autorem).
- Obr. 1.4.** Rozšíření perlorodky říční na evropském kontinentu. Zelené kroužky označují výskyt perlorodky říční s potvrzenou reprodukcí; bílé kroužky populace s nepotvrzenou reprodukcí; modré trojúhelníky označují poslední výskyty perlorodky velké (*M. auricularia*) a otazníky označují nejasné místa a oblasti výskytu. Černá čára vyznačuje jižní hranici výskytu perlorodky říční (převzato z Geist, 2010 a upraveno autorem).
- Obr. 1.5.** Vnější a vnitřní faktory pro hodnocení stavu a zachování populací sladkovodních mlžů (převzato z Ferreira-Rodríguez et al., 2019 a upraveno autorem).
- Obr. 1.6.** Dorzální (shora) pohled na lasturu mlže. V pravém rohu pohled laterální (boční): A – přední část lastury; B – zadní část lastury; A-B – délka lastury; C-D – šířka lastury; E-F – výška lastury; 1 – levá miska; 2 – pravá miska; 3 – vrchol (umbo); 4 – ligament (převzato z Pflieger, 1988 a upraveno autorem).
- Obr. 1.7.** Laterální pohled na lasturu perlorodky říční (věk 26+ let) s erodovaným vrcholem (umbo; označeno obdélníkem; Foto: Autor).
- Obr. 1.8.:** Základní vrstvy lastury – nejsvrchnější konchiolinová vrstva (periostracum); prizmatická vrstva (ostracum); perleťová vrstva (hypostracum) a znázorněné přírůstkové linie a oblast vrcholu lastury – umbo (převzato z Carroll et al., 2006 a upraveno autorem).
- Obr. 1.9.** Vrstvy lastury na řezu lastury perlorodky říční; foceno pod mikroskopem při zvětšení 40x (10 x 4) (Foto: Autor).
- Obr. 1.10.** Mechanicky (hydroxidem sodným) odstraněná vrstva periostracum a zviditelnění přírůstkových vrstev (Foto: Autor).
- Obr. 1.11.** Řez otolitem ryby (převzato ze Secor et al., 1991 a upraveno autorem).
- Obr. 1.12.** **Vlevo:** Řez stoličkou jelena evropského, v šestém roce života (převzato z Bádr, 2018); **Vpravo:** Řez stoličkou divokého prasete, v desátém roce života (první dvě jsou obroušené; převzato z Bádr, 2012).
- Obr. 1.13. vlevo:** Růstové pásy označené tečkami v příčném řezu žaludečních kůstek humra severského (*Nephrops norvegicus*; převzato ze Sheridan et al., 2015); **vpravo:** Růstové pásy označené tečkami v příčném řezu žaludečních kůstek raka červenoklepetého (*Cherax quadricarinatus*; převzato z Leland et al., 2015 a upraveno autorem).
- Obr. 1.14.** Vápenaté destičky z volně žijících jedinců sumýše *Psolus fabricii*. Kroužky označené tečkami znázorňují jednotlivé roky. **A:** 4 kroužky; **B:** 10 kroužků; **C:** 12 kroužků a **D:** 28 kroužků. Měřítka v pravém dolním rohu představuje 200 μm; převzato ze Sun et al., 2019).
- Obr. 1.15.** Vápenaté struktury hlavonožců. **A:** Řez čelistmi chobotnice pobřežní (*Octopus vulgaris*); **B:** Řez styletem chobotnice bledé (*Octopus pallidus*) 400x

-
- zvětšený; **C:** Dvojice obrázků řezu statolitem chobotnice *Doryteuthis gahi* s detailem na denní přírůstky; převzato ze Arkhipkin et al., 2018).
- Obr. 1.16.** Znázornění letokruhů na řezu kmene smrku (Foto: Irena Šetlíková).
- Obr. 3.1.** Mapa s vyznačeným Pekelským potokem (převzato z www.mapy.cz a upraveno autorem).
- Obr. 3.2.** Mapa s vyznačeným tokem Rokytnice (pouze na území ČR; převzato z www.mapy.cz a upraveno autorem).
- Obr. 3.3.** Mapa s vyznačeným tokem Ilz (převzato z www.mapy.cz a upraveno autorem).
- Obr. 3.4.** Skupina mapek čtyř hlavních toků v povodí řeky Ilz. **A:** Kleine Ohe; **B:** Grosse Ohe; **C:** Wolfsteiner Ohe; **D:** Obere Ranna (převzato z www.mapy.cz a upraveno autorem).
- Obr. 3.5.** Mapa s vyznačeným tokem Our (převzato z www.mapy.cz a upraveno autorem).
- Obr. 3.6.** Mapa s vyznačeným tokem Metzlersreuther Bach (převzato z www.mapy.cz a upraveno autorem).
- Obr. 3.7.** Prvotní zpracování lastur – **Vlevo:** Vzorky v mikroskopu; **Vpravo:** Vysušené vzorky na Petriho misce (Foto: Autor).
- Obr. 3.8.** Zvýrazněná délka, výška a místo řezu na dvouleté lastuře perlorodky říční (Foto: Autor).
- Obr. 3.9.** Uložení misky lastury do komůrek gumové formičky (28 x 15 cm) pro zalití pryskyřicí (Foto: Autor).
- Obr. 3.10.** Popis bločku se vzorkem a označením místa uchycení plátku pro snadné odlomení (označeno čtvercem; Foto: Autor).
- Obr. 3.11.** Řezání vzorků – **Vlevo:** Diamantová pila Buehler isomet low speed saw; **Vpravo:** Popsané nařezané bločky (Foto: Autor).
- Obr. 3.12.** Přípevňování vzorků na podložní sklíčko pomocí termostatické pryskyřice – **Vlevo:** Termostatická pryskyřice v pevném skupenství; **Vpravo:** Plotýnka s podložními sklíčky a rozehřátou pryskyřicí (Foto: Autor).
- Obr. 3.13.** Diamantová pasta DIMAPA 0,25 mikronu na vyleštění povrchu řezu (Foto: Autor).
- Obr. 3.14.** Ultrazvuková lázeň Kraintek K-9IE na odstranění jemných nečistot (Foto: Autor).
- Obr. 3.15.** – **Vlevo:** Skleněné nádobky na barvení objektů na podložních sklíčkách; **Vpravo:** Magnetická míchačka (RCT basic IKAMAG safety control) se skleněnými nádobkami na barvení uloženými ve vodní lázni (40 °C) pro snazší udržení teploty (Foto: Autor).
- Obr. 4.1.** – Obarvený řez nejstarší 26+ leté lastury. Na obrázku je zvýrazněno všech 26 přírůstkových linií. Zvětšeno 10x (Foto: Autor).
- Obr. 4.2.** – Obarvený řez lasturou 2+ staré lastury. Na obrázku je zvýrazněno sedm výrazných přírůstkových linií. Zvětšeno 20x (Foto: Autor).
- Obr. 4.3.** – Lastura ve stáří 2+ (započala třetí rok života). Na lastuře jsou čísla vyznačeny patrné linie značící roční přírůstek (Foto: Autor).
- Obr. 4.4.** – Lastura ve stáří 3+ (započala čtvrtý rok života). Na lastuře jsou čísla vyznačeny patrné linie značící roční přírůstek (Foto: Autor).
- Obr. 4.5.** – Lastura ve stáří 4+ (započala pátý rok života). Na lastuře jsou čísla vyznačeny patrné linie značící roční přírůstek (Foto: Autor).
- Obr. 4.6.** – Lastura ve stáří 5+ (započala šestý rok života). Na lastuře jsou čísla vyznačeny patrné linie značící roční přírůstek (Foto: Autor).

-
- Obr. 4.7.** – Lastura ve stáří 6+ (započala sedmý rok života). Na lastuře jsou čísla vyznačeny patrné linie značící roční přírůstek (Foto: Autor).
- Obr. 4.8.** – Dvě nejstarší lastury, u kterých už je velmi složité čtení věku z povrchu lastury. **Vlevo:** Lastura ve stáří 10+ (započala 11 rok života); **Vpravo:** Lastura ve stáří 26+ (započala 27 rok života; Foto: Autor).
- Obr. 4.9.** – Lastura ve stáří 11 měsíců. Na lastuře jsou čísla vyznačeny patrné linie značící chybné linie přírůstku; zvětšeno 4x (délka lastury je 707 μm ; Foto: Autor).
- Obr. 4.10.** – Polovina největší lastury s výraznou erodovanou plochou; **A:** délka erodované plochy; **B:** výška erodované plochy; (Foto: Autor).
- Obr. 4.11.** – **Vlevo:** Dvouletá lastura bez charakteristické konchiolínové linie uvnitř perleťové vrstvy; **Vpravo:** Šestiletá lastura se čtyřmi vyznačenými konchiolínovými liniemi; zvětšeno 10x (Foto: Autor).

Seznam tabulek a grafů

Tabulka 1.1. Polopřirozený odchov perlorodky říční na Blanici od roku 2016 do roku 2021. Číslo a + značí rok života (převzato z Dort, 2021 a upraveno autorem).

Tabulka 1.2. Informace o stavu perlorodky říční v evropských státech. **N/A:** Není známý počet; **+**: hrubý odhad; převzato z Araujo et Ramos, 2000a; Young et al., 2001; Geist, 2010; Lopes-Lima et al., 2017 a upraveno autorem).

Tabulka 1.3. Optimální jakost vody pro perlorodku říční dle tří různých studií. **N/A** (Not Applicable – nelze aplikovat; převzato z Másilko, 2009; Simon et al., 2021 a upraveno autorem). **Reference:** **A:** Bauer, 1988; **B:** Absolón et Hruška, 1999; **C:** Oliver, 2000; **D:** Larsen, 2005; **E:** Degerman, 2009.

Tabulka 3.1.: Lokalita výskytu, počet lastur, věk, průměrná velikost a rok úhynu všech studovaných lastur. Směrodatná odchylka nebyla počítána u skupin s počtem pouze jedné lastury a lastur starých 5 týdnů (nebyly zahrnuty do výsledků).

Graf 3.1. Absolutní četnost lastur podle věku.

Graf 4.1. Rozdíl mezi skutečným věkem jedince a věkem stanoveným dle přírůstkových linií na obarveném řezu lastur. Hranice „krabiček“ (boxů) představuje horní a dolní kvartil, čára uvnitř boxu znázorňuje průměr a křížkem je označen medián. Chybové úsečky představují minimum a maximum.

Graf 4.2. Rozdíl mezi skutečným věkem jedince a věkem stanoveným dle přírůstkových linií na obarveném řezu lastur **u jednotlivých věkových skupin**. Hranice „krabiček“ (boxů) představuje horní a dolní kvartil, čára uvnitř boxu znázorňuje průměr a křížkem je označen medián. Chybové úsečky představují minimum a maximum.

Graf 4.3. Rozdíl mezi skutečným věkem jedince a věkem stanoveným dle přírůstkových linií na obarveném řezu lastur **na jednotlivých lokalitách**. Hranice „krabiček“ (boxů) představuje horní a dolní kvartil, čára uvnitř boxu znázorňuje průměr a křížkem je označen medián. Chybové úsečky představují minimum a maximum.

Graf 4.4. Počet přírůstkových linií (počítáno z vnější strany lastury) a střední hodnota (medián) tloušťky jednotlivých přírůstků (μm) u **dvouletých jedinců**. Chybové úsečky znázorňují horní kvartil a dolní kvartil.

Graf 4.5. Počet přírůstkových linií a střední hodnota (medián) tloušťky jednotlivých přírůstků (μm) u **tříletých jedinců**. Chybové úsečky znázorňují horní kvartil a dolní kvartil.

Graf 4.6. Počet přírůstkových linií a střední hodnota (medián) tloušťky jednotlivých přírůstků (μm) u **čtyřletých jedinců**. Chybové úsečky znázorňují horní kvartil a dolní kvartil.

Graf 4.7. Počet přírůstkových linií a střední hodnota (medián) tloušťky jednotlivých přírůstků (μm) u **pětiletých jedinců**. Chybové úsečky znázorňují horní kvartil a dolní kvartil.

Graf 4.8. Vztah délky lastury a skutečného věku všech měřených lastur dle lokality.

Graf 4.9. Vztah výšky lastury a skutečného věku všech měřených lastur dle lokality.

Graf 4.10. Vztah výšky a délky všech měřených lastur.

Graf 4.11. – Velikostní variabilita lastur různého věku dle lokalit. **1.** Lastury ve stáří dvou let (2+); **2.** – Lastury ve stáří tří let (3+); **3.** – Lastury ve stáří čtyř let (4+); **4.** – Lastury ve stáří pěti let (5+); chybové úsečky znázorňují maximum.

Graf 4.12. Průměrné hodnoty tloušťky perleťové a prizmatické vrstvy, které společně tvoří celkovou tloušťku lastury. Chybové úsečky znázorňují maximální hodnoty.

Graf 4.13. Vztah délky a celkové tloušťky všech měřených lastur.

Graf 4.14. Počet konchiolinových linií v perleťové vrstvě na řezu lastury u jedinců 1+ (n = 33).

Graf 4.15. Vztah počtu konchiolinových linií a skutečného věku jedinců.

Graf 4.16. Vztah počtu konchiolinových linií a věku dle počtu přírůstkových linií.

Graf 4.17. Šířka přírůstkové linie před vznikem první konchiolinové linie a po ní. Hranice „krabiček“ (boxů) představuje horní a dolní kvartil, čára uvnitř boxu znázorňuje průměr a křížkem je označen medián. Chybové úsečky představují minimum a maximum.