

Příloha č. 5 zadávací dokumentace, Příloha A Smlouvy o dílo
- Metoda bioindikace

Bioindikační testy perlorodkami říčními

Bioindikace jsou experimentální metody umožňující hodnocení podmínek prostředí na základě přímé odezvy organismů a / nebo nároků druhu na základě jeho přežívání / růstu v různých podmínkách. V rámci realizace záchranného programu (ZP) perlorodky říční je využíváno bioindikačních testů primárně k zjištění vlivu abiotických faktorů vodního prostředí na životní cyklus druhu. Pro účely tohoto hodnocení jsou testované exempláře získány z tzv. polopřirozených odchovů (podrobněji v příloze 7).

V rámci in-situ bioindikace jsou juvenilní jedinci perlorodky říční uloženi v klíčkách (Hruška 1999) nebo destičkách (Buddensiek 1995) s následnou expozicí v předem stanoveném profilu, jehož umístění je dáno cílem pokusu. Vybírají se profily v široké škále vhodnosti pro přežívání perlorodky. Dle dosavadních poznatků a výsledků řady dílčích testů (podrobněji v analytické části ZP) je doporučeno pro účely in-situ bioindikace využívat juvenilní jedince perlorodky říční se srovnatelnou počáteční délkou schránky (nejčastěji o velikosti 800 – 1120 µm, tedy ve II. růstové periodě). V případě využití Buddensiekových destiček je výhodné umístit jedince do jednotlivých buněk samostatně, což umožní získat individuální záznam o růstu jedince a snižují se tím nároky na potřebné množství použitých juvenilů. Hodnocení přírůstků jedinců je prováděno pomocí okulárového měřítka, nebo vyhodnocením fotografického záznamu jedinců v softwaru na analýzu obrazu. Buddensiekovy destičky mají i tu výhodu, že je pak možné statisticky hodnotit přežívání a růst jedinců, který je mnohem víc vypovídající, než průměr pro všechny jedince v klínce. V takovém případě je pak vhodnější umístit na jedno místo více klíncek s méně jedinci, aby byla získána alespoň nějaká data o možné variabilitě reakcí perlorodek na místní podmínky. Statistické metody vyhodnocení jsou pak dále voleny podle konkrétního experimentálního designu, především se jedná o zobecněné lineární modely (GLM) a mnohorozměrné analýzy (RDA, FA).

Ex-situ bioindikace jsou metodou přímého hodnocení úživnosti detritu – potravy raných (i adultních) stadií perlorodky říční. Pro tento způsob hodnocení nejlépe vyhovují juvenilní jedinci na počátku druhé růstové periody (min. velikost schránky 1000 µm), kteří jsou umístěni v laboratorních nádobách se vzorkem detritu a vody z hodnocené lokality po dobu 20 dní při stabilní teplotě (Dort & Hruška 2008).

U obou typů bioindikačních testů jsou během pravidelných kontrol, jejichž perioda je dána typem testu (viz tab. 1), zaznamenávána základní data stavu exponovaných jedinců (změna velikosti = přírůstek, mortalita) a fyzikálně – chemických vlastností prostředí (průběžné měření teploty vody a osvit; další parametry dle cíle konkrétního výstupu). Získaná data jsou statisticky vyhodnocena a výsledky analýz se stávají podkladem pro základní opatření ZP (kap. 3.1 a 3.2 návrhové části).

Manipulace se zvláště chráněným druhem živočicha je prováděna v souladu s výjimkou dle zákona č. 114/1992 Sb., o ochraně přírody a krajiny, ve znění pozdějších předpisů.

Dle způsobu provedení a účelu získaných dat rozlišujeme:

In-situ bioindikace:

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

Ex-situ bioindikace:

- a) standardní krátkodobé testy

Základní metodiku testování je v rámci realizace ZP a souvisejícího výzkumu možné modifikovat dle postupně získávaných znalostí tak, aby výsledný design pokusu byl schopen poskytnout relevantní data pro verifikaci dalších hypotéz.

Tab. 1 Základní typy používaných bioindikačních testů a doporučených metodik (Dort & Hruška 2008).

	In-situ			Ex-situ		
	Krátkodobé testy	Dlouhodobé testy	Orientační testy	Testy pro hodnocení a výzkum	Krátkodobé testy	
Technické parametry	Destičky dle Buddensieka (10 jedinců / destičku).	Destičky dle Buddensieka (10 jedinců / destičku), klíčky.	Klíčky, destičky dle Buddensieka, další systémy.	Destičky dle Buddensieka, speciální systémy.	Laboratorní nádoba s 5 až 10 juvenilí (50 ml vody / exemplář, výška hladiny max. 10 mm); detrit upraven filtrací (výška vrstvy max. 1 mm).	
Použitá fáze životního cyklu	Juvenilní jedinci velikostí 800 – 1120 µm v druhé růstové periodě (jeden exemplář / buňku).	Juvenilní jedinci velikostí 800 – 1120 µm v druhé růstové periodě (jeden exemplář / buňku v destičce).	Dle cíle konkrétního výstupu, doporučení juvenilní jedinci velikostí 800 – 1120 µm v druhé růstové periodě (jeden exemplář / buňku).	Dle cíle konkrétního výstupu, doporučení juvenilní jedinci velikostí 800 – 1120 µm v druhé růstové fázi (jeden exemplář / buňku).	Juvenilní jedinci velikostí větší než 1000 µm v druhé růstové periodě (5 až 10 exemplářů/ miskou); stabilní teplota prostředí 18 – 19 °C.	
Délka expozice	Různá (dle cíle konkrétního výstupu), min. 5 dní (Hruška 1995), doporučeno 30 dní v letní periodě (7 denní perioda sběru dat).	Různá (dle cíle konkrétního výstupu), doporučeno 90 dní v letním období (14 denní perioda sběru dat).	Různá (dle cíle konkrétního výstupu).	Různá (dle cíle konkrétního výstupu).	Doporučena 20 denní perioda testu s výměnou detritu po 10 dnech.	
Možnosti užití	Sezónní testování podmínek pro přežívání druhu (úživnost detritu, toxicita toku) nebo dopadu havárie / klimatického extrému. Vyhodnocení efektivity prováděných managementových zásahů.	Mezoroční testování podmínek pro přežívání druhu (úživnost detritu, toxicita toku) nebo dopadu havárie / klimatického extrému. Vyhodnocení efektivity prováděných managementových zásahů.	Díličí doplňková kontrola (např. efektivnost prováděných managementových zásahů, pomocná kontrola na odchovných a reprodukčních prvcích, měřených profilech hlavního toku i přítoků, testování dopadu havárie nebo klimatického extrému apod.).	Dlouhodobá srovnání působení biotických (např. fáze životního cyklu, vliv hostitele), mikro-habitatových (např. úživnost detritu, podmínky intersticiálu) a chemicko-fyzikálních parametrů prostředí (např. teplota vody, délka osvitů, rychlost proudění) a aplikovaného managementu ZP na životní cyklus druhu.	Přímé hodnocení úživnosti vzorků detritu (testování podmínek pro přežívání druhu), vyhodnocení efektivity prováděných managementových zásahů.	