

Středoškolská odborná činnost

4. biologie

Fekundita raka kamenáče (*Austropotamobius torrentium*)

v České republice

Autor práce:

Miroslav Veselovský, Jiří Břichcín

Konzultant:

RNDr. Pavel Vlach, Ph.D.

Gymnázium Blovice

Družstevní 650

336 13 Blovice

Blovice 2017

Prohlášení

Prohlašujeme, že jsme svou práci vypracovali samostatně, použili jsme pouze zdroje uvedené v příloženém seznamu a postup při zpracování a dalším nakládání s prací je v souladu se zákonem č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) v platném znění.

V Blovicích dne

podpis:

Poděkování

RNDr. Pavel Vlach, Ph.D. je ten, komu bychom zde rádi vyjádřili svůj dík, neb bez něho jen těžko astakologie vajíčka raka kamenáče poznala by líp.

S láskou též vzpomínáme na Mgr. Lukáše Hulce, jenž byl také přítomen, když se na potocích počítalo, kolik vajíček nese račí abdomen.

Abstrakt

Cílem této práce bylo zmapovat a popsat plodnost raka kamenáče v České republice; téma dosud na našem území nezpracovávané.

Výzkum byl realizován na 9 tocích v České republice. Proběhl na konci října 2016, byla zvolena metoda ručního odchytávání samic. Celkem bylo odchyceno 68 samic, jimž bylo k analýze odebráno 150 vajíček. Byla analyzována délka a hmotnost samic, počet vajíček v jejich snůškách a velikost vajíček.

Délka samice se pohybovala v rozmezí 48,8–81,9 mm, hmotnosti v rozmezí 3,9–24,5g. Průměrně měla samice raka kamenáče ve snůšce 44–58 vajíček, maximální zjištěný počet byl 90 vajíček. Průměrná velikost vajíček byla 3,16 mm (2,7–3,70 mm). Dále byla zjištěna pozitivní závislost počtu vajíček na délce těla a hmotnosti samice, stejný trend byl zjištěn u velikosti vajíčka ve vztahu k velikosti samic.

Klíčová slova: rak kamenáč, *Austropotamobius torrentium*, fekundita, plodnost, snůška, počet vajíček, velikost vajíčka, Česká republika

Obsah

Úvod	5
Rak kamenáč	6
Výskyt raka kamenáče v ČR	7
Rozmnožování	7
Kontext studie a cíle práce	8
Materiál a metody	10
Statistická hodnocení	11
Výsledky	13
Velikosti snůšek na jednotlivých tocích	15
Velikost snůšky vzhledem k velikosti samice	16
Velikost vajíček	17
Diskuze	18
Délková struktura, hmotnostní struktura hodnocených raků	18
Dosažení pohlavní zralosti	19
Velikost snůšky	20
Velikost vajíček	21
Závěr	23
Seznam použité literatury	24

Úvod

Raci jsou jedni z největších sladkovodních bezobratlých živočichů. Řadí se mezi koryše (Crustacea). Je pro ně charakteristický krunyř, který slouží k ochraně těla a k úponu svalů (Štambergová et al., 2009). Krunyř je tvořený chitinem a je inkrustován uhličitánem vápenatým a fosforečnanem vápenatým. Hormonálním řízením (ekdyzon) dochází v určitých časových intervalech ke svlékání (výměně) krunyře. Krunyř praská a dochází k jeho svlečení, pod ním už vyrůstá nový krunyř, který je měkký a roste společně s rakem. Po určitém čase je krunyř díky minerálům, které jsou uloženy v gastrolitech (rakůvky), opět zpevněn. V rakůvkách se ovšem nenachází takové kvantum minerálních látek, které by dostatečně pokrylo vznik celého krunyře, proto se zásoby z gastrolitů použijí pouze na tvorbu strategických částí a zbytek minerálů musí být přijat skrze potravu. Tato skutečnost se také odráží ve změně stravy raků po zimě, kdy si jedinci z převažující rostlinné stravy doplňují hladinu minerálů, jak popisují Renz & Breithaupt (2000). Raci mají výbornou regenerační schopnost, ačkoliv se při každém svlékání ztracená část nahradí a zvětšuje, ve většině případů již nedosáhne takových rozměrů jako část původní (Štambergová et al., 2009).

Tělo raka je složeno ze dvou částí, cephalothoraxu (hlavohruď) a abdomenu (zadeček). Horní část zakrývá karapax (hlavohrudní štít), který ve přední části tvoří rostrum (špičatý výběžek). Na stranách se nachází na stopkách složené oči. Za nimi jsou postorbitální lišty, jejichž počet se v závislosti na druhu liší. Některé druhy mohou mít na povrchu trny nebo hrbolky. Zadeček raka se skládá ze sedmi článků, kterými jedinec může pohybovat. Poslední článek se jmenuje telson.

V současnosti je popsáno více než 640 druhů sladkovodních raků (Crandall & Buhay, 2008). Na území Evropy se ale vyskytuje jen pět původních druhů – rak říční *Astacus astacus*, rak bahenní *A. leptodactylus*, rak *A. pachypus*, rak kamenáč *Austropotamobius torrentium* a rak bělonohý *A. pallipes* (Kouba et al., 2014).

Na území České republiky je potvrzený výskyt šesti druhů raků, ale jen dva druhy jsou původní, konkrétně rak říční a rak kamenáč (Kozák et al., 2002). Rak říční je jeden z nejhojnějších druhů raků a v České republice se vyskytuje celoplošně. Rak kamenáč se u nás v současné době vyskytuje na více než čtyřiceti tocích (Vlach et al., 2009b). Dalším druhem je rak bahenní, nepůvodní zdomácnělý druh, který se do České republiky dostal z východní Evropy v 19. století (Pecina, 1979). Na území České republiky je zaznamenán výskyt i tří severoamerických druhů raků – rak signální *Pacifastacus leniusculus* a rak

pruhovaný *Orconectes limosus* (Štambergová et al., 2009) a v posledních letech i rak mramorovaný *Procambarus sp.* (Patoka et al., 2016).

Rak kamenáč

Schubart & Huber (2006) uvádějí, že rak kamenáč je nejmenším evropským druhem raka. Adultní samci mohou dosahovat 80–100 mm (Štambergová et al., 2009). Souty-Grosset et al. (2006) a Kozák et al. (2014) ale uvádí, že rak kamenáč může dorůst délky až 120 mm. Při délce těla 100–120 mm mohou adultní samci dosáhnout hmotnosti až 55 g. Velikost dospělých samic raka kamenáče je menší, zpravidla dorůstají velikostí od 60 do 90 mm.

Tělo raka kamenáče může být vybarveno šedozeleně, béžově a může mít i různé odstíny hnědé. Břišní strana těla má oproti hřbetní straně světlejší odstín (Kozák et al., 2014). Patoka et al. (2013) uvádí, že raci s mramorovaným zbarvením se vyskytují pouze na Stroupínském a Bzovském potoce, což odporuje našim získaným datům: mramorově zbarvené raky jsme pozorovali i na ostatních navštívených lokalitách. Zmínění autoři operují s tvrzením, že zbarvení raků je signifikantní pro daný druh a autory byla tato metoda používána pro určování druhů. Zbarvení raků se sice může zdát pro daný druh směrodatným vizuálním faktorem, ale jak uvádí Mgr. David Fischer, *in verb*, tento jev je spíše než druhem raka dán řadou ekologických faktorů, které na jedince působí (např. epibiontní mikroorganismy na klepetech, fyziologický stav jedince, potrava, nezanedbatelný je i vliv abiotických faktorů). Štambergová et al. (2009) uvádí, že zbarvení raka říčního se v rámci jednoho druhu může významně lišit dokonce i na jedné lokalitě; není důvod tedy pochybovat o tom, že by tento jev u raka kamenáče nemohl také nastat. Tělo raka kamenáče je hladké a je zde úplná absence výraznějších hrbolků a trnů. Ventrální okraj antenální šupiny má pilovitý charakter (Štambergová et al., 2009). Kozák et al. (2014) uvádí, že ventrální okraj antenální šupiny může být i hladký. Pro raka kamenáče je na hlavohrudním štítu charakteristický jeden pár postorbitálních lišt. Lišty jsou nižší a směrem k ocasní části se vytrácejí. Rostrum raka kamenáče je krátké, jeho špička má tvar rovnostranného trojúhelníku. Podélné strany rostra jsou hladké a podélný kýl rostra není nikterak markantně znatelný nebo nemusí být vůbec přítomný. Klepeta raka kamenáče jsou vzhledem k jeho velikosti velké a robustní konstrukce. Samice mívají menší klepeta než samci. V porovnání s rakem říčním však klepeta raka kamenáče nedosahují tak velkých rozměrů. Klepeta mají zbarvení totožné s barvou těla a jsou charakteristická hrubým povrchem. Spodní strana klepet je oproti svrchní straně světlá,

nejfrekventovanější barva je béžová, dále se mohou vyskytovat odstíny růžové nebo oranžové barvy (Kozák et al., 2014; Štambergová et al., 2009).

Výskyt raka kamenáče v ČR

Podle posledních informací se rak kamenáč vyskytuje na 41 vodních tocích (Vlach et al., 2009b). Největší výskyt tohoto druhu raka je v Plzeňském a Středočeském kraji. Podle výzkumu, který proběhl v letech 2007–2009 byl zjištěn výskyt raka kamenáče v povodí řek: Radbuza (a přítok Zubřina), Úslava (Chocenický, Přešínský, Podhrázský, Mítovský potok a jeho levostranný přítok, Kornatický, Milínovský, Hrádecký a Božkovský potok, Bradava a Bojovka), Klabava (Příkosický, Skořický, Skořický s postranním přítokem, Tisý, Hůrecký, Holoubkovský, Rakovský potok a Chýlava), Berounka (Bertínský potok), Úhlava (Kbelský a Příchovický potok). V Plzeňském kraji jsou přítomny i dvě populace raka kamenáče, které spadají do povodí Dunaje, konkrétně se jedná o populace na Medvědí potoce a v levostranném přítoku Novosedlského potoka (Vlach et al., 2009b).

Ve Středočeském kraji se rak kamenáč vyskytuje ve čtyřech povodích, a sice v povodí Klabavy (Padrt'ský potok), Vltavy (Zákolanský potok), Berounky (Radotínský, Úpořský, Hořejší a Všenorský potok) a Litavky (Bzovský, Stroupínský a Kublovský potok) (Vlach et al., 2009b).

V Královéhradeckém kraji se tento druh vyskytuje v povodí Labe (Luční, Javornický a Bolkovský potok), v Ústeckém kraji potom v povodí Labe (Trojhorský potok) a Ploučnice (Huníkovský potok). V povodí řeky Ploučnice je znám výskyt raka kamenáče i ve Valdeckém potoce, který se nachází v Libereckém kraji (Vlach et al., 2009b).

Rozmnožování

Rozmnožování raka kamenáče probíhá na podzim, zpravidla v říjnu až listopadu (Štambergová et al., 2009). Pohlavně vyspělí jedinci v těchto měsících zvyšují svoji aktivitu a vyhledávají ostatní jedince vhodné pro rozmnožování. Reprodukční chování je ovlivněno několika faktory, mezi nejvýznamnější patří teplota vody, délka denního světla, hormony a feromony (Kozák et al., 2014). Poté, co dojde k nalezení vhodného partnera, dochází k páření. Pro úspěšnou kopulaci je nezbytná správná pozice abdominální stranou k sobě. Samec musí samici převrátit na karapax a pomocí klepet jí v této poloze zadržet. Díky této poloze samice má samec možnost umístit spermatofoxy k pohlavním vývodům samice, které se nachází na

bázi 3. páru pereopodů. Spermatofoxy jsou zde do doby, než nastane čas kladení vajíček (Štambergová et al., 2009). Po kopulaci dochází v řádu hodin až dnů ke kladení vajíček. Samice vytváří dutinu pro vajíčka tím, že ohýbá zadeček pod hlavohrud'. Během páření dochází na spodní straně abdomenu samice k dozrávání světlých bílkovinných žláz, které vytváří sekret, postupně narušujících stěnu spermatoforů, ze kterých se uvolňují nepohyblivé spermie. Poté se samice otočí na karapax a pohlavními vývody vytlačuje vajíčka na bázi 3. páru pereopodů. Následně dochází ke splynutí vajíček se slizem na spodní straně zadečku a nepohyblivé spermie se spojí s vajíčky; jedná se tedy vnější oplození. Vajíčka jsou připojena k pleopodům samice tenkými vlákny. Samice se o vajíčka stará až do následujícího jara, přičemž je chrání před predátory a zajišťuje jim dostatečné množství kyslíku (Štambergová et al., 2009). Vývoj vajíček je dokončen v jarních měsících a následně dochází k líhnutí malých ráčků. U raků se nevyskytuje larvální stádium, jedná se tedy o vývoj přímý. Doba líhnutí raků je ovlivněna několika faktory, a sice teplotou vody, zeměpisnou šířkou a nadmořskou výškou (Štambergová et al., 2009).

Potomstvo raka kamenáče se líhne v rozmezí od května do poloviny července (Souty-Grosset et al., 2006). Malí raci jsou připojeni za pomoci stopky k pleopodům samice. Zpočátku jsou ráčata nepohyblivá a jsou vyživována žloutkovým vácem. Samice je s mláďaty spojená do doby, než dosáhnou druhého vývojového stádia (jsou schopni přijímat potravu a volně se pohybovat), po kterém se mladí raci osamostatní (Štambergová et al., 2009). Počty vajíček v jednotlivých snůškách jsou závislé na velikosti samice. Velikosti snůšek se pohybují zpravidla v rozmezí od 40–100 vajíček (Štambergová et al., 2009). Rak kamenáč se může dožít až 10 let. Jedinci jsou pohlavně vyspělí ve 2. až 4. roce života, kdy se délka jejich těla obvykle pohybuje v rozmezí od 35 mm do 50 mm (Souty-Grosset et al., 2006).

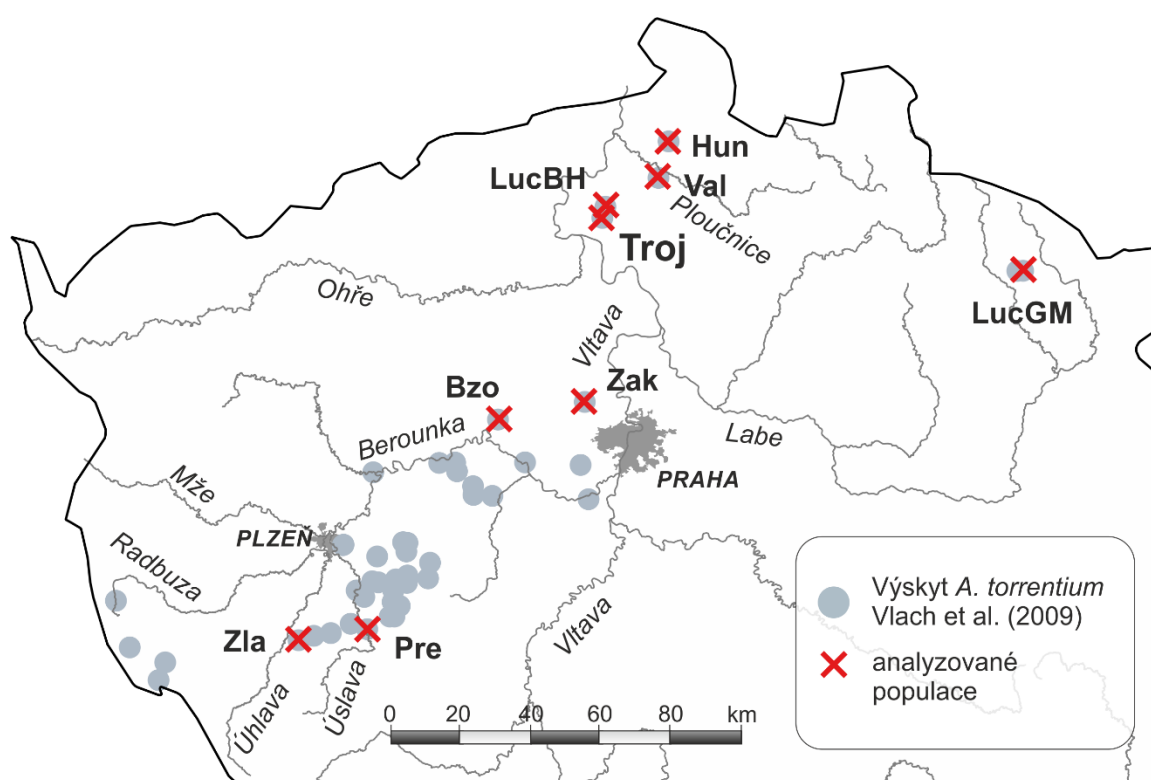
Kontext studie a cíle práce

Rak kamenáč je zařazen na Červený seznam ohrožených druhů České republiky se statutem **kriticky ohrožený** druh a je též zvláště chráněným druhem dle zákona 114/1992 Sb. Zatímco výzkum zaměřený na reprodukci raka říčního (kriticky ohrožení podle zák. 114/1992 Sb., ohrožený v Červeném seznamu) je i díky aktivitě Výzkumného ústavu rybářského a hydrobiologického přidruženého k Jihočeské univerzitě v Českých Budějovicích (Policar et al. 2004, Kozák et al. 2006, Policar et al. 2006, Niksirat et al. 2015) ve značně pokročilé fázi, rak kamenáč, ač mnohem vzácnější, na zevrubný popis zatím čeká.

Tato studie je **vůbec první provedenou prací** zabývající se otázkou plodnosti raka kamenáče v rámci České republiky. Cílem práce bylo tedy vůbec poprvé přesně popsat plodnost raka kamenáče na území České republiky. Práce přináší nová komplexní data vztahující se zejména ke snůškám jedinců a velikostem jejich vajíček. Studie pokrývá značně rozsáhlý areál rozptýlený po celém území Čech, a tím zajišťuje vysokou důvěryhodnost díky dostatečné možnosti srovnání jednotlivých dílčích výsledků. Jelikož pro porovnání výsledků studie na úrovni druhu neexistují v České republice podklady, byl kontext hledán v diskuzi se zahraničními výzkumy. Takto rozsáhlá studie (zahrnující areál druhu zahrnující území celého státu) je unikátní i v kontextu s dalšími evropskými pracemi zabývající se tímto druhem.

Materiál a metody

V rámci této práce bylo vybráno 9 toků na území České republiky s výskytem raka kamenáče (Vlach et al. 2009). Vybrané toky respektují pravidelné pokrytí areálu druhu v ČR a také genetickou variabilitu druhu (Petrušek et al., 2017). Jednalo se následující toky: Bzovský potok (Bzo), Huníkovský potok (Hun), Luční potok v Podkrkonoší (LucGM), Luční potok v Českém středohoří (LucBH), Přešínský potok (Pre), Trojhorský potok (Troj), Valdecký potok (Val), Zákolanský potok (Zák) a Zlatý potok (Zla). Charakter zvolených toků byl popsán Vlachem et al. (2009b). Poloha sledovaných toků je patrná z obr. 1.



Obr. 1: Mapa ČR s vyznačením vybraných toků s výskytem raka kamenáče. **Zkratky:** Bzovský potok (Bzo), Huníkovský potok (Hun), Luční potok v Podkrkonoší (LucGM), Luční potok v Českém středohoří (LucBH), Přešínský potok (Pre), Trojhorský potok (Troj), Valdecký potok (Val), Zákolanský potok (Zák) a Zlatý potok (Zla).

Sběr dat probíhal na konci října v období mezi 18. a 23. říjnem 2016. Odchyt začal dne 18. 10. 2016 na Přešínském potoce, pokračoval následující den na Zlatém potoce. Odchyt na Křivoklátsku (Bzovský potok) a v okolí Prahy (Zákolanský potok, 4 různé lokality odchyty) se uskutečnil 21. 10. 2016. Data z Lučního potoka Podkrkonoší, Valdeckého, Huníkovského

byla získána 22. 10. 2016. Vzorky z Trojhorského potoka a Lučního potoka České středohoří byly získány 23. 10. 2016.

Odchyt raků byl proveden metodou ručního prohledávání úkrytů, případně s pomocí ruční sítě (Reynolds, 2009). Celý terénní průzkum byl prováděn v rámci monitoringu raka kamenáče pod vedením RNDr. Pavla Vlacha, Ph.D., s respektem všech skutečností vztahujících se k monitoringu tohoto druhu (Fischer et al., 2011). Na každé lokalitě bylo standardně odchyceno alespoň 5 samic; výjimku tvoří Luční potok GM, kde se podařilo odchytit pouze 4 samice.

U každého jedince (samice) byla provedena standardní měření; posuvným měřítkem byla změřena délka těla (TL v mm), délka karapaxu (CL na jedno desetinné místo v mm), přesnou pružinovou vahou (výrobce Pesola AGV, rozsahy 0-10 g a 0-25 g a 0-50 g) byla změřena hmotnost samice po odkapání.

U každé samice byl odhadnut počet vajíček (jako průměr 3 nezávislých počítání vajíček ve snůšce). Zvláštní pozornost byla věnována vajíčkům. Každé samici byla ze snůšky odebrána dvě vajíčka, která byla konzervována v 70% ethanolu v označených mikrozkušnicích (číslo vzorku + lokalita).

Vajíčka byla snímána pod optickým mikroskopem (Intraco Micro STM 723, 30× zvětšení). Byly pořízeny mikrofotografie všech vajíček (kamera URANUS MDC 320). Snímky byly pořízeny v programu ToupView, měření velikosti (průměr) vajíček bylo provedeno v programu Corel Draw X5. U každého vajíčka byl měřen průměr 2× na různých místech, aby byl eliminován případně elipsoidní tvar vajíčka. Všechna data byla převedena do tabulkového procesoru.

Statistická hodnocení

Hodnocení délkové a hmotnostní struktury použitých samic, stejně jako hodnocení rozdílů ve velikosti snůšek (počtu vajíček), bylo provedeno pomocí neparametrické jednocestné analýzy rozptylu (Kruskal Wallis ANOVA), když tato data neměla normální rozdělení (Kolmogorov-Smirnovův test, $P > 0,05$). Stejný test byl použit i při hodnocení počtu vajíček ve snůškách na jednotlivých tocích. Hodnocení rozdílů průměrů (velikosti) vajíček mezi jednotlivými toky bylo provedeno jednocestnou parametrickou analýzou rozptylu (ANOVA) a Tukey-Kramerovým testem, když (i z logiky věci) vzorek průměrných velikostí vajíček měl normální rozdělení (Kolmogorov-Smirnovův test, $P < 0,05$).

Délky těla a hmotnosti samic byly použity na hodnocení délko-hmotnostních vztahů pomocí exponenciální regrese a koeficientu determinace. Vztah mezi počtem vajíček a hmotností a délkou těla samice a vztah mezi průměrem vajíček a hmotností a délkou těla samice byl pak hodnocen pomocí lineární regrese, resp. směrnice této přímky a její sklon byl hodnocen pomocí t-testu. Před hodnocením vztahu velikosti snůšek s délkou těla a hmotností jedince byly vyřazeny snůšky, které byly evidentně poškozené (celkem 8 snůšek s počtem menším než 30 vajíček).

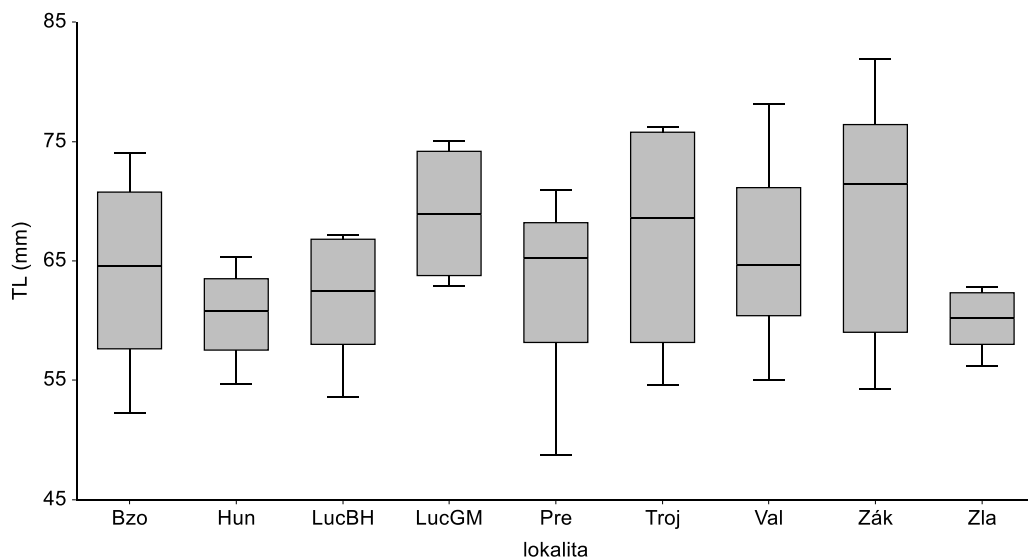
Většina analýz byla provedena ve statistickém programu NCSS 9.0, vizualizace délko-hmotnostních vztahů pak v programu Microsoft Excel 2013. Všechny testy byly provedeny na 5% hladině významnosti.

Výsledky

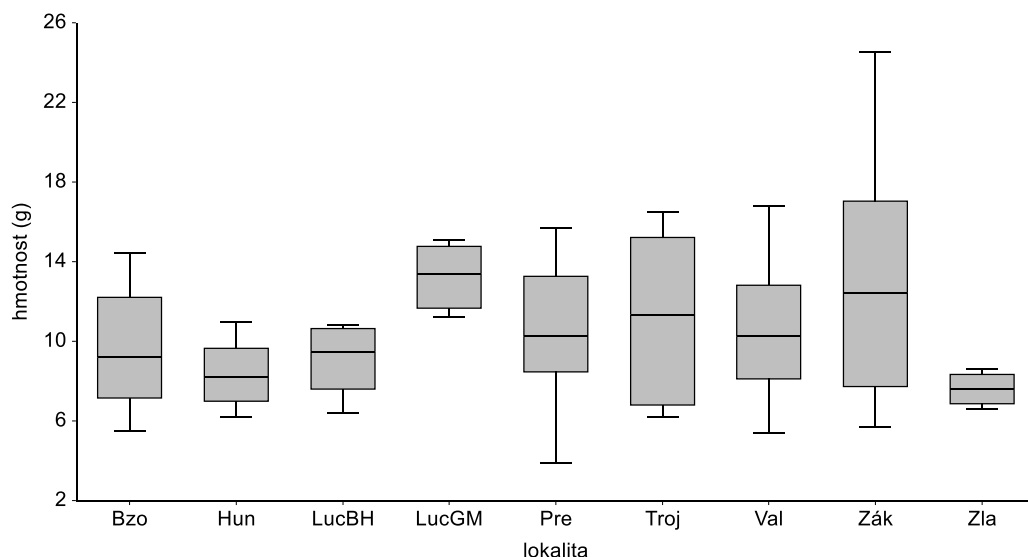
V rámci této práce byla hodnocena plodnost raka kamenáče z 9 potoků v České republice. Z celkem 68 samic bylo odebráno 150 vajíček, přičemž každé samici byla odebrána (až na jednu výjimku) minimálně 2 vajíčka. Počty analyzovaných samic jsou patrné v tab. 2.

Průměrné hodnoty délky samic se pohybovaly v rozmezí od 60,2 mm (Zlatý potok) do 68,9 mm (Luční GM). Největší samice, použitá pro tuto práci, dosáhla celkové délky 82 mm na Zákolanském potoce, nejmenší byla naopak samice s délkou 49 mm v Přešínském potoce. Při hodnocení délkové struktury samic ze všech potoků lze konstatovat, že nebyly zjištěny významné rozdíly ve velikosti mezi jednotlivými toky (Kruskal-Wallis ANOVA, $H=9,85$, $P=0,28$). Délková struktura je patrné z obr. 2.

Průměrné hmotnosti samic se pohybovaly v rozmezí od 7,6 g (Zlatý potok) do 13,3 g (Luční GM). Nejtěžší samice byla nalezena v Zákolanském potoce a vážila 24,5 g, naopak nejmenší použitá samice dosáhla hmotnosti 3,9 g v Přešínském potoce. Také hmotnosti samic se mezi lokalitami statisticky významně nelišily (Kruskal-Wallis ANOVA, $H=12,60$, $P=0,13$). Hmotnostní struktura samic z jednotlivých toků je patrná z obr. 3.



Obr. 2: Boxplot znázorňující zjištěné celkové délky těla (TL) analyzovaných samic v jednotlivých tocích (medián, 1. a 3. kvartil (interkvartilové rozpětí – IQR), nejbližší nižší hodnota než je $1,5 \times IQR$ a nejbližší vyšší hodnota než je $-1,5 \times IQR$): osa y...délka těla samic (TL), osa x...lokalita (zkratky uvedeny v části Materiál a metody).

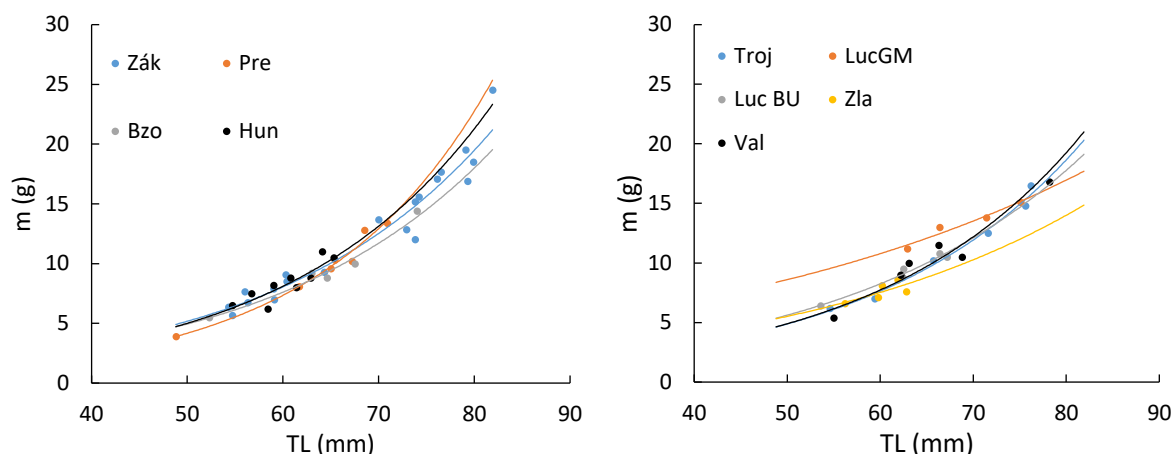


Obr. 3 Boxplot znázorňující zjištěné hmotnosti analyzovaných samic v jednotlivých tocích (medián, 1. a 3. kvartil (interkvartilové rozpětí – IQR), nejbližší nižší hodnota než je $1,5 \times \text{IQR}$ a nejbližší vyšší hodnota než je $-1,5 \times \text{IQR}$): osa y...hmotnost samic, osa x...lokality (zkratky uvedeny v části Materiál a metody).

Tab. 1: Délko-hmotnostní vztahy samic raka kamenáče (*Austropotamobius torrentium*) na jednotlivých sledovaných tocích (y...hmotnost, x...délka těla)

lokality	rovnice	koeficient determinace
Zákolanský potok	$y = 0,5679e^{0,0442x}$	$R^2 = 0,9555$
Přešínský potok	$y = 0,2468e^{0,0566x}$	$R^2 = 0,987$
Bzovský potok	$y = 0,5742e^{0,0431x}$	$R^2 = 0,9785$
Huníkovský potok	$y = 0,4477e^{0,0483x}$	$R^2 = 0,761$
Trojhorský potok	$y = 0,5213e^{0,0447x}$	$R^2 = 0,9875$
Luční potok GM	$y = 2,7687e^{0,0226x}$	$R^2 = 0,943$
Luční potok BM	$y = 0,823e^{0,0384x}$	$R^2 = 0,9736$
Zlatý potok	$y = 1,1681e^{0,031x}$	$R^2 = 0,5682$
Valdecký potok	$y = 0,4992e^{0,0457x}$	$R^2 = 0,916$

Nejrychlejší hmotnostní růst byl zjištěn u samic z Přešínského a Huníkovského potoka, zatímco nejpomalejší růst byl zaznamenán ve Zlatém a v Lučním potoce v Podkrkonoší. Zajímavé jsou netypické délko-hmotnostní vztahy populace raka kamenáče ve Zlatém potoce, kde samice rostly pomaleji. Charakter křivky se lišil i u Lučního potoku GM, kde je také podle křivky zřejmý pomalejší růst, než na ostatních tocích: malé samice mají vyšší hmotnost, než stejně velké samice z ostatních toků, ale s jejich rostoucí délkou už tak velké hmotnostní přírůstky, jako samice ostatních toků, nemají. Detaily délko-hmotnostní struktur jsou patrné v tab. 1 a na obr. 4.



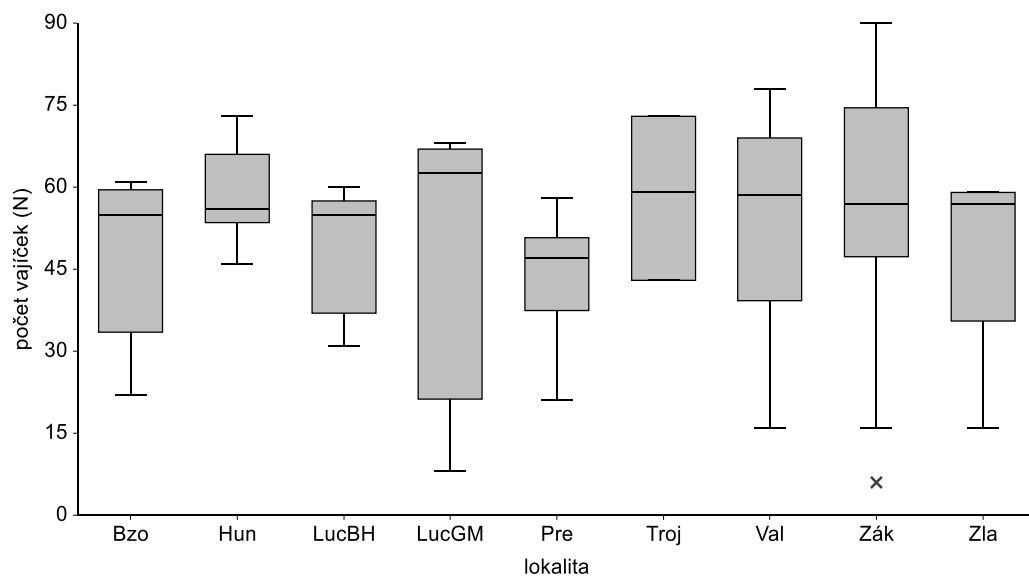
Obr. 4: Délko-hmotnostní struktura samic z jednotlivých toků (TL...délka těla, m...hmotnost, zkratky toků viz Materiál a metody).

Velikosti snůšek na jednotlivých tocích

Počty vajíček na jednotlivých tocích se u jednotlivých samic pohybovaly mezi 6–90. Průměrně to bylo v jednotlivých tocích 44–58 vajíček na jednu samici. Nejmenší počet vajíček byl zjištěn na Přešínském potoce (44 vajíček), naopak nejvyšší průměrné velikosti snůšek byly zjištěné na Zákolanském potoce (57 vajíček) a v Huníkovském a Trojhorském potoce (58 vajíček). Detailní hodnoty z ostatních toků jsou patrné v tab. 2. Celkově lze ale konstatovat, že počet vajíček ve snůšce raka kamenáče (tj. počet vajíček ve snůšce) se v jednotlivých tocích významně nelišil (Kruskal-Wallis ANOVA, $H=7,94$, $P=0,44$, viz obr. 5).

Tab. 2: Počet hodnocených samic (samice (N)), minimální (min) a maximální (max) počet a průměrný (\bar{X}) počet vajíček na jednu samici na jednotlivých tocích, směrodatná odchylka (SD).

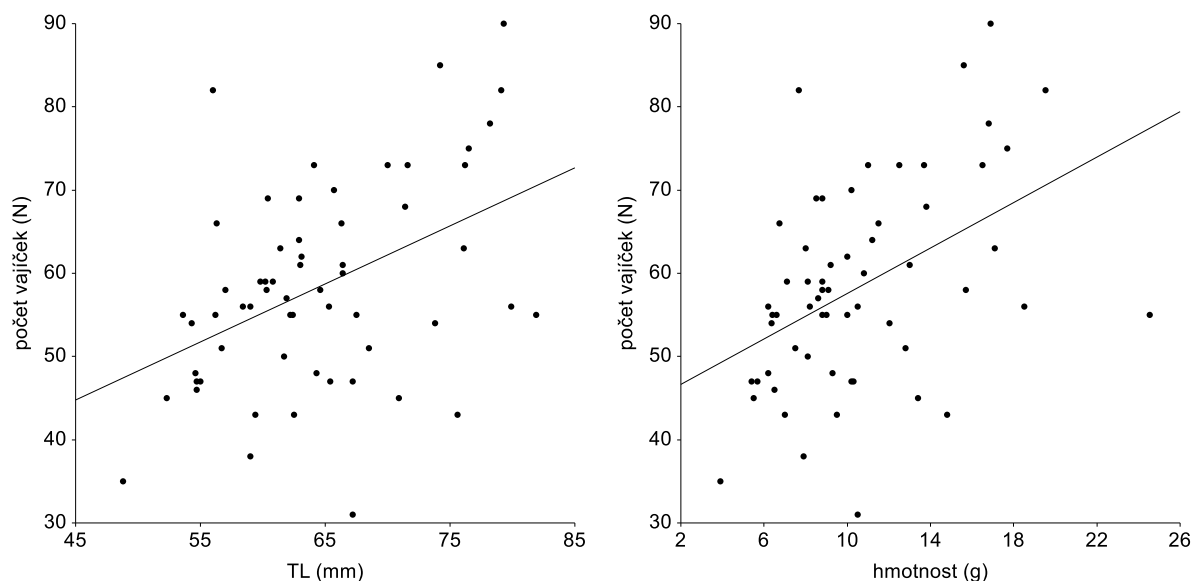
název potoku	samice (N)	min–max	\bar{X}	SD
Bzovský potok	5	22–61	48	15,8
Huníkovský potok	9	46–73	58	8,4
Luční potok (Luční potok GM)	4	8–68	50	28,3
Luční potok (Luční potok BH)	5	31–60	48	11,8
Přešínský potok	8	21–58	44	11,4
Trojhorský potok	6	43–73	58	15,1
Valdecký potok	6	16–78	54	21,3
Zákolanský potok	20	6–90	57	22,8
Zlatý potok	5	16–59	49	18,6



Obr. 5: Boxplot znázorňující zjištěné počty vajíček (velikost snůšek) analyzovaných samic v jednotlivých tocích (medián, 1. a 3. kvartil (interkvartilové rozpětí – IQR), nejbližší nižší hodnota než je $1,5 \times \text{IQR}$ a nejbližší vyšší hodnota než je $-1,5 \times \text{IQR}$): osa y...počet vajíček (N), osa x...lokality (zkratky uvedeny v části Materiál a metody).

Velikost snůšky vzhledem k velikosti samice

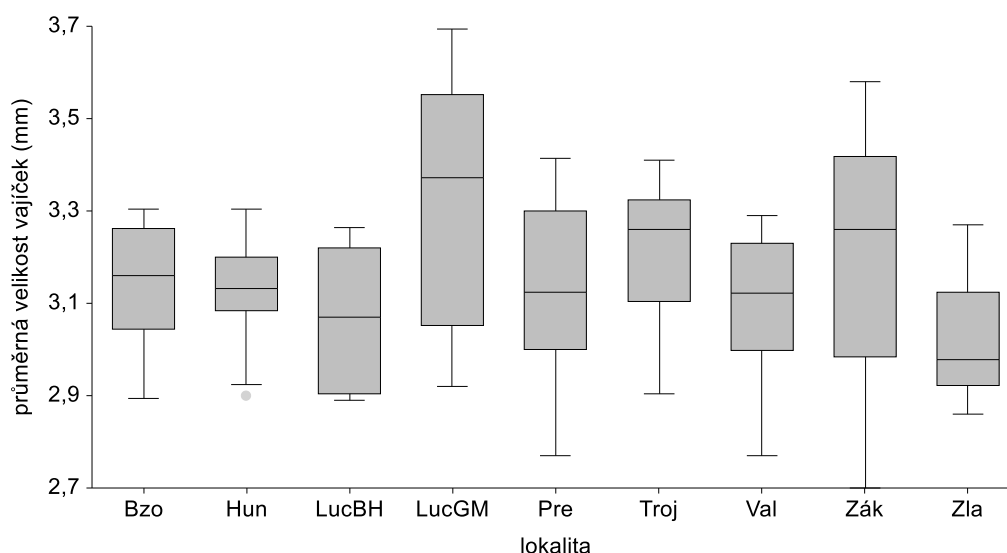
Dále byl hodnocen vztah mezi délkou těla (TL) samic raků a počtem vajíček v jejich snůšce. Byl zjištěn pozitivní vztah mezi velikostí samice a počtem vajíček ($y=13.42x + 0.697$; $t=3,80$; $p < 0,05$). Tento vztah platí ještě výrazněji při hodnocení velikosti snůšky ve vztahu k hmotnosti samic ($y=43,89x+1,37$; $t = 3,91$; $p < 0,05$). Lze tedy konstatovat, že větší samice vytváří početnější snůšky. Uvedené závislosti jsou patrné z obr. 6.



Obr. 6: Vztah mezi délkou těla (TL – vlevo) a hmotností (vpravo) samic raka kamenáče a počtu vajíček ve snůšce (N)

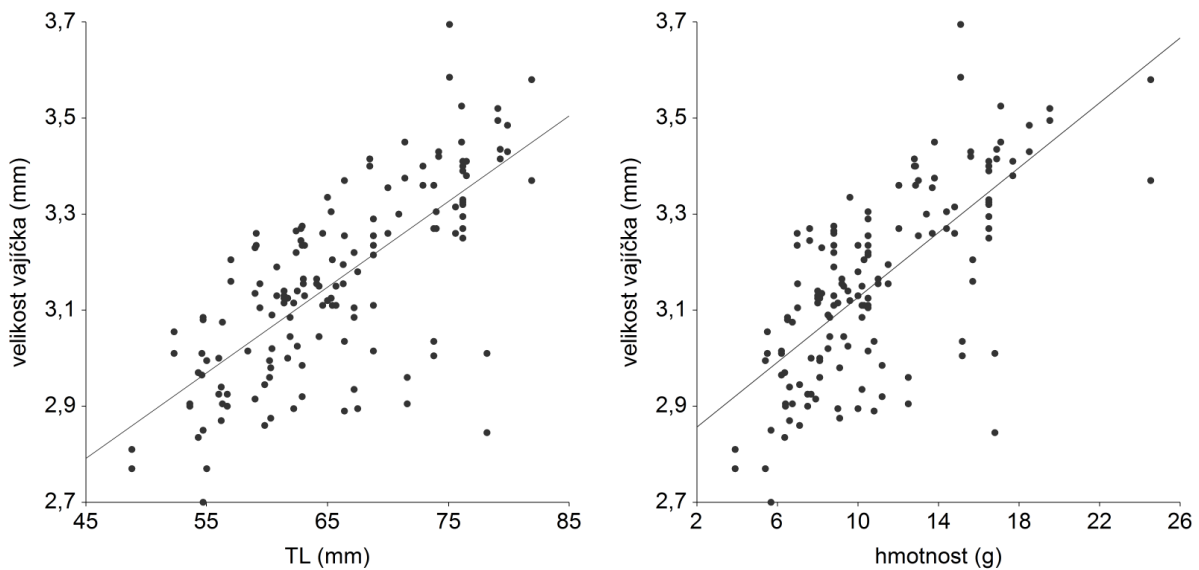
Velikost vajíček

Dále byla hodnocena velikost vajíček ve vztahu k různým tokům, resp. velikosti (celkové délky těla a hmotnosti) samic. Průměrné velikosti vajíček na jednotlivých tocích se pohybovaly v rozmezí od 3,02 mm (Zlatý potok) do 3,32 mm (Luční potok GM), průměrná hodnota v celém analyzovaném vzorku byla 3,16 mm. Mezi lokality s nadprůměrnými hodnotami se řadí Luční potok GM (3,32 mm), Trojhorský potok (3,21 mm) a Zákolanský potok (3,2 mm). Nejmenší zjištěný průměr jednotlivého vajíčka (2,7 mm) byl naměřen na Zákolanském potoce u samice měřící 54,7 mm. Naopak největší velikosti (3,7 mm) dosahovalo vajíčko odebrané z porušené snůšky (celkem pouze 8 vajíček) samice na Lučním potoce GM s rozměry 75,1 mm. Průměrná velikost vajíček (mm) se v jednotlivých tocích signifikantně lišila (ANOVA, $F = 2,61$, $P = 0,01$); vajíčka z Lučního potoka v Podkrkonoší byla signifikantně větší než vajíčka ze Zlatého potoka (Tukey-Kramerův test, kritická hodnota 4,46). Velikostní struktura vajíček v jednotlivých tocích je patrná na obr. 7.



Obr. 7: Boxplot znázorňující zjištěné průměrné velikosti vajíček (mm) samic na jednotlivých lokalitách (medián, 1. a 3. kvartil (interkvartilové rozpětí – IQR), nejbližší nižší hodnota než je $1,5 \times \text{IQR}$ a nejbližší vyšší hodnota než je $-1,5 \times \text{IQR}$): osa y...průměrná velikost vajíček (v mm), osa x...lokality (zkratky uvedeny v části Materiál a metody).

Hodnocen byl i vztah mezi velikostí samic raka kamenáče a průměrnou velikostí vajíček v jejich snůškách. Byl zjištěn silný pozitivní vztah mezi celkovou délkou těla samice ($y=1,99x+0,018$; $t=12,49$; $P<0,05$) a hmotností samice ($y=2,79x+0,034$; $t=12,00$; $P<0,05$) a velikostí vajíčka; tj. větší a těžší samice vytváří větší vajíčka. Uvedené závislosti jsou patrné z obr. 8.



Obr. 8: Vztah mezi délkou těla (TL v mm – vlevo) a hmotností (m v g – vpravo) samic raka kamenáče a velikostí vajíček ve snůšce (mm).

Diskuze

V této práci byla z mnoha aspektů hodnocena reprodukční biologie raka kamenáče v České republice.

Metodika odchyty raků může mít zásadní vliv na kvantitu i kvalitu vzorku, námi zvolený postup ručního odchyty pomocí sítí je ale považován za jeden ze standardů a byl aplikován jak na stejném druhu (Huber & Schubart, 2005; Pârvulescu et al., 2011; Streissl & Hödl, 2002; Vlach et al., 2009a), tak i na jiných druzích raků (Grandjean et al., 2000; Holdich et al., 2006; Kozubíková et al., 2006; Scalici & Gibertini, 2011).

Délková struktura, hmotnostní struktura hodnocených raků

Při porovnávání velikosti jedinců v populacích nebyl zjištěn signifikantní rozdíl. Celková průměrná délka samic dosáhla hodnoty 64,5 mm a jednotlivé toky se od této hodnoty odchýlily pouze v intervalu $<- 4,3 - 4,5>$. Přesto lze vysledovat zajímavé rozdíly; např. bylo zjištěno, že nejmenší odchycená samice s vajíčky na Lučním potoce GM (62,9 mm) byla větší než největší samice ze Zlatého potoka (62,8 mm). Podle Petruska et al. (2017a) se populace raka kamenáče na Lučním potoce GM od zbylých populací České republiky geneticky liší, když náleží k balkánskému haplotypu „Logatec“ (jedná se o historicky introdukovanou populaci), zatímco ostatní české populace náleží k variantám haplotypu Ht1.

Délkohmotnostní vztahy všech populací měly podobný exponenciální charakter, zajímavé jsou lišící se délkohmotnostní vztahy populace raka kamenáče ve Zlatém potoce, kde byl zaznamenán pomalejší růst samic oproti jiným tokům. Domníváme se nicméně, že je to dáno absencí větších samic, které by křivku modelovaly v oblasti vyšších hodnot. Křivka se podobným způsobem lišila i u Lučního potoka GM, kde je také podle křivky zřejmý pomalejší růst, než na ostatních tocích. Zajímavé je, že model odhaduje vyšší hmotnost malých samic, což je zřejmě zapříčiněno jejich nepřítomností (resp. nezjištěním) na lokalitě. Přesto lze konstatovat, že samice na Lučním potoku GM mají přírůstky menší než ostatní populace. Tento fakt může být ovlivněn nižší teplotou lokality, menší úživností toku nebo může korespondovat s jejich odlišným genetickým původem (Petrušek et al., 2017a).

Dosažení pohlavní zralosti

Pohlavní zralost značí tzv. glair glands, neboli cementové žlázy, které jsou charakteristické svým bílým zbarvením a jsou patrné již několik týdnů před začátkem vlastního páření. Vytváří je pouze zralé samice, a proto je možné je tak poznat dříve, než poprvé nakladou vajíčka.

Délkou raka kamenáče, potřebnou k dosažení pohlavní zralosti, se zabývalo již několik studií; tyto práce uvádějí délkovou hranici potřebnou pro dosažení pohlavní zralosti velmi různě. Výzkum provedený na chorvatských populacích ve třech potocích stanovil hranici pohlavní zralosti na 54,0 mm (Maguire et al. 2005), rakouská studie prokázala zralost pro délky 59–65 mm (Streissl & Hödl 2002), v Bavorsku byla zralost stanovena (dle lokálních podmínek) v intervalu 59–65 mm (Huber & Schubart 2005); tito autoři nicméně zmiňují také pohlavně zralou samici o délce 45 mm.

Na základě dat zjištěných v této práci pro populace raka kamenáče v České republice platí, že pokud bude chycena samice s vajíčky, její velikost bude s největší pravděpodobností větší než 57,2 mm. Přesto se v analyzovaném vzorku vyskytlo 13 z 68 analyzovaných samic, které byly menší, než je tato kalkulovaná hranice. Stanovená hodnota není přesná, i v ČR byly nalezeny pohlavně zralé samice o délce těla kolem 40 mm (RNDr. Pavel Vlach, Ph. D., Mgr. David Fischer, *in verb.*).

Naše určení pohlavní zralosti vychází pouze z analýzy celkových délek samic, které nesly vajíčka. Přesné určení stavu, kdy jedinec dosáhne pohlavní zralosti, je ale složitější a obtížné. I přesto lze tento stav určit pomocí sledovaných morfologických změn, jimiž jedinec během

dospívání prochází. Např. u *Austropotamobius pallipes* indikují žlutková zrníčka uvnitř oocytů jejich kompletní zralost (Scalici & Gibertini, 2011). Dále autoři uvedli, že i když je u jedince možné jednoznačně rozpoznat plnohodnotné pohlavní orgány (je-li délka karapaxu samice větší než 18 mm), tak do okamžiku, kdy je pohlavně zralý, musí jedinec ještě podstoupit další vývoj. Zralost se dá podle autorů jednoznačně určit v okamžiku, kdy velikost karapaxu samice přesáhne 23 mm, kdy je jedinec připraven k úspěšnému rozmnožování. Rubolini et al. (2007) provedli studii, ve které uvádí, že úspěšnost páření mladých jedinců *A. pallipes* je větší než u starších jedinců. Vycházeli z faktu, že naměřený objem ejakulátu starších jedinců a jejich schopnost oplodnit je nižší než u mladších jedinců.

Velikost snůšky

Počet vajíček ve snůšce každé samice byl proveden třemi na sobě nezávislými měřeními ve snaze co nejvíce zpřesnit výsledek. Autoři Hubenova et al. (2010), uvádějí, že při procesu zjišťování počtu vajíček došlo k „odhadu“, jimi zjištěné hodnoty tedy lze pokládat pouze za orientační. Výsledky porovnávání kvantity vajíček ve snůšce jsou ovšem nezpochybnitelné; jedná se o evidentní rozdíl mezi námi zjištěnou maximální hodnotou (90, Zákolanský potok) a nejvyšší hodnotou popsanou jinými studiemi, jako například v případě Hubenova et al. (2010), která zjistila v Bulharsku v řece Mrachenik River jako maximum 125 vajíček nebo Maguire et al. (2005b), která uvádí z Chorvatska jako zjištěné maximum 104 vajíček. Naopak podobnou maximální velikost snůšky (93 vajíček) uvádí z Rakouska Streissl & Hödl (2002).

V této práci zjištěný pozitivní vztah mezi velikostí samic a velikostí snůšek popsal také Huber & Schubart (2005). I ve srovnání s jinými druhy byl zjištěn podobný vztah mezi počtem vajíček ve snůšce a tělesnými proporcemi jedince; u příbuzného raka bělonohého *Austropotamobius pallipes* tuto závislost popsal Scalici & Gibertini (2011).

Kromě abiotických faktorů (kvalita vody, potrava apod.) ovlivňuje početnost snůšky *A. pallipes* po oplození i řada biotických faktorů, jako je například parazit *Thelohania* sp. nebo samotná délka samice. Grandjean et al. (2000) navíc uvádí, že samice *A. pallipes* větší než 90 mm mají tendenci více ztrácet vajíčka. Není důvod si myslet, že by analogický scénář nemohl platit i u raka kamenáče. Pokud vezmeme v potaz vyřazené snůšky, které byly vyhodnoceny jako poškozené, dojdeme totiž ke stejnému závěru; jako poškozené byly povětšinou vyřazeny (6 z 8 případů) snůšky samic, které byly větší než průměrná hodnota 64,5 mm, čtyři z nich byly dokonce větší než 70 mm.

Jestliže je patrné, že na velikost snůšky má vliv velikost/hmotnost jedince, je evidentní, že správně zvolená lovná strategie může ovlivnit hodnoty početností vajíček ve snůšce. Barbaresi & Gherardi (2001) uvádějí, že pro největší samice je příznačná aktivita na podzim za soumraku, což naše studie naplňuje pouze zčásti, protože většina samic byla odchycena ve dne. Lze se tedy domnívat, že v rámci této práce nebyly odchyceny větší samice, které se ale v populacích v ČR vyskytují a popsal je např. Vlach & Valdmanová (2015), které by nesly více vajíček, než bylo zjištěno. Tak by maximální hodnota vajíček ve snůšce mohla být poněkud vyšší. Také při porovnání maximální zjištěné délky samic použitých v této práci (81,9 mm, Zákolanský potok) s jinými pracemi v Evropě lze konstatovat, že naměřené maximální délky odchycených samic s vajíčky jsou menší. Maguire et al. (2005a) uvádí 87 mm, Hubenova et al. (2010) naměřili hodnotu dokonce 94 mm.

Výsledky této práce naznačují, že zjištěný trend (větší snůška u větších samic) nelze brát absolutně; u zmíněného jedince (81,9 mm, Zákolanský potok) byla napočítána podprůměrně početná snůška vzhledem k lokalitě i k celé populaci v České republice. Tento stav odpovídá již zmíněné domněnce Grandjeana et al. (2000), kteří zmiňují, že velké samice druhu *A. pallipes* s délkou těla nad 90 mm ztrácejí vajíčka o poznání více než ty menší. Jejich výzkum probíhal během celého období, kdy samice nosí vajíčka, a v květnu na konci sledování nemělo 40% samic v jimi zkoumané populaci již žádná vajíčka. Je známo, že raci během života podstupují nespočet konfliktů kvůli obraně úkrytů, potravě nebo při střetu s predátorem. Experiment provedený Vorburger & Ribi (1999) v laboratorních podmínkách doložil, že rak kamenáč není v konfliktech nijak pasivní a s úspěchem brání své území před rakem signálním. Tato situace je příkladem, že v důsledku stresu může samice ztratit část své snůšky. Na samice působí daleko více faktorů, které mohou zapříčinit ztrátu vajíček. Ztráta může být zapříčiněna špatným uchycením vajíčka, infekcí nebo mechanickou disturbancí (Reynolds, 2002), ke které může bohužel dojít i při odchytu raka.

Velikost vajíček

Hodnota průměru vajíček se pohybovala kolem 3,1 mm. Mezi potoky s nadprůměrně velkými vajíčky patří Luční potok GM, Trojhorský potok a Zákolanský potok.

Porovnáme-li tyto zjištěné výsledky s dalšími pracemi, lze konstatovat, že na jiných lokalitách byly u velikosti vajíček raka kamenáče zaznamenány hodnoty: 2,4–3,4 mm (Maguire et al., 2005a), průměrné hodnoty 2,8–3,2 mm (Hubenova et al., 2010), což jsou údaje analogické. Huber & Schubart (2005) provedli časově rozsáhlou studii a zjistili, že průměr vajíček se

s postupujícím časem mění (2,45 mm v listopadu – 2,91 mm v červnu). To je ale v rozporu se zjištěními Scalici & Gibertini (2011), kteří popsali, že u *A. pallipes* se během embryonálního vývoje vajíčka jeho velikost nemění. Obecně lze považovat vajíčka raka kamenáče s velikostí kolem 3 mm za poměrně velká; jiné druhy, jako je *Austropotamobius pallipes* (Sáez-Royuela et al., 2006) nebo *Orconectes limosus* (Kozák et al., 2006), mají vajíčka menší.

V rámci této práce bylo zjištěno, že podobně jako počet vajíček, i velikost vajíčka pozitivně koreluje s velikostí (délkou těla i hmotností) samice. To se shoduje s výsledky studie Maguire et al. (2005a). Tvorbu vajíček však nelze pouze vztahovat k morfologickým proporcím jedince. Už jen fakt, že žádná dvojice vajíček, která byla samicím odebrána, nebyla shodná, znamená, že jejich rozměry se nedají v zásadě pevně predikovat. Dokladem mohou být samice, jimž bylo odebráno větší množství vzorků ze snůšky, než bylo obvyklé. Stalo se tak na Trojhorském potoce, kde hodnoty rozměrů 9 vajíček vytvořily interval 3,25 mm – 3,41 mm nebo na Valdeckém potoce, kde se 6 odebraných vajíček od jedné samice pohybovalo v intervalu 3–3,29 mm.

Průměrná velikost vajíček se mezi toky lišila (přestože statisticky významný rozdíl je pouze ve velikosti vajíček z Lučního potoka v Podkrkonoší a Zlatého potoka). Při hledání příčin toho, že raci na Lučním potoce GM, Trojhorském a Zákolanském mají v průměru větší vajíčka než ostatní, nelze najít jednoznačnou odpověď. Lze se domnívat, že s výjimkou Lučního potoka GM, kde se vyskytují raci s odlišným haplotypem (Petrušek et al., 2017b), jde na ostatních lokalitách o souhru zvýhodňujících ekologických faktorů. Větší velikost vajíček nebo vyšší počet vajíček ve snůškách lze tedy spíše homologovat s tím, že jedinci na zmíněných třech lokalitách dobře prosperují. Teoreticky může být tento stav zapříčiněn např. nedostatkem predátorů (pstruh obecný, jelec tloušť, vranka obecná a další druhy ryb, volavka popelavá a jiní ptáci, ale především norek americký a vydra říční (Hogger, 1988)), kvalitou vody (což ale neplatí u Zákolanského potoka), ale také přítomností a hustotou osídlení lokality jiných raků, jejichž přítomností se zvyšuje energetický výdej při kompetici o úkryty a o potravu. Toto kvantum energie je na Zákolanském potoce a Trojhorském potoce přeměněno jiným způsobem, a to díky tomu, že zde nepanují tak stresové podmínky. Pravděpodobná prosperita obou populací lze vyčíst i z výsledků délkohmotnostních vztahů.

Závěr

Význam této studie spočívá jednak v tom, že vůbec **poprvé poskytuje data popisující plodnost raka kamenáče v rámci České republiky**, jednak v tom, že s daty lze díky jejich komplexnosti dále pracovat. Tato studie se tak stává základním kamenem problematiky plodnosti raka kamenáče na území České republiky a svými poznatky otevírá možnosti pro zdokonalení ochrany druhu a pro celkové zlepšení vnímání souvislostí biologie druhu. Studii se díky tomu, že probíhala paralelně s monitoringem druhu, prováděným pod vedením RNDr. Pavla Vlacha, Ph.D, podařilo dát standardnímu monitoringu novou dimenzi, kdy se běžně prováděná metodika výskytu a popis základních znaků prohloubila o důkladnou analýzu plodnosti jedinců. Samotná souběžnost prací je do budoucna nesmírně užitečná, neboť právě z ní vykryštovala úzká souvislost mezi výsledky monitoringu a výsledky plodnosti jedinců.

Studii je možné v budoucnosti prohloubit dalším zkoumáním přesné hranice, kdy raci v České republice pohlavně dospívají a vstupují do reprodukce. Bylo by také zajímavé zjistit, co je přesně příčinou ztráty vajíček ve snůškách samic, případně jestli existuje jiná možnost, než že se samice neúčastnila kopulace, kterou bychom mohli vysvětlit fakt, že některé velké samice, které se nám podařilo odchytit, nenesly vajíčka. Bylo by vhodné provést výzkum v laboratorních podmínkách, který by zjistil, do jaké míry je reprodukce a následný vývoj vajíček raka kamenáče ovlivněn např. měnicími se teplotami vody, jejím znečištěním, množstvím jedinců v populaci apod. Tím by byla vyslovena odpověď na otázku, kdy přesně a za jakých podmínek k rozmnožování dochází a co ho významně ovlivňuje. Zájem by se měl také obrátit k druhému pohlaví, neboť plodnost populací raka kamenáče není dána pouze stavem samic, ale je také ovlivněna fitness samců. Průběh studie by měla pokračovat periodicky i nadále, za účelem získání souvislého souboru dat, na jejichž základě by mohla být vytvořena předpověď demografického vývoje populace raka kamenáče, která by mohla sloužit jako srovnávací médium při popisu reálné situace ve vývoji populací.

Jelikož se práce zabývala chráněným druhem, jsou výsledky cenné především pro jeho ochranu. Již nyní budou data tvořit významnou část podkladu pro záchranný program raka kamenáče, který se aktuálně začíná formovat. Prvním krokem bylo označení samic, které budou figurovat ve výzkumu. Cílem je testovat mortalitu samic v souvislosti se změnami parametrů prostředí (jako je například zvýšené znečištění vody).

Seznam použité literatury

- Barbaresi, S. & Gherardi, F., 2001. Daily activity of the white-clawed crayfish, *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet): a comparison between field and laboratory studies. *Journal of Natural History* 35, 1861–1871.
- Crandall, K. A. & Buhay, J. E., 2008. Global diversity of crayfish (Astacidae, Cambaridae, and Parastacidae–Decapoda) in freshwater. *Hydrobiologia* 595, 295–301.
- Fischer, D., Vlach, P., Dušek, J., Ďuriš, Z., Kozubíková, E., Petrusek, A., Svobodová, J. & Štambergová, M., 2011. Rak kamenáč (*Austropotamobius torrentium*) – Metodika monitoringu. In: Pavličko, A. (ed.). AOPK ČR, 6.
- Grandjean, F., Cornuault, B., Archambault, S., Bramard, M. & Otrebsky, G., 2000. Life history and population biology of the white-clawed crayfish, *Austropotamobius pallipes* pallipes, in a brook from the Poitou–Charentes region (France). *Bulletin Francais de la Peche et de la Pisciculture*, 55–70.
- Hogger, J., 1988. Ecology, population biology and behaviour. *Freshwater crayfish: biology, management and exploitation*, 114–144.
- Holdich, D., Peay, S., Foster, J., Hiley, P. & Brickland, J., 2006. Studies on the white-clawed crayfish (*Austropotamobius pallipes*) associated with muddy habitats. *Bulletin Francais de la Peche et de la Pisciculture*, 1055–1078.
- Hubenova, T., Vasileva, P. & Zaikov, A., 2010. Fecundity of stone crayfish *Austropotamobius torrentium* from two different populations in Bulgaria. *Bulg. J. Agric. Sci* 16, 387–393.
- Huber, M. G. J. & Schubart, C. D., 2005. Distribution and reproductive biology of *Austropotamobius torrentium* in Bavaria and documentation of contact zone with the alien crayfish *Pacifastacus leniusculus*. *Bulletin Francais de la Peche et de la Pisciculture* 376–377.
- Kouba, A., Petrusek, A. & Kozák, P., 2014. Continental-wide distribution of crayfish species in Europe: update and maps. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 413, 05.
- Kozák, P., Buřič, M. & Policar, T., 2006. The fecundity, time of egg development and juvenile production in spiny-cheek crayfish (*Orconectes limosus*) under controlled conditions. *Bulletin Francais de la Peche et de la Pisciculture*, 1171–1182.

- Kozák, P., Ďuriš Z. & Policar, T., 2002. The stone crayfish *Austropotamobius torrentium* (Schränk) in the Czech Republic. *Bull. Fr. Pêche Piscic.* 367, 707–713.
- Kozák, P., Z., Ď., Petrusek, A., Buřič, M., Horká, I., Kouba, A., Kozubíková, E. & Policar, T., 2014. *Biologie a chov raků*. Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, České Budějovice. 418 p.
- Kozubíková, E., Petrusek, A., Duris, Z., Kozák, P., Geiger, S., Hoffmann, R. & Oidtmann, B., 2006. The crayfish plague in the Czech Republic—review of recent suspect cases and a pilot detection study. *Bulletin Francais de la Peche et de la Pisciculture*, 1313–1323.
- Maguire, I., Klobučar, G. I. V. & Erben, R., 2005. The relationship between female size and egg size in the freshwater crayfish *Austropotamobius torrentium*. *Bulletin Francais de la Peche et de la Pisciculture* 376–377, 777–785.
- Niksirat H., Kouba, A. & Kozák, P., 2015. Ultrastructure of egg activation and cortical reaction in the noble crayfish *Astacus astacus*. *Micron*, 68, 115-121.
- Pârvulescu, L., Pacioglu, O. & Hamchevici, C., 2011. The assessment of the habitat and water quality requirements of the stone crayfish (*Austropotamobius torrentium*) and noble crayfish (*Astacus astacus*) species in the rivers from the Anina Mountains (SW Romania). *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 401, 03.
- Patoka, J., Buřič, M., Kolář, V., Bláha, M., Petrtýl, M., Franta, P., Tropek, R., Kalous, L., Petrusek, A. & Kouba, A., 2016. Predictions of marbled crayfish establishment in conurbations fulfilled: Evidences from the Czech Republic. *Biologia* 71, 1380–1385.
- Patoka, J., Římalová–Kadlecová, K., Bílý, M. & Koščo, J., 2013. Frequency of new marble-colored morph in wild population of *Austropotamobius torrentium* (Decapoda: Astacidae). *Biologia* 68.
- Pecina, P., 1979. Rak kamenáč / Stone crayfish. In: Pecina, P. & Čepická, A. (eds.), *Kapesní atlas chráněných a ohrožených živočichů*, 1. část. SPN, Praha, 219.
- Petrusek, A., Pešek, P., Leština, D., Martin, P., Fischer, D., Kozák, P. & Vlach, P., 2017. Mitochondrial DNA provides evidence of a double origin for the stone crayfish *Austropotamobius torrentium* in the Elbe basin. *Limnologica–Ecology and Management of Inland Waters* 62, 77–83.
- Policar T., Simon, V. & Kozák, P., 2004. Egg incubation in the noble crayfish (*Astacus astacus* L.): The effect of controlled laboratory and outdoor ambient condition on hatching

success, growth and survival rate of juveniles. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*, 411–423.

Polícar T., Kozák, P. & Martín, J., 2006. Effects of egg bath and daily removal of dead eggs on hatching success and production of stage 2 juveniles during artificial incubation in noble crayfish (*Astacus astacus* L.). *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*, 1197-1206.

Renz M. & Breithaupt, T., 2000. "Habitat use of the crayfish *Austropotamobius torrentium* in small brooks and in Lake Constance, Southern Germany." *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*(356): 139–154.

Reynolds, J. D., 2002. Growth and reproduction. In: Holdich, D. M. (ed.), *Biology of freshwater crayfish*. Blackwell science, Oxford, 152–192.

Reynolds, J. D., 2009. Metody monitoringu výskytu a odchytu sladkovodních raků. *Bulletin VÚRH Vodňany* 45, 82–90.

Rubolini, D., Galeotti, P., Pupin, F., Sacchi, R., Nardi, P. A. & Fasola, M., 2007. Repeated matings and sperm depletion in the freshwater crayfish *Austropotamobius italicus*. *Freshwater Biology* 52, 1898–1906.

Sáez–Royuela, M., Carral, J., Celada, J., Pérez, J. & González, A., 2006. Pleopodal egg production of the white–clawed crayfish *Austropotamobius pallipes* Lereboullet under laboratory conditions: relationship between egg number, egg diameter and female size. *Bulletin Francais de la Peche et de la Pisciculture*, 1207–1214.

Scalici, M. & Gibertini, G., 2011. Reproduction in the threatened crayfish *Austropotamobius pallipes* (Decapoda, Astacidae) in the Licenza brook basin (central Italy). *Italian Journal of Zoology* 78, 198–208.

Schubart, C. D. & Huber, M. G. J., 2006. Genetic comparisons of German populations of the stone crayfish, *Austropotamobius torrentium* (Crustacea: Astacidae). *Bulletin Francais de la Peche et de la Pisciculture* 380–381, 1019–1028.

Souty–Grosset, C., Holdich, D. M., Noël, P. Y., Reynolds, J. D. & Haffner, P. (eds.), 2006. *Atlas of Crayfish in Europe*. Patrimoines Naturels 64. Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris.

Streissl, F. & Hödl, W., 2002. Growth, morphometrics, size at maturity, sexual dimorphism and condition index of *Austropotamobius torrentium* Schr. *Hydrobiologia* 477, 201–208.

Štambergová, M., Svobodová, J. & Kozubíková, E., 2009. Raci v České republice (Crayfish in the Czech Republic). AOPK ČR, Praha.

Vlach, P., Fischer, D. & Hulec, L., 2009a. Microhabitat preference of the stone crayfish *Austropotamobius torrentium* (Schrank, 1803). Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems 384–395, 15.

Vlach, P., Hulec, L. & Fischer, D., 2009b. Recent distribution, population densities and ecological requirements of the stone crayfish (*Austropotamobius torrentium*) in the Czech Republic. Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems 384–395, 13.

Vlach, P. & Valdmanová, L., 2015. Morphometry of the stone crayfish (*Austropotamobius torrentium*) in the Czech Republic: allometry and sexual dimorphism. Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems 416, 16.

Vorburger, C. & Ribic, G., 1999. Aggression and competition for shelter between a native and an introduced crayfish in Europe. Freshwater Biology 42, 111–119.