



Fakulta rybnářství  
a ochrany vod  
Faculty of Fisheries  
and Protection  
of Waters

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

# Metodika značení raků

Miloš Buřič, Antonín Kouba, Pavel Kozák



evropský  
sociální  
fond v ČR



MS  
MT  
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ





Fakulta rybnářství  
a ochrany vod  
Faculty of Fisheries  
and Protection  
of Waters

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

# Metodika značení raků

---

Miloš Buřič, Antonín Kouba, Pavel Kozák

**Vodňany**

**Vydání a textová příprava publikace byly uskutečněny za finanční podpory projektu:**

***Posílení excelence vědeckých týmů na FROV JU***  
*(CZ.1.07/2.3.00/20.0024)*



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Obsahová část publikace byla zpracována za finanční podpory následujících projektů:

***Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz – CENAKVA***  
*(CZ.1.05/2.1.00/01.0024) – 60%*

***Diverzita původních a invazních druhů raků ve střední Evropě: od genetické struktury populací a reprodukčních strategií po systematiku a ochranu***  
*(GA ČR P505/12/0545) – 30%*

***Bioindikace, nové přístupy k hodnocení kontaminace hydrocenóz a zdravotní aspekty v chovech ryb***  
*(GA JU 084/2013/Z) – 10%*



č. 130

ISBN 978-80-87437-86-5

## **OBSAH**

<b>1. CÍL METODIKY</b>	<b>6</b>
<b>2. ÚVOD DO PROBLEMATIKY</b>	<b>6</b>
<b>3. KRITÉRIA PRO VÝBĚR VHODNÉ METODY ZNAČENÍ</b>	<b>7</b>
3.1. Velikost značených jedinců	7
3.2. Požadovaná doba zachování (retence) značek	8
3.3. Vliv značení na sledované jedince	8
3.4. Variabilita značek	9
3.5. Etické hledisko	9
3.6. Cena	10
<b>4. METODY ZNAČENÍ RAKŮ</b>	<b>13</b>
4.1. Kauterizace	13
4.2. Kryogenní metoda	16
4.3. Kódované mikroznačky	18
4.4. VI Alpha štítky	20
4.5. Elastomery	22
4.6. Perforace/přistřížení telsonu/uropodu	25
4.7. Přívěsné značky	27
4.8. Popisování	29
4.9. Čipování	30
4.10. Telemetrie	32
<b>5. ZÁVĚRY A DOPORUČENÍ</b>	<b>34</b>
<b>6. SROVNÁNÍ „NOVOSTI POSTUPŮ“</b>	<b>35</b>
<b>7. POPIS UPLATNĚNÍ CERTIFIKOVANÉ METODIKY</b>	<b>35</b>
<b>8. EKONOMICKÉ ASPEKTY</b>	<b>35</b>
<b>9. SEZNAM POUŽITÉ SOUVISEJÍCÍ LITERATURY</b>	<b>36</b>
<b>10. SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE</b>	<b>43</b>

## 1. CÍL METODIKY

Cílem metodiky je zpřístupnit informace o dostupných technikách značení raků, příp. jiných korýšů, pro účely monitoringu a ochrany autochtonních (původních) raků, monitoringu šíření populací alochtonních (nepůvodních) druhů raků, pro experimentální biologii, ale i pro sledování obsádek remontních a generačních jedinců v chovech. Poskytnuté informace by měly napomoci správně určit, která metoda je vhodná pro zvolený druh sledování, velikost živočicha, ale i pro danou délku sledování a finanční nákladnost. Cílovými skupinami, pro něž je tato metodika určena, jsou organizace angažující se v monitoringu a ochraně původní astakofauny, výzkumné organizace zabývající se studiem raků a ostatních korýšů a subjekty zabývající se chovem korýšů.

## 2. ÚVOD DO PROBLEMATIKY

Značení raků, ale i jiných korýšů, se používá pro širokou škálu výzkumných či praktických cílů. Můžeme mezi ně zařadit ekologické studie zaměřené na odhad hustoty a struktury populací (Kirjavainen a Westman, 1994; Dorn a kol., 2005), na zjištění migračního chování raků (Robinson a kol., 2000; Kerby a kol., 2005), pro studie růstu a reprodukce raků (Guan a Wiles, 1999; Huber a Schubart, 2005), pro posouzení úspěšnosti reintrodukcí raků (Whitmore, 1997; Zimmerman a Palo, 2011), ale i cíle chovatelské, jako je úspěšnost vysazení na rekreační či chovné lokality (Huolila a kol., 1997; Jones a Coulson, 2006), monitoring růstu a přežití tržních raků, nebo ve šlechtitelských programech remontních či generačních raků (Westman a Savolainen, 2002; Arce a kol., 2003). Obecně můžeme zmínit dva základní důvody, proč znát jednotlivé metody značení, které se používají u raků: 1 – ochrana biodiverzity (ochrana původních a monitoring a studium nepůvodních druhů) a 2 – ekonomické aspekty produkce.

Z hlediska získání objektivních výsledků ve zmíněných oblastech využití, je nutné zvážit dobu sledování, neboť některé metody značení jsou vhodné jako krátkodobé, a jiné jako dlouhodobé, popř. permanentní. Zásadním problémem při značení raků je proces charakteristický pro růst korýšů, tj. opakované svlékání krunýře, kdy se jedinec zbavuje kutikuly ze všech ektodermálních partií těla (včetně povrchu očí, tykadel, žaber, žaludku a konečníku) (Reynolds, 2002). To samo o sobě limituje použití „externího značení“ (umístěného na povrchu těla) na období do následujícího svlékání. Z tohoto důvodu byla vyvinuta řada metod interního značení (značka umístěna pod ektodermálními partiemi těla) více či méně odolných periodickým výměnám krunýře raků. Většina těchto postupů ale znamená zásah do života značeného jedince, který

může (ale nemusí) významně ovlivnit jeho chování, růst, ale i mortalitu. Při výběru metody značení je nutné volit co nejšetrnější, a dle potřeby také co nejtrvalejší metodu.

Pro účely krátkodobého značení (období do prvního svlékání) postačují jednoduché metody využívající externí značky připevněné na povrch těla raka (Caprio a kol., 1990, Ibara a Arana, 2011) nebo značky napsané přímo na krunýř sledovaného jedince nesmazatelnou barvou nebo lakem (Jermy a kol., 1988; Musil a kol., 2010; Ramalho a kol., 2010). V těchto případech většinou nejsou raci značením významně omezováni, ale značky bývají ztraceny spolu se svlečeným krunýřem. Stejně je tomu i při značení metodou přistřížení či děrování telsonu, a to z důvodu regenerace takto poraněné části těla hned po prvním svlékání (Mittenthal a Hutton, 1982). Potřeba značení raků vyžadující čitelnou identifikaci jedinců nezávisle na následujícím svlékání činí externí značení nepoužitelným. Existuje nicméně řada metod, které se s tímto problémem s různou úspěšností potýkají a nabízejí výběr postupu v závislosti na pracnosti, finanční nákladnosti a efektivitě zvolené metody. Vhodně vybraná metoda značení by měla splňovat několik základních podmínek – neměla by negativně ovlivňovat růst a vývoj jedince, neměla by významně ovlivňovat chování jedince, značky by měly být čitelné nezávisle na probíhajících procesech svlékání a měly by být použitelné i pro juvenilní jedince (Weingartner, 1982; Haddaway a kol., 2011). Ne všechny metody ale vyjmenované podmínky zcela splňují.

### 3. KRITÉRIA PRO VÝBĚR VHODNÉ METODY ZNAČENÍ

V současné době existuje mnoho metod značení, které se od sebe liší nákladností, pracností, retencí značek, vlivem na růst a přežití značených jedinců nebo rozsahem použití pro různé velikostní kategorie raků (Haddaway a kol., 2011). Proto je důležité znát základní kritéria, podle kterých bychom měli postupovat, chceme-li správně zvolit metodu značení pro daný druh a velikost raka, stejně jako pro účel a délku sledování. Tato kritéria jsou shrnuta v tab. 1 a 2.

#### 3.1. Velikost značených jedinců

Technika značení musí odpovídat velikosti značených jedinců a její volba je tímto faktorem značně limitovaná. Čím menší jedinec, tím komplikovanější je správný výběr i aplikace značení. V úvahu je nutné brát manipulaci při značení (křehčí krunýř), velikost značky a velikost způsobeného zranění (vpichu, plošky kauterizace) v poměru ke značenému jedinci, možné omezení pohybu velikostí

nebo tvarem značky atd. Obecně je možné značit raky již od velikosti okolo 20 mm (velikost kódované mikroznačky 1 x 0,25 mm) (Sharp a kol., 2000), ale nejpoužívanější metody (elastomery, kauterizace, děrování telsonu) jsou vhodné pro jedince od velikosti 30–40 mm (Guan, 1997; Buřič a kol., 2008). Čipování a radiotelemetrie kvůli velikosti aplikovaných zařízení umožňují úspěšné značení jedinců zpravidla větších než 50 mm (Black a kol., 2010).

---

### 3.2. Požadovaná doba zachování (retence) značek

---

Výběr metody značení je do značné míry ovlivněn dobou, po kterou budou raci sledováni. Do úvahy zde musíme vzít také stáří značených jedinců. U juvenilních raků je nutné počítat s vyšším počtem svlékání během roku (Reynolds, 2002), což samo o sobě komplikuje použití některých metod (Nowicky a kol., 2008), ale i fyziologický stav jedince, tzn. zda se již nepřipravuje na proces svlékání, který může zapříčinit brzkou ztrátu popř. zhoršení čitelnosti značky. Dle doby retence můžeme značky rozdělit do tří skupin:

- a) **trvalé** – kdy je dle značky možné jedince identifikovat od doby jeho označení až do úhynu (čipování, VIA $\alpha$  štítky, elastomery, kódované mikroznačky);
- b) **dočasné** – kdy jsou značky čitelné ještě po jednom, popř. po více svlékáních, ale časem se ztrácejí (děrování a nastřihávání telsonu, kauterizace, kryogenní metoda, některé typy přívěsných značek);
- c) **krátkodobé** – plní svou funkci jen do doby prvního svlékání (telemetrie, označení povrchu karapaxu (hlavohrudí) barvou, přívěsné značky).

U kauterizace a děrování (střihání) telsonu je nutno počítat i s odlišnou regenerační schopností v rámci druhu i mezidruhově. Přestože se v odborné literatuře uvádí jejich retence po dobu několika po sobě jdoucích svlékání (Abrahamsson, 1965; Guan, 1997), jejich čitelnost může být výrazně snížena již po prvním svlékání (Toyota a kol., 2003; Buřič a kol., 2008).

---

### 3.3. Vliv značení na sledované jedince

---

Nevhodně vybraná metoda může značně zvýšit mortalitu značených raků v obsádkách (Howe a Hoyt, 1982; Claverie a Smith, 2007), výrazně ovlivnit růst a úspěšnost procesu svlékání (Guan, 1997; Buřič a kol., 2008; Linnane a Mercer, 1998; Haddaway a kol., 2011), omezit pohyb (Linnane a Mercer, 1998) a změnit tak celkové životní projevy a chování raků (Haddaway a kol., 2011). Špatně zvolená metoda způsobuje značné zkreslení získaných výsledků nebo úspěšnost celého sledování. I v případě, že zvolíme správnou metodu,



musíme dodržovat správné aplikační postupy. Při nevyhovujícím postupu aplikace můžeme rakům způsobit zbytečná zranění nebo je jinak poškodit. U jednotlivých metod jsou proto níže (tab. 2, kap. 4) uvedeny podmínky, kdy je vhodné metodu použít, stejně jako podrobný postup aplikace značek.

---

### 3.4. Variabilita značek

---

Z hlediska variability značek můžeme metody značení rozdělit do dvou skupin: 1. metody vhodné pro individuální značení, 2. metody vhodné pro skupinové značení. Individuálním značením rozumíme odlišení konkrétních jedinců ve sledované skupině. U skupinového značení se jedná o odlišení zpravidla několika skupin raků (např. raci reintrodukovaní v roce minulém a letošním nebo odlišení jejich různého původu).

Obvykle je možné u všech metod dosáhnout relativně vysoké variability, ale u některých z nich to může být na úkor čitelnosti jednotlivých značek. U některých metod je navíc nutné orientovat se podle daného klíče nebo si takový klíč vytvořit a podle něho se řídit (např. děrování telsonu nebo kauterizace). I když tyto metody mohou generovat až tisíce různých kódů, po prodělaném svlékání mohou nastat výrazné problémy, kdy determinace částečně regenerovaných značek bývá obtížná a vede k záměně označených jedinců. Tento problém pak může nastat i při použití složitých kombinací elastomerů (rozmazání, putování značek pod kutikulou). Z tohoto pohledu jsou pro individuální značení vhodnější značky s unikátním nezaměnitelným kódem, jako je tomu u kódovaných mikroznaček, čipů nebo VI Alpha štítků, kde je alfanumerický kód kombinován s barevným pozadím štítku. Ostatní popsané metody jsou vhodnější pro skupinová značení s cílem zamezení chybného určení jedince. Přívěsné značky mohou mít rovněž unikátní kód (nebo jen barevné odlišení), ale jejich použití bývá omezeno většinou do prvního svlékání.

Metody jako kauterizace nebo děrování a stříhání telsonu a uropodů navíc se vzrůstajícím počtem značených individuů způsobují vyšší stres v důsledku většího počtu zranění (vpichů, vypálených míst) a jejich následné regenerace.

---

### 3.5. Etické hledisko

---

Jedním z hlavních hledisek při výběru vhodné metody značení raků je způsobit jim co nejmenší rozsah zranění, co nejméně je poznamenat pro další vývoj a cykly svlékání, a přitom maximálně využít možnosti zvolené metody značení (retence, variabilita). Přestože doposud není u korýšů zcela vyřešená otázka jejich schopnosti vnímat bolest (Gherardi, 2009), metody značení způsobují často rakům stres, který může vést k většímu či menšímu ovlivnění

jejich životních projevů nebo v krajním případě až úhynu. Jako příklad může posloužit děrování telsonu a uropodů v kombinaci se zastříháváním pleurálních výběžků (viz obr. 10) abdomenu nebo kauterizace (vypalování značek teplem) použitá pro vysoký počet jedinců (vyšší počet značek). Metodou sice můžeme podstatně snížit náklady (viz níže), ale značeným jedincům způsobujeme zbytečně velké množství zranění, se kterými se budou muset vyrovnat. Přitom existují metody šetrnější. Je třeba brát v úvahu také délku trvání samotné aplikace značek, tj. dobu, kdy značení raci prodělávají největší stresovou zátěž. Pokud jsme nuceni značku lokalizovat na několika místech dle složitějšího klíče, bude doba aplikace delší a stresová zátěž vyšší.

Dalším parametrem při výběru vhodné metody značení je poměr velikosti značky (velikosti zranění) a velikosti jedince, neboť kromě stresu a regeneračního úsilí musíme počítat i s otevřením přístupové cesty patogenům do těla raka.

Přihlížíme samozřejmě i k fyziologickému stavu jedince a rozhodně neprovádíme značení těsně před nebo po svlékání, kdy je krunyř měkký a neopatrnou manipulací můžeme způsobit až úhyn raků (Reynolds, 2002).

### 3.6. Cena

Porovnání finanční nákladnosti jednotlivých metod značení poměrně dobře shrnul Haddaway a kol. (2011). Nicméně pro objektivní posouzení jednotlivých metod je nutné vzít v úvahu pracnost a časovou náročnost (pracovní náklady), potřebu speciálních pomůcek pro aplikaci a čtení značek a také potřebné vzdělání a zkušenosti pracovníků provádějících značení. Mimoto je třeba také zohlednit retenci značek a případnou mortalitu raků. Všechny uvedené parametry jsme se pokusili shrnout v tab. 1.

**Tab. 1.** *Přehled finančních, pracovních nákladů a osobních předpokladů u jednotlivých metod značení s uvedením vlivu značení na mortalitu značených jedinců (1 – nemá významný vliv, 2 – obvykle bez vlivu na přežití, 3 – může významně ovlivnit přežití, 4 – často sledovaná vysoká mortalita), upraveno dle Haddaway a kol. (2011).*

Metoda značení	Cena/ značka (ks)	Způsob detekce	Vliv na přežití	Časová náročnost	Náročnost metody
VIE*	od 1 Kč + nutný aplikátor a příslušenství	vizuálně ihned nebo dle klíče	1	nízká – střední – vzrůstá se složitostí kombinací	postačuje základní manuál + základní zkušenosti popř. klíč

## METODIKA ZNAČENÍ RAKŮ

VIAAlpha**	16 Kč + nutný aplikátor	vizuálně ihned	1	nízká	postačuje základní manuál
Mikroznačky	3 Kč + nutný aplikátor a čtečka	disekce značky a čtečka (mikroskop)	1 po značení, 3-4 při zpětné disekci značek	nízká	postačuje základní manuál
Kauterizace	~ 0 Kč + plynová nebo elektrická pájka	vizuálně dle klíče	2, 3 při nevhodné intenzitě těsně před a po svlékání	nízká – vysoká – vzrůstá se složitostí kombinací	nutná zkušenost a znalost klíče
Děrování, stříhání	~ 0 Kč + nůžky, jehly	vizuálně dle klíče	2	nízká – vysoká – vzrůstá se složitostí kombinací	nutná zkušenost a znalost klíče
Barvy, laky	~ 1 Kč	vizuálně ihned	1	nízká – střední – vzrůstá se složitostí kombinací	-
Přívěsné značky	do 75 Kč	vizuálně ihned	1, 3 možné komplikace při svlékání	nízká	postačuje základní manuál
Telemetrie	v tisících Kč, dle výkonnosti vysílačky	nutný přijímač radiového signálu	1	střední	postačuje základní manuál + nutná zkušenost
Čipování	40-90 Kč + nutný aplikátor	detektor nutný	2	nízká	postačuje základní manuál
Kryogenní metoda	do 20 Kč + nezbytná je kovová matrice a kapalný dusík	vizuálně dle klíče	2, 3 při nevhodné intenzitě po svlékání	vysoká + vzrůstá se složitostí kombinací	nutná zkušenost a znalost klíče

\* VIE (visible implant elastomers) – značení elastomery (kap. 4.5.).

\*\* VIAAlpha (visible implant alphanumeric tags) – značení pomocí alfanumerických štítků (kap. 4.4.).

**Tab. 2.** Přehled vlastností metod značení ovlivňujících použitelnost metod. V případě míry stresu a poškození je použita stupnice od 1 (minimální stres a poškození) do 5 (zbytečné zraňování jedinců s možným vlivem na životní projevy značených raků).

Metoda značení	Doba retence značek	Použitelnost	Možná omezení	Max. teoretická variabilita	Doporučené použití	Míra stresu a poškození
VIE	trvalé	neomezeně	–	tisíce, dle počtu barev, lokací a jejich kombinací	skupinové i individuální značení do stovek ks	1-3
VIAAlpha	trvalé	neomezeně	–	10 000 ks	individuální značení, tisíce ks	1
Mikroznačky	pouze po danou dobu sledování	nemožnost opakování sledování	poranění-usmrcení při zpětné disekci značky	neomezeně, unikátní kód	individuální značení, tisíce ks	1 (4*)
Kauterizace	mizí po 1–3 svlékáních	vyjma studia růstu a vývoje	možné omezení růstu	max. 6 392	skupinové i individuální značení, stovky ks	3–4
Děrování, stříhání	mizí po 1–3 svlékáních	vyjma studia růstu a vývoje	možné omezení růstu	min. 10 800 ks	skupinové i individuální značení, stovky ks	4–5
Barvy, laky	na dobu do prvního svlékání	krátkodobé sledování životních projevů	–	neomezeně, možnost unikátního kódu	skupinové i individuální značení stovky ks	1
Přívěsné značky	krátkodobé	vyjma studia pohybu a chování	možné omezení pohybu, chování, úhyn při svlékání	neomezeně, možnost unikátního kódu	skupinové i individuální značení, tisíce ks	2–3
Telemetrie	krátkodobé, dle životnosti baterie nebo do prvního svlékání	krátkodobé až střednědobé sledování v přírodních podmínkách	možné omezení pohybu u menších jedinců	dle rozsahu kmitočtu povoleného pro radiotelemetrii, desítky	individuální pro desítky ks	1

Čipování	trvalé	neomezeně	poškození příliš malých jedinců	neomezeně, unikátní kód	individuální značení, tisíce ks	2
Kryogenní metoda	mizí po 1–2 svlékáních	vyjma studia růstu a vývoje	možné omezení růstu	desítky, kombinace místa a tvaru matrice	skupinové značení, individuální značení pro desítky ks	3–4

\* Hodnota 4 pro mikroznačky zohledňuje nutnost usmrtit značeného jedince pro detekci značek. Možnost vyjmutí značky bez významného zásahu je minimální (viz kap. 4.3.).

## 4. METODY ZNAČENÍ RAKŮ

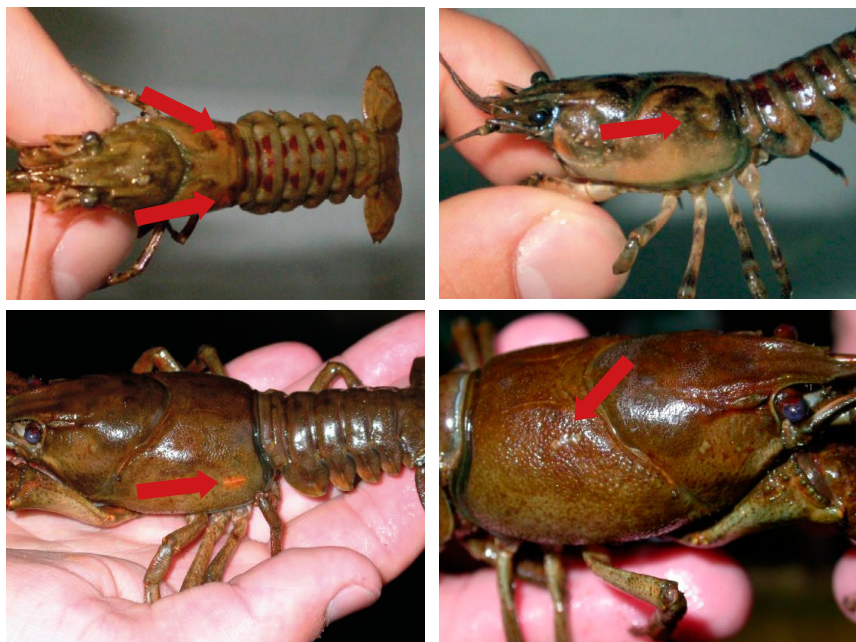
### 4.1. Kauterizace

#### Popis metody

Kauterizace neboli značení teplem (vypalováním značek) spočívá v přiložení žhavého předmětu (zpravidla hrotu elektrické nebo plynové pájky) ke karapaxu raka na krátkou dobu. Působením tepla jsou lokálně rozložena termolabilní barviva v krunyři raka a je patrná vzniklá červenooranžová skvrna (obr. 1). Červené zbarvení místa je způsobeno barvivem krustaceorubinem, který působení tepla odolává (Vogt, 2002; Kozák a kol., 2013). Plynové i elektrické pájky jsou v obchodní síti dostupné a pro potřeby značení raků je není třeba speciálně upravovat. Metodu pro raky (konkrétně pro raka říčního *Astacus astacus*) poprvé použil a propracoval Abrahamsson (1965). Metoda je vhodná pro jedince větší než 40 mm celkové délky těla, kdy je krunyř raka již dostatečně silný a limituje se následné poškození raka po svlékání. Po svlékání totiž značka, červený bod, regeneruje a je patrná jako „jizva“ na krunyři (obr. 1). V případě aplikace metody na jedince menšího vzrůstu s tenčím krunyřem, popř. jedinců těsně před či po svlékání, může vést k neúplnému zacelení „jizev“. Rak je potom vystaven fyziologické zátěži spojené s co nejrychlejším zacelením poškozených míst. Regenerace bodů navíc znamená zvýšený výdej energie, který se může u značených raků projevit pomalejším růstem (Buřič a kol., 2008). Tento efekt se projevuje markantněji u menších jedinců a při vyšším počtu značek (bodů) na karapaxu. Přes pravděpodobné zkreslení výsledků je tato metoda hojně využívána pro studie růstu (Westman a Savolainen, 2002) a reprodukce raků (Celada a kol., 2005; Sáez-Royuela a kol., 2005), monitoring populací původních i nepůvodních druhů raků (Westman a kol., 1999; Bolat a kol., 2011), sledování úspěšnosti vysazení původních druhů (Huolila a kol., 2007) nebo migračních schopností raků (Kozák a kol., 2004; Wutz a Geist, 2013).

## Postup značení

Pro značení používáme elektrickou nebo plynovou pájku (ta je vhodná zejména do terénu) s tenkým hrotem. Po rozpálení hrot dle klíče přitiskneme na určené místo hlavohruď (obr. 2) nebo abdomenu (obr. 3) a krátkou chvíli podržíme, obvykle 1–2 sekundy. Na místě přiložení hrotu se vytvoří oranžová až červená skvrna – značka o velikosti přibližně 3 mm. Dle značícího klíče pak stejným postupem pokračujeme až ke zvolenému číslu jedince. Dobu přiložení hrotu ke karapaxu bohužel nejde paušalizovat, je variabilní podle velikosti značeného raka a vyžaduje jistou zkušenost. Menší jedinci mají totiž tenčí krunýř a pro označení postačuje velmi krátké přiložení hrotu pájky. V případě delšího přiložení už můžeme takového jedince významně poškodit. U větších raků naopak vytvoření značky trvá vzhledem k síle krunýře déle (než se bod na karapaxu dostatečně prohřeje). Značení by neměli být jedinci před svlékáním nebo po svlékání, kdy je vyšší riziko výrazného poškození až úhynu jedince.



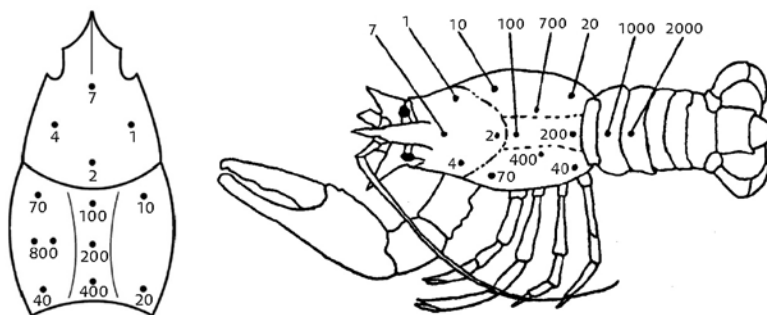
**Obr. 1.** Červeno-oranžová skvrna vzniklá označením pomocí kauterizace plynovou pájkou u raka pruhovaného *Orconectes limosus* (vlevo nahoře) a raka říčního *Astacus astacus* (vlevo dole). Značka po jednom prodělaném svlékání je viditelná jako již méně zřetelná jizva na karapaxu jak u raka pruhovaného (vpravo nahoře), tak u raka říčního (vpravo dole) (foto M. Buřič, A. Kouba).



**Obr. 2.** Značení raka bahenního *Astacus leptodactylus* pomocí tenkého hrotu plynové pájky v terénu (foto P. Kozák).

### Variabilita metody

Podle Abrahamssona (1965), který tuto metodu značení uplatnil pro raky, je možné individuálně označit za pomoci jím vytvořeného klíče až 6 392 jedinců. Možnosti klíče jsou ale různé a lze si je nastavit dle vlastních potřeb, zejména podle předpokládaného počtu značených jedinců, ale i podle velikosti značených raků nebo počtu skupin u skupinového značení. Příklady dvou odlišných klíčů jsou uvedeny na obr. 3. Každý bod symbolizuje číselnou hodnotu, při kombinaci bodů se tyto hodnoty sčítají. Vzhledem k možnému ovlivnění jedince touto metodou značení (viz níže) je tato metoda vhodnější spíše pro skupinové značení nebo individuální značení maximálně stovek jedinců (tab. 2).



**Obr. 3.** Příklady klíčů použitelných pro značení metodou kauterizace. Vlevo upraveno dle Wutze a Geista (2013), vpravo upraveno dle Abrahamssona (1965).

### Vliv na značené jedince

Kauterizace patří mezi metody, které mohou výrazně ovlivnit značené jedince. Míra ovlivnění ale záleží na dobrém uvážení způsobu jejího použití. Neovlivňuje přežití značených jedinců přímo po označení, ale může ovlivnit jejich další přežití (Linnane a Mercer, 1998; Haddaway a kol., 2011). V důsledku regenerace poranění, zejména v případě vícečetného značení, může dojít ke zpomalení růstu raka (Buřič a kol., 2008; Haddaway a kol., 2011). Proto je vhodné posoudit vztah mezi počtem značek a velikostí raka a zvážit zátěž pro organismus daného jedince (stres, bolest, regenerace zranění). V případě nevhodného použití metody může dojít až k úhynu jedince – příliš dlouhá doba expozice při značení, stejně jako použití u raků před svlékáním či těsně po něm může vést k nedohojení jizev po značení a vzniku otevřených ran, které mohou negativně ovlivnit odolnost jedince.

### Retence značek

Obvykle se uvádí u raka říčního *A. astacus* čitelnost značek minimálně ještě po dvou svlékáních (Abrahamsson, 1965), ale i tato charakteristika je pravděpodobně závislá na schopnosti jedince regenerovat poranění. Pro raka bělonohého *Austropotamobius pallipes* a raka signálního *Pacifastacus leniusculus* byla zjištěna retence značek ještě po 2 až 3 svlékáních (Haddaway a kol., 2011). Naproti tomu, u raka pruhovaného *O. limosus*, může být čitelnost značek významně ovlivněna již po prvním svlékání, u některých jedinců je značka dokonce takřka nedetekovatelná (Buřič a kol., 2008).

### Výhody, nevýhody, možnosti použití

Výhody: metoda levná, relativně rychlá, dostatečně variabilní, použitelná i v terénních podmínkách.

Nevýhody: možné ovlivnění růstu a přežití značených jedinců, omezení značení menších raků, retence značek závisí na schopnosti regenerace jedince (1–3 svlékání), nutná znalost klíče a základních zkušeností s metodou.

Možnosti použití: široce použitelná s výjimkou růstových studií, vzhledem ke vzrůstající stresové zátěži raků s narůstajícím množstvím značek je z etických důvodů vhodné metodu používat spíše pro skupinové značení nebo pro individuální značení nepřítis velkých experimentálních skupin.

---

## 4.2. Kryogenní metoda

---

### Popis metody

Kryogenní metoda je v podstatě „studená“ obdoba kauterizace (obr. 4). Funguje stejně jako kauterizace, dochází při ní k poškození chromatoforů



v epidermálních vrstvách krunýře (Fletcher a kol., 1989), které je viditelné po svlékání (1–2) jako „jizva“ na karapaxu. Pro účely značení se používal tekutý freon (Fletcher a kol., 1989), v současnosti je použitelný spíše tekutý dusík, který se využívá rovněž pro značení ryb (Refstie a Aulstad, 1975; Nickum a kol., 2004). Pro značení je možno použít podobný nebo stejný klíč jako u kauterizace, nebo použít speciální matrice. Tato metoda nebývá stoprocentně úspěšná a je použitelná jen v laboratorních podmínkách (Haddaway a kol., 2011). Také je vhodná spíše pro jedince větší velikosti. Navíc vzhledem k nutnosti skladování tekutých plynů, možnému ovlivnění značených jedinců a omezené použitelnosti, není tato metoda příliš využívána. Může se aplikovat pouze na raky, kteří nejsou před nebo po procesu svlékání, tj. tehdy, kdy je krunýř raka již dostatečně silný.



**Obr. 4.** Rak signální *Pacifastacus leniusculus* značený pomocí kryogenní metody (vlevo) a tentýž jedinec po označení (vpravo) (foto A. Kouba, M. Buřič).

### Postup značení

Tekutý plyn se nechá krátce nasáknout do tvarované pěnové houbičky, která se následně přiloží k hlavohruďi raka po dobu alespoň 10 sekund (Fletcher a kol., 1989). Případně je možné aplikovat pomocí kovových matic ke značení ryb, nebo upravených pro ryby. Úspěšnost tohoto typu značení je ale kolísavá a může dosahovat pouze 70 % (Fletcher a kol., 1989).

### Variabilita metody

Je možné použít klíče podobné klíčům pro kauterizaci, popř. modifikované, ale vždy jednodušší.

### Vliv na značené jedince

Přestože není dostupná studie zaměřená přímo na zjištění vlivu této metody na růst, mortalitu, popř. na další životní projevy raků, můžeme konstatovat, že značeným jedincům potencionálně působí podobné problémy jako kauterizace. Svoji povahou totiž způsobuje rakům obdobná poranění.

### Retence značek

Je nižší než u kauterizace, a to 1–2 svlékání, ale již prvotní čitelnost (po označení) je nespolehlivá (Fletcher a kol., 1989; Haddaway a kol., 2011).

### Výhody, nevýhody, možnosti použití

Výhody: metoda relativně levná.

Nevýhody: nutnost speciálního vybavení pro uchování tekutého dusíku, časová náročnost, nižší úspěšnost značení, použitelnost jen pro laboratorní podmínky, možné ovlivnění růstu a přežití značených jedinců, omezení v značení menších raků, nízká retence značek (1–2 svlékání), nutná znalost klíče a základních zkušeností s metodou.

Možnosti použití: použitelná spíše pro skupinové značení nebo pro individuální značení maximálně desítek jedinců (tab. 2).

---

## 4.3. Kódované mikroznačky

---

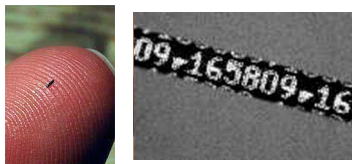
### Popis metody

Použití kódované drátkové mikroznačky (coded wire tag – CWT) je poměrně časté, snadné, relativně levné a má široké využití v nejrozmanitějších studiích (Haddaway a kol., 2011). Jedná se o magnetizované ocelové drátky (1 mm x 0,25 mm), které se jehlou vpravují do těla značeného jedince. Tyto drátky jsou opatřeny skupinovým nebo individuálním kódem vyleptaným po celé délce značky (obr. 5). Značení pomocí CWT nemá prakticky žádný dopad na růst a přežití raků, zároveň značka zůstává zachována v průběhu svlékání (NMT, 2012).

Tato metoda je vhodná i pro značení velmi malých juvenilních jedinců, a to již od délky hlavohruďi 12 mm (McMahan a kol., 2012). Mikroznačky byly úspěšně testovány dokonce na prvních vývojových stádiích langust (*Panulirus argus*), kdy pouze u prvního vývojového stadia (před prvním svlékáním) byla sledována zvýšená mortalita oproti kontrolní skupině (25%) – u dalších vývojových stadií již ke zvýšené mortalitě nedocházelo (Sharp a kol., 2000).

Značené jedince je možné identifikovat pomocí magnetických detektorů, manuálně nebo pomocí automatické linky. Pro přečtení kódu je nutné použít

mikroskop, binolupu nebo speciální čtečku (NMT, 2012). Problematické je vyjmutí značky pro potřebu identifikace jedince, obvykle totiž musí dojít k jeho usmrcení. Proto je tato metoda nepoužitelná pro studie, při kterých není usmrcení značeného jedince možné (Haddaway a kol., 2011). Navíc může být tento postup chápán jako neetický. Přesto vše je v některých případech (vyjmutí jehlou, pokud je značka dobře viditelná a dosažitelná) možné vyjmout značku bez významného poškození jedince (Oven a Blankenship, 1993). U raků však tento postup nebyl zatím dostatečně ověřen.



**Obr. 5.** Kódovaná mikroznačka je v podstatě velmi krátký tenký drátek (vlevo) s vyleptaným kódem čitelným až po zvětšení značky např. pod mikroskopem (vpravo) (foto: Northwest Marine Technology, Inc.).

### Postup značení

CWT mohou být aplikovány buď automaticky, nebo manuálně. Výrobce nabízí automatický injektor, který stříhá, magnetizuje a injikuje značky. U koryšů může být tímto způsobem označeno maximálně 500–600 jedinců za hodinu (NMT, 2012). Poněkud dostupnější a pro terénní použití vhodnější je ruční jehlový aplikátor pro již nastříhané značky. Značka se jehlou aplikátoru zanese pod průhlednou kutikulu ventrální strany abdomenu. Je vhodné značky do těla aplikovat vždy na stejné a viditelné místo pro případ jejich možné disekce bez usmrcení značeného jedince (Oven a Blankenship, 1993).

### Variabilita metody

CWT mohou být opatřené jednoduchým skupinovým kódem, častější je však použití série unikátních kódů, které jsou omezeny svou délkou. Teoreticky jsou možnosti kombinace kódů bez omezení (využití alfanumerických kódů, možné využití delších značek).

### Vliv na značené jedince

Jak již bylo popsáno výše, značení nezpůsobuje zvýšenou mortalitu u značených jedinců, snad vyjma extrémně malých juvenilů (Sharp a kol., 2000). Obecně je mortalita raků způsobená značením pomocí CWT uváděna jako minimální (Isely a Eversole, 1998; Davis a kol., 2004). CWT nezpůsobují negativní ovlivnění růstu a neomezují žádné životní projevy raků. Při aplikaci

je rakům způsobeno pouze nepatrné zranění, vpich, který se poměrně rychle zacelí.

### Retence značek

Ztrátovost značek je nízká (Linnane a Mercer, 1998; Isely a Stockett, 2001). Obvykle u raků ke ztrátám dochází pouze při prvním svlékání (vyklouznutí mikroznačky z nedohožené rány) a je maximálně na úrovni 12–14%. U následujících svlékání ke ztrátám značek obvykle nedochází (Sharp a kol., 2000; de Graaf, 2007).

### Výhody, nevýhody, možnosti použití

**Výhody:** relativně rychlá metoda, dostatečně variabilní a použitelná i v terénních podmínkách, neovlivňuje růst ani mortalitu značených jedinců, vhodná pro značení velmi malých jedinců.

**Nevýhody:** Nutnost disekce značky z těla raka před její identifikací, ve většině případů je nutné raka předem usmrtit. Nutnost využití binolupy, mikroskopu nebo speciální čtečky pro identifikaci kódu značky (vyšší náklady na pořízení).

**Možnosti použití:** široce použitelná metoda, kromě studií s nutností opakovat identifikaci raků. Metoda je vhodná i pro velmi malé jedince.

---

## 4.4. VI Alpha štítky

---

### Popis metody

Značky VI Alpha (*Visible Implant Alphanumeric tags*) jsou měkké biokompatibilní plastové (elastomery) fluorescenční značky, které mají poměrně široký potenciál využití (NMT, 2010). U koryšů se aplikují přímo pod průhlednou část exoskeletu, v těle raka tak zůstávají i po svlékání. Značky jsou poměrně malé (1,2 mm x 2,7 mm) a umožňují použití i pro jedince menší než 30 mm (Jerry a kol., 2001; Buřič a kol., 2008). Každá značka má alfanumerický kód (černé znaky na různě barevném fluorescenčním podkladu), který je snadno čitelný přes průhlednou kutikulu ventrální strany abdomenu. Pro značnou kapacitu kódu, snadnost aplikace bez vlivu na značené jedince a bezproblémovou čitelnost je tato metoda vhodná pro širokou škálu využití umožňujících efektivní individuální sledování. S úspěchem byla použita např. v dlouhodobé studii životního cyklu raka *Orconectes australis* (Venarsky a kol., 2012) nebo v selektivních programech u krevet (Arce a kol., 2003). Tato metoda značení se rovněž hojně využívá i např. u ryb (Summers a kol., 2006; Turek a kol., 2011) nebo obojživelníků (Buchan a kol., 2005).

### Postup značení

Pro aplikaci značek je nutný speciální aplikátor (obr. 6). Do ploché jehly aplikátoru se vsune značka a jehla se zavede mělce pod průhlednou kutikulu ventrální strany abdomenu. Jakmile je jehla dostatečně hluboko, zvolna vytlačíme značku z aplikátoru při jeho současném pomalém vytahování z rány. Značka by po aplikaci neměla nijak vyčnívat z rány po vpichu a měla by být rovnoměrně rozložena a čitelná (obr. 7). V případě přehnutí značky nebo jejím vyčnívání z rány je vhodné značku vyjmout a jedince buď označit znovu, nebo ho ze značení vyřadit, abychom ho opakovaně nestresovali.



**Obr. 6.** Nasunutí VI Alpha značky do aplikátoru z připraveného listu se značkami (foto NMT, 2010).



**Obr. 7.** Rak pruhovaný *Orconectes limosus* s viditelnou VI Alpha značkou pod průhlednou kutikulou ventrální části abdomenu (vlevo) a VI Alpha značka procházející ne zcela zhojenou ránou po aplikaci, nejčastější důvod ztráty značek (vpravo) (foto M. Buřič).

### Variabilita metody

Kombinace písmen, dvouciferných číslic a různě barevného podkladu (červená, oranžová, žlutá, zelená) poskytuje dostatečnou variabilitu pro individuální značení tisíců jedinců – každá barva má 2 500 různých kódů (NMT, 2010). Pro lepší čitelnost jsou značky fluorescenční a po nasvícení ruční UV lampou dobře čitelné za světla, ale i při nočním sledování (NMT, 2010).

## Vliv na značené jedince

Řadou studií nebyl zjištěn negativní efekt této metody značení na mortalitu ani růst značených jedinců (Isely a Stockett, 2001; Jerry a kol., 2001; Arce a kol., 2003; Buřič a kol., 2008).

## Retence značek

U VI Alpha značek je obvykle uváděna retence značek pouze na úrovni okolo 80 % (Isely a Stockett, 2001; Buřič a kol., 2008; Gotteland, 2013). Ztráty značek se nejčastěji vyskytují při prvním svlékání po značení, kdy může značka vyklouznout z ještě ne zcela zhojeného vpichu po její aplikaci (obr. 7). V případě, že se vpich v pořádku zhojí, ke ztrátám již nedochází. Značky jsou velmi dobře čitelné pouhým okem, bez nutnosti použití speciálního vybavení nebo klíče. Ve složitějších situacích lze použít pro lepší čitelnost speciální UV lampu a ochranné brýle, což ale výrazně zvyšuje nákladnost metody.

## Výhody, nevýhody, možnosti použití

**Výhody:** Minimální vybavení pro aplikaci a detekci značek, možnost dlouhodobého sledování, dobrá čitelnost, okamžitá identifikace, bez vlivu na přežití a růst raků.

**Nevýhody:** Poněkud vyšší cena značky, nižší retence značek, v případě použití UV lampy vyšší cena příslušenství.

**Možnosti použití:** Vhodné pro různorodé použití již pro jedince menší než 30 mm celkové délky těla. Spolehlivé, lehce detekovatelné značení až 10 000 jedinců.

## 4.5. Elastomery

### Popis metody

Značení pomocí elastomerů je nenákladná metoda s vysokou retencí značek a obvykle s minimálním vlivem na přežití, růst a životní projevy značených jedinců (Haddaway a kol., 2011). Elastomerní značky (VIE – *Visible Implant Elastomer*) jsou v podstatě dva roztoky na bázi silikonu, které po smíchání vytvoří kompaktní pevnou látku. Smíchaný roztok se vpravuje pod průhlednou kutikulu ventrální strany abdomenu, kde vytvoří podlouhlou barevnou značku (NMT, 2008). Taková značka je potom viditelná pouhým okem a v závislosti na složitosti značení (klíče) je možná okamžitá identifikace jedince. Existuje poměrně velké množství barevných variant elastomerů, včetně fluorescenčních (obr. 8). Kombinací umístění, barvy a množství značek lze docílit velmi vysoké variability značení (NMT, 2008). Metoda je vhodná i pro juvenilní raky nebo jiné korýše o celkové délce nad 25 mm (Clark a Kershner, 2006; Buřič a kol., 2008).

Vzhledem k jednoduchosti, variabilitě, minimálnímu efektu na značené raky a absenci speciálního drahého vybavení se jedná o široce využívanou metodu v laboratorních, ale hlavně v terénních podmínkách (Jones a Coulson, 2006; Clark a Kershner, 2011; Kadlecová a kol., 2012).

## Postup značení

Je nutné si nejprve připravit klíč podle předpokládaného počtu značených raků. Podle něj stanovíme počet barev, jejich kombinace a počet míst aplikace značek. Následně si namícháme směs ze dvou složek (barevné a transparentní) a umístíme ji do injekčního aplikátoru (ruční nebo poháněný vzduchem) pro každou barvu, kterou hodláme využívat. Pro označení volíme průhlednou tkáň, stejně jako u VI Alpha značek, tzn. u raků průhlednou kutikulu ventrální části abdomenu. Jehlu aplikátoru vpíchneme do místa značení a pomalu injikujeme materiál se současným vytahováním jehly (NMT, 2008). Po vytažení jehly by měla být viditelná podlouhlá rovná značka (obr. 9), která by neměla prostupovat ranou po vpichu, protože by byla pravděpodobně brzy ztracena.



**Obr. 8.** Vzorky deseti barevných variant elastomerů na denním světle (vlevo) a osvětlené UV lampou (vpravo) (foto NMT, 2008).



**Obr. 9.** Rak pruhovaný *Orconectes limosus* označený pomocí elastomerů, vpravo možná kombinace barev a pozic pro zvýšení variability kódů (foto M. Buřič).

Elastomery byly původně vyvinuty pro skupinové značení, nicméně možné kombinace s vysokou variabilitou evokují i použití pro individuální značení velkých skupin raků (NMT, 2008). Zde je třeba zvážit etické hledisko, zda místo 5 vpichů s elastomery s cílem získat dostatečnou variabilitu není vhodnější užití šetrnější metody. Při stanovení potřebného množství unikátní kódů lze využít vzorec:

$$\text{Počet unikátních kódů} = \frac{L!}{(L - N)!N!} \cdot C^N$$

kde C = počet použitých barev, L = počet míst aplikace, N = počet značek použitých na každém jedinci, např. při použití tří značek na třech lokacích při použití čtyř barev je možné použít celkem 64 unikátních kódů (NMT, 2008). Příklad postupu výpočtu:

$$\text{Počet unikátních kódů} = \frac{3!}{(3 - 3)!3!} = \frac{6}{1 \cdot 6} = \mathbf{64}$$

### **Vliv na značené jedince**

Obvykle se v literatuře uvádí, že značení pomocí elastomerů nemá žádný nebo má naprosto minimální vliv na růst, svlékání a přežití značených jedinců (Clark a Kershner, 2006; Buřič a kol., 2008; Haddaway a kol., 2011). V jedné práci byl popsán i případ zvýšené mortality raků značených elastomery (Gotteland, 2013). Vzhledem k ojedinelosti tohoto případu je možné, že zde sehrála roli spíše nezkušenost autora spojená s vyšší mírou poškození značených jedinců.

### **Retence značek**

Pro značení elastomery je uváděna vysoká retence značek (Jerry a kol., 2001; Mazlum, 2007), a to i po dlouhé časové úseky (Frisch a Hobbs, 2006). Čitelnost značek, a tedy i jejich použití pro individuální identifikaci většího množství jedinců, výrazně snižuje často pozorovaná fragmentace značek a jejich častý pohyb z místa původní aplikace (Jerry et al. 2001; Clark and Kershner 2006; Buřič a kol., 2008; Haddaway a kol., 2011). Z tohoto důvodu je vhodnější použít větší počet barev a nižší počet míst aplikace. Obecně lze doporučit elastomery spíše pro značení skupinové nebo individuální s nepříliš velkým množstvím jedinců.

### **Výhody, nevýhody, možnosti použití**

Výhody: nízká cena, nízká mortalita značených raků, bez vlivu na růst, vysoká variabilita kódů, vhodné i pro relativně malé jedince.



Nevýhody: časově náročná aplikace, pracnost, nutnost klíče pro určení kódů, častá fragmentace značek a jejich pohyb z míst původní lokace.

Možnosti použití: Pro skupinové i individuální značení (max. stovky jedinců), pro laboratorní i terénní sledování.

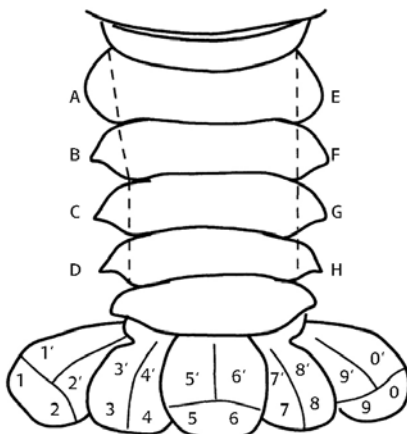
---

#### 4.6. Perforace/přistřižení telsonu/uropodu

---

##### Popis metody

Značení pomocí prostřihávání otvorů a značek na telsonu, uropodech popř. pleurálních výběžcích abdominálních článků (obr. 10) je sice častou metodou skupinového i individuálního značení s vysokou variabilitou, ale po jednom až třech svlékáních značky zcela mizí. Mimoto způsobuje rakům při provedení přímé zranění i nepřímé poškození (úsilí a energie vydaná na regeneraci poškozených částí těla), které se následně může projevit na růstu či kondici jedince. Přes tyto negativní vlivy je tato metoda u raků poměrně hojně využívána při populačních studiích (Hudina a kol., 2008; Scalici a kol., 2008; Beatty a kol., 2011) nebo také při studiích jejich růstu a vývoje (Guan a Wiles, 1999; Neveu, 2000), pro které není příliš vhodná. Jedná se o metodu relativně snadnou a levnou, která ale vyžaduje dobrou znalost značícího klíče a jistou zkušenost při zpětné detekci regenerovaných značení. Z etického hlediska je však tato metoda nevhodná.



**Obr. 10.** Celkem 28 možných lokací značení na telsonu (5–6), uropodech (1–4; 7–0) a pleurálních výběžcích (A–H) abdominálních článků raků (Guan, 1997).

### Postup značení

Značení spočívá ve vytvoření děr na kterémkoli z dvaceti možných míst na telsonu a uropodech a odstříhnutí konců pleurálních výběžků (obr. 10). V průběhu značení držíme raka na vlhké houbičce (molitanu) a pomocí jehly (0,5–0,8 mm v průměru – dle velikosti raka) propíchneme zvolené lokace na telsonu a uropodech, čímž vytvoříme otvor patrný i po jednom až třech svlékáních. Pleurální výběžky se zastřihávají ostrými nůžkami (Guan, 1997).

### Variabilita metody

Perforováním jednoho až tří míst na ocasním vějíři raka a odstřížením jednoho pleurálního výběžku získáváme unikátní kombinaci kódu. Počet možných kombinací vypočítáme podle vzorce:

$$N = \frac{m!}{(m - n)!n!}$$

kde N = počet možných kombinací, m = celkový počet značených míst a n = počet označených míst. Například vytvořením 1–3 děr v telsonu a uropodech při možných dvaceti pozicích značení získáme celkem 1 350 unikátních kombinací. Tento počet může být jednoduše zvýšen odstřížením jednoho z osmi výběžků abdominálních segmentů na celkem 10 800 kombinací. Pakliže značíme odděleně samce a samice, je tento počet ještě zdvojnásoben (Guan, 1997).

### Vliv na značené jedince

Guan (1997) uvádí, že mortalita značených jedinců raka signálního *P. leniusculus* se obvykle neliší od neznačených, nicméně studie provedené na krevetách *Litopenaeus vannamei* nebo humrech evropských *Homarus gammarus* zaznamenaly poměrně vysokou mortalitu u značených jedinců na úrovni 37–47%, respektive 20% (Linnane a Mercer, 1998; Leaño a Liao, 2006). Z důvodu ztráty energie, kterou rak vynaloží na regeneraci zranění, je významně redukován růst, a to o 15–18% oproti neznačeným jedincům. Navíc byly u označených jedinců v průběhu svlékání zaznamenány problémy, které mohou mít za následek vznik deformací v místech poranění, zejména v případě dvou děr na stejném uropodu/telsonu (Guan, 1997).

### Retence značek

Retence značek je vysoká, ale doba retence se různí v závislosti na regeneračních schopnostech raka. Obecně se uvádí čitelnost značek ještě po 1 až 3 svlékáních (Guan, 1997).

**Výhody, nevýhody, možnosti použití**

Výhody: levná metoda, bez nutnosti speciálního vybavení.

Nevýhody: redukce růstu značených jedinců, možné ovlivnění přežití, metoda nejhůře přijatelná z etického hlediska, nutnost znalosti klíče, delší doba značení.

Možnosti použití: vzhledem k množství způsobených zranění značeným jedincům, redukcí růstu a možnému vlivu na přežití, je tato metoda vhodná spíše pro nouzové značení menšího počtu raků, kdy jiná metoda není dostupná.

---

**4.7. Přívěsné značky**

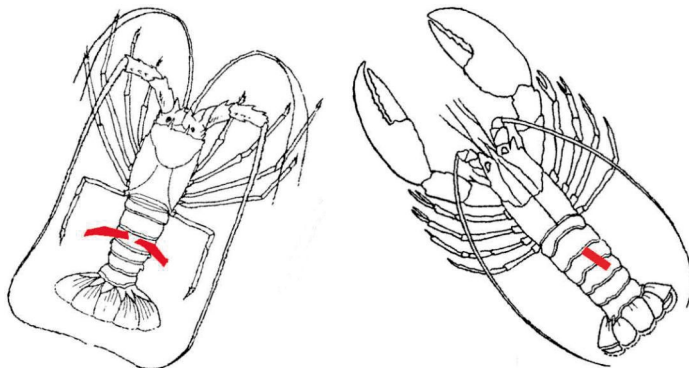
---

**Popis metody**

Tato metoda je více rozmanitá než předchozí a shrnuje několik postupů značení externími značkami. Může se jednat o značky přivazované na tělo raka (Ibara a Arana, 2011), značky nastřelené do těla (abdomenu) jedince – *streamer tags* (Montgomery a Grey, 1991), nebo to mohou být kovové klipsy připevněné většinou na uropody nebo telson (Mittenthal a Hutton, 1982; Hazlett a Rittschof, 1985). Jak název metody napovídá, značka je připevněna vně tělo raka. To znamená výrazné omezení použitelnosti těchto značek, neboť jsou obvykle ztraceny hned při prvním svlékání. Navíc mohou během svlékání způsobit rakům nemalé problémy, které mohou negativně ovlivnit proces svlékání a zapříčinit úhyn jedince (Linnane and Mercer 1998).

**Postup značení**

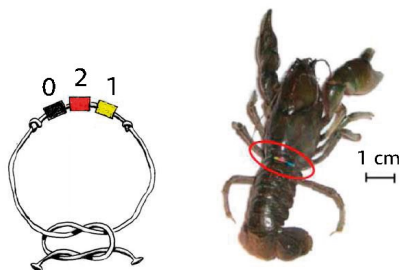
Aplikace značek je velmi jednoduchá. V případě "streamer tags" se značka provlékne skrz abdomen pomocí jehly nebo pomocí nastřelovací pistole (Floy Tag Inc., Seattle, USA). Možnosti umístění značky jsou zobrazeny na obr. 11. V případě klipsů stačí k jejich připevnění použít kleštičky, kterými značku namáčkneme na vhodném místě, obvykle na telson nebo uropody. Přivazovací značky umístíme na tělo mezi hlavohrudí a abdomenem (obr. 12).



**Obr. 11.** Aplikace externích značek streamer tags na těle korýšů (vlevo langusta, vpravo humr). Upraveno podle Floy Tag Inc., Seattle, USA.

### Vliv na značené jedince

Přívěsné značky mají značný negativní vliv na přežití značených jedinců (Howe a Hoyt, 1982; Linnane a Mercer, 1998; Claverie a Smith, 2007). Problémem při užití této metody jsou závažné komplikace v průběhu procesu svlékání, kdy se označený rak není schopen z důvodu překážející značky vymanit z krunýře. Tyto komplikace mohou vést až k úhynu jedince (Linnane a Mercer, 1998). Podobné problémy se mohou vyskytnout i u značek přivázaných mezi hlavohrudí a zadečkem. U klipsů nebyl vliv na značené jedince prozatím studován.



**Obr. 12.** Detail přivazovací značky a její umístění na těle raka. Upraveno podle Ibera a Arana (2011).

### Variabilita metody

Povaha jednotlivých značek umožňuje úpravu tak, aby reprezentovaly unikátní kód. Stejně tak dobře se pro skupinové značení mohou použít pouze různě barevné značky.

### Retence značek

Retence značek je vysoká do prvního svlékání, kdy dochází k jejich ztrátě. U streamer tags značky přetrvávají i po svlékání, ale mají značný vliv na úspěšnost samotného svlékání (Linnane and Mercer 1998).

### Výhody, nevýhody, možnosti použití

Výhody: snadná a rychlá detekce, snadná aplikace.

Nevýhody: možný vliv na přežití značených jedinců, komplikace při svlékání, krátkodobé značení.

Možnosti použití: krátkodobé studie.

---

## 4.8. Popisování

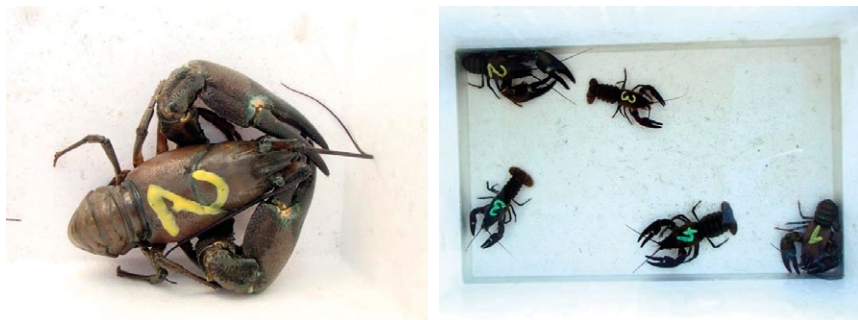
---

### Popis metody

Jedná se o velmi jednoduchou metodu krátkodobého značení, vhodnou zejména pro laboratorní studie, jako např. chování raků (Kozák a kol., 2009; Ramalho a kol., 2010; Musil a kol., 2010), ale jsou použitelné i při sledování raků v přímo terénu (Coignet a kol., 2012).

### Postup značení

Těsně před označením osušíme dorzální část hlavohruďi raka a pomocí zvolené pomůcky (barevný lak na nehty, vodě odolný permanentní popisovač – značkovač) označíme raka číslem, písmenem, či jinak zvoleným znakem. Značku necháme chvíli zaschnout a raka vrátíme zpět do vody (obr. 13).



**Obr. 13.** Raci signální *Pacifastacus leniusculus* označení na karapaxu různě barevnými číslicemi při použití laku na nehty (foto A. Kouba, M. Buřič).

### Variabilita metody

Variabilita metody je závislá na způsobu sledování takto značených jedinců. Pokud budeme identifikovat značené raky po jejich opětovném odlovení, je variabilita této metody v podstatě neomezená. V případě, že značky slouží pro kontinuální identifikaci raka kamerovým systémem (behaviorální studie, např. Kozák a kol., 2009; Musil a kol., 2010), jsme omezeni čitelností značky na záznamu, tzn. značky musí být dostatečně velké a od sebe dobře rozlišitelné.

### Vliv na značené jedince

Není znám.

### Retence značek

Pokud nedojde k rozmazání značek před jejich zaschnutím, je jejich retence a čitelnost stoprocentní, pouze do prvního svlékání, kdy značka zůstává na svléknutém krunýři.

### Výhody, nevýhody, možnosti použití

Výhody: snadná a levná metoda, bez negativního vlivu na značené raky.

Nevýhody: krátkodobé značení.

Možnosti použití: především laboratorní sledování.

## 4.9. Čipování

### Popis metody

Čipování využívá unikátní kód každého čipu, který po aplikaci do těla raka znamená jeho trvalé, spolehlivé označení. Pasivní integrovaný vysílač (*Passive integrated transpoder* – PIT) se skládá z malého předprogramovaného mikročipu (přibližně 12 x 2,1 mm), s desetimístným číselným kódem, zalitého do biokompaktibilního plastu nebo skla. K identifikaci označených raků po jejich opětovném odlovení dochází pomocí různých typů čteček. Přímou ve vodním prostředí s použitím voděodolných čteček s větším dosahem, na dně toku pomocí speciálních ráků. Inertní čip je při identifikaci stimulován elektromagnetickým signálem čtečky (detektoru) k vyslání odpovědi, tj. naprogramovaného kódu. Čipy mají neomezenou životnost. Maximální vzdálenost čtečky od čipu pro úspěšné vyvolání signálu se s technickými možnostmi zvyšuje a pohybuje se v rozmezí 5–25 cm (Lucas a kol., 1999; Bubb a kol., 2006; Cooke a kol., 2013). Metoda je široce používána pro účely sledování populací raků a jejich ekologických charakteristik (Bubb a kol., 2002; Bubb a kol., 2006; Black a kol., 2010). Použití čipů je vhodné spíše pro větší raky nad 30 mm délky hlavohruď (cca 60 mm celkové délky těla).

### Postup značení

Čip je možné aplikovat na několik míst v těle raka. Nejčastějšími místy jsou hlavohrud' (Bubb a kol., 2002; Black a kol., 2010) a svalovina zadečku (Buřič a kol., 2008) (obr. 14). U větších jedinců bylo testováno i značení do klepete (Vích, 2008), kde je však vysoké riziko ztráty čipu v důsledku ztráty klepete (po značení nebo později např. při souboji či svlékání). Samotná aplikace čipu je poměrně jednoduchá. Do aplikátoru se nabere čip, jehlu aplikátoru přiblížíme na rozhraní hlavohruďi a zadečku a značenému jedinci lehce stlačíme zadeček (abdomen) tak, aby se mezi ním a hlavohruďí vytvořil prostor pro vpíchnutí jehly. Jehlu opatrně vsuneme pod krunýř a vytlačíme čip z aplikátoru do tělní dutiny raka. Při značení do svaloviny abdomenu, vedeme vpich (v polovině bližší k hlavohruďi) do měkké průhledné ventrální části směrem k hlavohruďi. Při vytlačování čipu do svaloviny abdomenu pomalu vytahujeme aplikátor.



**Obr. 14.** Ukázka čipu aplikovaného do svaloviny zadečku raka pruhovaného *Orconectes limosus* (vlevo, foto M. Buřič) a rentgenový snímek raka signálního *Pacifastacus leniusculus* značeného čipem do hlavohruďi (vpravo, upraveno dle Bubb a kol., 2002).

### Variabilita metody

Čipování má pravděpodobně největší kapacitu kódů, je možné použít více než 34 miliónů unikátních kódů (Haddaway a kol., 2011).

### Vliv na značené jedince

V případě čipování raků musíme dbát na správnou volbu velikosti značených jedinců. U značení menších jedinců (pod 22mm délky hlavohruďi), než je doporučeno, dochází k velmi výrazné mortalitě (25–50%) (Black a kol., 2010), která je patrně vyvolána poškozením orgánů v hlavohruďi během aplikace, popř. pouze efektem velkého cizího tělesa v poměrně malé tělní dutině. U větších jedinců nebyl zjištěn žádný negativní vliv na přežití ani růst značených raků (Bubb a kol., 2002; Burič a kol., 2008; Shepperd a kol., 2011).

## Retence značek

Retence čipů je velmi vysoká, po úspěšném označení nedochází k jejich ztrátám, bez rozdílu umístění čipu (hlavohrud' nebo svalovina abdomenu) (Bubb a kol., 2002; Buřič a kol., 2008). Čitelnost čipů není časově omezená, raci jsou označeni doživotně, což umožňuje dlouhodobé sledování.

## Výhody, nevýhody, možnosti použití

Výhody: jednoduchá aplikace, časově neomezená životnost čipů, vysoká kapacita unikátních kódů, vysoká retence, bez vlivu na mortalitu a růst raků (pokud je správně zvolena velikost značených jedinců), možnost opětovného využití čipu po úhynu značeného raka.

Nevýhody: vyšší pořizovací cena čipů, nutnost identifikace čipů pomocí speciálních čteček, použitelné jen pro jedince o délce hlavohrudí nad 30 mm.

Možnosti použití: zejména dlouhodobé sledování populací raků, migrací, popř. označení generačních raků.

---

## 4.10. Telemetrie

---

### Popis metody

Telemetrie je metodou značení, která vyžaduje značné materiální vybavení a z výše zmiňovaných metod je určitě tou nejnákladnější. Na druhou stranu může poskytnout data jinou metodou sledování nezjistitelná. Základním vybavením je vysílačka, jejíž velikost musíme volit podle velikosti značených raků, ale také podle předpokládané doby sledování. Podstatnou část vysílačky totiž tvoří baterie, která může limitovat použitelnost metody jen na velmi velké jedince. Obecně platí, že hmotnost vysílačky by neměla překročit 10 % hmotnosti značeného jedince a její rozměry by neměly omezovat pohyblivost a normální chování raků (Gherardi a Barbaressi, 2000; Bubb a kol., 2004; Buřič a kol., 2009; Biotrack Ltd., Wareham, Velká Británie). Správná volba vysílačky (velikost baterií, nastavení impulsů za minutu, nastavení odlišitelných frekvencí) s ohledem na velikost raka může mít značný podíl na množství získaných dat a finanční nákladnosti – cena vysílaček se totiž pohybuje dle typu v tisících až desetitisících korun. Životnost baterií vysílaček je variabilní, podle jejich typu a nastavení (čím více impulsů za minutu, tím kratší životnost, ale snazší detekce) se pohybuje v týdnech až měsících. Další vysoce nákladnou částí pro radiotelemetrii je přijímač rádiových vln včetně mobilních popř. stacionárních antén. Povolené frekvence pro telemetrii jsou uvedeny ve všeobecném oprávnění k využívání rádiových kmitočtů a k provozování zařízení krátkého dosahu Českého telekomunikačního úřadu (ČTÚ, 2012). Vhodný rozsah



frekvence pro radiotelemetrii v ČR s ohledem na povolená frekvenční pásma a parametry vyráběných radiotransmíterů je 138,200–138,450 MHz.

### Postup značení

Dodané vysílačky se jednoduše trvale přilepí (postačuje vteřinové lepidlo) na osušenou dorzální stranu hlavohruď (obr. 15). Lepidlo se nechá chvíli zaschnout a jedinec se co nejdříve vrátí zpět do vody.

### Variabilita metody

Vhodný rozsah frekvence pro radiotelemetrii nám v podstatě definuje i variabilitu metody. Jednotlivé vysílačky totiž musí mít dostatečně odlišnou frekvenci, aby při jejich vyhledávání nedocházelo k překryvu signálu. Jako dostatečný lze považovat odstup jednotlivých frekvencí vysílaček od 0,010 do 0,012 MHz, což nám determinuje i maximální počet vysílaček použitých na jedné lokalitě v rámci povolené frekvence na 20–25.



**Obr. 15.** Vysílačka připevněná na hlavohruď raka pruhovaného *Orconectes limosus* (vlevo). Samice opatřená vysílačkou, která se i s připevněnou vysílačkou úspěšně účastnila reprodukce - na fotografii s vylíhlými ráčaty v prvním vývojovém stadiu (vpravo) (foto M. Buřič).

### Vliv na značené jedince

Pokud jsou dodrženy požadavky na velikost a hmotnost vysílačky oproti velikosti značeného raka (viz výše), není negativní vliv značení patrný (obr. 15). V případě použití větších rozměrů vysílaček může být ovlivněna pohyblivost raka a jeho chování.

## Retence značek

Jelikož se jedná o externí aplikaci, její životnost je maximálně do prvního svlékání, kdy je vysílačka shozena společně se starým krunýřem. Proto je vhodné vybírat pro telemetrii jedince, kteří se v dohledné době nebudou svlékat. Jistým znakem pro identifikaci může být zcela čistý krunýř po prodělaném svlékání nebo roční období (při teplotě vody pod 5 °C už se raci zpravidla nesvlékají).

## Výhody, nevýhody, možnosti použití

**Výhody:** možnost kontinuálního bezkontaktního sledování raků v přirozeném prostředí, získání detailní informací o pohybu jedinců.

**Nevýhody:** značná finanční nákladnost, krátká použitelnost (životnost baterií/svlékání), nutná zkušenost s přijímačem pro vyhledávání značených jedinců v terénu.

**Možnosti využití:** detailní studie pohybů, migrací a chování raků v přirozených nebo vytvořených podmínkách.

## 5. ZÁVĚRY A DOPORUČENÍ

Značení raků a jejich následné sledování, ať už laboratorní nebo terénní, umožňuje získání důležitých informací o způsobu života, biologii a chování raků, stejně tak jako informací o vývoji konkrétních populací původních druhů raků nebo o schopnostech šíření a postupu druhů nepůvodních. Proto je role značení a opětovných kontrolních odlovů (*mark-recapture*) takřka nezastupitelná. Takto získaná data mohou sloužit k úpravě managementu ochrany daného druhu nebo konkrétních populací, popř. určení rizikových zón kontaktu původních a nepůvodních druhů a predikci budoucího vývoje.

Vzhledem k široké škále metod použitelných pro značení raků, lze v dnešní době vybírat vhodnou metodu nejen podle požadavku na množství označených kusů, ale i podle konkrétního účelu sledování, ceny, retence značek a tedy i efektivity, ale v neposlední řadě také podle etického hlediska, a to zejména při značení druhů raků ohrožených nebo kriticky ohrožených.

Tato metodika přispívá k všeobecnému povědomí o možných postupech značení u raků. Jejím posláním není říci, která metoda je nejlepší, hlavním doporučením je přistupovat k volbě metody vždy individuálně pro každý konkrétní účel a komplexně zvážit všechna pro a proti, např. srovnání ceny a efektivity, pracnosti a možností využití, použitelnosti pro různé velikostní kategorie apod. Doporučit z uvedeného přehledu metod pouze jednu není nikdy možné, ale vzhledem k dostupnosti efektivních metod můžeme např. omezit použití metod, které jsou z etického hlediska nevhodné, tj. způsobují nadměrné zraňování jedinců, ovlivňují růst nebo přežití raků.

## 6. SROVNÁNÍ „NOVOSTI POSTUPŮ“

Vzhledem k neustálému vývoji nových postupů a metod je nutné si nejprve udělat komplexní obrázek o výhodách a nevýhodách jednotlivých metod, o jejich technické náročnosti, možnostech využití a dopadu na značený organismus. Tato metodika srovnává starší zavedené postupy společně s těmi novějšími, vyspělejšími, ale i často technicky a odborně náročnějšími. Jednotlivé metody jsou navíc rozpracovány detailněji podle aktuálních poznatků a zkušeností autorského kolektivu s uvedením jinde nedefinovaných výhod, nevýhod, přínosů či komplikací jednotlivých metod. Cílem metodiky je vytvoření komplexního obrazu o použitelnosti jednotlivých metod na základě teoretických a praktických poznatků. Účelem metodiky je potom zefektivnit práci při uvážení efektivnosti vynaložených nákladů na straně jedné a co nejširší možnou využitelností na straně druhé.

## 7. POPIS UPLATNĚNÍ CERTIFIKOVANÉ METODIKY

Metodika by měla být uplatněna organizacemi angažujícími se v monitoringu a ochraně původních račích populací (Agentura ochrany přírody a krajiny, Chráněné krajinné oblasti, Ministerstvo životního prostředí, Český svaz ochránců přírody) nebo organizacemi zaměřenými na výzkum raků, příp. ostatních koryšů. Využitelná je pro účely co nejefektivnějšího monitoringu a ochrany autochtonních raků, monitoringu šíření populací alochtonních druhů raků, pro experimentální biologii, ale i pro subjekty zabývající se chovem koryšů pro sledování obsádek remontních a generačních jedinců v chovech. Poskytnuté informace by měly napomoci správně vybrat vhodnou metodu v závislosti na druhu raka (původní nebo invazní), velikosti jedince, délce sledování (krátkodobé nebo dlouhodobé) a finanční nákladnosti.

## 8. EKONOMICKÉ ASPEKTY

Metodika značení raků umožňuje efektivní výběr mezi dostupnými metodami a jejich zhodnocení z hlediska ceny značek, pracnosti, nutnosti speciálního vybavení, ale i efektivnosti jejich využití (délka použitelnosti, možnosti využití, ztrátovost značek) nebo případných negativních vlivů na sledované jedince, které mohou omezit nebo znehodnotit množství a kvalitu získaných poznatků. Díky komplexnímu porovnání všech metod proto můžeme vybrat ekonomicky nejvhodnější variantu při získání co nejširšího okruhu výsledků. Náklady spojené na značení raků tak můžeme výrazně omezit, popř. maximálně zefektivnit.

Použití kauterizace se jeví jako ideální postup v případě terénního značení na kratší období (1–2 svlékání) se snahou pro co nejnižší náklady, rychlou a snadnou aplikaci. Tato metoda ale vyžaduje vyšší zkušenost pracovníků (využití klíče, zamezení poškození raků).

Ideální metodou z hlediska dosažitelných výsledků, snadnosti, šetrnosti, rychlosti manipulace a dlouhodobé čitelnosti je značení VIAAlpha štítky.

## 9. SEZNAM POUŽITÉ SOUVISEJÍCÍ LITERATURY

- Abrahamsson, S.A.A., 1965. A method of marking crayfish *Astacus astacus* Linné in population studies. *Oikos* 16: 228–231.
- Arce, S.M., Argue, B.J., Thompson, D.A., Moss, S.M., 2003. Evaluation of a fluorescent, alphanumeric tagging system for panaeid shrimp and its application in selectiv breeding programs. *Aquaculture* 228: 267–278.
- Beatty, S., de Graaf, M., Molony, B., Nguyen, V., Pollock, P., 2011. Plasticity in population biology of *Cherax cainii* (Decapoda: Parastacidae) inhabiting lentic and lotic environments in south-western Austraia: Implications for the sustainable management of the recreational fishery. *Fisheries Research* 110: 312–324.
- Black, T.R., Herleth-King, S.S., Mattingly, H.T., 2010. Efficacy of internal PIT tagging of small-bodied crayfish for ecological study. *Southeastern Naturalist* 9: 257–266.
- Bolat, Y., Mazlum, Y., Demirci, A., Koca, H.U., 2011. Estimating the population size of *Astacus leptodactylus* (Decapoda: Astacidae) by mark-recapture technique in Eğirdir lake, Turkey. *African Journal of Biotechnology* 10: 11778–11783.
- Bubb, D.H., Lucas, M.C., Thom, T.J., Rycroft, P., 2002. The potential use of PIT telemetry for identifying and tracking crayfish in their natural environment. *Hydrobiologia* 483: 225–230.
- Bubb, D.H., Lucas, M.C., Thom, T.J., 2004. Movement and dispersal of the invasive signal crayfish *Pacifastacus leniusculus* in upland rivers. *Freshwater Biology* 49: 357–368.
- Bubb, D.H., Thom, T.J., Lucas, M.C., 2006. Movements patterns of the invasive signal crayfish determined by PIT telemetry. *Canadian Journal of Zoology* 84: 1202–1209.
- Buchan, A., Sun, L., Wagner, R.S., 2005. Using alpha numeric fluorescent tags for individual identification of amphibians. *Herpetological Review* 36: 43–44.

- Buřič, M., Kozák, P., Vích, P., 2008. Evaluation of different marking methods for spiny-cheek crayfish (*Orconectes limosus*). Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems 389 (02): 1–8.
- Buřič, M., Kozák, P., Kouba, A., 2009. Movement patterns and ranging behaviour of the invasive spiny-cheek crayfish in a small reservoir tributary. Fundamental and Applied Limnology 174: 329–337.
- Caprio, M.A., Miller, D., Grafius, E., 1990. Marking adult Colorado potato beetles *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera Chrysomelidae) using paper labels. Great Lakes Entomologist 23: 13–18.
- Celada, J.D., Antolin, J.I., Carral, J.M., Sáez-Royuela, M., Rodríguez, R., 2005. Successful sex ratio of 1M:4F in the astacid crayfish *Pacifastacus leniusculus* Dana under captive breeding conditions. Aquaculture 244: 89–95.
- Clark, J.M., Kershner, M.W., 2006. Size-dependent effects of visible implant elastomer marking on crayfish (*Orconectes obscurus*) growth, mortality, and tag retention. Crustaceana 79: 275–284.
- Clark, J.M., Kershner, M.W., 2011. Short- and long-term impact of a major flood event. on crayfish (*Orconectes obscurus*) in a forested stream. Fundamental and Applied Limnology 179: 225–233.
- Claverie, T., Smith, I.P., 2007. A comparison of the effect of three common tagging methods on the survival of the galatheid *Munida rugosa* (Fabricius, 1775). Fisheries Research 86: 285–288.
- Coignet, A., Pinet, F., Souty-Grosset, C., 2012. Estimating population size of the red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) in fish ponds (Brenne, Central France). Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems 406: 02.
- Cooke, S.J., Midwood, J.D., Thiem, J.D., Klimley, P., Lucas, M.C., Thorstad, E.B., Eiler, J., Holbrook, C., Ebner, B.C., 2013. Tracking animals in freshwater with electronic tags: past, present and future. Animal Biotelemetry 1: 5.
- Davis, J.L.D., Young-Williams, A.C., Hines, A.H., Zmora, O., 2004. Comparing two types of internal tags in juvenile blue crabs. Fisheries Research 67: 265–274.
- de Graaf M., 2007. Tag retention, survival and growth of marron *Cherax tenuimanus* (Crustacea: Decapoda) marked with coded micro wire tags. Marine and Freshwater Research 58: 1044–1047.
- Dorn, N.J., Urgelles, R., Trexler, J.C., 2005. Evaluating active and passive sampling methods to quantify crayfish density in a freshwater wetland. Journal of the North American Benthological Society 24: 346–356.

- Fletcher, W.J., Fielder, D.R., Brown, I.W., 1989. Comparison of freeze- and heat-branding techniques to mark the coconut crab *Birgus latro* (Crustacea, Anomura). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 127: 245–251.
- Frisch, A.J., Hobbs, J.P.A., 2006. Long-term retention of internal elastomer tags in a wild population of painted crayfish (*Panulirus versicolor* [Latreille]) on the Great Barrier Reef. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 339: 104–110.
- Gherardi, F., 2009. Behavioural indicators of pain in crustacean decapods. *Annali dell'Istituto superiore di sanità* 45: 432–438.
- Gherardi, F., Barbaresi, S., 2000. Invasive crayfish: activity patterns of *Procambarus clarkii* in the rice fields of the lower Guadalquivir (Spain). *Archiv für Hydrobiologie* 150: 153–168.
- Gotteland, P., 2013. Test of injectable elastomer tags on white-clawed crayfish *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet). *Freshwater Crayfish* 19: 45–51.
- Guan, R.Z., 1997. An improved method for marking crayfish. *Crustaceana* 70: 641–652.
- Guan, R.Z., Wiles, P.R., 1999. Growth and reproduction of the introduced crayfish *Pacifastacus leniusculus* in a British lowland river. *Fisheries Research* 42: 245–259.
- Haddaway, N.R., Mortimer, R.J.G., Christmas, M., Dunn, A.M., 2011. A review of marking techniques for Crustacea and experimental appraisal of electric cauterisation and visible implant elastomer tagging for *Austropotamobius pallipes* and *Pacifastacus leniusculus*. *Freshwater Crayfish* 18: 55–67.
- Hazlett, B.A., Rittschof, D., 1985. Variation in rate of growth in the crayfish *Orconectes virilis*. *Journal of Crustacean Biology* 5: 341–346.
- Howe, N.R., Hoyt, P.R., 1982. Mortality of juvenile brown shrimp *Penaeus aztecus* associated with streamer tags. *Transactions of the American Fisheries Society* 111: 317–325.
- Huber, M.G.J., Schubart, C.D., 2005. Distribution and reproductive biology of *Austropotamobius torrentium* in Bavaria and documentation of a contact zone with the alien crayfish *Pacifastacus leniusculus*. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 376: 759–776.
- Hudina, S., Maguire, I., Klobučar, G.I.V., 2008. Spatial dynamics of the noble crayfish (*Astacus astacus*, L.) in the Paklenica National Park. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 388: 01.

- Huolila, M., Marjomaki, T.J., Laukkanen, E., 1997. The success of crayfish stocking in a dredged river with and without artificial shelter increase. *Fisheries Research* 32: 185–189.
- Ibara, M., Arana, P.M., 2011. Crecimiento del camarón excavador *Parastacus pugnax* (Poeyppig, 1835) determinado mediante técnica de marcaje. *Latin American Journal of Aquatic Research* 39: 378–384.
- Isely, J.J., Eversole, A.J., 1998. Tag retention, growth, and survival of red swamp crayfish *Procambarus clarkii* marked with coded wire tags. *Transactions of the American Fisheries Society* 127: 658–660.
- Isely, J.J., Stockett, P.E., 2001. Tag retention, growth, and survival of red swamp crayfish marked with a visible implant tag. *North American Journal of Fisheries Management* 21: 422–424.
- Jermý, T., Szentesi, A., Horvath, J., 1988. Host plant finding in phytophagous insects the case of the Colorado potato beetle. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 49: 83–98.
- Jerry, D.R., Stewart, T., Purvis, I.W., Piper, L.R., 2001. Evaluation of visual implant elastomer and alphanumeric internal tags as a method to identify juveniles of the freshwater crayfish, *Cherax destructor*. *Aquaculture* 193: 149–154.
- Jones, J.P.G., Coulson, T., 2006. Population regulation and demography in a harvested freshwater crayfish from Madagascar. *Oikos* 112: 602–611.
- Kadlecová, K., Bílý, M., Maciak, M., 2012. Movement patterns of the co-occurring species *Astacus astacus* (noble crayfish) and *Austropotamobius torrentium* (stone crayfish). *Fundamental and Applied Limnology* 180: 351–360.
- Kerby, J.L., Riley, S.P.D., Kats, L.B., Wilson, P., 2005. Barriers and flow as limiting factors in the spread of an invasive crayfish (*Procambarus clarkii*) in southern California streams. *Biological Conservation* 126: 402–409.
- Kirjavainen, J., Westman, K., 1994. Comparative growth from length composition and mark-recapture experiments for noble crayfish (*Astacus astacus*) and signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus*) in Finland. *Nordic Journal of Freshwater Research* 69: 153–161.
- Kozák, P., Policar, T., Ďuriš, Z., 2004. Migratory ability of *Orconectes limosus* through a fishpass and notes on its occurrence in the Czech Republic. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 372–373: 367–374.
- Kozák, P., Gallardo, J.M., Garcia, J.C.E., 2009. Light preferences of red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*). *Hydrobiologia* 636: 499–503.

- Kozák, P., Ďuriš, Z., Petrušek, A., Buřič, M., Horká, I., Kouba, A., Kozubíková, E., Polícar, T., 2013. Biologie a chov raků. FROV JU, Vodňany, 418 s.
- Leaño, E.M., Liao, I.C., 2006. Tagging of *Litopenaeus vannamei* (Boone) by uropod cutting: A comparison of two methods. *Aquaculture Research* 37: 885–890.
- Linnane, A., Mercer, J.P., 1998. A comparison of methods for tagging juvenile lobsters (*Homarus gammarus* L.) reared for stock enhancement. *Aquaculture* 163: 195–202.
- Lucas, M.C., Mercer, T., Armstrong, J.D., McGinty, S., Rycroft, P., 1999. Use of a flat-bed passive integrated transponder antenna array to study the migration and behaviour of lowland river fishes at a fish pass. *Fisheries Research* 44: 183–191.
- Mazlum, Y., 2007. Influence of visible implant fluorescent elastomer (VIE) tagging on growth, molting and survival of the eastern white river crayfish, *Procambarus acutus acutus* (Girard, 1852). *Turkish Journal of Zoology* 31: 209–212.
- McMahan, M.D., Cowan, D.F., Sherwood, G.D., Grabowski, J.H., Chen, Y., 2012. Evaluating of coded microwire tag retention in juvenile American lobster, *Homarus americanus*. *Journal of Crustacean Biology* 32: 497–502.
- Mittenthal, J.E., Hutton, S., 1982. Regeneration in the telson and uropods of crayfish. *American Zoologist* 22: 879.
- Montgomery, S.S., Gray, C.A., 1991. Effects of sizes of streamer tags on mortality and growth of juvenile eastern king prawns *Penaeus plebejus*. *Marine Ecology Progress Series* 76: 33–40.
- Musil, M., Buřič, M., Polícar, T., Kouba, A., Kozák, P., 2010. Comparison of day and night activity between noble (*Astacus astacus*) and spiny-cheek crayfish (*Orconectes limosus*). *Freshwater Crayfish* 17: 189–193.
- Neveu, A., 2000. Study of *Austropotamobius pallipes* (Crustacea, Astacidae) populations in a forest brook in Normandy. I. Demographic structures and growth: stability and variability during six years. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 356: 71–98.
- Nickum, J.G., Chair, Bart, H.L. Jr., Bowser, P.R., Greer, I.E., Hubbs, C., Jenkins, J.A., MacMillan, J.R., Rachlin, J.W., Rose, J.D., Sorensen, P.W., Tomasso, J.R., 2004. Guidelines for the use of fishes in research. *American Fisheries Society*, 58 s.
- NMT, 2008. Visible Implant Elastomer Tag™ Project Manual. Northwest Marine Technology, Shaw Island, USA, 29 pp.



- NMT, 2010. Instruction for NMT's New Visible Implant Alpha Tags™. Northwest Marine Technology, Shaw Island, USA, 8 pp.
- NMT, 2012. Coded Wire Tag™ Project Manual. Northwest Marine Technology, Shaw Island, USA, 47 pp.
- Nowicky, P., Tirelli, T., Sartor, R.M., Bona, F., Pessani, D., 2008. Monitoring crayfish using a mark-recapture method: potentials, recommendations, and limitations. *Biodiversity Conservation* 17: 3513–3530.
- Oven, J.H., Blankenship, H.L., 1993. Benign recovery of coded wire tags from rainbow trout. *North American Journal of Fisheries Management* 13: 852–855.
- Ramalho, R.O., McClain, W.R., Anastácio, P.M., 2010. An effective and simple method of temporarily marking crayfish. *Freshwater Crayfish* 17: 57–60.
- Refstie, T., Aulstad, D., 1975. Tagging experiments with salmonids. *Aquaculture* 5: 367–374.
- Reynolds, J.D., 2002. Growth and reproduction. In: Holdich, D.M. (Ed.): *Biology of Freshwater Crayfish*, Blackwell Science Ltd., London, UK, pp. 152–191.
- Robinson, C.A., Thom, T.J., Lucas, M.C., 2000. Ranging behaviour of a large freshwater invertebrate, the white-clawed crayfish *Austropotamobius pallipes*. *Freshwater Biology* 44: 509–521.
- Sáez-Royuela, M., Carral, J.M., Celada, J.D., Melendre, P.M., Aguilera, A., 2005. Comparison between individual and group mating of *Austropotamobius pallipes* under controlled conditions. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 367–377: 699–704.
- Scalici, M., Bellusio, A., Gilbertini, G., 2008. Understanding population structure and dynamics in threatened crayfish. *Journal of Zoology* 275: 160–171.
- Sharp, W.C., Lellis, W.A., Butler, M.J., Herrnkind, W.F., Hunt, J.H., Pardee-Woodring, M., Matthews, T.R., 2000. The use of coded microwire tags in mark-recapture studies of juvenile Caribbean spiny lobster, *Panulirus argus*. *Journal of Crustacean Biology* 20: 510–521.
- Shepherd, T., Gardner, C., Green, B.S., Richardson, A., 2011. Estimating survival of the tayatea *Astacopsis gouldi* (Crustacea, Decapoda, Parastacidae), an iconic, threatened freshwater invertebrate. *Journal of Shellfish Research* 30: 139–145.
- Summers, D.W., Roberts, D.E., Giles, N., Stubbing, D.N., 2006. Retention of visible implant and visible implant elastomer tags in brown trout in an English chalk stream. *Journal of Fish Biology* 68: 622–627.

- Toyota, K., Yamauchi, T., Miyajima, T., 2003. A marking method of cutting uropods using malformed regeneration for kuruma prawn *Marsupenaeus japonicus*. *Fisheries Science* 69: 161–169.
- Turek, J., Horký, P., Velíšek, J., Slavík, O., Hanák, R., Randák, T., 2010. Recapture rate and growth of hatchery-reared brown trout (*Salmo trutta* v. *fario*, L.) in Blanice River and the effect of stocking on wild brown trout and grayling (*Thymallus thymallus*, L.). *Journal of Applied Ichthyology* 26: 881–885.
- Venarsky, M.P., Huryn, A.D., Benstead, J.P., 2012. Re-examining extreme longevity of the cave crayfish *Orconectes australis* using new mark-recapture data: a lesson on the limitations of interative size-at-age models. *Freshwater Biology* 57: 1471–1481.
- Vích, P., 2008. potenciální využití pasivních integrovaných čipů (PIT) k identifikaci a sledování raků v přírodních podmínkách. Diplomová práce. ZF JU, České Budějovice, 65 s.
- Všeobecné oprávnění č. VO-R/10/04.2012-7 k využívání rádiových kmitočtů a k provozování zařízení krátkého dosahu. Český telekomunikační úřad, 24. 4. 2012.
- Vogt, G., 2002. Functional anatomy. In: Holdich, D.M. (Ed.): *Biology of Freshwater Crayfish*, Blackwell Science Ltd., London, UK, pp. 53–151.
- Weingartner, D.L., 1982. A field-tested internal tag for crayfish (Decapoda, Astacidea). *Crustaceana* 43:181–188.
- Westman, K., Savolainen, R., 2002. Growth of the signal crayfish, *Pacifastacus leniusculus*, in a small forest lake in Finland. *Boreal Environment Research* 7: 53–61.
- Westman, K., Savolainen, R., Pursiainen, M., 1999. Development of the introduced North American signal crayfish, *Pacifastacus leniusculus* (Dana), population in a small Finish forest lake in 1970–1997. *Boreal Environment Research* 4: 387–407.
- Whitmore, N., 1997. Population ecology of freshwater crayfish *Paranephrops zealandicus* and its effect on the community structure of a low-land bush stream. M.Sc. Thesis, University of Otago, Dunedin, New Zealand, 105 pp.
- Wutz, S., Geist, J., 2013. Sex- and size- specific migration patterns and habitat preference od invasive signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus* Dana). *Limnologica* 43: 59–66.
- Zimmerman, J.K.M., Palo, R.T., 2011. Reliability of catch per unit effort (CPUE) for evaluation of reintroduction programs – A comparison of the mark-recapture method with standartized trapping. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 401: 07.

<http://www.biotrack.co.uk> (cit. 25. 6. 2013)

<http://www.floytag.com> (cit. 25. 6. 2013)

<http://www.nmt.us> (cit. 25. 6. 2013)

## 10. SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE

Kozák, P., Ďuriš, Z., Petrušek, A., Buřič, M., Horká, I., Kouba, A., Kozubíková, E., Polícar, T., 2013. Biologie a chov raků. FROV JU, Vodňany, 418 s.

- OP Rybářství, CZ.1.25/3.1.00/11.00303 Příprava a vydání odborných publikací 2011
- OP VaVpl, CZ.1.05/2.1.00/01.0024 Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiversity hydrocenóz
- OPVK, CZ.1.07/2.3.00/30.0022 Podpora vytváření, rozvoje a mobility kvalitních výzkumně vývojových týmů na Univerzitě Karlově
- GA ČR, P505/12/0545 Diverzita původních a invazních druhů raků ve střední Evropě: od genetické struktury populací a reprodukčních strategií po systematiku a ochranu
- OP VaVpl, CZ.1.05/2.1.00/03.0100 Institut environmentálních technologií
- Kontakt, ME10125 Moderní metody intenzivního chovu původních evropských raků s cílem podpořit jejich výskyt ve volných vodách a využít jejich bioindikační hodnoty vzhledem ke kvalitě povrchových vod

Buřič, M., Kozák, P., 2011. Biology of spiny-cheek crayfish (*Orconectes limosus*) and the study of factors influencing its invasive spreading. Lambert Academic Publishing, 116 pp. ISBN 978-3-8465-0968-5.

- OP VaVpl, CZ.1.05/2.1.00/01.0024 Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiversity hydrocenóz
- GA JU, 047/2010/Z Chovatelské a environmentální aspekty akvakultury a hydrocenóz

Buřič, M., Kouba, A., Kozák, P., 2010. Moulting and growth in relation to form alternation of male spiny-cheek crayfish, *Orconectes limosus*. Zoological Studies 49: 28–38.

- MŠMT, MSM6007665809 Biologické, environmentální a chovatelské aspekty v rybářství
- GA AV, IAA601870701 Faktory ovlivňující negativní vliv invazivních raků v ČR: migrační aktivita, reprodukční biologie a šíření patogenu račích moru

- Buřič, M., Kouba, A., Kozák, P., 2010. Intra-sex dimorphism in crayfish females. *Zoology* 113: 301–307.
- OP VaVpl, CZ.1.05/2.1.00/01.0024 Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiversity hydrocenóz
  - MŠMT, MSM6007665809 Biologické, environmentální a chovatelské aspekty v rybářství
  - GA AV, IAA601870701 Faktory ovlivňující negativní vliv invazivních raků v ČR: migrační aktivita, reprodukční biologie a šíření patogenu račích moru
- Buřič, M., Kouba, A., Kozák, P., 2010. Seasonal migration of *Orconectes limosus* (Rafinesque, 1817) to a small tributary of large river. *Freshwater Crayfish* 17: 183–186.
- MŠMT, MSM6007665809 Biologické, environmentální a chovatelské aspekty v rybářství
  - GA AV, IAA601870701 Faktory ovlivňující negativní vliv invazivních raků v ČR: migrační aktivita, reprodukční biologie a šíření patogenu račích moru
- Musil, M., Buřič, M., Policar, T., Kouba, A., Kozák, P., 2010. Comparison of day and night activity between noble (*Astacus astacus*) and spiny-cheek crayfish (*Orconectes limosus*). *Freshwater Crayfish* 17: 189–193.
- MŠMT, MSM6007665809 Biologické, environmentální a chovatelské aspekty v rybářství
  - GA AV, IAA601870701 Faktory ovlivňující negativní vliv invazivních raků v ČR: migrační aktivita, reprodukční biologie a šíření patogenu račích moru
- Buřič, M., Kouba, A., Kozák, P., 2009. Spring mating period in *Orconectes limosus*: The reason for movement! *Aquatic Sciences-Research Across Boundaries* 71: 473–477.
- MŠMT, MSM6007665809 Biologické, environmentální a chovatelské aspekty v rybářství
  - GA AV, IAA601870701 Faktory ovlivňující negativní vliv invazivních raků v ČR: migrační aktivita, reprodukční biologie a šíření patogenu račích moru
- Buřič, M., Kozák, P., Kouba, A., 2009. Movement patterns and ranging behaviour of the invasive spiny-cheek crayfish in a small reservoir tributary. *Fundamental and Applied Limnology/Archiv für Hydrobiologie* 174: 329–337.

- MŠMT, MSM6007665809 Biologické, environmentální a chovatelské aspekty v rybářství
- GA AV, IAA601870701 Faktory ovlivňující negativní vliv invazivních raků v ČR: migrační aktivita, reprodukční biologie a šíření patogenu račích moru

Buřič, M., Kozák, P., Vích, P., 2008. Evaluation of different marking methods for spiny-cheek crayfish (*Orconectes limosus*). Knowledge and management of aquatic ecosystems 389 (02): 1–8.

- MŠMT, MSM6007665809 Biologické, environmentální a chovatelské aspekty v rybářství
- GA AV, IAA601870701 Faktory ovlivňující negativní vliv invazivních raků v ČR: migrační aktivita, reprodukční biologie a šíření patogenu račích moru

Kozák, P., Policar, T., Ďuriš, Z., 2004. Migratory ability of *Orconectes limosus* through a fishpass and notes on its occurrence in the Czech Republic. Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture 372–373: 367–374.

- GAČR, 206/03/0532 Populační ekologie terminálních a rezidentních subpopulací invazivního druhu raka
- GAČR, 206/03/D064 Studium biologie raka pruhovaného *Orconectes limosus* Raf. v laboratorních podmínkách
- MŠMT, MSM126100003 Hodnocení interakcí mezi rizikovými faktory ve vodním prostředí a ekosystémy povrchových vod (1999–2004, MSM)

**Interní odborný oponent**

**Ing. Jan Turek, Ph.D.**

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích,  
Fakulta rybnářství a ochrany vod,  
Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz  
a Výzkumný ústav rybnářský a hydrobiologický,  
Zátiší 728/II, 389 25 Vodňany, www.frov.jcu.cz

**Externí odborný oponent**

**Mgr. Ivona Horká**

Ostravská univerzita v Ostravě, Přírodovědecká fakulta,  
Chittussiho 10, 710 00 Ostrava

**Oponent za státní správu**

**Ing. Jiří Pondělíček, Ph.D.**

MZe Praha

Odbor státní správy lesů, myslivosti a rybnářství (16230)  
Těšnov 17, 117 05 Praha 1

**Osvědčení o uplatnění certifikované metodice č. 13012013 – 16230/Nmet-CERTIFIKOVANÁ METODIKA ze dne 13. 11. 2013**

**Vydalo:** Ministerstvo zemědělství, úsek lesního hospodářství,  
Sekce lesního hospodářství, Odbor státní správy lesů, myslivosti a rybnářství,  
Těšnov 17, 117 05 Praha 1.

**Adresa autorského kolektivu**

Ing. Miloš Buřič, Ph.D. (buric@frov.jcu.cz), 70 %  
Ing. Antonín Kouba, Ph.D. (akouba@frov.jcu.cz), 15 %  
doc. Ing. Pavel Kozák, Ph.D. (kozak@frov.jcu.cz), 15 %

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybnářství a ochrany vod,  
Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz  
a Výzkumný ústav rybnářský a hydrobiologický,  
Zátiší 728/II, 389 25 Vodňany, www.frov.jcu.cz

V edici Metodik (Technologická řada) vydala Jihočeská univerzita v Českých  
Budějovicích, Fakulta rybnářství a ochrany vod

**Redakce:** Ing. Blanka Vykusová, CSc., Zuzana Dvořáková

**Náklad:** 200 ks, 1. vydání; metodika uplatněna v roce 2013; vytištěna v roce 2014;

**Grafický design a technická realizace:** Jena Šumperk Jesenické nakladatelství.





Fakulta rybnářství  
a ochrany vod  
Faculty of Fisheries  
and Protection  
of Waters

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



ISBN 978-80-87437-86-5



evropský  
sociální  
fond v ČR



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ