

Vladimír Kořínek: Dichotomický klíč perlooček (Cladocera) České republiky

(bez čeledi Chydoridae – stav 2005, navíc metody)

(použité zkratky: A1 – antenuly, A2 – antény, PA – postabdomen, CA – carapax, P₁₋₅ – hrudní nohy, Bp – basipodit, Exp – exopodit, End – endopodit, Fdr – furkální drápky, La – labrum; AP – komentáře a doplňky Adama Petruska)

1. Hrudní končetiny jsou volné 2.
 - Hrudní končetiny jsou ukryty ve dvouchlopňové skořápce (carapax) 3.
2. Abdominální část těla mohutná, u dospělých jedinců několik mm dlouhá, zakončená dvěma ozubenými furkálními drápy, A2 stejně dlouhé jako abdomen
 - Leptodora kindtii*
 - Abdominální část těla zkrácena, protažená ve štíhlý trubkovitý nástavec nesoucí dvě dlouhé brvy, nápadně velké složené oko
 - Polyphemus pediculus*
3. A2 jednoduché, nevětvené. Tělo chráněné rosolovitým obalem
 - Holopedium gibberum*
 - A2 větvené, na bazální článek nasedá dorsální a ventrální větev 4.
4. Obě antenální větve s více jak 10 plovacími brvami 5.
 - Antenální větve s méně než 10 plovacími brvami 11.
5. Zadní okraj schránky lemován dlouhými brvami, PA nese 7-10 laterálních zubů
 - Latona setifera*
 - Zadní okraj schránky bez dlouhých brv 6.
6. Rostrum tupě zaoblené
 - Sida crystallina*
 - Rostrum není vyvinuto, hlava ventrálně zaoblená 7.
7. Fdr s řadou trnů na dorsální straně
 - Limnosida frontosa*
 - Fdr s 3 dlouhými trny na dorsální straně 8.
8. Apikální trn na 1. článku dorsální (dvoučlánekové) větve antén šupinovitý, nepřesahuje vrchol segmentu
 - Diaphanosoma brachyurum*
 - Trn je robustní, přesahuje vrchol segmentu 9.
9. Na zadním okraji schránky, těsně před srůstem obou jejích chlopní je jeden 10.
 - Zadní kraj schránky bez trnu

Diaphanosoma orghidani

10. Hlava velká (40–45% délky těla), zadní okraj schránky s 25–36 trny
- Diaphanosoma mongolianum*
- Hlava relativně malá (34–37%), schránka s 25–60 marginálními trny
- Diaphanosoma lacustris*
11. Obě větve A2 tříčlankové (Chydoridae a Bosminopsis) 65.
- Dorsální větev antén 3-članková, ventrální 4-članková 12.
12. A1 nepohyblivé, pevně přirostlé k ventrálnímu okraji hlavy, spojení s rostrální částí hlavy je skoro stejně široké jako vlastní šířka A1 13.
- A1 pohyblivé, relativně dlouhé v poměru k dorso-ventrálnímu rozměru hlavy, spojené s hlavou jen tenkým spojovacím můstkem 42.
13. A1 tvoří spolu s protaženým rostem chobotovitý výběžek ventrální části hlavy 62.
- Rostrum nesrůstá s A1 v chobotovitý výrůstek 14.
14. Rostrum vyvinuto, hlava na ventrální straně protažená ve více nebo méně zahrocený výběžek 15.
- Rostrum chybí, ventrální část hlavy zaoblená 35.
15. Hlava před okem zahrocena, případně protažena v ozubený výběžek
- Simocephalus serrulatus*
- Hlava před okem zaoblená 16.
16. A1 přesahují rostrum více než polovinou své délky 17.
- A1 nejvýše dosahují, nebo jen mírně přesahují rostrum 19.
17. Carapax s postraními výběžky, jeho zadní okraj protažen do hrotu
- Simocephalus lusaticus*
- Carapax bez postraních výběžků, jeho zadní okraj je zaoblený 18.
18. Furkální drápky jemně obrvené
- Simocephalus vetulus*
- Furkální drápky se třemi hřebínky brv. Jehlicovité brvy prostředního hřebínku zřetelně delší než brvy proximálního i distálního hřebínku
- Simocephalus exspinosus*
19. Ventrální strana carapaxu rovná 20.
- Ventrální strana carapaxu vyklenutá 24.
20. Postero-ventrální roh carapaxu vybíhá v trn 21.
- Zadní roh carapaxu vybíhá jen v zaoblený cíp
- Megafenestra aurita*
21. Dorsální povrch carapaxu i hlavy pokryt drobnými trnečky
- Scapholeberis erinaceus*
- Povrch hlavy i carapaxu hladký 22.

22. A1 zřetelně přesahují vrchol rostra, dlouhá brva (flagellum) nasedá uprostřed okraje antenul
Scapholeberis microcephala
- A1 dosahují, nebo jen nepatrně přesahují vrchol rostra, flagellum je subapikální 23.
23. Na hlavě mezi fornixem a rostrem laterální lišta, zadní okraj carapaxu s podélnými liniemi. Cervikální sinus mělký. Furkální drápky s několika basálními zuby na dorsální straně
Scapholeberis rammneri
- Hlava bez laterální lišty, carapax bez podélných linií u zadního okraje. Cervikální sinus hluboký. Furkální drápky bez bazálních zubů
Scapholeberis mucronata
24. Postabdomen na dorsální straně hluboce vykrojen
Daphnia magna
- Postabdomen na dorsální straně rovný nebo mírně vyklenutý 25.
25. Vrchol hlavy nad okem plochý nebo mírně konkávní, nápadný, laterálně rozšířený výběžek carapaxu proniká do týlní části hlavového štítu (AP: rozšíření carapaxu v hlavové části tvoří „srdíčko“, u některých jedinců nemusí být při pohledu z boku zřetelné. Dobrým pomocným znakem jsou velmi výrazné anteny. Ve střední Evropě komplex min. dvou druhů)
Daphnia gr. atkinsoni (komplex)
- Vrchol hlavy vypouklý, bez rozšířeného výběžku carapaxu 26.
26. Postabdomen pokrytý na bocích silnými jehlicovitými trny (doplňk AP: carapax vybíhá dorzální lištou daleko do hlavového štítu, fornixy zakončený ostrou špičkou, obloukovitě vybíhající směrem dozadu; ve střední Evropě komplex dvou druhů)
Daphnia gr. similis (komplex)
- Postabdomen na bocích lysý, nebo jemně obrvený či otrněný 27.
(AP: fornixy oble zakončené, hlavový štít vybíhá směrem do carapaxu)
27. Furkální drápky se skupinami (hřebínky) různě dlouhých trnečků 28.
- Furkální drápky se třemi skupinami jemných, krátkých brv 32.
28. Prostřední skupinu tvoří řada silných trnů, 3x tak dlouhých jako brvy v distální skupině, naupliové oko zřetelně pigmentované 29.
- Prostřední skupinu tvoří slabé trny maximálně 2x tak dlouhé jako brvy distální skupiny. Pigmentace naupliového oka chybí nebo je jen nevýrazná.
(AP: typický tvar hlavy a rostra, společný s *D. ambigua*. Netvoří přilby na hlavě.)
Daphnia parvula
29. A1 silně redukované, tvoří jen ploché vyklenutí spodiny hlavy nad labrem
Daphnia curvirostris
- A1 zakončeny soudečkovitým výběžkem nesoucím smyslové brvy 30.

30. Na vnitřní straně ventrálního okraje carapaxu je řada dlouhých, submarginálních brv (AP: v ČR komplex tří druhů)

Daphnia gr. obtusa (komplex)

- Schránka bez vnitřní řady brv

31.

31. Políčkování hlavy mezi naupliovým okem a koncem rostra je tvořeno stejnoosými polygony, efipium se odděluje bez zbytku ventrální lišty carapaxu

Daphnia pulex

- Políčkování je tvořeno protáhlými polygony, dlouhá, otrněná, submarginální lišta carapaxu zůstává po svlékání spojena s efipiem (AP: u nás jediný druh, odlišný od americké *D. pulicaria* s.s. Evropské populace formálně nepopsány.)

D. gr. pulicaria

32. A1 tvoří krátký komolý kužel nesoucí smyslové brvy

(AP: typický tvar hlavy a rostra, společný s *D. parvula*, občas se špičatou přilbou.)

Daphnia ambigua

- A1 silně redukovány, vytvářejí jen mírně vyklenutý hrbol na spodině hlavy nebo zcela splývají s její rostrální částí

33.

- 33 Pigmentace naupliového oka u většiny populací chybí, smyslové brvy A1 přesahují zkrácené a zaoblené rostrum.

(AP: Čisté genotypy *D. cucullata* mají nepigmentované naupliové oko a smyslové brvy přímo na konci rostra. Jedinci s pigmentovaným naupliovým okem nebo brvami posunutými na spodinu hlavy jsou téměř s jistotou hybridy s *D. galeata*, případně *D. longispina*.

Mějte na paměti, že existují hybridní genotypy s *D. galeata* a *D. longispina*.)

Daphnia cucullata

- Naupliové oko pigmentované, rostrum zahrocené, smyslové brvy většinou jen dosahují k jeho vrcholu

34.

34. Hlava nízká, vrchol hlavy leží nad složeným okem, optický váček oka se dotýká vrcholu hlavy, A1 ploché. Netvoří nikdy přilbovitě protažený tvar hlavy.

(AP: předchozí uvedené znaky převážně variabilní. I pokud určený jedinec neodpovídá popisu, přesto se může jednat o formu *D. longispina* – pod tento druh podle genetických analýz zapadá i *D. hyalina* tvořící vysoké přilby – tato morfa žije i v našich nádržích!. Věnujte pozornost nízkému antenulárnímu hrbolku na spodině hlavy, často je přítomen pigmentovaný proužek na plovacích brvách antén.

Mějte na paměti, že existují hybridní genotypy s *D. galeata* a *D. cucullata*.)

Daphnia longispina

- Hlava vysoká, její vrchol je posunut dorsálně za oko. Optický váček oka je zanořen hluboko v hlavě. Schopnost tvořit přilbovitě protažení hlavy.

(AP: významným znakem je velmi výrazný antenulární hrbol na spodině hlavy. Ve znacích výše uvedených se vzácně někteří jedinci *D. galeata* odlišují.

Pigmentovaný proužek na plovacích brvách antén není přítomen.

Mějte na paměti, že existují hybridní genotypy s *D. longispina* a *D. cucullata*.

Jedinci s méně výrazným antenulárním hrbolkem, tvarem přilby podobným *D. cucullata*, často s mírně prohnutým hřbetním okrajem, by mohli být kříženci *D. galeata* x *cucullata*.)

Daphnia galeata

35. Kutikula hlavy i carapaxu pokryta jemnými trnečky.

Ceriodaphnia setosa

- Povrch kutikuly bez trnečků 36.

36. PA v anální oblasti nápadně vykrojen. Anální otvor lemovaný dlouhými trny, v proximální oblasti jen krátké trny

Ceriodaphnia megops

- PA není vykrojen v anální oblasti 37.

37. Furkální drápky postabdomenu s prostředním hřebínkem delších trnů (AP: pozor na hřebínek *C. affinis*, který je často velmi nevýrazný) 38.

- Furkální drápky bez prostředního hřebínku delších trnů 39.

38. Hřebínek tvoří jen několik silných trnů

Ceriodaphnia reticulata

- Hřebínek tvoří řada jemných trnečků

Ceriodaphnia affinis

39. PA ve střední části nápadně rozšířený 40.

- PA po celé délce přibližně stejně vysoký 41.

40. Hlava před okem protažená

Ceriodaphnia rotunda

- Hlava před okem plynule zaoblená

Ceriodaphnia laticaudata

41. Na dorsální straně PA je střední, preanální skupina jehlicovitých trnů (AP: pozor, tento znak často není při zběžném prohlížení příliš zřetelný!)

Ceriodaphnia pulchella

- PA bez preanální skupiny trnů (AP: pozor, často jsou za tento druh zaměňovány *C. affinis* či *C. pulchella*.)

Ceriodaphnia quadrangula

42. A1 jednočlánekové 43.

- A1 dvoučlánekové 53.

43. Hlava před naupliovým okem ventrálně protažena, na výběžek přisedají dlouhé, klínovité A1 44.

- Hlava kulatá, naupliové oko většinou chybí, doutníkovité A1 nasedají blízko labra 58.

44. Ventrální strana hlavy nad La s polokulovitým nebo špičatým výběžkem 45.

Ventrální strana hlavy bez výběžku bez výběžku 47.

45. Výběžek hákovitý, zahrocený, zadní okraj carapaxu s řadou dlouhých brv

Acantholeberis curvirostris

- Výběžek La zakulacený, zadní okraj carapaxu bez dlouhých brv 46.

46. Distální část párových postabdominálních brv kratší než polovina části proximální
- Macrothrix sibirica*
- Distální část postabdominálních brv stejně dlouhá jako část proximální
- Wlassicsia pannonica*
47. Ventrální okraj CA s řadou plochých, lístkovitých přívěšků
- Lathonura rectirostris*
- Ventrální okraj CA s řadou brv nebo trnů jiného tvaru 48.
48. CA s mohutným dorsálním kýlem přesahujícím jeho zadní dorsální roh, dlouhé, tyčinkovité A1
- Bunops serricaudata*
- CA bez mohutného dorsálního kýlu 49.
49. Střevo s kličkou 50.
- Střevo rovné, bez kličky 51.
50. Dorsální okraj CA s nápadným zubem, 4-čláková větev A2 se 3 brvami, A1 ozubené po obou stranách
- Drepanothrix dentata*
- CA bez dorsálního zubu, 4-čláková větev A2 se 4 brvami, A1 silně prohnuté s několika delšími štětinovitými brvami
- Streblocerus serricaudatus*
51. A1 dlouhé, tyčinkovité, nerozšiřují se distálně
- Macrothrix rosea*
- A1 kyjovité, distálně se rozšiřují 52.
52. Dorsální okraj CA jemně pilovitý
- Macrothrix laticornis*
- Dorsální okraj CA hladký
- Macrothrix hirsuticornis*
53. PA není na dorsální straně vykrojen, anální otvor posunut distálně
- Ilyocryptus acutifrons*
- PA na dorsální straně mělce vykrojen, anální otvor přibližně uprostřed dorsálního okraje 54.
54. Ca bez přírůstkových linií, staré svlečky jsou při svlékání odvrženy
- Ilyocryptus agilis*
- Ca s excentrickými přírůstkovými liniemi, svlečky při svlékání zachovány 55.
55. Preanální část PA s řadou jednoduchých trnů 56.
- Preanální část PA s řadou zdvojených trnů 57.

56. Brvy na zadním okraji CA silně prohnuté, jejich basální, neobrvená část krátká. Preanální část PA s méně jak 10 silnými zuby

Ilyocryptus sordidus

- Brvy na zadním okraji CA rovné s dlouhou basální neotrněnou částí. Preanální část PA s více jak 10 silnými zuby

Ilyocryptus spinosus

57. Preanální část PA rovná, marginální brvy zadního okraje carapaxu s malým basálním trnem
(POZOR: OBRÁZKY NEODPOVÍDAJÍ TEXTOVÉ ČÁSTI. DETERMINACI V TOMTO BODĚ OVĚŘTE S POMOCÍ JINÉ LITERATURY.)

Ilyocryptus silvaeducensis

- Preanální část PA silně vyklenutá, brvy na zadním okraji carapaxu bez basálního trnu

Ilyocryptus cuneatus

58. Hlava dorsálně vyklenutá. Kutikula na hlavě a části carapaxu jemně obrvená. Brva na předposledním článku první hrudní nohy ozubená, podobně i vnější ze dvou brv na posledním článku
(AP: obrvení na povrchu těla nebývá zřetelné; dobrým určovacím znakem je hustá řada dlouhých brv na ventrálním okraji carapaxu)

Moina macrocopa

- Hlava nad okem promáčklá. Kutikula neobrvená. Obě brvy jen s krátkým štětinovitým obrvením. 59.

59. Fdr se zřetelným hřebínkem delších a silnějších trnů na dorsální straně 60.
(AP: efipium s jedním vajíčkem)

- Fdr na dorsální straně jen jemně obrvené
(AP: efipium se dvěma vajíčky, pravděpodobně velmi vzácný druh)

Moina ephemeralis

60. Fdr s hřebínkem delších, tenkých trnů. A1 krátké, mírně prohnuté, rozbíhavé

Moina weismanni

- Fdr s hřebínkem robustních trnů, krátkých nebo delších. A1 rovné, nerozbíhavé 61.

61. Fdr s hřebínkem krátkých, robustních trnů. Hlava pod A1 lysá.

Moina micrura

- Fdr s hřebínkem dlouhých robustních trnů. Na ventrální straně hlavy pod A1 políčko s jemnými brvami. (AP: obrvení pod A1 nebývá zřetelné; ve střední Evropě komplex min. dvou druhů)

Moina gr. brachiata (komplex)

62. Zadní ventrální roh carapaxu je protažen ve štíhlý výběžek (mucro) 63.

- Mucro chybí, ventrální roh carapaxu je zaoblený nebo s ostrým cípem 64.

63. Fdr se dvěma skupinami trnů. Jehlicovité trny proximální skupiny se zvětšují distálně, distální skupinu tvoří malé, robustní zoubky. LHP leží u předního okraje laterálního výběžku hlavy, při basipoditu A2

Bosmina longirostris

- Fdr s jednou skupinou trnů. Trny se jen málo liší délkou. LHP jsou na hlavovém štítu nad dorsálním vkloubením mandibul

(AP: u nás se zřejmě nevyskytuje, geneticky neodlišitelná od *B. coregoni*)

Bosmina longispina

64. Ventrální roh carapaxu zaoblený

Bosmina coregoni

- Ventrální roh carapaxu vytažený do širokého cípu

(AP: pravděpodobně se nejedná o dobrý druh, spíše forma od *B. coregoni*)

Bosmina kessleri

65. Chydoridae - Pokračování příště

II. OBRÁZKOVÝ KLÍČ

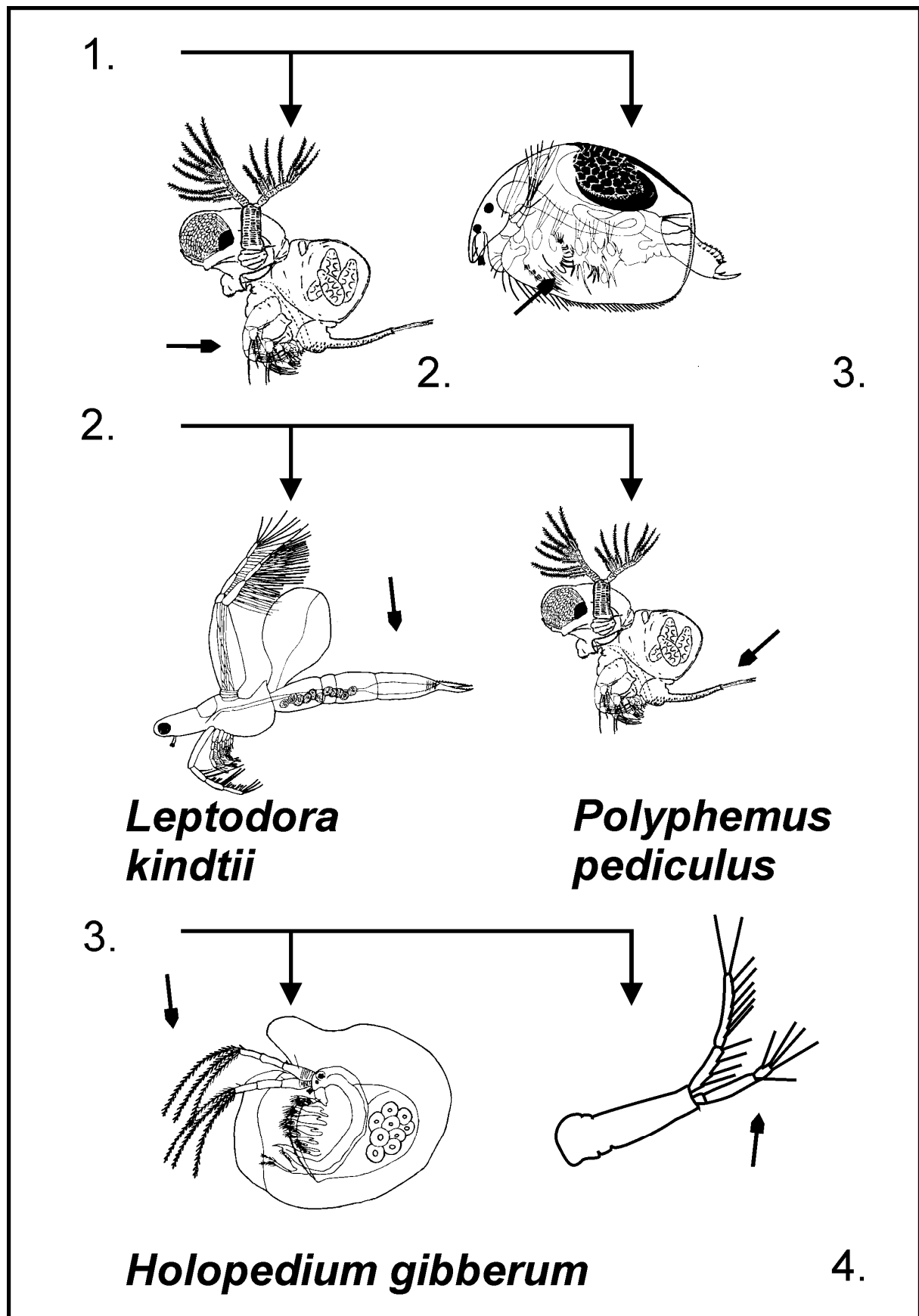
Doporučení:



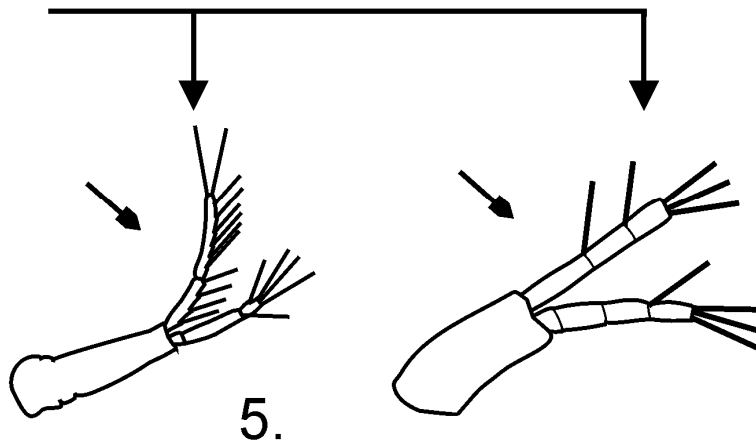
- každý krok klíče nabízí výběr mezi dvěma morfologickými znaky
- krátké šipky zdůrazňují diagnostický znak
- srovnajte studovanou populaci s obrázkem a zvolte číselný odkaz nebo název druhu
- v případě pochybnosti vraťte se o krok zpět a porovnejte znovu populaci a navržené řešení
- krok za krokem byste měli dospět ke konečné identifikaci studovaného materiálu
- vždy porovnávejte obrázek s popisem znaků v textovém dichotomickém klíči.

Poznámky – připomínky ke klíči

[illegible]



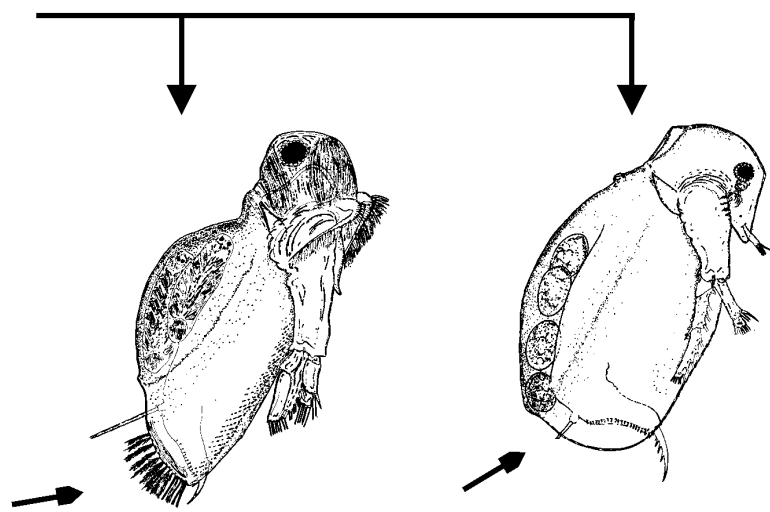
4.



5.

11.

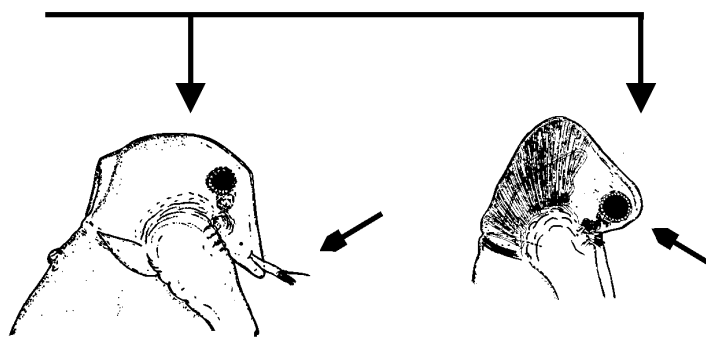
5.



Latona setifera

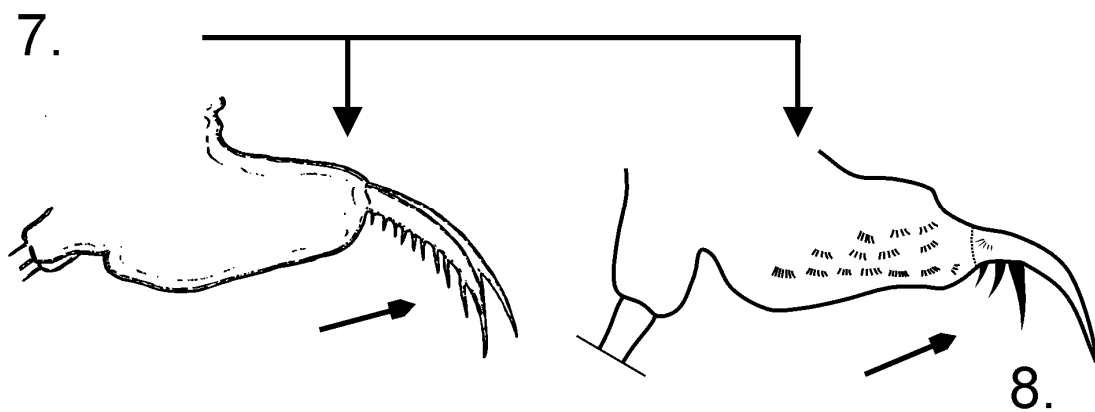
6.

6.

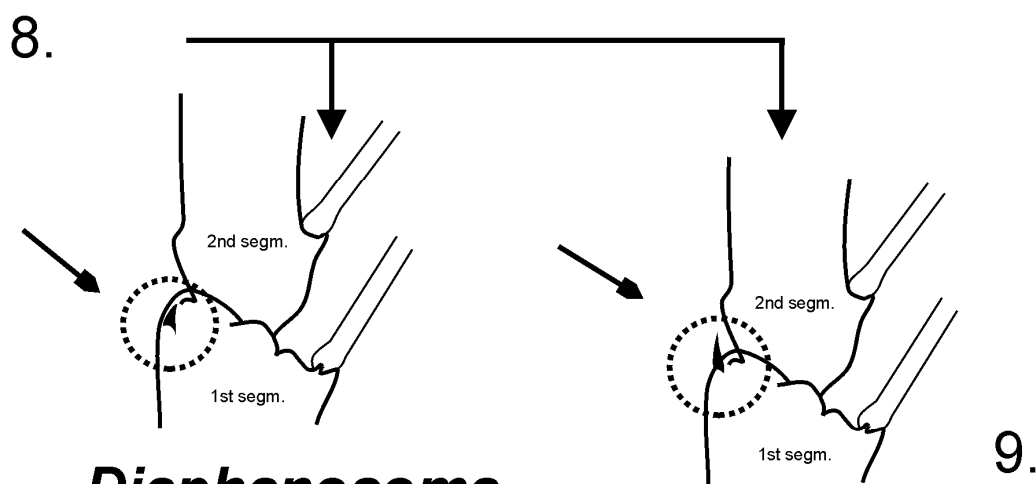


Sida crystallina

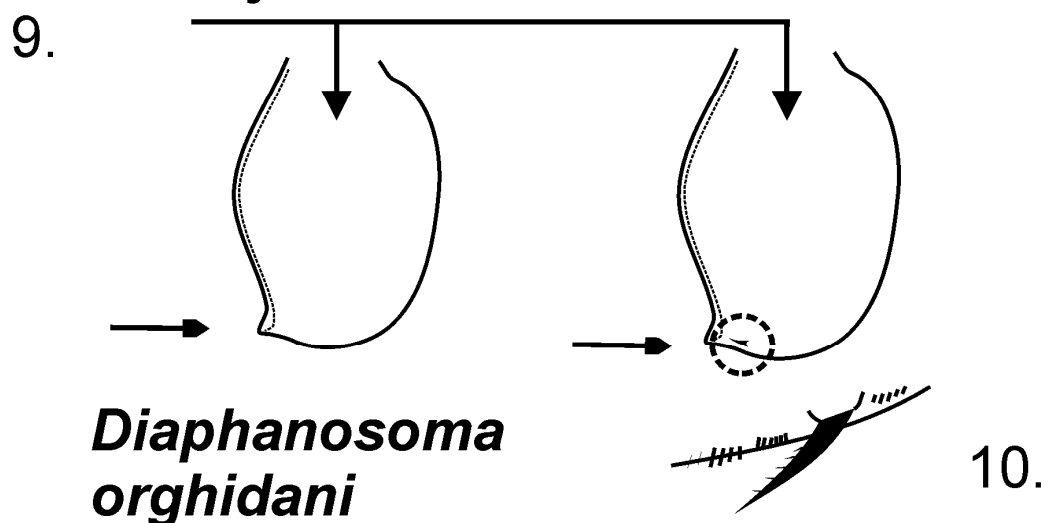
7.



Limnosida frontosa

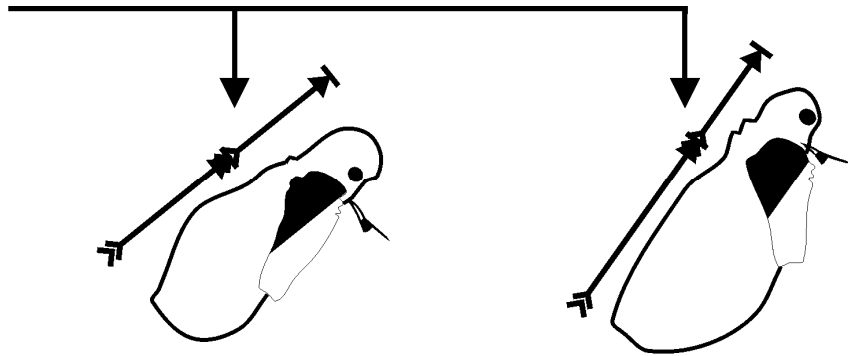


Diaphanosoma brachyurum



Diaphanosoma orghidani

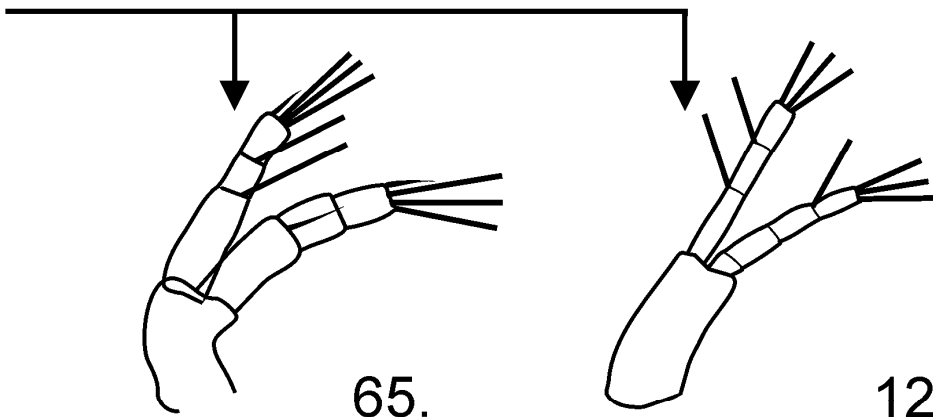
10.



*Diaphanosoma
mongolianum*

*Diaphanosoma
lacustris*

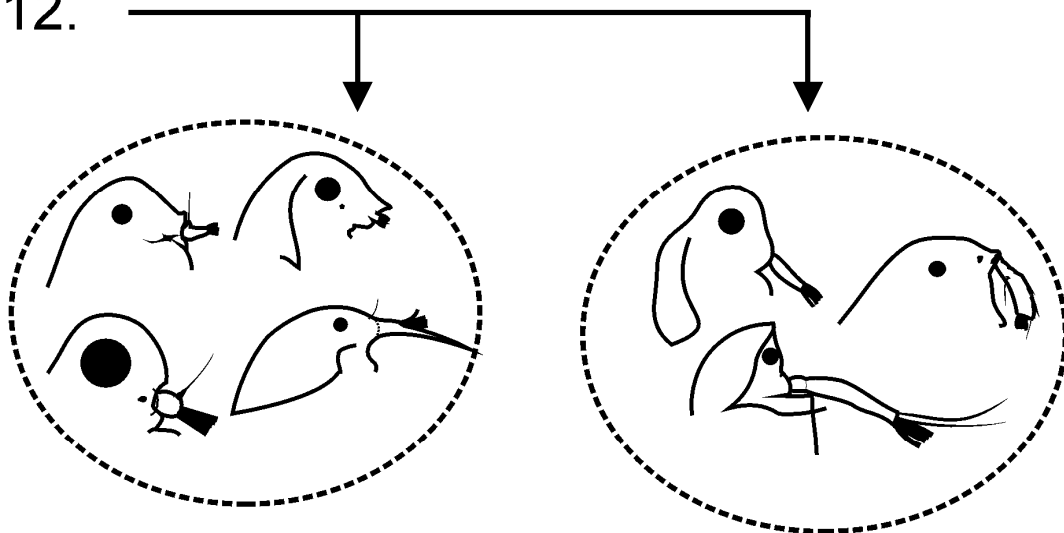
11.



65.

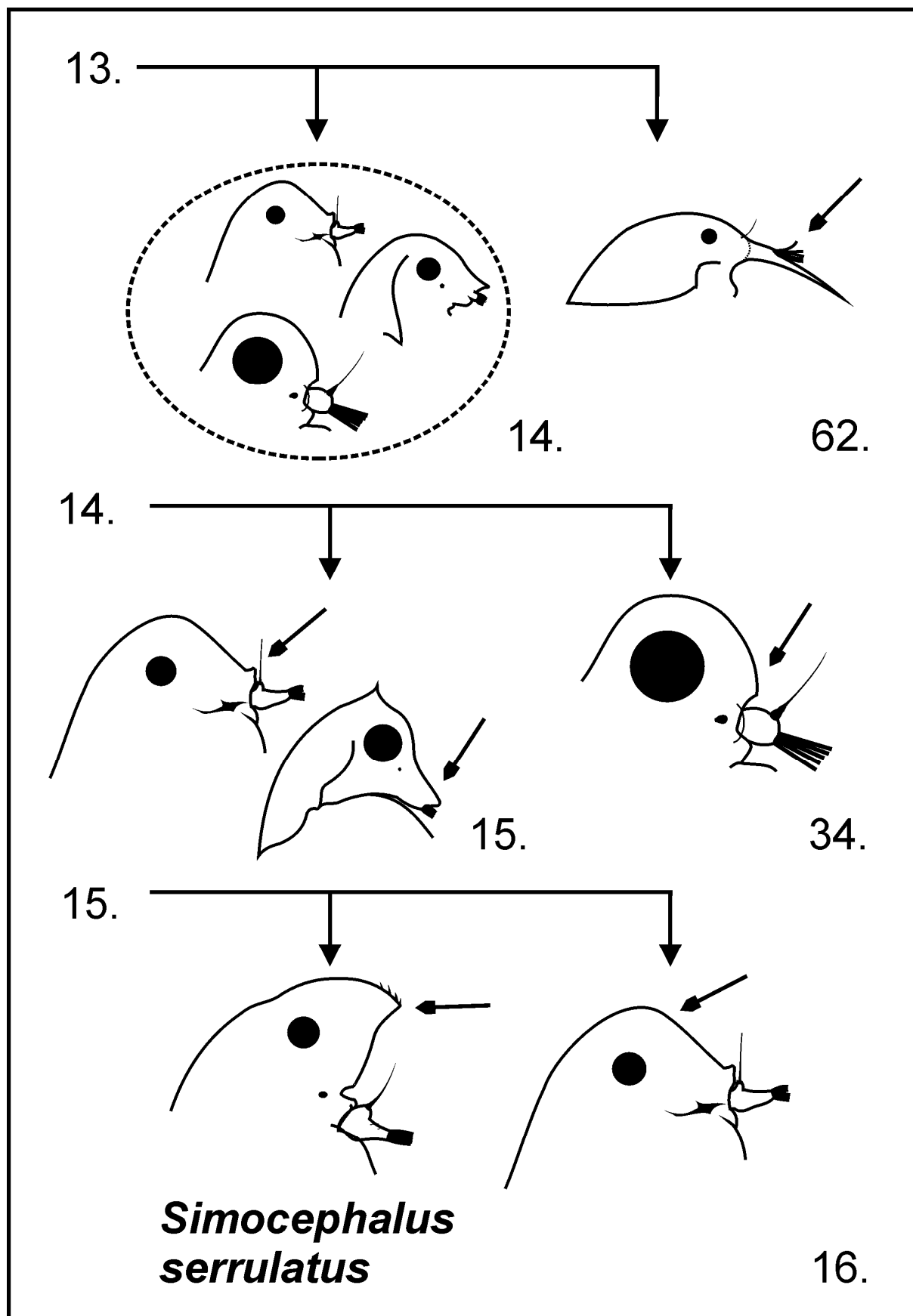
12.

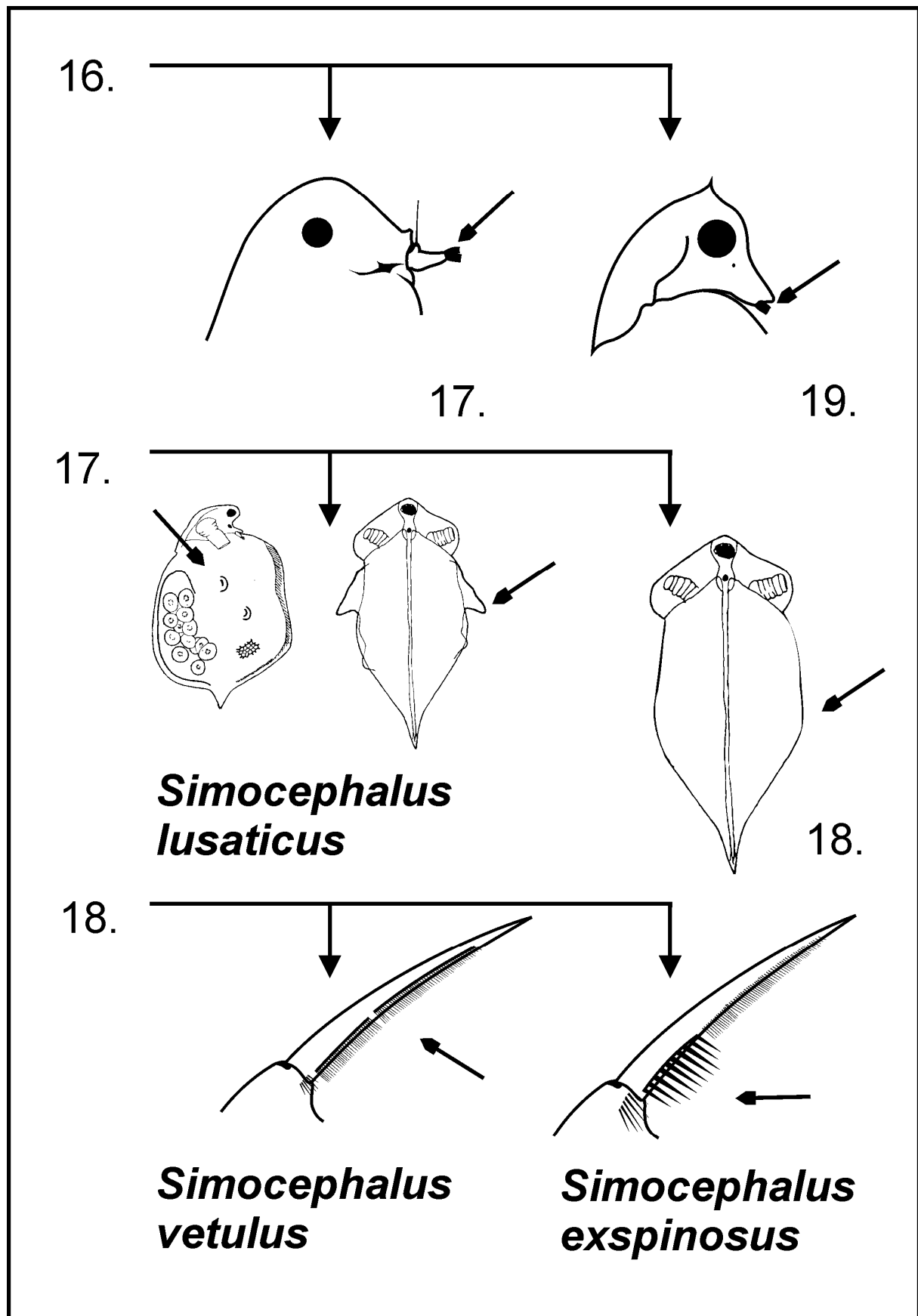
12.



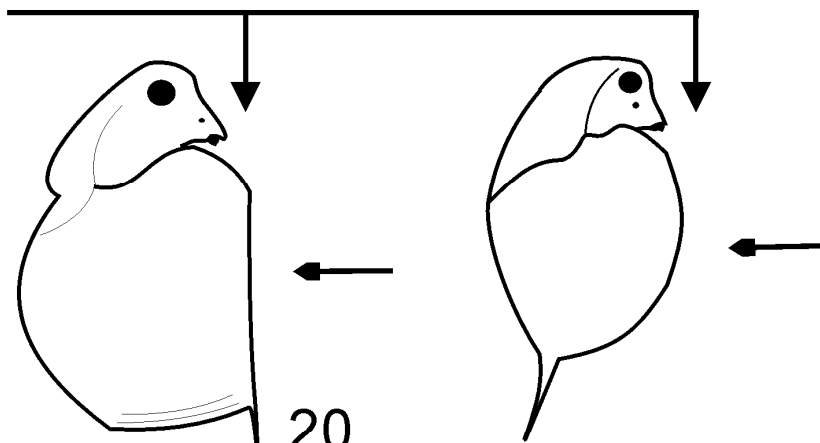
13.

42.





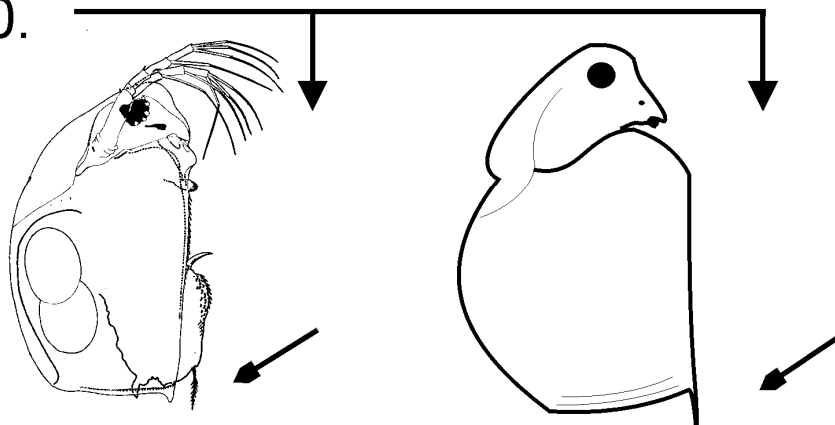
19.



20.

24.

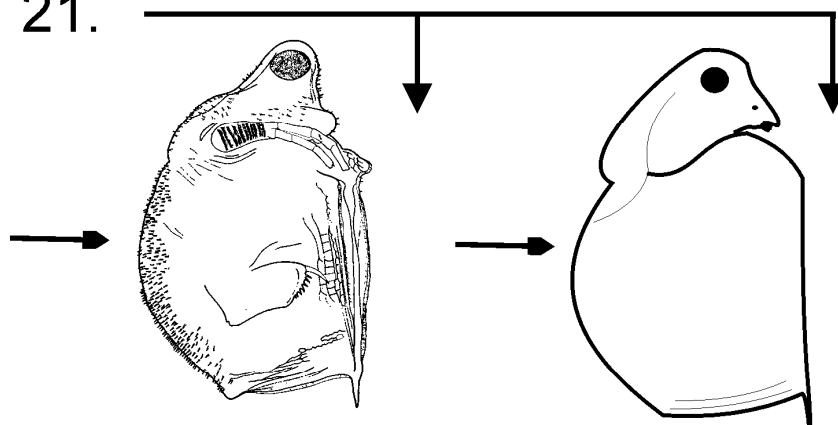
20.



***Megafenestra
aurita***

21.

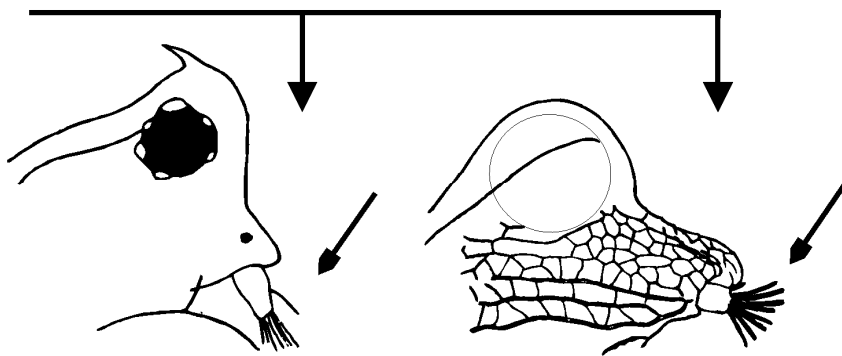
21.



***Scapholeberis
erinaceus***

22.

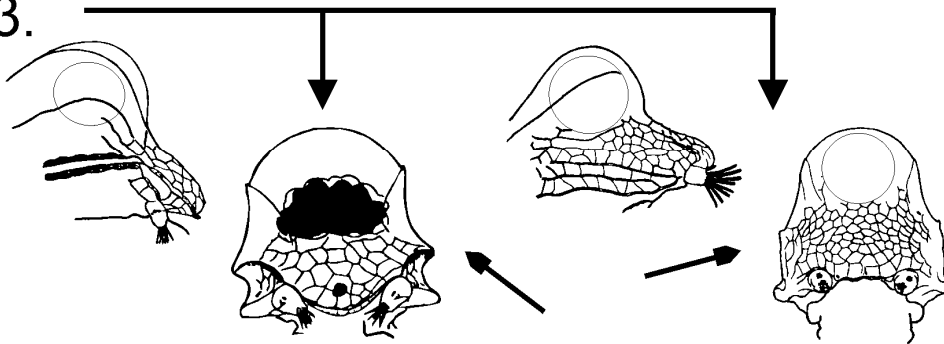
22.



***Scapholeberis
microcephala***

23.

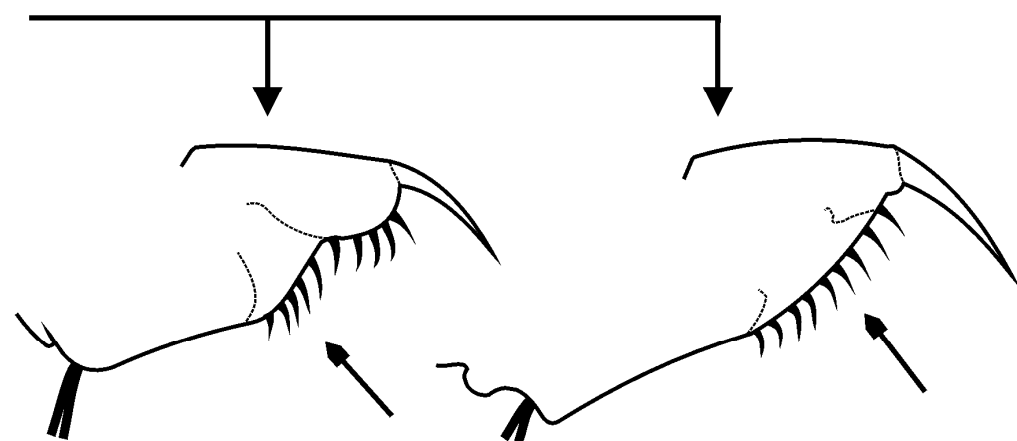
23.



***Scapholeberis
rammneri***

***Scapholeberis
mucronata***

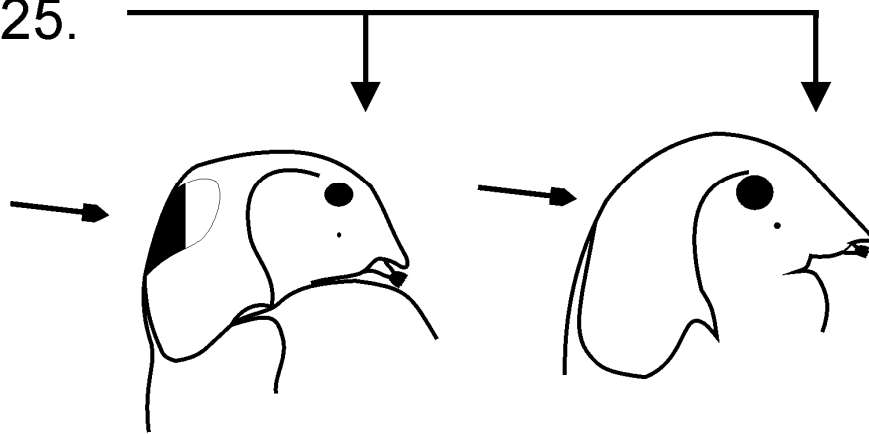
24.



Daphnia magna

25.

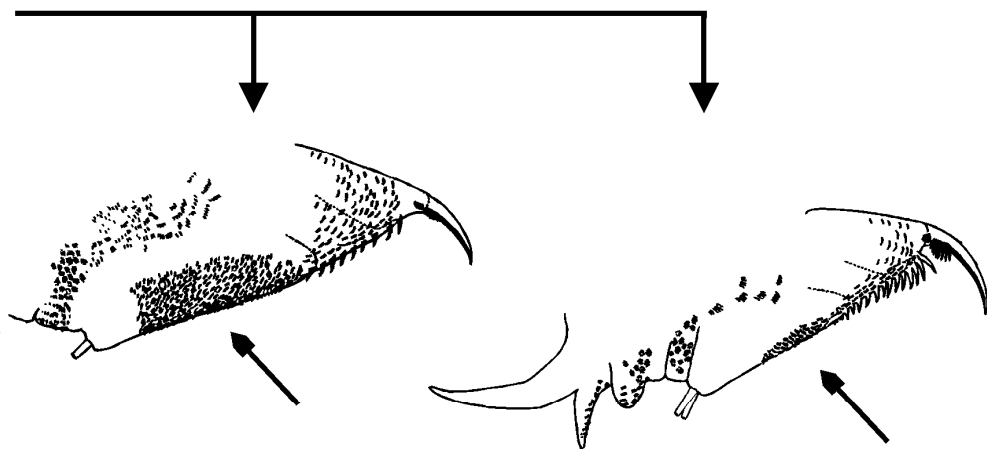
25.



Daphnia atkinsoni

26.

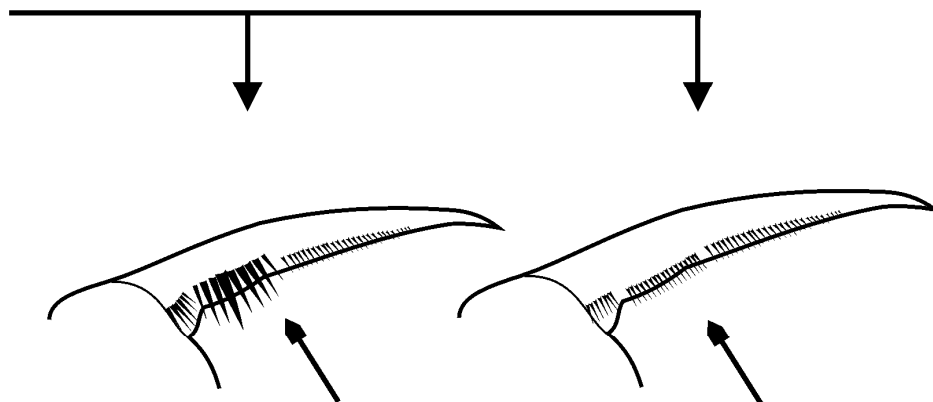
26.



Daphnia similis

27.

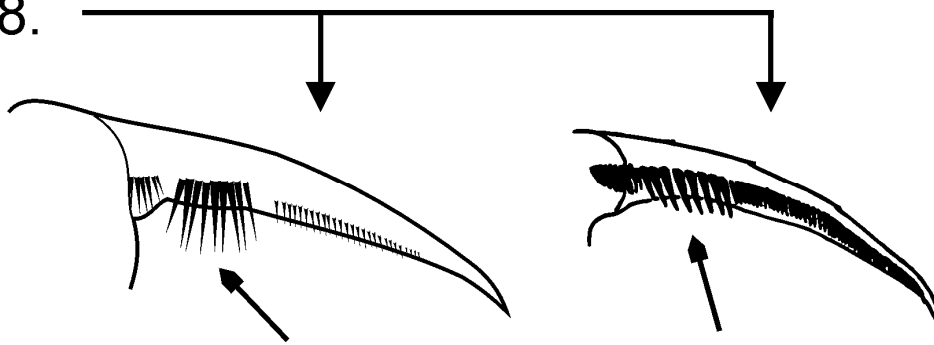
27.



28.

32.

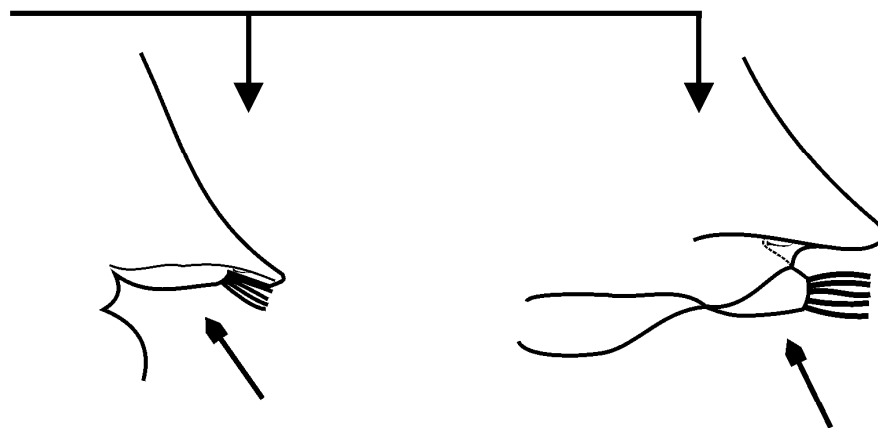
28.



29.

Daphnia parvula

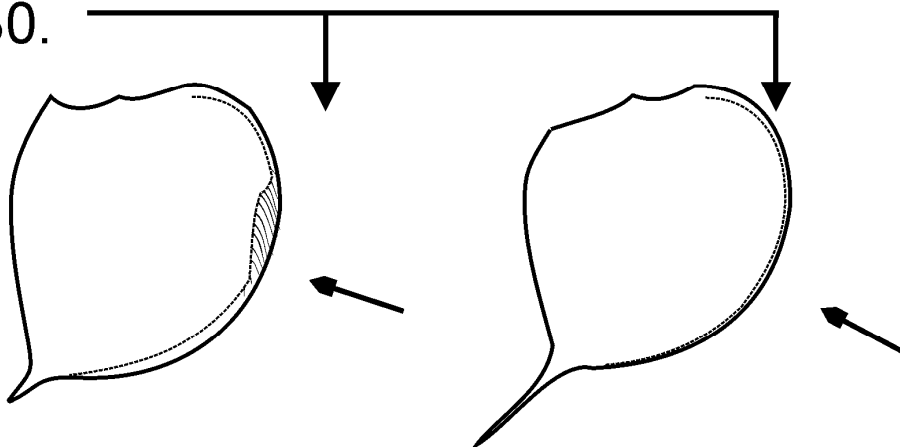
29.



Daphnia curvirostris

30.

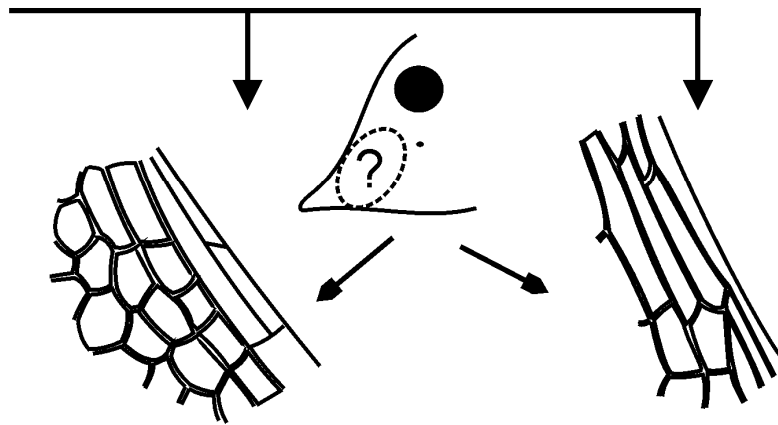
30.



Daphnia obtusa

31.

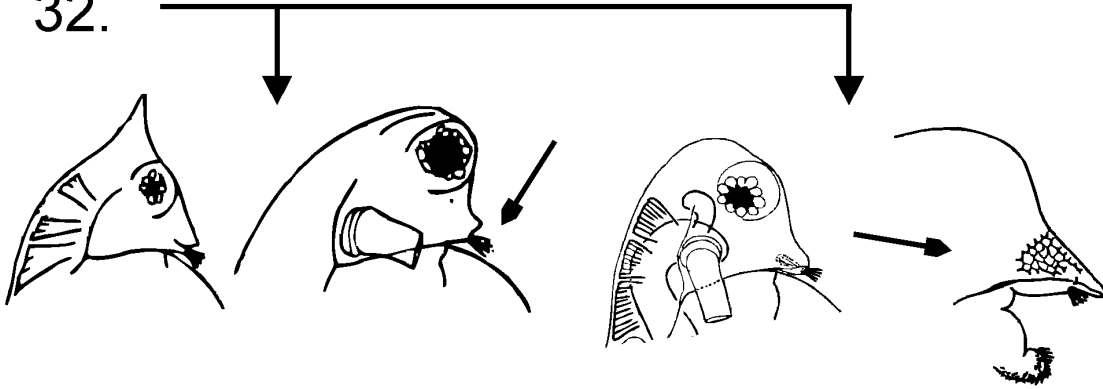
31.



Daphnia pulex

Daphnia gr. pulicaria

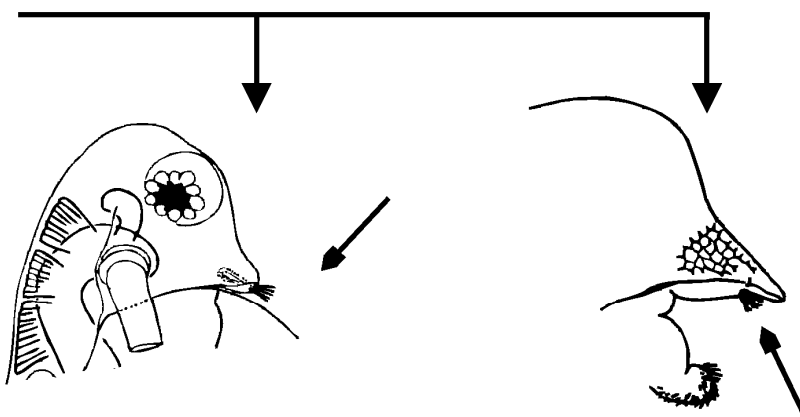
32.



Daphnia ambigua

33

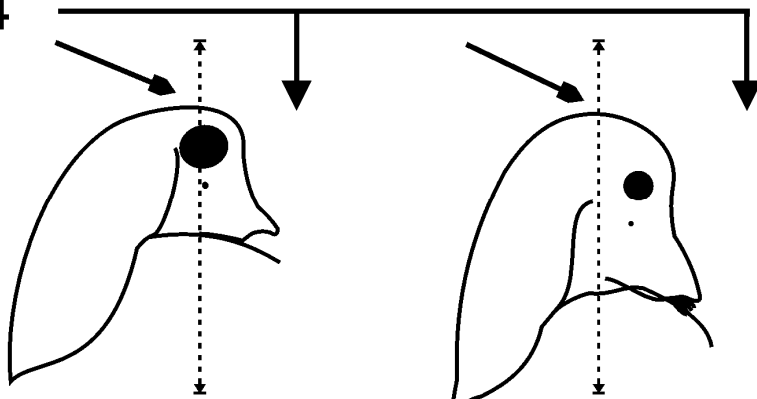
33.



Daphnia cucullata

34.

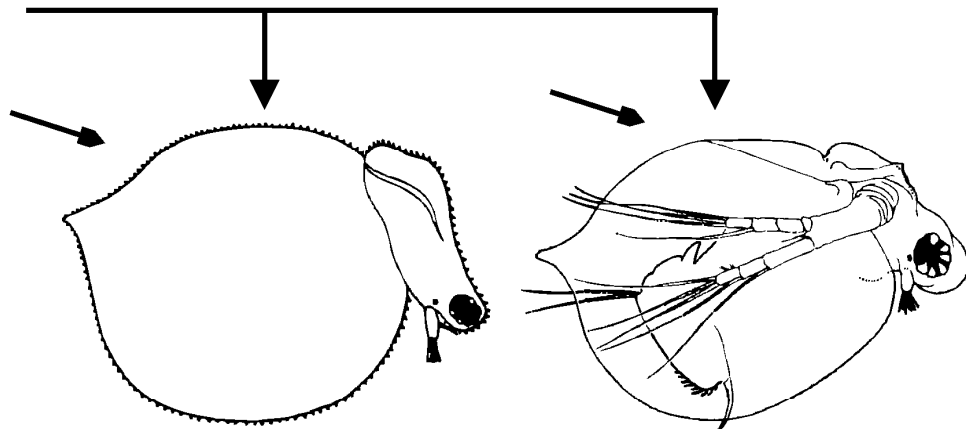
34



Daphnia longispina

Daphnia galeata

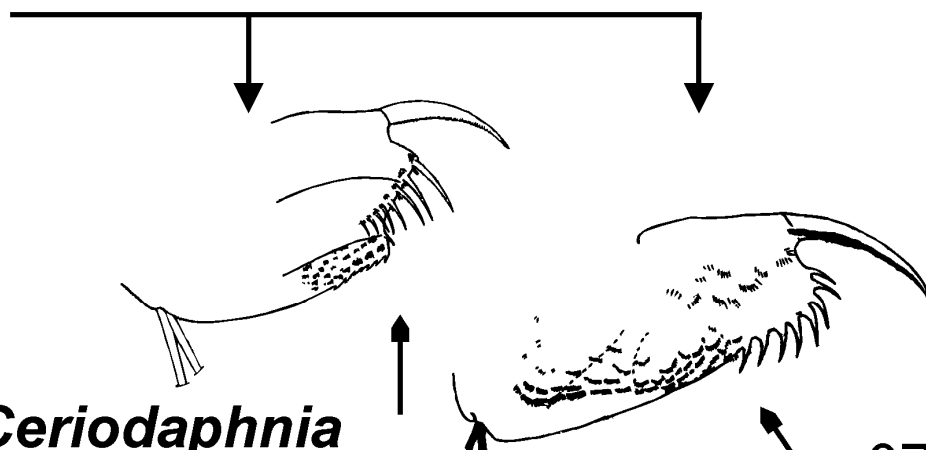
35



Ceriodaphnia setosa

36

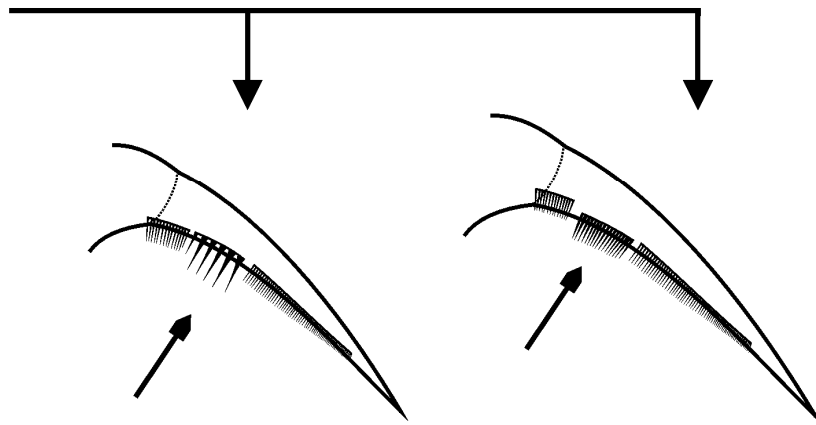
36



Ceriodaphnia megops

37

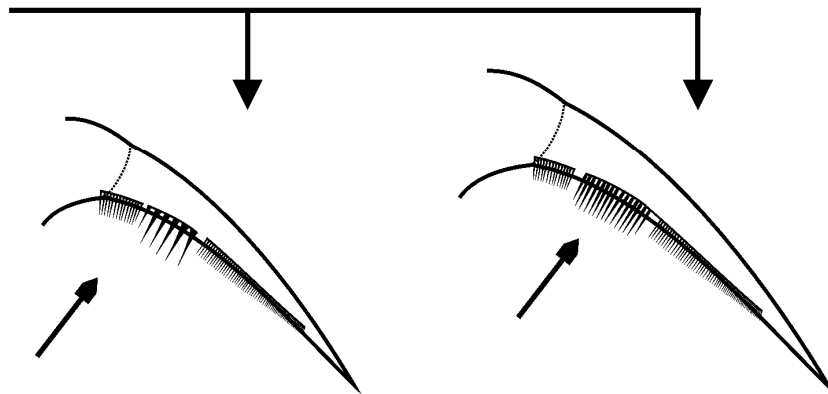
37.



38

39

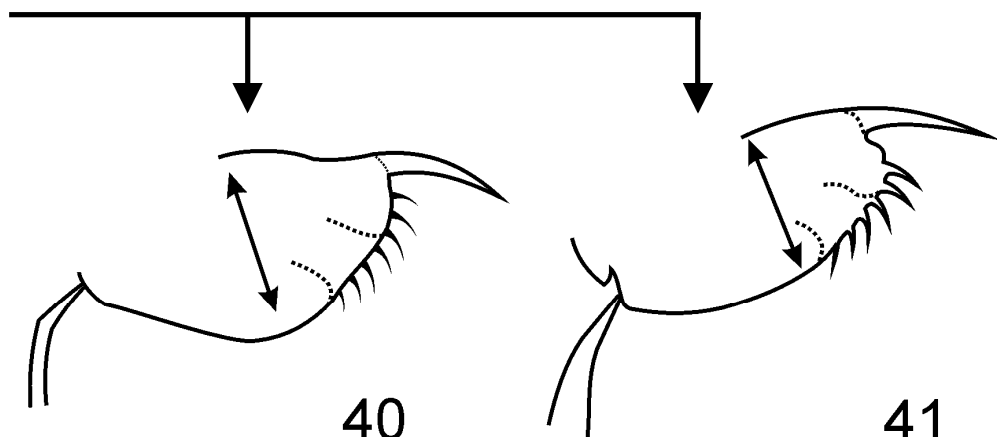
38.



***Ceriodaphnia
reticulata***

***Ceriodaphnia
affinis***

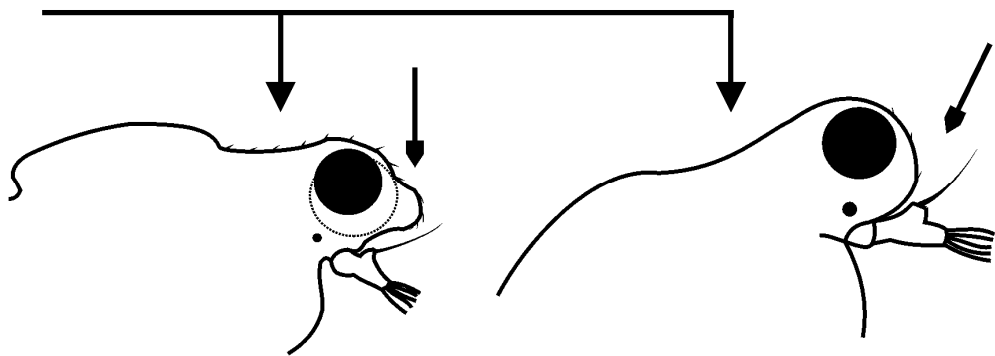
39.



40

41

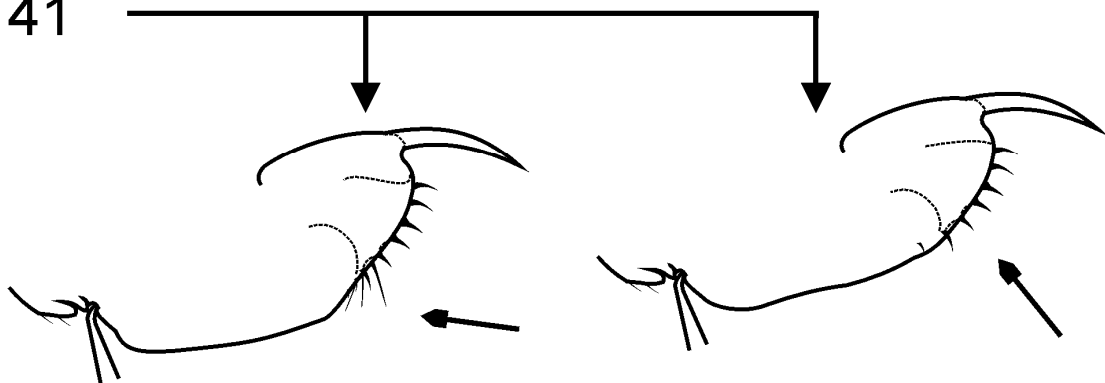
40



***Ceriodaphnia
rotunda***

***Ceriodaphnia
laticaudata***

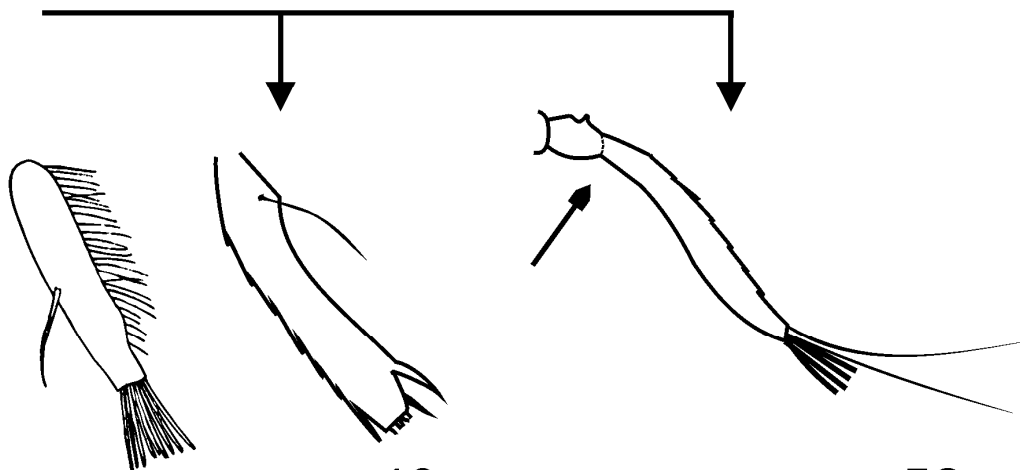
41



***Ceriodaphnia
pulchella***

***Ceriodaphnia
quadrangula***

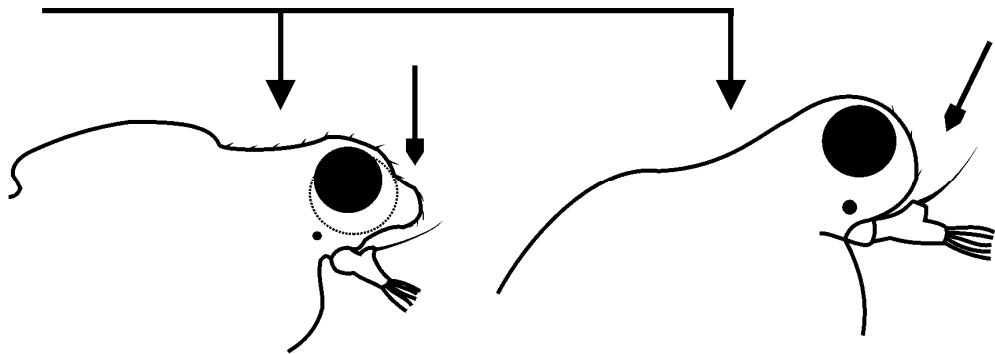
42



43

52

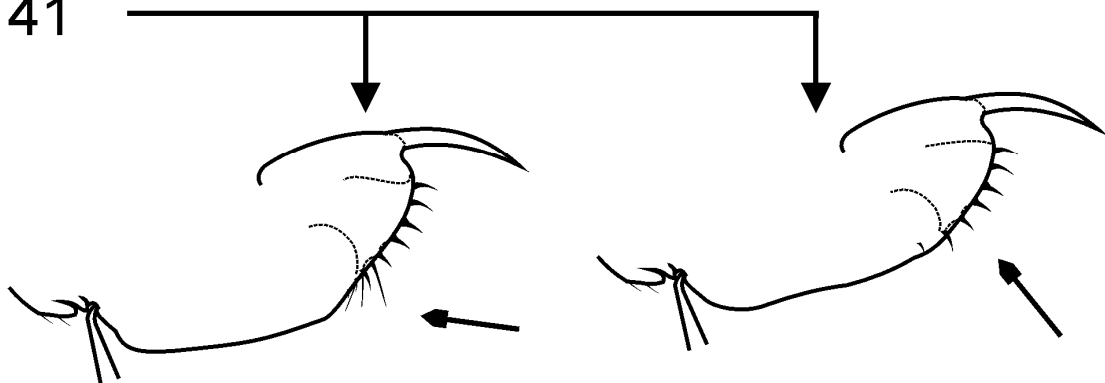
40



***Ceriodaphnia
rotunda***

***Ceriodaphnia
laticaudata***

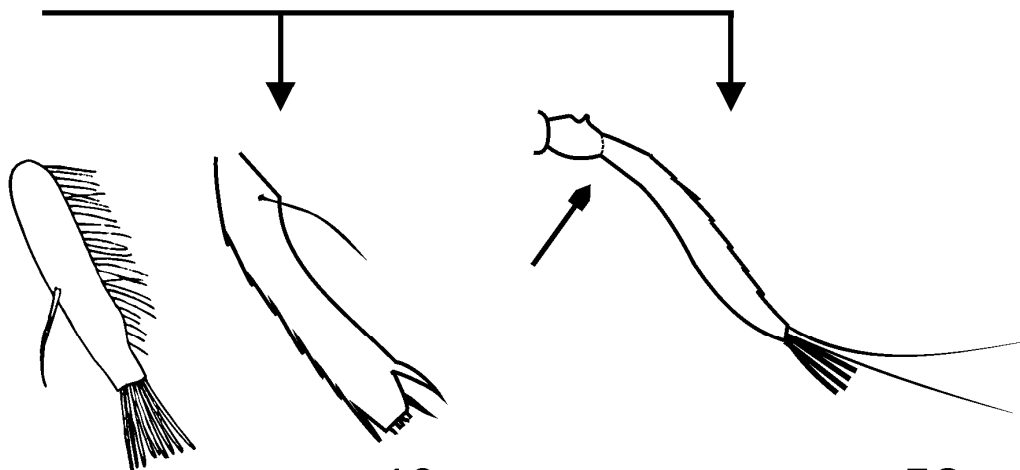
41



***Ceriodaphnia
pulchella***

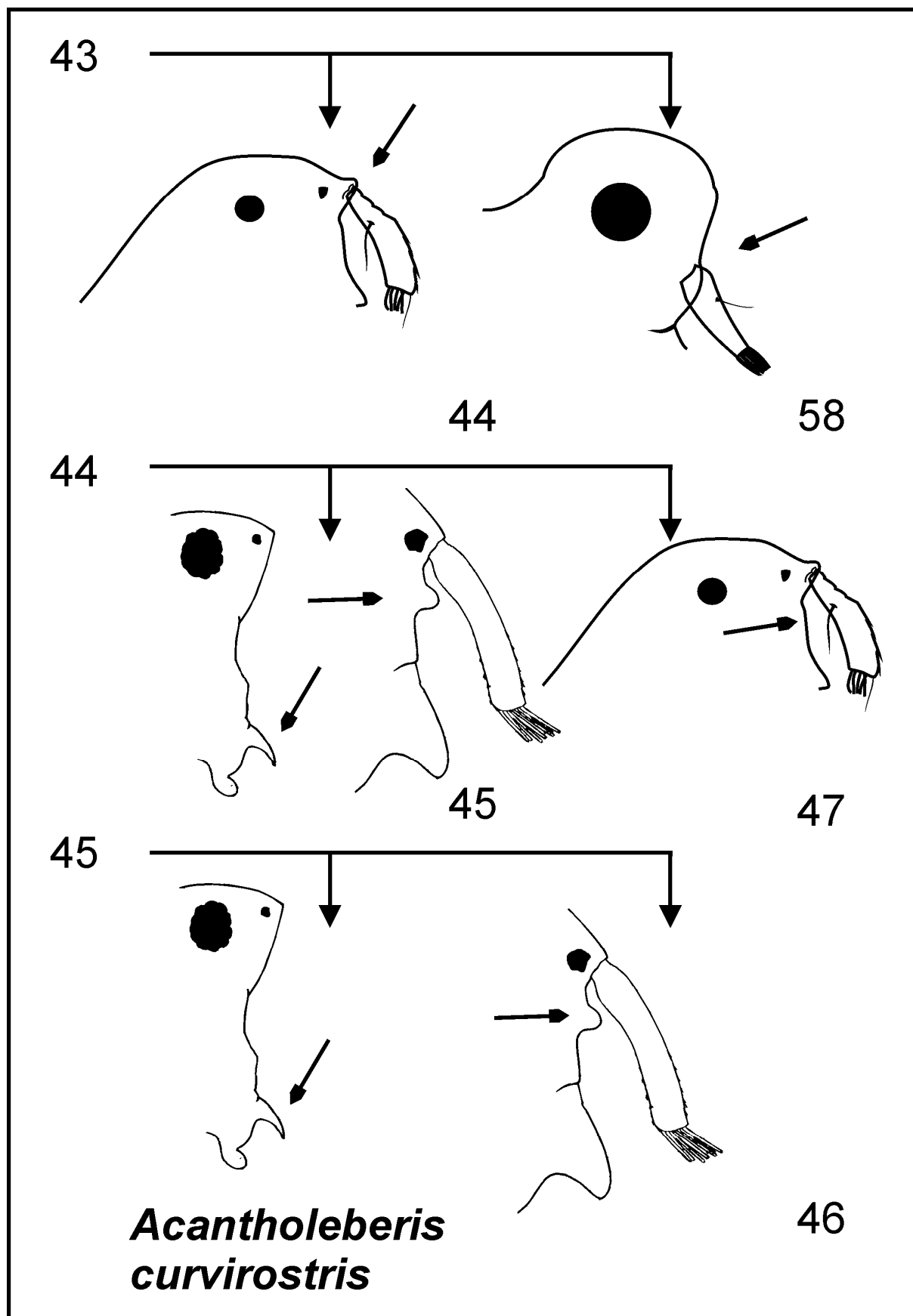
***Ceriodaphnia
quadrangula***

42

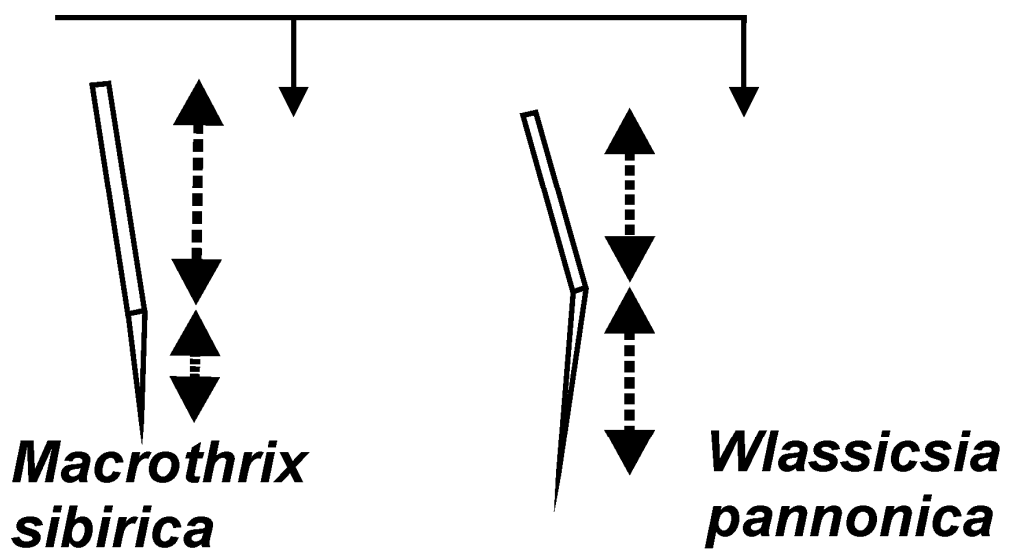


43

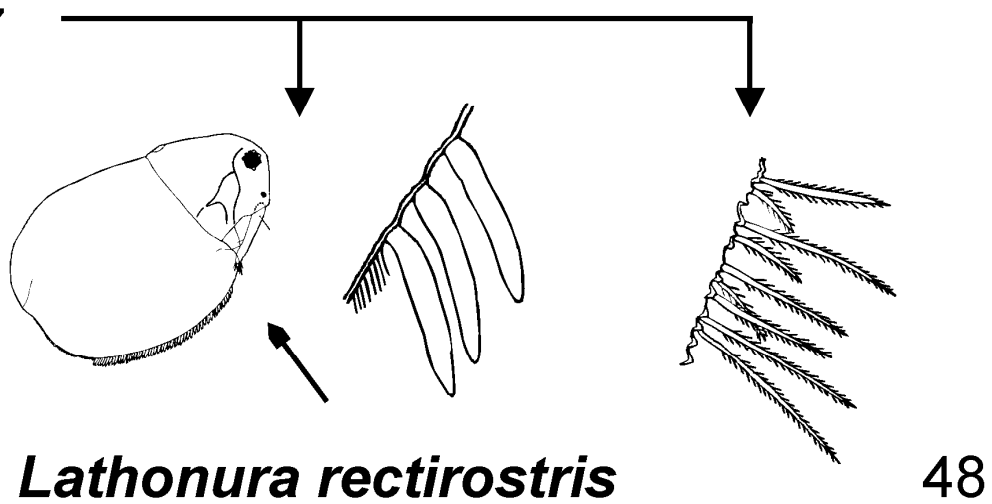
52



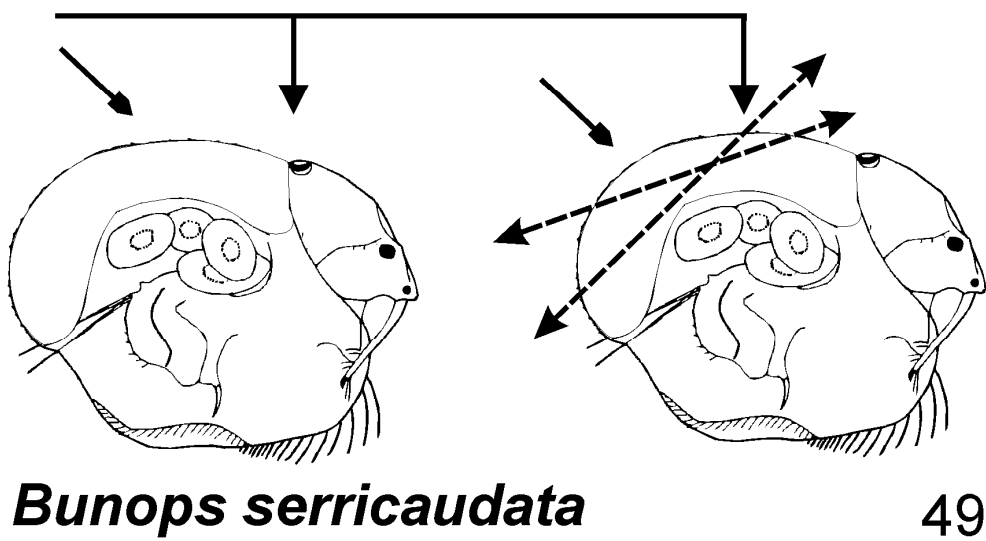
46

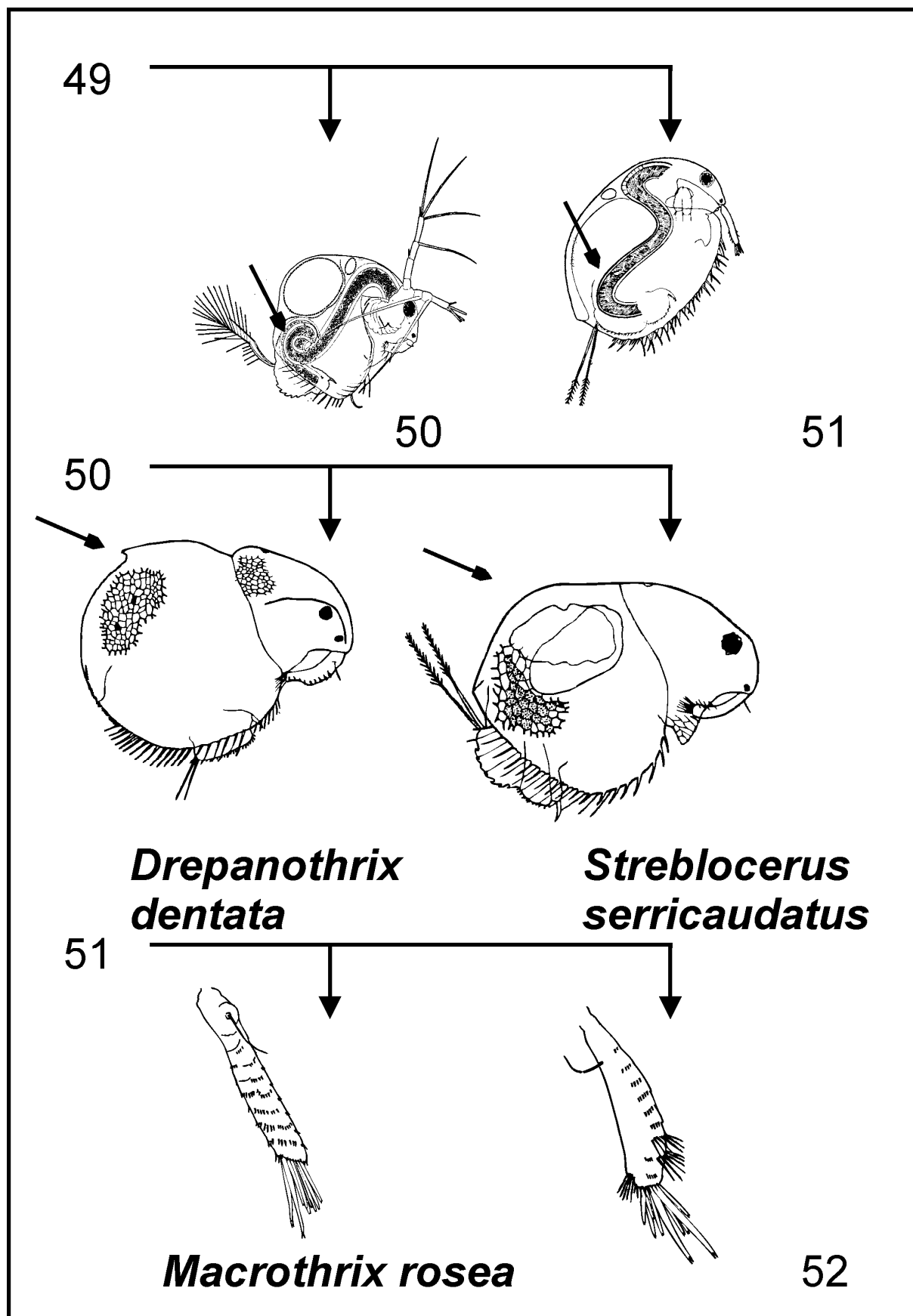


47

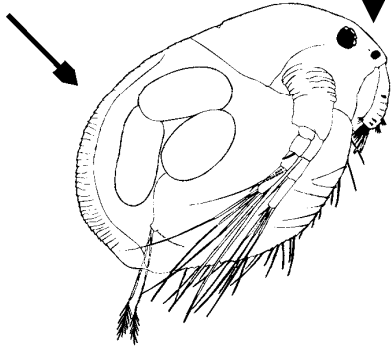


48

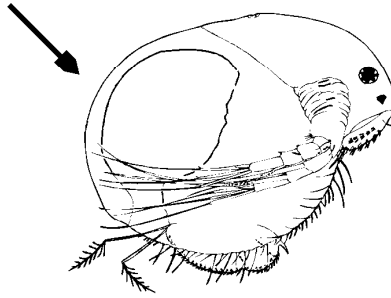




52

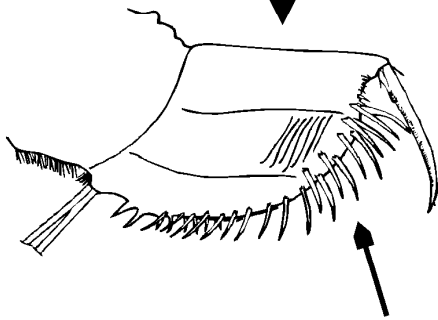


***Macrothrix
laticornis***

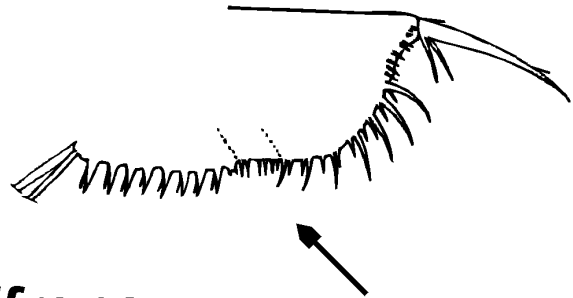


***Macrothrix
hirsuticornis***

53

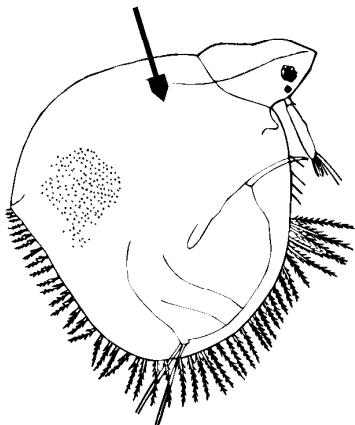


Ilyocryptus acutifrons

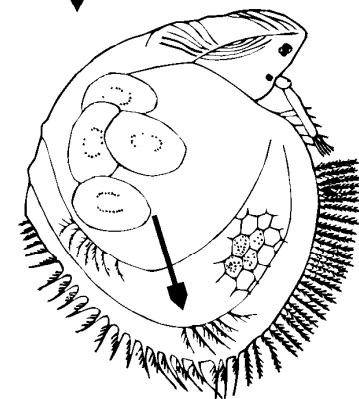


54

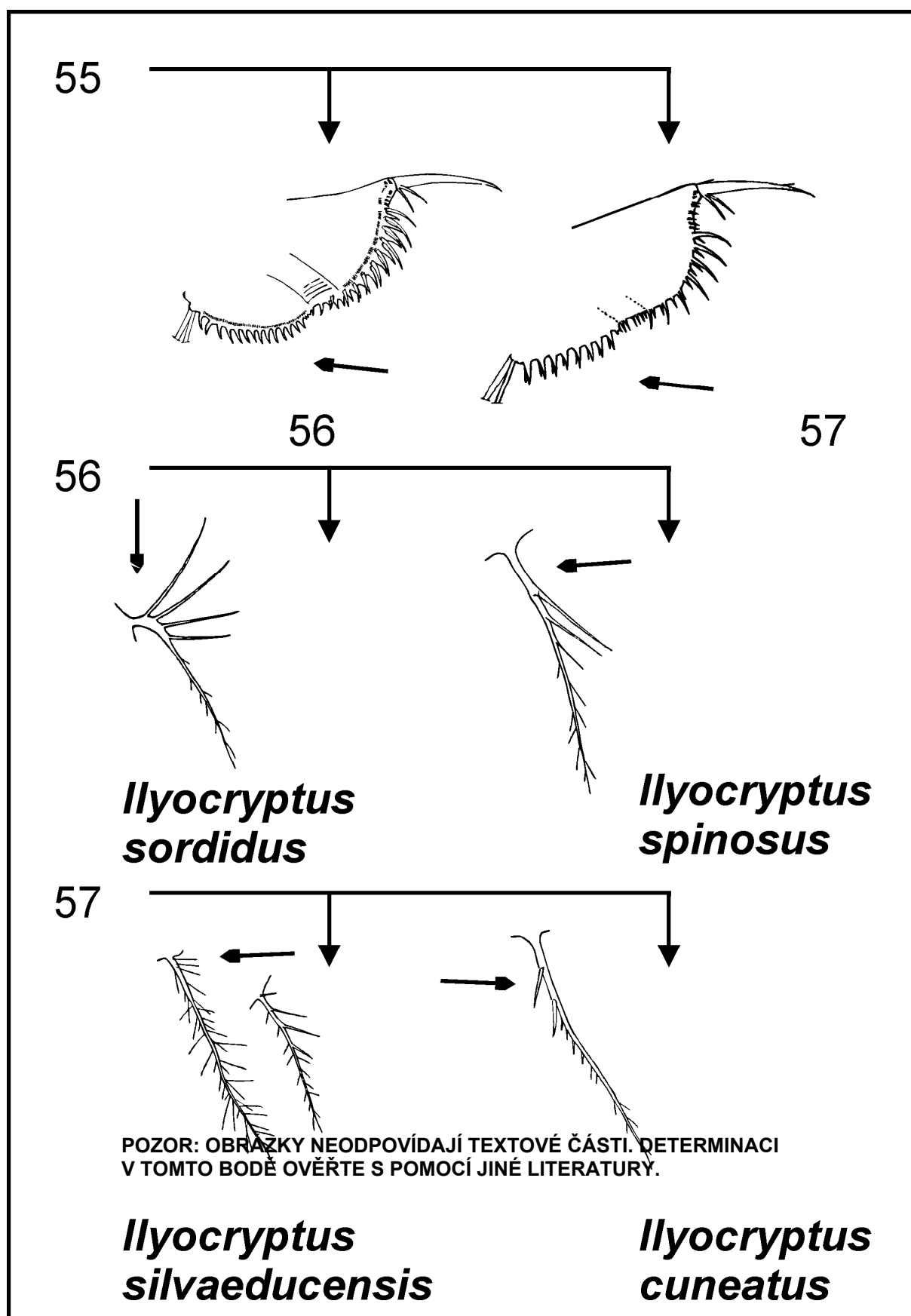
54



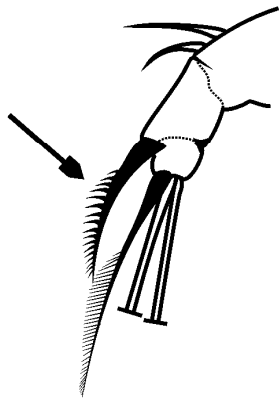
Ilyocryptus agilis



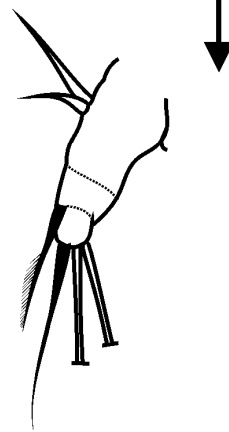
55



58

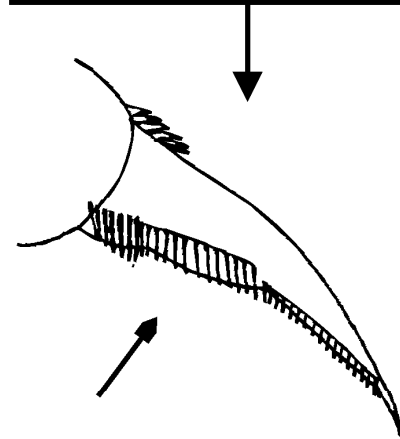


Moina macrocopa



59

59

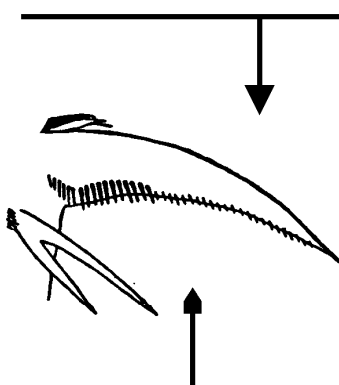


Moina ephemeralis

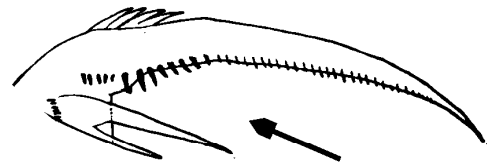


60

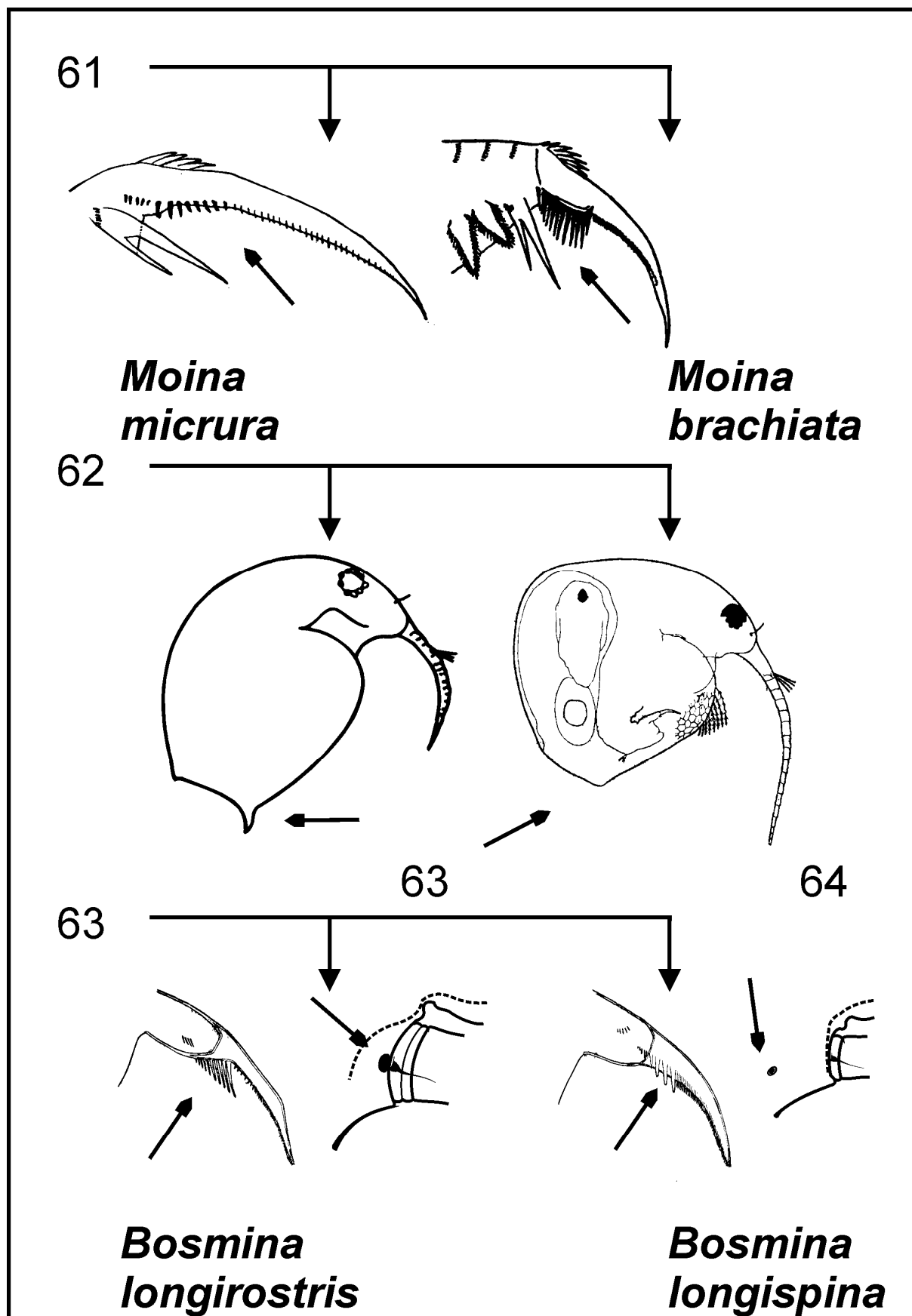
60



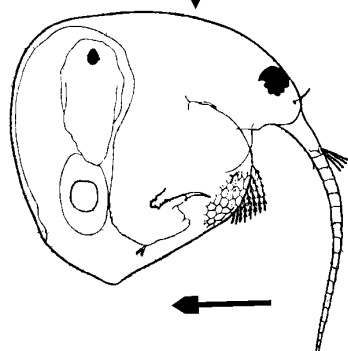
Moina weismanni



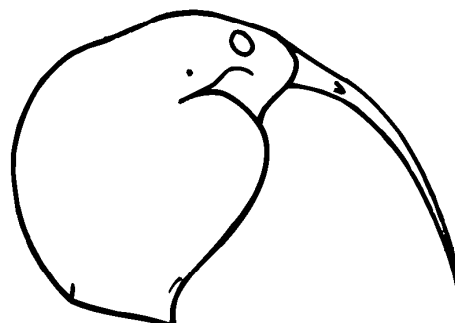
61



64



***Bosmina
coregoni***



***Bosmina
kessleri***

Chydoridae - pokračování příště

*) *upravený překlad z příručky:*

Kořínek, V. (1999): A guide to the identification of limnetic species of Cladocera in African inland waters. Occasional Publications SIL: 1-60.

1. Sběr perlooček

Pokud nepracujeme na velkých nádržích jako jsou jezera či údolní nádrže, na většině menších vod nám postačuje jednoduchá planktonní síť upevněná na tyči. Potřebná délka je minimálně 2m. Tyče se vyrábějí teleskopické a dají se složit na délku skládacího deštníku. Kromě sítě na tyči pracujeme i s vrhací planktonní sítí, která nám umožní odběr dále od břehu a je použitelná i na velkých nádržích. Vhodná hustota sítě (technická tkanina uhelon) je 0,1 mm, při vyšších hustotách by se síť rychle zanášela fytoplanktonem a detritem. Průměr kulatého rámu sítě je nejčastěji 15 – 20 cm (menší průměr spíše pro síť upevněnou na tyči). Délka silonového lanka pro vrhací síť by měla být aspoň 10 m.

Je důležité odebrat dostatek živého materiálu, protože některé populace nemusí být příliš hojné. Správné určení druhového složení musí být vždy založeno na charakteristice populace a ne jen na jednom nebo několika jedincích. Část materiálu se také při určování zničí, protože je třeba vypreparovat např. končetiny, postabdomen a pod. Pokud pracujeme dlouhodobě na několika nádržích nebo jen v určité oblasti, je dobré si připravit trvalé preparáty jednotlivých druhů jako srovnávací materiál. To velmi usnadňuje rozhodování, jsme-li na pochybách o správnosti našeho určení a umožňuje poskytnout materiál k pozdějšímu ověření.

2. Konzervace vzorku.

Nejčastěji používáme dvě konzervační tekutiny pro stabilizaci organismů. Jednak můžeme ke vzorku přidat 40% roztok formaldehydu, aby výsledná koncentrace byla přibližně 4% (1/10 objemu vzorku) a nebo vzorek koncentrovaný na malém sítku opláchneme do vzorkovnice 96% ethylalkoholem. První metoda má výhodu, že koncentrace o něco málo vyšší nebo nižší má malý význam a jedinci jsou velmi málo deformováni. Materiál můžeme dobře použít jak pro přípravu trvalých preparátů, či prohlížení ve světelném i např. rastrovacím mikroskopu. Při použití alkoholu záleží výsledek konzervace na úplné náhradě vody alkoholem. Je třeba proto konzervační tekutinu několikrát vyměnit. Protože dehydratace málo chitinizovaných planktonních

korýšů probíhá velmi rychle, mohou se některé druhy se zvláště jemnou kutikulou deformovat (např. rod *Diaphanosoma*). Vzorky uchovávané v alkoholu je také třeba uzavřít dobře těsnícím uzávěrem. Vždy však hrozí nebezpečí vyschnutí při dlouhodobějším skladování v pokojových teplotách.

Konzervace formalinem (obchodní či technický název konzervačního roztoku formaldehydu) je velmi stálá, vysychání probíhá celkem pomalu. Při dlouhodobém skladování se však může časem vysrážet pevný paraldehyd, který vzorek buď zcela zničí a nebo je třeba ho odstraňovat zahříváním se silnou kyselinou.

Při použití kteréhokoli z uvedených postupů konzervace je důležité, aby byl proveden okamžitě při odběru. Jestliže přechováváme i po krátkou dobu živý, zahuštěný vzorek zooplanktonu a následně ho teprve konzervujeme, bude část organismů již mrtvá, napadená predátory (např. buchanky), deformovaná a někdy i částečně rozložená. Především při vyšších letních teplotách probíhají tyto procesy velmi rychle.

Používají se i jiné konzervační postupy, mezi které patří např. přidání (opět 1/10 objemu vzorku) nasyceného roztoku sacharózy ve 40% roztoku formaldehydu dle Haney, Hall (1973). Tento způsob konzervace snižuje nebezpečí deformací u málo chitinizovaných druhů a zabraňuje také vypadávání embryí z plodových prostorů perlooček.

Vzorek by měl být okamžitě po odběru označen etiketou. Je řada způsobů jak vzorky označovat, skutečně trvanlivá je však papírová etiketa vložená do lahvičky a popsána tužkou. Výhodné je použití tzv. pauzovacího nebo umělého (plastového) papíru a měkké tuhy mikrotužky. Zvláště při konzervaci alkoholem se může nápis barevným popisovačem na povrchu lahvičky se vzorkem snadno poškodit. Záznam na etiketu by měl být podrobný, tzn. název a bližší určení místa lokality, datum a kdo vzorek sbíral. Ostatní data by měla být součástí protokolu v poznámkovém sešitu. Je nebezpečné používat na etiketu kódové označení (číslem apod.) a název lokality a datum zapisovat jen do poznámkového sešitu. Po uplynutí delší doby je většinou originální protokol nedostupný a srovnávací materiál znehodnocen, protože kromě kódu sběratele potřebné další informace chybí.

3. Dlouhodobé skladování vzorků

S výjimkou muzeí nebývá zvykem dlouhodobě (tzn. po řadu roků) skladovat vzorky zooplanktonu. Po skončení určitého projektu a publikování jeho výsledků vzorky spíše překázejí a jsou nakonec likvidovány. Když vezmeme v úvahu objem práce a finančních prostředků, které byly vynaloženy na odběr a zpracování vzorků, je i z čistě

ekonomického hlediska nevýhodné tento materiál likvidovat. Je možné ho i později využít např. pro porovnání změn habitatu v průběhu řady let nebo jako zdroj faunistických či taxonomických poznatků.

Některé vědecké instituce však zřizují speciální skladovací prostory - depositáře, kde jsou podobné soubory vzorků uloženy. Pro takový účel je však třeba vzorky upravit. Vzorky zkoncentrujeme do menšího objemu (5 – 40ml) a ty, které jsou konzervované formalinem převedeme do 70% alkoholu (nebo i vyšší koncentrace). Ke každému vzorku přidáváme několik kapek glycerolu nebo ethylenglykolu (součást nemrznoucích kapalin), které zabrání úplnému vyschnutí vzorku. Zkumavky uzavíráme plastovým uzávěrem, který propíchneme jehlou – možnost vyrovnávání tlaků při změnách teploty, nehrozí tudíž vypuzení uzávěru (netýká se uzávěrů se závitem). Lahvičky se vzorky jsou pak umístěny do větší, širokohrdlé plastové lahve a zality 70% alkoholem. Tímto způsobem je možné uchovávat materiál po desítky let aniž by utrpěla kvalita konzervovaných organismů.

4. Preparace perlooček

Trvalé preparáty jsou vhodné pro budoucí identifikaci a srovnávací studie. Existuje řada metod pro přípravu preparátů, barvení či projasňování mikroskopických objektů. Vybrali jsem jen několik spíše rutinních postupů, které se nám osvědčily a používáme je po desítky let na našem pracovišti. Pro celkové preparáty jedinců perlooček lze doporučit média nemísitelná s vodou jako je kanadský balzám nebo akrylátová media. Při preparování jedinců, kdy organismus rozdělíme na jednotlivé části se osvědčil polyvinyl alkohol (PVA), který je rozpustný ve vodě. Jednotlivé vypreparované části můžeme v PVA na podložním skle srovnat a pak je teprve přikrýt krycím sklíčkem. Podobný postup lze použít i v kanadském balzámu či akrylátové pryskyřici, ale postup je pracnější a vyžaduje určitou zkušenost. PVA je na druhé straně nevhodný pro dlouhodobě skladované preparáty. Při postupném vysychání se objekt deformuje a vnitřní tkáň opticky homogenizují. Rámování preparátů lakem jen tyto procesy poněkud zpomalí.

Příprava pro práci s vodou mísitelnými medii je poměrně jednoduchá. Protože se jedná o husté prostředí, není vhodné do něho přenášet jedince přímo z alkoholu nebo formalinu. Převedeme je nejprve do směsi 70% alkoholu a glycerolu (smísit v poměru 3-5 : 1) a ponecháme přes noc na misce jen volně zakryté, aby do ni nenapadaly prachové částice. Část alkoholu se za několik hodin odpaří a můžeme přenést jedince do PVA a nebo pracovat přímo v zahuštěném glycerolu. Do PVA je možné již při přípravě přidat některá

barviva, která pak objekty v něm uzavřené obarví a zvýrazní řadu struktur, které by se při projasnění v médiu ztrácely.

Při uzavírání perlooček do bezvodých médií je barvení nezbytným předpokladem. Kanadský balzám silně projasňuje tělo perlooček a po čase v preparátu většina struktur jakoby „zmizí“. K barvení používáme směs dvou barviv: *lignin pink* a chlorazolová čern - *chlorazol black E*. D. G. Frey (1959) navrhl použití barviva lignin pink pro barvení zbytků perlooček ze sedimentů v paleolimnologii (hlavně zbytků carapaxu a hlavového štítu u čel. Chydoridae) a použití obou barviv pro trvalé preparáty v kanadském balzámu zavedl J. Hrbáček (in Brandlová et al. 1972).

Lignin pink je červené barvivo, které rychle barví subkutikulární tkáň perlooček, zatímco chlorazolová čern barví chitin modře. Nasycené roztoky v 70% alkoholu je možné míchat v různém poměru a dosáhnout tak odlišných odstínů či zvýraznění struktur. Zásobní roztok je možné skladovat libovolně dlouho a jen občas přidat rozpouštědlo. Jedince určené k barvení převedeme do malé zkumavky (3 – 5ml: úspora chemikálií) a přidáme 3 – 5 kapek barvicí směsi. Čas potřebný k obarvení je různý a závisí na řadě faktorů. Různé druhy a rody perlooček se barví různou rychlostí a přijímají rozdílně i jednotlivé barvicí složky. Např. rod *Diaphanosoma* se velmi rychle barví modře a teprve po delší době se objeví i červená barva (podobně i klanonozí korýši). Starší vzorky (např. muzeální materiály sbírané před desítkami let) se barví neochotně a podobně i špatně konzervovaný materiál. Většinou je postačující ponechat jedince v roztoku barviva po 24 – 48 hod.

Další postup při přípravě trvalého preparátu je následující. Po obarvení propláchneme jedince nejprve 70% alkoholem a následně 96 % alkoholem. Zředěným alkoholem vymyjeme nadbytečné barvivo a v bezvodém prostředí zastavíme naopak jeho zpětné vymývání z těl korýšů. Nadbytečný alkohol zčásti odsajeme a pro úplné odvodnění přidáme do alkoholu několik kapek okyseleného 2-2-dimetoxipropanu. Připravíme ho smícháním v poměru 1ml DMP a 1 kapka 0,2-normální HCl. Po 10 - 15 minutách je většinou materiál dokonale odvodněn a je možné odsát nadbytečnou tekutinu a dvakrát po sobě ji nahradit xylolem. V obou sadách xylolu by měli jedinci zůstat vždy asi 15 min. Pokud se objeví, po přidání první kapky xylolu do odvodněného materiálu, mléčný zákal, stačí přidat několik kapek DMP a postup opakovat.

Z tohoto prostředí je možné již preparované jedince přenést na podložní sklo, přikápnout kanadský balzám nebo akrylátové medium a přikrýt krycím sklíčkem. Preparáty v kanadském balzámu již nerámujeme a ponecháme je ve vodorovné poloze

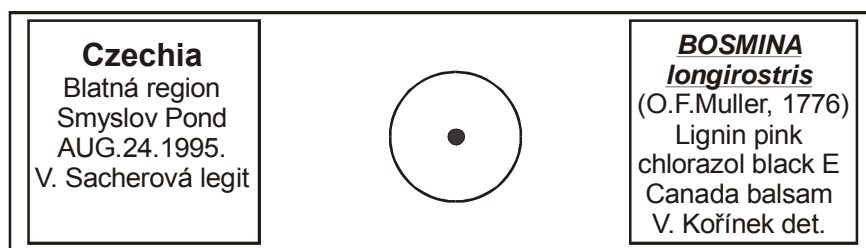
zaschnout. Když se obsah zahustí natolik, že ani pod tlakem jehly na krycí sklo se objekty v preparátu neposunují, je možné je skladovat i ve svislé poloze. Akrylátové preparáty je vhodné po usušení ještě orámovat např. kvalitním lakem na nehty. Vrstva akrylátové pryskyřice se neulpí vždy pevně na podložním skle, zvláště pokud nebylo před použitím dokonale očištěno vodou se saponátem. Sušení preparátů trvá u akrylátové pryskyřice několik hodin u kanadského balzámu několik dnů. Schnutí kanadského balzámu je možné urychlit ohříváním na topné kovové nebo keramické ploténce při teplotách do 40° C.

Pro některé detailní studie jemných struktur na kutikule (póry, brvy, trny apod.) je vhodné odstranit subkutikulární tkáň. Nejjednodušší způsob je zahřátí v 10% roztoku KOH po dobu asi 30 min a při teplotě 80° C. Zbylou kutikulární kostru je pak nezbytné opakovaně vyprat v destilované vodě. Další preparace a barvení či uzavírání do médií se neliší od již popsaných postupů.

Jestliže potřebujeme vypreparovat některé části těla (postabdomen, končetiny, antény apod.) používáme k tomu preparační jehly. Běžně dostupné entomologické pomůcky jsou většinou málo vhodné. Tvrdé a jemné jehly můžeme připravit z 2cm dlouhých úlomků wolframového drátu o síle 0,3mm buď vybroušením ostrého hrotu nebo elektrolýzou v roztoku 10 –20% KOH. Drát je připojen na kladný pól a uhlíková tyčinka na záporný pól okruhu napájeného stejnosměrným proudem o napětí 6V. Postupným ponořováním a nebo povytahováním dosáhneme potřebné tloušťky. Jehly pak upevníme do držáku (např. pouzdro mikrotužky).

Trvalé preparáty je potřebné podrobně popsat. Používáme samolepící štítky nalepené po obou stranách vedle krycího skla. Na jednom štítku jsou uvedeny všechny údaje o lokalitě, datum sběru a jméno sběratele. Na druhém štítku jméno druhu, použité barvivo a médium a jméno pracovníka, který materiál taxonomicky zařadil.

Příklad:



Medium PVA není u nás v prodeji a je třeba si ho připravit. Návod je uveden v pracích Gray, Wess (1950) a Smirnov (1976). Abychom získali asi 250 ml média, smícháme postupně

20 g práškového polyvinyl alkoholu, 70 ml 70% acetonu, 50 ml destilované vody, 50 ml glycerolu a 50 ml kyseliny mléčné. Směs dobře promícháme a přidáme dalších 50 ml destilované vody a za stálého míchání zahříváme. Protože při zahřívání unikají ze směsi hořlavé páry acetonu je nutné ohřát ve větší nádobě vodu a kádinku se směsí zahřívát na vodní lázni bez přítomnosti možného zdroje vznícení. Příprava směsi je ukončena, když veškeré pevné částice PVA se rozpustí a výsledná hustá kapalina je čirá. V této fázi je možné přidat nasycený roztok obou používaných barviv a medium obarvit. Barvení perlooček pak probíhá přímo v preparátu, dokud medium neztuhne.