

Univerzita Palackého v Olomouci
Přírodovědecká fakulta
Katedra ekologie a životního prostředí



Přenos želvušek (Tardigrada) v půdě trávicí soustavou žížal

Anna Veselá

Bakalářská práce
předložená
na Katedře ekologie a životního prostředí
Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

jako součást požadavků
na získání titulu Bc. v oboru
Ekologie a ochrana životního prostředí

Vedoucí práce: Mgr. Michala Tůmová
Ústav půdní biologie, Biologické centrum AV ČR

Olomouc 2022

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářkou práci vypracovala samostatně pod vedením Mgr. Michaly Tůmové a jen s použitím citovaných literárních pramenů.

V Olomouci 30. dubna 2022

.....

podpis

Veselá A. 2022. Přenos želvušek (Tardigrada) v půdě trávicí soustavou žížal [bakalářská práce]. Olomouc: Katedra ekologie a životního prostředí PřF UP v Olomouci. 40 s. 4 přílohy. Česky.

Abstrakt

Půdní mikrofauna, včetně želvušek, je schopna pouze velmi omezeného aktivního pohybu, který je zcela závislý na přítomnosti vody. Pokud půda vyschne, může se často ocitnout uzavřená v jediné kapce vody či v půdním póru. Dosavadní výzkum šíření želvušek se zaměřoval především na druhy žijící v mechu a jejich šíření pomocí větru, ptáků a plžů. Ve své bakalářské práci jsem se zaměřila na možný transport želvušek půdou ve střevě žížal. V prvním experimentu jsem porovnávala početnost želvušek extrahovaných z čerstvých koprolitů žížal s jejich početností v okolní půdě. Srovnávala jsem také početnosti hlístic a vířníků. Pro ověření přítomnosti želvušek uvnitř žížal jsem v rámci druhého experimentu analyzovala obsah střev žížal získaných přímo ze střeva bez dalšího kontaktu s půdou osídlenou želvuškami. Statistická analýza ukázala, že koprolity žížal a kontrolní vzorky okolní půdy obsahovaly podobný počet želvušek, hlístic i vířníků. V obsahu střev žížal jsem však žádné želvušky nenašla. Počty želvušek pozorované v koprolitech žížal naznačují, že želvušky mohou buď přežít průchod střevem žížaly, nebo kolonizovat koprolity až po jejich vyloučení za méně než 12 hodin a do té doby dosáhnout stejné hustoty jako v okolní půdě. Analýzou střevního obsahu jsem získala pouze malý vzorek k prozkoumání a v něm jsem nenašla žádné želvušky. V budoucnu by proto bylo třeba prozkoumat větší množství materiálu získaného ze střevního obsahu žížal, aby bylo možné potvrdit šíření želvušek ve střevech žížal.

Klíčová slova: endozoochorie, koprolity, půdní mikrofauna, želvušky, žížaly

Veselá A. 2022. Transport of tardigrades (Tardigrada) in soil by the digestive system of earthworms [bachelor's thesis]. Olomouc: Department of Ecology and Environmental Sciences, Faculty of Science, Palacky University of Olomouc. 40 pp. 4 Appendices. Czech.

Abstract

Soil microfauna, including tardigrades, is limited in their active dispersal because their movement is restricted to environments filled with water. When the soil dries, they can easily become enclosed in an isolated water drop or a single pore filled with water. Up to date, research on tardigrade dispersal was mostly dedicated to moss-inhabiting species and dispersal by wind, birds, and snails. In my bachelor's thesis, I focused on the possible transport of soil-inhabiting tardigrades in the earthworm gut. In the first experiment, I compared the abundance of tardigrades extracted from freshly excreted earthworm casts with their numbers in the surrounding soil. I've also compared the numbers of nematodes and rotifers. To verify the presence of tardigrades inside the earthworms, in a second experiment, I analyzed the contents of earthworm intestines obtained directly from the gut without further contact with soil inhabited by tardigrades. Statistical analysis revealed that earthworm casts and soil samples contained similar numbers of tardigrades, nematodes and rotifers. However, I did not find any tardigrades in the contents of earthworm gut. The numbers of tardigrades observed in earthworm casts suggest that the tardigrades can either survive the passage through the earthworm gut or colonize the casts after their excretion in less than 12 hours, by which time achieve the same density as in the surrounding soil. By analyzing the intestinal contents, I obtained only a small sample to examine and any tardigrade has been found in there. Therefore, in the future, a larger quantity of directly obtained earthworm gut contents need to be examined to confirm the dispersal of tardigrades through the earthworm gut.

Keywords: earthworms, earthworm casts, endozoochory, soil microfauna, tardigrades

Obsah

Seznam tabulek	viii
Seznam obrázků	ix
Poděkování	x
1 Úvod	1
1.1 Želvušky	2
1.1.1 Kryptobióza	2
1.1.2 Stavba těla	4
1.1.3 Systém	5
1.1.4 Rozmnožování	7
1.1.5 Faktory půdního prostředí	8
1.1.6 Význam v půdě	10
1.1.7 Šíření v prostředí	11
1.2 Žížaly	13
1.2.1 Trávení	13
1.2.2 Ekologické skupiny	15
1.2.3 Faktory prostředí	16
1.2.4 Význam v půdě	16
1.2.5 Transport mikroorganismů	18
2 Cíle práce	19
3 Materiál a metody	20
3.1 Porovnání počtu želvušek v koproliích a okolní půdě	20
3.2 Střevní obsah žížal	21
3.3 Extrakce želvušek ze vzorků	21
3.4 Určování želvušek a žížal	23
3.5 Statistická analýza	23
4 Výsledky	24
4.1 Koproliity a kontrolní vzorky půdy	24
4.2 Střevní obsah žížal	26
5 Diskuse	28
6 Závěr	31
7 Literatura	32
8 Přílohy	38
Příloha A	38

Příloha B	39
Příloha C	39
Příloha D	40

Seznam tabulek

Tab. 1 Počty jedinců želvušek, hlístic a vírníků nalezených v navážkách čerstvých koprolitů a kontrolních vzorků okolní půdy.....	24
Tab. 2 Druhy želvušek nalezených v koprolitech a kontrolních vzorcích půdy a jejich počty (pozn. neidentif = neidentifikováno).....	25
Tab. 3 Druhy a počty žížal nalezené v blízkosti experimentálních ploch.....	26
Tab. 4 Počty jedinců želvušek, hlístic a vírníků nalezených ve střevním obsahu žížal..	27

Seznam obrázků

Obr. 1 Aktivní stadium želvušky v porovnání s anhydrobiotickým stavem - tzv. tun state (Møbjerg a Cardoso Neves 2021)	3
Obr. 2 Tělo želvušky (foto: Michala Tůmová)	5
Obr. 3 Systém kmene Tardigrada (Jørgensen a kol. 2018)	5
Obr. 4 Způsoby kladení vajíček – želvušky kladou vajíčka buď do svlečky (a) nebo volně do substrátu (b) (Sugiura a Matsumoto 2021).....	8
Obr. 5 Trávicí soustava žížaly (upraveno podle Drake a Horn 2007)	14
Obr. 6 Koprolit žížaly (foto: Michala Tůmová).....	15
Obr. 7 Ekologické skupiny žížal (upraveno podle Schelfhout a kol. 2017)	15
Obr. 8 Ukázka vytyčené plochy pro sběr koprolitů (foto: Michala Tůmová).....	20
Obr. 9 Ukázka obsahu vymačkaného z žížaly (foto: Anna Veselá).....	21
Obr. 10 Baermannovy nálevky – schéma a foto (autor: Anna Veselá).....	22
Obr. 11 Srovnání počtu želvušek, hlístic a vírníků v koprolitech a kontrolních vzorcích půdy. Prostřední tučná čára představuje medián. Horní hranice boxu představuje 75% kvartil, spodní hranice 25% kvartil. Horní a spodní vousy reprezentují maximální a minimální pozorované hodnoty.	25
Obr. 12 Ukázka organismů z vymačkaného obsahu střev žížal – hlístice, prvoci (foto: Michala Tůmová).....	27

Poděkování

Chtěla bych poděkovat především vedoucí mé bakalářské práce, Mgr. Michale Tůmové za seznámení se želvuškami a pomoc s experimenty i statistikou. Také děkuji za všechny cenné informace, připomínky a podněty. Dále děkuji doc. RNDr. Václavu Pižlovi, CSc za určení žížal a své rodině a přátelům za podporu.

1 Úvod

Půdní mikrofauna zahrnuje organismy s velmi malými tělesnými rozměry (šířka menší než 0,02 mm). Obývají půdní mikroprostory vyplněné vodou, případně žijí ve vodním filmu na povrchu půdních částic. Jsou to tedy organismy závislé na vysoké půdní vlhkosti (hydrobionti). K nejvýznamnějším skupinám půdní mikrofauny patří hlístice, vířníci a želvušky (Šimek a kol. 2021).

Jejich aktivní pohyb a schopnost šířit se vlastními silami zcela závisí na přítomnosti vody, a jsou tudíž omezení na prostředí souvisle propojená vodou. Při šíření na delší vzdálenosti jsou odkázáni především na pasivní způsob transportu (Fontaneto 2019). Jako hlavní způsob šíření mikrofauny na delší vzdálenosti se často uvádí vítr (Carroll a Viglierchio 1980; Baujard a Martiny 1994; Nkem a kol. 2006), ten ale může organismy přenášet pouze na povrchu půdy a pravděpodobně pouze ve stavu kryptobiózy, kdy jsou želvušky vyschlé, lehké a vysoce odolné vnějším podmínkám (Nelson a kol. 2015).

Pro pasivní šíření mikrofauny v prostředí může mít velký význam také zoochorie, neboli transport jednoho organismu pomocí jiného. Mikrofauna přitom může být transportována buď na povrchu jiného organismu – epizoochorií nebo skrze trávicí ústrojí – endozoochorií (Shapiro a kol. 1993; Brown 1995).

O způsobu šíření želvušek v prostředí zoochorií existuje obecně jen málo informací. Někteří autoři uvádí, že želvušky mají potenciál šíření v prostředí díky endozoochorií pomocí plžů (Fox a García-Moll 1962; Książkiewicz a Roszkowska 2022; Vuori a kol. 2022) či ptáků (Robertson a kol. 2020) nebo díky epizoochorií pomocí ptáků (Mogle a kol. 2018). Šířením želvušek v půdě pomocí žížal se však ještě nikdo nezabýval. Žížaly přitom mají potenciál želvušky a ostatní půdní mikrofaunu přenášet na delší vzdálenosti, nejen na povrchu půdy.

1.1 Želvušky

Želvušky (Tardigrada) jsou samostatným kmenem živočichů, který v současnosti zahrnuje 1380 druhů (Degma a kol. 2021). Vyskytují se celosvětově v mořích, sladkých vodách i suchozemských ekosystémech, kde se alespoň část roku drží voda, především v mechu či půdních pórech (Nelson a kol. 2015). Díky schopnosti vstupovat v nepříznivých podmínkách do kryptobiózy se vyskytují i na velmi extrémních stanovištích jako jsou pouště, tropické lesy či polární oblasti (Šimek a kol. 2019).

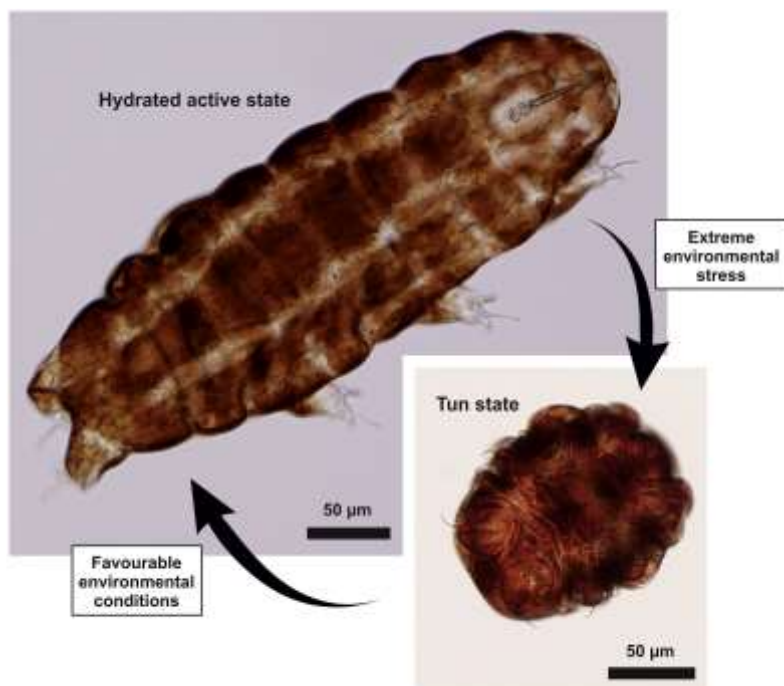
1.1.1 Kryptobióza

Kryptobióza je forma metabolického útlumu, která není mezi živočichy ojedinělá. Želvušky, hlístice a vířníci jsou schopni vstupovat do kryptobiózy ve všech stádiích života – jak ve formě vajíček, tak v juvenilních stádiích, i v dospělosti (Møbjerg a Cardoso Neves 2021). Z dalších mnohobuněčných živočichů jsou kryptobiózy schopné larvy komárů *Polypedilum vanderplanki*, žijící ve vysychajících skalních tůňkách v Africe (Hinton 1951) a několik druhů chvostoskoků (Greenslade 1981).

Mořské primitivní želvušky z řádu Arthrotardigrada tuto schopnost pozastavení metabolismu většinou postrádají, stejně jako některé sladkovodní druhy, jelikož větší vodní tělesa jsou stabilní a obvykle nevysychají (Nelson a kol. 2015). V průběhu času ale želvušky přešly také do periodicky vysychajícího sladkovodního a suchozemského prostředí, vyvinula se u nich proto tato schopnost jako reakce na výkyvy méně stabilních prostředí (Kinchin 1994). Vývoj kryptobiózy tak byl předpokladem úspěšné kolonizace suchozemských habitatů želvuškami, ale i hlísticemi a vířníky. Tato schopnost může prodloužit životnost želvušek z několika měsíců až na několik let (Jönsson a Bertolani 2001). Je znám případ želvušek, které ve stavu kryptobiózy přežily přes 30 let ve zmrzlých vzorcích mechu z Antarktidy a po obnovení svého metabolismu byly opět schopny úspěšně se rozmnožovat (Tsujimoto a kol. 2016).

Podle faktoru, který kryptobiózu vyvolává, rozlišujeme čtyři základní formy kryptobiózy – anhydrobiózu, kryobiózu, osmobiózu a anoxybiózu. Anhydrobióza je typ kryptobiózy vyvolaný ztrátou vody. Jak se voda z okolí odpařuje, želvuška se smrští, zatáhne hlavu a končetiny a vytvoří charakteristický nepohyblivý soudeček (tzv. tun state; Obr. 1). Organismus během tohoto procesu ztratí přes 95% volné i vázané vody a silně zpomalí svůj metabolismus (Nelson a kol. 2015). Důležité je však pomalé tempo

vysychání. Pokud je želvuška vysušena příliš rychle, tak zkolabuje a po rehydrataci se již nebude schopna vrátit do aktivního stavu (Kinchin 1994). V tomto anhydrobiotickém stadiu jsou želvušky schopny snášet extrémní hodnoty faktorů prostředí – teploty v rozmezí od $-273\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $+151\text{ }^{\circ}\text{C}$, tlak až 600 MPa, vakuum, UV záření, rentgenové záření i záření gamma (Rebecchi a kol. 2011). Téměř všechny mořské a sladkovodní druhy nejsou schopny vstupovat do anhydrobiózy a přežít tak dehydrataci (Nelson a kol. 2015).



Obr. 1 Aktivní stadium želvušky v porovnání s anhydrobiotickým stavem - tzv. tun state (Møbjerg a Cardoso Neves 2021)

Kryobióza je vyvolaná nízkými teplotami a umožňuje želvuškám přežít zmrznutí v $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ i v plně hydratovaném stavu (Ramløv a Westh 1992). Díky tomuto stavu se želvušky mohou vyskytovat v extrémně chladných polárních oblastech. Želvušky jsou považovány za mrazuvzdorné, což znamená, že se dokážou vyrovnat s tvorbou extracelulárního i intracelulárního ledu (Kinchin 1994). Suchozemské druhy želvušek, které mají vysokou schopnost vstupovat do kryobiózy, mají většinou také vysokou schopnost vstupovat do anhydrobiózy. Sladkovodní druhy mají tuto schopnost nízkou nebo ji zcela postrádají (Nelson a kol. 2015).

Osmobióza vzniká v důsledku vysokého osmotického tlaku. Velké rozsahy salinity tolerují především druhy, žijící v přílivové zóně a euryhalinní druhy želvušek (Halberg a kol. 2009). Při umístění do roztoků solí vytváří většina sladkovodních

a suchozemských želvušek soudeček, stejně jako v případě anhydrobiózy. Čas potřebný k vytvoření této formy je přímo závislý na koncentraci iontů (Nelson a kol. 2015).

Anoxybióza je kryptobiotický stav vyvolaný nízkou hladinou nebo dočasnou nepřítomností kyslíku v okolním prostředí. Želvuškám v tomto stavu selžou osmoregulační mechanismy a tělo želvušky tak přijme vodu z okolního prostředí, v důsledku tohoto stavu se želvuška stává nepohyblivou, průhlednou, tuhou a protáhlou a dokáže v anoxybióze přežít i několik dní (Kinchin 1994). Pokud se neobnoví přísun kyslíku, nastane smrt, pokud se ale kyslík v prostředí znovu objeví, želvuška se opět dokáže vrátit do aktivního stavu během několika minut až hodin. Do anoxybiózy vstupují jak suchozemské, tak sladkovodní i mořské druhy želvušek (Nelson a kol. 2015).

1.1.2 Stavba těla

Tělo želvušek je oboustranně symetrické, se čtyřmi páry končetin, které jsou zakončeny drápky a s kutikulou na povrchu (Obr. 2). Je rozděleno na hlavu a trup, který nese končetiny. Čtvrtý pár končetin na zadní části trupu směřuje dozadu. Délka těla dosahuje průměrně 0,2–0,5 mm, některé druhy mohou dorůstat až do délky 1 mm. Společně s podobně velkými vířníky a hlísticemi se proto řadí k půdní mikrofauně (Šimek a kol. 2019). Želvušky mohou nabývat různých odstínů hnědé, žluté, oranžové, červené či dokonce fialové. Pigmenty je většinou chrání před slunečním zářením (Jönsson a kol. 2018). Půdní želvušky jsou však většinou bělavé či bezbarvé. Tělo je průhledné a díky tomu lze často pozorovat obsah žaludku a podle barevnosti usuzovat to, čím se želvušky živí. Ústní otvor je umístěn terminálně nebo ventrálně a navazuje na bukální trubici. Ta je lemována dvojicí ostrých styletů, které slouží k propíchnutí potravy a jejímu následnému nasátí pomocí hltanu. U některých druhů se v hltanu nachází ještě kutikulární plakoidy. Po zakulaceném hltanu následuje krátký jícen, střední střevo a zadní střevo. V těle se také nachází množství válcovitých zásobních buněk. Zadní střevo je zakončeno buď kloakou nebo řitním otvorem (Nelson a kol. 2015).

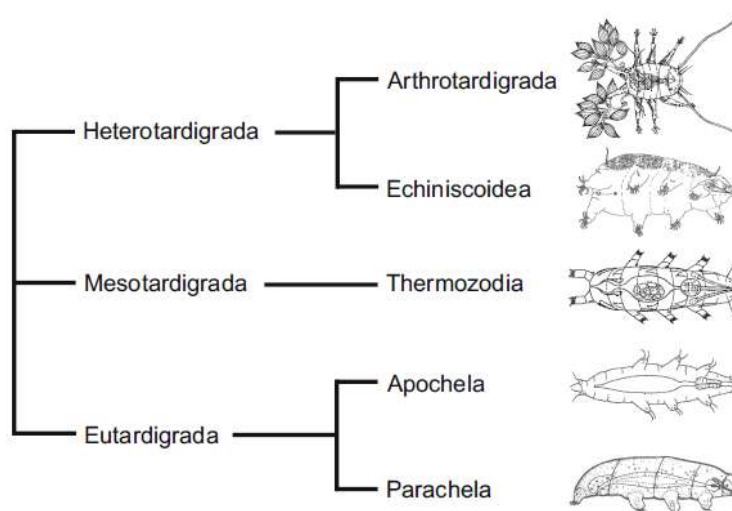


Obr. 2 Tělo želvušky (foto: Michala Tůmová)

Vylučování probíhá pomocí malpighických trubic nebo skrze kutikulu. Malpighické trubice také mohou plnit funkci osmoregulační. Většinou jsou přítomny dvě laterální a jedna dorzální trubice, které ústí do střeva (Gross a kol. 2015). Dýchání probíhá celým povrchem těla přes kutikulu. Nervová soustava želvušek je tvořena dorzálním laločnatým mozkiem a ventrálním nervovým řetězcem se čtyřmi dvoulaločnými ganglii. U některých druhů jsou přítomny oční skvrny – fotoreceptory (Nelson a kol. 2015).

1.1.3 Systém

Kmen Tardigrada dělíme do tří tříd – Heterotardigrada, Eutardigrada a Mesotardigrada (Degma a kol. 2021; Obr. 3). Mezi nejdůležitější poznávací znaky jednotlivých rodů patří drápky, stavba potravního ústrojí, kutikula či vajíčka (Nelson a kol. 2015).



Obr. 3 Systém kmene Tardigrada (Jørgensen a kol. 2018)

Pro třídu Heterotardigrada je typické zakončení zadního střeva řitním otvorem a vylučování celým povrchem těla skrze kutikulu. Tuto třídu dále dělíme do dvou významných řádů – Arthrotardigrada a Echiniscoidea. Řád Arthrotardigrada zahrnuje mořské druhy, které mají často rozvětvené, prstovité končetiny. Také mají dobře vyvinuté cefalické senzorické přívěsky, které se skládají z oblé základny (cirrofor), límce (scapus) a vlasovitého bičíku (flagellum). Jejich drápky vychází přímo z končetiny (Kinchin 1994).

Řád Echiniscoidea pak zahrnuje i mořské želvušky, ale především sladkovodní a suchozemské, které můžeme najít například ve vlhkém mechu. Většina těchto druhů má zesílenou hřbetní kutikulu rozdělenou na jednotlivé pláty, které se u jednotlivých druhů liší počtem, tvarem a vzorem. Tato zesílená kutikula s pláty však chybí u suchozemských Oreellidae a sladkovodních Carphaniidae, stejně jako téměř u všech mořských druhů celé třídy Heterotardigrada (Nelson a kol. 2015). Předpokládá se také, že barva kutikuly některých druhů souvisí s přijímanou potravou – např. oranžové zbarvení může být způsobeno karotenoidy z požíraných lišejníků (Kinchin 1994). Druhy z řádu Echiniscoidea mají na každé noze čtyři samostatné, nevětvené drápky, které jsou ukotveny pomocí papily (Nelson a kol. 2015).

Pro zástupce třídy Eutardigrada je charakteristické tělo o délce do 1 mm pokryté hladkou kutikulou bez přívěsků a bez plátů (Kinchin 1994). Zadní střevo je zakončeno kloakou. Hlavními orgány vylučovací soustavy jsou malpighické trubice. Některé druhy se také vyznačují vnějšími cefalickými či ústními papilami. Na každé nožce mají dva rozvětvené drápky (dvojdřápky), každý drápek je rozdělen na delší primární a kratší sekundární větev. Drápky jsou ke končetině ukotveny pomocí papily a končetiny nemají prstovité zakončení (Nelson a kol. 2015). Tato třída zahrnuje především půdní a sladkovodní druhy a dělí se na dva významné řády – APOCHELA a PARACHELA. Řád APOCHELA se vyznačuje vnějšími cefalickými smyslovými přívěsky, zejména ústními papilami. Dvě větve drápků jsou od sebe odděleny – primární bývá dlouhá a tenká, zatímco sekundární je kratší a nese dva až tři háčky. Druhy řádu PARACHELA vnější přívěsky postrádají, ale na hlavě mají senzorické oblasti. Větve drápků bývají spojeny a vychází ze společného bodu (Kinchin 1994).

Poslední třída želvušek Mesotardigrada byla vytvořena na základě popisu druhu *Thermozodium esakii* Gilbertem Rahmem v roce 1937. Tento druh byl nalezen pouze

v jednom termálním prameni nedaleko Nagasaki v Japonsku a nesl znaky obou výše uvedených tříd (Jørgensen a kol. 2018). Díky zemětřesení tato jediná lokalita nálezu zanikla a nejsou známy žádné pozdější nálezy (Nelson a kol. 2015). Tato skupina je proto obecně považována za *nomen dubium* (Degma a kol. 2021).

1.1.4 Rozmnožování

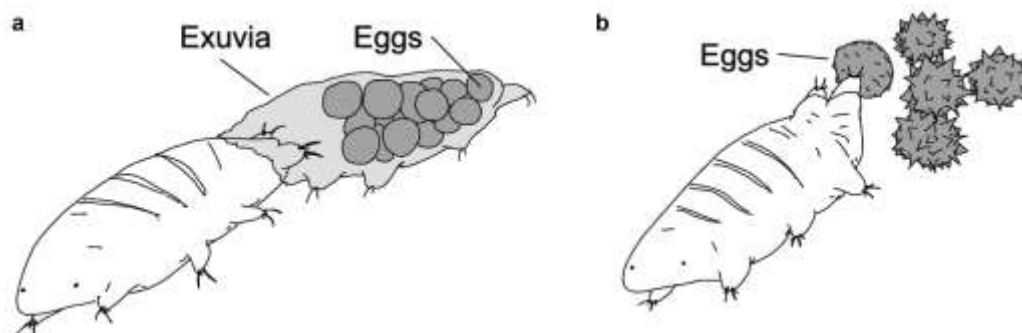
Většina druhů želvušek je odděleného pohlaví. Zatímco mořské druhy jsou vždy gonochoristé, u sladkovodních a suchozemských druhů jsou gonochoristé vzácnější. Vzácně se vyskytují i hermafrodité (Gross a kol. 2015). U půdních želvušek je nejčastější způsob rozmnožování partenogeneze, tj. vývoj z neoplozených vajíček. Tento způsob rozmnožování se jeví jako dobrá strategie při kolonizaci nových území díky pasivnímu šíření želvušek (Nelson a kol. 2015). Půda navíc představuje složitě strukturované prostředí, ve kterém může být obtížné najít sexuálního partnera. Partenogeneze je proto obecně u půdních živočichů velmi rozšířená (Šimek a kol. 2019).

Reprodukční systém želvušek tvoří jedna velká hřbetní gonáda. U samic je gonáda tvořena vaječníkem, pokračuje vejcovodem a ústí do gonopóru (Heterotardigrada) nebo kloaky (Eutardigrada), umístěných před řitním otvorem. U samců je gonáda tvořena spermatickým váčkem, který pokračuje jedním nebo dvěma spermatickými kanálky, které také ústí do kloaky (u Eutardigrada) nebo do gonoporu (u Heterotardigrada) (Altiero a kol. 2018). Samci se od samic příliš neliší, ale jsou obvykle menší a jejich gonopor má podobu trubice, zatímco u samic je tvořený šesti kutikulárními lístky ve tvaru růžice (Nelson a kol. 2015).

Oplození u želvušek z třídy Arthrotardigrada je vnější. Samičky mají po stranách gonoporu kutikulární kapsy, ve kterých často uchovávají samčí spermie před oplozením vajíček. U třídy Eutardigrada může být oplození vnější prostřednictvím ejakulace do exuvií (svlečky) nebo vnitřní kopulace (Altiero a kol. 2018).

Želvušky kladou vajíčka buď volně do substrátu nebo do exuvií během svlékání (Obr. 4). Povrch vajíček kladených do exuvií bývá hladký, zatímco povrch volných vajíček bývá zdobený s nejrůznějšími vzory. Tyto vzory pak bývají důležitým znakem při určování druhů třídy Eutardigrada a mohou mít několik funkcí – především ukotvení k substrátu, ochrana před predací, prevence vysychání nebo mohou sloužit jako zvětšený povrch pro výměnu plynů (Kinchin 1994). U hladkých, nevorovaných vajíček tyto funkce plní svlečka (exuvium), ve které jsou uloženy. U některých sladkovodních druhů

třídy Eutardigrada byla pozorována i jakási rodičovská péče, kdy samice zcela neopouští své exuvium naplněné vajíčky, ale zůstane k němu přichycena, dokud se mláďata nevylíhnou (Nelson a kol. 2015). Vajíček může být až 40 v závislosti na druhu a výživě želvušky. Doba, potřebná k vývoji oplozeného vajíčka, může být až 90 dní, liší se u různých druhů a je navíc také ovlivňována teplotou (Glime 2017).



Obr. 4 Způsoby kladení vajíček – želvušky kladou vajíčka buď do svlečky (a) nebo volně do substrátu (b) (Sugiura a Matsumoto 2021)

Pro třídu Eutardigrada je typický přímý vývoj, kdy nově narozená mláďata mají, stejně jako dospělci, dva dvojdrápky na každé nožce a kloaku. U třídy Heterotardigrada pak dochází k vývoji nepřímému – mláďata se od dospělců liší především počtem drápků a absencí řitního otvoru a gonoporu (Altiero a kol. 2018).

Několikrát během života dochází u želvušek také ke svlékání, které obvykle trvá 5-10 dní. Při tomto procesu se želvuška zbavuje staré kutikuly, drápků a výstelky střeva, což vede ke vzniku tzv. simplex stadia (Glime 2017). Během tohoto období želvuška nemůže přijímat potravu a je také náchylnější vůči predátorům a vysychání (Šimek a kol. 2019).

1.1.5 Faktory půdního prostředí

K aktivnímu životu želvušky vždy potřebují alespoň tenký vodní film. Nejvíce druhů bylo popsáno ze suchozemských biotopů – pokud ale v tomto prostředí nejsou obklopeni vodní vrstvou, jsou neaktivní. Vysoké početnosti proto dosahují ve vlhkých biotopech, jako jsou mechy, lišejníky, listový opad nebo právě půda. (Nelson a kol. 2015).

Želvušky obecně vykazují různé adaptace na prostředí, ve kterém žijí. Půdní druhy se vyznačují protáhlým tvarem těla, kratšími končetinami a malými či redukovanými drápkami (Nelson a kol. 2018). Tato adaptace jim pravděpodobně usnadňuje pohyb ve stísněných půdních prostorech.

Většina želvušek obývá svrchní vrstvu půdy, přibližně do 10 cm, jejich početnost pak s hloubkou půdního profilu klesá (Šimek a kol. 2019). V rámci mechů a půdy byla zaznamenána výrazná ostrovní, shlukovitá distribuce (Nelson a kol. 2015). Vhodné prostředí také musí splňovat několik kritérií – dostatečné provzdušnění (želvušky jsou citlivé na nízký obsah kyslíku), dále střídání suchých a vlhkých období a zejména dostatek vhodné potravy (Nelson a kol. 2015). Je méně pravděpodobné, že budou obývat nepropustné jílovité půdy nebo husté mechy.

Často však nelze určit faktory prostředí, které by výrazně ovlivňovaly populace želvušek v půdách. Harada a Ito (2006) zkoumali vliv různých faktorů na želvušky, včetně pH, vlhkosti či hutnosti půdy a zjistili, že želvušky nejvíce ovlivňuje frekvence hlístic. Hohberg (2006) také nezjistil žádný vztah mezi želvuškami a typem vegetace, pH či vlhkostí půdy. Sánchez-Moreno a kol. (2008) nicméně pozorovali zvýšení početnosti želvušek se zvýšením pH.

Faktorem, který významně ovlivňuje vývoj vajíček a růst jedinců je teplota. Při teplotách 16–20 °C je úspěšnost líhnutí 100 % a při teplotě 20 °C je i míra přežití dospělců 100 % (Hohberg 2006). Teplota také ovlivňuje početnost některých druhů želvušek na stanovištích v průběhu roku (Schuster a Greven 2007) nebo rychlost krmení želvušek (Hohberg a Traunspurger 2005).

V souvislosti s vlhkostí existují druhy želvušek, které jsou hygofilní (vlhkomilné) nebo euryhygrické (snáší kolísání vlhkosti). Vlhké a studené období roku tak může podporovat vývoj spíše hygofilních druhů, zatímco sušší, slunečná období prospívají spíše euryhydrickým druhům (Schuster a Greven 2007). Vlivem vlhkosti na želvušky se zabýval i Jönsson (2007), který zjistil, že zvyšování vlhkosti má na želvušky spíše negativní vliv. Na zvýšení vlhkosti nebyla zaznamenána žádná pozitivní reakce. Některé populace nereagovaly, zatímco další populace při zvýšené vlhkosti klesaly. Tyto výsledky pak naznačují, že populace nebyly omezeny vlhkostí, ale spíše nějaký jiný faktor působil proti očekávané pozitivní reakci.

Dalším faktorem, který může ovlivňovat výskyt želvušek, jsou živiny. Při experimentu, který prováděli Hyvönen a Persson (1996) došlo k nárůstu populace želvušek pouze v nehnojeném substrátu. Při zvyšování dusíku v půdě hnojením také nebyl pozorován žádný nárůst početnosti želvušek (Sánchez-Moreno a kol. 2008).

Také vegetační pokryv může ovlivňovat výskyt želvušek v půdě. Hohberg (2006) nepozorovala žádný vliv typu vegetace na želvušky. Typ opadu však výrazně ovlivňoval trofické skupiny želvušek. Masožravé druhy upřednostňovaly spíše listový opad, zatímco mikrobivorní druhy smíšený opad listů a jehličí. Celkově vyšší diverzitu pak želvušky vykazují, pokud jsou v opadu přítomny listy (Guil a Sánchez-Moreno 2013). Také Harada a Ito (2006) pozorovali odlišnosti v druhovém složení želvušek v jehličnatých a listnatých lesích.

Želvušky může také významně ovlivňovat struktura půdy. Hohberg a Traunspurger (2005) zjistili, že míra predace želvušek je ovlivněna velikostí zrn písku, na kterém prováděli experimenty. Ve všech čtyřech mikrosystémech (bez písku, s hrubým pískem, se středně hrubým pískem a s jemným pískem) byly želvušky schopny úspěšně ulovit hlístice. Míra predace však byla nejvyšší na čistém agaru, mezi zrnky písku se totiž hlístice mohly lépe ukrýt nebo se bránit. Harada a Ito (2006) pozorovali souvislost mezi počty želvušek a pórovitostí půdy z dat nasbíraných přímo v terénu, což potvrzuje, že struktura prostředí má vliv i na želvušky v jejich přirozeném prostředí, nejen v laboratoři.

1.1.6 Význam v půdě

Želvušky se živí řasami, mechorosty, houbami, prvoky, ale i hlísticemi, vířníky, nebo dokonce i menšími želvuškami (Gross a kol. 2015). Zastávají tedy v půdě více rolí – mohou být primárními konzumenty, predátory i kořistí. Záleží především na velikosti daného druhu a jeho potravních preferencích. Díky nedostatku informací a jejich mikroskopické velikosti se však většinou považuje význam těchto organismů v půdě za zanedbatelný, ovšem může se zvyšovat tam, kde přirozeně chybí makrofauna nebo mezofauna – v extrémních podmínkách polárních, pouštních a vysokohorských stanovišť (Šimek a kol. 2019).

Funkci želvušek v potravní síti a jejich potravní preference lze odhadnout podle stavby trávicího ústrojí. Jsou vymezeny tři základní potravní skupiny želvušek – masožravé, býložravé a mikrobivorní (živící se mikroorganismy). Masožravé a všežravé druhy (např. *Macrobiotus* a *Milnesium*) mají krátkou, širokou bukální trubici se silnými stylety a širším hltanem, zatímco býložravé druhy (např. *Echiniscus* a *Hypsibius*) mají úzkou bukální trubici, tenké, slabé stylety a menší hltan. Mikrobivorní želvušky, které se živí bakteriemi, houbami či detritem, mají delší, úzkou a částečně ohebnou bukální trubici a malé, slabé stylety (Nelson a kol. 2018).

V některých případech mohou želvušky významně ovlivňovat populace hlístic. Byly objeveny dva druhy želvušek (*Paramacrobrotus richtersi* a *Mesobrotus harmsworthi*), které v experimentálních podmínkách efektivně potlačovaly hlístice, a to i navzdory jejich nižší početnosti v porovnání s hlísticemi. Jeden jedinec druhu *P. richtersi* zkonzumoval 61 hlístic za den, což naznačuje, že želvušky mohou v některých případech opravdu významně regulovat populace hlístic (Sánchez-Moreno a kol. 2008).

Mezi predátory želvušek patří hlístice, chvostoskoci, roztoči, larvy hmyzu nebo i větší druhy želvušek či plži. Interakce mezi těmito organismy jsou ale složité a zatím málo prozkoumané. Hlístice například mohou být kořistí masožravých želvušek, zatímco větší druhy hlístic mohou požírat menší želvušky a zároveň si tyto dvě skupiny mohou konkurovat, využívají-li stejné potravní zdroje. Podobně houby mohou být zdrojem potravy želvušek, ale i jejich parazity (Šimek a kol. 2019).

U druhu želvušky *Milnesium tardigradum* byla popsána endoparazitická houba *Sorochytrium milnesiophthora* z oddělení Chytridiomycota, která napadá želvušku přes kutikulu a roste v její tělní dutině, dokud svého hostitele nezahubí a nepohlí téměř veškerý obsah buněk. Poté produkuje zoospory, které infikují nové hostitele. Mezi další houbové parazity želvušek patří některé druhy rodů *Ballocephala*, *Macrobrotophthora*, *Harposporium* či *Haptoglossa* (Nelson a kol. 2018). Parazity želvušek mohou být i někteří prvoci (Nelson a kol. 2015), zatímco některé bakterie jsou považovány za součást přirozené střevní mikroflóry želvušek (Nelson a kol. 2018).

1.1.7 Šíření v prostředí

Rozptyl (disperze) suchozemských želvušek je spjat s jejich mikroskopickou velikostí a schopností upadnout do kryptobiózy. Jejich vajíčka, dospělci, aktivní, i neaktivní formy ve stadiu kryptobiózy, mohou být snadno pasivně přenášeny za pomoci větru, vody, živočichů či rostlin. Ze živočichů mohou k šíření želvušek napomáhat například plži, ptáci, roztoči, stonožky, mnohonožky a hmyz. Aktivní šíření želvušek je omezené díky jejich malé velikosti a nutnosti neustálé přítomnosti vodního filmu okolo jejich těla, nedokážou se tudíž v půdním prostředí samy šířit na delší vzdálenosti (Nelson a kol. 2018). V experimentech, které prováděli Nirody a kol. (2021) se želvušky pohybovaly rychlostí maximálně 15.81 mm/min, přičemž průměrná rychlost se pohybovala okolo 10 mm/min. Li a Wang (2005) zaznamenali pohyb želvušky rychlostí 1.98 až

4.8 mm/min. Rychlost aktivního pohybu závisí na druhu želvušky, struktuře prostředí nebo teplotě (Hohberg a Traunspurger 2005). Kryptobióza však želvuškám umožňuje transport přes jakékoli klimatické podmínky (Nelson a kol. 2018).

Otázka transportu na větší vzdálenosti hraje důležitou roli při kolonizaci nových území. Mikroskopické hydrobiontní organismy jako jsou vířníci, hlístice a želvušky splňují základní předpoklady pro pasivní přenos na delší vzdálenosti – mají schopnost dormance (kryptobiotického stadia), jejich dormantní stadia jsou dlouhodobě odolná a jsou mají schopnost rychlé kolonizace a reprodukce (Fontaneto 2019).

Šíření větrem spolu s pohybem sedimentů při povrchu půdy bylo doloženo u půdní mikrofauny v antarktických suchých údolích (Nkem a kol. 2006) i v pouštích Senegalu (Baujard a Martiny 1994). Existují ovšem i doklady o přenosu větrem ve vyšších atmosférických vrstvách, do vzdálenosti až 40 km od jejich původního výskytu (Carroll a Viglierchio 1980). Přenos větrem do vzdálenosti 5 km by měl být poměrně běžný (Carroll a Viglierchio 1980). Přestože se některé jmenované studie zabývaly převážně přenosem hlístic, dá se předpokládat, že možnosti přenosu želvušek větrem jsou vzhledem k podobným životním strategiím všech skupin mikrofauny srovnatelné (Fontaneto 2019).

Vítr však může přenášet želvušky do vzdáleností, kde už pro ně nemusí být příznivé prostředí (Książkiewicz a Roszkowska 2022). Vhodnými přenašeči želvušek na menší vzdálenosti než vítr, mohou být organismy (Kaczmarek a kol. 2018; Mogle a kol. 2018; Robertson a kol. 2020; Książkiewicz a Roszkowska 2022; Vuori a kol. 2022).

Bylo prokázáno, že želvušky mohou přežít průchod trávicím ústrojím plžů a být přenášeny endozoochoricky, alespoň tedy v laboratorních podmínkách (Vuori a kol. 2022). Z trusu suchozemského plže *Bulimulus exilis* pak byl dokonce popsán nový druh želvušky *Echiniscus molluscorum* (Fox a García-Moll 1962). Endozoochorii želvušek pomocí ptáků pak zkoumali Robertson a kol. (2020), kteří objevili želvušky ve výkalech ptáka z řádu dlouhokřídlých *Attagis malouinus*. Po náhodném požití tedy želvušky mohly projít trávicí soustavou tohoto ptáka nebo se po defekaci zahrabaly do výkalů, aby se tam živily mikroorganismy a nestrávenými rostlinnými zbytky (Robertson a kol. 2020).

Epizoochorický přenos želvušek pomocí plžů by také měl být možný, což dokazují Książkiewicz a Roszkowska (2022). Jejich laboratorní výsledky ukázaly, že želvušky mohou ulpět na těle plže a být přeneseny, alespoň pokud je substrát (dno misky)

hladký. Zjistily ovšem také negativní účinek slizu vylučovaného plžem na želvušky v anhydrobióze. Byla dokázána také endozoochorie želvušek pomocí ptáků, přichycením na jejich peří (Kaczmarek a kol. 2018; Mogle a kol. 2018). Autoři obou studií objevili želvušky v hnízdech ptáků. Lze tedy předpokládat, že ptáci mohli želvušky zachytit při kontaktu s mechy a lišejníky v rámci svých činností při stavbě hnízd a shánění potravy (Mogle a kol. 2018). Kaczmarek a kol. (2018) také podotkli, že ptáci mohou ovlivňovat želvušky a jiné organismy ukládáním velkého množství guana, které jim může poskytovat živiny.

Vliv člověka a jeho činnosti na šíření želvušek díky přenosu rostlin a půdy zatím nebyl zkoumán, ale rovněž může být faktorem při přenosu želvušek na velké vzdálenosti (Nelson a kol. 2018).

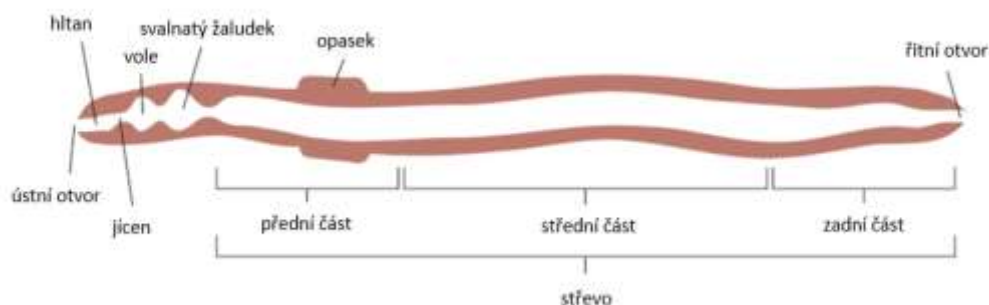
1.2 Žížaly

Jako žížaly označujeme řád Crassicitellata z kmene kroužkovců (Annelida), který zahrnuje více než 5300 známých druhů. Jsou rozšířeny po celém světě kromě Antarktidy, hojně jsou především v tropických a subtropických oblastech (Šimek a kol. 2019). Ve střední Evropě žijí výhradně zástupci čeledi žížalovitých (Lumbricidae) s více než 150 druhy, z nichž u nás žije 49 druhů (Schlaghamerský a kol. 2020).

Jejich tělo je válcovité, bilaterálně symetrické a článkované. Na každém článku se nachází osm zatažitelných štětín. Tyto štětiny usnadňují žížale pohyb vpřed a zároveň znesnadňují její protisměrné vytažení z chodbičky. V dospělosti se vyznačují opaskem ze žláznatých buněk, který je umístěn blíže hlavové části (Šimek a kol. 2019).

1.2.1 Trávení

Trávicí soustava žížal je tvořena rovnou trávicí trubicí, která spojuje ústní a řitní otvor. Nad ústním otvorem se nachází pohyblivý čelní lalok, který napomáhá uchopení potravy. Následuje hltan, jícen, žláznatý žaludek (modifikovaná přední část střeva zvaná též vole) a svalnatý žaludek, ve kterém se míchá potrava. Trávicí trakt je zakončen dlouhým střevem a řitním otvorem (Šimek a kol. 2019; Obr. 5).



Obr. 5 Trávicí soustava žížaly (upraveno podle Drake a Horn 2007)

K trávení napomáhá žížalám kromě nejrůznějších enzymů také jejich střevní mikrobiom. Střevo žížal můžeme popsat jako mutualistický trávicí systém, ve kterém exoenzymy produkované pozřenými mikroorganismy zlepšují rozklad organických látek. Během průchodu střevem žížaly tak mikroorganismy zvyšují její schopnost vstřebávat živiny z potravy. Zpočátku se pozřené organismy setkávají s anoxickým prostředím trávicího traktu žížaly s relativně vysokou vlhkostí, která směrem k řitnímu otvoru klesá. Toto prostředí je proto ideální pro anaerobní metabolismus požitých půdních mikroorganismů (Drake a Horn 2007).

Hlavním zdrojem potravy je pro žížaly odumřelá organická hmota. Konzumují také vlákna mikroskopických hub, řasy a půdní mikroorganismy (Pommeresche a kol. 2010). Díky experimentům bylo prokázáno, že žížaly mohou požírat i prvoky, hlístice či chvostokoky (Šimek a kol. 2019). Pro správnou funkci svalnatého žaludku pohlcují žížaly s potravou také částice hlíny a zrnka písku (Pommeresche a kol. 2010).

Žížaly můžeme z hlediska potravních preferencí dělit na dvě skupiny – detritivorní a geofágní. Detritivorní druhy konzumují rostlinné zbytky na povrchu a ve svrchních vrstvách půdy, zatímco geofágní druhy tráví organické zbytky z velkého objemu půdy, kterou pohlcují (Šimek a kol. 2019).

Nestrávené zbytky potravy žížaly vylučují v podobě exkrementů neboli koprolitů (Obr. 6). Ty mají podobu zpevněných hrudek s vysokým obsahem organické hmoty (Schlaghamerský a kol. 2020). Žížaly totiž potravně využívají pouze malou část půdy a organických zbytků, které procházejí jejich zažívacím traktem a zbytek vyloučí (Pommeresche a kol. 2010). Jejich exkrementy jsou tedy na živiny mnohem bohatší a taky stabilnější než okolní půda. Vyšší stabilita je pak dána především řadou procesů,

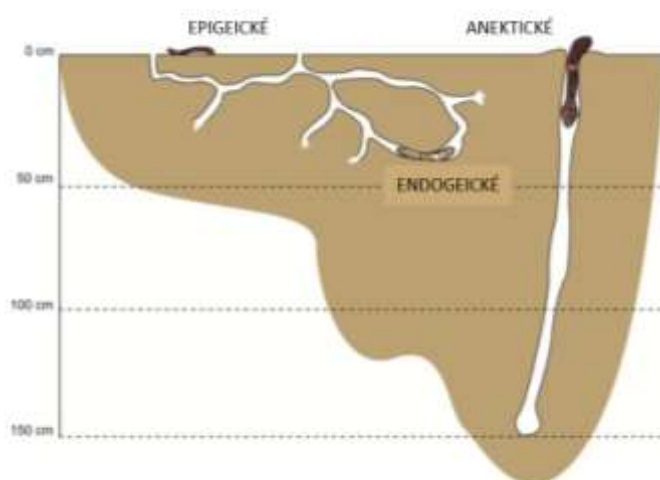
kteřé probíhají ve střevech žížal a vysokou aktivitou mikroorganismů v čerstvých koproliitech (Pižl 2018).



Obr. 6 Koprolit žížaly (foto: Michala Tůmová)

1.2.2 Ekologické skupiny

Žížaly můžeme rozdělit do tří základních funkčních skupin, lišících se především způsobem života a vlivem na půdní strukturu (Obr. 7). Epigeické druhy najdeme v povrchové, opadové vrstvě půdy. Většinou jsou malé, tmavší a nevytváří chodby. Endogeické žížaly žijí ve svrchních organominerálních vrstvách půdy, kde vytváří nestabilní, horizontální chodbičky. Jejich potravou je silně rozložená organická hmota a mikroorganismy. Jsou středně velké až větší a nejsou pigmentované. Poslední skupinou jsou žížaly anektické, které bývají velké a vytváří hluboké vertikální chodby. Potravu získávají na povrchu a před pohlcením ji zatahují do svých chodeb (Šimek a kol. 2019).



Obr. 7 Ekologické skupiny žížal (upraveno podle Schelfhout a kol. 2017)

1.2.3 Faktory prostředí

Mezi nejdůležitější nároky žížal na prostředí patří kromě kvalitních zdrojů potravy také půdní vlhkost, teplota, půdní reakce (pH) a textura půdy (Šimek a kol. 2019).

Tělo žížal je z převážné části tvořeno vodou. Přestože jsou poměrně tolerantní k vyschnutí, optimální vlhkostní podmínky se pohybují v rozmezí 40–60 % polní vodní kapacity půdy. Na pokles půdní vlhkosti reagují žížaly několika způsoby – buď přecházejí do neaktivních stádií, nebo mohou modifikovat svůj životní cyklus či migrovat na vlhčí místa. Tolerance žížal k nadměrné půdní vlhkosti je také relativně vysoká, jejich přežití je však limitováno především obsahem kyslíku a teplotou (Šimek a kol. 2019).

Pro většinu druhů žížal jsou optimální teploty v rozmezí 10–18 °C. Žížaly, které obývají hlubší vrstvy půdy, dávají přednost o něco chladnějším podmínkám, než druhy blíže povrchu (Pommeresche a kol. 2010). Spodní teplotní hranice pro přežití většiny druhů se pohybuje těsně nad bodem mrazu (Šimek a kol. 2019).

Žížaly obecně preferují neutrální půdy s pH 6–7, některé druhy jsou však pH tolerantní a vyskytují se i v půdách kyselých či alkalických (Šimek a kol. 2019).

Nejvíce žížal najdeme především v jílovitých a hlinitých půdách, bohatých na humus, zatímco v rašelinných a písčitých půdách najdeme žížal nejméně. Výskyt žížal také ovlivňuje utužování půdy či volba osevního postupu (Pommeresche a kol. 2010).

1.2.4 Význam v půdě

Žížaly hrají významnou roli v procesu pedogeneze, utváření půdní struktury a koloběhu živin. Obecně je můžeme považovat za ekosystémové (půdní) inženýry, jelikož mají potenciál měnit okolní prostředí. Část půdy, kterou žížaly přímo ovlivňují, se nazývá drilosféra (Šimek a kol. 2019).

Půdní prostředí žížaly ovlivňují především produkcí exkrementů a tvorbou chodeb. Značná část půdních mikroorganismů schopných poutat vzdušný dusík se nachází ve stěnách žížalích chodeb. Ve srovnání s okolní půdou je pro ně toto prostředí příznivější, zejména díky vyšší koncentraci cukrů a jiných látek ze slizu, kterým žížaly zpevňují svoje chodbičky. Tyto látky pak mikroorganismům slouží jako zdroj energie (Pommeresche a kol. 2010). Produkci chodbiček navíc žížaly přispívají k tvorbě půdní struktury (Schlaghamerský a kol. 2020). Chodby vytvořené žížalami svými rozměry odpovídají největším půdním pórům a mají vliv především na vodní a plynný režim půdy.

Vertikální chodby výrazně zvyšují rychlost infiltrace vody do půdy a její přívod ke kořenům rostlin (Pižl 2018).

Exkrementy pozitivně působí na vodní režim půdy a její provzdušnění a také na mikrobiální aktivitu. V exkrementech žížal můžeme nalézat více mikroorganismů než v okolní půdě, protože obsahují přístupnější živiny a mají optimální vlhkost (Pižl 2018). Do exkrementů se organismy mohou dostat vyloučením společně s nestrávenými zbytky nebo se do nich mohou uchýlit až po defekaci. Žížaly nestráví všechny organismy – některé projdou jejich trávicím traktem nepoškozené a některé jsou jeho přirozenou součástí (Pommeresche a kol. 2010). Schopnost náhodně či záměrně požitých organismů přežít a dále se rozmnožovat po průchodu střevem žížaly pak ovlivňuje řada faktorů – především enzymy, hlen či antimikrobiální látky přítomné v trávicím traktu (Brown 1995).

Žížaly také ovlivňují distribuci živin v půdě. Organickou hmotu z povrchu půdy zatahují do hlubších vrstev a promíchávají ji s minerálními částicemi. Tento proces označujeme jako bioturbaci, tedy promíchávání půdy půdními živočichy (Pižl 2018).

Významnou roli hrají žížaly také jako zdroj potravy mnoha obratlovců (obojživelníci, plazi, ptáci, savci) či bezobratlých živočichů (hmyz, plži, pijavky, stonožky). Mohou hostit také řadu parazitů (Schlaghamerský a kol. 2020).

V určitých podmínkách mohou žížaly také významně regulovat populace hlístic v okolí. Dash a kol. (1980) pozorovali výrazný úbytek hlístic v nádobách s půdou v přítomnosti tropických žížal. Zaznamenali, že čím více bylo v nádobách žížal, tím byl větší procentuální úbytek hlístic. Úbytek bakteriovorních hlístic v okolním prostředí v přítomnosti žížal zaznamenali i Monroy a kol. (2008), kteří analyzovali obsah střev žížal. V žádném analyzovaném vzorku střevního obsahu nebyli zaznamenáni živí jedinci. Boyer a kol. (2013) zase poukázali na vliv žížal na hlístice, které parazitují na rostlinách. Také v tomto případě žížaly redukovaly populace hlístic. Některé studie však naopak zmiňují pozitivní vliv žížal na šíření půdních organismů půdou v jejich trávicím traktu (Shapiro a kol. 1993; Campos-Herrera a kol. 2006).

1.2.5 Transport mikroorganismů

Žížaly mohou organismy roznášet buď na povrchu těla (epizoochorie) nebo v zažívacím traktu (endozoochorie). Míru rozptylu organismů žížalami ovlivňuje mnoho faktorů, např. množství pozřené půdy a organismů, pozřené druhy, rozsah enzymatických účinků ve střevech žížal, množství organických látek obsažených v koprolitech, životaschopnost jedinců a klidových stádií v koprolitech, a především pohyblivost žížaly (Brown 1995).

Campos-Herrera a kol. (2006) se zabývali možnostmi využití žížal jako vektorů pro rozšiřování entomopatogenních hlístic v rámci biologické ochrany rostlin. Zjistili, že hlístice neměly na žížaly žádný škodlivý účinek, průchod zažívacím traktem však výrazně snížil následnou mobilitu a virulenci hlístic.

Hlístice mohou být také v půdě lépe roznášeny vertikálně díky žížalám (Shapiro a kol. 1993). Autoři zjistili, že pokud byly hlístice umístěny na povrch půdního sloupce, prokazatelně více hlístic bylo rozptýleno do spodní části sloupce, pokud byly žížaly přítomny. Také pokud byly hlístice umístěny do spodní části sloupce, více se jich dostalo na povrch. Vliv žížal na šíření hlístic v půdě záleželo ovšem na druhu žížal a jejich chování. Jelikož šíření hlístic je ovlivněno také vlhkostí a strukturou půdy, mohou žížaly svou činností měnit rozptyl hlístic i nepřímě. V chodbách žížal se tak mohou hlístice šířit odlišným způsobem než v okolní půdě. (Shapiro a kol. 1993).

Mezi další organismy, které žížaly mohou přenášet, patří například prvoci (Monroy a kol. 2008), řasy (Schneider a McDevit 2002) či houby (Thornton 1970; Reddell a Spain 1991). Monroy a kol. (2008) ve svém experimentu poukázali na to, že počet prvoků objevených ve vzorcích střevního obsahu opět závisel jak na skupinách prvoků, tak na druzích žížal. Některé žížaly totiž mohou určité prvoky trávit (Bonkowski a Schaeffer 1997; Tao a kol. 2009). V koprolitech žížal byly objeveny také řasy, které se po vynesení do atmosféry v podobě prachu z koprolitů mohou rozptýlit do blízkých či vzdálených míst (Schneider a McDevit 2002). Thornton (1970) pak objevil v žížalích koprolitech i na povrchu žížal několik druhů vláknitých hub, mykorrhizní houby pak v žížalích koprolitech objevili také Reddell a Spain (1991).

2 Cíle práce

Cílem práce bylo zjistit, zda želvušky dokážou přežít průchod trávicí soustavou žížaly a být tímto způsobem roznášeny v půdě.

Pro splnění cíle jsem provedla dva experimenty. V prvním jsem porovnávala počty želvušek v čerstvě defekovaných koprolitech s jejich počty v okolní půdě. Ve druhém jsem stanovovala početnosti želvušek přímo ve střevním obsahu žížal, který nepřišel do kontaktu s okolní půdou.

Testovala jsem následující hypotézy:

1. Pokud želvušky prochází střevem žížal a mohou tak být šířeny půdou, budou přítomny v koprolitech i střevním obsahu žížal.
2. Pokud želvušky prochází střevem žížal bez poškození, jejich počty v koprolitech a okolní půdě se nebudou lišit.
3. A zároveň, pokud želvušky prochází střevem žížal bez poškození, budou v podobných početnostech jako v okolní půdě přítomné nejen v koprolitech, ale i ve střevním obsahu žížal získaném před jeho defekací.

3 Materiál a metody

Provedla jsem dva na sebe navazující experimenty, jejichž cílem bylo odpovědět na otázku, zda žížaly mohou ve svém trávicím traktu přenášet a šířit želvušky v půdě. První experiment porovnával počty želvušek v čerstvě defekovaných koprolitech žížal a okolní půdě. Cílem druhého experimentu bylo detekovat želvušky přímo ve střevním obsahu žížal, aniž by došlo ke kontaktu střevního obsahu s okolní půdou a bylo tak zabráněno možnému osídlení koprolitů želvuškami až po jejich defekaci.

3.1 Porovnání počtu želvušek v koprolitech a okolní půdě

V parku Stromovka v Českých Budějovicích jsem pomocí provázku, špejle a metru vytyčila 10 ploch o velikosti 1 m² (Obr. 8). Tyto plochy jsem vyčistila od starých koprolitů a další den jsem do pytlíčků pinzetou z těchto ploch sesbírala všechny čerstvé koprolity. V blízkosti ploch jsem válcovitou půdní sondou s průměrem 5 cm odebrala do sáčků kontrolní vzorky půdy, abych ověřila, zda se želvušky nacházejí i volně v půdě. Půda v parku, ve kterém experiment probíhal, byla poměrně mělká, kontrolní vzorky proto byly odebrány až k utuženému minerálnímu horizontu, 7–10 cm hluboko. Následně jsem všechny koprolity i kontrolní vzorky půdy zvažila pomocí digitální váhy a vložila je do extraktoru. V mezičase jsem vzorky uchovávala v lednici pro zachování lepší kondice organismů. Část koprolitů a půdy z kontrolních vzorků bylo odváženo pro zjištění obsahu sušiny ve vzorcích. Vzorky se nechaly vysoušet při pokojové teplotě do konstantní váhy a množství želvušek pak bylo pomocí získaného údaje o sušině přepočítáno na množství jedinců ve 100 g suchého vzorku koprolitů a kontrolní půdy.



Obr. 8 Ukázka vytyčené plochy pro sběr koprolitů (foto: Michala Tůmová)

3.2 Střevní obsah žížal

Ve stejném parku, kde probíhal první experiment, jsem pomocí rýče vyryla z půdy žížaly, které jsem v nádobě s trochou půdy přenesla do laboratoře, kde byly až do zpracování uchovávány v lednici. Před začátkem experimentu jsem je vždy očistila vodou. Nejprve jsem se pokusila nechat žížaly vyloučit střevní obsah přirozeně. Plastové nádoby jsem vyložila kuchyňskými utěrkami, navlhčenými vodou, a nechala žížaly v chladu několik dní. Takto vyloučeného materiálu jsem ale i po několika dnech získala velmi málo, a proto jsem s dalšími získanými žížalami zvolila přímou metodu vymačkávání střevního obsahu žížal. Z každé žížaly jsem prsty vymáčkla její střevní obsah tak, aby z žížaly vyšel zadní částí (Obr. 9). Pokud jsem během jednoho dne nasbírané žížaly nestihla vymáčkat, uchovávala jsem je přes noc v lednici. Získané vzorky obsahu střev jsem zvážila na digitální váze a vložila je do extraktoru.

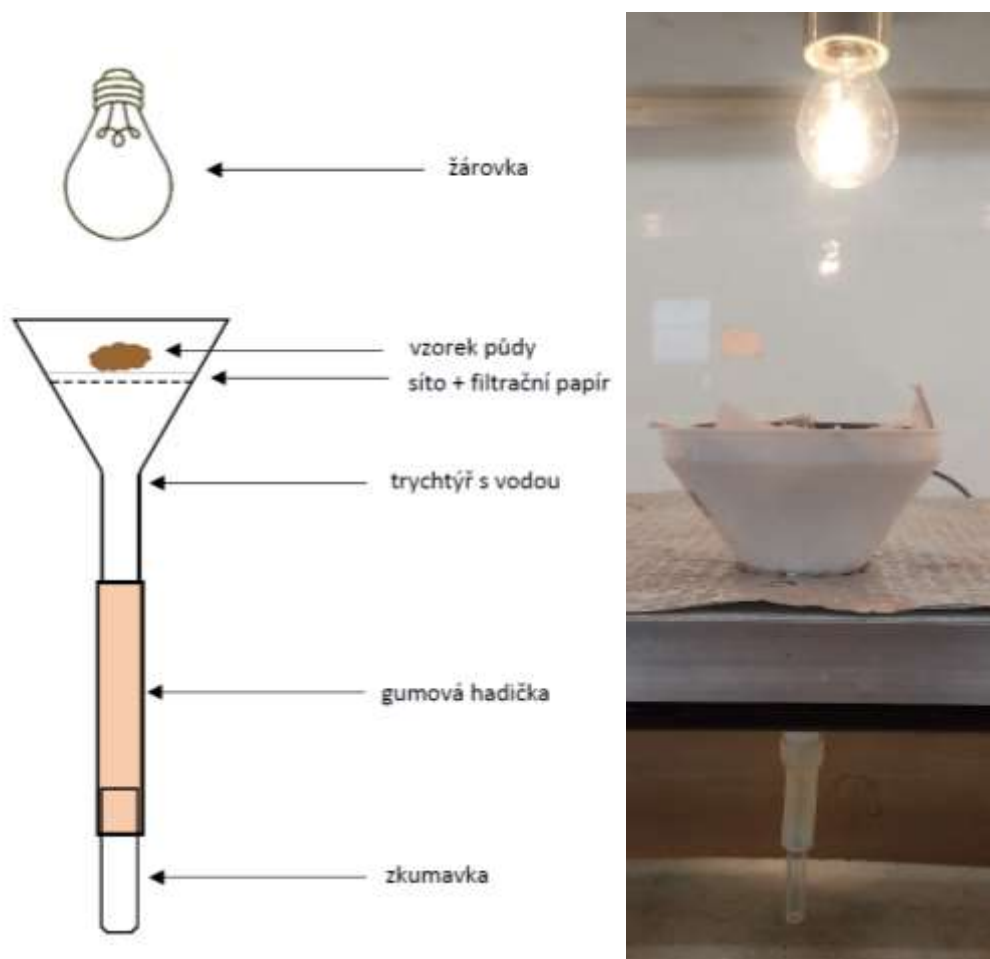


Obr. 9 Ukázka obsahu vymačkaného z žížaly (foto: Anna Veselá)

3.3 Extrakce želvušek ze vzorků

Koprolity i vzorky okolní půdy a střevního obsahu jsem zvážila a vložila je do extraktoru – Baermannových nálevek s gradientem tepla a světla (Czerneková a kol. 2018; Obr. 10). Extrakce trvala vždy minimálně 12 hodin. Díky působení světla a tepla, vycházejícího ze žárovky nad trychtýřem, želvušky a jiné organismy ze vzorků aktivně prolézaly z půdy skrz síto do chladnějšího prostředí na spodním konci trychtýře, kde byla umístěna zkumavka s destilovanou vodou. Želvušky se koncentrovaly na dně této zkumavky, odkud jsem následně pomocí pipety odsála horní přebytečnou vrstvu vody a ze zbylé

spodní vrstvičky je přenesla na podložní sklíčko. Podložní sklíčko s extrahovanými želvuškami jsem vložila pod mikroskop a spočítala želvušky z jednotlivých vzorků. Následně jsem želvušky fixovala v trvalých preparátech pro pozdější určování do druhů (viz. Určování želvušek a žížal). Zaznamenávala jsem i počty hlístic a vířníků. U všech druhů jsem zaznamenávala i mrtvé jedince.



Obr. 10 Baermannovy nálevky – schéma a foto (autor: Anna Veselá)

Ve všech vzorcích kontrolní půdy byl zjištěn obsah sušiny. Z koproliť byl vypočítán obsah sušiny pouze ze 4 vzorků, a to z důvodu nízké časové kapacity na sesbírání dalších koproliť. Z těchto 4 hodnot byla proto vypočítána průměrná hodnota, která byla dosazena pro ostatní vzorky koproliť a také pro vzorky střevního obsahu žížal. Z obsahu sušiny v procentech byla vypočítána hmotnost suchého materiálu ve vzorku, která byla použita pro přepočtení želvušek, hlístic a vířníků na 100 g suché půdy.

3.4 Určování želvušek a žížal

Pro určení želvušek je nutné vytvořit trvalé preparáty, pomocí fixačního média, které rozloží měkké tkáně želvušek a zviditelní taxonomicky důležité struktury – zejm. drápky, potravní ústrojí a strukturu kutikuly. Pro vytvoření trvalých preparátů jsem nalezené želvušky pipetou přenesla na čisté podložní sklíčko a nad svíčkou nechala odpařit část vody. Poté jsem přidala kapku Hoyerova fixačního činidla (Anderson 1954) a přikryla vzorek krycím sklíčkem. Tyto preparáty sloužily pro následné určení druhů želvušek. Želvušky určila Mgr. Michala Tůmová podle aktuální verze seznamu známých druhů (Degma a kol. 2021), ve kterém je uvedena i literatura s originálními popisy druhů.

V okolí vytyčených ploch byly také vyryty žížaly, které jsem poté naložila do 2% formalínu pro pozdější určení druhů, které žijí v parku a jsou původci sbíraných koprolitů. Žížaly určil doc. RNDr. Václav Pižl, CSc.

3.5 Statistická analýza

Rozdíly mezi počty želvušek v koprolitech a okolní půdě jsem otestovala pomocí dvouvýběrového t-testu. Pro zvýšení normality dat a sjednocení variancí jsem použila zlogaritmovaná data. Do datasetu pro tuto analýzu byli zahrnuti pouze živí jedinci želvušek. Kromě želvušek jsem stejným způsobem otestovala také data o přítomnosti živých hlístic a vířníků.

4 Výsledky

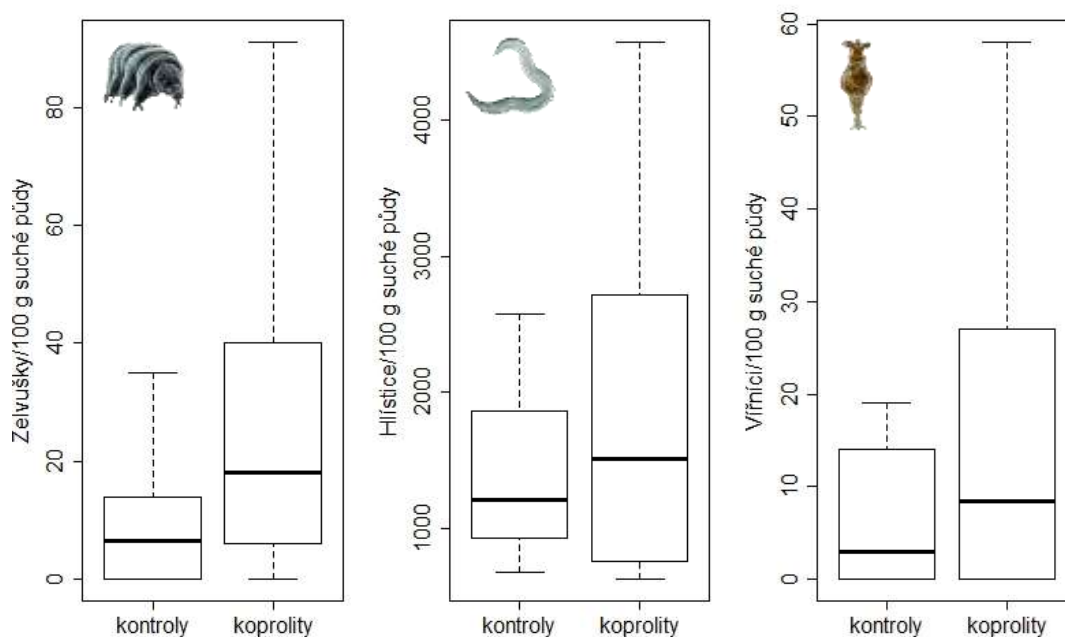
4.1 Koprolity a kontrolní vzorky půdy

Z celkového množství 198,03 g koprolitů jsem extrahovala celkem 31 jedinců želvušek, 1884 hlístic a 14 vířníků, zatímco ze srovnatelné navážky okolní půdy (celkem 202,39 g) jsem extrahovala 15 jedinců želvušek, 2035 hlístic a 9 vířníků. Ve vzorcích půdy i koprolitů jsem často pozorovala také malé množství mrtvých jedinců všech tří výše zmíněných skupin (Tab.1) a velké množství prvoků a rozsivek.

Tab. 1 Počty jedinců želvušek, hlístic a vířníků nalezených v navážkách čerstvých koprolitů a kontrolních vzorků okolní půdy

Typ vzorku	Plocha	Hmotnost vzorku (g)	Želvušky (počet jedinců)		Hlístice (počet jedinců)		Vířníci (počet jedinců)	
			živé	mrtvé	živé	mrtvé	živí	mrtví
Koprolity	P1	25,51	1	1	132	7	5	0
Koprolity	P2	15,79	3	0	153	12	2	2
Koprolity	P3	34,78	4	0	189	1	0	0
Koprolity	P4	11,16	5	1	256	8	0	0
Koprolity	P5	16,26	10	0	175	10	1	0
Koprolity	P6	42,68	2	0	194	4	0	1
Koprolity	P7	10,97	3	1	202	3	2	1
Koprolity	P8	17,56	2	0	86	7	1	1
Koprolity	P9	7,67	0	0	238	8	3	0
Koprolity	P10	15,65	1	0	259	6	0	0
Kontroly	P1 K	20,47	0	0	289	8	1	1
Kontroly	P2 K	20,56	5	2	97	1	2	0
Kontroly	P3 K	20,08	3	0	371	29	2	2
Kontroly	P4 K	20,28	2	0	149	7	0	0
Kontroly	P5 K	20,1	2	0	200	12	0	2
Kontroly	P6 K	20,19	0	0	114	5	0	0
Kontroly	P7 K	20,02	1	0	278	13	1	1
Kontroly	P8 K	20,38	1	0	176	11	0	0
Kontroly	P9 K	20,15	1	0	203	13	0	0
Kontroly	P10 K	20,16	0	0	158	1	3	0

Přestože průměrný počet želvušek na 100 g suchého vzorku koprolitů (28 ± 29) byl o dvě třetiny vyšší než ve 100 g suchého vzorku půdy (10 ± 11), nebyl tento rozdíl statisticky průkazný ($t_{18} = -1.6776$, $p > 0.05$; Obr. 11). Stejně tak se statisticky nelišily ani počty hlístic a vířníků v koprolitech a okolní půdě (hlístice: $t_{18} = -0.81162$; $p > 0.05$, vířníci: $t_{18} = -0.86776$; $p > 0.05$), přestože u obou byly průměrné počty vyšší v koprolitech oproti okolní půdě (hlístice: 1910 ± 1334 ve 100 g suchých koprolitů, 1344 ± 602 ve 100 g suché půdy; vířníci: 15 ± 19 ve 100 g suchých koprolitů, 6 ± 7.4 ve 100 g suché půdy).



Obr. 11 Srovnání počtu želvušek, hlístic a vířníků v koprolitech a kontrolních vzorcích půdy. Prostřední tučná čára představuje medián. Horní hranice boxu představuje 75% kvartil, spodní hranice 25% kvartil. Horní a spodní vousy reprezentují maximální a minimální pozorované hodnoty.

Celkem jsem ze vzorků získala 46 jedinců želvušek, určených do 6 taxonů (Tab. 2). Mezi nimi dominovaly běžné půdní druhy s protáhlým tělem jako jsou *Diphascon pingue*, *Guidettion prorsirostre*, *Adropion scoticum* a *Mesocrista revelata*. Poměrně vysoký podíl tvořil i malý druh *Hypsibius pallidoides*, který je typičtější pro svrchní vrstvy půdy a opadanku. *Mesobiotus* sp. byl zaznamenán jen v koprolitech spolu s *Adropion scoticum* a *Mesocrista revelata*, kteří se ovšem vyskytovali jen jako singletony

Tab. 2 Druhy želvušek nalezených v koprolitech a kontrolních vzorcích půdy a jejich počty (pozn. neidentif = neidentifikováno)

	Druhy želvušek						neidentif
	<i>Diphascon pingue</i> group	<i>Guidettion prorsirostre</i>	<i>Adropion scoticum</i>	<i>Mesobiotus</i> sp.	<i>Hypsibius pallidoides</i>	<i>Mesocrista revelata</i>	
Počet jedinců v koprolitech	13	5	1	5	2	1	4
Počet jedinců v kontrolách	5	3	0	0	6	0	1
Celkem	18	8	1	5	8	1	5
Celkem (%)	39	17	2	11	17	2	11

Z půdy okolo experimentálních ploch bylo vyryto a určeno do druhů celkem 107 žížal (Tab. 3). Všechny uvedené druhy kromě *Lumbricus terrestris* jsou endogeické. *Lumbricus terrestris* (žížala obecná) je anektickým druhem.

Tab. 3 Druhy a počty žížal nalezené v blízkosti experimentálních ploch

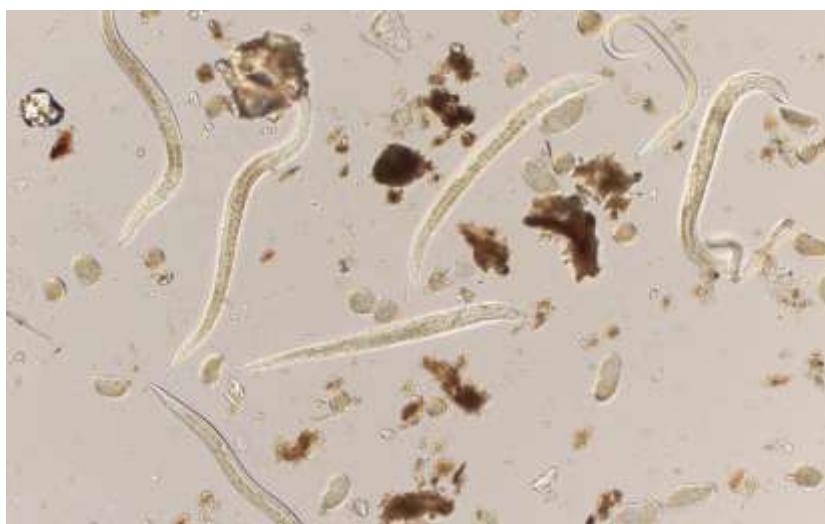
Druhy žížal	Plochy									
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
<i>Allolobophora chlorotica</i>						6				
<i>Aporrectodea caliginosa</i>	5	5	9	3	4	1		3	1	5
<i>Aporrectodea rosea</i>	3	5	2	2	4	2	7	5	3	
<i>Lumbricus terrestris</i>									6	1
<i>Octolasion lacteum</i>	2		1	3	1	1	3	3		
<i>Proctodrilus tuberculatus</i>				2	3	1		1		4
Celkem	10	10	12	10	12	11	10	12	10	10

4.2 Střevní obsah žížal

Z přirozeně vyloučeného obsahu střev jsem získala pouze 3,03 g materiálu k extrakci, ve kterém jsem objevila 1 želvušku a množství hlístic (Tab. 4). Z důvodu malé výtěžnosti jsem proto zkusila z žížal vymáčknout jejich střevní obsah přímo. Vymačkáním žížal jsem celkově získala 14,87 g materiálu. V tomto množství střevního obsahu žížal jsem však neobjevila žádnou želvušku, ani vířníka. Naopak jsem ze vzorků vymačkaného střevního obsahu extrahovala celkem 183 živých hlístic. Pro srovnání s hustotou hlístic ve vzorcích koprolitů a okolní půdy z předchozího experimentu, průměrný počet hlístic ve střevním obsahu žížal byl 363 ± 397 . V některých vzorcích jsem pozorovala také množství prvků (Obr. 12).

Tab. 4 Počty jedinců želvušek, hlístic a vířníků nalezených ve střevním obsahu žížal

Vzorek	Typ vzorku	Hmotnost vzorku (g)	Želvušky (počet jedinců)		Hlístice (počet jedinců)		Vířníci (počet jedinců)	
			živé	mrtvé	živé	mrtvé	živí	mrtví
1.	přirozeně vyloučený obsah	3,03	1	0	36	3	0	0
2.	vymačkaný obsah	5,42	0	0	106	11	0	0
3.	vymačkaný obsah	1,55	0	0	23	1	0	0
4.	vymačkaný obsah	3,66	0	0	33	1	0	0
5.	vymačkaný obsah	1,81	0	0	14	1	0	0
6.	vymačkaný obsah	2,43	0	0	7	0	0	0



Obr. 12 Ukázka organismů z vymačkaného obsahu střev žížal – hlístice, prvoci (foto: Michala Tůmová)

5 Diskuse

Z výsledků mých experimentů nelze přenos želvušek v trávicím traktu žížal potvrdit, ani vyvrátit.

V prvním experimentu jsem statistickou analýzou zjistila, že se od sebe počty želvušek v okolní půdě a koprolitech neliší, což naznačuje, že průchod trávicím traktem žížaly želvušky přežívají a mohou se tak šířit půdou. Podobně byly želvušky již dříve pozorovány v trusu suchozemských plžů a ptáků (Fox a García-Moll 1962, Robertson a kol. 2020, Vuori a kol. 2022.). Výsledky těchto studií tak potvrzují, že želvušky mají potenciál k šíření v prostředí pomoci endozoochorie.

Vuori a kol. (2022) navrhli tři vysvětlení přežití želvušek průchodem trávicím ústrojím plžů. První možností je, že želvušky jsou příliš malé na to, aby byly poškozeny ústním ústrojím plžů. Druhým vysvětlením může být to, že prostředí uvnitř trávicího ústrojí plže jednoduše nebylo dostatečně extrémní, aby poškodilo želvušky. Třetím vysvětlením je, že částice půdy a mechu, které byly požity současně se želvuškami, jim mohly poskytnout mechanickou ochranu. Tato vysvětlení mohou platit i v případě průchodu želvušek trávicím ústrojím žížal. Prostředí trávicího ústrojí plžů a žížal je totiž v mnohém podobné – je anoxické, kyselé a relativně vlhké (Charrier a Brune 2003; Horn a kol. 2003; Drake a Horn 2007).

Pohyb, potravní preference, způsob života či chování při vyprazdňování se u jednotlivých druhů žížal značně liší, a to vše může mít významný vliv na způsob přenosu želvušek v půdě trávicím ústrojím. Epigeické druhy žížal, které se živí opadovými vrstvami půdy jsou pravděpodobně důležitější při disperzi povrchově žijících organismů, zatímco endogeické, geofágní druhy při podpovrchové, horizontální disperzi. Anektické žížaly pak napomáhají svým způsobem pohybu spíše s vertikálním přenosem. V rámci každé ekologické kategorie však existují i druhově specifické rozdíly (Brown 1995; Shapiro a kol. 1993). V mé studii převažovaly ve vzorcích právě endogeické druhy žížal a podle vzhledu jim pravděpodobně patřily i nalézané koprolity. Kontrolní vzorky půdy, kde jsem želvušky nalézala, byly odebrány do hloubky 7-10 cm, tedy z půdní vrstvy, kterou endogeické žížaly obývají. Výsledky prvního experimentu se tak vztahují pouze k endozoochorii želvušek v trávicím traktu endogeických žížal. Koprolity anektických žížal vypadají odlišně a při sběru jsem na ně nenarazila. Je možné, že jsem

s anektickými žížalami pracovala ve druhém experimentu, jelikož jsem při vymačkávání narazila i na střevní obsah s nerozloženými zbytky trávy či opadu.

Pokud žížaly opravdu přenášejí želvušky ve svém trávicím ústrojí, zajímavou otázkou, která také závisí na druhu žížaly, zůstává, jak daleko a jak efektivně může žížala želvušku transportovat. Vuori a kol. (2022) podotýkají, že teoreticky se želvušky mohou vyrovnat či dokonce překonat rychlost pohybu plžů. Druh plže, který byl předmětem jejich experimentu může za den urazit maximálně 4.44–5.48 m. Želvušky přitom mohou při své maximální rychlosti 4.8 mm/min (u druhu *Macrobiotus*) až 15.81 mm/min (u druhu *Hypsibius*) urazit za den vzdálenost 6.9–22.7 m (Li a Wang 2005, Nirody a kol. 2021). Limitujícím faktorem jejich aktivního pohybu je však voda – i malý kousek suché půdy pro ně představuje významnou bariéru v pohybu. Žížaly se ovšem pohybují průměrně mnohem rychleji a na delší vzdálenosti. Také pro ně kousek suché půdy nepředstavuje takový problém jako pro želvušky. Anektická žížala *Lumbricus terrestris* může za 1 noc překonat vzdálenost až 19 metrů (Brown 1995). Žížaly tudíž mohou napomáhat přenosu želvušek mnohem efektivněji než plži.

Kromě druhu žížal závisí přenos i na samotných druzích želvušek. Druhům želvušek, které žijí v opadové vrstvě na povrchu půdy může vyhovovat spíše povrchový pohyb epigeických žížal. Pokud by se totiž dostaly do hlubších vrstev půdy, nemuselo by jim toto prostředí vyhovovat.

Přestože se počty želvušek v koprolitech a v okolní půdě od sebe statisticky nelišily, nemohla jsem vyloučit možnost, že želvušky koprolity osídlily až sekundárně po jejich defekaci. Průměrný počet želvušek v koprolitech byl o dvě třetiny vyšší než v okolní půdě. Právě větší množství želvušek v koprolitech může naznačovat, že se do nich želvušky z okolní půdy aktivně přesouvají poté, co je žížala vyloučí. Koprolity jsem v rámci experimentu sbírala čerstvé, v kontaktu s půdou byly méně než 12 hodin. Při maximální rychlosti pohybu želvušek 4.8–10 mm/min je tedy sekundární kolonizace koprolitů možná. Koprolity jsou stabilnější, na živiny bohatší a je v nich vyšší mikrobiální aktivita než v okolní půdě (Pižl 2018). Z tohoto důvodu se do nich mohou stahovat mikrobivorní druhy želvušek a hlístic a těmi se pak živí právě druhy dravé, jako *Mesobiotus* sp., který byl zaznamenán pouze v koprolitech. Naopak algivorní druh *Hypsibius pallidoides* byl čtenější ve vzorcích okolní půdy, jelikož se vyskytuje spíše na povrchu půdy, kde jsou i řasy, kterými se živí (Bryndová a kol. 2020). Endogeické žížaly,

jejichž koprolity jsem nacházela, se ovšem živí hlouběji než na povrchu půdy, proto jsem tento druh v koprolitech nacházela méně. Ostatní druhy objevených želvušek se v půdě nachází běžně i hlouběji pod povrchem, takže je endogeické žížaly klidně mohly spolknout společně s půdou.

Ve druhém experimentu jsem se zabývala přítomností želvušek přímo ve střevním obsahu žížal, abych vyloučila možnost sekundárního osídlení koprolitů až po jejich defekaci. Jedna želvuška, kterou jsem objevila v přirozeně vyloučeném obsahu střev (defekace proběhla v laboratorních podmínkách a vzorek nebyl v kontaktu s půdou), mohla být pouze náhodnou kontaminací vzorku. Extrakční aparatura byla sice před použitím omyta, ale nebyla sterilizována. Navíc ve střevním obsahu, který jsem z žížal vymáčkla přímo, jsem žádnou želvušku neobjevila. Na základě průměrného počtu želvušek v koprolitech (28 ± 29 jedinců na 100 g suchého materiálu) jsem očekávala, že v 10 g suchého střevního obsahu, který jsem získala vymačkáváním, objevím 2-3 želvušky. Materiálu ze střev žížal jsem ovšem prohledala v porovnání s koprolity mnohem méně. Navíc navzdory průměrné hodnotě 28 jedinců na 100 g vysušených koprolitů, rozptyl pozorovaných počtů želvušek v jednotlivých vzorcích koprolitů byl poměrně velký, 0–35 jedinců na 100 g suchých koprolitů. Proto pro ověření, zda se želvušky nachází i ve střevním obsahu žížal, by bylo třeba projít větší množství tohoto materiálu, než mnou získaných 10 g (po vysušení).

V souladu s jinými studiemi jsem ve střevním obsahu objevila značné množství hlístic (Shapiro a kol. 1993; Dash a kol. 1980). Monroy a kol. (2008) ovšem ve střevním obsahu žížal hlístice nenašli, používali přitom podobnou metodu vymačkávání. Pokus ovšem prováděli v laboratorních podmínkách s prasečí kejdou jako zdrojem potravy pro žížaly. Předmětem pokusu byly také jiné druhy žížal, než které se nacházely v okolní půdě při mém pokusu. To naznačuje, že průchod mikrofauny trávicí soustavou žížaly opravdu může záviset na druhu žížaly i druhu pozřené mikrofauny.

Ve vzorcích koprolitů, kontrolních vzorků půdy i střevního obsahu jsem zaznamenala přítomnost živých i mrtvých jedinců želvušek, hlístic a vířníků. Princip extrakce je založen na aktivním pohybu jedinců, zaznamenání neživí jedinci tedy mohli umřít v průběhu extrakce nebo náhodně propadli skrze síto již mrtví. Počty mrtvých jedinců ovšem byly zanedbatelné.

6 Závěr

Žížaly jsou vhodnými potencionálními roznašeči mikrofauny v půdním prostředí. Zahrnují několik ekologických skupin, které se živí na substrátech v různých hloubkách půdy a pohybují se napříč půdním profilem vertikálně i horizontálně na značné vzdálenosti. Nepodařilo se mi ovšem jednoznačně prokázat přenos želvušek v trávicím traktu žížal.

V prvním experimentu byl zaznamenán výskyt želvušek v koprolitech ve stejných hustotách jako v okolní půdě. I přesto, že koprolity nebyly starší než 12 hodin, nemohla jsem vyloučit sekundární kolonizaci koprolitů želvuškami až po defekaci koprolitů. Pro potvrzení mé hypotézy o roznosu želvušek trávicí soustavou žížaly jsem chtěla ověřit přítomnost želvušek přímo v jejich zažívacím traktu. Tam jsem ovšem želvušky nezaznamenala. Vzorek získaný přímo ze střevního obsahu žížal byl nicméně relativně malý. K jednoznačnému potvrzení žížal jako přenašečů želvušek v půdě je třeba se zaměřit na prohledání většího vzorku střevního obsahu žížal. Dále by také bylo zajímavé zaměřit se například na vertikální rozptyl želvušek pomocí žížal, jako tomu bylo už u hlístic (Shapiro a kol. 1993).

Žížaly tedy mohou mít pozitivní vliv na šíření želvušek v půdním prostředí, ale je třeba zkoumat i další interakce těchto organismů. Například vliv promíchávání půdy na želvušky nebo jejich kontakt se slizem produkovaným žížalami. Ten by mohl mít i negativní efekt na jejich početnost, podobně jako je tomu u plžů (Książkiewicz a Roszkowska 2022). Znalost interakcí mezi půdními organismy je důležitá pro chápání fungování půdy, její ochranu a obhospodařování.

7 Literatura

- Altiero T, Suzuki AC, Rebecchi L. 2018. Reproduction, Development and Life Cycles. In: Schill RO, editor. *Water Bears: The Biology of Tardigrades*. Zoological Monographs 2. Springer Nature Switzerland. s. 211–242.
- Anderson LE. 1954. Hoyer's solution as a rapid permanent mounting medium for bryophytes. *The Bryologist*. 57:242–244.
- Baujard P, Martiny B. 1994. Transport of nematodes by wind in the peanut cropping area of Senegal, West Africa. *Fundam. appl. Nematol.* 17(6):543–550.
- Bonkowski M, Schaefer M. 1997. Interactions between earthworms and soil protozoa: A trophic component in the soil food web. *Soil Biology and Biochemistry*. 29(3–4):499–502.
- Boyer J, Reversat G, Lavelle P, Chabanne A. 2013. Interactions between earthworms and plant-parasitic nematodes. *European Journal of Soil Biology*. 59:43–47.
- Brown GG. 1995. How do earthworms affect microfloral and faunal community diversity? *Plant and Soil*. 170(1): 209–231.
- Bryndová M, Stec D, Schill RO, Michakczyk Ł, Devetter M. 2020. Dietary preferences and diet effects on life-history traits of tardigrades. *Zoological Journal of the Linnean Society*. 188:865–877.
- Campos-Herrera R, Trigo D, Gutiérrez C. 2006. Phoresy of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* by the earthworm *Eisenia fetida*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 92(1):50–54 .
- Carroll JJ, Viglierchio DR. 1980. On the Transport of Nematodes by the Wind. *J Nematol.* 13(4):476–483.
- Czerneková M, Janelt K, Student S, Jönsson KI, Poprawa I. 2018. A comparative ultrastructure study of storage cells in the eutardigrade *Richtersius coronifer* in the hydrated state and after desiccation and heating stress. *PLoS ONE*. 13(8): e0201430
- Dash MC, Senapati BK, Mishra CC. 1980. Nematode feeding by tropic earthworms. *Oikos*. 34(3): 322–325.

- Degma P, Bertolani R, Guidetti R. 2021. Actual checklist of Tardigrada species (2009-2021: 19-07-2021) [online]. [cit. 2022-04-24]. Dostupné z: <https://iris.unimore.it/retrieve/358743/Actual%20checklist%20of%20Tardigrada%204>
- Drake HL, Horn MA. 2007. As the Worm Turns: The Earthworm Gut as a Transient Habitat for Soil Microbial Biomes. *Annual Review of Microbiology*. 61(1):169–189.
- Fontaneto D. 2019. Long-distance passive dispersal in microscopic aquatic animals. *Movement Ecology*. 7(1):1–10.
- Fox I, García-Moll I. 1962. *Echiniscus molluscorum*, new tardigrade from the feces of the land snail, *Bulimulus exilis* (Gmelin) in Puerto Rico (Tardigrada: Scutechiniscidae). *The Journal of Parasitology*. 48:177–181.
- Glime JM. 2017. Bryophyte Ecology, Volume 2: Bryological Interaction [online]. Michigan Technological University [cit. 2022-04-24]. Chapter 5–2, Tardigrade Reproduction and Food. Dostupné z: <https://digitalcommons.mtu.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1084&context=bryo-ecol-subchapters>
- Greenslade P. 1981. Survival of Collembola in arid environments: observations in South Australia and the Sudan. *Journal of Arid Environments*. 4(3):219–228.
- Gross V, Treffkorn S, Mayer G. 2015. Tardigrada. In: Wanninger A, editor. *Evolutionary Developmental Biology of Invertebrates 3*. Vienna: Springer-Verlag. s. 35–52.
- Guil N, Sánchez-Moreno S. 2013. Fine-scale patterns in micrometazoans: tardigrade diversity, community composition and trophic dynamics in leaf litter. *Systematics and Biodiversity*. 11(2):181–193.
- Halberg KA, Persson D, Ramløv H, Westh P, Kristensen RM, Møbjerg N. 2009. Cyclomorphosis in Tardigrada: adaptation to environmental constraints. *The Journal of Experimental Biology*. 212(17):2803–2811.
- Harada H, Ito MT. 2006. Soil-inhabiting tardigrade communities in forests of Central Japan. *Hydrobiologia*. 558(1):119–127.

- Hinton HE. 1951. A new chironomid from Africa, the larva of which can be dehydrated without injury. In: Proceedings of the Zoological Society of London. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd. s. 371–380.
- Hohberg K, Traunspurger W. 2005. Predator-prey interaction in soil food web: functional response, size-dependent foraging efficiency, and the influence of soil texture. *Biol Fertil Soils*. 41:419–427.
- Hohberg K. 2006. Tardigrade species composition in young soils and some aspects on life history of *Macrobiotus richtersi* J. Murray, 1911. *Pedobiologia*. 50(3):267–274.
- Horn MA, Schramm A, Drake HL. 2003. The Earthworm Gut: an Ideal Habitat for Ingested N₂O-Producing Microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*. 69(3):1662–1669.
- Hyvönen R, Persson T. 1996. Effects of fungivorous and predatory arthropods on nematodes and tardigrades in microcosms with coniferous forest soil. *Biology and Fertility of Soils*. 21:121–127.
- Charrier M, Brune A. 2003. The gut microenvironment of helcid snails (Gastropoda: Pulmonata): in-situ profiles of pH, oxygen, and hydrogen determined by microsensors. *Canadian Journal of Zoology*. 81(5): 928–935.
- Jönsson KI, Bertolani R. 2001. Facts and fiction about long-term survival in tardigrades. *Journal of Zoology*. 255(1):121–123.
- Jönsson KI, Levine EB, Wojcik A, Haghdoost S, Harms-Ringdahl M. 2018. Environmental Adaptations: Radiation Tolerance. In: Schill RO, editor. *Water Bears: The Biology of Tardigrades*. Zoological Monographs 2. Springer Nature Switzerland. s. 311–326.
- Jönsson KI. 2007. Long-term experimental manipulation of moisture conditions and its impact on moss-living tardigrades. *J. Limnol*. 66(1):119–125.
- Jørgensen A, Kristensen RM, Møbjerg N. 2018. Phylogeny and Integrative Taxonomy of Tardigrada. In: Schill RO, editor. *Water Bears: The Biology of Tardigrades*. Zoological Monographs 2. Springer Nature Switzerland. s. 95–110.

- Kaczmarek Ł, Parnikoza I, Gawlak M, Esefeld J, Peter HU, Kozeretska I, Roszkowska M. 2018. Tardigrades from *Larus dominicanus* Lichtenstein, 1823 nests on the Argentine Islands (maritime Antarctic). *Polar Biology*. 41(2):283–301.
- Kinchin IM. 1994. *The Biology of Tardigrades*. 1 vydání. London: Portland Press. 186 s. ISBN 1-85578-043-7
- Książkiewicz Z, Roszkowska M. 2022. Experimental evidence for snails dispersing tardigrades based on *Milnesium inceptum* and *Cepaea nemoralis* species. *Scientific Reports*. 12(1):4421
- Li X, Wang L. 2005. Effect of temperature and thermal acclimation on locomotor performance of *Macrobiotus harmsworthi* Murray (Tardigrada, Macrobiotidae). *Journal of Thermal Biology*. 30(8): 588–594.
- Møbjerg N, Neves RC. 2021. New insights into survival strategies of tardigrades. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 254:110890.
- Mogle MJ, Kimball SA, Miller WR, McKown RD. 2018. Evidence of avian-mediated long distance dispersal in American tardigrades. *PeerJ*. 6(1–3).
- Monroy F, Aira M, Domínguez J. 2008. Changes in density of nematodes, protozoa and total coliforms after transit through the gut of four epigeic earthworms (Oligochaeta). *Applied Soil Ecology*. 39(2):127–132.
- Nelson DR, Bartels PJ, Guil N. 2018. Tardigrade Ecology. In: Schill RO, editor. *Water Bears: The Biology of Tardigrades*. Zoological Monographs 2. Springer Nature Switzerland. s. 163–202.
- Nelson DR, Guidetti R, Rebecchi L. 2015. Phylum Tardigrada. In: Thorp J, Rogers DC, editors. *Ecology and General Biology: Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates*. Academic Press. s. 347–380. ISBN: 9780123850263.
- Nirody JA, Duran LA, Johnston D, Cohen DJ. 2021. Tardigrades exhibit robust inter-limb coordination across walking speeds. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 118(35).

- Nkem JN, Wall DH, Virginia RA, Barrett JE, Broos EJ, Porazinska DL, Adams BJ. 2006. Wind dispersal of soil invertebrates in the McMurdo Dry Valleys, Antarctica. *Polar Biology*. 29(4):346–352.
- Pižl V. 2018. Žížaly a jejich role v půdě. *Veronica*. 2018(1):22–24.
- Pommeresche R, Hansen S, Løes AK, Sveistrup T. 2010. Žížaly a jejich význam pro zlepšování kvality půdy. 1. vyd. Olomouc: Bioinstitut. 23 s.
- Ramløv H, Westh P. 1992. Survival of the cryptobiotic eutardigrade *Adorybiotus coronifer* during cooling to $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$: Effect of cooling rate, trehalose level, and short-term acclimation. *Cryobiology*. 29(1):125–130.
- Rebecchi L, Altiero T, Cesari M, Bertolani R, Rizzo AM, Corsetto PA, Guidetti R. 2011. Resistance of the anhydrobiotic eutardigrade *Paramacrobotus richtersi* to space flight (LIFE–TARSE mission on FOTON-M3). *J Zool Syst Evol Res*. 49(1):98–103.
- Reddell P, Spain AV. 1991. Earthworms as vectors of viable propagules of mycorrhizal fungi. *Soil Biology and Biochemistry*. 23(8):767–774.
- Robertson MW, Russo NJ, McInnes SJ, Goffinet B, Jiménez JE. 2020. Potential dispersal of tardigrades by birds through endozoochory: evidence from Sub-Antarctic White-bellied Seedsnipe (*Attagis malouinus*). *Polar Biology*. 43(7):899–902.
- Sánchez-Moreno S, Ferris H, Guil N. 2008. Role of tardigrades in the suppressive service of a soil food web. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 124(3-4):187–192.
- Shapiro DI, Berry EC, Lewis LC. 1993. Interactions between Nematodes and Earthworms: Enhanced Dispersal of *Steinernema carpocapsae*. *Journal of Nematology*. 25(2):189–192.
- Schlaghamerský J, Pižl V, Tajovský K, Tuf IH, Tůma J, Šimek M. 2020. Živá půda 5 - Půdní makrofauna a megafauna. *Živa*. 2020(6):302–307.
- Schneider CW, McDevit DC. 2002. Are earthworms a possible mechanism for airborne dispersal of the alga *Vaucheria*? *Northeastern Naturalist*. 9(2):225–234.
- Schuster R, Greven H. 2007. A long-term study of population dynamics of tardigrades in the moss *Rhytidiadelphus squarrosus* (Hedw.) Warnst. *J. Limnol*. 66(1):141–151.

- Sugiura K, Matsumoto M. 2021. Sexual reproductive behaviours of tardigrades: a review. *Invertebrate Reproduction & Development*. 65(4):279–287.
- Šimek M, Baldrian P, Bryndová M, Devetter M, Elhottová D, Háněl L, Chroňáková A, Kopecký J, Koubová A, Kováč L, Kyselková M, Lukešová A, Marečková M, Pižl V, Schlaghamerský J, Starý J, Tajovský K, Tkadlec E, Tuf IH, Tůma J. 2019. Živá půda. 1. vydání. Praha: Academia. Kapitola 2, Půdní organismy. s. 29–211.
- Šimek M, Elhottová D, Fuksa P, Hynšt J, Kobes M, Kvítek T, Malý S, Moudrý J, Rozsypal R, Tajovský K. 2021. Živá půda: praktický manuál. 1. vyd. Praha: Academia. 323 s. ISBN 978-80-200-3199-0.
- Tao J, Chen X, Liu M, Hu F, Griffiths B, Li H. 2009. Earthworms change the abundance and community structure of nematodes and protozoa in a maize residue amended rice–wheat rotation agro-ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry*. 41(5):898–904.
- Thornton ML. 1970. Transport of soil-dwelling aquatic phycomycetes by earthworms. *Transactions of the British Mycological Society*. 55(3):391–397.
- Tsujimoto M, Imura S, Kanda H. 2016. Recovery and reproduction of an Antarctic tardigrade retrieved from a moss sample frozen for over 30 years. *Cryobiology*. 72(1):78–81.
- Vuori T, Calhim S, Vecchi M. 2022. A lift in snail's gut provides an efficient colonization route for tardigrades. *Ecology*. e3702. Epub ahead of print.

8 Přílohy

Příloha A

Příloha A Vypočítané hodnoty sušiny ve vzorcích koprofitů a vzorků okolní půdy (kontroly) a počty želvušek, hlístic a vířníků na 100 g suché půdy

typ	plocha	želvušky	hlístice	vířníci	mokrý půda na extrakci (g)	mokrý půda na susině (g)	suchá půda (g)	sušina (%)	množství suché půdy ve vzorku na extrakci (g)	želvušky na 100 g suché půdy (počet jedinců)	hlístice na 100 g suché půdy (počet jedinců)	vířníci na 100 g suché půdy (počet jedinců)
koprofit	P1	1	132	5	25,51	14,09	9,66	68,55926	17,48946771	6	755	29
koprofit	P2	3	153	2	15,79			67,83435	10,71104378	28	1428	19
koprofit	P3	4	189	0	34,78	29,51	18,34	62,14842	21,61522196	19	874	0
koprofit	P4	5	256	0	11,16			67,83435	7,57031346	66	3382	0
koprofit	P5	10	175	1	16,26			67,83435	11,02986531	91	1587	9
koprofit	P6	2	194	0	42,68	21,34	15,52	72,72727	31,04	6	625	0
koprofit	P7	3	202	2	10,97			67,83435	7,441428195	40	2715	27
koprofit	P8	2	86	1	17,56			67,83435	11,91171186	17	722	8
koprofit	P9	0	238	3	7,67			67,83435	5,202894645	0	4574	58
koprofit	P10	1	259	0	15,65	10,25	6,96	67,90244	10,62673171	9	2437	0
kontrola	P1 K	0	289	1	20,47	20,16	15,21	75,44643	15,44388393	0	1871	6
kontrola	P2 K	5	97	2	20,56	20,3	14,06	69,26108	14,24007882	35	681	14
kontrola	P3 K	3	371	2	20,08	20,21	14,47	71,59822	14,37692232	21	2581	14
kontrola	P4 K	2	149	0	20,28	20,39	16,2	79,45071	16,11260422	12	925	0
kontrola	P5 K	2	200	0	20,1	20,54	14,84	72,24927	14,52210321	14	1377	0
kontrola	P6 K	0	114	0	20,19	20,31	16,48	81,14229	16,38262925	0	696	0
kontrola	P7 K	1	278	1	20,02	20,15	15,05	74,68983	14,95290323	7	1859	7
kontrola	P8 K	1	176	0	20,38	20,22	15,35	75,91494	15,4714639	6	1138	0
kontrola	P9 K	1	203	0	20,15	20,1	15,78	78,50746	15,81925373	6	1283	0
kontrola	P10 K	0	158	3	20,16	20,02	15,3	76,42358	15,40699301	0	1026	19

Příloha B



Příloha B Sběr koprolitů v rámci 1. experimentu (foto: Michala Tůmová)

Příloha C



Příloha C Získávání střevního obsahu žížal v rámci 2. experimentu, skladování žížal (foto: Michala Tůmová)

Příloha D



Příloha D Průběh 2. experimentu – omytí žízal, vymačkávání (foto: Anna Veselá)