

**PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA  
JIHOČESKÉ UNIVERZITY V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH**

**Katedra biologie ekosystémů**



**Diplomová práce**

**REAKCE PŮDNÍCH VÍŘNÍKŮ (ROTIFERA) NA CHEMICKÝ  
STRES V SUBSTRÁTECH HNĚDOUHELNÉ VÝSYPKY**

Vypracoval: Jiří Bizos

Školitel: Mgr. Miloslav Devetter, Ph. D.

Konsultant: Doc. Jan Frouz, Csc.

Rok vypracování: 2011

Bizos, J. (2011). Reakce půdních vířníků (Rotifera) na chemický stres v substrátech hnědouhelné výsypky [Reaction of Soil Rotifers on Chemical Stress in Substrates of Spoil Heaps. M. S. Thesis, in Czech.], 49 pp. Faculty of Science, The University of South Bohemia, České Budějovice, Czech republic.

## **Annotation**

Abundance and species composition of soil rotifer communities was investigated in two seasons and six sites on dumps in the Sokolov mining area (Czech Republic). Every site was split into three plots, which differed in toxicity for vegetation and chemical composition of spoil material. The ability of soil rotifers to live in environment of spoil materials and the effect of pollution were studied in field conditions. According to results, abundance and species composition did not correspond to chemical environmental characteristics. Species composition of rotifer communities was affected by environmental variables such as vegetation, more likely than direct effect of chemical composition of spoil material.

*Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách. A to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.*

V Českých Budějovicích dne 27.4.2011

.....

*Jiří Bizos*

*Rád bych poděkoval svému školiteli Miloslavu Devetterovi za vynikající přístup a mnoho cenných rad, které mi poskytl během celého magisterského studia. Děkuji také Doc. Janu Frouzovi za pomoc při odběru vzorků a poskytnutí důležitých informací, které mi pomohly při zpracování mé diplomové práce.*

## Obsah

<b>1. Úvod.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Rešerše.....</b>	<b>4</b>
2.1 Rotifera.....	4
2.1.1 Fylogeneze a taxonomie.....	5
2.1.2 Morfologie.....	8
2.2 Ekologie hydrobiontů.....	10
2.3 Stresové faktory a hydrobionti.....	14
<b>3. Materiál a metody.....</b>	<b>20</b>
3.1 Sledované lokality.....	20
3.2 Odběr vzorků.....	22
3.3 Zpracování vzorků.....	23
3.4 Analýza dat.....	24
<b>4. Výsledky.....</b>	<b>26</b>
4.1 Chemické vlastnosti lokalit a ploch.....	26
4.2 Abundance vířníků sledovaných lokalit a ploch.....	27
4.3 Skladba společenstev vířníků sledovaných lokalit a ploch.....	30
<b>5. Diskuze.....</b>	<b>36</b>
5.1 Kvantitativní a kvalitativní složení společenstev vířníků.....	36
5.2 Chemické faktory ovlivňující společenstva vířníků.....	40
<b>6. Závěr.....</b>	<b>42</b>
<b>7. Použitá literatura.....</b>	<b>43</b>

# 1. Úvod

V současné době si lidská společnost začíná znovu uvědomovat výhody plynoucí z poznání, pochopení a zachování funkcí biosféry. Impulsem pro tuto snahu bylo zjištění, jaký zásadní dopad má člověk na mnoho procesů probíhajících v přírodě. Jedním z těchto vlivů je těžba hnědého uhlí v povrchových dolech, která výrazně mění nejen charakter krajiny, ale často také její funkce.

Mnoho vědeckých projektů v posledních letech se pokouší zmapovat biologické, chemické a fyzikální procesy probíhající během těžby a po ní. Nemalá část studií je zaměřena na změny probíhající v souvislosti s ukládáním tzv. výsypkových substrátů do okolní krajiny. Důvodem tohoto přístupu je fakt, že výsypkové substráty jsou nepřirozenou součástí terestrických ekosystémů. V těchto čerstvě vytěžených a nasypných substrátech probíhá množství změn měnící tento mrtvý či minimálně biologicky ovlivněný materiál v půdu se všemi jejími funkcemi. K tomuto procesu zásadně přispívají okolní přirozené ekosystémy, sloužící jako zdroj biotické složky, která zrychluje procesy přeměn těchto substrátů. Vedle šíření vegetace a mikroorganismů z okolního prostředí proniká do výsypek také půdní fauna, která má značný vliv na tvorbu půdního profilu (Frouz a kol., 2001, 2008).

Formování půdního profilu je vedle biologických činitelů, závislé na mnoha dalších faktorech. Vedle klimatu, působícího především v globálním měřítku, je to na úrovni regionu topografie terénu, na úrovni určité lokality prostorová variabilita, vertikální odlišnosti, chemické a fyzikální vlastnosti povrchu, zdroje živin dostupné dominantním organismům a přítomnost inhibujících látek a sloučenin (Lavelle a Spain, 2005). Právě poslední zmíněný faktor je při tvorbě půdy v oblasti výsypek jedním z důležitějších činitelů.

Ve výsypkových substrátech, na rozdíl od jiných kontaminovaných míst, není často toxicita způsobena hromaděním exogenních toxických látek, ale vzniká *in situ* zvětráváním

některých minerálů, které ve výsledku způsobují nízké pH, vyšší salinitu nebo vysokou koncentraci těžkých kovů (Frouz a kol., 2005). Tato toxicita nepostihuje celý ekosystém výsypek, ale je velmi heterogenní jak v čase, tak v prostoru. Proto i v oblastech, ve kterých došlo k vytvoření půdního profilu, lze najít místa, kde půda dosud nebyla vytvořena vůbec nebo jen částečně, protože podmínky, které zde panují, jsou pro většinu organismů nepříznivé. Nicméně i v tomto prostředí nacházíme živé organismy, které zde ovlivňují tvorbu půdy (Frouz, 2001). Tyto organismy bývají označovány jako extremofilní, díky schopnosti tolerovat podmínky prostředí pro většinu organismů neslučitelné se životem.

Studie věnované kolonizaci a tvorbě půdy ve výsypkových substrátech jsou zaměřeny, nikoliv překvapivě, na extrémofilní organismy, které jsou obecně považovány za součást hlavní biotické složky půd. Vedle některých rostlin a hub jsou to zástupci půdní fauny patřící mezi „Protozoa“ a Nematoda. Pouze minimum prací se zabývá i jinými extremofily, např. skupinami Rotifera nebo Tardigrada. Nicméně, v poslední době vzrůstá pozornost na vliv těchto půdních organismů na půdní interakce nejen v jiných extrémních habitatech, jako jsou např. polární oblasti (Pociecha, 2010; Söhlenius, Boström a Jönsson, 2004), ale i v půdách celkově (Devetter, 2005; Hohberg a Traunspurger, 2005; Sánchez-Moreno, Ferris a Guil, 2008). Důvodem je zjištění, že tyto živočichové mohou hrát v některých půdních prostředí významnější roli, než se dříve usuzovalo (Sánchez-Moreno, Ferris a Guil, 2008; Kutikova, 2003).

Tato diplomová práce se snaží přispět k poznání vztahů vířníků (Rotifera) s půdním prostředím zhodnocením vlivu vybraných environmentálních charakteristik výsypkových substrátů vzniklých v souvislosti s těžbou hnědého uhlí v povrchových dolech na společenstva vířníků. Předpokladem pro provedení této studie je zjištění Kutikové (2003), že půdní vířníci, z nichž většinu tvoří skupina Bdelloidea (Devetter, 2009; Schmid-Araya, 1998), vykazují různou citlivost jak k vlhkostním poměrům, tak k znečištění v půdě. Proto půdní prostředí

s různým stupněm znečištění vytváří kvantitativně a kvalitativně odlišná společenstva vířníků (Kutikova, 2003).

Na základě výše uvedených předpokladů jsou pro řešení problematiky zhodnocení vlivu chemismu půd na skupinu Rotifera vyskytující se v prostředí výsypek stanoveny následující otázky, které by měla má diplomová práce zodpovědět. První otázkou je, zda se kvantitativně a kvalitativně liší společenstva vířníků mezi toxickými, přechodovými a netoxickými plochami v rámci jednotlivých lokalit. Druhou otázkou je, zda se kvantitativně a kvalitativně liší společenstva vířníků mezi sledovanými lokalitami jak v celkovém pohledu, tak v případě srovnávaných ploch. Poslední třetí otázkou je, zda je možné stanovit chemické faktory, které mají vliv na půdní vířníky.

Pro lepší pochopení souvislostí řešeného tématu je má diplomová práce v úvodní rešeršní části zaměřena nejen na půdní zástupce skupiny Rotifera, tedy především Bdelloidea, ale v částech věnované ekologii a stresovým faktorům také některým typicky vodním zástupcům vířníků a také funkčně podobným skupinám půdních organismů jako jsou Nematoda, Tardigrada a Protozoa.

## 2. Rešerše

### 2.1. Rotifera

Ačkoliv první popis zástupců skupiny Rotifera provedl Anthony van Leeuwenhoek už ve druhé polovině 17. století, řada jejich evolučních, ekologických a fyziologických aspektů zůstává neprozkoumána. Patří sem skupiny s velmi odlišnou životní historií - jak volně se pohybující živočichové, koloniální či solitérní sesilní živočichové, tak zástupci, kteří jsou komenzály. A pokud přijmeme v současnosti silně podporovanou, avšak zatím ne zcela dořešenou příbuznost se skupinou Acanthocephala, pak můžeme mezi Rotifera, respektive Syndermata, řadit i endoparazity. Právě rozmanitost životních forem představuje výzvu pro badatele z mnoha přírodovědných oborů. Velmi zajímavou skupinou v rámci Rotifera jsou Bdelloidea . Vývoj jejich zástupců, i přesto že jejich rozmnožování je striktně partenogenetické, probíhá nezávisle na monogonontních vířnicích už nejméně 30 miliónů let (Garcia-Varela a kol., 2000) - někteří autoři (Welch a kol, 2004) uvádějí až 100 miliónů let. Mimo to bdelloidní vířníci vykazují úžasnou schopnost přejít ve velmi krátkém čase do stavu extrémní kryptobiózy, která umožňuje přežít nejen období nedostatku vody v prostředí, ale také vysoké teploty, zmrznutí i velké dávky ionizačního záření (Jönsson a Guidetti, 2001). Právě tyto adaptace jsou jednou z prerekvizit umožňující jejich relativně velký výskyt v půdě.



### 2.1.1 Fylogeneze a taxonomie

Jak jsem již zmínil v úvodu, nezávislý vývoj bdelloidních vírníků probíhá dle současných znalostí více než 30 miliónů let. Avšak toto zjištění může být zavádějící při hodnocení evoluční historie Bdelloidea. Protože období jejich samostatného vývoje je vztahováno k jejich tradičně uznávané nejpříbuznější skupině Monogononta. Přitom zde existuje možnost, že fylogenetické vazby bdelloidních vírníků vypadají zcela jinak. Pohled na tuto problematiku, včetně zhodnocení poznatků definice druhu v rámci této skupiny, se pokusím osvětlit v této kapitole.

Po dlouho dobu byla Rotifera chápána jako taxon tvořený třemi třídami Bdelloidea, Monogononta a Seisonidea. Toto rozdělení je často zachovááno i v soudobých publikacích věnujících se v nějakém ohledu vírníkům, např. Segers (2007). A to i přesto, že již delší dobu jsou Monogononta, Bdelloidea a Seisonidea společně řazeni s parazitickou skupinou Acanthocephala do monofyletického taxonu Syndermata, stanoveného na základě podobnosti jak v ultrastruktuře spermií a pokožky (Wallace, Ricci a Melone, 1996), tak v molekulární struktuře DNA (Garcia-Varela a Nadler, 2006; Wittek a kol., 2009).

Důvod vynechávání Acanthocephala z taxonomického hodnocení můžeme spatřovat v nevyřešené otázce fylogenetických vztahů mezi jednotlivými skupinami. Původní fylogenetické práce předpokládají blízkou příbuznost skupin Bdelloidea a Monogononta, tzv. Eurotatoria. Jako synapomorfie těchto skupin jsou uváděny vířivý aparát (Ricci, 1998), terminální orgán protonefrídií se štěrbinami, nikoliv s póry, nepárové retrocerebrální žlázy, slinné žlázy integrované do mastaxu a přítomnost vitellaria (Garey a kol., 1998). Eurotatoria jsou klasicky chápána jako korunní taxon skupiny Rotifera, ve kterém na bázi figuruje třída Seisonidea. Zahrnuje pouze tři druhy – řazené do dvou rodů *Seison* a *Paraseison* - epibiontních symbiontů koryšů rodu *Nebalia* (Sørensen a Giribet, 2006). Podobnost

s Eurotatorii je vykládána především na základě přítomnosti specifického mastaxu – fulkrátní typ.

Blízký vztah Rotifera a Acanthocephala, obligátních parazitů obratlovců, uvádí už Remane (1963) na základě podobnosti kloaky, segmentaci vajíček a svalů ovládajících zatahování přední část těla. Lorenzen (1985) navíc vyjmenovává stejnou stavbu vnitřní vrstvy syncytiální epidermis a přítomnost tzv. lemnisků u Bdelloidea a Acanthocephala. Lemnisky jsou prodloužené párové struktury připojené ke krční oblasti, rozšiřující se do oblasti trupu, pravděpodobně sloužící jako zásobník tekutiny pro vysunutí proboscisu (Maggenti a kol., 2005). Právě na základě přítomnosti lemnisků a dalších podobností v přední části těla navrhuje Lorenzen (1985) jako sesterské taxony Acanthocephala a Bdelloidea, pro které ustanovuje název Lemniscea, s bazálními skupinami Monogononta a Seisonidea. Lorenzovy závěry zamítá, na základě odlišného embryonálního vývoje přední části těla Clement (1993) a Nielsen (1995), který vidí fylogenetické postavení Acanthocephala na bázi Rotifera. S tímto názorem se ztotožňuje i práce Melone a kol. (1998).

Seskupení Bdelloidea + Acanthocephala však podporují studie využívající molekulárních metod (Garcia-Varela a Nadler, 2006; Wittek a kol., 2009; Min a Park, 2009). Garey a kol. (1998) umísťuje Acanthocephala přímo mezi Bdelloidea. Garcia-Varela a Nadler (2006) zároveň označují Eurotatoria jako parafyletickou skupinu a vyvracejí tak i seskupení Pararotatoria vyjadřující blízkou příbuznost Acanthocephala a Seisonidea. Rozdělení na Eurotatoria a Pararotatoria uvádějí ve své práci Zrzavý (2001). Monofylii Rotifera, jak je tradičně chápána, nepodporují ani Sørensen a Giribet (2006) ve své studii využívající vedle molekulárních znaků i morfologické charakteristiky. Z jejich analýzy vyplývá blízká příbuznost Acanthocephala, Bdelloidea a Seisonidea, jako klad Hemirotifera, s bazální skupinou Monogononta.

Monofylie Bdelloidea není dosud potvrzena, i když Ricci (2000) uvádí jako autoapomorfie striktní partenogenetické rozmnožování a schopnost anhydrobiózy. Důvodem je minimum studií věnujících se přímo fylogenezi v rámci této skupiny a také nevyřešená otázka umístění Acanthocephala v kladu Syndermata. Klasická klasifikace rozděluje bdelloidní vířníky do třech řádů Philodinavida, Adinetida a Philodinida a čtyř čeledí Philodinavidae, Adinetidae, Philodinidae a Habrotrochidae (Melone, Ricci a Segers, 1998). Celkem je na základě morfologie rozpoznáváno kolem 350 druhů patřících do 19 rodů (Donner, 1965).

Relevantní určování taxonomické příslušnosti u bdelloidních vířníků je považováno za velmi nesnadné, z důvodu nutnosti identifikovat tyto živočichy *in vivo* za speciálních podmínek, kdy živočich musí být aktivní a u většiny skupin musí i vířit, a problematické určovací literatury (Ricci, 2000).

Určovací příručky dostupné v současnosti byly vydány před více než 40 lety. Anglicky psaná od Bartoše (1951), Ricci (2000) ji považuje za zavádějící a málo spolehlivou, a německý psaná, pravděpodobně nejkompletnější a dobře ilustrovaná, od Donnera (1965). V českém jazyce byla v roce 1959 vydána rozšířená verze Bartošovy anglicky psané knihy. Bohužel i tato není považována za příliš spolehlivou. Ricci (2000) zmiňuje i knihu Shiela (1995), která je však zaměřena pouze na kontinentální vodstvo Austrálie a Nového Zélandu.

Omezení při stanovování druhové příslušnosti Bdelloidea je podle Burgera (1948) dáno morfologickou variabilitou v rámci druhu, která je navíc ovlivněna věkem a množstvím přijaté potravy, a nejednotností pravidel klasifikace, kdy záleží na autorovi popisu, jakou důležitost jednotlivým znakům přikládá. Ricci (1987) uvádí další faktor ovlivňující taxonomickou klasifikaci Bdelloidea a to složitost definice druhů u striktně partenogeneticky se rozmnožujících živočichů. Navíc, stanovit druhovou příslušnost na základě morfologických či behaviorálních znaků je často velmi problematické i u živočichů, které jsou pro člověka relativně snadno pozorovatelné, i díky přítomnosti kryptických druhů (Davidson-Watts a kol.,

2006). Právě těžko rozlišitelné morfologické znaky u většiny mikroskopických živočichů vedou k domněnce, že kryptická diversita u těchto skupin organismů je velmi vysoká (Fontaneto a kol., 2009). Tyto důvody se odrážejí v nízkém procentu určených druhů ve studiích věnujícím se keloidním vířníkům.

## 2.1.2 Morfologie

Velikost těla těchto drobných mnohobuněčných živočichů může dosahovat téměř 3 mm. Avšak drtivá většina zástupců se svou velikostí pod 1 mm řadí mezi mikroskopické organismy. I přes malou velikost vykazují značnou variabilitu v tělesné organizaci danou množstvím prostředí, které obývají.

Tělo se obvykle skládá ze tří částí: hlavy, trupu a nohy, a je superficiálně segmentováno. Bartoš (1959) vyčleňuje i krk, který chápe jako zřetelné a různě dlouhé zúžení těla mezi hlavou a trupem. Hlava nese ciliární orgán nazývaný korona - vířivé ústrojí sloužící nejen k příjmu potravy, ale i k pohybu. Vířivé ústrojí je tvořeno třemi částmi, apikálním polem, které nemusí být obrvené, cirkumapikálním polem a bukalním – ústním polem. U některých zástupců je cirkumapikální pole rozděleno na tzv. trochus a cingulum. U bdelloidních vířníků skupiny Philodinida tvoří trochus párové trochální disky. U řádu Adinetida cilia tvoří obrvené ventrální pole, kaudálně ohraničené pevnou strukturou tzv. hřebenem sloužícím k seškrabování nánosů potravy přichycené na podkladu. Pravděpodobně se jedná o apikální pole posunuté na ventrální stranu hlavy. Zástupci skupiny Philodinavide se vyznačují anomální korunou, která je u rodů *Philodinavus* a *Henoceros* redukována do malého obrveného bukalního pole a u rodu *Abrochta* je rudimentární (Ricci a Melone, 2000). Pohyb cilií korony je metachronální, což u bdelloidních vířníku s párovými trochálními disky navozuje dojem, že korona vykonává otáčivý pohyb.

U všech zástupců Bdelloidea nacházíme v oblasti hlavy dorsálně umístěné zatažitelné rostrum, sloužící k pohybu po podkladě a smyslové tykadlo, nacházející se pod ním. Jednoduché oči jsou umístěné na rostru nebo jinde na dorzální straně hlavy. U některých zástupců scházejí. Smyslové orgány monogonotních vířníků jsou obecně tvořeny jedním dorzálním a dvěma laterálními tykadly vyrůstajících v různých částech těla. U mnoha druhů nacházíme jednoduché oči.

Jak oblast hlavy, tak noha jsou zatažitelné do trupu, který je hlavní oblastí těla. Vedle reprodukční a zažívací soustavy je zde umístěna pro vířníky charakteristická struktura tzv. mastax. Mastax, sloužící ke zpracování potravy, je tvořen sklerotizovanými navzájem propojenými články, tzv. trophi, a svalovinou, která jej ovládá. Pro jednotlivé skupiny vířníků je mastax charakteristickou strukturou. U potravně variabilní skupiny Monogononta nacházíme více typů mastaxů – např. malátní sloužící k drcení potravy, forcipátní a incudátní sloužící k chytání potravy. U bdelloidea se vyvinul unikátní „drtící“ typ tzv. ramátní mastax vybavený podlouhlými zuby umístěnými na trophi, který je charakteristický pro celý tento taxon. Nicméně, Ricci a Melone (1998, 2000) uvádějí mírně odlišnou strukturu trophi skupiny Philodinavidae, které tyto živočichové mohou vysunout z ústní dutiny. Obecně je však jedinou výraznější odlišností v rámci ramátního mastaxu různý počet zubů nejen mezi tradičně uznávanými druhy, ale i v rámci jednotlivých druhů.

Stejně jako zbytek těla, je i trup pokryt syncytiálním integumentem. Tato jednovrstevná pokožka se splynulými buňkami vzniká vymizením buněčné membrány, díky čemuž se epidermis stává mnohojadernou. U Rotifera všechny orgány a tkáně, včetně pokožky, vykazují eutelii - v ontogenezi pevně daný a tedy neměnný počet jader nebo buněk. Brusca a Brusca (2003) uvádějí, že počet jader epidermis – obvykle od 900 do 1000 - je u vířníků druhově specifický. Pokožka většiny druhů produkuje gelovitou hmotu – kutikulu. U značného množství zástupců může hustá laminární vrstva – skeletální lamina uvnitř epidermis

vytvářet na povrchu těla pevnou schránku – loriku, tvořenou často trny, hrbolky a jinými skulpturami (Brusca a Brusca, 2003).

Noha je u mnoha druhů prodloužená, s kutikulárními prstenci- nepravá segmentace, které umožňují její teleskopický pohyb. Často je zakončena ostny, ostruhami nebo prsty s pedální žlázou, která umožňuje uchycení živočicha k podkladu. U některých planktonních, permanentně se pohybujících živočichů může noha zcela chybět, nebo jak tomu je u sesilných forem, může být různým způsobem modifikována.

Celkově je morfologie bdelloidních vířníků na rozdíl od monogonontních mnohem více uniformní. Důvodem je nepřítomnost morfologických změn způsobených tzv. cyklomorfózou. Tento pojem vyjadřuje změny tvaru těla během roku jako adaptace na měnící se abiotické - např. změny vlastností vody, nebo biotické - např. predace, reakce na potravu, podmínky prostředí, které se projevují změnami ve velikosti těla, v pigmentaci a v modifikaci povrchových struktur. Vyskytuje se jak u lorikátních, tak i u nelorikátních druhů.

## 2.2 Ekologie hydrobiontů

Pro většinu půdní fauny je kritickým činitelem ovlivňujícím jejich životaschopnost a funkci v půdním prostředí dostupnost vody. Nejvýrazněji je tento vliv patrný u tzv. hydrobiontů, kam jsou vedle skupiny Rotifera řazeny především Protozoa (prvoci), Nematoda (hád'átka) a Tardigrada (želvušky). Hydrobionti, také označovaní jako půdní mikrofauna, jsou v půdním prostředí aktivní výhradně v kapilární půdní vodě nebo vodním filmu vytvořeném na půdních částicích. Množství vody v půdě je však ovlivněno řadou faktorů, které mohou způsobovat její výrazné kolísání. V závislosti na životě v takto nepředvídatelném prostředí se u množství druhů vytvořily adaptace, umožňující vyrovnat se s náhlými změnami podmínek.

Mezi nejvýraznější přizpůsobení patří schopnost vytvářet klidová stadia, která jsou schopna tolerovat desikaci, tedy ztrátu vody v těle. Tento jev, známý jako anhydrobióza, se vyskytuje jak u bdelloidních vířníků, tak u háďátek, prvoků a želvušek. U monogonontních vířníků je schopnost tolerovat ztrátu vody omezena pouze na jejich vajíčka (Ricci, 2001).

Vedle anhydrobiózy jsou některé z výše uvedených skupin schopny vytvářet klidová stadia v závislosti na dalších změnách podmínek v jejich životním prostředí. Ať už se jedná o reakci na nedostatek potravy, zmrznutí (kryobióza), pokles koncentrace kyslíku (anoxybioza) nebo změnu salinity (osmobióza) (Nelson, 2002; Ricci a kol., 2007). Navíc, tyto adaptace umožňují skupinám, jako jsou Bdelloidea a Tardigrada, odolávat mnohem extrémnějším podmínkám než jaké panují na Zemi. Řada experimentů prokázala schopnost želvušek a vířníků odolávat velmi vysokým dávkám ionizačního (Gladyshev a Meselson, 2008) a radioaktivního záření, schopnost přežít vakuum nebo teplotní extrémy pohybující se od  $-256\text{ }^{\circ}\text{C}$  do  $151\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Jönsson a Guidetti, 2001).

Ricci a kol. (2007) ve své studii také uvádějí, že pro bdelloidní vířníky obývající půdní prostředí, může přechod do rezistentních stádií představovat kritický bod v jejich životním cyklu, který má pozitivní vliv na fitness potomků rodičů, kteří prošli rezistentním stádiem. Tato schopnost je spojována s procesy, které probíhají těsně před a během života rezistentního stadia. Především jsou to četné poškození a následné opravy DNA, čímž je obnovována její integrita a funkčnost (Ricci a Caprioli, 2005), což někteří autoři spojují mimo jiné i s dlouhou evoluční historií partenogeneticky se rozmnožujících Bdelloidea (Dolgin a Charlesworth, 2006). Vedle výše uvedených funkcí, rezistentní stadia umožňují šíření na velké vzdálenosti (Sohlenius, Boström a Jönsson, 2004). Ať už pomocí vody, větru nebo přichycená na živočišných či částech rostlin. Avšak přechod do některého z dormantních stádií neochrání půdní hydrobionty od dalších omezení, které půdní prostředí vytváří, pokud jsou tyto organismy v aktivním stavu.

Závislost hydrobiontů na půdní vodě je totiž s velkou pravděpodobností dán vedle jejich velikosti také typem potravy, který daný druh přijímá. Tuto skutečnost demonstruje Bouwman and Zwart (1994) ve své studii věnující se ekologii skupin Protozoa a Nematoda v orných půdách. V této práci byly sledovány dva druhy Protozoa a několik druhů Nematoda. Ze skupiny Protozoa byly porovnávány druhy *Spumella*, dravec přijímající potravu v podobě suspenze z roztoku, a *Cercomonas*, půdní améba živící se bakteriemi, které oškrabává z povrchu půdních částic. Ze skupiny Nematoda pak byli porovnáváni zástupci skupin Rhabditidae, Dorylaimidae a Monhysteridae, kteří přijímají v určitém životním stádiu bakterie v suspenzi, a skupina Cephalobidae, která zahrnuje oškrabávače živící se podobně jako *Cercomonas*. Autoři zjistili, že v případě Protozoa dokázala *Spumella* v tekutém médiu překonat v kompetici o zdroje *Cercomonas*. Avšak pokud byly tyto organismy sledovány v půdním prostředí při vodním potenciálu -160 kPa byl generační čas druhu *Spumella* 24 hodin oproti 7 hodinám u *Cercomonas*. U Nematoda byl zjištěn podobný vzorec reakce na snižování vodního potenciálu. Abundance zástupců skupin Rhabditidae, Dorylaimidae a Monhysteridae byly při jeho snižování výrazně nižší než u zástupců Cephalobidae. Toto autoři považují za důkaz lepší tolerovatelnosti suššího prostředí oškrabávači než druhy přijímajícími potravu v suspenzi.

Jelikož většina zástupců skupiny Bdelloidea, mimo několika druhů v čeledích Adinetidae, které se živí jako oškrabávači, přijímá potravu v suspenzi díky metachronálnímu víření cílů jejich terminálního aparátu (Kutikova, 2003). Je možné předpokládat, že aktivita půdních vířníků bude také výrazně ovlivněna výše uvedeným faktorem a bude jedním z možných důvodů, proč jsou tyto organismy zastoupeny v některých půdních prostředích ve výrazně menších abundancích než např. Nematoda, která se živí mnohem diverzifikovanějšími způsoby, umožňující jejich společenstvům pružněji reagovat na náhlé změny podmínek.



Nicméně, řada autorů (Sohlenius a kol., 2004; Kaya et al., 2010; Pociecha, 2010) věnující se půdnímu prostředí arktické a antarktické tundry mluví o vířnících, především bdelloidních, jako o klíčovém organismu tohoto prostředí, který v řadě sledovaných míst svou abundancí převyšoval další hojně a pro tento ekosystém důležité druhy, jako jsou Tardigrada a Nematoda. Vysoké abundance skupiny Bdelloidea byly také zaznamenány v lučních půdách, kde např. Franz (1951) našel 300 000 jedinců na 1 m<sup>2</sup>, a v kompostech a chlévské mrvě (Kutikova, 2003).

Zaznamenání tak velkých abundancí v posledních dvou jmenovaných prostředích však jistě není náhodné. Na základě potravní strategie vířníků lze usuzovat, že jejich výskyt bude mnohem vyšší v půdách, které jsou výrazně biologicky oživené. Toto dokládá i fakt, že půdní Rotifera preferují svrchní vrstvu půdy do hloubky 3 cm (Kutiková, 2003). Kutikova (2003) také uvádí, že hlavní složkou potravy bdelloidních vířníků jsou bakterie, kvasinky, řasy, malé části rostlin a mikrodetritus do velikosti cca 15 μm. Podobné potravní preference jsou u skupiny Monogononta (Schmid-Araya, 1998), u které navíc Arndt (1993) uvádí schopnost některých jejich zástupců aktivně lovit prvoky. Zda tomu tak je i v půdním prostředí však nebylo dokázáno.

Potravní strategie a mnohdy hojný výskyt vířníků v půdě ukazují, že mohou být, podobně jako Nematoda a Protozoa, důležitou součástí půdní fauny. Především v případě interakce s půdní mikroflórou. Jak uvádí Gupta and Yeates (1997) půdní mikrofauna představuje spojující článek mezi primárními dekompozitory (půdní mikroflórou) a meso- a makrofaunou v detritovém potravním řetězci, kde se podílí na obratu organické hmoty, minerálních živin a regulaci půdní mikroflóry. Hydrobioti selektivním tlakem na společenstva půdních mikroorganismů, mění jejich skladbu a/nebo udržují daná společenstva mladá a aktivní, čímž stimulují mikrobiální procesy v půdě (Gupta and Yeates, 1997).

Ačkoliv schopnosti tolerovat náhlou změnu podmínek prostředí, nalézt vhodnou potravu a rozšířit se do nových nik hrají důležitou roli. Nejzásadnější je schopnost efektivního rozmnožování. Půdní prostředí představuje v tomto směru výzvu pro mnoho živočichů. Pro Rotifera, Nematoda a Tardigrada však půda představuje omezení ještě znatelnější, díky velmi omezené možnosti aktivního šíření a vyhledání vhodného partnera. Proto řada půdních zástupců těchto skupin zcela nebo přinejmenším z velké části omezila pohlavní rozmnožování a jejich hlavním rozmnožovacím mechanismem se stala partenogeneze.

## 2.3 Stresové faktory a hydrobionti

Půdní hydrobionti čelí různorodým environmentálním faktorům, které významně ovlivňují jejich aktivitu, výskyt v jednotlivých půdních mikroprostředích a jejich abundanci. Mnoho z těchto faktorů prostředí klade na hydrobionty značné nároky na schopnosti tolerovat jejich náhlé a výrazné změny. Tyto tzv. disturbance jsou přirozenou součástí přírodních ekosystémů a jsou důležité jak pro jejich dynamiku, tak pro udržení diverzity organismů (Bengtsson, 2002). Navíc ekosystémy a často i organismy, hydrobionti zvláště, mají schopnost vyrovnat se s těmito přirozenými disturbancemi, jako jsou např. sucha, povodně či požáry. Tato odolnost však může být výrazně ovlivněna v případě změn, se kterým se dané organismy během svého evolučního vývoje nemohly setkat. Příkladem těchto „nepřirozených“ disturbancí, které jsou často spojeny s lidskou činností, jsou např. kyselá deště, zvýšené depozice dusíku nebo nárůst v koncentraci těžkých kovů.

V návaznosti na tyto změny dochází nejen k výrazným posunům ve fungování postižených ekosystémů, ale i k jejich celkové přeměně. Markantní je to především v případech, kdy vedle přirozených disturbancí zároveň působí i nové stresory („nepřirozené disturbance“).

Následkem jejich spolupůsobení je znásobení účinků disturbancí (Market a kol., 2003). Ačkoliv řada organismů netoleruje takovou změnu podmínek, v případě mnoha druhů hydrobiontů je tomu často naopak. Protože vedle schopnosti vyrovnat se s nadnormálním stresem fyzikálního charakteru, např. zvýšenými dávkami ionizujícího záření, vysokou teplotou nebo extrémně vysokým hydrostatickým tlakem (Jönsson a Guidetti, 2001), je řada hydrobiontů schopna tolerovat, alespoň krátkodobě, i výrazné změny chemických parametrů prostředí.

Mezi nejvýznamnější chemické parametry prostředí výrazně ovlivňující aktivitu a přežívání organismů je pH. Deneke (2000) ve své studii věnující se zhodnocení vlivu vysoce kyselých jezer na skupinu Rotifera uvádí, že někteří litorální a bentičtí zástupci těchto organismů mají v případě pH velmi širokou ekologickou valenci. Jsou zde vyzvednuty tři druhy, které se vyskytují jak ve vysoce kyselých vodách, jejichž pH je  $\leq 3$ , tak v zásaditých vodách s  $\text{pH} \geq 9$ . Mimo dvou druhů monogonontních vířníků *Cephalodella gibba* a *C. hoodi* do této skupiny patří také zástupce bdeloidních vířníků *Rotaria rotatoria*. Jako tolerátoři nízkého pH jsou uváděni i blíže nespecifikovaní zástupci rodu *Philodina*, jehož některé druhy jsou nacházeny v půdním prostředí. Nicméně tato studie uvádí pouze výčet druhů, které jsou schopné aktivity za nízkých hodnot pH. Není zde zhodnocen vliv na konkrétní jedince, populace nebo společenstva, pokud by došlo k postupné změně v hodnotě tohoto faktoru. Patrně neexistuje práce, která by se věnovala této problematice u skupiny Rotifera.

V případě jiných hydrobiontů lze však najít popis vlivu měnícího se pH na jejich aktivitu v půdě. V rozsáhlé review Ruska a Marshalla (2000) zabývající se dopadem polutantů rozptýlených v ovzduší na půdní faunu, je také rozebírán dopad kyselých dešťů na Protozoa a Nematoda. V případě půdních prvoků je jejich distribuce i v přirozených ekosystémech značně ovlivněna pH půdy. Nejvýraznější vliv daný náhlou změnou pH lze pozorovat v rámci

prvků skupiny Testacea. I když preferuje kyselější půdy, tak pod vlivem  $\text{pH} \leq 3$  způsobeným kyselými dešti dochází k výrazné redukci nejen populační hustoty, ale i druhové diverzity.

Podobná reakce na půdní pH je popisována u háďátek. Autoři uvádějí, že i když v případě zvýšení acidifikace půdy dochází k celkovému snížení abundance Nematoda, byly pozorovány případy, kdy u acidofilních druhů háďátek došlo vlivem zvýšené acidifikace k nárůstu početnosti. Avšak tento jev byl spojen se změnou struktury společenstva této skupiny. Tato změna je dána s proměnou potravní nabídky pro jednotlivé druhy Nematoda, protože acidifikace má výrazný vliv na půdní mikroflóru. Okyselení má za následek potlačení populací bakterií a tím i pokles početnosti bakteriovorních druhů háďátek a naopak nárůst mykofágických druhů. Stejná příčina je pravděpodobně důvodem proměny společenstev i dalších skupin půdní fauny živící se bakteriemi.

Ačkoliv pH prostředí má nezanedbatelný přímý vliv na aktivitu hydrobiontů. V půdním prostředí hraje důležitou roli i jeho nepřímé působení na život v půdě. V tomto ohledu je významným činitelem vliv pH na mobilitu a bioakumulaci těžkých kovů. Jak uvádí Van Gestel a kol. (1995), pH spolu s organickou hmotou a obsahem jílových minerálů jsou důležitými faktory, které řídí dostupnost a tak i případnou toxicitu kovů pro půdní faunu, protože ovlivňují jejich koncentraci v půdní vodě. Tyto závěry potvrzují například Bogomolov a kol. (1996) ve svém pokusu s umělým půdním ekosystémem, kdy aplikace dávky o koncentraci  $200 \text{ mg} \times \text{kg}^{-1}$  Cu při  $\text{pH} = 6,8$  neměla vliv na abundanci háďátek na rozdíl od aplikace stejné dávky Cu při  $\text{pH} = 4,8$  v pokusu Parmelee a kol (1993), která celkovou abundanci snížila. Tyto odlišné výsledky autoři vysvětlují nižší vazbou mědi k půdním částicím při nižším pH. Stejný vzorec vlivu pH na biodostupnost kovů se ukázal i v případě dalších kovů (Korthals et al., 1996; Smit a kol., 2002).

I když pH a další složky půdy mají velký vliv na biodostupnost těžkých kovů pro půdní faunu. Rozhodujícím parametrem je koncentrace, kterou dané organismy jsou schopny

tolerovat. U hydrobiontů, jako jsou háďátka, kteří jsou aktivní jen v půdní vodě a řada z nich má permeabilní kutikulu je vliv koncentrace xenobiotik, nejen těžkých kovů, o to významnější (Sochová a kol, 2006).

Předchozí tvrzení podporují i Korthals a kol. (2000), kteří uvádějí, že druhy Nematoda žijící v půdní vodě byly zásadně ovlivněny dávkou  $200 \text{ mg kg}^{-1}$  Zn ve srovnání s druhy vyskytujícími se v opadu. Stejní autoři uvádějí i výraznou citlivost půdních háďátek rodů *Thonus*, *Alaimus*, *Aporcelaimellus* na zinek a měď v koncentraci  $50 \text{ mg kg}^{-1}$ , pokud jejich citlivost byla zjišťována v kyselejších písčitých půdách. Což je hodnota, při které není v Nizozemsku tento druh půdy označován jako kontaminovaný (Korthals a kol., 2000). Navíc Korthals a kol. (1996) zjistili, že citlivost k různým koncentracím těžkých kovů se liší nejen v závislosti na životním stadiu, ale i životní strategií. Jako nejcitlivější tito autoři uvádějí predátory a omnivorní nematoda, kteří jsou definováni jako K-stratégové.

Pen -Mouratov a kol. (2008) také popisují velkou odlišnost v abundancích nematod v závislosti na potravní preferenci. V jejich studii sledovali, v některých případech i výrazný, úbytek většiny bakteriovorních druhů v znečištěném prostředí ve srovnání s jinými druhy, zejména v případě fungiovorních háďátek. Tato citlivost bakteriovorních skupin může být dána nepřímým vlivem koncentrace toxických kovů, protože některé skupiny půdních bakterií jsou mnohem citlivější k znečištění než půdní fauna (Giller a kol. 1998). Tento jev byl pozorován v experimentu Ekelunda, Olssona a Johansena (2003), kteří sledovali vliv mědi v různých koncentracích na interakci protozoa-mikroorganismy. V prostředí neovlivněném těžkými kovy docházelo k postupnému navyšování mikrobiální biomasy s vrcholem ve 14 dni pozorování jak v případě gram-pozitivních, tak v případě gram-negativních bakterií, s následným potlačením jejich růstu vlivem spásání prvoky. Při ovlivnění experimentů dávkou mědi o koncentraci od  $1,6$  do  $10 \text{ mg kg}^{-1}$  byl potlačen mikrobiální růst a k snížení abundance mikroorganismů došlo již 14. den. Na protozoa tato koncentrace vliv neměla.

Avšak pokud byla koncentrace mědi postupně zvyšována, tak při koncentraci  $160 \text{ mg kg}^{-1}$  byl již pozorován negativní vliv na výkonnost spásání u prvoků. Při postupném zvyšování koncentrace až k  $1000 \text{ mg kg}^{-1}$ , a tím i vzrůstajícího negativního vlivu na protozoa, docházelo nejen k nárůstu abundance mikroorganismů schopných tolerovat vyšší koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  v prostředí, ale v závislosti na této změně byl také zaznamenána posun ve společenstvu skupiny Protozoa směrem k druhům preferujícím převážně gram-negativními bakterie, které jsou, na rozdíl od gram-positivních bakterií, vůči  $\text{Cu}^{2+}$  více odolné.

Vliv těžkých kovů na Protozoa vykazuje podobný vzorec jaký je nacházen u skupiny Nematoda. Jak uvádějí Ekelund, Olsson a Johansen (2003) půdní prvoci jsou nejvíce citliví k znečištění v období jejich růstu a působení xenobiotik je nejdříve patrné spíše na změně diverzity společenstev prvoků než na celkové abundanci. Právě z důvodu velkých odlišností v citlivosti na znečištění v rámci jednotlivých skupin hydrobiontů je složité porovnávat jednotlivé taxony hydrobiontů navzájem. Navíc, u půdních zástupců želvušek a vířníků je vliv znečištění neprozkoumán. Vodní zástupci Rotifera, především Monogononta, jsou sice z hlediska ekotoxikologického jednou z nejlépe prozkoumaných skupin (Dahms, Hagiwara a Lee, 2010), avšak druhy Bdelloidea, skupiny tvořící největší podíl Rotifera v půdě, které se vyskytují ve vodním prostředí jsou v ekotoxikologických studiích minimálně zmiňovány (Hagen a kol., 2009).

Ačkoliv studií, které se této skupině vířníku věnují, je velmi málo, existují práce, které osvětlují vztah mezi anhydrobiózou a znečištěním. Vliv chloridu rtuťnatého, amoniaku, insekticidu chlorpyrifosu a pentachlorofenolu (PCP) na druh *Philodina* sp., patřícího mezi Bdelloidea, a druh monogonontního vířníka *Brachionus calyciflorus* sledoval Robles-Vargas a Snell (2010). Porovnávali účinek uvedených látek jak u jedinců, kteří prošli anhydrobiózou, v případě *B. calyciflorus* na jedince vylhlé z tzv. klidových vajíček, tak na jedince, kteří nebyly desikací ovlivněny. Výsledky ukázaly, že existuje značná odlišnost mezi sledovanými

druhy v reakci na toxické látky po absolvování anhydrobiózy. V případě *B. calyciflorus* se lišila reakce na chlorid rtuťnatý a amoniak i mezi jedinci vylíhlých z klidových vajíček a jejich následnými generacemi F1 a F2. Nejvyšší rezistenci vůči těmto látkám vykazovala generace F1. Tento výsledek si autoři vysvětlují některými nedostatky v designu experimentu. Odlišnosti byly pozorovány i v případě PCP, kdy nejvyšší toleranci na tuto chemikálii měla individua pocházející z klidových vajíček. Jedinci *Philodina* sp., kteří prošli anhydrobiózou vykazovali vyšší tolerovatelnost ke všem zkoumaným chemikáliím než jedinci, kteří nebyly desikaci vystaveni. Porovnání obou sledovaných druhů bez desikace neprokázalo odlišnosti u žádné ze sledovaných látek. Freckman a kol. (1980) a Jönsson a Guidetti (2001) ve studiích sledujících vliv methylbromidu na háďátko *Aphelenchus avenae*, respektive želvušku *Richtersius coronifer*, navíc poukazují na vysokou tolerovatelnost vůči této chemikálii, pokud byli tito živočichové ve stádiu anhydrobiózy.

Schopnost tolerovat vyšší koncentrace znečišťujících látek nebo vyhnout se znečištění pomocí některého z rezistentních stádií nemusí pro populace půdních hydrobiontů znamenat přežití. Zejména v případě půdy, která představuje velmi komplexní ekosystém, kde působí celá řada jiných environmentálních faktorů, které se mohou výrazně měnit v prostoru i čase. Toto je také důvodem, proč je obtížné zhodnotit působení chemických látek na půdní organismy v terénních ekotoxikologických studiích.

### 3. Materiál a metody

#### 3.1 Sledované lokality

Diplomová práce byla prováděna v severozápadních Čechách v blízkosti města Sokolov na výsypkových haldách vzniklých povrchovou těžební činností v Sokolovské hnědouhelné pánvi. Během těžební činnosti bylo velké množství materiálu překrývajícího ložiska hnědého uhlí odstraněno a uloženo na haldy mimo těžební jámy. Tento výsypkový materiál je složený převážně z třetihorních jíly cyprisové formace (Kříbek a kol., 1998). Nadmořská výška studované oblasti byla okolo 450 až 590 metrů nad mořem. Celkem bylo v této oblasti sledováno 6 lokalit.

L: Lítov (50° 9' 17.40" S, 12°31' 46.20" V), stáří 25 let, půdní profil téměř nevyvinut. V místech tvořených cyprisovými jíly a zapojeného porostu *Calamagostris epigejos* (L.) Roth byla stanovena netoxická plocha. V místech tvořených převážně cyprisovými jíly s příměsí uhelných jíly a nezapojeného porostu *C. epigejos* spolu s mechy byla stanovena plocha přechodová. Toxická místa byla bez vegetace, bez vyvinutého půdního profilu, tvořena uhelnými jíly s příměsí tufitu. Referenční plocha byla stanovena v místě smíšeného listnatého lesa tvořeného především druhy *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. a *Betula pendula* Roth, cca 10 m od výsypky.

Vk: Velká podkrušnohorská výsypka (50° 13' 56.40" S, 12° 39' 5.52" V), stáří 22 let, půdní profil téměř nevyvinut. Plocha tvořená převážně cyprisovými jíly s výskytem *Pinus nigra* Arnold, nezapojeného porostu *C. epigejos* a *Tussilago farfara* L. a mechy byla stanovena jako



netoxická. Přechodovou plochu představovalo místo tvořené třetihorními jíly s příměsí uhelných jíků a tufitu pokryté mechy. Toxická místa byla bez vegetace, bez vyvinutého půdního profilu, převážně tvořena cyprisovými jíly s příměsí uhelných jíků a tufitu.

Ch: Chodov (50° 14' 25.74" S, 12° 43' 25.02" V), stáří 35 let, půdní profil na většině míst dostatečně vyvinutý. Plocha tvořena zapojeným lesem bříz (*B. pendula*) s podrostem zaplněným blíže neurčenými druhy travin a mechu byla stanovena jako netoxická. Přechodová plocha, nacházející se spolu s toxickou plochou uvnitř březového lesa, byla tvořena převážně cyprisovými jíly a zapojeným porostem mechu. Toxická místa byla bez vegetace, s minimálně vyvinutým půdním profilem, tvořena uhelnými jíly s příměsí cyprisových jíků. Referenční plocha byla zvolena v lese bříz, cca 30 m od výsypky.

S: Smolenická výsypka (50° 15' 17.40" S, 12° 44' 13.26" V), stáří 45 let, půdní profil na většině míst dostatečně vyvinutý. Netoxická plocha tvořena zapojeným lesem bříz (*B. pendula*) s podrostem travin a mechů. Přechodová místa byla tvořena převážně cyprisovými jíly. Toxická místa byla bez vegetace, s minimálně vyvinutým půdním profilem, tvořena převážně uhelnými jíly. Referenční plocha byla stanovena mimo výsypku v blízkosti osamocené dubu (*Quercus robur* Linnaeus) cca 200 m od výsypky.

V: Vintřov (50° 14' 12.66" S, 12° 41' 43.38" V), stáří 30 let, půdní profil téměř nevyvinutý. Netoxická místa byla stanovena na části plochy tvořené převážně cyprisovými jíly a zalesněna druhem *Pinus sylvestris* L. Přechodová plocha byla tvořena cyprisovými jíly a zapojeným porostem *C. epigejos* spolu s výskytem mechu. Toxická místa byla bez vegetace, bez vyvinutého půdního profilu, tvořena uhelnými jíly a tufity.

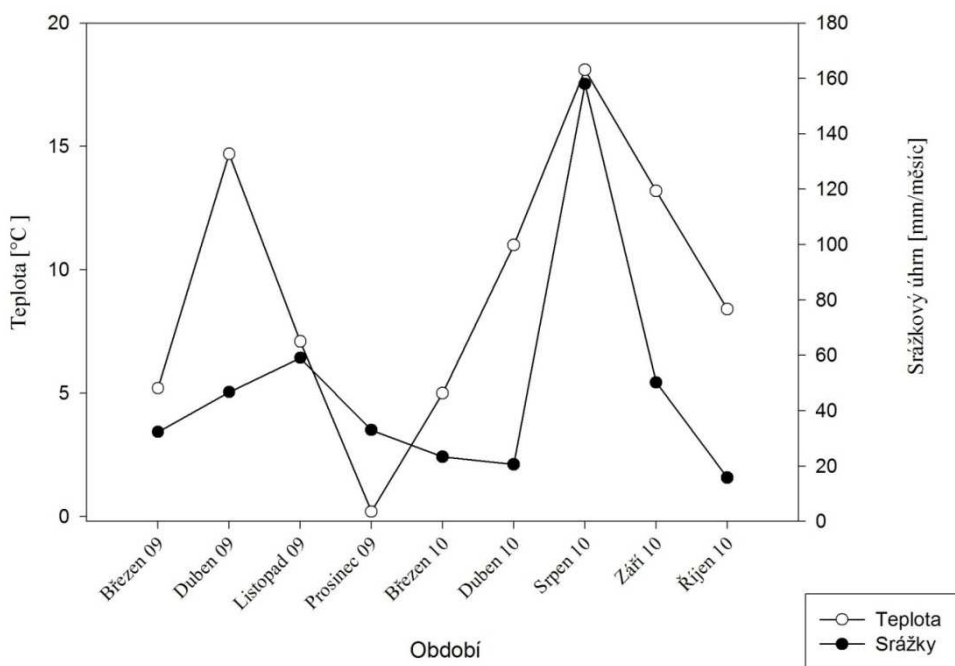
Č: Červená Ema (50° 13' 35.00" S, 12° 36' 51.00" V), stáří 28 let, půdní profil není vyvinut. Netoxická místa byla stanovena na místech tvořených cyprisovými jíly a s výskytem *T. farfara* spolu s mechy. Přechodová místa s výskytem mechu byla tvořena třetihorními jíly a tufity. Toxická místa byla bez vegetace, tvořena především jarositem.

### 3.2 Odběr vzorků

Odběr vzorků byl realizován v letech 2009 a 2010 vždy na jaře a na podzim. Jarní odběry byly provedeny 16.4 v roce 2009 a 24.4. v roce následujícím. Podzimní odběry pak 2.12. v roce 2009 a 15.10. v roce 2010. Odchylna podzimního odběru v roce 2009 byla způsobena nejasnostmi v termínu podzimního výjezdu pracovníků Ústavu půdní biologie AVČR do oblasti Sokolovské uhelné pánve. Průměrné teploty a průměrné srážky v měsících odběrů v jarních obdobích byly 14,7 °C a 46,7 mm - respektive 11 °C a 20,6 mm (na základě údajů z amatérské meteorologické stanice v obci Sokolov - [www.pocasi-volary.cz/volary/stations](http://www.pocasi-volary.cz/volary/stations)),. V podzimních obdobích 7,1 °C a 59,1 mm, respektive 8,4 °C a 15,8 mm (obr. 1). Údaje pro teplotní a srážkový úhrn pro odběr v podzimní období 2009 jsou pro měsíc listopad. Důvodem je podobnost počasí v druhé polovině tohoto měsíce s obdobím na počátku prosince.

Na každé z 6 lokalit byly vytipovány na základě přítomnosti/nepřítomnosti vegetace, skladby substrátu a lokální znalost terénu toxické, přechodové a netoxické plochy. Všechny vzorky v rámci ploch nebyly vzdáleny více než 1 m. Výjimkou byla netoxická plocha na lokalitě Vintřov, která byla od zbývajících dvou vzdálená cca 100 m. Na každé ploše byly odebrány 3 opakování. Na třech lokalitách, v místech neovlivněných výsypkou, byl navíc realizován dodatečný odběr tvořený taktéž třemi opakováními, který sloužil jako referenční. Odběr referenčních ploch byl motivován snahou zaznamenat případné druhy vířníku, které se

nevyskytují ve výsypkových substrátech ve sledovaných oblastech. Nicméně tyto odběry byly spíše orientační. Každý z odběrů byl prováděn sondou pro odběr půdních vzorků o průřezové ploše 10 cm<sup>2</sup>. Každé opakování/vzorek byl umístěn do samostatného umělohmotného pytlíku.



**Obr. 1** - Graf zobrazuje průběh teplot a srážkových úhrnů nejen v obdobích odběru vzorků, ale i v obdobích, které mohly mít vliv na analýzu dat ze získaných vzorků.

### 3.3 Zpracování vzorků

Každý vzorek byl zvážen a promíchán. Následně z něj bylo odebráno 10 g půdy pro extrakci skupiny Rotifera. Extrakce byla provedena na LC extraktoru, který je výkonnější v extrakci vířníků než jsou jiné možné metody pro jejich extrakci (Devetter, 2010). Z každého vzorku bylo dále odebráno 30 g půdy, který byl sušen v sušárně 6 hodin při 105 °C. Rozdíl mezi váhou odběru před sušením a váhou po sušení byl použit pro výpočet množství vody

stanovené v hmotnostních procentech. Vyextrahování vířníci byli počítání a determinování pomocí světelného mikroskopu Leica DM 2500.

Environmentální charakteristiky sledovaných lokalit (tab. 1; příloha v samostatném souboru) byly získány od Doc. Jana Frouze, CSc. Nicméně některé údaje nejsou úplné. Chybí data pro obsah polyfenolů, Al a Fe v případě netoxické plochy na lokalitě Lítov. Navíc, také obsah Cr, Zn, As, Cd a Pb není pro tuto plochu na uvedené lokalitě poskytnut, ale obsah těchto prvků by se neměl příliš lišit od toxické plochy (osobní sdělení J. Frouze). Údaje pro přechodové plochy chybí úplně. Avšak pH, ačkoliv dostupné od Jana Frouze, bylo stanoveno znovu a to přímo pro vzorky odebrané na sledovaných plochách. pH bylo stanovováno pomocí pH metru v roztoku půda-voda v poměru 1:5. Metodiku stanovení dalších parametrů prostředí, s výjimkou kovů Cr, Zn, As, Cd a Pb, uvádějí Frouz a kol. (2005). Cr, Zn, As, Cd a Pb stanovovala Laboratoř geologických ústavů PřF UK v Praze (osobní sdělení J. Frouze).

### 3.4 Analýza dat

Počty jedinců v jednotlivých opakováních získaných z 10 g extrahované půdy byly vztaženy na metr čtvereční přepočtem na váhu vzorku půdy odebrané půdní sondou. Statistické analýzy byly prováděny v programu Statistica 9.0 (*StatSoft*, 2009). Nested-design ANOVA byla použita pro statistické zhodnocení vlivu období a zhodnocení odlišností sledovaných lokalit a ploch. Navíc před provedením této analýzy byla testována průkaznost pomocí Cochran C, Hartley, Bartlett testů homogenity variance na hladině významnosti  $P < 0,05$  a normalita rozdělení.

Korespondenční analýzy (PCA a RDA) byly prováděny prostřednictvím programu CANOCO pro Windows verze 4.5. Lineární metody byly zvoleny na základě doporučení Lepše a Šmilauera (2003). Tito autoři uvádějí, že v případě chybějících dat pro větší množství

Tab. 1 - Environmentální charakteristiky půd studovaných ploch. Voda P a voda J vyjadřují množství vody v půdě v hmotnostních procentech ve dvou obdobích roku. Na podzim (P) a na jaře (J). EC (elektrická vodivost), Polýfenol; Cr, Zn, As, Cd, Pb, Al a Fe odkazují k dostupným formám uvedené složce v aprvku v půdě.

Localita	Plocha	voda P [‰]	voda J [‰]	pH (H <sub>2</sub> O)	EC [µS·cm <sup>-1</sup> ]	polýfenol [mg·kg <sup>-1</sup> ]	org. C [%]	Cr [mg·kg <sup>-1</sup> ]	Zn [mg·kg <sup>-1</sup> ]	As [mg·kg <sup>-1</sup> ]	Cd [mg·kg <sup>-1</sup> ]	Pb [mg·kg <sup>-1</sup> ]	Al [mg·kg <sup>-1</sup> ]	Fe [mg·kg <sup>-1</sup> ]
Litov	Toxická	29 ± 4,994	27 ± 1,676	2,89 ± 0,078	1680 ± 1046	4,7	6,2	1,63	1,00	2,22	0,006	1,58	295	0,85
	Přehod	37 ± 1,588	36 ± 2,068	4,31 ± 0,113	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Šmolenská výšypka	Neotoxic	37 ± 5,068	30 ± 1,548	6,54 ± 0,311	199	-	5	1,63	1,00	2,22	0,006	1,58	-	-
	Toxická	47 ± 4,810	50 ± 3,208	2,56 ± 0,028	131 ± 98	19,60	13,4	1,80	1,52	11,24	0,006	2,38	212	0,85
Chodov	Přehod	54 ± 3,710	47 ± 0,930	4,19 ± 0,050	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Neotoxic	61 ± 3,906	52 ± 3,130	6,86 ± 0,35	106 ± 88	4,60	11,4	2,71	9,41	4,43	0,016	1,77	272	0,3
Velká podkrušdovská výšypka	Toxická	43 ± 1,124	45 ± 4,200	4,08 ± 0,014	282 ± 253	12,70	11,8	1,60	1,07	18,42	0,006	2,23	426,48	1,75
	Přehod	55 ± 0,721	56 ± 2,543	4,07 ± 0,094	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vinituv	Neotoxic	65 ± 1,212	47 ± 1,092	4,55 ± 0,035	80 ± 57	10,10	12,4	1,67	1,36	10,99	0,006	1,77	184,87	2,59
	Toxická	27 ± 0,905	11 ± 0,961	8,22 ± 0,42	114 ± 75	4,60	8,0	1,56	7,01	0,41	0,006	0,98	0,9	0,09
Čarvená F. ma	Přehod	28 ± 1,459	22 ± 4,806	6,73 ± 0,120	115 ± 75	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Neotoxic	29 ± 1,312	28 ± 1,003	7,54 ± 0,361	116 ± 75	4,60	8,0	1,56	7,01	0,41	0,006	0,98	0,9	0,09
Čarvená F. ma	Toxická	31 ± 1,449	31 ± 1,237	3,43 ± 0,441	189 ± 76	5,80	5,4	1,93	5,11	4,70	0,010	1,27	599	0,62
	Přehod	28 ± 2,201	31 ± 1,870	3,63 ± 0,203	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Čarvená F. ma	Neotoxic	29 ± 0,383	33 ± 0,985	8,25 ± 0,04	222 ± 48	0,80	5,6	3,55	6,06	1,58	0,014	2,06	0,9	0,09
	Toxická	47 ± 0,253	41 ± 1,890	2,37 ± 0,05	1230 ± 306	23,70	6,4	1,45	0,41	4,61	0,006	1,53	508	2,94
Čarvená F. ma	Přehod	13 ± 2,850	23 ± 2,671	7,36 ± 0,28	114 ± 75	4,60	8,0	1,56	7,01	0,41	0,006	0,98	0,9	0,09
	Neotoxic	14 ± 0,447	23 ± 2,405	8,33 ± 0,03	219 ± 43	1,70	5,3	3,38	6,32	3,33	0,014	1,67	0,9	0,09

vzorků v matici druhů je nutné použít lineární metody, protože v případě přítomnosti velkého množství prázdných vzorků nemohou být tyto vzorky srovnávány s jinými vzorky pomocí chi-square vzdáleností, které používají pro tvorbu modelu unimodální metody. V matici druhů použité pro korespondenční analýzu v mé diplomové práci bylo 44 % prázdných vzorků. V případě vyloučení přechodových ploch v redundanční analýze (RDA), z důvodu chybějící části dat environmentálních parametrů pro tyto plochy, bylo 42 % prázdných vzorků. PCA byla použita pro stanovení skupin druhů s podobnými preferencemi k prostředí. RDA spolu s funkcí postupného výběru modelu (forward selection) byla použita k zhodnocení kvality každého z potenciálních prediktorů. Permutační test byl zvolen jako omezený pro časovou nebo prostorou strukturu. Důvodem byl odběr vzorků v gradientů toxická až netoxická plocha.

Do redundanční analýzy nemohly být zařazeny přechodové plochy z důvodu chybějících dat většiny environmentálních proměnných. Navíc pro toxickou a netoxickou plochu na lokalitě Lítov byla zvolena stejná environmentální data pro obsah polyfenolů, Fe, Al, Cr, Zn, As, Cd a Pb. Ke všem lokalitám byl zařazen typ vegetace, který byl následně testován v RDA. Důvodem pro tento přístup je fakt, že mnoho druhů vířníku se vyskytuje jak v půdě, tak v meších a lišejnících, které se na některých ze sledovaných ploch hojně vyskytovaly. Pro druhová data byla vždy použita logaritmická transformace. Vegetace (tab. 2) byla kódována jako tzv. dummy variables.

**Tab. 2 -** Kódové označení vegetace v mnohorozměrných analýzách.

0	holá půda
1	mech, lišejníky
2	nezapojený porost Calamagrostis epigejos nebo tusilago farfara s mechy
3	zapojený porost Calamagrostis epigejos
4	nezapojený porost trávín s mechy
5	zapojený porost - traviny
6	les bříz se zapojeným porostem trávín v podrostu
7	nezapojený jehličnatý les

## 4. Výsledky

### 4.1 Chemické vlastnosti lokalit a ploch

Velké odlišnosti sledovaných chemických vlastností byly zaznamenány jak mezi lokalitami, tak mezi plochami (tab.1). Nejvýrazněji se tyto rozdíly projevily v případě pH, konduktivity, obsahu vody, As a polyfenolů.

Na toxických plochách dosahovalo pH hodnot od 2,37 do 8,22, na přechodových plochách od 4,07 do 7,36 a na netoxických plochách od 4,55 do 8,33. Konduktivita na toxických plochách byla v rozmezí 2726 až 29  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ , na netoxických plochách 270 až 32  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Obsah vody v půdě se pohyboval na toxických plochách mezi 10 až 54 %, na přechodových plochách mezi 10 až 58,5 % a na netoxických plochách mezi 20 až 66 %. Na plochách nacházejících se v lese, Chodov a Smolenická výsypka, byl obsah vody celkově vyšší než na plochách ostatních. Výjimkou byla toxická plocha na lokalitě Červená Ema, která se nacházela v bezprostřední blízkosti jezírka, proto je zde obsah vody také relativně vysoký. Obsah polyfenolů se na toxických plochách pohyboval v rozmezí 23,70 až 4,6  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , na netoxických plochách mezi 19,10 až 0,8  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Vyšší hodnoty arzenu byly zjištěny na lokalitě Chodov. Pro toxickou plochu 18,42  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , pro netoxickou plochu 19,99  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Naopak nejmenší zaznamenaná hodnota, 0,41  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , byla na lokalitě Velká podkrušnohorská výsypka. Nejvyšší i nejnižší hodnoty v obsahu hliníku byly zaznamenány na lokalitách Červená Ema a Vintířov.

Relativně nejmenší rozdíl uvedených parametrů byl zaznamenán mezi plochami na lokalitách Velká podkrušnohorská výsypka a Chodov. Naopak velké rozdíly byly mezi plochami na lokalitě Červená Ema.

## 4.2 Abundance vířníků sledovaných lokalit a ploch

Celkové abundance vířníků se lišily jak mezi jednotlivými lokalitami (tab. 3), tak mezi plochami (obr. 2). Abundance byla celkově nejvyšší na netoxických plochách. Nejnižší na plochách toxických. Nejvyšší abundance skupiny Rotifera byla zaznamenána na lokalitách Lítov a Smolenická výsypka. Nejnižší na lokalitě Červená Ema.

V rámci některých sledovaných období byly u většiny lokalit zaznamenány odlišnosti v celkové abundanci vířníků mezi plochami (obr. 2). Zejména u lokality Červená Ema v jarním období a Chodov a Smolenická výsypka v obou sledovaných obdobích. Vliv období však nebyl statisticky průkazný při  $P < 0,05$  při vzájemném porovnání lokalit.

Odlišnosti mezi lokalitami při  $P < 0,05$  byly průkazné v případě přechodových a netoxických ploch. Mnohonásobné porovnání ukázalo, že v případě přechodových ploch byla statisticky průkazná odlišnost nalezena u lokality Vintřův. Statisticky neprůkazné byli v porovnání s touto lokalitou pouze Lítov a Vintřův v podzimním období a Smolenická výsypka v jarním období. V případě netoxických ploch byla statistická odlišnost nalezena u lokality Lítov v jarním období. Vliv období byl statisticky neprůkazný při  $P < 0,05$  v rámci všech lokalit. Většina ploch v rámci jednotlivých lokalit se při  $P < 0,05$  statisticky nelišila. Výjimkou byla netoxická plocha v jarním období na lokalitě Lítov a lokalitě Chodov a přechodová plocha.

v jarním období na lokalitě Vintřův. Na lokalitě Chodov nebyla průkazná odlišnost nalezena u netoxické plochy v jarním období při porovnání s netoxickou a referenční plochou v podzimním období a toxickou plochou v jarním období. Signifikantní odlišnost v abundanci byla nalezena i u netoxické plochy na lokalitě Červená Ema, která se lišila od ostatních ploch sledovaných v podzimním období. Důvodem proč porovnání ploch jak mezi sebou, tak mezi

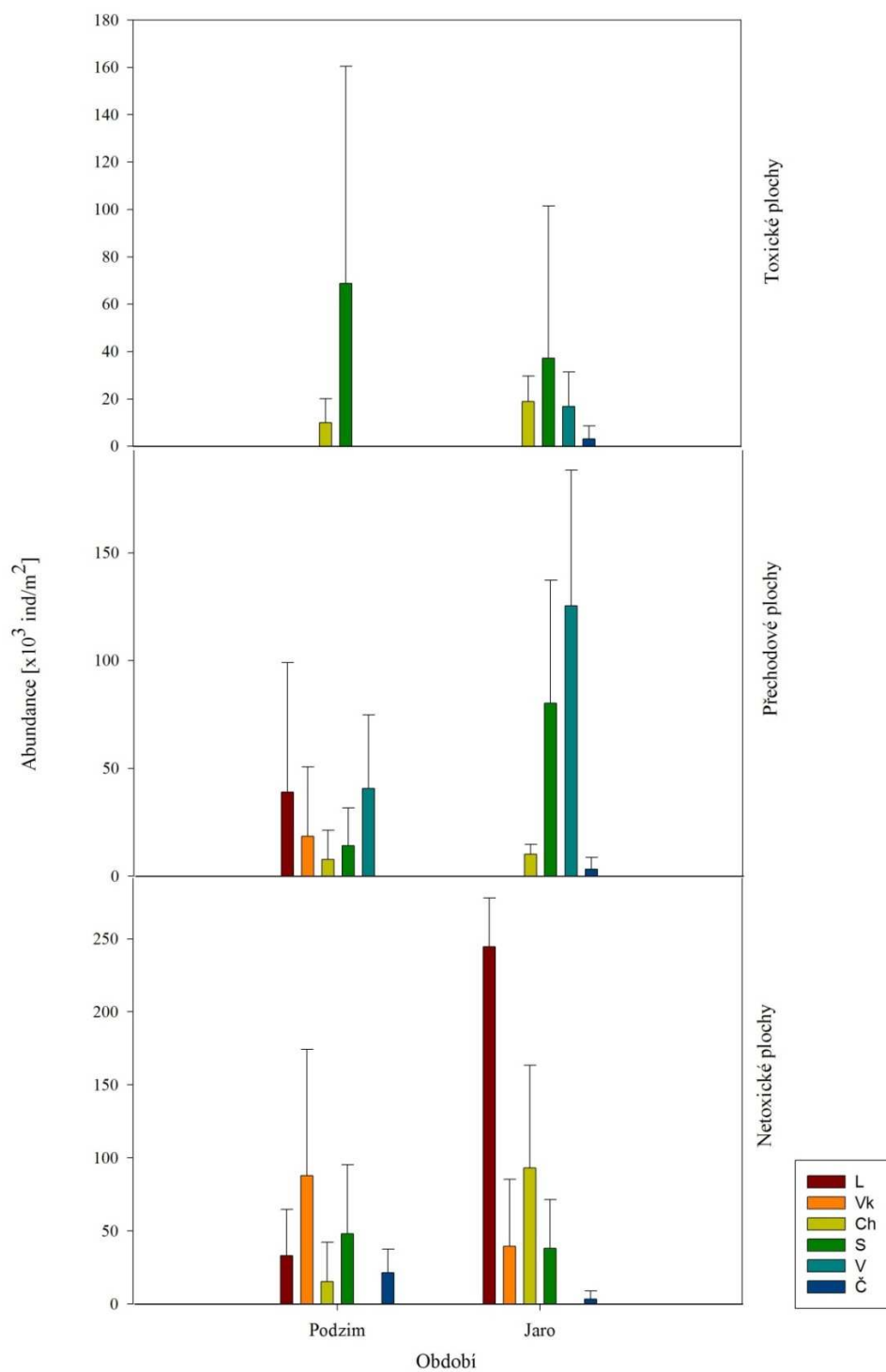


obdobími vyšlo často statisticky neprůkazně, byla nepřítomnost jedinců v některém z 3 opakování, které byly brány na jednotlivých plochách.

Nejvyšší početnost měla Bdelloidea, která byla nalezena na všech lokalitách a plochách. Monogonontní vířníci byly nalezeni v podzimním období na přechodových plochách na lokalitách Vintířov v abundanci 14 260 ind/m<sup>2</sup> a Velká podkrušnohorská výsypka v abundanci 11 130\* ind/m<sup>2</sup> a na netoxických plochách na lokalitách Velká podkrušnohorská výsypka v abundanci 142 030 ind/m<sup>2</sup> a Červená Ema v abundanci 18 560 ind/m<sup>2</sup>. V jarním období byla Monogonta zaznamenána pouze na netoxické ploše na lokalitě Velká podkrušnohorská výsypka v abundanci 99 090 ind/m<sup>2</sup>.

**Tabulka 3.** – Abundance (x10<sup>3</sup> ind /m<sup>2</sup>) na jednotlivých sledovaných lokalitách a plochách. Hvězdička označuje abundance získané přepočtem ze vzorků, ve kterých se nacházel pouze jeden jedinec.

Lokalita	Toxická		Přechod		Netoxická		Referenční	
	Podzim	Jaro	Podzim	Jaro	Podzim	Jaro	Podzim	Jaro
<i>Litov</i>	0	0	117,24	0	99,06	734,30	44,16	100,80
<i>Smolenická výsypka</i>	206,49	115,5	42,68	241,04	144,35	144,48	83,71	100,94
<i>Velká podkr. výsypka</i>	0	0	55,65	0	263,91	118,99	-	-
<i>Chodov</i>	29,80	56,43	23,46	30,62	46,48	279,35	45,97	26,90
<i>Vintířov</i>	0	50,65	121,94	376,23	0	0	-	-
<i>Červená Ema</i>	0	9,50*	0	9,67*	64,34	9,82*	-	-



**Obr. 2** – Srovnání abundancí skupiny Rotifera mezi lokalitami, plochami a obdobími (průměr±SO).

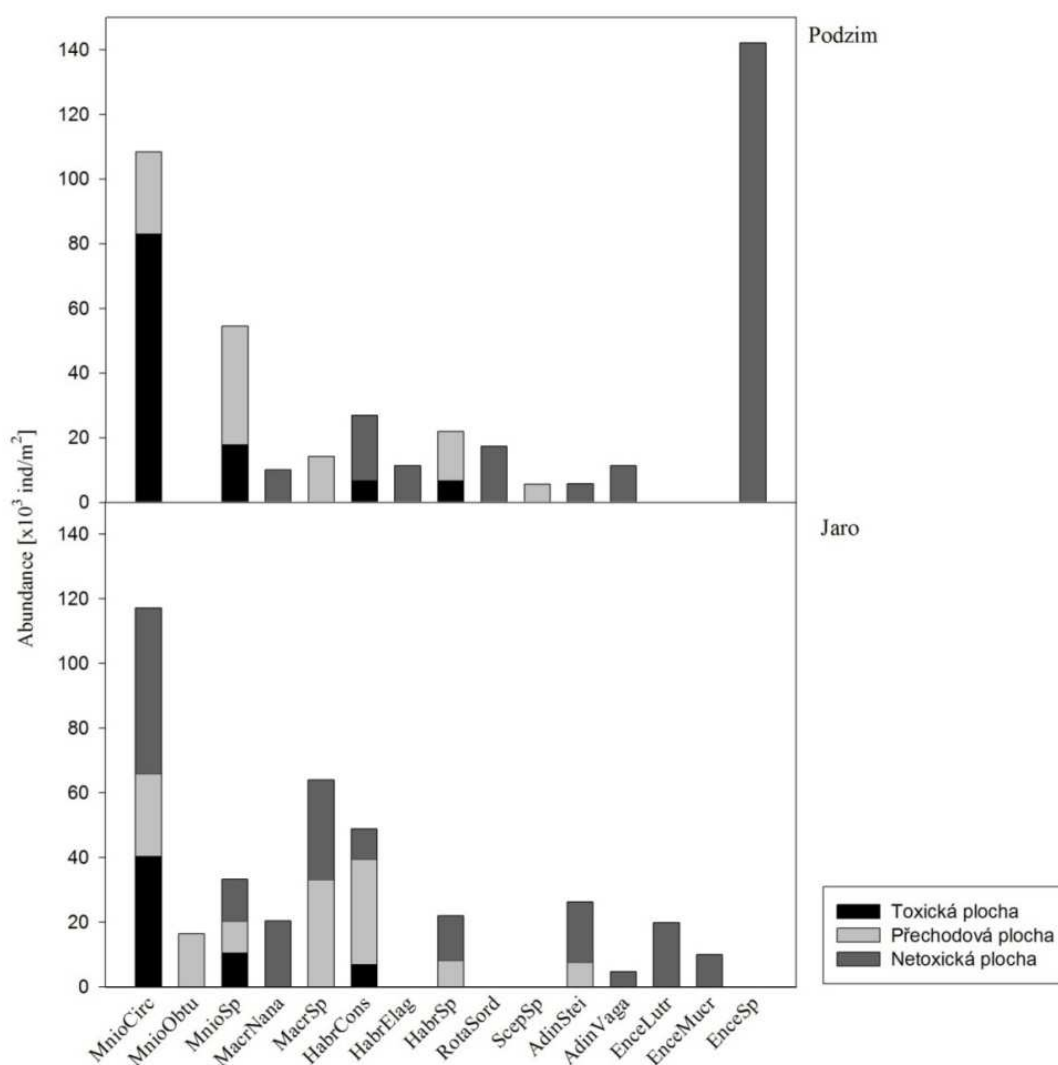
### 4.3 Skladba společenstev vířníků sledovaných lokalit a ploch

Celkem bylo nalezeno 18 druhů vířníků (4 monogontní a 14 bdeloidních). Na všech sledovaných plochách, s výjimkou toxických, byly nalezeny specifické druhy (tab. 4). Specifickými druhy pro referenční plocháchy byly *Encentrum arvicola*, *Ceratotrocha cornigera* a *Habrotrocha scabropyga*. Na všech plochách, nebereme-li v úvahu plochy referenční, se vyskytovala *Mniobia* sp., *M. circinata*, *Habrotrocha* sp. a *H. constricta*. Na referenčních plochách se mimo specifických druhů vyskytovala také *Habrotrocha* sp., *Macrotrachela* sp. a *M. nana*. Nejvíce druhů bylo nalezeno na lokalitách Chodov a Smolenická výsypka. Nejméně na lokalitě Červená Ema. Netoxická plocha byla druhově nediverzifikovanější. V obou sledovaných obdobích se vyskytovalo 8 druhů. *Mniobia obtusicornis*, *Encentrum lutra* a *E. mucronatum* byli nalezeni pouze na podzim. *Habrotrocha elegans*, *Rotaria sordida*, *Scepanotrocha* sp. a *Encentrum* sp. se naopak vyskytovali jen na jaře.

**Tab. 4** – Přehled druhů skupiny Rotifera nalezených na sledovaných plochách, s výjimkou referenční plochy.

Druh	Toxická		Přechod		Netoxická	
	Podzim	Jaro	Podzim	Jaro	Podzim	Jaro
<i>Mniobia circinata</i>	+	+	—	+	—	+
<i>Mniobia obtusicornis</i>	—	—	—	+	—	—
<i>Mniobia</i> sp.	+	+	+	—	—	+
<i>Macrotrachela nana</i>	—	—	—	—	+	+
<i>Macrotrachela</i> sp.	—	—	+	+	—	+
<i>Habrotrocha constricta</i>	+	+	—	+	+	+
<i>Habrotrocha elegans</i>	—	—	—	—	+	—
<i>Habrotrocha</i> sp.	+	—	+	+	—	+
<i>Rotaria sordida</i>	—	—	—	—	+	—
<i>Scepanotrocha</i> sp.	—	—	+	—	—	—
<i>Adineta steineri</i>	—	—	—	+	+	+
<i>Adineta vaga</i>	—	—	—	—	+	+
<i>Encentrum lutra</i>	—	—	—	—	—	+
<i>Encentrum mucronatum</i>	—	—	—	—	—	+
<i>Encentrum</i> sp.	—	—	—	—	+	—

Jednotlivé lokality, plochy a období se lišily v abundancích jednotlivých druhů (tab. 5, obr. 3). Celkově nejpočetnějším zaznamenaným druhem byla *M. circinata*, která také byla nejhojnějším druhem toxických ploch (obr. 3). Nejvyšší abundanci zaznamenanou na jedné ploše a v jediném období mělo *Encetrum* sp. Zároveň představovalo druhý celkově nejpočetnější taxon.



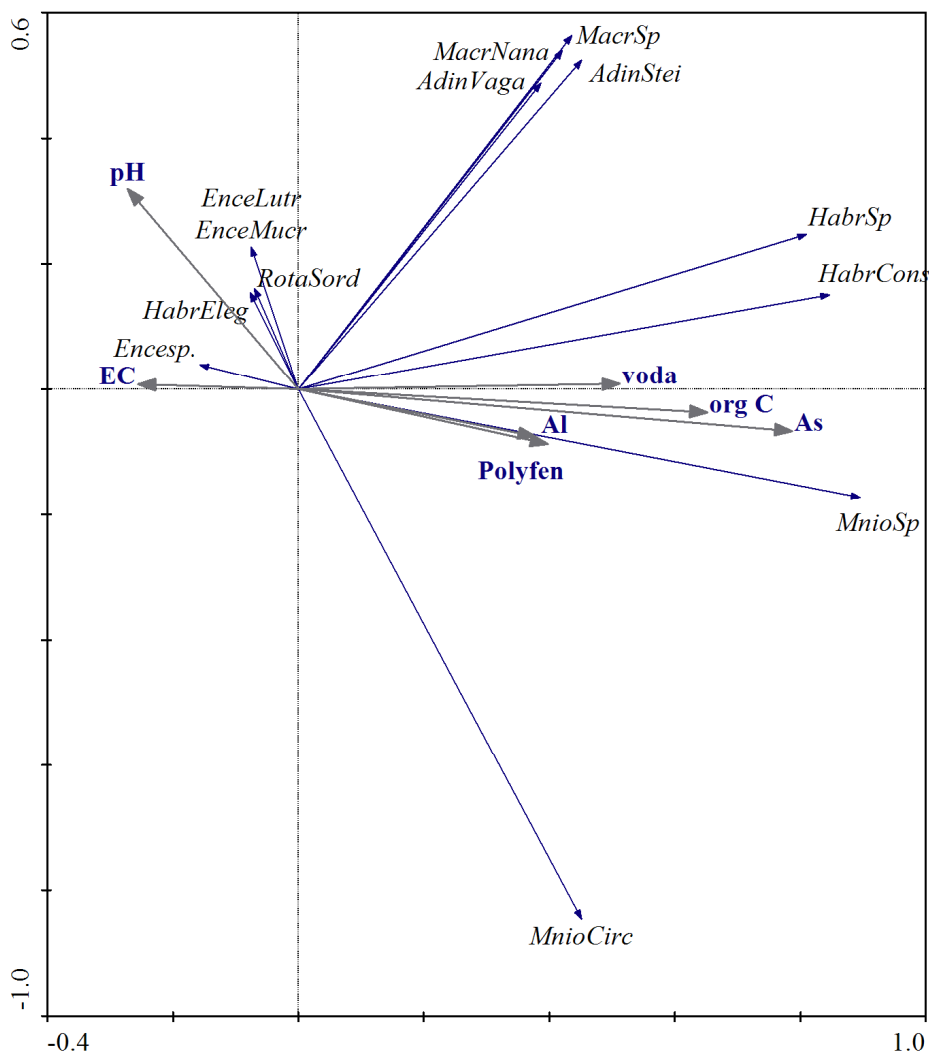
**Obr. 3 – Porovnání druhového zastoupení skupiny Rotifera na jednotlivých plochách s výjimkou referenční.**

**Tab. 5** – Přehled abundance ( $\times 10^3$  ind /m<sup>2</sup>) a výskytu druhů skupiny Rotifera nalezených na sledovaných lokalitách.

Druh	Lokalita	Toxická		Přechod		Netoxická	
		Podzim	Jaro	Podzim	Jaro	Podzim	Jaro
<i>Mniobia circinata</i>	Lítov	-	-	-	-	-	51,35
	Smolenická výsypka	57,02	33,45	-	-	-	-
	Chodov	9,52	7,06	-	-	-	-
	Vintřfov	16,49	-	25,38	-	-	-
<i>Mniobia obtusicornis</i>	Smolenická výsypka	-	-	-	16,52	-	-
<i>Mniobia</i> sp.	Smolenická výsypka	11,23	-	-	-	-	-
	Chodov	6,76	10,63	-	-	-	13,08
	Vintřfov	-	-	36,58	-	-	-
	Červená Ema	-	-	-	9,67	-	-
<i>Macrotrachela nana</i>	Chodov	-	-	-	-	-	4,68
	Smolenická výsypka	-	-	-	-	10,10	15,80
<i>Macrotrachela</i> sp.	Velká podkr.výsypka	-	-	-	-	-	9,95
	Chodov	-	-	-	-	-	20,91
	Smolenická výsypka	-	-	-	24,78	-	-
	Vintřfov	-	-	14,26	8,46	-	-
<i>Habrotrocha constricta</i>	Chodov	6,76	7,06	-	8,15	-	9,36
	Smolenická výsypka	-	-	-	24,30	20,20	-
<i>Habrotrocha elegans</i>	Lítov	-	-	-	-	11,28	-
<i>Habrotrocha</i> sp.	Chodov	6,76	-	-	8,15	-	13,94
	Vintřfov	-	-	15,19	-	-	-
<i>Rotaria sordida</i>	Chodov	-	-	-	-	17,43	-
<i>Scepanotrocha</i> sp.	Smolenická výsypka	-	-	5,61	-	-	-
<i>Adineta steineri</i>	Chodov	-	-	-	-	5,81	18,72
	Smolenická výsypka	-	-	-	7,66	-	-
<i>Adineta vaga</i>	Lítov	-	-	-	-	11,82	-
	Chodov	-	-	-	-	-	4,68
<i>Encentrum lutra</i>	Velká podkr.výsypka	-	-	-	-	-	19,9
<i>Encentrum mucronatum</i>	Velká podkr.výsypka	-	-	-	-	-	9,95
<i>Encentrum</i> sp.	Velká podkr.výsypka	-	-	-	-	142,03	-

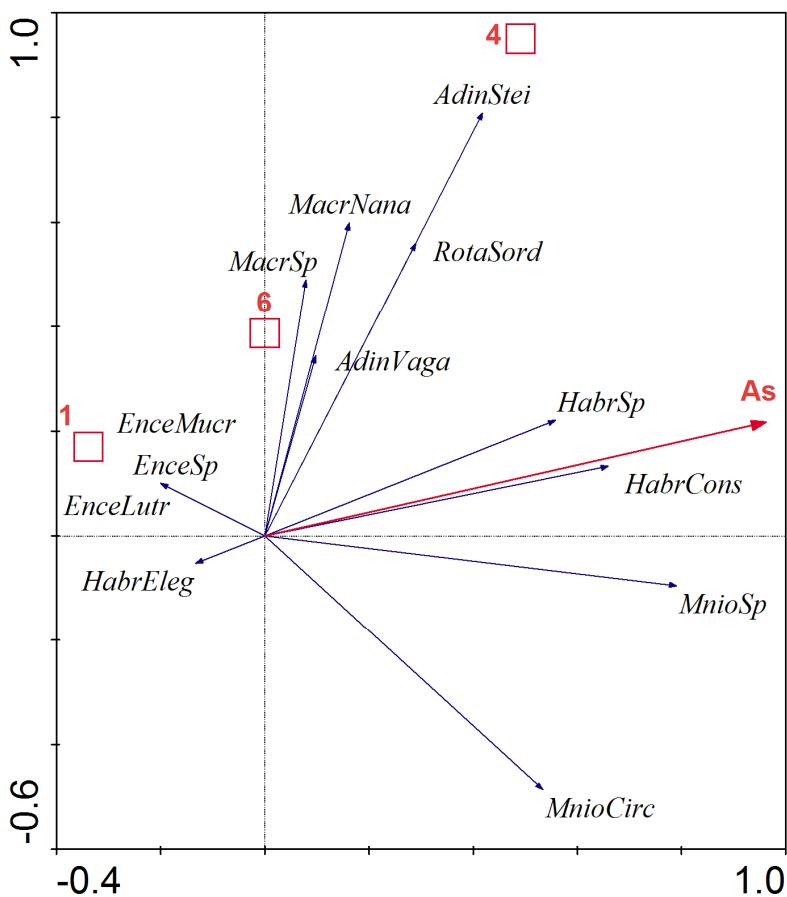
Na základě analýzy hlavních komponent (PCA) lze zaznamenané druhy skupiny Rotifera rozdělit do 4 skupin, u nichž je očekávaná podobná vazba k faktorům prostředí. První ordinační osa v tomto případě vysvětluje 32 % variability. Jako nejdůležitější faktory se na základě literatury jeví být obsah vody, polyfenolů, organického uhlíku, Al a As, konduktivita (EC) a pH. Pokud byla PCA analýza provedena s těmito vybranými podmínkami

prostředí, potom vysvětlilovala 43 % variability (obr.4). Nicméně podle redundanční analýzy (RDA), u nichž byly zahrnuty i vegetační faktory, právě vegetace a z chemických faktorů prostředí pouze arzén společně signifikantně vysvětlují variabilitu společenstev vířníků ( $p = 0,0220$ ,  $F = 4,238$ ). Tyto environmentální proměnné vysvětlují 59,4 % druhové variability. Přičemž první ordinační osa vysvětluje 23,5 % variability. Avšak funkce postupného výběru modelu (forward selection) z těchto vysvětlujících proměnných stanovuje pouze čtyři jako signifikantní (tab. 6).



**Obr. 4** – Analýza hlavních komponent ukazující rozčlenění nalezených druhů do skupin v závislosti na vazbě k možným faktorům prostředí.

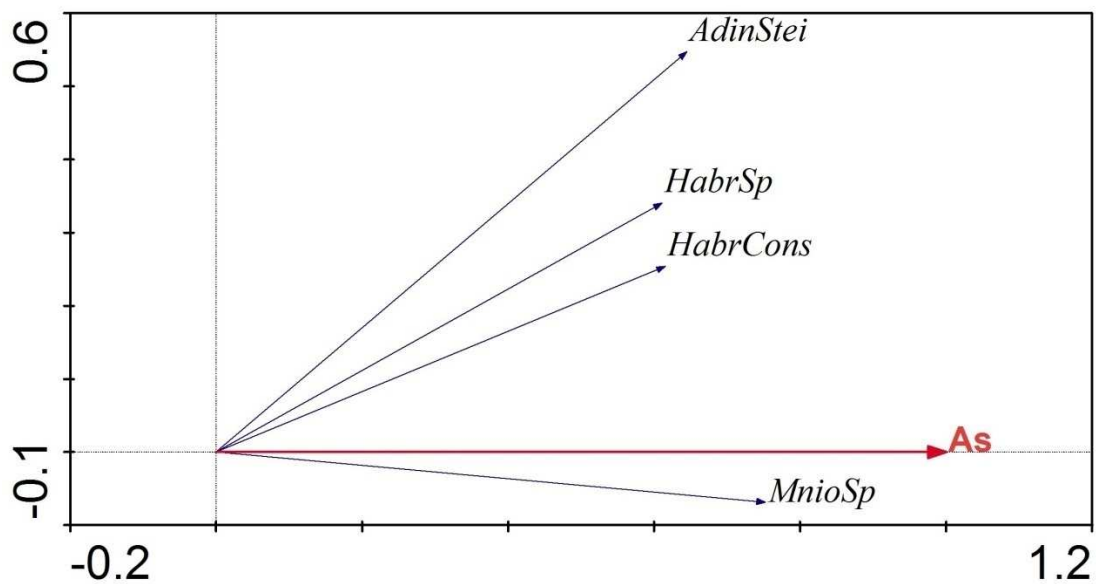
Model založený na RDA ukazuje pravděpodobnou preferenci jednotlivých skupin vířníků k signifikantním environmentálním proměnným (obr. 5), které vysvětlují 54,2 % variability. První osa vysvětluje 22,7 %. Ačkoliv je uspořádání tohoto modelu jiné, ukazují se zde jisté podobnosti s modelem vytvořeným na základě PCA. Ke změnám ve skladbě druhů nedošlo ve dvou skupinách. Důvodem této podobnosti je pravděpodobně výrazná korelace mezi As a první ordinační osou (0,8615) a nezapojeným porostem travin a druhou ordinační osou (0,7080). Velká korelace se ukázala i mezi As a nezapojeným porostem travin (0,6466). Arzén byl také signifikantně ( $F = 6,213$ ,  $p = 0,018$ ) korelován se čtyřmi druhy vířníků, kteří se vyskytují na toxických plochách (obr. 5). První ordinační osa v tomto případě vysvětluje 22 % variability.



**Obr. 5** – Redundantní analýza ukazující vztah jednotlivých druhů k relevantním faktorům prostředí.

**Tab. 6-** Výsledky funkce postupného výběru modelu v RDA

Vysvětlující proměnná	Vysvětlená variabilita	F	p
As arzén	22,0 %	6,599	0,025
4. nezapojený porost trávín s mechy	15,6 %	5,603	0,025
6. les bříz se zapojeným porostem trávín	9,1 %	4,446	0,027
1. mech, lišejníky	7,5 %	4,379	0,046



**Obr. 6** – RDA ukazující druhy, které jsou vysoce korelované s arzémem.



## 5. Diskuze

### 5.1 Kvantitativní a kvalitativní složení společenstev vířníků

Abundance skupiny Rotifera nalezené na studovaných lokalitách a plochách odpovídají abundancím nalezeným na výsypkách Sokolovské uhelné pánve jinými autory (Devetter, 2005; Háněl, 2007; Frouz a kol., 2008). Nicméně odlišnosti lze zaznamenat při pohledu na prostředí, ve kterých byly údaje o množství vířníků získány. Studie Devettera (2005) a Frouze a kol. (2008) jsou zaměřeny na oblast výsypek, která svými parametry prostředí odpovídá jen části ploch zahrnutých do mé diplomové práce – toxické a netoxické plochy na lokalitě Velká podkrušnohorská výsypka, přechodová a netoxická plocha na lokalitě Červená Ema.

Tyto plochy se podobají svými vlastnostmi iniciálním stádiím vývoje uvedených ve zmíněných studiích, které jsou charakterizovány vyšším pH odpovídajícím hodnotám 7-8, nízkým obsahem uhlíku a přítomností vegetace označované jako ruderalní, např. *T. farfara* a *C. epigejos* (Frouz a kol., 2001, 2008). Na těchto iniciálních plochách je v závislosti na přítomnosti a nepřítomnosti vegetace a její druhové skladbě půdní profil nevyvinutý nebo je omezen na vrstvu surového opadu a/nebo na tenkou vrstvu fermentačního horizontu (Šourková a kol, 2005; Frouz a kol., 2008). V těchto počátečních stádiích je půdní fauna tvořena tzv. kolonizátory, kam patří skupiny živočichů s krátkým rozmnožovacím cyklem a schopností tolerovat nepříznivé podmínky (Háněl, 2007). V oblasti sledovaných výsypek jsou v této souvislosti zmiňována především protozoa, zejména skupina Testacea, a Nematoda (Frouz a kol., 2001). Postupným sukcesním vývojem dochází ke snižování pH, postupnému nárůstu organického uhlíku a fermentačního horizontu. V pozdějších stádiích vývoje, který odpovídá mnou sledované netoxické ploše na lokalitě Smolenická výsypka, dochází k dalšímu poklesu pH na hodnotu 6,5 až 5,5, pokračuje zvyšování obsahu organického uhlíku a nově se

vytváří humusový horizont, který je negativně korelován s mocností fermentačního horizontu (Šourková a kol., 2005; Frouz a kol., 2008). Zároveň dochází vedle změny skladby vegetace a půdní fauny a k poklesu mikrobiální biomasy (Frouz a kol., 2008).

Počty vířníků zaznamenané v mé diplomové práci na uvedených plochách však neodpovídají abundancím uvedeným Devetterem (2005) a Frouzem a kol. (2008) v případě postupného nárůstu početnosti se zvyšujícím se stadiem sukcese. Naopak změna v početnosti nebyla zaznamenána na ploše, která svými podmínkami prostředí odpovídala pozdějším stádiím sukcese. Vyšší nebo stejné abundance v počátečních spíše než v pozdějších stádiích sukcese byly v oblasti výsypek na Sokolovsku zaznamenány např. i u Nematoda (Frouz a kol., 2001). Navíc signifikantně vysoké abundance byly zaznamenané na plochách, které svým pH dosahují hodnot 4 – 6,5 odpovídají pozdějším stádiím sukcese, ale celkové podmínky na nich, např. obsah organického uhlíku, mocnost fermentační vrstvy a vegetace, byly podobné iniciálním stádiím sukcese. Do této kategorie patří netoxická a přechodová plocha na lokalitě Lítov a přechodová plocha na lokalitě Vintřov. Podobně nízké pH bylo zjištěno také na plochách, které se nacházely v oblasti s vyvinutou půdou, ale podmínky na sledovaných plochách odpovídaly spíše iniciálním stádiím nebo stadiím sukcese, které Frouz a kol. (2008) označuje jako plochy s hlubokou fermentační vrstvou. Patří sem toxické a přechodové plochy na lokalitách Chodov a Smolenická výsypka. Půdní Rotifera byla nalezena také na plochách s vysokou kyselostí  $\text{pH} \leq 3$ .

Nicméně ačkoliv se zdá, že právě pH by mohlo být jedním z hlavních faktorů ovlivňujícím kvalitativní a kvantitativní složení společenstva vířníků nemusí tomu tak být. Pravděpodobnější je vliv lokálních podmínek - plochy. Tuto domněnku vedle nemožnosti vyčlenit určitý sukcesní vývoj půdních zástupců skupiny Rotifera z mých dat, lze snad potvrdit i RDA modelem, který jako signifikantní proměnné vyčleňuje vliv vegetace a obsah dostupného arzenu, jehož nevyšší zaznamenaná koncentrace není ovšem považována za

toxickou (Anawar a kol., 2006). Průkazný vliv arzénu lze na základě mých znalostí i dostupné literatury těžko blíže interpretovat, i když v RDA modelu s využitím funkce postupného výběru vysvětluje nejvíce variability. Avšak průkazný vliv vegetace, spolu se stabilitou skupin vířníků v PCA a RDA modelu a velkým množstvím vysvětlené variability v RDA, je interpretovatelný a podporuje vliv lokálních podmínek na společenstva vířníků.

Skupina sdružující zástupce patřící do rodu *Encentrum* se vyskytuje pouze na netoxické ploše na lokalitě Velká podkrušnohorská výsypka s vysokým zastoupením mechů v nezapojeném porostu *C. epigejos* a *T. farfara*. RDA model tuto skupinu vyčleňuje jako preferující mechovou vegetaci. Toto zjištění je v souladu s výskytem uvedených druhů rodu *Encentrum* podle Bartoše (1959), který u těchto druhů uvádí výskyt v mechu. Vysoké abundance tohoto rodu na této lokalitě a malá část vysvětlené variability touto proměnnou však mohou naznačovat i vliv jiného faktoru než pouze výskyt mechu. S přítomností vyšších rostlin na této ploše je předpoklad nárůstu v abundanci mikroflóry (Frouz a Nováková, 2004) včetně řas (Mohlová, 2008), která následně může podporovat herbivorní a bakterivorní faunu, včetně vířníků.

Právě vliv lokálních podmínek by odpovídal faktorům jako je například dostupnost potravy, ale i přítomnost predátorů nebo kompetice. Mohlová (2008) věnující se mapování řas vyskytujících se v oblasti výsypek na Sokolovsku, uvádí, že hlavním faktorem ovlivňujícím výskyt zelených řas a sinic na sledovaných místech jsou lokální podmínky, případně toxicita substrátu a nikoliv stáří výsypky. Toto zjištění se jeví být podobné výsledkům mé diplomové práce. Navíc, řada ploch sledovaných v její studii odpovídala mým sledovaným plochám. Nejvyšší abundance řas byly nalezeny, podobně jako v případě vířníků v mé diplomové práci, na plochách s pH neutrálním až mírně kyselým. Z těchto zjištění je možné usoudit, že abundance vířníků na plochách, které Frouz a kol. (2008) označují jako ruderalní, může být ovlivněna přítomností řas. Vyšší abundanci řas na těchto plochách zmiňuje i Frouz a kol.

(2001), kteří navíc uvádějí, že abundance i druhová bohatost řas postupně klesá se sukcesním vývojem výsypek, jak roste zastínění půdy vegetací. Na plochách sledovaných v mé diplomové práci, které se nacházejí v pozdějších sukcesních stádiích - lokality Chodov a Smolenická výsypka - vliv abundance řas pravděpodobně ustupuje a do popředí se dostává vliv abundance mikroorganismů a množství mikrodetritu v půdě.

Množství mikroorganismů a jejich aktivita je na výsypkách pozitivně korelována s dostupným obsahem fosforu, draslíku, uhlíku a dusíku, které jsou nejvyšší na plochách s hlubokým fermentačním horizontem (Baldrián a kol., 2008). S postupným vývojem humusového horizontů a zvyšující se komplexností vegetace abundance mikroorganismů mírně klesá (Baldrián a kol., 2008; Frouz a kol., 2008). Vysoké abundance vířníků nalezené na lokalitě Smolenická výsypka a Chodov mohou být spojeny s přítomností většího množství mikroorganismů, diverzifikovanějším bylinným patrem a vyvinutým humusovým horizontem na těchto lokalitách. Skupina půdních vířníků vyčleněná v RDA modelu do blízkosti nezapojeného porostu travin s mechy a zapojeného porostu travin, které vysvětlují relativně velkou část variability, mohou tuto domněnku podporovat. V rozporu s tímto předpokladem nemusí být ani vysoké abundance nalezené na toxických plochách těchto lokalit.

Druhy vykazující silnou korelací s arzémem se nacházejí také na plochách, kde je velké zastoupení mechu nebo výskyt vyšší vegetace. Spolu s druhem *Mniobia circinata* jsou zmiňovány jako organismy s vazbou na mechové porosty (Bartoš, 1959). Proto je možné, že vyšší výskyt těchto druhů na toxických plochách je dán jejich šířením z oblasti výskytu vegetace do míst, které ačkoliv jsou bez vegetace a potenciálně toxické, mohou být v určitých místech, díky heterogenitě půdního prostředí, pro život příznivé. V této souvislosti bych rád zmínil vysoké abundance želvušek, které byly pozorované na některých lokalitách. Jejich nejvyšší početnost dosahující hodnoty 830 000 ind/m<sup>2</sup> byla zaznamenána na netoxické ploše na lokalitě Velká podkrušnohorská výsypka. Na dalších lokalitách byly nacházeny také na

toxických a přechodových plochách, kde se jejich abundance pohybovala mezi 8500 až 84 800 ind/m<sup>2</sup>. Vzhledem k faktu, že želvušky jsou uváděny jednak jako predátoři skupiny Rotifera a jednak jako živočichové živící se bakteriemi a řasami (Sánchez-Moreno, 2008), může jejich přítomnost společně s vířníky ukazovat na lokální výskyt velkého množství potravy. Odpovídá tak znalostem o půdní mikrofauně, která má vysoce shlukovité rozšíření (Gupta and Yeates, 1997) a podporovat tak předpoklad vlivu lokálních podmínek.

Druhové složení vířníků nalezených na mnou sledovaných plochách se příliš neshoduje s prací Devettera (2005), který se jako jediný věnuje popisu půdních Rotifera ve výsypkových substrátech. Druhové složení se shoduje jen v případě druhů *Mniobia obtusicornis*, *Adineta vaga*, *Adineta steineri* a *Encentrum mucronatum*. Přičemž *A. vaga* a *A. steineri* jsou druhy nacházené často i v jiných prostředích (Bartoš, 1959). Na netoxických plochách v lokalitách Smolenická výsypka a Chodov nalezené druhy *Rotaria sordida* a *Macrotrachela nana* a druh *Ceratotrocha cornigera*, který byl specifický pro referenční plochy, jsou běžně nacházeny v listnatých a smíšených lesích (Devetter, 2007, 2009).

## 5.2 Chemické faktory ovlivňující společenstva vířníků

Environmentální charakteristiky získané od Doc. Jana Frouze, CSc. indikují možnou vysokou toxicitu některých studovaných substrátů zahrnutých v této diplomové práci. Na výsypkách Sokolovské uhelné pánve je toxicita dána především přítomností uhlí v substrátu a vlivem nízkého pH, které je spojeno s vysokou dostupností hliníku (Frouz a kol, 2005). Plochy s těmito vlastnostmi, označované jako toxické, by se měly nacházet na téměř všech lokalitách s výjimkou lokality Velká podkrušnohorská výsypka. Mohlová (2008) uvádí jako nejtoxičtější místo výsypek lokalitu Lítov, kde uhelné jíly mají vedle nízkého pH vysokou

konduktivitu, nízký obsah železa, nedostatek sodíku a draslíku a relativně vysoký obsah hliníku.

Na základě environmentálních dat pro jednotlivé lokality sledované v mé práci se však jako nejtoxičtější jeví být toxická plocha na lokalitě Červená Ema. Důvodem předpokládané vysoké toxicity je vedle nízkého pH, vysokého obsah hliníku a vysoké konduktivity, také relativně vysoký obsah polyfenolů, které mohou mít také inhibující účinky na půdní mikroflóru i faunu (Hättenschwiler a Vitousek, 2000). Frouz a kol. (2005) také uvádějí, že většina toxického vlivu uhlí je nepřímo spojena s vysokým obsahem kovů Se, As, Cd, Cu a Zn. Nicméně, obsah dostupných forem těchto kovů je na všech lokalitách, které jsem sledoval, netoxický (Giller a kol., 1998; Nagajyoti a kol., 2010).

Žádný nález půdních vířníků na toxické ploše lokality Lítov a sporadický nález na toxické ploše lokality Červená Ema by mohl ukazovat i na nepřímý vliv probraných faktorů. Někteří zástupci skupiny Rotifera, i díky schopnosti anhydrobiózy, jsou vysoce odolní vůči jak chemickým, tak fyzikálním faktorům (Jönsson and Guidetti, 2001; Ricci a kol., 2007). Nicméně, i kdyby některá půdní rotifera byla schopna kolonizovat toxické substráty, limitujícím faktorem by v tomto prostředí by mohla být potrava. Mohlová (2008) uvádí, že na toxických plochách lokality Lítov, mimo sporadických výskytů dvou druhů řas, které se zde pravděpodobně uchytily v návaznosti na neúspěšné rekultivační zásahy, nezaznamenala žádnou další přítomnost řas.

Na přechodových a netoxických plochách lokalit Velká podkrušnohorská výsypka a Červená Ema, kde nebyla nalezena žádná Rotifera byl nejpravděpodobnějším limitujícím faktorem obsah vody, který zde byl nalezen v množství, které již omezuje aktivitu hydrobiontů (Bouwman a Zwart, 1994). Relativně velké množství vířníků nalezené na netoxické ploše v podzimním období na lokalitě Červená Ema i přesto, že zde byla půdní vlhkost nízká, může být dán přítomností neaktivních stádií ve vzorcích z tohoto místa.

## 6. Závěr

- Jen malé množství ploch a lokalit se statisticky lišilo v abundancích skupiny Rotifera. Nicméně odlišnost v celkových abundancích je často znatelná jak mezi lokalitami, tak mezi plochami.
- Vliv období nebyl u většiny ploch a lokalit statisticky průkazný.
- Celkem bylo nalezeno 18 druhů vířníků (4 monogonontní, 14 bdelloidních), z nichž 3 byly specifické pouze pro referenční plochy. Abundance jednotlivých druhů i jejich skladba se lišila jak mezi lokalitami, tak mezi plochami. Nejpočetnějším druhem byla *Mniobia circinata*, která zároveň měla nejvyšší abundanci na toxických plochách. V obou sledovaných obdobích se vyskytovalo pouze 7 druhů.
- Průkaznými a největší množství variability vysvětlujícími proměnnými byli vegetace a arzén. Avšak pouze v případě vegetace se podařil její možný vliv interpretovat.
- Vliv chemických faktorů na společenstva vířníků v substrátech hnědouhelné výsypky je spíše nepřímý.

## 7. Použitá literatura

- Anderson, R., V., Ingham, R., E., Trofymow, J., A. and Coleman, D., C. (1984). Soil mesofaunal distribution in relation to habitat types in a short grass prairie. *Pedobiologia* **26**: 257–261.
- Anawar, H., M., Garcia-Sanchez, A., Murciego, A. and Buyolo, T. (2006). Exposure and bioavailability of arsenic in contaminated soils from the La Parrilla mine, Spain. *Environ Geol* **50**: 170–179.
- Arndt, H. (1993). Rotifers as predators on components of the microbial web (bacteria, heterotrophic flagellates, ciliates) - a review. *Hydrobiologia* **255/256**: 231-246.
- Baldrian, P., Trogl, J., Frouz, J., Šnajdr, J., Valášková, V., Merhautová, V., Cajthaml, T. and Herinková, H. (2008). Enzyme activities and microbial biomass in topsoil layer during spontaneous succession in spoil heaps after brown coal mining. *Soil Biology & Biochemistry* **40**: 2107–2115.
- Bartoš E. (1951) The Czechoslovak Rotatoria of the order Bdelloidea. *Vestník Československe společnosti zoologicke* **15**: 241–500.
- Bartoš, E. (1959). *Vířníci – Rotatoria. Fauna ČSR*. Sv. 15, Praha, 969 pp.
- Bengtsson, J. (2002) Disturbance and resilience in soil animal communities. *Eur J Soil Biol* **38**: 119–125
- Bogomolov, D., M, Chen, S-K., Parmelee, R. W., Subler, S. and Edwards, C., A (1996). An ecosystem approach to soil toxicity testing: a study of copper contamination in laboratory soil microorganisms. *Appl Soil Ecol* **4**: 95 –105.
- Bouwman, L., A., Zwart, K., B. (1994). The ecology of bacterivorous protozoans and nematodes in arable soil. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. **51** (1-2): 145-160.
- Brusca and G. J. Brusca. (2003). *Invertebrates*. R.C. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, 936 pp.
- Burger, A. (1948). Studies on the moss dwelling bdelloids (Rotifera) of Eastern Massachusetts. *Trans. am. microsc. Soc.* **67**: 111-142.
- Clement, P. (1993). The phylogeny of rotifers: molecular, ultrastructural and behavioural data. *Hydrobiologia* **255/256**: 527–544.
- Crouau, Y. and Moïa, C. (2006). The relative sensitivity of growth and reproduction in the springtail, *Folsomia candida*, exposed to xenobiotics in the laboratory: An indicator of soil toxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **64**: 115–121



- Davidson-Watts, I., Walls, S. and Jones, G. (2006). Differential habitat selection by *Pipistrellus pipistrellus* and *Pipistrellus pygmaeus* identifies distinct conservation needs for cryptic species of echolocating bats. *Biological Conservation* **133**: 118–127.
- Deneke, R. (2000). Review of rotifers and crustaceans in highly acidic environments of pH values  $\leq 3$ , *Hydrobiologia* **433**: 167–172.
- Devetter, M. (2005). Primary succession of soil rotifer communities on brown coal post-mining area. In: Tajovský, K., Schlaghamerský, J. and Pižl, V. (Ed.) (2007). *Contributions to Soil Zoology in Central Europe II*. České Budějovice: ISB BC AS CR.
- Devetter, M. (2007). Soil rotifers (Rotifera) of the Kokořínsko Protected Landscape Area. *Biologia* **62** (2): 222-224.
- Devetter, M. (2009). Spatiotemporal dynamics of soil rotifers in a South-Bohemian beech forest. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. **44**:1027-1032.
- Devetter, M. (2010). A method for efficient extraction of rotifers (Rotifera) from soils. *Pedobiologia* **53**: 115-118.
- Dolgin, E., S and Charlesworth, B. (2006). The fate of transposable elements in asexual populations. *Genetics* **174**: 817-827.
- Donner, J., (1965). *Ordnung Bdelloidea*. Akademie Verlag., 297 pp.
- Franz, H. (1951), Etat de nos connaissances sur la microfaune du sol. *Ann. Biol.* **27**: 241–252.
- Freckman, D., W., Demeure, Y., Munnecke, D., and Van Gundy, S., D. (1980). Resistance of anhydrobiotic *Aphelenchus avenae* to methyl Bromide fumigation. *J. Nematol.* **12**: 19-22.
- Frouz, J., Keplin, B., Pižl, V., Tajovský, K., Starý, J., Lukešová, A., Nováková, A., Balík, V., Haněl, L., Materna, J., Duker, Ch., Chalupský, J., Rusek, J. and Heinkele, T. (2001). Soil biota and upper soil layer development in two contrasting post-mining chronosequences. *Ecological Engineering* **17**: 275–284.
- Frouz, J., Křišťufek, V., Bastl, J., Kalčík, J. and Vaňková, H. (2005). Determination of Toxicity of Spoil Substrates After Brown Coal Mining Using a Laboratory Reproduction Test with *Enchytraeus crypticus* (Oligochaeta). *Water, Air and Soil Pollution* **162** (1): 37-47.
- Frouz, J., Prach, K., Pižl, V., Háněl, L., Starý, J., Tajovský, K., Materna, J., Balík, V., Kalčík, J. and Řehouňková, K. (2008). Interactions between soil development, vegetation and soil fauna during spontaneous succession in post mining sites. *European Journal of Soil Biology* **44**(1): 109-121.
- Fontaneto, D., M., K., Herniou, E., A. and Barraclough, T., G. (2009). Extreme levels of hidden diversity in microscopic animals (Rotifera) revealed by DNA taxonomy. *Mol. Phylogenet. Evol.* **53**: 182-189
- Garey, J., R., Schmidt-Rhaesa, A., Near, T., J. and Nadler, S., A. (1998) The evolutionary relationships of rotifers and acanthocephalans. *Hydrobiologia* **388**: 83-91

García-Varela, M., Pérez-Ponce de León, G., de la Torre, P., Cummings, M., P., Sarma, S., S. and Laclette J. P. (2000). Phylogenetic Relationships of Acanthocephala Based on Analysis of 18S Ribosomal RNA Gene Sequences. *J. Mol.Evol.* **50**: 532–540.

Garcia-Varela, M. and Nadler, S., A. (2006). Phylogenetic relationships among Syndermata inferred from nuclear and mitochondrial gene sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* **40**: 61–72.

Giller, K., E., Witter, E. and McGrath, S., P. (1998). Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: a review. *Soil Biology and Biochemistry* **30**: 1389–1414.

Gladyshev, E. a. Meselson, M. (2008). Extreme resistance of bdelloid rotifers to ionizing radiation. *PNAS* **105** (13): 5139–5144.

Gupta, V., V, S., R. and Yeates, G., W. (1997). Soil Microfauna as Bioindicators of Soil Health. In: Pankhurst, C., Doube, B., M., Gupta, V., V., S., R. (Eds.), (1997). *Biological Indicators of Soil Health*. CAB International, Wallingford.

Hagen, T., Allinson, G., Wightwick, A. and Nuggeoda, D. (2009). Assessing the performance of a bdelloid rotifer *Philodina acuticornis odiosa* acute toxicity assay. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **82** (3): 285-289

Háněl, L. (2007). Dominant nematodes in the first fifteen years of a primary succession on post-mining clays. In: Tajovský, K., Schlaghamerský, J., Pižl, V. (Ed.) (2007). *Contributions to Soil Zoology in Central Europe II*. ISB BC AS CR, v. v. i., České Budějovice.

Hättenschwiler, S. and Vitousek, P., M. (2000). The role of polyphenols in terrestrial ecosystem nutrient cycling. *Tree* **15** (6): 238-243.

Höhberg, K. and W. Traunspurger (2005). Predator-prey interaction in soil food web: functional response, size-dependent foraging efficiency, and the influence of soil texture. *Biology and Fertility of Soils* **41**(6): 419-427.

Jönsson, K., I. and Guidetti, R. (2001). Effects of Methyl-bromide fumigation on anhydrobiotic micrometazoans. *Ecotox. Environm. Safety* **50**: 72-75.

Kaya, M., De Smet, W., H, Fontaneto D., (2010). Survey of moss-dwelling bdelloid rotifers from middle Arctic Spitsbergen (Svalbard). *Polar Biol.* **33**:833-842.

Kříbek, B., Strnad, M., Boháček, Z., Sýkorová, I., Čejka, J. and Sobalík, Z. (1998). Geochemistry of Miocene lacustrine sediments from the Sokolov Coal Basin (Czech Republic). *International Journal of Coal Geology* **37**: 207–233.

Kobayashi, F., Kofuji, R., Yamashita, Y., Nakamura, Y. (2006). A novel treatment system of wastewater contaminated with copper by a moss. *Biochemical Engineering Journal* **28** (3): 295-298.

Korthals, G., W., A., van der Ende, H., van Megen, T., M., Lexmond, J., E., Kammenga and Bongers, T. (1996). Short-term effects of cadmium, copper, nickel, and zinc on soil nematodes from different feeding and life-history strategy groups. *Applied Soil Ecology* **4**: 107–117.

- Korthals, G., W. Bongers, M., Fokkema, A., Dueck, T., A. and Lexmond, T., M (2000). Joint toxicity of copper and zinc to a terrestrial nematode community in an acid sandy soil. *Ecotoxicology* **9**: 219-228.
- Kutikova, L., A. (2003). Bdelloid Rotifers (Rotifera, Bdelloidea) as a Component of Soil and Land Biocenoses. *Biology Bulletin* **30** (3): 332–336.
- Lavelle, P. and Spain, A., V. (2005). *Soil Ecology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 654 pp.
- Lepš, J. and Šmilauer, P. (2003). *Multivariate analysis of ecological data using CANOCO*. Cambridge Univ. Press, 284 pp.
- Lorenzen, S. (1985). Phylogenetic aspects of pseudocoelomate evolution. In: Conway-Morris, S., George, J., D., Gibson, R. and Platt, H., M., S. (1985). *The Origin and Relationships of Lower Invertebrates*. Clarendon Press, Oxford, 400 pp.
- Maggenti, A., R., Gardner, S., L. and Maggenti, B. (2005). *Online Dictionary of Invertebrate Zoology*. University of Nebraska Lincoln.
- Melone, G., Ricci, C. and Segers, H. (1998). The trophi of Bdelloidea (Rotifera): a comparative study across the class. *Can. J. Zool.* **76**: 1755–1765.
- Min, G-S. and Park, J-K. (2009) Eurotatorian paraphyly: Revisiting phylogenetic relationships on the complete mitochondrial genome sequence of Rotaria rotatoria (Bdelloidea: Rotifera: Syndermata). *BMC Genomics* **10**: 533.
- Mohlová, K. (2008). *Algae and cyanobacteria colonizing toxic soils on coal-mining dumps*, Mgr. Thesis, in English. Faculty of Sciences, The University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic, 32 pp.
- Nagajyoti, P., C. Lee, K., D. and Sreekanth, T., V., M. (2010). Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environ Chem Lett* **8**: 199–216.
- Nielsen, C. (1995). *Animal evolutionary interrelationships of the living phyla*. Oxford University Press, Oxford, 467 pp.
- Parmelee, R., W., Wentzel, R., S., Phillips, C., T., Simini, M. and Checkai, R., T. (1993). Soil microcosm for testing the effects of chemical pollutants on soil fauna communities and trophic structure. *Environ. Toxicol. Chem.* **12**: 1477-1486.
- Pen-Mouratov, S., Shururov, N., and Steinberger, Y. (2008). Influence of industrial heavy metal pollution on soil free-living nematode population. *Environmental Pollution* **152**: 172–183.
- Pociecha, A. (2010). Rotifers as Indicators of Climate Change in the Antarctic Environments. *Papers on Global Change IGBP* **1** (17): 31-41

- Remane, A. (1963). The systematic position and phylogeny of the pseudocoelomates. In: Dougherty, E., C. (Ed.) (1963). *The Lower Metazoa*. Univ. of Calif. Press, Berkeley: 255 pp.
- Ricci, C., N. (1987). Ecology of bdelloids: how to be successful. *Hydrobiologia* **147**: 117 – 127.
- Ricci, C. (1998). Anhydrobiotic capabilities of bdelloid rotifers. *Hydrobiologia* **387/388**: 321–326.
- Ricci, C. and Mellone, G. (2000). Key to the identification of the genera of bdelloid rotifers. *Hydrobiologia* **418**: 73–80.
- Ricci, C. (2001). Dormancy patterns in rotifers. *Hydrobiologia* **446/447**: 1-11.
- Ricci, C. a Caprioli, M. (2005). Anhydrobiosis in Bdelloid Species, Populations and Individuals. *Integr. Comp. Biol.* **45**: 759-763.
- Ricci, C., Caprioli, M. and Fontaneto, D. (2007). Stress and fitness in parthenogens: is dormancy a key feature for bdelloid rotifers? *BMC Evolutionary Biology*, **7**: S9.
- Robles-Vargas, D. and Snell, T., V. (2010). Effects of desiccation on the toxic sensitivity of rotifers. *Hydrobiologia* **652**: 185–193
- Rusek, J. and Marshall, V., G. (2000). Impacts of Airborne Pollutants on Soil Fauna. *Annual Review of Ecology and Systematics* **31**: 395-423.
- Sánchez-Moreno, S., Ferris, H., and Guil, N. (2008). Role of tardigrades in the suppressive service of a soil food web. *Agric. Ecosyst. Environ.* **124**: 187-192.
- Segers, H. (2007). Annotated checklist of the rotifers (Phylum Rotifera), with notes on nomenclature, taxonomy and distribution. *Zootaxa* 2007: 3-104.
- Shiel, R. J. (1995). *A guide to identification of rotifers, cladocerans and copepods from Australian inland waters*. C. R. C. F. E. Identification guide No. 3. Murray-Darling Fresh water Research Centre.
- Schmid-Araya J. M. (1998). Rotifers in interstitial sediments. *Hydrobiologia* **387/388**: 231–240.
- Smit, C., E., Schouten, A., J, Van den Brink, P., J., van Esbroek, M., L., P and Posthuma, L. (2002). Effects of zinc contamination on a natural nematode community in outdoor soil mesocosms. *Arch Environ Contam Toxicol* **42**: 205–16.
- Söhlenius B., Bostrom S., Ingemar Jonsson K. (2004). Occurrence of nematodes, tardigrades and rotifers on ice-free areas in East Antarctica. *Pedobiologia* **48** (4): 395-408.
- Sochova, I., Hofman, J. and Holoubek, I. (2006). Using nematodes in soil ecotoxicology. *Environ Int* **32**: 374–383.

Sørensen, M., V. and Giribet, G. (2006): A modern approach to rotiferan phylogeny: Combining morphological and molecular data. *Mol. Phylogenet. Evol.* **40** (2): 585-608.

StatSoft, Inc. (2010). STATISTICA Cz (Softwarový systém pro analýzu dat) verze 9, [www.statsoft.cz](http://www.statsoft.cz).

Šourková, M., Frouz, J. and Šantrůčková, H. (2005). Accumulation of carbon, nitrogen and phosphorus during soil formation on alder spoil heaps after brown-coal mining, near Sokolov (Czech Republic). *Geoderma* **124**: 203-214.

Van Gestel, C., A., Rademaker, C., J., and van Straalen, N. M.. (1995). Capacity controlling parameters and their impact on metal toxicity in soil invertebrate. In: Salomons, W. and Stigliani, W., M. (Ed.) (1995). *Biogeochemistry of Pollutants in Soils and Sediments*. Springer, Berlin.

Wallace, R., L., Ricci, C. and Melone, G. (1996). A cladistic analysis of pseudocoelomate (aschelminth) morphology. *Invertebrate Biol.* **115**: 104–112.

Welch, M., D., B, Cummings, M., P, Hillis, D., M. and Meselson, M. (2004) Divergent gene copies in the asexual class Bdelloidea (Rotifera) separated before the bdelloidean radiation or within bdelloid families. *PNAS* **101**: 1622-1625.

Welch, D., B., M., Welch, J., L., M. and Meselson, M. (2008). Evidence for degenerate tetraploidy in bdelloid rotifers. *PNAS* **105**: (13): 5145–5149.

Witek, A., Herlyn, H., Ebersberger, I., Welch, D., B., M. and Hankeln, T. (2009). Support for the monophyletic origin of Gnathifera from phylogenomics. *Mol. Phylogenet. Evol.* **53**: 1037–1041.

Zrzavy, J. (2001). The interrelationships of metazoan parasites: a review of phylum- and higher-level hypotheses from recent morphological and molecular phylogenetic analyses. *Folia Parasitologica* **48** (2): 81-103.