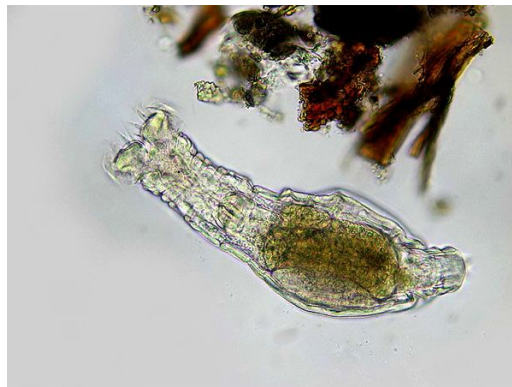


Přírodovědecká fakulta Jihočeské univerzity

Katedra Biologie ekosystémů

Bakalářská práce

Filtrační rychlost a potravní selektivita bdelloidních vířníků (Rotifera)
v půdě.



Vypracoval: Daniela Hlávková

Školitel: RNDr. Miloslav Devetter, Ph.D

Biologické centrum AV ČR

České Budějovice 2011

Hlávková, D. (2011) : Filtrační rychlost a potravní selektivita bdelloidních vířníků (Rotifera) v půdě. [Clearance rate and food selectivity of bdelloid rotifers (Rotifera) in soil.]- 22 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic

This thesis is focused on food selectivity and clearance rate of bdelloid rotifers in soil. There is small information about these creatures and so the work was made with data known for planktonic species (monogononts and bdelloids) and bdelloid species live in the dendrohelms *Habrotrocha thienemanni*. The result is complex of factors affecting the clearance rate and food selectivity of planktonic species that could have a similar role in bdelloids.

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala 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 bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Přírodovědeckou fakultou - 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 21. 4. 2011

Podpis studenta

Poděkování

Ráda bych poděkovala všem, kteří mi jakkoliv pomohli při vytváření této bakalářské práce. V první řadě děkuji svému školiteli Miloslavu Devetterovi rady, připomínky, trpělivost a za to, že mi věnoval část svého drahocenného času. Velké díky patří také rodině a přátelům za podporu.

Obsah

1 Úvod.....	1
2 Charakteristika	1
3 Kvantitativní data.....	4
4 Pokusná potrava	5
4.1 Upravená přírodní potrava	6
4.2 Náhradní potravní zdroj	6
5 Faktory ovlivňující příjem potravy	7
6 Clearance rate	8
6.1 Pokles a nárůst hodnot clearance rate	8
7 Potravní preference	8
7.1 Zaznamenávání množství a kvality potravy.....	9
8 Vlastní pokus	9
8.1 Úvod.....	9
8.2 Metody	10
8.3 Výsledky	11
9 Diskuse	14
10 Zdroje	17
11 Tabulkové přílohy	20

1 Úvod

Bdelloidní vířníci v půdě představují více jak 90% celkové fauny rodu Rotifera. Jejich množství a četnost je závislé na množství vody v biotopu. (Pourriot, 1977). Půdní formy obývají listový opad a horní vrstvu půdy- půdní póry vyplněné vodou (Pourriot, 1979), vlhké mechové polštáře, shluky řas (Pourriot, 1977), skalní pukliny a jezírka vytvořená v dutinách stromů (Thienemann, 1934) nebo jezírka ve skalách zaplněná dešťovou vodou. Půdní vířníci žijí v opadovém materiálu

Vířníci jsou významnou součástí potravního řetězce ve sladkovodním prostředí (Starkweather 1980; Arndt 1993). Pourriot (1977) tvrdí, že bdelloidní vířníci jsou bakteriofágové nebo fytofágové. Někteří žerou jak bakterie vyskytující se v půdě, tak detrit z rozložených rostlin. Monakov (2003) udává, že Bdelloidi jsou mikrofágové, kteří jsou důležitou součástí uhlíkového cyklu v půdě a hrají hlavní roli v konzumaci půdních bakterií.

Potravní selektivita a filtrační rychlost je u vířníků běžně zkoumána a je mnoho prací popisujících výběr potravy a způsob žraní u Monogonontních vířníků. V případě Bdelloidních vířníků platí přesný opak. Pokusy zaměřené na zjištění jejich potravních nároků jsou prováděny jen minimálně. Pokud se vyskytne nějaká studie na bdelloidech, jedná se pouze o druhy žijící ve vodě. O půdních formách ze skupiny Bdelloidea je, ve zmiňované oblasti, velmi málo informací. Hlavním cílem této práce je shrnout dostupné informace o potravních nárocích a selektivitě bdelloidních vířníků.

2 Charakteristika

Vířníci jsou mikroskopické organismy velikosti 100 μ m -1000 μ m (Ooms-Wilms, 1995). V půdě převažují bdelloidní formy (velikosti 200- 400 μ m; Pourriot, 1979), které se liší od monogonontních hlavně dvěma vířivými aparáty v přední části těla. Bdelloidní vířníci v půdě představují více jak 90% celkové fauny Rotifera a to jak v počtu druhů, tak jedinců (Pourriot, 1979). Udává se, že v půdě se vyskytuje až 300.000 jedinců na m² (Franz, 1950). Žijí ve filmu vody, která pokrývá rostliny a

v intersticiální vodě zaplavující zemní póry v hloubce 0- 3cm (Pourriot, 1979). V této hloubce se vyskytuje největší množství organismů, ale jinak se mohou vyskytovat i ve větších hloubkách. Podle Devettera (2009) i ve více než 10 cm hloubky. Četnost a množství těchto zvířat je závislé mimo jiné i na obsahu vody v biotopu (Pourriot, 1979).

Půdní vířníci jsou považováni za důležitou složku půdní mikrofauny, protože hrají významnou roli v mikrobiální potravní síti (Starkweather, 1980). Mechanicky, pomocí mastaxu, zpracovávají potravu, kterou tvoří detrit (Pourriot, 1979), bakterie nebo řasy (Monakov, 2003). Podílí se tak na koloběhu chemických látek v půdě (Pourriot, 1979). Monakov (2003) se domnívá, že velikost přijímané potravy může souviset s velikostí jedince a vlastnostmi vířivého a žvýkacího aparátu. Velikost přijímané potravy závisí na velikosti jedince, velikosti vířivého aparátu a velikosti mastaxu (Monakov, 2003). Každý rod má jiné stravovací parametry a podle způsobu přijímání potravy rozeznáváme tři hlavní skupiny Rotifera (Monakov, 2003):

1. Pohybem brv zvíře vytvoří velký vír, který vede potravu do otevřených úst.
 - planktonní a bentičtí *Pseudotrocha*.
2. Potrava je získávána aktivním chytáním. Kořist je nasáta do mastaxu a posléze rozmělněna.
 - *Asplanchnidae*, někteří *Trichocercidae*, *Synchaetidae*, *Gastropodidae*, *Dicranophoridae*
3. Jednou za čas se rozšíří a otevře infundibulum. Potrava je spolknuta a trávena v žaludku a poté ve střevě.
 - *Paedotrochidae*

Obecně, Rotifera, jsou polyfágové s úzkou potravní škálou – stenofágové nebo euryfágové s širokou potravní škálou. Pokud bychom chtěli tuto skupinu rozdělit podle druhu přijímané potravy, odpovídalo by to podle Monakova (2003) následujícímu uspořádání:

1. Bakteriofágové – *Brachionus calyciflorus*, *B. rubens*, *Anuraeopsis fissa*

2. Trypto-bakteriofágové – *Brachionus angularis*, *Keratella cochlearis*, *Filinia longiseta*, *F. branchiata*, *Kellicottia longispina*, *Anuraeopsis fissa*, *Platyias quadricornis*, *Lophocharis salpina*, *Conochilus unicornis*, *Pompholyx complanata*, *P. sulcata*, *Trichocerca pusila*, *Hexarthra mira*
3. Fytofágové - Fytofágní výživa je součástí potravního spektra. Žádný druh není pouze fytofágní.
4. Zoofágové - *Asplancha*- žíví se: Protozoa, Rotifera, drobní *Crustacea* a jejich juvenilní stádia, *Bacillariophyceae*, *Dinoflagellata*

Ploesoma hudsoni, *P.lenticulare*, *Notommata aurita*, *N. glyphura*, *N. pseudocerberus* – potrava: *Ciliophora*, Rotifera

“cuckoo Rotifera“ – *Trichocerca capucina*, *T. pustula*, *T. stylata*
- potrava: vysávají vajíčka Rotifer a *Keratella*

Dicranophoridae – *Dicranophorus thysanus* – dravec,
živící se *Anomopody*

5. Mikrofágové - potrava do velikosti 10- 12µm

Rody: *Anuraeopsis*, *Keratella*, *Kellicottia*, *Conochilus*,
Filinia, *Pompholyx*

6. Makrofágové - žíví se různě velkou potravou - souvislost vlastního morfotypu a velikosti kořisti.

Brachionus, *Notholca*, *Conochiloides* – do velikosti 17- 18µm

někteří *Collothecidae*, *Bdelloidea* – do velikosti 20µm

Asplanchnidae – závisí na velikosti Rotifer a malých

Crustacea

- *Synchaeta* – potrava může být větší než 50µm

Dicranophoridae

Pokud bychom měli zařadit bdelloidní formy do těchto potravních kategorií, většina z nich by patřila do skupiny bakteriofágů (např. *Habrotrocha thienemanni*) a někteří do skupiny fytofágů (např. *Philodina citrina*). Třetí skupinou by byly formy, které se živí jak bakteriemi, tak detritem (např. *Adineta vaga*, *Philodina roseola*) (Pourriot 1979, Devetter 2006). Ricci, Melone a Walsh (2001) objevili i dravého jedince *Abrotrocha carnivora*.

Podle Monakova (2003) je skupina Bdelloidea mikrofágní skupinou, která získává potravu filtrací půdního roztoku a hraje velmi důležitou roli v konzumaci půdních bakterií, a tak ovlivňuje cyklus uhlíku v půdě.

3 Kvantitativní data

V souvislosti s příjmem potravy se u vířníků používají specifické veličiny. Tyto veličiny slouží k výpočtu kvantitativních dat, která nám dávají informace o množství a rychlosti požívání potravy. Nejdůležitější jsou následující tři veličiny:

1. Rychlost filtrace (clearance rate, CR, $\mu\text{l}^{-1} \cdot \text{ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)

Tato veličina je závislá na kvalitě potravy a významnou měrou je ovlivňována teplotou okolního prostředí. Udává teoretické množství vody, ze které je vyfiltrována potrava organismem za jednotku času, tyto hodnoty se pohybují v rozmezí 1-10 $\mu\text{l} \cdot \text{ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. V mnoha případech je množství vyfiltrované potravy více než desetinásobkem "suché" váhy jedince. V rámci systému a jednotlivých kmenů se tyto hodnoty mohou lišit v řádech několika mikrolitrů a ve výjimečných případech až v řádech mililitrů. Clearance rate se vypočítá ze vzorce:

$$\text{CR} = (M_t - M_0) / C \cdot T$$

- kde M_t je číslo udávající množství požitých částic jedincem, M_0 je množství částic požitých zvířetem ve slepém vzorku (v čase nula), C je koncentrace částic (μl^{-1}) a T je doba filtrace (McManus a Fuhrman 1986).

2. Rychlost pozření (ingestion rate, IR)

Výpočtem ingestion rate získáme informaci o množství pozřených částic jedincem za časovou jednotku. Hodnoty získáme dosazením do vzorce:

$$IR = CR * B$$

- B udává hojnost bakterií, CR je hodnota clearance rate (McManus a Fuhrman 1986).

3. Relativní průměrná denní dávka (relative average daily ration, DR)

Udává poměr váhy pozřené potravy na jednoho konzumenta.

$$DR = (M_t - M_0) / P$$

- kde M_t je číslo udávající množství pozřených částic jedincem, M_0 je množství částic pozřených zvířetem ve slepém vzorku (v čase nula), P- je množství jedinců.

4 Pokusná potrava

K pokusům s potravními návyky a selektivitou se používají různé formy potravy nahrazující potravu vyskytující se běžně v přirozeném prostředí nebo potrava přírodní, která se upravuje tak, aby její množství v trávicím traktu jedince bylo snadno zaznamatelné. V některých studiích, např. v práci Ooms-Wilms, Postema a Gulati (1991), se objevují data, ve kterých je zaznamenáváno časové trvání průchodu částic trávicím traktem živého jedince – doba průchodu střevem. Nejčastěji měřeným údajem je clearance rate a ingestion rate (např. Wallace a Starkweather, 1983; Ooms-Wilms, 1991; etc.). Množství potravy se pak může měnit v závislosti na ztrátách potravy, usazování potravy nebo příčinou poklesu může být buněčné dělení potravního zdroje (Starkweather, 1980) např. u kvasinek, které jsou součástí potravního spektra některých bdelloidních forem. Nejvíce je Bdelloidy preferována potrava v podobě řas a bakterií, nejméně jsou požírány kvasinky (Wallace a Starkweather, 1982). Ooms-Wilms (1997) se podle výsledků své práce domnívá, že bakterie v přírodě jsou pro monogonontní vířníky pouze doplňující zdroj potravy. Jedním ze způsobů jak zjistit důležitost bakterií v potravě vířníků je podle Ooms-

Wilms (1995) porovnání clearance rate nebo rychlostí růstu jedinců v závislosti na příjmu potravy z různých potravních zdrojů. V každém případě jsou vířníci důležitými konzumenty mikrobiální potravní sítě, neboť přeměňují primární (řasy) a bakteriální produkci na formu stravitelnou pro sekundární konzumenty (Ooms-Wilms, 1995) navíc je pravděpodobné, že významným zdrojem potravy pro vířníky jsou bakterie rostoucí v detritu (Ooms-Wilms, 1997).

4.1 Upravená přírodní potrava

Na krmení pokusných zvířat je používáno poměrně velké spektrum laboratorně upravené potravy. Nejčastěji využívanou potravou jsou fluorescenčně upravené bakterie nebo sinice (fluorescenčně označené bakterie - FLB, fluorescenčně označené řasy - FCA). Ty jsou odebrány z přírodních populací a pigmentově upravovány v laboratoři pro následné použití (McManus a Fuhrman, 1986). Nabídka přírodní potravy pokusnému materiálu je lepší z hlediska autentičnosti. Nevýhodou takto upravených částic je, že pokud je v trávicí soustavě okolo deseti anebo více jak deset FLA/ FLB nastává problém s částečným nebo úplným překryvem pozřených řas/ bakterií, který znemožní zaznamenání přesného počtu FLA/ FLB, obzvláště tehdy, pokud se vedle sebe nachází méně a více fluoreskující buňky (Telesh, Ooms-Wilms a Gulati, 1995).

Další možností, jak spočítat jednotlivé částice námi připravené potravy v trávicím traktu, je označení nabízené potravy [methyl-3H]-thymidinem, jako to provedli Ooms-Wilms, Postema a Gulati (1995). Obdobným způsobem se dá využít označení potravy pomocí radioaktivních izotopů. Radioaktivní prvky se používají ve sloučeninách $H_3^{32}PO_4$ (Wallace a Starkweather, 1983) a $H_3^{33}PO_4$ (Bogdan a Gilbert, 1982). Náhradou těchto radioaktivních sloučenin jsou radioaktivní barvy ColorCo v různých barevných provedeních, které ve svém pokusu využili McManus a Fuhrman (1986).

4.2 Náhradní potravní zdroj

Náhradou za přirozený potravní zdroj jsou užívány mikročástice s fluorescenčními vlastnostmi - partikule. Způsob využití partikulí je velmi podobnou metodou, jak zjistit ingestion rate vířníků a zároveň umožňuje porovnání s odlišnými technikami

výzkumu (Ooms-Wilms, Postema a Gulati, 1995). Druhým typem jsou partikule, které mají povrch pokryt bílkovinou BSA (Devetter, 2006), která imituje přírodní potravu. Podle McManus a Fuhrmana (1986) se tyto inertní částice chovají jako přírodní potravu, a tak slouží jako velmi užitečná metoda pro studium několika hledisek v přírodních populacích nejen nano- a mikrop planktonu. Výhodou využívání těchto inertních částic v ekologických studiích je skutečnost, že mohou být použity pro rychlé získání informací o přírodních populacích. Relativně snadno se s nimi zachází a přináší hodnotné informace v oblastech velikostního výběru potravy, využívání chemických podnětů etc. Problémem je, že si nemůžeme být úplně jisti tím, že se částice chovají stejně jako potravu, kterou pokusné organismy požívají v přírodních podmínkách (McManus a Fuhrman, 1986).

Partikule jsou dvojího typu. Prvním typem jsou partikule bez jakéhokoliv bílkovinného obalu (Vadstein 1993, Ronnerberger, 1998). Velikost partikulí se pohybuje v rozmezí 0,5 – 10 μm . Velikost odpovídá různým druhům potravního spektra: nejmenší velikosti 0,5 μm - odpovídá velikosti malých bakterií, velikosti okolo 1,8 μm - větším bakteriím, 6,4 μm - velkým bakteriím, prvokům a dalším organismům a 10 μm je velikost dalších podobných organismů. Co víc, fluorescenční částice velikosti bakterií a větších velikostí jsou užitečné při determinaci druhů efektivně požívajících bakterie. (Ooms-Wilms, 1997)

Podle Ooms-Wilms, Postema a Gulatiho (1995) jsou nejvýznamnějšími požírači partikulí bakterivorní vířníci. Z dalších výsledků se zdá, že rozdíly mezi příjmem potravy fluorescenčně označených bakterií a partikulí jsou pro vířníky druhově specifické a navíc, že výsledné naměřené hodnoty clearance rate jsou silně závislé na druhovém složení potravního spektra - zooplanktonu (Ooms-Wilms, Postema a Gulati, 1995).

5 Faktory ovlivňující příjem potravy

U nakrmeného pokusného materiálu se zkoumá potravní selektivita, která je daná, u monogonontních forem, vlastnostmi žráčích aparátů, jako je velikost vířivého aparátu a mastaxu (Bogdan a Gilbert, 1982). Příjem potravy lineárně roste s časem

do deseti minut a po deseti minutách dochází k obratu a příjem potravy klesá (Ooms-Wilms, Postema a Gulati, 1993). U jednotlivých druhů, zaměřených na určitou potravu, se mohou vyskytnout různé, až extrémní, formy potravních specializací, a to dokonce i v době, ve které je složení potravní nabídky homogenní (Starkweather, 1980). Starší individua, podle Ooms-Wilms (1997), nárokují větší nebo pestřejší druh potravy než mladší jedinci a že se rychlost příjmu potravy dospělců a nedospělých forem se, podle získaných dat, neliší (Ooms-Wilms, 1997).

6 Clearance rate

Významné jevy ovlivňující clearance rate jsou chemické složení prostředí, velikost a tvar jedince, přítomnost bičíkoců, teplota vody a množství požití potravy (Bogdan a Gilbert, 1982). Typ potravy, kterou druh požívá, také ovlivňuje hodnoty clearance rate (Starkweather, 1980). Dalším faktorem ovlivňujícím velikost hodnot clearance rate je množství vyskytující se preferované potravy (Starkweather, 1980). Podle Bogdana a Gilberta (1982) je clearance rate nejvíce závislá na typu požíraných buněk a teplotě okolí.

Hodnota clearance rate se liší jedinec od jedince (Ooms-Wilms, Postema a Gulati, 1995). Obecně udávané hodnoty clearance rate u vířníků, se pohybují v rozmezí $0,1 \mu\text{l}\cdot\text{ind}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ až $50 \mu\text{l}\cdot\text{ind}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (Starkweather, 1980), avšak nejčastější naměřené hodnoty jsou v rozmezí $1-10 \mu\text{l}\cdot\text{ind}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (Ooms-Wilms, 1995).

6.1 Pokles a nárůst hodnot clearance rate

Pokles CR, během krmení, může být zaviněn plným střevem, nebo může klesnout stresem vzniklým přidáním suspenze s potravou do vzorku (Ooms-Wilms, Postema a Gulati, 1991). S postupným a neustálým růstem hustoty potravy se hodnoty clearance rate snižují a k největším poklesům dochází při velmi vysokých koncentracích potravy (Starkweather, 1980). Naopak maximálních hodnot CR při vertikální distribuci dosahují vířníci při hodnotách 1ppm O_2 (Haney, 1973).

7 Potravní preference

Starkweather (1980) se domnívá, že je možné, že v některých situacích se kvalita potravy mění jak nutričně, tak množstevně. Sezónní změny v clearance rate, u různě velkých druhů potravy, mohou souviset se změnami v druhovém složení zooplanktonu (Haney, 1973). Tuto teorii potvrzuje zjištění Ooms-Wilms, Postema a Gulatiho (1995), kteří zjistili, že celková hodnota clearance rate je opravdu velmi silně závislá na druhovém složení potravy. Oproti tomu výběr potravy je nezávislý na změnách ročního období v měnícím se prostředí (Bogdan a Gilbert, 1982). Úměrně roste i výběr z nabízené potravy zároveň s růstem velikosti částic (Vadstein, Øie a Olsen, 1993) a je zajímavé, že rozdíly v clearance rate se zvětšují s klesající velikostí nabízených částic (Vadstein, Øie a Olsen, 1993).

7.1 Zaznamenávání množství a kvality potravy

Změny v množství potravy jsou zaznamenávány nervovými receptory, které vysílají impulzy při srážce s částicemi, a napínajícími se receptory, které zaznamenávají množství požití potravy (Bogdan a Gilbert, 1982). Jak zjistili Bogdan, Gilbert a Starkweather (1980) ve svém pokusu, vířníci jsou pravděpodobně schopni zaznamenat některé větší rozdíly v chemickém složení potravy nebo tvarový rozdíl, který nesouvisí s velikostí nebo povrchovým vzezřením nabízené potravy, oproti potravě běžně dostupné v přírodě. Toto zjištění by mohlo mít vliv na hodnoty naměřené při používání různě upravených partikulí v pokusech, kde se tímto způsobem nahrazuje přírodní zdroj potravy. Tuto skutečnost potvrzují zjištění Ooms-Wilms, Postema a Gulatiho (1995), že zvířata využívají chuť k rozeznávání a výběru – nízké nebo vysoké kvality - potravy. Další schopností, která se u vířníků s velkou pravděpodobností vyskytuje, je schopnost rozeznávat mezi na živiny výhodnými a nevýhodnými částicemi a schopnost rozpoznat toxickou potravou, tato schopnost jim poskytuje konkurenční výhodu (Ooms-Wilms, 1995). Při výběru potravy z širokého spektra zelených řas, využívají schopnosti rozeznání chemických podnětů jednotlivých částic potravy, což může být užitečné především při nízké abundanci potravy (sinic) (Ooms-Wilms, Postema a Gulati 1998). V některých případech se tato zvířata mohou lišit i schopností vstřebávat obtížně stravitelné řasy (Ooms-Wilms, Postema a Gulati 1998).

8 Vlastní pokus:

8.1 Úvod

V tomto pokusu jsem měřila clearance rate (CR) u bdelloidního druhu obývajícího dendrotelmy *Habrotrocha thienemanni* a zároveň zjišťovala preferenci nabídnuté potravy tomuto druhu. Předpokladem bylo, že *H. thienemanni* bude preferovat potravu podobnou potravě ve volném prostředí (bakterie), nebo nebude jevit žádnou selektivitu vůči potravě.

8.2 Metody

Pokusné organismy jsem získala z dendrotelm, dutin s dešťovou vodou a specifickou faunou, v parku Stromovka v Českých Budějovicích. Takto získaný pokusný materiál s druhem *Habrotrocha thienemanni* jsem nechala přivyknout na laboratorní podmínky, především na teplotu v laboratoři. Po této době, asi 12 hodin, jsem rozdělila získaný materiál do dvanácti jednotlivých komůrek po 20ml. Mezitím jsem si připravila roztok destilované vody a fluorescenčních partikulí o velikosti $0,5\mu\text{m}$ a to a) obalených bílkovinou – měly připomínat běžnou potravu volně dostupnou v přírodě a b) bez bílkoviny. Třetí skupina vzorků c) byl slepý vzorek. Od každého byly použity tři pokusné komůrky. Abych získala homogenní roztok, tak jsem partikule zhomogenizovala, protože samovolně vytváří agregáty, pomocí ultrazvukového přístroje. Rozbití jsem provedla dvakrát za sebou po dobu přibližně 2 minut. Do připravených a popsaných vzorků jsem injikovala $100\mu\text{l}$ roztoku partikulí a rozmíchala přidáním 2 ml destilované vody, tím jsem získala stejnou koncentraci v celém vzorku. Organismy nebo vířníky ve slepých vzorcích jsem zahubila hned po přidání partikulí (tzn. v čase $t=0$). Ostatní pokusná zvířata jsem exponovala přidáním partikulím po dobu 5 minut. Po tomto čase jsem experiment zastavila přidáním právě převařené horké vody. Po přilítí horké vody jsem nechala vířníky přibližně 30 minut sedimentovat na dně. Pro zafixování jsem použila 0,5 ml 2% roztoku formaldehydu a počkala 15 minut, než se zvířata usadila na dně misek. Po této době, jsem odebrala ze všech vzorků supernatant do popsaných lahvíček, které jsem uložila do lednice. Supernatant jsem posléze použila na zjištění obsahu partikulí vztažené k objemu vody. Misky se vzorky jsem prohlédla pod stereoskopickým mikroskopem a mikropipetou nabírala zvířata, která jsem přemísťovala je na sklíčka. Z každého

vzorku bylo použito 30 jedinců. Takto připravené vzorky jsem prohlížela pod fluorescenčním mikroskopem a počítala množství partikulí pozřených vířníky. Tyto hodnoty jsem posléze zapsala do tabulky (Tab. I). 300ml odebraného supernatantu jsem podtlakem přefiltrovala v celoskleněné filtrační aparatuře přes membránový filtr, s velikostí pórů 0.2 μm , obarvený pro snížení fluorescence pozadí. Po přefiltrování jsem filtr přesunula na podložní sklička a analyzovala pod fluorescenčním mikroskopem. Z plochy každého filtru, tato plocha činila 12.560mm², jsem náhodně vybrala deset čtverců o velikosti 0,025mm² při objektivu 100. V těchto čtvercích jsem spočítala množství fluorescenčních partikulí obsažených v 300 μl přefiltrovaného supernatantu. Takto získané hodnoty jsem upravila do tabulky (Tab. II). Zbytek materiálu z pokusných komůrek jsem zvážila (Tab. III) a objem doplnila na množství 200 ml. Na takto připravený, zamíchaný vzorek jsem použila limnologickou metodu počítání podvzorků v Sedgewick – Rafterově komůrce. Pipetou jsem odebrala 5ml vzorku a injikovala ho do komůrky s mřížkou. Pod mikroskopem jsem pak spočítala množství jedinců v jednotlivých vzorcích, které jsem zpracovala do tabulky (Tab. III). Z takto získaných dat jsem vypočítala množství individuí v jednom litru kapaliny (Tab. III). Z hodnot v Tab. II jsem vypočítala množství partikulí v jednom mililitru tak, že jsem podělila množství partikulí na filtru filtrovaným objemem násobeným hluchým zvětšením. Abych získala množství vody, v μl , na jednu partikuli, tak jsem převrácenou hodnotu partikulí na ml vynásobila tisícem. Takto získané hodnoty jsem využila k výpočtu clearance rate vířníků v mém pokusu.

Výpočet hodnoty clearance rate (CR) jsem provedla podle následujícího schématu:

$$\text{CR} = (M_t - M_0) / C * T$$

kde M_t je číslo udávající množství pozřených částic jedincem, M_0 je množství částic pozřených zvířetem ve slepém vzorku (v čase nula), C je koncentrace částic (μl^{-1}) a T je doba filtrace (McManus a Fuhrman 1986).

Hodnoty CR pro bílkovinnou potravu a potravu bez bílkoviny jsem statisticky zpracovala pomocí T-testu v programu Statistika.

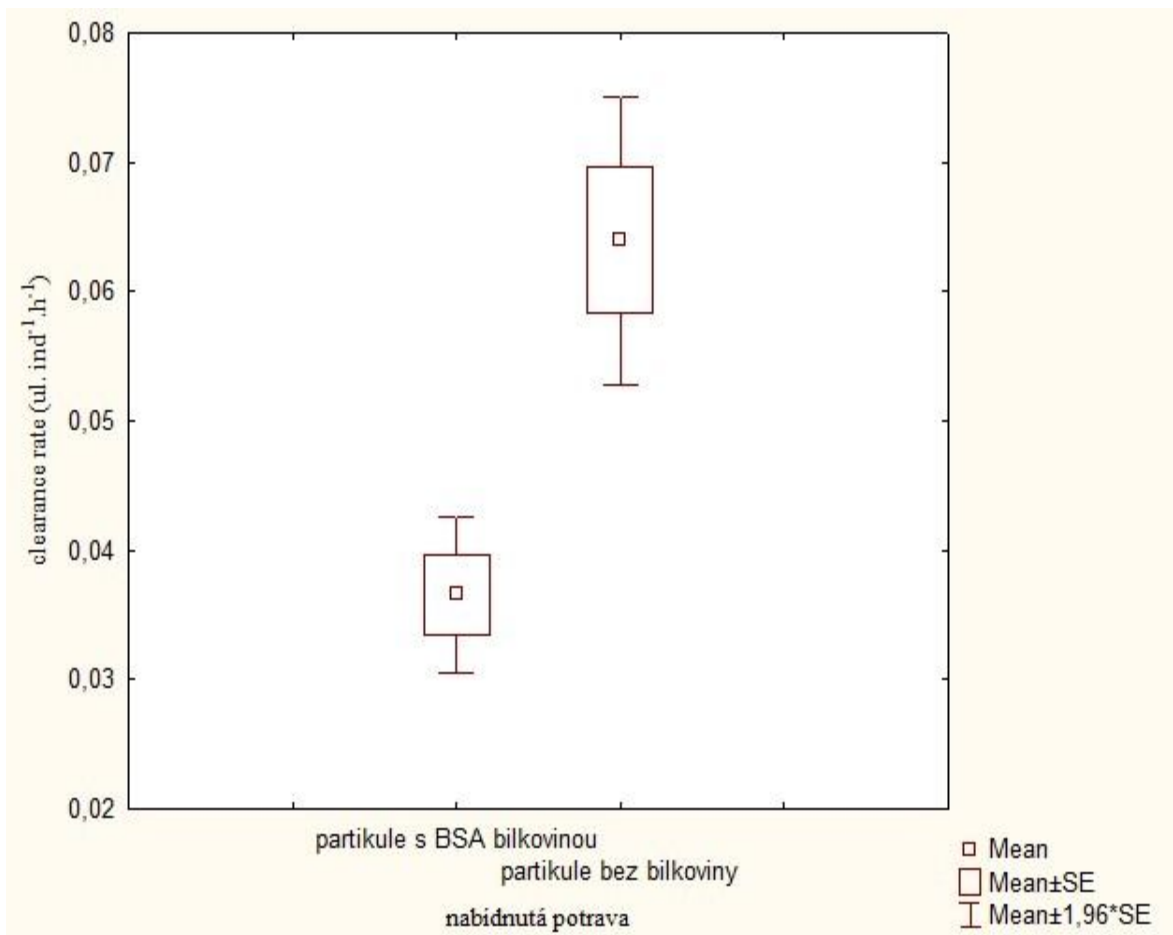
8.3 Výsledky

Hodnoty vypočítané CR pro *Habrotrocha thienemanni* uvedené v tabulce (Tab. IV) ukazují velmi zřejmý rozdíl mezi požíváním fluorescenčních partikulí s bílkovinou a bez bílkoviny. Tyto hodnoty se liší přibližně o polovinu pozřené množství částic.

Porovnáním červených hodnot z tabulky (Tab. IV) jsem dostala následující graf (Graf 1). Z tohoto grafu vyplývá, že clearance rate pro druh *Habrotrocha thienemanni* je nižší pokud jsou zvířata krmena fluorescenčními kuličkami obalenými bílkovinou (BSA). Naopak při krmení zvířat fluorescenčními kuličkami bez bílkoviny byla naměřena větší clearance rate (Tab. V).

Tab. V: Vypočítané hodnoty clearance rate pro bílkovinnou potravu a bez bílkovinné potravu.

BSA Bílkovina	clearance rate $\mu\text{l}/\text{ind}/\text{hod}$
1	0,038
2	0,041
3	0,031
Bez bílkoviny	
1	0,053
2	0,072
3	0,067



Graf 1: Porovnané hodnoty vypočtené CR pro BSA bílkovinné partikule a CR pro partikule bez bílkoviny pro druh *Habrotracha thienemanni*.

9 Diskuze

Půdní formy vířníků jsou problémovou skupinou výzkumu. Oproti skupině Monogononta je u skupiny Bdelloidea jen velmi málo informací o potravních preferencích a jejich role v půdě a systému není dobře zmapována (Wallace a Starkweather, 1982). Co víc, postupně jsou objevovány nové potravní strategie, jako v případě dravého bdelloida *Abrochtha carnivora* objevenou Ricci, Melone a Walsh (2001).

U sladkovodních druhů monogonontních forem je velikost CR běžně měřena. Obecně se tyto hodnoty pohybují v rozmezí 1-10 $\mu\text{l. ind}^{-1}.\text{h}^{-1}$ (McManus a Fuhrman 1986). U většiny zkoumaných druhů byly naměřeny hodnoty do 5 $\mu\text{l. ind}^{-1}.\text{h}^{-1}$. Například u planktonního druhu *Filinia longiseta* naměřili Ooms-Wilms, Postema a Gulati (1993) CR mnohem menší než 1 $\mu\text{l. ind}^{-1}.\text{h}^{-1}$ (0,179 $\mu\text{l. ind}^{-1}.\text{h}^{-1}$). Podobných

hodnot bylo naměřeno i v pokusu Wallace a Starkweathera (1982) na druhu *Lecane* sp. Naopak vysoké hodnoty clearance rate byly naměřeny u druhu *Brachionus calyciflorus* $10 \mu\text{l ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ (Wallace a Starkweather, 1982) a *Keratella cochlearis* $6 \mu\text{l ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ (Ooms-Wilms, Postema a Gulati, 1991). V případě druhu *Brachionus calyciflorus* byla jako potrava nabídnuta bakterie rodu *Enterobacter* a v druhém případě druhu *Keratella cochlearis* fluorescenčně označená řasa rodu *Chlorella*. Obě nabídnuté potraviny jsou přibližně stejně velké- *Chlorella* 2- $10 \mu\text{m}$ (wikipedia.org, duben 2011), a *Enterobacter* 1- $6 \mu\text{m}$ (wikipedia.org, leden 2011). Z toho vyplývá, že tyto dva živočichové mají podobné potravní nároky, co se týče velikosti potravy a jsou schopni tuto potravu poměrně velmi rychle zpracovávat. Pokud bychom spočítali, jaké množství vody přefiltruje druh *Habrotrocha thienemanni*, při průměrné hodnotě CR $0,064 \mu\text{l ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, došli bychom k číslu $60.762 \mu\text{l l}^{-1} \cdot \text{den}^{-1}$. Z tohoto čísla se dá usuzovat, že vířníci tvoří v prostředí dendrotelm významného činitele, který tvoří silný selekční tlak na potravní zdroj. Navíc, pokud bychom tyto hodnoty převedli na planktonní druhy, u kterých byly naměřeny hodnoty CR okolo $5 \mu\text{l ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, tak by to znamenalo, že ve sladkovodním prostředí je schopno 50.000 jedinců přefiltrovat 12 l vody na litr za den.

Statistika udává, že mnou naměřené hodnoty (Tab. IV) jsou platné při hodnotách $df = 4$ a $p = 0,013$. Z hodnoty p, která činí 1,3% vyplývá, že můj předpoklad, že potrava s bovine serum albumin (BSA) bílkovinou bude konzumována více nebo stejně jako potrava bez bílkoviny, se nepotvrdil. Z výsledků pokusu jednoznačně vyplývá, že potrava bez bílkoviny byla konzumována ve větší míře než s BSA bílkovinou. V porovnání s prací Wallace a Starkweathera (1983), kteří v pokusu, s blíže neurčeným bdelloidním druhem odebraným z malého rybníka, naměřili hodnotu CR $1,2 \mu\text{l ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ jsou mé hodnoty nízké. Další práce, ve které se objevily výsledky měření CR je studie od Ermana (1956), který u druhu *Philodina roseola* naměřil hodnoty CR $0,88 \mu\text{l ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Posledním pokusem prováděným na tomtéž druhu *H. thienemanni*, byly naměřeny hodnoty CR $3,79 \mu\text{l ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ pro BSA bílkovinu a $2,32 \mu\text{l ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ pro potravu bez bílkoviny (Devetter, 2006). Je zajímavé, že v pokusech na stejném druhu, je tak velký rozdíl v hodnotě CR. Jedním z možných vysvětlení, proč je má hodnota nižší, je teplota, při které byla

zvířata krmena. V mém pokusu byla zvířata krmena při pokojové teplotě (22-23°C). Podle Bogdana a Gillberta (1982) teplota vody, ve které se zvířata vyskytují, ovlivňuje rychlost CR. Dalším možným faktorem, který mohl mít vliv na hodnotu CR, je množství potravy (Bogdan a Gillbert, 1982).

Zajímavým výsledkem je výběr potravy bez bílkoviny, která je velmi odlišná od v přírodě se vyskytující potravy- bakterií. Ooms-Wilms, Postema a Gulati (1995) se domnívají, že při krmení je důležitým faktorem "chuťová selektivita" tzn. výběr mezi kvalitní a méně kvalitní potravou. Ooms-Wilms (1995) zjistila, že planktonní vířníci jsou schopni rozeznat rozdíly mezi živými a mrtvými řasami. U bdelloidních vířníků bohužel nejsou známy žádné příčiny, které by jak negativně, tak pozitivně ovlivňovali příjem potravy a ani žádné parametry, podle kterých by byla potrava vybírána. V tomto případě by přicházela v úvahu možnost, že vířníci jednoduše nežerou BSA bílkovinnou potravu, protože se domnívají, že zmíněná potrava vypadá jako v přírodě mrtvé bakterie. V dalších možných vysvětleních by mohly hrát roli metodologické problémy v pokusu. Například nerovnoměrné rozložení fluorescenčních částic v pokusných vzorcích, nebo stres zvířat vyvolaný mícháním po přidání částic nebo vyplavení při fixaci jak bylo zaznamenáno ve studii Sierackiho et al.(1987) na pokusu s bičíkovci. Tento stres by pak měl za následek i nízké hodnoty naměřené CR.

Příčiny, které ovlivňují rychlost pohlcování u monogonotních vířníků mohou být zapříčiněny anatomickými vlastnostmi aparátu (Bogdan a Gilbert, 1982) jako se ukázalo v pokusu Bogdana, Gilberta a Starkweathera (1980). Dalšími prokázanými faktory ovlivňujícími clearance rate jsou kvalita potravy, velikost a tvar potravy (McManus a Fuhrman, 1986), množství vyskytující se potravy (Starkweather, 1980). Starkweather (1980) popisuje, že hodnoty clearance rate, u planktonních druhů, klesají s rostoucí hustotou potravy a největší změny jsou zaznamenávány při vysokých koncentracích. Dalším možným faktorem ovlivňujícím clearance rate jsou podmínky, ve kterých se tyto živočichové zrovna nacházejí např. teplota okolní vody (Bogdan a Gilbert, 1982). Zdá se, že tento faktor je důležitým činitelem také u bdelloidních vířníků. Což bylo potvrzeno pokusem, ve kterém byla clearance rate zkoumána ve dvou různých teplotních podmínkách (Devetter, 2006).

Ze zatím sebraných dat vyplývá, že o potravní selektivitě, faktorech ovlivňujících příjem potravy a potravních návycích u monogonontů je známo poměrně hodně informací. Ačkoliv stále je poměrně málo dat mapujících nabízený umělý potravní zdroj v laboratorních podmínkách, partikule. Zatím se zdá, že u většiny monogonontních forem není žádný rozdíl v požívání těchto částic, nebo dochází k odmítání této potravy (Ooms-Wilms, Postema a Gulati, 1993). Preference tohoto zdroje oproti přírodnímu zdroji, kterou se podařilo objevit u druhu *Filinia longiseta* v pokusu Ooms-Wilms, Postema a Gulati (1993), je zatím překvapujícím výsledkem. V mém pokusu s bdelloidním vířníkem z dendrotelm *Habrotrochou thienemanni* taktéž vyšlo, že tito bdelloidi požírali partikule více, než imitaci živé potravy BSA partikule. Tento fakt, by mohl být dobrým začátkem v další práci s těmito vířníky. Nicméně je nutné získat více dat a informací o potravních návycích a potravní selektivitě těchto organismů.

10 Zdroje

1. Arndt H (1993) Rotifers as predators on components of the microbial web (bacteria, heterotrophic flagellates, ciliates) - a review. *Hydrobiologia* 255/256: 231-246
2. Bogdan KG, Gilbert JJ (1982) Seasonal patterns of feeding by natural populations of *Keratella*, *Polyarthra* and *Bosmina*: clearance rates, selectivities and contributions to community grazing. *Limnology and Oceanography* 27: 918- 934
3. Bogdan KG, Gilbert JJ, Starkweather PL (1980) In situ clearance rates of planctonic rotifers. *Hydrobiologia* 73: 73- 77
4. Devetter M (2009) Clearance rates of the bdelloid rotifer, *Habrotrocha thienemanni*, a tree-hole inhabitant. *Aquatic Ecology* 43: 85- 89
5. Devetter M (2009) Spatiotemporal dynamics of soil rotifers in a South-Bohemian beech forest. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 44/ 8: 1027-1032
6. Erman LA (1956) Feeding habits of Rotifera from the quantitative aspect. *Zool. Zh.*, 35: 965- 971
7. Franz H (1950) *Bodenzoologie als Grundlage der Bodenpflege*. Berlin Akademie Verlag., 316p.
8. Haney JF (1973) An in situ examination of the grazing activities of natural zooplankton communities. *Archiv für Hydrobiologie* 72:87- 132
9. McManus GB, Fuhrman JA (1986), Bacterivory in seawater studied with use of inert fluorescent particles. *Limnology Oceanography* 31: 420- 426
10. Monakov B. (2003), Feeding of Freshwater Invertebrates. *Kenobi Productions Rotifers* 39-56

11. Ooms-Wilms A. (1995), On the food uptake and population dynamics of rotifers in a shallow eutrophic lake. Private issue, Netherlands
12. Ooms-Wilms A, Telsh IV, Gulati RD (1991) First attempt to measure the clearance rate of *Anuraeopsis fissa*. Verh. Int. Ver. Limnology 24: 742-744
13. Ooms-Wilms A (1991) Ingestion of fluorescently labelled bacteria by rotifers and cladocerans in Lake in Loosdrecht as measure of bacterivory: preliminary results. Memorie dell'istituto italiano di Idrobiologia 48: 269-278
14. Ooms-Wilms A, Telsh IV, Gulati RD (1993) Clearance rate of bacteria by the rotifer *Filinia longiseta* (Ehrb.) Measured using free tracers. Hydrobiologia 255/256: 255- 260
15. Ooms-Wilms A, Telsh IV, Gulati RD (1995) Use of fluorescently labelled algae to measure the clearance rate of the rotifer *Keratella cochlearis*. Freshwater Biology 33: 349- 355
16. Ooms-Wilms A (1997) Are bacteria an important food source for rotifers in eutrophic lakes? Journal of Plankton Research 19: 1125- 1141
17. Ooms-Wilms A, Telsh IV, Gulati RD (1999) Population dynamics of planktonic rotifers in Lake Loosdrecht (The Netherlands) in relation to their potential food and predators. Freshwater Biology 42: 77- 97
18. Ronneberger D (1998) Uptake of latex beads as size-model for food of planktonic rotifers. Hydrobiologia 387/388: 445–449
19. Pourriot R (1979) Rotifères du sol. Rev. Écol. Biol. Sol 19/2: 279- 312
20. Sieracki ME, Haas LW, Caron DA, Lessard EJ (1987) Effect of fixation on particle retention by microflagellates: underestimating assemblage in a reservoir. Mar. Ecol. Prog. Ser. 38: 251- 258
21. Starkweather PL (1980), Aspects of the feeding behaviour and trophic ecology of suspension – feeding rotifers. Hydrobiologia 73: 63-72
22. Telsh IV, Ooms-Wilms A, Gulati RD (1995) Evaluation of bacterivory of Rotifera based on measurements of in situ ingestion of fluorescent particles,

including some comparisons with Cladocera. *Journal of Plankton Research* 17: 1057- 1077

23. Thienemann A (1934), Die Tierwelt der tropischen Pflanzengewässer. *Arch. Hydrobiol. (suppl.)*13: 1- 91
24. Vadstein O, Øie G, Olsen Y (1993) Particle size dependent feeding by the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Hydrobiologia* 255/256:261–267
25. Wallace RL, Starkweather PL (1983), Clearance rates of sessile rotifers: in situ determinations. *Hydrobiologia* 104: 379- 383
26. <http://en.wikipedia.org/wiki/Chlorella>, leden 2011
27. <http://en.wikipedia.org/wiki/Enterobacteriaceae>, duben 2011
28. <http://elementy.ru/news/431247>, únor 2010

11 Tabulkové přílohy

Tab. I: Množství partikulí přefiltrovaných vířníky v čase $t= 5$ minut, v případě Blank v čase $t=0$.

Bez bílkoviny															
1	22	23	21	10	8	12	6	12	22	4	11	8	4	9	20
2	7	8	18	27	9	14	18	16	14	16	12	6	19	12	8
3	4	0	5	12	15	7	30	14	4	20	4	7	8	22	15
1	7	13	13	16	5	10	16	23	16	15	15	13	12	15	18
2	12	23	4	13	37	13	17	23	11	21	0	26	17	18	23
3	25	19	13	14	23	17	17	9	12	11	16	4	10	9	17
Blank															
1	0	3	0	5	4	4	0	2	1	0	0	0	4	1	3
2	5	4	3	0	6	1	2	1	0	3	0	0	2	1	3
3	2	2	6	1	0	2	0	0	0	0	4	0	4	0	1
1	1	2	3	0	0	5	0	0	3	4	5	0	0	0	1
2	3	4	1	3	1	1	0	0	2	2	1	1	2	0	1
3	0	0	3	1	2	1	0	3	3	2	0	0	3	0	0
BSA Bílkovina															
1	5	17	14	19	6	8	13	14	16	22	7	10	10	9	7
2	8	4	7	2	6	9	3	11	10	0	13	7	2	3	5
3	13	10	18	9	11	13	16	16	2	6	12	7	9	4	0
1	5	7	20	11	13	17	10	1	11	13	9	2	9	8	16
2	15	7	10	6	17	9	18	16	13	17	0	8	17	6	10
3	9	3	10	0	9	0	8	13	7	10	10	5	17	9	14

Tab. II: Množství partikulí napočítaných v 300 μ l vzorcích přefiltrovaného supernatantu.

Bez bílkoviny										
1	30	24	66	113	159	20	124	42	16	40
2	26	32	43	49	44	44	49	78	123	74
3	38	61	94	92	28	33	28	33	34	52
Blank										
1	141	20	81	137	90	105	78	103	84	131
2	34	101	32	30	48	75	24	40	74	67
3	34	99	57	38	90	47	48	64	110	44
Bílkovina										
1	41	30	36	50	70	92	141	79	125	37
2	20	21	85	28	27	36	61	36	92	108
3	42	54	44	85	77	109	137	27	44	66

Tab. III: Množství individuí spočítaných v jednotlivých vzorcích, celkové množství individuí v jednom litru a objem zkoumaného vzorku v mililitrech.

individua v 5ml vzorcích				ind/l	objem v ml
Bílkovina	12	6	10	5759,701	71,3
	17	11	17	5381,166	66,9
	30	27	21	9497,717	65,7
Blank	27	25	25	22481,75	27,4
	31	29	32	14749,5	49,9
	28	34	31	16570,16	44,9
Bez bílkoviny	29	33	39	17641,92	45,8
	41	39	37	26440,68	35,4
	81	117	111	70830,95	34,9

Tab. IV: Hodnoty pro výpočet CR *Habrotrocha thienemanni*.

	partik/rot průměr	tracer ul/part	pokus	clearance r ul/ind/5min	clearance r ul/ind/hod
Bílkovina	10,933	0,0003	0,0037	0,0031	0,038
	8,633	0,0005	0,004	0,0034	0,041
	9,000	0,0003	0,0031	0,0026	0,031
Blank	1,700	0,0002	0,0004	0,0004	0,005
	1,767	0,0005	0,0008	0,0008	0,010
	1,333	0,0004	0,0005	0,0005	0,006
Bez bílkoviny	13,233	0,0004	0,005	0,0044	0,053
	15,400	0,0004	0,0065	0,0060	0,072
	12,767	0,0005	0,0062	0,0056	0,067