

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká fakulta

**Filtrační aktivita a potravní selektivita bdelloidních
vířníků (Rotifera)**

Diplomová práce

Bc. Daniela Hlávková

školitel: RNDr. Miloslav Devetter, Ph.D

ÚPB BC AVČR, v. v. i.

České Budějovice

2013

Hlávková, D. (2013) : Filtrační aktivita a potravní selektivita bdelloidních vířníků (Rotifera). [Clearance rate and food selectivity of bdelloid rotifers (Rotifera).]- 45 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

This dissertation is focused on three species of bdelloid rotifers *Habrotrocha thienemanni*, *Macrotrachela insolita* and *Philodina roseola*. We compared filtration activity, clearance rate and food selectivity within species, populations of the same species and clones.

Prohlašuji, že svoji magisterskou 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 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.

Poděkování

Děkuji svému školiteli. Zvláštní poděkování patří panu prof. Jaroslavu Vrbovi, PhD, Michalu Šorfovi a prof. Davidu Boukalovi, PhD, za rady a připomínky. Děkuji i Vám třem dobrým duším, které jste mi poradily, vyslechly a podpořily, když mi nebylo zrovna do zpěvu. V neposlední řadě chci poděkovat mé rodině, která mě podporuje a umožňuje mi studovat.

Obsah

1	Úvod	1
1.1	<i>Charakteristika kmene Rotifera</i>	1
2	Cíle a hypotézy diplomové práce	4
2.1	<i>Hypotézy diplomové práce</i>	4
2.2	<i>Cíle diplomové práce</i>	4
3	Literární rešerše	5
3.1	<i>Potravní strategie</i>	5
3.1.1	<i>Potravní strategie vířníků</i>	5
3.1.2	<i>Potravní spektrum vířníků</i>	7
3.2	<i>Parametry ovlivňující příjem potravy</i>	7
3.2.1	<i>Anatomie a morfologie těla jako faktor ovlivňující příjem potravy</i>	7
3.2.2	<i>Vlastnosti potravy jako faktor ovlivňující její přijetí</i>	8
3.3	<i>Studie potravního spektra vířníků</i>	8
3.3.1	<i>Potrava v experimentech</i>	9
3.3.1.1	<i>Přirozené částice</i>	9
3.3.1.2	<i>Negativa a výhody inertní potravy</i>	9
3.3.1.3	<i>Značení potravy</i>	10
3.4	<i>Kvantifikace pozřené potravy vířníky</i>	10
3.4.1	<i>Rychlost pozření částic – „ingestion rate“ (IR)</i>	11
3.4.2	<i>Filtrační rychlost – „clearance rate“ (CR)</i>	11
3.4.3	<i>Dynamika CR v závislosti na množství potravy</i>	11
3.4.4	<i>Faktory ovlivňující CR</i>	12
3.4.5	<i>Dopad filtrační aktivity na okolní prostředí</i>	12
3.5	<i>Selekce</i>	13
3.5.1	<i>Selekce u zooplanktonu a u vířníků</i>	13
3.5.2	<i>Faktory ovlivňující selekci</i>	13
3.5.3	<i>Hodnocení selektivity</i>	14
3.6	<i>Mechanismus zpracování potravy u modelových organismů</i>	15
4	Metodika experimentu	17
4.1	<i>Odběr vzorků</i>	17
4.2	<i>Použité pokusné druhy vířníků</i>	17
4.2.1	<i>Specifikace korón druhů vířníků v pokusu</i>	19
4.2.2	<i>Zisk čistých klonálních kultur</i>	19
4.2.3	<i>Příprava směsi partikulí</i>	19
4.3	<i>Průběh pokusu</i>	20
4.4	<i>Vyhodnocení dat</i>	21
4.4.1	<i>Výpočet koncentrace partikulí v roztoku</i>	21

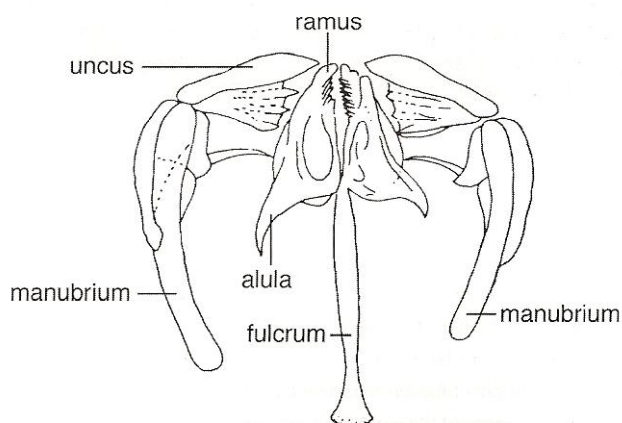
4.4.2	Výpočet CR	21
4.4.3	Výpočet Jacobsonova indexu selektivity	21
4.5	<i>Statistické vyhodnocení výsledků</i>	22
5	Výsledky	22
5.1	<i>Filtrační aktivita vířníků</i>	22
5.1.1	Porovnání filtrační aktivity sledovaných druhů	22
5.1.2	Porovnání filtrační aktivity různých populací jednoho druhu	23
5.1.3	Porovnání filtrační aktivity různých klonů jedné populace	25
5.2	<i>CR vířníků</i>	28
5.3	<i>Závislost množství pozřené potravy a velikosti těla vířníka</i>	29
5.4	<i>Selektivita</i>	31
6	Diskuse	33
6.1	<i>Velikost vířníků v kulturách</i>	33
6.2	<i>Metodické problémy</i>	34
6.3	<i>Filtrační aktivita</i>	34
6.3.1	Filtrační aktivita druhů	34
6.3.2	Filtrační aktivita mezi populacemi stejného druhu	36
6.3.3	Filtrační aktivita mezi klony jedné populace	36
6.4	<i>Selektivita</i>	36
6.5	<i>Závislost množství pozřené potravy na velikosti těla vířníka</i>	38
7	Závěr	38
8	ZDROJE	40
9	PŘÍLOHY	49
9.1	<i>Složení krmné směsi pro kultury vířníků</i>	
9.2	<i>Specifikace přístroje Ultrasonic Ltd. pro homogenizaci roztoků partikulí</i>	
9.3	<i>Specifikace použitých partikulí v experimentu</i>	
9.4	<i>Koncentrace zásobních roztoků partikulí</i>	
9.5	<i>Velikost těla vířníků – kategorie</i>	

1 Úvod

1.1 Charakteristika kmene *Rotifera*

Název *Rotifera* (z latinského *rota*- kolo a *fera*- nosit) je odvozen od vzhledu hlavové části těla vířníků, která je tvořena jedním, nebo více vířivými terči, korónami. Tento vířivý aparát je vybaven drobnými řasinkami (ciliemi) umístěnými kolem ústního otvoru. Pohybem řasinek je vytvářen vodní vír, který přináší potravu z prostředí k ústnímu otvoru (Clemént et al., 1991). Potrava je dále zpracována mastaxem, který je tvořen svaly a žvýkadly (manubrium, unci, rami, fulcrum a alula; obr. 1). Velikost a funkce jednotlivých částí mastaxu je významným taxonomickým znakem při určování vířníků (Wallace et al., 2006). Rozmnožování vířníků je buď pohlavní, za účasti samečků, vznikají trvalá vajíčka, která přečkávají nepříznivé podmínky. Nebo probíhá partenogeneze, vajíčka nejsou oplozena a líhnou se klony již existujících jedinců. Důležitým histologickým znakem těla vířníků je stálý počet buněk tvořící tělo, eutelie.

Vířníci obývají převážně sladké vody, v menší míře se nacházejí i ve slaných vodách, některé druhy navíc obývají prostředí intersticiální tekutiny v půdě, nebo mech. Velikost (délka) těl vířníků se pohybuje mezi 40–2000 μm . Ale velikost většiny vířníků se pohybuje pouze v rozmezí 150–250 μm . Nepříznivé podmínky vířníci přečkávají ve stavu anabiózy (Bartoš, 1959). Filtrace je nejčastější potravní strategií, nicméně někteří jsou i predátoři, okusovači nebo vysávači rostlinných tkání (Wallace et al., 2006). Potravu vířníků tvoří především bakterie a řasy. Dodatečným zdrojem může být například detrit, nebo cyanobakterie.



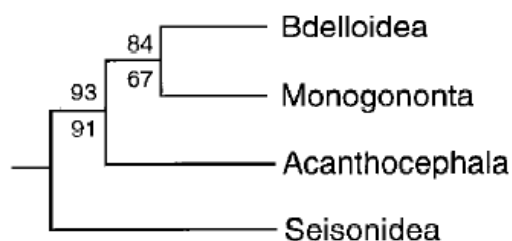
Obr. 1: Schematický nákres anatomie žvýkadel vířníků (pohled z dorzální strany, podle Koste & Shiel, 1987) (Wallace et al., 2006).

Vířníci jsou mnohobuněčné organismy s bilaterální souměrností, třemi zárodečnými listy a pseudocoelní dutinou tělní, patřící do skupiny *Lophotrochozoa* (Zrzavý, 2006). Do kmene *Rotifera* (Cuvier, 1817) se řadí tři skupiny *Monogononta* (Plate, 1889), *Bdelloidea* (Hudson, 1884) a *Seisonidea* (Wesenberg-Lund, 1899) (fylogenetické vztahy skupin vířníků jsou uvedeny na obr. 2).

Nejbližšími příbuznými kmene *Rotifera* je parazitická skupina vrtejší, *Acanthocephala* (Welch, 2001).

Nadřád *Monogononta* zahrnuje cca 1500 druhů, pro které je typický jeden vířivý aparát, nepárový vaječník a pohlavní rozmnožování. Skupina monogonontních vířníků obývá převážně sladkovodní prostředí a jen přibližně 40 druhů, z této skupiny, bylo popsáno jako mořských (Bartoš, 1959). *Monogononta* jsou nedílnou součástí zooplanktonu, bentických a intersticiálních společenstev (Dumont, 1977; Pilarska 1977; Pourriot, 1977; Walz, 1995; Demir et al., 2005; García et al., 2009; Sartorie et al., 2009).

Sesterskou skupinou, k nadřádu *Monogononta*, je nadřád *Bdelloidea*. Skupina bdelloidních vířníků zahrnuje zhruba 350 druhů. Tělo bdelloidních vířníků se od monogonontních liší v mnoha ohledech. Zástupci nadřádu *Bdelloidea* jsou specifictí dvěma vířivými terči, párovým vaječníkem a schopností partenogeneze. Bdelloidní vířníci jsou součástí půdního edafonu, psammonu, obyvatelé dendrotelm, či mechů (Bartoš, 1959).



Obr. 2: Fylogenetické vztahy kmenů *Acanthocephala* a *Rotifera* (Welch, 2001).

Zatímco skupina monogonontních vířníků je typická jedním vířivým aparátem, skupina bdelloidních vířníků, kterou se tato práce zabývá, má v terminální části těla dvě koróny. U některých druhů, např. *Adineta vaga* (Davis, 1873), jsou vířivé terče redukovány a slouží k jinému způsobu obživy. Tito hydrobionti obývají půdní intersticiální prostory vyplněné vodou. Nalezneme je také v listovém opadu, lišejnících a mechu, dendrotelmách, nebo v litorálu vodních nádrží. Bdelloidní vířníci se pohybují volně, v případě potřeby se přichytávají k povrchu pomocí sekretů, produkovaných nožní cementovou žlázou.

Velikost těla půdních vířníků se pohybuje přibližně v rozmezí 150–700 μm . Výjimkou jsou například zástupci druhu *Rotatoria neptunia* (Ehrenberg, 1832), kteří dosahují velikosti těla až 1600 μm (Bartoš, 1959).

Období nepříznivých podmínek, jako jsou například nedostatek potravy, zima, vysychání prostředí, jsou vířníci schopni přežít v klidovém stavu, kryptobióze.

Vířníci, obecně, jsou běžnou a významnou složkou sladkovodního zooplanktonu (Kim et al., 2002; Soares et al., 2010). Filtrační aktivita těchto organismů je nezbytná pro koloběh látek, který umožňuje otevření uhlíkového zásobníku vodním společenstvím (Keckeis et al., 2003). Filtrátoři v biofilmu, tedy i některé druhy vířníků, významně propojují planktonní a bentické potravní řetězce. V bentických potravních řetězcích jsou vířníci obdobou velkých bentických filtrátorů (Kathol et al., 2009). Jako primární konzumenti se podílejí na toku energie v jezerech a rybnících (Dumont, 1977; Pilarska, 1977; Pourriot, 1977; Walz, 1995; Demir et al., 2005; García et al., 2009; Sartorie et al., 2009). Velikost jejich potravy je rozmanitá a schopnost přizpůsobit rychlost filtrace velikosti potravy z nich dělá významné konzumenty potravního řetězce. Svým působením ovlivňují složení vyšších trofických stupňů, a to jak na bakteriální, tak fytoplanktonní úrovni (Hutchinson, 1965; Gilbert et al., 1984; Kim et al., 2002; Kang et al., 2010).

Potravní ekologie monogonontních vířníků je dobře zmapována a na toto téma bylo vypracováno mnoho prací, ve kterých je měřena filtrační rychlost, rychlost pozření částic a selektivita vířníků (Starkweather et al., 1977; Bogdan et al., 1980; Wallace et al., 1985; Ooms-Wilms, 1993 a 1995; Hotos, 2002 a 2003). Avšak o potravní ekologii bdelloidních vířníků, jejich filtrační aktivitě a selektivitě se toho moc neví a na toto téma je zaměřeno pouze několik prací (Erman, 1956; Wallace et al., 1983; Devetter, 2007).

2 Cíle a hypotézy diplomové práce

2.1 Hypotézy diplomové práce

1. Filtrační aktivita bdelloidních vířníků, v závislosti na velikosti nabízeného potravního spektra, se liší mezi sledovanými druhy, populacemi stejného druhu vířníka a mezi klony jedné populace.
2. Celkové množství přijaté potravy vířníkem není ovlivněno velikostí jeho těla.
3. Selektivita potravy bdelloidních vířníků, v závislosti na velikosti nabízeného potravního spektra, se liší mezi sledovanými druhy, populacemi stejného druhu a mezi klony jedné populace.

2.2 Cíle diplomové práce

1. Srovnání filtračních aktivit, v závislosti na velikosti nabízené potravy a velikosti těla vířníků, mezi třemi druhy bdelloidních vířníků (*Habrotrocha thienemanni*, *Macrotrachela insolita* a *Philodina roseola*), mezi populacemi stejného druhu a klony jedné populace.
2. Porovnání filtračních rychlostí mezi třemi druhy bdelloidních vířníků – *Habrotrocha thienemanni*, *Macrotrachela insolita* a *Philodina roseola*, mezi populacemi stejného druhu a klony jedné populace.
3. Ověření schopnosti selektivity v závislosti na velikosti potravy mezi třemi druhy bdelloidních vířníků – *Habrotrocha thienemanni*, *Macrotrachela insolita* a *Philodina roseola*, mezi populacemi stejného druhu a klony jedné populace.
4. Zhodnocení závislosti množství přijaté potravy na velikosti těla vířníků u tří druhů bdelloidních vířníků – *Habrotrocha thienemanni*, *Macrotrachela insolita*, *Philodina roseola*.
5. Vyhodnocení schopnosti přijmout různou velikost potravy (0,5 μm ; 1,8 μm a 6,4 μm) vířníkem.

3 Literární rešerše

3.1 Potravní strategie

Vířníci jsou velkou a diverzifikovanou skupinou. V rámci potravních strategií je lze rozdělit podle různých kritérií do několika skupin. Potravní zvyklosti a mechanismus příjmu potravy je mezidruhově odlišný (Gilbert et al., 1984). Na základě morfologických a funkčních vlastností korón jednotlivých druhů lze vířníky rozdělit na skupinu s širokou potravní nikou - generalisty, a na skupinu přizpůsobenou určitému typu potravy - specialisty (Gilbert et al., 1985). Z hlediska velikosti potravy jsou vířníci mikrofágy (velikost potravy 0,5–20 μm), nebo makrofágy (potrava větší než 20 μm) (Gilbert et al., 1993; Monakov, 2003). Pourriot (1977) dělí vířníky do 3 skupin a to na bakteriofágy živící se bakteriemi, například *Habrotrocha thienemanni* (Hauer, 1924), fytofágy konzumujícími rostlinný opad a rostliny, například *Philodina citrina*, (Ehrenberg, 1832). Třetí skupina je tvořena herbivory konzumujícími obligátně bakterie, například druhy *Adineta vaga* nebo *Philodina roseola* (Ehrenberg, 1832). Některé rody herbivorních vířníků (např. *Encentrum* nebo *Asplanchna*, Gosse, 1850) během proplouvání prostředím pohlcují potravu. Takovéto druhy jsou označovány jako raptoriální (Bogdan et al., 1984 a 1987; Gilbert et al., 1984; Rothhaupt, 1990).

3.1.1 Potravní strategie vířníků

Z hlediska potravních strategií můžeme skupinu *Rotifera* rozdělit do následujících skupin: filtrátoři, dravci, vysávači rostlinných a živočišných tkání, nebo okusovači.

Strategií nejvíce zastoupenou mezi vířníky je filtrace, cezení suspendované potravy a potravy rozptýlené ve vodě. Do této skupiny zahrnujeme volně žijící, ne-dravé a přisedlé druhy monogonontních vířníků čeledi *Flosculariidae* (Ehrenberg, 1838) a několik čeledí bdelloidních vířníků *Habrotrochidae* (Bryce, 1910) a *Philodinidae* (Ehrenberg, 1838) (Wallace et al., 2006). U vířníků filtrátorů je potrava k ústnímu otvoru přiváděna vodním vírem, vznikajícím pohybem cilií na koróně jedince. U bdelloidních vířníků z čeledi *Adinetidae* (Hudson & Gosse, 1889), došlo k přeměně vířivých korón v obrvenou plošku s kutikulárním aparátem (Wallace et al., 2006). Takto upravený aparát slouží k oškrabování potravy z biofilmu.

Draví vířníci rodu *Asplanchna* získávají potravu náhodným kontaktem koróny s kořistí. Po srážce je potrava analyzována jako vhodná či nevhodná pro pozření prostřednictvím chemotaktických senzorů na koróně. Posléze je kořist (nálevník) uchopena čelistmi a pozřena vcelku (Arndt, 1993; Wallace et al., 2006). Jediným dravým zástupcem skupiny Bdelloidea je *Abrochtha carnivora* (Ricci, Melone & Walsh, 2001). Kořistí tohoto druhu jsou jak bdelloidní, tak monogonontní druhy vířníků. Způsob lovu probíhá následovně: kořist, která je dravcem přitlačena k podkladu, se brání kontrakcí těla do podoby soudečkovitého tělesa. Dravec doširoka otevře ústní otvor a pomocí zubů na unci je kořist uchopena a zaživa pozřena. Smrt kořisti nastává až v trávicím traktu predátora působením trávicích enzymů (Ricci et al., 2001).

Některé raptoriální druhy vířníků se specializovaly na vysávání rostlinných a živočišných tkání. Například vířníci rodu *Synchaeta* (Ehrenberg, 1932). Podobným způsobem se živí i další skupiny především bentických vířníků z čeledi *Notommatidae* (Hudson & Gosse, 1886), jejichž potravu tvoří cytoplazma rostlinných filament. Vířníci rodů *Ascomorpha* (Petri, 1850) a *Gastropus* (Imhof, 1888) „vysávají“ planktonní řasy, především obrněnky rodů *Ceracium* a *Peridinium*. Do skupiny „vysávačů“ můžeme zařadit i druhy *Trichocerca capucina* (Wierzejski & Zacharias, 1893) a *Trichocerca cylindrica* (Imhof, 1891), živící se cytoplazmou vajíček jiných druhů vířníků (Wallace et al., 2006).

Charakteristickou skupinou okusovačů jsou čeledi bdelloidních vířníků *Adinetidae* (Hudson & Gosse, 1889) a *Philodinavidea* (Harring, 1913). U obou skupin došlo k přeměně vířivých korón ve specifické nástroje určené k oškrabování nebo okusování řasových nárostů. U skupiny *Adinetidae* se modifikovaly koróny v obrvenou plošku s kutikulárním aparátem, která slouží k oškrabování potravy z biofilmů (Wallace et al., 2006). U čeledi *Philodinavidea* je ústní trubice zkrácena nebo zakřňuje, což umožňuje této skupině vysunout mastax z ústního otvoru a okusovat povlaky řas povrchů vodních rostlin (Bartoš, 1959).

3.1.2 Potravní spektrum vířníků

Hlavní složkou potravního spektra planktonních vířníků, čeledi *Calanoidea* (*Crustacea*, Raymont, 1983), a skupiny *Cladocera* (Latreille, 1829), jsou řasy a bakterie (Friedman, 1977; Pilarska 1977; Peterson et al, 1987). Podle některých autorů jsou ale bakterie pouze minoritní, dodatečnou součástí jídelníčku vířníků a důležitějším potravním zdrojem jsou pro ně řasy (Pouriot, 1965). Nicméně některé druhy vířníků doplnily svůj jídelníček o dodatečné zdroje, nebo se specializovaly na určitý druh potravy. Například pro druh *Keratella cochlearis* (Gosse, 1851) je dodatečným zdrojem detrit (Pouriot, 1965). Naopak vířníci rodu *Euchlanis* (Ehrenberg, 1832), se specializují na vláknité cyanobakterie (Fulton, 1988; Sceda et al., 1988). Další méně obvyklý výběr potravy najdeme u rodu *Notholca squamula* (Müller, 1786), kteří se živí rozsivkami druhu *Asterionella formosa* (Hassal, 1850) (Gilbert et al., 1984). Zdá se, že některé druhy vířníků, např. *Brachionus calyciflorus*, redukují množství toxických řas skupiny *Dinoflagellata* (Bütschli, 1885) a uplatňují se jako eliminátoři „red tide“ (Kang et al., 2010). Druh *Synchaeta pectinata*, (Ehrenberg, 1832) působí jako predátor skupiny jednobuněčných eukaryotických organismů *Protozoa* (dnes už tato skupina neexistuje, molekulární analýzy tuto skupinu rozbily a jednobuněční jsou rozděleni v rámci celého fylogenetického stromu v různých skupinách) (Gilbert et al., 1993; Simpson et al., 2004).

3.2 Parametry ovlivňující příjem potravy

3.2.1 Anatomie a morfologie těla jako faktor ovlivňující příjem potravy

Způsob přijímání potravy a potravní zvyklosti se v rámci kmene *Rotifera* liší (Ronneberger, 1998). Nejčastěji je diskutována souvislost množství pozřené potravy a velikost těla jedince. V minulosti byla potvrzena pozitivní korelace mezi velikostí těla vířník, velikostí a množstvím přijaté potravy (Hino et al., 1980; Ronneberger, 1998; Devetter, 2007) potvrzují pozitivní korelaci velikosti těla vířníka a velikosti a množstvím přijaté potravy. Později bylo doplněno, že velikost těla jedince zřejmě není dostatečnou proměnnou k určení velikosti cílové potravy (Bogdan et al., 1984). Pokud tyto poznatky shrneme, můžeme obecně říci, že větší jedinci konzumují větší částice (Hino et al., 1980).

Velkou roli v konzumaci určité velikosti potravy hraje především anatomická a morfologická struktura orgánů pro zpracování potravy (velikost koróny, velikosti ústního otvoru a mastaxu) (Bogdan et al., 1980; Zhou et al., 2009). Velikost koróny a ústního otvoru určuje velikost, potravy, která bude poslána do trávicího ústrojí (Ronneberger, 1998; Dhert et al., 2001). Zajímavé je, že velikost mastaxu se může lišit i mezi jednotlivci jednoho druhu, a to i v rámci jedné populace, což také může významně ovlivnit výběr potravy mezi jednotlivci (Bear et al., 2008). Určitou roli může hrát i chování samotného jedince, například schopnost přijmout, anebo odmítnout potravu při právě probíhající filtraci (Hansen et al., 1997a). Toto chování ovlivňuje přítomnost chemoreceptorů a mechanoreceptorů umístěných na koróně a schopnost cílí zachytit a transportovat potravu v protiproudu ven z dutiny ústní (Strathmann et al., 1972; Gilbert et al., 1977; Clément et al., 1980). Variabilita množství pozřené potravy není závislá jen na morfologii a anatomii druhu, ale také na fyziologických schopnostech druhu a na vnějších podmínkách (reakce na obranu potravy, kvalita vody, atd.) (Navarro, 1999). Navíc může být příjem potravy ovlivněn i postavením daného druhu v trofickém žebříčku (Ciros-Pérez et al., 2001).

3.2.2 Vlastnosti potravy jako faktor ovlivňující její přijetí

Neméně významným parametrem jsou například tvar a velikost, nebo nutriční složení potravy (Hino et al., 1984; Vadstein et al., 1993; Rothhaupt, 1995; Hotos, 2002; Zhou et al., 2009). Podstatným faktorem může být i pohyblivost potravy; jinak se pohybují řasy, bakterie a neživé partikule (Zhou et al., 2009). Důkazem jsou naměřené rozdílné hodnoty filtrační rychlosti pro umělou a přirozenou potravu (Vadstein et al., 1993; Hotos, 2002;). Tato rychlost může být ovlivněna především délkou a šířkou kořisti, jejími výběžky a bičíky, které ztěžují možnost chycení a pozření potravy (Zhou et al., 2009). Příjem potravy není řízen pouze jejími vlastnostmi a chováním (Hansen et al., 1997a). Dalším působícím vlivem při výběru potravy je její hustota (Hino et al., 1984; Vadstein et al., 1993; Rothhaupt, 1995; Hotos, 2002). Typ potravy se zdá být významným měřítkem. Různé druhy potravy stejné velikosti (například řasy a partikule stejné velikosti) jsou přijímány odlišně. Tyto odlišnosti se zvětšují se snižující se velikostí částic (Vadstein et al., 1993).

3.3 Studie potravního spektra vířníků

Na téma potravní ekologie monogonontních vířníků bylo vypracováno mnoho prací (Starkweather et al., 1977; Bogdan et al., 1980; Wallace et al., 1985; Ooms-Wilms et al., 1993 a 1995; Hotos, 2002 a 2003). Nicméně potravní ekologie bdelloidních vířníků nebyla

do současné doby dobře prostudována a na toto téma je zaměřeno pouze několik odborných prací (Erman, 1956; Wallace et al., 1983; Devetter, 2007).

Obecně se v potravních studiích zooplanktonu používají dva typy potravy: živá potrava (řasy, bakterie, kvasinky), nebo inertní částice – partikule (Bogdan et al., 1980; Wallace et al., 1983 a 1985; Gulati et al., 1993; Vadstein et al., 1993; Navarro, 1999). Velikost inertní potravy je vybírána podle předpokládané, nebo pozorované, velikosti přirozeně se vyskytující a konzumované potravy daným druhem.

3.3.1 Potrava v experimentech

V experimentech potravní ekologie se užívá buď přirozené potravy (značených bakterií nebo řas), nebo umělé potravy (polystyrenových nebo latexových partikulí). Ke značení potravy se používají radioaktivní izotopy, nebo fluorescenční látky.

3.3.1.1 Přirozené částice

Kromě běžně využívaných inertních částic bylo v některých studiích využito i méně obvyklé experimentální potravy. V nedávné studii byla využita přirozená fluorescence chlorofylu *a* u tří různých typů přirozené potravy vířníků (rozsivky, zelené řasy, sinice). V tomto experimentu byl měřen nárůst koncentrace chlorofylu *a* v útrokách vířníka fluorometrem (PHYTO-PAM) (Lürling et al., 2003). Méně využívanou potravou jsou barvené kvasinky, například brom-thymolovou modří, které se využívají jako indikátory změn pH v trávicím traktu vířníků, nebo jako indikátory množství nabízené potravy (označovaný anglickým ekvivalentem „tracer“; přibližná velikost kvasinek je 5–7 μm) (Kleinow et al., 1984; Lindemann et al., 2000). V některých studiích byly k pokusům využity červené krvinky (Hino et al., 1984; Vadstein et al., 1993; Rothhaupt, 1995). Jejich velikost odpovídá velikosti běžně se vyskytující potravy vířníků (3–8 μm v závislosti na druhu). Hemoglobin červených krvinek, který se uvolní po narušení jejich stěn, umožňuje snazší pozorování trávicích procesů, pro jejichž studium jsou používány (Lindemann et al., 2001).

3.3.1.2 Negativa a výhody inertní potravy

Latexové partikule nedokáží napodobit některé vlastnosti přírodní potravy. To může mít za následek ovlivnění výběru a konzumaci potravy vířníky (Rothhaupt, 1990a; Bear et al., 2008). Příkladem může být flexibilita stěn přirozených buněk, kterou umělé částice nemají (Rothhaupt, 1990a; Hotos, 2003). Nezanedbatelným problémem je nejasný mechanismus identifikace kvality a chemických vlastností potravy zooplanktonu, a tedy

i vířníků, kteří jsou součástí této skupiny (Bern, 1990). Podle zjištění různých autorů jsou vířníci schopni kvalitu nabízené inertní potravy rozeznávat (DeMott, 1986; Bern, 1990; Ooms-Wilms et al., 1993; Devetter, 2007). Na základě chuťových vjemů vířník potravu buď přijme, nebo odmítne. Toto chemické analyzování potravy vytváří zásadní rozdíly v naměřených, hodnotách filtrace mezi přirozenou a inertní potravou, a to může vést ke zkreslování získaných výsledků (DeMott, 1986).

Největšími výhodami užívání inertních partikulí v experimentech jsou: stejnorodost povrchu všech částic a nepřítomnost atraktantů. Výjimkou jsou samozřejmě pokusy, u kterých je výsledkem rozdíl mezi inertní potravou a inertní potravou maskovanou atraktanty (např. hovězí protein z plazmy) (Vadstein et al., 1993; Devetter, 2007; Bear et al., 2008).

3.3.1.3 Značení potravy

Značení částic umožňuje snazší hodnocení množství pozřené potravy. Značení potravy pro ekologické experimenty může být provedeno pigmentací, nebo radioaktivním značením. Pigmentace, jak inertní, tak přirozené potravy, je prováděna fluorescenčně (fluorescenční barvivo DTAF – 5-(4,6-dichlorotriazin-2-yl) aminofluorescein) anebo značením pomocí radioaktivních izotopů: [methyl-³H]-thymidin, ³²P, ³³P, ¹⁴C, popřípadě radioaktivními barvami (ColorCo) (Starkweather et al., 1979; Bogdan et al., 1982; Wallace et al., 1983; McManus et al., 1986; Ooms-Wilms et al., 1991a a 1991b a 1993 a 1995; Vadstein et al., 1993; Telesh et al., 1995b; Devetter, 2007). Avšak ne všechny typy značení jsou vhodné pro dlouhodobější práci. Metodické problémy nastávají u pokusů využívajících radioaktivní značení potravy. V důsledku těchto značení dochází ke kontaminaci a úhynu zkoumaného materiálu, nebo ztrátě radioaktivity částic a znemožnění jejich kvantifikace (Gulati et al., 1985). Při použití fluorescenčních částic je problémem jejich hromadění v trávicím traktu. V tomto případě dojde k jejich překrytí, a tak i ke ztížení jejich kvantifikace (Telesh et al., 1995a).

3.4 Kvantifikace pozřené potravy vířníky

Množství potravy pozřené vířníkem je spočítáno buď pod fluorescenčním mikroskopem, v případě použití fluorescenčně značené potravy, nebo, v případě radioaktivního značení, pomocí, například, autoradiografie (Bern, 1985). Ze získaných hodnot množství pozřené potravy, množství částic v pokusu a velikosti testované populace jsou vypočítány dvě základní veličiny charakterizující filtraci potravy: rychlost pozření částic a filtrační rychlost.

3.4.1 Rychlost pozření částic – „ingestion rate“ (IR)

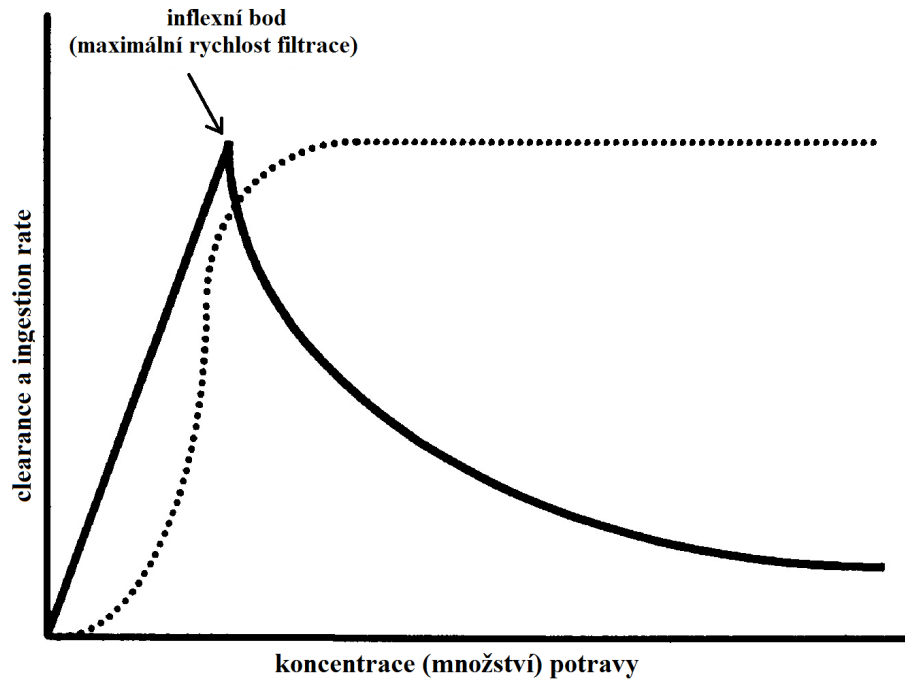
Jednou z metod kvantifikace množství pozřené potravy, je výpočet rychlosti pozření částic („ingestion rate“, IR). Tato veličina udává informaci o množství pozřených částic/ buněk/ řas za určitý čas. IR se vypočítá jako součin filtrační rychlosti a množství potravy v experimentu (McManus et al., 1986). Změna množství částic v suspenzi se determinuje pomocí světelné nebo fluorescenční mikroskopie (Rothhaupt, 1990a; Hansen et al., 1997a; Navarro, 1999; Lüring et al., 2003). Měření IR je využíváno pro krátké experimenty trvající minuty, ve kterých je nejčastěji vířníkům nabízena fluorescenčně nebo radioaktivně značená přirozená potrava, anebo značené inertní částice (Pilarska 1977; Starkweather et al., 1977; Rothhaupt, 1990a a 1990b; Gulati et al., 1993; Ooms-Wilms et al., 1993 a 1995).

3.4.2 Filtrační rychlost – „clearance rate“ (CR)

Filtrační rychlost („clearance rate“, CR) je definována jako množství vody, kterou organismus vyčistí od sledované potravy (řasy / buňky/...) za jednotku času (nejčastěji hodiny nebo minuty) (Yúfera, 2007). CR je přímo úměrná množství pozřené potravy a nepřímo úměrná součinu koncentrace částic (v μl^{-1}) a době filtrace (McManus et al., 1986). Typicky se CR používá pro vyhodnocení dlouhodobých pokusů probíhajících delší časový interval (hodiny), nebo výpočtem z rychlosti pozření částic (IR) (Rothhaupt, 1990a; Hansen et al., 1997; Navarro, 1999). Hodnoty CR byly zjišťovány nejčastěji pro monogonontní druhy vířníků (Wallace et al., 1985; Gulati et al., 1993; Ooms-Wilms et al., 1993). Méně často je filtrační rychlost měřena pro bdelloidní vířníky a nebyly opomenuty ani přisedlé koloniální druhy vířníků (Erman, 1956; Wallace et al., 1983 a 1985; Devetter, 2007).

3.4.3 Dynamika CR v závislosti na množství potravy

Hodnoty CR jsou závislé na koncentraci potravy a tyto změny lze popsat sigmoidním modelem (obr. 3) (Navarro, 1999). Na počátku hodnota filtrační rychlosti s rostoucí koncentrací potravy roste rychle, ale jen do okamžiku, kdy je dosaženo inflexního bodu, ve kterém filtrační rychlost nabývá maximálních hodnot. V tomto bodě se růst CR zastaví a dojde k jeho rapidnímu poklesu (Rothhaupt, 1990; Navarro, 1999). Tato změna, rychlý pokles CR, je funkční odpovědí vířníků na naplnění střev potravou, nebo na překročení kapacity trávicího ústrojí (Lam et al., 1976; Lehman, 1976). Z toho vyplývá, že mezi hodnotami CR a množstvím biomasy (potravy) v prostředí je silná, hustotní závislost tzv. „density dependence“ (Starkweather et al., 1977).



Obr. 3: Schematický sigmoidní model závislosti množství potravy a změny filtrační rychlosti. CR (—) a IR (···) vynesené jako funkce závislé na koncentraci potravy (Navarro, 1999).

3.4.4 Faktory ovlivňující CR

Prokazatelný vliv na hodnoty CR má anatomie ústního ústrojí a naplněnost střev jedince, stejně jako různé faktory prostředí – salinita a teplota okolí (může vysvětlit 82–89 % variability sezónních změn CR), rozdílná retenční účinnost filtrace (tzn. procento buněk vyfiltrovaných z okolí) (Lam et al., 1976; Lehman, 1976; Bogdan et al., 1982; Yúfera, 2007). Na CR mají vliv i specifické požadavky jednotlivých druhů, jedinců a dokonce i klonů (Ooms-Wilms et al., 1993). Na změně hodnot CR se také podílí vlastnosti nabízené potravy – velikost, nutriční kvalita a typ částic (Bogdan et al., 1980; Vadstein et al., 1993; Polo et al., 1992; Pavón-Meza et al., 2005; Devetter, 2007).

Rozporuplnými faktory jsou chuť a velikost partikulí, nebo velikost těla vířníka (Bogdan et al., 1980; Vadstein et al., 1993; Ronneberger, 1998; Devetter, 2007). Oproti tomu typ mastaxu je přizpůsoben cílové potravě a hodnoty CR neovlivňuje (Bogdan et al., 1980).

3.4.5 Dopad filtrační aktivity na okolní prostředí

Množství, v jakém jsou bakterie, jako hlavní složka potravy zooplanktonu, konzumovány, je poměrně dobře zmapované. Například je známo, že vířníci zkonsumují několikanásobek své váhy za den (Clemént et al., 1991). *Brachionus plicatilis* denně pozře

60–90 % své suché váhy, *B. rotundiformis* (Tschugunoff, 1921) pozře dokonce až 160 % své suché váhy (Navarro, 1999). Takto vysoká účinnost filtrace vířníků znamená, že vytváří značný selekční tlak na skupiny postavené níže v potravním řetězci tzv. top-down efekt (Kim et al., 2002; Wagner, 2012). Abundance vířníků v prostředí a množství fytoplanktonu má své souvislosti (Gosselain et al., 1998). Velké abundance vířníků ($>4000 \text{ ind. l}^{-1}$; většinou *K. cochlearis*) může kontrolovat množství fytoplanktonu rychlostí i více než 113 % d^{-1} (rychlost této kontroly je uváděna pro jednorázové množství přidaných bakterií, jejichž populace neroste) (Gosselain et al., 1998).

3.5 Selektce

Různě rychlá konzumace dostupných potravních zdrojů jedincem se nazývá selektivita (Jacobs, 1974). Existují dva typy selektce – aktivní a pasivní. Při aktivní selekci je potrava jedincem vyhledána a může být zkonsumována, ale také se jí může jedinec vyhnout nebo ji odmítnout. Oproti tomu pasivní selektce je dána rozdíly ve schopnostech predátora najít, chytit a pozřít různé typy potravy (Gilbert et al., 1980).

3.5.1 Selektce u zooplanktonu a u vířníků

Herbivorní zooplankton se liší svou strategií a stupněm schopnosti selektce potravy (DeMott, 1986; Bogdan et al., 1987). Skupina *Cladocera* je oproti vířníkům méně efektivním selektorem, nicméně u vířníků nejspíš nejde o aktivní selekci, ale o pasivní (Kirk, 1991). Vířníci jsou schopni selektovat mezi různými druhy potravy. Ukázalo se, že preferují spíše větší řasy a bičíkovce, než malé řasy a bakterie (Bogdan et al., 1984 a 1987; Gilbert et al., 1984; Rothhaupt, 1990). Někteří autoři tvrdí, že způsob vyhledávání potravy a morfologie filtračního ústrojí vířníků nedovoluje zachytit částice menší než 2 μm a že vířníci jsou schopni pozřít jen větší částice (Gilbert et al., 1984; Hotos, 2003; Lapinsky et al., 2003). Mezi vířníky jsou velké rozdíly ve schopnosti konzumovat bakterie. Některé rody vířníků (např. *Keratella*, *Brachionus*, *Kellicottia*, *Filinia*, *Conochilus*) a mnoho bdelloidních druhů jsou považovány za efektivní filtrátory potravy menší velikosti (bakterií) a jsou z tohoto důvodu nazývány pikofágy (potrava velikosti 0,2–3 μm), nebo nanofágy (potrava velikosti 2–20 μm) (Bogdan et al., 1980; Ricci, 1984; Boon et al., 1990; Ooms-Wilms et al., 1991).

3.5.2 Faktory ovlivňující selekci

Selektce u vířníků je řízena velikostí potravy, avšak další parametry ovlivňující její přijetí zatím nejsou známy (Rothhaupt, 1990a; Hansen et al., 1997). Preference, spojené

s velikostí potravy, se mění v rámci jednotlivých kmenů, rodů a druhů. Kvalita potravy je dána její velikostí (čím větší potrava, tím energeticky výhodnější) (Rothhaupt, 1990a; Vadstein et al., 1993). Selektivita se pravděpodobně nemění s délkou těla jedince, a to ze dvou možných důvodů (Rothhaupt, 1990a). Prvním důvodem je euthelie – po vylíhnutí z vajíček se nemění počet buněk těla. Buňky se pouze zvětšují, ale ústní otvor zůstává stejně velký, a tak není radikální změna velikosti potravy možná (Ruttner-Kolisko, 1972). Zadruhé to může být způsobeno anizometrickým růstem cilií a cir vůči tělu (nestejným růstem těla vůči cirám a ciliím). Z toho vyplývá, že malé druhy vířníků jsou pravděpodobně více selektivní než velké druhy (Bogdan et al., 1982 a 1987; Gilbert et al., 1984 a 1990).

3.5.3 Hodnocení selektivity

V experimentech zabývajících se selektivitou jsou předkládány různé typy a velikosti potravy jako zelené řasy (*Chlorella*, *Asteromonas*, *Tetraselmis*, *Dunaliella*, velikost 3,5–16 µm), fluorescenčně značené partikule (velikost 0,5 µm), nebo bakterie (0,5 x 2,3 µm) (Ooms-Wilms et al., 1993 a 1995; Hotos, 2002; Devetter, 2007). Selektivita se nejběžněji hodnotí pomocí dvou koeficientů selektivity „forage ratio“ (FR) a Ivlevův index (E) (Ivlev, 1961; Edmondson et al., 1971). Původní výpočty veličin FR a E nebyly vhodné pro pokusy s více druhy potravy, protože indexy neodrážely korelaci mezi relativní abundancí potravy a její selekcí. Po provedení matematické úpravy ve výpočtech FR (vzorec 1. 1.) a E (vzorec 1. 2.), jsou tyto indexy selektivity zcela nezávislé na abundanci potravy a tedy použitelné pro výpočet více druhů potravy o různé abundanci (Jacobs, 1974).

$$Q = (1 - p) / (1 - r) \quad (1. 1.)$$

kde r jsou relativní množství částic potravy v jedinci a p jsou relativní množství částic/ potravy v prostředí.

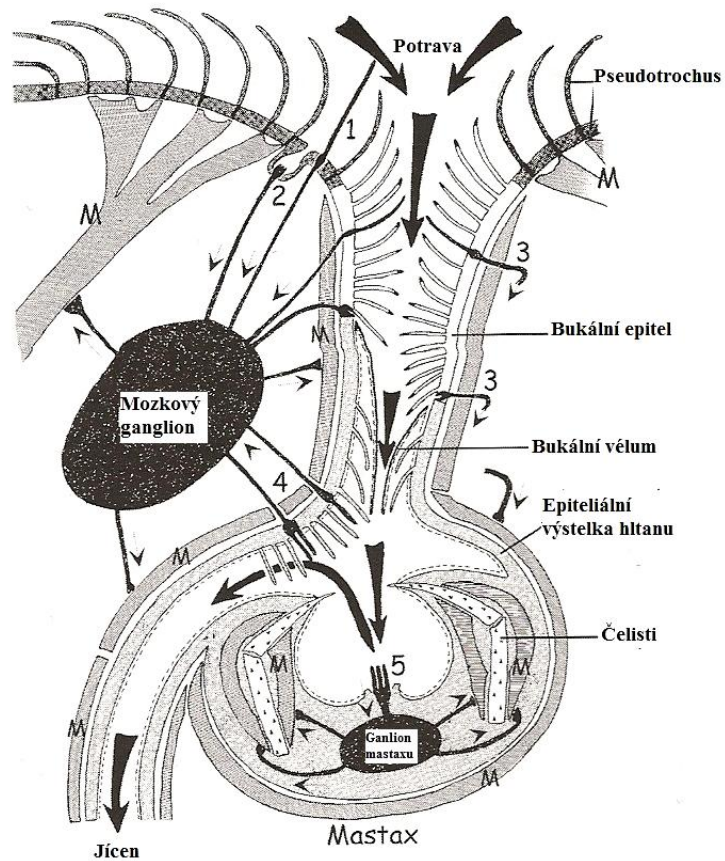
$$D = (r - p) / (r + p - 2rp) \quad (1. 2.)$$

kde r jsou relativní množství částic potravy v jedinci a p jsou relativní množství částic/ potravy v prostředí.

3.6 Mechanismus zpracování potravy u modelových organismů *Philodina roseola* (Ehrenberg, 1832) a *Brachionus calyciflorus* (Pallas, 1766)

Z hlediska potravní strategie jsou tyto dva modelové druhy vířníků – *Philodina roseola* a *Brachionus calyciflorus* – filtrátory. Způsob příjmu potravy filtrací je detailně popsán v práci Clemént et al. (1980). Filtrace podle této studie probíhá následovně.

Jemné círy na koróně vytvářejí svým pohybem podtlak, který vytváří vír, a tím je potrava přitahována k ústnímu otvoru. Jakmile se potrava dotkne řasinek, inervovaných mozkovými neurony, jsou částice „analyzovány“ mechanoreceptory a chemoreceptory. Posléze svaly kořínků řasinek dostanou nervový signál, a podle tohoto signálu je potrava buď posunuta dál do trávicího traktu, nebo je odmítnuta. Pokud je potrava propuštěna dále do trávicího ústrojí, putuje do bukálního otvoru („ústní nálevky“), odkud je pomocí bukálních řasinek, bukálního véla a anteriorních řasinek hltanu dopravována k mastaxu. Chemoreceptory a mechanoreceptory vysílají nervový impuls, který spouští mechanické zpracování potravy. Součástí procesu mechanického rozmělnění potravy a velikostnímu „prosévání“ potravy je i hodnocení vhodnosti potravy chemoreceptory mastaxu. Pokud je potrava vířníkem shledána jako vhodná a netoxická, je rozmělněná potrava posunuta mastaxovými řasinkami do jícnu. Pokud je ale potrava shledána nevhodnou, jsou vyvolány peristaltické kontrakce a potrava je vyvrhnutá. Tento proces, se zdá být možný pouze u rodu *Brachionus calyciflorus*, rod *Philodina roseola* má jiné postavení bukálního véla a proces vyvržení potravy není možný provést tímto způsobem. Celý proces zpracování potravy a průchod trávicím traktem je popsán na obrázku (obr. 4).



Obr. 4: Schematický nákres postupu potravy přední částí trávicí soustavy vířníků (ústa, mastax, jícen). M-svaly a jejich inervace; 1-anteriorní mechanoreceptory koróny; 2-chemoreceptory; 3-senzorické receptory bukálního epitelu; 4 a 5-mastax. Tlusté šipky ukazují postup potravy trávicím traktem; tenké šipky udávají směr nervových impulzů. Převzato z Clément et al. (1983).

4 Metodika experimentu

4.1 Odběr vzorků

Na vybraných lokalitách: terénní stanice Lužnice (Lužnice, Třeboň, Česká republika; 49°4'48.75"N 14°45'21.69"E; dále označena zkratkou L), areál Biologického centra AVČR v Českých Budějovicích (České Budějovice, Česká republika; 48°58'29.87"N 14°27'23.97"E; dále označena zkratkou BC), městský park Stromovka v Českých Budějovicích (České Budějovice, Česká republika; 48°58'13.15"N 14°27'28.54"E, dále označena zkratkou St), přírodní památce Belinské skály (Belinské skály, Slovenská republika; 48°13'31" N, 19°51'52" E; dále označena zkratkou Sk) a Kostelní Bříza (Kostelní Bříza, Sokolov; Česká republika; 50°6'59.24"N 12°37'20.38"E; dále značena druhovým jménem), byly odebrány vzorky se třemi druhy přirozeně se vyskytujícími populací tří druhů vířníků: *Philodina roseola* (L, BC), *Habrotrocha thienemanni* (St, SR) a *Macrotrachela insolita* (Sokolov). V případě akvatických druhů, mezi které se řadí *H. thienemanni* a *P. roseola*, byly odebrány vodné roztoky. Pro druh *M. insolita*, obývající půdní prostředí, byly odebrány vzorky půdy, ze které byl připraven výluh. Takto získané přirozené populace byly ponechány k přivyknutí laboratorním podmínkám (přibližně po dobu jednoho týdne) v termostátované chladicím prostředí (teplota se pohybovala mezi 15 – 17°C).

4.2 Použité pokusné druhy vířníků

V rámci tohoto pokusu jsem pracovala s bdelloidními druhy vířníků ze skupiny *Philodinida*, řazenými do dvou rodů *Philodinidae* (*Macrotrachela insolita* a *Philodina roseola*) a *Habrotrochidae* (*Habrotrocha thienemanni*) (Bartoš, 1959).

a) *Habrotrocha thienemanni* (Hauer, 1924; obr. 5)

Přirozeným prostředím výskytu jedinců tohoto druhu je vodní prostředí v dutinách stromů tzv. dendrotelmách, intersticiální tekutina v humusových půdách nebo vodní prostředí s rostlinami (Bartoš, 1959; Donner, 1965). Délka těla se pohybuje mezi 280–400 µm (Donner, 1965). V diplomové práci byly analyzovány dvě populace tohoto druhu (St a Sk).



Obr. 5: Druh dendrotelm *Habrotrocha thienemanni* (zvětšeno 200x).

b) *Macrotrachela insolita* (de Koning, 1947; obr. 6)

Je půdním hydrobiotickým druhem, který obývá půdní prostory vyplněné vodou. Tento druh dosahuje maximálně velikosti okolo 250 μm (Bartoš, 1959). V diplomové práci byla analyzována pouze jedna populace tohoto druhu.



Obr. 6: Půdní druh vířníka *Macrotrachela insolita* (zvětšeno 400x).

c) *Philodina roseola* (Ehrenberg, 1832; obr. 7)

Žije ve všech vodách mezi vodními rostlinami, na povrchu bahna, někdy proniká i do planktonu, občas tento druh přisedá na drobné vodní členovce a larvy vodního hmyzu, a občas žije i jako psammoxenní druh v písku (Bartoš, 1959). Délka těla se pohybuje mezi 320 a 540 μm (Donner, 1965). V diplomové práci byly analyzovány dvě populace tohoto druhu (L a BC).



Obr. 7: Bentický druh vířníka *Philodina roseola* (zvětšeno 200x).

4.2.1 Specifikace korón druhů vířníků v pokusu

Koróny jedinců u mnou vybraných skupin *Habrotrochidae* a *Philodinidae* mají stejné anatomické uspořádání: párové, velmi dobře vyvinuté trochi na pedicelech, velké pole s ciliemi, cingulum a plošku cingula s jemnými řasinkami hraničícími s ústním otvorem. Tato stavba koróny umožňuje plavání a chytání potravy těchto skupin v jeden okamžik (Melone et al., 1995).

4.2.2 Zisk čistých klonálních kultur

Čisté klonální kolonie byly získány postupným partenogenetickým množením jednotlivců v oddělených komůrkách. Oproti klasickému přístupu pěstování kultur v čisté redestilované vodě, byly kultury chovány v roztoku destilované a vodovodní vody v poměru 2:1, z důvodu neuchycení se pilotních jedinců při použití samotné destilované vody. Jedinci a posléze klonální populace, byly umístěny do termostatu s pevně nastavenou teplotou 16°C (rozptyl teplot byl v rozmezí 15–17°C). Kultury byly pěstovány s každotýdenním příkrmováním a kontrolou (např. doplnění vody, kontrola růstu populace, přemístění do větších nádob). Pro příkrmování bylo používáno krmivo TETRAWAFER Mix (složení uvedeno v příloze 9.1.). Krmivo bylo vždy převedeno na vodný roztok a homogenizováno ultrazvukový přístrojem Ultrasonic Ltd (ShIPLEY, Yorks, England). Do nádob s čistými kulturami o obsahu 500 ml jsem přidávala 2–3 ml takto připravené suspenze.

4.2.3 Příprava směsi partikulí

V pokusu byly použity inertní partikule nepěnového polystyrenu ve třech velikostech (tab. I a přílohy 9.3. a 9.4.). Specifická hmotnost partikulí je rovna vodě, takže sedimentace

částic je zanedbatelná. Jednotlivé velikosti partikulí byly od sebe fluorescenčně odlišeny (tab. I), takže při ozařování různými vlnovými délkami barevného spektra bylo možné velikosti partikulí odlišit.

Tab. I: Velikost použitých polystyrenových partikulí v experimentu (s velikostními odchylkami) a barva fluorescenčního označení.

velikost partikule [μm]	směrodatná odchylka	fluorescenční barevné označení partikulí
0,487	0,015	červená
1,871	0,048	zelená
6,416	0,514	fialová

4.3 Průběh pokusu

Před každým pokusem, byly kultury vířníků druhů *Philodina roseola*, *Habrotrocha thienemanni*, *Macrotrachela insolita* vyjmuty z termostátované lednice (přibližně 24 hodin před pokusem) a ponechány přivyknout si vyšší teplotě v laboratoři (20°C). Z kultur bylo odebráno celkem 360 ml vzorku, který byl stejnoměrně rozdělen do 3 paralelních pozorování a ke každému pozorování byl vytvořen kontrolní vzorek. (Výsledný experiment pro klon byl tedy 3 pozorování + 3 kontroly.) Ke každému vzorku s klonem bylo přidáno 40 ml redestilované vody. Takto připravené paralelní vzorky byly ponechány přivyknout (cca 1 hodina). Po uplynutí této doby bylo do každé misky přidáno po 1 ml homogenizovaného vzorku inertní potravy. Tento vzorek se skládal z fluorescenčních partikulí o velikostech 0,5 μm , 1,8 μm a 6,4 μm . Před každým experimentem byly roztoky s partikulemi homogenizovány ultrazvukovým přístrojem Ultrasonics, Ltd po dobu 1 minuty. Po přidání homogenizovaného roztoku partikulí do kontrolních vzorků byl pokus ihned ukončen (v čase $t=0$ min). Ve zbylých miskách byl pokus ukončen po 3 minutách. Experiment byl ukončen přidáním horké, právě převařené vody (v množství alespoň 2:1, 2 díly horké vody na 1 díl pokusu) a zafixován 0,1 ml 2% roztoku formaldehydu. Zároveň s ukončením pokusu byly odebrány z každé misky vzorky supernatantu, který byl posléze použit pro výpočet celkové koncentrace partikulí v roztoku (= traceru).

Po 30 minutové sedimentaci vzorku byl odebrán supernatant (pro snazší manipulaci se vzorkem) a z každé misky bylo náhodně vybráno 30 jedinců, kteří byli pipetou přeneseni na podložní skla. Pomocí mikroskopu (Olympus DX60) s fluorescenční lampou (Olympus U-RFL-T) bylo spočítáno množství pozřených partikulí jednotlivými vířníky a určena velikost vířníka (šířka v nejširším místě těla). Velikost těla vířníků byla rozdělena

do kategorií (příloha 9.5). Zbytek vzorku s vířníky byl použit ke kvantitativnímu zhodnocení populací. Vzorky byly zváženy a převedeny na objem 250 ml, z takového vzorku bylo posléze odebráno 3x5 mililitrů, ve kterém bylo pod mikroskopem (Leica 2500) pomocí Sedgewick-Rafterovy komůrky spočítáno množství jedinců. Z těchto dat byly vypočítány velikosti populací vířníků nezbytné pro výpočet filtračních rychlostí.

4.4 Vyhodnocení dat

4.4.1 Výpočet koncentrace partikulí v roztoku

Pro výpočet koncentrace partikulí v roztoku byly použity odebrané vzorky supernatantu (1 ml). Vzorky byly pod tlakem přefiltrovány v celoskleněné filtrační aparatuře přes obarvený membránový filtr s velikostí pórů 0,2 μm (barvení filtru napomáhá snížení fluorescence na pozadí). Tyto filtry byly mikroskopovány ve fluorescenčním mikroskopu. Z celkové plochy filtru (12 560 mm^2) bylo náhodně vybráno deset čtverců, ve kterých bylo spočítáno množství partikulí. Naměřená množství partikulí byla použita k výpočtům clearance rate.

4.4.2 Výpočet CR

Hodnoty CR ($\mu\text{l. ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) pro jednotlivé populace vířníků byly vypočítány podle následujícího vzorce (Devetter, 2007):

$$\text{CR} = (M_t - M_0) / (C * T) \quad (1.3.)$$

kde M_t je průměrné množství pozřené jedincem ($t = 3 \text{ min}$), M_0 je množství partikulí pozřené jedincem v kontrolním vzorku ($t = 0 \text{ min}$), C je koncentrace partikulí (traceru; μl^{-1}) a T je doba trvání experimentu ($T = 0,05 \text{ h}$).

4.4.3 Výpočet Jacobsonova indexu selektivity

V pokusech zaměřených na selektivitu jsme používali roztoky partikulí s různou abundancí, proto pro ověření schopnosti selekce různě velkých partikulí byly hodnoty výpočetně ověřeny podle následujícího schématu:

$$D = (r - p) / (r + p - 2rp) \quad (1.4.)$$

kde r je relativní množství pozřených partikulí vířníkem a p je relativní množství partikulí v prostředí (Jacobson, 1974). Pro každou velikost partikule (0,5 μm , 1,8 μm a 6,4 μm) byla hodnota indexu vypočítána zvlášť.

4.5 Statistické vyhodnocení výsledků

Hodnoty CR a selektivity byly statisticky vyhodnoceny v programu Statistika 10 testem hierarchická Anova. Porovnání filtračních aktivit vířníků bylo hodnoceno metodou variance komponent (Anova, Obecné lineární modely). Závislost množství pozřené potravy na velikosti vířníka byla ověřena metodou lineární regrese programu také v programu Statistika 10.

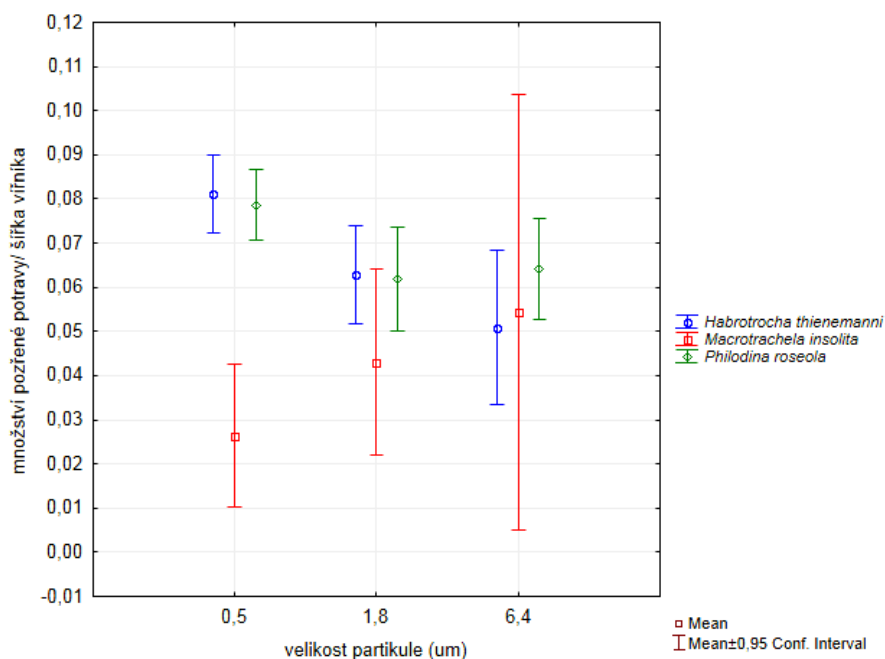
5 Výsledky

Pro dodržení podmínky normality dat, byly všechny hodnoty využité k statistickým hodnocením transformovány (logaritmická korekce). V grafech (graf 1–21) jsou zobrazeny hodnoty nelogaritmované. Z výpočtů filtrační aktivity, CR a selektivity byli vyloučeni jedinci, kteří nezkonzumovali žádnou potravu.

5.1 Filtrační aktivita vířníků

5.1.1 Porovnání filtrační aktivity sledovaných druhů

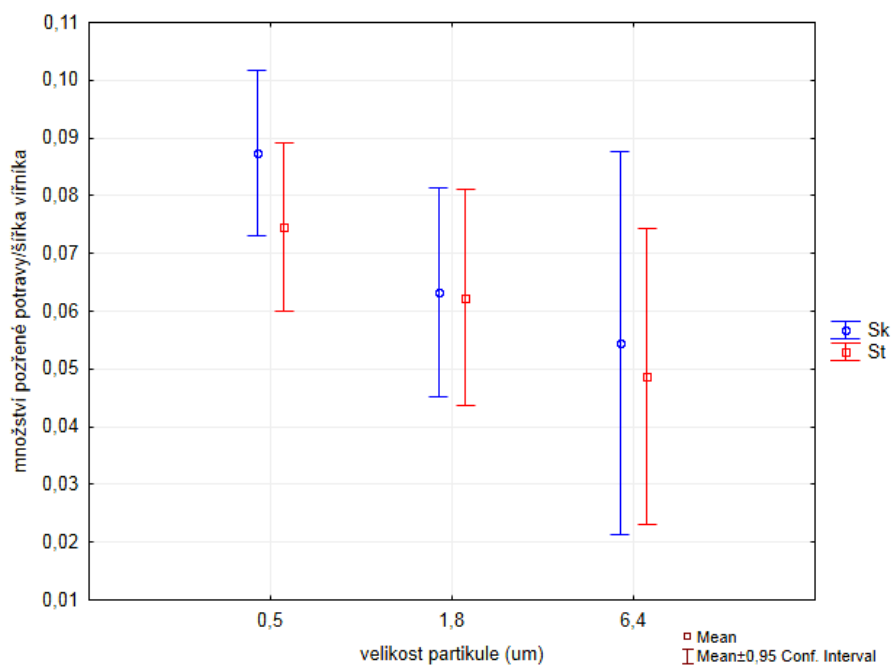
Provedené porovnání filtrační aktivity vířníků ukazuje, že sledované druhy se neliší v úspěšnosti filtrace použitých velikostních kategorií potravy (graf 1, variance komponent, $p=0,908$, $F=0,014$, $df=1$). Statisticky průkazně nevychází ani vliv velikostní kategorie potravy na filtrační aktivitu sledovaných druhů (graf 1, variance komponent, $p=0,4686$, $F=0,8150$, $df=2$). Filtrační aktivita půdního druhu *Macrotrachela insolita* má poměrně velkou variabilitu pro všechny velikosti nabízených partikulí (graf 1).



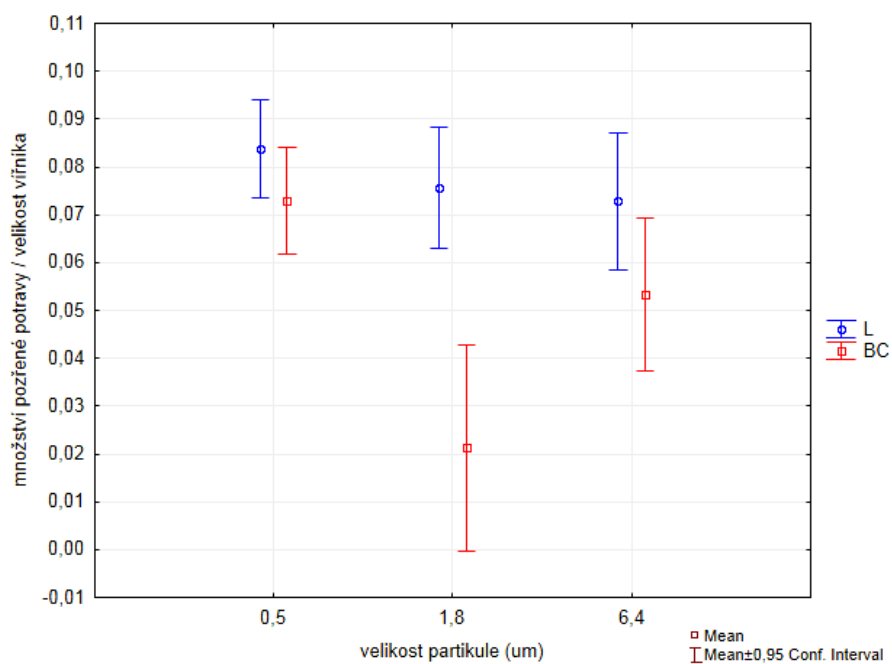
Graf 1: Závislost filtrační aktivity (množství pozřené potravy vůči šířce vířníka) a velikosti potravy (0,5 μm, 1,8 μm, 6,4 μm) pro sledované druhy vířníků (*H. thienemanni*, *M. insolita*, *P. roseola*; mean-průměr filtrační aktivity, vynášeny jsou konfidenční intervaly).

5.1.2 Porovnání filtrační aktivity různých populací jednoho druhu

Dále byly testovány rozdíly ve filtrační aktivitě mezi populacemi stejného druhu *H. thienemanni* a *P. roseola*. Filtrační aktivita mezi populacemi *H. thienemanni* Sk a St se neliší (graf 2, analýza komponent, $p=0,7028$, $F=0,4708$, $df=3$), ale preference velikosti nabízené potravy se mezi těmito populacemi liší (graf 2, analýza komponent, $p=0,016$, $F=11,546$, $df=2$). Populace tohoto druhu shodně upřednostňují nejmenší velikost potravy (0,5 μm). Naopak, mezi populacemi druhu *Philodina roseola* L a BC je rozdíl ve filtrační aktivitě (analýza komponent, $p=0,000103$, $F=3,775$, $df=9$), ale není zde rozdíl v příjmu různých velikostí potravy (graf 3, analýza komponent, $p=0,1879$, $F=2,050$, $df=2$). Porovnání populací druhů *Habrotrocha thienemanni* a *Philodina roseola* je vyneseno v následujících grafech (graf 2 a graf 3).



Graf 2: Filtrační aktivita (množství pozžené potravy vířníkem v závislosti na velikosti těla) dvou populací druhu *Habrotrocha thienemanni* v závislosti na velikosti nabízené potravy (mean-průměr filtrační aktivity, vynášeny jsou konfidenční intervaly).



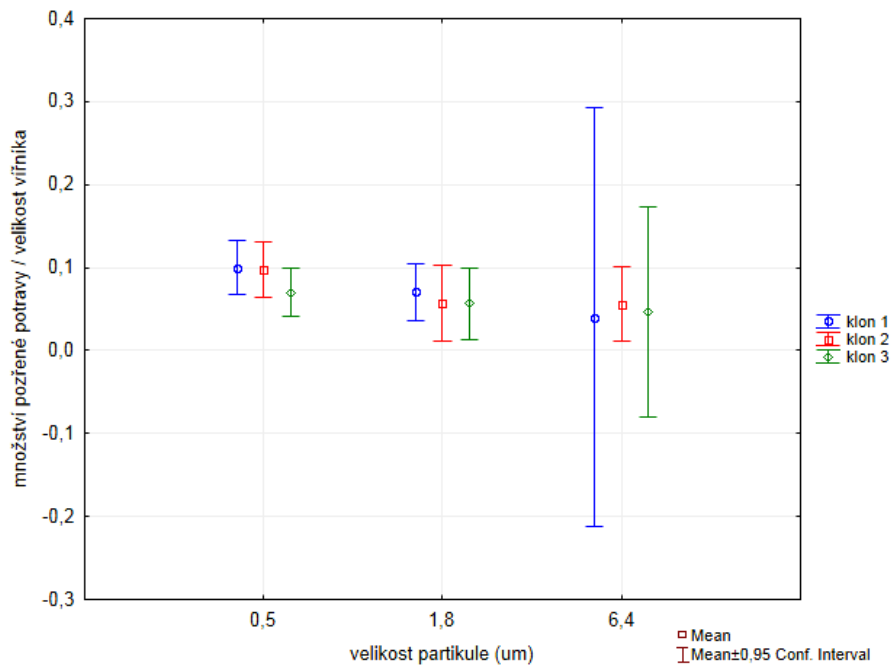
Graf 3: Filtrační aktivita (množství pozžené potravy vířníkem v závislosti na velikosti těla) dvou populací druhu *Philodina roseola* v závislosti na velikosti nabízené potravy (mean-průměr filtrační aktivity, vynášeny jsou konfidenční intervaly).

5.1.3 Porovnání filtrační aktivity různých klonů jedné populace

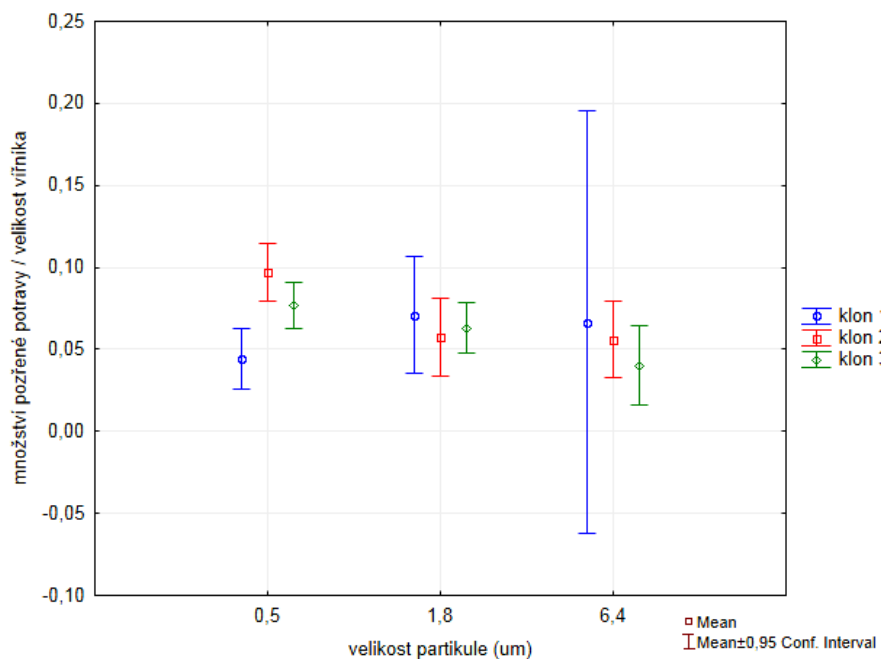
Filtrační aktivita mezi klony jedné populace se neliší v populacích *H. thienemanni* Sk (graf 4, analýza komponent, $p= 0,841$, $F= 0,455$, $df= 6$), *M. insolita* (graf 6, analýza komponent, $p= 0,7155$, $F= 0,577$, $df= 5$) a *P. roseola* L (graf 7, analýza komponent, $p= 0,0666$, $F= 1,982$, $df= 6$). Klony v populacích *H. thienemanni* St (graf 5, analýza komponent, $p= 0,0067$, $F= 3,028$, $df= 6$) a *P. roseola* BC (graf 8, $p= 0,0000$, $F= 23,598$, $df= 5$), se od sebe ve filtrační aktivitě liší. Potrava, v závislosti na její velikosti, je klony druhu *M. insolita* filtrována rozdílně (graf 6, analýza komponent, $p= 0,0475$, $F= 9,623$, $df= 2$). Statistické vyhodnocení pro porovnání filtračních aktivit je uvedeno v tabulce (tab. II).

Tab. II: Výsledky porovnání filtračních aktivit mezi druhy, populacemi stejného druhu vířníka a klony jedné populace tří druhů vířníků (*H. thienemanni*, *M. insolita*, *P. roseola*) v závislosti na velikosti nabízené potravy (0,5 μm , 1,8 μm , 6,4 μm). Porovnání odlišnosti velikosti pozřené potravy mezi druhy, populacemi stejného druhu a klonů jedné populace jsou uvedeny v řádku označeném jako „velikost partikulí“ (N-množství hodnocených jedinců, df -stupně volnosti, p -pravděpodobnost na 5% hladině významnosti, F -hodnota testování).

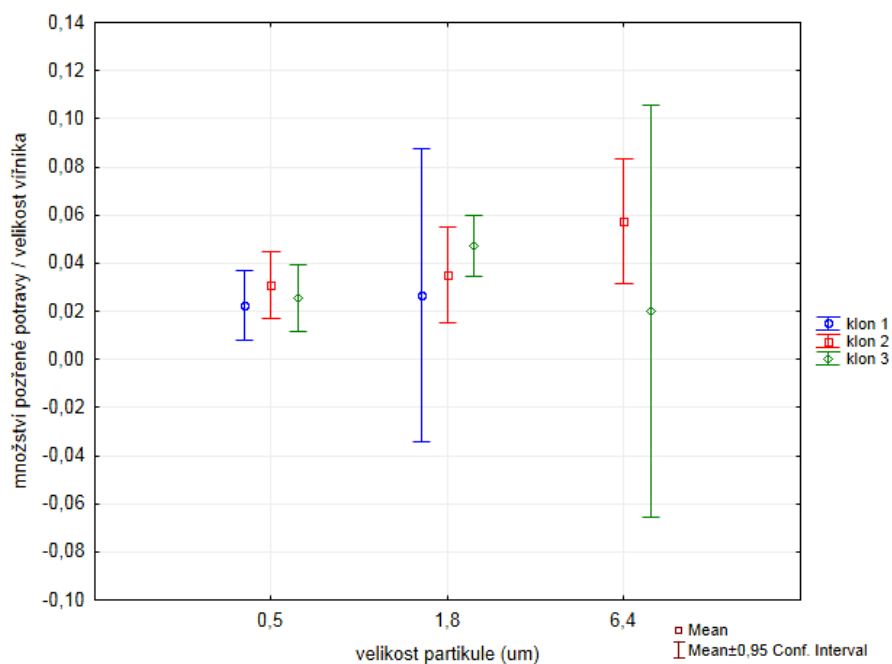
porovnávané	hodnocené druhy	označení populace	p	F	df	N
druhy	<i>H.thienemanni</i> , <i>M.insolita</i> , <i>P.roseola</i>		0,908	0,01	1	1762
	velikost partikulí		0,469	0,82	2	
populace	<i>H.thienemanni</i>	Sk vs St	0,703	0,47	3	703
	velikost partikulí		0,016	11,5	2	
	<i>P.roseola</i>	L vs BC	0,0001	1,26	3	866
	velikost partikulí		0,188	2,05	2	
klony	<i>H.thienemanni</i>	Sk	0,841	0,46	6	340
	velikost partikulí		0,068	7,4	2	
	<i>H.thienemanni</i>	St	0,007	3,03	6	351
	velikost partikulí		0,414	1,05	2	
	<i>P.roseola</i>	L	0,067	1,98	6	504
	velikost partikulí		0,734	0,33	2	
	<i>P.roseola</i>	BC	0,000	23,6	5	351
	velikost partikulí		0,515	0,76	2	
	<i>M.insolita</i>		0,717	0,58	5	182
	velikost partikulí		0,048	9,62	2	



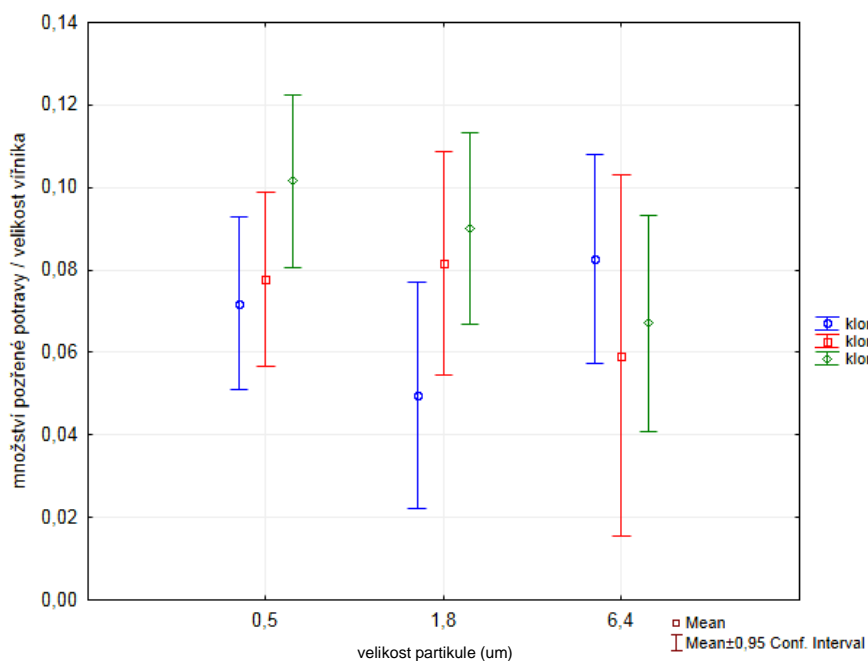
Graf 4: Filtrační aktivita (množství pozřené potravy vířníkem v závislosti na velikosti těla) klonů populace druhu *Habrotrocha thienemanni* Sk v závislosti na velikosti nabízené potravy (mean-průměr filtrační aktivity, vynášeny jsou konfidenční intervaly; hodnoty konfidenčního intervalu menší jak 0, jsou dány nedostatečným množstvím stávajících dat).



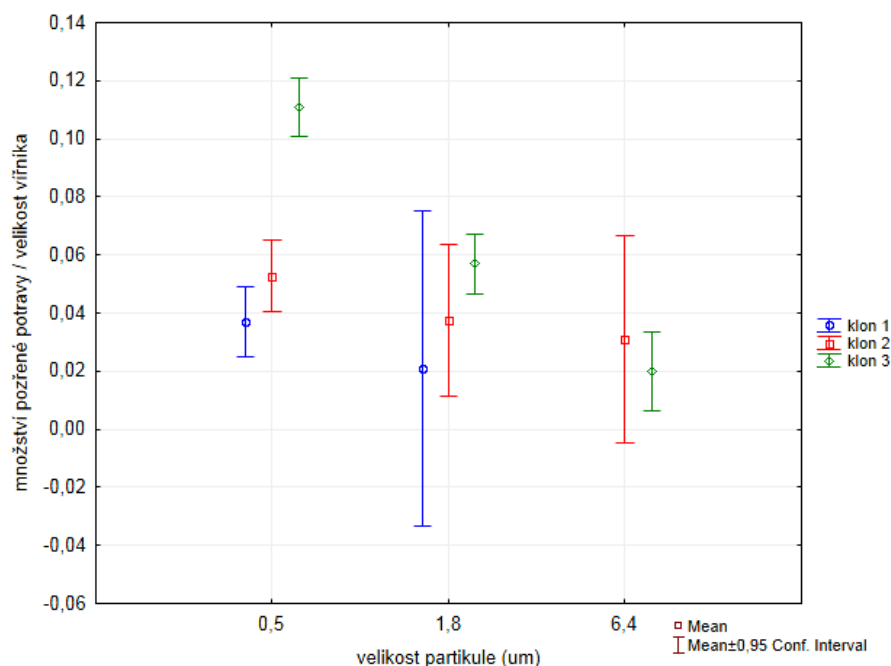
Graf 5: Filtrační aktivita (množství pozřené potravy vířníkem v závislosti na velikosti těla) klonu populace druhu *Habrotrocha thienemanni* St v závislosti na velikosti nabízené potravy (mean-průměr filtrační aktivity, vynášeny jsou konfidenční intervaly; hodnoty konfidenčních intervalů menší jak 0, jsou dány velkou variabilitou stávajících dat).



Graf 6: Filtrační aktivita (množství pozřené potravy vířníkem v závislosti na velikosti těla) klonů populace druhu *Macrotrachela insolita* v závislosti na velikosti nabízené potravy (mean–průměr filtrační aktivity; hodnoty menší jak 0, jsou dány velkou variabilitou stávajících dat; pro klon 1 této populace nebyla naměřena filtrační aktivita pro velikost partikule 6,4 μm).



Graf 7: Filtrační aktivita (množství pozřené potravy vířníkem v závislosti na velikosti těla) klonů populace druhu *Philodina roseola* L v závislosti na velikosti nabízené potravy (mean–průměr filtrační aktivity, vynášeny jsou konfidenční intervaly).



Graf 8: Filtrační aktivita (množství pozřené potravy vířníkem v závislosti na velikosti těla) klonů populace druhu *Philodina roseola* BC v závislosti na velikosti nabízené potravy (mean-průměr filtrační aktivity, vynášeny jsou konfidenční intervaly).

5.2 CR vířníků

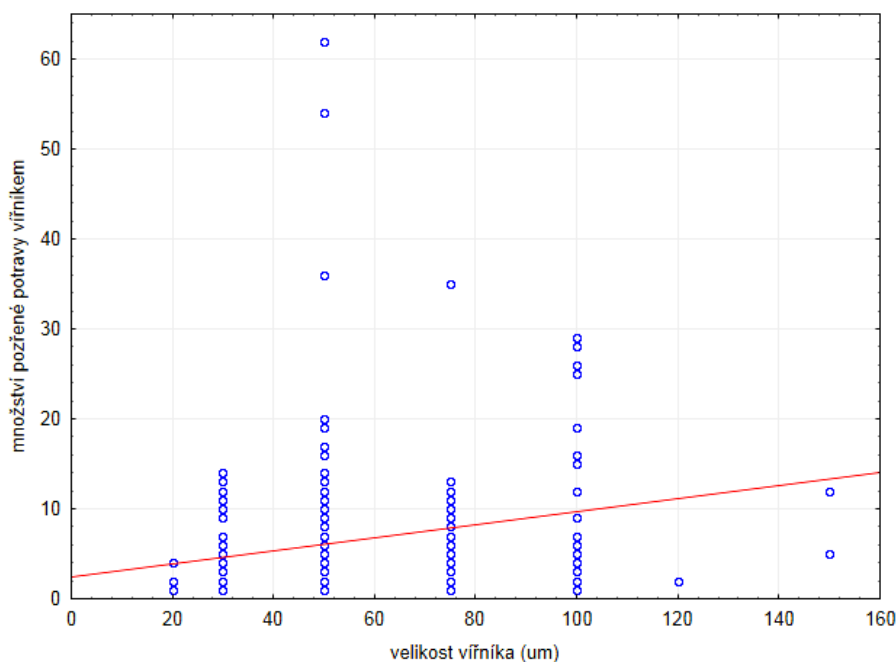
Filtrační rychlosti naměřené pro sledované druhy vířníků se mezidruhově liší (tab. II). Stejně tak se liší clearance rate pro rozdílné velikosti potravy (tab. II.). Pro nejmenší velikost partikule (0,5 μm) byly naměřeny největší hodnoty filtračních rychlostí, nejnižší hodnoty CR jsou naměřeny pro největší velikost partikule (6,4 μm). Naměřené hodnoty CR pro jednotlivé druhy vířníků v pokusu a velikosti potravy jsou uvedeny v následující tabulce (tab. II).

Tab. III: Naměřené hodnoty CR (v jednotkách $\mu\text{l. ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) a standardních odchylek filtrační rychlosti od průměru pro sledované druhy *H. thienemanni*, *M. insolita*, *P. roseola* pro použité velikosti potravy (0,5 μm, 1,8 μm, 6,4 μm).

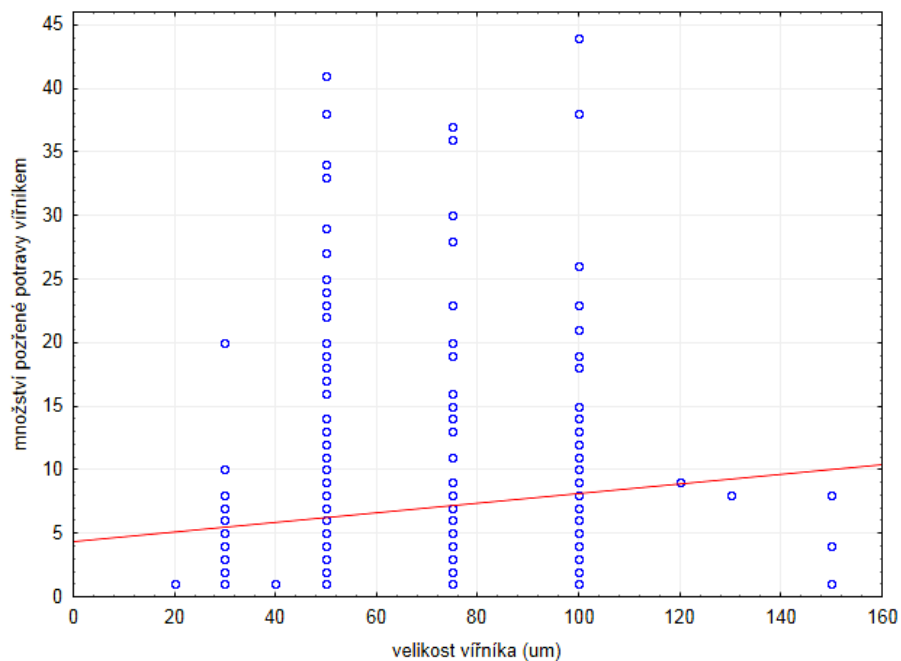
druh vířníka	velikost partikule [μm]	CR [μl. ind ⁻¹ .h ⁻¹]	SD
<i>H.thienemanni</i>	0,5	5,92	3,6
	1,8	0,19	0,24
	6,4	0,03	0,09
<i>M.insolita</i>	0,5	1,05	0,58
	1,8	0,05	0,08
	6,4	0,02	0,04
<i>P.roseola</i>	0,5	12,22	10,2
	1,8	0,22	0,17
	6,4	0,23	0,29

5.3 Závislost množství pozřené potravy a velikosti těla vířníka

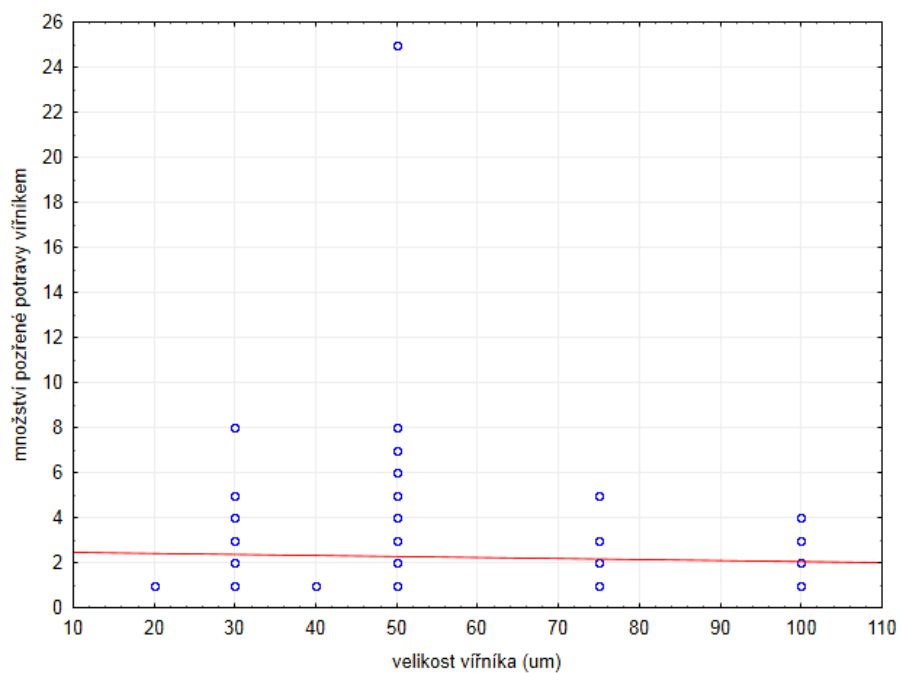
Závislost množství pozřené potravy na velikosti (šířce) těla vířníka je hodnocena lineární regresí pro jednotlivé druhy zkoumaných vířníků. Pro druhy *Habrotrocha thienemanni* a *Philodina roseola* množství pozřené potravy na velikosti těla závisí (pro *H. thienemanni*: $p=0,000$, $F=23,88$, $R^2=0,0534$, graf 9; pro *P.roseola*: $p=0,0128$, $F=6,24$, $R^2=0,0132$, graf 10), zatímco pro druh *Macrotrachela insolita* je tato závislost neprůkazná ($p=0,7047$, $F=0,144$, $R^2=0,0063$, graf 11) a velikost těla negativně ovlivňuje množství přijaté potravy. Vysvětlená variabilita v datech u všech druhů je relativně nízká (*H. thienemanni* 5,34 %, *P.roseola* 1,32 %, *M. insolita* 0,63 %). Závislosti množství pozřené potravy a velikosti těla, pro jednotlivé druhy vířníků v tomto experimentu, jsou vyneseny v následujících grafech (graf 9–13). Naměřené statistické hodnoty jsou uvedeny v tabulce (tab. IV).



Graf 9: Množství pozřené potravy vířníkem v závislosti na velikosti těla vířníka pro druh *Habrotrocha thienemanni*. Rovnice regresní přímky (červená linie) je: $y = 2,4293 + 0,0722 \cdot x$.



Graf 10: Množství pozřené potravy vířníkem v závislosti na velikosti těla vířníka pro druh *Philodina roseola*.
Rovnice regresní přímky (červená linie) je: $y = 4,8326 + 0,0512 \cdot x$.



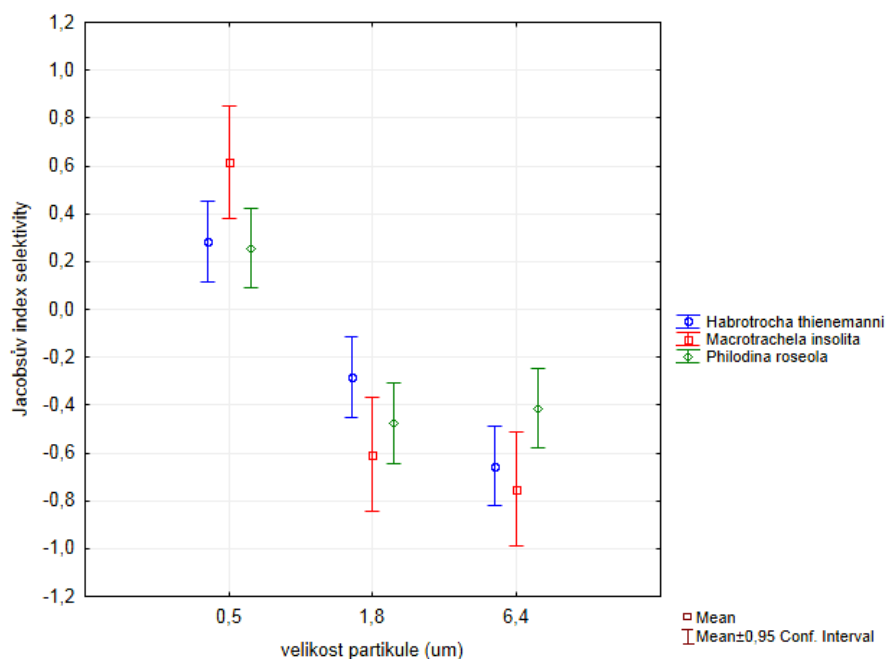
Graf 11: Množství pozřené potravy vířníkem v závislosti na velikosti těla vířníka pro druh *Macrotrachela insolita*. Rovnice regresní přímky (červená linie) je: $y = 2,5299 - 0,0048 \cdot x$.

Tab. IV: Výsledky vyhodnocení lineární regrese ukazující závislost množství pozřené potravy na velikosti těla vířníka (šířce těla [μm]; kde: p–pravděpodobnost na 5% hladině významnosti, F-hodnota testování, R^2 - množství vysvětlené variability, N-množství hodnocených jedinců).

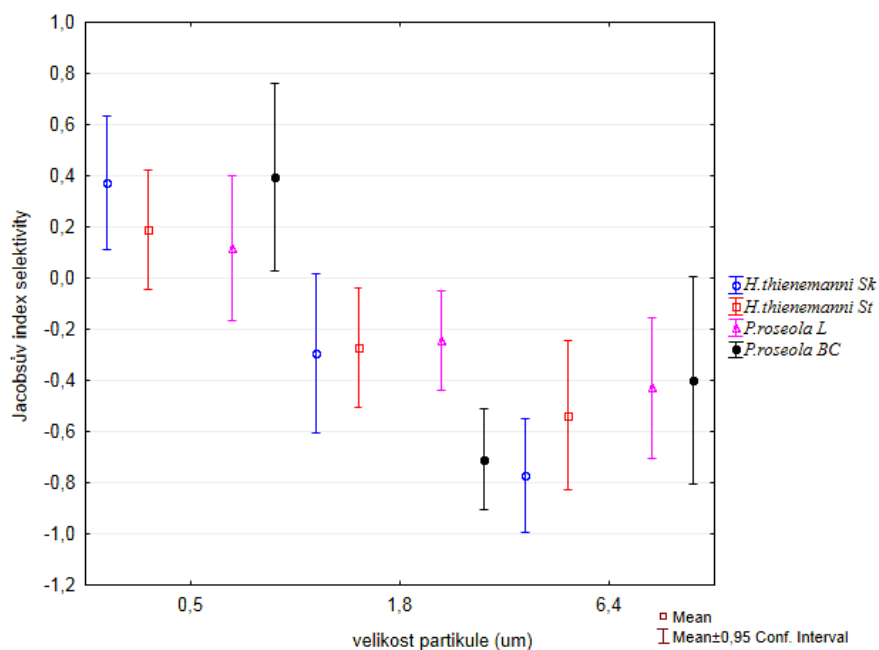
druhy	p	F	R^2	N
<i>H.thienemanni</i>	0,0000	23,9	0,05	407
<i>P.roseola</i>	0,0128	6,24	0,01	393
<i>M.insolita</i>	0,7047	0,14	0,01	138

5.4 Selektivita

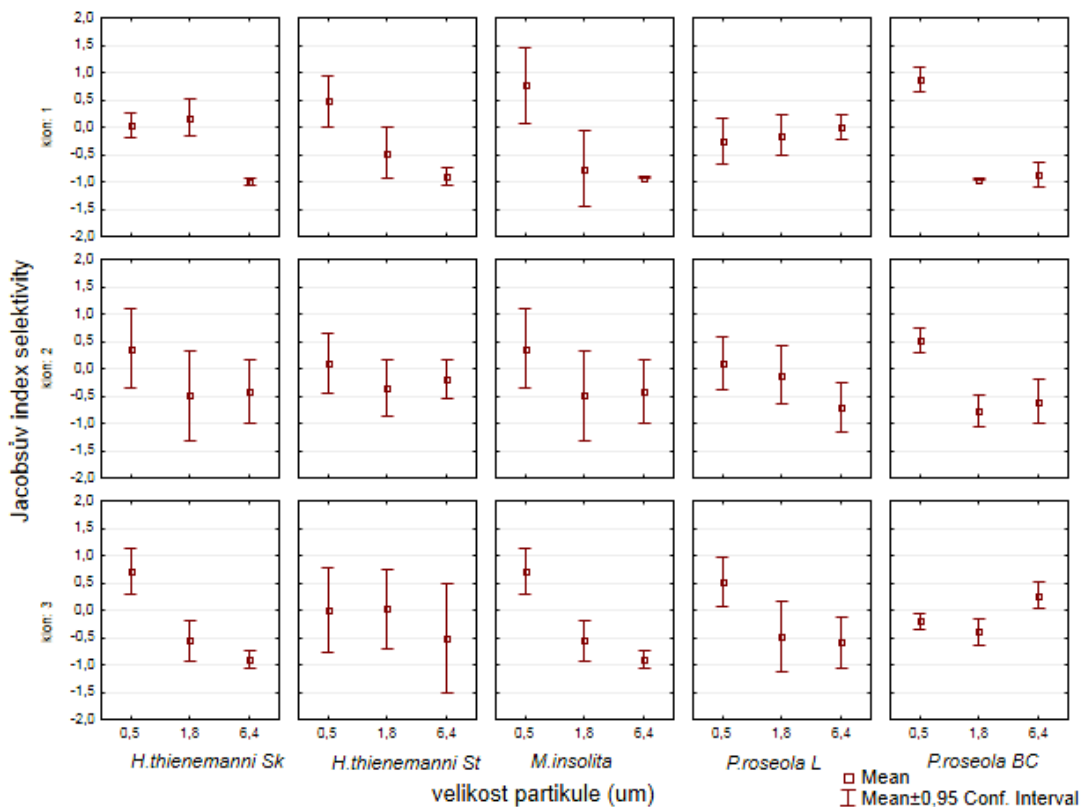
Selektivita podle velikosti potravy se mezi vířníky studovaných druhů neliší (hierarchická Anova, $p=0,911$, $F=0,093$, $df=2$, graf 12). Sledované druhy shodně preferují potravu nejmenší velikosti ($0,5 \mu\text{m}$). Středně velké ($1,8 \mu\text{m}$) a velké partikule ($6,4 \mu\text{m}$) pak jsou selektovány negativně, ale v přibližně stejném poměru. Hodnoty selektivity v závislosti na velikosti potravy pro populace vířníků stejného druhu se také neliší (*H. thienemanni*: hierarchická Anova, $p=0,7936$, $F=0,069$, $df=1$, graf 13; *P. roseola*: hierarchická Anova, $p=0,6267$, $F=0,24$, $df=1$, graf 13). Stejně jako druhy, rozdílné populace stejného druhu preferují nejmenší velikost nabízené potravy a větší potravu přijímají pouze výjimečně. Rozdílné nejsou ani hodnoty selektivity potravy pro klony jedné populace (hierarchická Anova, $p=0,780$, $F=0,439$, $df=4$). Selektivita sledovaných druhů, populací a klonů se od sebe neliší. Nicméně můžeme říci, že preference ve velikosti potravy jsou shodné. Nejvíce vyhledávanou potravou je nejmenší velikosti partikule ($0,5 \mu\text{m}$). Středně velké ($1,8 \mu\text{m}$) a velké partikule ($6,4 \mu\text{m}$) pak jsou konzumovány vířníky méně (graf 12–14).



Graf 12: Selektivita potravy (vynesená jako hodnoty Jacobsova indexu selektivity) v závislosti na velikosti potravy vířníky rodu *Habrotracha thienemanni*, *Philodina roseola* a *Macrotrachela insolita* (hodnoty $x > 0$ udávají pozitivní selekci potravy, hodnoty $x < 0$ označují negativní selekci potravy; mean-průměrná hodnota Jacobsova indexu, vynášeny jsou konfidenční intervaly).



Graf 13: Selektivita potravy (vynesená jako hodnoty Jacobsova indexu selektivity) v závislosti na její velikosti vířníky v jednotlivých populacích druhů *Habrotracha thienemanni*, *Philodina roseola* a *Macrotrachela insolita* (hodnoty $x > 0$ udávají pozitivní selekci potravy, hodnoty $x < 0$ označují negativní selekci potravy; mean-průměrná hodnota Jacobsova indexu, vynášeny jsou konfidenční intervaly).



Graf 14: Selektivita potravy (vynesena jako hodnoty Jacobsova indexu selektivity) v závislosti na její velikosti vířníky pro jednotlivé klony populací vířníků rodů *Habrotracha thienemanni*, *Philodina roseola* a *Macrotrachela insolita* (hodnoty $x > 0$ udávají pozitivní selekci potravy, hodnoty $x < 0$ označují negativní selekci potravy; mean-průměrná hodnota Jacobsova indexu, vynášeny jsou konfidenční intervaly).

6 Diskuse

6.1 Velikost vířníků v kulturách

Velikost vířníků v kulturách byla různá (šířka vířníka se pohybovala od 20–150 μm) a rozdíly ve velikosti malých a velkých jedinců byly poměrně velké. Jedním z důvodů rozdílné velikosti vířníků v rámci populace může být polymorfismus, související s velikostí potravy, na které populace roste (jako například u druhu *Collotheca ornata*, Ehrenberg, 1832). Tento jev může být způsoben také tím, že potrava přidávaná při růstu populace obsahuje nízké množství preferované velikosti, které zapříčiní odlišný růst jedinců (jako například u *Philodina acuticornis*, Maedow & Barrows, 1971) (Pouriot, 1977). V závislosti na tomto rozrůznění velikosti těla jedinců mohlo dojít již před experimentem ke změně preferencí velikostí potravy, respektive na přivyknutí si na velikost potravy přidávané do kultur vířníků. V experimentech se selektivitou je potom otázkou, jak moc jsou výsledky ovlivněny touto skutečností potravního rozrůznění jedinců. Pokud by existovalo toto

propojení ovlivňování růstu těla s velikostí potravy, znamenalo by to, že pokud se jakýkoliv jedinec druhu dostane do nového prostředí, je schopen se přizpůsobit v dalších generacích tamní potravě a obsadit celou potravní niku.

6.2 Metodické problémy

Metodickým problémem experimentu se jeví příprava roztoku pokusné potravy. I přes mnohonásobnou homogenizaci roztoků pokusné potravy, byla koncentrace jednotlivých velikostí pokusné potravy v každé pokusné nádobě odlišná a vířník měl pokaždé trochu jinou šanci zkonsumovat, tu či onu potravu dané velikosti. Poměrně velké množství vířníků nepožřelo žádnou z nabízené potravy, z tohoto důvodu byli tito jedinci vyřazeni z výpočtů filtrační aktivity, clearance rate a selektivity. Problémovým se ukazuje vyřazení nulových hodnot z výpočtu selektivity, protože se připravujeme o významnou část dat. Skutečný důvod, proč nic nezkonsumovali, neznáme a i nulové hodnoty nesou informaci, která by neměla být zanedbávána. Nulové hodnoty mohou odrážet stav vířníka – nedocházelo k víření a pouze se píd'alkovitě pohyboval. Partikule téměř nesedimentují, jako nevířící je tedy nemůže pozřít. (anabióza či uhynutí), nebo chemoreceptory umístěné na korónách filtračního aparátu vyhodnotily potravu jako nevhodnou k pozření a došlo k jejímu odmítnutí. Pro zahrnutí všech těchto faktorů, by měly ve výpočtu selektivity být zohledněny i nulové hodnoty, které jsou Jacobsovým indexem zanedbávány.

6.3 Filtrační aktivita

6.3.1 Filtrační aktivita druhů

V mé práci byla měřena filtrační aktivita třech druhů bdelloidních vířníků: *Habrotrocha thienemanni*, *Macrotrachela insolita* a *Philodina roseola* v závislosti na velikosti nabízené potravy (fluorescenčně značené partikule velikostí 0,5 μm , 1,8 μm a 6,4 μm). Pokud porovnáme filtrační aktivitu všech tří druhů vířníků, statisticky vychází, že hodnoty clearance rate se od sebe neliší. Nicméně malé rozdíly v hodnotách filtrační aktivity vířníků přece jen najdeme (graf 1). Hodnoty CR jsou důležitým ukazatelem specifických požadavků druhů na vlastnosti potravy, z čehož vyplývá, že pak sledované druhy mají podobné, či téměř stejné nároky na velikost potravy (Ooms-Wilms et al., 1993).

Naměřené hodnoty filtrační aktivity druhu *Habrotrocha thienemanni* pro velikost partikulí 0,5 μm jsou poněkud vyšší v porovnání s Devetter (2007) a průměrná hodnota naměřené CR v této práci pro stejnou velikost částice se pohybuje okolo 5,92 $\mu\text{l. ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Rozdílná hodnota CR může být dána odlišnými podmínkami pokusu. Pokles hodnot CR

s narůstající velikostí partikulí je uveden například pro koloniálního vířníka druhu *Conochiluss unicosnis*. Při zvětšení potravy z 5 μm na 9 μm se snížila filtrační rychlost až devětkrát, přičemž největší potrava (25 μm) nebyla konzumována téměř vůbec (Armengol et al., 2001). V porovnání s přirozenou potravou podobné velikosti, je filtrační aktivita nižší pro umělou potravu (Gilbert et al., 1980; Vadstein et al., 1993). K tomuto jevu zřejmě může docházet i u námi sledovaného druhu. Naměřená filtrační aktivita pro bentický druh vířníka *Philodina roseola* v této práci, byla několikrát vyšší než hodnota uváděná v jiné studii (Erman, 1956). Tento rozdíl opět může být dán velikostí nabízené potravy, která u Erman (1956) byla mnohem větší (20–30 μm) než velikost partikulí v mém pokusu (0,5 μm , 1,8 μm , 6,4 μm). Přirozená potrava (*Scenedesmus acuminatus*) použitá v uvedené práci (Erman, 1956) a mnou použité polystyrenové partikule mají odlišné nutriční složení, které by také mohlo mít vliv na filtrační aktivitu tohoto druhu. Rozdíl v aktivitě při filtraci různých velikostí partikulí, v této práci u tohoto druhu, je minimální. Zároveň i zvláštní anatomie tohoto vířníka. Konkrétně se jedná o daleko od sebe postavené vířivé terče v přední části těla, které naznačují, že tento bentický druh vířníka bude nejspíše schopen konzumovat se stejnou efektivitou různé velikosti potravy a bude mít široké potravní spektrum.

Třetím hodnoceným druhem vířníka je půdní druh *Macrotrachela insolita*. Tento druh špatně reagoval na nabízenou potravu a v důsledku nedostatku pozorování, je vyhodnocení filtrační aktivity pro tento druh obtížné. Málo pozorování může způsobit nepřesnost v pozorovaných výsledcích. Naměřená filtrační aktivita je u těchto vířníků nižší než u ostatních druhů a statisticky se liší od hodnot naměřených pro předchozí druhy. Půdní druhy bdelloidních vířníků jsou zajímavým objektem ke zkoumání. Zdá se, že v půdě jsou odlišné podmínky kontrolující filtrační aktivitu. K prokázání závislosti ovlivněných prostředím, ve kterém žijí, bude třeba provést další experimenty.

Filtrační aktivity těchto tří druhů vířníků jsou odlišné, avšak společným znakem je vysoká variabilita jednotlivých druhů v naměřených hodnotách. Tato variabilita, uvnitř druhu, ukazuje na individuální schopnost jednotlivců odlišně reagovat na nabízenou potravu a přizpůsobovat tomu svou filtrační aktivitu. Vliv na filtrační aktivitu by mohlo mít, a to ať už během experimentu nebo na přirozené lokalitě – teplota prostředí, množství a druhovém složení potravy, na kterou je vířník adaptován. Velmi specifickým životním prostředím druhu *Habrotrocha thienemanni* jsou dendrotelmy, dutiny stromů naplněné vodou. Dendrotelmy jsou poměrně extrémním habitatem z hlediska životního prostoru.

Populace je silně omezena prostorem, ale i potravními zdroji. Vzhledem k takto specifickým podmínkám života v tomto prostředí je možné, že populace tohoto vířníka jsou zaměřené na úzce vymezené spektrum potravy, které se zde nachází a jeho složení se příliš nemění. Navíc, v takto malém prostoru není ani kam uniknout před predátorem. Naopak druh *Philodina roseola* je obyvatelem bentického prostředí, ve kterém zastává funkci velkého bentického filtrátora (Kathol et al., 2009) primárních producentů – řas a bakterií. Avšak primární produkce u dna je velmi redukována. Proto, aby se konzument uživil, musí vyvinout větší snahu získat potravu. Užít se v bentosu znamená zvýšit filtrační aktivitu, vydat se pro potravu do pelagiálu, nebo rozšířit velikostní spektrum potravy (například o organické zbytky, klesající ke dnu).

6.3.2 Filtrační aktivita mezi populacemi stejného druhu

Filtrační aktivita se mezi druhy neliší. Ale filtrační aktivita naměřená pro dvě populace druhů *Philodina roseola* byly průkazně rozdílné. Pro druhý druh, *Habrotrocha thienemanni*, jsem rozdíl nepozorovala. Vysvětlením by mohla být specifická nabídka potravy v přirozeném prostředí, a to rozdíl mezi potravou vyskytující se v bentosu a dendrotelmách. Rozdíly mezi populacemi druhu *P. roseola* pak ukazují na poměrně různorodou škálu potravních strategií v rámci populací. V závislosti na vnějších podmínkách mohlo dojít k rozrůznění fenotypových vlastností, které ovlivňují potravní chování.

6.3.3 Filtrační aktivita mezi klony jedné populace

Filtrační aktivita se od sebe statisticky neliší u některých klonů (*H. thienemanni* Sk, *M. insolita* a *P. roseola* L), u jiných je odlišná (*H. thienemanni* St a *P. roseola* BC). I přes to, že se filtrační aktivita některých klonů statisticky neliší, z grafů (graf 4, 5, 6) je patrné, že ve filtrační aktivitě klonů jsou rozdíly. Z ekologického hlediska jedinci jedné populace využívají stejnou potravní niku trochu jiným způsobem a mají jinou strategii využívání zdrojů dané niky, čímž vznikají rozdíly ve filtrační aktivitě mezi klony. Avšak tyto strategie ve využívání potravní niky jsou v každé populaci zastoupeny rovnoměrně. Proto při porovnání dvou populací stejného druhu vířníka nejsou porovnávané populace stejného druhu statisticky odlišné. To podporuje tvrzení řady autorů, že druhy bdelloidních vířníků jsou dobře definovány a to i navzdory absenci pohlavního rozmnožování (Fontaneto et al., 2008).

6.4 Selektivita

Vířníci si vybírají mezi různými druhy potravy. Jedním z důležitých parametrů, který ovlivňuje příjem potravy, je její velikost. Preference spojené s velikostí potravy se mění

v rámci jednotlivých druhů (Rothhaupt, 1990a; Vadstein et al., 1993; Hansen et al., 1997). To potvrzují i výsledky mého experimentu. Všechny druhy preferovaly malou velikost potravy (0,5 μm) a negativně selektovaly větší (1,8 μm a 6,4 μm). Toto zjištění vyvrací názor některých autorů, že vířníci nejsou schopni zachytit potravu menší než 2 μm (Gilbert et al., 1984; Hotos, 2003; Lapinsky et al., 2003). Naopak výsledky této práce ukazují, že bdelloidní vířníci jsou efektivními filtrátory malé potravy.

Mnou sledovaní vířníci selektovali potravu o velikosti 6,4 μm negativně. V některých studiích je uváděno, že rod *Brachionus* selektoval nabízenou potravu, konkrétně druh *Tetraselmis suecica*, ještě o něco větší velikost potravy (9,5 μm) pozitivně. Odlišný přístup selektování potravy vířníky by mohl být dán odlišným složením umělé potravy od jejich přirozené potravy. Potrava vířníků, kterou konzumují v přirozeném prostředí má flexibilní stěny umožňující snazší pozření (Ciros-Péres et al., 2001a). Menší partikule, o velikosti 1,8 μm , byly druhy přijímány odlišně. Druhy *Macrotrachela insolita* a *Habrotrocha thienemanni* tuto velikost selektovali negativně, nicméně bentický druh *Philodina roseola* tuto velikost preferoval. Selektivita těchto středně velkých částic u tohoto druhu by mohla být přizpůsobením k bentickému způsobu života, který nabízí širší spektrum potravních zdrojů. Positivní selekci, přibližně stejné velikosti potravy (2 μm), je uváděn i pro druh *Brachionus plicatilis*, který tuto velikost preferoval ze všech nabízených velikostí nejvíce (Vadstein et al., 1993).

Podobně jako v případě druhu *Brachionus plicatilis* (Vadstein et al., 1993), byla nejmenší velikost partikule (0,5 μm) selektována pozitivně druhy *Macrotrachela insolita* a *Habrotrocha thienemanni*. Celkově se selektivita testovaných druhů liší a zdá se, že velikost potravy je významným faktorem ovlivňujícím její přijetí. Nicméně hodnoty směrodatných odchylek jsou vysoké a ukazují na velkou variabilitu dat, což může znamenat různou schopnost vířníků reagovat na velikost nabízené potravy. Selektce malé velikosti potravy potvrzuje zařazení vířníků do skupiny mikrofágů, konzumentů potravy velikosti 0,5–20 μm . Vzhledem k velikosti potravy preferované vířníky v této práci by se dokonce dalo zařadit tyto druhy mezi pikofágy. Právě kvůli jejich upřednostňování potravy o velikosti 0,2–3 μm (Arndt, 1993).

Bdelloidní druhy vířníků preferují malé velikosti potravy a selektce potravy se mezi druhy liší. V populacích vířníků stejného druhu je tomu podobně. Vířníci stejných populací shodně preferují menší potravu, nicméně množství, v jakém ji konzumují, se může lišit.

Tento vzor se ale neopakuje na úrovni klonů. Variabilita uvnitř klonů je velká a každý klon z jedné populace preferuje různě velkou potravu a v různém množství. Každý jedinec tak selektuje potravu odlišně a konzumuje odlišné množství potravy. Zdá se, že jednotlivé populace zaujímají pozici filtrátorů malých kategorií, podjednotek, nik. Což se na úrovni druhů projevuje rovnoměrnou selekcí potravy celé potravní niky. U některých klonů vířníků jsou vypočítané hodnoty Jacobsova indexu nízké pro všechny velikosti potravy, a proto není z výsledků jasná pozitivní odpověď na velikost partikule, a to i přes to, že jedna velikost potravy je vždy preferována více.

6.5 Závislost množství požití potravy na velikosti těla vířníka

Významným faktorem v potravních studiích je závislost množství požití potravy na velikosti těla vířníka. Podle teorie velikostní efektivity („size efficiency hypothesis“), (Brooks et al., 1965), neovlivňuje velikost těla velikost nejmenší přijaté potravy, ale s rostoucí velikostí těla roste maximální velikost potravy (Hall et al., 1976). Navíc podle této teorie s rostoucí velikostí jedince vzrůstá množství požití potravy (Stemberger et al., 1985). Tato teorie podporuje signifikantní výsledky závislosti velikosti těla vířníka a množství požití potravy v mém experimentu u vířníků druhů *Habrotrocha thienemanni* a *Philodina roseola*. Avšak u druhu *Macrotrachela insolita* jsem tuto závislost nepozorovala. Tento stav může být způsoben odlišnou velikostí, nebo zvyklostmi tohoto druhu.

Zdá se, že v půdě by mohl být výhodou menší rozměr těla, který by umožňoval pohyb i v menších půdních pórech (ve velikosti 20–50 μm) a to až už při zisku potravy, nebo jako přizpůsobení na snižující se obsah vody v půdě. Nicméně pro určení závislosti množství požití potravy a velikosti těla je potřeba dalších experimentů. Pozitivní korelaci velikosti těla a množství potravy pro druh *Habrotrocha thienemanni* byla pozorována (Devetter, 2007). I přesto, že výsledky ukazují na pozitivní korelaci mezi množstvím požití potravy a velikostí těla, tento faktor vysvětluje pouze malou variabilitu v datech. To ukazuje na skutečnost, že velikost těla sice má jistý vliv na příjem potravy, ale budou zde i další faktory, které ovlivňují příjem potravy jedincem. Například množství potravy v prostředí, chuť potravy, nebo její nutriční hodnota.

7 Závěr

Rychlost filtrace, v závislosti na velikosti nabízené potravy, se mezi zkoumanými druhy vířníků liší. Rozdíly ve filtrační aktivitě mezi druhy jsou signifikantní, a to i přesto,

že v nižších podjednotkách (populace a klony) určité rozdíly najdeme. Ty by mohly být dány především rozrůzněním potravních nik jedinců, kteří jsou dohromady ve větších měřících, v druhu či populaci, zastoupeny rovnoměrně. Rovnoměrné rozložení potravních strategií v rámci filtrování potravy má vliv i na preferenci výběru velikosti potravy.

Bdelloidní vířníci jsou považováni za filtrátory malé suspendované potravy. Tuto hypotézu jsem ve své práci potvrdila. Během filtrace byla vířníky selektována potrava nejmenší velikosti. Nepozorovala jsem ovšem rozdíly v selekci mezi druhy, populacemi a ani klony.

Velikost těl vířníků byla v pokusných populacích rozlišná a očekávala jsem, že i množství potravy pozřené vířníky bude pozitivně ovlivněno velikostí jedince. Tuto závislost jsem pozorovala pouze u čistě akvatických druhů, jako jsou *H. thienemanni* a *P. roseola*. Zdá se, že naopak v půdním prostředí množství potravy s velikostí těla klesá, jak ukázalo pozorování u druhu *M. insolita*. Množství potravy pozřené vířníky bylo značně variabilní a velikost těla vířníka vysvětluje pouze malé procento této variability.

I přes tyto výsledky je potřeba dalších pozorování, která by přiblížila vztahy mezi velikostí potravy a jejím vlivem na filtrační rychlost, selektivitu a množstvím, v jakém je potrava konzumována vířníky. V případě hodnocení selektivity je nasnadě zvážení jiného výpočtového modelu, který by zahrnoval i nulové hodnoty a pomohl tak k přesnějšímu vyhodnocení výsledků.

8 ZDROJE

- Armengol X., Boronat L., Camacho A., Wurtsbaugh W. A., 2001. Grazing a dominant rotifer *Conochilus unicornis* Rousselet in a mountain lake: *in situ* measurements with synthetic microspheres. *Hydrobiologia* 446/447: 107–114.
- Arndt H., 1993. Rotifers as predators on components of microbial web (bacteria, heterotrophic flagellates, ciliates) – a review. *Hydrobiologia* 255/256: 231–246.
- Bartoš E., 1959. Fauna ČSR svazek 15: Vířníci – Rotatoria. Nakladatelství Československé Akademie Věd
- Bear A., Langdon C., Mills S., Schutz C., Hamre K., 2008. Particle size preference, gut filling and evacuation rates of the rotifer *Brachionus* “Cayman“ using polystyrene latex beads. *Aquaculture* 282: 75–82.
- Bern L., 1985. Autoradiographic studies of [methyl-³H]-thymidin incorporation in a cyanobacterium (*Microcystis wesenbergii*) – bacterium association and in selected algae and bacteria. *Appl. Environ. Microb.* 49: 232–233.
- Bern L., 1990. Size-related discrimination of nutritive and inert particles by living water zooplankton. *J. Plankton Res.* 12: 1059–1067.
- Bogdan K. G., Gilbert J. J., 1982. Seasonal pattern of feeding by natural populations of *Keratella*, *Polyarthra* and *Bosmina*: clearance rates, selectivities and contributions to community grazing. *Limnol. Oceanogr.* 27: 918–937.
- Bogdan K. G., Gilbert J. J., 1984. Body size and food size in freshwater zooplankton. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 6427–6431.
- Bogdan, K. G., Gilbert J. J., 1987. Quantitative comparison of food niches in some freshwater zooplankton. A multi-tracer-cell approach. *Oecologia* 72: 331–340.
- Bogdan K. G., Gilbert J. J., Starkweather P. L., 1980. *In situ* clearance rates of planktonic rotifers. *Hydrobiologia* 73: 73–77.
- Boon P. I., Shiel R. J., 1990. Grazing on bacteria by zooplankton in Australian billabongs. *Aust. J. Mar. Freshwat. Res.* 41: 247–257.

- Brooks J. L., Dodson S. I., 1965. Predation, body size, and composition of plankton. *Science* 150: 28–35.
- Ciros-Péres J., Carmona M. J., Serra M., 2001a. Resource competition between sympatric sibling rotifer species. *Limnol. Oceanogr.* 46: 1511–1523.
- Ciros-Péres J., Gomez A., Serra M., 2001. On the taxonomy of the three sympatric sibling species of the *Brachionus plicatilis* (Rotifera) complex from Spain, with the description of *B.ibericus* n.sp. *J.Plankton. Res.* 23: 1311–1328.
- Clément P., Amsellem J., Cornillac A. M., Luciani A., Ricci C., 1980. An ultrastructural approach to feeding behaviour in *Philodina roseola* and *Brachionus calyciflorus* (Rotifers). *Hydrobiologia* 73: 137–141
- Clement P., Wurdak E., 1991. Rotifera in microscopic anatomy of invertebrates. Aschelminthes. In: Harrison F. W., Ruppert E. E. editors. Chichester: Wiley-Liss & Sons, 4: 219–289.
- Clément P., Wurdak E., Amsellem J., 1983. Behaviour and ultrastructure of sensory organs in rotifers. *Hydrobiologia* 104: 89–130.
- Demir N., Kirkagac M. U., 2005. Plankton composition and water quality in a pond of spring origin in Turkey. *Limnology* 6: 189–194.
- DeMott W. R., 1986. The role of taste in food selection by freshwater zooplankton. *Oecologia* 69: 334–340.
- Devetter M., 2007. Clearance rates of the bdelloid rotifer *Habrotrocha thienemanni* a tree-hole inhabitant. *Aquat. Ecol.* 43: 85–89.
- Dhert P., Rombaut G., Suantika G., 2001. Advancement of rotifere culture and manipulation techniques in Europe. *Aquaculture* 200: 129–146.
- Donner J., 1965. Ordnung Bdelloidea (Rotatoria, Rädertiere). Akademie-Verlag Berlin
- Dumont H. J., 1977. Biotic factors in the population dynamics of rotifers. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.* 8: 98–122.
- Edmondson W. T., Winberg G. G., 1971. A manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh waters. IBP Handbook 17, Oxford: Blackwell

- Erman L. A., 1956. Feeding habits of Rotifera from the quantitative aspect. *Zool. Zh.* 35: 965–971.
- Fontaneto D., Boschetti C., Ricci C., 2008. Cryptic diversification in ancient asexuals: evidence from the bdelloid rotifer *Philodina flaviceps*. *J. Evolution Biol.* 21: 580–587.
- Friedman M. M., 1977. Electron microscopic studies of the filter-feeding mechanisms of calanoid copepods (*Arthropoda: Crustacea*). Ph.D. Dissertation. The Johns Hopkins University. 100 p.
- Fulton R. S. III, 1988. Grazing on filamentous algae by herbivorous zooplankton. *Freshwater Biol.* 20: 263–271.
- García C. E., Nandini S., Sarma S. S., 2009. Seasonal dynamics of zooplankton in Lake Huetzalin, Xochimilco (Mexico City, Mexico). *Limnologica* 39: 283–291.
- Gilbert J. J., 1980. Feeding in the rotifer *Asplanchna*: behaviour, cannibalism, selectivity, prey defences, and impact on rotifer communities. 158–172 in W. C. Ketfoot, editor. *Evolution and ecology of zooplankton communities*. University Press of New England, Hanover, New Hampshire, USA.
- Gilbert J. J., Bogdan K. G., 1984. Rotifer grazing: *In situ* studies on selectivity and rates in *Trophic Interactions Within Aquatic Ecosystems*, Meyers, D.G & J.R. Strickler (eds), Westview Boulder Colorado: 97–133.
- Gilbert, J. J., Durand M.W., 1990. Effect of *Anabaena flosaquae* on the abilities of *Daphnia* and *Keratella* to feed and reproduce on unicellular algae. *Freshwat. Biol.* 24: 577–596.
- Gilbert J. J., Jack J. D., 1993. Rotifers as predators on small ciliates. *Hydrobiologia* 255/256: 247–253.
- Gilbert J. J., Starkweather P. L., 1977. Feeding in the rotifer *Brachionus calyciflorus* I. Regulatory mechanisms. *Oecologia* 28: 97–133.
- Gilbert J. J., Stemberger R.S., 1985. Prey capture in the rotifer *Asplanchna girodi*. *Verh. Int. Ver. Limnol.* 22: 2997.
- Gosselain V., Viroux L., Descy J. P., 1998. Can community of small-bodies grazers control phytoplankton in rivers? *Freshwater Biology* 39: 9–24.

- Gulati R. D., 1985. Zooplankton grazing methods using radioactive tracers: technical problems. *Hydrobiol. Bull.* 19: 61–69.
- Gulati R. D., Ejsmont-Karabin J., Postema G., 1993. Feeding in *Euchlanis dilatata lucksiana* Hauer on filamentous cyanobacteria and a prochlorophyte. *Hydrobiologia* 255/256: 269–274.
- Hall D. J., Threlkeld S. T., Burns W. C., Crowley P. H., 1976. The size-efficiency hypothesis and the size structure of zooplankton communities. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 7: 177–208.
- Hansen P. J., Bjørnsen P. K., Hansen B. W., 1997a. Zooplankton grazing and growth: scaling within the 2–2000 µm body size range. *Limnol. Oceanogr.* 42: 687–704.
- Hansen B., Wernberg-Møller T., Wittrup L., 1997. Particle grazing efficiency and specific growth efficiency of the rotifer *Brachionus plicatilis* (Muller). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 215: 217–233.
- Hino A., Hirano R., 1980. Relationship between body size of the rotifer *Brachionus plicatilis* and the maximum size of particle ingested. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 46: 1217–1222.
- Hino A., Hirano R., 1984. Relationship between body size of the rotifer *Brachionus plicatilis* and the minimum size of particles ingested. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 50: 1139–1144.
- Hotos G. N., 2002. Selectivity of the rotifer *Brachionus plicatilis* fed mixtures of algal species with various cell volumes and cell densities. *Aquac. Res.* 33: 949–957.
- Hotos G. N., 2003. Growth, filtration and ingestion rate of rotifer *Brachionus plicatilis* fed with large (*Asteromonas gracilis*) and small (*Chlorella sp.*) celled algal species. *Aquac. Res.* 34: 793–802.
- Hutchinson G. E., 1965. *The ecological theatre and the evolutionary play*. Yale.
- Ivlev V. S., 1961. *Experimental ecology of the feeding of fishes*. New Haven: Yale Uni. Press
- Jacobs J., 1974. Quantitative measurement of food selection: A modification of the Forage ration and Ivlev's Electivity Index. *Oecologia (Berl.)* 14: 413–417.
- Kang K. H., Seon S. C., Brzozowska R., Lee J. Y., 2010. The effect of environmental factors on filtration and the oxygen consumption rate of the rotifer *Brachionus plicatilis*:

- a primary exploration of red tide control. *Oceanographical and Hydrobiological Studies* 39: 3–9.
- Kathol M., Norf H., Arndt H., Weitere M., 2009. Effect of temperature increase on the grazing of planktonic bacteria by biofilm-dwelling consumers. *Aquat. Microb. Ecol.* 55: 65–79.
- Keckeis S., Baranyi Ch., Hein T., Holarek C., Riedler P., Schiemer F., 2003. The significance of zooplankton grazing in a floodplain system of the river Danube. *J.Plankt.Research* 25: 243–253.
- Kim H. W., Hwang S. J., Chang K. H., Jang M. H., Joo G. J., Walz N., 2002. Longitudinal difference in zooplankton grazing on phyto- and bacterioplankton in the Nakdong river (Korea). *Internat. Rev. Hydrobiol.* 87: 281–293.
- Kirk K. L., 1991. Inorganic particles alter competition in grazing plankton: the role of selective feeding. *Ecology* 72: 915–923.
- Kleinow W., Kuhle K., 1984. Zum pH-Optimum hydrolytischer Enzyme und zum pH-Milieu im Verdauungstrakt bei *Brachionus plicatilis* (Rotatoria). *Verhandlungen der Deutschen Zoologischen Gesellschaft* 77: 299
- Lapinski J., Tunnacliffe A., 2003. Reduction of suspended biomass in municipal wastewater using bdelloid rotifers. *Water Res.* 37: 2027–2034.
- Lam R. K., Frost B. W., 1976. Model of copepod filtering response to changes in size and concentration of food. *Limnol.Oceanogr.* 21: 490–500.
- Lehman J. T., 1976. The filter-feeder as an optimal forager, and the predicted shapes of feeding curves. *Limnol.Oceanogr.* 21: 501–516.
- Lindemann N., Kleinow W., 2000. A study of rotifer feeding and digestive processes using erythrocytes as microparticulate markers. *Hydrobiologia* 435: 27–41.
- Lindemann N., Discher L., Kleinow W., 2001. Use of microparticulate markers in examination of rotifer physiology: results and prospects. *Hydrobiologia* 446/447: 57–61.
- Lürling M., Verschoor A. M., 2003. F_0 -spectra of chlorophyll fluorescence for the determination of zooplankton grazing. *Hydrobiologia* 491: 145–157.

- McManus G. B., Fuhrman J. A., 1986. Bacterivory in seawater studied with use of inert fluorescent particles. *Limnol. Oceanogr.* 31: 420–426
- Melone G., Ricci C., 1995. Rotatory apparatus in Bdelloids. *Hydrobiologia* 313/314: 91–98.
- Monakov A.V., 2003. Feeding of freshwater invertebrates. Kenobi Production, Ghent, Belgium.
- Navarro N., 1999. Feeding behaviour of the rotifers *Brachionus plicatilis* and *Brachionus rotundiformis* with two types of food: live and freeze-dried microalgae. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 237: 75–87.
- Ooms-Wilms A. L., Postema G., Gulati R. D., 1991a. First attempt to measure the clearance rate of *Anuraeopsis fissa*. *Verh. Int. Limnol.*, 24: 742–744.
- Ooms-Wilms A. L., Postema G., Gulati R. D., 1991b. Ingestion of fluorescently labelled bacteria by rotifers and cladocerans in Lake Loosdrecht as measure of bacterivory. *Memorie dell' Instituto italiano di Idrobiologia*, 48: 269–278.
- Ooms-Wilms A. L., Postema G., Gulati R. D., 1993. Clearance rates of bacteria by the rotifer *Filinia longiseta* (Ehrb.) measured using three tracers. *Hydrobiologia* 255/256: 255–260.
- Ooms-Wilms A. L., Postema G., Gulati R. D., 1995. Evaluation of bacterivory of Rotifera based on measurements of *in situ* ingestion of fluorescent particles, including some comparisons with Cladocera. *J. Plankton Res.* 17: 1057–1077.
- Pavón-Meza E., Sarma S., Nandi S., 2005. Combined effects of algal (*Chlorella vulgaris*) food level and temperature on the demography of *Brachionus havaniensis* (Rotifera): a life table study. *Hydrobiologia* 593: 353–360.
- Peterson B.J., Hobbie J.E., Haney J.F., 1987: *Daphnia* grazing on natural bacteria. *Limnol. Oceanogr.* 23: 1039–1044.
- Pilarska J., 1977. Eco-physiological studies on *Brachionus rubens* Ehrbg. (Rotatoria) I. Food selectivity and feeding rate. *Pol. Arch. Hydrobiol.* 24: 319–328.
- Polo A., Yufera M., Pascual E., 1992. Feeding and growth of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) larvae in relation to the size of the rotifer strain used as food. *Aquaculture* 103: 45–54.

- Pourriot R., 1965. Recherches sur l'écologie des rotifères. Vie Milieu: (Suppl. 21) 224 pp.
- Pourriot R., 1977. Food and feeding habitats of Rotifera. Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol. 8: 243–260.
- Ricci C., 1984. Culturing of some bdelloid rotifers. Hydrobiologia 112: 45–51.
- Ricci C., Melone G., Walsh E. J., 2001. A carnivorous bdelloid rotifer, *Abrochtha carnivora* n.sp.. Invertebr. Biol. 120: 136–141.
- Ronneberger D., 1998. Uptake of latex beads as size-model for food of planktonic rotifers. Hydrobiologia 387/388: 455–499.
- Rothhaupt K. O., 1990a. Differences in particle size-dependent feeding efficiencies of closely related rotifer species. Limnol. Oceanogr. 35: 16–23.
- Rothhaupt K. O., 1990. Changes of the functional responses of the rotifers *Brachionus rubens* and *Brachionus calyciflorus* with particle sizes. Limnol. Oceanogr. 35: 24–32.
- Rothhaupt K. O., 1995. Algal nutrient limitation affects rotifer growth rate but not ingestion rate. Limnol. Oceanogr. 40: 1201–1208.
- Ruttner-Kolisko A., 1972. Rotatoria. Die Binnengewässer 26: 99–234.
- Sartori L. P., Nogueira M. G., Henry R., 2009. Zooplankton fluctuations in Jurumirim Reservoir (Sao Paulo, Brazil): a three-year study. Braz. J. Biol., 69: 1–18.
- Scheda S. M., Cowell B. C., 1988. Rotifer grazers and phytoplankton: seasonal experiments on natural communities. Arch. Hydrobiol. 114: 31–44.
- Simpson A. G. B., Rodger A. J., 2004. The real 'kingdoms' of eukaryotes. Curr. Biol. 14: 693–696.
- Soares M. C. S., Lüring M., Huszar V. L. M., 2010. Responses of the rotifer *Brachionus calyciflorus* to two tropical toxic bacteria (*Cylindrospermopsis raciborskii* and *Microcystis aeruginosa*) in pure and mixed diets with green algae. J. Plankt. Research 32: 999–1008.
- Starkweather P. L., Gilbert J. J., 1977. Feeding in the rotifer *Brachionus calyciflorus* II. Effect of food density on feeding rates using *Euglena gracilis* and *Rhodotorula glutinis*. Oecologia 28: 133–139.

- Starkweather P. L., Gilbert J. J., Frost T. M., 1979. Bacterial feeding by the rotifer *Brachionus calyciflorus*: Clearance and ingestion rates, behaviour and population dynamics. *Oecologia (Berl.)* 44: 26–30.
- Stemberger R. S., Gilbert J. J., 1985. Body size, food concentration and population growth in planktonic rotifers. *Ecology* 66: 1151–1159.
- Strathmann R. R., Jahn T. L., Fonseca J. R. C., 1972. Suspension feeding by marine invertebrate larvae: clearance of particles by ciliated bands of rotifer, pluteus and trochophore. *Biol. Bull.* 142: 505-519.
- Telesh I. V., Ooms-Wilms A., Gulati R. D., 1995a. Evaluation of bacterivory of Rotifera based on measurements of *in situ* ingestion of fluorescent particles, including some comparisons with *Cladocera*. *J. Plankton. Res.* 17: 1057–1077.
- Telesh I. V., Ooms-Wilms A., Gulati R. D., 1995b. Use of fluorescent labelled Algae to measure the clearance rate of the rotifer *Keratella cochlearis*. *Freshwater Biology* 33: 349–355.
- Vadstein O., Øie G., Olsen I., 1993. Particle size dependent feeding by the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Hydrobiologia* 255/256: 261–267.
- Wagner S. C., 2012. Keystone Species. *Nature Education Knowledge* 3:51
- Wallace R. L., Snell T. W., Ricci C., 2006. Rotifera: Volume 1: Biology, ecology and systematic. 2nd edition; Kenobi Productions, Ghent, Belgium; Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands.
- Wallace R. L., Starkweather P. L., 1983. Clearance rates of sessile rotifers: *in situ* determination. *Hydrobiologia* 104: 379–383.
- Wallace R. L., Starkweather P. L., 1985. Clearance rates of sessile rotifers – *in vitro* determinations. *Hydrobiologia* 121: 139–144.
- Walz N., 1995. Rotifer populations in plankton communities: energetics and life history strategies. *Experientia* 51: 437–354.
- Welch D. B. M., 2001. Early contribution of molecular phylogenetics to understanding the evolution of Rotifera. *Hydrobiologia* 446/447: 315–322.

- Yúfera M., 2007. Swimming behaviour of *Brachionus plicatilis* in relation to food concentration and feeding rates. *Hydrobiologia* 593: 13–18.
- Zhou W., Tang X., Qiao X., Wang Y., Wang R., Feng L., 2009. Ingestion of *Brachionus plicatilis* under different microalgae conditions. *Chin. J. Oceanol. Limn.* 27: 473–479.
- Zrzavý J., 2006. Fylogeneze živočišné říše. 1. vydání: Praha: Scientia. 256s.

9 PŘÍLOHY

9.1 Složení krmné směsi TETRAWAFER Mix.

- ryby a vedlejší výrobky z ryb
- bílkovinné extrakty rostlinného původu
- obiloviny
- vedlejší výrobky rostlinného původu
- měkkýši a korýši
- řasy (*Spirulina sp.* max. 1,5 %)
- minerální látky
- oleje a tuky
- vitamin A (28460 UI/kg), vitamin D3 (1770 UI/kg), vitamin E (190 mg/kg), L-askorbl-2-polyfosforečnan (130 mg/kg)
- lecitin, k. citronová, lysin chlórhydrát

9.2 Specifikace přístroje Ultrasonic Ltd.

- frekvence 20 KC
- příkon 200-250V
- 50 cyklů
- No. SP-831

9.3 Specifikace použitých partikulí v experimentu.

Tab. V: Bližší specifikace použitých inertních partikulí v experimentu.

velikost partikule [μm]	SD [μm]	fluorescenční označení	název produktu	koncentrace roztoku partikule/ml	excitace max	emise max
0,487	0,015	červená	Fluoresbrite Multifluorescent 0,5 micron Microspheres	$3.64 \cdot 10^{11}$	588	612
1,871	0,048	zelená	Fluoresbrite™ Carboxylate YG 2,0 micron Microspheres	$8.49 \cdot 10^9$	441	486
6,416	0,514	fialová	Fluoresbrite™ Carboxylate Microspheres	$2.10 \cdot 10^8$	441	486

9.4 Koncentrace zásobních roztoků partikulí

Tab. VI: Koncentrace zásobních roztoků partikulí.

velikost partikule [μm]	koncentrace zásobního roztoku [partikule. ml^{-1}]
0,5	$7,17 \cdot 10^5$
1,8	$4,82 \cdot 10^5$
6,4	$5,39 \cdot 10^5$

9.5 Velikost těla vířníků – kategorie.

Tab. VII: Velikostní kategorie vířníků.

velikostní kategorie [μm]
20
30
50
75
100
120
130
140