

Oponentský posudek na magisterskou práci D. Hlávkové: Filtrační aktivita a potravní selektivita bdelloidních vířníků (Rotatoria).

Magisterská práce D. Hlávkové má 48 stran, včetně seznamu literatury, který čítá 101 položek. Navíc obsahuje 2 strany příloh. Součástí práce jsou 4 tabulky a 14 grafů. Předmětem práce je experimentální zhodnocení kvantitativních a kvalitativních parametrů filtrace tří druhů bdelloidních vířníků s využitím fluorescenčně značených umělých partikulí tří různých velikostních kategorií. Práce je poměrně přehledně rozčleněna na úvodní část, literární rešerši, metodiku vlastních experimentů, výsledky, diskusi a závěry s podrobnějším rozdělením do dalších podkapitol. Téma práce je vcelku jasně vymezené a zvolená metodika v principu odpovídá stanoveným cílům. Použití fluorescenčně značených umělých partikulí je moderní a účinná metoda při studiu potravního chování vodních mikrofiltrátorů. Práce však trpí na mnoha místech nejasnými formulacemi a nepřesným vymezením a používáním pojmů a parametrů (veličin). Nedostatkem jsou také chybějící podrobné informace zejména v metodické části o přípravě a provádění experimentů. Konkrétní připomínky a dotazy jsou uvedeny dále:

- bod 2 odstavce 2.1 Hypotézy - není jasné co je míněno parametrem "celkové množství přijaté potravy"
- bod 1. odstavce 2.2 Cíle - parametr "filtrační aktivita" je dosti obecný pojem pokud není přesně definován. V dalším textu je tento parametr hojně používán ve zcela specifickém významu a není nikde v textu definován. Teprve z grafů se dá vyvodit, že je to pravděpodobně množství pozřených partikulí za dobu experimentu vztažené na jednotku velikosti (šířky) vířníka. Není to tedy "množství pozřené potravy vířníkem v závislosti na velikosti těla", jak je chybně uváděno v legendě ke grafům, ale vliv velikosti těla je naopak odstíněn. Body 3. a 5. se do značné míry významově překrývají.
- výraz "koncentrace partikulí v roztoku" není správný, lépe je použít hustota partikulí v suspenzi.
- v metodickém popisování postupu provádění experimentů chybí řada podstatných informací: jakým způsobem byla připravována suspenze partikulí? jaká byla hustota partikulí v pokusu? jaký byl poměr velikostních skupin partikulí? jaká byla hustota vířníků v pokusu a jaká byla variabilita těchto parametrů v paralelních sledováních a kontrolách? v jakých nádobách probíhal pokus? používal se v experimentu vždycky klonovaný materiál nebo se prováděly také pokusy s neklonovanou populací? ukončení pokusu přidáním vroucí vody - důvod? v jakém rozmezí se pohybovaly počty pozřených partikulí za dobu experimentu? jsou to hodnoty znázorněné v grafech 9-11? Pokud ano mělo by to být takto prezentováno a nikoliv jako "množství pozřené potravy..." (partikule nejsou potrava a tato nepřesnost se v práci vyskytuje na více místech).
- pro statistické vyhodnocení některých experimentů by bylo vhodné použít dvoj- nebo trojcestnou ANOVA, které současně s vlivem faktorů vyhodnotí významnost interakcí mezi faktory
- pro hodnocení závislosti potravní aktivity na velikosti jedinců by možná bylo vhodné použít nelineární regrese. Rozložení bodů v grafu naznačuje ve všech případech pokles potravní aktivity u větších velikostních kategorií (vliv senescence?).

Při formulování závěrů doporučuji vycházet z toho co bylo stanoveno jako hypotézy a cíle práce a zdržet se spekulativních formulací. Druhá věta v kapitole Závěry nedává smysl.

Kromě uvedených nejasností jsem v práci narazil na chyby, které mají spíš charakter tiskové chyby nebo formálního pochybení:

- str. 10, ř. 14 - rod *Asplanchna* asi nelze označit za herbivorní
- str. 20, ř. 3 odspodu - má být "druh" nikoliv "rod"
- oddíl 5.2 v odkazech na tabulku má být tab. III
- str. 35, ř. 2 - zkomolené jméno *Conochilus unicornis*

Závěrem konstatuji, že práce v zásadě splňuje požadavky kladené na magisterskou práci s tou výhradou, že pokud má být splněno kritérium publikovatelnosti práce v odborném tiskum, bude nutno doplnit chybějící informace a odstranit formulační a terminologické nejasnosti. Práci doporučuji k obhajobě a navrhuji hodnocení dobře.



RNDr. Jiří Macháček, CSc.

Posudek magisterské práce Daniely Hlávkové

Filtrační aktivita a potravní selektivita bdelloidních vířníků (Rotifera)

(Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Přírodovědecká fakulta, 48 číslovaných stran, 7 obrázků, 14 grafů, 4 tabulky, 2 strany příloh)

Cílem práce bylo přinést nové poznatky o potravní biologii bdelloidních vířníků, zejména s hlediska kvantifikace získávání potravních částic podle jejich velikosti. Ve srovnání s nadřádem Monogononta jsou tyto znalosti o nadřádu Bdelloidea zatím velmi kusé.

K pokusům byly použity tři druhy vířníků (*Macrotrachela insolita*, *Habrotrocha thienemanni*, *Philodina roseola*), shodující se stavbou vířivého orgánu. Liší se však preferencí biotopů: zatímco první druh je typickou součástí edafonu, druhý a zejména třetí druh preferují akvatický způsob života. V laboratoři byly pěstovány klonální kultury těchto druhů, za potravu sloužilo rozmixované krmivo pro ryby definovaného složení. Jako experimentální potrava sloužily inertní polystyrenové kuličky (partikule) tří rozměrů (0.5 μm , 1.8 μm a 6.4 μm) označené fluoreskujícími barvivou. Na základě fluorescence mohly být kuličky pozřené vybranými jedinci identifikovány podle velikosti a spočteny.

Potravní aktivita byla hodnocena na základě těchto proměnných:

- (i) Filtrační rychlost (přesněji: *clearance rate*): objem zbavený partikulí dané velikosti jedním vířníkem za hodinu ($\mu\text{l} \cdot \text{ind}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$).
- (ii) Rychlost požívání partikulí (*feeding rate resp. ingestion rate*): počet partikulí dané velikosti pozřené jedním vířníkem za hodinu ($N_i \cdot \text{ind}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$). Tato proměnná byla standardizována vydělením šířkou vířníka v mikrometrech.
- (iii) Index selektivity podle Jacobse. Tento index vyjadřuje selektivitu jedné velikostní třídy partikulí vůči ostatním.

Po zhodnocení experimentů došla autorka k těmto výsledkům:

Filtrační rychlost: U všech tří druhů byla pro nejmenší partikule naměřena nejvyšší filtrační rychlost, pro největší partikule byla rychlost nejnižší, případně (*Philodina*) rovna rychlosti pro partikule střední.

Rychlost požívání partikulí: Určité rozdíly byly zjištěny mezi druhy, populacemi i klony. Závislost množství pozřených partikulí na velikosti (šířce) vířníka byla nízká (*Philodina*, *Habrotrocha*), případně se ji nepodařilo prokázat (*Macrotrachela*), a to i přes značný rozsah velikosti u všech tří druhů.

Selektivita: Index selektivity byl obecně nejvyšší pro třídu nejmenších partikulí. To je v souladu s měřením filtračních rychlostí pro různé velikostní třídy partikulí.

K práci mám tyto připomínky, případně dotazy:

Názvosloví a definice proměnných veličin

Bartoš (1959) podrobně popsal stavbu těla vířníků a tím kodifikoval české názvosloví v této oblasti. Je proto nepatřičné používat ad hoc vytvořených žargonových názvů jako např. „koróna“, což je přepis z angličtiny, místo zavedených názvů vířivý orgán, nebo vířidlo. Nožní žlázy sloužící přichycení k podkladu, jsou leповé žlázy, ne cementové žlázy.

Naproti tomu české výrazy parametrů kvantifikujících „filtraci“ drobných potravních částic ustáleny nejsou, což vede k tomu, že termíny používané v českém textu měly být jednoznačně definovány. V kapitole 3 (literární přehled, str. 10) autorka definuje termíny filtrační rychlost a rychlost pozření částic. To by bylo v pořádku, kdyby se autorka těchto termínů držela, což se bohužel nestalo. Už název práce „**Filtrační aktivita a potravní selektivita**“ je přeloženo jako „**Clearance rate and food selectivity**“. Slovní spojení **filtrační aktivita** (vhodné jako nadpis) se pak hojně vyskytuje v textu práce, při čemž někdy poukazuje na filtrační rychlost, jindy na rychlost požíráání částic. Při prvním čtení je pak obtížné rozluštit, co kdy měla autorka na mysli.

Podobně nejasný je popis některých grafů. Svislá osa grafů 1 a 2 nese popis „množství pozřené potravy/šířka vířníka“, grafy 3 – 8 jsou popsány „množství pozřené potravy/velikost vířníka“. Čtenář se může jediné dohadovat, že se jedná se o počet kuliček pozřených jedním vířníkem za hodinu (= *feeding resp. ingestion rate*), dělený šířkou těla vířníka v μm (bylo tomu opravdu tak?) Bez těchto údajů nikdo nemůže obdobné pokusy zopakovat, protože není jasné, jak se k číslům vyznačeným na svislé ose došlo.

Podmínky provedení pokusu

V literární rešerši (odstavec 3.4.3) je popsán model závislosti *clearance rate* a *ingestion rate* na koncentraci potravy (Obr. 3). V oblasti nižších koncentrací obě proměnné s rostoucí koncentrací stoupají. Od jisté koncentrace (*incipient limiting level*) *clearance rate* rychle klesá, zatímco *ingestion rate* se ve svém maximu ustálí. Přirozenou potravou vířníků simulující detritus, v kulturách i pokusech, bylo rozmixované krmivo pro akvarijní rybičky + doprovodné bakterie. O koncentraci této potravy v experimentech (kvantifikované např. jako organický uhlík) není v práci žádná zmínka. Je proto možné, že vysoká variabilita výsledků byla částečně dána variabilitou koncentrace potravy v pokusu. S hlediska popisu metodiky schází rovněž informace o koncentraci kuliček v pokusech (která byla měřena, viz 4.4.1) a o rozsahu množství kuliček v trávících traktech. Mohlo se stát, aby polystyrenové kuličky zahlcovaly trávící trubici vířníků?

Str.21, odstavec 3, výpočet *clearance rate* $CR = (M_t - M_0) / (C \cdot T)$

Jak velké bylo M_0 ve srovnání s M_t ? Jak si lze vysvětlit, že pokusní jedinci v nulovém čase pozřeli nenulový počet kuliček?

Závislost množství pozřených kuliček na velikosti těla vířníka

Vzhledem k tomu, že závislost počtu pozřených kuliček (*ingestion rate*) na šířce vířníka byla tak nízká, bylo vůbec účelné dělit IR šířkou vířníka? Nebylo by jednodušší uvádět IR bez ohledu na velikost jedince?

Variabilita výsledků

Někteří vířníci nepozřeli v průběhu pokusu žádné kuličky a ti pak byli z hodnocení pokusu vyloučeni. Někteří ale mohli vířit jen po část doby trvání pokusu. Na rozdíl od planktonních vířníků vykonávají bdelloidi dva přirozené druhy aktivit, které se vzájemně vylučují: lezení a víření, sloužící příjmu potravy. To by mohlo zvyšovat variabilitu těch parametrů příjmu potravy, které mají rozměr rychlosti, ne však indexu selektivity. Proto se také nedomnívám, že by bylo účelné zohledňovat neaktivní jedince při hodnocení selektivity, jak se doporučuje v diskusi (6.4) a v závěrech.

Dostupnost primární produkce pro bentonty (str. 36 nahoře)

Primární produkce (fotosyntéza) v důsledku absorpce světla sice směrem ke dnu klesá, avšak primární produkt (buňky a produkty jejich rozpadu) sedimentují na dno, kde se stávají potravou bentontů. Tento „déšť planktonu“ je významnou součástí potravy bentických „filtrátorů“, kteří jsou na něm potravně závislí.

Formální úroveň

Práce je logicky členěna v soulase s požadavky kladenými na magisterské práce. Seznam použité literatury je obsáhlý, citovány jsou práce zabývající se zvoleným tématem, včetně prací z novější doby. Styl práce se ale často vyznačuje neobratností, která plyne z nepřesného používání termínů.

Následuje seznam drobných nepřesností a pochybení, které výrazně nesnižují úroveň textu, avšak v posudku nemohou zůstat nepovšimnuty. Prvé tři číslice označují stránku, odstavec a řádek, citovaný text je v závorkách.

1,1,6 Název „žvýkadlo“ zavedl Bartoš (1959) jako český ekvivalent latinského názvu „mastax“. Vířník má tedy jedno žvýkadlo, ne žvýkadla. Alullae jsou výběžky součástí kousacího ústrojí zvaných rami (sg.: ramus). Věta by správně měla znít: Potrava je dále zpracována mastaxem, který je tvořen svaly a kousacím ústrojím, tvořeným těmito částmi: 2 manubria, 2 unci, 2 rami, a fulcrum.

1,1, obr. 1 ukazuje kousací ústrojí vířníka nadřádu Monogononta, čeledi Notommatidae. Mohlo být aspoň poznamenáno, že kousací ústrojí nadřádu Bdelloidea, jímž je předložená práce věnována, vypadá úplně jinak. Je tvořeno dvěma destičkami, které vznikly přeměnou čelistí (unci), zatímco ostatní části kousacího ústrojí zakrněly.

1,1,11: Správně by mělo být: stálý počet buněčných jader. Po ukončení embryonálního vývoje stěny buněk mizí a jednotlivé orgány vytvářejí soubuní (syncytia).

1,2,2 (obývají prostředí intersticiální tekutiny v půdě, nebo mech) správně: v půdě, v mechu a mezi zrny písku pláží jezer a moří.

2,1,1 opravdu třemi? A které to jsou?

2,3,2 (Nadřád *Monogononta* zahrnuje cca 1500 druhů, pro které je typický jeden vířivý aparát, nepárový vaječník a pohlavní rozmnožování.) Většina generací Monogonont vzniká partenogeneticky. Pohlavní rozmnožování je méně časté, i když pro přežití populace důležité. U některých druhů ale výskyt samců a pohlavního rozmnožování nebyl nikdy pozorován.

2,5,7 správný překlad z angličtiny: nožní lepovou žlázou

3,2,10 (Svým působením ovlivňují složení vyšších trofických stupňů, a to jak na bakteriální, tak fytoplanktonní úrovni) Snad nižších, pokud ovlivňují bakterie a fytoplankton? Viz 13,1,3, tam je to správně.

5,1,8-15

(Třetí skupina je tvořena herbivory konzumujícími obligátně bakterie) Herbivor požírající obligátně bakterie je protimluv.

(Některé rody herbivorních vířníků (např. *Encentrum* nebo *Asplanchna*) Někteří zástupci rodu *Encentrum* se živí převážně nálevníky, velcí jedinci rodu *Asplanchna* mohou požírat vířníky (*Keratella*), nebo dokonce i drobné perloočky (*Bosmina*). Nejsou tedy obligátně herbivorní.

5,3,1 (cezení suspendované potravy) nevystihuje způsob získávání potravy, kdy (je potrava k ústnímu otvoru přiváděna vodním vírem, vznikajícím pohybem cilií na koróně jedince). Správný překlad anglického termínu „corone“ je vířivý orgán, nikoliv „koróna“. Viz Bartoš, 1959

6,2 (Některé raptoriální druhy vířníků se specializovaly na vysávání rostlinných a živočišných tkání.) Vířníci rodu *Synchaeta* nevysávají žádné tkáně, nýbrž nasávají celé volně žijící jednobuněčné fytoplanktony do svého mastaxu. Dále jmenovaní vířníci opravdu vysávají jednobuněčné planktony (např. *Ceratium*), ne však tkáně.

6,3,7 (vysunout mastax z ústního otvoru) nevysune se mastax, ale kousací ústrojí

17,1,12 (vodné roztoky) – snad vzorky vody

17,2,2 (řazenými do dvou rodů *Philodinidae*...a *Habrotrichidae*). *Philodinidae* a *Habrotrichidae* jsou čeledi, ne rody. Rody zkoumané v předložené práci jsou tři: *Macrotrachela*, *Philodina* a *Habrotricha*.

19,2,2 (Oproti klasickému přístupu pěstování kultur v čisté redestilované vodě) Zajímalo by mne, odkud pochází informace o pěstování vířníků v redestilované vodě. Sama autorka se přesvědčila, že v destilované vodě vířníky udržet nelze.

19,2,9 (Krmivo bylo vždy převedeno na vodný roztok) Nejednalo se o roztok ale o suspenzi, jak ostatně stojí psáno o tři řádky dále.

21,1,2 (Vzorky byly zváženy) Proč?

21,2 (populací) jednalo se o různé populace, ale o jedince téhož klonu v pokusných nádobách

21,4 (Jacobson, 1974). V seznamu literatury je správně citován Jacobs.

22.2.2 (logaritmická korekce) má být: logaritmická transformace

ZÁVĚR

Autorka získala experimentální údaje, které charakterizují způsob příjmu potravy bdelloidních vířníků. Za nejcennější považuji část práce věnované selektivě příjmu partikulí rozdílné velikosti. Získané poznatky by si zasloužily publikaci v odborném tisku, avšak až po důkladném přepracování textu, kterému zřetelně scházela finální revize. I tak ale jsou podle mého názoru splněny požadavky kladené na magisterské práce předkládané na PŘF JU. Proto doporučuji práci k obhajobě, s hodnocením klasifikačním stupněm DOBŘE.

V Praze dne 17. ledna 2014



RNDr. Jan Fott, CSc

oponent