

**Univerzita Karlova v Praze**

Přírodovědecká fakulta

Katedra zoologie



Diplomová práce

**Postavení ploštěnky horské (*Crenobia alpina*,  
DANA 1766) v trofické síti prameniště**

The position of *Crenobia alpina* (DANA 1766) in the spring food web

**Bc. et Bc. Marie Reslová**

Školitel: Mgr. Ondřej Prokop Simon

Praha, 2014

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Ve Třetí 12.8. 2014

Marie Reslová

# Obsah

Abstrakt .....	5
Abstract .....	5
Poděkování .....	7
Seznam zkratek .....	8
1 Úvod.....	10
1.1 Cíle práce.....	11
2 Literární přehled.....	12
2.1 Trojvětévné ploštěnky (Tricladida) sladkých vod.....	12
2.1.1 Taxonomie .....	12
2.1.2 Anatomie .....	13
2.1.3 Ekologie trikládních ploštěnek .....	16
2.2 <i>Crenobia alpina</i> (DANA 1766), ploštěnka horská .....	20
2.3 Prameniště .....	23
3 Metodika.....	26
3.1 <i>Crenobia alpina</i> v ekosystému prameniště .....	26
3.1.1 Studované lokality a sběr dat .....	26
3.1.2 Statistické vyhodnocení .....	27
3.2 Krátkodobé potravně-preferenční pokusy .....	27
3.2.1 Metodika vlastních pokusů .....	29
3.2.2 Statistické vyhodnocení .....	30
3.3 Pokus přežívání a vymírání .....	31
3.3.1 Metodika vlastního pokusu .....	32
3.3.2 Statistické vyhodnocení .....	33
4 Výsledky .....	35
4.1 Průzkum jednoho prameniště.....	35
4.1.1 Mapování výskytu druhů.....	35

4.1.2	PCA .....	36
4.2	Analýza výskytu <i>C. alpina</i> v souboru 77 pramenišť.....	38
4.2.1	Kappa koeficient .....	38
4.2.2	Faktorová analýza a GLM model .....	39
4.2.3	Clusterová analýza ekologických nároků jednotlivých druhů.....	40
4.3	Potravně preferenční pokus .....	42
4.3.1	Živá kořist .....	42
4.3.2	Živá a poškozená kořist .....	46
4.4	Pokus přežívání a vymírání .....	48
5	Diskuze.....	52
5.1	Potravní nároky druhu <i>C. alpina</i> .....	52
5.2	Způsob lovu u ploštěnek <i>C. alpina</i> .....	54
5.3	Vhodnost metod výzkumu potravní ekologie ploštěnek .....	54
5.4	Dlouhodobé přežívání: zmenšování a vymírání.....	55
5.5	Ekologické konsekvence lokálně vysoké koncentrace ploštěnek druhu <i>C. alpina</i> v okolí vývěru	57
5.6	Ploštěnky jako potrava .....	58
5.7	Typ prameniště preferovaný ploštěnkou <i>C. alpina</i> .....	59
6	Závěr .....	60
7	Použitá literatura.....	61

## Abstrakt

Tato práce se zabývá potravními nároky sladkovodní ploštěnky druhu *Crenobia alpina* a jeho postavením v trofické síti prameniště. Jejím cílem je zjistit schopnost druhu *C. alpina* ulovit různou potenciální kořist, posoudit její schopnost přežívání při poskytnutí různé potenciální potravy a popsat její výskyt a ekologické nároky v souvislosti s ostatními obyvateli prameniště. Dále tato práce přináší rešerši informací o systematice, anatomii a ekologii skupiny Tricladida i druhu *C. alpina*. Z provedených potravně-preferenčních experimentů vyplývá, že druh *C. alpina* je jednoznačně schopen ulovit živé žížalice (Lumbriculidae) a také larvy jepic (Ephemeroptera). Neprokázali jsme, že by *C. alpina* lovila živé blešivce (*Gammarus* sp.), ačkoliv mají velmi podobné ekologické nároky i výskyt v prameništích. Druh *C. alpina* významně preferuje poškozenou kořist bez ohledu na to, o jaké živočichy se jedná. Roční pokus sledující přežívání a vymírání ploštěnek *C. alpina* v laboratorních podmínkách přinesl zjištění, že tento druh je schopen přežít a rozmnožovat se i pokud je mu poskytována pouze filtrovaná voda. Tento fakt spolu s pozorováním vysoké koncentrace ploštěnek ve vývěru prameniště, otevírá otázku, zda můžeme dále druh *C. alpina* považovat za jednoznačného predátora.

**Klíčová slova:** *Crenobia alpina*, ploštěnky, potravní preference, prameniště

## Abstract

This work focuses on food preferences of freshwater triclad *Crenobia alpina* and its position in spring food web. It explores the ability of *C. alpina* to capture living prey, considers ability of *C. alpina* and to survive feeding on several types of food. Furthermore it gives view on its occurrence and ecological preferences in context of other spring species. One chapter is concerned with taxonomy, anatomy and ecology of Tricladida and *C. alpina* itself. Short term food-preference experiments show the ability of *C. alpina* to capture living Lumbriculidae and larvae of Ephemeroptera. We don't confirm feeding of *C. alpina* on living *Gammarus*, although their occurrence in our springs and ecological preferences are similar. *C. alpina* feeds significantly more on damaged prey without substantial affinity to any species. A year-long experiment on *C. alpina* in lab conditions finds that this flatworm is able to survive and even breed with nothing but filtered water. This fact connected with the observation of

huge densities of flatworms in spring source, opens up a question whether *C. alpina* can be considered a real predator.

**Key words:** *Crenobia alpina*, triclad flatworms, food preferences, spring

## Poděkování

Děkuji svému školiteli Mgr. Ondřeji Prokopu Simonovi za velikou dávku inspirace a nadšení, za neutuchající toleranci a pochopení a za obrovskou podporu po celou dobu práce. Mgr. Matúši Maciakovi, PhD. patří mé díky za velmi obětavou pomoc se statistickým vyhodnocením, bez které by mé analýzy nikdy nedosáhly stávající úrovně. Výzkumnému ústavu vodohospodářskému TGM, v. v. i. vděčím za poskytnuté prostory, dopravu do terénu, zapůjčení přístrojů a provedené analýzy a pracovníkům odboru Aplikované ekologie za společnost a pomoc při terénní práci. Díky pomoci svého manžela MUDr. Kiliána Resla a jeho babičky Jitky Reslové jsem mohla tuto práci nakonec sepsat.

## Seznam zkratek

ble	blešivec ( <i>Gammarus sp.</i> )
det	detrit
gra	granule pro rybičky
hra	hrachovka ( <i>Pisidium sp.</i> )
pos	larva pošvatky (Plecoptera)
vod	filtrovaná voda
kon	kontrola
jep	larva jepice (Ephemeroptera)
ziz	žížalice ( <i>Lumbriculus sp.</i> )
ProtonAub	<i>Protonemura auberti</i> (Plecoptera)
AnacGlob	<i>Anacaena globulus</i> (Coleoptera)
PotamNig	<i>Potamophylax nigricornis</i> (Trichoptera)
NemAvi	<i>Nemoura avicularis</i> (Plecoptera)
LimnepCen	<i>Limnephilus centralis</i> (Trichoptera)
LymneaTrun	<i>Lymnaea truncatula</i> (Gastropoda)
Elodsp	<i>Elodes sp.</i> (Coleoptera)
PlecCon	<i>Plectrocnemia conspersa</i> (Trichoptera)
Parapic	<i>Parachiona picicornis</i> (Trichoptera)
CrunIrr	<i>Crunoecia irrorata</i> (Trichoptera)
ApatFim	<i>Apatania fimbriata</i> (Trichoptera)
ChaetVill	<i>Chaetopteryx villosa</i> (Trichoptera)
Limnephilidae	<i>Limnephilidae</i> (Trichoptera)
PisCas	<i>Pisidium casertanum</i> (Bivalvia)
PisPer	<i>Pisidium personatum</i> (Bivalvia)
CrenAlp	<i>Crenobia alpina</i>
GammFoss	<i>Gammarus fossarum</i>
LeuNig	<i>Leuctra nigra</i> (Plecoptera)
NemPic	<i>Nemurela pictetii</i> (Plecoptera)
Connec	napojené prameniště na říční síť
Disch	průtok
Hum.stand	mikrohabitat humolit a nad ním stojatá voda
Sand.stand	mikrohabitat písek a nad ním stojatá voda
Grav.stand	mikrohabitat štěrk a nad ním stojatá voda
Hum.run	mikrohabitat humolit a nad ním tekoucí voda
Sand.run	mikrohabitat písek a nad ním tekoucí voda
Grav.run	mikrohabitat štěrk a nad ním tekoucí voda
Veget	mikrohabitat ponořené prameništění vegetace
Numsub	počet substrátů v prameništi
pH	- log [H <sub>3</sub> O <sup>+</sup> ]
Cond	konduktivita
AD	adenodaktyl
ED	ejakulární duktus
F	flagellum



GO	gonopor
OV	ovidukt
PB	peniální bulbus
PF	pseudoflagellum
PP	peniální papila
RS	receptakulum seminis
V	vezikula
VD	vas deferens

## 1 Úvod

Ploštěnky, to jsou živočichové přežívající snad v každé učebnici přírodopisu, snadno pozorovatelní skoro v každém potoce. Trojvětévné ploštěnky (mezi které patří i ona stará známá z učebnic biologie ploštěnka mléčná) jsou obecně považovány za predátory. Je to zvláštní představa jak se doslova bezzubá ploštěnka vrhá řeckně na opancéřovaného blešivce a úspěšně jej svým vychlípitelným hltanem uloví. Je to skutečně možné?

Ve své práci se věnuji potravním nárokům ploštěnky horské (*Crenobia alpina*), typickému obyvateli pramenišť. K její realizaci mě vedl jeden zážitek. Pozorovala jsem prameniště v místě kde je vývěr. Když jsem se podívala blíže, zjistila jsem, že to, co vypadalo jako jednolitá masa detritu, je sice jednolitá masa, ale ploštěnek. Ploštěnky byly všude v okolí vývěru, a čím déle jsem se dívala, tím jich bylo víc. Co je na tom zvláštního? Uvědomme si, že se zde právě společně díváme na jednolitou masu predátorů. To přeci není tak docela normální.

Následující stránky přinášejí výsledky mých pozorování a pokusů a analýz. Hledám zde odpověď na otázky týkající se ekologických nároků ploštěnky horské, jejího života v prameništi a společného výskytu s dalšími živočichy. V sérii potravních pokusů zjišťuji, jakou kořist ploštěnky preferují a jsou vůbec schopné ulovit. Literární přehled přináší informace o fylogenetickém postavení ploštěnek, anatomii, ekologii a výskytu ploštěnek, o prameništích obecně a podrobnou rešerši informací o ploštěnce horské.

Studiu ploštěnek obecně v naší republice se od dob prof. Komárka přibližně 50 let nikdo soustavně nevěnoval. O pracích, které by byly věnovány samotné ploštěnce horské ani nemluvě. Moje výzkumy vycházejí z publikací, pocházejících zejména z 60. a 70. let z Velké Británie. Kde hlavně skupina vědců v okolí profesora Reynoldsona věnovala ploštěnkám velkou pozornost.

Ačkoliv je výrok prof. Sekery již 101 let starý, dovolím si jej zařadit jako závěrečné a stále aktuální motto: „ *Nemůžeme proto tvrdit, že by výzkum ploštěnek sladkovodních mohl být již úplným, ale třeba jest stále doplňovati a sbírat, jakmile se naskytne příležitost, aby bylo vyhověno všestranným potřebám vědeckým.*“ (Sekera, 1913)

## 1.1 Cíle práce

- Zmapovat výskyt ploštěnky horské (*Crenobia alpina*) v jednom modelovém prameništi s komplexní morfologií
- Odhadnout její ekologické nároky a souvislost mezi jejím výskytem a výskytem ostatních skupin prameništních bezobratlých s využitím starších dat z Šumavských pramenišť
- Posoudit schopnost ploštěnky horské (*Crenobia alpina*) ulovit různou potenciální kořist
- Ověřit preference ploštěnky horské (*Crenobia alpina*) k různým typům kořisti
- Zjistit schopnost ploštěnky horské (*Crenobia alpina*) dlouhodobě přežít při různých možnostech poskytované potenciální výživy
- Nastínit možnosti dlouhodobého chovu ploštěnky horské (*Crenobia alpina*) v laboratorních podmínkách

## 2 Literární přehled

### 2.1 Trojvětévné ploštěnky (Tricladida) sladkých vod

#### 2.1.1 Taxonomie

Trojvětévné ploštěnky jsou zástupci kmene ploštěnci (Platyhelminthes)(Baguñà and Riutort, 2004; Carranza et al., 1997). Jako celek spadají ploštěnci momentálně do skupiny Lophotrochozoa (Carranza et al., 1997), kde se vyskytují coby monofyletický kmen s nejasným vztahem ke kmenům ostatním (Riutort et al., 2012). Ploštěnci se na základě morfologických dat dělili na tři hlavní skupiny: Acoelomorpha (= Acoela + Nematodermatida), Catenulida a Rhabditophora („ploštěnky“ a parazitické skupiny)(Giribet et al, 2000). Na základě analýzy 18S rDNA se však skupina Acoelomorpha oddělila (Carranza et al., 1997) a vzniklý monofyletický kmen ploštěnci zahrnuje jen skupiny Catenulida (primitivnější) a Rhabditophora (odvozenější)(Baguñà et Riutort, 2004; Riutort et al, 2012).

Skupina Rhabditophora je morfologicky charakterizována rhabdity (pro podrobnější popis viz kapitolu 2.1.2 Anatomie), dále pak dvěma adhesivními orgány a párovými protonefridiemi s plaménkovými buňkami (Ehlers, 1985). Zahrnuje několik volně žijících skupin: Macrostomida, Haplopharyngida, Polycladida, Lecithoepiteliata, které tvoří bazální skupinu sesterskou ke všem ostatním (Riutort et al., 2012). Volně žijící Tricladida (trojvětévné ploštěnky) spolu s Rhabdocoela a Prolecitophora tvoří vlastní větev (Baguñà et Riutort, 2004). Nicméně skupiny Tricladida a Proseriata monofyletický taxon netvoří, tedy je nutné opustit známou skupinu Seriata, jako parafyletickou (Baguñà et al., 2001). Parazitické skupiny jsou souhrnně řazené do monofyletického taxonu Neodermata (například Eucestoda, Digenea, Monogenea a další), což potvrzuje domněnku, že parazitismus se u ploštěnců vyvinul pouze jednou (Baguñà et Riutort, 2004; Riutort et al., 2012). Velmi zajímavou otázkou však zůstává, která ze skupin volně žijících ploštěnek je jejich sesterskou skupinou. Aktuálním favoritem je větev tvořená několika skupinami, mimo jiné i skupinou Rhabdocoela a Tricladida (Carranza et al., 1997). S parazitickou linií mají společné například to, že dovedou přijímat živiny skrz epidermis, některé druhy mají přísavky (*Dendrocoelum*) nebo i jakési háčky a s trochou dobré vůle můžeme nahrazování epidermis během embryonálního vývoje homologizovat se vznikem neodermis (Baguñà et Riutort, 2004).

Trojvětévné ploštěnky se dělily tradičně na tři větve: Paludicola (sladkovodní druhy), Terricola (suchozemské druhy) a Maricola (mořské druhy)(Carranza et al., 1998). K těmto

třem ekologicky vymezeným skupinám posléze přibyla ještě jedna linie – Cavernicola (jeskynní druhy evidentně příbuzné sladkovodním)(Sluys, 1989; Carranza et al., 1998). Nicméně sekvence kompletní 18S rDNA a 18S rRNA se ukázaly, že skupina Paludicola je parafyletická. Dokazuje to skutečnost, že sladkovodní čeleď Dugesiidae je sesterská ke skupině Terricola (Carranza et al., 1998; Sluys et al., 2009; Álvarez-Presas et al., 2008). Za hlavní charakteristiky skupiny Paludicola se považovalo: morfologie bursa copulatrix, 4 vrstvy subepidermální svaloviny a přenos spermií spermatofory (Sluys, 1989). První z vlastností – morfologie bursa copulatrix je v rámci celé skupiny Tricladida natolik variabilní, že ji nelze považovat za vhodný znak. Přenos spermií spermatofory je pravděpodobně konvergence pro všechny sladkovodní druhy a rozlišování vrstev subepidermální svaloviny je velice náročné a obvykle nepřesné (Carranza et al., 1998). Proto lze říci, že pro monofylii skupiny Paludicola vlastně neexistuje ani žádný pádný morfologický argument. Naopak monofylii skupiny Dugesiidae+Terricola podporuje společná složitá stavba oka (mnohobuněčné oko spolu s větším počtem buněk sítnice) a také duplikace genu 18S (Carranza et al., 1998).

Dělení původní skupiny Paludicola na několik malých monofyletických skupin, lze nahradit sloučením původní Paludicola s Terricola. Čímž vzniká skupina Continenticola (Carranza et al., 1998). Tuto skupinu dělíme na dvě menší: Planarioidea (Planariidae, Kenkiidae a Dendrocoelidae) a Geoplanoidea (Dugesiidae a Geoplanidae)(Sluys et al., 2009; Baguñà et al., 2001). Celkově lze z tohoto rozdělení vyvodit, že terestrické ploštěnky se nevyvinuly z předka žijícího v moři, ale ve sladké vodě (Álvarez-Presaz et al., 2008). Díky sloučení dvou ze čtyř větví, můžeme tedy dnes opět říct, že trojvětévné ploštěnky mají tři monofyletické větve, jen se jmenují jinak a zástupci jsou mezi nimi poněkud jinak uspořádání, než bylo zvykem: Maricola, Cavernicola a Continenticola (Carranza et al., 1997; Álvarez-Presaz et al., 2008; Sluys et al., 2009; Riutort et al., 2012).

### 2.1.2 Anatomie

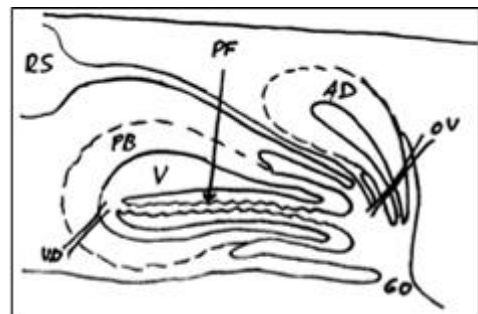
Trojvětévné ploštěnky vděčí za své pojmenování anatomii střeva, které se dělí na jednu větev směřující dopředu a dvě zadní větve. Střevo tvoří slepou rozvětvenou trávicí dutinu, která začíná ústy na břišní straně a vychlípitelným hltanem (pharynx). Tělo ploštěnek dorůstá asi 1-2cm, je zploštělé a obrvené (Komárek, 1952; Wenig, 1901, Hrabě, 1954). Růstová křivka ploštěnek (v mm<sup>2</sup>) v laboratorních podmínkách je sigmoidální. Po počáteční exponenciální fázi následuje zpomalení a nakonec zůstává velikost stabilní (Calow, 1979). Brvy slouží

k pohybu. Nervová soustava je tvořena podélnými větvemi, začínajícími v hlavovém gangliu a dále v těle jsou propojené komisurami (Komárek, 1952; Wenig, 1901, Hrabě, 1954). Ploštěnky jsou schopné vnímat proudění vody díky brvám ve speciálních receptorových jamkách (Sekera, 1913). Jejich primitivní oči dovedou rozlišovat světlo a tmou. V závislosti na druhu jich může mít jedinec dvě, mnoho nebo žádné (Hahn, 1924). Vylučovací soustava je tvořena plaménkovými buňkami napojenými na síť kanálků (protonefridia)(Wenig, 1901).

Pharynx se skládá z několika vrstev vnější a vnitřní okružní svaloviny. Dále se zde nalézají žlázy, které zřejmě produkují endopeptidázy usnadňující proniknutí tělní stěnou kořisti (které trvá jen asi 30-60s). Tyto endopeptidázy poté pomáhají i rozkládat potravu ve střevě. Kromě těchto látek se zde tvoří i velké množství slizu (Jennings, 1962).

Gastrodermis, čili vnitřní výstelka střeva ploštěnek, se skládá ze dvou typů buněk. Větší protáhlé buňky s výrazným jádrem zasahují svým distálním koncem do lumen. Tyto buňky jsou zodpovědné za vychytávání potravy z lumen střeva fagocytózou. V potravních vakuolách nastupují exopeptidázy a další enzymy. Potrava není vždy přijímaná jako homogenní, na preparátech jsou patrné například nerozložené erytrocyty v mezenchymu. Druhý typ buněk, sférické buňky, uvolňují endopeptidázy štěpící potravu ve střevě. Dále tvoří proteinovou rezervu. Zásoba tuků je uložena v buňkách mezenchymu (Jennings, 1957; Jennings, 1962).

Penis s přílehlými strukturami je poměrně složitý systém, který slouží k determinaci druhů (Komárek, 1926; Hrabě, 1954; Reynoldson, 2000), viz obrázek 1. Jedná se o svalnatý orgán obsahující bazální bulbus s dutinkou neboli vezikulou, anglicky nazývanou „bulbal cavity“, a apikálně umístěnou peniální papilu.



Obrázek 1 Ukázka penisu ploštěnek (zde *Dendrocoelum bohemicum*, pro vysvětlení zkratk viz Seznam zkratk, upraveno podle Komárek, 1926)

Do bulbu ústí chámovody, nazývané vas deferens, kterými prochází spermie z varlat. Varlat je velké množství. U některých druhů chámovody splývají v jediný (Ulyott a Beauchamp, 1931; Komárek, 1926; Komárek, 1952; Hrabě, 1954). Duktus ejakulatorius vede celým penisem. Flagellum nebo pseudoflagellum se u některých druhů nachází v peniální papile. Pseudoflagellum je možné na rozdíl od flagella vychlípit ven. Čili je to vlastně dovnitř obrácená špička penisu (Komárek, 1926). Dále můžeme ještě rozlišit struktury adenodaktyl a

receptakulum seminis, které se pro determinaci druhů také často využívají. Receptakulum seminis, označované někdy jako uterus, je nevelká dutinka do které ústí vejcovody a která slouží k uchování spermií partnera (Ulyott and Beauchamp, 1931; Hrabě, 1954). Adenodaktyl se zřejmě účastní tvorby kokonů, není však pozorovaný u všech druhů (Wenig, 1901). Vajíčka ploštěnek jsou ektolecitální a vznikají v přední části těla ve vaječnicích. Jejich výživu zajišťují vitellaria, která ústí do vejcovodů (Komárek, 1952). Penis a adenodaktyl u některých druhů ústí do oddělených dutinek, které se nazývají pochva. Celkově všechny vývody pohlavních orgánů ústí ve společném atriu (Komárek, 1926).

Ploštěnky produkují velké množství různého slizu. Jeden důvod je usnadnění pohybu, nebo k přichycení na substrátu (tento sliz je tužší, než předchozí)(Jennings, 1957). Stejný sliz jako k přichycení, používají i k lovu své kořisti, která se do něj chytí jako do sítě (Jennings, 1957; Pickavance, 1971; Adams, 1980) a kterou ploštěnka následně dalším slizem imobilizuje (Jennings, 1957). Protože po odstranění slizu nevykazují živočichové žádné známky intoxikace, jedná se zřejmě pouze o fyzickou překážku (Jennings, 1957). Sliz může sloužit i jako živná půda pro mikroorganismy, kterými se různí bezobratlí živí (Klauser, 1986), nicméně tento fenomén nebyl zatím u trikládních ploštěnek popsán. Sliz v sobě obsahuje mnoho různých látek včetně feromonů, díky kterým se ploštěnky u kořisti shlukují (De Silva, 1976). Existuje několik typů žláz, které sliz produkují. Bazofilní žlázy jsou rozmístěné všude po těle a produkují sliz sloužící k imobilizaci kořisti. Eosinofilní sliz, který slouží zejména k přichycení ploštěnky, je produkován zejména žlázami koncentrovanými ve dvou podélných liniích na břišní straně (Jennings, 1957). Chemicky odlišný typ slizu se používá jako obrana v podobě rhabdidů (odlišuje se negativní reakcí s Alcianovou modří). Rhabdidy jsou syntetizovány v mezenchymu, odtud jsou vylučovány přes epidermis. Ve vodě násobí svůj objem (hydratují se) a obalují tělo ploštěnky gelovitou hmotou. Tato vrstva je přítomná neustále, ale její produkce se zvyšuje při poranění. Je složena zejména z proteinů a evidentně obsahuje i látky odpuzující predátory (Jennings, 1957). Tento sliz chrání tělo ploštěnky před vysycháním (Jennings, 1957; Ball et al., 1981), abrazí kutikuly i bakteriální nebo houbovou infekcí (Jennings, 1957).

### 2.1.3 Ekologie trikládních ploštěnek

#### 2.1.3.1 Potrava

Ploštěnky jsou považované za predátory (Calow et al., 1981; Pattée, 1982). Preferují zraněnou nebo jakkoliv oslabenou kořist. Nicméně zejména zástupci čeledi Dugesiidae jsou schopni za pomoci svého vychlípitelného hltanu ulovit i zdravou živou kořist. Rozkládající se materiál nebo rostlinné zbytky jim za potravu neslouží (Sekera, 1913; Jennings, 1957; Reynoldson and Young, 1963; Calow et al. 1981). Kořist, zejména se jedná o bezobratlé s velkými tělními přívěsky, se často chytí do slizových vláken, která ploštěnky masivně produkují (Jennings, 1957; Pickavance, 1971; Adams, 1980). Svou potravu ploštěnky konzumují tak, že svalnatým vychlípitelným hltanem protrhnou její tělní stěnu a poté vysají tělní tekutiny (Jennings, 1957; Reynoldson, 2000). Co se týče velikosti kořisti, nemají obecně nejspíš žádnou preferenci (Reynoldson, 1983) nanejvýš dávají mírně přednost průměrně menším jedincům (Pickavance, 1971; Adams, 1980). Potravu obvykle loví ve skupině (Pickavance, 1971; Reynoldson, 1983). Větší druhy ploštěnek loví spíše živou kořist, zatímco malé ploštěnky dávají přednost zraněným živočichům (Calow et al., 1981). Na některých lokalitách jsou ploštěnky nejčtenější bezobratlý, jejich vliv na populace potenciální kořisti nemůže být zanedbatelný (Reynoldson, 1983).

Ploštěnky konzumují hlavně měkkýše, vodní korýše, z nich zejména blešivce (*Gammarus*) a berušky (*Asellus*), larvy hmyzu a máloštětinatce (Sekera, 1913; Jennings, 1957; Calow et al. 1981; Maly et al., 1981; Armitage and Young, 1991). Někteří autoři tvrdí, že jsou schopny ulovit planktonní korýše (Maly et al., 1981) nebo napadnout poraněnou žábu (Sekera, 1913). Vzhledem k tomu, že larvy komárů spadají také do okruhu kořisti ploštěnek, existuje studie navrhuující ploštěnky jako biologickou zbraň proti komárům v některých problémových oblastech (Tranchida et al., 2009). Literatura neuvádí, že by ploštěnky konzumovaly biofilm, ačkoliv je potvrzeno, že se takto živí někteří měkkýši či dokonce blešivci (Simon et al, 2003) nebo že by vychytávaly rozpuštěný organický materiál povrchem těla, jak činí rovněž někteří měkkýši (Simon et al, 2003, Baines et al., 2005; Baines et al., 2007). Tomuto velmi významnému zdroji živin (Simon et al., 2003) se v případě ploštěnek ještě nikdo nevěnoval.

Zajímavé jsou strategie vyhledávání kořisti u ploštěnek stojatých vod. Velké druhy ploštěnek, aktivně vyhledávají živou kořist, zatímco jedinci malých druhů sedí na místě a číhají, kdy se v jejich blízkosti objeví nějaký zraněný živočich (Calow et al., 1981).



V případě, že ploštěnky hladoví, zmenšují se. Úbytek jejich tělesných tkání je po celou dobu hladovění konstantní. Matematicky lze vystihnout exponenciálním poklesem plochy ploštěnek v čase. Ploštěnky jsou schopné zmenšit se až na 1,1% původní velikosti. Druhy, které se zmenšují nejrychleji, jsou nejvíce citlivé na vliv teploty, která zmenšování urychluje (Calow et al., 1977). Vyhladovělí jedinci jsou průsvitní a málo se pohybují a hůř konkurují například stejně velkým čerstvě vylíhlým mláďatům. Když se objeví zdroj potravy, dorostou opět původní velikosti (Reynoldson, 1966). Ploštěnky, které 2 týdny hladoví přestávají kořist aktivně vyhledávat a spíše čekají na místě (Calow et al., 1981).

Samotné ploštěnky mohou být potravou pro jiné predátory. Lovci ploštěnek stojatých vod zahrnují: pijavku *Erpobdella octoculata*, některé larvy chrostíků (Trichoptera), larvy i dospělce brouků (Coleoptera), zejména potápník *Dytiscus marginalis* a larvu střechatky druhu *Sialis*, některé jedince koljušky tříostné (*Gasterosteus aculeatus*) (Young and Reynoldson, 1965; Davies, 1969), larvy vážek (Odonata) (Reynoldson, 1981), larvy jepic (Plecoptera) (Wright, 1975; Armitage and Young, 1991) a čolky (*Triturus helveticus*) (Davies, 1969). Ploštěnky horních toků (druhy *Crenobia alpina*, *Polycelis felina* a *Phagocata vitta*) jsou loveny larvami chrostíků rodu *Rhyacophila* a larvami pošvatek druhů *Dinocras cephalotes*, *Perlodes microcephala*, *Isoperla grammatica* (Wright, 1975; Armitage and Young, 1991). Některá pozorování popisují, že ryby konzumují ploštěnky ve velkém množství (Reynoldson, 2000), jiné naopak tvrdí, že ryba ploštěnku okamžitě vyplivne (Young and Reynoldson, 1965). Ploštěnky se zřejmě velice účinně brání rhabdidy, které obsahují různé chemické látky (Reynoldson, 1983). Predace je pravděpodobně mnohem významnějším fenoménem ve stojatých vodách než v toku s proudící vodou a kamenitým dnem (Armitage and Young, 1991; Reynoldson, 2000). Celkově je překvapivě nízká vzhledem k tomu, jak snadnou kořistí ploštěnka na první pohled je (Davies, 1969; Roca et al., 1992).

Pokud se ploštěnky setkají s predátorem, jsou schopny příště reagovat i jen na chemické látky, které vylučuje. Zároveň samy vylučují jakési látky, kterými dávají ostatním najevo nebezpečí. Ploštěnka, která se s predátorem nesečkala, ale je vystavena jeho chemickým látkám spolu se signály nebezpečí jiné ploštěnky, reaguje, jako kdyby měla s predátorem zkušenost. Snaží se co nejrychleji dostat z místa o nejvyšší koncentraci daných látek. Ploštěnky se svou primitivní nervovou soustavou jsou tedy schopné se učit (Wisenden and Millard; 2001).

Ploštěnky mohou být napadány některými parazity. Nejvýznamnějším je nálevník *Tetrahymena* sp., která může způsobovat značnou mortalitu v laboratorních chovech zejména druhů *Crenobia alpina* a *Polycelis felina*. Ve stojatých vodách mohou být vzácně hostiteli parazit ze skupin Sporozoa či larvami tasemnic (Trematoda)(Reynoldson, 1983; Reynoldson, 2000).

#### 2.1.3.2 Rozmnožování

Ploštěnky se pohlavně rozmnožují jako hermafroditi, je pro ně charakteristické vnitřní oplození. Při páření si jedinci vzájemně proniknou penisem do genitálního póru, který se nalézá v zadní části těla na břišní straně. Spermie téhož jedince nemohou putovat do jeho vlastního *receptakula seminis* díky morfologickým přizpůsobením penisu (Ulyott a Beauchamp, 1931).

Kokony ploštěnek jsou kulovité a jedinci různých druhů je buď připevňují k podkladu, nebo kladou volně na dno (Gourbault, 1972). Nejdůležitějším faktorem ovlivňujícím kladení kokonů je teplota, která je druhově charakteristická (Reynoldson, 2000). Po vylíhnutí z kokonů jsou mláďata méně pigmentovaná než dospělci (Reynoldson, 2000).

Rozlišují se druhy semelparní a iteroparní. Semelparní živočichové po splození potomstva hynou, zatímco iteroparní mají potomstvo opakovaně. Semelparní jsou spíše větší druhy ploštěnek. Existuje hypotéza, která dává do souvislosti semelparní s aktivní predací a iteroparní s pasivním čekáním na kořist. Autoři zároveň ukazují, že semelparní dospělé ploštěnky lépe snášejí hladovění, zatímco u iteroparních druhů jsou ve výhodě mláďata. Ta jsou větší než u semelparních a tedy je u nich menší riziko mortality z důvodu vyhladovění (Calow et al., 1981). Další souvislost může mít tento fenomén s teplotou – semelperní druhy ploštěnek preferují studenější vodu (Reynoldson, 1983).

Při nepohlavním rozmnožování se jedinec rozdělí na dvě části, z nichž vyrostou noví jedinci (Sekera, 1913). Je to důkaz jejich velké schopnosti regenerace, která je prokázána i četnými experimenty (Bronsted, 1969). Nepohlavní rozmnožování nebylo pozorováno u všech druhů ploštěnek, pouze u druhů z čeledí *DugesIIDae* a *Planariidae* (Beveridge, 1982). Některé populace se dovedou rozmnožovat pouze asexuálně, jiné pouze pohlavně. V případě, že populace je schopná obojího typu rozmnožování, jedná se o časově oddělené procesy (Dahm, 1958; Roca et al., 1992).

Ploštěnky žijí obvykle zřejmě 2-3 roky, v laboratorních podmínkách se mohou dožít až 20 let. Rozmnožují se jednou ročně a většině druhů trvá rok, než dorostou pohlavní zralosti (Reynoldson, 1978).

### 2.1.3.3 *Abiotické faktory*

Abiotické faktory ovlivňují výskyt zejména druhů ploštěnek tekoucích vod, jejichž ekologické nároky jsou mnohem striktnější než u ploštěnek vod stojatých (Reynoldson, 1981). Nejdůležitějšími jsou teplota, rychlost proudění, chemismus vody a množství rozpuštěného kyslíku (Roca et al., 1992). V případě ploštěnek stojatých vod je limitující zejména množství dostupné potravy a mezidruhovú konkurence (Reynoldson, 1983).

Každý druh má své poměrně úzké teplotní optimum. V případě druhů s podobnými ekologickými nároky (např. *Crenobia alpina*, *Polycelis felina* a *Dugesia gonocephala*) může právě teplota hrát roli faktoru, který je zodpovědný za to, že každý obývá jinou část toku (Pattée et al., 1973; Reynoldson, 1983; Roca et al., 1992).

Z chemismu vody je nejspíš nejdůležitější obsah  $\text{Ca}^{2+}$  (Reynoldson, 1958; Roca et al., 1992). Konduktivita ani pH nemá na výskyt ploštěnek asi významný vliv (Roca et al., 1992).

Ploštěnky obývají nejen stále vodní prostředí, ale existují i druhy specializované na vysychající vody. Suché období přežívají buď jejich kokony, anebo dojde před vyschnutím k nepohlavnímu rozmnožování, a jednotlivé kousky přečkají ve slizových pouzdech (Ball et al., 1981).

### 2.1.3.4 *Výskyt*

Ploštěnky obvykle nacházíme na spodní straně kamenů (Hart and Merz, 1998), kde se často vyskytují ve shlucích (Sekera, 1913; Reynierse and Ellis, 1967; Reynierse et al., 1969; Cash et al., 1995). Pro svou agregaci upřednostňují tmavé nebo zastíněné pozadí před bílým, což souvisí s jejich negativní fotokinezí. Další možné vysvětlení předpokládá snahu tmavých ploštěnek maskovat se na podobně barevném podkladě (Reynierse et al., 1969). Může se jednat samozřejmě i o snahu ukrýt se před predátory (Hart and Merz, 1998) nebo naopak o strategii, která pomáhá lépe získat potravu (Cash et al., 1995). Jakmile se začnou ploštěnky shlukovat, uvolňují chemické látky, které lákají další jedince (Reynierse et al., 1969).

Ploštěnky obývají stojaté i tekoucí vody a jejich výskyt respektive absence může být ovlivněn jejich predátory, pro jejich výčet viz kapitolu 2.1.3.1 Potrava. Potoční ploštěnky

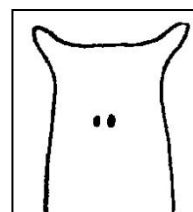
dosahují velmi velkých četností v prameni, kde nežijí žádní potenciální predátoři. Níže po proudu ploštěnek ubývá, zatímco predátoři jsou hojnější. Nicméně mnohem významnější vliv zřejmě budou mít abiotické faktory, jako jsou změny teploty, nestálost prostředí (povodně či sucha) atd. (Wright, 1975; Young and Reynoldson, 1965; Roca et al., 1992). Ploštěnky stojatých vod obývají zejména větší stanoviště jako rybníky nebo řeky, v menších nebo dokonce dočasných rybníčcích chybí. Za tuto skutečnost by mohli být mimo jiné taky zodpovědní jejich potenciální predátoři, kteří jsou v těchto typech vod hojní (Reynoldson, 1983).

Výskyt některých druhů je ovlivněn jejich kompeticí. Jedná se o druhy s podobnými ekologickými nároky. Potoční ploštěnky (*Crenobia alpina*, *Polycelis felina*, *Phagocata vitta* a *Dugesia gonocephala*), které v potoce tvoří charakteristická pásma v uvedeném pořadí od pramene k dolnímu toku, si evidentně konkurují (Pattée et al., 1973; Wright, 1974; Lock and Reynoldson, 1976). Pro více podrobností o vztahu druhů *C. alpina* a *P. felina* viz kapitulu 2.2 Ploštěnka horská (*Crenobia alpina*). Totéž platí i v případě některých druhů stojatých vod (konkrétně druhů *Polycelis nigra* a *Polycelis tenuis*). U nich byla navíc prokázána existence potravního refugia. To znamená, že pokud jsou tyto druhy společně na jedné lokalitě, specializuje se každý na jiný druh kořisti (Reynoldson et al., 1981a).

V prameništi se obvykle nalézá jen jeden druh ploštěnky. Protože pramen je poměrně chudý na kořist, mohl by být tento fenomén vysvětlen kompeticí. Více druhů by se zde neuživilo (Roca et al., 1992). Tento argument ale neobstojí před skutečností, že ploštěnky v prameništi dosahují velmi vysoké populační hustoty (Wright, 1975; Young and Reynoldson, 1965).

## 2.2 *Crenobia alpina* (DANA 1766), ploštěnka horská

Ploštěnka horská se řadí do skupiny trojvětvných ploštěnek aktuálně zvaných *Continenticola* a zde do podskupiny *Planaroidea*, čeledi *Planariidae* (Dahm, 1958; Sluys et al., 2009; Bagnà et al., 2001). Ve starších publikacích se vyskytuje synonymický název *Planaria alpina* (Kenk, 1974). Makroskopicky lze bezpečně určit na základě svou úzkých dopředu



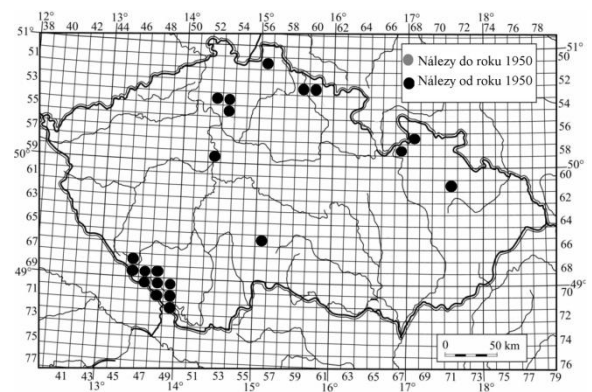
Obrázek 2 C. *alpina* – hlavová část (Hrabě, 1954)

směřujících oušek a dvou očí v hlavové části (Buchar et al., 1995; Gourbauld, 1972;

Reynoldson, 2000), viz obrázek 2. Zbarvení zahrnuje škálu od světle šedé přes hnědou až do černé a je poměrně variabilní (Thienemann, 1938; Dahm, 1958). Vzácně může být i bez pigmentu (Gourbauld, 1972). Velikost dospělého jedince se pohybuje okolo 12-17mm na délku a 2mm na šířku (Thienemann, 1938). Na preparátu příčného řezu pohlavním ústrojím je patrný drobný penis s mohutným svalovým bulbem. Do peniální pochvy ústí burzální chodba i ovidukty (Komárek, 1926; Gourbauld, 1972). Kokony mají takřka sférický tvar (Reynoldson, 2000).

V Evropě se ploštěnka horská vyskytuje od polárního kruhu až po jižní Evropu (Thienemann, 1938). Dají se zde odlišit dvě variety: *C. alpina septentrionalis* a *C. alpina meridionalis* (Thienemann, 1938). První z nich se vyskytuje v severní Evropě a její zbarvení je světle hnědé až bílo-hnědé. Druhá forma ze střední a jižní Evropy je tmavá, břidlicově šedá až černá, eventuálně olivově zelená, řidčeji světle hnědá (Thienemann, 1938). Dále je ještě možno rozeznat Belgickou formu *C. alpina var. alba*, Korsickou formu *C. alpina var. corsica* a formu z hlubokých alpských jezer *C. alpina var. bathycola* (Thienemann, 1950). Existenci různých linií podporuje i genetický výzkum (Brändle et al., 2007) a karyologická analýza (Roca et al., 1992). Jedná se o geografické (ne ekologické) variety, které se mohly vyvinout vlivem zalednění (Thienemann, 1938; Brändle et al, 2007). V době zalednění se ploštěnka horská zřejmě vyskytovala i v nížinách, odkud byla posléze vytlačena (Brändle et al, 2007; Bayer, 1897; Roca et al., 1992) a udržela se v některých pramenech. Lze o ní hovořit jako o glaciálním reliktu (Reynoldson, 1981; Roca et al., 1992). Bayer (1897) tvrdí, že do České republiky se dostala až po době ledové, protože v pramenech ji nahrazuje *Dendrocoelum mrazekii*. Vzhledem k tomu, že o výskytu druhu *Dendrocoelum mrazeki* hovoří jediná práce, pocházející z roku 1926 (Reslová, 2011), jedná se zde asi o zkreslené pozorování.

Výskyt v České republice, který není příliš častý, vyjadřuje obrázek 3 (Reslová, 2011). Nicméně vzhledem k malé pozornosti věnované našim ploštěnkám, jsou prázdné čtverce v mapě



Obrázek 3 *C. alpina*- výskyt (Košel and Beran; 2006; Kalvová and Poláčková, 2008; vlastní pozorování)

do jisté míry nedostatkem faunistického průzkumu. S ohledem na nedostatek dat lze konstatovat, že druh je znám z horských oblastí, kde bývá běžný. Vyskytuje se ale i v nížinách, kde je úzce vázán na stabilní prameny s hlubším oběhem.

Typické stanoviště ploštěnky horské jsou prameny až horní části potoků (Thienemann, 1938; Bayer, 1897; Dahm, 1958; Flössner, 1962; Reynoldson, 1981). Autoři se neshodují v názoru, zda proniká do podzemní vody. Někteří autoři zmiňují podzemní populaci jako rezervoár, ze kterého se doplňuje populace v toku (Wright, 1974) eventuálně jako refugium při náhlých změnách teploty (Durance and Ormerod, 2010). Gourbault (1972) ve své rozsáhlé práci o podzemních ploštěnkách o ploštěnce horské naopak hovoří jako o nadzemním druhu. Tento druh lze zaznamenat i v chladných jezerech (Steinböck, 1942; Reynoldson, 1953). V potocích se setkává ploštěnka horská s druhem *Polycelis felina* (ploštěnka ušatá), se kterým si konkurují (Bayer, 1897; Wright, 1974; Lock and Reynoldson, 1976). Jejich populace jsou oddělené (Bayer, 1897) a jen místy dochází k překryvu (Wright, 1974; Roca et al., 1992). Ale v samotném prameništi se společně nevyskytují, což je zřejmě v souvislosti s oligotrofním charakterem tohoto stanoviště (Roca et al., 1992). Jejich občasná koexistence může být umožněna imigrací druhu *C. alpina* z prameniště (Wright, 1974) nebo odlišnými nároky na mikrohabitaty (Lock and Reynoldson, 1976; Armitage and Young, 1990). Experimenty i pozorování potvrzují, že *C. alpina* je lépe přizpůsobená prudce proudící vodě v toku s větším sklonem než *P. felina* nebo jakákoliv jiná ploštěnka (Dahm, 1958; Lock, 1975). Předpokládané odlišné potravní nároky (Bayer, 1897; Lock and Reynoldson, 1976) nebyly prokázány (Armitage and Young, 1990). Významná je možná i jiná teplotní preference obou druhů (Pattée et al., 1973).

Mezi nejvýznamnější abiotické faktory ovlivňující výskyt tohoto druhu patří teplota. Jedná se stenotermní chladnomilný druh (Bayer, 1897; Dahm, 1958; Gourbault, 1972; Pattée et al., 1973; Reynoldson, 1981). Je schopen pohlavního rozmnožování už při teplotě 5°C (Wright, 1974), jeho teplotní optimum je 4-10°C (Gourbault, 1972), teplotu vyšší než 12 - 14°C netoleruje (Wright, 1974; Pattée et al., 1973). Zvyšující se průměrná roční teplota může mít na její výskyt fatální vliv (Durance and Ormerod, 2010). Ploštěnka horská nevyžaduje konkrétní hodnotu pH (Thienemann, 1938), nicméně netoleruje pH nižší než 5,1 (Flössner, 1962). Koncentrace Ca<sup>2+</sup> nemá na její výskyt vliv (Thienemann, 1938). Obecně zřejmě nepreferuje žádný konkrétní chemismus vody (Dahm, 1958). Protože se často vyskytuje

v proudících vodách (Dahm, 1958; Lock, 1975), je možné, že má vyšší nároky na kyslík (Dahm, 1958). Bayer (1897) však o její potřebě hodně okysličené vody pochybuje, protože zaznamenal její výskyt i v místech s tlejícím listím, kde je kyslíku mnohem méně než v proudící vodě.

Velmi sporé výzkumy potravních preferencí druhu *Crenobia alpina* se zakládají výhradně na imunologických testech. Tyto testy prokázaly, že se živí blešivci (*Gammarus*), máloštětinatci (*Oligochaeta*), larvami pošvatek (*Plecoptera*), larvami pakomárů (*Chironomidae*) a larvami chrostíků (*Trichoptera*) (Lock and Reynoldson, 1976; Armitage and Young, 1990), nicméně to nic neříká o tom, zda potravu loví živou, nebo konzumuje mrtvé jedince. V případě, že hladoví, dovede se zmenšit až na 5,2% původní velikosti (Callow et al., 1977).

Rozmnožuje se pohlavně zejména v zimě (Bayer, 1897; Thienemann, 1938; Dahm, 1958). Kulovité kokony klade volně na dno (Bayer, 1897; Gourbault, 1972). Z jednoho kokonu se může vylíhnout až 55 mládřat (Bayer, 1897), obvykle však jejich počet dosahuje mezi 15-30. (Bayer, 1897; Gourbault, 1972) Jestliže jsou ploštěnky vyhladovělé, je počet mládřat okolo 7 (Bayer, 1897). Vývoj mládřat v kokonu trvá 10 týdnů (Gourbault, 1972). Z mládřete vyroste dospělec během 2- 6 týdnů (Gourbault, 1972). Mladí jedinci jsou světlí až bílí (Thienemann, 1938; Dahm, 1958). Je schopna množit se i nepohlavně – dělením (Dahm, 1958; Gourbault, 1972). Existuje předpoklad, že se vyskytují populace schopné pouze pohlavního nebo pouze nepohlavního rozmnožování (Dahm, 1958). Pokud je populace schopná obojího způsobu rozmnožování, při snížené teplotě a zvýšeném příjmu potravy volí pohlavní rozmnožování (Dahm, 1958). Zda je její životní strategií semelparie nebo iteroparie Reynoldson (1978) neuvádí, nicméně z Dahmových dlouhodobých pokusů (1958) vyplývá, že se jedná o iteroparní druh.

### 2.3 Prameniště

Prameniště je biotop, který v sobě zahrnuje vodní i suchozemské prostředí (van Everdingen, 1991; Ward and Tockner, 2001), zároveň se pohybuje na hranici mezi podzemní a povrchovou vodou (Webb et al., 1998). Jedná se tedy o unikátní ekoton na hranici několika různých prostředí (Barquín and Scarsbrook, 2008), skládající se z různorodé mozaiky vodních, semiakvatických i semiterestrických mikrohabitatů (Staudacher and Füreder, 2007). Tento ekologicky velmi různorodý biotop vykazuje poměrně velkou fyzikální i chemickou stabilitu

ve srovnání s ostatními povrchovými vodami (Williams and Hogg, 1988). Vysoká diverzita některých taxonomických skupin obývajících prameniště evidentně souvisí se stabilitou environmentálních podmínek a vysokou heterogenitou substrátů (Ward and Tockner, 2001; Di Sabatino et al., 2003; Bojková et al., 2011).

Prameniště slouží díky svým stabilním podmínkám z mnoha důvodů jako útočiště pro různé živočichy. Nacházíme zde velmi často glaciální relikty, protože prameniště se mohou vyskytovat na stejném místě velmi dlouhou dobu a chemické ani fyzikální parametry jejich vody se nemusí změnit (Thorup and Lindegaard, 1977). Některé prameniště se může stát refugiem pro živočichy, kteří nedovedou odolávat predátorům, kompetitorům nebo invazním druhům. Zároveň může vyhovovat organismům, které nedovedou čelit zvýšeným průtokům například při povodni (Meyer et al., 2007). Jak je patrné, ačkoliv jsou prameniště poměrně malá, obohacují biodiverzitu říčního systému mírou nemalou (Finn et al., 2011). Prameniště tedy pozitivně ovlivňují ekologickou stabilitu krajiny a často hostí unikátní a dokonce i ohrožené druhy (Cantonati et al., 2006).

Výzkum pramenišť má stále ještě kam pokračovat. Jedním z velkých problémů je absence standardizovaných metod pro vzorkování a tedy obtížné porovnávání výsledků z různých výzkumů (Lindegaard et al., 1998). Komunikaci a porozumění ztěžuje také skutečnost, že chybí ustálená klasifikace pramenišť (Barquín and Scarsbrook, 2008). Otázky, na které je zatím jen málo odpovědí, se týkají zejména vztahu fauny a abiotických podmínek pramenišť (Hahn, 2000), dále pak problematiky prostorového rozmístění fauny v tomto velmi heterogenním prostředí (Gathmann et al., 2009).

Uchopit klasifikaci pramenišť je velmi náročné, protože každé prameniště je osobité a jedná se tedy o značně variabilní biotop. Thienemann (1924) rozlišoval mezi prameništi ekomorfologické typy rheokren, limnokren a helokren. Rheokren začíná i pokračuje jako stružka, limnokren je možno si představit jako studánku ze které stružka vytéká a pro helokren je typické významné zastoupení semiakvatického prostředí. Volná hladina je z velké části zakryta spojeným plovoucím porostem. Navzdory četným pracím, které se snažily definovat typy pramenišť podle abiotických podmínek nebo společenstev bezobratlých se stále často používá tato klasifikace (Kubíková et al., 2012). Nicméně existují určité významné abiotické faktory, podle kterých můžeme prameniště rozlišovat. Jedná se zejména o rychlost



proudění vody (Gerecke et al., 1998; Hahn, 2000; Kubíková et al., 2012), typ substrátu (Kubíková et al., 2012) a chemismus vody (Roca and Castillo, 1993; Lindegaard et al., 1998).

Helokren je typ prameniště, které výzkumníci málo vyhledávají. Logický důvod je obtížnost rozlišení tohoto prameniště od mokřadu (Erman and Erman, 1995), tento problém se dá snadno vyřešit sběrem dat v zimě, kdy je prameniště dobře patrné, protože nezamrzá (Chertoprud, 2006; Kubíková et al., 2012). Další faktor ovlivňující výzkum tohoto typu prameniště je skutečnost, že ne všude je čtené. Ve střední Evropě a zejména v níže položených oblastech s polopřírodním typem krajiny se sice jedná o naprosto běžný typ prameniště (Lindegaard et al., 1998), oproti tomu v alpských oblastech s prudkými svahy ale naprosto převládá rheokren (Cantonati et al., 2006). V pastevní krajině nebo oblastech s velkým zastoupením zemědělské půdy byly často helokreny plošně eliminovány při odvodňování pozemků (Zoolhoffer, 2000) Jak již bylo zmíněno výše helokren je stálé prameniště, které nezamrzá. Platí to dokonce i pro mnohé helokreny, které nejsou napojené na říční síť (stružka končí slepě a opět se vsakuje do země)(Kubíková et al., 2012). Vynechávat toto prameniště z výzkumů tedy znamená ochuzovat se o důležité informace o prameništích, protože jsou významnou součástí prameništního systému (Hahn, 2000; Gerecke et al., 2011; Kubíková et al., 2012).

## 3 Metodika

### 3.1 *Crenobia alpina* v ekosystému prameniště

#### 3.1.1 Studované lokality a sběr dat

V srpnu 2012 proběhl detailní průzkum prameniště Pod javorem (obec Zbytiny - Spálenec, 48°53'50.583"N, 13°57'8.754"E, horní část povodí řeky Blanice, 965 m n. m., podloží granulit) V prameništi typu helokrén bylo umístěno 14 sond o průměru 10 cm, které byly zaraženy, co nehlouběji bylo možné (obvykle okolo 20cm). Ze sondy byl všechen materiál promyt na síti 0,8 mm a poté z něj byli na místě vybráni zachycení živočichové (větší zástupci makrozoobentosu), kteří byli ihned určeni do vyšších taxonomických skupin a zaznamenány jejich absolutní počty. V každém místě bylo před odebráním vzorku změřeno několik fyzikálních či chemických parametrů a zaznamenán vzhled mikrohabitatu. Teplota, konduktivita, pH a saturace kyslíkem byla měřena přenosným multimetrem (Multi 340i, WTW). Dále se sledovalo, zda je voda tekoucí nebo stojatá, typ dna (humolit/drn/písek), rostliny, které mohou svým opadem místo ovlivňovat mikrohabitat a typ detritu (jemný/hrubý/žádný). Zaznamenána byla také vzdálenost od vývěru (měřeno pásmem).

Pro analýzy obsažené v této práci byla použita také data, získaná v letech 2007/2008. Jedná se o studii zahrnující prameniště horní části povodí řeky Blanice. Z těchto dat vychází například práce Kubíkové et al. (2011), Kubíkové et al. (2012). Prameniště (celkem 77 stálých pramenišť neovlivňovaných člověkem) se nacházejí na ploše přibližně 60km<sup>2</sup> okolo 48°55'9.408"N, 13°59'17.353"E. Nadmořská výška této řídky osídlené oblasti se pohybuje od 790 do 1020m n. m., roční úhrn srážek je 800-890mm a průměrná teplota 5°C. Podloží tvoří metamorfované horniny, zejména granulit a rekrystalizovaný granulit. Z každého prameniště byl pořízen směsný vzorek makrozoobentosu z deseti mikrohabitatů. V každém mikrohabitatu bylo jednou ponořeno síto o průměru 15cm s oky 0,8mm, materiál byl promyt, na místě byly vybrány a spočítány ploštěnky (*Tricladida*). Zbytek byl přenesen do 70% ethanolu a v laboratoři roztříděn a určen. Na místě bylo zaznamenáno: jedná li se o napojené prameniště na říční síť (konektivita), průtok pod prameništěm, typy mikrohabitatů (humolit/písek/štěrk v kombinaci se stojatou/tekoucí vodou, eventuálně ponořená vegetace), počet substrátů v prameništi, pH a konduktivita. Z vývěru byl odebrán vzorek vody a provedena chemická analýza ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ) v laboratoři Výzkumného

ústavu vodohospodářského T. G. M. standartními metodami (Kubíková et al., 2011; Kubíková et al., 2012).

### 3.1.2 Statistické vyhodnocení

Základní vizualizaci dat získaných ze sond v prameništi jsme provedli v programu Microsoft Excel a zjistili jsme, zda je statisticky významný rozdíl v počtu ploštěnek blíž prameni než dál od pramene (definováno na základě pH, viz Obrázek 5, kapitola 4.1.1 Mapování výskytu druhů). Dále jsme provedli PCA analýzu vyskytujících se skupin živočichů.

Pro analýzu dat získaných při předchozím průzkumu 77 pramenišť (Kubíková et al., 2011) jsme zvolili několik metod. Pro každou dvojkombinaci druhů vyskytujících se v prameništi byl spočítán Kappa koeficient. Tímto jsme zjišťovali, které skupiny se vyskytují podobně často. Faktorovou analýzou jsme hledali souhrnné charakteristiky prostředí (skryté faktory), které by mohly ovlivnit výskyt ploštěnek a následným GLM modelem jsme zjišťovali, které ze skrytých faktorů jsou pro ploštěnky skutečně důležité. Podobnost ekologických nároků různých druhů a jsme zkoumali Clusterovou analýzou. Výsledky analýz včetně vysvětlení, jak je interpretovat viz v kapitole 4. Výsledky.

Statistické metody vyžadovaly převedení absolutních počtů živočichů na relativní. K tomu sloužila tabulka 1.

Tabulka 1 Převod absolutních hodnot na relativní

počet jedinců	relativní hodnota
0	1
1	2
1-5	3
6-25	4
26-50	5
51-100	6
101 a více	7

## 3.2 Krátkodobé potravně-preferenční pokusy

Pro výzkum potravních preferencí ploštěnek se volí autoři různé metody, jedna z cest je důkaz proteinů typických pro konkrétní druhy či skupiny pomocí protilátek (například

Pickavance , 1971; Lock and Reynoldson, 1976; Armitage and Young, 1990). Tato chemická reakce je schopná prokázat potravu až 4-5dní po konzumaci. Protilátky byly připraveny pro prokázání těchto živočichů či skupin: *Gammarus pulex*, *Asselus aquaticus*, *Dreissena polymorpha*, *Potamopyrgus jenkinsi*, Tubificidae, Cladocera (*Daphnia*-type), Chironomidae. Tento postup jsme nevyužili pro jeho základní nevýhodu, kterou je relativně nízká četnost pozitivních reakcí s jakýmkoliv ze jmenovaných protilátek, a sice 23% (Pickavance, 1971).

Další možností je prohlédnout preparát vzniklý rozmáčknutím ploštěnky a popsat zbytky její potravy (například Jennings, 1957; Reynoldson and Young, 1963; Pickavance, 1971B). Zde se ovšem velice liší doba, za jakou lze potravu identifikovat a také přesnost taxonomického určení. Svaly členovců (Arthropoda) se dají pozorovat maximálně 4 hodiny po konzumaci. Radula plžů (Gastropoda) a sety máloštětinatců (Oligochaeta) zůstanou patrné až 4 dny. Nicméně ne vždy ploštěnky nasají z plže i radulu, čili získaná data s sebou nesou chybu ve prospěch máloštětinatců. Zástupci této skupiny jsou na druhou stranu relativně přesně determinovatelní na základě set (Pickavance, 1971B). Tuto metodu jsme také nepovažovali za vhodou pro zodpovězení naší otázky - jakou kořist je *C. alpina* schopna ulovit.

Existují práce, které sledují míru trávení tuků nebo specifických proteinů. Zde se ploštěnky fixují a následně se provádějí reakce pro kvalitativní důkaz i kvantitativní určení lipáz a proteáz (Jennings, 1957; Jennings, 1962). Toto jsme nerealizovali ze stejného důvodu, jako předchozí.

Pestrou skupinu pokusů tvoří pozorování chování ploštěnek v přítomnosti kořisti. Je možné hladovým ploštěnkám poskytnout malé množství tělních tekutin kořisti a sledovat kolik z nich se hýbe a jak rychle se pohybovat začaly (Bellamy and Reynoldson, 1974; Adams, 1980). Dále je možné hodnotit reakci ploštěnek na poškozenou a tedy i imobilizovanou potenciální kořist (Calow et al., 1981). V neposlední řadě se nabízí možnost sledovat, jakou živou kořist jsou ploštěnky schopné ulovit (Pickavance, 1971; Bellamy and Reynoldson, 1974; Young and Reynoldson, 1965; De Silva, 1976; Reynoldson and Sefton, 1976; Adams, 1980; Calow et al., 1981). Pro naši potřebu jsme si zvolili jak pokusy s živou kořistí tak s kořistí mrtvou.

### 3.2.1 Metodika vlastních pokusů

K detailnímu popsání potravního chování byly zvoleny pokusy, založené na sledování chování ploštěnek v případě poškozené kořisti a vyhodnocení množství ulovené nepoškozené kořisti. Tento typ pokusů nebyl s druhem *C. alpina* nikdy realizován. Podobně jako Pickavance (1971) jsme provedli sérii přípravných pokusů. Z těchto pokusů bylo patrné, že ploštěnky budou vyhledávat poškozenou kořist. Zároveň indikovaly, že hrát významnou roli bude i počet ploštěnek.

Jako nabízená kořist ploštěnkám sloužili živočichové běžně dostupní v prameništi (eventuálně běžní v horní části toku) a tedy takoví, kteří mohou být potenciální kořisti ploštěnek. Jednalo se o blešivce (*Gammarus sp.*), hrachovky (*Pissidium sp.*), larvy pakomárů (Chironomidae), larvy pošvatek (Plecoptera), larvy jepic (Ephemeroptera) a žížalice (*Lumbriculidae*). Ploštěnky i jejich kořist pocházeli ze dvou prameništ typu helokren (viz kapitolu 2.3 Prameniště) z povodí řeky Blanice: Koh-i-noor (obec Křišťanov, k. ú. Arnoštov, okres Prachatice; GPS souřadnice: 48°53'48.973"N, 13°59'30.483"E) a Mravenčí (obec Zbytiny, k. ú. Spálenec, okres Prachatice; GPS souřadnice: 48°92'11.694"N, 13°97'34.375"E). Kořist byly náhodně vybírány ze všech velikostních kategorií, podobně jako v práci Pickavance (1971), vybrané ploštěnky zahrnovaly jedince větší než 8mm (analogicky k Kovačević et al., 2009). S ploštěnkami i jejich kořistí jsme manipulovali pomocí plastové Pasteurovy pipety, abychom minimalizovali riziko jejich poškození.

Metodika experimentů vycházela z několika prací. Ploštěnky byly chovány v 50ml skleněných lahvičkách (upraveno podle Adams, 1980). Tuto velikost jsme zvolili, abychom co nejvíc zvýšili pravděpodobnost, že ploštěnky svou kořist uloví (De Silva, 1976). Filtrovaná voda (GF/C Watman – 1,2 μm) pocházela z Mravenčího prameniště. Filtrovanou vodu z přírodního zdroje používá většina autorů (například Young and Reynoldson, 1965; Pickavance, 1971; Calow et al., 1981), existuje ale i práce, kde pokusy s druhem *P. felina* probíhají v odstáté vodovodní vodě (Kovačević et al., 2009). Ploštěnky byly přemístěny do lahviček, kde týden hladověly, než jim byla poskytnuta kořist (stejně jako např. Reynoldson and Sefton, 1976). Během týdne pokryly lahvičky svým slizem, který jim usnadňuje lov kořisti (Reynoldson and Sefton, 1976). Lahvičky byly umístěny v chladícím boxu v 10°C (analogicky k Adams, 1980, průměrná letní teplota v prameništích, Tichá a kol. in prep.) s přístupem denního světla (podobně jako například Armitage and Young, 1991). Krátkodobé

pokusy s napadáním poškozené kořisti byly realizovány za laboratorní teploty a denního světla (podobně jako Pickavance, 1971). Úkryty pro ploštěnky ani kořist jsme nepřidávali (stejně jako např. Bellamy and Reynoldson, 1974).

Literatura popisuje pokusy, kde je ploštěnkám předložena živá kořist, v různých kombinacích počtu ploštěnek a kořisti. Pro tuto práci byly zvoleny tyto poměry vycházející z prací Pickavance (1971) a De Silva (1976): 8 ploštěnek na 2 nebo 5 kusů živé kořisti a 1 ploštěnka na 1 kus živé kořisti (zde pouze kořist, kterou v předchozí kombinaci byly schopny ulovit). K hladovým ploštěnkám byla do nádoby přidána příslušná kořist a během 4 dnů byly nádoby sledovány a počítalo se množství živé kořisti (30min po založení, 1 den po založení a 4 dny po založení), tato metodika byla upravena podle prací Pickavance (1971) a Reynoldson and Sefton (1976). Doba sledování vychází z přípravných pokusů, které indikovaly, že po 4. dni ploštěnky žádnou další kořist neloví a zároveň že některá kořist (například blešivci) mají problém v našich laboratorních podmínkách přežít déle. Pro poměr 8:2(5) jsme u každé kořisti pokus alespoň 14x zopakovali, v případě poměrů 1:1 bylo opakování 6. Kontrola zahrnovala jednak lahvičky s ploštěnkami bez kořisti a jednak lahvičky s kořistí bez ploštěnek.

Experiment sledující počet ploštěnek napadajících poškozenou kořist byl upraven podle práce Calow et al. (1981). Týden hladové ploštěnky dostaly živou kořist v poměru 4 ploštěnky na 1 kořist. Byl zaznamenán maximální počet ploštěnek, které kořist napadly během 20 minut. Následně jsme kořist rozmáčkli pevnou pinzetou a zaznamenali opět maximální počet ploštěnek, které kořist napadly během dalších 20 minut. Pro každou kořist jsme pokus 8x opakovali.

### 3.2.2 Statistické vyhodnocení

Analýza našich dat (která jsme zobrazili v programu Microsoft Excel) byla provedena pomocí lineárního modelu s náhodným interceptem (neboli počátkem) pro případ pokusů, kde ploštěnky napadaly živou kořist. Rozdíl mezi množstvím napadení živé a poškozené potravy jsme počítali pomocí Poissonova modelu (zobecněný lineární model s logaritmickým průběhem).

Uspořádání krátkodobých potravně preferenčních pokusů znázorňuje tabulka 2, pro záznam primárních dat i výpočet modelů viz kapitola 8. Přílohy.

Tabulka 2 Uspořádání krátkodobých potravně preferenčních pokusů

typ pokusu	kořist	počty kořisti	počty ploštěnek	počet opakování	rozmačkávání	sledovaný faktor
8 ploštěnek, 2/5 kořisti	blešivec ( <i>Gammarus</i> sp.)	2 nebo 5	8	16	ne	počet živé kořisti
		2 nebo 5	0	5		
	hrachovka ( <i>Pisidium</i> sp.)	2 nebo 5	8	16		
		2 nebo 5	0	5		
	larva pakomára (Chironomidae)	2 nebo 5	8	16		
		2 nebo 5	0	5		
	larva pošvatky (Plecoptera)	2	8	16		
		2	0	2		
	žížalice (Lumbriculidae)	2	8	14		
		2	0	6		
	larva jepice (Ephemeroptera)	2	8	14		
		2	0	6		
1 ploštěnka, 1 kořist	larva pakomára (Chironomidae)	1	8	6	ne	počet živé kořisti
		2	0	5		
	žížalice (Lumbriculidae)	1	8	6		
		2	0	6		
	larva jepice (Ephemeroptera)	1	8	6		
		2	0	6		
poškozená kořist	blešivec ( <i>Gammarus</i> sp.)	1	4	8	za 20 minut	maximální počet napadajících ploštěnek
	hrachovka ( <i>Pisidium</i> sp.)	1	4	8		
	larva pakomára (Chironomidae)	1	4	8		
	larva pošvatky (Plecoptera)	1	4	8		
	žížalice (Lumbriculidae)	1	4	8		
	larva jepice (Ephemeroptera)	1	4	8		

### 3.3 Pokus přežívání a vymírání

Jako podnět k tomuto experimentu zapůsobila rozsáhlá práce autora A. G. Dahm (1958). Autor zde mimo jiné prezentuje své 1-2 leté úspěšné experimentální chovy druhu *C. alpina*.

Nicméně neuvádí žádnou podrobnou metodiku, omezuje se pouze na informaci, že ploštěnky krmil 1x za 2-4 týdny. Žádná jiná práce se dlouhodobému chovu druhu *C. alpina* nevěnuje. Pouze Calow (1977) popisuje chov druhu *C. alpina* po dobu 100 dní, nicméně s cílem zjistit jak moc se může hladověním zmenšit. Existuje velmi malé množství prací, které se věnují dlouhodobému (v řádu měsíců) chovu jiných, nutno podotknout zcela ekologicky odlišných, druhů (Calow et al., 1981; Sefton and Reynoldson, 1972; DeSilva, 1976).

### 3.3.1 Metodika vlastního pokusu

Podobně jako v případě předchozích pokusů byly ploštěnky umístěny po 5 jedincích v 50ml lahvičkách v chladicím boxu se stálou teplotou 10°C (metodika upravena podle Sefton and Reynoldson, 1972 a Calow, 1977) a s přístupem denního světla. V lahvičkách byla filtrovaná voda z Mravenčího prameniště. Zpočátku neměly k dispozici žádný úkryt, ale po 3 měsících jsme jim poskytli kousky tenké hliníkové folie. Pro každý typ potravy jsme provedli 4+4 opakování. Jedna čtveřice zahrnovala ploštěnky menší než 8mm, druhá jedince větší. Dvě velikosti byly zvoleny z toho důvodu, že lze předpokládat, že malé ploštěnky budou dále růst, zatímco velké už růst nebudou, ale mohou se spíše rozmnožovat.

Jako potravu jsme ploštěnkám nabízeli jednou za měsíc jednak živočichy běžné v prameništi: blešivce (*Gammarus* sp.) hrachovky (*Pissidium* sp.), larvy pakomárů (Chironomidae), larvy pošvatek (Plecoptera). Potrava byla zabita mrazem a pak umístěna do experimentálních nádob k ploštěnkám. Calow (1977) popisuje krmení druhu *C. alpina* rozmáčklymi beruškami vodními (*Asselus aquaticus*), tuto potravu jsme nezahrnuli, protože se v prameništi běžně nevyskytuje. Dále jsme ploštěnky krmili umělou potravou. Literatura hovoří o krmení hovězími játry (např. Kostecky et al., 1989), my jsme se ale přiklonili ke krmivu pro rybičky (Granule Tetra), protože přípravné pokusy ukázaly, že je ploštěnky ochotně konzumují. Další skupina ploštěnek nedostávala žádnou potravu, ale pouze detrit filtrovaný na síti s oky 100µm. Poslední skupina nedostávala nic, jen filtrovanou vodu (GF/C filtr) a kontrolní skupině jsme ani neměnili vodu. Za 12h (analogicky k Sefton and Reynoldson, 1972) jsme zbytky potravy odstranili, detrit jsme ponechali do dalšího krmení. Jednou za měsíc jsme všem ploštěnkám (kromě kontrolní skupiny) dali čistou vodu a vyfotografovali je opakovaně pod binokulární lupou (lupa Zeiss STEM 200-C s trinokulárním nástavcem; fotoaparát Sony Cyber Shoot s objektivem Zeiss; zdroj studeného světla s dvěma ohybnými světlovody lampa KL 1500 LCD Zeiss) na hodinovém sklíčku (opět kromě kontrolní



skupiny). Fotografie byly pořízeny 3 a to tak, aby ploštěnky byly pokud možno natažené a nepřekrývaly se. Ploštěnky, potrava i detrit pocházely ze dvou pramenišť typu helokren (viz 2.3 Prameniště) z povodí řeky Blanice: Koh-i-noor (obec Křišťanov, k.ú. Arnoštov, okres Prachatice; GPS souřadnice: 48°53'48.973"N, 13°59'30.483"E) a Mravenčí (obec Zbytiny, k.ú. Spálenec, okres Prachatice; GPS souřadnice: 48°92'11.694"N, 13°97'34.375"E). Voda po celou dobu trvání pokusu byla dovážena z Mravenčího prameniště. Ploštěnky jsme přemísťovali pomocí plastové Pasteurovy pipety, abychom je nepoškodili. Pokus trval 12 měsíců.

Každý měsíc jsme zaznamenali počet ploštěnek v jednotlivých nádobách. Spočítali jsme změnu plochy ploštěnek (podobně jako Calow, 1977) mezi 2. a 3. měsícem, tedy poté, co byly ploštěnky aklimatizované na nové podmínky. Toto jsme provedli pro ploštěnky, které byly na začátku pokusu větší než 8mm (tedy 4 opakování pro každý typ potravy). Důvodem byla vysoká úmrtnost druhé skupiny ploštěnek. Fotografie byly upraveny v programu Adobe Photoshop CS2 (zvýraznění ploštěnek pro jejich odlišení od pozadí), výpočet plochy prováděl program Image J 1.48v.

### **3.3.2 Statistické vyhodnocení.**

Počty ploštěnek i jejich plochy jsme vizualizovali v programu Microsoft Excel. Rozdíly v počtech přežívajících ploštěnek byly vyhodnoceny nelineárním modelem s náhodnými efekty. Rozdíly v plochách mezi dvěma měřeními analyzoval lineární model s náhodnými efekty.

Uspořádání experimentů znázorňuje tabulka 3.

Všechny výše popsané experimenty proběhly v laboratoři Odboru aplikované ekologie Výzkumného ústavu vodohospodářského T. G. M.

Tabulka 3 Uspořádání dlouhodobého pokusu

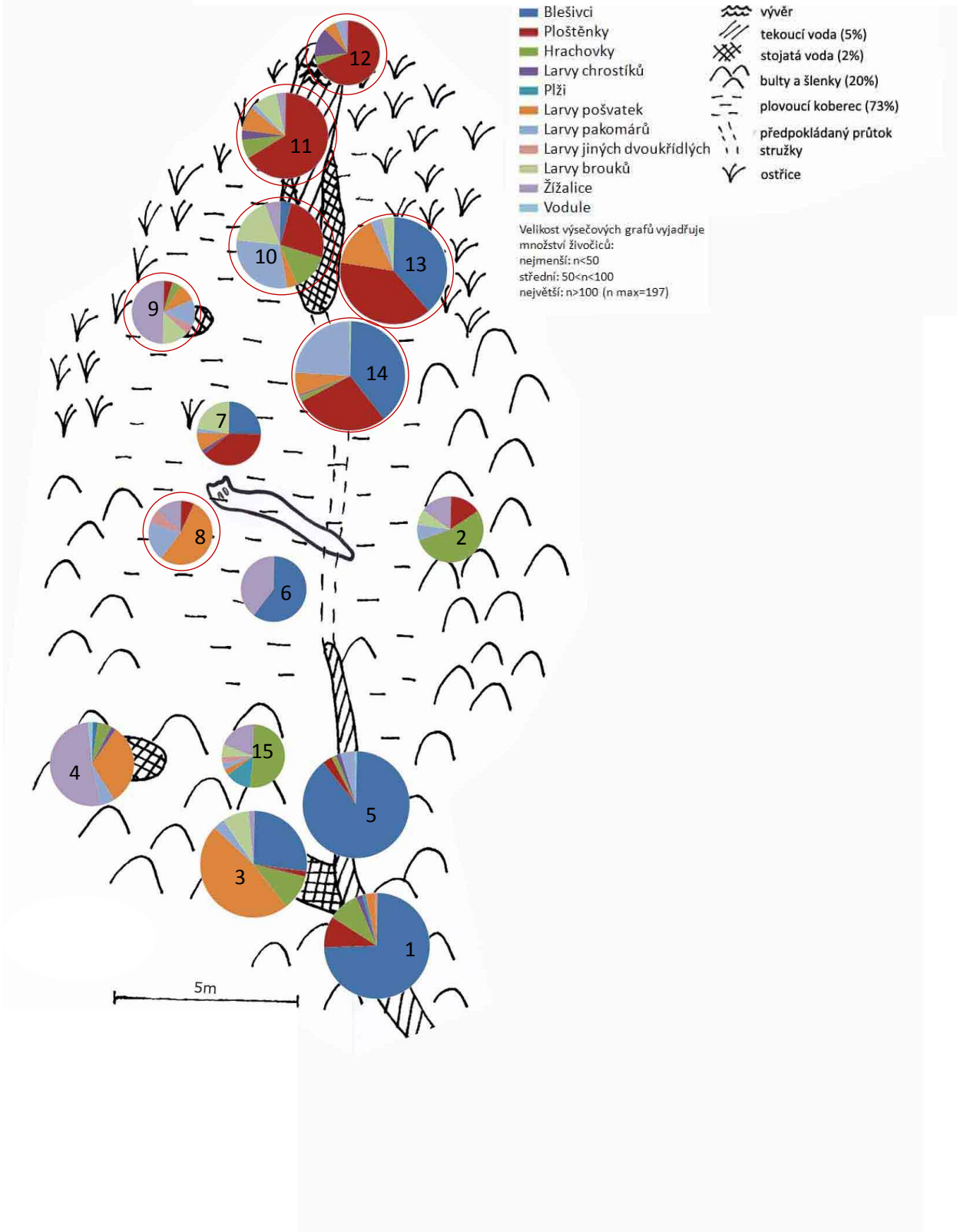
typ potravy	počet ploštěnek	velikost ploštěnek	počet opakování
blešivec ( <i>Gammarus</i> sp.)	5	velké	4
	5	malé	4
hrachovka ( <i>Pisidium</i> sp.)	5	velké	4
	5	malé	4
larva pakomára (Chironomidae)	5	velké	4
	5	malé	4
larva pošvatky (Plecoptera)	5	velké	4
	5	malé	4
detrit	5	velké	4
	5	malé	4
granule Tetra	5	velké	4
	5	malé	4
filtrovaná voda	5	velké	4
	5	malé	4
žádná potrava	5	velké	4
	5	malé	4

## 4 Výsledky

### 4.1 Průzkum jednoho prameniště

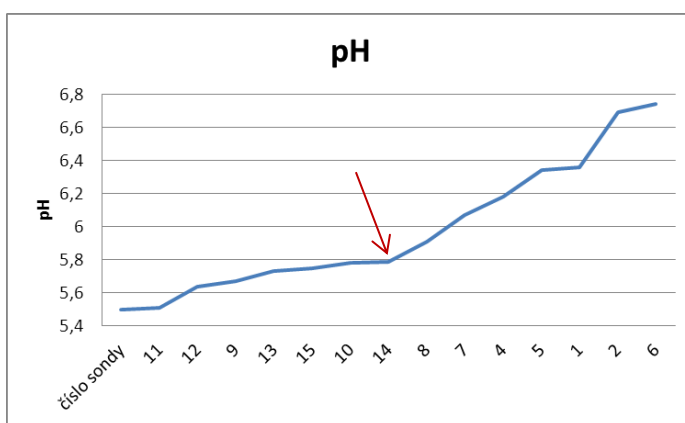
#### 4.1.1 Mapování výskytu druhů

**Obrázek 4 Plán prameniště Pod javorem** (pro vysvětlení symbolů, barev a velikostí grafů viz legenda, pro vysvětlení zakroužkování viz text, čísla odpovídají číslům sond)



Nákres znázorňuje 15 sond umístěných do různých mikrohabitatů v prameništi Pod javorem. Zaznamenané skupiny vyjmenovává legenda. Jak je vidět z vizualizace pomocí koláčových grafů, v horní části prameniště poblíž vývěru jsou velmi významnou skupinou ploštěnky, resp. druh *C. alpina* (tmavě červená), dále postupně převládají blešivci, tedy *Gammarus sp.* (kobaltově modrá). Ploštěnky, považované za predátory, jsou v některých sondách nejpočetnější skupina. Detritovorní živočichové, jako žížalice (*Lumbriculidae*), larvy pošvatek (Plecoptera) a hrachovky (*Pissidium sp.*) se vyskytují zejména v místech, kde je voda neproudí (hlavně v okolí bultů). Je pozoruhodné, že ploštěnky, obecně považované za predátory jsou v některých sondách nejpočetnější skupina. Primární data ukazuje tabulka 5 v Přílohách 8.2.1.

Pro statistické ověření, zda se počty ploštěnek poblíž vývěru a dále od něj liší, jsme sondy z prameniště rozdělili na dvě skupiny. Jak je vidět z obrázku 5, v prameništi se mění pH. To je způsobeno vyrovnáváním tlaku plynů, což souvisí s tím, že se jedná o prameniště s hlubším oběhem. Dvě části prameniště jsme definovali



Obrázek 5 Graf znázorňující hodnoty pH

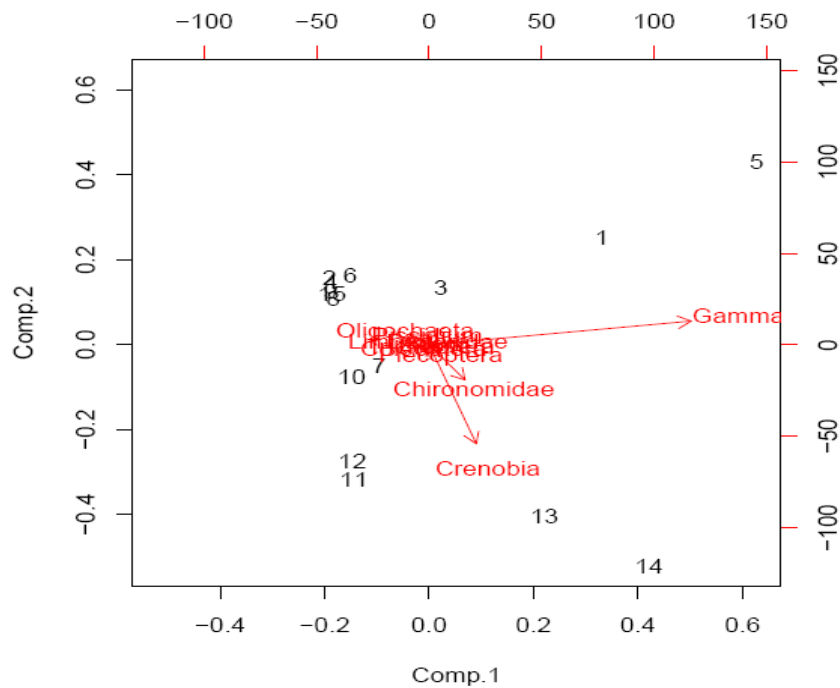
právě na základě hodnot pH: sondy s pH menší než 5.79 (včetně) a sondy kde bylo větší (v grafu označeno šipkou). V mapce jsou tyto sondy zakroužkovány červeně. Relativní počty ploštěnek se zdají být dobře modelovatelné Poissonovým rozdělením, teoretický předpoklad, aby se rozptýl a střední hodnota rovnaly, je zde empiricky splněn, rozsah dat je ovšem poměrně malý. Parametr středního výskytu (neboli přiměřený očekávaný výskyt ploštěnek v dané části prameniště) je pro skupinu 1 (blíže vývěru)=3,42 a pro skupinu 2=1,42. Jejich rozdíl je dvojnásobný, ale pro statistické prokázání významnosti rozdílu je třeba víc pozorování.

Primární data jsou přiložena v kapitole 8. Přílohy tabulka 5.

#### 4.1.2 PCA

Pro znázornění výskytu různých skupin v prameništi Pod javorem slouží PCA. Získaná vizualizace znázorňuje jeden z řezů mnohazměrným prostorem. Směr a délka vektorů

znázorňují míru korelace příslušných proměnných. Čím jsou šipky delší, tím je vztah prokazatelnější. Pokud vektory směřují stejně, jedná se o přímou úměru, pokud jsou v úhlu



**Obrázek 6 PCA analýza** (čísla uprostřed obrázku odpovídají jednotlivým sondám, pro vysvětlení šipek viz text)

90° je to úměra nepřímá. V případě úhlu 180° zde není žádný vztah.

Z grafu vyplývá, že výskyt ploštěnek v jednotlivých mikrohabitátech jednoho prameniště částečně pozitivně koreluje s výskytem larev pakomárů (Chironomidae), naopak s výskytem blešivců se vzájemně vůbec neovlivňují. Tento graf vysvětluje 85% variability. První komponenta (osa Comp 1) vysvětluje 68%, druhá komponenta vysvětluje 17% (osa Comp 2).

## 4.2 Analýza výskytu *C. alpina* v souboru 77 pramenišť

Pro popis ekologických nároků *C. alpina* v měřítku jednotlivých směsně vzokovaných pramenišť byla nově zpracována starší data ze studovaného území ze 77 pramenišť (Kubíková 2011 a Kubíková 2012), viz kapitolu 3.1 *Crenobia alpina* v ekosystému prameniště. Primární data viz tabulky 6 a 7 v přílohách.

### 4.2.1 Kappa koeficient

Analýza pomocí Kappa koeficientu se používá v případě, že je třeba posoudit, zda data rozdělená do určitých kategorií spolu korelují. V tomto případě se jedná o otázku stejného kategorického výskytu daných skupin v prameništích. Tedy například, zda pokud je ploštěnek v prameništi málo, je zde málo i larev pakomárů a je-li ploštěnek v prameništi hodně, zda je zde hodně i larev pakomárů. V případě hodnoty 1 se jedná o 100% totožnost, čím nižší hodnota, tím bližší je typ výskytu v prameništi podobný zcela náhodnému rozložení.

Tabulka 4 Hodnoty Kappa koeficientů

Type	Turbellaria	Coleoptera	Gastropoda	Gammarus_sp	Hydracarina	Chironomidae	Oligochaeta	Pisidium_sp	Plecoptera	Trichoptera
Turbellaria	1	0,296	-0,130	0,453	0,013	0,057	-0,166	-0,142	0,180	0,212
Coleoptera	0,296	1	-0,037	0,126	0,004	-0,003	-0,043	0,056	0,033	-0,006
Gastropoda	-0,130	-0,037	1	-0,139	-0,008	-0,011	0,343	0,026	-0,063	-0,080
Gammarus_sp	0,453	0,126	-0,139	1	-0,004	-0,044	-0,246	-0,127	0,120	0,428
Hydracarina	0,013	0,004	-0,008	-0,004	1	0,046	-0,087	0,039	0,057	0,028
Chironomidae	0,057	-0,003	-0,011	-0,044	0,046	1	0,016	0,232	0,293	0,158
Oligochaeta	-0,166	-0,043	0,343	-0,246	-0,087	0,016	1	0,144	-0,130	-0,139
Pisidium_sp	-0,142	0,056	0,026	-0,127	0,039	0,232	0,144	1	0,189	-0,238
Plecoptera	0,180	0,033	-0,063	0,120	0,057	0,293	-0,130	0,189	1	0,138
Trichoptera	0,212	-0,006	-0,080	0,428	0,028	0,158	-0,139	-0,238	0,138	1

Data jsme interpretovali podle následujícího schématu:

hodnoty < 0 neindikují žádnou shodu  
hodnoty 0–0.20 nepatrná shoda  
hodnoty 0.21–0.40 mírná shoda  
hodnoty 0.41–0.60 střední shoda  
hodnoty 0.61–0.80 významná shoda  
hodnoty 0.81–1 téměř přesná shoda

Nejvyšší hodnota se vyskytuje u ploštěnek (Turbellaria) a blešivců (Gammarus sp.), viz tabulka 4. Jedná se o 0,45, čili střední shodu. Znamená to tedy, že vyskytovaly-li se ploštěnky v prameništi v například v kategorii 1-4, s velkou pravděpodobností se blešivci vyskytovali ve stejné početní kategorii. Mírnou shodu vykazoval také společný kategorický výskytu larev vodních brouků (Coleoptera) a larev chrostíků (Trichoptera) společně s ploštěnkami.

#### 4.2.2 Faktorová analýza a GLM model

Cílem faktorové analýzy je nalézt souhrnné charakteristiky prostředí (pro které jsou typické hodnoty různých abiotických veličin – například pH, typ substrátu, průtok...). Protože tyto souhrnné charakteristiky prostředí (neboli faktory) nejsou na první pohled v datech patrné, nazývají se skryté neboli latentní faktory. Jedná se tedy o nepozorované faktory prostředí, které ale přímo ovlivňují hodnoty naměřených abiotických veličin v daném prameništi.

Na základě faktorové analýzy jsme odhadli 5 skrytých faktorů, které vysvětlují 55% celkové variability. S těmito faktory nesouvisí hodnoty pH a konduktivity, protože tyto více méně nesouvisí s ostatními měřenými abiotickými hodnotami v daných prameništích.

Pět skrytých faktorů, které jsme odhadli, lze odborně popsat takto:

*Latentní faktor F1 (dobře průtočný helokren) -projevuje se vysokou konektivitou, relativně velkým průtokem, přítomností detritu ve stružce a velkým počtem substrátů*

*Latentní faktor F2 (studánka s detritem) se projevuje detritem pod stojatou vodou a nebývá tam vegetace (jediná negativní závislost)*

*Latentní faktor F3 (písečná studánka) téměř vždy má stojatou vodu a písčité dno*

*Latentní faktor F4 (rheokren) hodně písčitého a štěrkového dna ve stružce*

### *Latentní faktor F5 (štěrková studánka) štěrk pod stojatou hladinou*

(V souboru pramenišť je nicméně empiricky nejpočetněji zastoupeno prameniště odpovídající F1, dále početnost prudce klesá.)

Z faktorové analýzy jsme následně získali „score“, tedy numerické hodnoty, které lze dosadit do funkce, která by vysvětlovala výskyt ploštěnek v daném souboru pramenišť (lze si matematicky představit jako „počet ploštěnek“= $\text{konst.} + A \cdot F1 + B \cdot F2 + C \cdot F3$  ..., přičemž F1, F2, F3 jsou ony skryté faktory a koeficienty A, B, C vypovídají o jejich důležitosti). Tuto závislost jsme popsali pomocí GLM modelu pro Poissonova data neboli četnosti, tedy počet vyjádřený relativní hodnotou, viz tabulka 1 v kapitole 3.1.2.

Na výskyt ploštěnek má zásadní a statisticky významný vliv pouze latentní faktor F1, čili jak předpokládáme – dobře průtočný helokren. Je možné říci, že výskyt ploštěnek druhu *C. alpina* je pozitivně ovlivněn dobře průtočným helokrenem. Ostatní skryté faktory se ukázaly pro výskyt ploštěnek jako nepodstatné.

Zkusili jsme zjistit i vliv samotných abiotických faktorů. Zde se opět jedná o stejný princip, a sice tvorbu funkce, která dává abiotickým faktorům různé koeficienty a na jejímž základě lze vysvětlit výskyt ploštěnek druhu *C. alpina* ve zkoumaném souboru pramenišť. Signifikantně významné pro výskyt ploštěnek je pouze napojení na říční síť, anebo velký průtok, anebo velký počet substrátů. Pouze ale každá veličina samostatně. Konduktivita ani pH nemá na výskyt ploštěnek vliv.

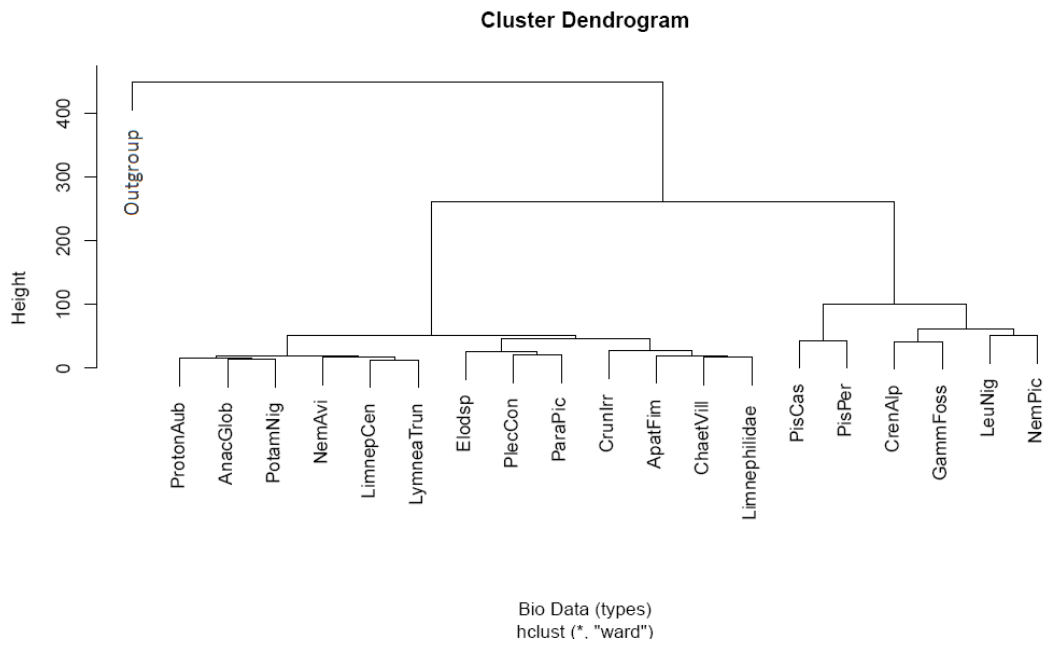
#### **4.2.3 Clusterová analýza ekologických nároků jednotlivých druhů**

Clusterová analýza kombinuje naměřené abiotické faktory a zjištěné druhy v jednotlivých prameništích. Na jejich základě tvoří dendrogram, který znázorňuje, jak moc si jsou různé skupiny svými nároky podobné. Čím méně je větvení, mezi dvěma druhy, tím je rozdíl menší. Čím větší je rozdíl mezi dvěma uzlovými body (škála Height, viz obrázek 7), tím je rozdíl významnější.

Z dendrogramu (viz obrázek 7) vyplývá, že druh *Crenobia alpina* má ekologické nároky nejpodobnější blešivci (*Gammarus fossarum*). Do podobné ekologické skupiny ještě spadají oba druhy hrachovek (*Pisidium*), dále dva druhy pošvatek (*Leuctra nigra*, *Nemurela pictetii*).



Ostatní obyvatelé pramenišť mají nároky relativně značně odlišné. O společné výskytu zmíněných živočichů ovšem tato analýza nic nevyovídá.



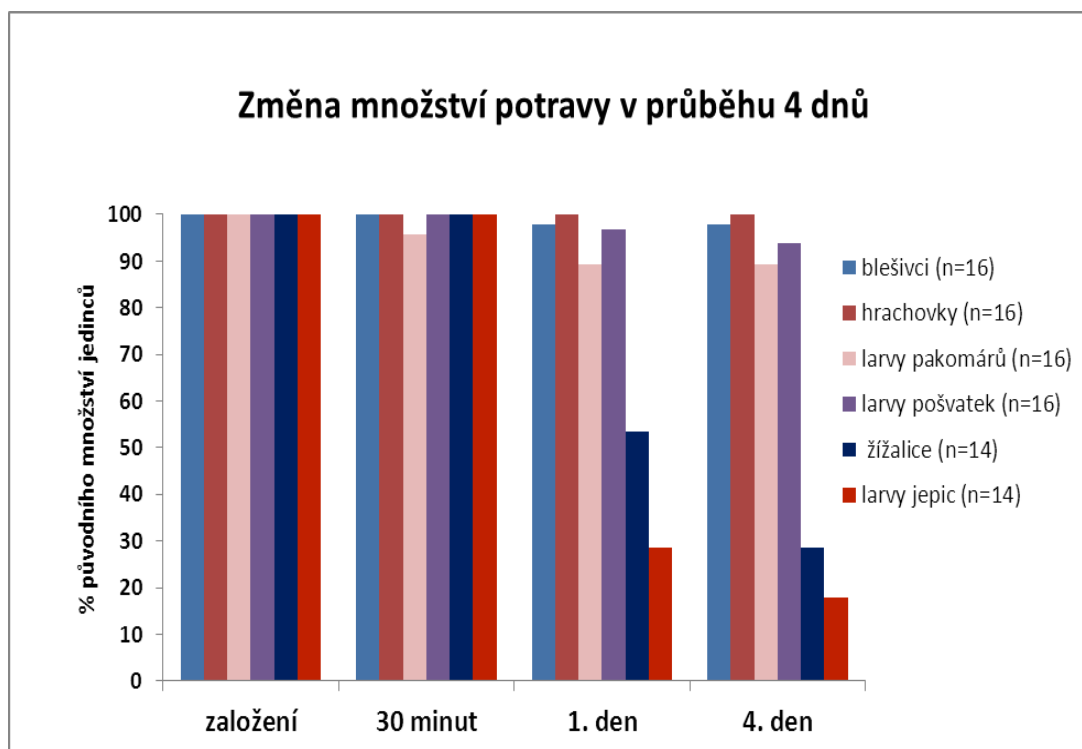
**Obrázek 7 Dendrogram vyjadřující podobnost ekologických nároků**

### 4.3 Potravně preferenční pokus

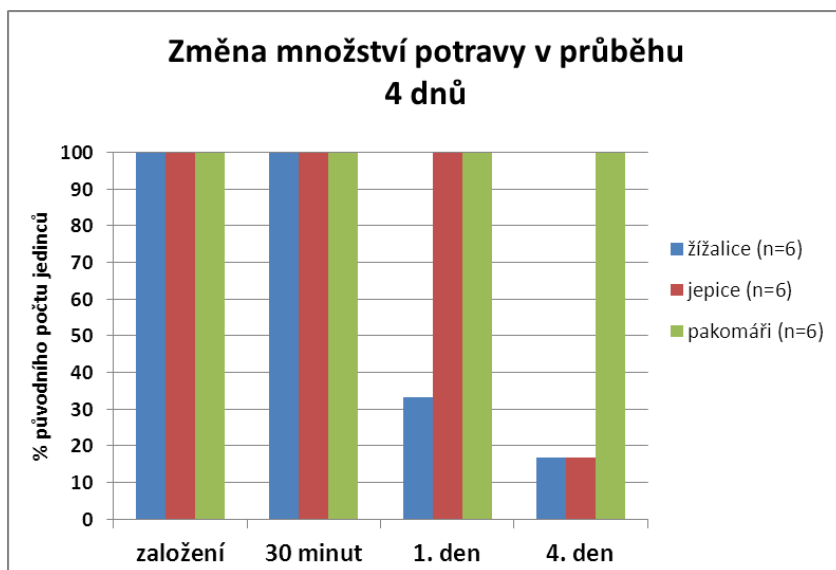
#### 4.3.1 Živá kořist

Výsledky pokusu v uspořádání 8 ploštěnek na 2/5 kořistí znázorňuje obrázek 8, primární data pak shrnují tabulky 8-11 v příloze. Výška sloupce vyjadřuje procenta původního množství potenciální kořisti. Z obrázku je na první pohled vidět, že nejvíce poklesl počet larev jepic a žížalic. Dále je patrné, že počet hrachovek, blešivců a larev pošvatek neklesl, respektive klesl zcela minimálně. Mírně poklesl počet larev pakomárů.

Experiment postavený jako 1 ploštěnka na 1 kořist shrnuje obrázek 9, data jsou prezentována v tabulkách 12-15 v příloze. Výška sloupce vyjadřuje procenta původního množství potenciální kořisti. Z grafu je zřejmé, že 4. den zůstalo nejméně larev jepic a žížalic. Počet larev pakomárů neklesl.



Obrázek 8 Graf: Vizualizace výsledků pokusu 8 ploštěnek na 2/5 kořistí



Obrázek 9 Graf: Vizualizace výsledků pokusu 1 ploštěnka na 1 kořist

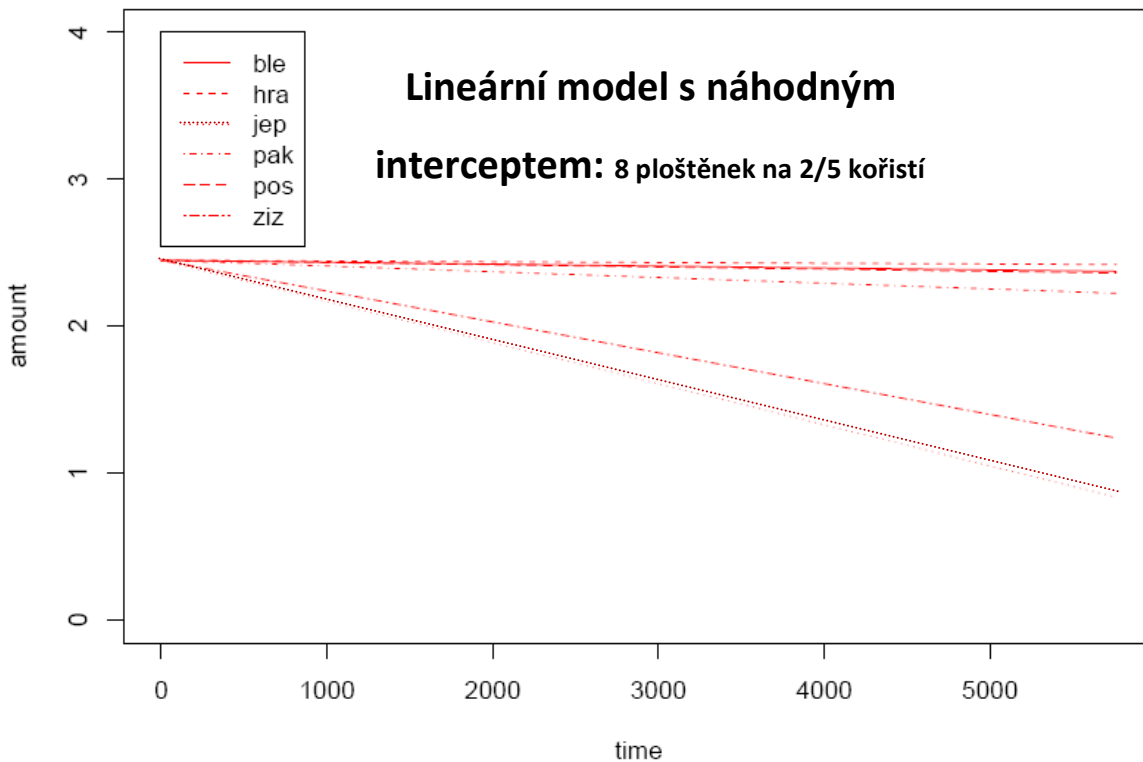
Analýzu výsledků tohoto pokusu jsme provedli pomocí nehierarchického lineárního modelu s náhodným interceptem. Jedná se tedy o model hledající přímku, kterou by mohl daty proložit. Intercept znamená počátek (místo, kde přímka protíná osu y), tento jsme volili náhodný, protože v pokusu bylo různé množství kořisti.

Obrázek 10 přináší výsledky uspořádání pokusu více ploštěnek na více kořisti. Je zde patrné, že významně poklesl v průběhu pokusu počet žížalic a larev jepic. Směrnice přímky modelující pokles počtu larev jepic je větší. Rozdíl v těchto dvou směrnících je signifikantní a zároveň se statisticky významně liší od ostatních přímek. Jiné typy potravy se signifikantně neliší.

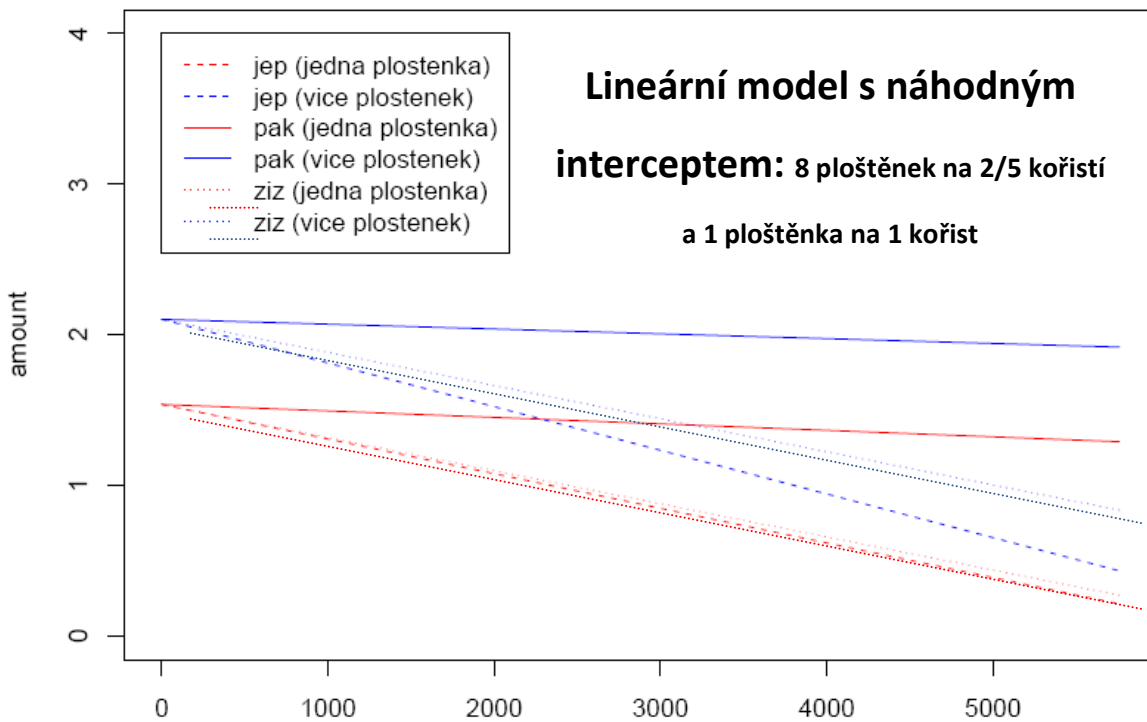
Vyhodnocení pokusu 1 ploštěnka na 1 kořist a jeho porovnání s pokusem více ploštěnek na více kořistí je patrné na obrázku 11. Pro tvorbu modelové křivky zde byla v případě pokusu více ploštěnek na více kořistí zahrnuta pouze data zahrnující žížalice, larvy jepic a larvy pakomárů, aby bylo možné porovnat tyto dva pokusy mezi sebou. Pro obě uspořádání platí signifikantní odlišnosti jednotlivých křivek a skutečnost že nejrychleji klesá počet larev jepic. Směrnice shrnující všechna data jsou dle modelu pro oba experimenty totožné.

Oba experimenty zahrnovaly kontrolu, která obsahovala příslušné živočichy bez přítomnosti ploštěnek. V obou případech byla potvrzena signifikantní odlišnost ve směrnících

celkových přímek za přítomnosti ploštěnek a bez nich. Pro experiment s 8 ploštěnkami v jedné nádobě je směrnice přímký 0,00021 za přítomnosti ploštěnek a 0,00016 bez nich. Pokles počtu kořisti je tedy celkově přibližně ze 76% způsoben vlivem ploštěnek. V případě pokusu pracujícího s jednou ploštěnkou je směrnice přímký modelující situaci s ploštěnkami 0,00022, zatímco bez ploštěnek má hodnotu 0,00013. Můžeme tedy říci, že ploštěnky jsou zde zodpovědné za 60% poklesu počtu kořisti.



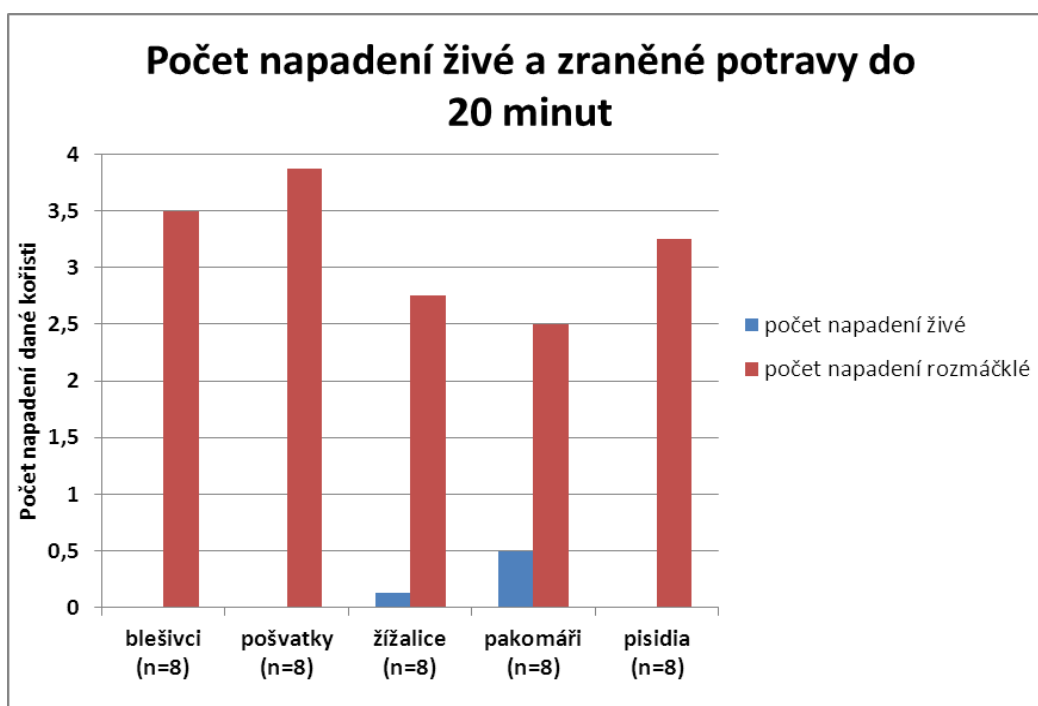
**Obrázek 10** Graf znázorňující výsledky modelu pro 8 ploštěnek a 2/5 kořistí (Jednotlivé přímky modelují pokles potravy během sledovaného času, osa y vyjadřuje množství živé kořisti, osa x odpovídá času v minutách. Směrnice přímek jsou: ble=0.000013, hra=0.000005, jep=0.00028, pak=0.000039, pos=0.000015, ziz=0.00021 – tato přímka odpovídá průměru shrnující všechna data.)



**Obrázek 11** Graf znázorňující výsledky modelů pro 8 ploštěnek a 2/5 kořistí (v modelu zahrnutý pouze kořisti jepice, žížalce a larvy pakomárů) a 1 ploštěnku s 1 kořistí (Jednotlivé přímky modelují pokles potravy během sledovaného času, osa y vyjadřuje množství živé kořisti, osa x odpovídá času v minutách. Směrnice přímek jsou: jep1=0.00023, pak1=0.000043, ziz1=0.00022 – tato přímka odpovídá průměru shrnující všechna data; jep8=0.00029, pak8=0.000032, ziz8=0.00022 – tato přímka odpovídá průměru shrnující všechna data.)

#### 4.3.2 Živá a poškozená kořist

Rozdíl mezi počtem napadení živé a zraněné kořisti naznačuje obrázek 12. Výška sloupce vyjadřuje průměr maximálního počtu ploštěnek napadajících kořist. Z grafu je patrné, že larvy pakomárů a žížalice ploštěnky napadaly i živé. Všechnu kořist ochotně napadaly poškozenou. Přičemž poškozené larvy pošvatek zaznamenaly nejvíce napadení, zatímco poškozené larvy pakomárů nejméně.



Obrázek 10 Graf: znázornění počtu napadení živé a poškozené kořisti

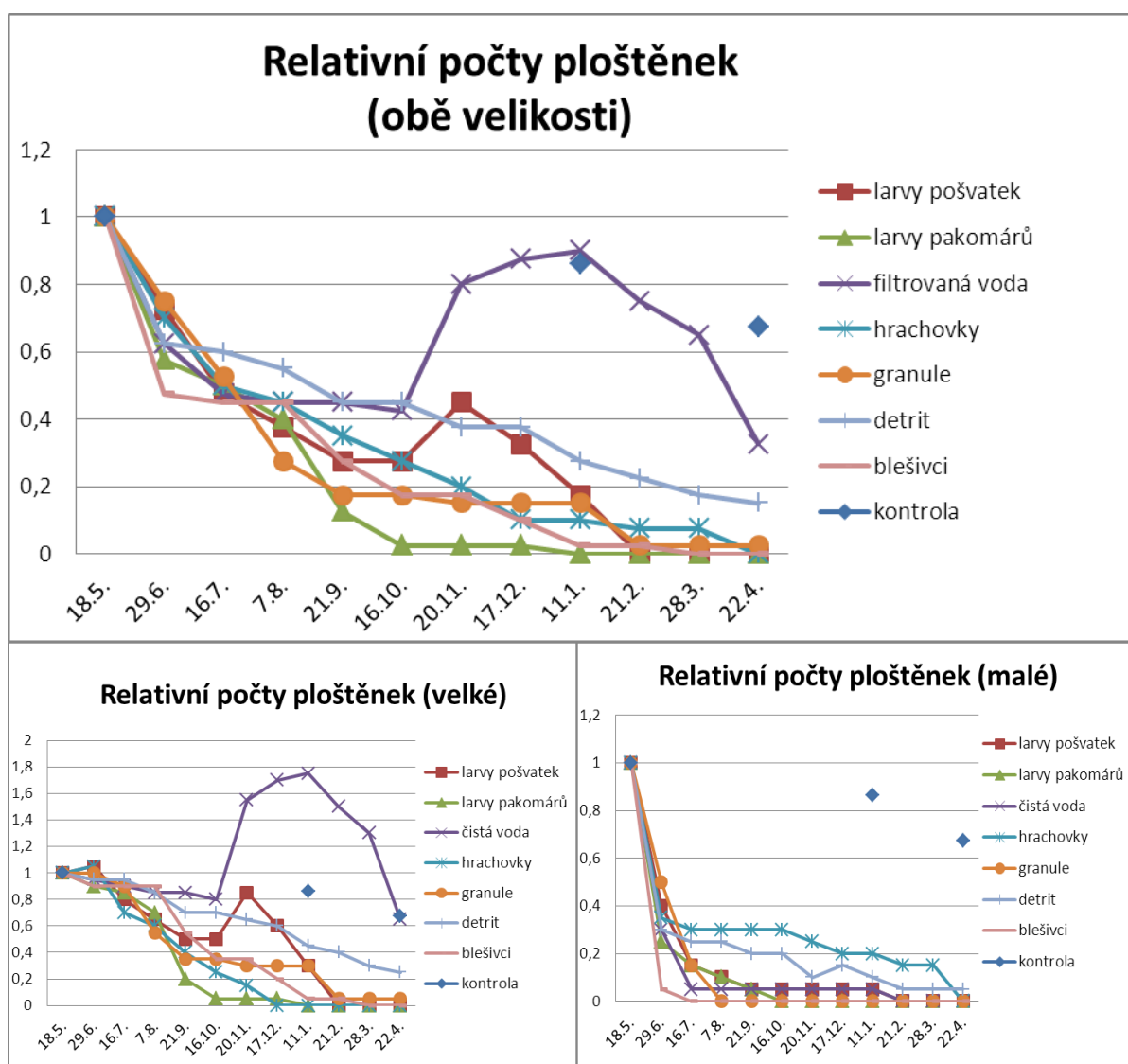
Pro analyzování výsledků tohoto pokusu jsme použili zobecněný lineární model (GLM), s logaritmickým linkem, určeným k modelování Poissonových počtů. Výsledky ukazují signifikantně větší počet napadení v případě rozmáčkělé potravy. Jednotlivé potraviny se ale do počtu napadení statisticky neliší.

Ve všech případech, kdy ploštěnky na kořist zaútočily, jsme pozorovali změnu jejich chování. Plazily se rychleji, zdvihaly před z podkladu a kývavě s ní pohybovaly. Rovněž bylo patrné, že kořist s větším množstvím tělních přívěsků se zamotává do sítí ze slizu (zejména larvy pošvatek), nicméně jejich částečná imobilizace nepodněcovala ploštěnky k účinnému chování. V případě, že jedna ploštěnka na kořist zaútočila, ostatní obvykle brzy následovaly (skupinové napadání je patrné z tabulky 21 v přílohách, počty napadajících ploštěnek jsou obvykle 3 nebo 4, vzácně jen 1). Je třeba podotknout, že množství ploštěnek během pokusu

nikdy nepokleslo, není tedy pravděpodobné, že by byly samy během pokusu napadány (ať již mezi sebou nebo ostatními taxonomickými skupinami).

#### 4.4 Pokus přežívání a vymírání

Vývoj počtu ploštěnek je patrný na obrázku 13. Grafy ukazují, že počet ploštěnek klesal u všech typů potravy, kromě čisté vody a pošvatek, kde v průběhu experimentu nejdříve klesal, poté dočasně vzrostl, načež opět klesal. V těchto skupinách nakladly ploštěnky kokony, viz dále. Průměrný počet ploštěnek dosáhl nulové hodnoty nejdřív v případě krmení larvami pakomárů, následovaly skupiny krmené blešivci, granulemi a larvami pošvatek. Ke konci pokusu přežily významnější počty ploštěnek pouze v paralelkách nijak nekrmených (s vyměňovaným detritem a vodou, s vyměňovanou filtrovanou vodou zcela bez částic a v kontrole se stále stejnou nevyměňovanou vodou).



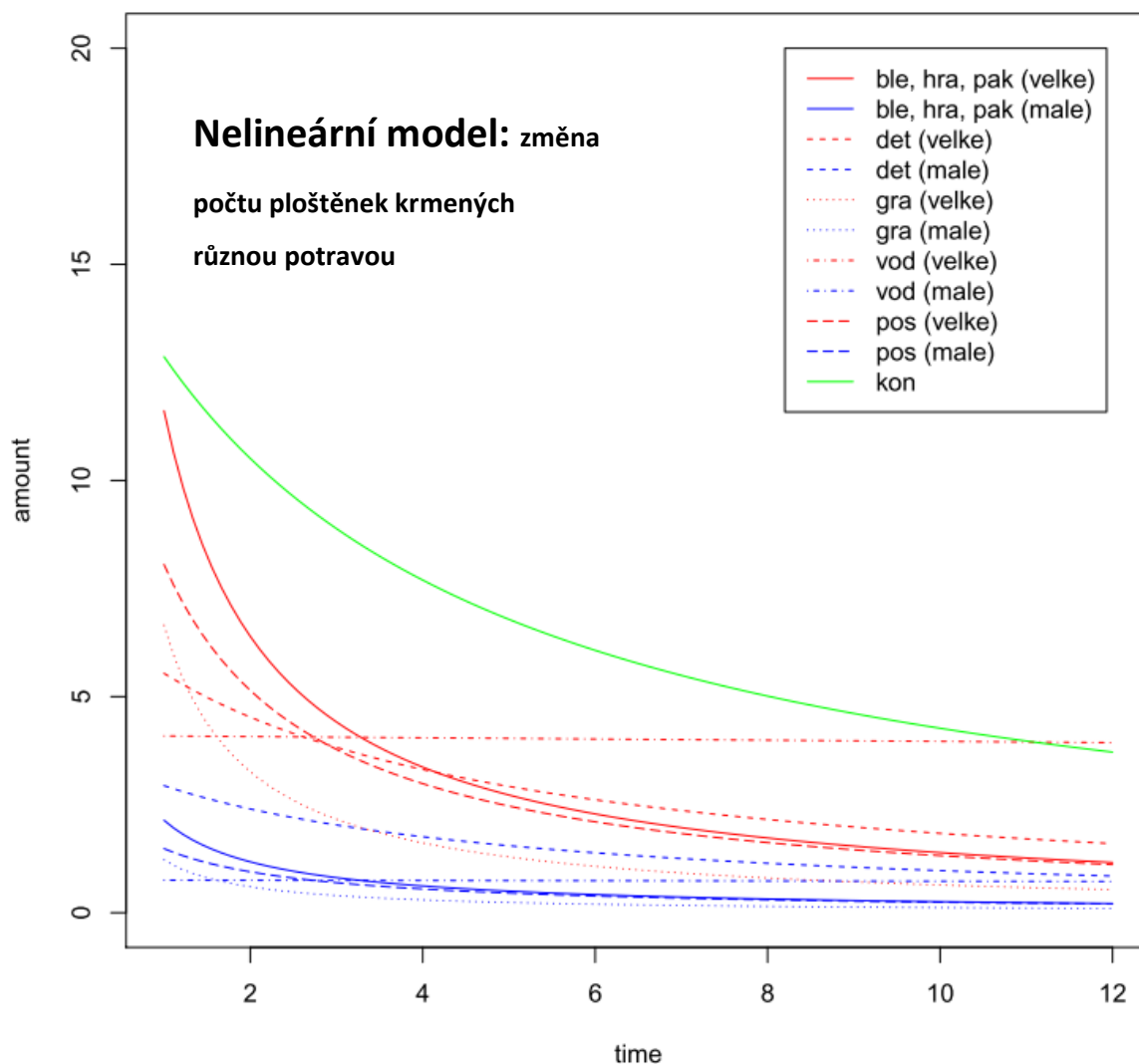
**Obrázek 11** Grafy ilustrující změnu relativního počtu ploštěnek v průběhu roku (Počty jsou vyjádřeny relativně, jako podíl daného průměrného počtu a průměrného počtu při založení. Průměr je tvořen z 8 (horní graf) respektive 4 (spodní grafy) opakování. Osa y je popsána daty, kdy byly zaznamenávány počty ploštěnek. Jednotlivé křivky odpovídají příslušnému typu potravy, viz legenda. Kontrola odpovídá skupině ploštěnek, kterým se ani neměnila voda, pro detail viz Metodika 3.3.1)



Z grafů demonstrujících zvláště počty velkých a malých ploštěnek (pro detail viz Metodika 3.3.1) je evidentní, že počet malých ploštěnek na počátku prudce klesl na velmi nízké hodnoty, zatímco velké ploštěnky ubývaly postupně. Pro malé ploštěnky neplatilo dlouhodobé úspěšné přežívání při výměně vody nebo výměně detritu. Malé ploštěnky se nikdy nerozmnožily. Naopak samostatně hodnocené velké ploštěnky s vyměňovaným detritem (není podle známých informací považován za potravu, pouze přinášel do systému opakovaně živiny i částice) umíraly po celou dobu pokusu přibližně stejnou rychlostí.

Tato data jsme analyzovali pomocí nelineárního modelu s náhodnými efekty. Na základě získaných dat jsme navrhli modelovat parametr Poissonového rozdělení jako funkci v tvaru  $1/x$ , jelikož svým průběhem nejlépe vystihuje naše data. Konkrétní průběh jsme následně modelovali pomocí dodatečných popisných veličin a s využitím modelovací strategie stepwise-forward procedury. Počet ploštěnek zde odpovídá Poissonovému rozdělení s parametrem  $\lambda$ . Modelovaný parametr  $\lambda$  vyjadřuje průměrný očekávaný počet ploštěnek za daných podmínek. Rovnice obecně odpovídá schématu  $\lambda = (\text{součet koeficientů pro dané podmínky} + \text{náhodný efekt}) / (A * \text{čas} + \text{součet koeficientu pro další podmínky})$ . Čím je číselník menší, tím rychleji funkce na počátku klesá a čím je větší, tím klesá pomaleji. Pro jmenovatel to platí obráceně.

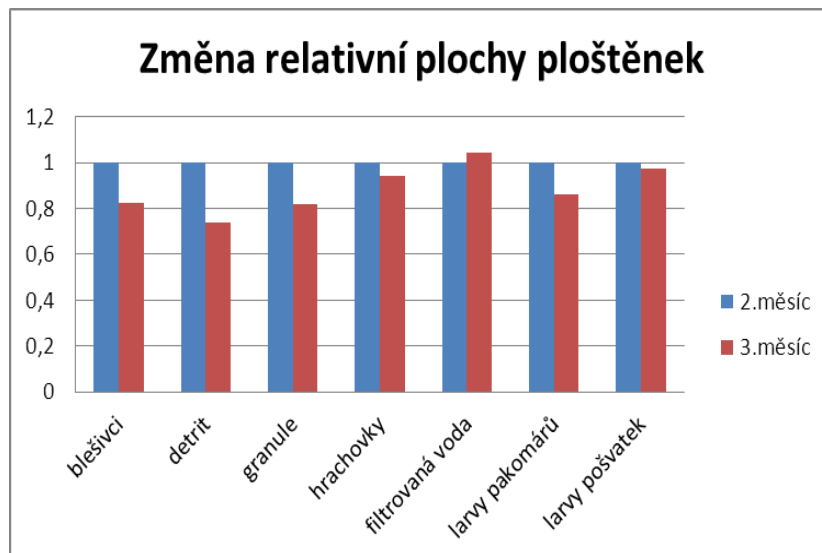
Model, který jsme zvolili, nejlépe odpovídá. Všechny podmínky (tedy zda byla potrava poskytnuta, jestli byl podán různý typ potravy a jednalo-li se o malé či velké ploštěnky) mají statisticky významný vliv na průběh křivky. Jednotlivé typy potravy se od sebe statisticky významně liší, pouze skupiny krmené blešivci, hrachovkami a larvami pakomárů nejeví signifikantní odlišnost. Ve srovnání dvou typů velikostí ploštěnek je průběh křivky strmější pro malé ploštěnky. Mezi jednotlivými typy potravy klesá nejrychleji křivka odpovídající ploštěnkám krmeným granulemi, celkově nejpomaleji klesá křivka znázorňující ploštěnky, za jejichž potravu jsme označili filtrovanou vodu. Sledujeme-li rozdíly mezi krmenými a nekrmenými ploštěnkami, klesá pomaleji křivka pro ploštěnky, které nebyly krmené (tedy jim nebyla ani měněna voda). Výše zmíněné je znázorněno na obrázku 14.



**Obrázek 12** Graf znázorňující výsledky modelu pro vývoj počtu ploštěnek krmených různou potravou (Jednotlivé křivky modelují změnu počtu ploštěnek krmených různou potravou během sledovaného času, osa y vyjadřuje množství živých ploštěnek, osa x odpovídá času v měsících, body v grafu znázorňují data. Model vychází z funkce  $\lambda = (c_0 + c_1 * ble + c_2 * det + c_3 * gra + c_4 * hra + c_5 * vod + c_6 * pak + c_7 * pos + c_8 * kon + off1 * velke + u) / (time + d1 * potrava + offset)$ ; „ble“ až „pos“ jsou typy potravy, „kon“ je kontrola nedostávající žádnou potenciální potravu, velké a male jsou dva typy ploštěnek, pro detail viz Metodika3.3.1 a Seznam zkratk.)

Změnu plochy ploštěnek během jednoho měsíce ilustruje obrázek 15. Při všech typech potravy kromě filtrované vody průměrná plocha jedné ploštěnky klesla. V případě ploštěnek, které nebyly krmeny žádnou potravou, pouze jim byla poskytnuta filtrovaná voda, průměrná plocha jedné ploštěnky na grafu vzrostla.

Významnost změny plochy ploštěnek mezi dvěma měsíci jsme počítali pomocí lineárního modelu s náhodným interceptem a náhodnou směrnici času. Směrnice přímkou modelující pokles pro všechny typy potravy je v průměru 0,32, ale neprokázali jsme odlišnost směrnic



**Obrázek 13 Graf vyjadřující relativní změnu plochy ploštěnek** (Počítáno jako podíl průměrné plochy jedné ploštěnky v daném měsíci a průměrné plochy jedné ploštěnky v druhém měsíci, zařazeny jen velké ploštěnky, tedy 4 opakování)

přímek pro ostatní typy potravy od této hodnoty. Celkově jsme neprokázali, že by se změna plochy u jednotlivých typů potravy lišila.

Během tohoto ročního pokusu jsme pozorovali několik zajímavých fenoménů. Jedním z nich byla situace, kdy ploštěnky opouštěly vodu v experimentálních nádobách a přelézaly do víček nádob, kde hynuly. Tento problém se minimalizoval na začátku 4. měsíce, kdy jsme jim poskytli úkryt (zpomalení poklesu počtu ploštěnek lze pozorovat i na grafech v obrázku 13). Dále v průběhu pokusu některé ploštěnky nakladly kokony. Toto se stalo ve dvou případech, kdy byla ploštěnkám poskytována pouze čistá voda (1 + 2 kokony) a jednou v případě krmení pošvatkami. Kokony zůstaly uzavřené během dvou kontrol, při třetí kontrole byly v nádobách přítomné bílé juvenilní ploštěnky. Z kokonů se vylíhlo průměrně 7 mláďat. Počet dospělých ploštěnek po naklazení kokonů neklesl.

## 5 Diskuze

### 5.1 Potravní nároky druhu *C. alpina*

Publikované potravní nároky druhu *C. alpina*, které vycházely z výsledků imunologických testů, prokázaly, že tento druh konzumuje blešivce (*Gammarus*), máloštětinatce (*Oligochaeta*), larvy pošvatek (*Plecoptera*), larvy pakomárů (*Chironomidae*) a larvy chrostíků (*Trichoptera*) (Lock and Reynoldson, 1976; Armitage and Young, 1990). V našem výzkumu byly tyto skupiny zařazeny, kromě larev chrostíků, kterých se v prameništi ani ve stružce nevyskytovalo dostatečné množství. Naopak jsme zahrnuli ještě hrachovky (*Pissidium*) v našich prameništích velmi běžné a také larvy jepic (*Ephemeroptera*) časté v následné stružce. Prokázali jsme, že *C. alpina* je schopna ulovit larvy jepic a máloštětinatce. Živé blešivce, larvy pošvatek, ani hrachovky ploštěnky vůbec nelovily. Výsledky v případě larev pakomárů byly rozporuplné. Počet larev pakomárů sice v některých experimentálních nádobách při 8 ploštěnkách na 2 nebo 5 kořistí za 4 dny viditelně poklesl, v jiných však nikoli, a proto celkově nebyla predace za 4 dny statisticky významná. V uspořádání 1 ploštěnka/1 kořist predace na larvách pakomárů nebyla za 4 dny vůbec zaznamenána. Při krátkodobém půlhodinovém testu s napadáním živé kořisti byly larvy pakomárů ploštěnkami atakovány.

Ze všech kořistí, které v našem pokusu ploštěnky ulovily, klesal nejrychleji počet larev jepic, dále počet žížalíc. Tento fenomén je pozoruhodný z toho důvodu, že larvy jepic nejsou v prameništi přítomné, vyskytují se až dále v říční síti. Nemůžeme tedy říci, že by tvořily hlavní potravu druhu *C. alpina*. Nicméně je možné, že jejich absence v prameništi s přítomností tohoto potenciálního predátora souvisí. Tělesná konstituce larev jepic je spíše křehká a na jejich těle jsou pozorovatelné široké mezery mezi články exoskeletu umožňující protržení kutikuly vychlípitelným hltanem. Na první pohled podobné stejně velké larvy pošvatek však ploštěnky vůbec neloví. Pravděpodobné vysvětlení je, že mají larvy pošvatek pevnější kutikulu, která ploštěnkám lépe odolá. Celkově robustní tělesná konstrukce je také méně náchylná k imobilizaci v slizových sítích.

O afinitě ploštěnek k máloštětinatcům hovoří i jiné práce např. Pickavance (1971) zdůvodňuje tuto skutečnost tím, že se jedná o zranitelnou kořist, která se nedovede mimo systém svých slizových trubiček účinně bránit. Larvy pakomárů by ovšem mohly být srovnatelně zranitelnou kořistí. Zde je ovšem nutné si uvědomit, že v přírodních podmínkách

žijí tyto larvy také v trubičce z vláken a detritu, která jim poskytuje účinnou ochranu proti ploštěnkám (De Silva, 1976). Je tedy možné, že ploštěnky je apriori nepovažují za svou kořist a útočí na ně spíš náhodou. Současně je pro interpretaci našich výsledků problematické, že larvy pakomárů pro pokusy tvořila vždy směs druhů a to jak z dravé skupiny Tanitarsini tak ze skupin primárně detritožravých druhů, které jsou morfologicky odlišné.

Jako jedna z potrav, kterou druh *C. alpina* vyhledává, jsou uváděni blešivci (*Gammarus*), (Lock and Reynoldson, 1976; Armitage and Young, 1990). Při potravně preferenčních pokusech jsme neprokázali, že by ploštěnky blešivce ulovily, prokázali jsme pouze, že poškozené blešivce napadají, stejně jako jinou poškozenou kořist. Blešivci i ploštěnka horská mají dle naší Clusterové analýzy v měřítku jednotlivých prameništ' podobné ekologické nároky a z výsledků a Kappa koeficientu vyplývá jejich podobný výskyt v jednom prameništi. Můžeme tedy předpokládat, že zranění nebo mrtví blešivci opravdu mohou tvořit významnou složku potravy ploštěnek. Významný však je i kanibalismus ostatních blešivců, který může potenciální potravu pro ploštěnky velmi rychle eliminovat. Dále zůstává otázka, do jaké míry se v rámci svých mikrohabitátů setkávají, protože při detailním mapování prameniště jsme pozorovali spíše jejich antagonistický výskyt (je patrný i na výsledcích PCA). Pro potvrzení této skutečnosti by bylo potřeba provést více pozorování.

Zajímavý je také pohled na data o výskytu potravních a „nepotravních“ druhů v mikrostanovištích jediného prameniště. Mikrohabitáty s vysokým zastoupením žížalic byly obvykle zcela bez ploštěnek. Malý rozsah dat však neumožňuje tento fenomén podrobněji hodnotit. Pouze PCA analýza naznačuje tendenci k společnému výskytu ploštěnek a larev pakomárů, nicméně zde je stále problém s malým rozsahem dat.

Clusterový dendrogram ze 77 prameništ' ukazuje, že podobné nároky na abiotické faktory mají druhy, které ploštěnka horská zřejmě neloví (blešivec, dva druhy hrachovek a dva druhy larev pošvatek). Jinak řečeno, v přítomnosti ploštěnek se ve větších počtech vyskytují druhy odolné jejich predaci. To otvírá níže diskutovanou otázku, zda se ploštěnky v prameništích skutečně mohou živit živými žížalicemi a larvami jepic eventuelně pakomárů, které dokázaly v uměle zjednodušených laboratorních podmínkách provedeného experimentu lovit.

Experiment ověřující afinitu ploštěnek k poškozené kořisti jednoznačně potvrdil, že ploštěnky mají větší zájem o zraněnou kořist, což je v souladu s literaturou (Sekera, 1913; Jennings, 1957; Reynoldson and Young, 1963; Calow et al. 1981). Zatímco nezraněná kořist byla napadána pouze ve dvou případech (žížalice a larvy pakomárů), v případě zraněné kořisti atakovaly ploštěnky všechny nabídnuté skupiny, včetně těch, které v našich experimentech nikdy neulovaly: žížalice, larvy pakomárů, blešivce, larvy pošvatek, hrachovky. Tento rozdíl jsme statisticky prokázali.

## 5.2 Způsob lovu u ploštěnek *C. alpina*

Ploštěnky jsou považované za predátory lovcí ve skupině (Pickavance, 1971; Reynoldson, 1983). Porovnáme-li výsledky našich modelů pro více ploštěnek a jednu ploštěnku, vidíme, že počet kořisti klesá v obou případech stejně rychle. Znamená to tedy, že pokud na kořist zaútočila jedna ploštěnka, ostatní se přidaly a útočily na tutéž kořist. Souhlasíme tedy s tím, že *C. alpina* stejně jako jiné ploštěnky loví ve skupině a o kořist se dělí (Pickavance, 1971; Reynoldson, 1983).

Sliz je pro ploštěnky významný nástroj, mimo jiné i k lovu kořisti – tvoří z něj sítě, do kterých se může kořist zachytit a dalším slizem ji mohou imobilizovat (Jennings, 1957; Pickavance, 1971; Adams, 1980). Tvorbu slizových sítí jsme také pozorovali. Nicméně ačkoliv byly zejména larvy pošvatek v síti velmi imobilizované, nejevily o ně ploštěnky žádný zájem. Nelze tedy říci, že by ploštěnky konzumovaly, cokoliv, co se jim do sítě zachytí. V případě larev pakomárů bylo patrné, že je během pokusů o ulovení ploštěnky slizem obalovaly. Obecně je nutno podotknout, že ploštěnky, které se nechají týden v experimentálních nádobách, se svým prostorem skutečně pracují a předpokládáme, že mají větší pravděpodobnost k ulovení kořisti, než když jsou do nádob umístěny až spolu s ní (jako například v případě práce Adams, 1980).

## 5.3 Vhodnost metod výzkumu potravní ekologie ploštěnek

Pro výzkum potravních preferencí ploštěnek existuje mnoho různých cest, přičemž každá má svá omezení. Experimentální uspořádání, které jsme zvolili, je jednoduché a je schopno odpovědět na základní otázku zda ploštěnky skutečně loví živou kořist. Nicméně chování ploštěnek může být ovlivněno laboratorními podmínkami a výběr nabízené potravy významně souvisí s dostupným množstvím těchto živočichů v prameništi.

Jako velice nosné se jeví experimenty, které ploštěnkám neposkytují celou kořist, ale pouze kapku jejích tělních tekutin (Bellamy and Reynoldson, 1974; Adams, 1980). Není zde nutný takový počet jedinců (pokud se jedná o velkého živočicha, může posloužit pro víc opakování) a chování ploštěnek v případě kořisti, o kterou mají zájem je jiné. Jak jsme pozorovali, když ploštěnky zaznamenají rozmáčknutou kořist (experiment s poškozenou kořistí) pohybují se rychleji a kývají přídí. Je ovšem otázka, zda v případě, že je kořist již poškozená, mají ploštěnky k některé větší afinitu. Výše zmínění autoři to předpokládají, z našich pokusů to však nevyplývá.

#### 5.4 Dlouhodobé přežívání: zmenšování a vymírání

V našem dlouhodobém pokusu sledujícím přežívání druhu *C. alpina* při krmení různou potravou se počet ploštěnek se v průběhu času zmenšoval, na rozdíl od práce, která nám byla inspirací (Dahm, 1958). Tento pokles byl signifikantně větší v případě menších ploštěnek. Pouze ve třech případech se velké ploštěnky rozmnožily: jednou se jednalo o skupinu krmenou pošvatkami a dvakrát o skupinu, která dostávala pouze filtrovanou vodu. Stejně tak se rozmnožily i některé ploštěnky v dvojité kontrole (bez krmení i bez čištění, počítání a focení). Je tedy pravděpodobné, že ploštěnkám obecně experimentální podmínky nevyhovovaly.

Jeden z důvodů postupného úhynu ploštěnek může být, že za měsíc se v lahvičkách příliš nahromadily odpadní látky metabolismu. Z analýzy změny plochy je ale průkazné, že plocha ploštěnek klesala, nelze tedy předpokládat, že by přijímaly potravu, rostly a jejich metabolismus byl vysoký. Zároveň ploštěnky, které dostávaly pouze filtrovanou vodu, ubývaly prokazatelně nejpomaleji, čili nemůže být problém v metabolismu samotných ploštěnek. Rovněž v kontrole, kde se za celý rok ani jednou nevyměnila voda, ploštěnky přežívaly relativně lépe.

Nelze vyloučit ani vliv infekce na tento pokus – literatura zmiňuje zejména nálevníka *Tetrahymena* sp. (Reynoldson, 1983; Reynoldson, 2000). Tuto možnost podporuje fakt, že v kontrole, se kterou nebylo vůbec manipulováno, probíhal pokles počtu pomaleji. Na druhou stranu infekce by měla vyhubit naráz všechny ploštěnky v experimentální nádobě a neměla by působit tedy takto postupně.

Během tohoto pokusu byly významné ztráty způsobeny tím, že se ploštěnky ukrývaly do neprůhledných víček nádob, kde nad hladinou hynuly, přičemž tento fenomén se po přidání úkrytu minimalizoval. Úkryt jsme do nádob na začátku pokusu nedali, protože jsme se obávali zvýšeného znečištění systému, který by mohl i ovlivnit výsledky experimentu. Nicméně toto riziko bylo ve srovnání s následným reálným úbytkem ploštěnek zanedbatelné. O tendenci ploštěnek vyhledávat úkryty s minimem světla hovoří i práce Reynierse et al. (1969). Druhou možností je, že ploštěnkám ani tak nechyběl úkryt, jako nevyhovovalo denní světlo. Čili druhým možným řešením by bylo uchovávat ploštěnky v chladicím boxu bez přístupu světla, podobně jako např. Calow (1981).

Fenomén rychlejšího úbytku menších ploštěnek neodpovídá naším předpokladům. Očekávali jsme, že menší ploštěnky jsou mladší a tedy budou dále růst a zvětšovat se, zatímco velké ploštěnky, které byly i pohlavně dospělé, se budou rozmnožovat a eventuálně vymírat vzhledem ke svému věku. Některé skupiny velkých ploštěnek se skutečně rozmnožily (viz dál), malé ploštěnky však pouze rychle vymíraly. Předpokládáme, že vzhledem ke své menší velikosti, hůře odolávaly nevhodným podmínkám našeho experimentu. Tedy zatímco strádající velké ploštěnky měly možnost zmenšovat se, strádající malé ploštěnky tuto možnost neměly. Rovněž počet nových ploštěnek vylíhlých z kokonů se v průběhu dalšího času postupně zmenšoval. Pouze tři případy pohlavního rozmnožení by lze vysvětlit kromě obecně nevyhovujících podmínek také předpokladem, že v přirozeném prostředí předchází rozmnožování nějaký impuls, například změna teploty vody.

Pro chov druhu *C. alpina* v laboratorních podmínkách můžeme tedy zobecnit toto: je možné udržet druh *C. alpina* až rok v chovu v chladicím boxu, velikost nádobek by měla být minimálně 50ml na 5 jedinců, ale pro pufrování negativních vlivů znečištění by byla ideální větší velikost, je nutné přidat úkryty, vodu je vhodné alespoň jednou za měsíc vyměnit. Vyhovující potravu jsme na základě našich dat nebyli schopni určit, ale můžeme říci, že ploštěnky poměrně úspěšně přežívají i pokud jim je poskytována pouze filtrovaná prameništěná voda.

O pohlavním rozmnožování druhu *C. alpina* se uvádí, že vývoj mláďat v kokonu trvá 10 týdnů (Gourbault, 1972), mladí jedinci jsou světlí až bílí (Thienemann, 1938; Dahm, 1958). Toto je v souladu s naším pozorováním (celkově jsme našli 4 kokony, průměrný počet



nalezených vyhlíhlých mlád'at bylo 7). Co se týče počtu mlád'at v kokonu, dle Bayera (1897) mají vyhladovělé ploštěnky okolo 7 mlád'at. Můžeme tedy potvrdit, že naše ploštěnky nebyly dostatečně krmené.

Dlouhodobý pokus ukázal, že *C. alpina* je iteroparní druh, což souhlasí s literaturou (Dahm, 1958). Iteroparní živočichové po zplození potomstva nehynou, na rozdíl od semelparních. Tato problematika je dávana do souvislosti i s dalšími fenomény. Calow et al. (1981) tvrdí, že iteroparní ploštěnky nemají tendenci kořist aktivně lovit, ale spíše čekat na zraněné jedince, stejně tak na zraněnou kořist čekají spíše malé druhy ploštěnek. Naše pokusy potvrzují, že *C. alpina* významně upřednostňuje zraněnou kořist. V práci Calow et al. (1981) se dále předpokládá, že mlád'ata iteroparních druhů lépe snáší hladovění, o čemž vzhledem k rychlejšímu vymírání malých ploštěnek pochybujeme. Je ovšem otázka, zda náš dlouhodobý pokus je průkazný. Semelparní druhy by měly obecně preferovat studenější vodu, než iteroparní – druh *C. alpina* je zřejmě výjimka, vzhledem k tomu, že typicky obývá studená prameniště (Bayer, 1897; Dahm, 1958; Gourbault, 1972; Pattée et al., 1973; Reynoldson, 1981). Na druhou stranu jsou prameniště spíše stenotermní, než studená (teplota v zimě je výrazně vyšší než jinde v říční síti a pravděpodobně umožňuje celoroční aktivitu druhu v těsné blízkosti vývěru). Návaznost semelparie a iteroparie na další ekologické fenomény je tedy dle našich pozorování pro druh *C. alpina* nejistý.

## **5.5 Ekologické konsekvence lokálně vysoké koncentrace ploštěnek druhu *C. alpina* v okolí vývěru**

Zvýšenou koncentraci ploštěnek druhu *C. alpina* v blízkosti vývěru uvádí několik prací (Wright, 1974; Durance and Ormerod, 2010). Zmínění autoři dokonce předpokládají existenci podzemní populace druhu *C. alpina*, což ovšem práce o podzemních druzích ploštěnek nepotvrzuje (Gourbault, 1972). Výsledky našeho mapování prameniště Pod javorem ukazují, že druh *C. alpina* může mít k vývěru velkou afinitu, v místě vývěru dokonce tvoří co do počtu asi 70% jedinců. K prokázání tohoto tvrzení je ovšem třeba více pozorování a zároveň z této informace nemůžeme usuzovat na existenci podzemní populace. Otázka, zda tvoří druh *C. alpina* i podzemní populaci, eventuálně není-li schopna se touto cestou dokonce šířit i mezi prameništi, zůstává zatím nezodpovězena.

Podobně jako Reynoldson (1983), jsme zaznamenali, že na některých místech je velmi vysoká koncentrace ploštěnek. Shodujeme se v názoru, že jejich vliv na populaci jejich potenciální kořisti nemůže být zanedbatelný (Reynoldson, 1983). Nicméně nabízí se spíše otázka, zda má tolik ploštěnek k dispozici opravdu dostatek kořisti.

V úvahu přichází hypotéza, že by ploštěnky mohly být schopné přijímat i zcela jiný typ potravy než jsou vychlípitelným hltanem vysávaná těla makroskopických živočichů, jak je tradičně uváděno. Tento způsob získávání potravy by mohl být jen doplňkové a občasné využití energeticky bohatého zdroje. Analogicky k některým skupinám měkkýšů a některým druhům blešivců (Simon et al., 2003), by tento alternativní potravní zdroj mohl tvořit biofilm. Vzhledem k tomu, že jejich epidermis je schopna přijímat živiny (Baguñà et Riutort, 2004), mohli bychom zde dále hledat i paralelu například se schopností některých měkkýšů nebo členovců přijímat z vody rozpuštěné organické látky povrchem těla (Simon et al., 2003; Baines et al., 2005; Baines et al., 2007). Tuto možnost naznačují i výsledky dlouhodobého pokusu, který jsme realizovali, kde nejlépe přežívaly a dokonce se i rozmnožily ty ploštěnky, které dostávaly pouze filtrovanou čistou vodu z prameniště.

## 5.6 Ploštěnky jako potrava

Jako predátory druhu *C. alpina*, zmiňuje literatura larvy chrostíků rodu *Rhyacophila* a larvy pošvatek druhů *Dinocras cephalotes*, *Perlodes microcephala*, *Isoperla grammatica* (Wright, 1975; Armitage and Young, 1991), žádný z těchto druhů nebyl v pracích věnovaných námi studované lokalitě zaznamenán (Kubíková et al., 2011; Kubíková et al., 2012). Někteří autoři (Wright, 1975; Young and Reynoldson, 1965; Roca et al., 1992) dávají do souvislosti vysoké počty ploštěnek v prameništi s absencí jejich predátora. Tato skutečnost koresponduje i s naším pozorováním, ovšem za předpokladu, že zde není v roli predátora ploštěnek nějaký jiný druh. Nicméně i eventuelní absence predátora nemůže vysvětlit, jak se může tak velký počet ploštěnek uživit. Obecně je predace ploštěnek velmi nízká (Davies, 1969; Roca et al., 1992), uvádí se že rhabdidy zřejmě obsahují nějaké účinné obranné chemické látky (Reynoldson, 1983). Má osobní zkušenost je ta, že ploštěnka je relativně ke své velikosti velice intenzivně hořká až trpká a tato pachutí spolu s pocitem umrtveného jazyka vydrží v ústech ještě asi hodinu.

## 5.7 Typ prameniště preferovaný ploštěnkou *C. alpina*

Faktorová analýza naznačila, že s největší pravděpodobností se druh *C. alpina* v rámci našich dat vyskytuje v prameništi typu helokren. Ostatní autoři hovoří výhradně o prameništích typu rheokren (např. Dahm, 1958; Wright, 1974, Lock, 1975) a dokonce zmiňují schopnost druhu *C. alpina* udržet se v proudící vodě lépe než ostatní druhy ploštěnek (Lock, 1975). Tato práce tedy poprvé přináší informaci o výskytu druhu *C. alpina* v prameništi typu helokren. Lze tedy předpokládat, že ani rychle proudící voda, ani vysoká saturace kyslíkem (Wright, 1975) není pro druh *C. alpina* nezbytně nutná. Během přípravy našich laboratorních pokusů jsme v souladu s pozorováním Bayera (1897) dokonce zaznamenali situace, kdy ploštěnky přežily i v málo aerobním prostředí, které bylo například pro blešivce letální. Analogicky s prací Roca et al. (1992) jsme zjistili, že konduktivita ani pH nemají na výskyt ploštěnek horských v námi studovaném rozsahu (pH průměr 6,0 SD 0,4 min. 4,7 max. 7,1; CON analogicky 61.6 - SD 30.4 min 7.2 max. 163.0 (Kubíková et al., 2012)) asi významný vliv.

## 6 Závěr

- Ploštěnka horská (*C. alpina*) se běžně vyskytuje v prameništi typu helokren, její počet převládá v okolí vývěru, kde může tvořit až 70% jedinců, navzdory tomu, že se zde vyskytuje velmi málo její potenciální kořisti.
- Ploštěnka horská (*C. alpina*) má nejpodobnější nároky na abiotické faktory i výskyt s blešivcem (*Gammarus* sp.).
- Ploštěnka horská (*C. alpina*) loví živou kořist ve skupině, je prokazatelně schopna ulovit pouze živé žížalice (Lumbriculidae) a larvy jepic (Ephemeroptera), zřejmě uloví i larvy pakomárů (Chironomidae).
- Ploštěnka horská (*C. alpina*) vyhledává obecně víc kořist poškozenou, než živou, v rámci poškozené kořisti jsme nepotvrdili žádné preference.
- Ploštěnka horská (*C. alpina*) je schopna dlouhodobě přežívat a dokonce se i rozmnožit bez předpokládané potravy, pouze ve filtrované vodě.
- Ploštěnku horskou (*C. alpina*) je možné udržet v laboratoři v chladicím boxu minimálně v uspořádání 5 jedinců v 50ml nádobě až rok bez krmení.
- Další výzkum věnovaný ploštěnce horské (*C. alpina*) by se měl zaměřit na prověření její schopnosti přijímat živiny ze zdrojů jako je biofilm a rozpuštěné organické částice, také problematika její přítomnosti v podzemních vodách není ještě zcela vyřešena.

## 7 Použitá literatura

(sekundární citace jsou označeny hvězdičkou)

1. ADAMS, J. 1980. The feeding behaviour of *Bdellocephala punctata*, a freshwater triclad. *Oikos* 35:2-7.
2. Armitage, M. J., and J. O. Young. 1990. The realized food niches of three species of stream-dwelling triclads (*Turbellaria*). *Freshwat. Biol.* 24:93-100.
3. Armitage, M. J., and J. O. Young. 1991. Predators and planariid competitors of the triclad *Phagocata vitta*. *Freshwat. Biol.* 24:93-100.
4. Álvarez-Presas, M., J. Baguñà, and M. Riutort. 2008. Molecular phylogeny of land and freshwater planarians (Tricladida, Platyhelminthes): From freshwater to land and back. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 47:555-568.
5. Baguñà, J., S. Carranza, J. Paps, I. Ruiz-Trillo, and M. Riutort. 2001. Molecular taxonomy and phylogeny of Tricladida. pp. 49-56. in: D. T. J. Littlewood, R. D. Ray (Eds.), *The Interrelationships of the Platyhelminthes*, Taylor & Francis, pp. 49-56.
6. Baguñà, J., and M. Riutort. 2004. Molecular phylogeny of the Platyhelminthes. *Can. J. Zool.* 82:168-193.
7. Baines, S. B., N. S. Fisher, and J. J. Cole. 2005. Uptake of dissolved organic matter (DOM) and its importance to metabolic requirements of the zebra mussel, *Dreissena polymorpha*. *Limnology and Oceanography* 50:36-47.
8. Baines, S. B., N. S. Fisher, and J. J. Cole. 2007. Dissolved organic matter and persistence of the invasive zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) under low food conditions. *Limnology and Oceanography* 52:70-78.
9. Ball, I.R., N. Gurbault, and R. Kenk. 1981. *The Planarians (Turbellaria) of temporary waters in Eastern North America*. Royal Ontario Museum.
10. Barquín, J., and M. Scarsbrook. 2008. Management and conservation strategies for coldwater springs. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 18:580-591.
11. Bayer, E. 1897. Zbytky glaciální fauny v našich potocích a příspěvek k biologii ploštěnek. *Živa* 7:263-268.
12. Bellamy, L. S., and T. B. Reynoldson. 1974. Behaviour in competition for food amongst lake-dwelling triclads. *Oikos* 25:356-364.

13. Beveridge, M. 1982. Taxonomy, environment and reproduction in freshwater triclads (Turbellarie; Tricladida). *International journal of invertebrate reproduction* 5:107-113.
14. Bojková, J., J. Schenková, M. Horsák, and M. Hájek. 2011. Species richness and composition patterns of clitellate (Annelida) assemblages in the treeless spring fens: the effect of water chemistry and substrate. *Hydrobiologia* 667:159-171.
15. Brändle, M., R. Heuser, A. Marten, and R. Brandl. 2007. Population structure of the freshwater flatworm *Crenobia alpina* (Dana): old lineages and low gene flow. *Journal of Biogeography* 34:1183-1192.
16. Bronsted, H. V. 1969. *Planarian regeneration*. Pergamon Press, Oxford.
17. Buchar, J., V. Ducháč, K. Hůrka, and J. Lellák. 1995. *Klíč k určování bezobratlých*. Scientia, Praha.
18. Calow, P. 1977. The Joint Effect of Temperature and Starvation on the Metabolism of Triclads. *Oikos* 29:87-92.
19. \*Calow, P. 1979. *Life cycles*. Chapman Hall, London. Sec. cit. fom: Calow, P., A.F. Davidson, and A.S. Woollhead. 1981. Lifecycle and feeding strategies of freshwater triclads: a synthesis. *J. Zool.* 193:215-237.
20. Calow, P., A. F. Davidson, and A. S. Woollhead. 1981. Lifecycle and feeding strategies of freshwater triclads: a synthesis. *J. Zool.* 193:215-237.
21. Cantonati, M., R. Gerecke, and E. Bertuzzi. 2006. Springs of the Alps - Sensitive Ecosystems to Environmental Change: From Biodiversity Assessments to Long-term Studies. *Hydrobiologia* 562:59-96.
22. Carranza, S., J. Baguñà, and M. Riutort. 1997. Are the Platyhelminthes a Monophyletic Primitive Group? An Assessment Using 18S rDNA Sequences. *Mol. Biol. Evol.* 14:485-497.
23. Carranza, S., D. T. J. Littlewood, K. A. Clough, I. Ruiz, J. Baguñà, and M. Riutort. 1998. A robust molecular phylogeny of the Tricladida (Platyhelminthes, Seriata) and a reassessment of morphological synapomorphies. *Proc. R. Soc. Lond.* 265:631-640.
24. Cash, K. J., F. J. Wrona, and G. J. Scrimgeour. 1995. The effects of group size on per capita ingestion in flatworms. *Freshwater Biology* 34:477-483.
25. Chertoprud, M. V. 2006. Spring macrobenthos communities of the Moscow province. *Zhurnal Obshchei Biologii* 67:383-384.

26. Dahm, A. G. 1958. Taxonomy and ecology of five species groups in the family Planariidae.(Turbellaria, Tricladida, Paludicola). Malmö.
27. Davies, R. W. 1969. Predation as a Factor in the Ecology of Triclads in a Small Weedy Pond. *Journal of Animal Ecology* 38:577-584.
28. De Silva, P. K. 1976. The factors affecting the feeding of *Dendrocoelum lacteum* (Müller) (Turbellaria, Tricladida) on *Asellus aquaticus* (L.) (Crustacea, Izopoda). *Arch. Hydrobiol.* 77:347-374.
29. di Sabatino, A., B. Cicolani, and R. Gerecke. 2003. Biodiversity and distribution of water mites (Acari, Hydrachnidia) in spring habitats. *Freshwater Biology* 48:2163-2173.
30. Durance, I., and S. J. Ormerod. 2010. Evidence for the role of climate in the local extinction of a cool-water triclad. *Journal of the North American Benthological Society* 29:1367-1378.
31. \*Ehlers, U. 1985. *Das Phylogenetische System der Platyhelminthes*. Gustav Fischer, Stuttgart. Sec. cit. from Baguñà, J., and M. Riutort. 2004. Molecular phylogeny of the Platyhelminthes. *Can. J. Zool.* 82:168-193.
32. Finn, D. S., N. Bonada, C. Múrria, and J. M. Hughes. 2011. Small but mighty: headwaters are vital to stream network biodiversity at two levels of organization. *Journal of the North American Benthological Society* 30:963-980.
33. Flössner, D. 1962. Zur Ökologie der Bergbachtrikladen im Erzgebirge. *Limnologica* 1:35-44.
34. Gathmann, F. O., L. L. Manne, and D. D. Williams. 2009. Spatial patterns in insect community composition in coldwater springs. *Aquatic Ecology* 43:501-512.
35. Gerecke, R., M. Cantonati, D. Spitale, E. Stur, and S. Wiedenbrug. 2011. The challenges of long-term ecological research in springs in the northern and southern Alps: indicator groups, habitat diversity, and medium-term change. pp. 168-187. in: M.Cantonati, R.Gerecke, I.Jüttner, E.J.Cox (Eds.), *Springs—neglected key habitats for biodiversity conservation*, *Journal of Limnology* (Supplement 1) 70, *Journal of Limnology* (Supplement 1) 70, pp. 168-187.
36. Giribet, G., D. L. Distel, M. Polz, W. Sterrer, and W. C. Wheeler. 2000. Triploblastic Relationships with Emphasis on the Acoelomates and the Position of Gnathostomulida, Cycliophora, Platyhelminthes, and Chaetognatha: A combined Approach of 18S rDNA Sequences and Morphology. *Systematic Biology* 49:539-562.
37. Goubault, N. 1972. *Recherches sur les Triclades paludicoles hypogés*. Mémoires du Museum National d'Histoire Naturelle, Paris.

38. Hahn, H. J. 2000. Studies on classifying of undisturbed springs in Southwestern Germany by macrobenthic communities. *Limnologica* 30:247-259.
39. Hahn, J. 1924. Anatomie očí našich Triclad (*P. gonocephala*, *vitta*). Spisy přírodovědecké fakulty Karlovy university v Praze .
40. Hart, D. D., and R. A. Merz. 1998. Predator-prey interactions in a benthic stream community:a Field test of Fow-mediated refuges. *Oecologia* 114:263-273.
41. Hrabě, S., E. Bartoš, B. Fott, Z. Frankenberger, O. Havlík, A. Jančařík, O. Jírovec, K. Kostroň, R. Šrámek-Hušek, K. Vondráček, and J. Weiser. 1954. Klíč k určování zvířeny ČSR, díl I. Nakladatelství Československé Akademie věd, Praha.
42. Jennings, J. B. 1957. Studies on feeding, digestion and food storage in free living flatworms. *Biol. Bull.* 112:63-80.
43. Jennings, J. B. 1962. Further studies on feeding and digestion in triclad Turbellaria. *Biol. Bull.* 123:571-581.
44. Kalvová, M. and Poláčková, T. Ploštěnky na území Prahy a jejich ekologické nároky. 2008. Unpublished Work. Soutěž Středoškolská odborná činnost.
45. Kenk, R. 1974. Index of the Genera and Species of the Freshwater Triclad (Turbellaria) of the World. Smithsonian contributions to zoology, City of Washington.
46. Klauser, M. D. 1986. Mucous secretions of the acoel Turbellarian *Convoluta* sp. Orsted: An ecological and functional approach. *J. Exp. Mar. Biol.* 97:123-133.
47. Komárek, J. 1926. Doplněk ku Vejdovského revisi českých Triclad. *Věst. Král. české spol. nauk* 7:1-32.
48. Komárek, J. 1952. Zoologie bezobratlých. Přírodovědecké vydavatelství, Praha.
49. Kostecky, J., B. Elliott, and D. J. Schaeffer. 1989. Planarians in Toxicology I. Physiology of Sexual-Only *Dugesia dorotocephala*: Effects of Diet and Population Density on Adult Weight and Cocoon Production. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 18 :286-295.
50. Košel, V., and L. Beran. 2006. Ploštěnky (Turbellaria, Tricladida) CHKO Kokoř ínsko. *Bohemia centralis* 27:35-40.
51. Kovačević, G., G. Gregorovic, M. Kalafatic, and I. Jaklinovic. 2009. The Effect of Aluminium on the Planarian *Polycelis felina* (Daly.). *Water Air and Soil Pollution* 196:333-344.
52. Kubíková, L., Simon, O. P., and Fricová, K. 2011. The occurrence of *Pisidium* species (Sphaeriidae, Bivalves) in oligotrophic springs of the Blenice river catchment (Czech republic) in relation to ecological conditions. *Biologia* 66: 299-307.



53. Kubíková, L., O. P. Simon, K. Tichá, K. Douda, M. Maciak, and M. Bílý. 2012. The influence of mesoscale habitat conditions on the macroinvertebrate composition of springs in a geologically homogeneous area. *Freshwater Science* 31:668-679.
54. Lindegaard, C., K. P. Brodersen, P. Wiberg-Larsen, and J. Skriver. 1998. Multivariate analyses of macrofaunal communities in Danish springs and springbrooks. pp. 201-220. in: L. Botosaneanu (Ed.), *Studies in Crenobiology*, Backhuys Publishers, Backhuys Publishers, pp. 201-220.
55. Lock, M. A. 1975. Experimental study of role of gradient and substratum in distribution of 2 stream-dwelling triclads, *Crenobia alpina* (DANA) and *Polycelis felina* (DALYELL) in North Wales. *Freshwat. Biol.* 5:211-226.
56. Lock, M. A., and T. B. Reynoldson. 1976. The Role of Interspecific Competition in the Distribution of two Stream Dwelling Triclads, *Crenobia alpina* (Dana) and *Polycelis felina* (Dalyell), in North Wales. *Journal of Animal Ecology* 45:581-592.
57. Maly, E. J., S. Schoenholtz, and M. T. Arts. 1981. The Influence of Flatworm Predation on Zooplankton Inhabiting Small Ponds. *Hydrobiologia* 76:233-240.
58. Meyer, J. L., D. L. Strayer, J. B. Wallace, S. L. Eggert, G. S. Helfman, and N. E. Leonard. 2007. The contribution of headwater streams to biodiversity in river networks. *Journal of the American Water Resources Association* 43:86-103.
59. Pattée, E., C. Lascombe, and R. Delolme. 1973. Effects of temperature on the distribution of turbellarian triclads. pp. 201-207. in: W. Weiser (Ed.), *Effects of temperature on ectothermic organisms*, pp. 201-207.
60. Pattée, E. 1982. Competition and coexistence in populations of Planarian flatworms (Turbellaria-Tricladida) - role of biotic and abiotic factors. *Acta oecologica-oecologia generalis* 3:259-272.
61. Pickavance, J. R. 1971. The Diet of the Immigrant Planarian *Dugesia tigrina* (Girard): I. Feeding in the Laboratory. *Journal of Animal Ecology* 40: 623-635 .
62. Pickavance, J. R. 1971B. The diet of the immigrant planarian *Dugesia tigrina* (GIRARD) II. Food in the wild and comparison with some British species. *Journal of Animal Ecology* 40:637-650.
63. Reslová, M. 2011. Ploštěnky (Platyhelminthes: Tricladida) v ČR. Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze.
64. Reynierse, J. H., and R. R. Ellis. 1967. Aggregation formation in three species of planaria: distance to nearest neighbour. *Nature* 214:895-896.
65. Reynierse, J. H., K. K. Gleason, and R. Ottemann. 1969. Mechanisms producing aggregation in Planaria. *Animal behaviour* 17:47-63.
66. Reynoldson, T. B. 1953. Habitat of *Polycelis felina* (= *cornuta*) and *Crenobia alpina* in the British isles. *Nature (London)* 171:660.

67. Reynoldson, T. B. 1958. The Quantitative Ecology of Lake-Dwelling Tricladids in Northern Britain. *Oikos* 9:94-138.
68. \*Reynoldson, T. B., and J. O. Young. 1963. The food of four species of lake-dwelling tricladids. *Journal of Animal Ecology* 32:175-191. Sec. cit. from Reynoldson, T. B., J. F. Gilliam, and R. M. Jacques. 1981A. Competitive exclusion and coexistence in natural populations of *Polycelis nigra* and *P. tenuis* (Tricladida, Turbellaria). *Arch. Hydrobiol.* 92:71-113.
69. Reynoldson, T. B. 1966. Preliminary laboratory experiments on recruitment and mortality in triclad populations. *Verh. Int. Ver. Limnol.* 16:1621-1631.
70. Reynoldson, T. B., and A. D. Sefton. 1976. The food of *Planaria torva* (Müller) (Turbellaria-Tricladida), a laboratory and field study. *Freshwat. Biol.* 6:383-393.
71. Reynoldson, T. B., and B. Pearce. 1979. Feeding on gastropods by lake-dwelling *Polycelis* in the absence and presence of *Dugesia polychroa* (Turbellaria, Tricladida). *Freshwat. Biol.* 9:357-367.
72. Reynoldson, T. B., J. F. Gilliam, and R. M. Jacques. 1981. Competitive exclusion and coexistence in natural populations of *Polycelis nigra* and *P. tenuis* (Tricladida, Turbellaria). *Arch. Hydrobiol.* 92:71-113.
73. Reynoldson, T. B. 1981. The ecology of the turbellaria with special reference to the freshwater tricladids. *Hydrobiologia* 84:87-90.
74. Reynoldson, T. B. 1983. The population biology of Turbellaria with special reference to the freshwater tricladids of the British Isles. *Adv. Ecol. Res.* 13:235-326.
75. Reynoldson, T. B. 2000. A key to the British species of freshwater tricladids (Turbellaria, Paludicola). Titus Wilson & Son Ltd, Kendal.
76. Riutort, M., M. Álvarez-Presas, E. M. Lázaro, E. Solá, and J. Paps. 2012. Evolutionary history of the Tricladida and the Platyhelminthes: an up-to-date phylogenetic and systematic account. *The International Journal of Developmental Biology* 56:5-17.
77. Roca, J. R., M. Ribas, and J. Baguñà. 1992. Distribution, Ecology, Mode of Reproduction and Karyology of Freshwater Planarians Platyhelminthes; Turbellaria; Tricladida) in the Springs of the Central Pyrenees. *Ecography* 15:373-384.
78. Roca, J. R., and M. Castillo. 1993. Typology of the pyrenean springs based on their biological communities. pp. 283-289. in: L.C.a.a.Pizarro (Ed.), *Actas VI Congreso Español de Limnología, Univ.I.Cas.Educac, Univ.I.Cas.Educac*, pp. 283-289.
79. Sefton, A. D., and T. B. Reynoldson. 1972. The Effect of Temperature and Water Chemistry on the Life-Cycle of *Planaria torva* (Müller)(Turbellaria: Tricladida). *Journal of Animal Ecology* 41:487-494.
80. Sekera, E. 1913. *Nástin oekologie a biologie sladkovodních ploštěnek. Program státní reálky v Praze I.*

81. Simon, K. S., E. F. Benfield, and S. A. Macko. 2003. Food web structure and the role of epilithic biofilms in cave streams. *Ecology* 84:2395-2406.
82. Sluys, R. 1989. Phylogenetic relationships of the triclads (Platyhelminthes, Seriata, Tricladida). *Bijdr Dierk.* 59:3-25.
83. Sluys, R., M. Kawakatsu, and M. Riutort. 2009. A new higher classification of planarian flatworms (Platyhelminthes, Tricladida). *Journal of natural history* 43:1763-1777.
84. Staudacher, K., and L. Füreder. 2007. Habitat Complexity and Invertebrates in Selected Alpine Springs (Schütt, Carinthia, Austria). *International Review of Hydrobiology* 92:465-479.
85. Steinböck, O. 1942. Das Verhalten von *Planaria alpina* Dana in der Natur und im Laboratoriumsversuch. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol.* 1:63-75.
86. Thienemann, A. 1924. Hydrobiologische Untersuchungen an Quellen. *Arch. Hydrobiol.* 14:151-190.
87. Thienemann, A. 1938. Rassenbildung bei *Planaria alpina*. Sonderabdruck aus der jubiläumsfestschrift Grigore Antipa 1-21.
88. \*Thienemann, A. 1950. Verbreitungsgeschichte der Süßwassertierwelt Europas. Binnengewässer 18. Sec. cit. from Dahm, A. G. 1958. Taxonomy and ecology of five species groups in the family Planariidae. (Turbellaria, Tricladida, Paludicola). Malmö.
89. Thorup, J., and C. Lindegaard. 1977. Studies on Danish springs. *Folia Limnol. Scand.* 17:7-15.
90. Tranchida, M. C., A. Maciá, F. Brusa, M. V. Micieli, and J. J. García. 2009. Predation potential of three flatworm species (Platyhelminthes: Turbellaria) on mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Biological Control* 49:270-276.
91. Tichá, K., Simon, O. P., and Douda, K. The reversal of a river continuum at the origin: nutrient-rich fine particulate organic matter exported from helocrene springs (manuskript). 2014. In press.
92. Ulyott, P., and R. S. A. Beauchamp. 1931. Mechanisms for the prevention of self-fertilisation in some species of freshwater triclads. *Q. J. Microsc. Sci.* 74:477-489.
93. van Everdingen, R. O. 1991. Physical, chemical, and distributional aspects of Canadian springs. pp. 7-28. in: D.D. Williams, H.V. Danks (Eds.), *Arthropods of springs, with particular reference to Canada*, *Memoirs of the Entomological Society of Canada* 155., *Memoirs of the Entomological Society of Canada* 155., pp. 7-28.
94. Ward, J. V., and K. Tockner. 2001. Biodiversity: towards a unifying theme for river ecology. *Freshwater Biology* 46:807-819.

95. Webb, D. W., M. J. Wetzel, P. C. Reed, L. R. Phillippe, and T. C. Young. 1998. The macroinvertebrate biodiversity, water quality and hydrogeology of ten karst springs in the Salem Plateau Section of Illinois, USA. pp. 39-48. in: Botosaneanu (Ed.), Studies in crenobiology. The biology of springs and springbrooks, Backhuys Publishers, Backhuys Publishers, pp. 39-48.
96. Wenig, J. 1901. Příspěvky k anatomii některých orgánů planarií sladkovodních. Věstník král. spol. nauk .
97. Williams, D. D., and I. D. Hogg. 1988. Ecology and production of invertebrates in a Canadian coldwater spring-springbrook system. *Ecography* 11:41-54.
98. Wisenden, B. D., and M. C. Millard. 2001. Aquatic flatworms use chemical cues from injured conspecifics to assess predation risk and to associate risk with novel cues. *Animal behaviour* 62:761-766.
99. Wright, J. F. 1974. Some factors affecting distribution of *Crenobia alpina* (DANA), *Polycelis felina* (DALYELL) and *Phagocata vitta* (DUGES) (Platyhelminthes) in Caernarvonshire, North Wales. *Freshwat. Biol.* 4:31-59.
100. Wright, J. F. 1975. Observations on some predators of stream-dwelling triclads. *Freshwat. Biol.* 5:41-50.
101. Young, J. O., and T. B. Reynoldson. 1965. A laboratory study of predation on lake-dwelling triclads. *Hydrobiologia* 26:307-313.
102. Zollhöfer, J. M., M. Brunke, and T. Gonser. 2000. A typology of springs in Switzerland by integrating habitat variables and fauna. *Archiv für Hydrobiologie* 121:349-376.