

E2240 Účinky stresorů v ekosystémech

05 Bioindikace v suchozemských ekosystémech – 2. část

Jakub Hofman

MUNI | RECETOX

Půdní bezobratlí

Bioidikace pomocí půdních bezobratlých - příklady

Indicator system	Principle	Application	Reference
Nematode maturity index	Nematodes classified on a "colonizer" - "persister" scale	Can be applied to all soils; measures general response to stress (metals, acidification, eutrophication)	Bongers (1990), Yeates and Bongers (1999)
Predatory mite maturity index	Mesostigmatid mites classified according to an r-K score	Mostly limited to forest soils; measures soil properties related to mull/mor humus	Ruf (1998)
Earthworm life-history strategies	Earthworms classified according to position in the soil profile and burrowing behaviour	Can be applied to all soils with sufficient number of species; measures aspects of humus type, pH and cultivation (ploughing)	Bouché (1977), Paoletti (1999a)

Indicator system	Principle	Application	Reference
REAL model for earthworms	Integrated data base of various aspects related to the ecological and agronomical role of earthworms	Very wide application	Bouché (1996)
Enchytraeid Reaktionzahl	Scores related to responses to acidity and humidity assigned to enchytraeids	Applicable to situations where effects on soil pH are manifested, for example cement factories	Graefe (1993), Beylich et al. (1995)
SIVPACS	Pollution responses of earthworms, isopods and spiders, comparable to RIVPACS	Data base on species-specific responses not yet operational; at the moment only applied to heavy metal pollution	Spurgeon et al. (1996)
Woodlice life-forms	Classification of woodlice according to body shape and movement pattern	Composition of isopod fauna indicates effects of soil cultivation in agricultural landscapes	Paoletti and Hassell (1999)

Doelman & Eijsackers (2004)

Bioidikace pomocí půdních bezobratlých - příklady

Indicator system	Principle	Application	Reference
Macro invertebrate biodiversity	Enumeration of species richness of earthworms, beetles, isopods, spiders, ants, millipedes, centipedes, etc.	Applied in orchards and other agricultural ecosystems to indicate land use and copper pollution	Paoletti and Somaggio (1996), Paoletti (1999b)
Ant functional groups	Classification of ants according to groups reflecting susceptibility to stress	Wide application; used in evaluation of nature restoration and effects of mining	Andersen (1995)
Diptera feeding groups	Classification of dipteran larvae in five feeding groups	Reflects type of organic materials in soil; applicable to organic soils	Frouz (1999)
Arthropod acidity index	Classification of arthropods (Collembola, oribatids, isopods) according to pH preference	Allows quantitative estimation of soil pH from invertebrate community structure	Van Straalen and Verhoef (1997), Van Straalen (1998)

Doelman & Eijsackers (2004)

Indicator system	Principle	Application	Reference
Oribatid mite life-history strategies	Classification of mites according to reproductive and dispersal strategies	Indicates intensity of anthropogenic influence and successional stage of forests and grassland ecosystems	Siepel (1994), Siepel (1996)
Life-forms of Collembola	Classification of Collembola according to morphological types reflecting position in the soil profile	Indicates profile build-up and ecological processes stratified according to the profile; mostly applicable to forest soils	Van Straalen et al. (1985), Faber (1991)
Dominance distribution of micro arthropods	Lognormal distribution of numbers over species	General impression of disturbance; applied to effects of heavy metals and acid rain in forest and grassland soils	Hågvar (1994)
Biological Index of Soil Quality (BSQ)	System of scores assigned to groups of soil micro arthropods	Provides indication of biodiversity; wide applicability	Parisi (2001), Gardi et al. (2002)

Bioidikace pomocí půdních bezobratlých - příklady

Doelman & Eijsackers (2004)

Pollutant group	Vulnerable animal groups	Remarks
Polycyclic aromatic hydrocarbons, azaarenes and derivates	Isopods, Collembola	Little knowledge available. Large inter-species differences in metabolism. Metabolizers expected to be more sensitive than accumulators.
Persistent organochlorines (PCBs, dioxins)	Vertebrates (Rodentia and Insectivora)	Low toxicity to invertebrates. Effects appear higher up in the food-chain Earthworms are important in transfer.
Chlorinated ethylenes, phenoles and benzenes	Earthworms	Toxicity due to general narcotic effects, probably small inter-species differences.
Oil, BTEX	Earthworms	Toxicity partly due to changes in soil structure.
Alkyl benzene sulfonates and other detergents	Enchytraeids, nematodes, earthworms	Field data scanty. Laboratory data suggest highest toxicity to pore water-dependent species.
Veterinary drugs, antibiotics, hormones	No data available	Interactions in decomposer-micro-organism interactions expected, but not documented.
Copper	Earthworms, slugs, snails, oribatid mites	Copper toxicity to earthworms well documented.
Zinc	Enchytraeids, nematodes, earthworms, isopods, soft-bodied springtails	Toxicity of zinc does not follow the main taxonomic groups of soil invertebrates. Many groups contain sensitive as well as tolerant species.
Cadmium	Oribatid mites, spiders, some springtails, vertebrates (shrews, mole)	Cadmium seems to be most toxic to invertebrates that take up the metal with the food. Due to food-chain accumulation effects appear in predators and vertebrates.
Lead	Oribatid mites, shrews, mole	Differences between invertebrate species relatively small. Main hazard of lead is higher up in the food chain.
Herbicides	No group in particular	Low toxicity of modern herbicides to animals. Effects are mostly secondary (avoidance of sprayed leaves, loss of food, increase of litter cover).
Fungicides	Earthworms, enchytraeids, isopods	Benzimidazoles, carbamates and organotins are known for their considerable side-effects on animals

Pollutant group	Vulnerable animal groups	Remarks
Insecticides	Many arthropod groups, in particular beetles, spiders, mesostigmatid mites and springtails	Animals with high surface activity are particularly vulnerable. Large differences between species due to species-specific exposures and metabolic capacities. Many secondary effects among detritivores due to suppression of predators.
Acidic precipitation	Snails, dipteran larvae, earthworms, some oribatid mites, some Collembola, some isopods	Large differences between species within each group. Earthworms generally avoid acid soils. Many Collembola and mites are acid tolerant, but some are very alkalophilic and suffer from acid precipitation.
Radiation	Earthworms, oribatid mites	Species-specific vulnerability due to exposure, rather than inherent differences in sensitivity. Permanent soil dwellers and soil ingesters receive high doses.

Note: this table only describes the general trends and ignores the many species-specific sensitivities related to metabolism, microhabitat choice and life-cycle

Techniky vzorkování

- různé dle typů a zejména velikosti organismů
- ruční třídění, vybírání
- zemní pasti
- vypuzovací metody
- extrakční metody: Tulgrenova extrakce, O'connorova extrace ...



Techniky vzorkování

■ Kvantitativní metody - absolutní

- odběr vzorků, extrakce a separace
- extrakce – Tullgren, Baerman, O'Connor, Berlese, chemická extrakce, elektřina
- separace – ruční vybírání, wet sieving, flotace

■ Kvalitativní metody - relativní počty

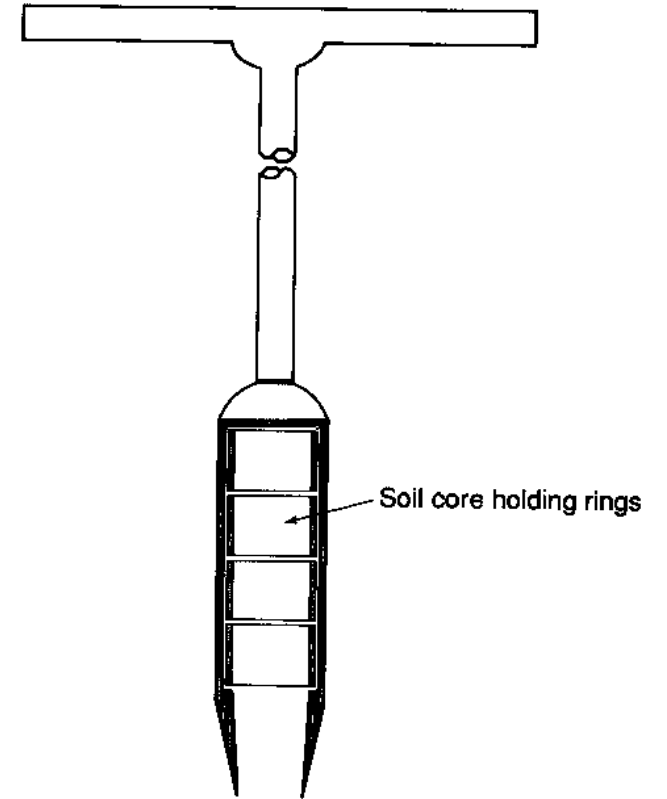
- různé metody nejčastěji zemní pasti padací - formalín, detergent – velikost, počet, rozmístění, hloubka
- závislost na chování zvířat – selektivní – větší se chytají lépe než menší – mají větší akční rádius
- individuální sběr + různé pomůcky – prosévání, návnady

Techniky vzorkování - kvantitativní

Odběry vzorků

- podle velikosti organismů: u žížal větší (kvádr 25 x 25 x 25 cm) u ostatních tzv. **půdní jádra – „cores“ – sondy**
- obecně je dobré znát objem či povrch - lze přepočítat na objem či plochu
- jak velký vzorek? kolik vzorků na jakou plochu?, jak mají být vzorky rozmístěny?
- lze udělat **optimalizační studii**:
 - například sledovat jak s počtem vzorků klesá množství zachycených druhů
 - nebo odhadnout jak jsou zastoupeny podtypy na dané lokalitě – z více abundantních vzít více vzorků a z méně abun. ploch méně
 - nebo udělat směsné vzorky
- **hloubka**: většina fauny žije v horních 10 cm, ale nemusí to být vždy – stratifikace

Techniky vzorkování - kvantitativní



Techniky vzorkování - kvantitativní

Extrakce

- extrakční – vypudit z půdy, nelze klidová stádia
- elektrika apod, WORM EXPEL – tyče – proud
- nejčastější **princip světla a tepla**
- mechanická separace – poškození materiálu
- nepoužívanější flotace – suspense $\rho 1,12$ – půda klesá, organismy plavou (detrit také – vařením ve vakuu se vysaje se vzduch z detritu, ten pak klesne)
- flotace – voda/glycerin, voda/glukóza, voda/soli – odvodní organismy a ty pak taky padají

Techniky vzorkování - kvantitativní



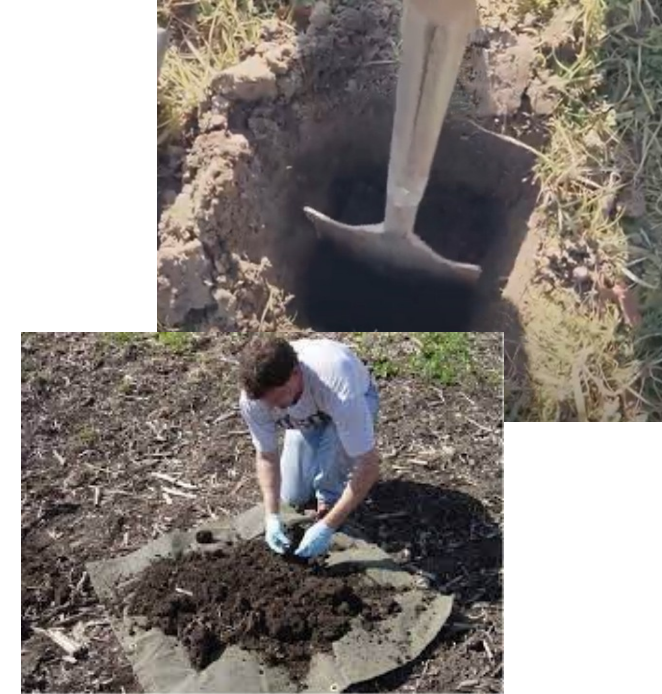
extrakce od 1:50; video ukazuje Tullgrenovu a Baermanovu extrakci, flotační metodu a identifikace ...

ISO normy pro hlavní skupiny

ISO 23611-1:2006	Soil quality -- Sampling of soil invertebrates – Part 1: Hand-sorting and formalin extraction of earthworms
ISO 23611-2:2006	Soil quality -- Sampling of soil invertebrates – Part 2: Sampling and extraction of micro-arthropods (Collembola and Acarina)
ISO 23611-3:2007	Soil quality -- Sampling of soil invertebrates – Part 3: Sampling and soil extraction of enchytraeids
ISO 23611-4:2007	Soil quality -- Sampling of soil invertebrates – Part 4: Sampling, extraction and identification of soil-inhabiting nematodes
ISO/DIS 23611-5	Soil quality -- Sampling of soil invertebrates – Part 5: Sampling and extraction of soil macro-invertebrates
ISO/DIS 23611-6	Soil quality -- Sampling of soil invertebrates – Part 6: Guidance for the design of sampling programmes with soil invertebrates

Bioindikace v půdě pomocí žížal

- většinou **ruční třídění** z monolitu 25 x 25 x 25 cm (ale i jiné velikosti)



Bioindikace v půdě pomocí žížal

- použití **vypuzovacího roztoku** (např. 10-20 x zředěná hořčice <https://twitter.com/carlyziter/status/783070095446716416> či 0,5% formalin)
- funguje zejména pro epigeické a aneické druhy



Bioindikace v půdě pomocí žížal

- vzorkování



vzorkování od cca 3 min

Bioindikace v půdě pomocí žížal

- vypuzení **elektrickým proudem**
- kolo cca 50 cm, 30-60 V, 30 min

Electrical extraction: Eight electrodes (52 cm diameter) are placed in the soil. They generate an electrical field by which the worms are driven out of the soil (Fig. 8.8).

Advantages: no use of toxic chemicals, no need of water.

Disadvantages: expensive equipment, variable results, difficult to use in stony soils, efficiency dependent on soil moisture.



Method	Description	Advantages	Disadvantages
Passive			
Hand sorting	Known volume of soil cut with spade or corer, broken and worms removed by hand	Simple, reliable in the field; low cost	Laborious; may not collect deep burrowing species, small earthworms and cocoons
Washing and sieving	Known volume of soil cut with spade or corer, soaked in dispersant/preservative, and washed through sieve(s) by hand or mechanical device	Higher recovery of cocoons and small individuals	Laborious; may not collect deep burrowing species
Flotation	Material from hand sorting or washing/sieving floated in high-density solution (e.g., $MgSO_4$)	Separates earthworms from soil and plant debris; cocoons and small individuals collected	Laborious; may not collect deep burrowing species
Behavioral			
Chemical extraction	Soil saturated with chemical irritant (e.g., 0.2% formalin) causing earthworms to emerge onto soil surface	Simple; effective on deep burrowing anecic species	Not effective on all species, in all soils or under all conditions.
Heat extraction	Soil blocks or cores suspended under heat lamps in water into which earthworms migrate	Effective on dense root mats	Not effective on all species; inconvenient for field use
Electrical extraction	Metal rods inserted into soil and connected to AC electrical source	Useful for selective or comparative sampling	Highly variable; not convenient in the field; dangerous
Mechanical vibration	Stake or rod inserted into soil and vibrated with bow or flat iron	Simple; useful for selective or comparative sampling	Not effective on all species
Trapping	Pitfall or baited traps placed in soil and sampled at desired intervals	Simple; useful for selective or comparative sampling	Not effective on all species
Mark-recapture	Individuals tagged, released, and population sampled at intervals	Useful for estimating population density, dispersal and mortality	Laborious
Indirect			
Cast counting	Surface castings enumerated and identified	Simple	Not a quantitative estimate of population density

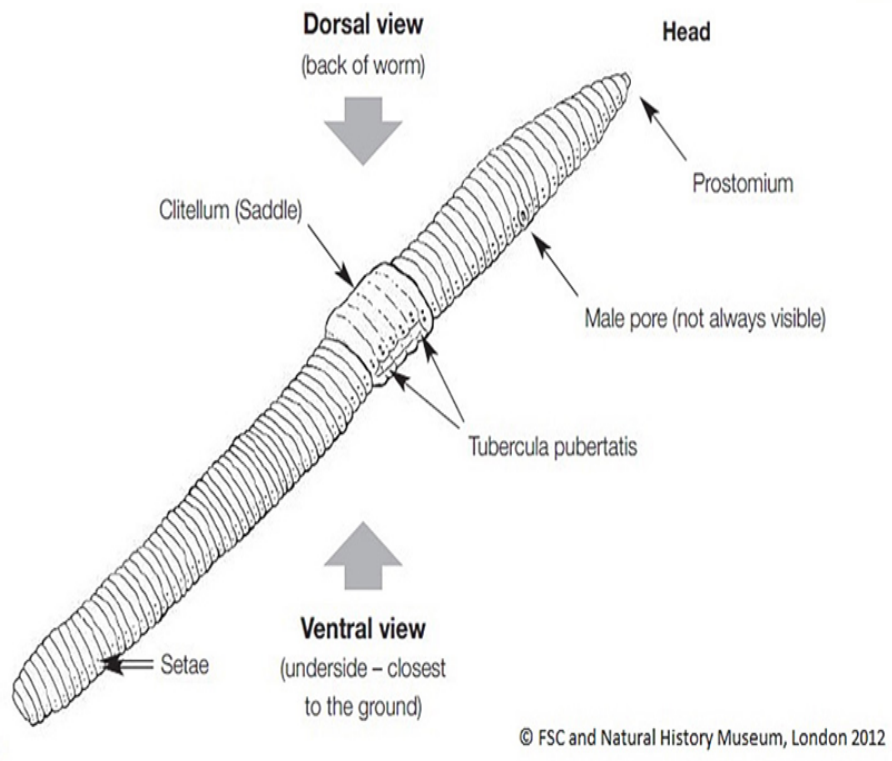
Bioindikace v půdě pomocí žížal

- po vzorkování **uchování žížal** v formalínu (4% formaldehyd) a **fixace** např. v 70% isopropanolu či etanolu
- **identifikace** dle klíčů zejména s ohledem na znaky v okolí opasku, štětinky apod. (viz dále)
- různé klíče včetně online
 - <https://www.ispotnature.org/webkeys/keyintroduction.jsp?selectedKey=webkeys/easy-worms.0.5>
 - <https://www.imperial.ac.uk/media/imperial-college/research-centres-and-groups/opal/SOIL-4pp-chart.pdf>
 - <https://bjc792.wixsite.com/earthworm-images>



Bioindikace v půdě pomocí žížal

- zásadní znaky pro určování – velikost, barva, opasek (clitellum), pohlavní políčka a vývody (tubercula pubertatis, genital tumescence), štětinky (setae), ústa (prostomium)



The presence or absence of **pigmentation** (usually brown or red-brown) is an important feature that distinguishes different ecological groups of earthworms (details on page #).

The **proboscis** (mouth parts) type can vary among different earthworm species and may be useful in identification (details on page #).

Earthworms have segmented bodies and various anatomical features used for identification are located on different **segments**. Therefore, you may need to count (from nose to tail) the number of segments to determine the position of different features (details on page #).

The **male pore** is an external opening where sperm is released during reproduction. It is often obvious due to glandular swelling. It is generally on segment 15 (so useful when counting segments) but in some earthworm species is on segments 14 or 13 so is a features useful for identifying these particular species (details on page #).

The **clitellum** (a swollen band-like area near the head end of an earthworm) and it's associated features called the **tuberculata pubertatis (TP)** and **genital tumescence (GT)** are part of the reproductive system of and earthworm. Therefore, if an earthworm has a **clitellum**, it is an adult and if not, it is a juvenile. The position, shape and color of the **clitellum** and it's **TP** and **GT** are important features used to identify earthworm species (details on page #).

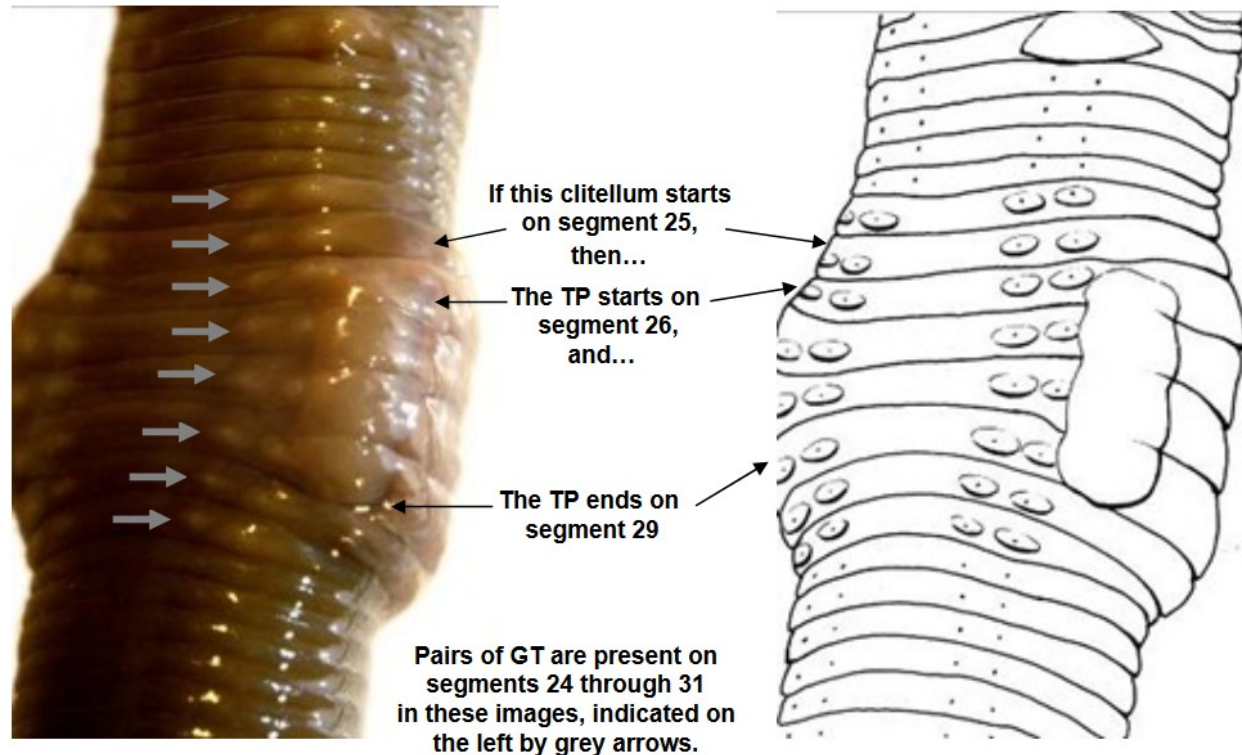
The **setae** are small hair-like projections on the body of earthworms. The **setae** are attached to muscles and are used for locomotion. There are several different **setae** patterns which are important features useful in identifying both adult and juvenile earthworm (details on page #).

Bioindikace v půdě pomocí žížal

Earthworm clitellum features:

The **tuberculata pubertatis (TP)** and **genital tumescence (GT)** are features associated with the earthworm's clitellum. They can vary in position, shape and color among different species, so are useful in identification. If the earthworm is not fully mature, then these features may not be fully developed and you must take this into account when using these features for identification. The function of the **TP** and **GT** are not fully understood, though we assume they play some role in reproduction!

- The **tuberculata pubertatis (TP)**, are two slightly swollen and usually differently colored areas on each side of the ventral (belly) surface of the clitellum.
- The **genital tumescence (GT)**, are small swollen areas around setae (so they are often paired as are the setae) on each side of the ventral surface of the clitellum. GT may also be seen above or below the clitellum region or associate with male & female pores.

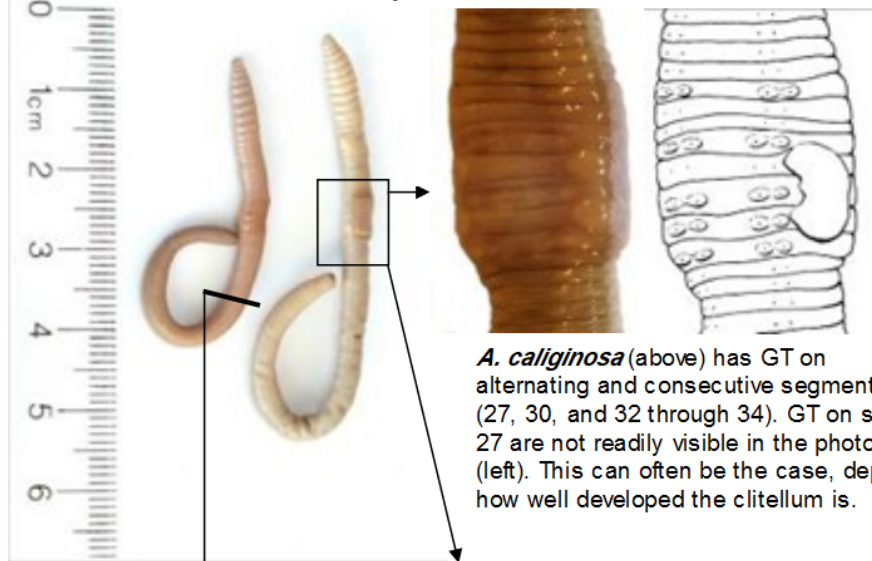


The shape and color of the **TP** and the number and positions of the **GT** vary quite a bit among species and some species have none. So see the species descriptions for their particular characteristics.

Bioindikace v půdě pomocí žížal

Aporrectodea caliginosa complex (includes species *A. caliginosa* and *A. tuberculata*)

Both *A. caliginosa* & *A. tuberculata* are unique in that they have a notched TP.



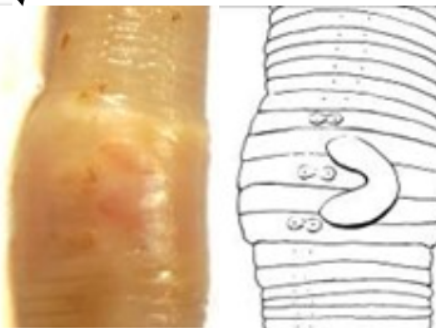
A. caliginosa (above) has GT on alternating and consecutive segments (27, 30, and 32 through 34). GT on segment 27 are not readily visible in the photograph (left). This can often be the case, depending on how well developed the clitellum is.



Both species have closely paired setae

Other Identifying Features:

- non-pigmented
- male pores on segment 15
- clitellum on segments 27-34
- size ranges generally between 9-15 cm (AT)
- mouth proboscis is epilobic



A. tuberculata (above) has GT on alternating segments only (30, 32, 34).

This group contain two very closely related and often difficult to distinguish soil dwelling (endogeic) species *A. caliginosa* and *A. tuberculata*, which are separated by the patterns of their GT. If the clitellum features are well developed enough to make the distinction, then do so. If not, then these get lumped into a single group called *A. caliginosa* complex.

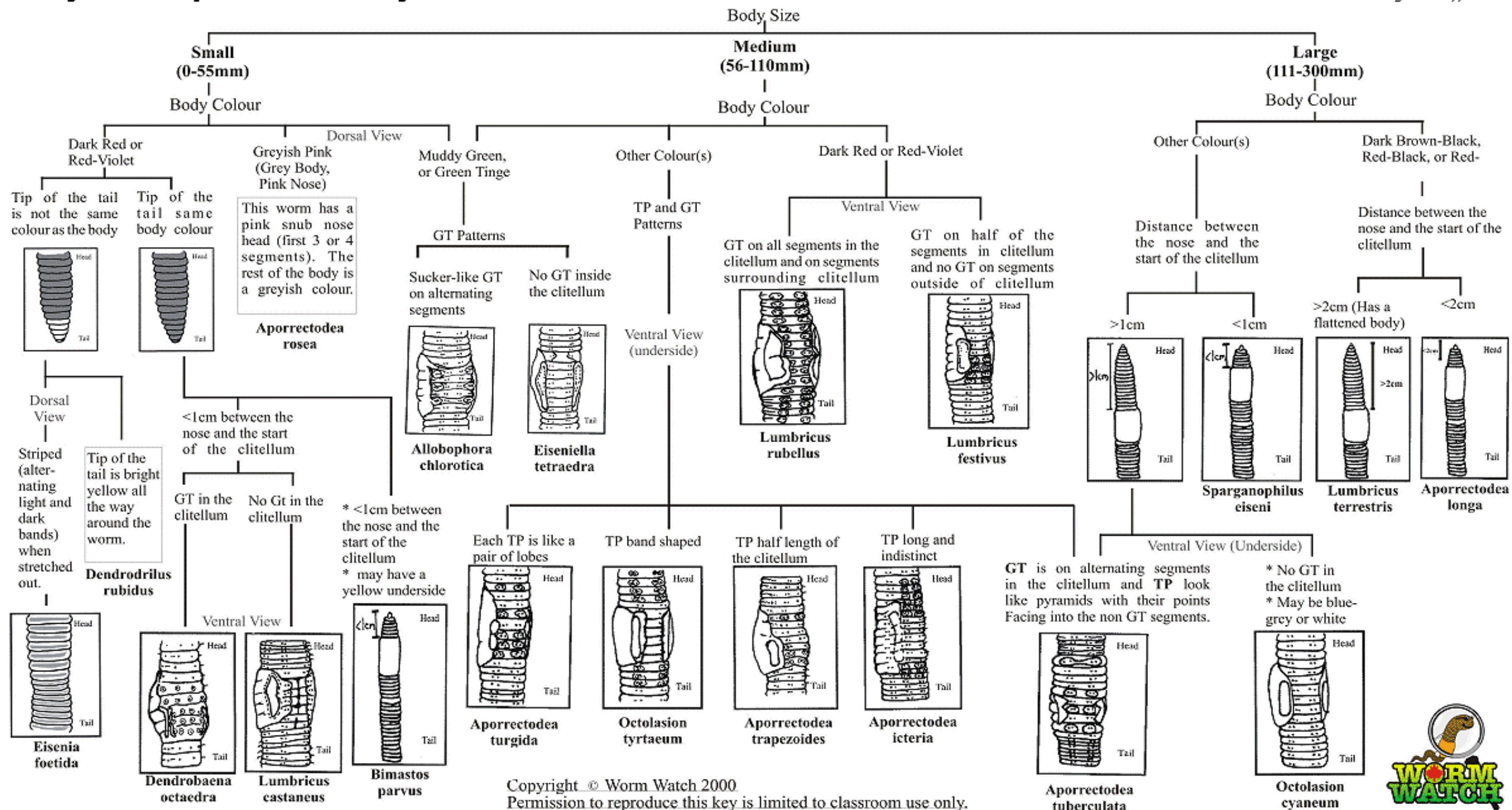
Examples of underdeveloped clitellum features:



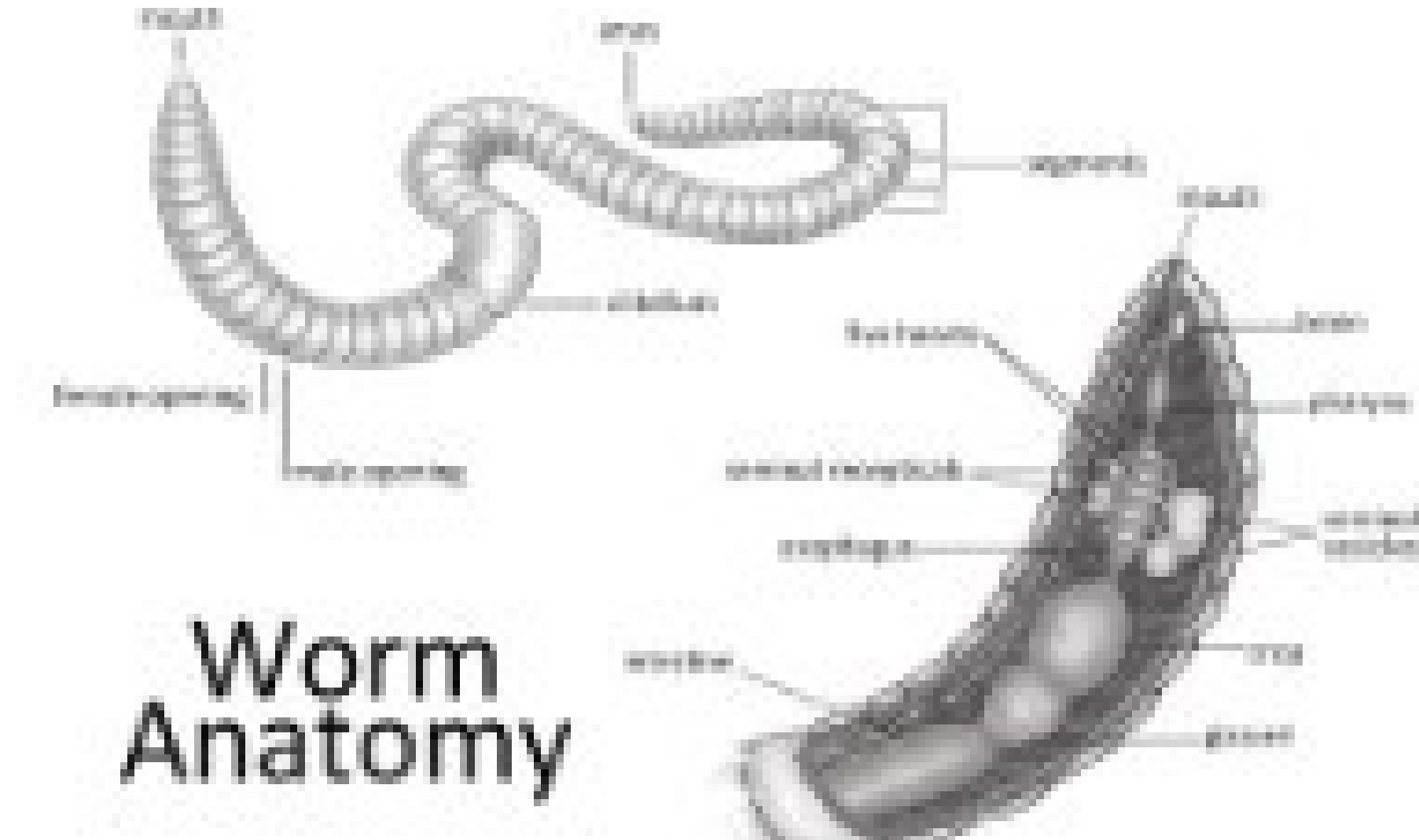
When the TP are underdeveloped each can appear as two circles or triangles side by side (see above). As the feature develops, the two sections merge to form the notched TP of the full adult. These species can sometimes be confused with *A. trapezoides* which does not have a notched TP.

Key to Reproductively Mature Earthworms Found in Canada

(an earthworm without a clitellum is not reproductively mature and thus cannot be identified using this key)



Bioindikace v půdě pomocí žížal

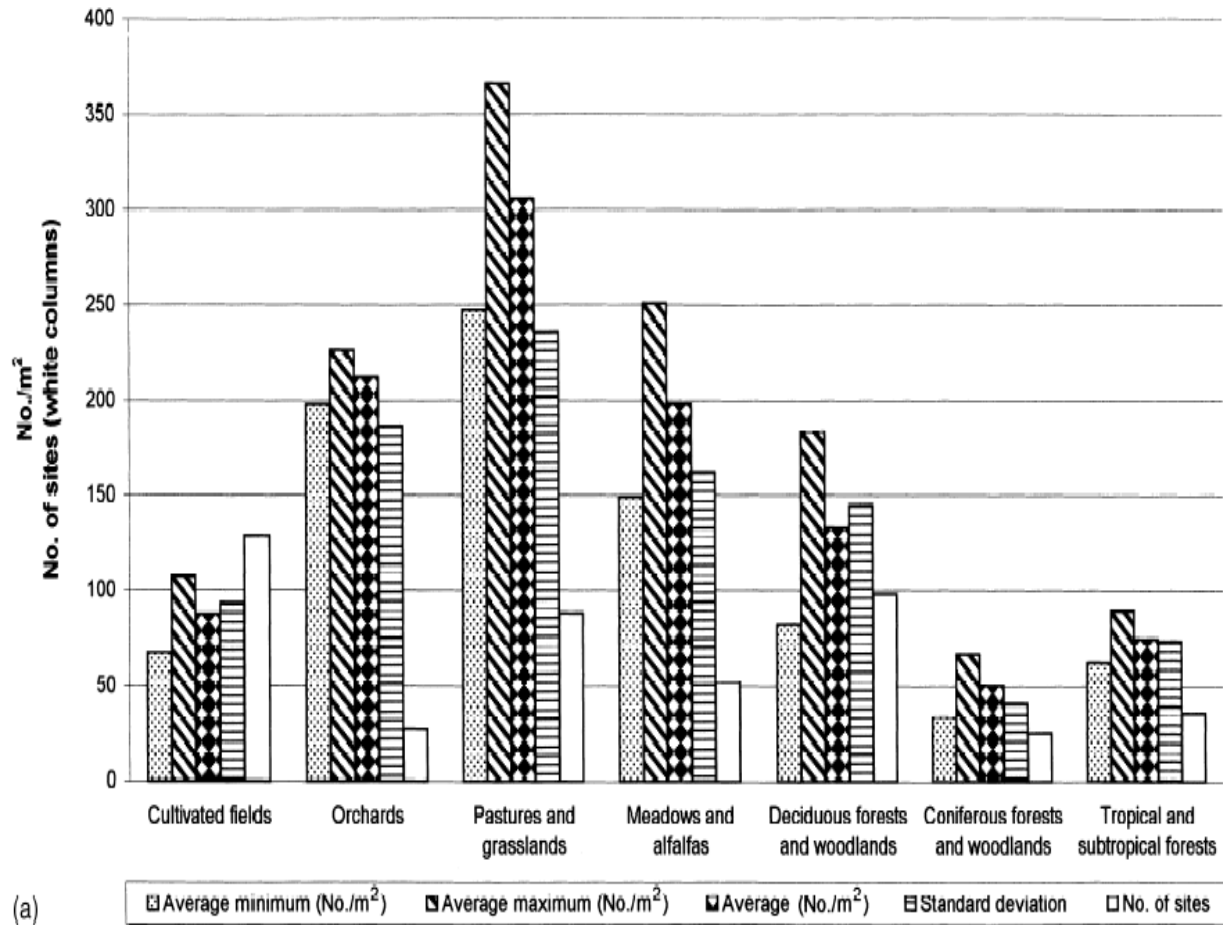




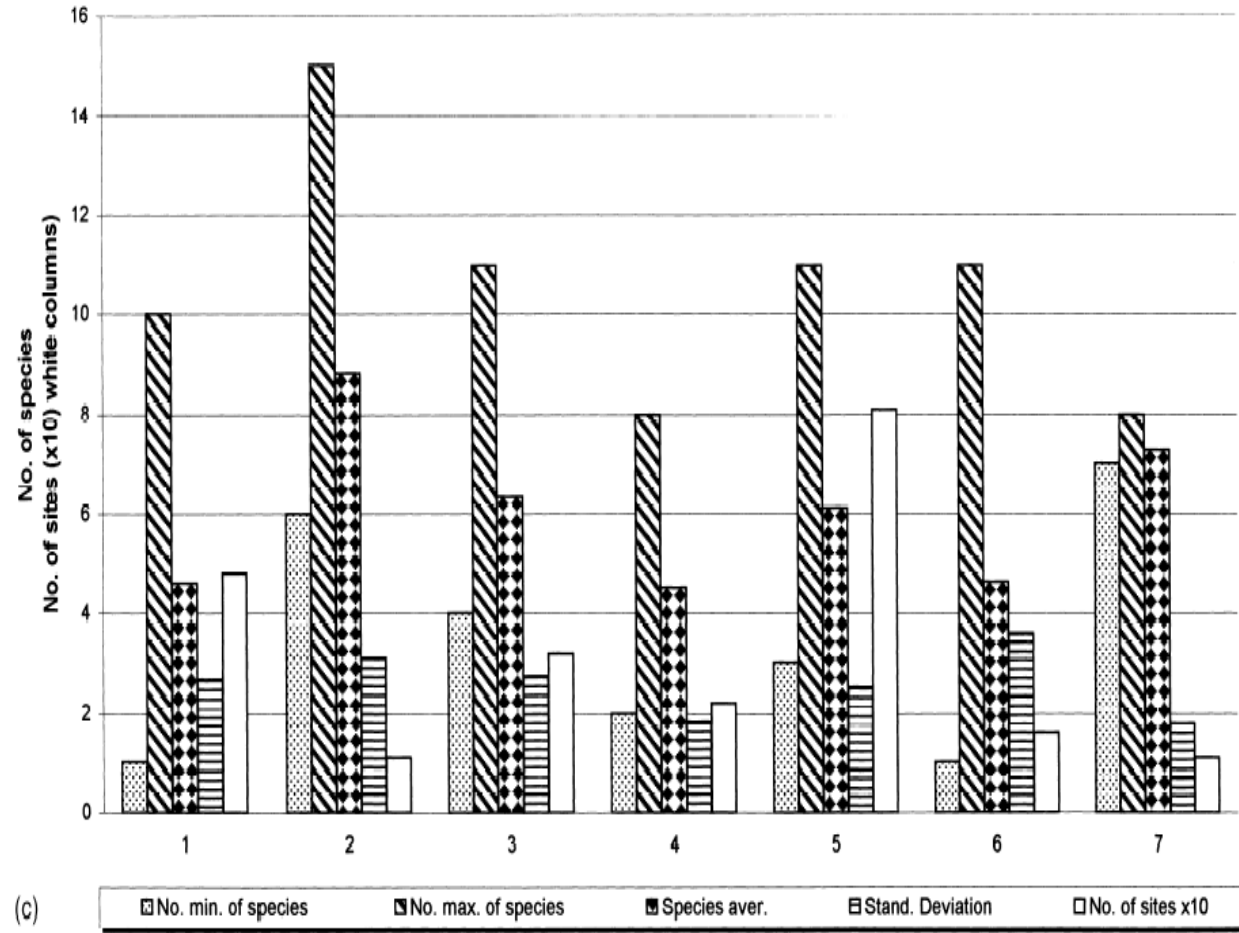
Bioindikace v půdě pomocí žížal

- celkové počty (abundance) žížal, či diverzita

Earthworms average densities in various habitats



Number of Earthworms species in various habitats



Bioindikace v půdě pomocí žížal

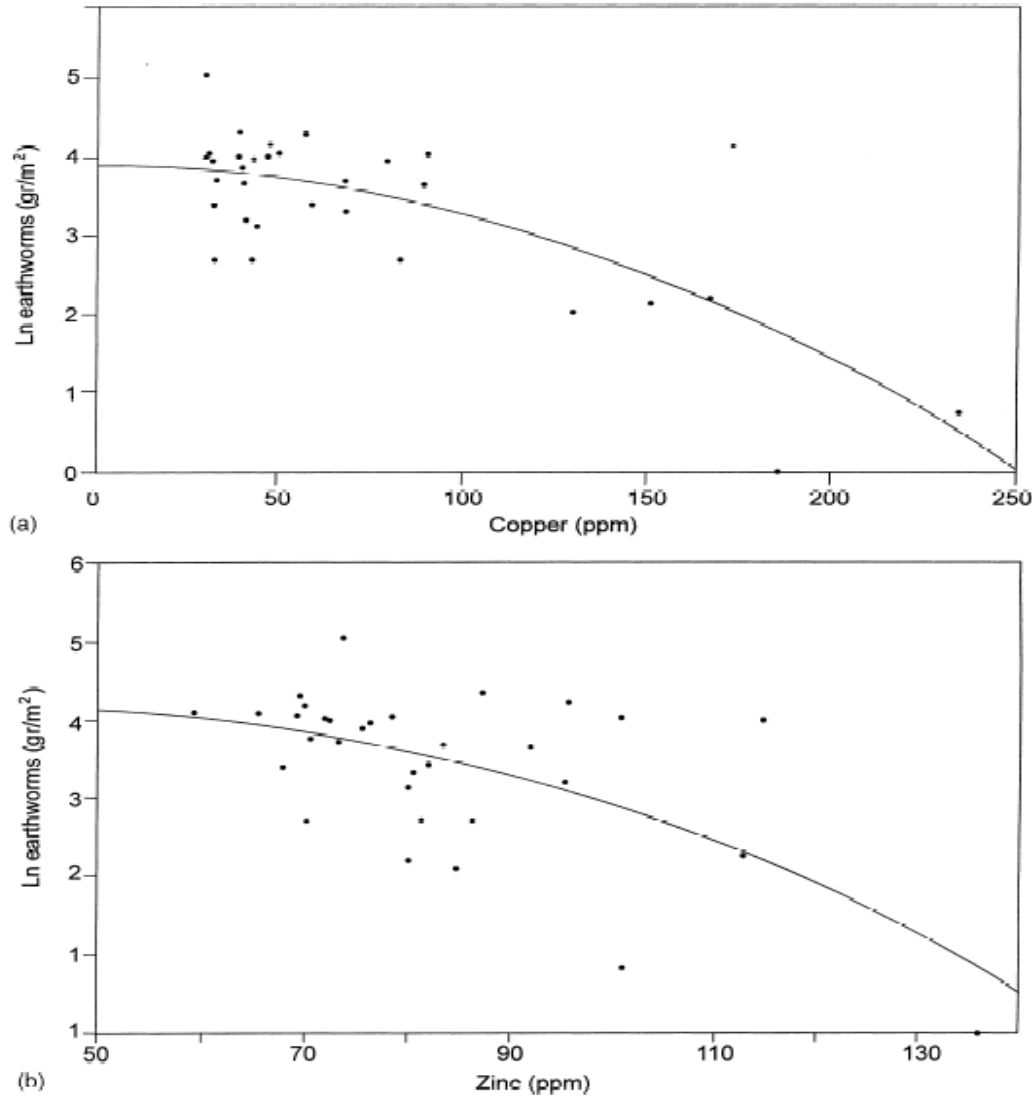


Fig. 5. Relationship between content of copper (a) and zinc (b) in soil and earthworm abundance in 72 orchards in Emilia Romagna, Italy under different practices and fruit crops (kiwi, apple, peach, grape). Copper is a residue from bordeaux mixture, applied as fungicide, and zinc is a residue linked to more recent use of carbamate fungicides such as ziram (from Paoletti et al., 1998).

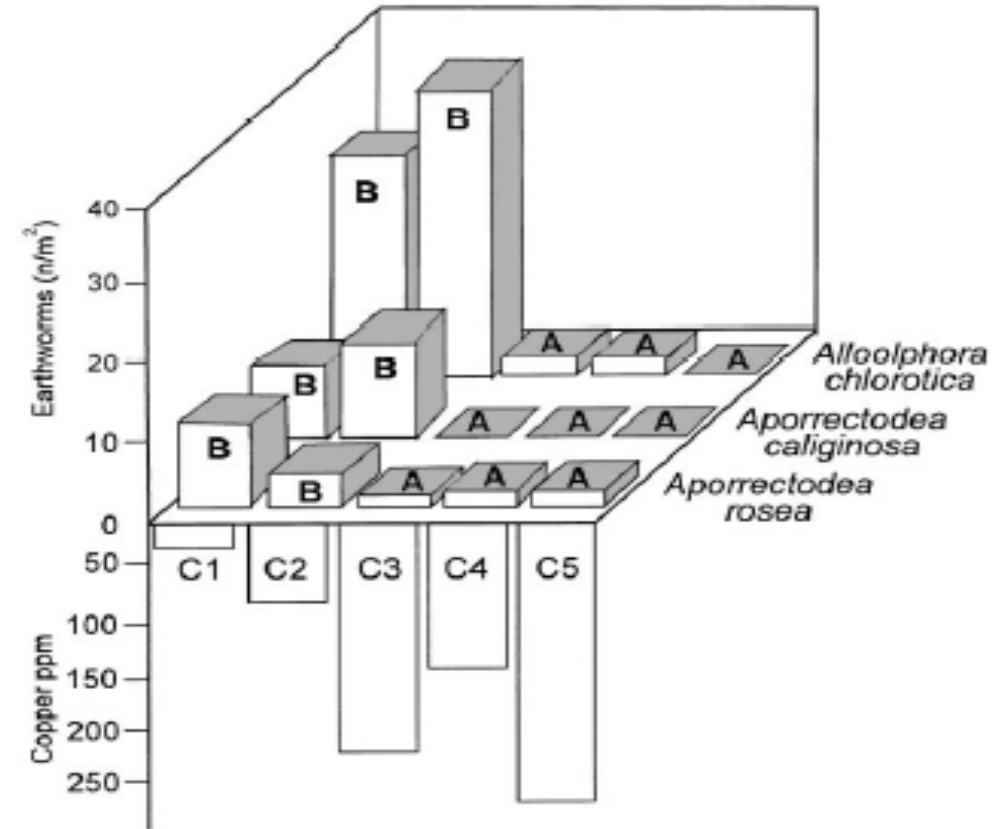


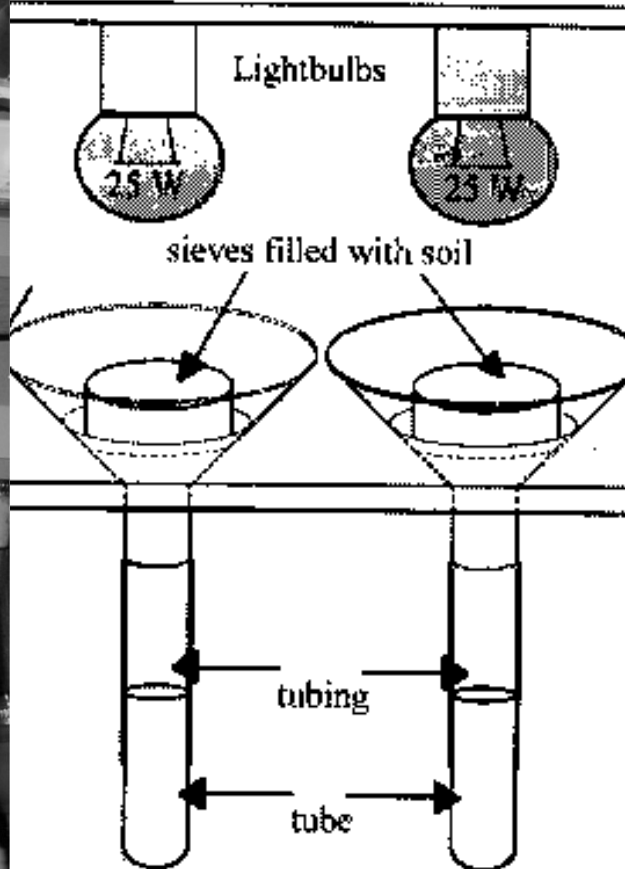
Fig. 6. Earthworm loss in a lowland agroecosystem (Pegolotte di Cona, Venezia, Italy) under different copper inputs (related to application of Bordeaux mixture) in five fields that were either uncultivated or supported vineyards. The copper concentration in the soils (C1–C5) was inversely related to earthworm numbers. Note that the endogeic species *A. rosea* was present in the very Cu-contaminated plot C5, albeit in low numbers (from Paoletti et al., 1995b).

Bioindikace v půdě pomocí roupic

- vzorkování **půdním jádrem** (5 - 7,5cm průměr)
- ruční třídění téměř nemožné, roupice jsou polepené půdními částicemi a nejsou vidět
- **O'connorova extrakční technika "wet funnels":**
 - půda (3 cm vrstva) na síto v nálevce naplněné vodou
 - svrchu se postupně přidává světlo a teplo po 3 hodinách, až povrch vzorků dosáhne teploty 45°C a roupice se přemístí dolů
- pak na petriho miskách k defekaci
- pod zvětšením 100 - 400× pak identifikace klíčových morfologických struktur

Bioindikace v půdě pomocí roupic

- O'connorova extrakční technika – za mokra

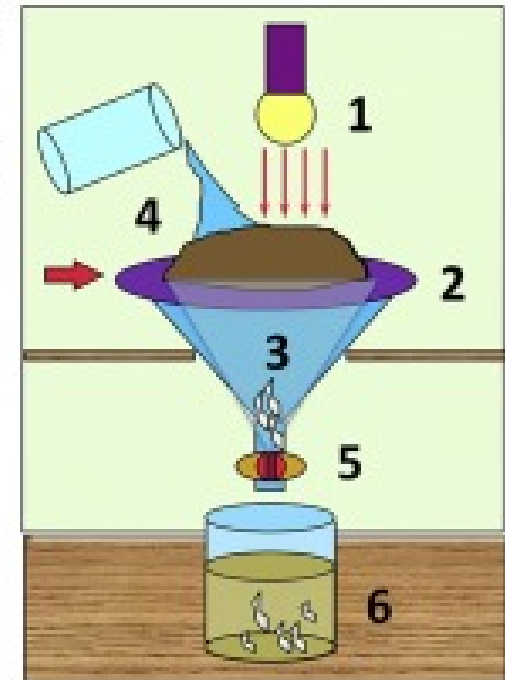


O'Connor wet extraction

Enchytraeids (with light) and nematodes (in the dark) extraction

1. Heat (and light) source;
2. A thinner metallic net (1 mm, holding fresh soil) is coupled with a plastic sock;
3. The plastic sock is restricted at its base with a nipper;
4. The soil sample is washed with water which drags enchytraeids and nematodes into the sock;
5. Slowly opening the nipper will free animals and water falling into the collector (6).

Extraction duration:
4h (enchytraeids); 24-36h (nematodes)



Bioindikace v půdě pomocí roupic

- identifikace dle klíčů

Table 2.17 Enchytraeid genera and their occurrence in soil [Nielsen and Christensen, 1959; Römbke, 1992; Römbke and Dószá-Farkas, 1996; Dószá-Farkas, pers. com.]

Genera occurring in soil	Other genera	Environment
Achaeta	Aspidodrilus	epizoic on earthworms
Bryodrilus	Barbidrilus	freshwater
Buchholzia	Enchylea	only found in Enchytraeid culture
Cernosvitoviella	Enchytraeina	marine
Cognettia	Grania	marine
Enchytraeus	Pelmatodrilus	epizoic on earthworms
Enchytronia	Propappus	freshwater
Fridericia	Randidrilus	marine
Guaranidrilus	Stephensoniella	marine
Hemienchytraeus		
Hemifridericia		
Henlea		
Isosetosa		
Lumbricillus		
Marionina		
Mesenchytraeus		
Oconnorella		
Stercutus		
Tupidrilus		

Bioindikace v půdě pomocí roupic

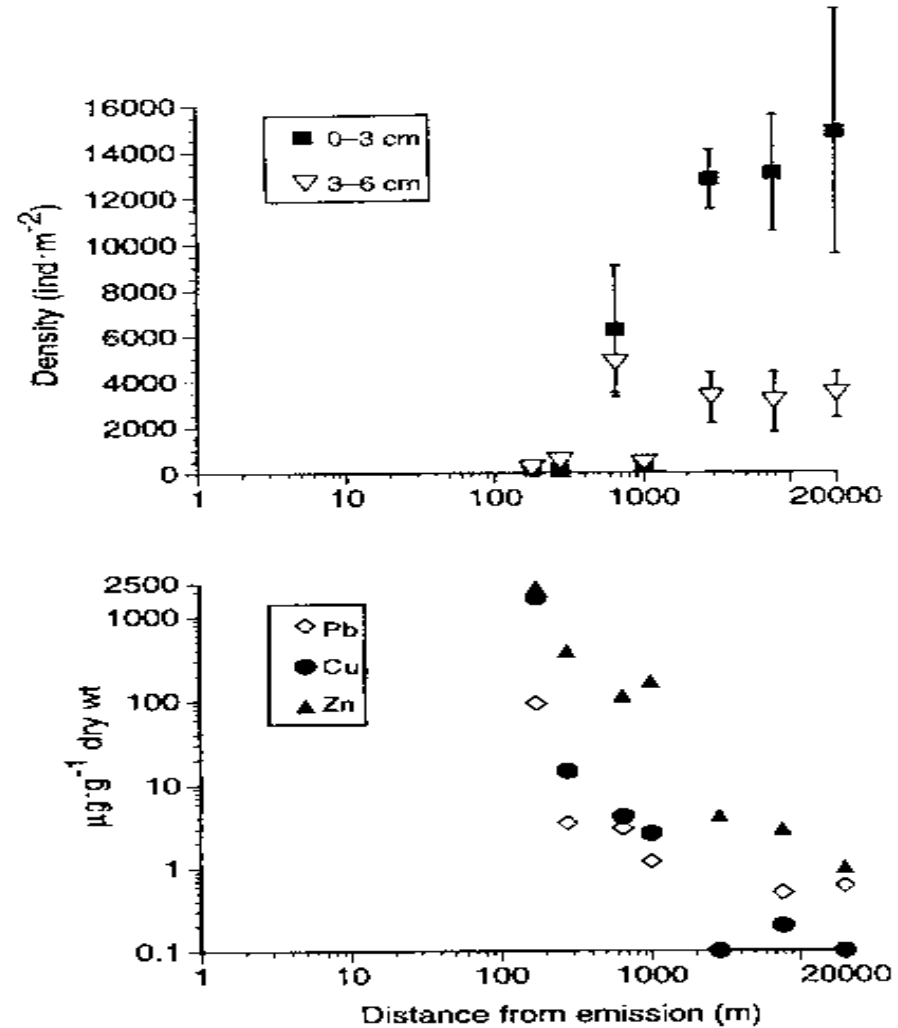


Figure 6.1 Vertical distribution of enchytraeids sampled in coniferous forest soils polluted by metal emission from a brass mill. Total densities are low, when metal concentrations are high in the uppermost soil layers. The control site at a distance of approximately 20 km shows the typical pattern of the vertical distribution of enchytraeids in forest soils. (Redrawn from Bengtsson and Rundgren 1982.)

Bioindikace v půdě pomocí roupic

- kyselá depozice jako stres na společenstvo roupic v reálném lesním ekosystému
- byla studována společenstva roupic, abundance, populační dynamika a vertikální distribuce na lokalitách zatížených kyselou depozicí (pH CaCl₂ 3,01 - 3,36)
- bylo nalezeno 7 druhů
- z ekotoxikologického hlediska by se studii dalo vytknout, že není kontrolní lokalita

Table 2

Species composition, mean annual density (\pm standard error of the mean) and biomass (dry mass) of Enchytraeidae in three spruce forest plots at the Lange Bramke (Harz, Germany, November 1989–October 1990; species recorded only in 1991 indicated by +)

Plot	North-facing slope		South-facing slope		Plateau	
	Density (ind. m ⁻²) \pm S.E.	Biomass (mg m ⁻²)	Density (ind. m ⁻²) \pm S.E.	Biomass (mg m ⁻²)	Density (ind. m ⁻²) \pm S.E.	Biomass (mg m ⁻²)
<i>Marionina clavata</i> (Nielsen and Christensen, 1961)	23 668 \pm 8 238	151.2	18 434 \pm 6 169	123.6	30 388 \pm 10 297	208.7
<i>Cognettia sphagnetorum</i> (Vejdovský, 1877)	9 436 \pm 4 180	301.5	9 861 \pm 5 164	316.7	22 183 \pm 9 342	754.5
<i>Achaeta camerani</i> (Cognetti, 1899)	7 079 \pm 2 882	28.2	9 153 \pm 7 015	36.6	5 984 \pm 3 337	23.9
<i>Achaeta affinis</i> (Nielsen and Christensen, 1959)	608 \pm 1 387	7.9	71 \pm 113	0.9	0	0
<i>Mesenchytraeus pelicensis</i> (Issel, 1905)	57 \pm 109	8.5	0	0	113 \pm 166	16.9
<i>Fridericia</i> sp. (Michaelsen, 1889)	0	0	85 \pm 208	18.5	0	0
<i>Enchytraeus norvegicus</i> (Abrahamsen, 1969)	0	0	+	0	0	0
Enchytraeidae (total)	40 814 \pm 11 921	497.3	37 603 \pm 11 789	496.3	58 668 \pm 16 953	1 004.00

Bioindikace v půdě pomocí nematod

- odběry buď půdní jádra či vrchních 15 – 30 cm půdy
- **extrakce aktivní** – založená na mobilitě nematod - **Baermannova metoda** a její modifikace:
 - půda zabalená v látce či papíru
 - ponoření do vody
 - nematoda vyplavou do vody a spadnou dolů gravitací
- **extrakce pasivní** - nezávisí na pohybu nematod - **centrifugační, cedící a flotační metody**:
 - půda se zředí vodou
 - použijí se různá síta či sedimentace



Bioindikace v půdě pomocí nematod

Baermannova metoda



extrakce od 3 min

Bioindikace v půdě pomocí nematod

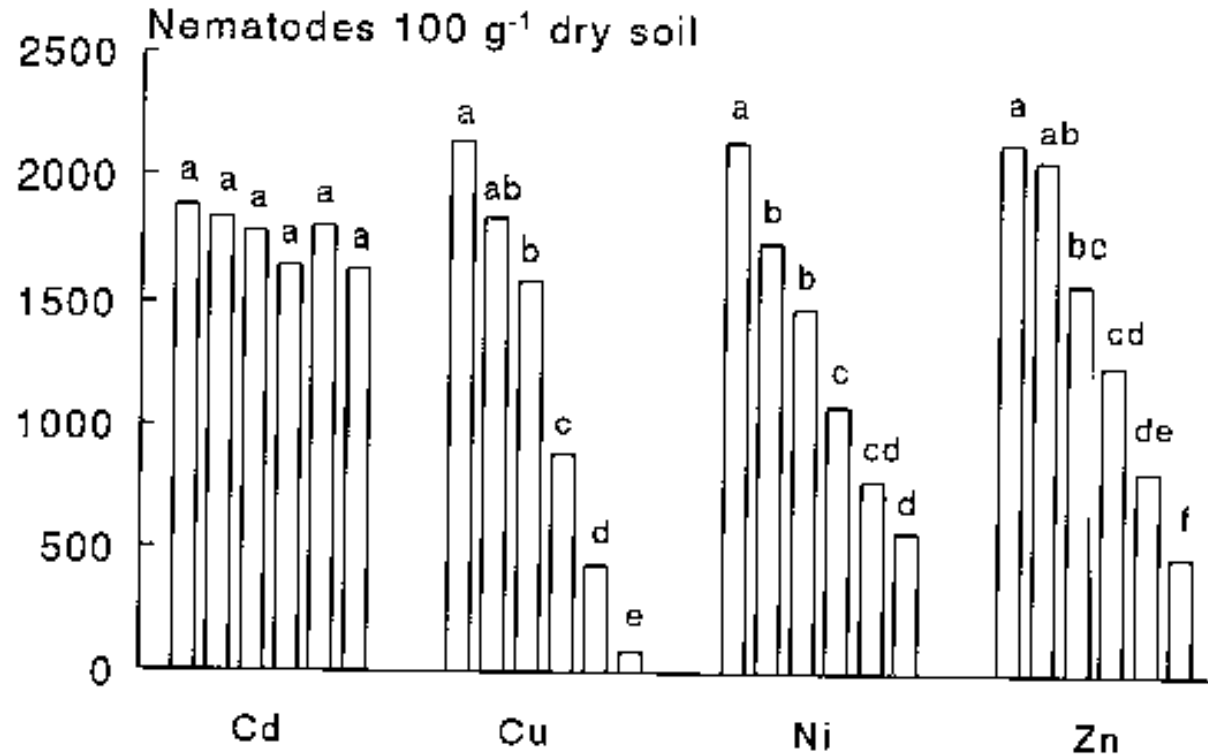


Figure 2. Effects of Cd (0, 10, 20, 40, 80 and 160 mg kg⁻¹) and Cu, Ni and Zn (0, 100, 200, 400, 800 and 1600 mg kg⁻¹) on total nematode abundance after 1-2 weeks exposure. Different letters indicate significant differences between treatments with one metal (HSD test, $P < 0.05$).

Bioindikace v půdě pomocí nematod

- 10 let působení mědi na lokalitách s různým pH půdy
- jednoznačná souvislost mezi ekotoxickým účinkem mědi a pH: ve variantách s nižším pH byla vyšší extrahovatelnost Cu chloridem vápenatým, tudíž i očekávaná vyšší koncentrace v půdním roztoku → vyšší biodostupnost → efekt na hlístice

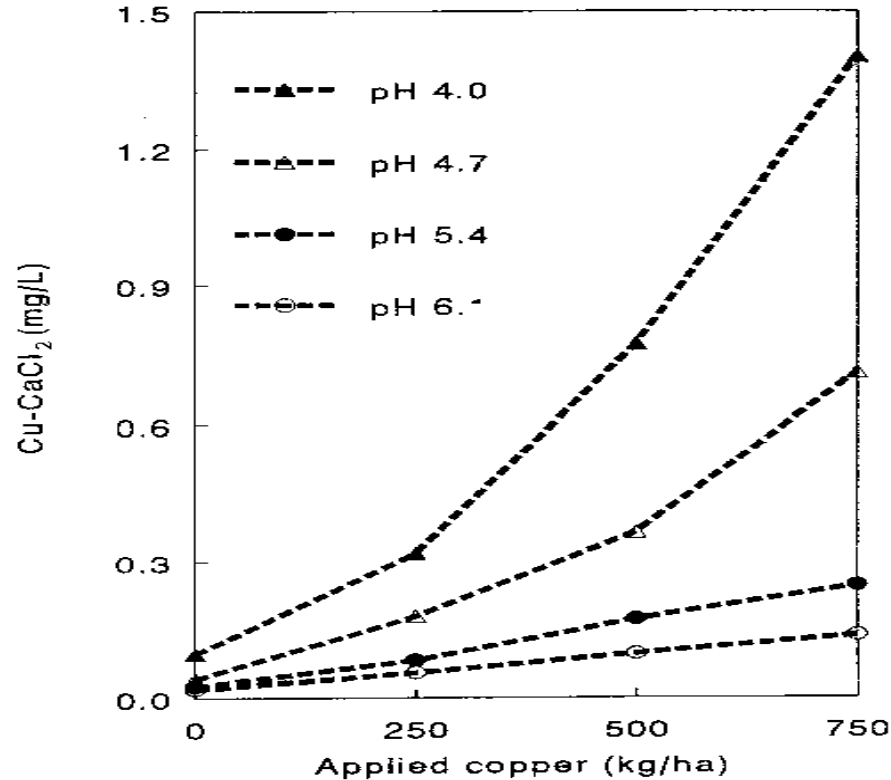


Fig. 2. Mean Cu-CaCl₂ concentrations ($n = 8$) 10 years after copper and pH treatments in 1982.

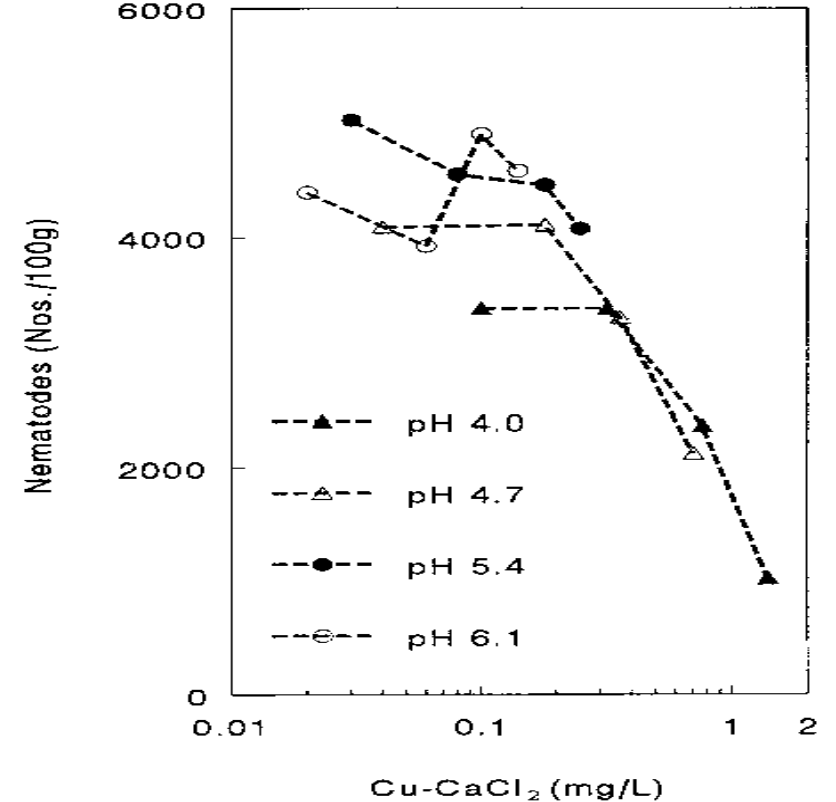


Fig. 3. Mean total number of nematodes ($n = 8$; 1992) found for each treatment combination.

Bioindikace v půdě pomocí nematod

- nematoda se počítají a identifikují (např. dle Bongerse, 1988) fixovány ve 4% formalinu při zvětšení 400 - 1000× (nejméně 150 nematod)
- kromě klasického stanovení **abundance** celkové či hodnocení do druhů a **diverzity** i alternativní přístupy:
 - začlenění do potravních skupin (**guild**)
 - **maturity index**

Bioindikace v půdě pomocí nematod

■ začlenění do potravních skupin (guild)

- bakterivoři, mikrobivoři - konzumují půdní bakterie
- fungivoři - konzumují hyfy a mycelia hub
- herbivoři, fytofágové - jsou parazité rostlin
- omnivoři - různé zdroje potravy, houby řasy, bakterie, malí bezobratlí
- carnivoři, pradátoři - loví nematody a malé brzobratlé

Table 2.8 Feeding habits of nematode orders found in soil ecosystems

Order	Bacterivores	Fungivores	Herbivores	Omnivores	Predators	Other
<i>Class Adenophorea</i>						
Aracolaimida	All soil forms					
Chromadorida	Few					Mostly algivores
Desmodorida	Some?					
Dorylaimida		Some	Some	Some	Some	
Enoplida	Some			Few	Some	
Monhysterida	Most soil forms					
Mononchida	Few				Most	
<i>Class Secernentea</i>						
Aphelenchida		Many	Some		Few	Many insect associates
Rhabditida	Most				Some	Some insect parasites
Tylenchida		Some	Most			Some plant associates, some insect parasites

Bioindikace v půdě pomocí nema

- začlenění do potravních guild



Figure 3: Fungal-feeding nematodes have small, narrow stylets, or spears, in their stoma (mouth) which they use to puncture the cell walls of fungal hyphae and withdraw the cell fluid. This interaction releases plant-available nitrogen from fungal biomass.

Credit: Elaine R. Ingham, Oregon State University, Corvallis



Figure 5: The *Pratylenchus*, or lesion nematode, has a shorter, thicker stylet in its mouth than the root feeder in Figure 6.

Credit: Kathy Merrifield, Oregon State University, Corvallis



Figure 4: This bacterial-feeding nematode, *Elaphonema*, has ornate lip structures that distinguish it from other nematodes. Bacterial-feeders release plant-available nitrogen when they consume bacteria.

Credit: Elaine R. Ingham, Oregon State University, Corvallis

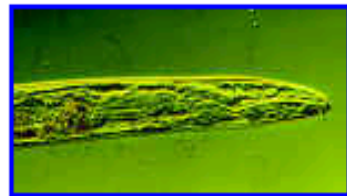
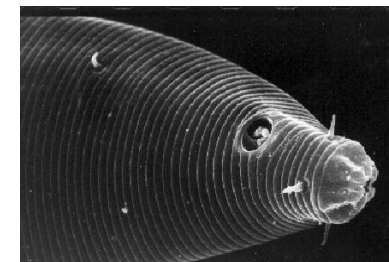
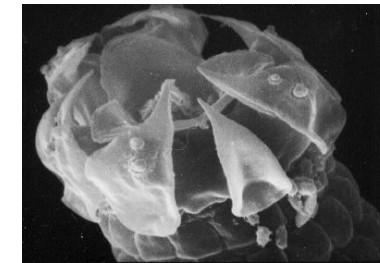
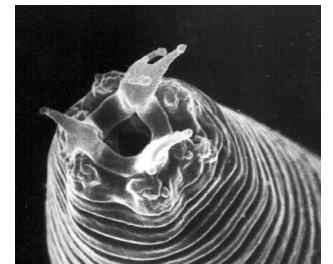
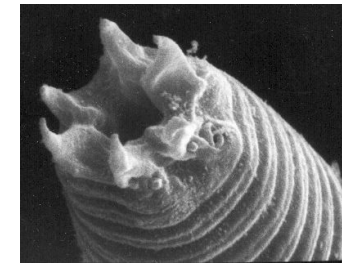
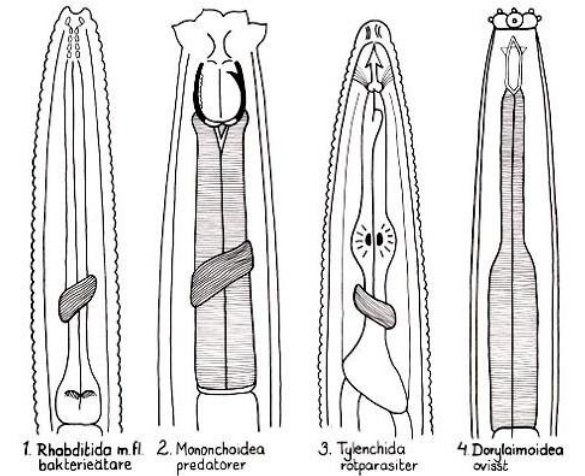


Figure 6: Root-feeding nematodes use their stylets to puncture the thick cell wall of plant root cells and siphon off the internal contents of the plant cell. This usually causes economically significant damage to crops. The curved stylet seen inside this nematode is characteristic of the genus *Trichodorus*.

Credit: Elaine R. Ingham, Oregon State University, Corvallis



Bioindikace v půdě pomocí nematod

- začlenění do potravních guild
- prokázána vyšší citlivost parametrů složení společenstva než celkové abundance
- Na kombinace pH a kontaminace mědí různě reagovaly bakterivorní a fungivorní nematody
- jako citlivé se ukázaly predátoři a omnivorní (díky tomu, že jsou to většinou K stratégové

Table 3. Abundance* of trophic groups (N/100 g) in 1992

Treatment pH-KCl	4.0				4.7			
	kg Cu·ha ⁻¹							
	0	250	500	750	0	250	500	
Bacterial-feeding	1,503 bcdef	1,381 bcde	1,110 ab	506 a	1,587 bcdef	1,489 bcdef	1,212 abcd	1,1258
Hyphal-feeding	684 abc	739 abc	836 abc	394 abc	477 abc	394 abc	564 abc	40
Plant-feeding	1,180	1,252	420	127	1,978	2,216	1,500	
Omnivores	10 ab	6 ab	0 a	0 a	33 bc	2 ab	13 ab	
Carnivores	3	2	0	0	19	13	9	8

*Average abundances (n = 8) within one row followed by different letters differed significantly (p < 0.05). **p < 0.01. ***p < 0.001.

Table 3. Extended

0	6.1							Main effect ^a		
	5.4							Cu	pH	Inter-action
	250	500	750	0	250	500	750			
2,197 f	1,860 cdef	1,833 bcdef	1,889 def	1,739 bcdef	1,522 bcdef	2,004 ef	2,211 f	*	***	***
477 abc	641 abc	908 c	877 bc	351 a	366 ab	631 abc	602 abc	**	**	*
2,348	2,031	1,708	1,304	2,202	1,963	2,242	1,754	***	***	
16 abc	11 ab	11 abc	0 a	100 c	39 bc	14 abc	10 ab		**	
14	12	8	0	9	34	7	8			

Bioindikace v půdě pomocí nematod

- In general terms the rate of decomposition of organic matter increases following effluent (sewage sludge → high contamination but also high organic matter content) application and can be related to an increase in the abundance of bacterial-feeding nematodes and a decrease in fungal-feeding nematodes.

Table 18

Percentage contribution of feeding groups to the nematode faunae of two New Zealand agroecosystems with and without application of effluent (from Yeates, 1978, 1995)

Ecosystem	Pasture		<i>Pinus</i> forest	
	Soil texture		Sand	
	Control	Effluent	Control	Effluent
Bacterial feeders	29.7	37.2	43.2	65.6
Fungal feeders	8.8	4.2	23.2	4.8
Predators	1.2	0.8	1.1	6.2
Plant-feeding	14.0	14.5	2.0	8.3
Plant associated	32.0	29.1	8.0	2.1
Omnivores	14.3	14.2	22.5	12.9

Bioindikace v půdě pomocí nematod

- In a German cropping soil, addition of slightly contaminated sludge led to a decrease in the proportion of plant-feeding nematodes . When additional heavy metals were added the principal change was a five-fold increase in the proportion of what Weiss and Larink (1991) termed predacious nematodes (we would regard the Diplogasteridae identified to be bacterial-feeding); the omnivores (mainly Dorylaimida) became undetectable. A New Zealand pasture showed broadly similar trends, with increases in bacterial-feeders and predators and a decrease in omnivores

Table 19

Percentage contribution of feeding groups to the nematode faunae of two agroecosystems with addition of sludge and heavy metals, and contaminated to differing degrees with copper, chromium, arsenic (CCA) timber preservative (from Weiss and Larink, 1991; Yeates et al., 1994)

Agroecosystem Soil texture	Cropping (Germany) Loamy sand			Pasture (New Zealand) Silt loam (stony)			
	Control	Sludge	Sludge+ heavy metals	Control	Low CCA	Medium CCA	High CCA
Bacterial feeders	18	40	42	18.1	29.4	62.3	48.3
Fungal feeders	33	30	31	1.5	3.0	2.4	0.5
Predators	0	2	10	0.9	1.3	7.6	10.6
Plant-feeding	43	27	18	36.8	27.4	11.2	28.4
Plant associated	in above	in above	in above	13.6	20.4	8.8	10.2
Omnivores	5	1	0	29.0	18.4	7.7	2.0

Bioindikace v půdě pomocí nematod

■ Maturity index

$$MI = \sum_{i=1}^n v(i) \cdot f(i)$$

- $v(i)$ je **c-p (coloniser-persister hodnota)** hodnota taxonu i a $f(i)$ je frekvence se kterou se taxon vyskytuje
- jak je vidět ze vzorečku je **váženým průměrem c-p hodnot**
- c-p hodnoty reflektují pozici taxonu **na škále r-K strategie**
- je ekologickou mírou stavu sukcese
- nezahrnují se rostlinně-parazitické rody
- v půdách pod stresem těžkých kovů se nezahrnují c-p=1 (enrichment opportunists), neboť se silně liší mikrobiální aktivita půd

Bioindikace v půdě pomocí nematod

■ Plant parasitic index (PPI)

- počítá se stejně jako MI, ale jen pro rody krmící se (parazitující) rostlinami (zejména rody *Tylenchus*, *Cephalenchus*, *Meloidogyne*, *Heterodera*, *Helicotylenchus*, *Pratylenchus* a *Paratylenchus*)
- dříve se tyto rody počítaly do MI a tím se snižovala jeho citlivost, neboť byly prokázány inverzní vztahy mezi MI a PPI
- existuje **poměr MI/PPI**, který se tím pádem stává ještě citlivější na hodnocení vlivů na společenstva nematod

Bioindikace v půdě pomocí nematod

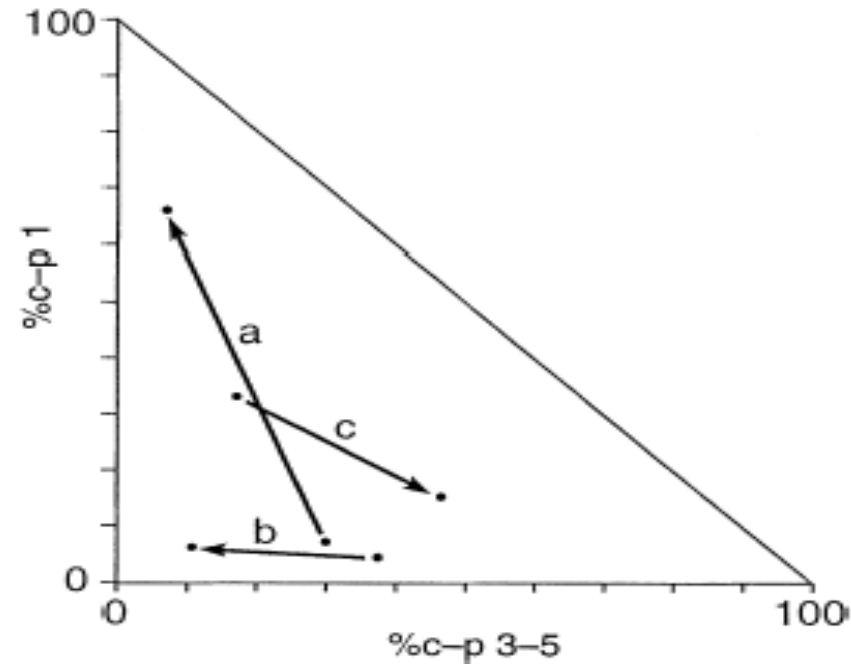


Fig. 2. *c-p* triangle showing shifts during (a) eutrophication, initial situation and 2 weeks after adding powdered cow-dung (Ettema and Bongers, 1993); (b) artificial acidification of coniferous forest soil (Hyvönen and Persson, 1990) and c) recovery, 33 and 44 weeks after organic manuring (Ettema and Bongers, 1993). (After Bongers et al., 1995).

Table 2

Nematode families with the *c-p* values which are used in calculating the maturity index (MI) and related values (PPI, Σ MI). Includes changes proposed by Bongers et al. (1995)

Family	<i>c-p</i> value
Alaimidae	4
Aphelenchidae	2
Aphelenchoididae	2
Anguinidae	2 ^a
Aporcelaimidae	5
Bastianiidae	3
Belonidiridae	5
Bunonematidae	1
Cephalobidae	2
Chromadoridae	3
Criconematidae	3 ^a
Diphtherophoridae	3
Diplogasteridae	1
Dolichodoridae	3 ^a
Hemicycliophoridae	3 ^a
Hoplolaimidae	3 ^a
Leptonchidae	4
Longidoridae	5 ^a
Monhysteridae	2
Mononchidae	4
Nordiidae	4
Panagrolaimidae	1
Paratylenchidae	2 ^a
Plectidae	2
Pratylenchidae	3 ^a
Prismatolaimidae	3
Qudsianematidae	4
Rhabditidae	1
Teratocephalidae	3
Thornematidae	5
Tobrilidae	3
Trichodoridae	4 ^a
Tripylidae	3
Tylenchidae	2 ^a

^a Values for families which should be included in the PPI rather than the MI.

Bioindikace v půdě pomocí nematod

- sledován efekt depozice amoniaku unikajícího z farmy drůbeže na společenstvo nematod v půdě borovicového lesa
- correlation between NH₃ deposition and plant-feeding nematods and insect associated Dauer larvae
- decreasing proportions of bacterial-feeding nematodes and fungal-feeding and omnivorous nematodes
- increase in PPI and decrease in MI

Table 16

Relation between ammonia deposition gradient in a *Pinus sylvestris* plantation and composition of the nematode fauna (after Tamis, 1986)

	Distance from source (m)		
	75	150	400
Total nitrogen deposition (kg N ha ⁻¹ per year)	68.0	52.5	47.9
Soil nitrogen (μg g ⁻¹)	27	15	3
Stem flow (mg NH ₄ ⁺ l ⁻¹)	45	30	15
Soil pH	4.9	5.2	5.3
Total nematodes (thousands m ⁻² in litter and 0–20 cm soil)	1302	1023	916
% bacterial-feeding	26.9	23.4	47.0
% fungal-feeding	11.5	18.8	21.9
% plant-feeding	54.2	53.9	22.2
% omnivores	0.3	0.4	7.1
% insect associates	7.1	3.5	1.8
Maturity index (MI)	2.03	2.37	2.46
Plant parasite index (PPI)	2.96	2.80	2.27
Simpson diversity	0.87	0.88	0.93



Bioindikace v půdě pomocí nematod

- Popovici (1994) studied the effect of exhaust fumes and fine powder discharged from a metallurgical plant on the soil nematode communities in forest agroecosystems
- As lead and copper pollution increased, nematode abundance decreased; diversity (H') and maturity index (MI) also decreased.
- The percentage of r-strategists (bacterivores) increased from 50 to 72%, while plant-feeding nematodes were reduced and both omnivores and predators disappeared.
- Similarly, in the vicinity of a zinc smelter in The Netherlands, Popovici and Korthals (1995) found pollution-associated decreases in total nematodes, plant-feeding nematodes and the maturity index; bacterial-feeders again increased.

Table 17

Comparison of 12 sites near a zinc smelter in The Netherlands with five control sites (after Popovici and Korthals, 1995)

	Control	Polluted
Vegetation	<i>Calluna, Betula</i>	<i>Calluna, Agrostis</i>
<i>Nematodes</i>		
Total m^{-2} in 0–10 cm soil	2,520,000	1,970,000
% plant-feeding	30	17
% bacterial-feeding	42	58
% fungal-feeding	26	24
Maturity Index	2.14–2.45	1.86–2.07

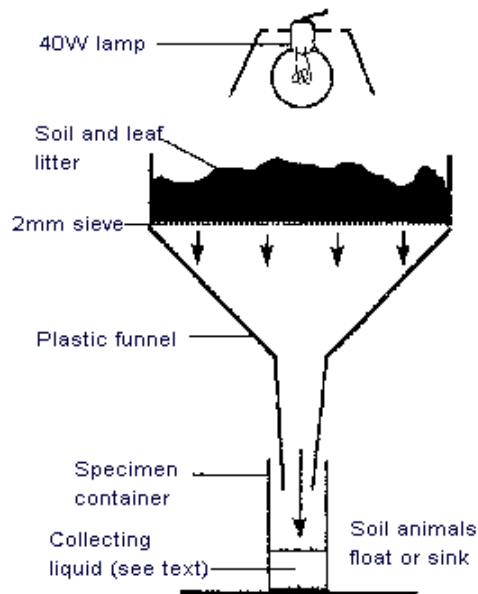
Bioindikace v půdě pomocí mikročlenovců

- **půdní mikročlenovci = chvostoskoci, roztoči** + protura, diplura, pauropoda, symphyla – mesofauna 100 μm – 2 mm
- **půdní vzorkovač – jádro** – neporušený vzorek
- válečky se zabalí a skladují v chladu (5-10°C)
- **extrakční techniky** jsou založeny na
 - chování zvířat (aktivní)
 - velikosti, hmotnosti, hydrofobicitě, hustotě apod. (pasivní)

Bioindikace v půdě pomocí mikročlenovců

Tullgrenova / Berlesova extrakce

- teplotní, světelný a vlhkostní gradient
- členovci se přemístí do kontrolovaného média - výhodou je získání živých organismů (nádobka s vodou)
- pro fixaci se nádobka dole naplní 70% ethanolem apod.
- doba extrakce 12-48 hod



Tullgren Funnel

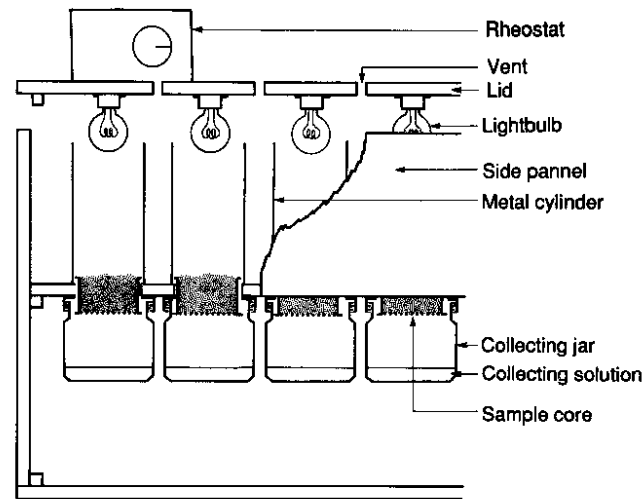


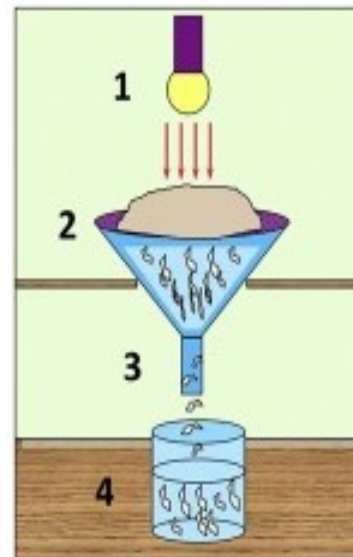
FIGURE 31.2. The front view of a high-gradient extractor for microarthropods.

Berlese dry extraction

Berlese extractor diagram:

1. Heat (and light) source;
2. Funnel and metal mesh (≤ 4 mm) holding the fresh soil sample;
3. Animals moving away from the light and the heat and falling in the collecting container;
4. Collecting recipient filled with 70-90% ethanol to preserve the specimens.

Extraction duration: 72 h



Bioindikace v půdě pomocí mikročlenovců

Tullgrenova / Berlesova extrakce



Bioindikace v půdě pomocí mikročlenovců

flotační metody – pasivní

- vzorky nejprve v 80% ethanolu, pak vlastní extrakce
- extrakční medium (heptan-voda ... směs olej-voda, tetrachlormethan, roztoky solí NaCl, CaCl₂, K₂CO₃ ...,)

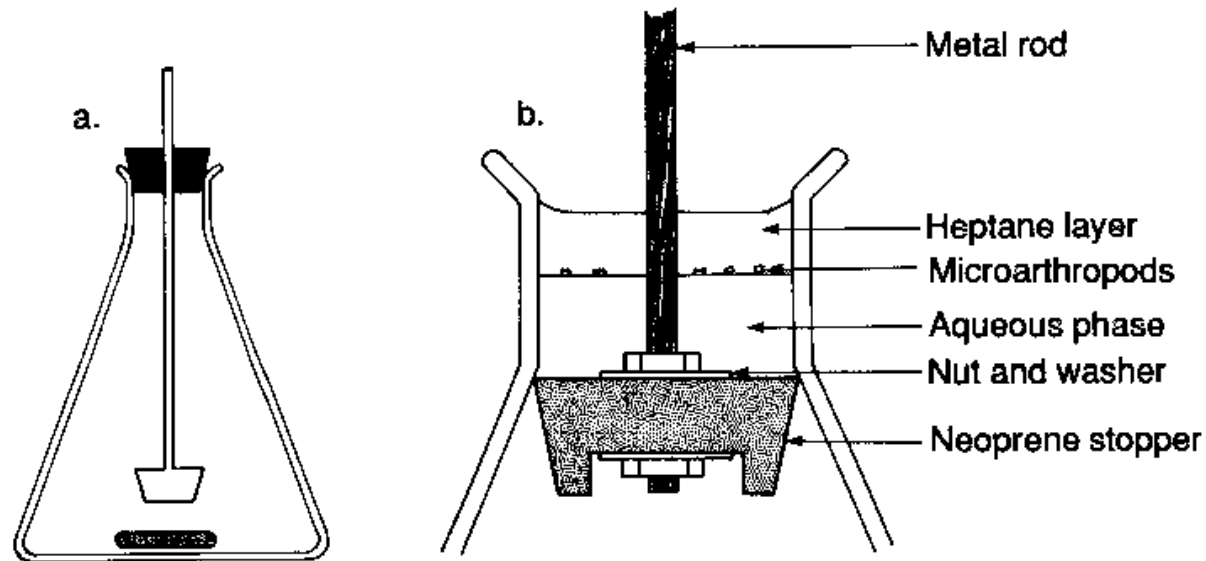


FIGURE 31.3. Equipment for heptane flotation of microarthropods.

Bioindikace v půdě pomocí mikročlenovců

- identifikace do druhů, rodů nebo do významných ekologických skupin (např. dle potravních strategií)
- klíče k určování včetně těch online:
- <https://www.collembola.org/key/collembo.htm>



Bioindikace v půdě pomocí mikročlenovců

- populace se mění po zásahu pesticidů
- poté po vymizení chemikálií se obnovuje celková abundance
- ale jednotlivé druhy, tj. struktura společenstva se stále odlišuje od kontroly → nutnost sledovat celé společenstvo

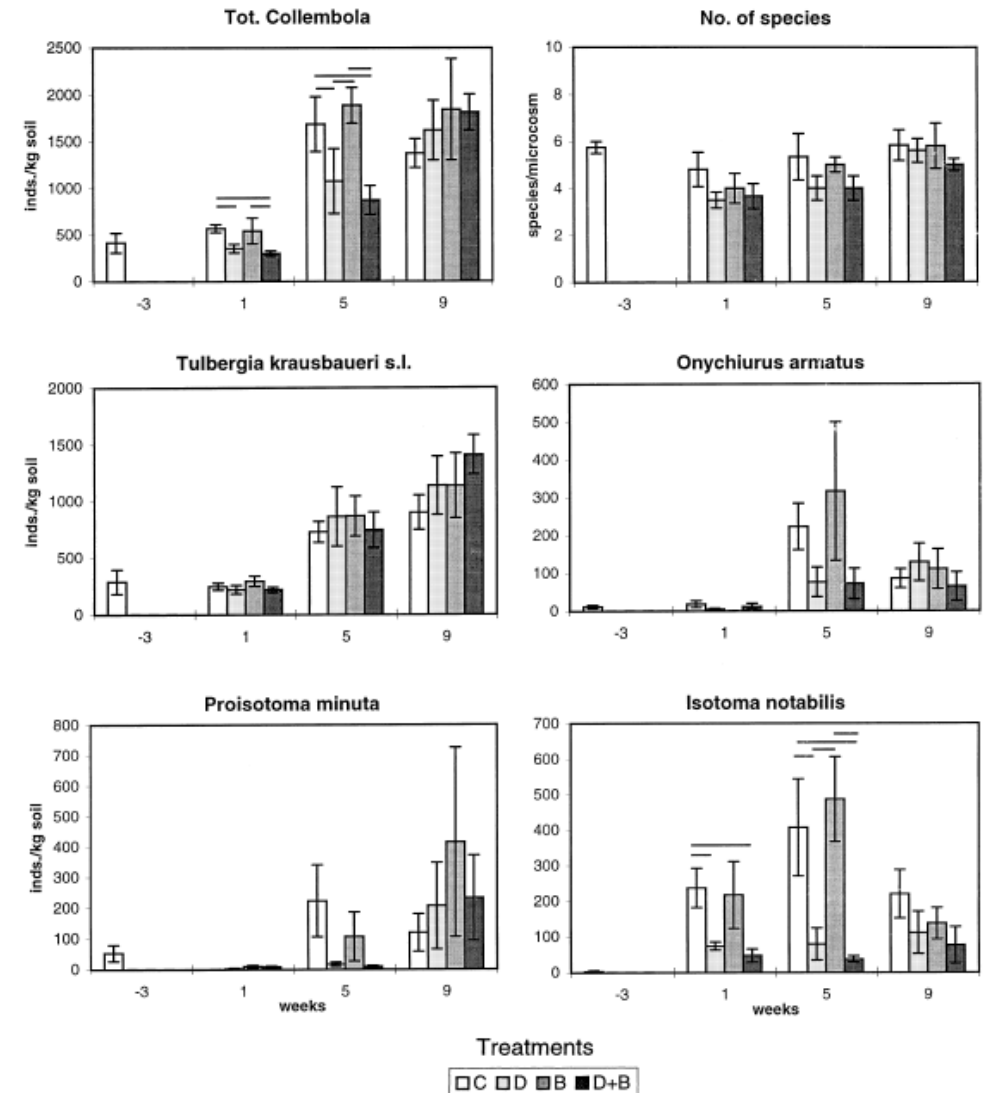


Fig. 1. Numbers of the most numerous collembolan species and total collembolans in the microcosms before and after the pesticide application. Data for the upper and lower soil layers are combined. For treatments see Table 1. Means of 4-6 replicates with S.E. Horizontal bars indicate significant differences between treatment means (Mann-Whitney U-test, $p < 0.05$).

Bioindikace v půdě pomocí mikročlenovců

- polní pokus s herbicidy v dávce 2× a 6× doporučené dávky
- dávka 2× neměla výrazný efekt na abundance, ale dávka 6× redukovala abundance mikročlenovců
- zejména v horní vrstvičce půdy 0-7,5 cm

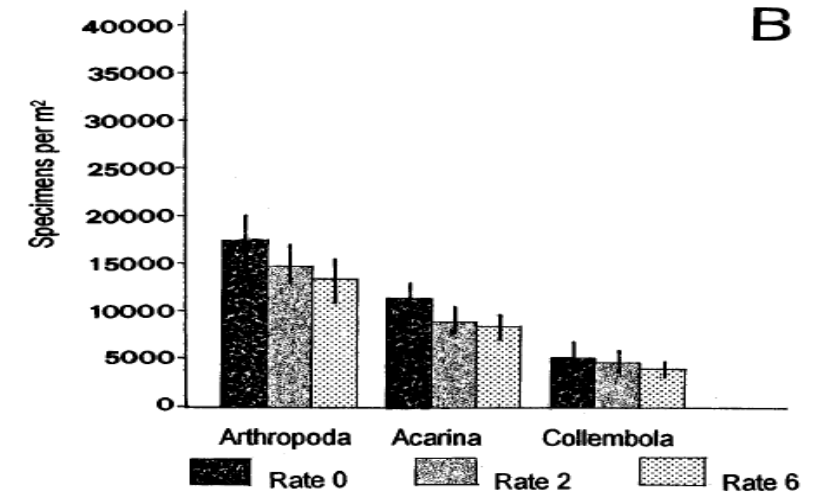
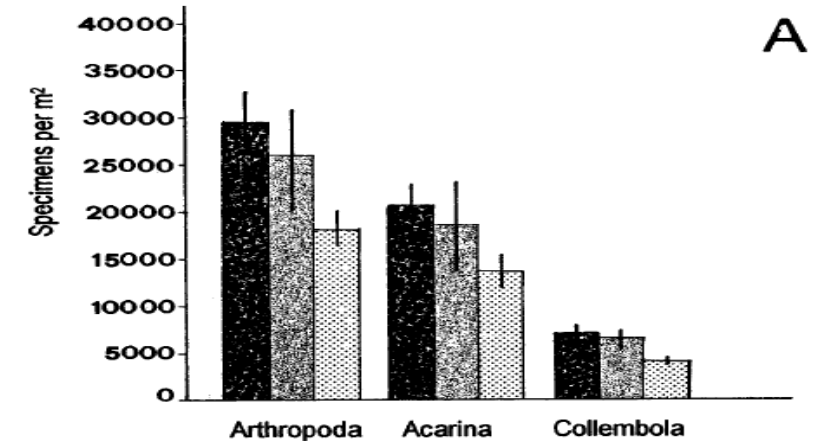


Fig. 2 Abundance of different animal groups in the surface layer (**A**) and deep layer (**B**) of a control plot (*rate 0*) and of two plots treated with *rate 2* and 45 g a.i. ha⁻¹ (*rate 6*) of triasulfuron at Carpi. Mean and SE of the mean are given for untransformed data. For other abbreviations, see Fig. 1

Bioindikace v půdě pomocí mikročlenovců

- chvostokoci byli identifikováni do druhů
- efekty se lišily u různých druhů

Table 1 List of Collembola species and relative presence (+) or absence (-) in the two experimental fields exposed to triasulfuron. *a.i.* Active ingredient

Species	Carpi			Ozzano	
	0 g a.i. ha ⁻¹	15 g a.i. ha ⁻¹	45 g a.i. ha ⁻¹	0 g a.i. ha ⁻¹	15 g a.i. ha ⁻¹
<i>Willemia budenbrocki</i> Hüther 1959	+	+	+	+	-
<i>Willemia anophthalma</i> Börner 1901				+	-
<i>Brachystomella parvula</i> (Schäffer 1896)				-	+
<i>Mesaphorura krausbaueri</i> Börner 1901				+	+
<i>Isotomiella minor</i> (Schäffer 1896)	+	+	+	+	+
<i>Folsomides parvulus</i> Stach 1922	+	+	+	+	+
<i>Cryptopygus thermophilus</i> (Axelson 1900)	+	+	-	+	+
<i>Cryptopygus ponticus</i> (Stach 1947)	+	+	+	+	-
<i>Isotoma notabilis</i> Schäffer 1896	+	+	+	+	+
<i>Isotoma olivacea</i> Tullberg 1871	+	-	-		
<i>Isotomodes sexsetosus</i> Gama 1963				+	-
<i>Isotomurus palustris</i> (Müller 1776)	+	-	+	+	+
<i>Entomobrya multifasciata</i> (Tullberg 1871)	+	+	+		
<i>Heteromurus major</i> (Moniez 1889)	+	+	+		
<i>Heteromurus nitidus</i> (Templeton 1835)				-	+
<i>Pseudosinella albida</i> (Stach 1930)	+	+	+	+	+
<i>Pseudosinella octopunctata</i> Börner 1901	+	+	-	+	+
<i>Pseudosinella imparipunctata</i> Gisin 1953	+	+	+	+	+
<i>Pseudosinella sexoculata</i> Schött 1902	+	+	+		
<i>Lepidocyrtus violaceus</i> Lubbock 1873	+	-	-		
<i>Oncopodura crassicornis</i> Shoebotam 1911	+	+	+	+	+
<i>Megalothorax minimus</i> Willem 1900	+	+	+	+	+
<i>Sminthurides schoetti</i> (Axelson 1903)	+	-	-	+	+
<i>Sphaeridia pumilis</i> (Krausbauer 1898)	+	-	+		
<i>Arrhopalites sericus</i> Gisin 1947				+	+
<i>Sminthurinus</i> sp.	+	+	+		
<i>Sminthurus</i> sp.				+	-

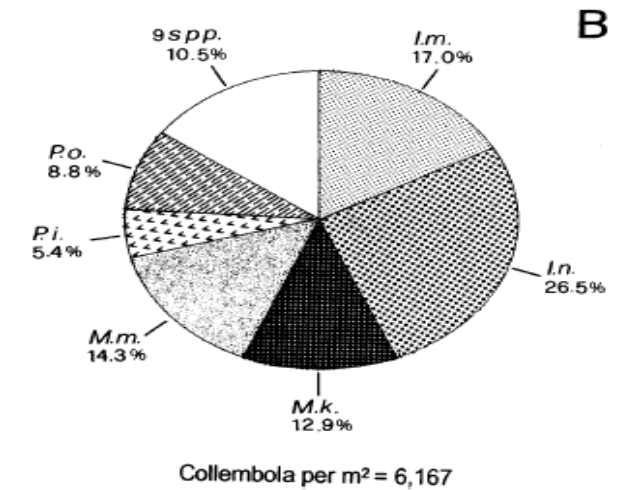
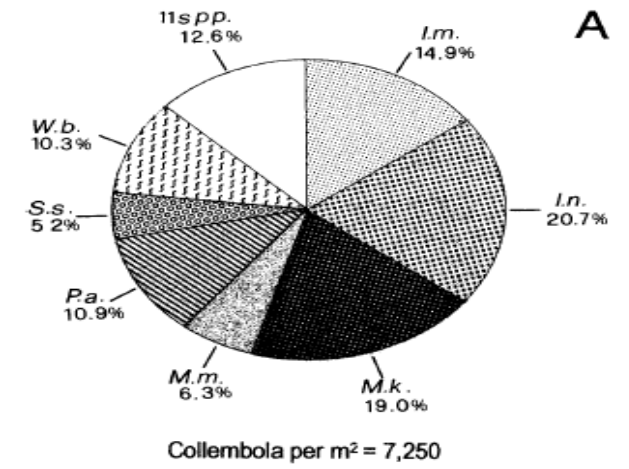
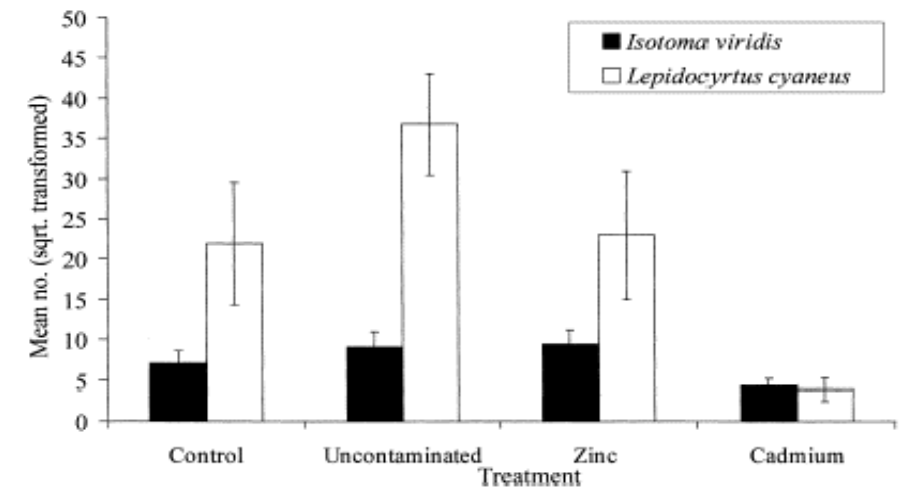
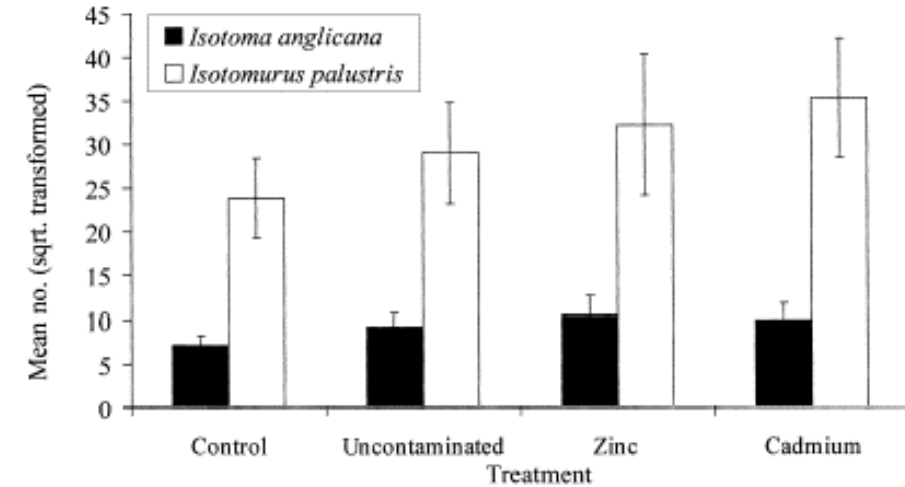


Fig. 3 Dominance and relative distribution of main collembolan species in a plot at Ozzano immediately before (A) and 5 days after treatment with rate 2 of triasulfuron (B). The species with densities less than <5% are represented by spp. *Im.* *Isotomiella minor*, *In.* *Isotoma notabilis*, *M.k.* *Mesaphorura krausbaueri*, *M.m.* *Megalothorax minimus*, *Pa.* *Pseudosinella albida*, *S.s.* *Sminthurides schoetti*, *W.b.* *Willemia budenbrocki*, *P.i.* *Pseudosinella imparipunctata*, *P.o.* *Pseudosinella octopunctata*

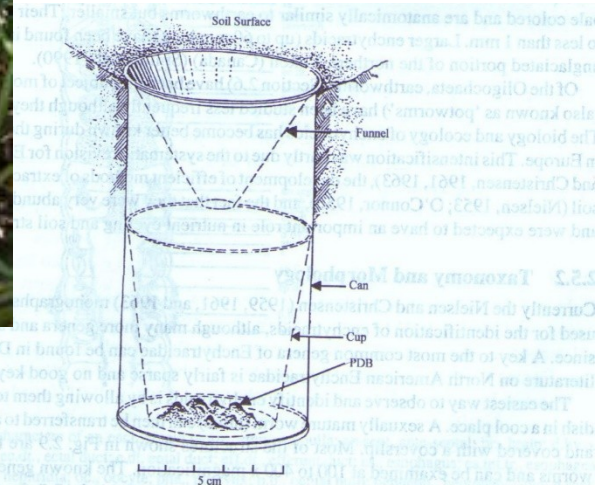
Bioindikace v půdě pomocí mikročlenovců

- Using Collembola to assess the risks of applying metal-rich sewage sludge to agricultural land in western Scotland
- The environmental impact of applying metal-rich sewage sludge to agricultural land was assessed using Collembola.
- A combination of pitfall trapping and suction sampling was used to monitor epigeal/hemiedaphic Collembola on a small plot field trial in the west of Scotland.
- Four sludge treatments were investigated: cadmium-rich sludge, zinc-rich sludge, uncontaminated sludge and a no-sludge control.
- It was found that the abundance of *Lepidocyrtus cyaneus* and *Isotoma viridis* was significantly lower in plots receiving cadmium-rich sludge than those receiving uncontaminated sludge.
- Isotoma anglicana* was not influenced by the presence of metals in sludge and *Isotomurus palustris* was actually favoured by the application of metal-rich sludge.



Bioindikace v půdě pomocí členovců

- větší než mikročlenovci, v půdě i na jejím povrchu
- vzorkování pomocí větších **Tullgrenovým extraktorům**
- v terénu odchyt do **zemních pastí**

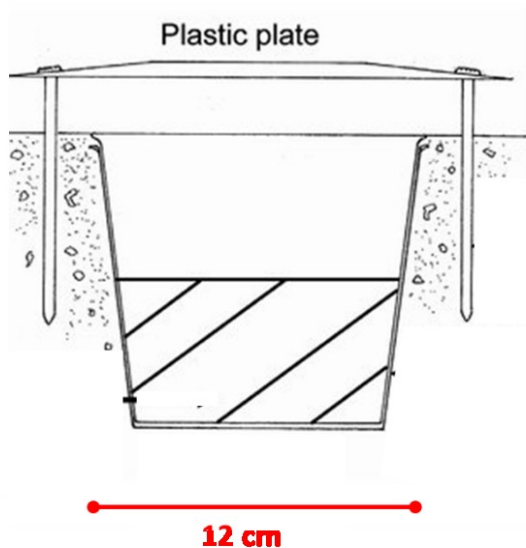
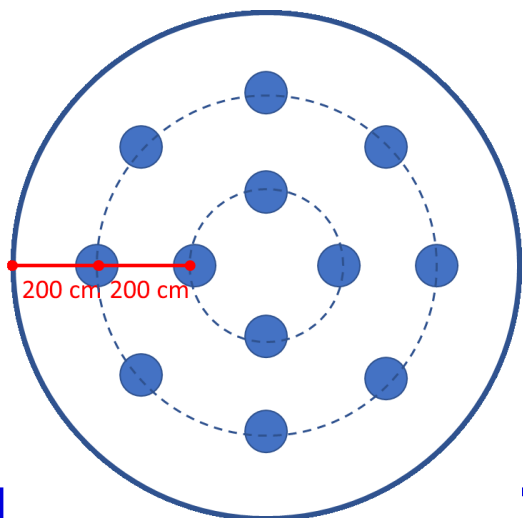


A pitfall trap for surface-active macroarthropods. PDB, *p*-dichlorobenzene preservative [Reprinted from Crossley and Crossley, 1965, Radioecesium dispersion in a cryptozoan food web. Health Phys. 11:1375-1384, with permission of Williams & Wilkins, Baltimore, MD]

Bioindikace v půdě pomocí členovců

Odchyt do zemních pastí

- například kruh s poloměrem 5,6 m = plocha 100 m²
- ohraničení „plůtkem“ z folie 30 cm
- zakopat kelímky s poloměrem 6 cm, 12 cm výška, stříška 2 cm vysoko, 20x20 cm bílý plast, uvnitř solí nasycená voda pro konzervaci členovců



12 cm

12 cm

Bioindikace v půdě pomocí členovců

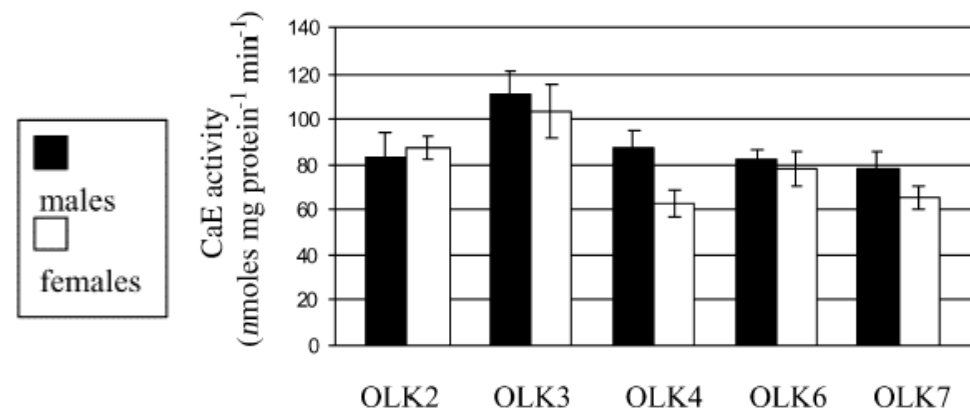
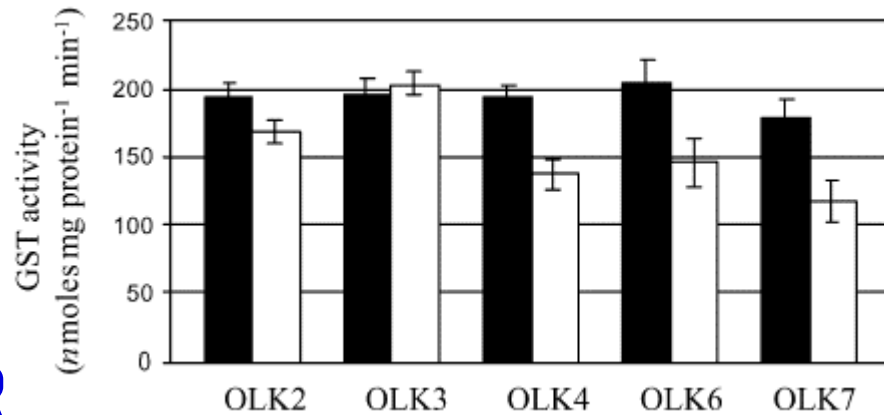


Bioindikace v půdě pomocí členovců

- Non-specific carboxylesterase and glutathione S-transferase activity was measured in the ground beetle, *Pterosthicus oblongopunctatus* (Coleoptera: Carabidae), from five sites along a gradient of heavy metal pollution.

Table 1
Mean concentrations of four heavy metals (\pm S.D.) detected in the humus layer along the heavy metal gradient

Site	Zn (mg kg^{-1})	Cd (mg kg^{-1})	Cu (mg kg^{-1})	Pb (mg kg^{-1})
OLK2	10454 (2618)	81.9 (17.2)	46.9 (4.6)	2635 (120.4)
OLK3	5104 (729)	51.1 (19.3)	37.6 (3.7)	1832 (215)
OLK4	1522 (135)	18.1 (2.6)	25.6 (2.16)	870 (36.3)
OLK6	244 (78)	3.3 (1)	15.4 (2.7)	355 (30.9)
OLK7	151 (35)	0.84 (0.4)	10.7 (1)	136 (8.8)



Bioindikace pomocí plžů

- hlemýždi integrují v reálných terestrických ekosystémech vliv kontaminantů:
 - kontaktem - půda, výluhy, opadanka
 - příjmem potravy (půda, rostliny)
 - dýcháním

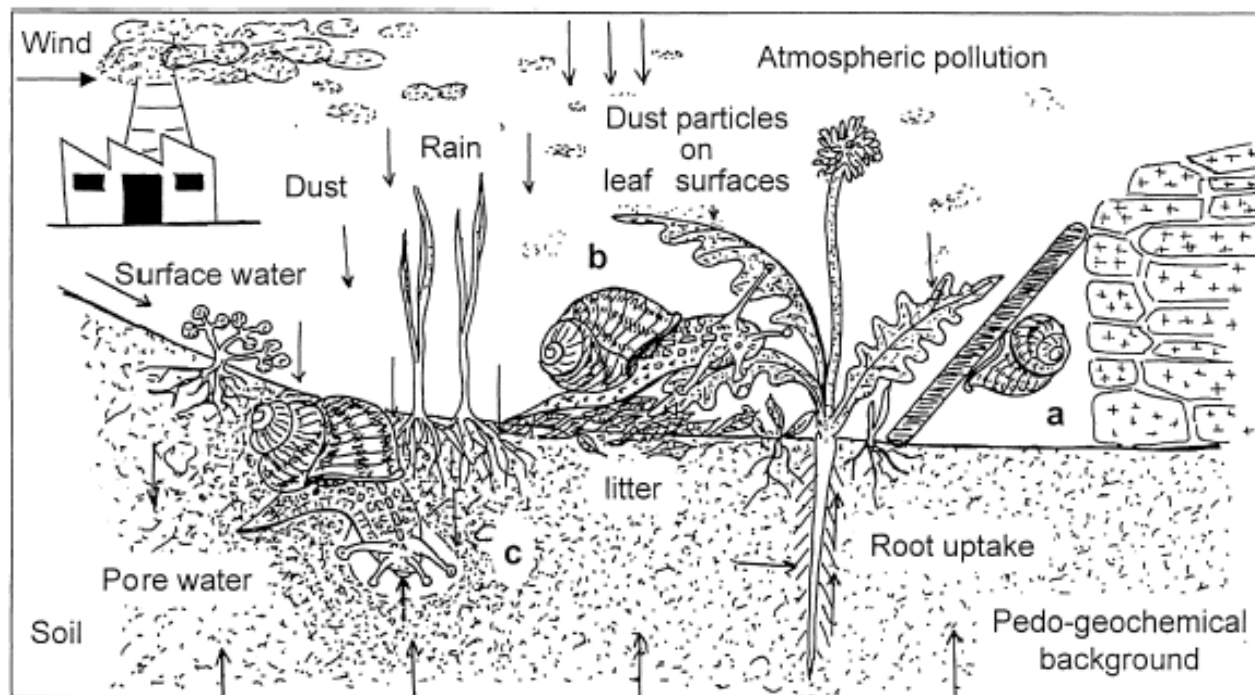


Fig. 6. Possible routes of direct and indirect exposure of land snails to contaminants: (a) contamination by breathing air; (b) contamination at soil surface by eating plants, soil contact, breathing air, rain and surface water contact; (c) contamination in the soil by swallowing soil particles, soil contact and interstitial air and pore water.

Bioindikace pomocí plžů

- mnoho studií, protože je známo, že přežívají i na lokalitách kontaminovaných těžkými kovy
- pravděpodobně dokážou uchovávat inaktivní kovy různými mechanismy:
 - uvnitř buněk v kompartmentech (granule, váčky ...) + exkrece
 - vazba na proteiny, methanothioneiny
- mohou sloužit jako model přenosu polutantů do vyšších stupňů potravních řetězců, protože jsou potravou mnoha savců
- organismy dle bioakumulačních schopností rozdělujeme na mikrokoncentrátory, dekoncentrátory a **makrokoncentrátory**; **makrokoncentrátory jsou nejlepším indikátorem environmentální kontaminace**
- **hlemýždi jsou makrokoncentrátory spoly s isopodami, žížalami**

Bioindikace pomocí plžů

- terénní studie s expozicí hlemýžďů na lokalitách pro posouzen



Fig. 1. Cage with sentinel snails transplanted to a natural control site (Gy forest). We placed a plastic fence around the cage to prevent penetration of predators (rodents, etc.).



Fig. 2. Cage placed on grass in Besançon Botanical Gardens a few feet away from the device used to monitor the atmospheric lead concentration by the side of a busy road.

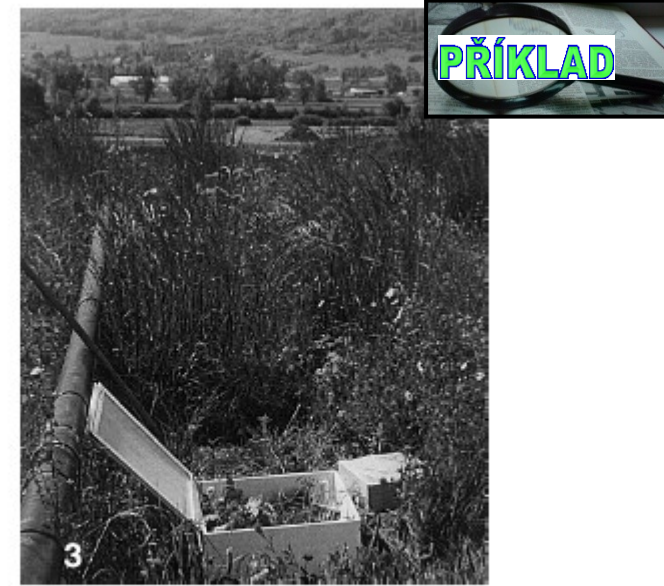


Fig. 3. Cage placed at the industrial waste disposal dump (Technical Hiding Center : THC) at Vaivre which was in operation from 1990 to 1992 with waste of classes I and II.



Fig. 4. Close-up of the inside of the cage (THC-b) showing how the cage was held down with four wooden pegs, two pieces of terra-cotta roof tile act as shelters, vegetation is the natural spontaneous ground cover.

Bioindikace pomocí plžů

- terénní studie s expozicí hlemýždů na lokalitách pro posouzení úspěšnosti remediací

Table 1

Average total body, shell, foot and viscera weight of 'sentinel' snails in the four tested biotopes. The controls (Lab 3) were grown in the laboratory during the same period of four weeks. Significant difference in comparison with the snails of Gy forest

Group	Total fresh weight (g)	Shell weight (g)	Shell/total (%)	Foot			Viscera		
				Fresh weight (g)	Dry weight (g)	Water (%)	Fresh weight (g)	Dry weight (g)	Water (%)
Controls:	10.64	1.25	11.76	3.373	0.550	85.01	4.603	1.128	75.62
Lab 3	±1.31	±0.16	±0.93	±0.958	±0.103	±1.89	±0.455	±0.234	±3.52
Trans Gy	7.27	0.67	9.14	2.402	0.243	89.90	3.586	0.354	89.92
	± 0.78	±0.15	±1.49	±0.421	±0.047	±0.46	±0.741	±0.053	±1.74
Trans Lecl.	5.65	0.56	9.95	1.710	0.176	89.64	2.723	0.242	91.02
	±0.69*	±0.13	±2.11	±0.267**	±0.022*	±0.89	±0.838**	±0.068*	±0.74
Trans THC-a	5.27	0.45	8.68	1.859	0.167	90.93	1.982	0.185	90.63
	±0.37*	±0.06*	±1.55	±0.259**	±0.010*	±0.89	±0.162*	±0.008*	±0.51
Trans THC-b	5.54	0.47	8.47	2.095	0.183	91.15	2.000	0.196	90.19
	±0.19*	±0.03*	±0.84	±0.276	±0.013*	±1.17**	±0.111*	±0.013*	±0.69

* $P < 0.01$.

** $P < 0.05$.

Terestrická biota – hmyz

Prospěšní členovci

- tzv. beneficial arthropods
- všichni členovci, kteří nejsou škůdci
 - dravci (dravý hmyz a pavoukovci) – „natural enemies“
 - opylovači
- je tedy cílem, aby byly v ekosystémech zachovány
- žel insekticidy často negativně postihnou i tyto organismy

Bioindikace pomocí hmyzu

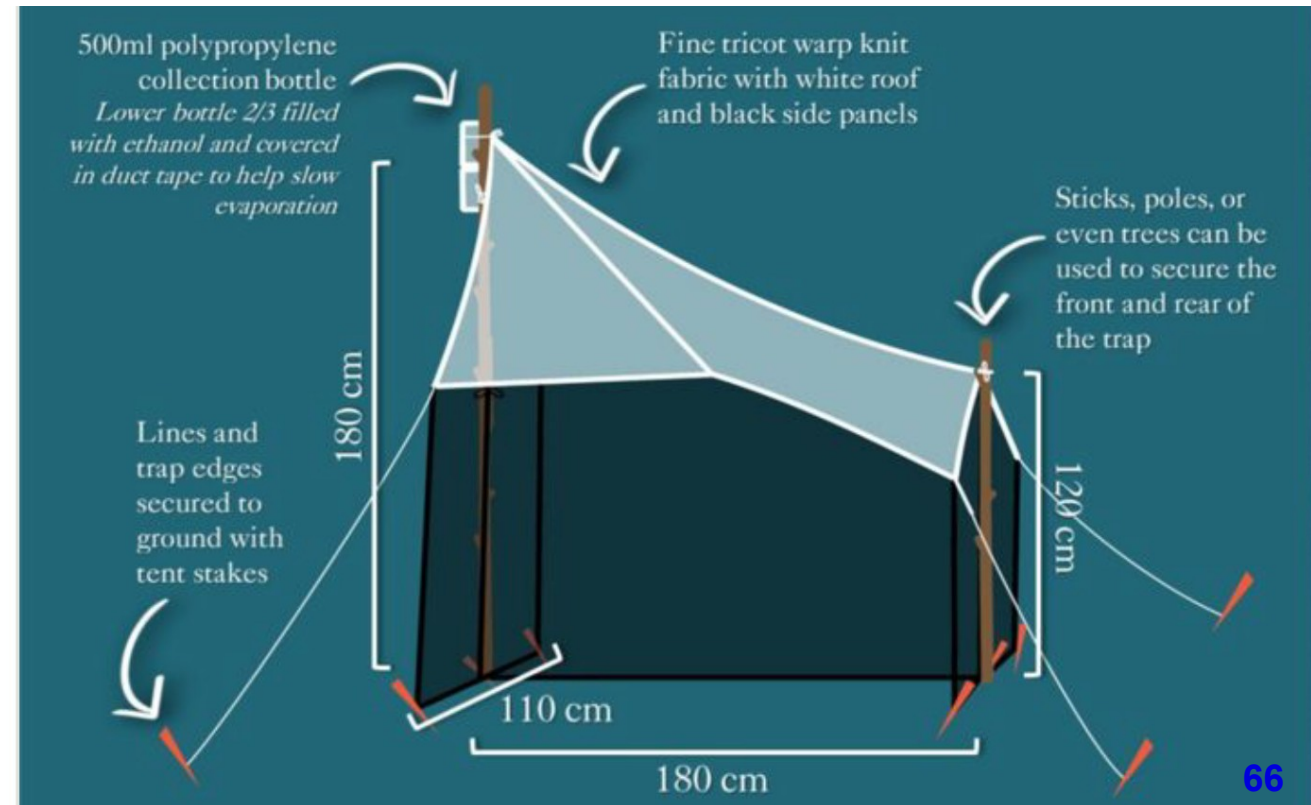
- odchyt do zemních pastí – ti žijící na povrchu půdy
- odchyt pomocí exhaustoru
- smýkáním entomologickou sítí – z vegetace či ze vzduchu
- sklepávání z vegetace
- Malaiseho pasti
- nárazové pasti (bez či s atraktanty, feromony)
- ... a mnoho dalších metod

https://is.muni.cz/el/sci/jaro2015/Bi8761/Uvod_do_terenni_zoologie_bezobratlych-Entomologie



E I O X

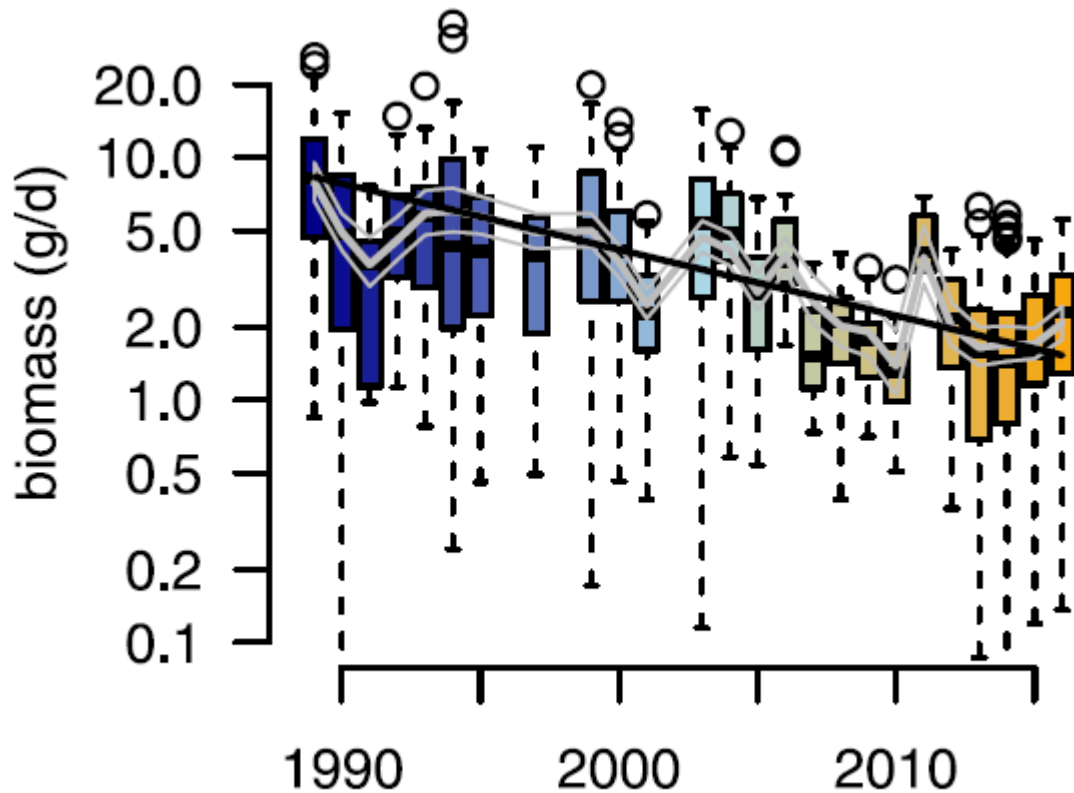
Bioindikace pomocí hmyzu



Bioindikace pomocí hmyzu



Bioindikace pomocí hmyzu



<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0185809>

RESEARCH ARTICLE

More than 75 percent decline over 27 years in total flying insect biomass in protected areas

Caspar A. Hallmann^{1*}, Martin Sorg², Eelke Jongejans¹, Henk Siepel¹, Nick Hofland¹, Heinz Schwan², Werner Stenmans², Andreas Müller², Hubert Sumser², Thomas Hören², Dave Goulson³, Hans de Kroon¹

¹ Radboud University, Institute for Water and Wetland Research, Animal Ecology and Physiology & Experimental Plant Ecology, PO Box 9100, 6500 GL Nijmegen, The Netherlands, ² Entomological Society Krefeld e.V., Entomological Collections Krefeld, Marktstrasse 159, 47798 Krefeld, Germany, ³ University of Sussex, School of Life Sciences, Falmer, Brighton BN1 9QG, United Kingdom

* c.hallmann@science.ru.nl

Abstract

Global declines in insects have sparked wide interest among scientists, politicians, and the general public. Loss of insect diversity and abundance is expected to provoke cascading effects on food webs and to jeopardize ecosystem services. Our understanding of the extent and underlying causes of this decline is based on the abundance of single species or taxonomic groups only, rather than changes in insect biomass which is more relevant for ecological functioning. Here, we used a standardized protocol to measure total insect biomass using Malaise traps, deployed over 27 years in 63 nature protection areas in Germany (96 unique location-year combinations) to infer on the status and trend of local entomofauna. Our analysis estimates a seasonal decline of 76%, and mid-summer decline of 82% in flying insect biomass over the 27 years of study. We show that this decline is apparent regardless of habitat type, while changes in weather, land use, and habitat characteristics cannot explain this overall decline. This yet unrecognized loss of insect biomass must be taken into account in evaluating declines in abundance of species depending on insects as a food source, and ecosystem functioning in the European landscape.

Opylovači

- u žádné skupiny hmyzu není tak úzká vazba ke kvetoucím rostlinám
- vztah se vyvíjel po dlouhou dobu evoluce – příklad koevoluce
- **ztráta včel jako opylovačů = nedozírné následky v ekosystému**



Risks of pollinator decline

- More than **75%** of leading food crops
- Almost **90%** of the world's flowering plants

Rely, at least in part, on animal pollination



The assessment report on
**POLLINATORS,
POLLINATION AND
FOOD PRODUCTION**
SUMMARY FOR POLICYMAKERS



Opylovači

- včely jsou velmi citlivé na insekticidy
- látky, které jsou pro včely zvláště nebezpečné, musí být označeny
- toxicita pro včely je povinným údajem při klasifikaci chemikálií
- ALE - veškeré testy a znalosti se ale vztahují pouze k včele medonosné
- **jaká je toxicita pro ostatní tisíce druhů včel a další opylovače?**
- akutní toxicita – hromadný úhyn včel, zvláště ve vazbě na chemické postřiky v zemědělství
- chronická toxicita – základní faktor = snížení imunity (varoáza atd.)

Opylovači

Table 2. Summary of bee poisoning incidents in the UK, 1994–2003

Pesticide	Number of poisoning incidents	Minimum number of colonies affected	Typical uses involved in poisoning incidents
bendiocarb	38	125	Feral bee control
dimethoate	19	212 ^a	Spray applications to oilseed rape, oat, bean and bulb crops
pirimiphos-methyl	8	46	Spray application to coniferous plantation and intentional abuse
gamma-HCH	7	14	Spray applications to oil seed rape and wood treatment recorded
chlorpyrifos	6	36	Spray application to fruit crops, apple and raspberry
fenitrothion	6	72	Spray applications to raspberry crops
paraquat	5	26	To destroy possible GM-contaminated oilseed rape crops
permethrin	5	26	Spray applications to forestry, aircraft insecticidal procedures and intentional abuse
carbaryl	4	8	Feral bee control and intentional abuse
triazophos	4	24	Spray applications to oilseed rape and bean crops
alpha-cypermethrin	3	3 ^a	Spray applications to oilseed rape crops
cypermethrin	4	15	Spray applications to oilseed rape crops and intentional abuse
lambda-cyhalothrin	3	7 ^a	Spray application to bean crop
dichlorvos	2	5	Beekeeper treatment for wax moth
malathion	2	9	Intentional abuse
dieldrin	1	1	Wood treatment
demeton-S-methyl	1	5	Unknown
propoxur	1	queens	Aircraft insecticidal procedures
sodium cyanide	1	1	Feral bee control
1,4-dichlorobenzene	1	1	Beekeeper treatment for wax moth
bifenthrin	1	0	Intentional abuse
deltamethrin	1	12	Spray application to bean crop
tetramethrin	1	4	Intentional abuse
Total^b	124 (117)	652 (609)	

^a One incident involved bumblebees.

^b Numbers in brackets are the actual total numbers of incidents or colonies affected, as five incidents involved two pesticides and one incident involved three pesticides.

Neonicotinoid use & pollinator decline: a 17 year correlation

Oilseed rape cover (+ve)



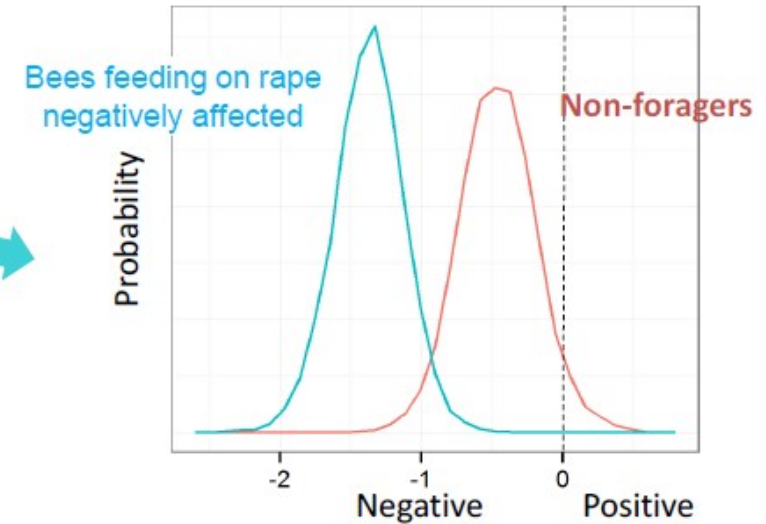
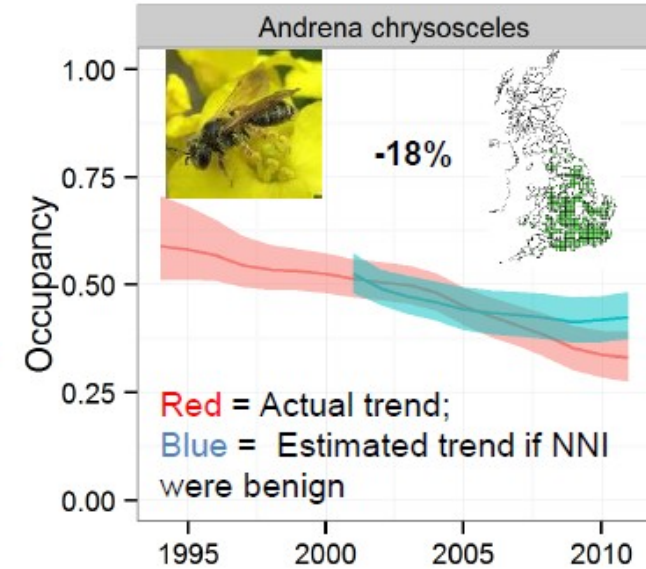
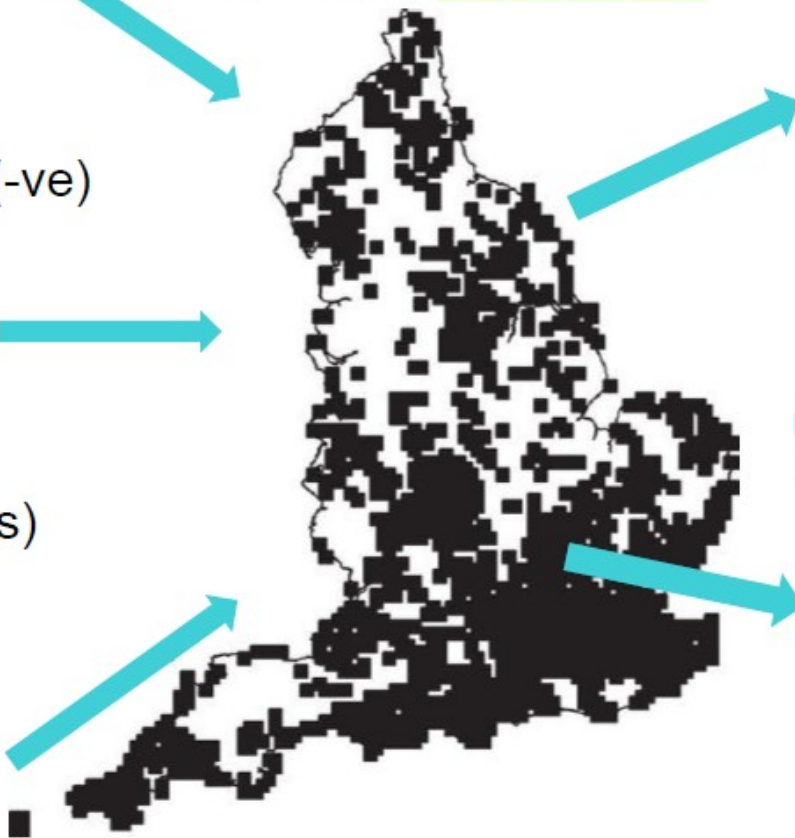
Volunteer surveys of bees



Neonicotinoid use (-ve)



Other pesticides (ns)



B.A. Woodcock *et al.* (2016) Impacts of neonicotinoid use on long-term population changes in wild bees in England. *Nature Communications* 7, 12459. doi:10.1038/ncomms12459

Opylovači

- **čmeláci** = velice významní opylovači
- specifická biologie oproti včelám = kolonie s velmi malým počtem jedinců
- současné aplikace různých pesticidů na sousedních polích
- v praxi není koordinace mezi farmáři: koexpozice

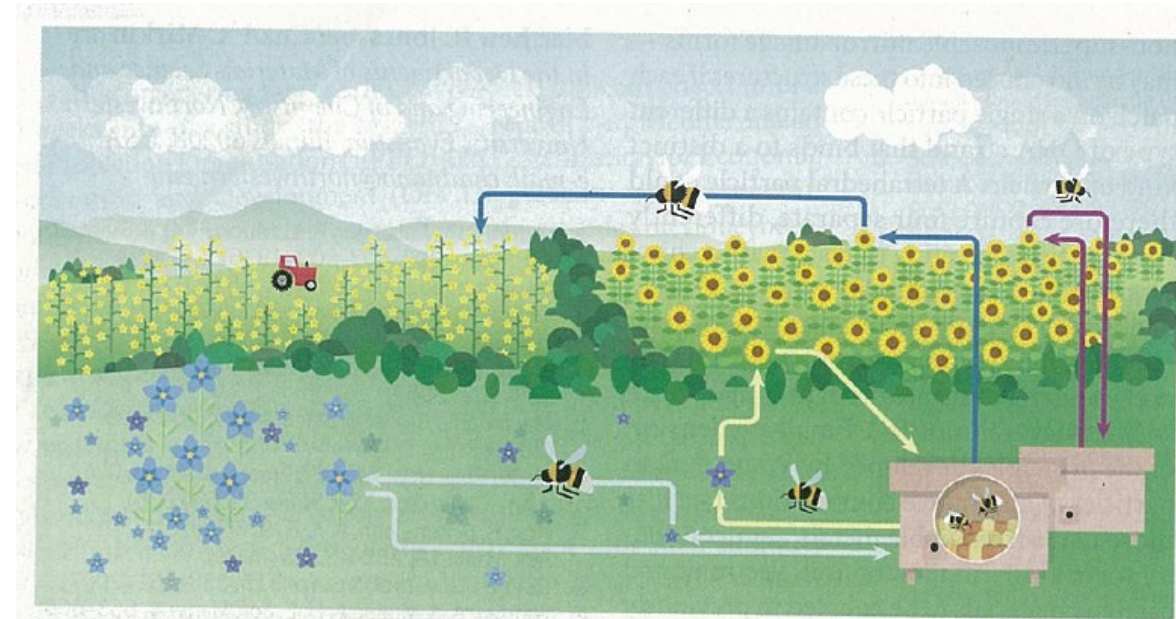


Figure 1 | A complex exposure landscape. In a typical agricultural setting, different crops may be sprayed with different pesticides at different times and doses. Bees will obtain food both from these crops and from wild plants, which makes it difficult to estimate their overall exposure to chemicals. Furthermore, bees returning to the colony after foraging may pass on the pesticides as they feed larvae. In an attempt to partially mimic this exposure complexity, Gill *et al.*¹⁰ placed pesticide-laden feeders and filter paper (not shown) at the entrance to boxed colonies of bumblebees, which could also access flowers on crops and wild plants in the wider landscape. The researchers measured the effect of these added pesticides at both the individual-bee and colony level.

Příklad – čmeláci a pesticidy

- polní studie: aplikovány povolené dávky
 - 2 individuální látky „I“ a „LC“
 - současná expozice „M“ (mixed)

Gill et al (2012)

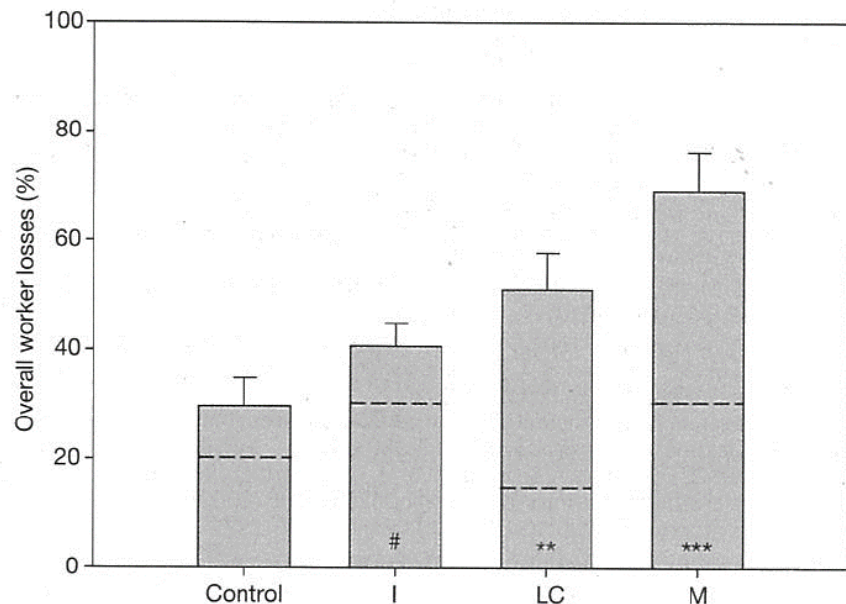


Table 1 | Summary of observed pesticide effects for each treatment group (I, LC or M) in comparison to the control group

Effect level	Effect type	I	LC	M
Effects on individual behaviour	Number of foragers	+	ND	+
	Foraging bout frequency	ND	ND	-
	Amount of pollen collected	-	ND	-
	Duration of pollen foraging bouts	+	ND	+
Effects at colony level	Worker production	-	ND	-
	Brood number	-	ND	-
	Nest structure mass	ND	ND	ND
	Worker mortality	ND	+	+
	Worker loss	+	-	+
	Worker mortality & loss	ND	+	+
	Colony failure (<i>n</i> failed/ <i>n</i> survived)	0/10	0/10	2/8

Significant decrease (-), significant increase (+) and no detected effect (ND) at the 5% significance level.

Figure 3 | Overall worker losses. Mean (\pm s.e.m.) overall percentage of workers lost per colony, including workers lost outside (below the dashed line) and worker mortality (dead workers found in nest box; above the dashed line), during the 4-week experiment. $n = 40$ colonies. # $P \leq 0.1$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$ (comparison with control).

Terestrická biota – obratlovci - wildlife

Savci

- z praktického pohledu často zaměřeni na „malé savce“
- data z bioindikace:
 - přítomnost/nepřítomnost
 - opakovaný výskyt (odchyt)
 - aktivita
 - abundance
 - hustota
 - bohatost
 - diverzita
 - dynamika populace/společenstva
 - ...

Savci

metody přímé

- pozorování (zejména optické) – zejména u velkých obratlovců, nebo kamery (fotopasti)
- označení – náramky, obojky, včetně telemetrie (GPS)



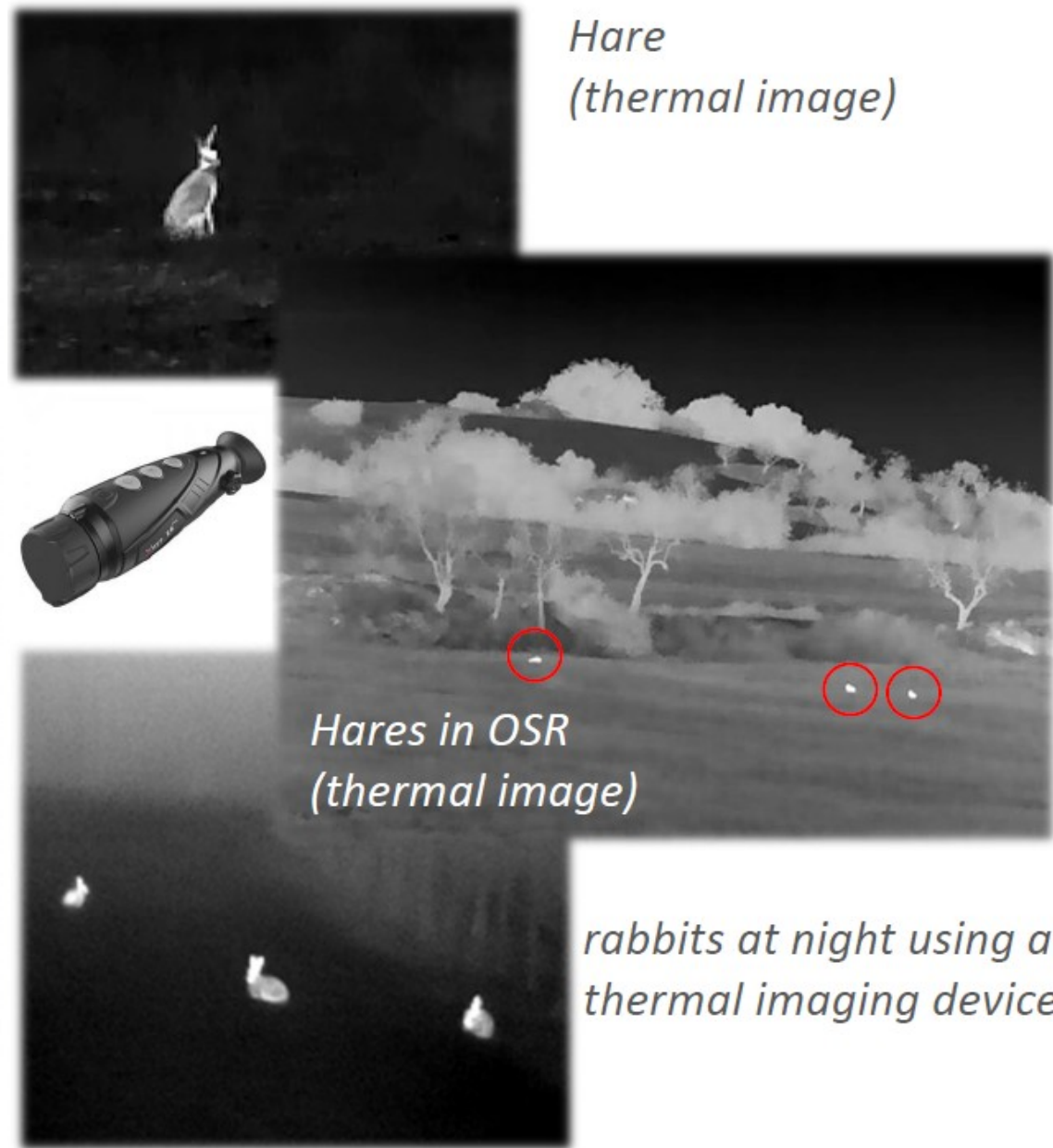
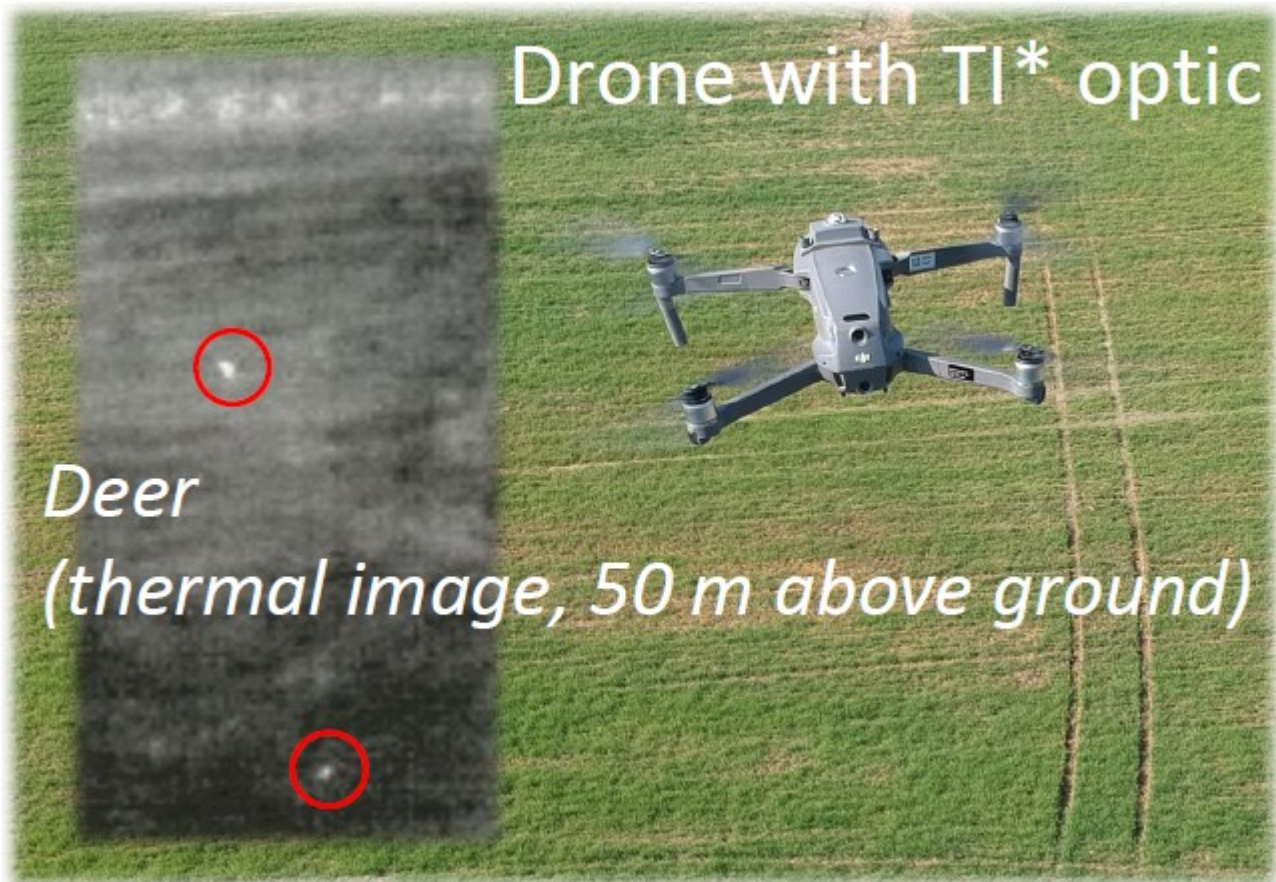
Handcrafted GPS Devices
Starting at 5 grams

Building small, lightweight products
incorporating the best technology
and battery life is our specialty.



Savci

- moderní pozorovací metody



Savci

metody přímé

- **vzorkování** – odchyt reprezentativní části populace
- **pasti mrtvochytné (živočicha usmrtí)** - sklapovací, oka, „pitfall traps“ s vodou a jiné pasti; odstřel
- **pasti živolovné** – chodbičky, padací dvířka, návnady; Shermanova či Longworthova past; značkování (kroužky, uši, PIT, barva ...), puštění a opětovný odchyt (CMR – catch, mark, release)



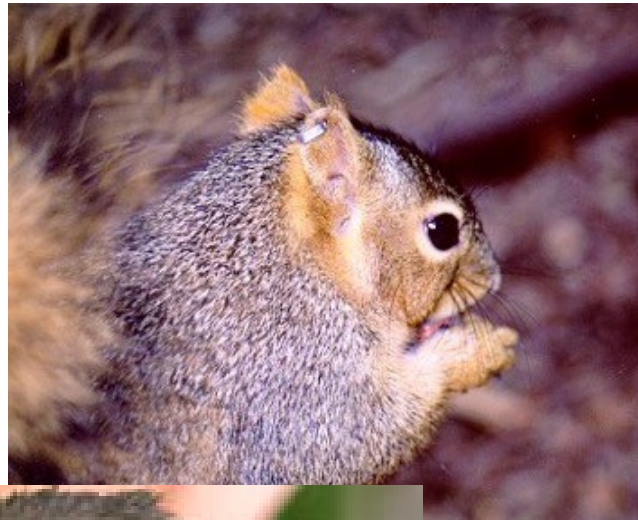
Savci

pasti



Savci

- značkování



PIT Tags (Passive Integrated Transponders)

- tag injected subcutaneously with syringe
- PIT tag reader required
- animal must be captured or consistently pass through small opening (e.g. burrow opening, exit hole of nest box) to use reader



Savci

- „capture – release“

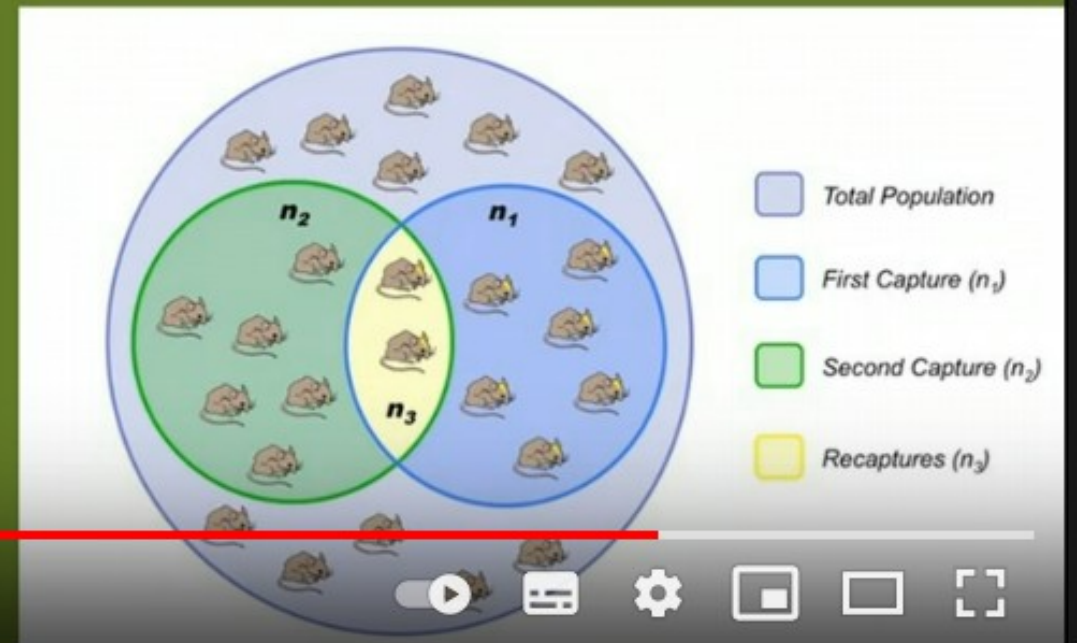
Useful for:

- Mobile organisms. It often isn't reasonable to count every individual in a population

How:

1. Capture (humanely) a large as possible sample.
2. Tag those captured and released.
3. Capture a second sample.
4. Count the number already tagged (recaptures)

$$N = \frac{\text{First Capture} \times \text{Second Capture}}{\text{Recaptures}}$$



Savci

Rozmístění pastí

- **kvadrátová metoda** – čtverec pokrytý sítí menších čtverců; maximální velikost, ale aby podával reprezentativní vzorek
- **liniová metoda** – transekt a sledování po určité vzdálenosti na obě strany
- metoda Y – pasti v linii tvořící tvar Y, plůtky směřují živočichy
- ...

pokrytí časové variability

- například 10 nocí x 100 pastí (1000 vzorků)
- sezónní – odběry min. 2 x za rok

Savci

metody nepřímé

- dle stop organismů
- „hair traps“
- výkaly
- okus stromů
- ...

Ptáci

- počty individuí
- hustota na plochu
- relativní hustota – četnost či vzácnost
- distribuce – náhodnost či pravidelnost na daném prostoru



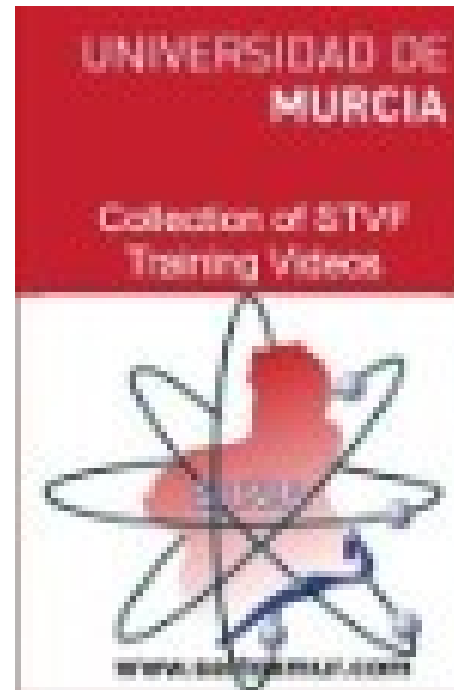
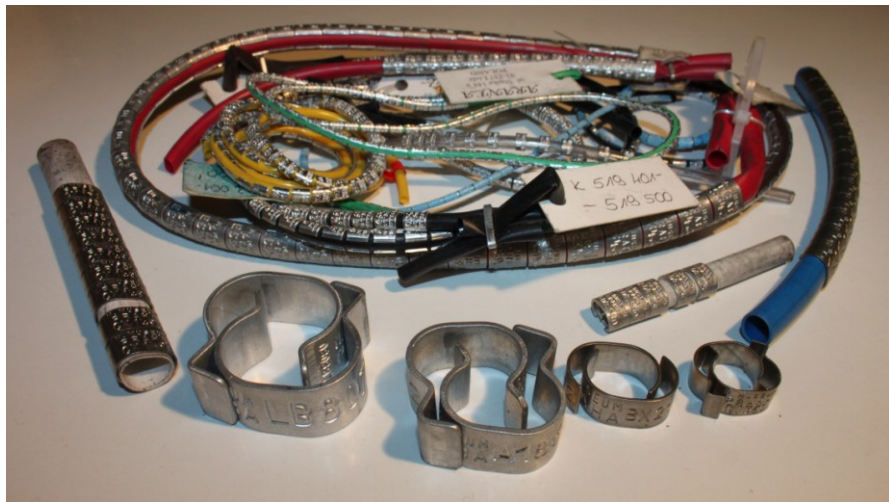
Figure 10: Avian nest boxes can be deployed through the center of agricultural fields with pre-emergent crops to look at the process of agricultural chemical utilization and its potential impacts on birds.



Figure 14: Wildlife toxicologists use nesting boxes near toxic sites to assess birds exposure and/or impacts from chemicals.

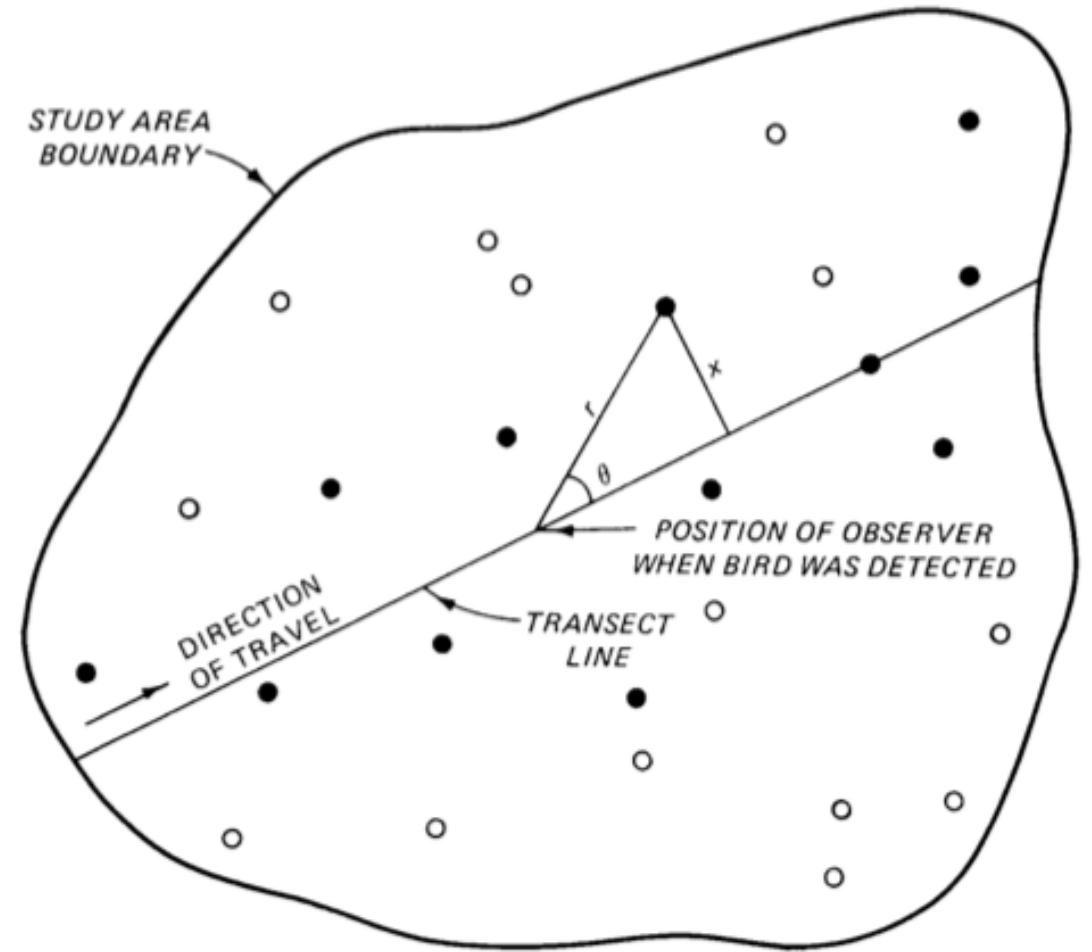
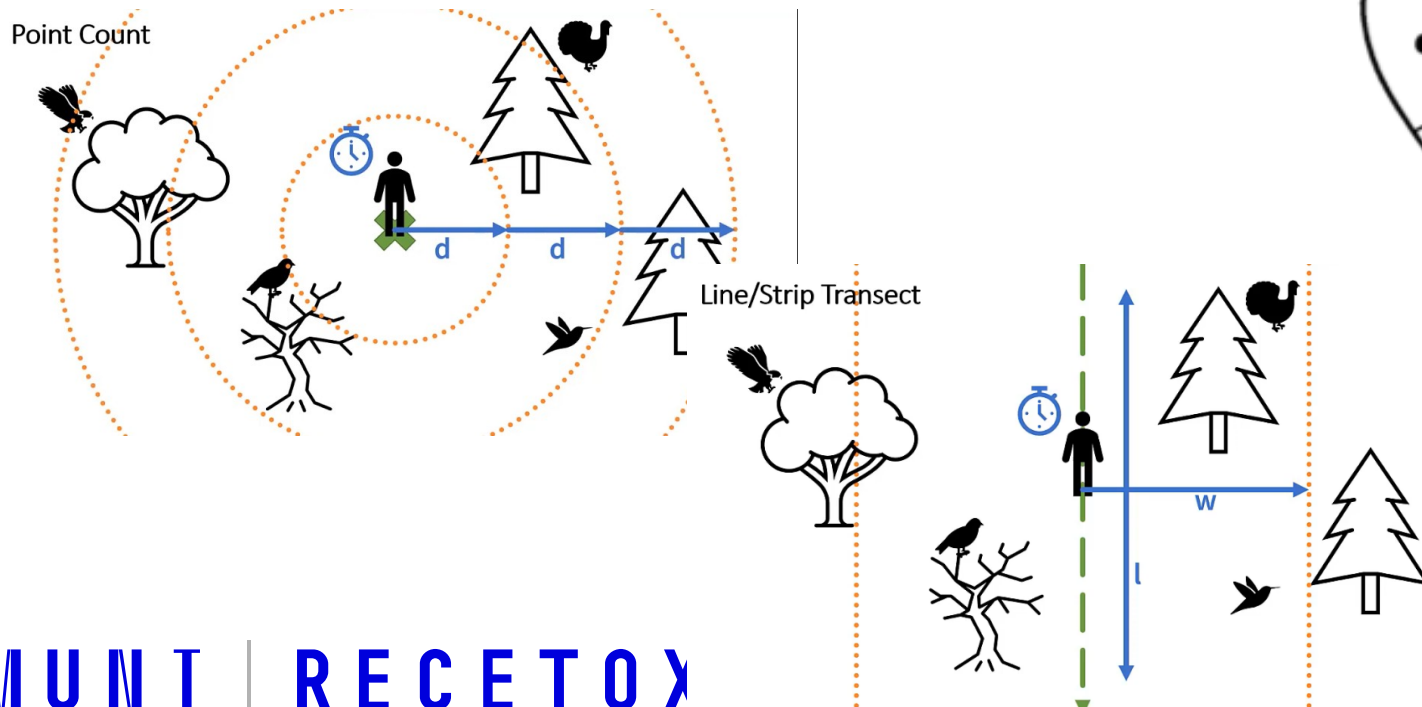
Ptáci

- odchyt – rozvěšené sítě, střílené sítě, kroužkování, odběry krve, peří apod.




Ptáci

- pozorování (jedinci, hnízda, zpěv...) v okolí
 - bodu
 - transektu
 - na vytyčené ploše



- General representation of line-transect sampling of a bird population. An observer walking along the transect line detects some birds (solid circles) and fails to detect others (hollow circles). For each bird observed, either the perpendicular distance (x), or both the sighting distance (r) and the sighting angle (θ) are measured. Most line-transect methods use the distribution of right-angle distances to estimate population density

Příklad - studium netopýrů

- sledování netopýrů na trnoviskách, metoda sledování a jejich kvalitativní analýza, - kvantitativní
- podrobná metoda a techniky balancí
- výskyt je ve své době skutečně populace ve širokém okruhu
- letání aktivní, odlet - ne stálou; japonské národní síť - jemu, tak, aby síť mexický nacholokální systém - kvůli se komplexu
- kvantitativní se kvantitativní pomocí - dávají se na trnoviskách se na nahu jak u ptáka
- a mají pasíky, aby se nepouklo letací plána 
- kvantitativní pro analýzu - kvantitativní v AL
- letčí plánské kvantitativní více kvantitativní
- + kvantitativní detekce - kvantitativní kvantitativní - po kvantitativní kvantitativní → kvantitativní kvantitativní
- kvantitativní - kvantitativní kvantitativní, kvantitativní kvantitativní - kvantitativní kvantitativní. signály se kvantitativní v kvantitativní → kvantitativní kvantitativní a kvantitativní
- kvantitativní - kvantitativní se kvantitativní a kvantitativní se kvantitativní
- kvantitativní kvantitativní (kvantitativní a kvantitativní kvantitativní)

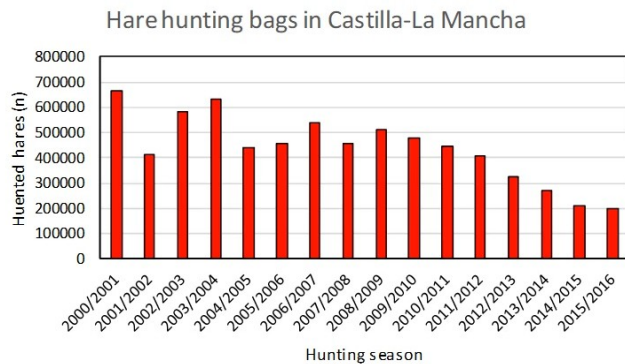
Příklad – studium zajíců

Effect of agricultural management on males' reproductive status in Iberian hare (*Lepus granatensis*)

Poster
2.03P.1

María Rosario Perez-Ornosa¹, Belén Martínez-Madrid¹, Gerardo Bosch-Ferreiro¹, Jose Alberto Viñuelas² Cristina Castaño³, Adolfo Toledano-Díaz³, Julián Santiago-Moreno³, Pelayo Acevedo⁴, Rafael Mateo⁴ & Mónica Martínez-Haro⁵

Introduction & Methods

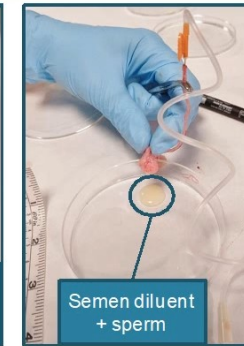
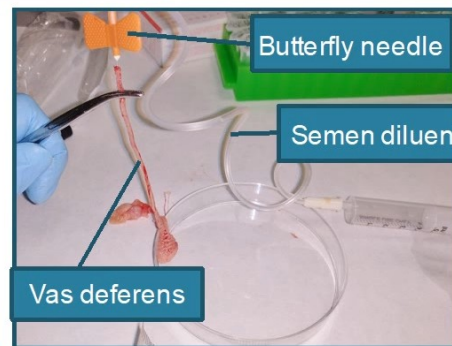


Pesticide-treated areas (n=12) PT
Glyphosate, Tebuconazole, Triadimenol

Pesticide-free areas (n=9) PF



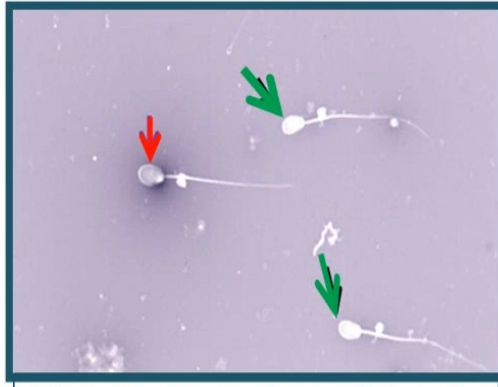
Sperm collection



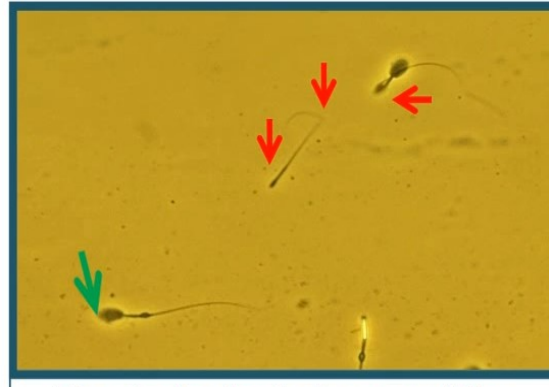
Příklad – studium zajíců



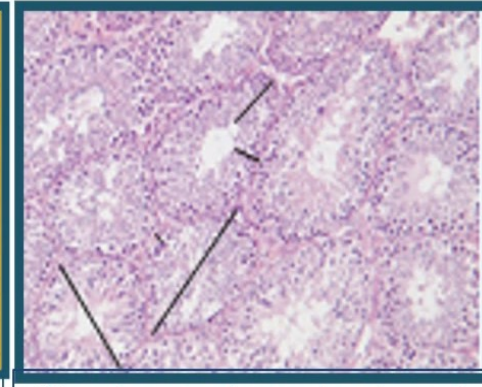
Motility & movement quality



Structural membrane integrity (viability)

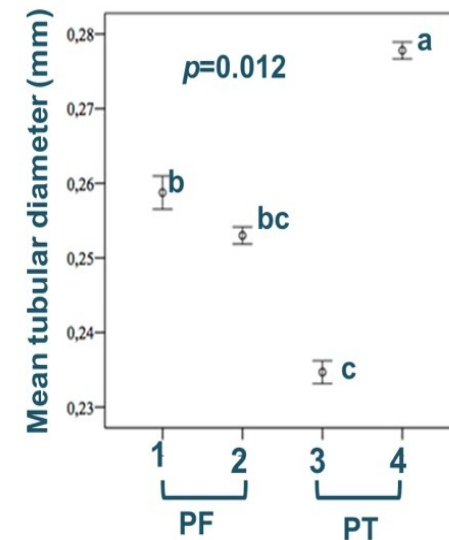
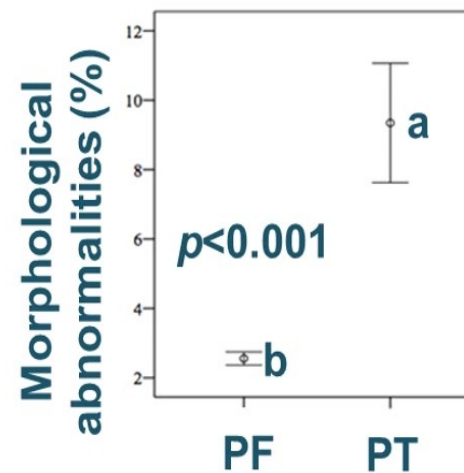
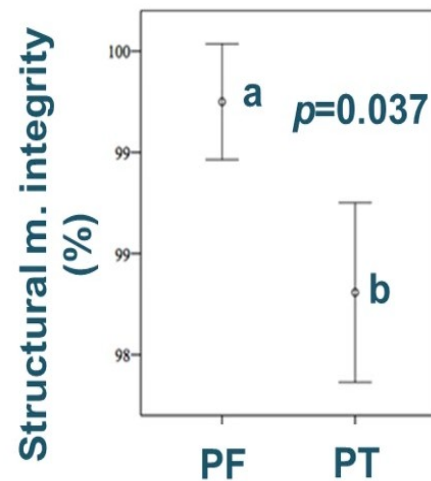
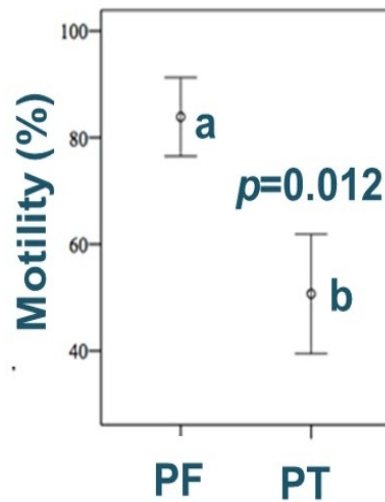


Morphological abnormalities



Morphometric evaluation of seminiferous tubules

Please, visit our Poster 2.03P.1 for more details



Příklad - sýček

příklad současného působení více ekologických faktorů

- trávení hlodavců antikoagulačními rodenticidy
 - hlodavci přežívají několik dní se sníženou vitalitou
 - jsou snadnou kořistí – přenos jedu na predátora
 - oslabení nebo hynutí sýčků
- nárůst početnosti kuny skalní
- mizení nízkostébelných trávníků z krajiny

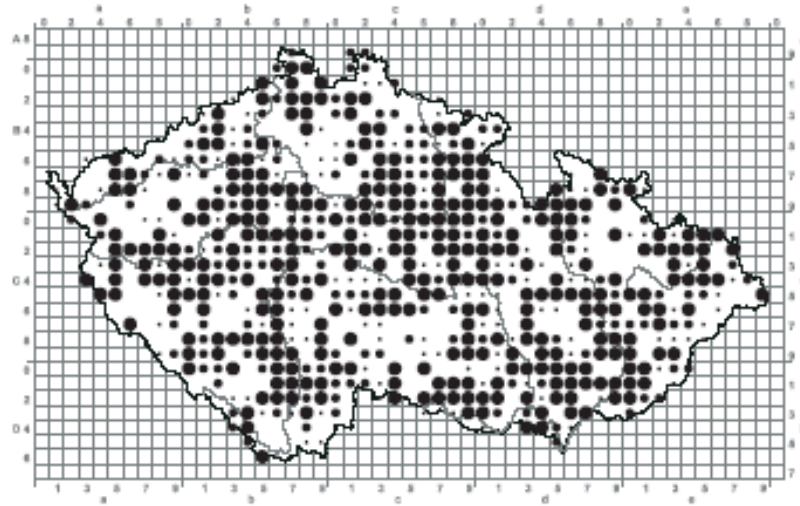
Důsledek:

- snížení celkové vitality a početnosti populace
- vymizení z ekologicky méně příznivých oblastí (horské oblasti – sníh – nedostatek potravy)

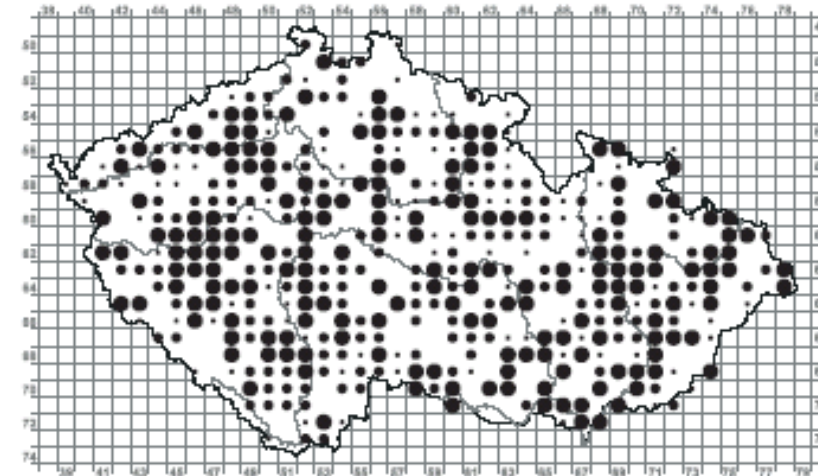


Příklad - sýček

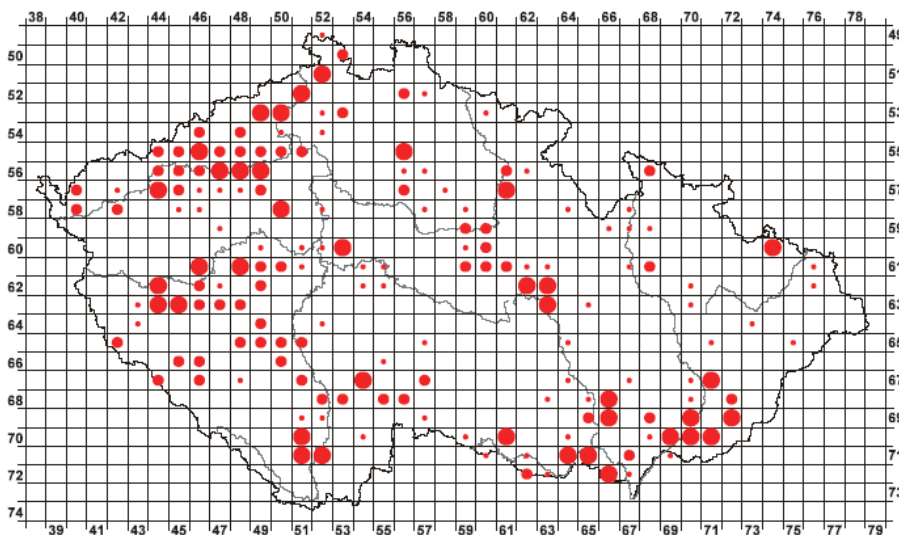
1973-1977



1985-1989



2001 - 2003



Počet osídlených čtverců (%):

1973 - 77	72
1985 - 89	68
2001 - 03	23

Šťastný, Bejček a kol.: Atlas hnízdního rozšíření ptáků v České republice 2001 - 2003. Aventinum 2006

Příklad – Potápka obrovská

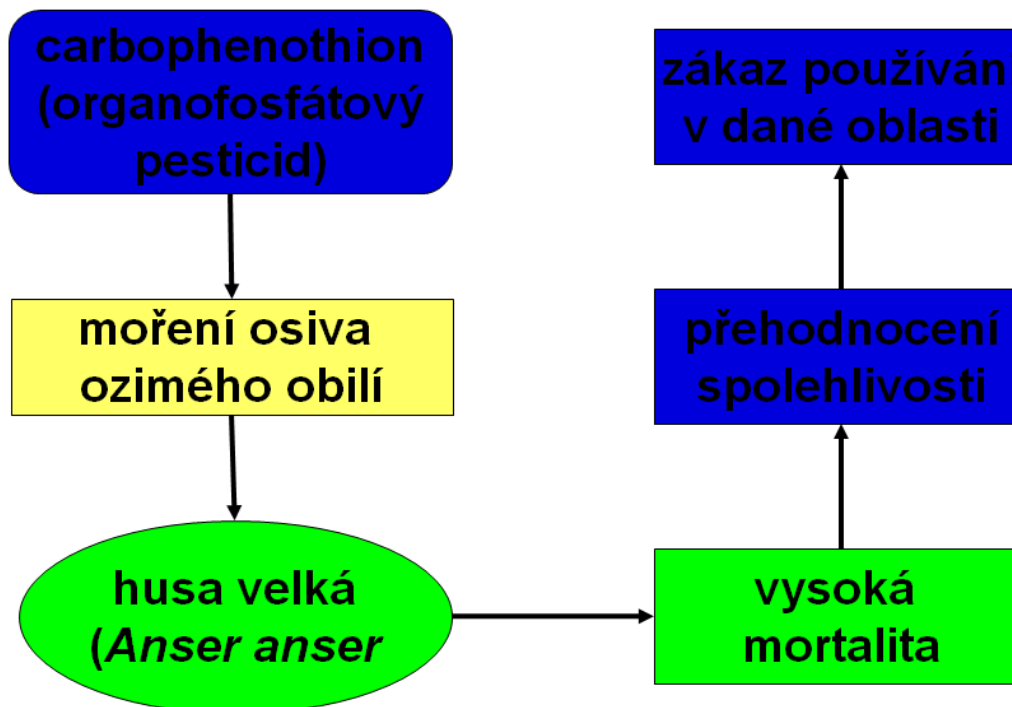
- **několik faktorů:** nekontrolovaná těžba rákosu, lov, zastavění pobřeží, eutrofizace
- umělé vysazení velkých okounů (r. *Micropterus*), dorůstají až 12 kg = vyhubení 13 z 19 původních druhů ryb, vyhubení většiny krabů, okouni lovili i mláďata potápek
- prudký pokles stavu:

1929	400 ks
1960	100 ks
1965	80 ks
1986	poslední pozorování
- **poučení** = vysoká citlivost stenoekních druhů ke změně prostředí



Příklad – Husa velká

- Skotsko, centrální a východní část, zima 1971 - 72
- přezimování cca 60 000 jedinců husy divoké, tj. cca 2/3 britské populace
- vysoká úmrtnost ve stovkách jedinců
- hledání příčiny:



Příklad – Husa velká

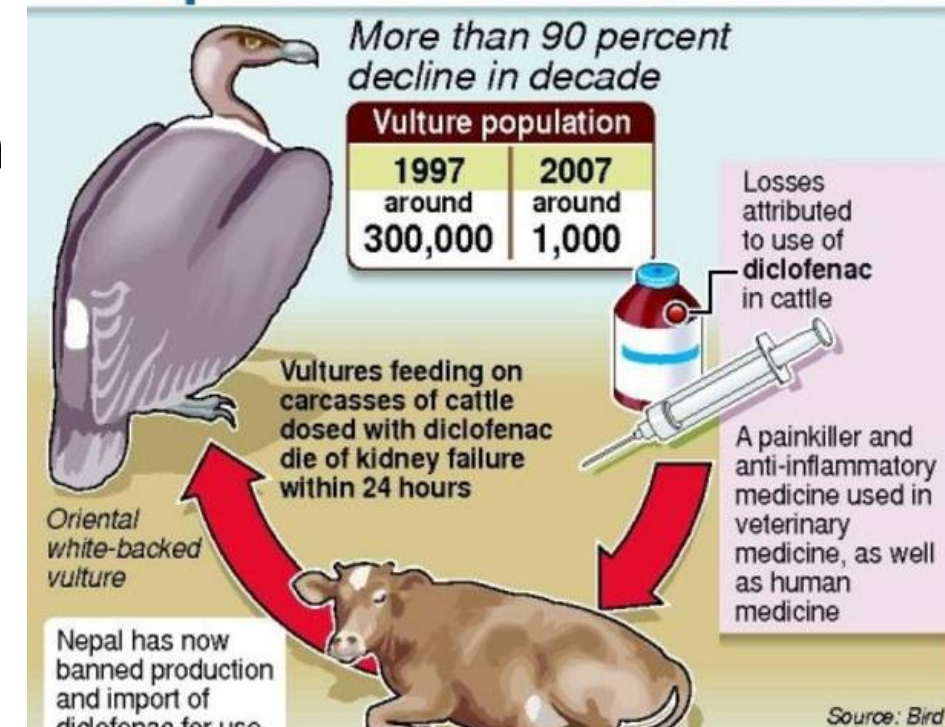
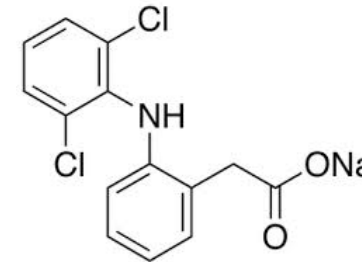
- Berneška velká – neovlivněna
- nižší citlivost vůči carbophenothionu než husa velká

Závěry

- mezidruhové rozdíly v citlivosti
 - berneška velká - méně citlivá než husa velká
 - nutno respektovat při testech chemikálií
- velká místní koncentrace populace je rizikem
- prostorová distribuce – faktor při hodnocení
-

Příklad – supi a diclofenac

- zástupce ze skupiny NSAD (nonsteroidal antiinflammatory drugs)
- podobné účinky (tlumí projevy zánětu) jako ibuprofen, paralen
- používání ve veterinární medicíně
- neočekávané akumulace v domácích zvířatech
- velká toxicita pro **dravce (mrchožrouty)**
- neočekávaná **NEFROTOXICITA** - akutní mortalita
- velký problém v Indii a Pakistánu, ale i v Evropě (Řecko, Španělsko, Itálie, Kypr)



Terestrická flora

Terestrická flora

- = PRODUCENTI = **zásadní význam pro ekosystém**
- hlavní zdroj energie a organické hmoty v ekosystémech
- zdroj kyslíku pro ostatní organismy
- ekonomicky významné organismy
- potraviny, zdroje surovin (dřevo)
- esteticky významné organismy

→ ekotoxicita pro producenty má zásadní význam pro celý ekosystém

Bioindikace pomocí rostlin

- složení rostlinných společenstev – fytocenologie
- funkce a stav rostlin
 - měření fotosyntézy (produkce kyslíku, fluorescence fotosyntetických pigmentů)
 - biochemické markery
 - genotoxicita (mikrojádra, chromozomové aberace)
 - fungování fixace dusíku, mykorrhizy
- listová pokryvnost
- sledování výskytu indikátorových organismů
 - mykorhitické houby
 - lišejníky
 - nemoci (svraštělka javorová)
- polutanty v rostlinách



Sledování fotosyntézy

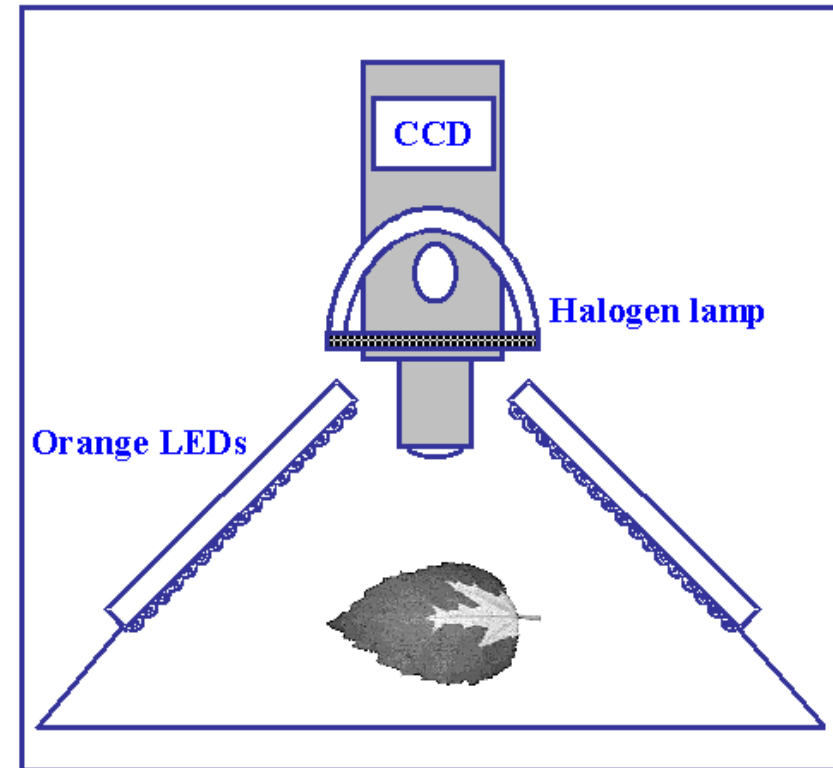
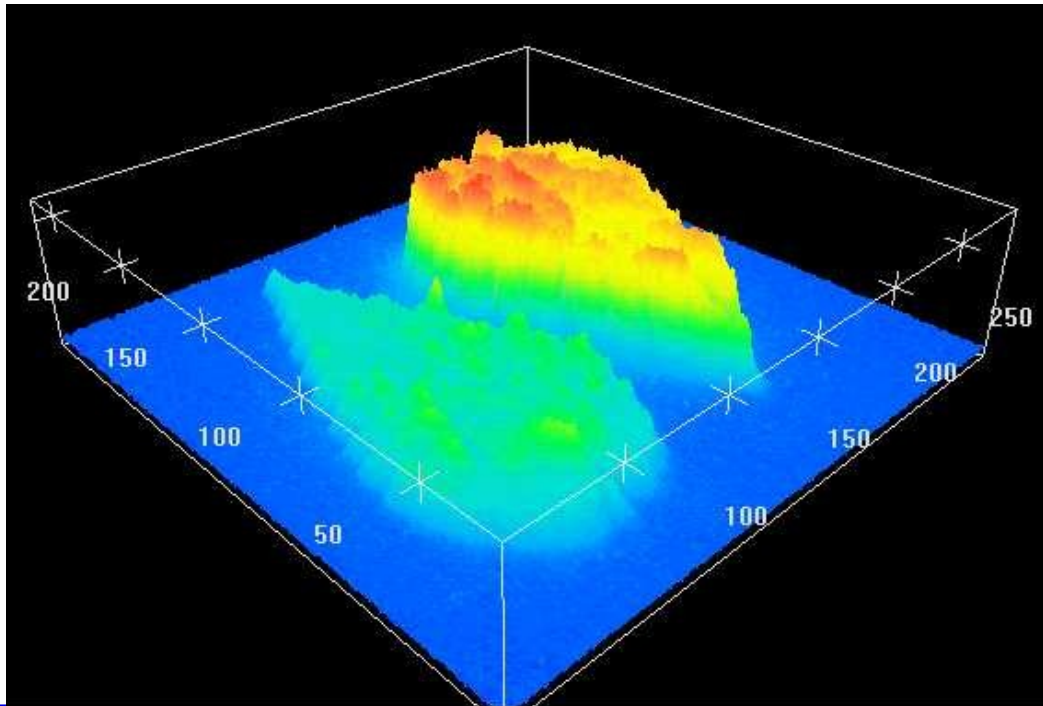
- gazometrie (IR) - měření spotřeby CO₂, produkce O₂



Sledování fotosyntézy

sledování fluorescence

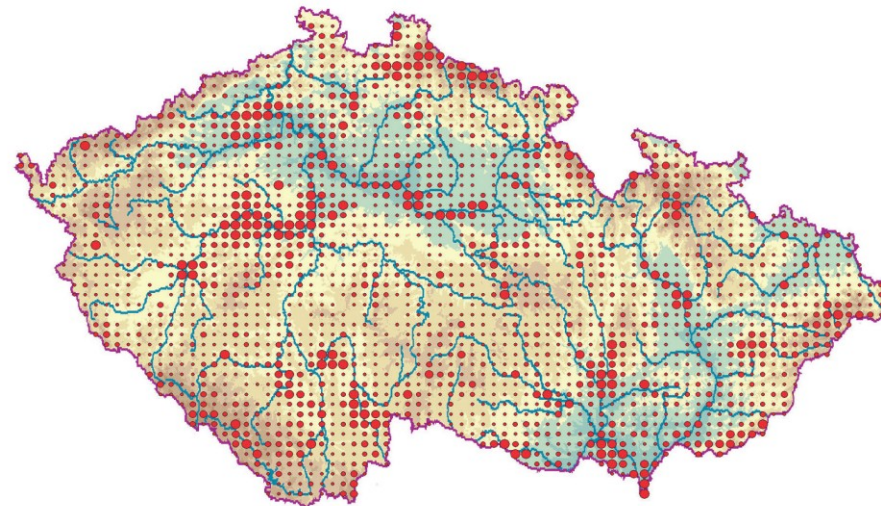
- impuls světla → absorpce chlorofylem → emise světla (červené)
- u poškozených rostlin změny v intenzitě a kinetice fluorescence



Fytocenologický snímek

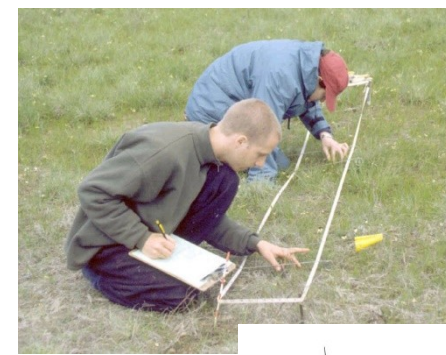
- **studium rostlin na úrovni rostlinných společenstev**
- slouží k dosažení jednoho ze základních cílů fytoecologie = klasifikace vegetace:
 - určité skupiny rostlin - rostlinná společenstva mají typickou kombinaci druhů, fyziognomii (např. les nebo trávník) a ekologii
 - skupina má vlastní latinský název, jehož základ tvoří většinou dominantní nebo charakteristický druh a latinská koncovka podle toho, na jaké hierarchické úrovni skupina v systému stojí (třída, řád, svaz, asociace)
 - <https://www.sci.muni.cz/botany/vegsci/vegetace.php?lang=cz>
- pomocí fytoecologických snímků lze ale odpovědět i na řadu ekologických otázek: vliv podmínek, chování a šíření invazních druhů atd.

Fytoecologické snímky v různých územích České republiky podle České národní fytoecologické databáze. Velikost symbolů je proporcionální k počtu snímků.

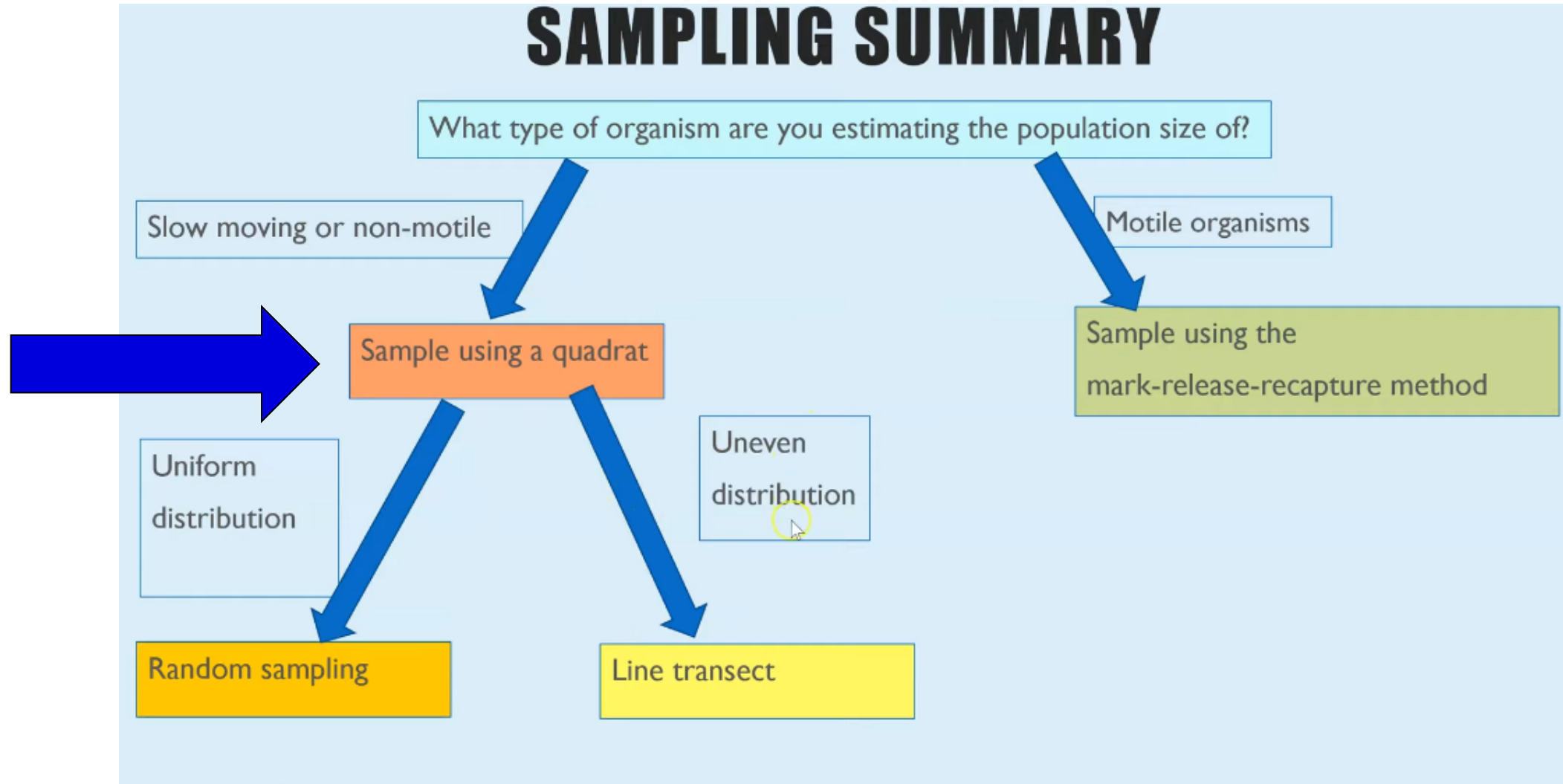


Fytocenologický snímek

- vymezení plochy, čtverec nebo obdélník, jednotky - stovky m²
- rostliny se rozdělí dle výšky do několika **vegetačních pater**:
 - mechorosty a lišejníky
 - byliny, semenáčky dřevin
 - keře a stromy s případnými liánami a epifyty
- odhadne se **pokryvnost** jednotlivých pater
- v každém patře se zaznamenají všechny druhy včetně **odhadu plochy**, kterou pokrývají (v procentech nebo speciální stupnice – sedmičlenná Braun-Blanquetova nebo jedenáctičlenná Dominova)
- zaznamenávají se i jiné informace, samozřejmě přesná poloha a datum, ale i sklon svahu a jeho orientace ke světovým stranám
- mohou se také odebrat vzorky půdy na pozdější analýzy (např. pH a další chemické analýzy)



Kvadrátová metoda



Kvadrátová metoda

- **kvadrátová metoda** – různě velké území překryto sítí plošek, tyto opakovaně buď **na vymezeném území** či **na transektu**

Useful for:

- Stationary organisms – plants, fungus, etc.

How:

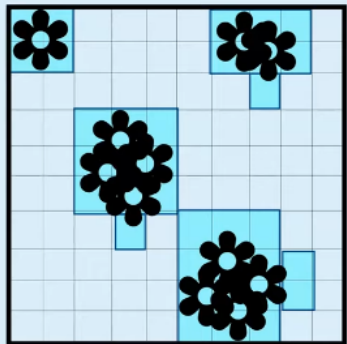
1. Measure total area where the population lives.
2. Take a square (this is known as a quadrat), often 1 m x 1 m .
3. Throw it randomly and count the number of organisms within that square.
4. Repeat this as many times as practical.
5. Average the number of organisms per quadrat and then multiply this up to the size of area.



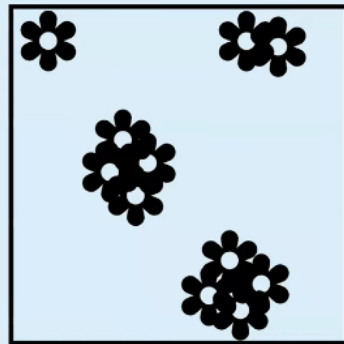
Kvadrátová metoda

METHODS TO ESTIMATE THE ABUNDANCE OF A SPECIES

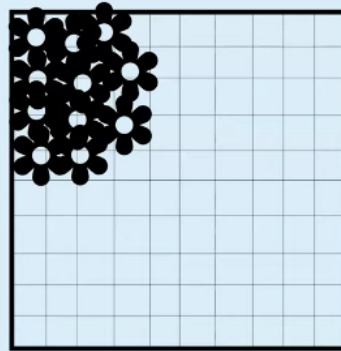
1. **Local frequency** (% of squares in the quadrat with the species present)
2. **Density** (The number of one species in a given area)
3. **Percentage cover** (proportion of the ground occupied by the species)



35 squares contain the species
= 35% local frequency



11 in 0.5m x 0.5m (0.25m²)
The whole field is 280m²
(280/0.25) x 11
= 12,320 of species in entire field



18 full squares covered
= 18% percentage cover

How many weeds are in this field?



Total area of field: (200m x 50m) = 10,000m²

Area sampled: (10 quadrats x 0.25m²) = 2.5m²

Number of weeds in sampled area: 56

Total weeds in field:
(10,000/2.5) x 56 = **224,000**



emmatheteachie

SAMPLING

TRANSECT

- > Measuring tape
- > Quadrats placed at regular intervals
- > See the effect of an abiotic factor
- > Can also measure this along the transect.



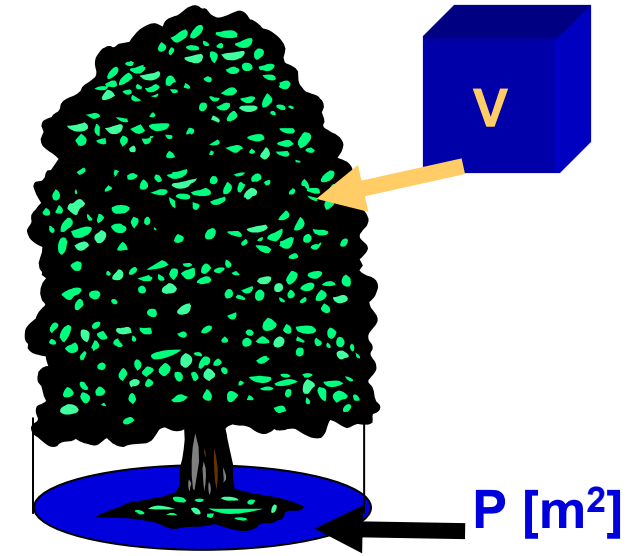
Kvadrátová metoda

- kvadrátová metoda



LAI – index listové pokrývnosti

- množství listoví - **základní ekologický indikátor**
- defoliace jako bioindikátor stresu
- porosty kulturních rostlin 4-8
- středně husté smrkové porosty 3-5
- borovice lesní 20 let – bez přihnojování 2,8 - 4,4
- borovice lesní 20 let – s přihnojováním 5,5 - 9,4



LA – celková listová plocha [m²]

LAI – index listové plochy = LA : P

LAD – hustota listoví = LA : V

LAI – index listové pokrývnosti

- hustota vegetace ovlivňuje depozici povrchu např. při atmosférické depozici nebo při aplikaci pesticidů
- samozřejmě, že se toto mění i během roku

**insekticidy
(dimethoate, cypermethrin)**

x

**půdní brouci
na ječmenném poli**

$$P_s = P_a \exp(k \cdot LAI)$$

kde je:

P_s množství pesticidu, které dosáhne povrch půdy (g/ha)

P_a množství pesticidu aplikované na pozemek (g/ha)

k koeficient zachytu pesticidu

(v dané případě $k = -0,479$)

LAI listový plošný index ($m^2 \cdot m^{-2}$)

Lišejníky - příklad

Stav lišejníků reaguje citlivě na kvalitu ovzduší

Proč lišejníky?

- Zvýšený přístup imisí
- Anatomická stavba stélky
- Vodní režim
- Intenzita metabolismu
- Symbiotická podstata lišejníků
- Integrace imisní zátěže (látková, koncentrační a časová)



Lišejníky - příklad

Hlavní metodické přístupy

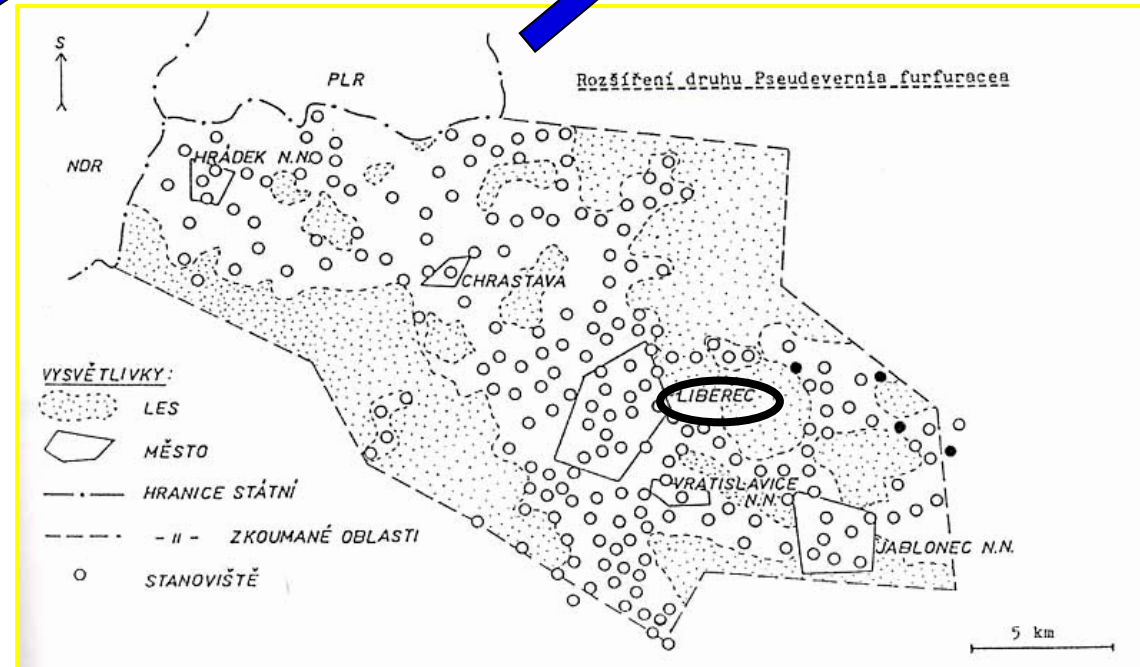
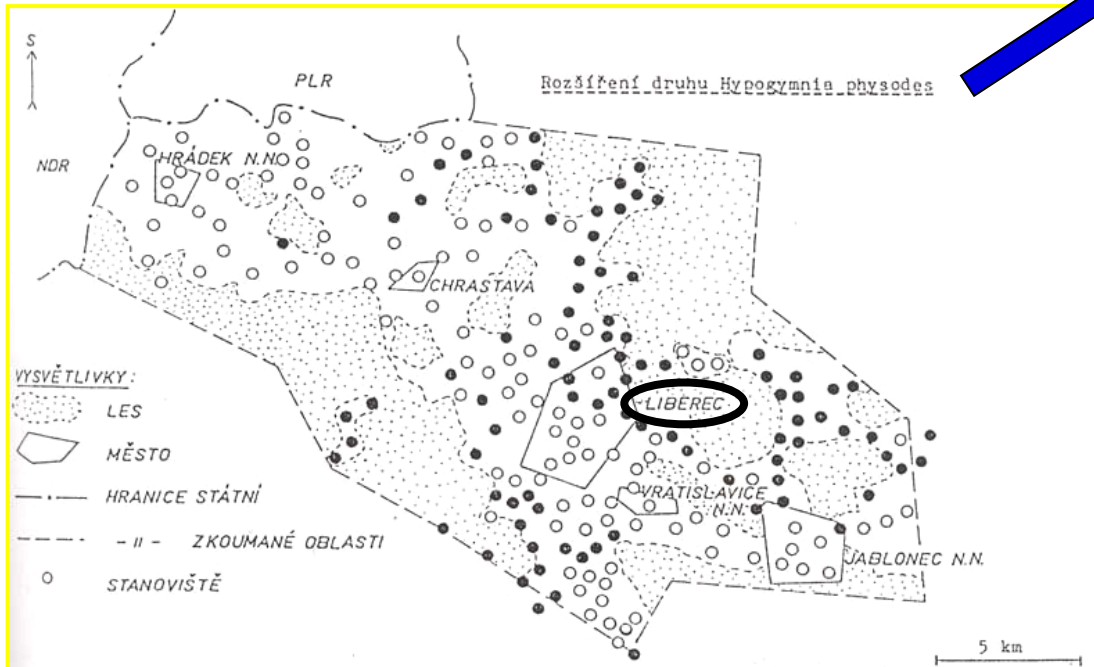
- metody fyziologické (pokles intenzity fotosyntézy, dýchání a čisté produkce, snížení obsahu chlorofylu a přítomnost feofytinu, stanovení pH a vodivosti lišejníkové stélky, redukce fosfatázové aktivity, metabolismus aminokyselin)
- metody morfologicko – anatomické (stupnice 1 až 0: stélky normálně vyvinuté, stélky zakrnělé, případně mírně poškozené, stélky s výraznými stopami poškození, stélky z velké části odumřelé, stélky zcela odumřelé ...)

Lišejníky - příklad

Hlavní metodické přístupy

- metody floristické – chorologické (mapování rozšíření indikačních druhů, stupnice citlivosti indikačních druhů)

Skupina	Citlivost k imisím	Druh
I	silně toxikolerantní	Lecanora conizaeoides
		Lepraria sp.
II	málo citlivé	Bacidia chlorococca
		Lecidea scalaris
		Hypogymnia physodes
III	středně citlivé	Lecanora subfusca sp. agg.
		Parmelia sulcata
		Parmelia saxatilis
		Parmeliopsis ambigua
		Parmelia exasperatula
		Platismatia glauca
IV	velmi citlivé	Parmeliopsis hyperopta
		Cetraria chlorophylla
		Lecanora varia
		Pseudoevernina furfuracea
		Evernia prunastri
		Ramalina farinacea



Lišejníky - příklad

Hlavní metodické přístupy

- metody fytoocenologické

$$IAP = \frac{\sum_1^n (Q \cdot f)}{10}$$

- index IAP (Index of Atmospheric Purity)

- n - celkový počet nalezených druhů lišejníků na daném stromě
- Q - ekologický index každého druhu lišejníku, udávající průměrný počet doprovodných druhů na všech stanovištích, kde se nacházel
- f - hodnota abundance nebo frekvence podle odhadové stupnice

- index L

- m - počet indikačních druhů nalezených na daném stromě
- q - ekologický index citlivosti druhu k imisím (vyšší q = vyšší citlivost)
- f - kvantitativní zastoupení druhu podle odhadové stupnice
- v - vitalita druhu podle odhadové stupnice

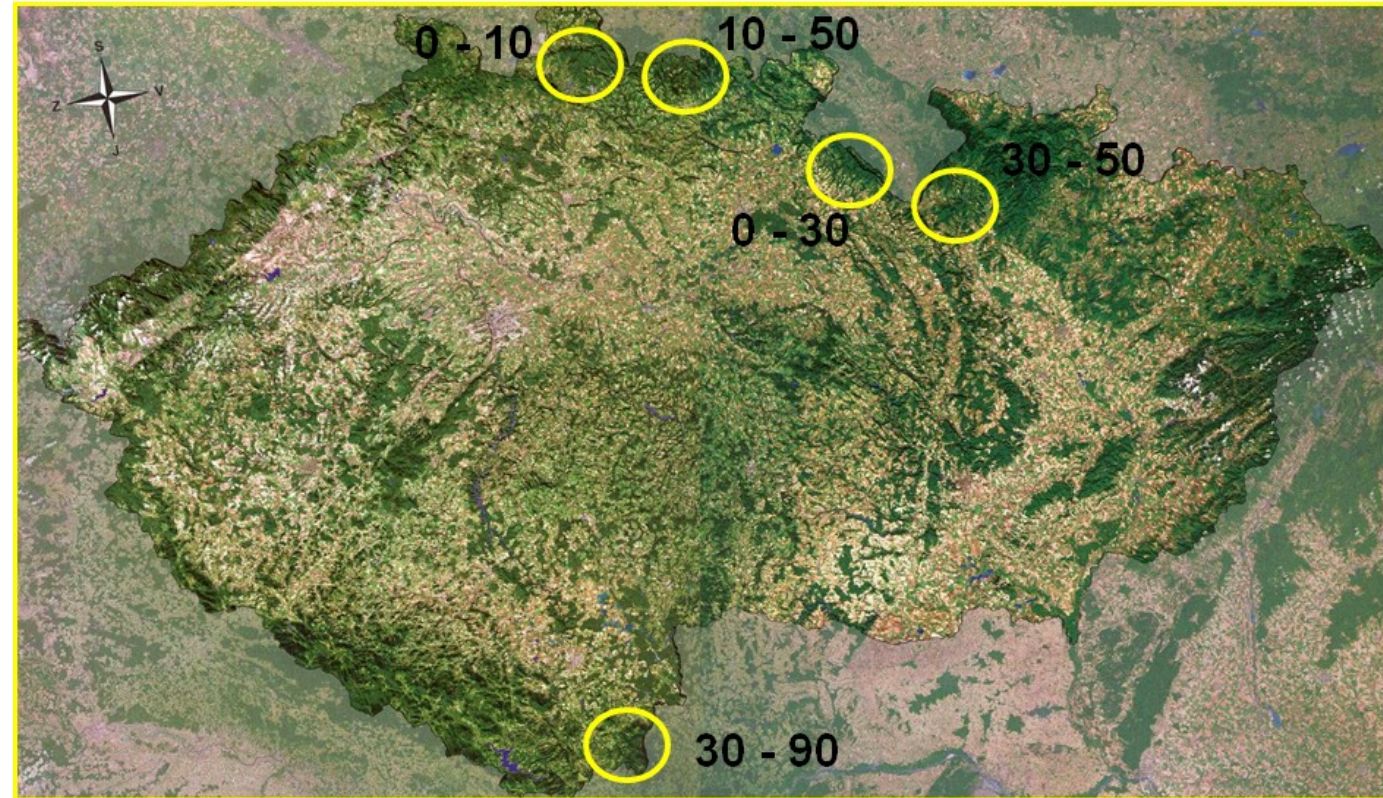


$$\sum_1^m q \cdot f \cdot v$$

Lišejníky - příklad

Hlavní metodické přístupy

- metody fytoocenologické
 - index L
 - Rozsah indexu L v horských smrččinách v našich pohraničních pohořích v 80. letech 20. století



Lišejníky - příklad

Hlavní metodické přístupy

- metody fytoocenologické
 - indikační kapacity - ústup lišejníků - etapy ústupu:
 - snižování vitality (= v z L indexu)
 - snižování abundance (= f z L indexu)
 - snižování počtu druhů (= q z L indexu)



Lišejníky - příklad

Hlavní metodické přístupy

- metody fytoocenologické
 - indikační kapacity - ústup lišejníků - etapy ústupu
 - modelové příklady dynamiky ústupu lišejníků

rovnoměrný ústup

*současný ústup na úrovni druhů, abundance i vitality

dlouhodobý ústup

*převažuje ústup na úrovni druhů
*předpoklad dlouhodobého působení imisí

střednědobý ústup

*převažuje ústup na úrovni abundance

krátkodobý ústup

*převažuje ústup na úrovni vitality
*předpoklad náhlého zvýšení imisní zátěže v nedávné době

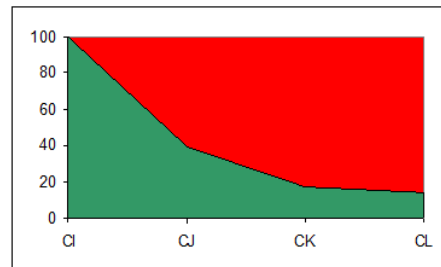
Lišejníky - příklad

Hlavní metodické přístupy

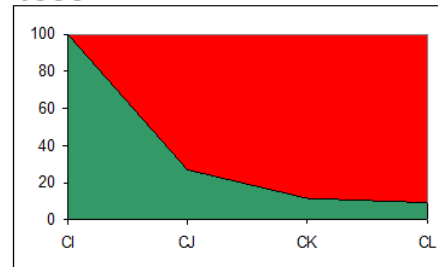
- metody fytoocenologické
 - indikační kapacity - ústup lišejníků - etapy ústupu
 - KRNAP



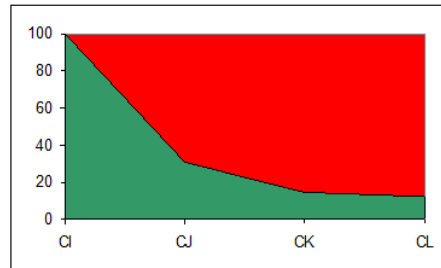
1982



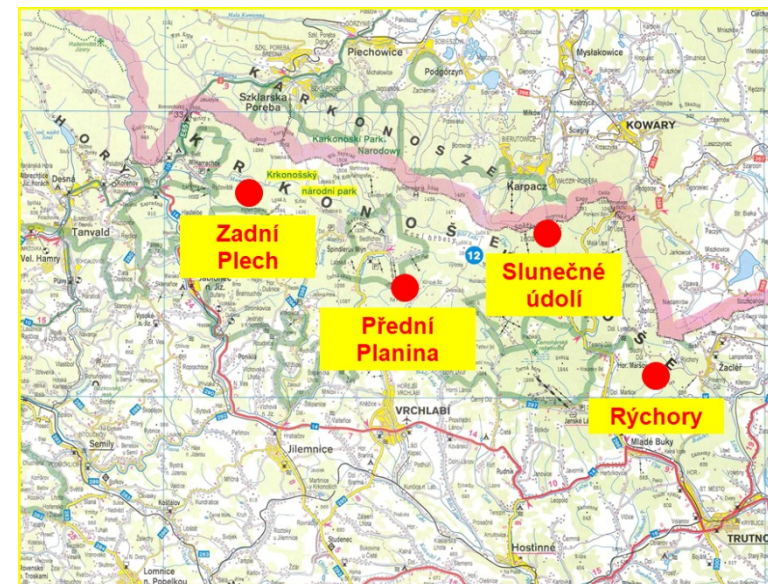
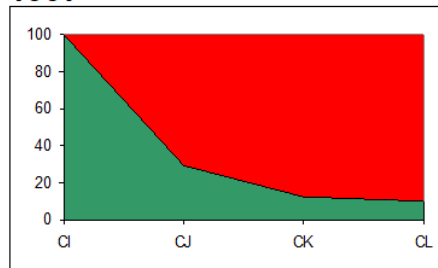
1993



1987



1997



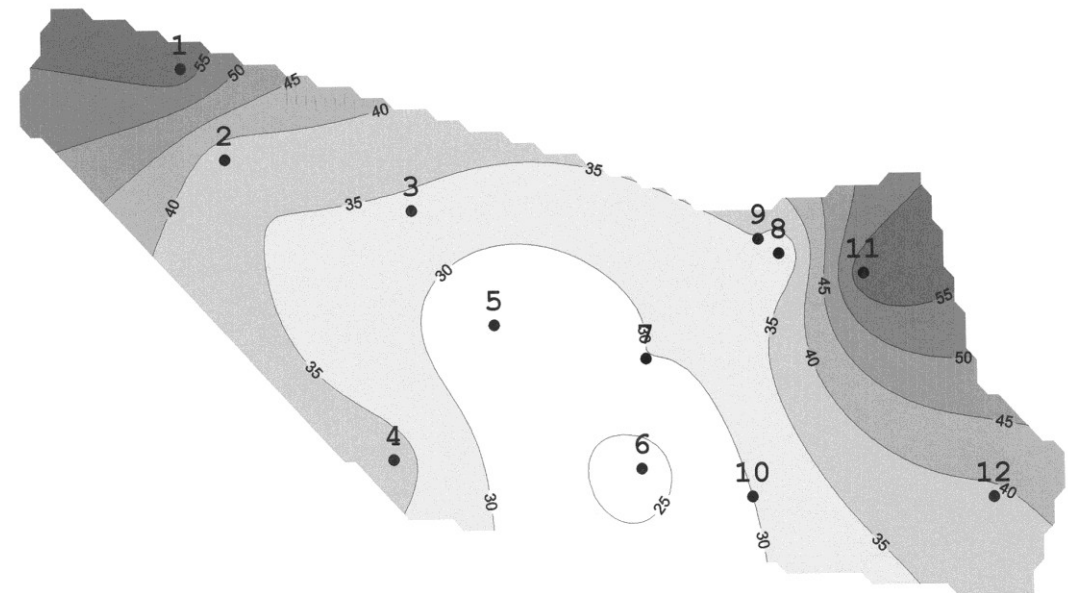
Lišejníky - příklad

Hlavní metodické přístupy

- metody chemicko-analytické - lišejníky jako materiál pro chemickou analýzu



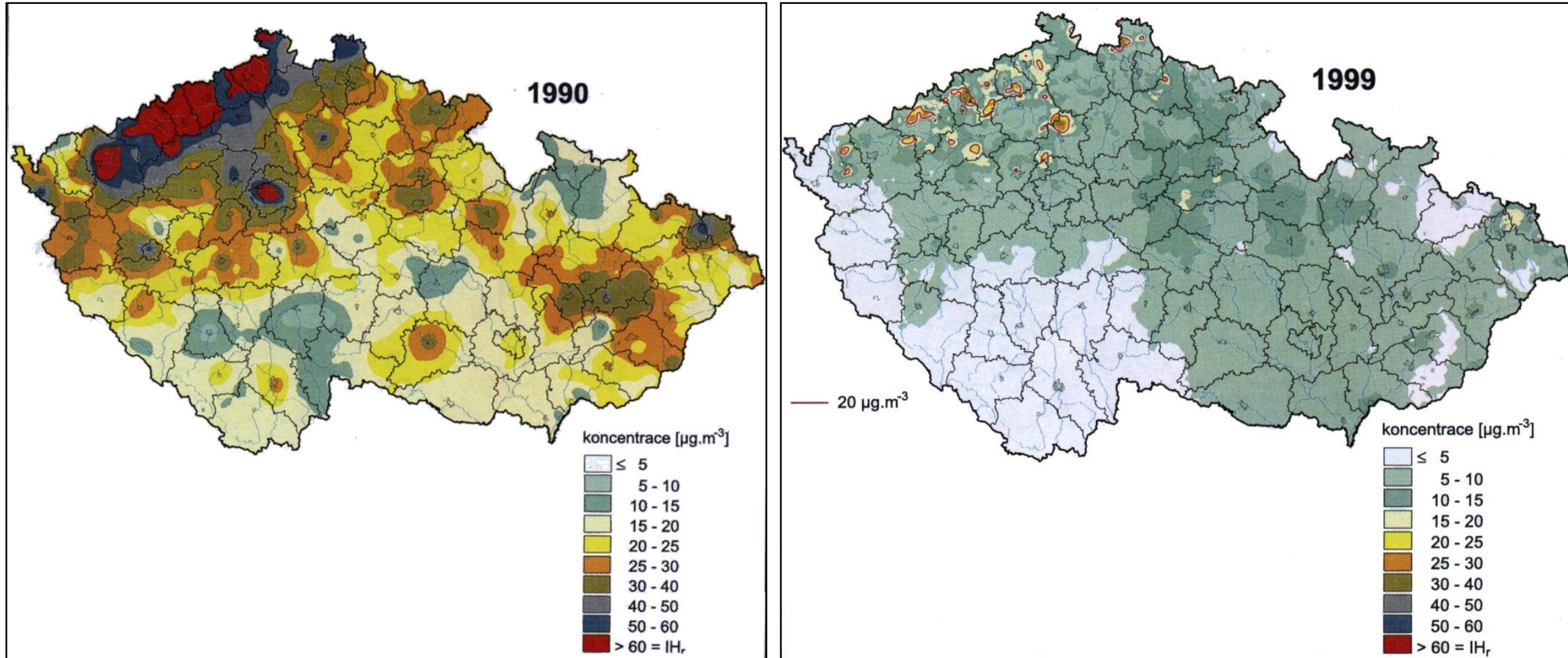
Koncentrace Pb (mg/kg suš.) v lišejníku *Hypogymnia physodes*



Příklad - rozpad smrkových porostů v ČR

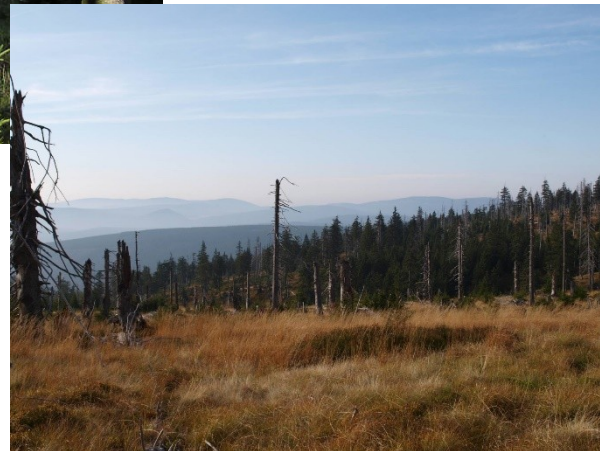
- příklad **komplexního působení několika faktorů**
- horské oblasti ČR, 2. polovina 20. století
- **první příčina** – smrkové monokultury v nevhodných oblastech (mělký kořenový systém – malá odolnost vůči větru, šíření škůdců)
- **druhá příčina** – kyselá dešť v důsledku spalování hnědého uhlí s vysokým obsahem síry
 - okyselování půdy (poškození kořenových systémů, vliv na příjem živin, uvolnění toxického Al ...)
 - přímý vliv na nadzemní části rostlin (květy a mladé výhonky – nejzranitelnější, poškození epikutilárního vosku)
 - přímý úhyn stromů či oslabení – podlehnutí dalším stresorům (sníh, škůdci – kůrovcové kalamity)

Příklad - rozpad smrkových porostů v ČR



SO₂ v ovzduší v 90. letech

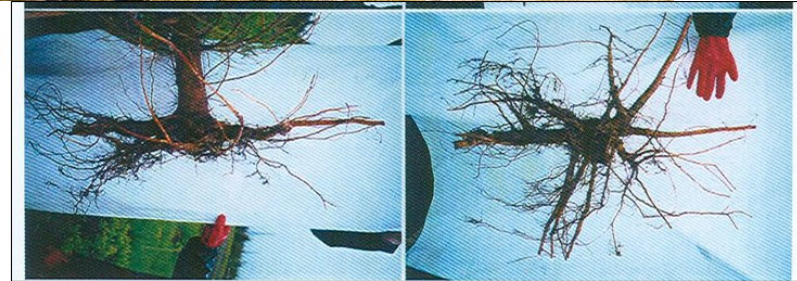
Příklad - rozpad smrkových porostů v ČR



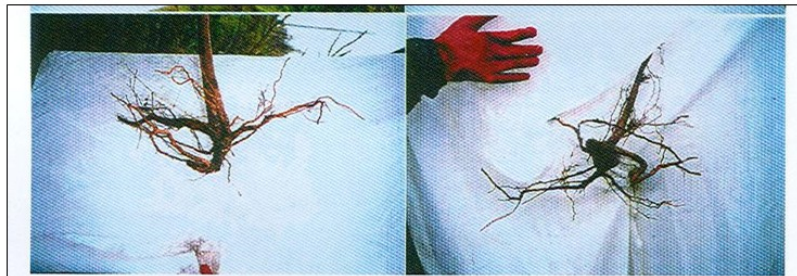
Příklad - rozpad smrkových porostů v ČR



nepoškozený



poškozený



Příklad - rozpad smrkových porostů v ČR

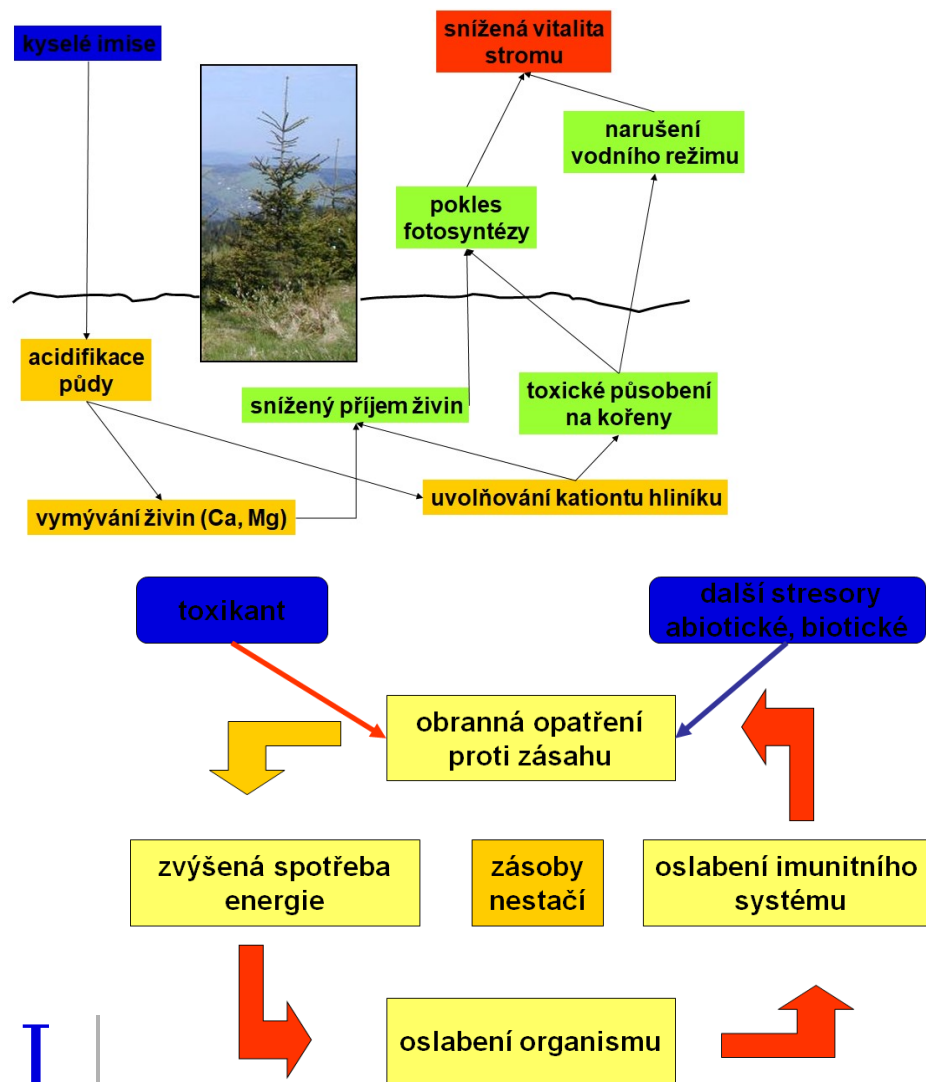
komplexního působení faktorů

- vymývání živin
 - toxické působení hliníkových iontů
 - nedostatek Mg – pokles fotosyntézy
 - vynakládání energie na obnovu kořenů
 - únik kořenů k povrchu – vývraty, mráz
 - akutní působení imisí na jehličí
 - přebytek dusíku
- ↓
- celkové snížení vitality stromu
 - nedostatečná odolnost k: abiotickým faktorům (sucho, mráz, vítr)
biotickým faktorům (houby, hmyz)
- ↓
- výsledek – úhyn stromu



Příklad - rozpad smrkových porostů v ČR

komplexního působení faktorů

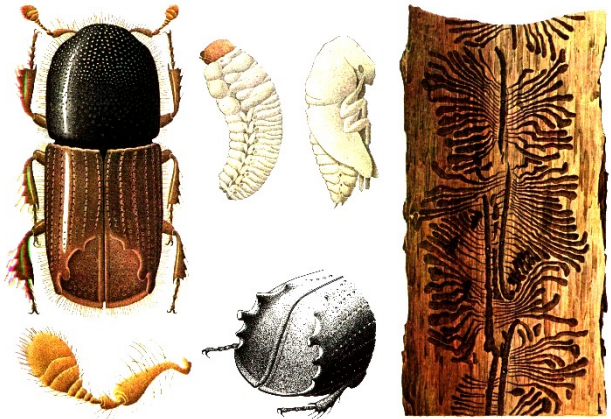


Symptom: předčasné opadávání jehličí. Možné příčiny:

komplexně působící příčiny (vítr, mráz, sucho, imise)
nedostatek Mg
nedostatek K
rez zlatoslizka smrková (<i>Chrysomyxa abietis</i>)
houba <i>Rhizosphaera kalkhoffii</i>
mšice smrková (<i>Liosomaphis abietina</i>)
houba (<i>Lophodermium macrosporum</i>)
mrazivé sucho, mráz (větší náchylnost při nedostatku K)
působení posypových solí
houba (<i>Sirococcus strobilinus</i>)
ploskohřbetka smrková (<i>Cephalcia abietis</i>)
pilatka smrková (<i>Pristiphora abietina</i>)
houba (<i>Ascocalyx abietina</i>)

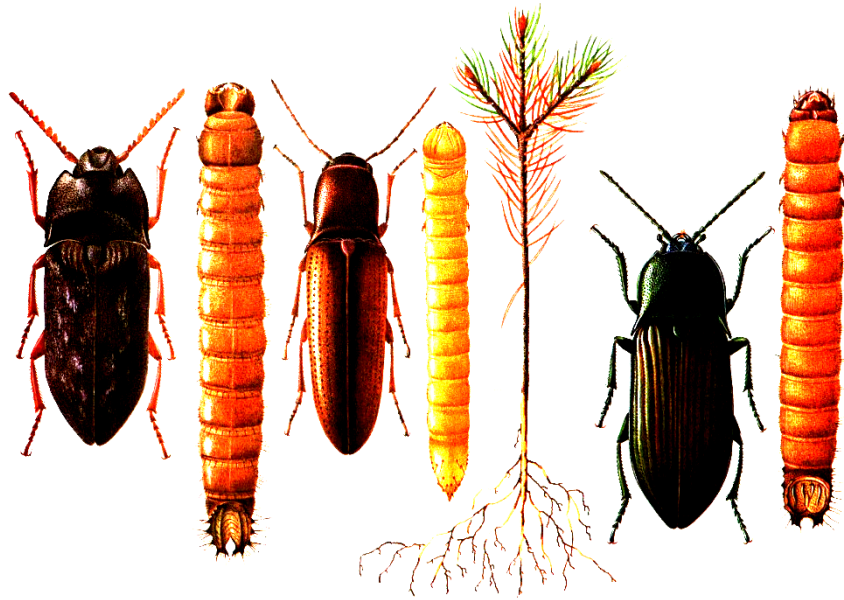
Příklad - rozpad smrkových porostů v ČR

- škůdci – kůrovec, bekyně, korovnice



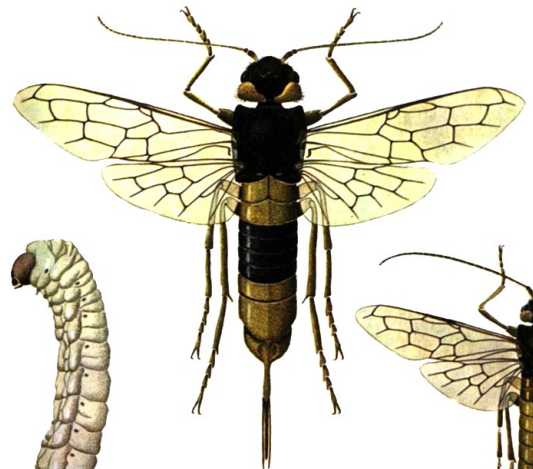
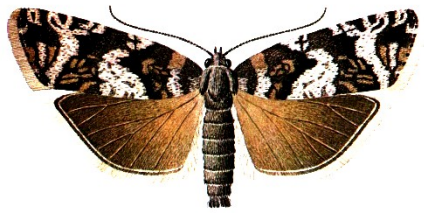
Příklad - rozpad smrkových porostů v ČR

- škůdci – kovaříci, kozlíček, lýkohub



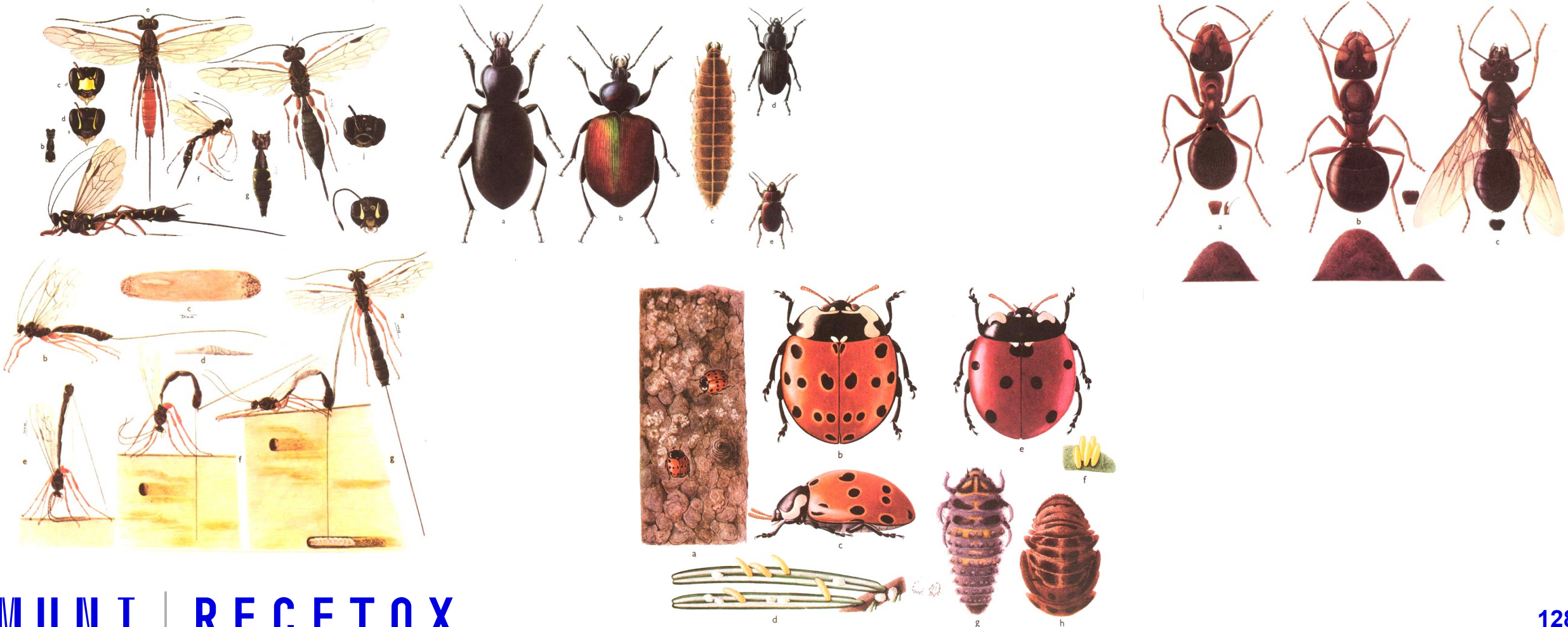
Příklad - rozpad smrkových porostů v ČR

- škůdci – obaleč modřínový, pilatka, pilořitka



Příklad - rozpad smrkových porostů v ČR

- nepřátelé škůdců – lumci, střevlíci, slunéčka, mravenci atd.



Příklad - rozpad smrkových porostů v ČR

další stresor: aplikace insekticidů

- velkoplošná aplikace insekticidů: 1978 – 1983
- použité přípravky: Actellic 50 EC (pirimiphosmethyl – organofosfát, krátké přetrvávání v přírodě) a Ambush 25 EC (permetrin - pyrethroid, nebezpečný i pro studenokrevné živočichy)
- účinnost zásahu: housenky opadávaly ze stromů hodinu po zásahu, průměrná účinnost 81%, celkově zásah zachránil asi 50% jehlic

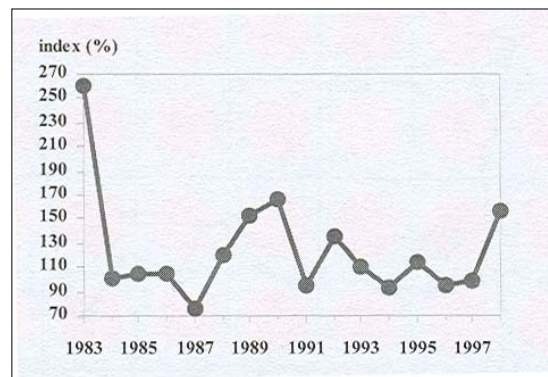


Příklad - rozpad smrkových porostů v ČR

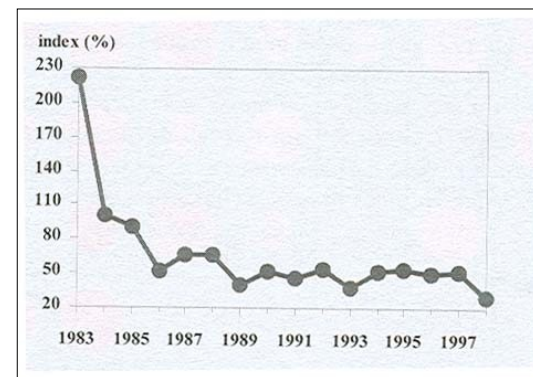
další stresor: aplikace insekticidů - vedlejší vlivy:

- výsledky sledování - na 1 m² pod korunami
 - 230 – 250 housenek obaleče
 - 70 – 230 jedinců dalšího hmyzu
- u hmyzu létajícího nad povrchem půdy – klesl počet jedinců na 40%, později na 20-30% proti kontrole – zvyšování stavů po 14 dnech
- velmi negativní, až drastický vliv na faunu potoků – larvy vodního hmyzu zasaženy a unášeny proudem: 10 – 30 x více proti normálu – nejcitlivější pošvatky
- dlouhodobý vliv na populace hmyzožravých ptáků

Králíček obecný (*Regulus regulus*)



Drozd zpěvný (*Turdus philomelos*)



Literatura

Pankhurst, C.E., Doube, B.M., Gupta, V.V.S.R. (1997): Biological indicators of soil health. CAB International, Wallingford. ISBN 0851991580.

Doran, J. W., Parkin, T. B. (1994): Defining and assessing soil quality. In: Defining soil quality for a sustainable environment. SSSA special publication number 35. SSSA, Inc., American Society of Agronomy, Inc. Madison, Wisconsin, USA, 1994, pp. 3 – 21.

Sáňka, M., Materna, J. (2004): Indikátory kvality zemědělských a lesních půd ČR. Edice Planeta. Odborný časopis pro životní prostředí. Ročník XII, číslo 11/2004, ISSN 1213-3393.

Jensen J. & Mesman M. (2006). Ecological risk assessment of contaminated land. Decision support for site specific investigations. Report 711701047. RIVM, Netherlands

Doelman P. & Eijsackers H.J.P. (2004): Vital Soil - Function, Value and Properties. Elsevier. 358 p. ISBN: 0-444-51772-3

Maier, R.N., Pepper, I.L, Gerba, C.P. (2000): Environmental Microbiology. Academic Press, ISBN: 0124975704, 608 pp.

Atlas, R.M., Bartha, R. (1997): Microbial Ecology: Fundamentals and Applications (4th Edition). Addison-Wesley Pub Co, ISBN: 0805306552, 306 pp.

Paul, E.A., Clark, F.E. (1996): Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, ISBN: 0125468067, 340 pp.

Tate, R.L. (2000): Soil Microbiology (2nd Edition). John Wiley & Sons, ISBN: 0471317918, 536 pp.

Alef, K., Nannipieri, P. (1995): Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, ISBN: 0125138407, 576 pp.

Burlage, R.S., Atlas, R., Stahl, D. (1998): Techniques in Microbial Ecology. Oxford University Press, ISBN: 0195092236.

Hurst, C.J., Crawford, R.L., Knudsen, G.R. (2002): Manual of Environmental Microbiology. Amer Society for Microbiology, ISBN: 155581199X, 1138 pp.

Pepper, I., Gerba, C. (2005): Environmental Microbiology: A Laboratory Manual. Academic Press.

Gill, R., Ramos-Rodriguez, O. & Raine, N. Combined pesticide exposure severely affects individual- and colony-level traits in bees. Nature 491, 105–108 (2012). <https://doi.org/10.1038/nature11585>