

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Fakulta rybářství a ochrany vod
Ústav komplexních systémů

Bakalářská práce

**Změny hejnové hierarchie ryb jako citlivý indikátor
bioaktivních látek**

Autor: Barbora Macková

Vedoucí bakalářské práce: Renata Rychtáriková-Štysová Ing. Ph.D.

Konzultant bakalářské práce: Kirill Lonhus MSc.

Studijní program a obor: Ekologie a ochrana prostředí, Ochrana vod

Forma studia: Prezenční

Ročník: 3.

České Budějovice, 2020

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že, v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění, souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě. Zveřejnění probíhá elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne

Barbora Macková

Poděkování

Tímto bych chtěla vyjádřit dík vedoucímu práce a konzultantovi za poskytnutí péče, materiálů a prostoru laboratoře pro zpracování bakalářské práce. Všem, kteří se podíleli na vytvoření zázemí pro pokusné organismy a technické podpoře, především Natali Lonhus, za poskytnuté cenné rady a pomoc při zakládání akvárií.

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Fakulta rybnářství a ochrany vod

Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Barbora MACKOVÁ**
Osobní číslo: **V17B036P**
Studijní program: **B1601 Ekologie a ochrana prostředí**
Studijní obor: **Ochrana vod**
Téma práce: **Změny hejnové hierarchie ryb jako citlivý indikátor bioaktivních látek**
Zadávací katedra: **Ústav komplexních systémů**

Zásady pro vypracování

Zařízení SiD Viewer je vsádkové zařízení určené k pozorování chování rybích jedinců v hejně. Jedná se o akvárium obklopené 4 zrcadly a umístěné v osvětlovacím boxu. Akvárium je snímáno vysokorychlostní kamerou. Toto technické řešení umožňuje v průběhu experimentu snímat obsah akvária, tj. pohyb ryb, z pěti stran. Navazující vyvíjený software pro zpracování obrazu vyhodnocuje pohyb hejna v čase a prostoru. Cílem práce bude ověřit funkčnost zařízení SiD Viewer a na základě vizuálního i automatizovaného pozorování *Puntrigrus tetrazona* ve sledovacím zařízení SiD Viewer rozšířit poznání o chování ryb v prostředí bioaktivních látek. Jako bioaktivní látka bude použit ethanol.

Rozsah pracovní zprávy: **30-50 stran**
Rozsah grafických prací: **dle výsledků**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

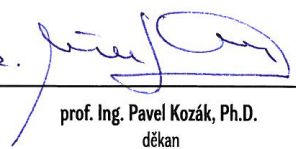
Seznam doporučené literatury:

- [1] ŠTYS, D.; PEČENKOVÁ, J.; ŠTYS, K.M.; CHKALOVA, M.; KOUBA, P.; PAUTSINA, A.; DURNIEV, D.; NÁHLÍK, T. a CÍSAŘ, P. (2015) SiD Viewer – Observation of fish school behaviour in labyrinths and use of semantic and syntactic entropy for school structure definition. *WASET Int. J. Comp. Electr. Autom. Control. Inform. Eng.* 9(1), 281-285.
- [2] LONHUS, K.; ŠTYS, D.; SABERIOON, M. a RYCHTÁRIKOVÁ, R. (2019) Segmentation of laterally symmetric overlapping objects: application to images of collective animal behavior. *Symmetry* 11(7), 866.
- [3] LADU, F. (2014) Sociality modulates the effects of ethanol in zebra fish. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 38(7), 2096-2104.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Renata Štysová Rychtáriková, Ph.D.**
Ústav komplexních systémů

Konzultant bakalářské práce: **MSc. Kirill Lonhus**

Datum zadání bakalářské práce: 2. července 2020
Termín odevzdání bakalářské práce: 3. května 2021

02. 

prof. Ing. Pavel Kozák, Ph.D.
děkan

L.S.



Ing. Petr Císař, Ph.D.
ředitel

V Českých Budějovicích dne 26. dubna 2021

Obsah

1	Úvod.....	1
2	Literární rešerše	3
	2.1 Behaviorální ekologie ryb.....	3
	2.1.1 Orientace a komunikace ve vodním prostředí.....	4
	2.1.2 Pohlavní chování ryb.....	6
	2.1.3 Sociální chování ryb.....	6
	2.1.4 Hierarchie	8
	2.2 Znečištění vodního prostředí.....	10
	2.2.1 Porozumění chemickým sloučeninám.....	11
	2.2.2 Testy toxicity.....	12
	2.2.3 Vliv životního prostředí na chování živočichů	14
	2.2.4 Změny chování ryb jako bioindikátor znečištění prostředí.....	15
	2.3 Pozorovací metody.....	18
	2.4 Modelový organismus.....	19
	2.4.1 Anatomie a morfologie	19
	2.4.2 Ekologie	20
	2.4.3 Potrava.....	21
	2.4.4 Etologie	22
3	Metodika experimentu	23
	3.1 5iD Viewer a analýza obrazu	23
	3.2 Návrh experimentu pro zařízení 5iD Viewer	25
4	Výsledky a diskuse	29
	4.1 Specifikace rybího hejna	31
	4.2 Indikace referenční látky.....	38
5	Závěr	44
6	Seznam použitých literárních zdrojů	45
7	Seznam použitých zkratk	52
8	Abstrakt.....	54
9	Abstract.....	55

1 Úvod

Hydrosféra slouží obecně nejen jako dobývací prostor pro získávání vodních zdrojů, ale také jako zpětný odběratel odpadních produktů organismů včetně člověka. Chemismus vody je odrazem prostředí, se kterým přichází organismy do kontaktu. Vedle přirozeně přítomných substancí se ve vodním prostředí nachází i nezanedbatelné množství látek, či jejich sloučenin, vzniklých nebo přidaných do oběhu antropogenní činností, které se do systému povrchových a podzemních vod dostávají v odpadních vodách, splachem ze zemského povrchu nebo vymíláním z atmosféry, či během samotné úpravy a dezinfekci vody. Takto nastavený systém využití vod je závislý na omezené technologii čištění odpadních vod a kapacitě prostředí poskytovat ekosystémové služby – samočistící schopnost vody.

Pro monitoring kvality vod jsou v současné době se využívány zejména klasické analytické metody testování přítomnosti vybraných polutantů dle typu vod. Zvláštní důraz je potom kladen na jakost pitné vody. Vzorčky jsou periodicky odebírány v různých časových intervalech podle důležitosti, na většině kontrolních míst však není zajištěno kontinuální sledování koncentrací znečišťujících vybraných látek. Rozhodnutí o stanovení přípustných koncentračních limitů jednotlivých látek, označených jako polutanty, ve vodách jsou vydávána na základě ekotoxikologických testů, ve kterých se stanovuje nejčastěji letalita exponovaného organismu při akutním působení. U vybrané skupiny látek je znám vliv na vývoj některých skupin organismů v různých fázích života nebo na jejich fitness či fitness dalších generací při dlouhodobé expozici.

Tato práce je prací smluvního experimentálního vývoje sledovacího zařízení prováděného na Ústavu komplexních systémů FROV JČU v Nových Hradech ve spolupráci s firmou ENVI-PUR, s.r.o. a přináší další poznatky o využití rybího hejna při monitorování kvality vod. Při posuzování vychází z poznatků v oblasti behaviorální ekologie, zejména se soustředí na sociální chování hejna a jeho schopnost zrcadlit podmínky prostředí. Vzhledem k tomu, že můžeme předpokládat vliv polutantů na chování pokusných organismů, je možné jejich pozorováním rozšířit znalost látek na další úroveň, či přispět k jejich lepší detekci. Jako modelový organismus byla pro své silné hejnové chování a nízkou náročnost na kvalitu vody

zvolena parmička čtyřpruhá (*Puntigrus tetrazona*), která byla chována v podmínkách porovnatelných s těmi v normalizovaném pokusu letální toxicity sladkovodních ryb.

Cílem bakalářské práce je zvážit možnosti využití rybího hejna jako citlivého senzoru pro monitoring kvality vod. Pro standardizaci popisu chování hejna je v této práci navrženo několik parametrů (např. vztah k těžišti hejna, rychlost, vzájemná vzdálenost ryb a jejich osobní prostor, intenzita zbarvení, komunikace mezi jedinci). Součástí je návrh designu experimentu pro pozorování chování pokusného organismu ve sledovacím zařízení. Výběr parametrů vychází ze studie modelového organismu a jeho projevů chování na úrovni hejna jako celku, včetně jeho individuálních podjednotek, s využitím automatické metody vyhodnocování obrazu v reálném čase bez nutnosti značení na těle ryb. Vyhodnocení bylo provedeno pro vztah k těžišti hejna, rychlost a vzdálenost mezi rybami. Pro účely této pilotní srovnávací studie byly ryby po dobu trvání experimentu (přibližně 30 min) vystaveny působení ethanolu (1,5 a 2,5 obj. ‰) a následně byly hodnoceny změny ve vybraných parametrech oproti kontrole, tedy chování ryb v akváriu bez přidaných látek.

2 Literární rešerše

2.1 Behaviorální ekologie ryb

Vznik, udržení a rozvíjení určitého typu chování živočichů lze vysvětlit odpověďmi na následující čtyři základní otázky (TINBERGEN 1963):

1. *Funkce.* Jak chování ve své funkci ovlivňuje fitness jedince a jeho potomků?
2. *Příčina.* Jak je daný projev formován prostředím, dostupností potravy a strategiemi chování ostatních členů společenství?
3. *Mechanismus.* Jaké jsou genetické predispozice, stádium ontogeneze a zkušenosti jedince?
4. *Evoluční historie.* Jaká je evoluční minulost vzorce chování a morfologické změny jím podmíněné, včetně vlivu na radiaci druhů a obsazování nik?

Pro studium chování je stěžejní pozorovat živočichy v jejich přirozeném habitatu. Experimentální data ve studiích zaměřených na prvky chování jsou vyhodnocována analýzou nákladů a přínosů („cost“ a „benefits“) (TINBERGEN 1974). Průkopníci etologie Konrad Lorenz (1903–1989) a Nikolaas Tinbergen (1907–1988) považují vzorce chování, podobně jako morfologické struktury, za důležitou součást popisu druhu. Pozdější etologické práce z 1. pol. 20. století se zaměřují zejména na *funkci* chování a mají sklon přehlížet ostatní tři otázky. Většinový pohled na živočichy jako na strojky s naprogramovanými reakcemi vystřídal práce z konce 20. století, které vnímají živočichy jako bravurní společenské taktiky s přísnou ekonomii chování. Dnešní etologie nachází odpovědi v průniku obou těchto oborů, například ve spojení určitého trendu v chování jedince nebo celého druhu s formujícími faktory prostředí. Prostředí ovlivňuje u živočichů jejich následující životní strategie (CROOK a GARLAN 1966):

Prostorová strategie – kolonie nebo teritoria

Potravní strategie – solitérní nebo hejnová

Pohlavní strategie – monogamie nebo polygamie

Studium *mechanismů* chování je doménou neurobiologie a fyziologie (DVOŘÁK 2014), *funkce* a *evoluce* zůstávají v zájmu sociobiologie (WILSON 1975). Nejnovější práce navazují

na starší studie, a zároveň těží hlavně z metodologického pokroku. Studie využívají multivariační statistické metody při ověřování hypotéz, metody kvantifikace chování a ekologických znaků (LITTLE a FINGER 1990).

2.1.1 Orientace a komunikace ve vodním prostředí

Pro orientaci v prostoru využívají organismy různé smyslové adaptace. Tyto signály mohou být uniformní i mezi živočišnými druhy navzájem. Signalizace mezi jedinci je vizuální, akustická i chemická, převládá podle podmínek prostředí. Signály, které jsou určeny ke komunikaci, jsou extrémně specifické a jejich diverzita je ohromná.

Způsob komunikace je ovlivněn fyzikálními vlastnostmi prostředí. Ekologické faktory působí formujícím evolučním tlakem na anatomické a morfologické struktury sensorických orgánů. Způsob života rodičů rozvíjí funkční struktury potomků, čímž vznikají nové adaptace pro daný způsob života (DUSENBERY 1992).

Organismy se vyrovnávají s nedokonalostí svých smyslů různým způsobem. Ve vodním prostředí je zrak limitovaný rozptýlením světla na dispergovaných částicích, načež mnoho druhů ryb odpovídá evolučním zvýšením barevnosti a kontrastu, nebo zvýšením fotosensibility oka či jeho zvětšením. Vesměs je zrak otázka přenosu na krátké vzdálenosti. Výhodou optického signálu je jeho přesnost (DOUGLAS a DJAMGOS 1990).

Podvodním komunikačním prostředkem je proudový orgán (postranní čára), který vnímá změny tlaku vody. Další významnou platformou předávání informací je chemorecepce. Chemické signály (feromony) se účastní komunikace pro udržení hejna, značení teritorií, komunikace mezi druhy, pohlavní a individuální identifikace, páření a během péče o potomstvo. Ještě nejsou zcela popsány všechny mechanismy fungování feromonů a jejich metabolické dráhy. Ne všechny chemické látky vylučované organismem se účastní komunikace mezi jedinci, jejich působení je závislé na faktorech prostředí (LILEY 2011). U některých druhů došlo k vývoji různých tělních výrůstků se zvýšeným počtem chemoreceptorů (DUSENBERY 1992).

Jako příklad chemické komunikace se uvádí specializované dermální buňky mnoha sladkovodních ryb, které vypouštějí po poškození do prostředí feromony, jež jsou pro ostatní jasnými signály pro nebezpečí, na které jedinci reagují zpomalením a snížením příjmu

potravy, či znatelnějšími projevy hejnového chování (SMITH 1992, CHIVERS a SMITH 1998). Druhy sdílející predátory mohou sdílet i antipredační signály. Pro získání informace o koncentračním gradientu látky musí ryba ve vodě zachytit více než jeden směřodatný signál, aby došlo ke spuštění reakční dráhy. Tyto látky jsou nositeli informace a správné vyhodnocení je během jakékoliv interakce klíčové. Signály musí zapadat na přijímající nervová zakončení a receptory jako klíč do zámku a nechtěné přenosy by měly být co nejvíce eliminovány. Komunikace často probíhá na velké vzdálenosti a její signál je v „hlučném“ prostředí interferujících látek rušen.

Komunikace probíhá, když akce jednoho jedince způsobí reakci druhého, jejíž projevem je změna chování. V mnoha situacích jsou zvýhodněni jedinci, kteří dokážou odečítat psychický, motivační a fyzický stav ostatních. U signalizátora je kladen důraz na design signálu a vyvolání správné reakce u přijímajícího jedince, jeho signalizace je forma manipulace. Zároveň jsou preferovány ty komunikační prostředky, které nevystavují signalizátora nebezpečí a jsou energeticky nenáročné. Za některých okolností se vyplatí využít nepravdivých nebo nadhodnocených signálů pro oklamání přijímajícího jedince, například při zastrašování. Přijímající jedinec je zase tlačěn k lepšímu pochopení záměru signalizujícího jedince a odhalení klamavých signálů. Je tedy jakýmsi vykladačem myslí signalizátora a signály jsou pro něho cenným zdrojem informace. Nicméně účastníci komunikace jsou, alespoň v průměru, v neustálém tlaku chovat se upřímně a informovat pravdivě o své situaci (DAWKINS a KREBS 1978).

Při obraně teritoria a jiných stresujících situacích nebo během páření zaujímají ploutve či jiné tělní výrůstky ryb různá postavení. Údernost jejich sdělení může být umocněna barevným zvýrazněním. Další možností je úmyslné zvětšení objemu při zastrašování nepřítele. Predační tlak může vytvářet rozdíly v barevnosti i mezi jednotlivými populacemi stejného druhu. Ryby, které jsou barevně méně výrazné v oblasti spektra pod rozlišovací schopností predátora, čelí také menší pozornosti ze strany predátorů (WILEY 1983). Látky, které mění schopnost percepce a komunikace mohou potencionálně mít vliv na ekosystém a není vyloučen ani jejich vliv na chování člověka. U ryb mohou cizorodé látky měnit vzorce antipredačního, pohlavního i sociálního chování (HERBERT-READ 2017).

2.1.2 Pohlavní chování ryb

Jedním ze základních příkladů kooperace nejen mezi jedinci stejného druhu, ale i mezi živočišnými druhy navzájem je signalizace pro rozpoznání druhů během páření. Zamezuje se tak neplodným spojením a zbytečným energetickým a časovým investicím.

V oblastech vysoké míry druhové diverzity může být mimo prostorovou izolaci důležitými evolučními mechanismy také důraz jedinců na výběr různých atraktivních morfologických znaků, potravní preference nebo výhodné strategie. U vizuálních znaků se samičky při výběru partnera soustředí na velikost, souměrnost, aktivitu a barevnost (ZAHAVI 1975, 1977). Jsou to znaky, které jsou dobře průkazné v termínech fitness. Souměrnost značí dobré genetické vlastnosti. Velikost, intenzita karotenového zbarvení a míra pigmentace zase ukazují nutriční status jedince, jelikož závisí na množství a kvalitě získané potravy (HILL 1991, 1992). Existuje závislost mezi celkovou melanizací samců živorodky duhové (*Poecilia reticulata*) a počtem jejich pokusů o páření. Tmavší samci s výraznějším vzorem mají větší úspěch u samic (BAERENDS 1955). Některé barevné struktury mohou být ale naopak pro živočicha znevýhodňující a mohou je vykazovat pouze jedinci s dobrou energetickou bilancí. Aby reprodukce proběhla úspěšně, musí být provedena sekvence chování počínající výběrem místa pro tření, tření samotné, investice do péče o snůšku (POTTS a WOOTTON 1984).

Dalším ekologickým faktorem ovlivňujícím míru motivace se rozmnožovat je velikost hejna. Je-li v nádrži pouze jeden pár, rozmnožování probíhá intenzivně a krátce. Se stoupajícím počtem párů motivace rozmnožovat se klesá, ale pokusy jsou činěny významně déle (FARR a HERRNKIND 1974).

2.1.3 Sociální chování ryb

Většina zvířat nachází zvýšení fitness pro sebe a své potomky v sociálních svazcích. Tato uskupení jsou druhově specifická s návazností na prostředí. Dlouho byly skupiny jedinců považovány za samostatnou jednotku a sociální chování popisováno z pohledu výhodnosti pro celou skupinu. Sociální uskupení jsou vnímána jako adaptace na regulaci počtu jedinců a čistá selekce uvnitř populace za faktor formující chování.

Přestože sociální chování vede hlavně ke zvýšení fitness jedince, jedinci uvnitř skupiny v mnoha aspektech spolupracují. Některé druhy těží ze vzájemné přítomnosti a spolupráce zejména při hledání potravy a obraně proti predátorům. Kooperace nastává, jestliže obě vstupující strany získávají z interakce nějaký užitek. Útvary složené ze schopných, spolehlivých a altruistických jedinců lépe prospívají. Fitness může být zvýšena přímo i nepřímo, například při využití fenoménu pomoci příbuzným (HAMILTON 1964).

V pracích z 2. pol. 20. století se klade důraz na výhody, které sociální chování přináší jednotlivcům, a poukazuje se na fakt, že se chování a fitness mění s postavením jedince ve skupině (WILLIAMS 1966). Při koexistenci dvou jedinců dochází k interakci na úrovni jejich behaviorální strategie. Společnost je uspořádaná skupina jedinců stejného druhu, která vyniká určitou měrou kooperace.

Sociálním uspořádáním většiny ryb je *hejno* formované za účelem tření a přežití (BROWN 1975). Třecí hejna jsou rovnoměrně seskupena za účelem rozmnožování obou pohlaví a nevykazují známky péče o potomstvo. Konflikt mezi pohlavími není tak extrémní, jako třeba u ptáků (TRIVERS 1972). Hejna utvořená za účelem přežití jsou tvořena náhodně příbuznými jedinci, kteří jsou k sobě vzájemně přitahováni za účelem zvýšení fitness. Samičky se páří s několika samci pro zajištění rozmanitosti potomstva. Při oplozování dochází ke kompetici spermií různých samců, to vysvětluje vznik promiskuitního chování (PARKER 1970).

Skupinová agregace je původně antipredační, potravní, potažmo rozmnožovací strategií jedince. Jedním takovým nástrojem je synchronicita plavání v hejnu, kdy se ryby snaží odlákat pozornost na ostatní a zvýšit tak svou vlastní naději na únik. Míra pozornosti, kterou ryba od svých soupeřů v hejnu dostává, může vypovědět mnoho o jejím sociálním postavení a zkušenostech.

Analýza chování jednotlivce odhalila vztah mezi predačním tlakem, dynamikou pohybu hejna a jeho kohezí, tj. největší vzdáleností mezi jedinci, při jejímž dosažení jedinci plavou zpět do centra. Polarizace hejna se však zdá být predační neovlivněna (HERBERT-READ 2017). Většina experimentů vystavuje pozorované organismy netradičním situacím a následně analyzuje jejich reakci. Jen málo studií se soustředí na volně se pohybující hejno. Mechanismy řídicí základní chování a přirozenou anatomii hejna jsou stále předmětem diskuse.

2.1.4 Hierarchie

Téměř ve všech skupinách obratlovců existují hierarchické struktury. Společenský status je měřen úspěšností předání genetické informace. Dominantní jedinci užívají výjimečných privilegií, ale jsou v neustálém nebezpečí ztráty postavení. Společenské souboje jsou vyčerpávající a nesou s sebou nebezpečí zranění, či dokonce smrti. Jsou-li ve skupině i jen malé rozdíly v síle jedinců, dochází k soubojům častěji, protože níže postavení jedinci mají vyšší motivaci se pokoušet vůdčího jedince svrhnout. Jestliže je míra risku dostatečně vysoká, vyplatí se podřízenému jedinci zůstat v mírovém stavu (REEVE 1993).

Hierarchii můžeme chápat jako *lineární žebříček* nebo *nelineární síť*. Perfektně lineární společenská posloupnost je vzácná, ale míra nelinearity je někdy tak malá, že se vůbec neuvažuje. Společenské uspořádání je nutné začít popisovat chováním jednotlivců, pokračovat popisem vznikajících interakcí, a teprve potom postoupit na úroveň organice hejna nebo jeho struktury. Interakce mezi individuálními jedinci tvoří základ pro vyšší organizační struktury.

Hierarchie může být ovlivněna ekologickými faktory působícími na fyziologii jedince, sezonalitou, stářím jedinců, složením hejna a jeho velikostí (SLOMAN 2002). Obecně hejna mladších vývojových stádií vykazují větší míru nelinearity než hejno složené z vyspělých jedinců. Při popisu hierarchie hejna se postupuje následujícím způsobem (BOYD a SILK 1983):

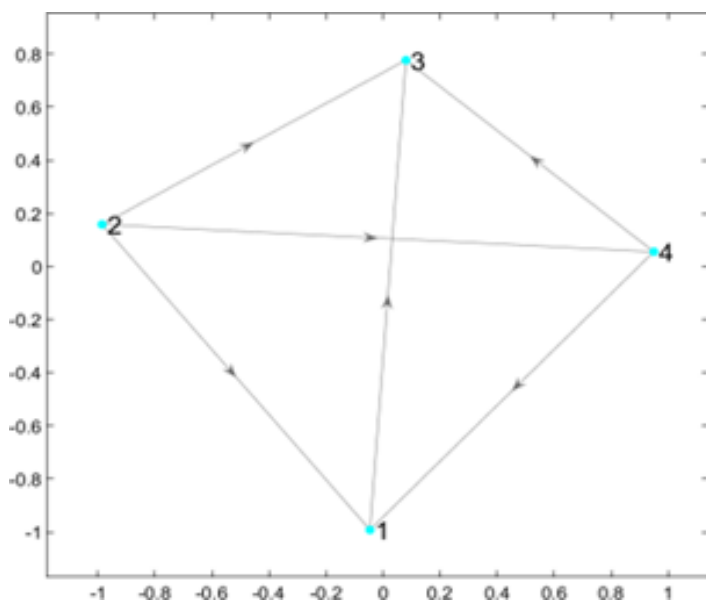
- *Identifikace dominantních projevů chování.*
- *Stanovení definice vítězství a prohry při konfliktu dvou jedinců.*
 1. *Dlouhodobá řada dat o interakcích mezi jedinci.*
 2. *Priorita při získávání zdrojů.*
 3. *Počet agonistických setkání.*
 4. *Počet konfliktních setkání.*
 5. *Opětovanost útoku.*
- *Počet konfliktních setkání.*
- *Ustanovení statistického vzorce výsledků interakcí.*
- *Konstrukce matice členů pozorovaného hejna s přiřazenými hodnotami (Tabulka 1).*
- *Vytvoření diagramu hierarchie (Obrázek 1).*

1. Jedinci jsou všichni navzájem spojeni stejným počtem čar symbolizující sociální interakce.
2. Diagram zaznamenává pouze interakce, které se opravdu udály, někdy za použití manipulace k vyvolání konfliktu (LANDAU 1951).

	A	B	C	D	E
A	-	21	0	29	11
B	0	-	0	0	0
C	22	11	-	8	18
D	0	11	0	-	6
E	0	2	0	0	-

	A	B	C	D	E
A	-	22	8	18	11
B	0	-	29	11	21
C	22	11	-	6	11
D	0	11	0	-	2
E	0	0	0	0	-

Tabulka 1. Příklad dokonale lineárního uskupení, kdy $h = 1,0$ (LANDAU 1951). (vlevo) Jedinci A, B, C, D, E a počet výherních setkání, (vpravo) stejná tabulka seřazena podle hierarchie.



Obrázek 1. Diagram síly (délka) a směru (šipka) interakcí mezi jedinci (LONHUS 2019).

2.2 Znečištění vodního prostředí

Látky mají v prostředí různý osud a rozdílnou dobu zdržení. Jejich koncentrace se v různých složkách vodního prostředí liší (sedimenty, voda, potrava). Studium koloběhu živin v prostředí je nedílnou součástí i akvatické toxikologie. Klíčové je porozumění chemickým (hydrolýza, acidobazické reakce, oxidace–redukce, fotolýza, komplexotvorné rovnováhy), fyzikálním (molekulární struktura, rozpustnost, sorpce) a biologickým (biotransformace, bioakumulace, biodegradace) faktorům toku látek v prostředí (pH, teplota, salinita). Toto porozumění tak vyžaduje podrobnou znalost akvatické ekologie (TRUHAUT 1977, BUTLER a PARKE 1978).

Většina přirozených vodních ploch jsou otevřené systémy lišící se mimo jiné hlavně chemickým složením látek. Vody běžně obsahují ionty (Ca^{2+} , Cl^- , Na^+ , Mg^{2+} , K^+ , S^{2-}), rozpuštěné plyny (CO_2 , O_2 , H_2S , N_2 aj.) a živiny (P, $\text{NO}_3\text{--NO}_2$, Si, sloučeniny C – např. rozpuštěný/nerozpuštěný organický uhlík DOC, POC a TOC, amino- a huminové kyseliny), stopové množství (Fe, Ni, Li, Cu, Hg, Al) a různé koloidy.

Některé organismy produkují do svého okolí odpadní látky, které mohou ovlivňovat další složky ekosystému. Nejvýznamnějším producentem takových látek je člověk. Systém nakládání s odpady vlastní pro lidskou společnost má za následek současné znečištění povrchových vod. Čistírny odpadních vod (ČOV) sice významně snižují koncentrace látek nebezpečných pro prostředí, přesto se dnes již tyto látky běžně vyskytují ve volných vodách i pod velkými ČOV.

Koncentrace škodlivin, které by způsobovaly hromadné úhyny ryb se v našich vodách již nevyskytují tak často jako tomu bylo v minulých letech, nicméně i relativně nízké množství cizorodých látek má na vodní organismy včetně ryb negativní vliv a vyvolává u nich různé adaptační reakce. Často jsou zasaženy systémy jaterních enzymů zbavující tělo toxických látek, probíhají různé stresové reakce apod.

Antropogenními polutanty vyskytující se ve vodním prostředí jsou zejména průmyslové polutanty, pesticidy a produkty PPCP (z angl. pharmaceuticals and personal care products), a to zejména farmaka. Například antibiotika, steroidní léčiva a jejich metabolity jsou obecně biologicky vysoce účinné látky, což znamená, že působí na organismy již ve velmi nízkých koncentracích. Část PPCP je zahrnována do skupiny tzv. endokrinních disruptorů (EDC). Některá farmaka (zejména antidepresiva) mohou ovlivňovat chování organismů.

2.2.1 Porozumění chemickým sloučeninám

Akvatická toxikologie se zabývá efektem umělých chemických sloučenin a látek antropogenního původu na vodní organismy na několika úrovních organizace, od buněk, přes jednotlivé organismy, ke komunitám a celým ekosystémům. U látek můžeme sledovat pozitivní i negativní vliv na exponovaný organismus, toxikologie se však zaměřuje na negativní působení (teratogenita, biochemická a imunologická odezva, mutagenita, karcinogenita). Součástí studií toxikologie látek je i doba potřebná pro detoxikaci organismu. Pokusní jedinci jsou vlivům toxické látky vystaveny buďto dlouhodobě, nebo krátkodobě. Sledují se *akutní* a *chronické* projevy intoxikace zkoumanou látkou v různých koncentracích. Látky mohou být vstřebávány různým způsobem (perorálně, průnik kůží, žaberním epitelem).

Povědomí o toxicitě odpadních vod panuje u veřejnosti od 40. let minulého století, zlom v míře testování toxicity látek přineslo objevení laboratorních testů toxicity na organismech, jako jedny z prvních pokusných organismů použity ryby. Jednoduché experimenty na rybách (ANDERSON 1944, KATZ 1953, BUIKEMA 1982, HUNN 1989). Toxikologické testy na rybách byly zařazeny mezi standardní metody při stanovování vlivu látek na prostředí po roce 1960 (ASTM, APHA, ISO).

Díky rozvoji dalších vědních oborů a přístupů (hydrochemie, biochemie, analytická chemie, strojírenství, informatika) následuje období zdokonalování metodiky experimentů (využití průtočných systémů, biomonitoring, nové metody detekce látek a matematického modelování), jelikož mnohé státy začaly pocítovat důsledky environmentálního znečištění na kvalitě vod. V této době vycházejí i první čísla ekotoxikologických žurnálů jako *Water Research*, *Marine Pollution*, *Environmental Pollution*. Prvním velkým překvapením bylo zjištění subletálních efektů při chronické intoxikaci, zejména chlorovanými uhlovodíky (pesticidy, herbicidy, fungicidy) a chování polychlorovaných bifenyly PCB v prostředí (CARSON 1962).

Od 70. letech 20. století pokračuje výzkum rychle dopředu, jedním z pozitivních důsledků osvěty obyvatelstva bylo uznání akutních testů toxicity na rybách (a jiných vodních organismech) jako nástroje pro zařazení látek do seznamu substancí, jejichž koncentrace je v prostředí podrobena kontrole. Aplikace současných metodik při detekci vlivu látek na

prostředí je pro členské státy souhrnně popsána ve sborníku OECD. Přesto stále zůstává vývoj na poli průmyslové produkce polutantů rychlejší než zpracování jejich dostatečných ekotoxikologických profilů.

2.2.2 Testy toxicity

V EU má testování toxických látek ve správě Evropský parlament a REACH (EU, 2006). Jediný předpis regulující potencionální endokrinní disrupci byl vydán Agenturou pro ochranu životního prostředí (USEPA). Pro tyto účely bylo zatím vytypováno 67 látek, z nichž většinu tvoří pesticidy. Testy zahrnují 5 *in vitro* screenů vlivu na receptorovou aktivitu a 6 screenů *in vivo*, přičemž dva z nich zahrnují testy na volně žijících organismech (*OECD TG 229*, *OECD TG 231*). *OECD TG 229* je citlivý na estrogenové, androgenové, aromatázové inhibitory a estrogenové a androgenové antagonisty. *OECD TG 231* je senzitivní na thyroidní disruptory. Navíc může být využit test USEPA 850.1500 životního cyklu ryb s přidávanými sledovanými endokrinními parametry, nebo test na halančíku japonském (*Oryzias latipes*). Evropská legislativa od roku 2009 nově upravuje nutnost testovat pesticidní látky na endokrinní disrupci. U ostatních látek se endokrinní disrupce uvažuje, ale legislativa jejich testování nepřikazuje.

Pokud je toxicita látky zcela neznámá, využívá se limitního testu s koncentrací $100 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ (pokud je negativní, dále se testy standardně neprovádí). Zároveň se provádí test na standardu $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, tím se kontroluje kondice ryb pro experiment. Pokud je u pokusu LC_{50} dichromanu nižší/vyšší, než je standard dané laboratoře, znamená to, že dodané ryby jsou na látku citlivější/méně citlivé, než je průměrná populace. Testy toxicity jsou potom neplatné. Ve svých metodikách regulace chemických látek se REACH snaží snížit množství pokusů s rybami na nejnižší možnou míru. Pokusy na živých organismech přesto zůstávají v toxikologii nepostradatelné.

V testech toxicity se nejčastěji používají tyto druhy ryb: dánío pruhované (*Danio rerio*), kapr obecný (*Cyprinus carpio*), halančík japonský (*Oryzias latipes*), živorodka duhová (*Poecillia reticulata*), pstruh duhový (*Onchorhynchus mykiss*) a siven americký (*Salvelinus fontinalis*).

Testy na rybách lze technicky provést jako *test statický* (ryby jsou celou dobu testu ve stejném roztoku), *test semistatický* (ryby jsou každý den přeloveny do čerstvě připraveného roztoku), *test recirkulační* (voda koluje v uzavřeném systému s filtrem), *test průtočný* (kontinuální průtok média). U statického testu je nebezpečí velkého kolísání kvality vody, koncentrace zkoumané látky a je tak zatížen rizikem neplatných výsledků. Organizace OECD zařazuje tyto testy toxicity na rybách:

- *OECD TG 203: Fish, Acute Toxicity Test (1992)* Test je designovaný pro zjištění relativní toxicity chemikálie na zvolený organismus při krátkodobém vystavení zkoumané látce po dobu 96 h. Data jsou odebírána každých 24 h. U ryb je hodnotícím kritériem letalita, u bezobratlých ztráta rovnováhy a imobilizace, u řas inhibice růstu. Pro získání lepších výsledků může být test prodloužen. Laboratoř pro vedení experimentu vyžaduje oxymetr, pH-metr, luxmetr, teploměr, měření tvrdosti vody, organického uhlíku a chemické spotřeby kyslíku (CHSK_{Cr}), teploměr, vzduchovač, chemicky inertní pokusná nádoba). Pokusné organismy by měly pocházet ze stejného zdroje a být přibližně stejně staré. Jestliže stáří není známo, je výběr podle velikosti.
- *OECD TG 204: Fish, Prolonged Toxicity Test: 14-day Study (1984)*
- *OECD TG 210: Fish, Early-Life Stage Toxicity Test (1992)*
- *OECD TG 212: Fish, Short-term Toxicity Tests on Embryo (1998)*
- *OECD TG 215: Fish, Juvenile Growth Test (2000)*
- *OECD TG 229: Fish Short-Term Reproduction Assay (2009)*
- *OECD TG 230: 21-day Fish Screening Assay (2009)*
- *OECD TG 234: Fish Sexual Development Test (FSDT) (2011)*
- *OECD TG 305: Bioconcentration: Flow-through Fish Test (1996)*
- *Zebrafish Embryo Toxicity Test (ZFET; 2009)*

Testy toxicity *OECD TG 203* jsou vyžadovány, jestliže se látka průmyslově vyrábí, či importuje v množství přesahujícím 10 t·rok⁻¹. Při přesažení hranice 100 t·rok⁻¹ jsou vyžadovány testy *OECD TG 203*, *OECD TG 212*, *OECD TG 215*, *OECD TG 210*, *OECD TG 305* a test *OECD 315 Bioaccumulation in Sediment-dwelling Benthic Oligochaetes (2008)*.

Dále OECD plánuje zařadit testy *Androgenised Female Stickleback Screen (AFSS)*, *Fish Full Life-Cycle (FLC) Test Guideline*, *Japanese medaka Multigeneration Test (MMT)*. Vždy je nutné provést validaci testu, kritérii validace jsou:

- 1) V kontrolním vzorku úhyn nepřesahuje 10 % dospělců a 25 % embryí.
- 2) Nasycení vody kyslíkem musí být nejméně 60 %.
- 3) Koncentrace testované látky nesmí poklesnout pod 80 % původní hodnoty.
- 4) Teplota musí odpovídat danému druhu, nesmí kolísat více než $\pm 1^{\circ}\text{C}$.

Po získání výsledku testů toxicity se látky zařazují do kategorií a jsou jim přiděleny H (*Hazard*) a P (*Precautionary, varování*) věty. K tomu jsou označeny příslušnými piktogramy dle mezinárodní legislativy (GHS, CLP). Dříve se využíval systém R (*Risk*) a S (*Safety*) vět. Výsledkem jsou hodnoty LD₅₀ a LC₅₀ (dávka/koncentrace způsobující 50% letální efekt), navíc jsou stanovovány nejnižší hodnoty efektivních koncentrací NOEC a LOEC (nejvyšší/nejnižší koncentrace látky, při které není/je pozorován toxický účinek na organismus).

2.2.3 Vliv životního prostředí na chování živočichů

Životní prostředí má na jedince, tvorbu jeho sociálních vazeb a životní strategie nezpochybnitelný vliv. Protože se chování zakládá na genetické informaci, podléhá evoluci. Podobně jako u morfologických adaptací jsou při projevu chování zvýhodněné prvky zajišťující vyšší míru přínosu (benefits). Pro optimalizaci předpovědi potravního a pohlavního chování vybraného druhu se hledají odpovědi na následující tři otázky (CHARNOV 1976, PARKER a STUART 1976):

Jakým volbám organismus čelí?

Jaké jsou preference organismu?

Jaké jsou bariéry?

Životní prostředí je mimo jiné také výrazně kompetiční prostor. Chování individuálního jedince je založeno na pozorování a vyhodnocení rozhodnutí ostatních kompetitorů. Postupně dochází k ustálení systému rozhodování (BARTA A GIRALDEAU 1998). Evolučně stabilní strategie mají v daném prostředí vyvážený systém kompromisů (trade-off). Dle zásad evolučně stabilních strategií je posuzováno bojovné chování, systém páření, či kooperace,

komunikace a konflikt uvnitř sociálních skupin. Organismus zvyšuje své fitness variabilitou možných strategií, které ovládá a dokáže využít. Zapojením paměti živočichové drží záznam o současných, ale také minulých rozhodnutích svých soupeřů a nepřátel.

Při rozhodování se živočichové často řídí svými zkušenostmi. Výsledky těchto procesů se překvapivě často shodují se statistickými modely. Různorodost chování jednotlivých členů udává populaci polymorfni charakter (HAMILTON 1979). Projevy chování také souvisí s velikostí jedince: Malá ryba se ve svém repertoáru obranných mechanismů musí omezit na okusování nebo postrkování, velká ryba může rozvinout pádnější útok, nebo ovládat větší teritorium (VOGEL 1988).

2.2.4 Změny chování ryb jako bioindikátor znečištění prostředí

Chování je pojitkem mezi fyziologickými a ekologickými procesy, a proto je ideální pro studium dopadu environmentálních polutantů na prostředí. Ryby se pro tyto účely zdají být vhodné modelové organismy, jelikož jejich projevy chování jsou snadno pozorovatelné, ekologicky relevantní a kvantifikovatelné pro potřeby automatického sledování. K propojení získaných znalostí je potřeba také dobré znalosti fyziologie, jež je u ryb dobře popsána. Projevy chování jsou do jisté míry individuální a kopírují určité fyziologické sekvence, normální chování může být ovlivněno vnějším stimulem skrz neurální síť (WEBER a SPIELER 1994).

Koncentrace, při které je vystavení chemické látky letální, závisí na několika různých faktorech (druhu živočicha a aktuální kvalitě vody). Testy akutní toxicity přispívají k zakázání látek, které působí fyziologické změny organismů. Mají však vliv na ekologii jedince, která může při dlouhodobém působení nastat již při nižších koncentracích toxikantu, je nutné také zohlednit. Jinými slovy, přestože zvíře není bezprostředně ohroženo na životě, jeho chování a schopnost fungovat v kontextu ekosystému může být silně ovlivněno (JENSEN a BRO-RASMUSSEN 1992, NORRIS a kol. 1999). Mnohé kontaminující látky ovlivňují chování již při výrazně nižších koncentracích (LOEC), než je hodnota LC₅₀, a testy založené na behaviorálních změnách se tak zdají být pro studium subletálních vlivů polutantů na organismy přínosné (ATCHINSON a kol. 1987).

Současný výzkum se soustředí na dopad znečišťujících látek na komplexní chování ryb, které se projevuje u volně žijících jedinců a je klíčové pro přežití populací. Například ovlivnění chování spojeného s hledáním potravy, antipredačním chováním, reprodukcí a tvorbou sociálních hierarchií. Tyto poznatky jsou důležité pro pochopení a upozornění na skutečnost vedlejších účinků působení mnohých chemických látek (WEIS a WEIS 1974 a,b, FRICKE 1975, ZHOU a WEIS 1998, SCOTT a SLOWMAN 2004, CHEW a kol. 2009, KATZ a kol. 2011, BRODIN a kol. 2013, BERDAHL a kol. 2013, MONDAL a kol. 2018, WIBE a kol. 2001).

Změna chování byla například zaznamenána při expozici *Poecilia reticulata* antidepressivem fluoxetin. Zjištěny byly změny ovlivňující reprodukci u samčího pohlaví. Pozorována byla i změna ve strategii páření (FURSDON a kol. 2019). Chování založené na vizuálních a chemických signálech predatní hrozby mohou být ovlivněny toxickou látkou. Ve studii BRODIN a kol. (2013) byly popsány účinky koncentrací antidepressiva oxazepamu na chování volně žijících okounů říčních (*Perca fluviatilis*). Ryby vystavené těmto reálným koncentracím ztrácely plachost a dravost. Tyto parametry se mohou měnit po intoxikaci ryb organickými insekticidy DDT a karbarylem (WEIS a WEIS 1974 a,b) nebo methylrtutí (ZHOU a WEIS 1998). Také při akutním působení biocidu tributylcínoxidu na koljušku třístnou (*Gasterosteus aculeatus*), si ryby vybíraly exponovanější místa ve výzkumném akváriu a měly delší reakční čas na spouštěče antipredačního chování (WIBE a kol. 2001).

Není pochyb o tom, že s rozvojem nových metod plošného testování bude přibývat látek s prokazatelným vlivem na různé aspekty chování. Výrazné změny po přidání referenční látky byly pozorovány na rychlosti ryb během experimentu rozložení ryb v objemu akvária (KANE a kol. 2005). Ve stejné práci je jako jedna z možných příčin pohybu ryb při stěně akvária uvedena snaha o nalezení ztracené rovnováhy intoxikovaných ryb. Podobně zvolené parametry pro sledování změn popisuje CHEW a kol. (2009). Tito autoři sledují aktivitu ryb, která je opět vypočítána z rychlosti, rozložení pohybu ryb v akváriu, a soudržnost hejna.

Indikace látek založená ryze na změnách v hierarchii hejna může být problematická, dominance je uplatňována zejména při kompetici o zdroje, či u nově formovaných skupin a je u některých ryb pohlavně dimorfní. Experiment s juvenilními stádii pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) odhalil vliv kadmia na schopnost soupeřit s ostatními jedinci v hejnu, tedy výrazný vliv na hierarchické rozvrstvení skupiny složené z exponovaných a kontrolních

jedinců. Skupiny složené pouze z exponovaných jedinců utvářejí stabilně rozvrstvené skupiny rychleji než kontrolní hejna. Kromě kadmia bylo testováno ještě několik dalších toxických kovů, u nich se však prokázal výraznější vliv na hierarchii pouze u nově formujících se skupin (SLOMAN a ARMSTRONG 2002). Behaviorální studie mají velkou zásluhu na poznání a ochraně zvířat. Popsání komplexního chování v přírodě a přenesení těchto znalostí do chovných zařízení vedlo k výraznému zlepšení způsobu zacházení se zvířaty a zajištění důstojných životních podmínek a zlepšení stavu životního prostředí. Nabyté znalosti ze studia ryb je možné promítnout do vývoje sledovacích metod, pro kontrolu kvality životního prostředí a pochopení chování obratlovců.

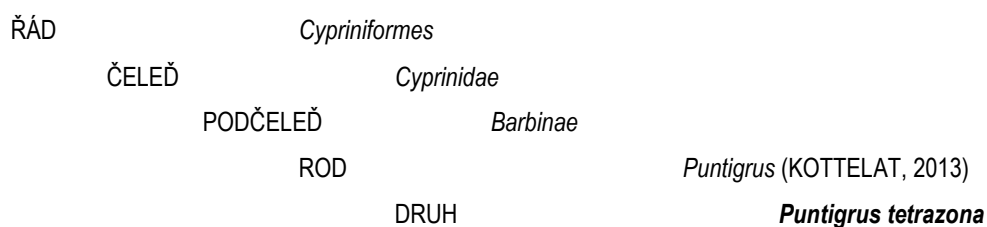
2.3 Pozorovací metody

Klasické etologické studie (HEINROTH 1911, LORENZ 1941) jsou odkázány pouze na pozorovací dovednosti vědce. Základem studia chování zůstává *popis*, jehož části musí být zachyceny přesně a jasně. Velký tlak je kladen na schopnost pozorovatele vyhodnotit chování objektu v interakci se spouštěčem tohoto chování. Některé studie lze provádět neinvazivně v přirozeném prostředí. Ovšem ani při terénních experimentech se často nelze vyhnout použití odchyty či značení, nebo pouhé přítomnosti pozorovatele, a to způsobuje stres (COLLINS a kol. 2012).

Analýza pohybu individuálních jedinců a hejna se s pokrokem počítačové technologie a sledovacích zařízení stále zdokonaluje. V současnosti se výzkumem kolektivního chování a sledovačů zabývá laboratoř Iana Couzina (Ústav Maxe Plancka, Kostnice, Německo; COUZIN 2021). Pro monitoring, zejména ve volné přírodě se využívá radiové a akustické telemetrie (EISENHARDT 2003, BREUKELAAR a kol. 2009, HORKÁ a kol. 2015). Pro pozorování speciálních jevů oproštěných od cizích vzruchů se využívají laboratorní pokusy. Pokusná zvířata držená v zajetí jsou manipulována do situačních designů, nebo vystavována působení zkoumaných látek. Změny ve způsobu plavání se hodí pro automatické sledovací metody díky senzitivitě k různým druhům polutantů (SMITH a BAILEY 1990). Studie pohybu ryb klasicky nejčastěji využívají videozáznam (KANE a kol. 2004, CHEW a kol. 2009, DELCOURT a kol. 2009, PÉREZ-ESCUADERO a kol. 2014) nebo pohybové senzory (SABERIOON a CISAR 2016) a snaží se o kvantifikaci pohybových parametrů. Tyto parametry jsou vybírány tak, aby postihovaly alternace vzorců plavání v odpovědi na vystavení stresu.

2.4 Modelový organismus

Jako modelový organismus byl zvolen druh běžně dostupné akvarijní ryby z čeledi kaprovití (*Cyprinidae*), v současnosti referované jako *Puntigrus tetrazona*. V literatuře najdeme druh pod synonymy *Barbus tetrazona*, *Barbus tetrazona tetrazona*, *Capoeta tetrazona*, *Puntius tetrazona*, *Systemus tetrazona*, *Systemus sumatranus*, *Systemus sumatrensis* (BLEEKER 1855). Velká podobnost s příbuznými druhy způsobila nejasnosti v nomenklatuře. Současné taxonomické ukotvení nalézá parmička čtyřpruhá mezi druhy řazenými do rodu *Puntigrus* (KOTTELAT 2013) na Obrázku 2.



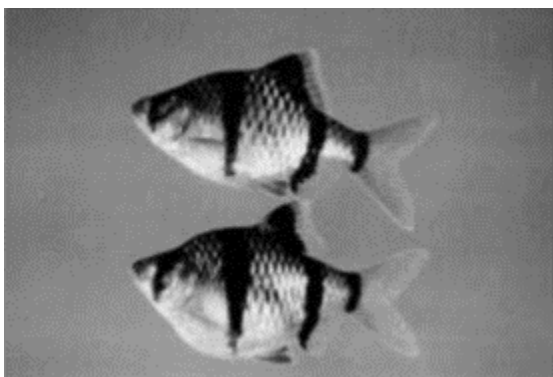
Obrázek 2. Současná taxonomie *Puntigrus tetrazona*.

2.4.1 Anatomie a morfologie

Akvarijní variety *P. tetrazona* mají neúplnou postranní čáru s 6–7 nebo 10–13 kanálky. Liší se tak od původní divoké formy, která má v postranní čáře 8–9 kanálků. Pozorujeme červené zbarvení na nose a všech ploutvích, zejména na lemu hřbetní ploutve a celé prsní ploutvi. Zbarvení je oproti divoké varietě výraznější. V oblasti rozšíření je v současné době známo pět druhů tohoto rodu, které si liší počtem a šířkou pruhů, délkou postranní čáry, počtem šupin v laterální linii a zbarvením ploutví. Jejich rodová determinace se provádí na základě znaků uvedených v Tabulce 2.

Podle určujících charakteristik pro jednotlivé zástupce skupiny *Puntigrus* není jisté, jestli je akvarijní linie samostatným druhem, mezidruhovým hybridem, nebo zda se jedná výhradně o produkt šlechtění (COLLINS a kol. 2012). Samečci jsou poměrně štíhlí s nápadnými červenými znaky. Samičky jsou zavalité většinou bez výrazného zbarvení (Obrázek 3). Pohlavně dospívá při 20–30 mm, s maximální délkou těla 50 mm a šířkou 20 mm (KORTMULDER 1972). Na trhu existuje v několika barevných varietách, černé pruhy na

stříbrolesklém základu jsou však nejbližší přirozeně se vyskytující formě. Přestože rozložení pruhů je pro zástupce druhu *P. tetrazona* uniformní, jednotlivé pruhy se u různých jedinců mohou mírně lišit. Zbarvení je ovlivněno množstvím a kvalitou potravy. Kombinace tělesných a barevných parametrů je jedinečná pro každou rybu (TAKI a kol. 1978). Tvar těla a intenzita zbarvení se mění se stářím a může být sezónní, vyspělí jedinci disponují výraznějšími znaky.



Obrázek 3. Fotografie samce (nahore) a samice (dole) *P. tetrazona* (BAKKER 1982 v TAMARU a kol. 1998).

2.4.2 Ekologie

Oblast původního rozšíření a těžiště diverzity rodu *Puntigrus* leží v tropické Asii. Potvrzené nálezy pochází z Bornea, Sumatry, Thajska a Malajsie. Odchyty jsou zaznamenány z různých typů mělkých stojatých a tekoucích vod, což značí překvapivou míru adaptace na změny chemismu a výkyvy hladiny vody. Distribuce druhu dle výzkumu v Malajsií indikuje preferenci tvrdší vody, s vysokou koncentrací uhličitany vápenatého ($40\text{--}250\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}\text{ CaCO}_3$). Parmičkám se daří ve vodě o pH 6,5–7,5, obsahu celkového dusíku do $1,0\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, množství kyslíku kolem $2,0\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ a relativně nízké průhlednosti (ponor Secchiho desky 30–40 cm). Teplotní optimum je v rozmezí 22–28 °C. Rozmnožování probíhá, neklesne-li teplota dlouhodobě pod 23 °C. Dlouhodobé snížení teploty pod 18 °C může být letální. Nálezy jsou však zaznamenány z různých částí Asie i mimo předpokládané rozšíření, a to bez prokázané introdukce (BAENSCH a RIEHL 1996, SCHEURMANN 1990).

Tabulka 2. Charakteristika druhů rodu *Puntigrus* (PETHIYAGODA 2012).

Druh	Postranní čára	Počet šupin laterální linie	Zbarvení ploutví	Šířka pruhů	Rozšíření
<i>P. anchisporus</i> (VAILLANT 1902)	úplná	21–23+2	Hřbetní černá s červeným lemem Břišní celočervené	≤ 3 šupiny	Borneo
<i>P. navjotsodhii</i> (TAN 2012)	úplná	20–21	Hřbetní černá s červeným lemem a kořenem 1. paprsku Břišní celočervené	≤ 5 šupin	Borneo
<i>P. partipentazona</i> (FOWLER 1934)	neúplná	18–23	Hřbetní z části černá s červeným lemem a kořenem 1. paprsku Břišní načervenalé	≤ 2,5 šupiny 5. pruh neúplný	Malajsie, Kambodža, Vietnam, Thajsko
<i>P. pulcher</i> (RENDAHL 1922)	neúplná	19–21+2	Hřbetní i břišní černé	≤ 1,5 šupiny	Borneo
<i>P. tetrazona</i> (Bleeker, 1955)	neúplná	19–21+2	Hřbetní i břišní černé se světlým lemem	≤ 2,5 šupiny	Sumatra

2.4.3 Potrava

Celá skupina je popisována jako omnivorní. Analýza střev jedinců odchycených z volné přírody ukazuje poměrově větší zastoupení primárních producentů v obsahu tráveniny. Podrobnější studie obsahu střev ukázala přítomnost patnácti druhů fytoplanktonu, vyšších rostlin, čtyř druhů zooplanktonu a neurčených drobných bezobratlých (SHIRAISHI a kol. 1972, KORTMULDER 1982).

Parmičky, podobně jako jiné akvarijní ryby, mají neefektivní zažívání. Krmná dávka by proto měla být rozložena alespoň na tři díly, podávané v průběhu dne. Tím se sníží spotřeba krmiva, organický vnos a kyslíkové poměry v akváriu. Je-li nutné krmení podávat najednou, je čas krmení upraven podle aktivní fáze ryb. Správná dávka krmení by měla být spotřebována do 15 min. Množství je upraveno podle teploty vody v akváriu a velikosti ryb. Prospívající jedinci přijímají denně asi 10 % své váhy.

Složení potravy je významným faktorem ovlivňujícím růst, celkové zdraví jedince a také zbarvení. Důležitý je poměr mezi proteiny (alespoň 30 %), esenciálními aminokyselinami, tuky, sacharidy, vitamíny a minerály. Pigmenty ovlivňující zbarvení pocházejí většinou

z přirozené potravy. V umělých chovech se do krmiva přidávají barviva (astaxanthin, karoteny aj.) (TAMARU a kol. 1998).

2.4.4 Etologie

Mezi akvaristy je tento druh známý svým hejnovým chováním, v přírodě tvoří hejna již relativně v malých počtech od 5 kusů. Je možné pozorovat silnou tendenci vytvářet kompaktní uskupení při pohybu v akváriu nebo během manipulace v oddělených chovných nádobách. Přestože se jedná o hejnový druh, jedinci vykazují známky teritoriálního a sex-dependentního chování. Teritorialita samců je známá v různé míře i u příbuzných kaprovitých druhů ryb (KORTMULDER 1982).

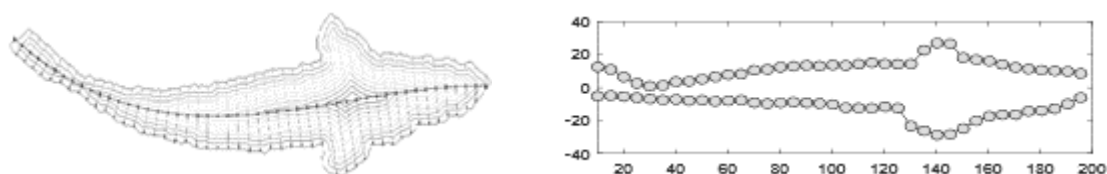
Všichni zástupci *Barbinae* se páří v poměru jeden samec ku jedné samici. Samci se vyznačují agresivním antagonistickým a kompetičním chováním. Samice jsou spíše submisivní. Během tření samec drží samici pevným stiskem ploutví. V tomto sevření mohou zůstat po dobu několika hodin do vypuštění všech pohlavních buněk. Stovky oplozených vajíček společně kladou na ponořené části vodních rostlin či jiných ponořených objektů. Mezi jednotlivými druhy se rituál páření mírně mění. Reprodukční strategie parmiček je vesměs promiskuitní, bez energie vložené do rodičovské péče (BAKKER 1982 v TAMARU a kol. 1998).

Vyznačují se diurnálním rytmem aktivity v průběhu 24 h. V nočních hodinách je aktivita výrazně utlumena, s charakteristickým postavením hlavou dolů, přibližně 45° s osou dna po dobu až 6 h. Největší aktivitu vykazují v odpoledních hodinách. Délka aktivní fáze je asi 4 h (SHIRAISHI a kol. 1972).

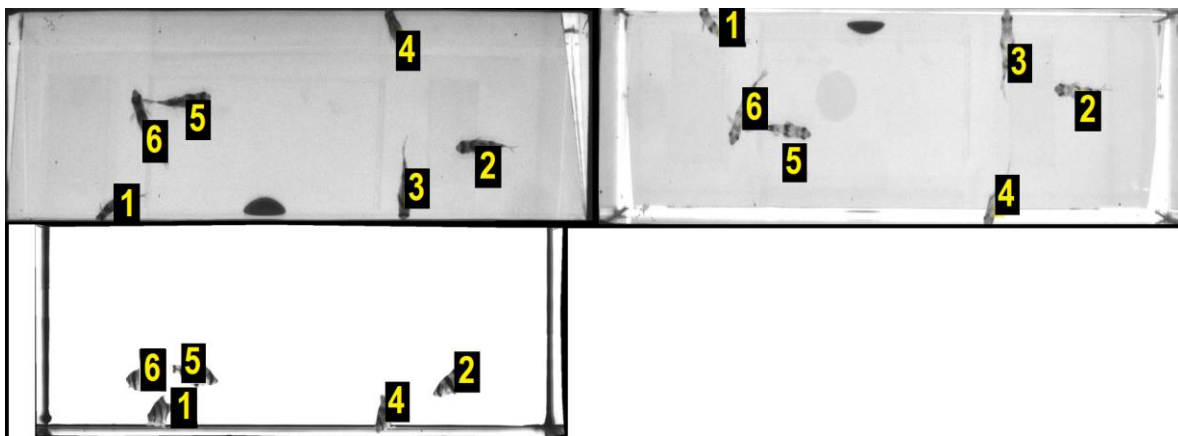
3 Metodika experimentu

3.1 5iD Viewer a analýza obrazu

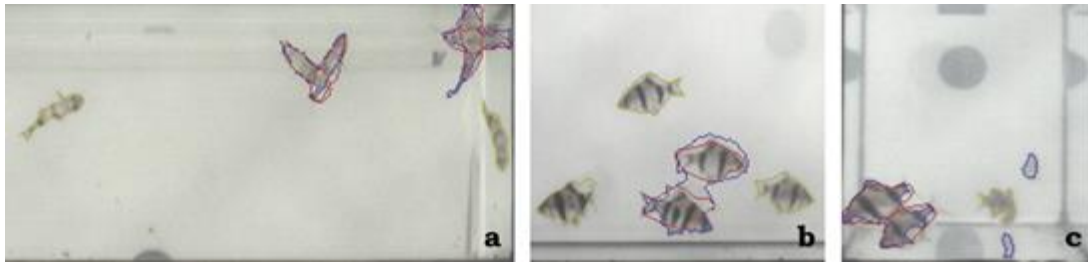
Zařízení 5iD Viewer (ŠTYS a kol. 2015, LONHUS a kol. 2019) vyvinuté na Ústavu komplexních systémů (ÚKS) v Nových Hradech umožňuje sledovat objekt ve 3D perspektivě využitím soustavy čtyř zrcadel a jedné kamery. Díky nastavení zrcadel je jejich odraz snímán současně a následně vyhodnocen jako trojrozměrné souřadnice pohybu pozorovaného objektu. Klíčové je rozpoznání jednotlivých ryb v systému. Pro tyto účely jsou využity rozdíly individuální anatomie jedinců, snímání krajních bodů jejich siluet (Obrázek 4). Každému jedinci je přiřazen profil založený na jeho tělesných a barevných parametrech a jsou zaznamenávány jeho souřadnice. Pohyb jedince je možné sledovat i v případě, že dojde k překrytí siluetou jiného jedince (Obrázek 5, 6).



Obrázek 4. Identifikační znaky na siluetě jedince (LONHUS a kol. 2019).



Obrázek 5. Identifikace individuálních ryb na základě souřadnic extrahovaných ze tří pohledů: svrchního pohledu (vlevo nahoře), spodního pohledu (vpravo nahoře) a pohledu zředu (dole).



Obrázek 6. Řešení překrytí obrazu sledovaných objektů při nízkém rozlišení, a) pohled zespodu, b, c) pohledy ze stran. V bočních pohledech obraz objektů není symetrický, ale díky algoritmu nedochází ke ztrátě stopy jedince během experimentu (LONHUS a kol. 2019).

3.2 Návrh experimentu pro zařízení 5iD Viewer

Podle DE VRIES (1995) bylo pro experiment využito nejmenší potřebné množství zvířat, které vykazuje žádoucí hejnové chování. Dobré životní podmínky *P. tetrazona* (Tabulka 3) byly udržovány během experimentu i v období, kdy žádné experimenty neprobíhaly.

Počet jedinců účastnících se experimentu byl 24: ve čtyřech domovských akváriích byly chovány pokusné skupiny 6 jedinců. Jednotlivá hejna byla sestavena náhodně. Hejna byla pro zajištění stabilního hierarchického rozvrstvení po dobu trvání experimentu držena odděleně.

Tabulka 3. Původ a transport pokusných zvířat *P. tetrazona* do laboratoře v Nových Hradech.

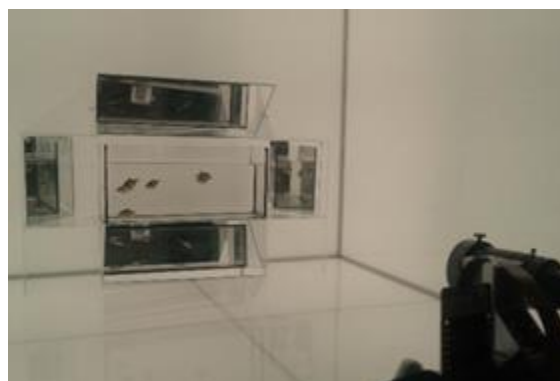
Původ	Zverimex Globus, České Budějovice, 7/2019
Mikrobiologický status	Konvenční
Transport	Krátkodobý
Sedativa během transportu	Ne
Úmrtnost během transportu (%)	6,6
Minimální aklimatizace na podmínky pokusu	1 týden, vybudování hejnové hierarchie

Domovská akvária (Tabulka 4) jsou koncipována jako simulace přirozeného prostředí se zapojeným porostem vodních rostlin (Obrázek 7, vlevo). Ryby jsou drženy v režimu s 12hod. fotoperiodou při 25 °C. Parametry je možné dočasně upravit podle podmínek panujících v akváriu. Každé akvárium je vybaveno vzduchovým čerpadlem, ohřívačem vody s termostatem a teploměrem. Oběh vody je zajištěn samostatným filtrem. Validací test kvality vody je prováděn v týdenních intervalech a před každým experimentem, zároveň je posouzen stav ryb. Krmení bylo podáváno jedenkrát denně v aktivní fázi ryb.

Samotné pozorování probíhalo v zařízení 5iD Viewer (Obrázek 7, vpravo) umístěného v osvětlovacím boxu zajišťujícím homogenní osvětlení akvária. Akvárium (Tabulka 4) bylo těsně před začátkem experimentu naplněno vodou z domovského akvária, kvůli eliminaci stresu ze změny prostředí, v případě velkého zakalení se voda naředila připravenou odstátou vodou.

V pokusném akváriu byly ryby přemístěny do zařízení. Při pozorování vlivu látky na pokusnou skupinu (Tabulka 5) byla dávka 1,5 a 2,5 obj. % ethanolu (96%) podávána ještě před umístěním do zrcadlové soustavy světelného boxu. Před zahájením pozorování byl ponechán čas na uklidnění ryb po manipulaci, a také na rozvoj působení přidaných látek (6 min, 30 min). Po dobu sběru dat bylo hejno odděleno od examinátora neprůhlednou stěnou. Doba trvání experimentu nepřesáhla 40 min, bez vzduchování, kvůli dodržení kyslíkových poměrů.

Pro snížení počtu omylů při identifikaci jednotlivých ryb byla v pokusném akváriu během experimentu data sbírána 12bitovou rgb kamerou JAI s frekvencí snímání 0,4 Hz a vysokým rozlišením. Velikost ryby v digitálním obraze odpovídala přibližně 50×30 px ($5 \mu\text{m}^2 \cdot \text{px}^{-1}$). Kalibrace obrazu byla provedena softwarem VerCa (PLATONOVA a kol. 2019, LONHUS a kol. 2020). Videozáznam pořízený kamerou, skládající se ze tří videí (zespod, shora a z boku) byl následně podroben analytické metodě (LONHUS a kol. 2019), kdy bylo rybám podle rozložení objemu podél osy těla přiřazeno individuální číslo. Z jednotlivých snímků v sekvenci byly získány 3D souřadnice ryb, znázorňující jejich pohyb v pokusném akváriu. Tyto souřadnice byly následně vyhodnoceny pro získání informací o způsobu chování jedinců ve vybraných parametrech pohybu. Uvedený postup analýzy chování ryb není dosud plně publikován a je předmětem dizertační práce Kirilla Lonhuse.



Obrázek 7. Pohled na zařízení domovských akvárií (vlevo) a pokusné akvárium 5D Viewer s rybami (vpravo).

Tabulka 4. Parametry akvárií a vody pro experiment.

Parametry akvária	Domovské akvárium	Experimentální akvárium
Dezinfekce	ethanol, var, NaHCO ₃	ethanol
Rozměry (mm ³)	600×350×400	385×200×140
Počet jedinců	6	6
Systém	otevřený	otevřený
Hladina vody (cm)		14,8
Objem (l)		6,5
Kvalita vody		
Vodní zdroj	úpravna vody Nové Hrady, Čevak	domovské akvárium
pH	6,9	kvalita vody validována před započítím každého experimentu
Mg ²⁺ (mg·l ⁻¹)	4,9	
NO ₃ ⁻ (mg·l ⁻¹)	5,5	
Ca ²⁺ (mg·l ⁻¹)	12	
Tvrdost (°dH)	2,8	
Předúprava	2 dny ponechána na odstátí	ředění dle průhlednosti
Vybavení		
Filtrace	Sera fil bioactive, do 130 l	ne
Vzduchování	Sera Air, 110 l·h ⁻¹	ne
Osvětlení	Sera LED 360, 20 V, 8,1 W	
Světelná perioda	12 h den / 12 h noc	dočasně upravena pro zlepšení parametrů akvária
Substrát (mm)	kámen 4–8	ne
Rostliny	ano	ne
Síťka (cm ²)	12×38	
Krmení		
Krmivo	komerčně prodávaný MIX Tetra	ne
Frekvence	jedenkrát denně	
Údržba		
Filtrace	každé 1–3 týdny	
Substrát	každé 1–3 týdny	
Voda	dle stavu akvária	

Tabulka 5. Návrh experimentu pro porovnání vlivu ethanolu na chování ryb.

Kontrola		
Látka		—
Aklimatizace na 5iD Viewer	6 min	
Doba záznamu	10-20 min	podle množství dat
Ethanol		
Látka	ethanol, C ₂ H ₆ O	$M(\text{et}) = 46,07 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, $\rho(\text{et}) = 0,00076 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ (při 23 °C) (PUBCHEM 2020)
Čistota (%)	96	
Dávka (obj. %)	0,15; 0,25	
Podání látky	30 min	působení před samotným experimentem (LADU 2014)
Aklimatizace na 5iD Viewer	6 min	
Doba záznamu	10–20 min	podle množství dat

4 Výsledky a diskuse

Při indikaci subletální kontaminace je užitečné využít poznatků behaviorální toxikologie, jelikož změny chování nastávají často dříve a při nižších koncentracích polutantu, než je tomu při sledování úhynů a růstových malformací (LITTLE a FINGER 1990, CLEVELAND a kol. 1991, BREWER a kol. 1999). Znečišťující látky mohou mít vliv na sociální chování, teritorialitu a hierarchii uvnitř hejna (MONDAL a kol. 2018), jejich účinek na hejnové chování je variabilní, specifická odezva může být využita jako marker při metodách biomonitoringu. Výsledný efekt ale závisí nejen na koncentracích biologicky aktivní látky, ale také na dalších stresových podmínkách (BEITINGER 1990).

V současné době se již využívá sledování změn chování ryb pro monitoring kvality vodních zdrojů. Je využíván například pstruh duhový (*Onchorhynchus mikiss*), u něž se sledují zejména změny tkání po dlouhodobé expozici polutantu (RANDÁK a kol. 2011) s omezenými možnostmi signalizace aktuální změny kvality vody. Systém včasného varování pomocí sledování pstruhů kamerou je však již na mnohých úpravách zaveden, například na vstupu do úpravny vody z nádrže Želivka. Pstruzi jsou chováni v nepřiměřené hustotě, což může negativně ovlivnit jejich chování (DUNAJ 2021). V této podobě dále není uvedená technologie dostatečně citlivá (vzhledem k velké vzdálenosti kamer od akvárií), ani specifická a nabízí prostor pro hledání dalších alternativ (SOLDÁN a RAMBOUSEK 2020). Touto alternativou by mohla být právě technologie vyvíjená na Ústavu komplexních systémů.

Nevýhodou využití ryb k monitoringu kvality pitné vody oproti jiným využívaným organismům (KUKLINA a kol. 2013), a tudíž i technologie vyvíjené na ÚKS, může být například nízká citlivost ryb k cyanotoxinům (SOLDÁN a RAMBOUSEK 2020). Navíc specifické reakce ryb a jejich uskupení, na znečišťující látky dosud nejsou dobře popsány. Je tedy žádoucí, aby automatické sledovací metody byly doplněny analýzami histologických změn na těle pokusných organismů.

Vlivy nejen denní doby, ale i ročního období, počasí apod. na hejnové chování pamiček budou eliminovány při jejich sledování v kontinuálním zařízení. Tak budeme moci pozorovat okamžité změny stavu struktury hejna, a to i při jemných rozdílech v chemickém složení

vody. Pro zlepšení kvality výsledků další série experimentů navrhujeme provést celou sadu vybraných měření na jednom hejně tak, aby nedošlo ke vzájemné interferenci látek, ale byla zachycena změna struktury hejna a osobité projevy chování v různých modelových podmínkách.

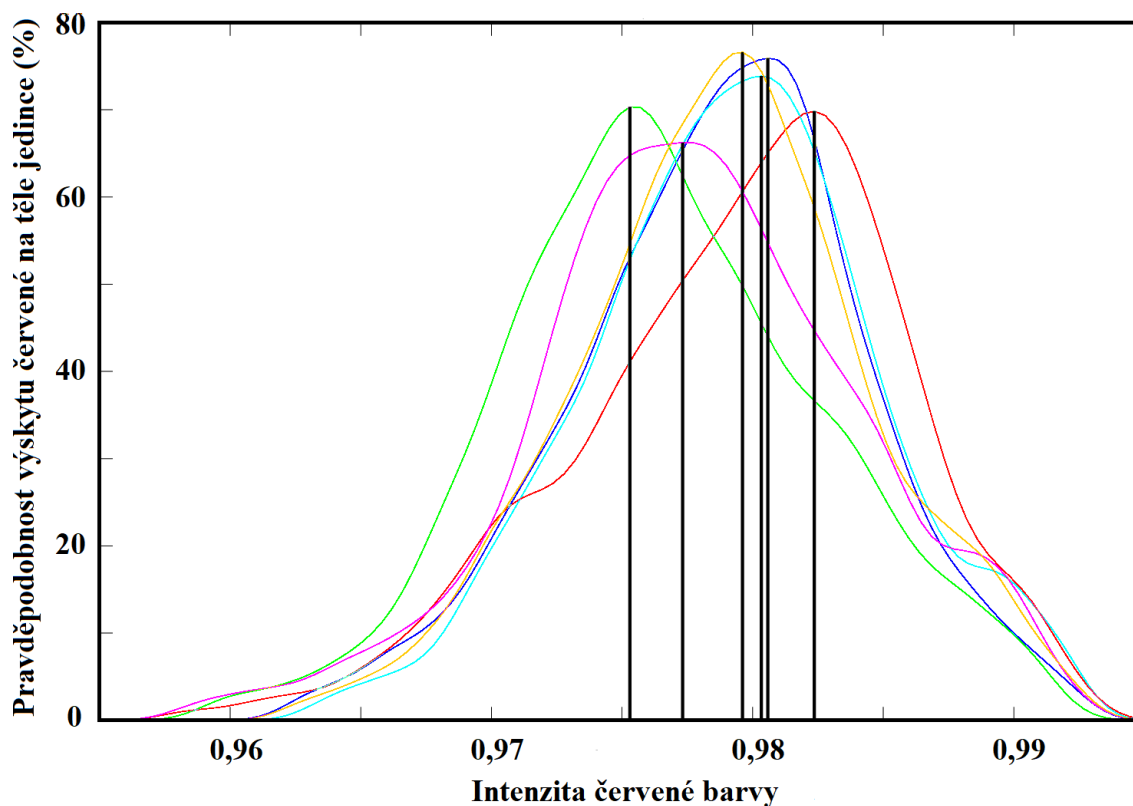
Tyto metody detekce změn hejnového chování jsou zcela originální a jsou stále předmětem experimentálního vývoje Ústavu komplexních systémů FROV JU (částečně publikováno pouze v práci LONHUS a kol. 2019). Současný stav poznání dané problematiky na ÚCHP tedy nedovoluje v tuto chvíli činit hlubší srovnávací studie s jinými dosud publikovanými pracemi a ověřenými technologiemi. Na základě chování *P. tetrazona* v průběhů obou experimentů jsou navržena nová technická řešení a způsob dalšího vedení experimentů. Cílem této kapitoly je tedy popsat a částečně analyzovat možné důvody pozorovaných jevů, hledat možné postupy ve vývoji a vylepšení vyvíjené technologie.

Níže jsou popsány výsledky dvou předběžných experimentů. Postup provedení experimentů je popsán v kapitole 3. V prvním experimentu (kapitola 4.1) je ověřována možnost využití nové technologie monitorovacího systému 5iD Viewer k identifikaci rybích jedinců *P. tetrazona* v hejně, detekci pohybu hejna i jednotlivých ryb v pokusném akváriu. Výsledky jsou konfrontovány s vizuálním pozorováním. Výstupem druhého experimentu (kapitola 4.2) jsou vybrané parametry chování náhodně vybraných, nespecifikovaných, jedinců *P. tetrazona* v hejně, získané monitorovacím systémem 5iD Viewer po aplikaci toxikantu (ethanolu).

4.1 Specifikace rybího hejna

Pro vizuální komunikaci mezi jedinci je zapojený systém postavení ploutví a změna intenzity zbarvení. Z pozice ryb v akváriu je možné vypořadovat jejich vnitřní vyladění. Jedinci parmičky čtyřpruhé (*Puntigrus tetrazona*) po vystavení stresové situaci zároveň okamžitě ztrácí na intenzitě zbarvení. Sledování detailních projevů chování může pomoci ke zlepšení přesnosti metody.

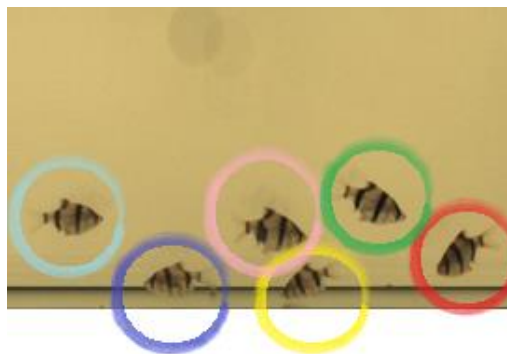
Obrázek 8 znázorňuje intenzitu a odstín červeného zbarvení jednotlivých ryb v pokusném akváriu. Podle grafu je možné usuzovat pohlaví jedinců, jestliže vycházíme ze znaků pohlavního dimorfismu parmiček popsaných v kapitole 2.4.1. Intenzita červeného zbarvení koreluje s postavením jedince v hejnu (Tabulka 6).



Obrázek 8. Parametry červeného zbarvení pro jednotlivé ryby. Černé sloupce znázorňují intenzitu zbarvení a pravděpodobnost výskytu červeného nosu jedince *P. tetrazona*.

Tabulka 6. Identifikace individuálních ryb z pilotní studie.

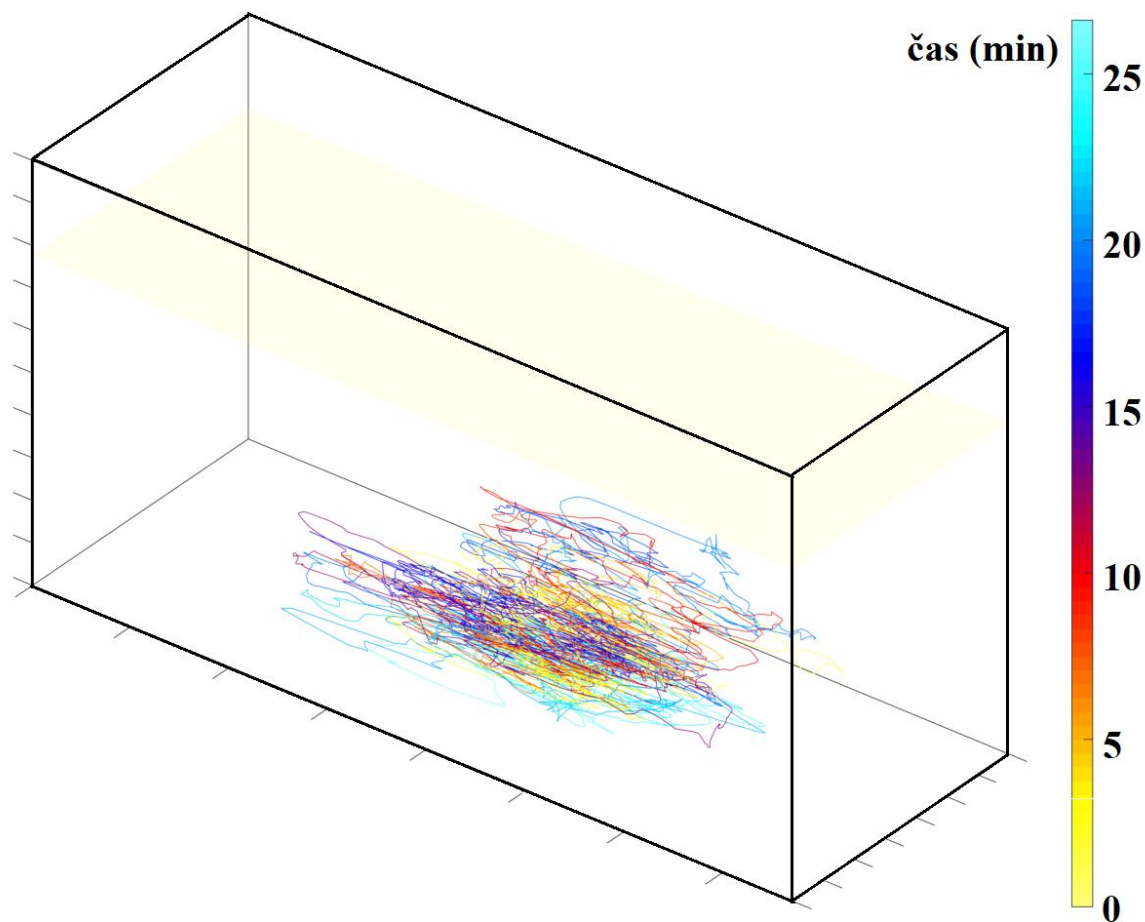
Pořadí	Barva	Pohlaví	Popis
1	zelená	♀	méně atraktivní
2	modrá	♂	nedefinovaný
3	červená	♂	dominantní, α
4	tyrkysová	♂	méně dominantní, β
5	fialová	♀	atraktivní
6	žlutá	♂	nedefinovaný



Obrázek 9 znázorňuje pohyb těžiště hejna v čase. Prostor, ve kterém se těžiště v časovém úseku (0–25 min) nachází, je barevně odlišen. Barvy odpovídající příslušným časům jsou vyneseny v legendě. Pohyb se realizuje u dna uprostřed pokusného akvária a ustupuje k zadní stěně akvária (0–5 min). Postupně, jak se ryby seznamují s prostorem, se těžiště pohybu posouvá výš ve vodním sloupci podél zadní stěny akvária (5–10 min). Následně se těžiště pohybu opět přesouvá do středu akvária (15–20 min). Těžiště rybího hejna se v akváriu neustále přesouvá mezi protilehlými boky akvária. Ke konci experimentu se pohyb centra zrychluje a realizuje se v okrajových částech akvária (20–25 min). V této fázi je možné pozorovat zauzlení dráhy centra pohybu a s ním ustálení pohybu ryb uvnitř akvária. Při porovnání grafu s analyzovaným videem je možné pozorovat pulzaci hejna jako celku v čase (0–25 min). Doba, kdy ryby zůstávají relativně v klidu, se prodlužuje s uplynulým časem od přemístění do pokusného akvária a tento trend očekáváme i při delším trvání experimentu. Ryby si prostor arény pamatují nejméně týden po konání experimentu (ŠTYS 2020).

Podle Obrázku 10 je těžiště hejna tvořeno trajektoriemi pohybu mladých samců a trajektorie pohybu samic se jeví jako těžišti vzdálená. Čím je pohyb v průměru realizován blíž těžišti hejna, tím je ryba nejistější. To se týká zejména samců, protože pohyb samic se zdá být na těžiště hejna vázán podstatně méně. Ze surových dat je patrné, že ke konci experimentu je vzdálenost všech ryb od těžiště hejna větší než na počátku. V tomto experimentu ještě pravděpodobně nedošlo k ustálení vzdáleností dle hierarchie mezi rybami.

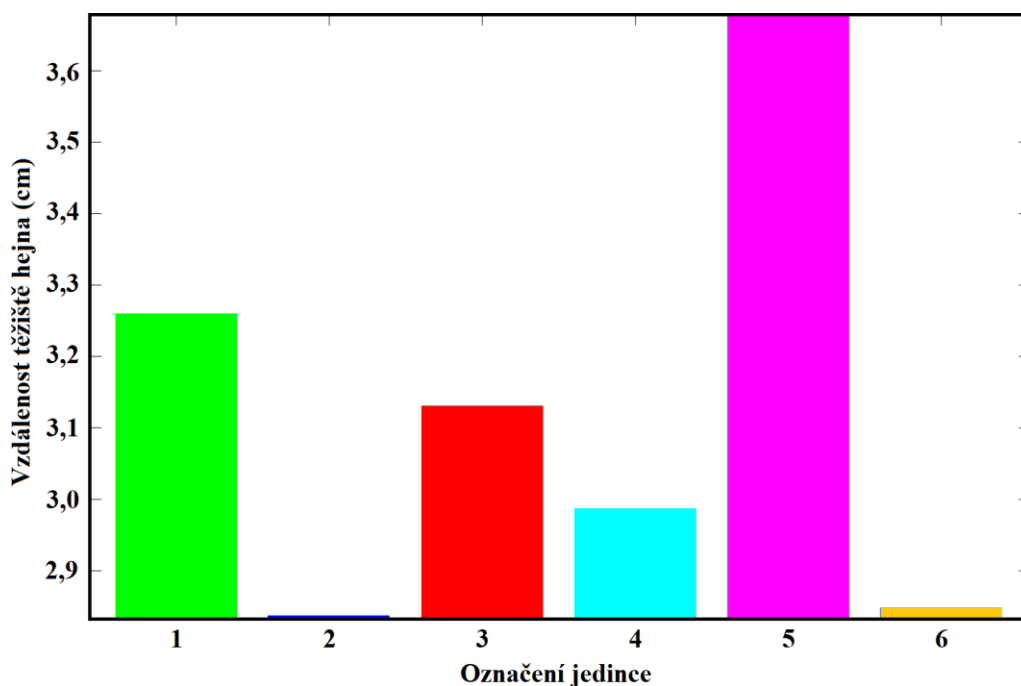
Trajektorie jedinců se v různých intervalech vychylují od trajektorie těžiště hejna a zase se k němu vrací zpět se vzrůstající pravidelností. Často vznikají situace, kdy je hejno relativně kompaktní a všichni jedinci se vyskytují v blízkosti hejna současně, zejména ke konci experimentu. Celý průběh pohybu ryb v akváriu je výrazně ovlivněn sex-dependentním chováním.



Obrázek 9. Vizualizace časové evoluce (min) pohybu těžiště hejna v prostoru akvária. Velikost akvária je $38,5 \times 20 \times 14$ cm³. Výška hladiny (žlutě) je 14,8 cm.

Pro 24hodinový monitoring kvality vody bude potřeba dlouhodobě sledovat diurnální rytmy parmiček. Při odpočinku míří podélná osa těla ryby směrem ke dnu a ryba je v klidu u dna nádrže. Jsou-li ryby drženy ve větších počtech, rozpadá se jejich struktura na menší podjednotky, což potvrzuje, že navržené využití 6 jedinců (DE VRIES 1995) je pro experiment

ideální, a je otázka, jestli množství v příštích experimentech ještě upravovat. Dobu trvání experimentu je nutné v následujících experimentech dle možností vybavení prodlužovat.



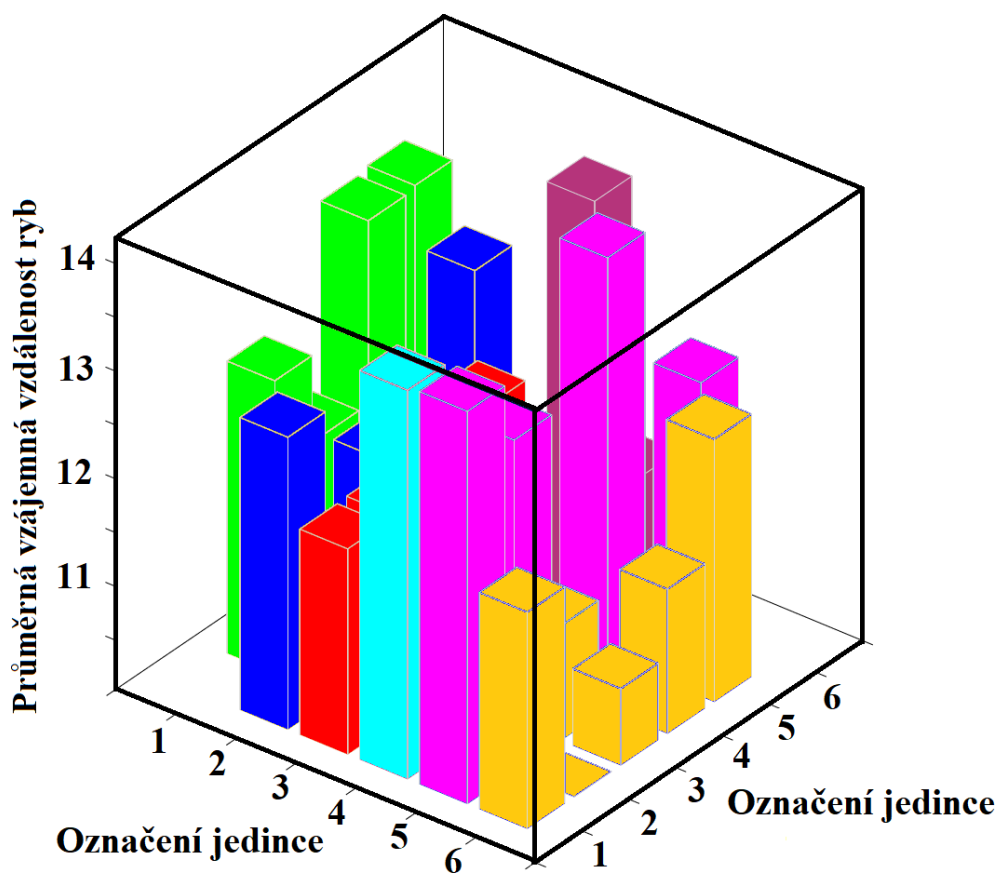
Obrázek 10. Vzdálenost jednotlivých ryb od těžiště hejna (cm).

Vlastní pozorování pokusného organismu potvrzuje, že v neznámém prostředí ryby plavou blíž u sebe a drží se u dna, prostor akvária zaplňují postupně. Zejména v čase krmení reagují ryby na příchod obsluhy houfováním při přední stěně akvária. Po dobu, kdy mají jedinci možnost vizuálního kontaktu s examínátorem, nesmí být měření zahrnuto do statistik, nebude-li zrovna toto chování předmětem výzkumu. Podle situace jsou při výzkumných plavbách pozorováni jedinci různého postavení v hejnu.

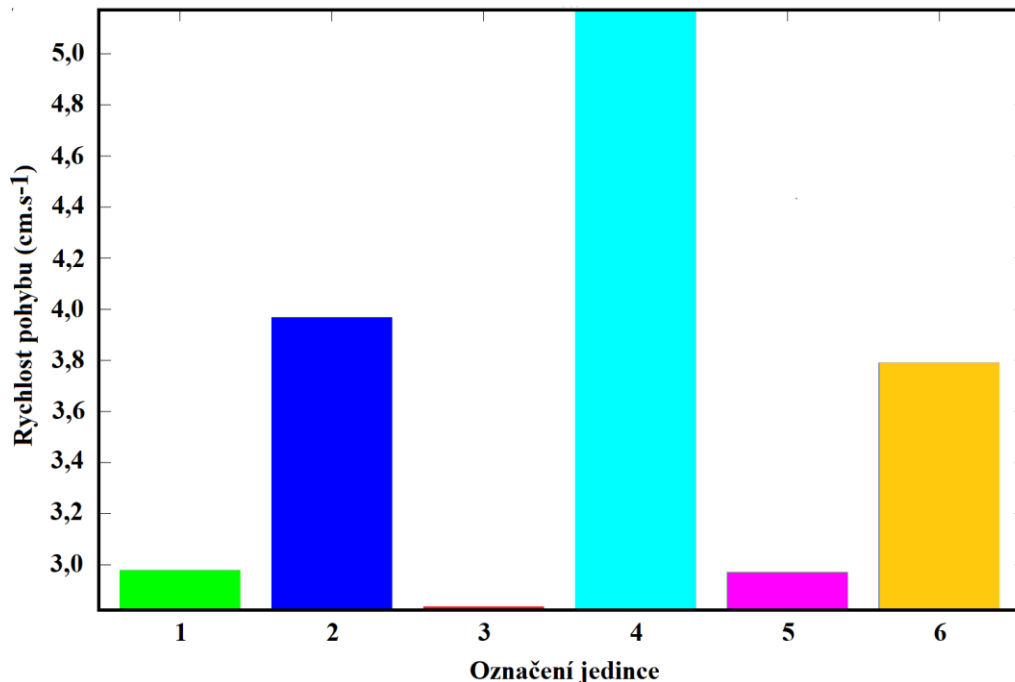
Obrázek 11 znázorňuje průměrné vzdálenosti jednotlivých ryb od sebe. To může být měřítkem vzájemných interakcí. Průměrné vzdálenosti mezi rybami v čase experimentu se pohybují mezi 10 a 14 cm.

Obrázek 12 ukazuje průměrné rychlosti ryb během experimentu, z nichž je patrné, že nejrychleji se pohybují jedinci s nejistým postavením, zejména samec konkurující přímo dominantnímu samci. Jako dominantní se jeví samec (červeně) a samec (tyrkysově), ti jsou

svým pohybem svázání s atraktivní samicí (fialově) a méně se samicí (zeleně). Červený samec iniciuje pohyb ostatních mimo těžiště, ačkoli se však sám od něho výrazně nevzdaluje a pohybuje se přitom nejnižší rychlostí. Samci (modře) a (žlutě) iniciují častěji pohyb méně dominantní samice. Oba níže postavení samci (modrý a žlutý) se svými rychlostmi příliš neliší, pravděpodobně zaujímají podobné postavení v hejnu. Rychlost pohybu samic v tomto experimentu je konstantní. Průměry rychlostí leží mezi 2,9 a 5 cm.s⁻¹.



Obrázek 11. Průměrná vzájemná vzdálenost (cm) ryb během experimentu.



Obrázek 12. Průměrná rychlost ryb během experimentu (cm·s⁻¹).

Struktura pohlavně diverzního hejna parmiček je poměrně dynamická a projevuje se neustálými šarvátkami mezi jedinci. Protože se v některých projevech chování samci a samice liší, je pohlaví ryb nutné brát v úvahu. V experimentu v této bakalářské práci není zajištěna antireflexní úprava skel akvária, ryby mohou registrovat svůj odraz, což může významně ovlivnit pozorované pohybové projevy. Zejména u samců může dojít ke změnám trasy ryb na základě pozorování vlastního odrazu. Samci při přiložení zrcadla ke stěně akvária reagují na svůj obraz větší motivací plavat proti sklu (Obrázek 13), než když je jim umožněno sledovat samice v druhém akváriu (Obrázek 14). Samice reagují na vlastní obraz jen z počátku, později, na rozdíl od samců, o něj jeví jen nepatrný zájem. Plavání z jedné strany akvária na druhou může být reakcí na přemístění ryb do menší nádoby, či důsledkem kompenzace potravního chování. Reakce ryb na vlastní odraz je jedním z vysvětlení přemístování těžiště hejna k zadní stěně akvária (Obrázek 9). Po separaci samců a samic do zvláštních akvárií na delší dobu bez možnosti vizuálního kontaktu je patrný rozdíl ve strategii využívání prostoru. Po odstranění clony přichází snaha plavat ve společném uskupení téměř okamžitě.



Obrázek 13. Reakce samců na vlastní odraz v zrcadle a ve stěnách akvária.



Obrázek 14. Levá fotografie: **Pohled na samce** (vpravo) a **samice** (vlevo) v oddělených akváriích. Pravá fotografie: **Viditelná rozdílná motivace samců** (vpravo) a **samic** (vlevo) **plavat společně**.

4.2 Indikace referenční látky

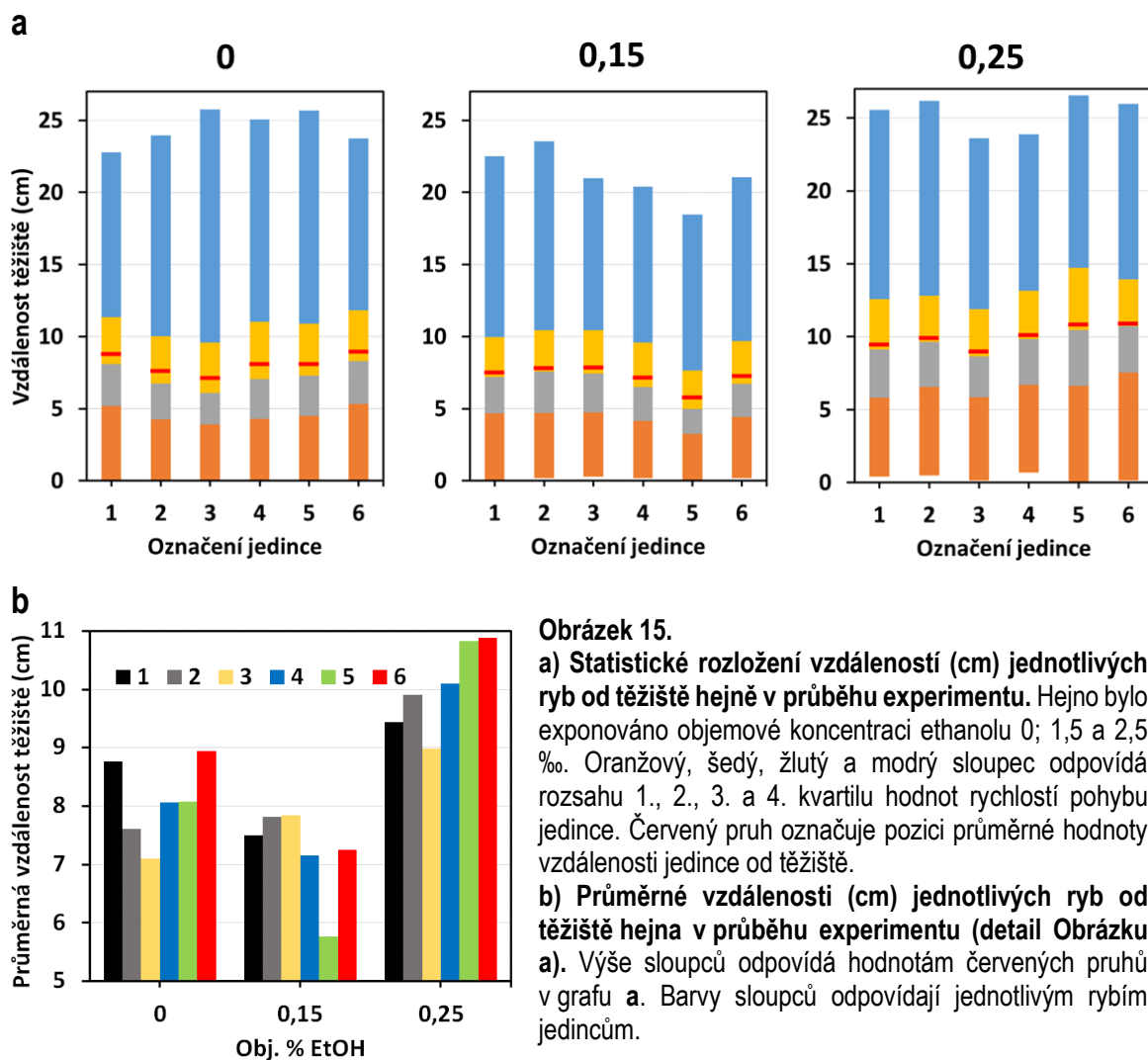
Na základě pilotní studie s/bez ethanolu jsou popsány některé projevy chování, které mohou být sledovány. Výběr projevů chování rybího hejna pro účely automatického sledování a detekce polutantů ve vodním prostředí je však stále předmětem studia. Osobní prostor ryb, tedy nejmenší vzdálenost mezi ostatními jedinci, koheze hejna (BERDAHL a kol. 2013) a schopnost paralelního plavání (KATZ a kol. 2011) jsou jedním z parametrů a byly využity i v pilotním experimentu.

Ač se nejedná o běžný kontaminant vody, jako testovací látka byl zvolen ethanol (EtOH), a to z důvodu jeho legislativní dostupnosti. Vyšší koncentrace ethanolu (2,5 obj. ‰) byla zvolena podle práce LADU (2014), nižší koncentrace (1,5 obj. ‰) byla vybrána jako mezibod mezi kontrolní (nulovou) koncentrací a vyšší koncentrací ethanolu.

Indikace látek založená pouze na změnách v hierarchii hejna může být problematická. Zejména při kompetici o zdroje potravy či u nově formovaných skupin je totiž uplatňována dominance, která je převážně pohlavně dimorfní. Skupiny složené pouze z exponovaných jedinců utvářejí stabilně rozvrstvené skupiny rychleji než kontrolní hejna (SLOMAN a ARMSTRONG 2002). Narozdíl od hejna analyzovaného v předchozí kapitole tedy nejsou hejna použítá v následujícím toxikologickém experimentu unifikována a byla vybírána náhodně, bez času na vytvoření hierarchických struktur.

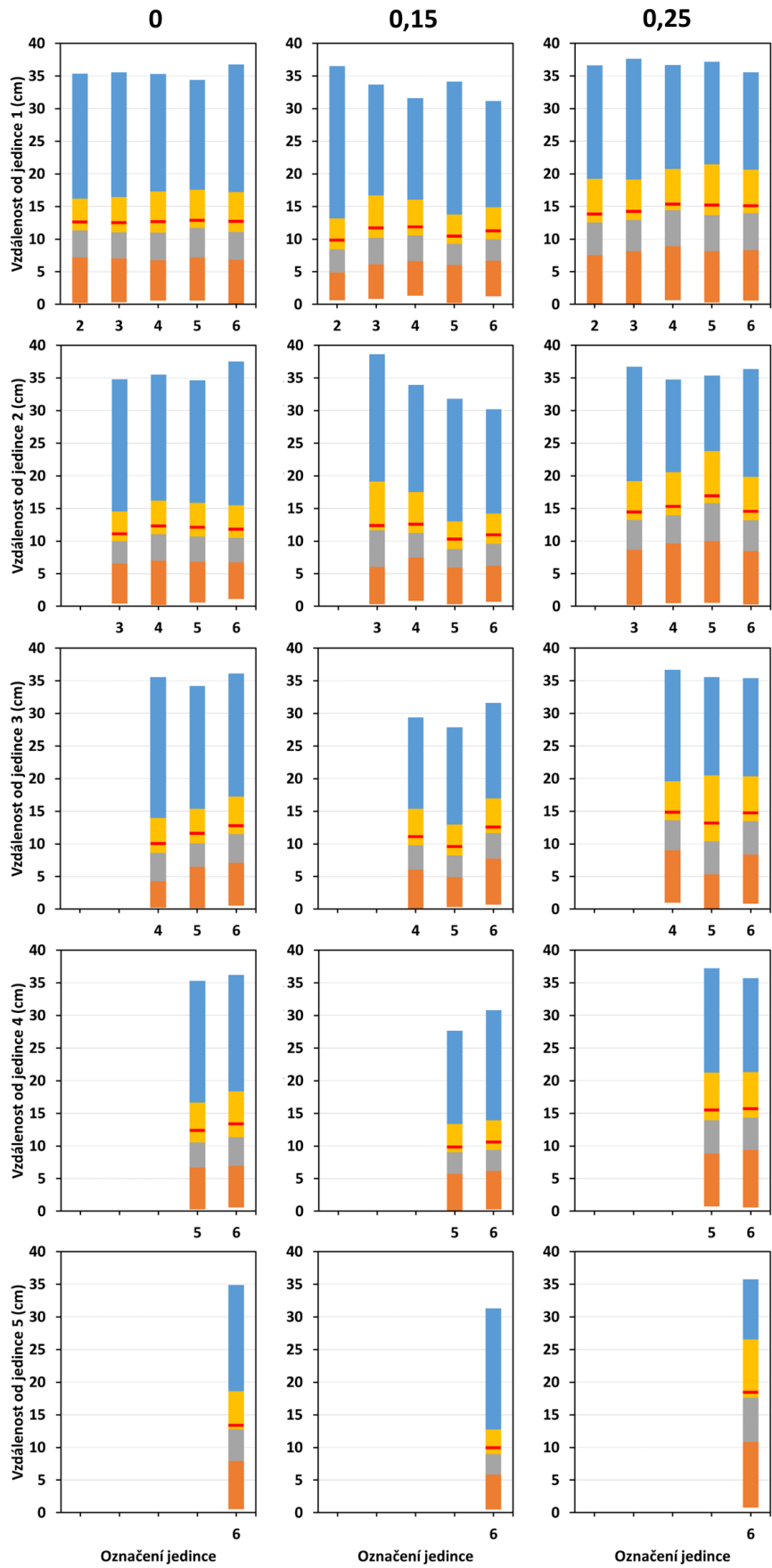
Obrázek 15 je porovnáním výsledků analýzy vzdálenosti jednotlivých ryb od těžiště v kontrolní skupině vůči hejnům pod dávkou ethanolu 1,5 obj. ‰ a 2,5 obj. ‰. Z grafu je patrný rozdíl rozložení vzdáleností během experimentu v závislosti na koncentraci ethanolu. Po přidání nižší koncentrace testovací substance ethanolu se maximální a průměrná vzdálenost jedinců nejprve zmenšuje, přičemž minimální vzdálenost se zvyšuje. Ve vyšší koncentraci je tomu naopak a hejno má tendenci se rozpadat.

Obrázek 16 porovnává vzdálenosti mezi jednotlivými rybami v rámci pozorovaných skupin v čase experimentu (zleva: 0; 1,5 a 2,5 obj. ‰ EtOH). Ryby v kontrolní skupině udržují při plavání v pokusném akváriu téměř konstantní rozestupy a osobní prostor (s maximem přibližně 35 cm). Po aplikaci referenční látky EtOH v koncentraci 1,5 obj. ‰ je schopnost ryb udržovat tyto vzdálenosti narušena a kolísání pozorovaných vzdáleností je větší (maximum přibližně 27 až 40 cm). To se také týká minimálních i průměrných hodnot. Ryby, které byly vystaveny koncentraci EtOH 2,5 obj. ‰, mezi sebou mají patrně větší

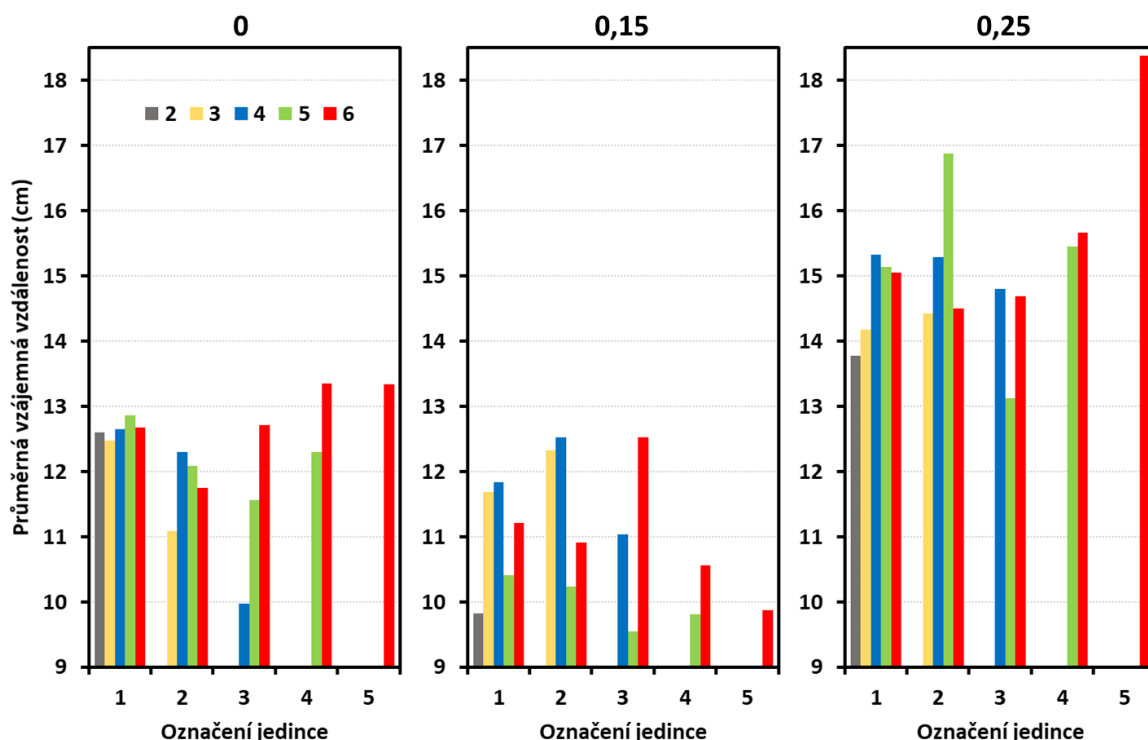


průměrné rozestupy, udržují větší objem osobního prostoru. V souladu s Obrázkem 11 lze konstatovat, že koheze hejna je tak narušena a můžeme pozorovat ztrátu hejnového chování. Rozptyl vzdáleností pro jednotlivé ryby je však stálejší, téměř tak jako je tomu u kontrolní skupiny.

Obrázek 17 dává do poměru pouze průměrné vzdálenosti jedince od ostatních ryb v hejnu. Lehké omámení ryby podněcuje k silnějšímu hejnovému chování a plavou v průměru blíže u sebe, ale zvýrazňují se rozdíly mezi jedinci. Při silném omámení je efekt opačný a ryby plavou od sebe zřetelně dál.

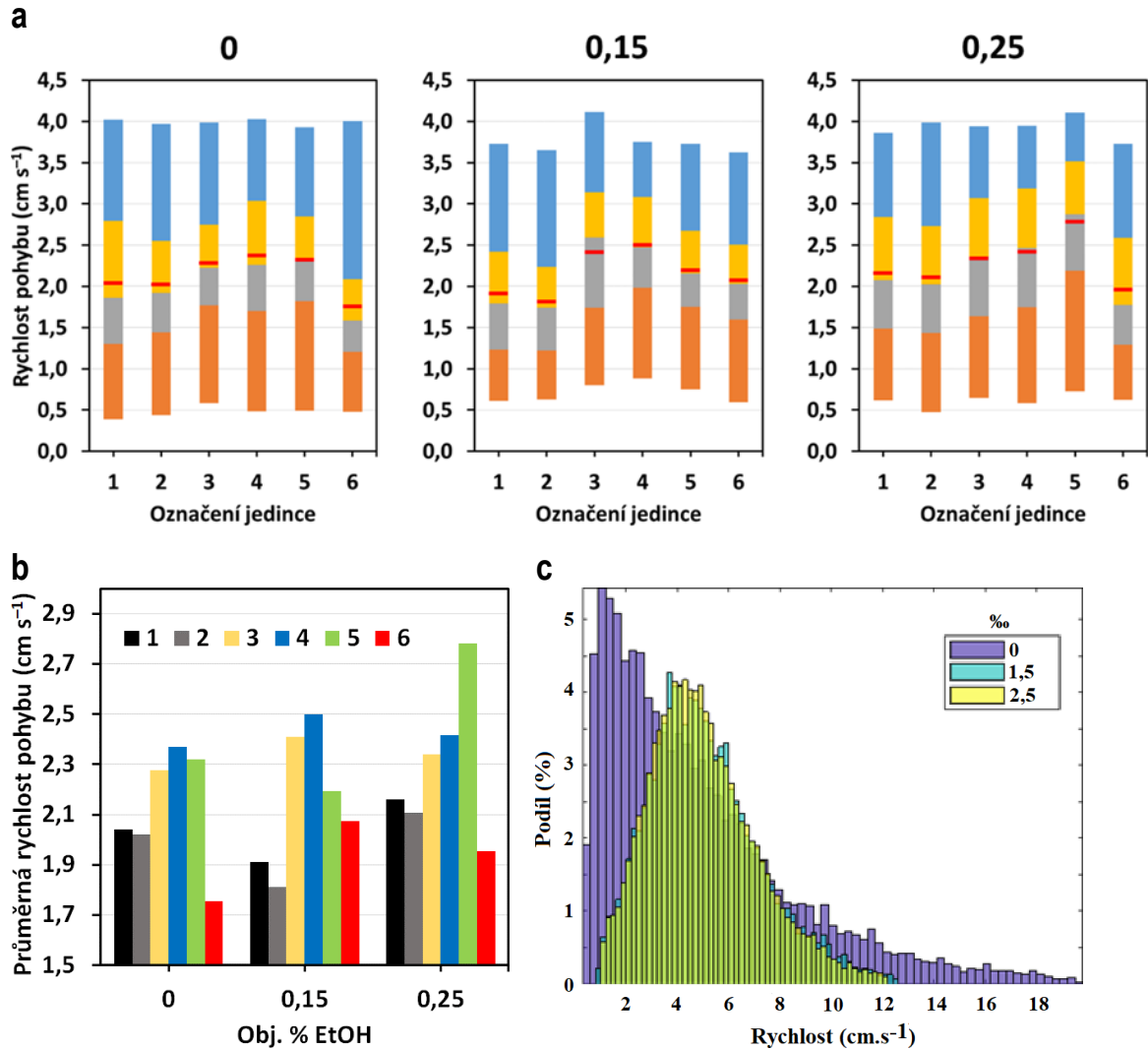


Obrázek 16. Statistické rozložení vzájemných vzdáleností ryb během experimentu v pokusných hejnech ovlivněných ethanolem (0; 1,5 a 2,5 obj. ‰). Oranžový, šedý, žlutý a modrý sloupec odpovídá rozsahu 1., 2., 3. a 4. kvartilu hodnot vzájemných vzdáleností rybích jedinců. Červený pruh označuje pozici průměrné hodnoty vzájemných vzdáleností jednotlivých párů jedinců.



Obrázek 17. Průměrné vzájemné vzdálenosti ryb během experimentu v pokusných hejnech ovlivněných 0; 1,5 a 2,5 obj. % ethanolu (detail Obrázku 16). Výše sloupců odpovídá hodnotám červených pruhů v Obrázku 16. Barvy sloupců odpovídají rybím jedincům 2–6.

Obrázek 18a udává statistické rozvrstvení hodnot průměrné rychlosti pro jednotlivé ryby z experimentu (zleva: 0; 1,5; a 2,5 % EtOH). Rozdíly mezi jedinci se zdají umocňovány s rostoucí dávkou ethanolu. Není jisté, do jaké míry lze výsledky porovnávat vzhledem k tomu, že se nejedná stále o též hejno, ale o náhodně vybrané skupiny. Omámené ryby plavou rychleji než jedinci v kontrolní skupině. V Obrázku 18b jsou v detailu porovnány průměrné rychlosti ryb během experimentu. V souladu s pozorováním LADU (2014) se rychlost ryb znatelně zvětšuje s rostoucí koncentrací ethanolu. Kromě toho pozorujeme výraznější rozdíly mezi jedinci. Vzhledem k výsledkům v Obrázku 18c, kdy se již zdá být rozdělení rychlostí ryb v hejnu při nižší koncentraci saturováno, se v dalších experimentech navrhuje koncentraci ethanolu dále snížit pod hodnotu 1,5 obj. %.



Obrázek 18. Rychlosti pohybu ($\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$) jednotlivých ryb v hejně při koncentraci ethanolu 0; 1,5 a 2,5 obj. $\%$. a) Statistické rozvrstvení pro jednotlivé ryby. Oranžový, šedý, žlutý a modrý sloupec odpovídá rozsahu 1., 2., 3. a 4. kvartilu hodnot rychlostí pohybu jedince. Červený pruh označuje pozici průměrné hodnoty rychlosti jedince v rychlostní distribuci. b) Detail průměrných rychlostí pohybu. Výše sloupců odpovídá hodnotám červených pruhů v grafech horního řádku. Barvy sloupců odpovídají jednotlivým rybím jedincům. c) Celkové rozdělení rychlostí rybích hejn v čase.

Průměrné hodnoty vzdálenosti od těžiště při nulové koncentraci na Obrázku 15b (7–9 cm) jsou mnohem vyšší než na Obrázku 10 (2,5–3,5 cm), kde měly jedinci čas na sebe vzájemně uvyknout a bylo hierarchické uspořádání v hejně již ustálené. Průměrná vzájemná vzdálenost ryb od sebe v případě kontrolního hejna na Obrázku 16 je v rozmezí 10,5–14,5 cm, podobně je tomu na Obrázku 11, kde je vzdálenost mezi rybami 10–13,5 cm. Osobní prostor ryb, které nebyly nijak omámeny je v obou experimentech podobný. Průměrná rychlost kontrolních ryb na Obrázku 18b je $1,7\text{--}2,4\text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$, zatímco na Obrázku 12 je v rozmezí $3\text{--}5,2\text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$. Jev zvýšení průměrné vzdálenosti ryb od těžiště a snížení rychlosti pohybu ryb, pokud na sebe nebyly navyklé, byl potvrzen našimi opakovanými, dosud nepublikovanými, experimenty.

5 Závěr

První studie představené v této bakalářské práci ukazují, že jednotliví jedinci uvnitř uměle sestaveného hejna *Puntigrus tetrazona* se liší ve svých pohybových strategiích, na základě těchto pozorování je možné dále prohlubovat znalosti o hejnovém sociálním chování ryb. Výsledky experimentů s ethanolem jako pilotní snadnou dostupnou testovanou látkou potvrzují schopnost metody zaznamenat reakci hejna na rozdílné podmínky, která je zachycena jako změna ve vybraných parametrech pohybu a chování. Očekáváme, že hejna budou reagovat na další přidané bioaktivní látky změnou, a to alespoň v některém z parametrů.

Pro zpřesnění kapacity metody detekce specifických látek ve vodním prostředí by měl budoucí výzkum pokračovat ve dvou větvích, a to 1) ve studii individuálních projevů chování a struktury hejna a 2) v samotném testování bioaktivních látek a následném vhodném zvolení parametrů pro vzájemné porovnání.

Zadání bakalářské práce nebylo zcela naplněno, protože komplexnost problému a složitost jeho technického řešení nedovoluje postupovat rychleji.

6 Seznam použitých literárních zdrojů

- ANDERSON, B.G. (1944) The toxicity thresholds of various substances found in industrial wastes as determined by the use of *Daphnia magna*. *Sewage Work J.* **16**(6), 1156–1165.
- ATCHINSON, G.J.; HENRY, M.G. a SANDHEINRICH, M.B. (1987) Effects of metals on fish behavior: a review. *Environ. Biol. Fishes* **18**(1), 11–25.
- BAENSCH, H.A. a RIEHL, R. (1996) *Aquarium Atlas*. Mergus-Verlag GmbH Hans A. (1-2).
- BEITINGER, T.L. (1990) Behavioral reactions for the assessment of stress in fishes. *J. Great Lakes Res.* **16**(4), 495–528.
- BERDAHL, A.; TORNEY, C.J.; IOANNOU, C.C.; FARIA, J.J. a COUZIN, D. (2013) Emergent sensing of complex environments by mobile animal groups. *Science* **339**(6119), 574–576.
- BLEEKER, P. (1855) Nalezingen op de vischfauna van Sumatra. Visschen van Lahat en Sibogha. *Natuurkundig Tijdschrift voor Nederlandsch Indië* **9**, 257–280.
- BOYD, R. a SILK, J.B. (1983) A method for assigning cardinal dominance ranks. *Anim. Behav.* **31**(1), 45–58.
- BREUKELAAR, A.W.; INGENDAHL, D.; VRIESE, F.T.; DE LAAK, G.; STAAS, S. a KLEIN BRETELER, J.G.P. (2009) Route choices, migration speeds and daily migration activity of European silver eels *Anguilla anguilla* in the River Rhine, north-west Europe. *J. Fish Biol.*, **74**(9), 2139–2157.
- BREWER, S.K.; LITTLE, E.E.; DELONAY, A.J.; BEAUVAIS, S.B. a JONES, S.B. (1999) The use of automated monitoring to assess behavioral toxicology in fish: Linking behavior and physiology. In: Henshel, D.S.; Harrass, M.C. a Black, M.C. (Eds.) *Environmental Toxicology and Risk Assessment* **8**, 370–386. ASTM International, West Conshohocken, PA, USA.
- BRODIN, T.; FICK, J.; JONSSON, M. a KLAMINDER, J. (2013) Dilute concentrations of a psychiatric drug alter behavior of fish from natural populations. *Science* **339**(6121), 814–815.
- BROWN, J.L. (1975) *The Evolution of Behaviour*. 1st edition; W.W. Norton a Co. Inc.
- BUIKEMA, A.L. Jr.; NIEDERLEHNER, B.R. a CAIRNS, J. Jr. (1982) Biological monitoring part IV—Toxicity testing. *Water Res.* **16**(3), 239–262.

- BUTLER, C. a PARKE, D. (1978) Environmental Conservation. In: BUTLER, G.C. (Ed.) *Principles of Ecotoxicology*, 254–255. Cambridge University Press, Chichester–New York–Brisbane–Toronto.
- CARSON, R. (1962) *Silent Spring*. Houghton Mifflin Company.
- CLEVELAND, L.; LITTLE, E.E.; INGERSOLL, C.G.; WIEDMEYER, R.H. a HUNN, J.B. (1991) Sensitivity of brook trout to low pH, low calcium and elevated aluminium concentrations during laboratory pulse exposures. *Aquat. Toxicol.* **19**(4), 303–317.
- COLLINS, R.A.; ARMSTRONG, K.F.; MEIER, R.; Yi, Y.; BROWN, S.D.J.; CRUICKSHANK, R.H.; KEELING, S. a JOHNSTON, C. (2012) Barcoding and border biosecurity: identifying cyprinid fishes in the aquarium trade. *PloS One* **7**(1), e28381.
- COUSIN, I. (2021) Publications [online]. [cit. 2020-06-01]. Dostupné z: <https://collectivebehaviour.com/publications-couzin/>
- CROOK, J. H. a GARLAN, J.S. (1966) Evolution of primate societies. *Nature* **210**, 1200–1203.
- DAWKINS, R. a KREBS, J.R. (1978) Animal signals: information or manipulation? In: DAVIES, N.B. a KREBS, J.R. (Eds.) *Behavioural Ecology: An Evolutionary Approach*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 282–309.
- DELCOURT, J.; BECCO, C.; VANDEWALLE, N. a PONCIN, P. (2009) A video multitracking system for quantification of individual behavior in a large fish shoal: Advantages and limits. *Behav. Res. Meth.* **41**(1), 228–235.
- DE VRIES, H. (1995) An improved test of linearity in dominance hierarchies containing unknown or tied relationships. *Anim. Behav.* **50**(1), 1375–1389.
- DOUGLAS, R.H. a DJAMGOS, M.B.A. (1990) *The Visual System of Fish*. 1st edition; Chapman and Hall, New York, London.
- DUNAJ, J. (2021) Systém skorého varovania pomocou biologického monitoringu pri výrobe pitnej vody na ÚV Stakčín [online]. [cit. 2021-01-21] Dostupné z: http://wtwsk.2ka.cz/upload/files/BEWS__UV_Stakcin.pdf
- DUSENBERY, D.B. (1992) *Sensory Ecology: How organisms acquire and respond to information*. Freeman, New York.
- DVOŘÁK, P (2014) *Anatomie a fyziologie ryb*. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Vodňany.
- EISENHARDT, E.P. (2003) Acoustic telemetry of rocky reef fish home range to evaluate marine protected area size. *Proceedings of the Puget Sound Georgia Basin Conference*.

- FARR, J.A. III a HERRNKIND, W.F. (1974) A quantitative analysis of social interaction of the guppy *Poecilia reticulata* (Poeciliidae) as a function of population density. *Anim. Behav.* **22**(3), 582–591.
- FRICKE, W.H. (1975) Sozialstruktur und ökologische Spezialisierung von verwandten Fischen (Pomacentridae). *Z. Tierpsychol.* **39**, 492–500.
- FURSDON, J.B.; MARTIN, J.M.; BERTRAM, M.G.; LEHTONEN, T.P. a WONG, B.B.M. (2019) The pharmaceutical pollutant fluoxetine alters reproductive behaviour in a fish independent of predation risk. *Sci. Total Environ.* **650**, 642–652
- BARTA, Z. a GIRALDEAU, L. (1998) The effect of dominance hierarchy on the use of alternative foraging tactics: a phenotype-limited producing-scrounging game. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **42**(3), 217–223.
- HAMILTON, W.D. (1964) The genetical evolution of social behaviour. *J. Theor. Biol.* **7**(1), 1–16.
- HAMILTON, W.D. (1979) *Wingless and fighting males in fig wasp and other insects*. Academic Press, New York, 167–120.
- HEINROTH, O. (1911) Beiträge zur Biologie, namentlich Ethologie und Psychologie der Anatiden. In: Berichte des V. Int. Ornithologen Kongresses Berlin, 598–702.
- HERBERT-READ, J.E.; KREMER, L.; BRUINTJES, R.; RADFORD, A.N. a IOANNOU, C.C. (2017) Anthropogenic noise pollution from pile-driving disrupts the structure and dynamics of fish shoals. *Proc. Royal Soc. B* **284**(1863), 20171627.
- HILL, G.E. (1991) Plumage coloration is a sexually selected indicator of male quality. *Nature* **350**, 337–339.
- HILL, G.E. (1992) The proximate basis of variation in carotenoid pigmentation in male house finches. *Auk*, 109(1), 1–12.
- HORKÁ, P.; HORKÝ, P.; RANDÁK, T.; TUREK, J.; RYLKOVÁ, K. a SLAVÍK, O. (2015) Radio-telemetry shows differences in the behaviour of wild and hatchery-reared European grayling *Thymallus thymallus* in response to environmental variables. *J. Fish Biol.* **86**(2), 544–557.
- HUNN, J.B. (1989) History of acute toxicity tests with fish, 1863–1987. In: *Investigations in Fish Control* **98**. Report. U.S. Fish and Wildlife Service.
- CHARNOV, E.L. (1976) Optimal foraging: Attack strategy of mantid. *Am. Nat.* **110**(971), 141–151.
- CHEW, B.F., ENG, H. a THIDA, M. (2009) Vision-based real time monitoring on the behavior of fish school. *Conf. MVA*, 90–93.

- CHIVERS, D.P. a SMITH, R.J.F. (1998) Chemical alarm signalling in aquatic predator-prey systems: A review and prospectus. *Écoscience* **5**(3), 338–352.
- JENSEN, A. a BRO-RASMUSSEN, F. (1992) Environmental cadmium in Europe. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* **125**, 101–181.
- KANE, S.A.; SALIERNO, J.D.; GIPSON, G.T.; MOLTENO, T.C.A. a HUNTER, C. (2004) A video-based movement analysis system to quantify behavioral stress responses of fish. *Water Res.* **38**(18), 3993–4001.
- KATZ, L. (1953) A new status index derived from sociometric analysis. *Psychometrika* **18**(1), 39–43.
- KATZ, Y.; TUNSTROM, K.; IOANNOU, C.C.; HUEPE, C. a COUZIN, I.D. (2011) Inferring the structure and dynamics of interactions in schooling fish. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **108**(46), 18720–18725.
- KORTMULDER, K. (1972) A comparative study in colour patterns and behaviour in seven Asiatic *Barbus* species (Cyprinidae, Ostariophysi, Osteichthyes): A progress report. *Behaviour* **19**, 1–60.
- KORTMULDER, K. (1982) Etho-ecology of seventeen *Barbus* species (Pisces; Cyprinidae). *Neth. J. Zool.* **32**(2), 144–168.
- KOTTELAT, M. (1993) The identity of *Barbus johorensis* Duncker, 1904 (Teleostei: Cyprinidae). *Raffles Bull. Zool.* **40**(2), 187–192.
- KOTTELAT, M. a Raffles Museum of Biodiversity Research (2013) *The fishes of the inland waters of southeast Asia: a catalogue and core bibliography of fishes known to occur in freshwaters, mangroves and estuaries.* *Raffles Bull. Zool.* **27**, Singapore, 65–170.
- KUKLINA, I., KOUBA, A. a KOZÁK, P. (2013). Real-time monitoring of water quality using fish and crayfish as bio-indicators: a review. *Environ. Monit. Assess.* **185**(6), 5043–5053.
- LADU, F. (2014) Sociality modulates the effects of ethanol in zebra fish. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **38**(7), 2096–2104.
- LANDAU, H.G. (1951) On dominance relations and the structure of animal societies: I. The effect of inherent characteristics. *Bull. Math. Biophys.* **13**, 1–19.
- LILEY, N.R. (2011) Chemical communication in fish. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **39**(1), 22–35.
- LITTLE, E.E. a FINGER, S.E. (1990) Swimming behavior as an indicator of sublethal toxicity in fish. *Environ. Toxicol. Chem.* **9**(1), 13–19.
- LONHUS, K.; ŠTYS, D.; SABERIOON, M. a RYCHTÁRIKOVÁ, R. (2019) Segmentation of laterally symmetric overlapping objects: application to images of collective animal behavior. *Symmetry* **11**(7), 866.

- LONHUS, K.; RYCHTÁRIKOVÁ, R.; PLATONOVA, G. a ŠTYS, D. (2020) Quasi-spectral characterization of intracellular regions in bright-field light microscopy images. *Sci. Rep.* **10**, 18346.
- LONHUS, K. (2019) Osobní prezentace, 22. července 2019, Complexity Science Hub, Vídeň.
- LORENZ, K. (1941) Vergleichende Bewegungsstudien an Anatinen. *J. Ornithol.* **89**, 194–294.
- MONDAL, K.; GHOSH, S. a HAQUE, S. (2018) A review on contamination, bioaccumulation and toxic effect of cadmium, mercury and lead on freshwater fishes. *Int. J. Zool. Stud.* **3**(2), 153–159.
- NORRIS, D.O.; DONAHUE, S.; DORES, R.M.; LEE, J.K.; MALDONADO, T.A.; RUTH, T. a WOODLING, J.D. (1999) Impaired adrenocortical response to stress by brown trout, *Salmo trutta*, living in metal-contaminated waters of the Eagle River, Colorado. *Gen. Comp. Endocrinol.* **113**(1), 1–8.
- PARKER, G.A. (1970) The reproductive behaviour and the nature of sexual selection in *Scatophaga stercoraria* L. (Diptera: Scatophagidae). II. The fertilization rate and spatial and temporal relationships of each sex around the site of mating and oviposition. *J. Anim. Ecol.* **39**(1), 205–228.
- PARKER, G.A. a STUART, R. (1976) Animal behavior as a strategy optimizer: Evolution of resource assessment strategies and optimal emigration thresholds. *Am. Nat.* **110**(1), 1055–1076.
- PÉREZ-ESCUADERO, A.; VICENTE-PAGE, J.; HINZ, R.C.; ARGANDA, S. a DE POLAVIEJA, G.G. (2014) IdTracker: tracking individuals in a group by automatic identification of unmarked animals. *Nat. Methods* **11**(7), 743–748.
- PETHIYAGODA, R.; MEEGASKUMBURA, M. a MADUWAGE, K. (2012) A synopsis of the South Asian fishes referred to *Puntius* (Pisces: Cyprinidae). *Ichthyol. Explor. Freshwaters* **23**(1), 63–95.
- PLATONOVA, G.; ŠTYS, D.; SOUČEK, P.; MACHÁČEK, P.; KOTAL, V. a RYCHTÁRIKOVÁ, R. (2019) Technically Correct Visualization of Microscopic Biological Experiments. *ArXiv* 1903.06519.
- POTTS, G. W. a WOOTTON, R.J. (1984) *Fish reproduction: strategies and tactics*. London, Academic Press.
- RANDÁK, T.; ŽLÁBEK, V.; TUREK, J.; VELÍŠEK, J. a KOLÁŘOVÁ, J. (2011) *Využití pstruha duhového (Oncorhynchus mykiss) pro účely ekotoxikologického monitoringu kvality vody, Edice metodik (technologická řada) 111*. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Vodňany.
- REEVE, H.K. a SHERMAN, P.W. (1993) Adaptation and the goals of evolutionary research. *Q. Rev. Biol.* **68**(1), 1–32.

- SABERIOON, M. a CISAR, P. (2016) Automated multiple fish tracking in three-dimension using a structured light sensor. *Comput. Electron. Agr.* 2016, **121**, 215–221.
- SCOTT, G.R. a SLOMAN, K.A. (2004) The effects of environmental pollutants on complex fish behaviour: integrating behavioural and physiological indicators of toxicity. *Aquat. Toxicol.*, **68**(4), 369–392.
- SHIRAIISHI, Y.; MIZUNO, N.; NAGAI, M.; YOSHIMI, M. a NISHIYAMA, K. (1972) Studies on the diel activity and feeding habit of fishes at Lake Bera, Malaysia. *Jpn. J. Ichthyol.* **19**(4), 295–305.
- SCHEURMANN, I. (1990) *Aquarium Fish Breeding*. Baron's Educational Series, Inc., Hauppauge.
- SLOMAN, K.A. a ARMSTRONG, J.D. (2002) Physiological effects of dominance hierarchies: laboratory artefacts or natural phenomena? *J. Fish Biol.* **61**(1), 1–23.
- SMITH, E.H. a BAILEY, H.C. (1990) Preference/avoidance testing of waste discharges on anadromous fish. *Environ. Toxicol. Chem.* **9**(1), 77–86.
- SOLDÁN, P. a RAMBOUSEK, L. (2020) Zkvalitnění monitoringu biologické kvality pitných vod. *Vodohospodářské technicko-ekonomické informace* **62**(2), 26–31.
- ŠTYS, D. Jr.; PEČENKOVÁ, J.; ŠTYS, K.M.; CHKALOVA, M.; KOUBA, P.; PAUTSINA, A.; DURNIEV, D.; NÁHLÍK, T. a CÍSAŘ, P. (2015) 5iD Viewer – Observation of fish school behaviour in labyrinths and use of semantic and syntactic entropy for school structure definition. *WASET Int. J. Comp. Electr. Autom. Control. Inform. Eng.* **9**(1), 281–285.
- ŠTYS, D. (2020) Osobní sdělení. Ústav komplexních systémů, Nové Hrady, Česká republika, 25. května 2020.
- TAKI, Y.; KATSUYAMA, A. a URUSHIDO, T. (1978) Comparative morphology and interspecific relationships of the Cyprinid genus *Puntius*. *Jpn. J. Ichthyol.* **25**(1), 1–8.
- TAMARU, C.S.; COLE, B.; BAILEY, R. a BROWN, C. (1998) *A manual for commercial production of the tiger barb, *Capoeta Tetrazona*, a temporary paired tank spawner*. Center for Tropical and Subtropical Aquaculture, č. publikace **129**, Hawaii, pp. 50.
- TINBERGEN, N. (1963) On aims and methods of ethology. *Z. Tierpsychol.* **20**, 410–433.
- TINBERGEN, N. (1974) *The animal in its world: exploration of an ethologist (1932–1972), volume 2: Laboratory experiments and general papers*. Harvard University Press, Cambridge.
- TRIVERS, R. L. (1972) Parental investment and sexual selection. In: Campbell, B. (Ed.) *Sexual Selection and the Descent of Man 1871–1971*. Aldine, Chicago, 136–179.

- TRUHAUT, R. (1977) Ecotoxicology: Objectives, principles and perspectives. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **1**(2), 151–173.
- VOGEL, S. (1988) *Life's devices. The physical world of animals and plants*. Princeton University Press.
- WEIS, P. a WEIS, J.S. (1974a) Schooling behavior of *Menidia menidia* in the presence of the insecticide Sevin (Carbaryl). *Mar. Biol.* **28**, 261–263.
- WEIS, P. a WEIS, J.S. (1974b) DDT causes changes in activity and schooling behavior in goldfish. *Environ. Res.* **7**(1), 68–74.
- WIBE, E.; NORDTUG, T. a JENSSEN, B.M. (2001) Effects of bis(tributyltin)oxide on antipredator behavior in threespine stickleback *Gasterosteus aculeatus* L. *Chemosphere* **44**(3), 475–481.
- WILEY, R.H. (1983) The evolution of communication: information and manipulation. In: Halliday, T.R. a Slater, P.J.B. (Eds.) *Animal behaviour, volume 2, Communication*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 82–113.
- WILLIAMS, G.C. (1966) *Adaptation and natural selection: A critique of some current evolutionary thought*. Princeton University Press, Princeton.
- WILSON, E.O. (1975) *Sociobiology*. Harvard University Press, Cambridge.
- ZAHAVI, A. (1975) Mate selection-A selection for a handicap. *J. Theor. Biol.* **53**(1), 205–214.
- ZHOU, T. a WEIS, J.S. (1998) Swimming behavior and predator avoidance in three populations of *Fundulus heteroclitus* larvae after embryonic and/or larval exposure to methylmercury. *Aquat. Toxicol.* **43**(2–3), 131–148.
- PUBCHEM (2020) Ethanol, CID=702. *National Center for Biotechnology Information: PubChem Database* [online]. [cit. 2020-06-01]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ethanol>.

7 Seznam použitých zkratk

ASTM	Americká společnost pro testování a materiály (z angl. American Society for Testing and Materials)
APHA	Společnost amerických farmaceutů (z angl. American Pharmacists Association)
ČOV	Čistírna odpadních vod
DDT	1,1,1-Trichlor-2,2-bis(4-chlorfenyl)ethan (triviálně dichlordifenyiltrichlor-ethan)
DOC	Rozpuštěný organický uhlík (z angl. Dissolved Organic Carbon)
EDC	Endokrinní disruptory (z angl. Endocrine-Disrupting Chemicals)
EtOH	Ethanol
GHS/CLP	Globální harmonizovaný systém klasifikace a označování chemických látek (z angl. Global Harmonized System of Classification, Labelling and Packaging)
ISO	Mezinárodní organizace pro standardizaci (z angl. International Organization for Standardization)
LC ₅₀	koncentrace způsobující 50% letální efekt
LD ₅₀	dávka způsobující 50% letální efekt
LOEC	Nejnižší hodnoty účinných koncentrací (z angl. Lowest Observed Effect Concentration)
NOEC	Nejvyšší hodnoty účinných koncentrací (z angl. No Observed Effect Concentration)
OECD	Společnost pro ekonomickou spolupráci a rozvoj (z angl. Organisation for Economic Co-Operation and Development)
PCB	Polychlorované bifenoly
POC	Částicový organický uhlík (z angl. Particulate Organic Carbon)
PPCP	Výrobky farmaceutické a osobní potřeby (z angl. Pharmaceutical and Personal Care Products)
REACH	Registrace, hodnocení, povolování a omezování chemických látek (z angl. Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals)
TG	Pokyny pro zkoušky (z angl. Test Guidelines)

TOC	Celkový organický uhlík (z angl. Total Organic Carbon)
ÚCHP	Ústav chemických procesů AV ČR, v. v. i.
USEPA	Agentura pro ochranu životního prostředí Spojených států (z angl. United States Environmental Protection Agency)
VerCa	Software pro kalibraci a korekci obrazu (z angl. Verify Cameras)
3D	Trojrozměrný
$M(\text{et})$	Molekulová hmotnost ethanolu
$\rho(\text{et})$	Hustota ethanolu

8 Abstrakt

Tato práce vychází z poznatků z oblasti behaviorální ekologie ryb, zejména se soustředí na sociální chování hejna. Zabývá se možností využití nové, velice jemné, metody analýzy chování na *Puntigrus tetrazona* pro detekci změn chemismu vody. Pro účely studie jsou popsány některé projevy chování pokusného organismu. Vybrané projevy chování kontrolní skupiny ryb jsou následně porovnány s průběhem chování, který byl zaznamenán po intoxikaci 1,5 a 2,5 obj. ‰ koncentrací ethanolu.

Klíčová slova: analýza chování, automatické sledování, parmička čtyřpruhá, *Puntigrus tetrazona*, detekce bioaktivních látek

9 Abstract

The study is a compilation of behavioural ecology knowledge, namely focused on social behaviour of fish school. It considers possible opportunity of usage of a novel, highly specific analytic method for detection of change in water chemism. The method is based on observation of changes in behavioural manifestations of *Puntigrus tetrazona*. Chosen parameters of behaviour are compared for a control school and for a school after intoxication with 1.5 and 2.5 vol. ‰ concentration of ethanol.

Keywords: behaviour analysis, automated tracking, *Puntigrus tetrazona*, detection of bioactive substances