

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

Bakalářská práce
Změny hejnového chování akvarijních
ryb v přítomnosti kontaminantu

Autor: Eliška Pejcharová

Vedoucí bakalářské práce: Ing. Bc. Renata Štysová Rychtáriková, Ph.D.

Konzultant bakalářské práce: Kirill Lonhus, Ph.D.

Studijní program a obor: Ochrana vod

Forma studia: Prezenční

Ročník: 1. ročník

České Budějovice, 2022

Prohlášení

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.....

.....

Podpis studenta

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala především své vedoucí bakalářské práce Ing. Bc. Renatě Štysové Rychtárikové, Ph.D. a konzultantu Kirillu Lonhus, Ph.D. za odborné vedení mé bakalářské práce a za pomoc při zpracovávání práce. Dále všem z ÚKS v Nových Hradech za pomoc a rady, kterými přispěli ke zpracování této bakalářské práce.

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Fakulta rybářství a ochrany vod

Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Eliška PEJCHAROVÁ
Osobní číslo: V21B048P
Studijní program: B0588A030002 Ochrana vod
Téma práce: Změny hejnového chování akvarijních ryb v přítomnosti kontaminantu
Zadávající katedra: Ústav komplexních systémů

Zásady pro vypracování

Současné biosenzory používané v úpravách pitné vody pro detekci nebezpečného znečištění se jen obtížně udržují v chodu, protože jsou založené na vyhodnocení změn chování ryb (většinou úhyn) operátorem. Druhy ryb, které se v nich používají (pstruh, siven apod.), jsou stále obtížněji dostupné. Navíc funkčnost těchto zařízení byla vždy omezená, objemy vody v nich a rychlost reakce na hromadné úmrtí ryb nebyly dostatečné, aby se provoz včas zastavil a jedovaté látky se nedostaly do systému.

Sledování akvarijních ryb parmička čtyřpruhá (*Puntigrus tetrazona*), které vytvářejí stabilní strukturovaná hejna, pomocí automatizovaného systému vyvíjeného na ÚKS by mělo umožnit velmi rychle (3 s) zachytit změnu složení vody, a to navíc rychleji (v řádu 30 s až 10 min) i specifitěji než dosavadní systémy a umožnit následný rychlý zásah operátora.

Očekávaným výstupem práce bude pokrok ve znalosti reakce hejna *P. tetrazona* na přítomnost kontaminantu (ethanolu) ve vodném prostředí a pokrok ve vývoji monitorovacího zařízení. Obsahem práce bude: (a) chov a snímání rybek *P. tetrazona* v/bez přítomnosti kontaminantu vody v prototypu akvária, (b) vyhodnocení chování hejna pomocí originálních software, (c) komunikace s vývoji software a akvária.

Rozsah pracovní zprávy: 25-50 stran
Rozsah grafických prací: dle potřeby
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná

Seznam doporučené literatury:

Lonhus K., Rychtáriková R., Saberioon M., Štys D. (2019) Segmentation of Laterally Symmetric Overlapping Objects: Application to Images of Collective Animal Behaviour. *Symmetry* 11(7), 866.

Lonhus K., Rychtáriková R., Štys D. (2021) Quantification of Collective Behaviour via Movement Tracking. *Arxiv* 2110.04873.

Macková B. (2021) Změny hejnové hierarchie ryb jako citlivý indikátor bioaktivních látek. Bakalářská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích.

Alisa Plaksina (2021). Caffeine-induced changes in shoal behaviour of Tiger Barb (*Puntigrus tetrazona*). Bachelor thesis. Università Degli Studi di Padova.

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

Konzultant bakalářské práce: MSc. Kirill Lonhus, Ph.D.

Datum zadání bakalářské práce: 21. ledna 2022
Termín odevzdání bakalářské práce: 2. května 2023

uz. 

prof. Ing. Pavel Kozák, Ph.D.
děkan

L.S.



Ing. Petr Císař, Ph.D.
ředitel

V Českých Budějovicích dne 25. února 2022

Obsah

Úvod	7
1 Literární přehled.....	8
1.1 Hejnové chování ryb	8
1.2 Polutanty ve vodním prostředí	9
1.3 Metody sledování rybích hejn.....	10
1.4 Další organismy využívané pro sledování změn chování.....	15
1.5 Vliv ethanolu na ryby	17
2 Materiály a metodika.....	22
2.1 Modelový organismus.....	22
2.2 5iD Viewer a zpracování obrazu	24
2.3 Návrh a provedení experimentu.....	26
3 Výsledky	31
3.1 Výsledky pro průměr hejna a koncentrace	32
3.2 Průměrná síla role v hejně v závislosti na koncentraci toxikantu.....	36
3.3 Jednotlivé ryby – specifikované výsledky	39
4 Diskuse	46
5 Závěr	49
6 Zdroje	50
Abstrakt.....	54
Abstract.....	55

Úvod

Voda je nejdůležitější kapalinou na planetě Zemi. Bez vody, a zejména čisté vody, se neobejde žádný živý organismus. Stála při zrodu života, a i dnes je výrazným hybatelem dějin. Je však také velmi zranitelná. Odevšad dnes proudí do vody chemické látky, čímž dochází ke změnám v její kvalitě a bezpečnosti. Globální oteplování, rozrůstání lidské populace a vyšší produkce odpadních látek způsobují čím dál tím závažnější znečištění vodních zdrojů.

Včasná detekce a včasné varování při náhlých kontaminacích pitné vody cizorodými látkami ohrožujícími lidské zdraví je stěžejní pro bezpečnost společnosti jako celku. Nejedná se jen o případy havárií, ale i o případy teroristických útoků. Úpravný vody musí být z tohoto důvodu včasné informovány a schopny zabránit vstupu takovýchto látek do spotřebitelské sítě (Randák a kol., 2011).

Monitoring kvality vod je tedy stěžejní a je nutné jej provádět periodicky a s vysokou přesností. Dnes běžně užívané metody jsou však velmi závislé na schopnostech pozorovatele a jsou snadno ovlivnitelné lidskou chybou a nenabízejí možnost rychlé detekce změn. Běžně používané metody jsou založeny na pozorování chování ryb ve vodě. Ve většině případů se jedná o výraznou změnu v chování (úhyn). Provozy jsou také limitovány dostupností používaných druhů ryb.

Schopnost zvířat tvořit skupiny je dán samoorganizací, v níž se projevuje kolektivní chování (Giardina, 2010). Ryby jsou obecně považovány za ideální modelový organismus pro sledování behaviorální toxicity chemikálií ve vodě. Ryby při vystavení kontaminantu mohou vykazovat velké množství změn chování, což je výhodné z pohledu hodnocení změn kvality vody v krátkém časovém úseku (Kang a kol., 2009).

V této bakalářské práci je naším cílem prohloubit znalosti a vytvořit základ pro další práci v otázce změn hejnového chování ryb a jeho využití jako bioindikátoru. Práce je součástí projektu vývoje zařízení sledujícího změny kvality vody monitorováním rybiho hejna, vyvíjeného na ÚKS v Nových Hradech ve spolupráci se společností ENVI-PUR, s.r.o. Zvoleným modelovým organismem je parmička čtyřpruhá (*Puntigrus tetrazona*), která se vyznačuje svou dobrou schopností tvořit hejna a výrazným zbarvením. Sledovali jsme deset koncentrací ethanolu od $1,14 \cdot 10^{-7}$ do $3,84 \cdot 10^{-3}$ ‰. Ethanol jsme zvolili jako prvotní testovací látku pro jeho cenovou dostupnost a známé účinky na organismy.

1 Literární přehled

1.1 Hejnové chování ryb

Hejnové chování ryb popisuje behaviorální ekologie. Behaviorální ekologie se jako vědecká disciplína zaměřuje zejména na evoluci zvířecího chování neboli jak chování, ekologie a genetika spolupracují, aby determinovaly fitness jedince (Godin, 1997).

Obecný mechanismus vytváření skupin, kdy pravidla pro jednotlivce vedou k jednotnému stavu skupiny, je poměrně jednoduchý, avšak přesahuje detailní povahu chování jednotlivce. V tomto pohledu je zvířecí chování předmětem velkého mezioborového zájmu. Na druhou stranu je zde také několik důležitých faktů souvisejících s biologickým fungováním tvorby skupin a jeho evolučním úspěchem (Giardina, 2010).

Původ hejnování je dle některých autorů zařazován do období výskytu prvních ryb v pelagiálu (Eibl-Eibesfeldt, 1962). Ranní zástupci skupiny *Teleostei* jsou pak první skupina, u které je potvrzené systematické hejnové chování. Jde však spíše o vývoj spojený se změnou životního prostředí (Kasumyan a Pavlov, 2018).

V případě ryb je jejich sdružování do hejn jednou z nejběžnějších sociálních interakcí mezi nimi. Ryby mnoha různých druhů využívají hejno jako základní strukturu pro svůj život. Chování stejných ryb v hejně a mimo něj se výrazně odlišuje. Hejna představují vysoce koordinovanou, propojenou síť, v které jsou jednotlivci závislí na skupině. Tato chování se mohou v průběhu času vyvíjet a měnit (Kasumyan a Pavlov, 2018).

Pojem hejnování pak můžeme definovat jako sociální uskupení ryb, které je polyfunkční, přizpůsobivé, vysoce strukturované a podmíněné nezbytnostmi ekologického kontextu. Hejnování sleduje repertoár skupinových vzorců chování. Tyto vzorce se neustále mění vlivem změn přírodních podmínek (Hobson, 1973).

Rybí hejnování je často ovlivněno dvěma základními faktory: predací a potravou. Vytvořením hejna je druh schopen porazit predátory, zatímco při vyhledávání potravy ve skupině vzniká křehká rovnováha mezi tvořením hejn, jejich rozpadem a kompeticí (Pitcher, 1986). Hejna jsou obvykle jednodruhová a často si jsou blízká věkově a velikostně. Odstup mezi jednotlivými rybami je obvykle udržován opticky, s využitím odlišností ve zbarvení (Hofman a Novák, 1996).

Ryby sladkých i slaných vod tvoří hejna ve velkém množství. Až 50 % ryb se hejnuje ve svých juvenilních stádiích a až 25 % v dospělosti (Shaw, 1978). Znalosti hejn jsou využívány i v komerčním rybolovu k aplikaci přesnějších rybolovných technik.

Podle hierarchie lze hejna rozdělit na dva základní typy (Hofman a Novák, 1996):

- 1) hejna otevřená, anonymní, bez hierarchie a
- 2) hejna, která tvoří individuální uzavřenou společnost s danou hierarchií a složitým systémem komunikace.

Nejdůležitější postavení v rybím hejnu má vůdce hejna. Jde zpravidla o nejsilnější a nejdominantnější rybu. Má však také větší výdej energie než ostatní ryby, ale také má první přístup k potravě a získává tedy její nejkvalitnější část. Je také nejvíce ohrožena predátory a její energetický výdej je zvýšen o úkoly spojené s vedením hejna (Bumann a Krause, 1993).

1.2 Polutanty ve vodním prostředí

Člověk za dobu své existence planetu Zemi znečistil mnoha způsoby. Velké množství polutantů se dostává do vodních toků, kde negativně ovlivňuje místní ekosystém.

Polutanty a jejich únik či vypouštění do prostředí představují jeden z největších problémů v péči o vodní prostředí zejména v oblastech s velkou industrializací. Stanovení limitů a znalost, pokud možno, všech vypouštěných látek a jejich monitoring jsou v takovýchto případech stěžejní. Svou roli hrají i zátěže z minulosti (Pietrucin, 2013). Mezi významné sledované polutanty můžeme zařadit například těžké kovy (Liao a kol., 2011; Yuan a kol., 2018), sloučeniny kyanidů (Kang a kol., 2009) a další látky používané v průmyslových výroбах a zemědělské produkci. Většina těchto polutantů je v dnešní době zachytávána na čistírnách odpadních vod (ČOV), které však u velké části z nich nejsou schopny dosáhnout kompletního odstranění látky z vody. Pro mnoho významných látek jsou proto stanoveny limity například pomocí testů toxicity. Jejich používání je ukotveno v legislativě České republiky a Evropské unie (Kočí, 2006). Stanovení limitů a zavedení bezpečnostních opatření napomohlo ke snížení počtu havarijních úhynů vodních živočichů a celkového znečištění, neodstranilo je však úplně a dnešní poznatky ukazují, že i nízké koncentrace mohou způsobit stresové reakce. Některé látky vykazují i hormonální účinky na organismy (antikoncepce) či mění jejich chování (antidepresiva,

některé drogy). S vývojem nových léčiv a zejména se zaváděním nových psychoaktivních drog stoupá počet látek, které nejsou legislativně podchyceny. Řada látek se vyskytuje ve vodách různým způsobem modifikovaná, zejména díky metalizaci a chemickým modifikacím při úpravě vody.

Sledují se také fyzikálně-chemické parametry vody, které jsou zásadní pro prospívání ryb a jejich zdraví. Ryby i další vodní živočichové jsou náchylní již na mírné změny parametrů v nádrži, což může vést i k úhynům obsádky. Mezi nejdůležitější faktory patří teplota a pH vody, koncentrace kyslíku, molekulárního amoniaku, dusičnanů a dusitanů ve vodě (Randák a kol., 2011).

1.3 Metody sledování rybích hejn

Ryby mohou být ve svém přirozeném prostředí ovlivněny různými druhy polutantů. Mezi druhy chování, které byly studovány, patří například pohybové vzorce plavání, rozmnožovací chování, hejnování, vyhýbání se predátorům a potravní chování (Weis a Candelmo, 2012). Různé druhy polutantů ovlivňují rybí chování různými způsoby. Tyto rozdíly můžeme využít pro detekci polutantů ve vodním prostředí. Pro sledování se používají nejčastěji uzavřené skupiny jedinců nebo jednotlivci. Systematickým monitoringem pomocí kamer jsou následně snímány vzorce chování, které jsou převedeny do matematické a následně statistické podoby.

V České republice se již v dnešní době využívá sledování změn chování k detekci polutantů během kontroly kvality vodních zdrojů. Zejména se jedná o monitoring úhynů a následné sledování stavu tkání pstruha duhového (*Onchorhynchus mikiss*). Jde tedy spíše o dlouhodobé sledování vlivu polutantů, nikoliv o okamžitou detekci (Randák a kol., 2011). Ryby jsou vhodné zejména pro snadnou identifikaci, důležitou roli v ekosystému, často poměrně nízkou náročností na chov, svůj kontinuální kontakt s ekosystémem a dlouhou historii jejich studia (Kane a kol., 2005).

V zahraniční literatuře jsou dohledatelné testy sledující reakce na různé předem specifikované chemikálie. Kang a kol. (2008) sledovali změny rychlosti plavání několika druhů ryb (*Oryzias latipes*, *Poecilia reticulata* a *Tanichthys albonubes*) v závislosti na různých koncentracích KCN a NaCN. Ve všech případech pozorovali zvýšení frekvence pohybu v poměrně krátké době od vystavení ryb kontaminantu.

Vhodným modelovým organismem pro sledování behaviorálních změn a vývoj nových postupů identifikace návykových látek jsou dánía pruhovaná (*Danio rerio*).

Dalším z faktorů podmiňujících kvalitu vody je pH. Zhao a kol. (2019) vyvinuli algoritmus pro sledování trajektorií několika ryb zároveň v závislosti na kvalitě vody. Hodnoty pH u jednotlivých experimentů byly pH 6, 7 a 8.

Vitaminy jako například vitamin C patří mezi látky, které mohou fungovat u ryb jako modulátor neurotransmiterů, a tím ovlivňovat jejich chování. Krmení ryb potravou se zvýšeným obsahem vitaminu C vedlo k vyšší agresivitě ryb. Kromě sledování hejnového chování byla také analyzována rybí játra a mozek (Koshio a kol., 1997).

Dalším takovýmto faktorem je teplota vody. Pro vytvoření lepší sémantické sítě charakteristik rybího chování při vyšších teplotách byl navržen experiment, který testoval skupiny o čtyřech jedincích kapra o velikosti 23 cm v akváriích o teplotách 27, 35 a 40 °C. S rostoucí teplotou byla sledována zvýšená průměrná aktivita ryb a její četnost v čase (Xiao a kol., 2015).

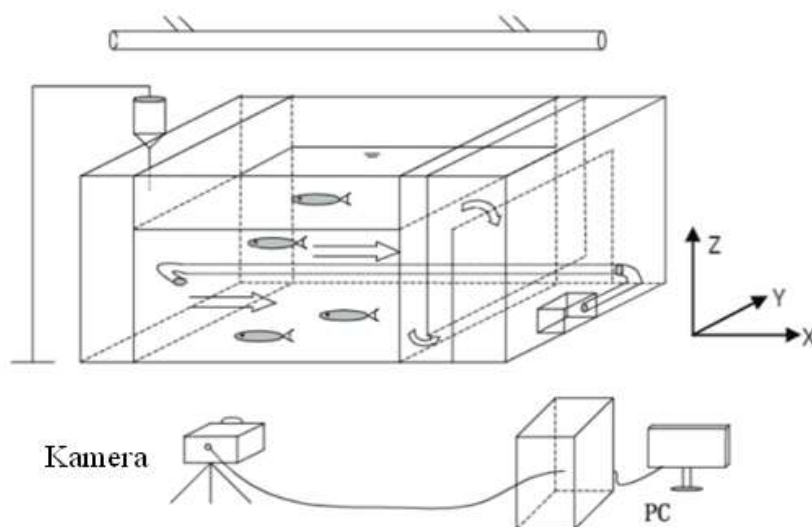
Liao a kol. (2011) využívají pro sledování akutní toxicity iontů Cu^{2+} na dánía pruhovaná data získaná v reálném čase digitální kamerou umístěnou před průtočnou nádrží se stabilní rychlostí proudění vody (obr. 1) a metodou strojového učení (metodou podpůrných vektorů). Monitoring byl rozdělen do dvou fází, kdy první fáze (reference) trvala 20 min a druhá fáze (vlastní pokus) 60 min. Po odstranění šumu byly snímky převedeny na binární obrazy, z nichž byly odstraněny nežádoucí objekty (zbytky potravy, vzduchové bubliny). Z takto upravených snímků byly vypočítány souřadnice a standardní prostorová odchylka těžiště hejna spolu s aktivitou hejna pohybujícího se v roztoku Cu^{2+} o koncentraci $1,472 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ (odpovídající hodnotě 24h LC50) a pro koncentraci dvojnásobnou. Vyšší koncentrace způsobovaly výraznější reakci rybího hejna.

Yuan a kol. (2018) také studovali chování červených dáníí pruhovaných v roztoku Cu^{2+} o koncentraci $1,472 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Následné zpracování obrazu potlačilo ve snímcích nehomogenně osvětlenou scénu. Obrazové pozadí bylo namodelováno a odstraněno a pohyb sledovaného objektu (ryby) byl detekován pomocí umělé inteligence využívající pravděpodobnostní přístup. Indikátory chování byly vícerozměrné parametry – rychlost pohybu, úhel rotace, standardní prostorová odchylka a barva těla. Přesnost tohoto systému může dle autorů dosáhnout až 100 %. Systém zaznamenával časový vývoj do videa rychlostí 30 fps. Z videa byly extrahovány pohybové parametry, které sloužily pro zařazení ryb do jednotlivých tříd a jako systém včasného varování při zhoršené kvalitě vody. Polutant byl přidáván postupně v průběhu 24 h testu. Byly stanoveny hodnoty

znečištění po 0, 6, a 24 h od přidání kontaminantu. Kvalita vody byla vyhodnocována z pohybových charakteristik ryb pomocí dvou typů neuronových sítí – rekurentní neuronové sítě (RNN) a její pokročilejší formy LSTM (angl. Long Short-Term Memory). Část (60 %) hodnot pohybových parametrů sloužila k natrénování modelů a zbytek dat pro testování modelů. Oba modely byly schopny zařadit znečištění do tří tříd (tab. 1):

- Třída II zobrazuje normální stav a počáteční hodnoty znečištění v čase 0. Zjišťujeme rozdíl mezi normálním stavem a počátkem znečištění.
- Třída III sleduje normální stav a počáteční (0 h) a konečnou fázi znečištění (po 24 h).
- Třída IV sleduje normální stav a počáteční (0 h), střední (po 6 h) a konečnou fázi znečištění (po 24 h).

Porovnáním jednotlivých tříd získáme střední znečištění zaznamenané v poslední skupině a jsme schopni lépe kontrolovat znečištění vody.



Obr. 1 Schéma akvária a záznamového zařízení (Liao a kol., 2011)

Byl navržen algoritmus pro sledování hejna chňapalů červených (*Lutjanus campechanus*) v závislosti na změně pH vody (Zhao a kol., 2019). Experiment byl nahráván v nádrži $40 \times 20 \times 20 \text{ cm}^3$ s hloubkou vody 3 cm. Ve vodě se vyskytovaly barevné částičky, které simulovaly znečištění. Bylo získáno video o velikosti 2000 snímků pro tři pětičlenné skupiny chňapalů červených pohybujících se ve vodě o pH 6; 7 a 8. Rychlost

pořizování snímků byla 25 fps. Prvních 500 snímků bylo vybráno jako testovací snímky pro nastavení nutných parametrů. Obrazy ryb byly odděleny od pozadí s nečistotami, čímž byly následně získány hodnoty pozice a směru pohybu každé ryby založené na geometrických znacích obrazů ryb. Při setkání dvou ryb byla zjištěna jejich okluzní rychlost a rychlost detekce okluze (okluze v tomto případě označuje překrytí jedné ryby druhou). Míra okluze byla vyšší ve vodách s nestandardním pH než u vody s normální kvalitou (pH 7). Při nestandardních pH vody byl zvýšený počet snímků, kdy se ryby překrývaly a pohybové parametry jednotlivých ryb nemohly být použitým softwarem správně vyhodnoceny.

Tab. 1 Klasifikace kvality vody dle Yuan a kol. (2018)

Způsob třídění		RNN			LSTM		
		Přesnost (%)	Celková přesnost (%)	Čas (s)	Přesnost (%)	Celková přesnost (%)	Čas (s)
Tř. II	normální počáteční znečištění	92	94	0,077	100	100	0,056
		96			100		
Tř. III	normální počáteční znečištění konečné znečištění	92	88	0,082	96	93,33	0,060
		96			100		
		76			88		
Tř. IV	normální počáteční znečištění střední znečištění konečné znečištění	88	86	0,792	92	91	0,764
		96			100		
		92			100		
		68			72		

Lee a kol. (2001) navrhli snadný a rychlý způsob odhalení polutantů ve vodě. Sledovali pět jedinců *Acheilognathus lanceolata* (druh citlivý na polutanty) v akváriu. Sledování bylo prováděno s cílem kvantifikovat neobvyklá chování při srovnání s referenčními daty. Data byla následně převedena na hodnotu definovanou jako index kontaminace (CI). Při vystavení ryb polutantu byla hodnota CI proporcionální k hodnotě toxicity. Pilotní test probíhající v úpravně vody nepřetržitě po dobu 6 měsíců potvrdil dobrou opakovatelnost a citlivost měření jak v nestabilních podmínkách (např. ve vysoce zviřené vodě po dešti), tak v normálních podmínkách.

Pro hodnocení chování ryb v různých hejnech je možné využít také metodu skrytého Markovova modelu (angl. Hidden Markov Model, HMM). Jeon a kol. (2013) využili tuto metodu při sledování vlivu velikosti hejna na jeho chování. Pozorovali v kruhovém akváriu medaku japonskou (*Oryzias latipes*) a karase zlatého (*Carassius auratus*) v počtech 10–40 ks. Pro každý druh bylo získáno 8 až 10 třísekundových videí. K záznamu byla využita digitální kamera s širokoúhlým objektivem umístěná 1,2 m nade dnem akvária. Třísekundová videa byla získávána z nahrávky, která byla dlouhá 4 h a snímána rychlostí 30 fps. Souřadnice pozic byly získávány v intervalu 0,25 s. Z videí byly získány hodnoty lineární rychlosti, úhlové rychlosti a Pearsonův koeficient. Hodnoty lineární a úhlové rychlosti byly rozděleny na dvě skupiny a hodnoty Pearsonova koeficientu na tři skupiny. Chování hejna bylo tedy popsáno jako množina 12 hodnot ($2 \times 2 \times 3$), které se využily jako tréninková data pro HMM. Srovnáním s reálným hejnovým chováním byl pak model schopný hodnotit chování rybiho hejna. S velikostí hejna se snižovala jeho rychlost pohybu a četnost interakcí mezi jednotlivci, což ovlivnilo chování hejna jako celku. Se zvyšující se velikostí hejna neměly ryby snahu prozkoumávat své okolí a více spoléhaly na informace od svých sousedů. Je zde možná souvislost s větším pocitem bezpečí ve větším hejnu.

Pro sledování změn chování je možné využít také červené kapry. Jednalo se o systémy, které využívají zejména sledování jednotlivců v rámci malé skupiny v uzavřeném prostředí. Jednalo se o jedince o délce těla 2–3 cm v nádrži s kohoutkovou vodou (Cheng a kol. 2018; Xiao a kol. 2015, 2016). Změny chování v závislosti na teplotě vody byly hodnoceny v nádržích o teplotách 27, 35 a 40 °C a pH 6,8–7,2. Při zvýšené teplotě od 35 °C byla zjištěna zvýšená aktivita. Při teplotě 40 °C množství aktivity výrazně fluktovalo. U ryb se vyskytovalo rychlé plavání, vznášení se a převalování spolu s částečnou mortalitou (Xiao a kol., 2015). Systém pro sledování jednotlivých rybek s využitím CMOS kamery vzdálené 35 cm od nádrže, s rychlostí nahrávání 15 fps byl využit pro přesné sledování jednotlivých ryb i při vyšším množství ryb v nádrži (Xiao a kol., 2016). Experiment s kontaminantem v podobě chromu a mědi byl zaznamenáván na kameru s rozlišením 480×640 a frekvencí 25 fps. Tím byla vytvořena časosběrná série 3D souřadnic jednotlivých ryb. Ze souřadnic byla získána série pohybových charakteristik, které mohou být využity jako ukazatele kvality vody (Cheng a kol., 2018).

Chování ryb a jeho ovlivnění polutanty je možno sledovat nejen na změnách struktur hejna, ale i na změnách chování jednotlivých ryb. Kang a kol. (2009) sledovali vliv KCN

a NaCN v koncentracích 1 a 5 mg·l⁻¹ a insekticidu aldikarb v koncentraci 5 mg·l⁻¹ na tři různé druhy ryb: medaku japonskou (*Oryzias latipes*), živorodku duhovou (*Poecilia reticulata*) a kardinálku čínskou (*Tanichthys albonubes*). Ryby byly polutantům vystaveny po dobu 1 h a byly monitorovány dvěma kamerami, které zaznamenávaly 3D data. Výsledná data zahrnovala informace o rychlosti plavání a tendenci k plavání u hladiny. Ve všech testech došlo k ovlivnění jak rychlosti, tak pozice ryby, ale každý z druhů vykazoval jiné vzorce chování po vystavení polutantům. Přesto se všechny uvedené druhy ryb prokázaly jako vhodné modely pro sledování kvality vody prostřednictvím sledování změn chování.

V experimentech je možné využití i juvenilních stádií. Berdahl a kol. (2013) využili pro studium hejnového chování v mělkých vodách juvenilní ryby jelečka zlatého (*Notemigonus crysoleucas*) o velikosti 4,9 ± 0,5 cm. Sledování probíhalo v nádrži s hloubkou vody 8 cm ve skupinách o 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128 a 256 jedincích. Byly sledovány odpovědi v reakci na intenzitu osvětlení a sociální interakce mezi jedinci. S velikostí skupiny se zvyšovala i aktivita jedinců. U nejmenších skupin byla však aktivita zvýšena jen mírně nad referenční hodnotu. Schopnost odpovídat na environmentální informace klesala se vzrůstající různorodostí (věkovou i velikostní) populací a nižší průměrnou velikostí hejna.

1.4 Další organismy využívané pro sledování změn chování

Mimo ryby jsou dalšími organismy studovanými z pohledu biomonitoringu také raci (Kuklina a kol., 2013, 2018, 2019; Ložek a kol., 2019), bentické organismy či řasy (Resh, 2008). Každá z těchto skupin má své výhody a nevýhody. Záleží například na druhové rozmanitosti, významu v ekosystému, obtížnosti získávání vzorků a dostupnosti analyzovaných materiálů. Zvolení správného typu testovacího organismu závisí v případě sledování v přírodě na místě sledování a volbě sledovací metody. Vhodně zvolený sledovaný organismus je prvním krokem k úspěchu biomonitoringu (Resh, 2008).

Raci jsou velmi populární organismus pro provádění biomonitoringu zejména pro jejich rychlé fyziologické reakce na introdukované kontaminanty. Hodnotí se jak fyziologické změny, tak změny chování. V laboratorních podmínkách je možnost cíleně

testovat jejich reakce na jednotlivé polutanty (Kuklina a kol., 2013). U raka signálního (*Pacifastacus leniusculus*) je sledován tep srdce a pohybová aktivita v závislosti na změnách prostředí a stimulantů v prostředí (Kuklina a kol., 2018, 2019; Ložek a kol., 2019). Jedná se o neinvazivní způsob měření, který může člověka v rámci několika sekund varovat, že došlo ke snížení kvality vody (Kuklina a kol., 2019). Při srovnávání přírodních stimulantů (predátor, potrava, pach dalších raků, zranění) a chemického stimulantu chloraminu-T bylo zjištěno, že srdeční tep se okamžitě zvyšuje pouze u chemického stimulantu. U přírodních stimulantů byla odpověď opožděná nebo se neobjevila vůbec (Kuklina a kol., 2018). Další zkoumanou látkou byl tramadol. Experiment probíhal po 21 dní s denní dávkou tramadolu $1 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Poté následovalo 14 dní odvykání. Raci byli sledováni čtyřikrát během období vystavení tramadolu a čtyřikrát během období odvykání, a to vždy v průběhu 30 min před a po vystavení přírodnímu stresoru (fyziologické tekutiny zraněného raka). Výrazné zvýšení srdečního tepu bylo zaznamenáno jak u skupiny vystavené tramadolu, tak u kontrolní skupiny. Pohybová aktivita byla u skupiny vystavené tramadolu snížena (Ložek a kol., 2019).

Pro biomonitoring kvality vody na úpravně pitné vody ve slovenském Stakčíně využívají kombinaci dvou zařízení: FISH monitor (KERREN, SRN) se pstruhem duhovým (*Oncorhynchus mykiss*) a Mossel monitor (DELTA CONSULT, Holandsko) s velevrubem malířským (*Unio pictorum*) či velevrubem nadmutým (*Unio tumidus*). U pstruhů je testována jejich schopnost plavat proti proudu po dobu 2 min. Pokud jsou ovlivněni například znečištěním vody mohou tuto schopnost ztrácet. Velevrubové jsou umístěny v zařízení po 8 kusech. V zařízení přes ně volně proudí voda, kterou při normální kvalitě vody filtrují, ale při změněné kvalitě dojde k uzavření jejich schránky (Dunaj, 2022).

Pro sledování toxicity odpadních vod je výhodné využít i hrotnatku velkou (*Daphnia magna*) pro její velikost, nenáročný chov a dobrou citlivost na velké množství látek (Anderson, 1944). Zařízení DaphTox (bbe Moldaenke, Německo) využívající hrotnatky bylo instalováno také na úpravně vod Želivka (Soldán a Rambousek, 2020).

Berlinger a kol. (2021) představili metodu 3D sledování miniaturních robotických ryb, které vykazovaly kolektivní chování shodné s reálnými rybími hejny, pro monitoring životního prostředí.

1.5 Vliv ethanolu na ryby

Ethanol jako kontaminant není příliš často zmiňován a není mu věnována přílišná pozornost, ale i přesto dokáže způsobit vodohospodářům problémy. Více se ve vodách vyskytují jeho metabolity (Macková a kol., 2022). Většina studií zabývajících se vlivem ethanolu na ryby, jejich chováním a biochemickými procesy spojenými s ethanolem využívá ryby pouze jako prostředníky pro výzkum otázek zabývajících se lidskou psychikou a vlivem ethanolu na ryby. Několik článků bylo publikováno na téma fetálního alkoholového syndromu (FASD) a využití studia vlivů na embryonální vývoj a dospělé jedince dávia pruhovaného (Baggio a kol., 2017; Faccioli a Gerlai, 2020; Fernandes a kol., 2019). Velká část článků se pak věnuje studiu efektu ethanolu na centrální nervovou soustavu (CNS) ryb (nejčastěji dávia pruhované), biochemii mechanismu účinku a vliv na adolescentní vývoj člověka (Dlugos a Rabin, 2003; Ellwanger Müller a kol., 2017; Fontana a kol., 2018; Miller a kol., 2013).

S ohledem na jeho vliv na CNS je ethanol popisován jako látka tlumící, která ovlivňuje několik druhů chování (společenskost, míru agresivity a paměť) iniciací neurochemických změn. V kombinaci s taurinem, který je běžnou součástí energetických nápojů, pak má výrazný vliv na sociální chování a ovlivňuje vnímání strachu. Při aplikaci kombinace různých koncentrací ethanolu a taurinu do nádrže s čtyřčlenným hejnem dávií pruhovaných sledovaným po dobu 1 h byly sledovány změny v hejnovém chování. Hodnocení změn probíhalo v různých časových intervalech (0–5, 30–35 a 55–60 min) od vystavení. Ethanol v kombinaci s taurinem výrazně snižoval pocit strachu (úzkosti) ve srovnání s ethanolem samotným (Fontana a kol., 2018).

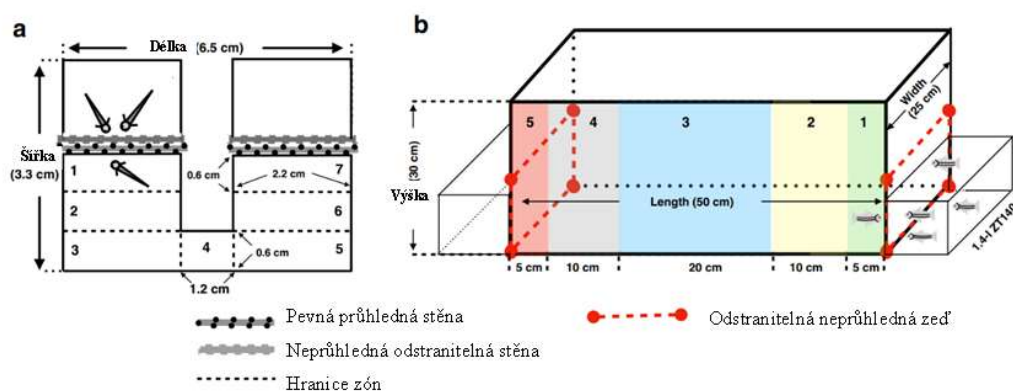
U jednotlivých genotypů jednoho modelového organismu lze nalézt rozdíly v odpovědích na přítomnost kontaminantu. Dlugos a Rabin (2003) studovali tři formy dávia pruhovaného: divokou, dlouhoploutvou pruhovanou a modrou dlouhoploutvou. Dlouhoploutvá pruhovaná forma reagovala zvýšenou pohybovou aktivitou již na nižší (0,25 %) koncentrace ethanolu ve vodě, zatímco modrá dlouhoploutvá a divoká forma reagovaly až u koncentrace 1 %. Hodnoty ethanolu v mozku byly u všech tří forem srovnatelné. Při chronickém vystavení ethanolu si dlouhoploutvá pruhovaná forma vybudovala toleranci, zatímco divoká forma vykazovala zvýšené reakce po dobu až 2 týdnů.

FASD a sociální chování ovlivněné alkoholem jsou dávány do souvislosti zejména se vznikem úzkostí a změn sociálního chování u postižených osob. K modelování těchto

sociálních zvláštností podmíněných působením ethanolu v embryonálním stádiu byla opět použita dánía. Nádrž s dáníi byla rozdělena do tří částí (centrální, prázdná a nespecifická). V blízkosti nespecifické zóny se nacházela druhá nádrž s rybami, zatímco v blízkosti prázdné zóny pouze prázdná nádrž. Embrya dáníi byla vystavena 0,25; 0,5 a 1 % koncentracím ethanolu, čímž byl nasimulován stav lehčího FASD. Následně byl sledován účinek ethanolu na 4měsíční dánía. Odpověď byla závislá na koncentraci ethanolu a vyznačovala se zejména snížením času stráveném v nespecifické zóně nádrže a také zvýšením času stráveného u dna, což naznačuje zvýšené úzkostné stavy. Při přidání léčiva Buspiron, který snižuje úzkosti, došlo ke snížení hejnového chování. Psychický stav ryb tedy úzce koreloval s jejich tendencí tvořit hejna (Baggio a kol., 2017).

Shlukování do hejn je u dáníi pravděpodobně nejčastější sociální interakcí a nabízí množství informací o sociálních možnostech tohoto druhu. Sledování změn v hejnovém chování je tedy vhodné pro řešení ontogenetických a behaviorálních otázek souvisejících s FASD (Facciola a Gerlai, 2020).

Studiem stejných jedinců starých 3 (larvální stádium) a následně 16 týdnů bylo zjištěno, že u jedinců starých 3 týdny se neobjevila chování vyvolaná vystavením ethanolu. Jako dospělci však tyto ryby vykazovaly snížené sociální chování. Experiment probíhal v sestavě znázorněné na obr. 2 (Fernandes a kol., 2018).



Obr. 2 Sestavy pro pozorování změn chování u dáníi pruhovaných starých (a) 3 týdnů a (b) 16 týdnů. Barvy rozdělují jednotlivé zóny v nádrži podle blízkosti k druhému hejnu (Fernandes a kol., 2018)

Změny chování se také liší, pokud se jedná o chronické nebo akutní působení kontaminantu. Chronické účinky jsou studovány zejména v kontextu s dlouhodobou

konzumaci alkoholu u dospělých osob a jeho vlivu na organismus. Opakovaná konzumace alkoholu má vliv na množství neurologických onemocnění a je považována za vážný problém ve veřejném zdravotnictví. Při vystavení dáníi pruhovaných ethanolu po dobu 8 dní, vždy 20 min denně, byly sledovány jak změny v hejnovém chování (etologické hodnocení), tak i změny v okysličení mozku (měření biochemických parametrů). Výsledky byl vyhodnoceny 9. den experimentu. Dlouhodobá intoxikace ethanolom zvyšovala soudržnost hejna tím, že došlo ke snížení vzdáleností mezi rybami uvnitř hejna a na jeho okrajích. Z hodnocení biochemických parametrů bylo zjištěno, že došlo ke zvýšení peroxidace lipidů v mozku, což naznačuje zvýšený oxidativní stres (Ellwanger Müller a kol., 2017).

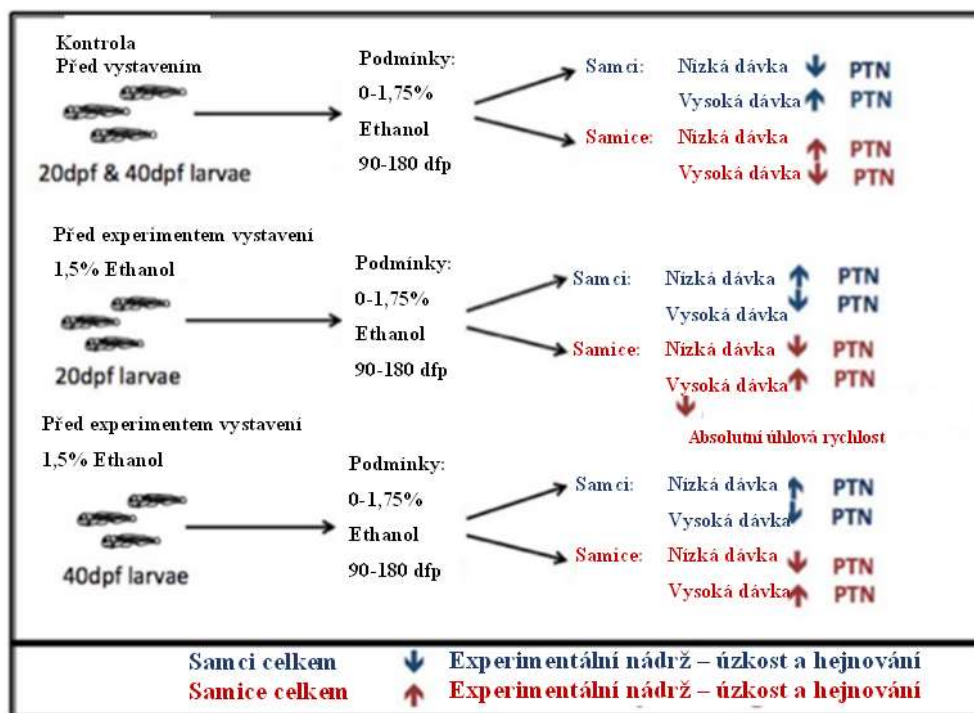
Chronické vystavení i nízkým dávkám ethanolu může u dánía pruhovaného ovlivnit schopnost učení. Při akutní a chronické intoxikaci byli sledovaní jedinci vždy ethanolom (0,1; 0,25; 1 %) ovlivnění (vztaženo ke kontrolní skupině v prostředí bez ethanolu). Jednalo se o studii využívající obecné schéma preference místa před a po vystavení ethanolu. V experimentu založeném na chronické expozici byly ryby sledovány po dobu 26 dnů. Po dobu 18 dnů docházelo k působení ethanolu a po dobu 8 dní k učení úkolu. Ethanol byl podáván každý den na stejné místo před krmením ryb. Skupina vystavená nízké koncentraci (0,1 %) se byla schopna úkol naučit již třetí den, zatímco skupiny vystavené vyšším koncentracím (0,25 a 1 %) vykazovaly problémy s učením. Skupina sledovaná ve stádiu abstinence po vystavení vyšší koncentraci (0,25 a 1 %) po dobu 15 dní předvedla schopnost učení až poslední den testu. Vysoké koncentrace ethanolu tedy negativně ovlivňovaly schopnost učení i po delší době abstinence, zatímco nízké koncentrace schopnost učení indukovaly (Chacon a Luchiari, 2014).

Další často zneužívanou návykovou látkou sledovanou spolu s ethanolom je nikotin. Sledováním vlivu těchto látek na změny v hejnovém chování můžeme získat nové behaviorální poznatky. Osmičlenné rybí hejno dánía pruhovaného umístěné v kruhové nádrži bylo vystaveno ethanolu o koncentracích 0,25; 0,5; 0,75; a 1 % a nikotinu o koncentracích 4 a 8 mg·l⁻¹. Porovnáním s kontrolou bylo kvantifikováno několik vlastností hejna: vzdálenost k nejbližšímu sousedovi, rychlost plavání, polarizace (směr pohybu) hejna a četnosti oddělení jednotlivců od hejna. Ethanol silně rozrušoval polarizaci hejna, zatímco nikotin měl tento efekt jen mírný. Nikotin naopak výrazně indukoval soudržnost hejna. Ani jedna z látek neměla vliv na četnosti oddělování jedinců od hejna (Miller a kol., 2013).

Odpověď rybiček na přítomnost kontaminantu závisí i na pohlavním složení hejna. Jedinci dána pruhovaného byly v juvenilní fázi vývoje (20 a 40 dní po oplodnění) vystaveni různým dávkám ethanolu (0; 1; 1,25; 1,5; 1,6; 1,75 %). Vystavení ethanolu v raných fázích vývoje ovlivňovalo chování jedinců v dospělosti. Zároveň byly pozorovány rozdíly mezi pohlavími. Samice vykazovaly vyšší míru úzkostného chování a vyšší tendenci k tvoření hejna (obr. 3; Clayman a kol., 2017).

Ethanol byl využit i při vývoji nových sledovacích zařízení pro kvalitu vod, zejména v úpravnách pitné vody, založených na sledování změny rybího hejna v přítomnosti kontaminantu. Změny chování hejna parmičky čtyřpruhé (*Puntigrus tetrazona*) probíhalo v ethanolu o koncentracích 1,5 a 2,5 obj. ‰. Parmičky byly zvoleny pro svou nenáročnost na kvalitu vody a silné hejnové chování. Výhodné je i poměrně snadné rozlišení samců a samic a možná změna zbarvení v přítomnosti kontaminantu. Ve studii byly vybrány některé z projevů chování ryb a byly srovnány mezi kontrolní skupinou a skupinou ovlivněnou ethanolem. Sledovaly se parametry pohybu těžiště hejna, trajektorie pohybu, vzdálenost mezi jedinci a rychlost pohybu jednice. Bylo zjištěno, že intoxikované ryby plavaly rychleji než omámené a že hejno je soudržnější při nižších koncentracích. Ze studie vyplývá, že parmička čtyřpruhá se zdá být vhodným kandidátem pro využití jako modelový organismus při sledování kvality vody (Macková a kol., 2022).

Sledování změn chování parmiček čtyřpruhých v přítomnosti různých koncentrací ethanolu (0; 0,25; 0,5 a 1 %), a to jak ve skupině společně s neovlivněnými jedinci, tak samostatně se věnoval i Ladu a kol. (2014). Ovlivněný jedinec byl před experimentem vložen na 1 h do nádrže (600 ml) se zvolenou koncentrací ethanolu a následně přemístěn do pozorovací nádrže čtvercového tvaru (120×120×20 cm³) s hliníkovým kruhem o průměru 90 cm uvnitř a s kamerou umístěnou nad nádrží. V nádrži se v průběhu experimentu vždy nacházela jedna ovlivněná ryba a 4 neovlivněné. Během posledních 10 min, které trávila ovlivněná ryba v ovlivňovací nádrži byla tato nádrži umístěna v pozorovací nádrži. Celkem bylo provedeno 10 experimentů pro každou koncentraci. Ryby ovlivněné ethanolem měly tendenci se v nádrži pohybovat více a s vyšší rychlostí. Zároveň ryby sledované ve skupině se pohybovaly více a rychleji než ryby sledované samostatně.

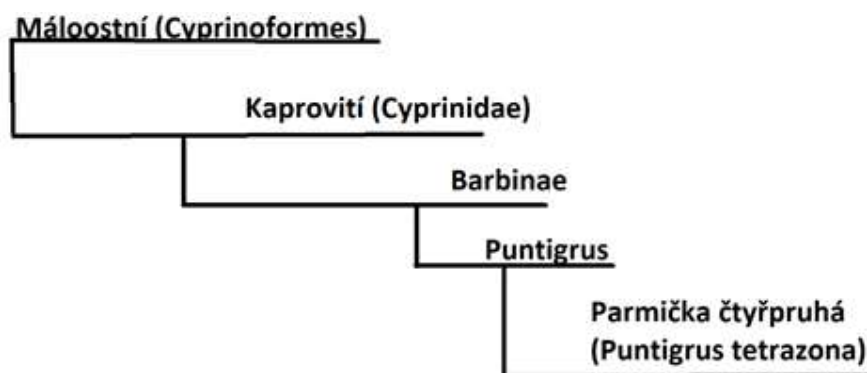


Obr. 3 Sumarizované výsledky v závislosti na pohlaví a podmíněném preferovaném místu (PTN) (Clayman a kol., 2017)

2 Materiály a metodika

2.1 Modelový organismus

Jako modelový organismus byla v návaznosti na předchozí experimenty zvolena parmička čtyřpruhá (*Puntigrus tetrazona*), dříve známá pod názvy *Barbus tetrazona*, *Puntius tetrazon* nebo *Systomus tetrazona* (Bleeker, 1855). Původní výskyt parmičky je oblast Bornea a Sumatry, zřejmě se také vyskytuje v Thajsku a jinde v Indonésii. (Petrovický, 2014; Kothe, 2009). Jejím přirozeným biotopem jsou řeky a potoky (Kothe, 2009). Jedná se o druh velmi populární mezi akvaristy pro svou nenáročnost na chov a atraktivní zbarvení. Taxonomické zařazení druhu je vyobrazeno na obr. 4.

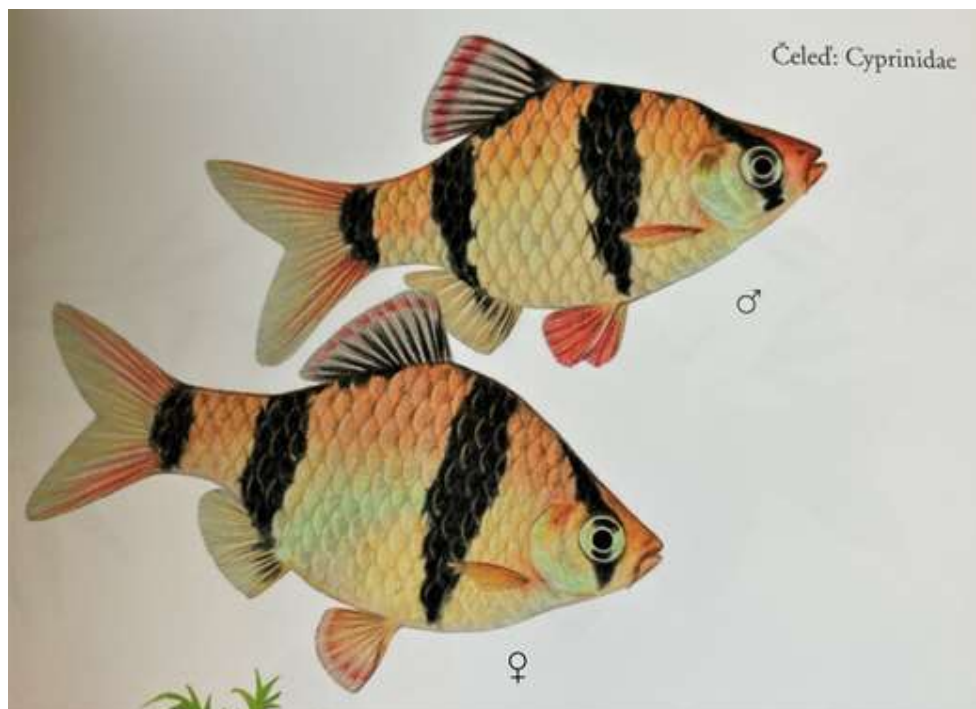


Obr. 4 Taxonomické zařazení parmičky čtyřpruhé

Dospělci dosahují délky až 7 cm a nalézáme u nich sexuální dimorfismus (obr. 5). Samci se vyznačují výrazným červeným zbarvením zejména v horní části rypce a na ploutvích. Samice jsou obecně větší a jejich ploutve mají po okrajích transparentní lem (Petrovický, 2014). Ideální teplota vody a pH se uvádějí v rozmezí 22–27 °C a 6,5–7,5. Pro krmení je vhodné zvolit kombinaci jak rostlinné, tak živočišné potraviny (Kothe, 2009).

Jde o druh spolehlivě tvořící hejna již v malých skupinách, a to i v průběhu transportu. Verhoef-Verhallen (2010) doporučuje chov ve skupině o alespoň 5 jedincích. Druh je však také známý svou mírnou teritorialitou zejména u samců (teritorialita je výraznější v období tření) a ze zkušeností chovatelů i autorky této práce nejsou vhodným druhem pro vícedruhová akvária pro jejich útočnost vůči menším jedincům a druhům.

Obecně se však nedoporučuje pouze jejich chov společně s dlouhoploutvými druhy ryb (Petrovický, 2014). Při chovu s dlouhoploutvými rybami dochází ze stran parmiček k okusování ploutví dlouhoploutvých ryb. Nejvíce atraktivní jsou pro parmičky druhy s vlajíci ploutvemi jako jsou skaláři či čichavci (Alderton, 2006). Parmičky je vhodné chovat ve větších skupinách v poměru pohlaví 1:1, čímž se snižuje jejich agresivita vůči jiným druhům (Petrovický, 2014). U parmiček je zaznamenán i kanibalismus, a to zejména vůči mladším jedincům. Parmičky postrádají rodičovský instinkt a jsou schopny konzumovat vlastní jikry a mláďata (Alderton, 2006). Z etologického hlediska je zajímavá také jejich tendence odpočívat hlavou ke dnu nádrže. V akváriu mohou díky tomu působit zejména v hejnu dojmem, že hromadně „koukají na kameny“.



Obr. 5 Parmička čtyřpruhá (samec a samice) s běžnými určovacími znaky (Petrovický, 2014)

Druh se na trhu vyskytuje ve dvou variantách, běžné pruhované variantě využívané pro tuto bakalářskou práci a takzvané „mechové“ variantě, která je charakteristická svým zelenavým zbarvením těla a do ČR byla dovezena poprvé v roce 1975 (Petrovický, 2014).

2.2 5iD Viewer a zpracování obrazu

5iD Viewer (obr. 6; Štys a kol., 2015; Lonhus a kol., 2019) je zařízení sestavené na Ústavu komplexních systémů (ÚKS) v Nových Hradech a umožňuje natáčet současně až 5 různých pohledů. K tomu je využívána soustava zrcadel a 12-ti bitová kamera Ximea MX124CG-SU-X2G2-FAB rgb se skenovací frekvencí 0,4 fps.



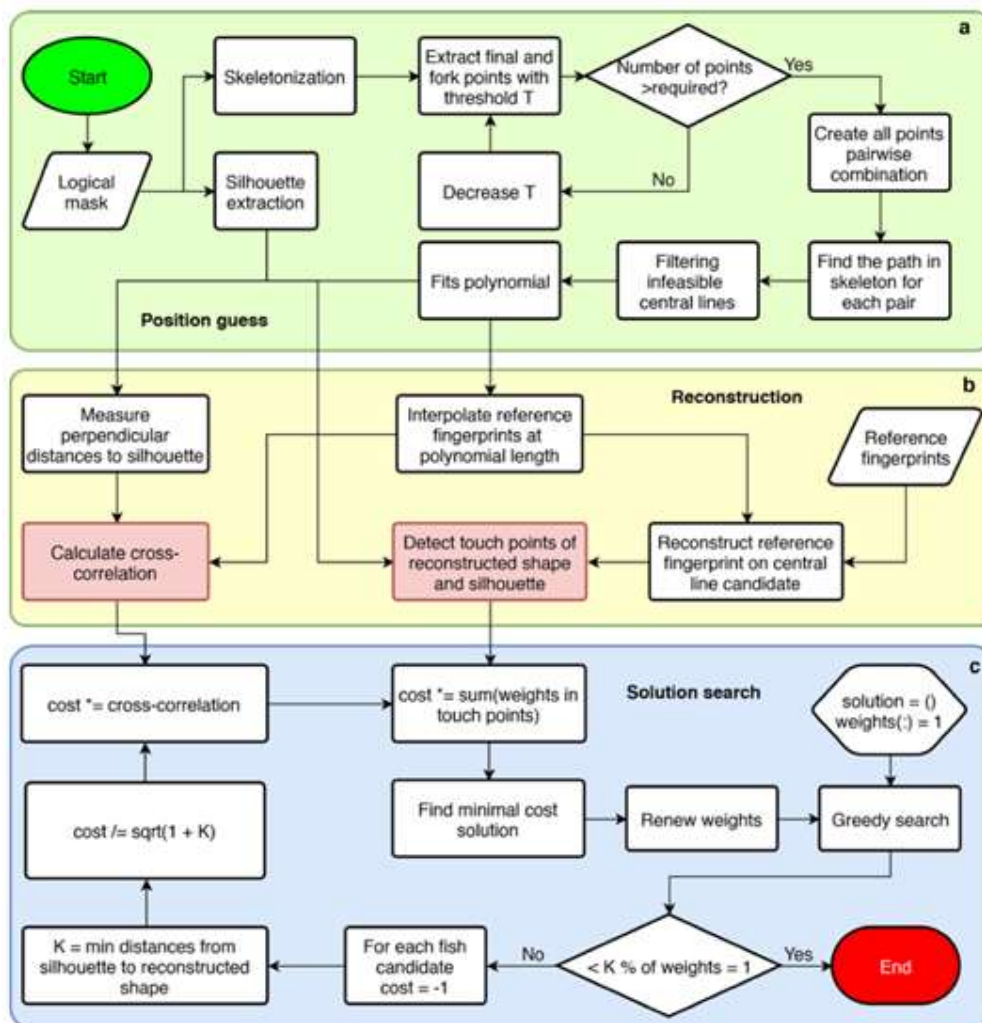
Obr. 6 Hejno parmiček čtyřpruhých v akváriu systému 5iD Viewer (Štys a kol., 2015)

Pro hodnocení je využíván na zakázku vytvořený software, který umožňuje měnit frekvenci snímání obrazu. Celé datové série však mohou být poměrně velkých rozměrů. Průměrná velikost jedné oblasti zájmu (roi) je 2096×2268 px, a je proto prováděna další klasifikace chování studovaných objektů za účelem redukce dat. Ryby jsou pomocí standardizovaných metod rozpoznány a jsou rekonstruovány jejich 3D souřadnice (Lonhus a kol., 2021). Jedním z problémů při zpracování obrazu je překryv jednotlivých ryb, který byl vyřešen automaticky (obr. 7; Lonhus a kol., 2019).

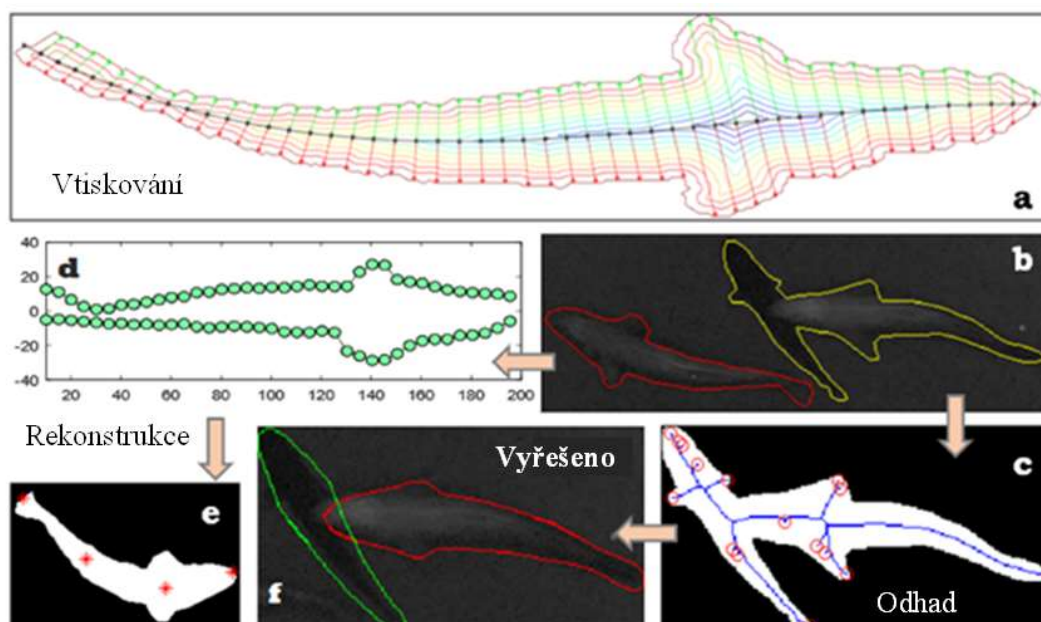
Pro správnou funkci systému je pak nutné také správné rozpoznání jednotlivých ryb v nádrži. K tomu bylo využito morfologických rozdílů, které byly zpracovány snímáním krajních bodů každého jedince (obr. 8; Lonhus a kol., 2019).

Pro získání potřebných informací je potřeba ustanovit vzorce chování (osobnosti), známé jako vůdce (leader), následující (follower) a prostřední (intermediate), případně utlačovaný (oppressed). Tyto vzorce jsou známé jak v hejnech ryb, tak ve vlčích smečkách

či davu protestujících. Zdá se tedy, že existuje obecný zákon, který řídí kolektivní chování. Nejlépe je toto možné pozorovat na parametru pohybu (Lonhus a kol., 2021).



Obr. 7 Algoritmus pro rozdělení překrývajících se ryb (Lonhus a kol., 2019)



Obr. 8 Vytváření krajních bodů a řešení překryvu jednotlivých ryb (Lonhus a kol., 2019)

2.3 Návrh a provedení experimentu

V této bakalářské práci je měřeno chování hejna parmiček čtyřpruhých v prostředí ethanolu o deseti koncentracích od 0,089 do 3000 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (tab. 2). Ethanol (čistota 99,8 %) byl pro experiment zvolen vzhledem k návaznosti na předchozí experimenty (kap. 1.5) a snadnou dostupnost. Koncentrace byla následně upravena pro jednotlivá měření standardním postupným ředěním a byly vytvořeny zásobní roztoky.

Tab. 2 Použité objemy (V_{pipet}) pipetované ze zásobních roztoků o koncentracích $c_{\text{zás.roztok}}$, objemové (c_v) a specifické (c) koncentrace ethanolu

V_{pipet} (ml)	0,054	0,017	0,031	0,055	0,056	0,018	0,032	0,057	0,013	0,022
$c_{\text{zás.roztok}}$ ($\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$)	10^{-5}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	10^{-1}	10^{-1}	EtOH (99,8 %)	EtOH (99,8 %)
$c_v \cdot 10^3$ (obj. %)	$1,13 \cdot 10^{-4}$	$3,61 \cdot 10^{-4}$	$6,53 \cdot 10^{-3}$	$1,17 \cdot 10^{-2}$	$1,18 \cdot 10^{-1}$	$3,76 \cdot 10^{-1}$	$6,71 \cdot 10^{-1}$	1,20	2,14	3,81
c ($\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$)	0,089	2,880	5,138	9,169	93	296	528	942	1681	3000

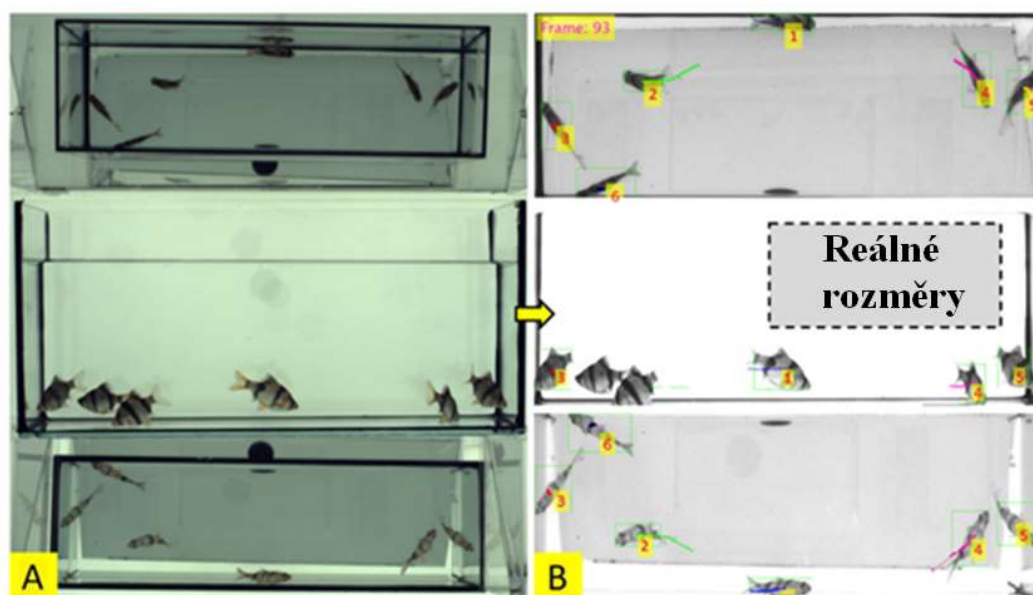
Měření probíhala po dobu 20 dní bez přestávek v období 7.–26. 7. 2020. Každý den byly natáčeny dva experimenty v době od 11:00 do 12:00. Jednalo se o tzv. referenční experiment a experiment s přidáním ethanolu. V době, kdy neprobíhalo měření experimentu, byly pokusné organismy umístěny v domovském akváriu samostatně od dalších ryb, aby nedošlo k záměně jedinců v průběhu experimentu. Krmení a jiné manipulace probíhaly vždy v době mimo dobu experimentů. Před započítím každého experimentu byly ryby přesunuty z domovského akvária do čistého experimentálního akvária. V každém experimentu bylo využito stejné akvárium o rozměrech $40 \times 11,3 \times 18$ ($d \times š \times v$) cm^3 a s objemem vody 6 l. Voda v akváriu byla odstátá. Po přidání ryb do akvária, bylo akvárium umístěno do osvětlovacího boxu s 5iD Viewerem, čímž bylo optimálně osvětleno a externí vjemy byly potlačeny. Ryby byly ponechány 5 min v klidu, aby se aklimatizovaly, a byl započat první experiment.

Experimenty probíhaly v oddělené místnosti bez výrazných vnějších zvukových vyrušení. Pořadí experimentů bylo každý den neměnné. Prvním experimentem byl vždy tzv. referenční experiment. V tomto experimentu nebyl ve vodě přítomen ethanol. Po ukončení nahrávání prvního experimentu došlo k přidání předem určené dávky ethanolu pro daný den a ryby byly znovu ponechány 5 min v klidu. Ethanol byl do akvária dodáván externě, pipetou s přesně nastaveným objemem ze zásobních roztoků připravených pro tento experiment. Následně započalo natáčení experimentu s ethanolu. Oba experimenty probíhaly shodně 15 min. Sledování hejna je naznačeno na obr. 9.

Po ukončení experimentů byly ryby umístěny zpět do domovského akvária a experimentální akvárium bylo vypláchnuto čistou vodou a ponecháno na místě poblíž testovací sestavy pro další den.

V programu Matlab byly vyhodnoceny pravděpodobnosti vzájemného následování ryb podle metody uveřejněné v Lonhus a kol. (2021). Algoritmus je plně individualizován. Jednotlivé ryby jsou detekovány na základě barvy a velikosti daného jedince. Z naměřených dat byly získány 3D trajektorie jednotlivých ryb. Tyto trajektorie byly v rámci použitého časového okna (2 s) korelovány a byla vyhodnocována vzájemná následnost pohybů ryb. Byly vybrány významné korelace mezi trajektoriemi, z nichž se spočítala pravděpodobnost následování jedné ryby druhou. Z těchto korelací jsou sestaveny binární matice a sečtou se všechny evidentní jevy. Dále je využito Fisherovo kritérium, které nevýznamné případy vyřadí a nahradí nulou. Najde se nejpravděpodobnější dráha (součin pravděpodobností dílčích drah), po které, buď přímo

nebo zprostředkovaně, určitá ryba následuje vůdce. Cílem je, aby byla každá ryba ve statistice započtena pouze jednou.



Obr. 9 (A) Původní snímek hejna v experimentálním akváriu se zrcadly. (B) Přepočtené skutečné rozměry akvária i jednotlivých ryb ve více pohledech s identifikací jedinců (Lonhus a kol., 2021)

Z pravděpodobností vzájemného následování ryb byly sestaveny orientované grafy (sítě), kde délka šipky je nepřímo úměrná pravděpodobnosti následování a směr šipky určuje směr následování. Sítě vztahů byly vyhodnoceny pro každý snímek přes dané klouzavé časové okno. Ze sítě potom byla určena role jedince pozorovaná v daném snímku. Nakonec byla vyhodnocena hustota pravděpodobnosti výskytu dané role u určitého jedince v rámci celého experimentu. Při tomto postupu jsou výskyty sociálních rolí v hejnu kvantifikovatelné.

Pro stanovení pravděpodobnosti role využíváme výpočet pravděpodobnostních vah:

1) Vůdce – (i) nikoho nenásleduje, (ii) $P = \frac{\sum_i P_i}{5}$

- P_i – pravděpodobnost následování všech ryb, které následují

2) Prostřední – (i) následuje a je i následovaná, (ii) $P = \frac{\sum_{i,j} P_j P_i \prod_{k=1}^n P_k}{N(N-1)/2}$

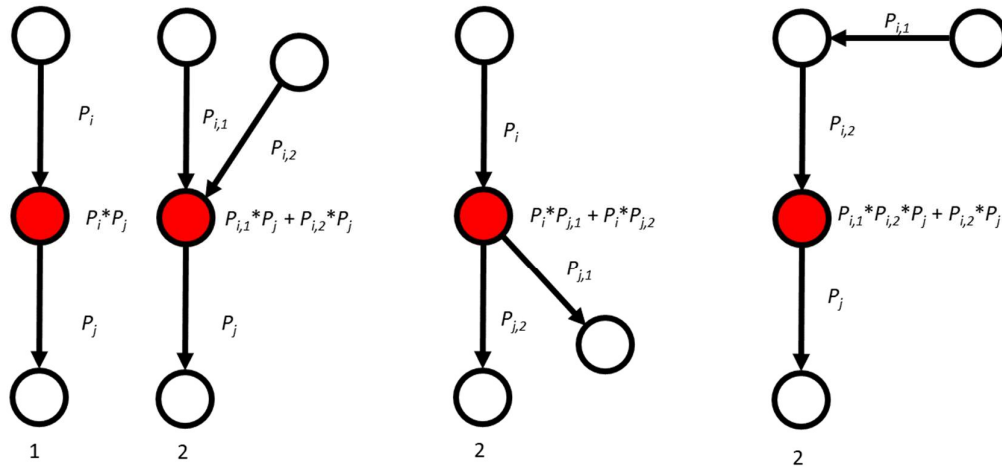
- P_i jsou pravděpodobnost následování všech ryb, které následují rybu j přímo,

- P_k jsou pravděpodobnost následování všech ryb, které následují rybu j zprostředkovaně,
- P_j je pravděpodobnost s níž ryba sama následuje
- vše je děleno maximálním možným počtem kombinací $N(N-1)$
- $N(N-1)/2 \approx (5 \times 4)/2$

Tato role, některé vztahy a vzniklé pravděpodobnosti jsou popsány na obr. 10.

3) Následující – (i) nikdo ho nenásleduje, (ii) $P = \frac{\sum_j P_j}{5}$

- $\sum_j P_j$ je suma pravděpodobnosti následování ryb



Obr. 10 Schéma a vzorce pro výpočet pravděpodobnosti vztahů role prostřední v hejnu

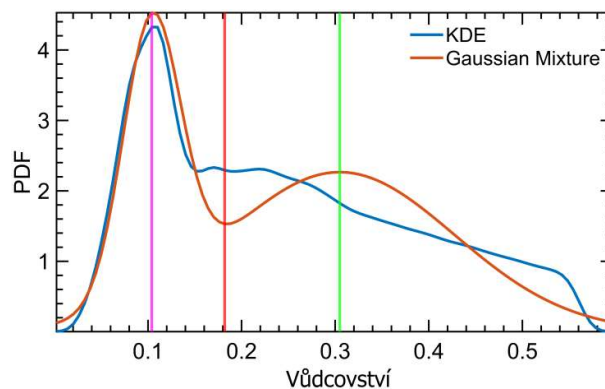
Výslednou závislost četnosti pravděpodobnosti na zjištěné pravděpodobnosti výskytu role (pro každou rybu přes celý experiment) jsme proložili dvěma Gaussovými křivkami (postupem Gaussian mixture, graf 1). Dále byly pro každou rybu provedeny dvě analýzy: Integrál pod každou z těchto křivek nám dává pravděpodobnost, že se daná ryba v daném časovém intervalu chovala spíše jako např. silný vůdce anebo spíše jako slabý vůdce. Průměrná hodnota každého z těchto Gaussových píků nám ukazuje, kolik ryb za sebou vůdce průměrně táhne a jak silně (v případě, že se projevuje jako silný vůdce, respektive slabý vůdce).

Získaná data byla dále zpracována programy Matlab a Microsoft Excel. Pro každou koncentraci ethanolu byly vyhodnoceny tyto navzájem závislé parametry:

- a) označení (číslo) ryby
- b) typ píku bimodálního rozdělení hustot pravděpodobností
- c) referenční pokus (bez ethanolu) vs. pokus s ethanolem a
- d) typ role

Pro vyhodnocení byly pojmenovány 3 osobnostní typy v hejnu:

- a) vedoucí (leader)
- b) prostřední (intermediate)
- c) následující (follower)



Graf 1 Rozdělení dvou píků (struktur hejna) pro roli vůdce. Proložení dat metodou odhadu hustoty jádra (KDE; modře) a Gaussovské směsi (Gaussian Mixture; oranžově). Barevné čáry rovnoběžné s osou y ukazují lokální extrémy při proložení dat metodou Gaussovské směsi.

3 Výsledky

Pro interpretaci výsledků a základní informaci o chování rybiho hejna jsme zvolili sledování změn tvaru a maxim dvou píků (komponentů) průměrných hustot vah pravděpodobností výskytu konkrétní role. První (nizkopravděpodobnostní) pík odpovídá stavům, kdy ryby mají jen velmi nízkou pravděpodobnost, že budou zastávat roli popisovanou v grafu. Druhý (vysokopravděpodobnostní) pík popisuje přesně opačné stavy, tedy vysoké hodnoty pravděpodobností, že ryby budou v roli popisované v grafu. Sledujeme také změny u integrálu vah pravděpodobnosti výskytu role (kap. 2.3). Vyhodnocovali jsme průměrné hodnoty ze všech koncentrací ethanolu a ryb v hejnu (kap. 3.1), průměr všech ryb pro jednotlivé koncentrace (kap. 3.2) a hodnoty pro jednotlivé ryby a koncentrace (kap. 3.3).

Role a jejich rozložení v hejnu se v přítomnosti kontaminantu mění, a to jak jejich hustoty pravděpodobnosti vah výskytu u jednotlivých ryb, tak mezi rybami navzájem. Jednotlivé role jsme pojmenovali a definovali jako roli

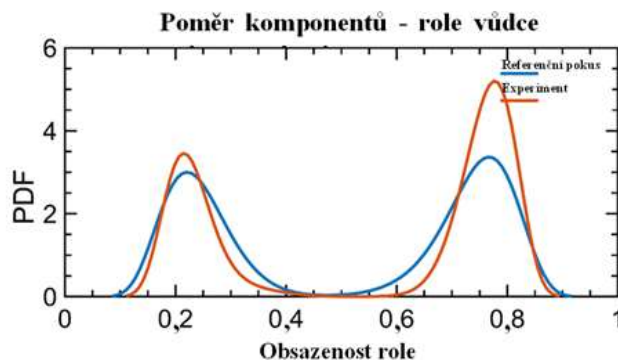
- a) „vedoucího“ (leader): takový stav ryby, kdy nikoho nenásleduje a sama je jinými rybami následována
- b) „prostředního“ (intermediate): takový stav ryby, kdy ryba sama následuje jinou rybu (nejčastěji tu v roli „vůdce“), a přitom je sama následována dalšími rybami
- c) „následujícího“ (follower): ryby, které nejsou žádnými rybami následovány a pouze samy následují ryby v ostatních rolích (můžeme je přirovnat například k nejnižší postaveným vlkům ve vlčí smečce)

3.1 Výsledky pro průměr hejna a koncentrace

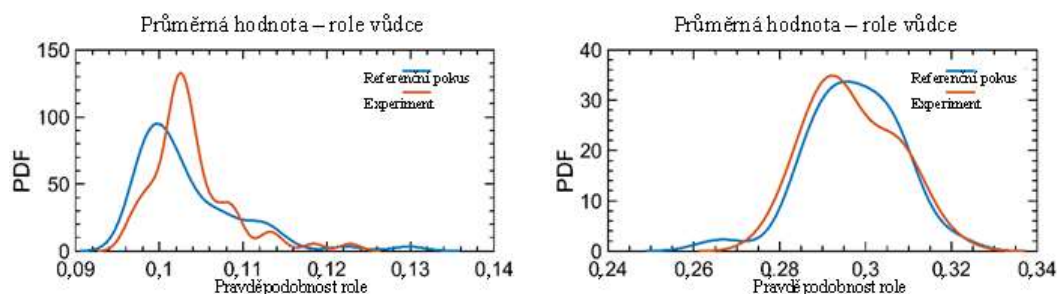
Při porovnání hodnot vah pravděpodobností průměrných pro všechny koncentrace ethanolu a všechny ryby sledujeme změny v rozložení píků mezi rybami plavoucími v ethanolovém roztoku a referenčním pokusu.

Nejdříve popisujeme rozložení komponent (píků) podle obsazenosti role **vůdce** (hodnota integrálu pro první nebo druhou Gaussovskou komponentu). Výsledky jsou zobrazeny v grafu 2, kde jsou vyneseny součty pro všechny ryby ve všech experimentech (oranžově) i kontrolách (modře). Píky v experimentu jsou oproti kontrole užší (s nižší střední kvadratickou odchylkou) a jejich maxima jsou posunuta k nižším, respektive k vyšším hodnotám. To ukazuje, že ryby ovlivněné ethanolom mají roli vůdce ve své skupině více specifikovanou. Role je jasněji definovaná než u neovlivněných ryb.

Graf 3 ukazuje sílu role vůdce v silné (vpravo) a slabé (vlevo) komponentě. Jedná se opět o průměr přes všechny ryby v hejnu a všechny koncentrace ethanolu. V obou případech hustota vah pravděpodobností obsahuje hlavní píky a mnoho píků menších, které ukazují na další podtypy role. I v roli vůdce tedy nacházíme několik podtypů a pro jejich určení bude třeba provést analýzu do více komponent.



Graf 2 Průměrná hustota vah pravděpodobností výskytu role vůdce u referenčního experimentu (modře) a experimentů s ethanolom (oranžově) počítaná z 10 experimentů



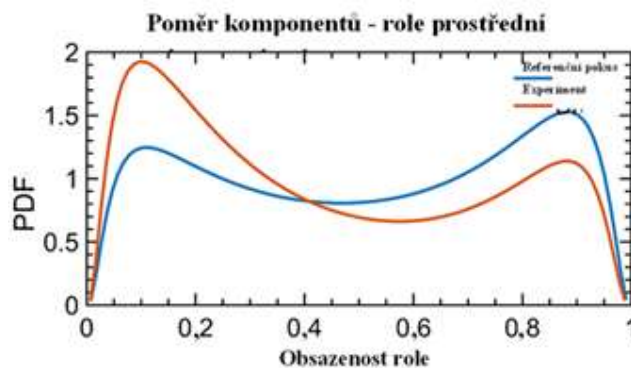
Graf 3 Průměrné hodnoty nízko- (vlevo) a vysokopravděpodobnostních (vpravo) píků převládající struktury v hejně pro roli vůdce. Průměrná hustota vah pravděpodobnosti (PDF) počítaná pro 10 referenčních pokusů bez ethanolu (modře) a 10 pokusů s ethanolem (oranžově)

Pro roli **prostředního** jsou rozložení komponent (píků) (graf 4) pro experiment a kontrolu velmi podobné. Nízkopravděpodobnostní pík experimentu je vyšší než u kontroly, ale druhý (vysokopravděpodobnostní) pík je vyšší u kontroly než u experimentu. Zde je úplně zřejmé, že tato role není rozdělením na dvě komponenty správně specifikovaná a je potřeba její detailnější analýzy. Interpretace této role je složitější, vzhledem ke složitosti jejího vztahu ke zbytku hejna a tedy výpočtu pravděpodobnostních vah (obr. 10).

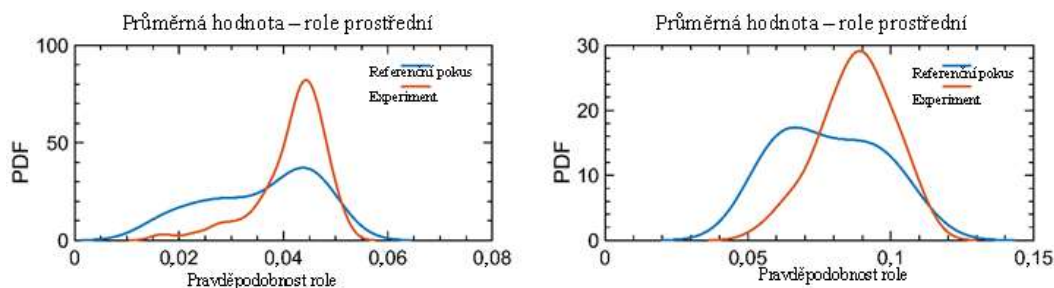
Průměrné hodnoty píků (graf 5) nám nabízejí lepší představu o této roli. V kontrolních experimentech pozorujeme jasné rozdělení hodnot průměrů na nejméně dva píky zatímco v experimentu ovlivněném etanolem se objevuje jeden dominantní pík. Role má přirozeně mnoho podtypů. Z grafu 4 je ale zřejmé, že struktura hejna, tedy rozdělení rolí prostředních ryb, bude při ovlivnění ryb ethanolem mnohem více specifikované než u neovlivněných ryb.

Role **následujícího** má rozložení komponent (graf 6) velmi podobné roli vůdce (graf 2). Nízkopravděpodobnostní pík se vyskytuje s vahou 20 % a vysokopravděpodobnostní s vahou 80 %. V roli následující sledujeme vyšší píky u experimentu, ale namísto současné změny šířky píku (střední kvadratické odchylky) pozorujeme přesun hodnot od nízkopravděpodobnostní role k roli vysokopravděpodobnostní proti kontrolnímu měření. Samotná role je tedy u ovlivněných ryb zřejmě specifitější.

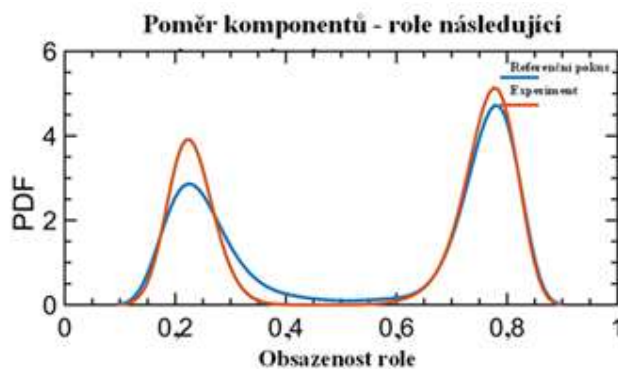
Průměrné hodnoty hlavních píků (graf 7) také naznačují více subtypů u role následujícího, a to zejména v ovlivněných experimentech. Oproti oběma předchozím případům se tedy role následujícího po ovlivnění ethanolem stává obecně méně jednoznačnou.



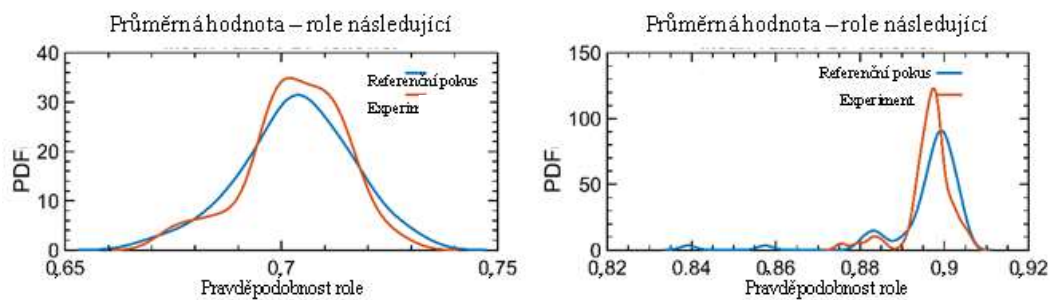
Graf 4 Průměrná hustota vah pravděpodobností výskytu role prostředního u referenčního experimentu (modře) a experimentů s ethanolem (oranžově) počítaná z 10 experimentů



Graf 5 Průměrné hodnoty nízko- (vlevo) a vysokopravděpodobnostních (vpravo) píků převládající struktury v hejně pro roli prostředního. Průměrná hustota vah pravděpodobností (PDF) počítaná pro 10 referenčních pokusů bez ethanolu (modře) a 10 pokusů s ethanolem (oranžově)



Graf 6 Průměrná hustota vah pravděpodobností výskytu role následujícího u referenčního experimentu (modře) a experimentů s ethanolem (oranžově) počítaná z 10 experimentů



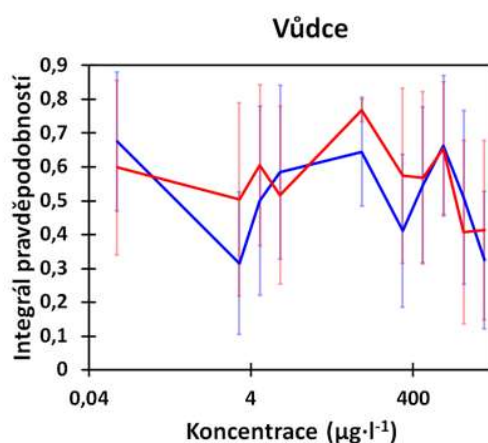
Graf 7 Průměrné hodnoty nízko- (vlevo) a vysokopravděpodobnostních (vpravo) píků převládající struktury v hejně pro roli následujícího. Průměrná hustota vah pravděpodobností (PDF) počítaná pro 10 referenčních pokusů bez ethanolu (modře) a 10 pokusů s ethanollem (oranžově)

3.2 Průměrná síla role v hejně v závislosti na koncentraci toxikantu

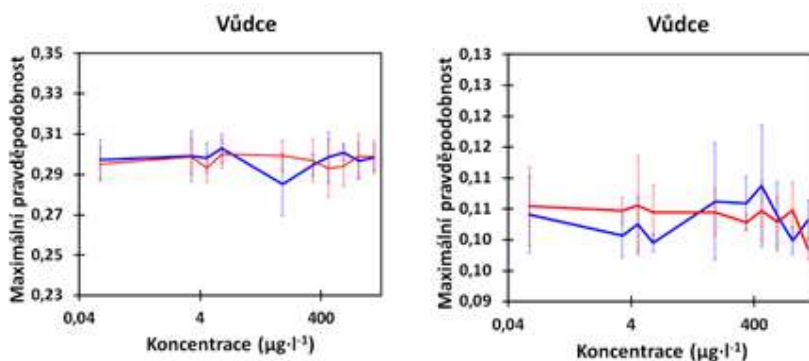
V této kapitole popisujeme vztah mezi jednotlivými koncentracemi ethanolu a pravděpodobností výskytu role v hejnu (jako průměrná hodnota pro všechny ryby).

Graf 8 popisuje závislost integrálu pravděpodobnostních vah výskytu role **vůdce** v hejnu na koncentraci. Graf 9 popisuje maximální pravděpodobnost výskytu role v pících během všech koncentrací. Pro roli vůdce u intoxikovaných ryb jsou závislosti pravděpodobnostních vah na koncentraci ethanolu (červeně) hladší (více konstantní) a mají nižší odchylky než u neovlivněných ryb (modře). Role je tedy zřejmě jasněji vyhraněná při ovlivnění ethanolem.

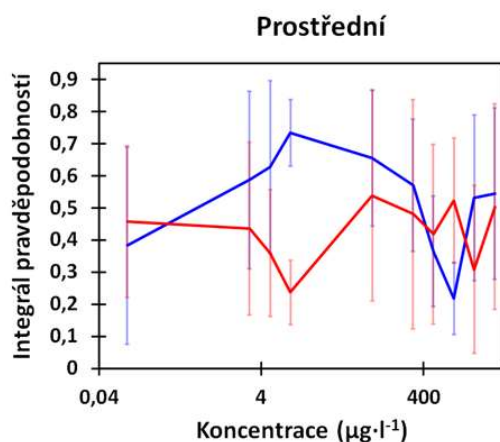
Z grafu integrálů i maximálních pravděpodobnostních vah výskytu role **prostředního** (graf 10 a 11) je zřejmé, že by bylo vhodné tuto roli rozdělit na více lépe specifikovaných rolí. V případě maximálních pravděpodobností (graf 11) opět sledujeme trend hladší křivky (červeně) pro ovlivněné ryby než pro ryby neovlivněné (modře).



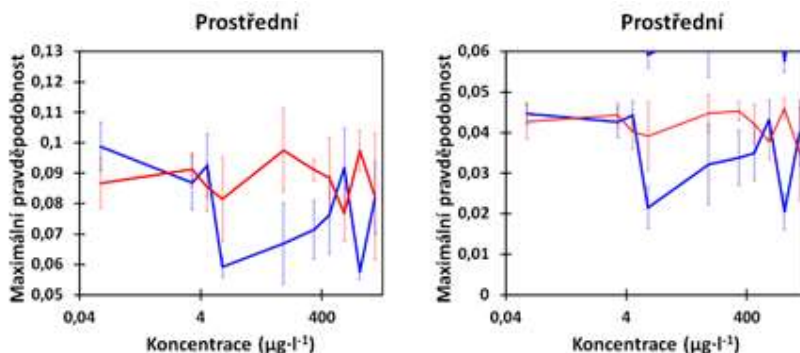
Graf 8 Integrály vah pravděpodobností pro roli vůdce zprůměrované přes všechny ryby (vyjádřené jako průměr $\pm$ směrodatná odchylka) v závislosti na koncentraci ethanolu pro ovlivněné (červeně) a neovlivněné (modře) hejno



Graf 9 Průměrné hodnoty vah pravděpodobností pro roli vůdce zprůměrované přes všechny ryby (vyjádřené jako průměr $\pm$ směrodatná odchylka) v závislosti na koncentraci ethanolu pro ovlivněné (červeně) a neovlivněné (modře) hejno. Průměrná hodnota pro vysoko- (vlevo) a nízkopravděpodobnostní (vpravo) piku



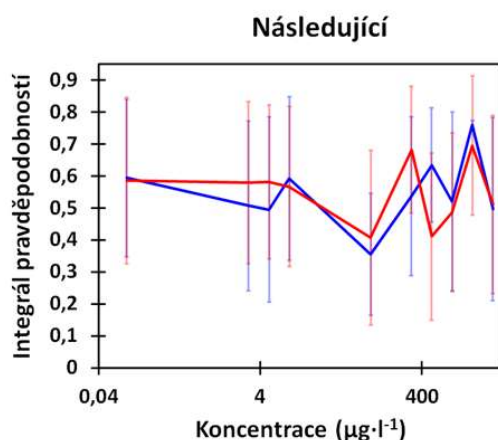
Graf 10 Integrály vah pravděpodobností pro roli prostředního zprůměrované přes všechny ryby (vyjádřené jako průměr $\pm$ směrodatná odchylka) v závislosti na koncentraci ethanolu pro ovlivněné (červeně) a neovlivněné (modře) hejno



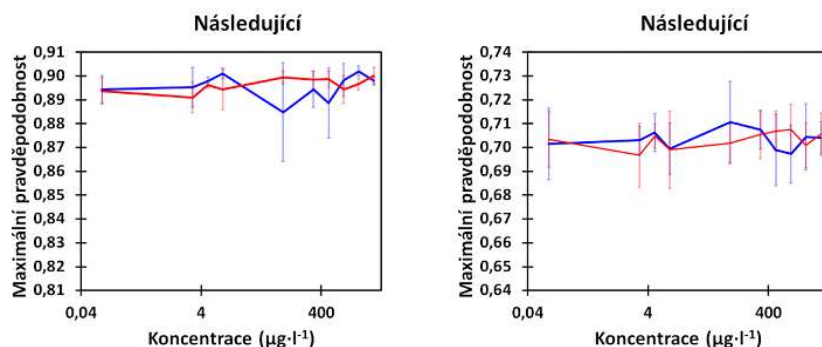
Graf 11 Průměrné hodnoty vah pravděpodobností pro roli prostředního zprůměrované přes všechny ryby (vyjádřené jako průměr $\pm$ směrodatná odchylka) v závislosti na koncentraci ethanolu pro ovlivněné (červeně) a neovlivněné (modře) hejno. Průměrná hodnota pro vysoko- (vlevo) a nízkopravděpodobnostní (vpravo) pík

I v roli **následujícího** sledujeme u grafů maximálních pravděpodobnostních vah (graf 13) trend hladší křivky (červeně) pro ryby v ethanolu. Graf integrálů pravděpodobnostních vah výskytů (graf 12) má obě závislostní křivky (reference i experimentu) velmi podobné. Zdá se tedy, že tato role se při ovlivnění ethanolem mění ze všech rolí nejméně.

V této kapitole jsme zjistili obecný trend, že „opilé“ hejno si stabilizuje rozložení rolí lépe než hejno „střízlivé“, které více mění svou strukturu. Již nízké dávky ethanolu stačí, aby se hejno začalo chovat stereotypněji.



Graf 12 Integrály vah pravděpodobností pro roli následujícího zprůměrované přes všechny ryby (vyjádřené jako průměr $\pm$ směrodatná odchylka) v závislosti na koncentraci ethanolu pro ovlivněné (červeně) a neovlivněné (modře) hejno

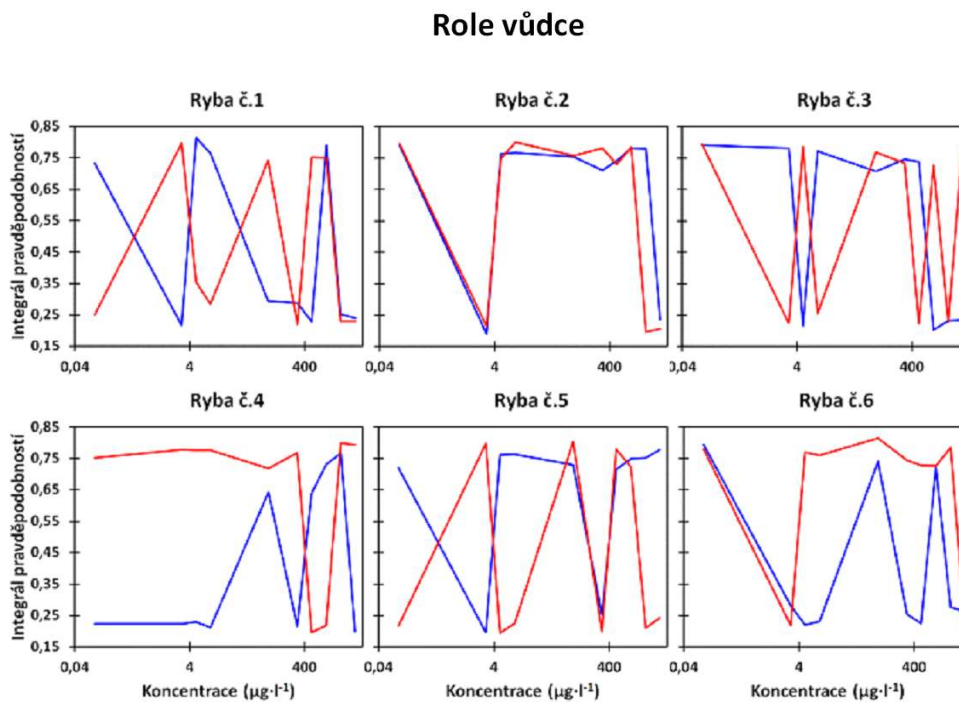


Graf 13 Průměrné hodnoty vah pravděpodobností pro roli následujícího zprůměrované přes všechny ryby (vyjádřené jako průměr $\pm$ směrodatná odchylka) v závislosti na koncentraci ethanolu pro ovlivněné (červeně) a neovlivněné (modře) hejno. Průměrná hodnota pro vysoko- (vlevo) a nízkopravděpodobnostní (vpravo) pík

3.3 Jednotlivé ryby – specifikované výsledky

V této kapitole se věnujeme porovnání změn integrálů a maximálních hustot pravděpodobnostních vah výskytů jednotlivých rolí v závislosti na koncentraci ethanolu v prostředí pro každou rybu zvlášť.

V grafu 14 popisujeme roli **vůdce** u integrálu hustot pravděpodobnostních vah. Z tohoto grafu vyplývá, že ryba č. 2 má velmi podobný průběh křivky referenční (modře) a experimentální (červeně). Z této skutečnosti můžeme odvodit, že ryba se po působení ethanolu pravděpodobně v rámci vůdčí role příliš nemění. Je možné, že je vůči tomuto ovlivnění imunní. Oproti tomu ryba č. 4 výrazně mění svoji osobnost při ovlivnění ethanolem. V referenčním pokusu má ryba č. 4 pravděpodobnostní váhy role nižší než v prostředí ethanolu. V čisté vodě tedy vede jen jednu rybu, zatímco ve vodě s ethanolem vede alespoň čtyři ryby. U ostatních ryb nepozorujeme pro tuto roli žádné výrazné konzistentní změny. Chování ryb se mění s každým experimentem, nezávisle na koncentraci ethanolu ve vodě.



Graf 14 Integrály vah pravděpodobností pro roli vůdce pro jednotlivé ovlivněné (červeně) a neovlivněné (modře) ryby v hejně v závislosti na koncentraci ethanolu

V grafu maximálních pravděpodobnostních vah (graf 15) sledujeme maximální hodnoty píků pro jednotlivé ryby. Je možné sledovat stejné trendy jako v předchozích grafech. Křivky experimentů v ethanolu (červeně) mají méně výkyvů, a ty jsou méně výrazné než u referenčních měření bez ethanolu (modré křivky). Užší jsou i rozptyly pravděpodobnostních vah pro jednotlivé koncentrace.

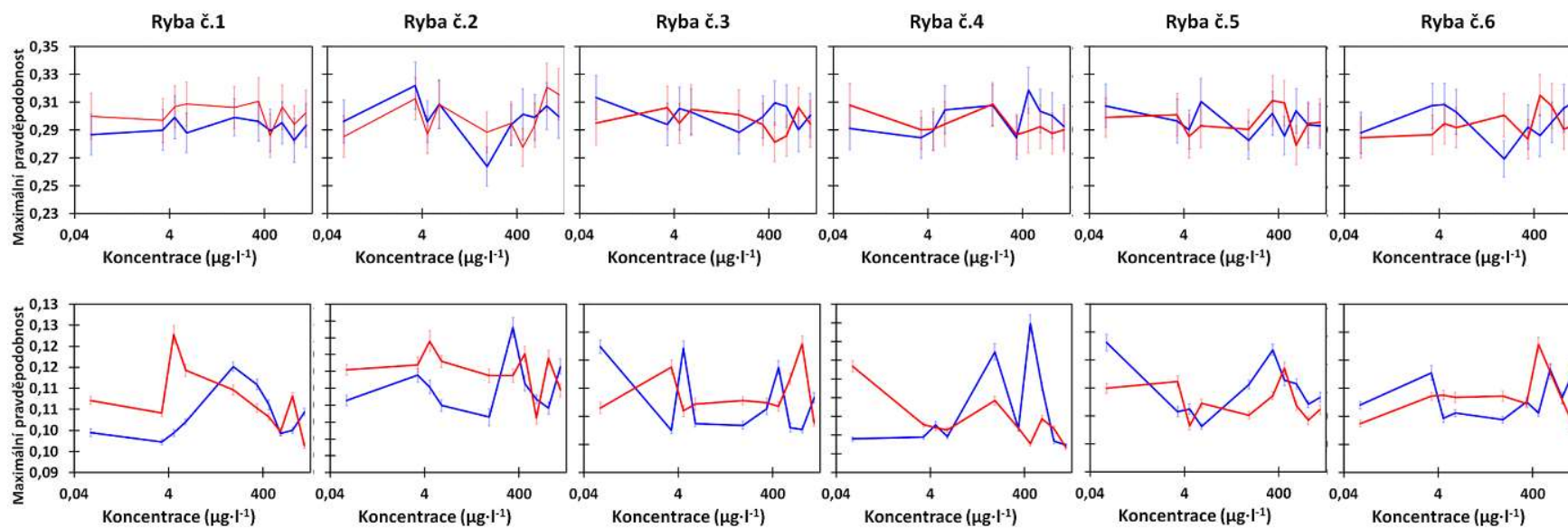
Závislosti hodnot maxim vysokoprávděpodobnostních píků na koncentraci ethanolu jsou ve většině případů velmi podobné referenci. Výjimkou je ryba č. 6, u které je tvar závislosti u referenčních měření a experimentu odlišný. Křivka reference obsahuje pouze jeden výrazný propad, a to v koncentraci $93 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, zatímco u experimentu se vyskytuje větší množství méně výrazných výkyvů od průměru křivky. Chování ryby č. 6 se tedy zdá být v prostředí ethanolu stabilnější.

Průběhy nízkoprávděpodobnostních píků poukazují na větší rozdíly v chování ryb. Ryby pravděpodobně spíše mění své chování, pokud vedou pouze jednu rybu, než pokud vedou alespoň čtyři ryby.

Pro roli **prostředního** u grafu integrálů vah pravděpodobností (graf 16) sledujeme podobné trendy, avšak méně výrazné než u role vůdce. Ryba č. 2 má velmi podobné průběhy křivek u reference (modře) a experimentu (červeně). Nejsou však shodné do stejné míry jako u role vůdce. Je tedy možné, že ryba č. 2 není ovlivněna ethanolem ani v roli prostředního. Průběh křivek pro rybu č. 4 je výrazně opačný. Její chování je zřejmě v roli prostředního výrazně ovlivněno přidáním ethanolu.

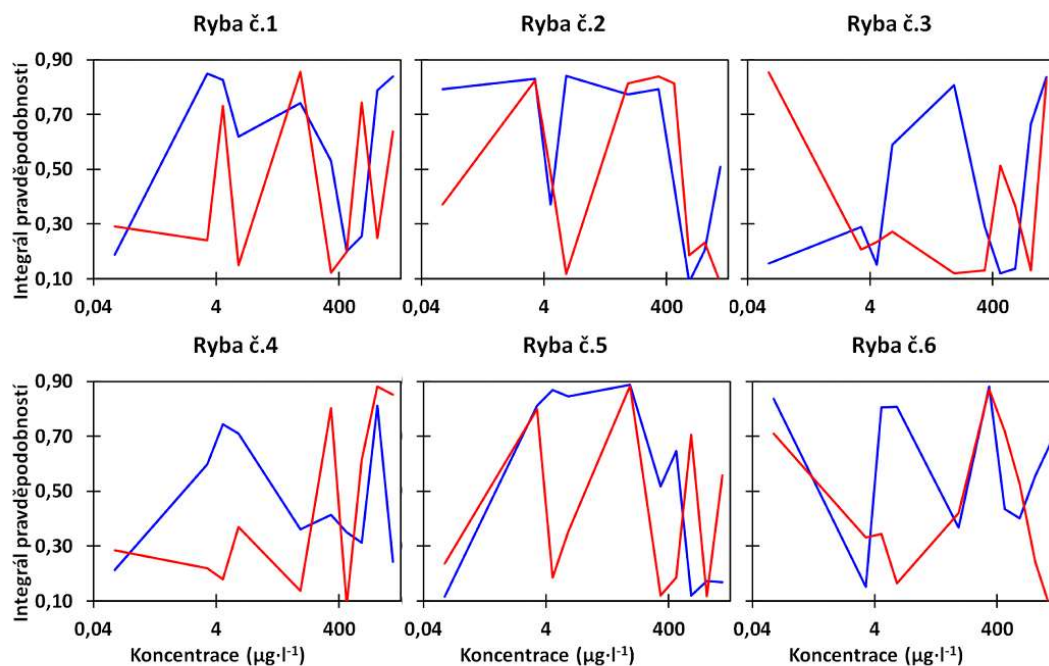
Pro roli prostředního jsou křivky reference a experimentu grafu maximálních vah pravděpodobností (graf 17) velmi rozdílné. Křivky a rozptyly pravděpodobnostních vah při jednotlivých koncentracích mají u všech ryb výrazně hladší průběh u ryb ovlivněných ethanolem než u ryb ethanolem neovlivněných. Výjimkou je ryba č. 3, jejíž křivky jsou v obou případech výrazně rozkolísané. Výraznější rozkolísání je u vysokoprávděpodobnostního píku této ryby. Toto však může být způsobeno nedostatečnou specifikací této role.

Role vůdce



Graf 15 Průměrné hodnoty vah pravděpodobností pro roli vůdce pro jednotlivé ovlivněné (červeně) a neovlivněné (modře) ryby v hejnu v závislosti na koncentraci ethanolu. Vysokopravděpodobnostní pík (jedinec vede až 4 ryby; nahoře), nízkopravděpodobnostní pík (jedinec vede jen jednu rybu; dole)

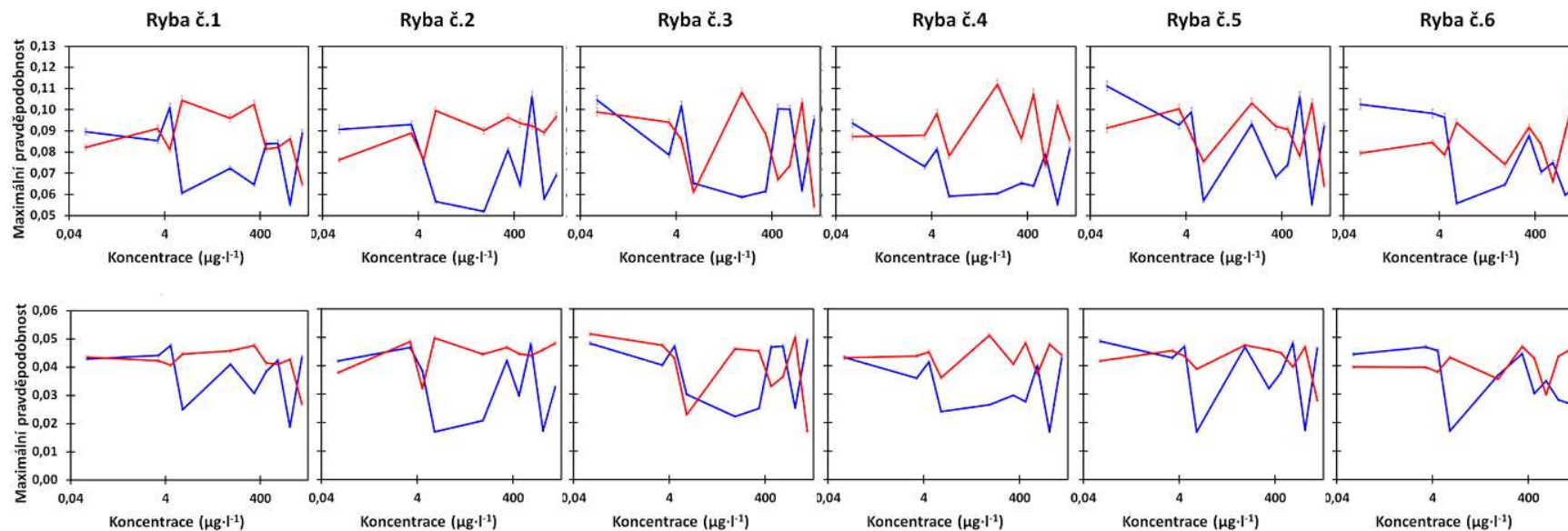
Role prostřední



Graf 16 Integrály vah pravděpodobností pro roli prostředního pro jednotlivé ovlivněné (červeně) a neovlivněné (modře) ryby v hejně v závislosti na koncentraci ethanolu

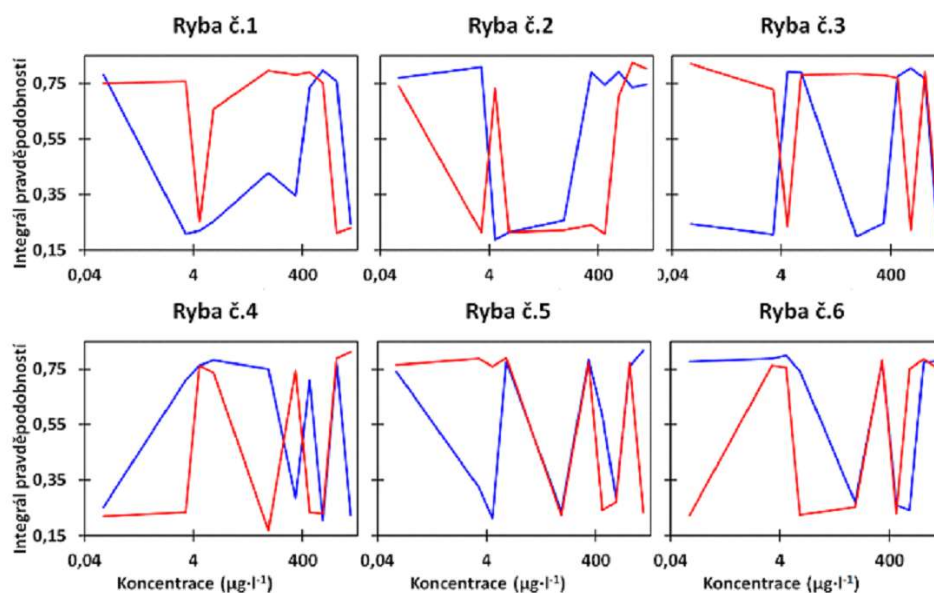
V kapitole 3.2 jsme zjistili, že v průměru všech ryb v hejně se role **následujícího** při ovlivnění ethanolom příliš nemění. Ovšem z grafu integrálu pravděpodobnostních vah (graf 18) jsou průběhy křivek experimentu a reference pro jednotlivé ryby v některých koncentracích velmi podobné, zatímco v jiných jsou naprosto opačné. Ryba č. 5 má průběh druhé poloviny své křivky experimentu naprosto shodný s referencí. Stejný úkaz se objevuje i u ryby č. 6. Naopak ryba č. 1 má průběh křivky experimentu z velké části opačný k průběhu křivky reference. Průběh křivek u ryby č. 4 se mění s každou koncentrací. Ryba č. 2 má znovu průběhy křivek velmi podobné. Zdá se tedy, že ryba č. 2 nebyla ethanolom v průběhu experimentů ovlivněna vůbec. Křivky experimentu u ryby č. 3 jsou opačné k křivkám její reference. Její role se podáním ethanolu tedy výrazně změnila.

Role prostřední



Graf 17 Mody vah pravděpodobností pro roli prostředního pro jednotlivé ovlivněné (červeně) a neovlivněné (modře) ryby v hejnu v závislosti na koncentraci ethanolu. Vysokopravděpodobnostní pik (nahore), nízkopravděpodobnostní pik (dole)

Role následující



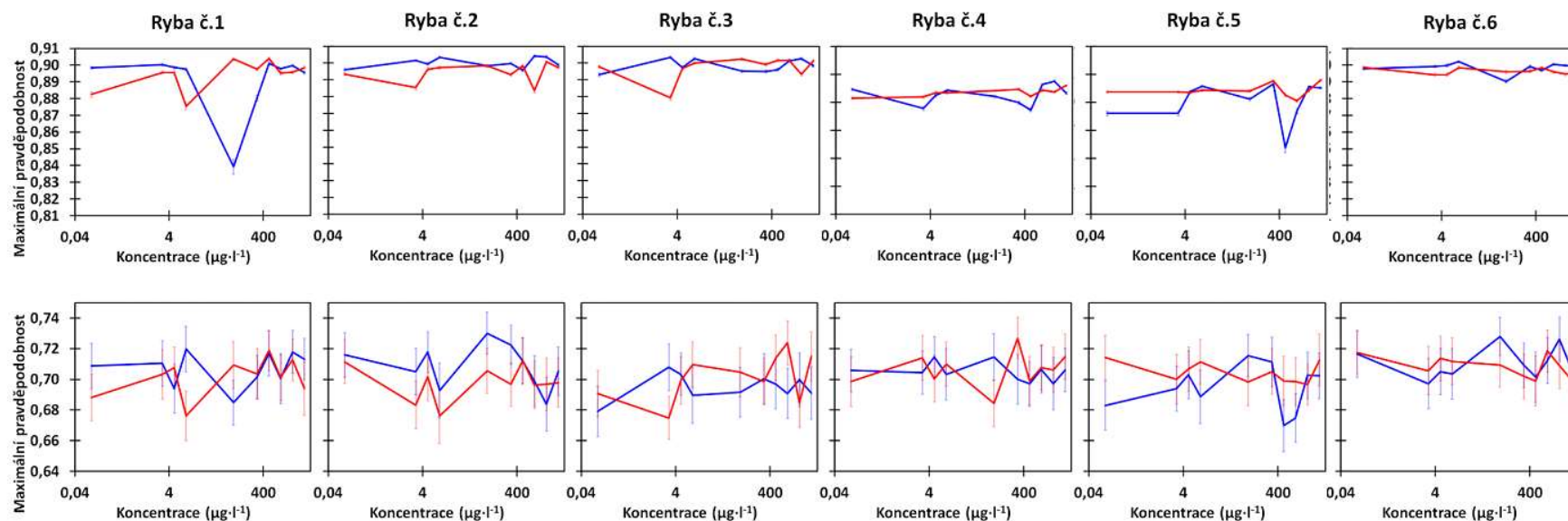
Graf 18 Integrály vah pravděpodobností pro roli následujícího pro jednotlivé ovlivněné (červeně) a neovlivněné (modře) ryby v hejně v závislosti na koncentraci ethanolu

Teorii, že v roli následujícího se ryby při ovlivnění ethanolem příliš nemění podporuje i graf průběhů maximálních pravděpodobnostních vah pro jednotlivé ryby (graf 19). Zvláště pak závislosti hodnot vysokoprávděpodobnostního píku jsou si navzájem u jednotlivých ryb velmi podobné. Výjimkami jsou ryby č. 1 a 5. Jejich křivky reference (modré) obsahují každá jeden výrazný propad. Křivky experimentu (červeně) jsou výrazně hladší a podporují tedy tvrzení, že ryby ovlivněné ethanolem plavou stereotypněji a mají, přeneseně řečeno, „srovnanou hlavu“.

Závislosti hodnot nízkoprávděpodobnostního píku jsou více diverzifikované, ale stále je zde patrný trend specializovanějších ryb při ovlivnění ethanolem, a to zejména z nižších rozptylů hodnot maxim u experimentu (červeně) než u reference (modře).

Dvěma hlavními poznatky, které jsme z grafů zjistili, byly trend větší stereotypnosti hejna při ovlivnění ethanolem a skutečnost, že již velmi malými koncentracemi ethanolu je možné ovlivnit chování ryb. Ryby se při ovlivnění ethanolem mají tendenci chovat stereotypněji, než pokud jím ovlivněné nejsou.

Role následující



Graf 19 Průměrné hodnoty vah pravděpodobností pro roli následujícího pro jednotlivé ovlivněné (červeně) a neovlivněné (modře) ryby v hejnu v závislosti na koncentraci ethanolu. Vysokopravděpodobnostní pik (jedinec následuje až 4 ryby; nahoře), nízkopravděpodobnostní pik (jedinec následuje jen jednu rybu; dole)

4 Diskuse

V této bakalářské práci jsme sledovali vliv nízkých koncentrací ethanolu na šestičlenné hejno parmiček čtyřpruhých (*Puntigrus tetrazona*). Z výsledků vyplynulo, že struktura hejna byla i v takto nízkých koncentracích ovlivněna přítomností ethanolu ve vodě. U ryb došlo ke změnám jejich chování a změnám v dynamice chování hejna. Změny byly popisovány jako změny chování ryb ve třech předem určených rolích. Obecně se u hejna objevila tendence ke stereotypnějšímu chování při ovlivnění ethanolem.

Macková a kol. (2022) a Ladu a kol. (2014) využívají ve svých studiích stejný modelový organismus a stejnou testovací látku. Využívají však vyšší koncentrace ethanolu. Nízké koncentrace ethanolu jsme v této práci zvolili vzhledem k dalšímu výzkumu probíhajícímu k tomuto tématu na ÚKS v Nových Hradech. V této bakalářské práci jsme vycházeli z prvotních poznatků uvedených v práci Macková a kol. (2022). Zvolili jsme však přístup, který se více zabýval strukturami v hejně a vztahy mezi rybami, zatímco ostatní práce vyhodnocovaly zejména parametry hejna, jakými jsou jeho těžiště nebo rychlost (Macková a kol., 2022) či vztah mezi jedním rybím jedincem ovlivněnými ethanolem ke skupině neovlivněných ryb v jedné nádrži (Ladu a kol., 2014). Ladu a kol. (2014) zjistili, že ryby ovlivněné ethanolem se pohybují více a s vyšší rychlostí. Při srovnání s naším experimentem, ve kterém se ryby chovaly obecně stereotypněji zjišťujeme, že je zřejmě rozdíl v chování hejna, pokud je ovlivněno celé, oproti stavu, kdy je ovlivněn pouze jeden jedinec.

Testovací látka – ethanol – se ve vodách běžně nevyskytuje, běžné jsou spíše jeho metabolity. Je však často využíván při vývoji nových sledovacích zařízení například v úpravách pitné vody (Macková a kol., 2022). Jeho možná ještě důležitější využití je ve výzkumu FASD (fetální alkoholový syndrom), který postihuje novorozence narozené matkám závislým na alkoholu (Baggio a kol., 2017; Faccioli a Gerlai, 2020; Fernandes a kol., 2019). Ve studiích se využívá i látka taurin, která je běžná v energetických nápojích tolik oblíbených mladou generací. Jeho kombinace s ethanolem například v míchaných koktejlech v nočních podnicích ovlivňuje CNS člověka i ryb (Fontana a kol., 2018). Je zřejmé, že ethanol nesmí být jedinou zkoumanou látkou a bude potřeba provést sledování více různorodých látek, a to včetně různých kombinací těchto látek, které se mohou ve vodách vyskytnout. Pro každou úpravnu vody bude zřejmě třeba vytipovat látky, které by se mohly v nízkých koncentracích v dané lokalitě vyskytovat a kvalitu vody ovlivňovat,

a ty testovat. Firma ENVI-PUR například plánuje umístit zařízení na sádkách s recirkulací vody, kde kritickým krokem je ozonizace a zachycení již velmi nízkých koncentrací ozónu.

Parmička čtyřpruhá je populární akvarijní rybou zejména u začínajících akvaristů, není však nejběžnější rybou využívanou pro sledování změn chování. Mnohem častěji je využíváno dánío pruhované (Baggio a kol., 2017; Facciol a Gerlai, 2020; Fernandes a kol., 2019; Fontana a kol., 2018; Liao a kol., 2011; Miller a kol., 2013; Yuan a kol., 2018). My jsme zvolili parmičky čtyřpruhé pro jejich výraznější zbarvení, podle kterého jsou jednotlivci snadno identifikovatelní (což bylo v našem trasovacím algoritmu využito k automatické detekci jednotlivců, kap. 2.3) a pro jejich schopnost tvořit hejna již v malých počtech. Dle mého osobního názoru se jedná o druh, který je tak nenáročný, že jej špatnou péčí nelze nijak výrazně poškodit. Je tedy vhodný pro využití v průmyslových objektech na rozdíl od velevruba malířského a nadmutého (Dunaj, 2022), kteří jsou citliví nejen na změny kvality vody, ale jakožto plži jsou i více náchylní k poškození nevhodným zacházením.

Na FROV JU jsou pro sledování změn kvality vody využíváni také raci. Je u nich sledována změna srdečního tepu při přidání kontaminantu do vody. Jde o neinvazivní a rychlou metodu (Kuklina a kol., 2018, 2019; Ložek a kol., 2019). Využití kamery může u organismu snížit hladinu stresu oproti více invazivním metodám.

Otázkou zůstává, zda není využívání stále stejné skupiny pro experiment kontraproduktivní. Chaccon a Luchiar (2014) zjistili, že i přes vystavení ethanolu jsou dánía pruhovaná stále schopny učení. Lze tedy předpokládat, že i parmičky čtyřpruhé jsou schopny se učit, což mohlo ovlivnit sledování v pozdějších pokusech. Ryby mohly předpokládat změnu prostředí, což mohlo ovlivnit jejich hladinu stresu a celkové chování jak v referenčním pokusu, tak v pokusu s ethanolu. Bylo by tedy vhodné provést experiment s několika různými skupinami, aby se možnost tohoto ovlivnění co nejvíce vyloučila.

Macková a kol. (2022) ve své práci popisuje problém odrazu rybiček v lesklém skle akvária. Zejména samci mají tendenci reagovat na odraz v zrcadle. Toto chování mohlo ovlivnit výsledky měření u celého hejna. Řešením tohoto problému by bylo zmatnění stěn akvária, čímž by se eliminoval vznik odrazů. V experimentální sestavě popisované v této práci je však toto řešení nevhodné. Kamera je umístěna kolmo na přední stěnu akvária a její zmatnění by tedy prakticky zamezilo možnosti nahrávání. Způsobem, jak tento problém odstranit, je umístění kamery nad akvárium. Experimentální akvárium a

nastavení, které bylo v této bakalářské práci využito pro provedení experimentu, je pouze dočasným řešením. Cílem celého bádání je sestava akvária a kamery vytvořená pro použití v úpravách pitné vody. Není tedy možné, aby zařízení zabíralo celou místnost. Prototyp tohoto akvária vytvořený ve spolupráci se společností ENVI-PUR je v době psaní této bakalářské práce právě zaváděn do zkušebního laboratorního provozu a jsou na něm prováděny první experimenty. Hlavní rozdíly oproti experimentální sestavě 5iD Viewer jsou ve velikosti akvária, umístění kamery a matných stěnách akvária. Kamera je umístěna nad akvárium a došlo k odstranění zrcadel. Skla jsou matná, což zamezuje ovlivnění ryb jejich odrazem. Z prvních pozorování se však zdá, že matná skla negativně působí na kvalitu vody v akváriu. Na matném povrchu se lépe drží nečistoty a je hůře čistitelný. Bude nutné vytvořit ideální plán péče o toto akvárium.

5 Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo získat informace o vlivu nízkých koncentrací ethanolu na parmičky čtyřpruhé. Porovnáním deseti koncentrací ethanolu s deseti referenčními pokusy jsme získali datovou sadu, ze které jsme vyhodnotili údaje o třech různých rolích, které ryby v hejnu mohou zastávat. Tyto role jsme pojmenovali vůdce, prostřední a následující.

Ryby se v každé roli chovají jiným způsobem a mají jiné reakce na ovlivnění ethanolem. V rolích vůdce a prostředního reagovaly ryby na ovlivnění silně, zatímco role následujícího se měnila méně. U role následujícího bude zcela jistě potřeba hlubšího zkoumání, jelikož její vysvětlení není tak přímočaré, jaké jsme zvolili v této práci.

Ethanol ovlivnil ryby již při nejnižších koncentracích. Ryby ovlivněné ethanolem vykazovaly ve všech rolích stereotypnější chování.

Z práce je zřejmé, že v tomto tématu je možné pokračovat několika směry. Bude nutné se vydat směrem k testování různých látek běžných i méně běžných ve vodním prostředí. Bylo by však vhodné se nadále věnovat i podrobnějšímu studiu popsání rolí a subrolí a jejich specifikům. Matematickým základem bude rozdělení na více Gaussových křivek, případně jiných křivek, pro charakterizaci rozdělení rolí v hejnu. Průměrné hodnoty pravděpodobností jednotlivých křivek odpovídají pravděpodobnostem výskytu dominantních struktur v hejnu. Tím získáme co možná nejvíce kompletní matematický popis hejna.

Závěr práce poměrně přesně vyjadřuje poupravený výrok z filmu Limonádový Joe: „Alkohol (nejen) rybímu hejnu v malém množství prospívá. Alkohol podávaný v malých dávkách neškodí v jakémkoliv množství.“

6 Zdroje

- ALDERTON, D. Akvarijní a jezírkové ryby. Knižní klub, Praha, 2006. ISBN 80-242-1633-7. str. 83–84
- ANDERSON, B.G. The toxicity thresholds of various substances found in industrial wastes as determined by the use of *Daphnia magna*. Sewage Works Journal, 1944, **16**(6), 1156–1165. <http://www.jstor.org/stable/25029937>
- BAGGIO, S.; MUSSULINI, B.H.; DE OLIVEIRA, D.L.; GERLAI, R.; RICO, E.P. Embryonic alcohol exposure leading to social avoidance and altered anxiety responses in adult zebrafish. Behavioural Brain Research, 2017, **352**, 62–69, doi: 10.1016/j.bbr.2017.08.039
- BERDAHL, A.; TORNEY, C.J.; IOANNOU, C.C.; FARIA, J.J.; COUZIN, I.D. Emergent sensing of complex environments by mobile animal groups. Science, 2013, **339**(6119), 574–576, doi:10.1126/science.1225883
- BERLINGER, F.; GAUCI, M.; NAGPAL, R. Implicit coordination for 3 D underwater collective behaviors in a fish-inspired robot swarm. Science Robotics. 2021, **6**(50), doi:10.1126/scirobotics.abd8668
- BLEEKER, P. Nalezingen op de vischfauna van Sumatra. Visschen van Lahat en Sibogha. Natuurkundig Tijdschrift voor Nederlandsch Indië, 1855, **9**, 257–280.
- BUMANN, D.; KRAUSE, J. Front individuals lead in shoals of three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*) and juvenile roach (*Rutilus rutilus*). Behaviour, 1993, **125**(3–4), 189–198, doi:10.1163/156853993X00236
- CLAYMAN, C.L.; MALLOY, E.J.; KEARNS, D.N.; CONNAUGHTON, V.P. Differential behavioral effects of ethanol pre-exposure in male and female zebrafish (*Danio rerio*). Behavioural Brain Research, 2017, **335**, 174–184, doi: 10.1016/j.bbr.2017.08.007
- DLUGOS, C.A.; RABIN, R.A. Ethanol effects on three strains of zebrafish: model system for genetic investigations. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 2003, **74**(2), 471–480, doi:10.1016/S0091-3057(02)01026-2
- DUNAJ, J. Systém skorého varovania pomocou biologického monitoringu pri výrobe pitnej vody na ÚV Stakčín [online]. [cit. 9.4.2022] Dostupné z: <https://docplayer.cz/48030824-System-skoreho-varovania-pomocou-biologickeho-monitoringu-pri-vyrobe-pitnej-vody-na-uv-stakein.html>
- EIBL-EIBESFELDT, I. Freiwasserbeobachtungen zur Deutung des Schwarmverhaltens verschiedener Fische, Zeitschrift für Tierpsychologie, 1962, **19**(2), 165–182, doi:10.1111/j.1439-0310.1962.tb00767.x
- ELLWANGER MÜLLER, T.; ZIMERMANN NUNES, S.; SILVEIRA, A.; LORO, V.L.; ROSEMBERG, D.B. Repeated ethanol exposure alters social behavior and oxidative stress parameters of zebrafish. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry, 2017, **79**, 105–111, doi: 10.1016/j.pnpbp.2017.05.026
- FACCIOL, A.; GERLAI, R. Zebrafish shoaling, its behavioral and neurobiological mechanisms, and its alteration by embryonic alcohol exposure: a review. Frontiers in Behavioral Neuroscience, 2020, **14**, doi:10.3389/fnbeh.2020.572175
- FERNANDES, Y.; RAMPERSAD, M.; JONES, E.M.; EBERHART, J.K. Social deficits following embryonic ethanol exposure arise in post-larval zebrafish. Addiction Biology, 2019, **24**(5), 898–907, doi:10.1111/adb.12649
- FONTANA, B.D.; STEFANELLO, F.V.; MEZZOMO, N.J.; ELLWANGER MÜLLER, T.; QUADROS, V.A.; PARKER, M.O.; RICO, E.P.; ROSEMBERG, D.B. Taurine modulates

- acute ethanol-induced social behavioral deficits and fear response in adult zebrafish. *Journal of Psychiatric Research*, 2018, **104**, 176–182, doi: 10.1016/j.jpsychires.2018.08.008
- GIARDINA, I. Collective behavior in animal groups: Theoretical models and empirical studies. *HFSP Journal*, 2010, **2**(4), 205–219, doi:10.2976/1.2961038
- GODIN, J.-G.J. Behavioural ecology of teleost fishes (1997)
- HOBSON, E.S. Diel feeding migrations in tropical reef fishes. *Helgoländer Wissenschaftliche Meeresuntersuchung*, 1973, **24**, 361–370, doi:10.1007/BF01609526.
- HOFMAN, J.; NOVÁK, J. Akvaristika. Jak chovat tropické ryby jinak a lépe. X-EGEM, Praha, 1996, 148–150
- CHACON, D.M.; LUCHIARI, A.C. A dose for the wiser is enough: The alcohol benefits for associative learning in zebrafish. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 2014, **53**, 109–115, doi: 10.1016/j.pnpbp.2014.03.009
- CHENG, S.; ZHANG, S.; LI, L.; ZHANG, D. Water quality monitoring method based on TLD 3D fish tracking and XGBoost. *Mathematical Problems in Engineering*, 2018, **2018**, 1–12, doi:10.1155/2018/5604740
- JEON, W.; KANG, S.-H.; LEEM, J.-B.; LEE, S.-H. Characterization of fish schooling behavior with different numbers of Medaka (*Oryzias latipes*) and goldfish (*Carassius auratus*) using a Hidden Markov Model. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*, 2013, **392**(10), 2426–2433, doi: 10.1016/j.physa.2013.01.065
- KANE, A.S.; SALIERNO, J.D.; BREWER, S.K. Fish models in behavioral toxicology: Automated techniques, updates and perspectives. In: Ostrander, G.K. (ed). *Methods in Aquatic Toxicology* (Chapter 32), Volume 2, 559–590. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, 2005
- KANG, I.J.; MOROISHI, J.; NAKAMURA, A.; NAGAFUCHI, K.; KIM, S.G.; OSHIMA, Y. Biological monitoring for detection of toxic chemicals in water by the swimming behavior of small freshwater fish. *Journal of the Faculty of Agriculture Kyushu University*, 2009, **54**(1), 209–214
- KASUMYAN, A.O.; PAVLOV, D.S. Evolution of schooling behavior in fish. *Journal of Ichthyology*, 2018, **58**, 670–678, doi:10.1134/S0032945218050090.
- KOČÍ, V.: Význam testů toxicity pro hodnocení vlivů látek na životní prostředí. *Chemické listy*, 2006, **100**, 882–888
- KOSHIO, S.; SAKAKURA, Y.; IIDA, Y.; TSUKAMOTO, K.; KIDA, T.; DABROWSKI, K. The effect of vitamin C intake on schooling behavior of amphidromous fish, ayu *Plecoglossus altivelis*. *Fisheries Science*, 1997, **63**(4), 619–624, doi:10.2331/fishsci.63.619
- KOTHE, H.W. 250 druhů akvarijních ryb: určování, chov, péče. *Universum (Knižní klub)*, Praha, 2009. ISBN 978-80-242-2522-7. str. 107
- KUKLINA, I.; KOUBA, A.; KOZÁK, P. Real-time monitoring of water quality using fish and crayfish as bio-indicators: a review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2013, **185**(6), 5043–5053, doi:10.1007/s10661-012-2924-2
- KUKLINA, I.; LOŽEK, F.; CÍSAŘ, P.; KOUBA, A.; KOZÁK, P. Crayfish can distinguish between natural and chemical stimuli as assessed by cardiac and locomotor reactions. *Environmental Science and Pollution Research*. 2018, **25**(9), 8396–8403, doi:10.1007/s11356-017-1183-8
- KUKLINA, I.; LOŽEK, F.; CÍSAŘ, P.; PAUTSINA, A.; BUŘIČ, M.; KOZÁK, P. Continuous noninvasive measuring of crayfish cardiac and behavioral activities. *Journal of Visualized Experiments*, 2019, 144, e58555, doi:10.3791/58555

- LADU, F.; BUTAIL S.; MACRÍ S.; PORFIRI M. Sociality modulates the effects of ethanol in zebra fish. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 2014, **38**(7), 2096–2104, doi:10.1111/acer.12432
- LEE, Y.-H.; LEE, H.-K.; CHANG, C.H.; KIM, W.H. Development of a bio-monitoring system for toxicants in water with fish. *Water Supply*, 2001, **1**(2), 9–17, doi:10.2166/ws.2001.0016.
- LIAO, Y.; XU, J.; WANG, W. A method of water quality assessment based on biomonitoring and multiclass support vector machine. *Procedia Environmental Sciences*, 2011, **10**(A), 451–457, doi:10.1016/j.proenv.2011.09.074
- LONHUS, K.; ŠTYS, D.; SABERIOON, M.; RYCHTÁRIKOVÁ, R. Segmentation of laterally symmetric overlapping objects: Application to images of collective animal behavior. *Symmetry*. 2019, **11**(7), 866, doi:10.3390/sym11070866
- LONHUS, K.; ŠTYS, D.; RYCHTÁRIKOVÁ, R. Quantification of collective behaviour via movement tracking. *ArXiv:2110.04873*, 2021
- LOŽEK, F.; KUKLINA, I.; GRABICOVÁ, K.; KUBEC, J.; BUŘIČ, M.; GRABIC, R.; RANDÁK, T.; CÍSAŘ, P.; KOZÁK, P. Behaviour and cardiac response to stress in signal crayfish exposed to environmental concentrations of tramadol. *Aquatic Toxicology*, 2019, **213**, 105217, doi: 10.1016/j.aquatox.2019.05.019
- MACKOVÁ, B.; LONHUS, K.; RYCHTÁRIKOVÁ, R. Využití změn hejnové hierarchie ryb pro citlivou indikaci bioaktivních látek ve vodním prostředí. *Vodní hospodářství*, 2022, **72**(2), 8–13
- MILLER, N.; GREENE, K.; DYDINSKI, A.; GERLAI, R. Effects of nicotine and alcohol on zebrafish (*Danio rerio*) shoaling. *Behavioural Brain Research*, 2013, **240**, 192–196, doi:10.1016/j.bbr.2012.11.033
- PETROVICKÝ, I. Akvarijní ryby. Ilustrovali Knotek, J.; Knotková, L. *Artia* (Aventinum), Praha, 2014. ISBN 978-80-7442-049-8. str. 104–105
- PIETRUCIN, D. Monitoring of the aquatic environment of an industrial area with multiple sources of pollution. *Bulletin of Geography. Physical Geography Series*, 2013, **6**(1), 43–58, doi:10.2478/bgeo-2013-0003
- PITCHER, T.J. The behaviour of teleost fishes. 1986, doi:10.1007/978-1-4684-8261-4
- RANDÁK, T.; ŽLÁBEK, V.; TUREK, J.; VELÍŠEK, J.; KOLÁŘOVÁ, J. 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, 2011
- RESH, V.H. Which group is best? Attributes of different biological assemblages used in freshwater biomonitoring programs. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2008, **138**(1–3), 131–138, doi:10.1007/s10661-007-9749-4
- SHAW, E. Schooling fishes: the school, a truly egalitarian form of organization in which all members of the group are alike in influence, offers substantial benefits to its participants. *American Scientist*, 1978, **66**, 166–175
- SOLDÁN, P.; RAMBOUSEK, L. Zkvalitnění monitoringu biologické kvality pitných vod. *Vodohospodářské technicko-ekonomické informace*, 2020, **62**(2), 26–31, doi:10.46555/vtei.2020.02.002
- ŠTYS, D.; ŠTYS, D. Jr.; PEČENKOVÁ, J.; ŠTYS, K.M.; CHKALOVA, M.; KOUBA, P.; PAUTSINA, A.; DURNIEV, D.; NÁHLÍK, T.; CÍSAŘ, P. 5iD Viewer – Observation of fish school behaviour in labyrinths and use of semantic and syntactic entropy for school structure definition. *International Scholarly and Scientific Research & Innovation*, 2015, **9**(1), 281–285, doi:10.5281/zenodo.1099234

- VERHOEF-VERHALLEN, E. Akvariijní ryby: praktická encyklopedie: [tropické akvariijní ryby od A do Z]. 3. vyd. Přeložila Benešová, N. Rebo, Čestlice, 2010. ISBN 978-80-255-0234-1, str. 62–63
- WEIS, J. S.; CANDELMO, A. Pollutants and fish predator/prey behavior: A review of laboratory and field approaches. *Current Zoology*, 2012, **58**(1), 9–20, doi:10.1093/czoolo/58.1.9
- XIAO, G.; FAN, W.; MAO, J.; CHENG, Z.; HU, H. (2015) Semantic description of fish abnormal behavior based on the computer vision. In: Tan T., Ruan Q., Wang S., Ma H., Di K. (eds) *Advances in Image and Graphics Technologies. IGTA 2015. Communications in Computer and Information Science*, vol 525. Springer, Berlin, Heidelberg, 2015, doi:10.1007/978-3-662-47791-5_3
- XIAO, G.; SHAO, T.; ZHU, T.; LI, Y.; MAO, J.; CHENG, Z. Attention Region Based Approach for Tracking Individuals in a Small School of Fish for Water Quality Monitoring. In: Perner P. (eds) *Machine Learning and Data Mining in Pattern Recognition. MLDM 2016. Lecture Notes in Computer Science*, vol 9729. Springer, Cham, 2016, doi:10.1007/978-3-319-41920-6_57
- YUAN, F.; HUANG, Y.; CHEN, X.; CHENG, E. A biological sensor system using computer vision for water quality monitoring. *IEEE Access*, 2018, **6**, 61535–61546, doi:10.1109/ACCESS.2018.2876336
- ZHAO, X.; YAN, S.; GAO, Q. An algorithm for tracking multiple fish based on biological water quality monitoring. *IEEE Access*, 2019, **7**, 15018–15026, doi:10.1109/ACCESS.2019.2895072

Abstrakt

Změny hejnového chování akvarijských ryb v přítomnosti kontaminantu

V této práci je popisována velice citlivá metoda sledování změn kvality vody za pomoci bioindikátoru. Cílem bylo získat informace o změnách hejnového chování v nízkých koncentracích ethanolu (od $1,14 \cdot 10^{-7}$ do $3,84 \cdot 10^{-3}$ ‰). Parmičky čtyřpruhé (*Puntigrus tetrazona*) jsou ryby, které snadno tvoří hejna. Jejich hejna jsou strukturovaná a ryby uvnitř hejna mají různé role. Jednotlivé role jsme pojmenovali vůdce, prostřední a následující. Při ovlivnění již nízkými koncentracemi ethanolu se chování ryb v jednotlivých rolích mění. Role vůdce byla nejjasněji definovaná a vykazovala výrazné rozdíly oproti referenčním pokusům. Role prostředního vyžaduje ještě další zkoumání, ale i ona vykazovala změny při ovlivnění ethanolem. Role následujícího se měnila při ovlivnění ethanolem ze všech tří rolí nejméně.

Klíčová slova: ethanol, parmička čtyřpruhá, *Puntigurs tetrazona*, hejnové chování, hejno

Abstract

Changes in shoaling behaviour of aquarium fish in presence of a contaminant

This thesis describes a highly sensitive method of monitoring water quality using a bioindicator. The aim was to obtain information about changes in shoaling behaviour at low concentrations of ethanol (from $1.14 \cdot 10^{-7}$ to $3.84 \cdot 10^{-3}$ ‰). Tiger barbs (*Puntigrus tetrazona*) are fish that easily form shoals. Their shoals are precisely structured and fish inside the shoal have different roles. The individual roles were named as leader, intermediate, and follower. When affected even by low concentrations of ethanol, the behaviour of fish changes in each role. Leader was the role that was the most clearly defined and showed significant differences compared to the reference experiments. The role of intermediate requires further investigation but has also shown changes in ethanol exposure. The role of follower has changed the least of the three roles during ethanol exposure.

Keywords: ethanol, tiger barb, *Puntigrus tetrazona*, shoaling behaviour, shoal