

MUNI



# METODIKA CHOVU MODELOVÝCH ORGANISMŮ (CRUSTACEA) PRO ÚČELY VÝUKY A VÝZKUMU

Mgr. Dana Klímová Hřívová

Odborný garant: doc. RNDr. Jana Schenková, Ph.D.

Ústav botaniky a zoologie

Přírodovědecká fakulta

Masarykova univerzita

Brno 2018

Tento materiál vznikl v rámci projektu Vypracování metodiky chovu modelových organismů pro účely výuky a výzkumu (0129/2018) podporovaného Fondem rozvoje Masarykovy univerzity (FRMU). Je určen k volné distribuci v řadách akademických a odborných pracovníků MU a studentů MU za účelem zkvalitnění a rozšíření stávající výuky v biologických oborech poskytnutím ověřených informací pro opakované založení a dlouhodobé udržení chovu modelových organismů.

Na řešení tohoto projektu se dále podílel řešitelský tým, jmenovitě Mgr. David Výravský a Mgr. Martin Černý, kteří monitorovali laboratorní chovy a zajišťovali terénní odběry vzorků s vybranými skupinami modelových organismů (raci, blešivci a meiobentos).

# OBSAH

ÚVOD – proč chovat modelové organismy .....	4
POTŘEBY PRO CHOV .....	5
VODA .....	5
POTRAVA .....	5
LABORATORNÍ POMŮCKY.....	6
MEIOBENTOS.....	7
LASTURNATKY (Ostracoda).....	7
➤ Ekologické nároky lasturnatek.....	7
➤ Metodika odběru.....	8
➤ Laboratorní chov .....	9
➤ Dlouhodobé udržení chovů .....	9
KLANONOŽCI (Copepoda).....	10
➤ Ekologické nároky buchanek a plazivek .....	10
➤ Metodika odběru.....	11
➤ Laboratorní chov .....	11
➤ Dlouhodobé udržení chovu .....	12
RŮZNONOŽCI (Amphipoda).....	13
➤ Ekologické nároky blešivce potočního .....	13
➤ Metodika odběru.....	13
➤ Laboratorní chov .....	14
➤ Experiment .....	14
➤ Dlouhodobé udržení chovu .....	15
ŽÁBRONOŽCI (Branchiopoda).....	16
➤ Ekologické nároky velkých lupenonohých korýšů .....	16
LISTONOH AMERICKÝ ( <i>Triops longicaudatus</i> ) .....	16
➤ Ekologické nároky.....	16
➤ Laboratorní chov .....	17
➤ Dlouhodobé udržení chovu .....	17
ŽÁBRONOŽKA SOLNÁ ( <i>Artemia salina</i> ).....	18
➤ Ekologické nároky.....	18
➤ Laboratorní chov .....	18

➤ Dlouhodobé udržení chovu .....	18
RACI (Astacidea) .....	19
➤ Ekologické nároky raka signálního .....	19
➤ Laboratorní chov .....	19
➤ Dlouhodobé udržení chovu .....	20
SEZNAM LITERATURY .....	21
PŘÍLOHY .....	22
Příloha 1: Ekologické nároky chovaných druhů dle literatury.....	22
Příloha 2: Iniciální nastavení chovů v laboratoři .....	23
Příloha 3: Kultura řasy <i>Scenedesmus</i> .....	24

## ÚVOD – proč chovat modelové organismy

V rámci předmětu Vybrané kapitoly z krustaceologie (Bi8750) vznikla začátkem roku 2018 potřeba věnovat podstatnou část pozornosti výzkumu možností, jak udržet v laboratorních podmínkách organismy, které by mohly být posléze prezentovány v průběhu celého roku studentům v tomto i dalších předmětech bez nutnosti opakovaně vyjíždět do terénu. Přidanou hodnotou pak byl důraz na prezentaci vitálních jedinců, což studentům umožní jejich pozorování v přirozeném stavu, sledování jejich pohybu či příjmu potravy, k němuž se mimo terénní cvičení v rámci výuky prakticky nedostanou.

Kontakt s živými organismy přirozeně podporuje schopnost nalézat ekologické souvislosti a aplikovat získané vědomosti v řešení úkolů. Zároveň je podporován rozvoj komplexního myšlení budoucího biologa, který je tak schopen posuzovat prostředí jako jeden navzájem provázaný celek. Neméně důležitým přínosem studia se živými organismy je vytváření pozitivního osobního vztahu, který dále motivuje ekologicky vhodné chování.

Předkládaná metodická příručka má primárně umožnit vyučujícím kdykoliv založit chov a mít tak dlouhodobě k dispozici modelové organismy. Dále má za úkol poskytnout studentům teoretický základ pro vypracování různorodých témat bakalářských a diplomových prací, jejichž součástí bude chov koryšů.

Každá kapitola je přehledně rozdělena do několika odstavců, v nichž se čtenáři dozvědí: kde najít koryše ve volné přírodě, jaké odběrové metody k naložení použít, ochranný status jednotlivých druhů, předpokládané nároky na chov v laboratoři dle literatury, reálné podmínky chovů v laboratoři dle našich výsledků a základní informace k ekologii a biologii modelových organismů.

# POTŘEBY PRO CHOV

## VODA

Používáme čtyři typy vody – destilovaná voda, osmotická voda, kohoutková voda a potoční (rybníční) voda (Tabulka 1). Samotné názvy indikují rozdíly jak v obsahu minerálních látek, tak v přítomnosti přirozeně se vyskytujících patogenů. Hodnoty pro kohoutkovou vodu jsou odvozeny z průměrných hodnot jakosti brněnské pitné vody. Laboratorní chov by měl probíhat v jasně stanoveném a udržovaném prostředí, ale vodním organismům vždy vyhovuje více voda co nejpodobnější jejich přirozenému prostředí, u níž lze obvykle jen stěží stanovit všechny obsahy látek. Naším cílem při inovaci výuky není krátkodobé udržení živočichů v nevhodné vodě, ale dlouhodobý chov v co nejkvalitnějších podmínkách. Proto dáváme přednost použití potoční vody či určité směsi s kohoutkovou nebo destilovanou vodou.

Pro zajištění monitoringu změn kvality vody v průběhu chovu měříme dvě základní proměnné – pH a vodivost. Obsah rozpuštěného kyslíku změříme na začátku založení chovu a u provzdušňovaných chovů dále předpokládáme dostatečné sycení. U neprovzdušňovaných chovů doporučujeme průběžnou kontrolu obsahu kyslíku.

Tabulka 1: Přehled typů použité vody pro laboratorní chovy.

typ vody	pH	vodivost ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )
Destilovaná	7.5	0
Osmotická	8.3	30
Kohoutková	7.5	100 <
Potoční (variabilní)	8.15	650

Využití potoční vody se osvědčilo, při pravidelné obměně v ní organismy vydržely po celou dobu chovu. Specifický typ vody je uveden v každé kapitole zvlášť pro jednotlivé skupiny koryšů.

## POTRAVA

Vzhledem k rozmanitým nárokům a potravním strategiím jednotlivých skupin organismů jsou konkrétní typy potravy specifikovány v konkrétních kapitolách. Obecně lze potravu rozdělit na akvaristickou, čerstvou a živou (Tabulka 2). Nejjednodušší na dávkování a používání je akvaristická potrava – má jasně stanovené složení a obsahuje celé spektrum potřebných látek. Problémem je omezená nabídka soustředící se na komerčně chované druhy. Neexistuje tedy akvaristická potrava pro běžně žijící koryše (např. blešivce).

Tabulka 2: Přehled typů potravy pro laboratorní chovy.

typ potravy	příklad	zdroj	dostupnost
Akvaristická	krmivo pro raky	akvaristické potřeby	vynikající
Čerstvá	habrové listí	zdrojová lokalita	dostupné
Živá	řasy, žábřonožky	chov	obtížně dostupné

Díky dlouholetému využití řas v rámci výzkumu na RECETOXu nám byly dobře dostupné i běžně chované řasy (rod *Scenedesmus*). Žábřonožka solná nebyla jako živé krmivo nakonec využita.

## LABORATORNÍ POMŮCKY

- nádoby, v nichž jsou organismy chovány
  - akvária, plastové boxy, Petriho misky, kultivační plata s komůrkami, skleněné bločky, kádinky
- zajištění dostatku kyslíku pomocí akvaristické techniky
  - motorky, hadičky, vzduchovací kamínky, čerpadla, filtry, ad.
- základní laboratorní vybavení
  - pipety různých velikostí, pinzety, stříčky, kanystry, filtrační papíry, gázy, síťky, cedníky, misky, fixy, přířezy, ad.
- měřicí technika pro měření základních parametrů vody
  - pH metry, konduktometry, oxymetry, teploměry

## MEIOBENTOS

Tento komplexní název zahrnuje celou škálu organismů, které jsou vázané na substrát vodních těles a dorůstají velikosti od 0.1–1.5 mm (meio). Organismy menší jsou označovány za mikro a organismy větší za makrobentos. Z koryšů sem zahrnujeme skupiny klanonožců (Copepoda), lasturnatek (Ostracoda) a naupliová stádia dalších skupin. V samotných chovech jsme udržovali buchanky (Cyclopoida), plazivky (Harpacticoida) a lasturnatky (Ostracoda). Vzhledem k velké odlišnosti životních strategií a nároků na prostředí budou skupiny rozebrány zvlášť.

### LASTURNATKY (Ostracoda)

Sladkovodní lasturnatky střední Evropy obývají rozmanité typy vodního prostředí a patří mezi nejpočetnější složku meiofauny. Dorůstají velikosti od 500 µm do 5 mm a jejich tělo je kryto dvouchlopňovou kalcifikovanou schránkou, kterou uzavírají pomocí masivních svěracích svalů, podobně jako mlži. Živí se řasami, detritem, rostlinným materiálem a tlejícími zbytky ostatních organismů (Meisch 2000). V chovech jsme se soustředili na bentické zástupce.

#### ➤ **Ekologické nároky lasturnatek**

Jejich nároky jsou druhově specifické, proto budou rozebrány pro jednotlivé chované druhy (Meisch 2000).

#### *Cypridopsis vidua* (O. F. Müller, 1776)

Kosmopolitně rozšířený a zároveň jeden z nejběžnějších druhů lasturnatek, který se vyskytuje v rozmanitých habitatech (např. permanentní i dočasné tůně, litorály rybníků, pomalu tekoucí řeky, prameny, studny, Obr. 1). Teplota vody koreluje se sezónou, zvládá i vyšší teploty během léta (kolem 20 °C).

#### *Cypria reptans* Bronstein, 1928

Její výskyt je omezen převážně na pramenné a jeskynní vody střední Evropy, kde se vyskytuje v teplotně stabilním prostředí do 15 °C vázána na jemný substrát.

#### *Tanycypris centa* Chang, Lee and Smith, 2012

Lasturnatka původem z Asie, do Evropy zanesena dovozem rostlin v akvaristice, dnes výskyt ve sklenících a akváriích, teplomilná.



## ➤ Metodika odběru



Obrázek 1: Mapa lokalit odběru lasturnatek pro účely chovu.

Vzhledem k rozmanitému množství habitatů, které lasturnatky obývají, je možné odebrat vzorky různými způsoby.

**POMŮCKY:** Síťka o velikosti ok max. 100  $\mu\text{m}$ , cedník, kovový rámeček nebo nádobka z pevného materiálu (plast, kov), pipeta s širokým hrdlem, vzorkovnice o objemu 50 ml, nádoba o objemu 2 l

### **POSTUP č. 1:**

1. Nádobkou nabere substrát s vodou a část vegetace a propláchneme směs přes cedník a pod ním položenou síťku, popř. síťkou projíždíme volnou vodu.
2. Na cedníku zůstanou zachycené hrubé části (kamínky, rostliny). V síťce zůstane nejjemnější substrát se zachycenými lasturnatkami – přeneseme jej do vzorkovnice, zalijeme do  $\frac{3}{4}$  objemu vodou z lokality a uzavřeme.
3. Hrubý substrát zachycený na cedníku smyjeme přímo na lokalitě.
4. Před odjezdem si do zásoby nabere na lokalitě 2 l vody.

### **POSTUP č. 2:**

1. V prameništím mokřadu ohraničíme místo odběru (např. kovovým rámečkem či provázekem).
2. Z místa odběru vytáhneme všechny rostliny, substrát a pipetou nabere volnou vodu – tuto směs propláchneme přes cedník a síťku.
3. Nejjemnější frakci zachycenou v síťce umístíme do vzorkovnice, zalijeme do  $\frac{3}{4}$  objemu čistou vodou z lokality a uzavřeme.
4. Zbývající substrát vrátíme na místo a odebereme do zásoby 2 l vody.

### ➤ Laboratorní chov



Obrázek 2: Příklad pomůcek pro chov lasturnatek: skleněný blok, set malých akvárií, pipeta.

**POMŮCKY:** Skleněný blok, malé akvárium, pipeta, potoční voda, motorek, hadička, vzduchovací kamínek, potrava (Obr. 2)

### **POSTUP:**

1. Z odebraného vzorku umístíme pipetou lasturnatky (ca po 10 ks) do nádobek s 30 ml vody (hloubka vody asi 1 cm).
2. Do nádobek umístíme kousek rozmraženého špenátu (3x3 mm).
3. Nádobky volně zakryjeme pro snížení odparu, popř. umístíme do větší plastové krabice s víkem.
4. Část vody a nespotebovanou potravu měníme 1x týdně.
5. Alternativně lze pipetou přenést lasturnatky do čisté nádobky s novou vodou.

### ➤ Dlouhodobé udržení chovů

#### *Cypridopsis vidua*

Nutnost pravidelné výměny vody (jinak dochází k namnožení nežádoucích organismů, zkažení vody a úhynu jedinců). Chov udržen přes 5 měsíců při  $t = 18\text{ °C}$  a dále pokračuje.

#### *Cypria reptans*

V chovech je závislá na přítomnosti substrátu (jemný bílý písek), značně aktivní druh z pramenných vod ( $t = 10\text{ °C}$ ). Nepozorován příjem nabízené potravy (špenát, akvaristická krmiva, patentky), přesto velmi aktivní a 2/3 jedinců vydržely bez rozmnožování v chovech přes 6 měsíců v dobré kondici a dále přežívají.

#### *Pseudocandona* sp.

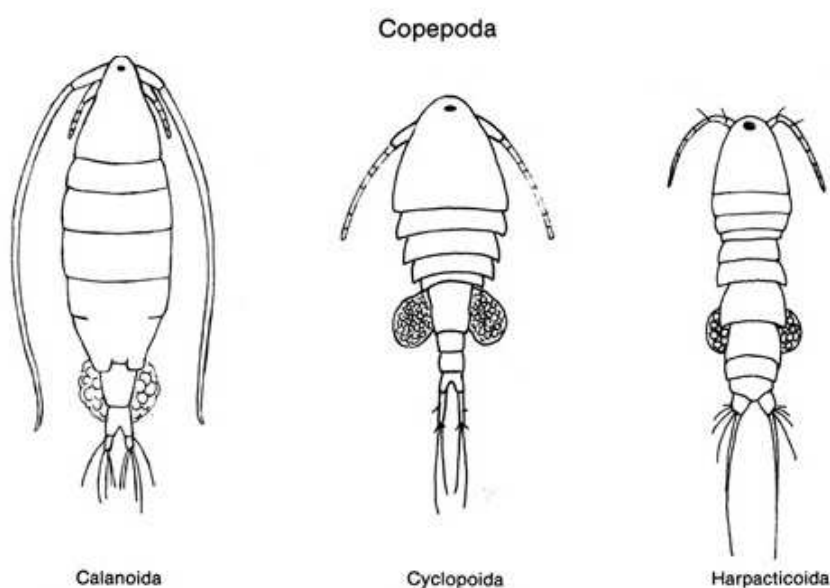
Jedinci z mělkých tůní, chov snadný při  $t = 18\text{ °C}$ , běží přes 5 měsíců, lasturnatky se nerozmnožují (zřejmě pouze 1x do roka na jaře).

#### *Tanycypris centa*

Chována od října 2018 při  $t = 18\text{ °C}$ .

## KLANONOŽCI (Copepoda)

Sladkovodní klanonožci střední Evropy jsou zastoupeni primárně třemi velkými skupinami odlišných ekologických nároků a to vznášivkami (Calanoida) – planktonní korýši; buchankami (Cyclopoida) – částečně bentické, hlavně však planktonní korýši; a plazivkami (Harpacticoida) – výhradně bentickou skupinou (Obr. 3). Dorůstají velikosti od 350  $\mu\text{m}$  (plazivka obecná *Bryocamptus pygmaeus*) až po 1.5 mm (buchanka zelená *Megacyclops viridis*) a živí se detritem, řasami, rozsivkami (plazivky, buchanky), fytoplanktonem (vznášivky) i nauplii jiných korýšů a dalšími organismy (buchanky). V chovech jsme se soustředili na bentické zástupce klanonožců.



Obrázek 3: Srovnání tělního typu vznášivky (Calanoida), buchanky (Cyclopoida) a plazivky (Harpacticoida). Obrázek převzat z Training manual on Live feed for Marine finfish and shellfish culture (2016), upraven pro potřeby této publikace.

### ➤ Ekologické nároky buchanek a plazivek

Vyskytují se ve všech typech akvatických biotopů (tekoucí, stojaté vody, semi-akvatické biotopy jako vlhká opadanka, dendrotelmy, apod.). Centrum diversity a abundance však nacházíme v čistých, chladných, dobře okysličených vodách s dobrou dostupností organického materiálu jako jsou prameny (Obr. 4), bystřiny, potoky a říčky v přírodě blízkém stavu. Písčité dno s přiměřenou kumulací organického materiálu představuje ideální habitat, v němž lze odebrat vzorek se stovkami dobře prospívajících jedinců běžných, pro laboratorní podmínky vhodných, druhů a to jak buchanek, tak plazivek. Obě skupiny snášejí dobře neutrální pH (7–7.5), teploty v rozmezí 8–20 °C napříč sezonou a konduktivitu do 500  $\mu\text{S/cm}$ . Nicméně jejich ideálním prostředím je pH kolem 8 (bazické) a teplota kolem 12–15 °C většinu sezony (Příloha 1). Plazivky rovněž preferují přítomnost substrátu, který skýtá oporu a úkryt, proto jsou často nalézány i v mechových nárostech na kamenech v potocích. Rostlinka je vhodným doplňkem pro plazivky v chovných miskách. Naopak buchanky jsou

přizpůsobeny pohybu ve volné vodě těsně nad substrátem a podobnou rozmanitost habitatu neocení. Jemný písek s dostatkem rozkládajícího se organického materiálu i s přítomností dalších mikroorganismů, nad nímž bude přiměřený sloupec volné vody (např. 1–2 cm) jim poskytne dostatečné podmínky pro další růst a případné rozmnožování.

#### ➤ Metodika odběru



Obrázek 4: Mapa lokalit odběru klanonožců pro účely chovu.

**POMŮCKY:** Sítka o velikosti ok max. 100  $\mu\text{m}$ , cedník, nádobka z pevného materiálu, vzorkovnice o objemu 100 ml, nádoba o objemu 2 l

#### **POSTUP:**

1. Nádobkou nabere substrát s vodou, rukou otrháme trochu smáčeného mechu a směs propláchneme přes cedník a sítku.
2. V síťce zůstane nejjemnější substrát se zachycenými klanonožci – přeneseme jej do vzorkovnice i s trochou mechu, zalijeme do  $\frac{3}{4}$  objemu vodou z lokality a uzavřeme.
3. Hrubý substrát zachycený na cedníku smyjeme přímo na lokalitě.
4. Před odjezdem si do zásoby nabere na lokalitě 2 l vody.

#### ➤ Laboratorní chov

**POMŮCKY:** Skleněný blok, malé akvárium, pipeta, potoční voda, motorek, hadička, vzduchovací kamínek

## **POSTUP:**

1. Z odebraného vzorku přeneseme část substrátu pipetou na Petriho misku pod binokulární lupu a menší pipetou vybereme živé klanonožce, které přeneseme do skleněného bloku s připravenou čistou potoční vodou.
2. Klanonožcům do bloku přidáme část organického jemného substrátu ze vzorku (detrit, jejich potrava).
3. Skleněný blok přiklopíme pro snížení odparu a vložíme do termostatu o teplotě 10 °C.
4. Původní vzorek uschováme do termostatu vedle bloku a zavedeme vzduchování.
5. Jednou týdně blok kontrolujeme a v případě potřeby přikápneme potoční vodu nebo odstraníme rozložený detrit a přidáme čerstvý ze vzorku.
6. Po namnožení klanonožců můžeme část přenést do komůrky průtočného akvária (Obr. 2). V případě umístění průtočného akvária do pokojové teploty, jsou vhodnějšími organismy pro prezentaci buchanky, které snesou dlouhodobě vyšší teplotu než plazivky. Buchanky také dorůstají větších velikostí a jsou viditelné ve sloupci čisté vody i pouhým okem.

### **➤ Dlouhodobé udržení chovu**

#### **Buchanky**

Tato běžná skupina planktonu tekoucích vod se chová velmi nenáročně. Po celou dobu projektu (devět měsíců) se hojně rozmnožily v akváriích s raky ( $t = 18\text{ °C}$ ), kam byly zaneseny s potoční vodou. V odděleném chovu ve skleněném bloku se okamžitě začaly rozmnožovat (začátek s 5 jedinci) a bez vzduchování a obměny vody vydržely tři měsíce zvětšovat svoji populaci ( $t = 10\text{ °C}$ ) a nadále v tom pokračují.

#### **Plazivky**

Chovány od října 2018 při  $t = 10\text{ °C}$  v potoční vodě s kouskem mechové rostlinky a původním substrátem. Část vyhnula, jedna samice měla snůšku zřejmě jako důsledek oplodnění před odlovem. Vhodné zcela vyměňovat vodu v bloku 1x měsíčně. Jako potrava posloužila i část granule račí akvaristické potravy – přímo nepozorováno, redukce granule pozorována. Doporučeno začínat s minimálně 10 jedinci na skleněný blok k zajištění rozmnožování.



## RŮZNONOŽCI (Amphipoda)

Do podřádu různonožci (Amphipoda) řadíme námi chovanou skupinu blešivců. Na území České republiky se vyskytuje celkem dvanáct druhů blešivců, z toho pět druhů podzemních vod a sedm druhů povrchových vod. Jejich tělo je zpravidla článkované a laterálně zploštělé, hlava srůstá s prvním článkem hrudi v hlavohrud' (cephalothorax) a jejich končetiny jsou morfologicky i funkčně rozrůzněné (např. gnathopody, pereiopody, uropody, ad.). Pro člověka je tato skupina dlouhodobě zajímavá z ekologického i komerčního hlediska jako plnohodnotná potrava mnoha druhů ryb a ptáků, bioindikátor kvality vody a nepostradatelná součást koloběhu rozkladu organického odpadu (Hrdinová 2016). I proto je vhodným modelovým organismem nejen do výuky, ale také do výzkumu.

V potocích běžně nalézáme blešivce potočního (*Gammarus fossarum*), kterého jsme využili pro projekt chovů.

### ➤ Ekologické nároky blešivce potočního

Obývá typicky pstruhová a lipanová pásma (Obr. 5), nejvíce jedinců nacházíme v místech kumulace organického materiálu (např. zbytků rostlin), na němž se živí (Hortvíková 2014). Může se vyskytovat i v nižších úsecích toků, nemá-li konkurenci (např. blešivce obecného). Zásadní je čistota a nižší teplota vody. Teplotní optimum je kolem 15 °C, ale během sezóny snáší teploty 10–20 °C. S rostoucí teplotou roste lineárně rychlost příjmu potravy, po překročení 20°C se však příjem potravy postupně zpomaluje. Vyžaduje vyšší obsah kyslíku, ale snese i 7 mg/l (lipanové pásmo). Také mu vyhovuje neutrální až bazické pH (Příloha 1).

### ➤ Metodika odběru



Obrázek 5: Mapa lokality odběru blešivců pro účely chovu

**POMŮCKY:** Cedník, vzorkovnice o objemu 200 ml, nádoba o objemu 2x10 l, kyblík, pinzeta

## **POSTUP:**

1. Do vzorkovnice nabereme do poloviny čistou vodu.
2. Cedníkem nabereme na okraji toku rozkládající se rostlinné zbytky (např. listí).
3. Pinzetou z cedníku vybereme živé jedince blešivců a vložíme je rovnou do vzorkovnice
4. Vzorkovnici uzavřeme.
5. Do 2x10 l nádob nabereme čistou vodu
6. Do kyblíku natrháme z okolí potoka čerstvé habrové listí, které posléze necháme v laboratoři v lednici uschnout.

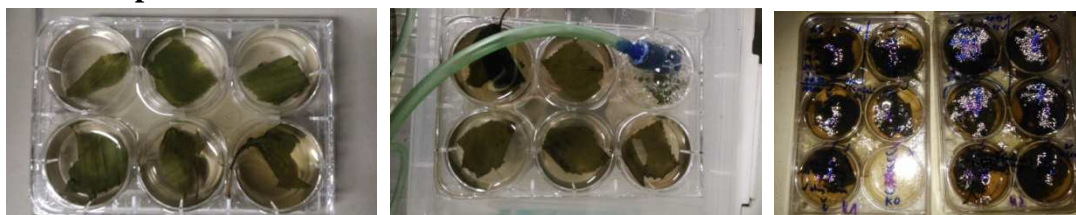
### ➤ **Laboratorní chov**

**POMŮCKY:** Plastový box 30x20 cm, vzduchovací technika, habrové listí, potoční voda

## **POSTUP:**

1. Do plastového boxu nalijeme vodu do výšky asi 5 cm.
2. Zavedeme vzduchování.
3. Přelijeme ze vzorkovnice blešivce.
4. Vložíme několik habrových listů (nezáleží na tom, jestli čerstvé nebo sušené).
5. Umístíme do termostatu s teplotou 15 °C a fotoperiodou 12/12.

### ➤ **Experiment**



Obrázek 6: Kultivační destičky v průběhu experimentu: založení pokusu, vzduchování během pokusu, změna barvy vody během pokusu

**POMŮCKY:** Dvě kultivační destičky s 6 jamkami, sušené habrové listí, potoční voda, vitální blešivci z laboratorního chovu

## **POSTUP:**

1. Naplníme jamky v destičkách potoční vodou
2. Do každé vložíme jednoho blešivce a kus habrového listu
3. Kultivační destičky přiklopíme víčkem a vložíme do termostatu při 10 °C
4. Dvakrát týdně kontrolujeme blešivce a provzdušníme po dobu asi 2 minut každou jamku zvlášť (Obr. 6).

### **➤ Dlouhodobé udržení chovu**

#### **Plastový box**

Při pravidelném čištění vody od rozloženého listí 1x měsíčně a dodávání nové potravy lze blešivce udržet v laboratoři v takto nastavených podmínkách po celou sezonu. Chován dva měsíce při  $t = 18\text{ °C}$  bez čistění, poté většina vymřela. Chov při 10 °C udržen přes 3 měsíce s jedním čištěním a dále pokračuje.

#### **Kultivační destičky**

Experiment běžel dva měsíce. Během chovu zahynuli pouze dva jedinci, zřejmě z důvodu infekce. Blešivci se v průběhu experimentu v jamkách bez stálého vzduchování aktivně živilí kouskovaním (potvrzeno zvyšující se přítomností výkalů), rostli a svlékali se. V případě nabídnutí uhynulých jedinců z plastového boxu přecházeli na živočišnou stravu. Až do konce experimentu vydrželi blešivci v dobrém stavu. Za celou dobu byla voda v jamkách vyměněna 1x.

Bez občasného provzdušnění by uhynul větší počet jedinců, jak jsme si potvrdili při výpadku vzduchování během jednoho týdne, kdy došlo k rychlé ztrátě aktivity a krmení se ze stran blešivců.

Paralelní pokus při 18 °C ukázal postupně se zvyšující míru úhynu, až k vymření všech jedinců po jednom měsíci i přes zavedené vzduchování 2x týdně. Navrhované vylepšení spočívá ve zvýšení četnosti vzduchování a obměně vody v jamce 1x za dva týdny.



## ŽÁBRONOŽCI (Branchiopoda)

Tato pestrá skupina vodních korýšů zahrnuje pět samostatných taxonomických skupin – žábronožky (Anostraca), listonohy (Notostraca), škeblovky (Spinicaudata), hrašničky (Laevicaudata) a perloočky (Cladocera). Jedná se o velmi starobylou skupinu (přítomni ve fosilních záznamech od svrchního kambria, „živoucí fosilie“), jejímž společným morfoloogickým znakem jsou plochá žábra na bocích hrudních končetin. Právě tato jejich starobylost z nich činí výborný modelový organismus do výuky, kde je možné porovnat morfoloogickou rozmanitost korýšů a jejich životních cyklů a strategií napříč různými skupinami.

### ➤ Ekologické nároky velkých lupenonohých korýšů

V České republice je výskyt velkých lupenonohých korýšů (první čtyři skupiny) vázán na ohrožené efemérní biotopy (periodické tůně, a další vysychavá vodní tělesa). Ty jsou typické krátkou životností (vznik na jaře a existence do léta, kdy následkem sucha vysychají). Následkem této sezónnosti zde organismy produkují odolná vajíčka, která vzdorují vyschnutí, vymrznutí či trávicím procesům dalších živočichů. Teploty zde dosahují během sezony vyšších hodnot (kolem 20 °C), protože se stojatá, neproudící voda rychle prohřívá. Čím vyšší je teplota, tím rychleji probíhá životní cyklus lupenonožců – ta totiž indikuje, že brzy dojde k úplnému vyschnutí lokality a nedozrálá vajíčka zahynou spolu s dospělci (Merta et al. 2016).

Vazba lupenonožců na nestálé, z krajiny rychle mizející biotopy, z nich dělá extrémně ohrožené živočichy. Všechny druhy České republiky jsou považovány za kriticky ohrožené, některé dokonce za regionálně vymřelé (viz červený seznam, Farkač et al. 2005). Z toho důvodu se pro chov volí druhy americké (listonoh americký a žábronožka solná), které mají zcela jiné nároky na prostředí a životní cyklus.

## LISTONOH AMERICKÝ (*Triops longicaudatus*)

### ➤ Ekologické nároky

Tento druh listonoha se přirozeně vyskytuje v oligotrofních vodách s neutrálním až bazickým pH jako je např. dešťová voda vytvářející jezírka a tůňky na mírně bazickém podloží. Podobně jako ostatní členové skupiny listonohů je teplomilný, vajíčka se líhnou při teplotě nad 20 °C. Mladí listonohové jsou všežraví (fyto- a zooplankton), starší jedinci upřednostňují bílkovinnou složku potravy (nauplia, žábronožky, perloočky a další živočichové, kteří k nim napadají na hladinu).

### ➤ Laboratorní chov



Obrázek 7: Plastový box a krmivo pro listonohy.

**POMŮCKY:** kádinka (či jiná vhodná nádoba), osmotická voda (vodivost  $<30 \mu\text{S}/\text{cm}$ ), vajíčka listonohů, krmivo pro listonohy, alobal, lžice, pipeta

### **POSTUP:**

1. Kádinku naplníme 500 ml osmotické vody.
2. Nasypeme do ní vajíčka listonohů a zakryjeme alobalem.
3. Po 24–48 hodinách se vylíhnou malí listonohové.
4. Jakmile se objeví první nauplia, rozdrtíme na prach krmivo pro listonohy a nasypeme ho do kádinky – zamícháme, aby se volně rozptýlilo ve vodě.
5. Po 24 hodinách přeneseme pipetou listonohy do druhé nádoby s čistou osmotickou vodou a opět je nakrmíme prachem.
6. Přenášíme listonohy do čisté vody, dokud nedorostou alespoň 5 mm, poté přenášíme listonohy do čisté vody 1x3 dny.
7. Krmíme vždy po přenosu do čisté vody.

### ➤ Dlouhodobé udržení chovu

Hlavní problematikou chovu listonohů je rychlé špinění vody a tím pádem stoupající vodivost osmotické vody, která je pro listonoha amerického zásadní podmínkou pro chov (Tab. 3).

Tabulka 3: Porovnání změny vodivosti a pH osmotické vody po přidání různého typu potravy

typ	pH	vodivost ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )
osmotická	8.3	29.4
osmotická + krmivo pro list.	8.3 -> 8.3	29.7 -> 36.2
osmotická + <i>Scenedesmus</i>	8.3 -> 7.8	29.4 -> 49.7

Listonoha se nepodařilo v chovu udržet déle než týden a to vždy jen postupně se líhnoucí nové jedince, nejstarší listonoh se dožil čtyř dní. Během opakovaných pokusů jsme se dostali na úroveň čištění vody jednou za dva dny a krmení oběma typy potravy – specializovaným žrádlem a řasou. Pro další pokusy navrhujeme krmení výhradně nejmenno rozdrceným krmivem pro listonohy (méně znečišťuje vodu) a výměnu vody každý den či obden.

## ŽÁBRONOŽKA SOLNÁ (*Artemia salina*)

### ➤ Ekologické nároky

Rod *Artemia* je kosmopolitně rozšířen ve slaných jezerech, pobřežních lagunách a solných dolech. Vyžaduje prostředí s vysokou salinitou a suchým klimatem. V podobě cyst přežívá chladné zimy, v létě vyžaduje vysoké teploty do 35 °C (Příloha 1).

### ➤ Laboratorní chov



Obrázek 8: Pomůcky k chovu žábřonožek – směs (vajíčka, sůl, spirulina), nádoba s vajíčky a vzduchováním (kamínek, hadička a motorek), kádinka se vzduchováním, alobalem a čerstvě vylíhnutými žábřonožkami.

**POMŮCKY:** kádinka (či jiná vhodná nádoba), motorek, hadička, vzduchovací kamínek, mořská sůl, SeraMix vajíčka žábřonožek (obsahuje i sůl a spirulinu, Obr. 8), kohoutková voda, alobal, krmivo pro krevety

### **POSTUP:**

1. Naplníme kádinku 618 g 3% solného roztoku (600 ml kohoutkové vody, 18 g mořské soli).
2. Zavedeme vzduchování a přiklopíme kádinku alobalem.
3. Necháme vzduchování po 12 hodin (nejlépe přes noc) při pokojové teplotě (22 °C).
4. Nasypeme čajovou lžící směsí s vajíčky a za stálého vzduchování ponecháme při přirozeném světelném režimu (10/14 – 14/10 – podle ročního období) 24 hodin do vylíhnutí.
5. Jakmile se objeví první nauplia, rozmělníme granule krmiva pro krevety na jemný prášek a rozprášíme do kádinky – vzduchovací kamínek vytáhneme k hladině, aby voda proudila, ale nauplia nebyla strhávána – až se potrava rozptýlí, vzduchování vypneme.
6. Krmíme dvakrát denně řasou *Scenedesmus*, vzduchujeme dvakrát denně (ráno, večer).

### ➤ Dlouhodobé udržení chovu

Původní pokusy založení chovu byly neúspěšné kvůli vyschlým vajíčkům (neklesají ke dnu, ale plavou na hladině).

Pravidelné krmení řasou a občasný příkrm nejmenno rozdrcenými granulemi pro krevety se osvědčil pro odchování žábřonožek do dospělosti (přes 1 cm délka těla). Chov byl díky tomu nakonec udržen přes měsíc a dále pokračuje.

## RACI (Astacidea)

V České republice žije celkem 6 zástupců sladkovodních desetinožců, z toho 5 druhů raků a 1 nepůvodní druh kraba. Mezi původní druhy raků na našem území patří rak říční (*Astacus astacus*) a rak kamenáč (*Austropotamobius torrentium*), kteří jsou zákonem chráněni jako kriticky ohrožené druhy. Introdukovaný a na našem území zřejmě i původní (původ zatím nedořešen) je rak bahenní (*Astacus leptodactylus*), který je chráněn jako ohrožený druh. Mezi poslední dva nepůvodní druhy patří rak pruhovaný (*Orconectes limosus*) a rak signální (*Pacifastacus leniusculus*). Oba jsou původem ze severní Ameriky a jsou přenašeči račího moru.

Posledně jmenovaný byl poprvé dovezen do Švédska v roce 1959 a později v roce 1980 do ČR pro účely chovu pro konzumaci a prodej. Dorůstá až 16 cm a dožívá se 20 let. Je podobný raku říčnímu, ale povrch krunýře je hladký a kloub na klepetech nese charakteristickou bílou skvrnu. Buduje nory v březích, migruje vodní sítí a je tolerantní jak k mírnému znečištění, tak k vyšším teplotám (Příloha 1, Štambergová et al. 2009, Řezníčková et al. 2015).

### ➤ Ekologické nároky raka signálního

U Brna se populace raka signálního přirozeně vyskytuje v říčce Bobravě (Obr. 5), z níž jsou raci dlouhodobě odebíráni pro účely výuky na univerzitě. Bobrava leží v poměrně teplé a suché oblasti s průměrnými ročními srážkami 550 mm/rok. V létě dosahují teploty vody až 20 °C. Břehy jsou v nezpevněných úsecích bahnitě a poskytují rakům ideální substrát pro hrabání nor. Juvenilní jedinci přijímají více živočišné potravy než dospělci, kteří jsou spíše všežravci a preferují rostlinnou stravu.

### ➤ Laboratorní chov



Obrázek 9: Pomůcky pro chov raků (akvaristické krmivo, akvárium, plastový box)

**POMŮCKY:** akvárium, vzduchovací motorek, vzduchovací kamínek, hadička, potoční voda, destilovaná voda s pH = 8.5, kamínky a větvičky z lokality, akvaristické krmivo.

### **POSTUP:**

1. Juvenilové byli odloveni v potoku.

2. V laboratoři byli jedinci umístěni při 15 °C do akvária naplněným do výšky 10 cm potoční vodou (pH = 8.15), se zavedeným vzduchováním a dnem upraveným kamínky a větvičkami nasbíranými na lokalitě.

3. Raci byli první dny krmeni živými blešivci, poté byli převedeni na akvaristickou potravu TetraMenu pro raky s vyšším obsahem bílkovinné složky.

4. Krmení dvakrát týdně, kontrola vodivosti a výměna části vody při zvýšení vodivosti nad 1000  $\mu\text{S}/\text{cm}$ .

5. Postupné zvyšování teploty po dvou-třech týdnech o stupeň až na 18 °C a posléze na 20 °C. V zimním období doporučeno snížení teploty zpět na 15 °C.

### ➤ Dlouhodobé udržení chovu

#### 1) Agresivita u raků

Po odchycení dvou juvenilů raka signálního byli oba jedinci umístěni společně do akvária. Po prvních týdnech chovu přišel menší rak (Ernie) o první klepeto, po prvním svlékání obou raků v chovu došlo k další agresivitě ze stran většího raka (Bert) a Ernie přišel o obě klepeta. Museli být tedy po asi měsíci a půl rozděleni do oddělených nádob a chováni nadále zvlášť. Během následujících dvou svlékání dorostla Ernie klepeta, Bert i nadále vykazuje agresivitu vůči jakémukoliv pohybu nad hladinou (Obr. 10).



Obrázek 10: Ukázka agresivního a výstražného chování.

#### 2) Kazící se voda

V prvních měsících se potoční voda při 18 °C v přítomnosti dvou raků a blešivců (zpočátku jako račí potrava) rychle kazila (vodivost přesahovala v některých okamžicích i 1300  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ). Z toho důvodu byla potoční voda ředěna destilovanou vodou (4  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , pH = 8.5) až na udržitelnou vodivost 800–900  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . Po oddělení raků a přechodu na akvaristické krmivo pro koryše se kažení vody výrazně zpomalilo, zvláště po kompletní výměně vody za zředěnou (destilovaná + potoční, vodivost = 650  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ).

#### 3) Úspěšný růst

Celkově je chov raků velmi nenáročný a intuitivní. Byli chováni od dubna až do současnosti, voda byla vyměněna 4x za 9 měsíců, raci se 4x svlékli a dále rostou.

## SEZNAM LITERATURY

Meisch C. 2000: Freshwater Ostracoda of Western and Central Europe. Spektrum Akademische Verlag, Heidelberg, Berlin.

Dole-Olivier M., Galassi D., Marmonier P., Creuzé des Chatelliers M. 2000: The biology and ecology of lotic microcrustaceans. *Freshwater Biology* 44, 63-91.

Hřívová D. 2011: Životní strategie a vývoj plazivek (Copepoda: Harpacticoida): studie modelového druhu z čeledi Canthocamptidae. Bakalářská práce, Masarykova univerzita, Brno.

Janetzky W., Enderle R., Noodt W. 1996: Crustacea: Copepoda. In: Süßwasserfauna von Mitteleuropa. Gustav Fisher, Stuttgart.

Hortvíková M. 2014: Drtič *Gammarus fossarum* v roli inženýra: predační efekt blešivce potočního na společenstvo larev pakomárů. Bakalářská práce, Masarykova univerzita, Brno.

Hrdinová M. 2016: Diverzita, distribuce a ekologie epigeických blešivců v České republice. Bakalářská práce, Univerzita Karlova v Praze.

Farkač J., Král D., Škorpík M. 2005: Červený seznam ohrožených druhů České republiky – Bezobratlí. AOPK ČR, Praha.

Merta L., Zavadil V., Sychra J. 2016: Atlas rozšíření velkých lupenonožců České republiky. AOPK ČR, Praha.

Čapková Z. 2007: Akutní toxicita thiosalicylanilidů pomocí nižších organismů. Diplomová práce, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze.

<http://www.amphibianark.org/pdf/Husbandry/Live%20food%20culture.pdf>

Řezníčková P., Jurek L., Mareš L. 2015: Raci a krabi – desetinožci (Decapoda). [https://web2.mendelu.cz/af\\_291\\_projekty/files/23/23-raci\\_fin.pdf](https://web2.mendelu.cz/af_291_projekty/files/23/23-raci_fin.pdf)

Štamberová M., Svobodová J., Kozubíková E. 2009: Raci v České republice. Metodika AOPK ČR. Praha 2009.

# PŘÍLOHY

## Příloha 1: Ekologické nároky chovaných druhů dle literatury

(viz kompletní Seznam literatury)

druh	t (°C)	O <sub>2</sub> (mg/l)	pH	svlékání	max dožití	letalita	světlo	voda	potrava
Rak signální <i>Pacifastacus leniusculus</i>	20	nad 7		1x ročně (juvenilové až 10x za rok)	20 let	toxické vysoká teplota ve spojení s eutrofizací	sinice ve s 14/10-16/8	toleruje salinitu 0–21%	všežravec (zetlelý organický materiál, uhynulí živočichové), juvenilové preferují živočišnou potravu
Listonoh americký <i>Triops longicaudatus</i>	23		bazické (kolem 8)	-	2 měsíce	-	-	osmotická voda, vodivost méně než 40 µS	žábronožky, bezobratlí
Žábronožka solná <i>Artemia salina</i>	23–29	nad 8		-	4 měsíce	-	14/10	20–22 % salinity (změna furky podle salinity), kolem 150 ppt optimum (= 15 %)	filtrace z vodního sloupce (řasy)
Blešivci	15	8–12	7–9	-	-	-	-	dobře okysličená	ve vodě tlející rostlinné zbytky
Lasturnatky		nad 8	7.8	-	Měsíce - rok	-	-		živočišné a rostlinné zbytky
Bentičtí klanonožci	12–18	nad 8	7–8	1x za stádium do dosažení dospělosti	Měsíce - rok	toxická, vodivost, teplota	vysoká vysoká 12/12	vodivost do 1500 µS	nárasty mikroorganismů, řasy, nauplia

## Příloha 2: Iniciální nastavení chovů v laboratoři

druh	t (°C)	O <sub>2</sub>	pH	voda	fotoperioda	potrava
Rak signální <i>Pacifastacus leniusculus</i>	18	98 %	8.15	potoční zdrojová	14/10	mikroorganismy a organická hmota dovezená z lokality
Listonoh americký <i>Triops longicaudatus</i>	23	90 %	7.5	osmotická	12/12	fyto- a zooplankton
Žábronožka solná <i>Artemia salina</i>	23	98 %	7.5	odstátá kohoutková	12/12	řasy, rozsivky, apod.
Blešivci	15	98 %	8.15	potoční zdrojová	14/10	habrové listí
Lasturnatky	10.5			voda z lokality	14/10	org. zbytky z lokality
Bentičtí klanonožci (plazivky a buchanky)	10.5	-	-	voda z lokality	14/10	org. zbytky z lokality
	10.5	8.5, 91 %	8.03	voda z lokality	14/10	org. zbytky z lokality



### **Příloha 3: Kultura řasy *Scenedesmus***

**POMŮCKY:** 0.25l Z média, 0.25l BB média, 5 ml kultury řasy *Scenedesmus*, baňka o objemu 1 l, volný špunt, vzduchování

#### **POSTUP:**

1. V baňce smícháme Z a BB média a doplníme do objemu 1 l destilovanou vodou.
2. Přelijeme do připraveného média čistou kulturu řasy *Scenedesmus*.
3. Můžeme zavést do baňky vzduchování, ale řasy se budou množit i bez něj.
4. Uzavřeme baňku volným špuntem a umístíme do 18–20 °C.
5. Pokud jsme nezavedli vzduchování, příležitostně obsah promícháme.



Obrázek 11: Čistá kultura řasy *Scenedesmus* pro účely krmení herbivorů.