

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra etologie a zájmových chovů



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Vliv chovatelského prostředí a krmné dávky na vybrané
mikrobiální skupiny v trávicím traktu mravenečníka
čtyřprstého (*Tamandua tetradactyla*)**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Anna Košatová

Obor studia: Zájmové chovy zvířat

Vedoucí práce: Ing. Petra Bolechová, Ph.D.

© 2023 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci " Vliv chovatelského prostředí a krmné dávky na vybrané mikrobiální skupiny v trávicím traktu mravenečnicka čtyřprstého (*Tamandua tetradactyla*)" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14. dubna 2023

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala mé vedoucí diplomové práce, Ing. Petře Bolechové, Ph.D., za odbornou konzultaci, cenné rady a její trpělivost. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Elišce Barcalové za vstřícné a milé podání veškerých informací důležitých pro mou diplomovou práci, současně bych ráda poděkovala Dipl.Ing. Jitce Vokurkové rovněž za sdělení všech potřebných informací, Sáře Pálové za její čas a rovněž poskytnutí informací, dále bych chtěla poděkovat soukromému chovateli, doc. Bunešové za odbornou konzultaci a doktorandovi Ahmadu Aminovi za vedení mikrobiologické analýzy v laboratoři na Katedře mikrobiologie, výživy a dietetiky ČZU v Praze, a nakonec bych moc ráda poděkovala mým rodičům a hlavně mému příteli za veškerou jeho podporu při psaní této diplomové práce.

Vliv chovatelského prostředí a krmné dávky na vybrané mikrobiální skupiny v trávicím traktu mravenečnicka čtyřprstého (*Tamandua tetradactyla*)

Souhrn

Z hlediska vysoce specializovaného typu potravy je pro chovatele v lidské péči velice obtížné zajistit pro mravenečnický čtyřprstý dostatečné množství živin, které mravenečnicki přijímají ve svém přirozeném prostředí.

V současné době řada institucí aplikuje plně hmyzožravou potravu v podobě komerční směsi Granovit - Insectivore with insect meal (© Granovit AG, Švýcarsko). Tento produkt byl navržen tak, aby obsahoval základní vitamíny, minerály, včetně chitinu a kyseliny mravenčí, aby byly jedincům dodány všechny potřebné živiny.

Na základě problémů spojených s výživou a reprodukcí tohoto druhu v lidské péči byly v této studii porovnávány dva základní faktory působící na bakteriální složení mikrobiomu mravenečnicků čtyřprstých. Prvním faktorem byl vliv chovatelského prostředí na vybrané mikrobiální skupiny (potencionální patogen bakterie rodu klostridie, bifidobakterie, laktobacily + pediokoky a patogenní *Escherichia coli*), neboť mikrobiom savců neovlivňuje pouze složení krmné dávky, ale rovněž různé změny v chovatelském prostředí (restrikce ve výživě, omezený kontakt s jinými druhy, výskyt lidských mikrobů). Druhým faktorem byl typ krmné dávky. V této práci byly porovnávány dva typy krmné dávky, jedna krmná dávka byla tvořena právě komerční krmnou směsí a druhý typ KD představovala vlastní krmná dávka, přičemž byly u těchto KD propočítány základní nutriční hodnoty. Současně byla provedena mikrobiologická analýza ze vzorků výkalů mravenečnicka čtyřprstého pro získání průměrného zastoupení WSP celkového počtu anaerobních bakterií a pro získání průměrného zastoupení vybraných mikrobiálních skupin (potencionální patogen bakterie rodu klostridie, bifidobakterie, laktobacily + pediokoky a patogenní *Escherichia coli*).

Tato studie potvrdila vliv krmné dávky na skladbu mikrobioty u mravenečnicků čtyřprstých chovaných v lidské péči a vyhodnotila, jaký typ námi sledovaných faktorů měl statisticky významný vliv na určitou mikrobiální skupinu. Zároveň také přinesla nový pohled na možnou pozitivní funkci klostridií v mikrobiomu mravenečnicka čtyřprstého. Přičemž z výsledku vyplývá, že klostridie, ačkoliv jsou v některých případech považovány za patogeny, v mikrobiomu mravenečnicků mohou hrát důležitou roli při metabolismu sacharidů a rovněž mohou hrát určitou úlohu při vstřebávání chitinu, přijímaného spolu s přirozenou potravou mravenečnicků čtyřprstých.

Klíčová slova: *Tamandua*, krmná dávka, zoohygiena, mikrobiální kmeny

Influence of breeding environment and diet on selected microbial groups in the digestive tract of southern tamandua (*Tamandua tetradactyla*)

Summary

Because of the highly specialized type of food, it is very difficult for human keepers to provide the four-toed anteaters with sufficient nutrients that the anteaters consume in their natural habitat.

Currently, many institutions are applying a fully insectivorous food in the form of a commercial Granovit - Insectivore with insect meal (© Granovit AG, Switzerland). This product has been designed to contain essential vitamins, minerals, including chitin and formic acid, to ensure that all the necessary nutrients are supplied to the individual.

Based on the problems associated with the nutrition and reproduction of this species in human care, two main factors acting on the bacterial composition of the microbiome of four-toed ants were compared in this study. The first factor was the effect of the husbandry environment on selected microbial groups (potential pathogenic bacteria of the genus *Clostridia*, bifidobacteria, lactobacilli + pediococci and pathogenic *Escherichia coli*), as the mammalian microbiome is not only influenced by the composition of the diet, but also by various changes in the husbandry environment (dietary restrictions, limited contact with other species, presence of human microbes). The second factor was the type of feed ration. In this study, two types of ration were compared, one ration was composed of a commercial compound feed and the other type of KD was a custom ration, and baseline nutritional values were calculated for these KDs. At the same time, microbiological analysis was carried out from the fecal samples of the four-toed anteater to obtain the average WSP of total anaerobic bacteria and to obtain the average WSP of selected microbial groups (potential pathogenic bacteria of the genus *Clostridia*, bifidobacteria, lactobacilli + pediococci and pathogenic *Escherichia coli*).

This study confirmed the effect of dietary intake on microbiota composition in human-reared four-toed ants and evaluated which type of factors we observed had a statistically significant effect on a particular microbial group. It also provided new insights into the possible positive function of clostridia in the microbiome of the four-toed anteater. In doing so, the results suggest that clostridia, although considered pathogens in some cases, may play an important role in the ant microbiome in carbohydrate metabolism and may also play a role in the absorption of chitin taken in with the natural diet of four-toed anteaters.

Keywords: Tamandua, feed ration, zoohygiene, microbial strains

Obsah

1 Úvod	10
2 Vědecká hypotéza a cíle práce	12
2.1 Vědecké hypotézy	12
2.2 Cíle práce	12
3 Literární rešerše	13
3.1 Stručný vývoj taxonomie	13
3.2 Biologie mravenečníka čtyřprstého (<i>Tamandua tetradactyla</i>)	15
3.2.1 Rozšíření	16
3.2.2 Morfologie	17
3.2.3 Potravní chování ve volné přírodě	18
3.2.3.1 Potravní specializace	19
3.2.3.2 Preferované druhy mravenců a termitů v potravě mravenečníka čtyřprstého .	19
3.2.4 Anatomie a fyziologie trávicí soustavy	20
3.3 Chov v lidské péči	22
3.4 Výživa mravenečníka čtyřprstého v lidské péči	23
3.4.1 Mikrobiom	23
3.4.2 Klinické poruchy mravenečníků	25
3.4.2.1 Agens	27
4 Metodika	28
4.1 Složení krmných dávek	28
4.1.1 Zoo Olomouc	29
4.1.2 Zoo Ústí nad Labem	30
4.1.3 Zoo Lešná	31
4.1.4 Soukromý chov	31
4.2 Terénní část	32
4.2.1 Sběr vzorků pro mikrobiální analýzu	32
4.2.2 Sběr informací o chovatelském prostředí, krmné dávce a samotný svoz vzorků	33
4.2.3 Analýza vzorků	33
4.2.3.1 Mikrobiologická analýza	33
4.3 Chovatelské prostředí a informace o jednotlivých jedincích	36
4.3.1 Zoo Olomouc	36
4.3.2 Zoo Ústí nad Labem	37
4.3.3 Zoo Lešná	39
4.3.4 Soukromý chov	40
5 Výsledky	41

5.1	Nutriční složení jednotlivých krmných dávek.....	41
5.2	Výsledky mikrobiologické analýzy	42
5.3	Chovatelské prostředí	46
5.4	Statistické vyhodnocení.....	48
6	Diskuze	54
6.1	Nutriční složení krmných dávek	54
6.2	Mikrobiologická analýza.....	56
6.3	Chovatelské prostředí	57
6.4	Statistické vyhodnocení.....	59
7	Závěr	60
8	Literatura.....	61
9	Samostatné přílohy	I

Seznam obrázků

Obrázek 1: přední končetiny samice mravenečnicka čtyřprstého - Zoo Olomouc (Autor: Košatová, 2022)	16
Obrázek 2: výskyt mravenečnicka čtyřprstého (Autor: Klabin, 2023).....	17
Obrázek 3: samec mravenečnicka čtyřprstého - Zoo Ústí nad Labem (Autor: Košatová, 2022)	18
Obrázek 4: krmné místomravenečnicků čtyřprstých ve vnitřním výběhu - Zoo Olomouc (Autor: Košatová, 2022)	30
Obrázek 5: krmné místo mravenečnicků čtyřprstých ve vnitřním výběhu - Zoo Ústí nad Labem (Autor: Košatová, 2022).....	30
Obrázek 6: krmná nádoba s obsahem krmné směsi (Granovit + voda) v konzistenci řídké kaše - Zoo Lešná (Autor: Košatová, 2022).....	31
Obrázek 7: Petriho misky připravené na rozbor a na levé straně ředící řada (Autor: Košatová, 2022)	36
Obrázek 8: venkovní výběh mravenečnicků čtyřprstých - Zoo Olomouc (Autor: Košatová, 2022)	37
Obrázek 9: mravenečnick čtyřprstý a lenochod dvouprstý ve vnitřním výběhu - Zoo Olomouc (Autor: Košatová, 2022)	37
Obrázek 10: vnitřní výběh mravenečnicků čtyřprstých - Zoo Ústí nad Labem (Autor: Košatová, 2022)	38
Obrázek 11: samec mravenečnicka čtyřprstého se samcem chvostanabělolícího ve venkovním výběhu - Zoo Ústí nad Labem (Autor: Košatová, 2022).....	38
Obrázek 12: venkovní výběh mravenečnicků čtyřprstých - Zoo Ústí nad Labem (Autor: Košatová, 2022)	39
Obrázek 13: vnitřní výběh mravenečnicka čtyřprstého – Zoo Lešná (Autor: Košatová, 2022)	40
Obrázek 14: venkovní výběh mravenečnicka čtyřprstého – Zoo Lešná (Autor: Košatová, 2022)	40

Seznam tabulek

Tabulka 1: souhrnný počet jedinců	28
Tabulka 2: frekvence předkládání krmných dávek v jednotlivých zařízeních	29
Tabulka 3: nejčastěji detekované rody a druhy v mikrobiomu mravenečnicka čtyřprstého metodou MALDI TOF MS	45
Tabulka 4: charakteristika chovatelského prostředí zaměřená na ubikaci	46
Tabulka 5: charakteristika chovatelského prostředí zaměřená na KD a antibiotickou léčbu.....	48
Tabulka 6: výstup korelační analýzy popisující závislost WSP, klostridií, laktobacilů a <i>E. coli</i> na dvou faktorech Zoo a KD	49

Seznam grafů

Graf 1: procentuální zastoupení základních nutričních složek mezi jednotlivými chovnými zařízeními	41
Graf 2: znázornění průměru a SD – celkových počtů anaerobních bakterií.....	43
Graf 3: znázornění průměru a SD – celkového počtu klostridií v mikrobiomu jednotlivých jedinců	43

Graf 4: znázornění průměru a SD – celkového počtu laktobacilů a pediokoků v mikrobiomu jednotlivých jedinců	44
Graf 5: znázornění průměru a SD – celkového počtu <i>Escherichia coli</i> v mikrobiomu jednotlivých jedinců	45
Graf 6: korelační analýza závislosti WSP na typu chovatelského prostředí	50
Graf 7: korelační analýza závislosti WSP na typu KD	50
Graf 8: korelační analýza závislosti klostridií na typu chovatelského prostředí	51
Graf 9: korelační analýza závislosti klostridií na typu KD	51
Graf 10: korelační analýza závislosti laktobacilů na typu chovatelského prostředí	52
Graf 11: korelační analýza závislosti laktobacilů na typu KD	52
Graf 12: korelační analýza závislosti <i>E. coli</i> na typu chovatelského prostředí	53
Graf 13: korelační analýza závislosti <i>E. coli</i> na typu KD	53

1 Úvod

Hlavním zdrojem potravy pro mravenečníky v jejich přirozeném prostředí jsou mravenci a termiti, jejichž exoskelety obsahují velký podíl bílkovin a chitinu (Oyarzun et al. 1996; Rodrigues et al. 2008; Gallo et al. 2017; Ma et al. 2018). Ve volné přírodě při požívání mravenců do sebe současně mravenečníci vpravují drobné množství hlíny (Gallo et al. 2017).

Mravenečníci jsou na příjem mravenců a termitů vysoce specializováni (Hayssen 2011; Gallo et al. 2017), jejich tlama je úzká, protáhlá a zakončena malými ústy (Firmino et al. 2019). Uvnitř tlamy mravenečníků se nachází zatažitelný jazyk pokrytý vazkými slinami, který jim slouží k odchytu jejich přirozené potravy (Diniz et al. 1995). Vazkost jazyka je docílena velkými submandibulárními (podčelistními) slinnými žlázami (Costa-Neto 2000; Firmino et al. 2019). Mravenečníci jsou jedinými pravými zástupci nadřádu Xenartha (chudozubí), poněvadž pouze tento druh zuby zcela postrádá (Diniz et al. 1995).

Vysoce specializované potravní nároky tohoto druhu způsobují chovatelům v zoologických zahradách značné problémy ohledně sestavení vhodné krmné dávky. Ta je důležitá pro udržení zdravé kondice jedinců chovaných v lidské péči. Poněvadž zachování minimální životaschopné populace tohoto druhu v lidské péči je velice důležité, neboť tato zvířata vykazují nízkou přirozenou míru populačního růstu (Reisfeld et al. 2013). Na základě krmné dávky je důležité jedincům dodat všechny potřebné živiny a současně tak zachovat přirozené složení střevních společenstev v mikrobiomu tohoto druhu.

Řada institucí v současné době aplikuje plně hmyzožravou potravu v podobě komerční směsi Granovit - Insectivore with insect meal (© Granovit AG, Švýcarsko). Tento produkt byl navržen tak, aby obsahoval základní vitamíny, minerály, včetně chitinu a kyseliny mravenčí, aby byly uspokojeny přirozené potravní nároky mravenečníků. Nicméně krmení jedinců touto komerčně vyráběnou potravou se značně liší od přijímání velkého množství mravenců a termitů, které tato zvířata konzumují ve volné přírodě, což by mohlo vysvětlovat určité rozdíly v rámci bakteriálního složení nebo relativní početnosti různých bakteriálních taxonů v mikrobiomu jedinců chovaných v lidské péči (Delsuc et al. 2014; McKenzie et al. 2017), avšak k celkovému snížení diverzity střevních společenstev v lidské péči na rozdíl od ostatních druhů u mravenečníků nedošlo (McKenzie et al. 2017).

Mikrobiom jedinců chovaných v lidské péči neovlivňuje pouze složení krmné dávky, ale současně také různé změny v managementu chovu. Jimiž jsou například antibiotické a další veterinární zásahy, značně omezený výběh, omezený kontakt s různými typy prostředí, omezené interakce s jinými živočišnými druhy a zvýšená interakce s lidskými mikroby či s mikroby, které prosperují v zástavbě (Hyde et al. 2016; McKenzie et al. 2017).

Mravenečníci chováni v lidské péči trpí (jsou postihováni) mnoha onemocněními, nejčastější klinické poruchy jsou úzce spjaty právě s managementem chovu, kdy převážnou část tvoří poruchy týkající se oblasti výživy. Výživovými poruchami u jedinců v lidské péči bývá špatné vstřebávání živin nebo jejich deficit. V nedostatečném množství byl u těchto jedinců detekován taurin, vitamin K a A (Reisfeld et al. 2013). Při obtížích trávicího ústrojí dochází u tohoto druhu například k výskytu Enteritidy neboli zánětu tenkého střeva, či nejčastěji k výskytu nespecifických průjemových onemocnění (Diniz et al. 1995). Patogenními bakteriemi detekovanými ve výkalech mravenečníků chovaných v lidské péči byly

Salmonella enteritidis, *S. cholerasuis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Streptococcus spp* a *Staphylococcus spp*.

Nízká úspěšnost chovu mravenečníků čtyřprstých v severoamerických a jihoamerických zoologických zahradách během dřívějších let pravděpodobně souvisí právě s jejich specializovanými potravními nároky a trávicími problémy (Meritt 1975; Meritt 1976; Oyarzun et al. 1996).

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

2.1 Vědecké hypotézy

V této práci byly stanoveny následující vědecké hypotézy, týkající se porovnávání komerční krmné směsi s vlastní krmnou směsí, na základě kvantitativních zastoupení mikrobiálních skupin ve výkalech:

„Typ krmné směsi bude ovlivňovat kvantitativní zastoupení stanovených mikrobiálních skupin ve výkalech“.

„Při krmení komerční směsí obsahující probiotika a prebiotika, bude zastoupení bifidobakterií a laktobacilů vyšší, než při krmení vlastní směsí“.

„Prevalence patogenů získaných z chovatelského prostředí bude ve výkalech nižší při krmení krmné dávky s probiotiky, než při krmení vlastní směsí“.

2.2 Cíle práce

Cílem práce je porovnání faktorů prostředí (především mikroklima) a typu krmné dávky na složení vybraných mikrobiálních skupin v trávicím traktu mravenečnicka (*Tamandua tetradactyla*), které následně ovlivňují celkovou imunitu organismu. Zdravotní stav je úzce propojen s reprodukčním úspěchem.

Vzhledem k potravní specializaci tohoto druhu je náhradní potrava velmi obtížná. Nicméně v poslední době se dostávají na trh speciální směsi obohacené i o probiotika a prebiotika, které by měly napomoci správnému mikrobiálnímu osídlení trávicího traktu. Otázkou zůstává, zda jen potrava a její možné doplnění o uvedené složky, je limitním faktorem pro zajištění optimální zdravotní kondice těchto mravenečníků.

3 Literární rešerše

3.1 Stručný vývoj taxonomie

Prvním, kdo vytvořil základy pro taxonomii a nomenklaturu, byl Carl Linné v roce 1758, učinil tak ve svém X. vydání *Systema naturae* (Linnaeus 1758).

Mravenečníci byli nejprve zařazeni do řádu Bruta (Linnaeus 1758). Do tohoto řádu spolu s mravenečnickými byli současně zařazeni i další druhy (chobotnatci, sirénany, lenochodi a luskouni. (Fejfar & Major 2005).

Georges Cuvier byl dalším významným přírodovědcem, který byl zakladatelem vědního oboru srovnávací anatomie. Studiem srovnávací anatomie rozšířil a pozměnil Linného systém taxonomie (Fejfar & Major 2005). V pozměněné taxonomii od Georgese Cuviera byli mravenečníci zařazeni do řádu Édentes neboli chudozubí. Tento řád poté ještě rozčlenil na Tardigrades (lenochody), Édentes ordimaires (pásovci, luskouni, mravenečící a hrabáci) a Monotrèmes (ptakořitni); (Cuvier 1817).

Později byli Georgesem Gaylordem Simpsonem mravenečníci současně s celou skupinou Xenarthra zařazeni do řádu Edentata (Simpson 1945). McKenna & Bell (1997) zařadili mravenečnické současně s lenochody do řádu Pilosa. Tento řád spolu s řádem Cingulata (pásovci) společně tvořili skupinu, která byla pojmenována jako Xenarthra (McKenna & Bell 1997).

Dle systému zavedeného od roku 2002, který vychází z molekulárních dat, byli mravenečníci spolu s pásovci a lenochody zařazeni do řádu Xenarthra (Fejfar & Major 2005).

Avšak nejnovější taxonomie od Wilson & Reeder (2005) řadí mravenečnické do řádu Pilosa (chudozubí) a do pořádu Vermilingua, kdy tento pořád je rozdělen na dvě čeledi Myrmecophagidae a Cyclopedidae. Pod čeleď Myrmecophagidae spadají tři druhy - *Myrmecophaga tridactyla*, *Tamandua Mexicana* a *Tamandua tetradactyla*, přičemž do čeledě Cyclopedidae spadá pouze jediný druh - *Cyclopes didactylus* (Wilson & Reeder 2005).

Taxonomie mravenečníků dle Wilson & Reeder (2005):

Třída: savci Mammalia Linnaeus, 1758

Řád: chudozubí Pilosa Flower, 1883

Podřád: Vermilingua Illiger, 1811

Čeleď: mravenečnickoví Myrmecophagidae Grey, 1825

Rod: *Myrmecophaga* Linnaeus, 1758

Druh: **mravenečník velký** *Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus, 1758

Poddruh: *Myrmecophaga tridactyla tridactyla* Linnaeus, 1758

Poddruh: *Myrmecophaga tridactyla artata* Osgood, 1912

Poddruh: *Myrmecophaga tridactyla centralis* Lyon, 1906

Rod: *Tamandua* Gray, 1825

Druh: **mravenečník mexický** *Tamandua mexicana* (Sausure, 1860)

Poddruh: *Tamandua mexicana mexicana* (Sausure, 1860)

Poddruh: *Tamandua mexicana instabilis* Allen, 1904

Poddruh: *Tamandua mexicana opistholeuca* Gray, 1873

Poddruh: *Tamandua mexicana punensis* Allen, 1916

Druh: **mravenečník čtyřprstý** *Tamandua tetradactyla* (Linnaeus, 1758)

Poddruh: *Tamandua tetradactyla tetradactyla* (Linnaeus, 1758)

Poddruh: *Tamandua tetradactyla nigra* (Geoffroy, 1803)

Poddruh: *Tamandua tetradactyla quichua* Thomas, 1927

Poddruh: *Tamandua tetradactyla straminea* (Cope, 1889)

Čeleď: Cyclopedidae Pocock 1924

Rod: *Cyclopes* Gray, 1821

Druh: **mravenečník dvouprstý** *Cyclopes didactylus* (Linnaeus, 1758)

Poddruh: *Cyclopes didactylus didactylus* (Linnaeus, 1758)

Poddruh: *Cyclopes didactylus catellus* Thomas, 1928

Poddruh: *Cyclopes didactylus dorsalis* (Gray, 1865)

Poddruh: *Cyclopes didactylus eva* Thomas, 1902

Poddruh: *Cyclopes didactylus ida* Thomas, 1900

Poddruh: *Cyclopes didactylus melini* Lönnberg, 1928

Poddruh: *Cyclopes didactylus mexicanus* Hollister, 1914

3.2 Biologie mravenečnicka čtyřprstého (*Tamandua tetradactyla*)

Tamandua tetradactyla Linnaeus, 1758 je savec zařazený do čeledi Myrmecophagidae a do řádu Pilosa, lidově přezdíváný mravenečnick obojkový nebo mravenečnick menší (Reis et al. 2006; Firmino et al. 2019). Mravenečnick patří spolu s pásovcem a lenochody do nadřádu Xenartha dříve označovaného jako „Edentata“. Xenartha znamená chudozubí, ale pouze mravenečnick zuby zcela postrádají (Diniz et al. 1995). Tudíž z tohoto hlediska jsou mravenečnick jedinými pravými zástupci nadřádu Xenarthra (Costa-Neto 2000; Firmino et al. 2019). Vzhledem k jejich složení potravy jsou řazeni mezi savčí myrmekofágy a na základě anatomie trávicí soustavy, je lze považovat za vysoce specializovanou skupinu hmyzožravců (termín obecně používaný pro požívání všech suchozemských bezobratlých) žijících se výhradně sociálním hmyzem s nízkou nutriční hodnotou (Redford & Dorea 1984; Delsuc et al. 2014).

Tamandua tetradactyla má terestrický i arboreální způsob života (Young et al. 2003; Gallo et al. 2017). Jedná se o soliterní druh (Araujo et al. 2017), tudíž i na lov kořisti vyráží pouze sám (Oyarzun et al. 1996; Firmino et al. 2019).

Mravenečnick jsou pro lov kořisti vybaveni velmi silnými drápy (viz Obr. 1), které jim umožňují proniknout do termišť (Diniz et al. 1995). Chápavý ocas umožňuje mravenečnickovi čtyřprstému šplhat po stromech a využívat tak odlišné zdroje potravy ve srovnání s mravenečnickem velkým (Rodrigues et al. 2008; Gallo et al. 2017). K odchytu hmyzu mravenečnickům slouží zatažitelný jazyk pokrytý vazkými slinami (Diniz et al. 1995).

Při konzumování kořisti je velmi hlučný, z tohoto hlediska ho lze snadno lokalizovat. V noci lze pozorovat jeho přítomnost rovněž na základě padajících úlomků dřeva ze stromů, právě toto je poznávací znamení, kdy mravenečnick čtyřprstý se dostává za pomoci svých drápů do hnízda termitů ukrytého v korunách stromů (Smith 2007).

O reprodukční biologii volně žijících jedinců mravenečnicka čtyřprstého je k dispozici pouze malé množství informací. Délka estrálního cyklu je obecně definovaná na základě intervalu dvou po sobě následujících vrcholů hladin hormonu estrogenu (Hay et al. 1994). Tudíž délka estrálního cyklu zjištěna u mravenečnicka čtyřprstého činí 42,5 dne \pm 3 dny bez sezónního vlivu (Hay et al. 1994; Smith 2007). Současně byly u tohoto druhu vypořádovány krvavé vaginální výtoky objevující se pravidelně vždy po 40 dnech (\pm 1,6 dny), trvající 10,5 dny \pm (1,1 dny); (Hay et al. 1994; Smith 2007). Přítomnost krvácení u samic mravenečnicka čtyřprstého lze využít jako indikátor ovariálního cyklu, kdy přibližně po třech týdnech od prvního krvácení lze očekávat nástup říje (Parera 2002; Smith 2007).

Délka březosti se u tohoto druhu pohybuje v rozmezí 130 až 190 dní (Smith 2007), Redford & Eisenberg (1992), uvádějí průměrnou dobu březosti v délce přibližně 160 dní. Kdežto Kusuda et al. (2011), jako délku březosti uvádí 165 dnů, kdy následuje období laktace dlouhé přibližně 6 měsíců (Smith 2007).

Samice přivádějí na svět zpravidla pouze jediné mládě, nicméně zároveň existují záznamy, v nichž je uvedeno narození dvojčat, avšak tento jev je uváděn jako velmi vzácný (Jimeno 2003; Smith 2007).

V lidské péči bylo u jedné ze samic vypořádováno zkonsumování placenty jejího novorozeného mláděte (Jimeno 2003; Smith 2007). U tohoto novorozeného mláděte bylo naměřeno přibývání na váze v průměru o 13,5 g denně během prvních 6 měsíců života a o

6,86 g během dalších 6 měsíců. Mládě přibývalo tedy v průměru o 10,12 g denně během prvního roku, což představuje nárůst hmotnosti o 3665 g během prvních 12 měsíců (Jimeno 2003; Smith 2007).

Matky nosí ihned od porodu svá mláďata na hřbetě několik měsíců až jeden rok, během něhož se mláďata učí mnoho aspektů důležitých pro jejich přežití (například jak správně lokalizovat zdroje potravy); (Parera 2002; Smith 2007), mládě může od své matky současně převzít i její potravní preference (Redford & Eisenberg 1992; Smith 2007). Mláďata nejsou jen neustále nošena na hřbetě své matky, ale příležitostně jsou rovněž ponechávána v "hnízdě" (Redford & Eisenberg 1992; Smith 2007).



Obrázek 1: přední končetiny samice mravenečnicka čtyřprstého - Zoo Olomouc
(Autor: Košatová, 2022)

3.2.1 Rozšíření

Mravenečníci Myrmecophagidae Grey, 1825 obývají neotropickou oblast Střední a Jižní Ameriky (Diniz et al. 1995). Rod *Tamandua* Gray, 1825 zahrnuje dva druhy, mravenečnicka mexického *Tamandua mexicana* Sausure, 1860, který se vyskytuje na území jižního Mexika až po severozápadní část Jižní Ameriky a mravenečnicka čtyřprstého *Tamandua tetradactyla* Linnaeus, 1758 (Wetzel 1975; Oyarzun et al. 1996).

T. tetradactyla je široce rozšířený, vyskytuje se podél východní části And, od jihu Venezuely až po severní Argentinu a Uruguay (viz Obr. 2);(Wetzel 1975; Oyarzun et al. 1996; Reisfeld et al. 2013; Araujo et al. 2017). V Brazílii ho můžeme nalézt prakticky ve všech biomech (Amazonie, sezónně - suchý tropický les, savana, Atlantský les, Caatinga, Cerrado, Pantanal a Pampa); (Reisfeld et al. 2013; Firmino et al. 2019). *T. tetradactyla* obývá tudíž velmi rozmanité biotopy, přes travnaté oblasti, savany, přechodová lesní společenstva až po tropické lesy (Hayssen 2011; Gallo et al. 2017; de Araujo et al. 2017).

Vzhledem k intenzitě využívání přírodních zdrojů dochází k narušení možnosti jejich přirozené obnovy. Ztráta habitatu, degradace a fragmentace stanovišť v důsledku lidské činnosti představuje hlavní hrozbu pro terestrické savce v Brazílii (Reisfeld et al. 2013).

Zranitelnost mravenečnicka čtyřprstého a jeho zjevné vymizení z určitých oblastí, včetně jeho původního geografického rozšíření, jasně poukazují na nutnost přijetí opatření schopných zajistit jeho ochranu (Reisfeld et al. 2013).



Obrázek 2: výskyt mravenečnicka čtyřprstého
(Autor: Klabin, 2023)

3.2.2 Morfologie

Tamandua tetradactyla má zpravidla světle hnědé nebo zlaté zbarvení a na hřbetě dva černé pruhy, které se táhnou od lopatkové oblasti k zadní části těla a utvářejí tak dojem jako by byl tamandua oblečen do vesty (Araujo et al. 2017; Firmino et al. 2019). Nicméně existují i rovnoměrně hnědí až černí jedinci (Araujo et al. 2017). Tělo mravenečnicka je pokryto krátkými, hustými a silnými chlupy (Araujo et al. 2017; Firmino et al. 2019). A dle Firmino et al. 2019, činí jeho délka bez ocasu přibližně $66 \pm 16,17$ cm. Délka samotného ocasu měří přibližně $36 \pm 2,3$ cm (Firmino et al. 2019). Avšak Rodarte 2010, uvádí průměrnou délku ocasu o něco vyšší, mezi 40 - 67,2 cm (Firmino et al. 2019).

Hrudní končetiny u mravenečnicka čtyřprstého jsou robustnější a drápy na nich delší a zakřivenější v porovnání s pánevními (Firmino et al. 2019). Na hrudních končetinách má pouze čtyři prsty a na pánevních pět prstů stejně jako mravenečnick velký (Firmino et al. 2019).

Hmotnost mravenečnicků čtyřprstých se pohybuje v rozmezí 3,4 - 7 kg (Eisenberg 1989; Firmino et al. 2019).

Tluma má tvar trubice - je úzká, protáhlá, zakončená malými ústy a převážná část obličejové svaloviny je zredukovaná (viz Obr. 3); (Firmino et al. 2019).

Mravenečnick čtyřprstý má velké submandibulární (podčelistní) slinné žlázy ve tvaru písmene V, umístěné ve ventrální oblasti dolní čelisti a krku (Costa-Neto, 2000; Firmino et al. 2019). Tyto žlázy jsou hypertrofované (Costa-Neto 2000) a poskytují mravenečnickovi

prostředek k zachycení hmyzu uloveného jazykem, jedná se o ojedinělou slinnou žlázu (Firmino et al. 2019).



Obrázek 3: samec mravenečnicka čtyřprstého - Zoo Ústí nad Labem
(Autor: Košatová, 2022)

3.2.3 Potravní chování ve volné přírodě

Tamandua tetradactyla je ve volné přírodě aktivní převážně v noci a za soumraku (Hayssen 2011), avšak v lidské péči může být tamandua aktivní rovněž během dne a nejen v noci jako je tomu v jeho přirozeném prostředí (Krieg 1944; Meritt 1975; Hayssen 2011). Přes den tráví tamandua svůj čas spánkem na stromech, (Hayssen 2011) k odpočinku využívá nejen stromy, ale též nory jiného živočišného druhu, druhu *Euphractus sexcinctus* Wagler, 1830 neboli pásovce šestiosého (Rodrigues et al. 2008; Hayssen 2011). Pokud je mravenečnick čtyřprstý aktivní, pohybuje se takzvanou scansoriální lokomocí, což je označení pro šplhání po stromech pomocí ostrých drápů, které zatínají mravenečnicki čtyřprstí do kůry stromů (Hayssen 2011). Pro přesuny v korunách stromů a vyhledávání potravy využívá mravenečnick především větve. Příležitostně se však živí též mravenci nebo termity žijícími uvnitř stonků lián (Montgomery 1985; Gallo et al. 2017). Ve větvích a liánách není tak hojný výskyt tohoto druhu potravy, naproti tomu nejhojnějším zdrojem této potravy jsou velká a malá mraveniště či termitiště nacházející se na zemi nebo v kmenech stromů (Lubin et al. 1977; Gallo et al. 2017).

Kořist mravenečnick čtyřprstý loví zejména pomocí svého čichu (Montgomery 1985; Oyarzun et al. 1996; Hayssen 2011). Během aktivní periody trávící 8-10 hodin se pohybuje téměř nepřetržitě, kdy pátrá po kořisti a na krátkou dobu méně než 1 minutu se ojediněle zastavuje, aby se nakrmil (Oyarzun et al. 1996). Vynakládá tak značnou energii a čas na vyhledávání a konzumaci své potravy takzvaného „eusociálního“ hmyzu. *Tamandua tetradactyla* tudíž většinu času stráví vyhledáváním kořisti, nikoliv její konzumací (Gallo et

al. 2017). Při požívání mravenců do sebe mravenečníci ve volné přírodě vpravují také drobné množství hlíny (Gallo et al. 2017).

3.2.3.1 Potravní specializace

Hlavním zdrojem potravy pro mravenečníky jsou mravenci a termiti (Oyarzun et al. 1996; Rodrigues et al. 2008; Gallo et al. 2017), avšak termiti tvoří menší podíl zkonsumovaných jedinců narozdíl od mravenců (Gallo et al. 2017). Exoskelety termitů a mravenců obsahují vysoký podíl bílkovin a chitinu (Ma et al. 2018).

Ačkoliv jsou mravenečníci považováni za jedny z nejvíce specializovaných savců na příjem tohoto druhu potravy, bylo zjištěno, že jejich strava zahrnuje rovněž další drobné členovce (Hayssen 2011; Gallo et al. 2017).

Mravenci jsou jedním z nejpočetnějších a nejsnáze dosažitelných zdrojů potravy z důvodu vysoké koncentrace jedinců a silných chemických signálů, které mezi sebou používají ke komunikaci (Hölldobler & Wilson 1990; Gallo et al. 2017). Ve skutečnosti je tento hmyz v mnoha částech světa hlavní potenciální kořistí (Redford 1986). Argentina nabízí vzhledem ke své rozloze a specifické zeměpisné poloze širokou škálu nik, které mohou být tímto hmyzem osídlovány (Gallo et al. 2017).

Největší rodová diverzita mravenců ohledně výživy mravenečníka čtyřprstého byla zjištěna tudíž právě v Argentíně, bylo zde jako zdroj potravy nalezeno 10 různých rodů mravenců (Gallo et al. 2017), zatímco ve Venezuele byly nalezeny čtyři rody (Montgomery 1985; Gallo et al. 2017), Brazílii dva rody (Sousa & Messias 2012; Gallo et al. 2017) a v Kolumbii pouze jeden rod (Sandoval-Gómez et al. 2012; Gallo et al. 2017).

V Brazílii a Venezuele byly v potravě mravenečníka čtyřprstého zaznamenány nejhojnější rody mravenců *Camponotus* a *Solenopsis*, které jsou široce rozšířené v neotropické oblasti (Montgomery 1985; Sousa & Messias 2012; Gallo et al. 2007)

Celkový počet rodů mravenců obsažených v potravě obou druhů mravenečníků čítá 13 rodů (Gallo et al. 2007).

Jediným druhem mravenečníka plně specializovaným na mravence je mravenečnick dvoupřstý *Cyclopes didactylus* Linnaeus, 1758 (Miranda et al. 2009; Delsuc et al. 2014).

Kromě mravenců a termitů byly v přirozené potravě mravenečníka zaznamenány, také další taxony Coleoptera a zvláštní rod včely *Melipona* sp., který si staví hnízda uvnitř rostoucích dřevin (Roubick 2006; Gallo et al. 2017).

3.2.3.2 Preferované druhy mravenců a termitů v potravě mravenečníka čtyřprstého

V regionech, kde se mravenečnick přirozeně vyskytuje, převažují podčeleď mravenců *Myrmicinae* a *Fomicinae*, tudíž nejvyšší druhové zastoupení v potravě mravenečníka čtyřprstého zaujímá podčeleď *Myrmicinae*, za níž ihned následuje, co se týče množství druhového zastoupení v jídelníčku mravenečníka čtyřprstého právě podčeleď *Fomicinae*. U mravenečníka čtyřprstého vykazuje podčeleď *Fomicinae* vyšší diverzitu rodů nežli je tomu tak u mravenečníka velkého *Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus, 1758 (Vittar 2008; Gallo et al. 2017).

Mravenci rodů *Camponotus* a *Pheidole* jsou pro mravenečníky nejčastěji konzumovanými druhy. *Camponotus* je rozsáhlý rod čítající v neotropické oblasti na 1000

druhů, obecně je tento rod považován za všežravý, přičemž několik druhů žije na stromech a hnízda si budují uvnitř dřeva. Tento rod vytváří různě velké kolonie (Fernández 2003; Gallo et al. 2017). *Pheidole* je další hojný rod vyskytující se v této oblasti, který si vytváří hnízda a vyhledává potravu především na povrchu půdy, ať už na zemi nebo v listovém opadu (Fernández 2003; Gallo et al. 2017).

Rozmanitost mravenců přítomných v daném regionu závisí na klimatu a téměř výhradně na potravní nabídce (Silvestre et al. 2003; Gallo et al. 2017), dostupnost této kořisti se tedy může geograficky lišit (Medri et al. 2003; Gallo et al. 2017). Bylo zjištěno, že rozdíly v potravě obou druhů mravenečníků souvisejí s dostupností mravenců v dané oblasti a tudíž s rozdílnými nároky na prostředí, které tento hmyz má (Gallo et al. 2017).

Dalšími rody, které byly objeveny v potravě obou mravenečníků, byly *Solenopsis*, *Pachycondyla*, *Acromyrmex* a *Gnamptogenys*, které ačkoliv se způsobem života liší, jejich kolonie a potravní areály se nacházejí na povrchu půdy, což znamená, že jsou snadno dostupnou kořistí jak pro Mravenečníka velkého (*Myrmecophaga tridactyla*), tak pro Mravenečníka čtyřprstého (*Tamandua tetradactyla*); (Rodrigues et al. 2001; Medri & Mourão 2005; Gallo et al. 2017). Jako zdroj potravy pro oba druhy mravenečníků byly též zaznamenány rody *Xenomymex*, *Gnamptogenys* a *Pogonomyrmex* (Gallo et al. 2017).

V rámci mravenců konzumovaných výhradně mravenečníkem čtyřprstým byl nejhojnějším rodem *Crematogaster*, který je řazen do skupiny "malých stromových a masivních mravenců", protože hnízdí ve vegetaci a mají ohniskovou, avšak masivní aktivitu na nejrůznějších druzích stromů (Silvestre et al. 2003). Dalším rodem s hlavní arboreální aktivitou byla *Nylanderia*, zařazená do skupiny "oportunistická půdy a vegetace", pro kterou je charakteristické hledání potravy jak na zemi, tak na vegetaci. A konečně dalším rodem konzumovaným mravenečníkem čtyřprstým byla *Heteroponera*, mravenci často se vyskytující v oblastech tropických lesů, kteří mohou hnízdit na zemi, listech nebo kořenech epifytů (Gallo et al. 2017).

3.2.4 Anatomie a fyziologie trávicí soustavy

Na jazyku mravenečníka nejsou přítomny žádné papily a jeho sliznice je pokryta vrstevnatým dlaždicovým epitelem (Firmino et al. 2019). Jazyk se u dospělého mravenečníka čtyřprstého od kořene ke špičce zužuje, tudíž na konci vytváří kuželovitý tvar, jazyk je dlouhý v průměru $27,50 \pm 1,20$ cm (Brazão, Ortiz a Carrilho 1983; Firmino et al. 2019).

Jícen se rozprostírá od dorzální oblasti k prstencovité chrupavce hrtanu, přičemž v krční části prochází dorzálně průdušnicí až k žaludku. Jedná se o trubicovitý, úzký, válcovitý orgán bez zakřivení, který je rozdělen na krční, hrudní a relativně krátkou břišní část. Tento orgán vstupuje do dutiny břišní jícnovým hiatusem bránice, dále prochází dorzálním okrajem jater a ústí do oblasti kardié žaludku (Memeses 2013; Firmino et al. 2019). Sliznice jícnu je tvořena vrstevnatým dlaždicovým epitelem, který je na povrchu zrohovatělý (Firmino et al. 2019).

Žaludek mají mravenečníci jednodukomorový (Firmino et al. 2019) s několika různě velkými záhyby (výška 0,2-0,6 cm), rozdělený na části kardié, fundu a pyloru. Záhyby žaludku jsou proporcionalně stejné u dospělých i mláďat (Pinheiro, Lima, Carvalho, Pereira,

& Branco, 2012; Firmino et al. 2019). Sliznice žaludku je tvořena jednovrstevným prizmatickým epitelem a ve vrstvě lamina propria jsou přítomny tubulární žlázy (Firmino et al. 2019). Oblast pyloru je tlustší a pevnější, zároveň disponuje většími záhyby sliznice; velké záhyby jsou zhruba trojnásobně větší než ty malé. Mravenečníci potřebují, aby pylor měl silné svaly, protože díky nimž jsou schopni rozmělnit pozřený hmyz. Tyto vlastnosti orgánů mohou naznačovat možnou souvislost s jejich hmyzožravou potravou a rychlostí, jakou je potrava trávena (Firmino et al. 2019).

Játra jsou uloženy v kranální části břicha, na pravé straně, v těsném kontaktu s brániční stěnou a se žaludkem v oblasti jeho menšího záhybu. Anatomicky jsou rozdělena na následující laloky: pravý laterální lalok, pravý mediální lalok, čtverhranný lalok, levý mediální lalok a levý laterální lalok, a navíc ještě na kaudální lalok. Ve viscerální části jater je přítomný žlučník o velikosti $3,1 \times 1,6$ cm (Firmino et al. 2019).

Slinivka má protáhlý tvar s rozměry $11,1 \times 1,4$ cm a je připojena k dvanáctníku. Každá z obou papil jak žlučníku, tak slinivky břišní ústí do dvanáctníku separátně.

Tenké střevo je u mravenečnicka čtyřprstého ($108,05 \pm 1,90$ cm) a stejně tak i u mravenečnicka velkého (775,3 cm) (Carvalho et al. 2014) delší než u jiných druhů nadřádu Xerathra, např. u lenochoda hnědokrkého (82,35 cm), který je striktně býložravý (Estrela 2011). Tudíž toto porovnání nekoreluje s předpokladem delšího střeva u býložravců (lenochodi) než u masožravců a všežravců. A v souvislosti s delším tenkým střevem u mravenečnicka dochází s největší pravděpodobností k pomalému trávení pozřeného hmyzu (Firmino et al. 2019). Tento orgán je anatomicky rozdělen na tři části: dvanáctník, jejunum a ileum. Dvanáctník je krátký, tvořený pouze jediným sestupným segmentem, takže po celé své délce volně přiléhajícím ke spodině dutiny břišní za pomoci poměrně dlouhého zadního závěsu nazývaného mesoduodenum, což dává této kličce atypickou volnost. U mravenečnicka obrovského byla popsána stejná charakteristika a uložení dvanáctníku jako u mravenečnicka čtyřprstého (Carvalho et al. 2014; Firmino et al. 2019). Jejunum je spirálovitě stočené a orientované k pravé straně dutiny, prochází celým obvodem břišní dutiny, kříží mediální rovinu v blízkosti močového měchýře, prochází levou stranou dutiny a vrací se opět k pravé straně břišní dutiny a tvoří tak jeden prsteneček. Totéž platí u mravenečnicka velkého (Carvalho et al. 2014; Firmino et al. 2019). Ileum není příliš nápadné, pouze v místě napojení na slepé střevo se nachází nepatrná struktura (ileocékální záhyb); (Firmino et al. 2019).

Tlusté střevo je členěno na slepé střevo, tlusté střevo a konečník. Slepé střevo je na jednom konci slepě zakončené a na druhém je napojeno na tlusté střevo. Má "čárkovitý" tvar, obdobně jako je tomu u mravenečnicka velkého (Carvalho et al. 2014; Firmino et al. 2019), slepé střevo osciloluje mezi pravou, levou nebo mediální antimerou. U mravenečnicků čtyřprstých je slepé střevo málo vyvinuté, čímž se liší od býložravých druhů, jako jsou kapybary *Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus, 1766 (Rodrigues, Fonseca, Paula, & Peixoto, 2006), u nichž je tento orgán složitý a objemný. V tomto střevním oddílu nedochází u mravenečnicků k mikrobiální fermentaci a to z důvodu zastoupení menšího podílu vlákniny v jejich potravě. Tlusté střevo je vystlané jednovrstevným prizmatickým epitelem a je uloženo dorzálně od močového měchýře, dělohy a varlat, vaječníky jsou od tlustého střeva umístěny laterálně. Tlusté střevo je málo vyvinuté a rozdělené na vzestupný, příčný a sestupný segment (Firmino et al. 2019). Sestupná část tlustého střeva vstupuje do pánevní dutiny, kde je

zakončena třetím segmentem nazývaným konečník, což bylo potvrzeno u *Tamamuda tetradactyla* v oblasti Amazonie (Firmino et al. 2019).

Trávení mravenečníků dle anatomické charakteristiky jejich trávicí soustavy, není tak rychlé jako je tomu, tak u jiných druhů nadřádu Xenarthra, ačkoliv nevyužívají fermentaci. Tento jev je pravděpodobně způsoben konzumací chytinu obsaženého v exoskeletu hmyzu, který je mravenečnický konzumován. (Firmino et al. 2019).

3.3 Chov v lidské péči

Jelikož mnoho volně žijících mravenečníků čtyřprstých je v Brazílii zachráněno v důsledku rozšiřování lidské populace do přírodních oblastí, pochází většina jedinců chovaných v brazilských zoologických zahradách z volné přírody (Diniz 1995; Reifeld et al. 2013). V tomto smyslu je pro zachování tohoto druhu nesmírně důležité udržovat v lidské péči životaschopnou populaci (Reifeld et al. 2013).

V severoamerických a jihoamerických zoologických zahradách mají ohledně chovu mravenečnicka čtyřprstého špatné výsledky, malý počet jedinců se jim zde podařilo chovat pouze několik let a k reprodukci docházelo jen velmi vzácně. Nízká úspěšnost chovu během dřívějších let pravděpodobně souvisí se specializovanými potravními nároky mravenečnicků čtyřprstých a s jejich trávicími problémy (Meritt 1975; Meritt 1976; Oyarzun et al. 1996). Naproti tomu Metropolitní zoologická zahrada v Torontu (MTZ) byla úspěšnější při udržování tohoto druhu, kdy jedinci žili delší dobu a po tuto dobu u nich nebyly pozorovány žádné významné zdravotní problémy, avšak k reprodukci narozdíl od severoamerických a jihoamerických zoologických zahrad v této instituci nedocházelo (Oyarzun et al. 1996). Jako maximální délka dožití mravenečnicka čtyřprstého v lidské péči byl zaznamenán věk 9 let a 6 měsíců (Jones 1982; Smith 2007). Frekvence kálení těchto jedinců je v lidské péči velmi variabilní, uvádí se frekvence jednou za 2 – 6 dní, kdy naopak moč byla detekována ve výběžích každý den (Hayssen 2011).

Doporučení ohledně chovného prostředí pro mravenečnicka čtyřprstého jsou následující. Pokud chovné zařízení chová pár, je důležité, aby toto zařízení mělo k dispozici pro tento druh dva oddělené výběhy. Poněvadž je potřeba samce chvíli před porodem samice přemístit do druhého výběhu pryč od samice. Výběh pro mravenečnicka čtyřprstého by měl být vybaven konstrukcemi, po kterých by mohli šplhat, například větve ze stromů (viz Příloha XI a XIII). Jako místo k odpočinku se používají duté klády stromů (viz Příloha XIV), které jsou upevněné na větvích (ve výšce 1,5 m, aby návštěvníci mohli zahlédnout jedince při odpočinku). Velmi důležitým aspektem je poskytnutí více míst k odpočinku než dané zařízení chová jedinců, neboť zejména samice se svými mláďaty potřebují více míst, kde mohou s mláďaty odpočívat (viz Příloha X). Současně tento druh rád odpočívá v houpacích sítích. Mravenečnicki velmi dobře šplhají a umí i plavat, díky těmto dovednostem snadno utíkají, ani elektrické ohradníky jim často nedělají žádný problém. Tudíž bariéra výběhu by měla být vysoká alespoň 1,5 m a na ní ani v jejím okolí by neměly být žádné šplhací konstrukce po nichž by mravenečnick mohl vyšplhat a utéct. Mezery mezi dřevěnými fošnami jsou často dost velké na to, aby mravenečnicki po nich hravě utekli ven z výběhu (výhodnější jsou bariéry ze skla nebo s převisem). Ve výběžích by měl být mravenečnickům rovněž poskytnut nějaký přírodní substrát (či zemina) jako podestýlka, ve výběžích tohoto druhu by též neměli chybět

staré ztrouchnivělé kmeny či stromy, kam by se mravenečníci měli možnost zahrabat. Když se mravenečníci prohrají v substrátu a čenichají, zkonsumují přitom drobné množství zeminy a dřeva. Tento typ chování hraje zřejmě při trávení mravenečníků důležitou roli. Ideální teplota ve vnitřním výběhu by měla být vyšší než 20 °C a vlhkost by měla být kolem 70 % (Krefelder Zoo 2007).

3.4 Výživa mravenečníka čtyřprstého v lidské péči

Přestože mravenečník velký *Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus, 1758 vyžaduje pevnější konzistenci potravy než mravenečník čtyřprstý, je oběma druhům v lidské péči nutné podávat potravu v kašovitě formě (Diniz et al. 1995).

V brazilském parku Aquário de São Paulo byla jedinci (*Tamandua tetradactyla*), ve stáří přibližně dvou měsíců o hmotnosti 718 g předkládána potrava složená převážně z mléčné náhražky pro psy a kočky (Pet Milk a Ensure® Abbott Laboratories, Česká republika). Toto složení bylo postupně nahrazeno novou krmnou dávkou, která byla složena z mletého hovězího masa, suchého krmiva pro psy Gastrintestinal (Royal Canin®, Francie), špenátu, jablka, řepy, mrkve, rajčete, banánu, vajec a vody. Všechny ingredience byly vždy rozmixovány, aby se dosáhlo hladké konzistence. Tato krmná dávka byla jedinci nabízena ve 2 až 3hodinových intervalech. Mravenečníkovi byl současně denně doplňován vitamin K (5 mg/kg) a taurin (250 mg/den). Druhému jedinci, kterým byl samec ve věku přibližně 5 měsíců o hmotnosti 1,160 kg, byla nabízena krmná dávka složená z mletého hovězího srdce, suchého krmiva Gastrintestinal (Royal Canin®, Francie), lněného oleje, medu, papáji, banánu, rajčat, špenátu, vajec a vody. Všechny složky byly též vloženy do mixéru, aby se dosáhlo kašovitě konzistence jako u prvního jedince. Tato krmná dávka byla mravenečníkovi nabízena v intervalu 2 hodin. Druhému jedinci byl rovněž denně doplňován vitamin K (5 mg/kg) a taurin (250 mg/den); (Reisfeld et al. 2013).

U mravenečníků a hrabáčů se potrava v lidské péči od volné přírody výrazně liší a chovatelé v zoologických zahradách mají problémy s vytvořením vhodného složení krmné dávky pro udržení zdravého prostředí ve střevech těchto druhů (Clark et al. 2016; McKenzie et al. 2017). Řada institucí v současné době aplikuje plně hmyzožravou potravu v podobě komerční směsi. Tento produkt byl navržen tak, aby obsahoval základní vitamíny, minerály, včetně chitinu a kyseliny mravenčí, aby byly uspokojeny přirozené potravní nároky. Nicméně krmení jedinců touto komerčně vyráběnou potravou se značně liší od přijímání velkého množství mravenců a termitů, které tato zvířata konzumují ve volné přírodě, což by mohlo vysvětlovat určité rozdíly ve střevních bakteriálních společenstvech (Delsuc et al. 2014; McKenzie et al. 2017).

3.4.1 Mikrobiom

Střevní mikrobiom savců zajišťuje svému hostiteli řadu nezbytných funkcí, od trávení složitých složek potravy až po signalizaci imunitního systému (McFall-Ngai et al. 2013; McKenzie et al. 2017). Ačkoliv je prokázáno, že fylogeneze hostitele a složení potravy ovlivňují druhové zastoupení a funkci střevních bakterií (Ley et al. 2008; Muegge et al. 2011; Delsuc et al. 2014; McKenzie et al. 2017), značný vliv na mikrobiom savců mohou mít

rovněž změny související se životním prostředím (Kohl & Dearing 2014; Clayton et al. 2016; Kueneman et al. 2016; McKenzie et al. 2017). V lidské péči zvířata zažívají mnoho změn, které pravděpodobně ovlivňují jejich mikrobiom, patří mezi ně například úpravy nebo restrikce ve výživě, antibiotické a další veterinární zásahy, značně omezený výběh, omezený kontakt s různými typy prostředí, omezené interakce s jinými živočišnými druhy a zvýšená interakce s lidskými mikroby či s mikroby, které prosperují v zástavbě (Hyde et al. 2016; McKenzie et al. 2017).

Řada studií, porovnávající mikrobiální diverzitu u zvířat chovaných v lidské péči s volně žijícími jedinci, hovoří o trendu vedoucím ke snížení symbiotické bakteriální diverzity. (Loudon et al. 2014; Kohl & Dearing 2014; Clayton et al. 2016; Kueneman et al. 2016; McKenzie et al. 2017).

Avšak dle: McKenzie et al. 2017, u čtyř čeledí (Bovidae, Giraffidae, Myrmecophagidae, a Orycteropodidae) nebyla vyzorována žádná významná změna ve složení bakteriální diverzity. Dokonce u čeledě Rhinocerotidae, byla potvrzena významně zvýšená bakteriální diverzita v rámci jedinců chovaných v lidské péči. Ačkoliv u některých druhů nedošlo v lidské péči ke snížení bakteriální diverzity (např. mravenečníci a hrabáč kapský *Orycteropus afer*, Pallas 1766), tak přesto se však na rozdíl od jedinců žijících ve volné přírodě lišily a to v rámci bakteriálního složení nebo relativní početnosti různých bakteriálních taxonů (McKenzie et al. 2017).

Evoluci střevního mikrobiomu ovlivnila jak dieta, tak fylogeneze. Tato skutečnost byla prokázána na základě vysokokapacitního sekvenování genů 16S rRNA ze vzorků výkalů různých druhů savců (Ley et al. 2008; Delsuc et al. 2014; Ma et al. 2018).

Střevní mikrobiomy savčích myrmekofágů by mohly usnadňovat degradaci a asimilaci chitinu, tím pádem by mohly střevní bakterie pomáhat myrmekofágům přizpůsobit se na potravu obsahující mravence a termity (Wicker et al. 2008; Ma et al. 2018). Toto tvrzení vyplynulo z makroskopické kontroly vzorků výkalů ve studiích zaměřených na specifikace potravy (Miranda et al. 2009; Ma et al. 2018) a z určitých funkčních testů fekálních střevních mikrobů (Delsuc et al. 2014).

Mikrobi dle nejnovějších výzkumů hrají v rámci zdraví hostitele důležitou roli. Zároveň hrají roli v jeho chování, reprodukční bariéře a současně mají zásadní vliv na fyziologii, metabolismus a imunitní funkce obratlovců (Martín et al. 2014; Cryan & Dinan 2012; Brucker & Bordenstein 2013; Ramakrishna 2013; Thaiss et al. 2016; Angelakis et al. 2016; Boursier et al. 2016; He et al. 2016; Xiao et al. 2016; Ma et al. 2018).

Naopak mnoho faktorů ovlivňujících zdravotní stav hostitele, včetně některých onemocnění, může mikrobiální funkce změnit (David et al. 2014; Goodrich et al. 2014; Ma et al. 2018). Střevní mikrobi jsou závislí na živočišném hostiteli a pomáhají mu dokončit řadu fyziologických a biochemických funkcí.

Kromě toho střevní mikrobi tvoří největší orgán imunitního systému, který nejenže může upravovat své složení a jeho metabolity na míru zvířeti, ale mohou také zprostředkovat interakce mezi hostitelem a jeho potravou (Cani & Knauf 2016; Ma et al. 2018).

Komunikace, která probíhá na povrchu střevní sliznice, napomáhá vzniku a vývoji imunitního systému, čímž se tento povrch stává důležitou imunitní bariérou pro hostitele (Ma et al. 2018).

Střevo má zásadní význam pro trávení a vstřebávání živin a hraje také důležitou roli v metabolismu (Duffy et al. 2015; Ma et al. 2018).

Enterococcus gallinarum je patogenní střevní bakterie, která je dle nedávných studií schopna se přemístit do jater a dalších tkání a vyvolat zde autoimunitní reakce u jedinců s genetickou predispozicí k autoimunitě (Manfredo Vieira et al. 2018; Ma et al. 2018).

3.4.2 Klinické poruchy mravenečníků

Nejčastější klinické poruchy u mravenečníků jsou úzce spjaty s managementem chovu v lidské péči a to především v oblasti výživy. Jedny z nejfrekventovanějších obtíží u tohoto druhu jsou obtíže týkající se právě trávicí soustavy, jedná se až o 26 % všech případů. Dalších 20 % případů souvisí s nedostatečným přísunem potřebných živin pro zajištění zdravé kondice chovaných jedinců. Kromě poruch spojených s výživou se u mravenečníků objevují také poruchy související s poraněním (15,5 %), dýchací soustavou (10 %), kůží (7 %) a oběhovou soustavou (4,5 %); (Diniz et al. 1995). Jedinci s výživovými potížemi bývají vyhublí a celkově mají špatný tělesný vývoj, také se u nich vyskytuje letargie, šupinatá kůže, křehká, řídká, suchá srst a bledost sliznic (Diniz et al. 1995). U jedinců s obtížemi trávicího ústrojí se setkáváme s onemocněními, jako jsou *Enteritida* neboli zánět tenkého střeva, nespecifická průjmová onemocnění, problémy s játry či výskyt cizího tělesa. Onemocněními oběhového systému mohou být zánět myokardu, vnitřní krvácení nebo celkové selhání oběhové soustavy. Onemocněními reprodukčního systému bývají potraty, mastitidy. Výživovými poruchami bývají špatné vstřebávání živin a deficit potřebných živin. Onemocněním respiračního ústrojí bývá pneumonie (Diniz et al. 1995). Kožními poruchami bývají výskyty parazitů, alopecie nebo pruritus (svědění), dermatitida či abscesy. Dále se u mravenečníků chovaných v lidské péči objevují septické poruchy, onemocnění močových cest, puerperální infekce či ve velmi malé míře také oftalmologické poruchy (Diniz et al. 1995).

Diniz 1995, ve své studii zaznamenal výskyt poruch činnosti močových cest z celkového počtu 200 případů onemocnění pouze u dvou jedinců. V další studii vykazoval ledvinové onemocnění pouze jediný jedinec ze 74 uhynulých zvířat (Reisfeld et al. 2013). Tudiž infekce močových cest nejsou prozatím dostatečně popsány (Reisfeld et al. 2013). Avšak u uměle odchovaných mláďat jsou dle Reisfeld et al. 2013, infekce močových cest pozorovány často a měly by být tudíž hlášeny, aby mohly být provedeny budoucí studie (Reisfeld et al. 2013). Z tohoto důvodu by byla velmi cenná studie normální bakteriální flóry těchto jedinců, poněvadž v současné době studie, které by demonstrovaly běžnou bakteriální flóru močových cest u mravenečníků chybí (Reisfeld et al. 2013). Díky této studii by bylo možné porovnat bakterie běžné flóry s bakteriemi, které se podílejí na vzniku této infekce. Pro jedince chované v lidské péči má diagnostika a léčba tohoto onemocnění velký význam a to z hlediska udržení minimální životaschopné populace mravenečníků v lidské péči, neboť tato zvířata vykazují nízkou přirozenou míru populačního růstu a neléčené infekce mohou ohrozit jejich reprodukční systém. Tento faktor může poté u populací chovaných v lidské péči způsobit ztrátu genetické rozmanitosti (Reisfeld et al. 2013).

Bakteriální infekce močových cest jsou obvykle důsledkem toho, že se běžná kožní a gastrointestinální flóra dostane do močových cest a překoná běžné obranné mechanismy močových cest, které brání kolonizaci (Reisfeld et al. 2013).

Do důsledků neléčené infekce močových cest je zahrnována dysfunkce dolních močových cest, urolithiáza, neplodnost, septikemie, pyelonefritida a nakonec právě i celkové selhání ledvin neboli sepse (Reisfeld et al. 2013).

Infekce močových cest je způsobena jedním, popřípadě více druhy bakterií (*E. Coli*, *Staphylococcus* a *Streptococcus*), přičemž tyto bakterie jsou rovněž kompatibilní při výskytu močových infekcí i u jiných druhů zvířat (Reisfeld et al. 2013). Chování pozorované u jedinců trpících touto infekcí bylo nadměrné olizování a sání v oblasti genitálií, z tohoto důvodu je toto chování pokládáno za pravděpodobný predispoziční faktor vzniku této infekce. Za použití enrichmentů obohacujících prostředí výběhu, byla v instituci Aquário de São Paulo vyzorována eliminace nadměrného olizování genitálií, dle Soares et al. 2010, lze tudíž tento nástroj využít pro udržení pohody a též k eliminaci stereotypního chování či navození „nudy“ u tohoto druhu v lidské péči (Reisfeld et al. 2013).

U jedinců postižených infekcí močových cest jsou pozorovány změny jako: výskyt erytrocytů a leukocytů v moči (tzv. hematurie a pyurie), zrohovatělé epitelové buňky a zásaditější moč (Reisfeld et al. 2013). Vyšší zásaditost moči je při výskytu močových infekcí běžnou záležitostí (Simerville et al. 2005); Reisfeld et al. 2013).

U většiny savců se při normálním stavu může pH moči pohybovat od 4,5 do 8, avšak v důsledku metabolických aktivit je obvykle pH moči kyslejší, pohybuje se tudíž běžně v rozmezí od 5,5 do 6,5 (Reisfeld et al. 2013). Z tohoto důvodu je zapotřebí při zaznamenání infekce močových cest, kdy je moč zásaditější, pH moči snížit. V instituci Aquário de São Paulo byl k účinnému okyselení moči použit jablečný ocet a šťáva z citrusových plodů, které byly chovaným jedincům předkládány v krmné dávce. Díky jablečnému octu a šťávě z citrusových plodů, došlo též k eliminaci krystalů trojitého fosfátu, které jsou v moči nežádoucí a objevují se jako další indikátor infekce (Reisfeld et al. 2013).

Většina bakteriálních infekcí dolních močových cest reaguje rychle na léčbu vhodným antibiotikem (Reisfeld et al. 2013). Avšak u některých jedinců první antibiotika nemusí vždy zabrat a tudíž je nutná výměna za jiný druh a léčba trvá o něco déle (Reisfeld et al. 2013).

K léčbě infekce močových cest v instituci Aquário de São Paulo byla použita nejprve antibiotika Amoxicilin, Enrofloxacin + kyselina klavulanová, kdy došlo k recidivě onemocnění. Po těchto antibioticích a opětovném vyšetření, kdy byla provedena fyzikálně-chemická analýza, bakteriologické kultivace aerobních a fakultativně anaerobních bakterií byl nasazen Cefalexin. Po podání Cefalexinu došlo již k celkovému uzdravení jedince (Reisfeld et al. 2013).

Nejzákladnější a tudíž nejčastěji se vyskytující nemoci, které byly u mravenečníků v lidské péči zaznamenány, jsou: nedostatek taurinu, vitamínu K a A, traumata, bakteriální enteritida, bakteriální pneumonie a dermatitida (Reisfeld et al. 2013).

3.4.2.1 Agens

Ve výkalech mravenečníků chovaných v lidské péči byla detekována především vajíčka hlístic (40%), z nichž nejčastější byly druhy *Trichuris spp* (28 %), *Strongyloides spp* (11 %) a *Ascaris* (1%) poté byli ve výkalech detekováni také prvoci (16%), z nichž nejčastější byly druhy *Eimeria spp* (10 %), *Entamoeba spp* (5 %) a *Giardia spp* (1 %); a cestody - tasemnice (8 %) a acanthocephalids (1 %). Detekovanými bakteriemi u mravenečníků byly *Salmonella enteritidis*, *S. cholerasuis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Streptococcus spp* a *Staphylococcus spp*. Z ektoparazitů byli u mravenečníků prokázáni *Amblyomma spp* a *Otodectis spp* (Diniz et al. 1995).

4 Metodika

Odběry vzorků výkalů a získání informací o chovatelském prostředí a o složení krmných dávek byly provedeny osobní konzultací a svozem vzorků ze čtyř chovných zařízení. Prvním zařízením byla Zoo Olomouc, kde je chováno 5 jedinců, tudíž nejvíce jedinců z míst odběrů. Dalším zařízením byla Zoo Ústí nad Labem, kde jsou chováni pouze dva jedinci, samec a samice. Třetím zařízením byla Zoo Lešná, která rovněž chová pouze 2 jedince, samici a samce. Poslední institucí, kde byly odběry uskutečněny, byl soukromý chov pana Marosze. Tudíž celkový počet jedinců zahrnutých do této práce činí 11 (viz Tab. 1). Sběr vzorků stolice probíhal od června do konce srpna roku 2022. Svoz vzorků a současně sběr informací od chovatelů probíhaly ihned po sběru všech vzorků.

Tabulka 1: souhrnný počet jedinců

Olomouc			Ústí		Lešná		Soukromý chov	
mládě	Samice	Samec	Samice	Samec	Samice	Samec	Samice	Samec
2	2	1	1	1	1	1	1	1
5			2		2		2	
Celkem	11							

4.1 Složení krmných dávek

Nutriční složení potravy bylo hodnoceno pomocí Databáze složení potravin ČR (www.nutridatabase.cz), která obsahuje údaje o téměř 600 potravinách a jejich výživových hodnotách v rozsahu Nařízení 1169/2011. Toto vyhodnocení bylo provedeno na základě získaných dat o množství a přesném složení krmné dávky v daném zařízení, to se týkalo hlavně Zoo Olomouc, kde je mravenečnickům podávána vlastní krmná dávka. V ostatních chovných zařízeních je tohoto druhu jako hlavní složka podávána komerční krmná směs Granovit - Insectivore with insect meal (© Granovit AG, Švýcarsko), kdy přesné složení tohoto komponentu bylo získáno z deklarovaných hodnot výrobcem na obalu výrobku (viz Příloha č. I).

Dalšími získanými informacemi ohledně managementu krmení mravenečnicků v jednotlivých zařízeních, byla frekvence předkládání krmné dávky, množství krmné dávky/den na jednoho jedince a časový rozpis podávání jednotlivých krmných dávek (viz Tab. 2).

Tabulka 2: frekvence předkládání krmných dávek v jednotlivých zařízeních

Zařízení	Frekvence krmení	Množství krmné dávky/den	1. dávka	2. dávka	3. dávka
Zoo Olomouc	2x/den	135g+voda 500ml+med 2 ml + kyselina mravenčí 3 ml	6:00	přibližně v 15:00	není
Zoo Ústí nad Labem	3x/den	525g	8:00	11:15	14:00
Zoo Lešná	2x/den	150-250g (občas - jen 50g či někdy až 400g)	8:30/9:00	14:00	není
Soukromník	2x/den	120g	neuveďeno	neuveďeno	neuveďeno

4.1.1 Zoo Olomouc

Od ostatních zařízení, kde je mravenečník čtyřprstý chován, se olomoucká zoologická zahrada s ohledem na obsah komponentů krmné dávky značně odlišuje. Zoo Olomouc má sestavenou vlastní krmnou dávku a tudíž nepoužívá komerčně vyráběnou směs jako ostatní zařízení.

Vlastní krmná dávka obsahuje:

KRMIVO	MNOŽSTVÍ/KS/DEN
• drůbeží maso – libové	50 g
• banány	30 g
• křepelčí vejce	3 ks
• Luvos	5g
• Psí granule - Sensitive Lamb & Rice Mini (©Fortify, Česká republika)	50 g
• Med	2 ml
• Kys. mravenčí	3 ml
• Supradyn	0,25 tbl.
• Voda	500 ml
• Kanavit	2 kapky/2x týdně

Všechny tyto komponenty jsou rozmixovány a dle potřeby naředěny vodou do požadované konzistence řídké kaše (viz Obr. 4).

Dále jsou jedincům podávána denně Probiotika – NutriMix Probiotic (fa Trouw Nutrition, Biofaktory). Další složkou, která je jedincům denně podávána je Taurin (fa Trouw Nutrition, Biofaktory).

Další komponenty vlastní krmné dávky, které dostávají pouze někteří jedinci:

- Medové plástve podávány jedincům pouze doplňkově, dle aktuální kondice zvířat.
- Grep + rajče (Ovozel) jsou podávány dvakrát týdně – pouze doplňkově pro samice s mláďaty.

- Slepíčí vejce jedenkrát týdně – vařené; též pouze doplňkově pro samice s mláďaty (viz Příloha II).



Obrázek 4: krmné místo mravenečníků čtyřprstých ve vnitřním výběhu - Zoo Olomouc
(Autor: Košatová, 2022)

4.1.2 Zoo Ústí nad Labem

V Zoo Ústí nad Labem je jedincům předkládána komerční krmná směs Granovit – Insectivore with insect meal (©Granovit AG, Švýcarsko) a jen příležitostně je mravenečníkům podávána trubčina (s larvami včel) + med.

Denně je připravováno 1050 gramů krmné směsi s přidáním vody, kdy je vše rozmixováno tyčovým mixérem do řídké kaše (toto množství je pro dva jedince) – Tudiž jeden jedinec dostane za den 525 gramů směsi.

Krmná dávka je rozložena do tří dávek denně, kdy první dávka je podávána v 8 hodin ráno v množství - 205 g, poté druhou dávku dostávají v 11:15 dopoledne v množství - 320 g a zbytek dostávají ve 14 hodin odpoledne v množství - 525 g a jak je již výše popsáno příležitostně je mravenečníkům podávána trubčina (bez medu) obsahující larvy včel + med.

Krmná dávka je předkládána pouze na určená krmná místa (viz Obr. 5 a Příloha III).



Obrázek 5: krmné místo mravenečníků čtyřprstých ve vnitřním výběhu - Zoo Ústí nad Labem
(Autor: Košatová, 2022)

4.1.3 Zoo Lešná

V Zoo Lešná je základní krmná dávka tvořena pouze komerční krmnou směsí Granovit – Insectivore with insect meal (©Granovit AG, Švýcarsko) + voda (viz Obr. 6). Složky jako je larva potěmníka stájového (*Alphitobius diaperinus* Panzer, 1797) přezdívaná buffalo, vařené vejce nebo měkké ovoce nejsou mravenečnickům podávány v pravidelných intervalech. Avšak vesměs alespoň pětkrát týdně dostávají něco z těchto složek navíc. Odpoledne jsou přidávány do krmné dávky komponenty, jako je avokádo, červi, vařené vejce a papája. Tyto komponenty jsou však podávány pouze v malém množství a střídavě, tudíž do propočtů nutričních hodnot nemohly být zahrnuty.

Obvykle denně zkonzumuje jeden jedinec 150 – 250 gramů připravené směsi. Nicméně jsou i výjimečné dny, kdy zkonzumuje pouze 50 gramů a naopak je den, kdy je schopný zkonzumovat až 400 gramů směsi. V Zoo Lešná je mravenečnickům čtyřprstým krmná dávka podávána do nádoby připomínající „termosku“ (viz Příloha V) a současně „klasicky“ do misky (viz Příloha IV) jako v ostatních zařízeních.



Obrázek 6: krmná nádoba s obsahem krmné směsi (Granovit + voda) v konzistenci řídké kaše - Zoo Lešná
(Autor: Košatová, 2022)

4.1.4 Soukromý chov

V soukromém chovu u pana Marosze je mravenečnickům podávána pouze komerční krmná směs Granovit + voda.

Krmná směs je podávána v množství 120 gramů na jednoho jedince + je do krmné směsi přidáváno 500ml vody. Vše je poté rozmixováno do konzistence řídké kaše.

4.2 Terénní část

4.2.1 Sběr vzorků pro mikrobiální analýzu

K odběru vzorků výkalů byly do každého chovného zařízení zaslány odběrové sady, které obsahovaly sterilní tyčinky a čtyři zkumavky obsahující odběrové médium s glycerolem (médium pro ředící řadu s glycerolem v poměru 1:1) sloužící pro kultivační stanovení. Čtyři zkumavky byly do institucí zaslány pouze z důvodu případného odlití bujónu, či jiné nehody. Poněvadž bylo plánováno analyzovat pouze tři vzorky.

Po chovných zařízeních byl tedy vyžádán odběr tří vzorků (nejlépe v týdenních intervalech) od každého jedince.

V Zoo Olomouc byl první vzorek výkalu odebrán dne 9. 6. u všech chovaných jedinců, druhý vzorek 15. 6. u čtyř z pěti jedinců a u mláďete samice Calamity byl druhý vzorek odebrán až 2. 07. a poslední třetí vzorek byl od čtyř jedinců odebrán 23.6 a znovu u mláďete Calamity byl poslední vzorek odebrán o něco déle a to 8. 8. 2022.

V soukromém chovu byl odběr vzorků zahájen až 19. 8., druhý vzorek byl odebrán 23. 8. a poslední třetí vzorek 29. 8.

V Zoo Ústí nad Labem byl odběr zahájen 17. 6., kdy byl odebrán vzorek pouze u samce a u samice byl odebrán o tři dny později, tudíž 20. 6. Druhý vzorek byl odebrán 30. 6. u samce a u samice 27. 6., poslední třetí vzorek se povedl odebrat u samce 12. 7. a u samice již 8. 7.

V Zoo Lešná byl odběr chovateli zahájen 18. 7., druhý odběr byl u obou jedinců uskutečněn 20. 7., třetí odběr a tudíž i poslední proběhl u samce Vigga 29. 7. a u samice Elišky 25. 7. Tudíž odběry vzorků probíhaly od června do konce srpna 2022.

Vzorky výkalů bylo potřeba odebírat vždy čerstvé, tudíž nejlépe ihned po defekaci. Když toto nebylo možné, byl vzorek odebrán z povrchu výkalu (tudíž z části, který se nedotkl země) Do každé zkumavky bylo sterilní tyčinkou odebráno pouze malé množství stolice ve velikosti lískového ořechu (přibližně 1 g), zkumavky s médiem byly jemně promíchány, aby došlo k ponoření vzorků.

Po odběru byly skleněné zkumavky označeny lihovým popisovačem identifikačními údaji zvířete a datumem odběru. Po odběru a označení byly zkumavky se vzorky hluboce zamrazeny.

Současně bylo po chovatelích požadováno vyplnění dotazníku pro každé zvíře, který obsahoval například jméno jedince či jaký typ krmné dávky je mravenečníkům předkládán. V průběhu odběrů vzorků byla zároveň změřena teplota a vlhkost vzduchu v chovatelském prostředí.

Pro experiment bylo tedy použito celkem 33 fekálních vzorků sesbíraných od 11 jedinců *Tamandua tetradactyla*, přičemž většině jedincům byla podávána jako základ krmné dávky komerční krmná směs, pouze v Zoo Olomouc byla jedincům předkládána pouze jejich vlastní krmná dávka.

4.2.2 Sběr informací o chovatelském prostředí, krmné dávce a samotný svoz vzorků

Při návštěvě zoologických zahrad jsem získávala od chovatelů potřebné doplňující informace o chovatelském prostředí, o intervalech podávání krmné dávky a jejím složení, či o problémech, kterými jedinci trpí, zároveň jsem pořizovala fotodokumentaci potřebnou pro vizualizaci chovatelského prostředí. Též jsem měla možnost v Zoo Lešná a v zoo Ústí nad Labem odebrat vzorek výkalů do umělého sáčku pro jiné mikrobiologické účely a ty odvézt na Katedru mikrobiologie, výživy a dietiky (KMVD), ČZU v Praze.

4.2.3 Analýza vzorků

Odebrané vzorky výkalů byly podrobeny kultivační analýze, která byla zaměřena na mikrobiální kvantifikaci a izolaci především bifidobakterií, laktobacilů a bakterií čeledi Enterobacteriaceae. Vlastní identifikace bakteriálních izolátů byla provedena pomocí metody MALDI TOF MS.

4.2.3.1 Mikrobiologická analýza

Mikrobiologická analýza vzorků výkalů byla provedena na Katedře mikrobiologie, výživy a dietiky (KMVD), ČZU v Praze. Mikrobiologická analýza byla provedena pomocí kultivační deskové metody. S cílem stanovit ve vzorcích stolice celkové počty anaerobních bakterií, bifidobakterií, laktobacilů a koliformních bakterií *Escherichia coli*. Rodová a druhová identita detekovaných bakterií byla ověřena pomocí metody MALDI TOF MS.

Použitá média pro detekci mikroorganismů

K detekování celkového počtu bakterií a pro bakterie rodu *Bifidobacterium*, jsou využívána média, jejichž výchozí složkou je modifikovaný agar Wilkins-Chalgren agar (Oxoid); (43g/l), doplněný o sójový pepton (5g/l), L – cystein (0,5g/l) a tween (1ml/l), tento základní modifikovaný agar je označován jako WSP.

Pro stanovení přítomnosti rodu *Bifidobacterium* se využívají dvě varianty médií, první variantou byl již zmíněný modifikovaný Wilkins-Chalgren agar, kdy je navíc přidáván mupirocin (200 mg/l) a kyselina octová (1 ml/l), tento typ média je označován jako (WSP-MUP). Selektivní složky mupirocin a kyselina octová jsou přidávány po vytemperování na 50 °C. Druhou variantou byl opět modifikovaný Wilkins-Chalgren agar, avšak nyní s přidavkem mupirocinu (200 mg/l) a norfloxacinu (200 mg/L), kdy je již kyselina octová obsažena v zásobním roztoku antibiotika taktéž v koncentraci (1ml/l), toto médium je označováno jako (WSP-MUP+NORF).

Pro selektivní stanovení *Escherichia coli* bylo použito médium TBX (Tryptone Bile X-glucuronide, Oxoid), kdy médium TBX bylo připraveno pouze rozpuštěním agaru TBX v destilované vodě s následným promícháním této směsi a sterilizací agaru jako u WSP.

A nakonec pro stanovení laktobacilů bylo použito médium Rogosa agar (Oxoid), kdy toto médium bylo připraveno obdobně jako TBX, tudíž Rogosa agar byl pouze smíchán s destilovanou vodou a poté rozvařen, avšak dvě minuty před koncem rozvaření byla do směsi přidána kyselina octová v koncentraci 132 µl/100 ml.

Kultivační stanovení vybraných skupin mikroorganismů

Rozbor testovaných fekálních vzorků byl proveden za pomoci kultivační deskové metody na vybraných selektivních médiích, vhodných pro detekci požadovaného typu bakterií.

Nyní mohlo dojít k vytažení zkumavek s médiem a vzorky výkalů mravenečníků z lednice, kde byly uchovávány do doby začátku kultivační analýzy (viz Příloha VII).

Pro rozbor byla vytvořena ředící řada 2. – 8. ředění (viz Obr. 7), kdy odebraný vzorek představoval 1. ředění.

Každá odběrová zkumavka byla před a po vložení vzorku zvážena, z rozdílu hodnot bylo možné stanovit množství odebraného vzorku a přepočítat tak množství inokula do druhého ředění. Vzorky byly před vytvořením ředících řad homogenizovány, vytvořené 2. ředění, dále už bylo inokulováno po 1 ml do každého následného ředění. Vše probíhalo za aseptických podmínek pomocí kahanu a sterilního materiálu. U každého ředění bylo nutné používat novou injekční stříkačku.

Do připravených Petriho misek bylo injekční stříkačkou v množství 0,5 ml vpraveno médium z příslušné ředící řady, ale nejdříve došlo samozřejmě ke sterilizaci ředící řady nad kahanem, aby se zamezilo kontaminaci, tudíž vniknutí cizích bakterií z prostředí. Inokulum v Petriho misce bylo přelito příslušným agarem a obsah byl pomalými krouživými pohyby promíchán. Nyní se čekalo na plné zatuhnutí médií.

U Rogosy byl nepatrně jiný postup, po zatuhnutí první vrstvy média s inokulem, bylo médium znovu přelito druhou vrstvou (došlo tak k vytvoření mikroaerofilních podmínek).

U TBX byl zcela odlišný postup, poněvadž prázdné Petriho misky byly nejdříve zality médiem TBX a po jeho zatuhnutí, bylo teprve na toto médium aplikováno 0,1 ml média z příslušné ředící řady. Poté bylo provedeno takzvané očkování, kdy bylo inokulum krouživými pohyby sterilní bakteriologickou hokejkou rozetřeno po ztuhlé vrstvě média.

Následně byly Petriho misky s médii WSP (pro celkové počty bakterií), MUP a NORF (pro bifidobakterie) kultivovány za anaerobních podmínek vložением anaerobního vyvíječe AnaroGen (Oxoid). Petriho misky s médiem TBX (*Escherichia coli*) byly pouze dány dnem vzhůru do kovového držáku a kultivovány za aerobních podmínek (za přístupu vzduchu).

A nakonec misky s médiem Rogosa (laktobacily) byly dány víčekem dolů a kultivovány mikroaerofilně (tzn., inokulum bylo přelito dvěma vrstvami média).

Takto připravená média byla dána do termostatu, kde byla nastavena teplota na 37 °C. Média WSP, MUP, NORF a Rogosa se v termostatu nechala po dobu 48 hodin. Médium TBX bylo odebráno z termostatu a zkontrolováno již po 24 hodinách, jako *Escherichia coli* byly kvantifikovány modrozelené kolonie, tedy kolonie pozitivní na β -glukuronidázovou aktivitu typickou právě pro tento druh bakterií (viz Příloha VI).

Kvantifikace

Narostlé kolonie byly spočítány za pomoci digitálního počítadla a celkový počet byl vždy vynásoben číslem 2 (inokulační dávka byla pouze 0,5ml a ne 1 ml, kvůli využití menších Petriho misek), jen u média TBX byl celkový počet vždy vynásoben číslem 10 (inokulační dávka 0,1ml).

Výpočtem níže byly získány počty kolonií tvořících jednotek v 1 g vzorku stolice (KTJ/1g stolice).

$$P = [(P1 + P2) / 11] * F \text{ (KTJ/g)}$$

P1, P2 – počet kolonií na dvou po sobě jdoucích počitatelných plotnách

F – převrácená hodnota nejvyššího ředění

KTJ – kolonie tvořící jednotka

Izolace kolonií

Následně byly izolovány narostlé kolonie bakterií dle rozdílných kultivačních charakteristik (barva, tvar, struktura kolonie) a selektovány, aby byla ověřena identita bakterií detekovaných na použitých médiích. Tímto způsobem bylo odebráno z každého druhu média přibližně 1-5 odlišných kolonií pomocí sterilních bakteriologických kliček. Bylo tak učiněno vyjmutím této kolonie ze živného substrátu, a jejím následným vložením do zkumavek s tekutým médiem WSP bujón (modifikovaný Wilkins Chalgren bujón; WCHB), izolace probíhala asepticky s použitím kahanu.

Takto byly vytvořeny izoláty, které byly poté kultivovány v termostatu po dobu 24 hodin při teplotě 37 °C.

Po kultivaci bylo z narostlých izolátů ve zkumavkách odebráno injekční stříkačkou 1 ml média s narostlou kulturou a malé množství (kapka) z injekční stříkačky byla následně aplikována na podložní skličko a poté ihned překryta z boku krycím skličkem za účelem kontroly čistoty kultury a morfologie. Pozorování bylo prováděno za pomoci světelného mikroskopu s fázovým kontrastem, pod zvětšením 400x. U vybraných izolátů byl pořízen digitální snímek.

Následně byly tyto zkumavky použity pro identifikaci MALDI-TOF MS ((hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí a ionizací za účasti matrice s průletovým analyzátozem: Matrix – Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight mass spectrometry).

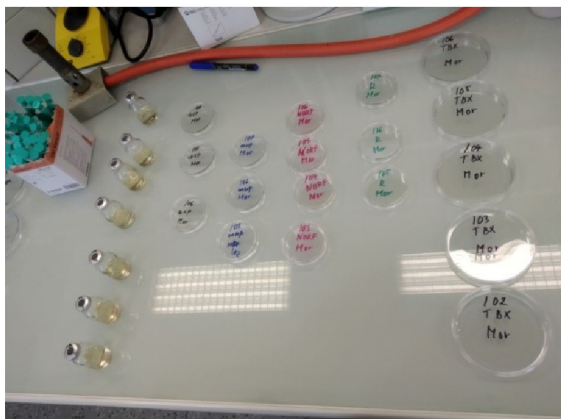
Metoda MALDI TOF MS

Takto připravené vzorky v Eppendorf zkumavkách byly vloženy do centrifugy pro zrychlení sedimentace částic, v centrifuze byly ponechány po dobu dvou minut a při maximálních otáčkách (14 500 otáček/1 minuta). Po vyndání z centrifugy byl nadbytečný supernatan vylit, tudíž na dně plastové zkumavky zůstal pouze sediment (peleta). Tyto pelety byly poté pipetou smíchány s 500 µl 70 % etanolu, následně byly zkumavky znovu vloženy do centrifugy. Poté byly vzorky opětovně vyndány z centrifugy a přebytečný etanol byl slit a odpipetován, kdy znovu zůstala na dně pouze peleta. Vzorky byly ponechány asi 20 minut otevřené při pokojové teplotě, aby zryhující etanol vytěkal.

Následně bylo k peletě přidáno 15 µl 70% kyseliny mravenčí a 15 µl 100 % acetonitrilu (obojí Sigma). Následně proběhla homogenizace suspenze za pomoci vortexu a opět byly zkumavky vloženy do centrifugy.

Následně byl výsledný roztok (supernatan) pipetou nanášen ve dvou kopiích v množství 1 µl metodou Bottom - layer na speciální kovovou destičku (Bruker, Německo). Tato metoda

funguje tak, že jako první se na destičku nanáší právě 1 µl supernatanu a po jeho zaschnutí je ještě na tento vzorek nepipetován 1 µl matrice (matrix – Bruker). Vzorky byly analyzovány a identifikovány SW Biotyper (Bruker).



Obrázek 7: Petriho misky připravené na rozbor a na levé straně ředící řada (Autor: Košatová, 2022)

4.3 Chovatelské prostředí a informace o jednotlivých jedincích

4.3.1 Zoo Olomouc

Pouze jeden dospělý jedinec chovaný v Zoo Olomouc pochází z volné přírody a tím je současně jediný samec chovaný touto institucí. Samec s označením Chaco, který pochází z Paraguaye. Dalšími jedinci jsou dvě samice, jedna s označením Morgana, která byla do Zoo Olomouc importována z Faunia (Parque Biologico De Madrid, SA). A druhá samice Calamity, která byla do Olomouce importována ze Zoo Frankfurt. Dvěma posledními jedinci jsou mláďata odchována již touto institucí, jedno mládě je od samice Morgany a druhé od Calamity (viz Příloha VIII a IX).

V této instituci mají mravenečníci k dispozici vnitřní a zároveň venkovní (viz Obr. 8) výběh, kdy oba tyto výběhy jsou vybaveny kládami a různými úkryty. Výběh sdílí s lenochodem dvouprstým (*Choloepus didactylus* Linnaeus, 1758) (viz Obr. 9) a morčetem divokým (*Cavia aperea* Linnaeus, 1758). V Zoo Olomouc je k dispozici navíc další výběh pro separaci samce, tudíž při sběru dat byl již samec Chaco přesunut od matek s mláďaty právě do druhého výběhu, kde sdílí výběh s druhem kotul veverkovitý (*Saimiri sciureus* Linnaeus, 1758) a mara slaništní (*Dolichotis salinicola* Burmeister, 1876). Jako podestýlka je zde použita štěpka. Je zde prováděno ruční zavlažování, mlžení momentálně nefunguje. Ve vnitřní ubikaci jsou udržovány tropické teploty, tudíž teplota se pohybuje v rozmezí 23 – 24 °C. V ubikaci byla naměřena běžná vlhkost 60% a po navlhčení štěpky, které se provádí 1x denně byla ve vnitřní ubikaci naměřena vlhkost kolem 80 – 85 %. Všichni jedinci jsou očipováni.

Všem jedincům byl v této instituci podán probiotický doplněk stravy NutriMix Probiotic (fa Trouw Nutrition, Biofaktory). Od 4. 5. 2020 je dospělým jedincům podávána autovakcína. Jedné samici s označením Morgana bylo navíc v únoru 2022 podáno antibiotikum Shotapen. V Zoo Olomouc je předkládána jedincům vlastní krmná směs.



Obrázek 8: venkovní výběh mravenečníků čtyřprstých - Zoo Olomouc
(Autor: Košatová, 2022)



Obrázek 9: mravenečník čtyřprstý a lenochod dvouprstý ve vnitřním výběhu - Zoo Olomouc
(Autor: Košatová, 2022)

4.3.2 Zoo Ústí nad Labem

Samec a samice chovaní v této instituci pocházejí z volné přírody (z Peru).

V Zoo Ústí nad Labem mají mravenečníci rovněž k dispozici venkovní (viz Obr. 12) a vnitřní (viz Obr. 10) ubikaci, kdy jsou tyto ubikace vybaveny kládami a různými odpočívadly (viz Příloha XII). Výběh sdílí se samicí a samcem chvostana bělolícího (*Pithecia pithecia*, Linnaeus 1766); (viz Obr. 11). Jako podestýlku zde používají borku a písek. Ve vnitřní ubikaci mají problém s izolací a zároveň tudíž s teplotou. Naměřená teplota v ubikaci byla 25,6°C a vlhkost 69% (v létě).

U mravenečníků jsou pozorovány opakované průjmy a u samce je od 15. 7. 2022 pozorováno agresivní chování z neznámé příčiny.

Všem jedincům byly podány probiotické doplňky stravy Probiodog (©International Probiotic Company s.r.o., Slovensko) a Fortiflora canine (Purina®, Česká republika). Samci dne 28. 2 2022 bylo aplikováno antibiotikum Ultrapen LA (©Norbrook Laboratories, Irsko).

V Zoo Ústí nad Labem je jedincům předkládána komerční krmná směs Granovit – Insectivore with insect meal (©Granovit AG, Švýcarsko).



Obrázek 10: vnitřní výběh mravenečníků čtyřprstých - Zoo Ústí nad Labem
(Autor: Košatová, 2022)



Obrázek 11: samec mravenečníka čtyřprstého se samcem chvostana bělolícího ve venkovním výběhu - Zoo Ústí nad Labem
(Autor: Košatová, 2022)



Obrázek 12: venkovní výběh mravenečníků čtyřprstých - Zoo Ústí nad Labem
(Autor: Košatová, 2022)

4.3.3 Zoo Lešná

Samec Viggo byl narozen v Zoo Lešná, ale samice Eliška byla do tohoto zařízení importována z Faunia (Parque Biológico De Madrid, SA).

V Zoo Lešná mohou mravenečníci též využívat venkovní (viz Obr. 14) i vnitřní (viz Obr. 13) ubikaci, kdy jsou ubikace vybaveny kládami a úkryty. Prostor je sdílen s chápany (*Ateles paniscus*, Linnaeus 1758), ačkoliv k přímému kontaktu nedochází. Ke kontaktu dochází poze přes mříže, kterými jsou ubikace těchto dvou druhů odděleny, tudíž mikroklima sdílejí společně. Jako podestýlka jsou zde používány bukové štěpky (potravinářské, určené pro udění). Dříve měli v této instituci problém s termostatem. Naměřená teplota ve vnitřní ubikaci se pohybuje v rozmezí 19 – 24 °C. Ven je *Tamandua* pouštěn již cca od 18 °C pouze při hezkém počasí.

V této instituci nebyl prozatím podán žádnému jedinci probiotický doplněk stravy, ani aplikováno antibiotikum.

V Zoo Lešná je podávána mravenečnickům též komerční krmná směs Granovit - Insectivore with insect meal (©Granovit AG, Švýcarsko) jako v Zoo Ústí nad Labem.



Obrázek 13: vnitřní výběh mravenečnicka čtyřprstého – Zoo Lešná
(Autor: Košatová, 2022)



Obrázek 14: venkovní výběh mravenečnicka čtyřprstého – Zoo Lešná
(Autor: Košatová, 2022)

4.3.4 Soukromý chov

Jedinci chovaní v tomto chovu pocházejí z volné přírody (z Peru).

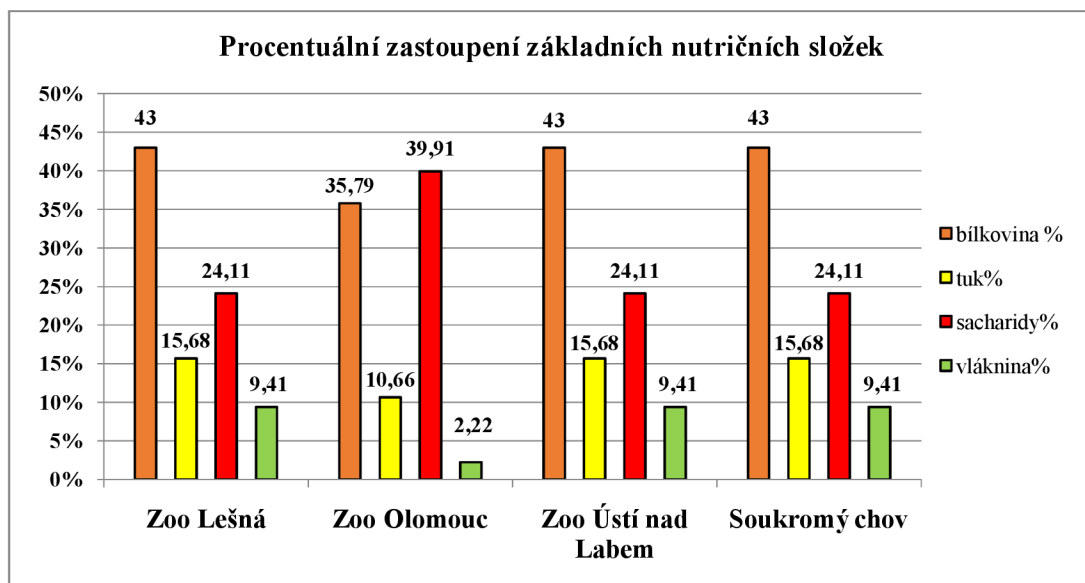
V soukromém chovu mají mravenečníci možnost využívat pouze vnitřní výběh, tudíž nemají možnost pobytu venku. Ubikaci nesdílejí se žádným jiným druhem. Jako podestýlka jsou používány bezprašné hobliny. Teplota naměřená v ubikaci se pohybuje mezi 22 – 26 °C. Rovněž jako v Zoo Lešná i zde jedincům nebyl podán žádný probiotický doplněk stravy ani žádné antibiotikum.

Krmná dávka je v tomto chovu tvořena pouze komerční směsí Granovit - Insectivore with insect meal (©Granovit AG, Švýcarsko).

5 Výsledky

5.1 Nutriční složení jednotlivých krmných dávek

Následující graf porovnává procentuální zastoupení základních nutričních složek přirozeně se vyskytujících v potravě (bílkoviny, tuk, sacharidy a vlákninu) mezi jednotlivými chovnými zařízeními (viz Graf 1). Procentuální zastoupení nutričních složek je ve třech ze čtyř zařízení (Zoo Lešná, Zoo Ústí nad Labem a v soukromém chovu) zcela shodné, poněvadž v krmné dávce předkládané mravenečnickům je obsažena totožná základní složka – komerční směs Granovit - Insectivore with insect meal (©Granovit AG, Švýcarsko). Jediným zařízením odlišující se procentuálním zastoupením nutričních složek obsažených v krmné dávce je Zoo Olomouc, jelikož v Zoo Olomouc je pro mravenečnický připravována vlastní krmná dávka. V Zoo Lešná, Zoo Ústí nad Labem a v soukromém chovu vykazují bílkoviny, tuk a sacharidy obsažené v krmné dávce trend vyššího procentuálního zastoupení ve srovnání se Zoo Olomouc, naopak sacharidy jsou jedinou výjimkou, jelikož vykazují nižší procentuální zastoupení v krmné dávce na rozdíl od Zoo Olomouc, kde je procentuální zastoupení sacharidů mnohem vyšší než u zařízení s komerční krmnou dávkou.



Graf 1: procentuální zastoupení základních nutričních složek mezi jednotlivými chovnými zařízeními

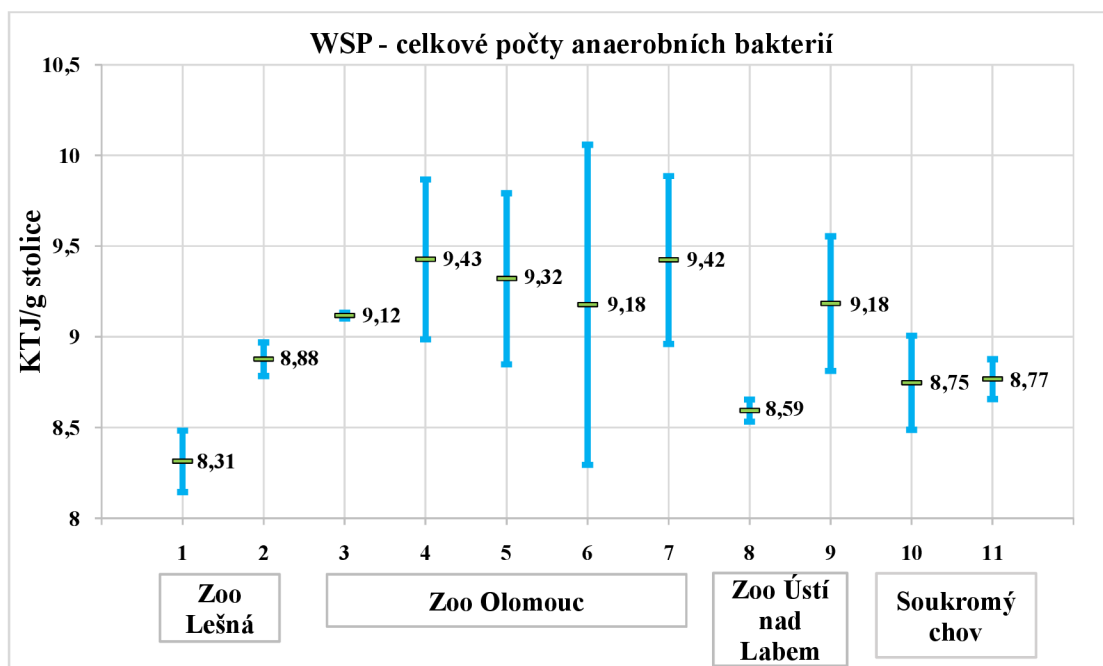
5.2 Výsledky mikrobiologické analýzy

Kultivační analýza byla provedena pro stanovení druhů bakterií vyskytujících se v mikrobiomu mravenečnicka čtyřprstého, současně byla provedena z důvodu potvrzení výskytu bifidobakterií v mikrobiomu tohoto druhu. Vybranými skupinami pro naši analýzu byly klostridie, laktobacily + pediokoky, bifidobakterie a *Escherichia coli*, jelikož katedra Mikrobiologie, výživy a dietiky ČZU je zaměřena právě na izolaci kolonií těchto vybraných skupin bakterií. Bifidobakterie byly ve výkalech detekovány pouze v několika jednotkách, poněvadž došlo ke špatné přípravě koncentrace antibiotik (norfloxacin), tudíž tato data nejsou v této práci v širším spektru prezentována. Klostridie byly na základě analýzy ve výkalech mravenečnicků čtyřprstých detekovány v nejvyšším zastoupení. Současně bylo celkově zaznamenáno lehce vyšší průměrné zastoupení klostridií u jedinců chovaných v Zoo Olomouc, kde procentuální obsah sacharidů v krmné dávce převyšuje nad krmnou dávkou ostatních zařízení (viz Graf 1).

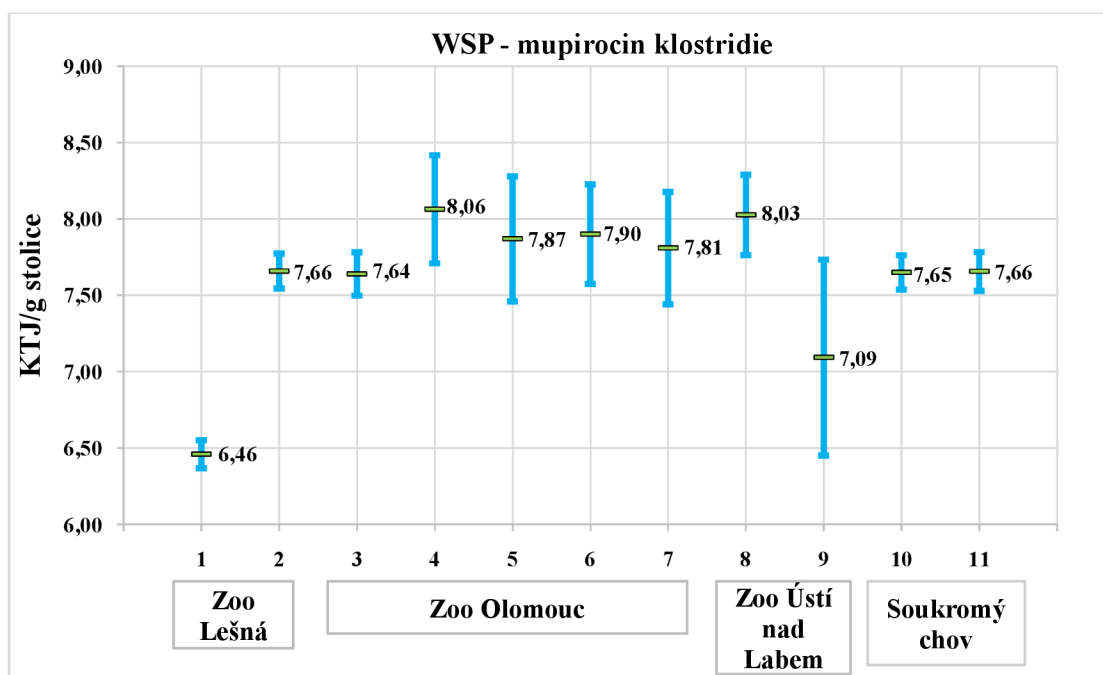
Z důvodu kultivace totožných druhů bakterií nebyly ve vzorcích výkalů mezi jednotlivými jedinci mravenečnicka čtyřprstého detekovány žádné významné rozdíly.

Z grafu (viz Graf 2) vyplývá, že nebyl pozorován žádný významný rozdíl v celkových počtech anaerobních bakterií vyskytujících se v mikrobiomu jednotlivých jedinců, ačkoliv u jedinců pocházejících ze Zoo Olomouc ve srovnání s ostatními jedinci lze pozorovat průměrně lehce vyšší celkové počty anaerobních bakterií. Kdy jeden jedinec ze Zoo Ústí nad Labem dosahuje stejné průměrné hodnoty celkového počtu anaerobních bakterií jako mládě samice Morgany ze Zoo Olomouc. Nejvyšší hodnota směrodatné odchylky byla pozorována u mláděte samice Morgany ze Zoo Olomouc. Nejvyšší variabilita směrodatné odchylky byla rovněž pozorována mezi jedinci ze Zoo Olomouc, kdy u samce Chaca byla pozorována téměř nulová směrodatná odchylka a současně nejnižší hodnota směrodatné odchylky ze všech jedinců, naopak u mláděte Morgany byla zaznamenána nejvyšší hodnota směrodatné odchylky ze všech jedinců zahrnutých do této analýzy.

V grafu (viz Graf 3) nebyl zaznamenán žádný významný rozdíl v průměrném celkovém počtu klostridií v mikrobiomu jedinců, pouze v Zoo Lešná byla u samce Vigga zaznamenána mírně nižší průměrná hodnota v celkovém počtu klostridií. Nejvyšší hodnota směrodatné odchylky byla zaznamenána u samice ze Zoo Ústí nad Labem.



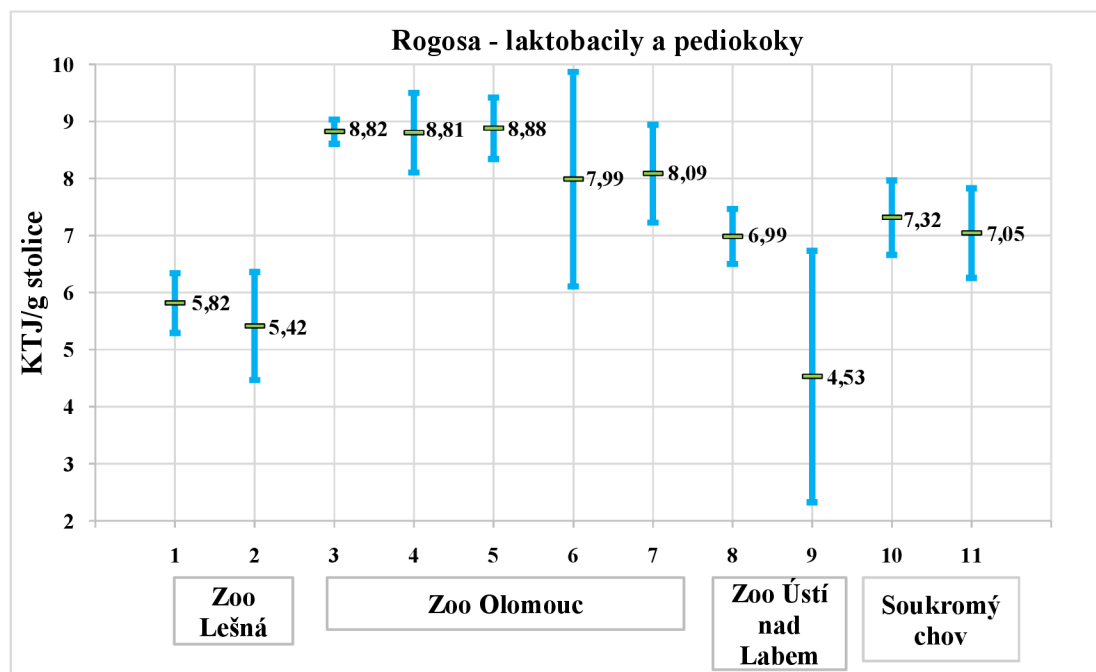
Graf 2: znázornění průměru a SD – celkových počtů anaerobních bakterií



Graf 3: znázornění průměru a SD – celkového počtu klostridií v mikrobiomu jednotlivých jedinců

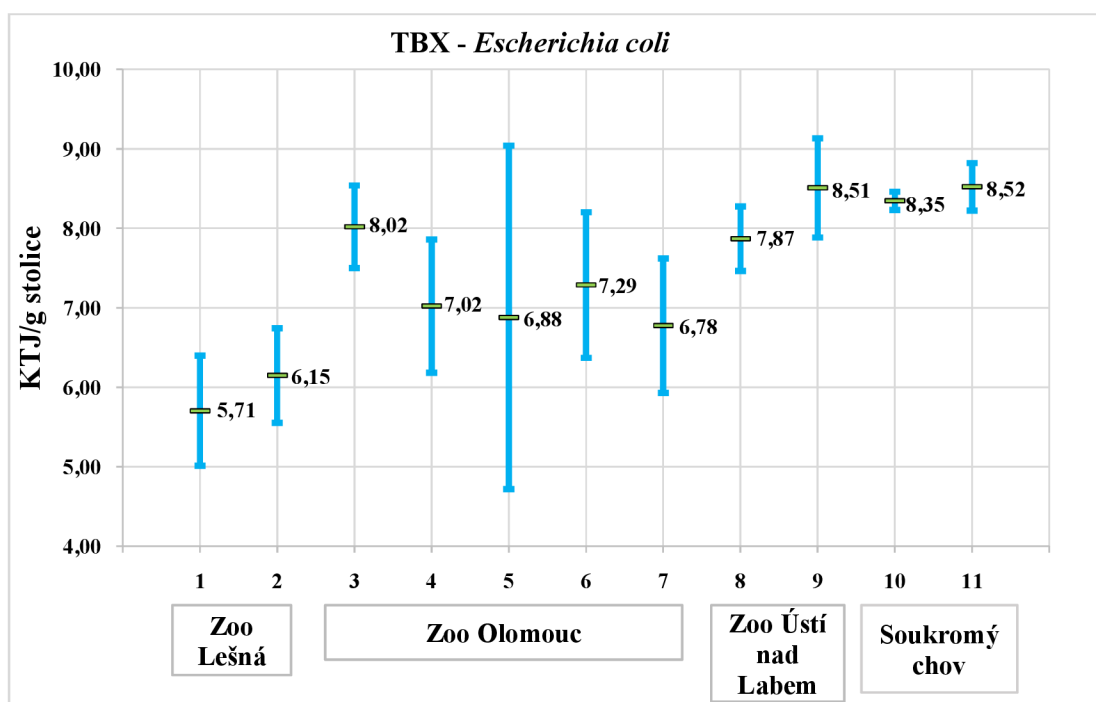
Z grafu (viz Graf 4) je patrné, že jednoznačně nejvyšší průměrné zastoupení laktobacilů a pediokoků se nachází v mikrobiomu jedinců pocházejících ze Zoo Olomouc. Naopak u samice pocházející ze Zoo Ústí nad Labem bylo pozorováno nejnižší průměrné zastoupení laktobacilů a pediokoků a současně byla v tomto zařízení zaznamenána nejvyšší variabilita

mezi jedinci v hodnotách průměrného celkového počtu laktobacilů a pediokoků v jejich mikrobiomu. Celkově lze u jedinců ze Zoo Lešná konstatovat, průměrně nejnižší výskyt laktobacilů a pediokoků. Nejvyšší hodnota směrodatné odchylky byla pozorována u samice ze Zoo Ústí nad Labem.



Graf 4: znázornění průměru a SD – celkového počtu laktobacilů a pediokoků v mikrobiomu jednotlivých jedinců

Z grafu (viz Graf 5) vyplývá, že nejvyšší zastoupení *Escherichia coli* bylo detekováno u samice ze soukromého chovu, ačkoliv u samice ze Zoo Ústí nad Labem byla zaznamenána téměř totožná hodnota. Průměrně nejvyšší zastoupení této bakterie bylo tedy detekováno u jedinců pocházejících ze soukromého chovu. Naopak nejnižší průměrný počet *Escherichia coli* byl zaznamenán v Zoo Lešná. Nejvyšší hodnota směrodatné odchylky byla zjištěna u samice Morgany pocházející ze Zoo Olomouc.



Graf 5: znázornění průměru a SD – celkového počtu *Escherichia coli* v mikrobiomu jednotlivých jedinců

Na základě metody MALDI TOF MS byla ověřena rodová a druhová identita detekovaných bakterií, kdy u WSP – celkových počtů anaerobních bakterií byly detekovány rody - enterokoků, streptokoků, *Bacteroides* spp., laktokoků, klostridií a laktobacilů. Pro WSP mupirocin – klostridie byly jako nejčastější druhy detekovány (*Paraclostridium bifermentans*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium baratii*, *Clostridium colicanis*, *Eubacterium tenue*, *Paeniclostridium sordellii*). Pro Rogosu – laktobacily byly detekovány druhy (*Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus sakei*, *Limosilactobacillus reuteri*) a pro pediokoky byl nejčastěji detekovaným druhem (*Pediococcus pentosaceus*). Pro TBX - *Escherichia coli* byly detekovány modré beta-glukuronidáza pozitivní kolonie (vit Tab. 3).

Tabulka 3: nejčastěji detekované rody a druhy v mikrobiomu mravenečnicka čtyřprstého metodou MALDI TOF MS

Médium bakteriální skupina	MALDI TOF MS
WSP - celkové počty anaerobních bakterií	enterokoky, streptokoky, <i>Bacteroides</i> spp., laktokoky, klostridie, laktobacily
WSP mupirocin - klostridie (*bifidobakterie)	klostridie (<i>Paraclostridium bifermentans</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Clostridium baratii</i> , <i>Clostridium colicanis</i> , <i>Eubacterium tenue</i> , <i>Paeniclostridium sordellii</i>)
Rogosa agar - laktobacily a pediokoky	laktobacily (<i>Lactobacillus curvatus</i> , <i>Lactobacillus sakei</i> , <i>Limosilactobacillus reuteri</i>), pediokoky (<i>Pediococcus pentosaceus</i>)
TBX - <i>Escherichia coli</i>	modré beta-glukuronidáza pozitivní kolonie = <i>E. coli</i>

5.3 Chovatelské prostředí

Jediným chovným zařízením, kde mravenečníci čtyřprstí nemají možnost pobývat ve venkovním výběhu je soukromý chov. Nejvyšší naměřená teplota 26°C ve vnitřní ubikaci byla naměřena v soukromém chovu, největší teplotní rozpětí 19 - 24°C bylo naměřeno v Zoo Lešná a současně zde byla zaznamenána nejnižší teplota 19 °C. V Zoo Ústí nad Labem byla naměřena ve vnitřní ubikaci po soukromém chovu druhá nejvyšší teplota 25,6 °C a v Zoo Olomouc byla naměřena průměrná teplota 23 - 24°C. Jako podestýlka používaná do výběhu tohoto druhu převažovala štěpka, jen v Zoo Ústí nad Labem byla pro mravenečníky jako podestýlka použita borka a písek. Možnost přímého kontaktu s jinými druhy měli mravenečníci pouze v Zoo Olomouc a Ústí nad Labem. V Zoo Lešná byli mravenečníci v kontaktu s jiným druhem (chápany) pouze přes mříže a v soukromém chovu nedocházelo k žádnému kontaktu s odlišnými druhy. Běžná naměřená vlhkost ve vnitřní ubikaci v Zoo Olomouc a v Zoo Ústí nad Labem byla téměř totožná (60 % × 69 %), lišila se pouze o 9 %. Zařízením Zoo Lešná a soukromý chov nebyla tato data poskytnuta. Hlášenými problémy týkající se jedinců byly sděleny pouze institucí Zoo Ústí nad Labem, kde dochází u samce k opakovanému výskytu průjmů a současně u něj bylo pozorováno od 15. 7. 2022 agresivní chování vůči jedné z ošetřovatelek. U samice byl též opakovaně pozorován řídký trus a navíc přítomnost krvácení, kdy si v této instituci mysleli, že je tato samice březí, ale podle ultrazvuku nebyla tato domněnka potvrzena – v současné době již žádné krvácení pozorováno nebylo. Technický problém v Zoo Ústí nad Labem a Zoo Lešná se týkal udržení požadované teploty ve vnitřní ubikaci, kdy tedy v Zoo Ústí nad Labem byl problém s izolací a z toho plynoucí udržení té požadované teploty, v Zoo Lešná měli problém přímo s termostatem. V Zoo Olomouc měli problém s automatickým mlžením, tudíž bylo prováděno ruční zavlažování. Soukromým chovem nebyla poskytnuta žádná data týkající se technických problémů (viz Tab. 4).

Tabulka 4: charakteristika chovatelského prostředí zaměřená na ubikaci

Chovné zařízení	Jedinec	Ubikace	Teplota	Podestýlka	Další druh	Vlhkost	Hlášené problémy jedinců	Technické problémy
Olomouc	Chaco	INEX	23-24°C	štěpka	kotul veverovitý, mara slaništní	běžná: 60% (po navlhčení štěpky - 1x denně = 80 - 85%)	neuveдено	automatické mlžení momentálně nefunguje → nahrazeno ručním zavlažováním
	Calamity, Moragana, mládě Morgany, mládě Calamity	INEX	23-24°C	štěpka	lenochod dvouprstý, morče divoké	běžná: 60% (po navlhčení štěpky - 1x denně = 80 - 85%)	neuveдено	
Ústí n.L.	22UL13 - samec	INEX	25,6°C	borka a písek	chvostvan bělolící - samec a samice	69%	opakované průjmy, od 15. 7. 2022 agresivní chování	problémy s izolací a teplotou
	22UL14 - samice	INEX	25,6°C	borka a písek	chvostvan bělolící - samec a samice	69%	opakované řídké výkaly, v minulosti přítomnost krvácení	
Lešná	Viggo, Eliška	INEX	19-24°C	bukové štěpky	přes mříže - chápani	neuveдено	neuveдено	dříve problém s termostatem
Soukromý chov	1 - samec, 2 - samice	IN	22 – 26 °C	bezprašné hobliny	x	neuveдено	neuveдено	neuveдено

* IN - jen vnitřní výběh, INEX – vnitřní i venkovní výběh

V Zoo Olomouc je mravenečnickům na rozdíl od všech ostatních zařízení předkládána vlastní krmná dávka, kdy ještě navíc ke krmné dávce jsou jedincům dle jejich kondice podávány medové plástve, či mláďatům a jejich matkám je dvakrát týdně podáván grep + rajče a jednou týdně vařené slepičí vejce. Základní krmná dávka je v Zoo Olomouc předkládána mravenečnickům dvakrát denně, kdy jedna dávka obsahuje 135g různých komponentů (viz Příloha II) smíchaných s 500 ml vody plus jsou do směsi přidávány 2 ml medu a 3 ml kyseliny mravenčí a vše je poté rozmixováno do konzistence řídké kaše. Na rozdíl od ostatních zařízení je v Zoo Olomouc první krmná dávka podávána nejčasněji a to již v 6:00 hodin a druhá dávka je předkládána až kolem 15:00. Současně byl tedy v Zoo Olomouc zaznamenán nejdelší časový interval mezi podáváním jednotlivých krmných dávek. Zároveň mravenečníci dostávají každý den ke krmné dávce probiotika. Antibiotická léčba byla zaznamenána u všech jedinců kromě mláďat.

V Zoo Ústí nad Labem je mravenečnickům předkládána komerčně vyráběná směs Granovit, stejně jako v Zoo Lešná a v soukromém chovu. Navíc mravenečníci nepravidelně dostávali ke krmné dávce med a trubčinu obsahující larvy včel, kdy naopak v soukromém chovu nebyl mravenečnickům předkládán ke krmné dávce žádný komponent navíc. V Zoo Ústí nad Labem byla zaznamenána nejvyšší frekvence předkládání potravy, krmná dávka v tomto zařízení byla mravenečnickům předkládána třikrát denně, tudíž nejčastěji ve srovnání s ostatními zařízeními, kde byla mravenečnickům krmná dávka předkládána pouze dvakrát denně. První krmnou dávku dostávali v 8:00, druhou v 11:15 a poslední ve 14:00, z čehož plyne pro toto zařízení i nejkratší časový interval předkládání jednotlivých krmných dávek. V Zoo Ústí nad Labem bylo zaznamenáno největší množství předkládané krmné dávky na jednoho jedince za den. V tomto zařízení rovněž jako v Zoo Olomouc byl mravenečnickům podáván probiotický doplněk stravy, antibiotická léčba byla v tomto zařízení podána pouze samci.

V Zoo Lešná byla mravenečnickům podávána komerční krmná směs jako v Zoo Ústí nad Labem a v soukromém chovu. Rovněž v Zoo Lešná jako v Zoo Olomouc a v Zoo Ústí nad Labem byly podávány ke krmné dávce komponenty navíc, kdy naopak jak je, již výše zmíněno v jediném soukromém chovu mravenečnickům nebyl předkládán žádný komponent navíc k základní krmné dávce. Komponenty předkládané navíc ke krmné dávce v Zoo Lešná byly: larvy potemníka stájového (Buffalo), kdy Zoo Lešná bylo jediné zařízení, které předkládalo mravenečnickům nějaký druh červa, dalšími komponenty byly vařené vejce, měkké ovoce, avokádo a papája. Krmná dávka zde byla jedincům předkládána ve stejné frekvenci jako v ostatních zařízení, s výjimkou tedy Zoo Ústí nad Labem. Tudíž krmná dávka byla jedincům ze Zoo Lešná podávána dvakrát denně, kdy první dávka byla předkládána 8:30/9:00 a druhá ve 14:00, ve stejný čas jako byla zaznamenána třetí dávka v Zoo Ústí nad Labem, tudíž v Zoo Lešná i v Zoo Ústí nad Labem byli mravenečníci naposledy krmeni ve 14:00. V tomto zařízení nebyl mravenečnickům na rozdíl od Zoo Olomouc a Zoo Ústí nad Labem podán žádný probiotický doplněk stravy a současně zde nebyla žádnému jedinci podána antibiotická léčba.

V soukromém chovu je též jako v ostatních zařízení kromě Zoo Olomouc podávána komerční krmná směs Granovit, jak je již výše popsáno v tomto jediném zařízení nebyly zaznamenány žádné předkládané komponenty navíc ke krmné dávce. Frekvence podávání potravy byla v tomto chovném zařízení zaznamenána totožná jako v Zoo Olomouc a v Zoo

Lešná. Kdy krmná dávka byla rozdělena na dvě dávky, časové intervaly nelze bohužel v tomto zařízení porovnat, neboť data nebyla poskytnuta. Celkové množství předkládané potravy na jednoho jedince představovalo 120 gramů na den, tento údaj byl zaznamenán jako nejmenší množství předkládané krmné dávky ve srovnání s ostatními zařízeními. V soukromém chovu rovněž jako v Zoo Lešná nebyl mravenečnickům podán žádný probiotický doplněk stravy ani nebyla aplikována žádná antibiotická léčba (viz Tab. 5).

Tabulka 5: charakteristika chovatelského prostředí zaměřená na KD a antibiotickou léčbu

Chovné zařízení	Typ KD	Komponenty KD (předkládané navíc a nepravidelně)	Frekvence krmení	Množství krmné dávky/den/jedinec	1. dávka	2. dávka	3. dávka	Probiotický doplněk stravy	Antibiotická léčba
Olomouc	vlastní krmná dávka	medové plástve, grep + rajče (ovozeň - pracovní název), slepičí vejce	2x/den	135g+voda 500ml+med 2 ml + kyselina mravenčí 3 ml	6:00	přibližně v 15:00	není	ano	Ch. - ano
									Ca. - ano
									Mo. - ano
									m. Mo. - ne
									m. Ca. - ne
Ústí n.L.	Granovit	trubčina (bez medu) obsahující larvy včel + med	3x/den	525g	8:00	11:15	14:00	ano	22UL13 - samec - ano
									22UL14 - samice - ne
Lešná	Granovit	larvy potemníka stájového, vařené vejce, měkké ovoce, avokádo, papája	2x/den	150-250g (občas - jen 50g či někdy až 400g)	8:30/9:00	14:00	není	ne	ne
Soukromý chov	Granovit	x	2x/den	120g	neuveďeno	neuveďeno	není	ne	ne

*KD - krmná dávka, Ch. - Chaco, Ca. - Calamity, Mo. - Morgana, m. Mo. - mládě Morgany, m. Ca. - mládě Calamity

5.4 Statistické vyhodnocení

Na základě korelační analýzy byla porovnáována statistická závislost mezi nezávisle proměnnými (typem KD a typem chovného zařízení – Zoo včetně soukromého chovu) a závisle proměnnými (WSP celkového počtu anaerobních bakterií, nepatogenních laktobacilů a patogeních klostridií a E. coli). Dle koeficientu korelace (r) na základě hodnoty 0,788 lze usuzovat, že mezi WSP celkového počtu anaerobních bakterií a typem KD jde o silnou závislost (interval od 0,6 do 1). Současně na základě hodnoty 0,621 koeficientu determinace (r^2) lze usuzovat, že z 62,1 % je závisle proměnná (WSP celkové počty anaerobních bakterií) ovlivněna nezávisle proměnnou (typem KD). Naopak dle koeficientu korelace na základě hodnoty – 0,097 jde mezi WSP celkového počtu anaerobních bakterií a typem chovného zařízení o 0 závislost. Tudíž WSP celkové počty anaerobních bakterií a typ chovného zařízení jsou na sobě statisticky nezávislé.

Mezi závisle proměnnou (patogenní bakterie rodu klostridie) a nezávisle proměnnými (typ KD a typem chovného zařízení) nebyla zjištěna žádná statisticky významná závislost.

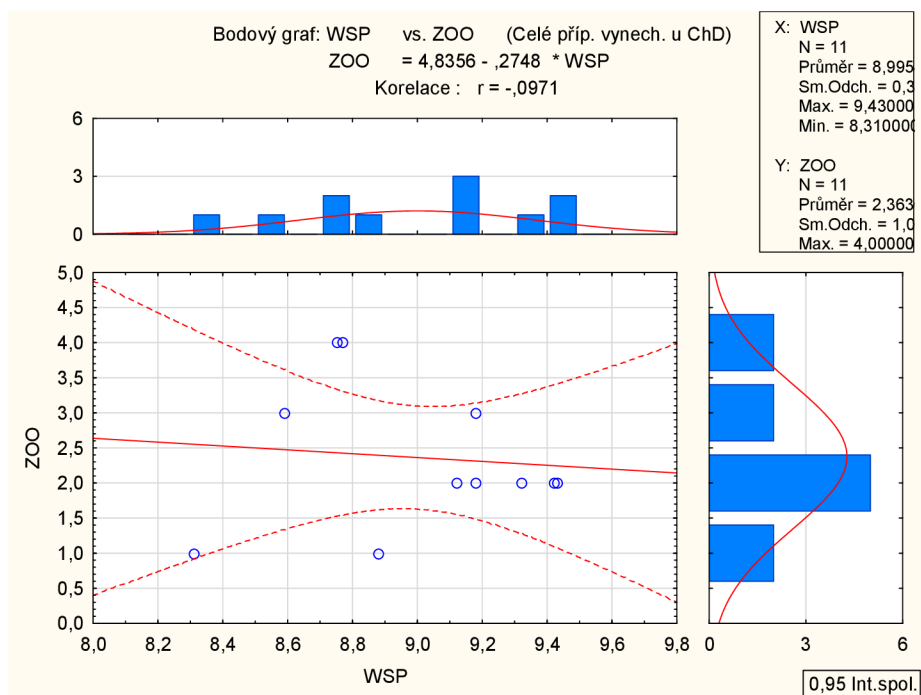
Dle koeficientu korelace na základě hodnoty 0,826 lze usuzovat, že mezi nepatogenními laktobacily a typem KD jde o silnou závislost (interval od 0,6 do 1). Současně na základě hodnoty 0,682 koeficientu determinace lze usuzovat, že z 68,2 % je závisle proměnná (nepatogenní laktobacily) ovlivněna nezávisle proměnnou (typem KD). Naopak dle koeficientu korelace na základě hodnoty 0,002 jde mezi nepatogenními laktobacily a typem

chovného zařízení o 0 závislost. Tudiž nepatogenní laktobacily a typ chovného zařízení jsou na sobě statisticky nezávislé.

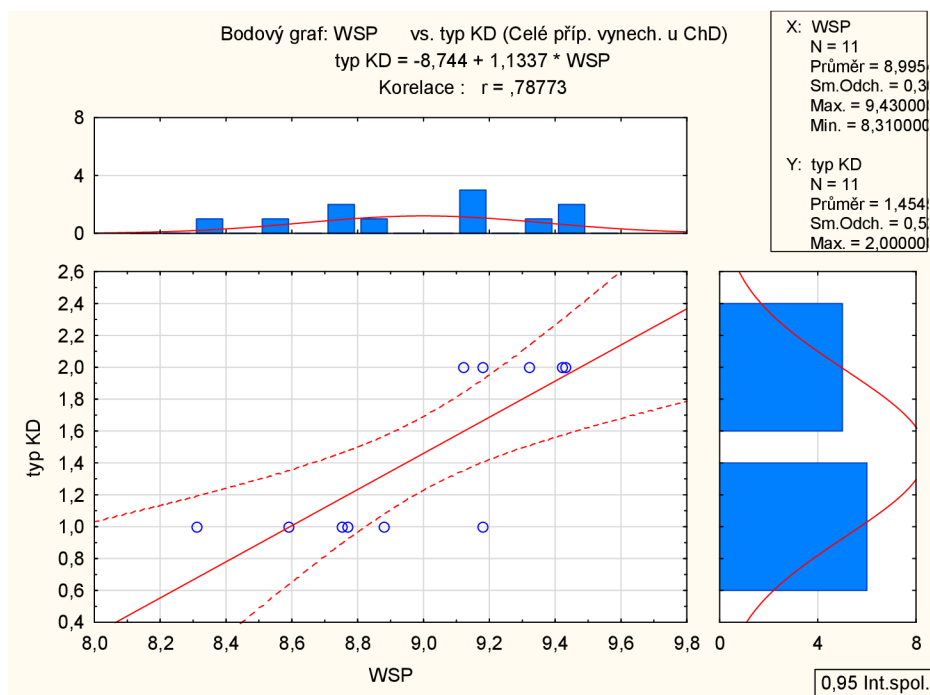
Dle koeficientu korelace na základě hodnoty 0,89 lze usuzovat, že mezi patogenní *E. coli* a typem chovného zařízení jde o silnou závislost (interval od 0,6 do 1). Současně na základě hodnoty 0,791 koeficientu determinace lze usuzovat, že ze 79,1 % je závisle proměnná (patogenní *E. coli*) ovlivněna nezávisle proměnnou (typem chovného zařízení). Naopak dle koeficientu korelace na základě hodnoty -0,174 jde mezi patogenní *E. coli* a typem KD o 0 závislost. Tudiž patogenní *E. coli* a typ KD jsou na sobě statisticky nezávislé (viz Tab. 6). Grafické zpracování výstupů korelační analýzy (viz Graf 6 - 13).

Tabulka 6: výstup korelační analýzy popisující závislost WSP, klostridií, laktobacilů a *E. coli* na dvou faktorech Zoo a KD

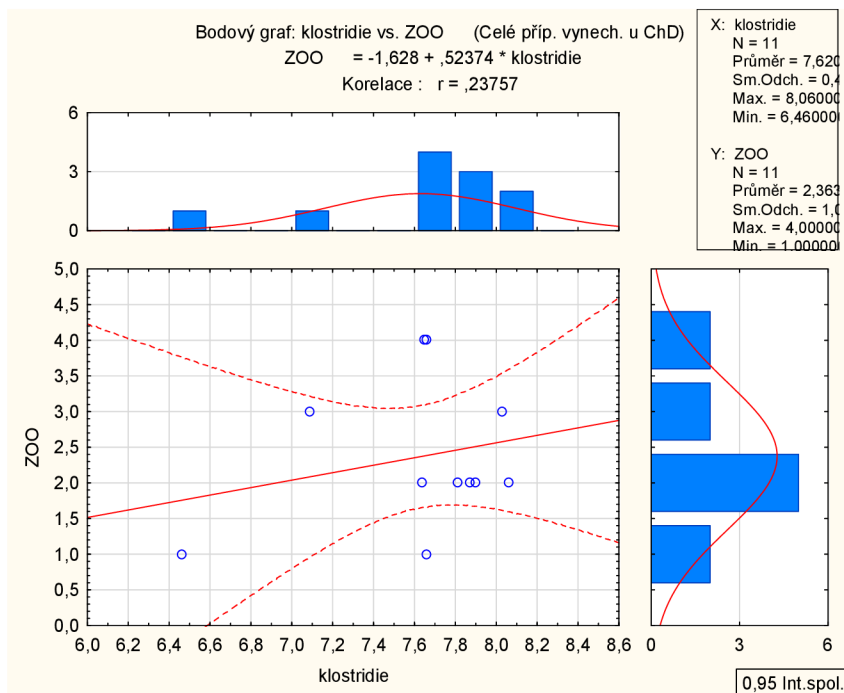
Prom. X & prom. Y	Korelace (ANT_EATER_12032023_etologie (2)) Označ. korelace jsou významné na hlad. $p < ,05000$ (Celé případy vynechány u ChD)						
	Průměr	Sm.Odch.	r(X,Y)	r2	t	p	N
WSP	8,995455	0,362860					
ZOO	2,363636	1,026911	-0,097100	0,009428	-0,292683	0,776400	11
WSP	8,995455	0,362860					
typ KD	1,454545	0,522233	0,787730	0,620518	3,836216	0,003990	11
klostridie	7,620909	0,465799					
ZOO	2,363636	1,026911	0,237567	0,056438	0,733705	0,481803	11
klostridie	7,620909	0,465799					
typ KD	1,454545	0,522233	0,483217	0,233499	1,655799	0,132145	11
lactobacil	7,247273	1,473541					
ZOO	2,363636	1,026911	0,002043	0,000004	0,006128	0,995244	11
lactobacil	7,247273	1,473541					
typ KD	1,454545	0,522233	0,825650	0,681698	4,390333	0,001745	11
E.coli	7,372727	0,960001					
ZOO	2,363636	1,026911	0,889509	0,791226	5,840274	0,000247	11
E.coli	7,372727	0,960001					
typ KD	1,454545	0,522233	-0,174259	0,030366	-0,530899	0,608338	11



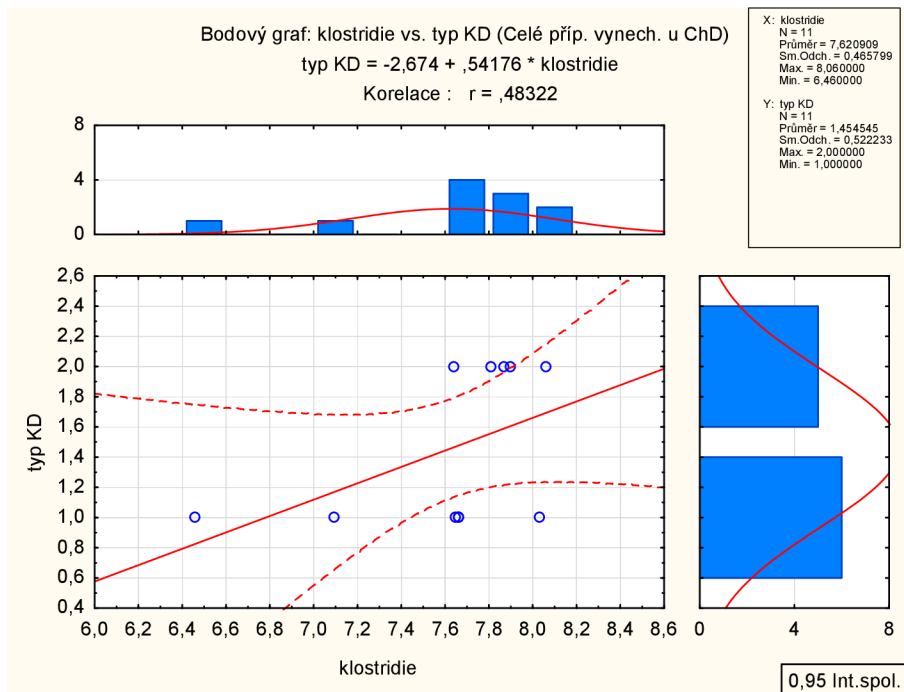
Graf 6: korelační analýza závislosti WSP na typu chovatelského prostředí



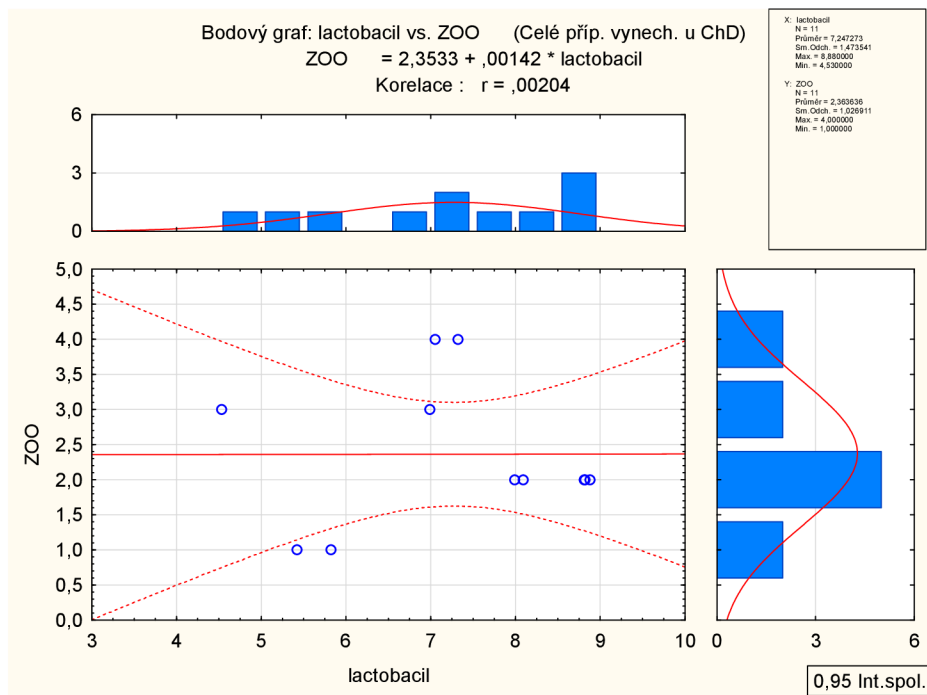
Graf 7: korelační analýza závislosti WSP na typu KD



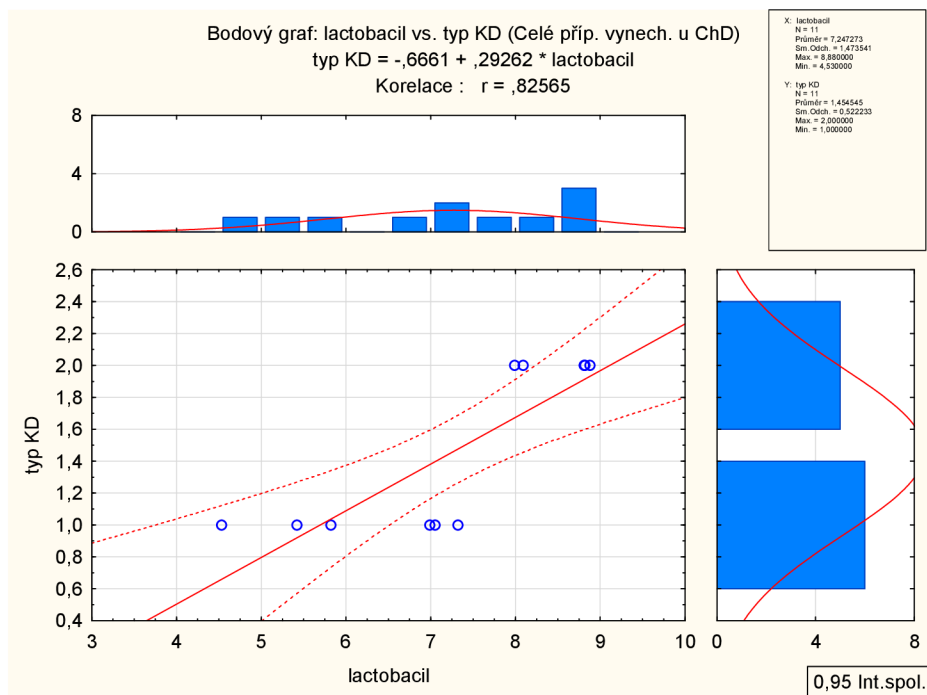
Graf 8: korelační analýza závislosti klostridií na typu chovatelského prostředí



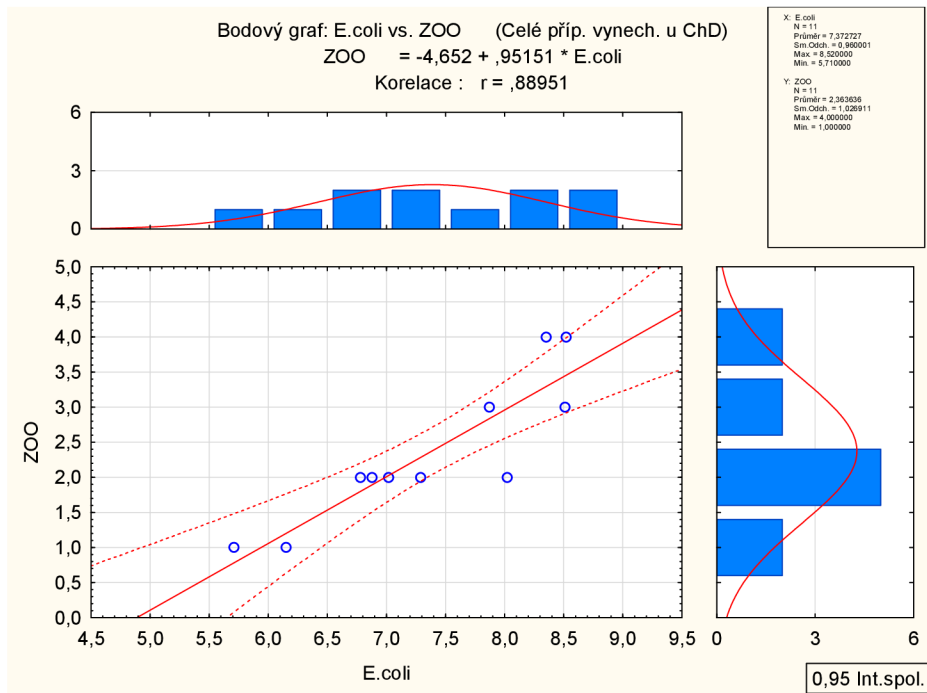
Graf 9: korelační analýza závislosti klostridií na typu KD



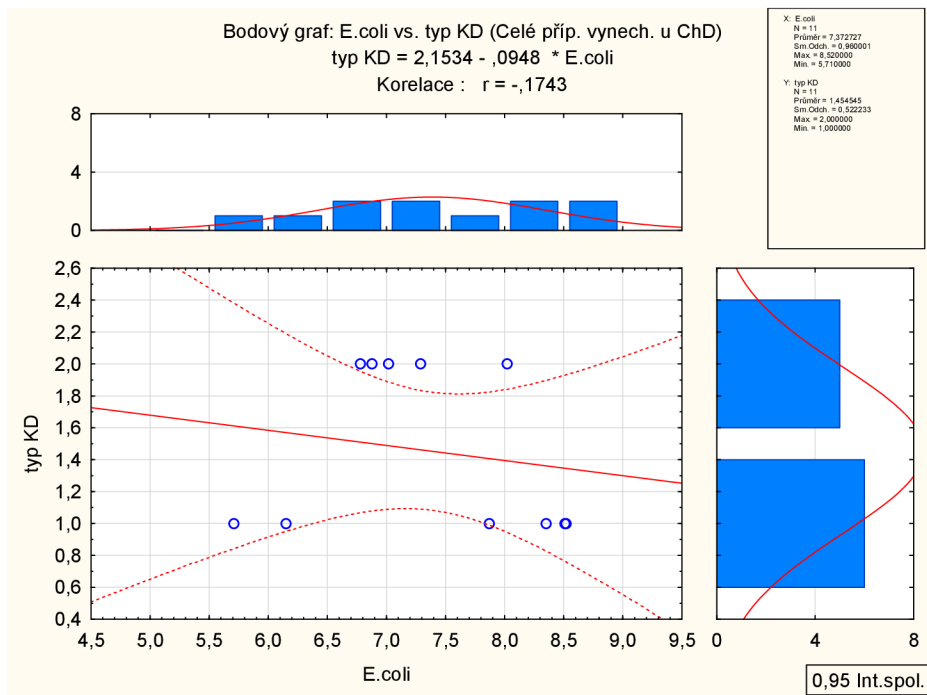
Graf 10: korelační analýza závislosti laktobacilů na typu chovatelského prostředí



Graf 11: korelační analýza závislosti laktobacilů na typu KD



Graf 12: korelační analýza závislosti *E. coli* na typu chovatelského prostředí



Graf 13: korelační analýza závislosti *E. coli* na typu KD

6 Diskuze

Na základě výsledků bylo možné potvrdit první hypotézu, která předpokládala, že typ krmné dávky bude mít vliv na kvantitativní zastoupení stanovených mikrobiálních skupin ve výkalech mravenečníků čtyřprstých chovaných v lidské péči. Z výstupů korelační analýzy byla zjištěna statisticky významná závislost WSP celkového počtu anaerobních bakterií na faktoru typ krmné dávky.

Současně byl WSP celkový počet anaerobních bakterií statisticky porovnáván s faktorem typ chovného prostředí. Neboť dle studií Kohl & Dearing (2014); Clayton et al. (2016); Kueneman et al. (2016); McKenzie et al. (2017) mohou mít zároveň na mikrobiom savců značný vliv změny, které souvisejí se životním prostředím. Jelikož v lidské péči zvířata zažívají mnoho změn, mezi něž patří například úpravy nebo restrikce ve výživě, antibiotické a další veterinární zásahy, značně omezený výběh, omezený kontakt s různými typy prostředí, omezené interakce s jinými živočišnými druhy a zvýšená interakce s lidskými mikroby či s mikroby, které prosperují v zástavbě (Hyde et al. 2016; McKenzie et al. 2017).

Druhá hypotéza hodnotila, zda bude detekováno vyšší zastoupení bifidobakterií a laktobacilů při krmení komerční směsí obsahující probiotika a prebiotika než při krmení vlastní krmnou směsí. Tato hypotéza mohla být vyhodnocena pouze z části. Neboť zastoupení bifidobakterií nebylo možné vyhodnotit, jelikož došlo k chybě při přípravě antibiotik (norfloxacin – pro detekci bifidobakterií), kdy antibiotikum nebylo připraveno ve správné koncentraci. Z tohoto důvodu bylo získáno pouze několik jednotek izolátu. Na základě detekce vyššího zastoupení laktobacilů ve výkalech jedinců pocházejících ze Zoo Olomouc, byla tato hypotéza zamítnuta, neboť v Zoo Olomouc byla mravenečníkům podávána vlastní krmná dávka.

Nejvyšší průměrné zastoupení patogenní *Escherichia coli* bylo detekováno ve výkalech jedinců pocházejících ze soukromého chovu, kde byla mravenečníkům předkládána komerčně vyráběná směs Granovit. Na druhou stranu u bakterií rodu klostridie (potencionální patogen) bylo vyzorováno průměrně lehce vyšší zastoupení u jedinců chovaných v Zoo Olomouc, kde byli jedinci krmeni vlastní krmnou dávkou. Současně na základě statistické analýzy byla u *Escherichie coli* vyzorována statisticky významná závislost na typu chovného prostředí a nikoliv na typu KD. U klostridií nebyla zjištěna žádná statisticky významná závislost ani na jednom ze sledovaných faktorů. Tudíž třetí hypotéza byla rovněž zamítnuta, neboť z výsledků nebylo možné jednoznačně určit, při jakém typu krmné dávky byla prevalence patogenů ve výkalech vyšší.

6.1 Nutriční složení krmných dávek

Hlavní problém ohledně managementu chovu mravenečníků čtyřprstých v lidské péči se týká především oblasti výživy a tudíž zajištění dostatečného přísunu potřebných živin pro udržení zdravé kondice tohoto druhu (Diniz et al. 1995). Při nedostatku potřebných živin byly v lidské péči pozorované výživové poruchy spojené s jejich špatným vstřebáváním či jejich celkový deficit (Reisfeld et al. 2013). Reisfeld et al. (2013) uvedli, že v nedostatečném množství byl u mravenečníků čtyřprstých v lidské péči detekován taurin, vitamin K a A.

Avšak na základě osobní komunikace bylo zjištěno, že vitamin A je u mravenečníků chovaných v lidské péči naopak detekován v nadměrném množství (Ph.D. Bolechová 2023, pers. comm.), nikoliv nedostatečném. Taurin byl na základě této studie detekován jako jedna ze složek vlastní krmné dávky v Zoo Olomouc. Do krmné dávky byl zahrnut právě pro doplnění jeho dostatečného množství, aby u jedinců nedocházelo k výskytu poruch spojených s výživou (Reisfeld et al. 2013). Současně dle Reisfeld et al. (2013), byl taurin a vitamin K detekován v krmné dávce v brazilském parku Aquário de São Paulo, která byla předkládána denně mláděti ve stáří přibližně dvou měsíců a druhému jedinci ve stáří přibližně pěti měsíců.

Z výsledků nutričních výpočtů jednotlivých krmných dávek bylo získáno u třech sledovaných zařízení totožné zastoupení bílkovin, tuků, sacharidů i vlákniny, neboť v těchto zařízeních je mravenečnickům čtyřprstým předkládána komerční krmná směs, která je v současné době aplikována v řadě institucí (Delsuc et al. 2014; McKenzie et al. 2017). Plně hmyzožravá potrava v podobě komerční směsi je v současné době aplikována řadou institucí (Delsuc et al. 2014; McKenzie et al. 2017), neboť z hlediska vysoce specializovaných potravních nároků mravenečníků čtyřprstých, představuje pro chovatele vytvoření vhodné krmné dávky pro tento druh velký problém (Clark et al. 2016; McKenzie et al. 2017). Odlišné zastoupení základních nutričních složek bylo detekováno pouze v souvislosti s krmnou dávkou, která je složena z vlastních komponentů.

Vláknina byla dle nutričních výpočtů detekována ve všech krmných dávkách v nejnižším zastoupení. V porovnání mezi jednotlivými typy krmných dávek, byla vláknina detekována v nejnižším zastoupení ve vlastní krmné dávce, která je předkládána jedincům v Zoo Olomouc. U mravenečníků čtyřprstých je slepé střevo málo vyvinuté a tudíž tento druh není přizpůsoben na příjem vlákniny, čímž se liší od býložravých druhů (Rodrigues, Fonseca, Paula, & Peixoto, 2006), u nichž je tento orgán složitý a objemný, z důvodu potřeby zpracování vlákniny. Firmino et al. (2019) popsal, že právě u mravenečníků čtyřprstých ve slepém střevě nedochází k mikrobiální fermentaci, poněvadž to tento druh z důvodu zastoupení menšího podílu vlákniny vyskytující se v jejich přirozené potravě na rozdíl od býložravců nepotřebuje.

Tuk byl dle nutričních výpočtů detekován ve všech krmných dávkách jako druhý v nejnižším zastoupení. V porovnání mezi jednotlivými typy krmných dávek, byl tuk detekován v nejnižším zastoupení ve vlastní krmné dávce.

Naopak bílkoviny byly dle výsledků nutričních výpočtů detekovány v komerčních krmných dávkách v nejvyšším zastoupení, u vlastní krmné dávky bylo zastoupení bílkovin detekováno jako druhé nejvyšší hned po sacharidech. Tudíž v porovnání mezi jednotlivými typy krmných dávek, byly bílkoviny detekovány v nejvyšším zastoupení v komerčních krmných dávkách. Ve volné přírodě jsou hlavní složkou potravy mravenečníků čtyřprstých mravenci a termiti (Oyarzun et al. 1996; Rodrigues et al. 2008; Gallo et al. 2017), v jejichž exoskeletech je obsažen právě vysoký podíl bílkovin a chitinu (Ma et al. 2018).

Sacharidy byly z výsledků nutričních výpočtů detekovány v nejvyšším zastoupení ve vlastní krmné dávce, v komerčních krmných dávkách bylo zastoupení sacharidů detekováno jako druhé nejvyšší hned po bílkovinách.

Tudíž je otázkou, zda je vhodnější variantou vlastní krmná dávka nebo komerčně vyráběná krmná směs? Samozřejmě procentuální zastoupení jednotlivých nutričních složek může mírně kolísat, poněvadž jsou ve všech analyzovaných chovných zařízeních kromě

soukromého chovu mravenečnickům poskytovány nepravidelně různé komponenty navíc k hlavní krmné dávce. Z důvodu nepravidelnosti nemohly být zařazeny do nutričních výpočtů.

6.2 Mikrobiologická analýza

Klostridie jsou důležité při metabolismu sacharidů, ačkoliv některé druhy bakterií tohoto rodu jsou považovány za patogenní (doc. Bunešová 2023, pers. comm.). Potvrzením tohoto sdělení může být celkově lehce vyšší průměrné zastoupení klostridií u jedinců chovaných v Zoo Olomouc, kde procentuální obsah sacharidů v krmné dávce převyšoval nad ostatní krmné dávky. Současně Oyarzun et al. (1996); Rodrigues et al. (2008) a Gallo et al. (2017) popsali u mravenečnicků jako hlavní složku potravy mravence a termity, jejichž exoskelet obsahuje vysoký obsah bílkovin a rovněž právě vysoký obsah chitinu (Ma et al. 2018). A jelikož právě klostridie byly na základě analýzy zahrnuté v této práci ve výkalech mravenečnicků čtyřprstých detekovány v nejvyšším zastoupení. Lze se domnívat, že klostridie mohou hrát určitou úlohu i při vstřebávání chitinu (doc. Bunešová 2023, pers. comm.). Již dříve autoři Wicker et al. (2008); Ma et al. (2018) popsali, že střevní bakterie obsažené v mikrobiomu savčích myrmekofágů by mohly pomáhat těmto jedincům přizpůsobovat se na potravu složenou převážně právě z mravenců a termitů. Současně by střevní mikrobiom myrmekofágů mohl usnadňovat degradaci a asimilaci přijímaného chitinu obsaženého právě v exoskeletu mravenců a termitů, jakožto hlavních složek potravy mravenečnicků čtyřprstých (Wicker et al. 2008; Ma et al. 2018).

Na základě výstupů mikrobiologické analýzy bylo nejvyšší průměrné zastoupení WSP celkové počty anaerobních bakterií, detekováno ve výkalech jedinců chovaných v Zoo Olomouc. Tudíž v mikrobiomu jedinců pocházejících ze Zoo Olomouc, byla detekována největší diverzita bakteriálních společenstev. Dle autorů McKenzie et al. (2017), došlo u mravenečnicků chovaných v lidské péči v porovnání s jedinci pocházejícími z volné přírody pouze ke změně složení mikrobiomu v rámci bakteriálního složení či relativní početnosti různých bakteriálních taxonů. Nikoliv však ke snížení bakteriální diverzity (McKenzie et al. 2017).

Nejvyšší průměrné zastoupení laktobacilů a pediokoků bylo zaznamenáno rovněž v mikrobiomu jedinců ze Zoo Olomouc.

Nejvyšší průměrné zastoupení patogenní bakterie *Escherichie coli*, bylo detekováno u jedinců pocházejících ze soukromého chovu. Nejvyšší výskyt byl zaznamenán u samice, současně téměř totožné zastoupení této patogenní bakterie bylo vyzorováno rovněž u další samice, která pocházela ze Zoo Ústí nad Labem. Naopak nejnižší průměrný počet *Escherichia coli* byl zaznamenán v Zoo Lešná. Na základě těchto výsledků se lze domnívat, že možnou příčinou výskytu opakovaného řídkého výkalu u samice v Zoo Ústí nad Labem může být právě vysoké zastoupení *Escherichie coli* ve výkalech této samice, neboť současně v Zoo Lešné byl na základě této studie zaznamenán formovanější výkal a zároveň nejnižší průměrné zastoupení patogenní *E. coli*.

Již Diniz et al. (1995), uvedli patogenní bakterii *Escherichia coli* jako jednoho z původců onemocnění, který byl detekován ve výkalech mravenečnicků chovaných v lidské péči. Současně byla *E. coli* popsána jako jedna z druhu bakterií, která způsobuje infekci močových cest (Reisfeld et al. 2013). Reisfeld et al. (2013) uvedli, že u jedinců postižených

touto infekcí je jednou z pozorovaných změn: výskyt erytrocytů a leukocytů v moči (tzv. hematurie a pyurie). U samice ze Zoo Ústí nad Labem byl pozorován výskyt krvavých stop a zároveň téměř totožné průměrné zastoupení *E. coli* jako v soukromém chovu, z těchto důvodů se lze tedy domnívat, že mohlo dojít u této samice k výskytu infekce močových cest.

Nejvyšší průměrné zastoupení patogenní bakterie *Escherichia coli* ve výkalech jedinců ze soukromého chovu, může současně souviset s faktorem, že v tomto chovu jako v jediném nemají mravenečníci možnost pobytu ve venkovním výběhu. Mohla by to být možná příčina i na základě výsledků statistické analýzy, neboť u patogenní *Escherichia coli* byla zjištěna statisticky významná závislost právě na typu chovatelského prostředí. Zároveň dle mých výsledků, nebyl v tomto chovatelském prostředí ve srovnání s ostatními sledovanými zařízeními zaznamenán žádný možný kontakt s jinými druhy zvířat. Přímý kontakt s jinými druhy byl na základě mých výsledků zaznamenán v Zoo Olomouc i v Zoo Ústí nad Labem, v Zoo Lešná byl kontakt s jiným druhem umožněn pouze přes mříže.

6.3 Chovatelské prostředí

U jedinců s obtížemi trávicího ústrojí se setkáváme s různými typy onemocnění, jedním, z nichž jsou například nespecifická průjmivá onemocnění (Diniz et al. 1995). Opakovaný výskyt průjmů byl zaznamenán v chovném zařízení Zoo Ústí nad Labem u samce i samice. Ačkoliv jedincům chovaným v tomto zařízení byla podávána totožná hlavní složka krmné dávky, komerčně vyráběná směs Granovit jako v Zoo Lešná, u jedinců v Zoo Lešná byl zaznamenán formovanější výkal, tato skutečnost je zapříčiněna jiným bakteriálním složením ve střevním mikrobiomu těchto jedinců.

McFall-Ngai et al. (2013) a McKenzie et al. (2017) uvedli, že právě střevní mikrobiom zajišťuje svému hostiteli řadu nezbytných funkcí, od trávení složitých složek potravy až po signalizaci imunitního systému. Současně dle Martina et al. (2014); Cryan & Dinan (2012); Brucker & Bordenstein (2013); Ramakrishna (2013); Thaiss et al. (2016); Angelakis et al. (2016); Boursier et al. (2016); He et al. (2016); Xiao et al. (2016); Ma et al. (2018), hrají mikrobi obsažené ve střevním mikrobiomu nejen dle nejnovějších výzkumů důležitou roli v rámci zdraví hostitele, ale též hrají roli v jeho chování, reprodukční bariéře a současně mají zásadní vliv na fyziologii, metabolismus a imunitní funkce u obratlovců.

Dle mých výsledků byla vyzorována změna chování u samce mravenečníka čtyřprstého chovaného v zařízení Zoo Ústí nad Labem. Od 15. 7. 2022 se u tohoto jedince začalo projevovat agresivní chování, samec opakovaně napadl jednu z ošetřovatelek. Současně byl v tomto zařízení vyzorován výskyt krvácení z pochvy samice a v souvislosti s agresivním chováním se tedy ošetřovatelé domnívali, že je samice březí, neboť Parera (2002) a Smith (2007) uvedli, že právě přítomnost krvácení lze využít jako indikátor ovariálního cyklu. Přibližně po třech týdnech od prvního krvácení lze očekávat nástup říje. Avšak tedy domněnku toho, že samice ze Zoo Ústí nad Labem z důvodu přítomnosti krvácení a následného agresivního chování samce, vyšetření ultrazvukem vyvrátilo. Tudíž lze spekulovat, že u samce došlo ke změně složení bakteriálního společenstva ve střevním mikrobiomu. Dle studií Kohl & Dearing (2014); Clayton et al. (2016); Kueneman et al. (2016); McKenzie et al. (2017) mohou mít značný vliv na mikrobiom savců změny související se životním prostředím, neboť dle autorů Hyde et al. (2016); McKenzie et al.

(2017) v lidské péči zvířata zažívají mnoho změn, mezi něž patří například úpravy nebo restrikce ve výživě, antibiotické a další veterinární zásahy, značně omezený výběh, omezený kontakt s různými typy prostředí, omezené interakce s jinými živočišnými druhy a zvýšená interakce s lidskými mikroby či s mikroby, které prosperují v zástavbě. Na základě tvrzení studie Hyde et al. (2016), se lze domnívat, že možnou příčinou změny chování pozorované u samce chovaného v Zoo Ústí nad Labem, by mohlo být aplikování antibiotické léčby, která byla zanedbána do mých výsledků při analyzování chovného zařízení.

Zároveň byl dle mých výsledků v Zoo Ústí nad Labem zaznamenán problém s izolací a teplotou ve vnitřním výběhu, tudíž dalším faktorem by mohl být vliv chovatelského prostředí (změna přirozené teploty). Současně na základě osobní komunikace mi byla poskytnuta informace o změně frekvence a množství předkládané krmné dávky (Ing. Barcalová 2022, pers. comm.).

Tato poslední informace, by mohla hrát určitou roli, rovněž při výskytu detekovaných průjmů u samce a samice pocházejících z tohoto zařízení. V Zoo Ústí nad Labem byla dle mých výsledků zaznamenána nejčastější frekvence předkládání potravy, krmná dávka byla v tomto zařízení rozdělena do tří dávek. V Zoo Olomouc, Zoo Lešná a soukromý chov byla potrava rozdělena pouze do dvou krmných dávek. V Zoo Olomouc v době sběru dat, byly ve výběhu přítomné pouze samice se dvěma mláďaty.

V brazilském parku Aquário de São Paulo byla ve stáří přibližně dvou měsíců mláďeti o hmotnosti 718 g nabízena potrava dokonce ve 2 až 3hodinových intervalech. A druhému jedinci ve věku přibližně 5 měsíců o hmotnosti 1,160 kg, byla nabízena krmná dávka v intervalu každých 2 hodin (Reisfeld et al. 2013). Neboť tito jedinci neměli možnost být se svými matkami, jako mláďata ze Zoo Olomouc. Krmná dávka jedinců z brazilského parku Aquário de São Paulo byla prvotně složena převážně z mléčné náhražky pro psy a kočky (Pet Milk a Ensure® Abbott Laboratories, Česká republika). Toto složení bylo postupně nahrazeno novou krmnou dávkou. Nová krmná dávka byla složena z mletého hovězího masa, suchého krmiva pro psy Gastrintestinal (Royal Canin®, Francie), špenátu, jablka, řepy, mrkve, rajčete, banánu, vajec a vody. Všechny ingredience byly vždy rozmixovány, aby se dosáhlo hladké kašovitě konzistence. Druhému jedinci, kterým byl samec ve věku přibližně 5 měsíců o hmotnosti 1,160 kg, byla nabízena krmná dávka složena z mletého hovězího srdce, suchého krmiva Gastrintestinal (Royal Canin®, Francie), lněného oleje, medu, papáji, banánu, rajčat, špenátu, vajec a vody. Všechny složky byly též vloženy do mixéru, aby se dosáhlo kašovitě konzistence jako u prvního jedince (Reisfeld et al. 2013). Dle mých výsledků se složení vlastní krmné dávky v Zoo Olomouc, plně shodovalo v několika komponentech obsažených v krmných dávkách z brazilského parku Aquário de São Paulo. Těmi komponenty byli: banány, psí granule (pouze tedy jiná značka - ©Fortify), med, vejce, rajče, samozřejmě voda pro naředění směsi a současně taurin, který je popsán jako součást krmné dávky v brazilském parku Aquário de São Paulo již v jiné kapitole diskuze. Současně byl jako další komponent zaznamenán určitý druh masa, avšak ve všech třech typech odlišný. Mladší jedinec z brazilského parku Aquário de São Paulo dostával mleté hovězí maso, strašimu jedinci bylo podáváno mletého hovězího srdce (Reisfeld et al. 2013) a v Zoo Olomouc bylo jedincům nabízeno libové drůbeží maso.

Současně na základě mých výsledků byl ve vlastní krmné dávce ze Zoo Olomouc detekován Luvos (Jemně zrnitý červený jííl), což je přípravek pro zmírnění vyskytujících se

problémům jako je nadýmání, průjem, dráždivé střevo, přebytek žaludečních šťáv, žaludeční tlak nebo nadýmání v žaludku (“Luvos Heilderde” 2023). Tento výrobek byl do krmné dávky zahrnut na základě potravního chování mravenečníků ve volné přírodě. Neboť dle Galla et al. (2017) do sebe mravenečníci ve volné přírodě při požívání mravenců vpravují současně také drobné množství hlíny. Krefelder Zoo (2007) uvedla, že tento typ chování hraje zřejmě při trávení mravenečníků důležitou roli.

Dále byly na základě mých výsledků zaznamenány teploty naměřené ve vnitřních výbězích mravenečníků. V Zoo Olomouc byla naměřena teplota pohybující se kolem 23 °C - 24 °C, v Zoo Ústí nad Labem 25,6 °C, v Lešné 19 °C - 24 °C a v soukromém chovu byla naměřena teplota pohybující se v rozmezí 22 °C - 26 °C. Uvádí se, že ideální teplota pro mravenečnický čtyřprstý ve vnitřním výběhu by měla být vyšší než 20 °C (Krefelder Zoo 2007). S teplotou byla rovněž změřena i vlhkost prostředí, v Zoo Olomouc byla změřena běžná vlhkost kolem 60 % a po ručním zavlažování 80 – 85 % a v Zoo Ústí nad Labem byla zaznamenána vlhkost 69 %, od statních zařízeních nebyla tato informace poskytnuta. Jako ideální vlhkost je uváděna vlhkost kolem 70 % (Krefelder Zoo 2007).

6.4 Statistické vyhodnocení

Na základě výsledků ze statistické analýzy byla zjištěna u závisle proměnné WSP celkového počtu anaerobních bakterií statisticky významná závislost na typu krmné dávky. Tudíž na základě této diplomové práce bylo potvrzeno, že diverzita mikrobiomu u mravenečníků je ovlivněna typem KD. Již Delsuc et al. (2014) a McKenzie et al. (2017) popsali, že právě složení potravy ovlivňuje druhové zastoupení a funkci střevních bakterií. Nicméně je známo, že značný vliv na mikrobiom savců mohou mít rovněž změny související se životním prostředím (Kohl & Dearing 2014; Clayton et al. 2016; Kueneman et al. 2016; McKenzie et al. 2017). U jediné patogenní *Escherichia coli* byla na základě statistické analýzy zahrnuté do této diplomové práce zjištěna statisticky významná závislost právě na typu chovného prostředí. Hyde et al. (2016) a McKenzie et al. (2017) rovněž uvedli, že v lidské péči zvířata zažívají mnoho změn, které pravděpodobně ovlivňují jejich mikrobiom, mezi něž patří například úpravy nebo restriktce ve výživě, antibiotické a další veterinární zásahy, značně omezený výběh, omezený kontakt s různými typy prostředí, omezené interakce s jinými živočišnými druhy a zvýšená interakce s lidskými mikroby či s mikroby, které prosperují v zástavbě. Na základě těchto informací a mých výsledků lze potvrdit, že na mikrobiom jedinců mají vliv oba sledované faktory (typ KD a typ chovného prostředí) zahrnuté do této práce.

U klostridií (potencionálních patogenů) nebyla zjištěna žádná statisticky významná závislost ani na jednom ze sledovaných faktorů (typ KD a typ chovného prostředí).

U závisle proměnné bakterie rodu laktobacily byla zjištěna statisticky významná závislost rovněž na typu krmné dávky.

7 Závěr

V této diplomové práci bylo cílem porovnat vliv faktorů chovatelského prostředí a typu krmné dávky na složení vybraných mikrobiálních skupin v trávicím traktu mravenečníka čtyřprstého (*Tamandua tetradactyla*).

První hypotéza této studie byla potvrzena na základě korelační analýzy, neboť ze statistického výstupu byla mezi závisle proměnnou - WSP celkové počty anaerobních bakterií a nezávisle proměnnou - typem krmné dávky, zjištěna statisticky významná závislost. Tudiž bylo zjištěno, že typ krmné směsi ovlivňuje kvantitativní zastoupení stanovených mikrobiálních skupin ve výkalech *Tamandua tetradactyla*.

Druhá hypotéza mohla být vyhodnocena pouze z části. Zastoupení bifidobakterií nebylo možné vyhodnotit, neboť došlo k chybě při přípravě antibiotik (norfloxacin – pro detekci bifidobakterií), kdy antibiotikum nebylo připraveno ve správné koncentraci. Z tohoto důvodu bylo získáno pouze několik jednotek izolátu. Na základě grafického výstupu mikrobiologické analýzy byla druhá hypotéza zamítnuta, neboť bylo detekováno vyšší zastoupení laktobacilů při krmení vlastní krmnou směsí.

Třetí hypotézu nelze zcela vyhodnotit, neboť z výstupů korelační analýzy byla potvrzena statisticky významná závislost patogenní *Escherichia coli* na chovatelském prostředí, nikoliv na krmné dávce. Zároveň dle grafických výstupů z mikrobiologické analýzy vyplynulo, že zastoupení *Escherichia coli* je mezi jednotlivými jedinci velice variabilní, tudíž nelze jednoznačně popsat, zda je vyšší zastoupení tohoto patogenu při krmení komerční směsí či při krmení vlastní krmnou dávkou. U bakterií rodu klostridie (potencionálních patogenů) nebyla detekována ani na jednom ze sledovaných faktorů žádná statisticky významná závislost. Současně z grafického výstupu mikrobiologické analýzy bylo nejvyšší průměrné zastoupení rodu klostridie detekováno v Zoo Olomouc, kde jsou mravenečníci krmeni vlastní krmnou dávkou. Pouze na základě vyššího zastoupení klostridií v Zoo Olomouc, nelze třetí hypotézu zcela potvrdit, tudíž i třetí hypotéza byla zamítnuta.

Tato práce potvrdila již známou informaci o vlivu krmné dávky na mikrobiom jedince. Tato práce slouží jako pilotní studie, poněvadž prozatím dosud neexistuje srovnávací studie o složení mikrobioty tamanduí z volné přírody. Tím je myšleno, že dosud také není známo, co je u mravenečníků čtyřprstých pokládáno za „normální“ a tudíž přirozený stav. Otevřenou otázkou tedy zůstává, jaká střevní bakteriální společenstva by se měla vyskytovat v mikrobiomu mravenečníka čtyřprstého, v jakém množství a jaká krmná dávka je nejvíce vhodná jako „náhražka“ jejich přirozené potravy, aby byl zajištěn dostatečný přísun potřebných živin pro udržení zdravé kondice těchto zvířat.

Současně tato studie podala informace, které mohou přispět ke zlepšení metodiky budoucích studií. Výsledky prohnávání vlivu dvou faktorů typu krmné dávky a chovatelského prostředí na složení mikrobioty u mravenečníka čtyřprstého mohou do budoucna poukázat na nedostatky v managementu chovu tohoto druhu a přispět tak k celkovému zlepšení životních podmínek mravenečníků čtyřprstých chovaných v lidské péči.

Do budoucna bych doporučila zajistit větší množství jedinců, od kterých by bylo možné současně odebrat vzorky výkalů několikrát za rok (z důvodu zachycení sezónnosti). Byl by, tak zajištěn větší soubor dat k získání více signifikantních výsledků složení mikrobiálních skupin v trávicím traktu *Tamandua tetradactyla* v lidské péči.

8 Literatura

- Araujo NLLC de, Raposo ACS, Pinho ACNL, Pinna MH, Galera PD, Júnior DCG, Oriá AP. 2017. CONJUNCTIVAL BACTERIAL FLORA, ANTIBIOGRAM, AND LACRIMAL PRODUCTION TESTS OF COLLARED ANTEATER (TAMANDUA TETRACTYLA). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* **48**:7-12. Available from <http://www.bioone.org/doi/10.1638/2015-0251.1> (accessed March 7, 2023).
- Angelakis E et al. 2016. Gut microbiome and dietary patterns in different Saudi populations and monkeys. *Scientific Reports* **6**. Available from <https://www.nature.com/articles/srep32191>
- Barcalová, E. 2022. Pers. comm. 26. července 2022. Nepublikovaná data, Zoo Ústí nad Labem.
- Bolechová, P. 2023, Pers. comm. 30. března 2023. Nepublikovaná data, Microsoft Teams.
- Boursier J et al. 2016. The severity of nonalcoholic fatty liver disease is associated with gut dysbiosis and shift in the metabolic function of the gut microbiota. *Hepatology* **63**:764-775. Available from <https://journals.lww.com/01515467-201603000-00015>
- Brazão FL, Ortiz JO, Carrilho AB. 1983. Estudo morfológico comparativo das papilas linguais de animais dentados e desdentados da Amazonia: tamandua, tatu, coati e mucura. *Hiléia méd*:23–5. Available from: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-16211>
- Brucker RM, Bordenstein SR. 2013. The Hologenomic Basis of Speciation: Gut Bacteria Cause Hybrid Lethality in the Genus *Nasonia*. *Science* **341**:667-669. Available from <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1240659>
- Bunešová, V. 2023. Pers. comm. 23. února 2023. Nepublikovaná data, Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky ČZU.
- Cani PD, Knauf C. 2016. How gut microbes talk to organs: The role of endocrine and nervous routes. *Molecular Metabolism* **5**:743-752. Available from <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2212877816300485>
- Carvalho MM, Pieri NCG, Pereira KF, Lima FC, Carniatto CHO, Miglino MA, Ricci RE, Martins DS. 2014. Caracterização comparativa do intestino das espécies da Ordem Xenarthra. *Pesquisa Veterinária Brasileira* **34**:49–56. Available from <https://www.scielo.br/j/pvb/a/FWFzK8tknsKxvLm8FnWrNgF/abstract/?lang=pt> (accessed March 23, 2023).
- Clark A, Silva-Fletcher A, Fox M, Kreuzer M, Clauss M. 2016. Survey of feeding practices, body condition and faeces consistency in captive ant-eating mammals in the UK. *Journal of Zoo and Aquarium Research* **4**:183–195.

- Clayton JB et al. 2016. Captivity humanizes the primate microbiome. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**:10376–10381. Available from <https://experts.umn.edu/en/publications/captivity-humanizes-the-primate-microbiome> (accessed April 14, 2023).
- Costa-Neto EM. 2000. As interações homem/Xenarthra: Tamanduás, Preguiças e Tatus no folclore ameríndio. *Actualités Biologiques* **22**:203-213. Available from <https://revistas.udea.edu.co/index.php/actbio/article/view/329656> (accessed April 12, 2023).
- Cryan JF, Dinan TG. 2012. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nature Reviews Neuroscience* **13**:701-712. Available from <http://www.nature.com/articles/nrn3346>
- Cuvier G, Dall WH. 1817. *Mémoires pour servir à l'histoire et à l'anatomie des mollusques / par M. le chevalier Cuvier ; avec 35 planches en taille-douce.* Chez Deterville, A Paris : Available from <http://www.biodiversitylibrary.org/bibliography/39633> (accessed April 14, 2023).
- David LA et al. 2014. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature* **505**:559-563. Available from <http://www.nature.com/articles/nature12820>
- De Araujo NLLC, Raposo ACS, Pinho ACNL, Pinna MH, Galera PD, Júnior DCG, Oriá AP. 2017. CONJUNCTIVAL BACTERIAL FLORA, ANTIBIOGRAM, AND LACRIMAL PRODUCTION TESTS OF COLLARED ANTEATER (TAMANDUA TETRADACTYLA). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* **48**:7-12. Available from <http://www.bioone.org/doi/10.1638/2015-0251.1>
- Delsuc F, Metcalf JL, Wegener Parfrey L, Song SJ, González A, Knight R. 2014. Convergence of gut microbiomes in myrmecophagous mammals. *Molecular Ecology* **23**:1301-1317. Available from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/mec.12501>
- Diniz LSM, Costa EO, Oliveira PMA. 1995. Clinical disorders observed in anteaters (Myrmecophagidae, Edentata) in captivity. *Veterinary Research Communications* **19**:409-415. Available from <http://link.springer.com/10.1007/BF01839320>.
- Distribución geográfica. Klabin. Available from <https://parqueecologico.klabin.com.br/es/mamiferos/tamandua-mirim/>
- Duffy LC, Raiten DJ, Hubbard VS, Starke-Reed P. 2015. Progress and Challenges in Developing Metabolic Footprints from Diet in Human Gut Microbial Cometsabolism. *The Journal of Nutrition* **145**:S1123-S1130. Available from <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022316622087351>
- Eisenberg JF. 1989. *Mammals of the Neotropics. Volume 1. The Northern Neotropics.* University of Chicago Press, USA.
- Estrela M., Faro T., Branco E. & Lima A.R. 2011. Morfologia macroscópica em morfometria dos intestinos do bicho-preguiça. *Anais 38º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária (Conbravet), Florianópolis, SC.*

- Fernández F. 2003. Introducción a las hormigas de la región Neotropical. vol.26. Bogotá: Instituto de investigación de recursos biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá, Colombia. Available from https://scholar.google.com/scholar?hl=es&as_sdt=0%2C5&q=Fern%C3%A1ndez%2C+F.+2003.+Introducci%C3%B3n+a+las+hormigas+de+la+regi%C3%B3n+Neotropical.+Instituto+de+Investigaci%C3%B3n+de+Recursos+Biol%C3%B3gicos+Alexander+von+Humboldt%2C+Bogot%C3%A1%2C+Colombia.+pp.+398.&btnG=
- Firmino M de O, Pereira HC da S, Carvalho LRRR, Guerra RR. 2019. External and digestive system morphology of the *Tamandua tetradactyla*. *Anatomia, Histologia, Embryologia* **49**:97-104. Available from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ahc.12494>
- Gallo JA, Abba AM, Elizalde L, Nucci DD, Ríos TA, Ezquiaga MC. 2017. First study on food habits of anteaters, *Myrmecophaga tridactyla* and *Tamandua tetradactyla*, at the southern limit of their distribution. *Mammalia* 2017:4. Available from https://www.researchgate.net/publication/314165440_First_study_on_food_habits_of_anteaters_Myrmecophaga_tridactyla_and_Tamandua_tetradactyla_at_the_southern_limit_of_their_distribution/10.1515/mammalia-2016-0117.
- Goodrich J K et al. 2014. Human Genetics Shape the Gut Microbiome. *Cell* **159**:789-799. Available from <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867414012410>
- Hay MA, Bellem AC, Brown JL, Goodrowe KL. 1994. Reproductive Patterns in *Tamandua* (*Tamandua tetradactyla*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* **25**:248–258. American Association of Zoo Veterinarians. Available from <https://www.jstor.org/stable/20095371> (accessed March 23, 2023).
- Hayssen V. 2011. *Tamandua tetradactyla* (Pilosa: Myrmecophagidae). *Mammalian Species* **43**:64-74. Available from <https://academic.oup.com/mspecies/article-lookup/doi/10.1644/875.1>.
- He X, Slupsky CM, Dekker JW, Haggarty NW, Lönnerdal B, Dorrestein PC. 2016. Integrated Role of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Supplementation in Gut Microbiota, Immunity, and Metabolism of Infant Rhesus Monkeys. *MSystems* **1**:e00128-16. Available from <https://journals.asm.org/doi/10.1128/mSystems.00128-16>
- Hölldobler B, Wilson EO. 1990. *The Ants*. vol.4. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- Hyde ER et al. 2016. The Oral and Skin Microbiomes of Captive Komodo Dragons Are Significantly Shared with Their Habitat. *MSystems* **1**:e00046-16. Available from <https://journals.asm.org/doi/10.1128/mSystems.00046-16> (accessed April 12, 2023).
- Jimeno GP. 2003. Crianza Artificial y Manejo Reproductivo de los Tamandúá (*Tamandua tetradactyla*) en el Jardín Zoológico de Rosario, Argentina. *Edentata*:496-499. Available from <https://docplayer.es/5499593-Crianza-artificial-y-manejo-reproductivo-de-los-tamandua-tamandua-tetradactyla-en-el-jardin-zoologico-de-rosario-argentina.html> (accessed April 12, 2023).

- Jones M. 1982. LONGEVITY OF CAPTIVE MAMMALS. Available from <http://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=PASCAL83X0074959> (accessed April 14, 2023).
- Kohl KD, Dearing MD. 2014. Wild-caught rodents retain a majority of their natural gut microbiota upon entrance into captivity: Effect of captivity on rodent gut microbiota. *Environmental Microbiology Reports* **6**:191–195. Available from https://www.researchgate.net/publication/260528512_Wild-caught_rodents_retain_a_majority_of_their_natural_gut_microbiota_upon_entrance_into_captiv (accessed April 14, 2023).
- Krieg H. 1944. Ameisenbären. *Die Naturwissenschaften* **32**:283-290. Available from <http://link.springer.com/10.1007/BF01475352> (accessed April 12, 2023).
- Kueneman JG, Woodhams DC, Harris R, Archer HM, Knight R, McKenzie VJ. 2016. Probiotic treatment restores protection against lethal fungal infection lost during amphibian captivity. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **283**:20161553. Available from <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rspb.2016.1553> (accessed April 14, 2023).
- Kusuda S, Endoh T, Tanaka H, Adachi I, Doi O, Kimura J. 2011. Relationship between gonadal steroid hormones and vulvar bleeding in southern tamandua, *Tamandua tetradactyla*. *Zoo Biology* **30**:212-217. Available from <http://doi.wiley.com/10.1002/zoo.20330> (accessed April 12, 2023).
- Ley RE et al. 2008. Evolution of Mammals and Their Gut Microbes. *Science* **320**:1647–1651. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18497261/> (accessed April 14, 2023).
- Linnaeus C. 1758. *Systema naturae per Regna tria Naturae, secundum Classes, Ordines, Genera, Species, cum Characteribus, Differentiis, Sinonimis, Locis. Edition decima reformata*. Vol. I, Holmiae, Impensis direct. apud Laurentii Salvii.
- Loudon AH, Woodhams DC, Parfrey LW, Archer H, Knight R, McKenzie V, Harris RN. 2014. Microbial community dynamics and effect of environmental microbial reservoirs on red-backed salamanders (*Plethodon cinereus*). *The ISME Journal* **8**:830–840. Available from <https://www.nature.com/articles/ismej2013200> (accessed April 14, 2023).
- Lubin YD, Montgomery GG, Young OP. 1977. Food Resources of Anteaters (Edentata: Myrmecophagidae) I. A Year's Census of Arboreal Nests of Ants and Termites on Barro Colorado Island, Panama Canal Zone. *Biotropica* **9**:26-34. Available from <https://www.jstor.org/stable/2387856?origin=crossref>
- Luvos Heilerde. 2023. Available from <https://www.drhoffmann.cz/luvos-heilerde-1-480g-id86.html> (accessed April 14, 2023).

- Ma J-E, Jiang H-Y, Li L-M, Zhang X-J, Li G-Y, Li H-M, Jin X-J, Chen J-P. 2018. The Fecal Metagenomics of Malayan Pangolins Identifies an Extensive Adaptation to Myrmecophagy. *Frontiers in Microbiology* **9**. Available from <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2018.02793/full>
- Manfredo Vieira S et al. 2018. Translocation of a gut pathobiont drives autoimmunity in mice and humans. *Science* **359**:1156-1161. Available from <https://www.science.org/doi/10.1126/science.aar7201>
- Marinho M. 2010. A escrita nas práticas de letramento acadêmico. *Revista Brasileira de Linguística Aplicada* **10**:363-386. Available from http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1984-63982010000200005&lng=pt&tlng=pt (accessed March 23, 2023).
- Martín R, Miquel S, Langella P, Bermúdez-Humarán LG. 2014. The role of metagenomics in understanding the human microbiome in health and disease. *Virulence* **5**:413-423. Available from <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/viru.27864>
- McFall-Ngai M et al. 2013. Animals in a bacterial world, a new imperative for the life sciences. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **110**:3229–3236. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23391737/>
- McKenna MC, Bell SK. 1997. Classification of mammals above the species level. Columbia University Press, New York. p. 640. ISBN: 023111012X
- McKenzie VJ et al. 2017. The Effects of Captivity on the Mammalian Gut Microbiome. *Integrative and Comparative Biology* **57**:690-704. Available from <https://academic.oup.com/icb/article/57/4/690/4077014>.
- Medri ÍM, Mourão G de M, Harada AY. 2003. Dieta de tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) no Pantanal da Nhecolândia, Brasil. *Edentata* 2003:29-34. Available from <https://www.sas.upenn.edu/~eduardof/Publications/Ceresoli&FernandezDuque,%20Edentata%202005.pdf#page=31>
- Medri ÍM, Mourão G. 2005. Home range of giant anteaters (*Myrmecophaga tridactyla*) in the Pantanal wetland, Brazil. *Journal of Zoology* [online] **266**:365–375. Cambridge University. Available from <https://www.cambridge.org/core/journals/journal-of-zoology/article/abs/home-range-of-giant-anteaters-myrmecophaga-tridactyla-in-the-pantanal-wetland-brazil/523912BCB7C5BCF21CFAD9EB935F4552>
- Menezes L. 2013, February 28. Morfologia do tubo digestório do tamanduá bandeira *Myrmecophaga tridactyla* (Pilosa: Myrmecophagidae). Universidade Federal de Uberlândia. Available from <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/13057> (accessed March 23, 2023).
- Meritt DA. 1975. The Lesser anteater in captivity. *International Zoo Yearbook* **15**:41-45. Available at <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1748-1090.1975.tb01350.x> (accessed April 12, 2023). Fejfar O, Major P. 2005. Zaniklá sláva savců. Academia. Praha. 278 s. ISBN: 802001361X.

- Miranda F, Veloso R, Superina M, Zara FJ. 2009. Food Habits of Wild Silky Anteaters (*Cyclopes didactylus*) of São Luis do Maranhão, Brazil. *Edentata* **8**:1-5. Available from <http://www.bioone.org/doi/abs/10.1896/020.010.0109> (accessed April 14, 2023).
- Montgomery GG. 1985. Impact of vermilinguas (*Cyclopes*, *Tamandua*: *Xenarthra*: *Edentata*) on arboreal ant populations. In: (G. G. Montgomery, ed.) *The evolution and ecology of armadillos, sloths, and vermilinguas*. Smithsonian Institution Press, Washington and London.
- Muegge BD, Kuczynski J, Knights D, Clemente JC, González A, Fontana L, Henrissat B, Knight R, Gordon JI. 2011. Diet Drives Convergence in Gut Microbiome Functions Across Mammalian Phylogeny and Within Humans. *Science* **332**:970–974. Available from <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1198719> (accessed April 14, 2023).
- Nutrition Plan: Krefelder Zoo. 2007. Krefelder Zoo, Krefelder Zoo. Available from <file:///C:/Users/Pavel/Desktop/Tamandua/Tamandua%20kone%C4%8Dn%C3%A1%20verze%20diplomky/re%C5%A1er%C5%A1e%20do%20chov%20v%20lidsk%C3%A9%20.pdf> (accessed March 30, 2023).
- Oyarzun SE, Crawshaw GJ, Valdes EV. 1996. Nutrition of the *Tamandua*: I. Nutrient composition of termites (*Nasutitermes* spp.) and stomach contents from wild tamanduas (*Tamandua tetradactyla*). *Zoo Biology* **15**:447-539. Available from [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2361\(1996\)15:5<509::AID-ZOO7>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2361(1996)15:5<509::AID-ZOO7>3.0.CO;2-F) (accessed April 12, 2023).
- Parera A. 2002. *Los Mamíferos de la Argentina y la Región Austral de Sudamérica*. Editorial El Ateneo. Buenos Aires.
- Pinheiro ACO, Lima AR, Carvalho AF, Pereira LC, Branco É. 2014. Aspectos morfológicos macro e microscópicos do estômago de tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* **66**:1089-1096. Available from http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352014000401089&lng=pt&tlng=pt (accessed March 23, 2023).
- Ramakrishna BS. 2013. Role of the gut microbiota in human nutrition and metabolism. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* **28**:9-17. Available from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jgh.12294>
- Redford KH, Dorea JG. 1984. The nutritional value of invertebrates with emphasis on ants and termites as food for mammals. *Journal of Zoology* **203**:385-395. Available from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-7998.1984.tb02339.x> (accessed April 12, 2023).
- Redford KH, Eisenberg JF. 1992. *MAMMALS OF THE NEOTROPICS , VOLUME 2. THE SOUTHERN CONE : CHILE, ARGENTINA, URUGUAY, PARAGUAY*. 2nd edition. The University of Chicago Press, Chicago.
- Reisfeld L, Silvatti B, Soares AC, Reisfeld A. 2013. Occurrence of bacterial urinary tract infection in hand reared lesser anteaters (*tamandua tetradactyla*): case report*. **2013:5**. Available from <http://doi.editoracubo.com.br/10.4322/rbcv.2014.055>

- Rodrigues FHG, Marinho-Filho J, dos Santos HG. 2001. Home ranges of translocated lesser anteaters *Tamandua tetradactyla* in the cerrado of Brazil. *Oryx* **35**:166-169. Available from https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0030605300031732/type/journal_article
- Rodrigues, FHG., Medri, I.M., De Miranda, G.H.B., Camilo-Alves, C, Mourao, G., 2008. Anteater behavior and ecology. In: Vizcaino, S.F., Loughry, W.J. (Eds.), *The Biology of the Xenarthra 2008*:257-268. University of Florida.
- Roubik DW. 2006. Stingless bee nesting biology. *Apidologie* **37**:124 - 143. Available from <https://www.apidologie.org/articles/apido/abs/2006/02/m6034sp/m6034sp.html>
- Sandoval-Gómez VE, Ramírez-Chaves HE, Marín D. 2012. Registros de Hormigas Y Termitas Presentes en la Dieta de Osos Hormigueros (Mammalia: Myrmecophagidae) en Tres Localidades de Colombia. *Edentata* **13**:1-9. Available from <http://www.bioone.org/doi/abs/10.5537/020.013.0104> (accessed April 14, 2023).
- Silvestre R, Silva RR da, Brandão CRF. 2003. Grupos funcionales de hormigas: el caso de los gremios del Cerrado. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá. Available from <https://repositorio.usp.br/item/001368073>
- Simerville JA, Maxted WC, Pahira JJ. 2005. Urinalysis: a comprehensive review. *American Family Physician* **71**:1153–1162. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15791892/> (accessed April 14, 2023).
- Simpson GG. 1945. *The principles of classification and classification of mammals*. Bulletin of the American Museum of Natural History, New York
- Smith P. 2007. SOUTHERN TAMANDUA *Tamandua tetradactyla* - Mammals of Paraguay. FAUNA Paraguay Handbook of the Mammals of Paraguay. Available from <http://www.faanaparaguay.com/mamm3Tamanduatetradactyla.pdf> (accessed March 23, 2023).
- Soares A., Reisfeld L., Reisfeld A., Silva BSF., Ribeiro B., Sgai MGFG., Pizzutto CS. 2010. Tipos de enriquecimento ambiental utilizados para um filhote de tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*) no Aquário de São Paulo. in: II Conferência Brasileira de Enriquecimento Ambiental. São Paulo. p. 19.
- Sousa EA, Messias MR.. 2012. Dieta de fêmeas de *Tamandua tetradactyla* (Pilosa: Myrmecophagidae) ocorrentes nas áreas de impacto direto da usina hidrelétrica Santo Antônio. 6º Congresso Brasileiro de Mastozoologia, Porto Velho.
- Thaiss CA, Zmora N, Levy M, Elinav E. 2016. The microbiome and innate immunity. *Nature* **535**:65-74. Available from <http://www.nature.com/articles/nature18847>
- Vittar F. 2008. Hormigas (Hymenoptera: Formicidae) de la Mesopotamia Argentina. *Miscelánea* **17**:447-466. Available from https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/80746/CONICET_Digital_Nro.6408b76a-8b2f-41f0-bc67-e88e292f32d1_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y

- Wicker L., Thai NV., Phuong TQ. 2008. A Long Way from Home: The Health Status of Asian Pangolins Confiscated from the Illegal Wildlife Trade in Vietnam. Paper presented at: The Workshop on Trade and Conservation of Pangolins Native to South and Southeast Asia. Available from https://www.researchgate.net/publication/301686165_A_long_way_from_home_the_health_status_of_Asian_Pangolins_confiscated_from_the_illegal_wildlife_trade_in_Vietnam#fullTextFileContent (accessed April 14, 2023).
- Xiao L et al. 2016. A reference gene catalogue of the pig gut microbiome. *Nature Microbiology* 1. Available from <https://www.nature.com/articles/nmicrobiol2016161>
- Young RJ, Coelho CM, Wieloch DR. 2003. A note on the climbing abilities of giant anteaters, *Myrmecophaga tridactyla* (Xenarthra, Myrmecophagidae). *Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão (Nova Série)* 2003:41-46. Available from https://www.researchgate.net/profile/Robert-Young-34/publication/236896410_A_note_on_the_climbing_abilities_of_giant_anteaters_Myrmecophaga_tridactyla_Xenarthra_Myrmecophagidae/links/00b4951adc9456bcab000000/A-note-on-the-climbing-abilities-of-giant-anteaters-Myrmecophaga-tridactyla-Xenarthra-Myrmecophagidae.

9 Samostatné přílohy

Příloha I: deklarované živiny výrobcem komerční krmné směsi Granovit - Insectivore with insect meal (© Granovit AG, Švýcarsko)

Major nutrients (%)

Dry matter	92.5
Crude protein	40.0
Crude fat	14.5
Crude fiber	8.7
Crude ash	7.0
NFE	22.3
NDF	14.7
ADF	9.8
Starch	9.0
Sugar	6.0

Energy (MJ/kg)

GE	21.0
DE Dog	16.0
ME Cat	15.8

Macrominerals (%)

Calcium	1.2
Phosphorus	0.8

Trace elements (mg/kg)

Iron	450
Zinc	98
Copper	21
Iodine	1.5
Manganese	85
Selenium	0.5
Cobalt	1.5

Vitamins (added, mg/kg)

Vitamin A (IU/KG)	7500
Vitamin D3 (IU/KG)	750
Vitamin E	960
Vitamin K3	17
Vitamin B1	60
Vitamin B2	35
Vitamin B6	30
Vitamin B12	0.2
Nicotinic acid	100
Pantothenic acid	100
Folic acid	5
Biotin	1.1

Příloha II: složení vlastní krmné dávky v Zoo Olomouc



ZOOLOGICKÁ ZAHRADA OLOMOUC

DARWINOVA 29, 779 00 OLOMOUC - SVATÝ KOPEČEK, ČESKÁ REPUBLIKA

Mravenečník čtyřprstý (stromový)

20. 6. 2022

Tamandua tetradactyla

KRMIVO	JEDNOTKA	MNOŽSTVÍ/KS/DEN
Drůbeží maso – libové	g	50
Banány	g	30
Veje křepelčí	ks	3
Luvos	g	5
Psí granule (zn. Fortify)	g	50
Med	ml	2
Kys. mravenčí	ml	3
Supradyn	tbl.	0,25
Voda	ml	500
Kanavit	kap	2/2x týdně

= vše rozmixovat a dle potřeby naředit vodou do konzistence řídké kaše

POZNÁMKY:

PROBIOTIKA	denně	NutriMix Probiotic (fa Trouw Nutrition, Biofaktory)
TAURIN	denně	(fa Trouw Nutrition, Biofaktory)
MEDOVÉ PLÁSTVE	doplňkově	dle aktuální kondice zvířat
OVOZEL	2 x týdně	gřep + rajče; doplňkově pro samice s mláďaty
SLEPIČÍ VEJCE	1 x týdně	vařené; doplňkově pro samice s mláďaty

Příloha III: krmné místo ve venkovním výběhu - Zoo Ústí nad Labem (Autor: Košatová, 2022)



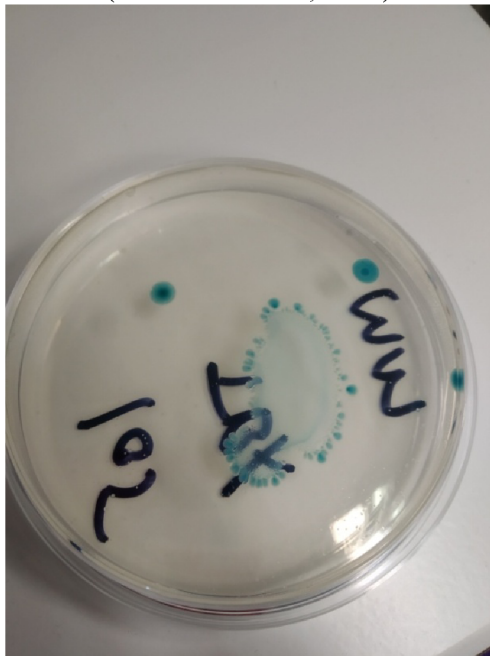
Příloha IV: krmné místo ve venkovním výběhu - Zoo Lešná
(Autor: Košatová, 2022)



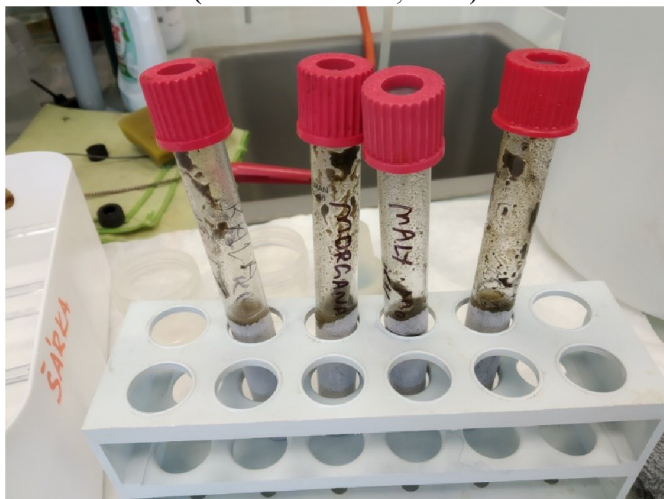
Příloha V: nádoba na krmnou kaši připevněná na kmen stromu - Zoo Lešná
(Autor: Košatová, 2022)



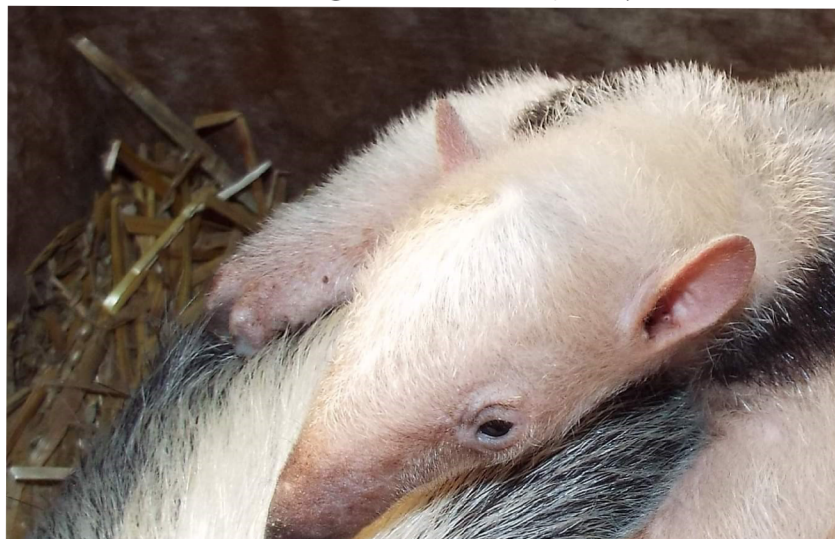
Příloha VI: detekované kolonie *E. coli* na mediu TBX
(Autor: Košatová, 2022)



Příloha VII: zamražené vzorky výkalů mravenečků čtyřprstých pro mikrobiologickou
analýzu
(Autor: Košatová, 2022)



Příloha VIII: mládě (*Tamandua tetradactyla*) narozené 31. 1. 2022 - Zoo Olomouc
(Autor: Ing. Jitka Vokurková, 2022)



Příloha IX: mládě (*Tamandua tetradactyla*) narozené 15. 2. 2022 - Zoo Olomouc
(Autor: Ing. Jitka Vokurková, 2022)



Příloha X: samice (*Tamandua tetradactyla*) s mládětem v pozadí - Zoo Olomouc
(Autor: Košatová, 2022)



Příloha XI: vnitřní výběh mravenečníků čtyřprstých vybavený o větve a různé úkryty - Zoo Olomouc
(Autor: Košatová, 2022)



Příloha XII: samice mravenečnicka čtyřprstého spící v ošatce, ve vnitřním výběhu - Zoo
Ústí nad Labem
(Autor: Košatová, 2022)



Příloha XIII: klády na šplhání a různé úkryty ve venkovním výběhu mravenečnicka
čtyřprstého - Zoo Ústí nad Labem
(Autor: Košatová, 2022)



Příloha XIV: samice mravenečnicka čtyřprstého odpočívající v duté kladě stromu, ve venkovním výběhu - Zoo Lešná
(Autor: Košatová, 2022)

