

Přírodovědecká fakulta Jihočeské univerzity

Bakalářská práce:

DENNÍ ENERGETICKÝ VÝDEJ PODZEMNÍHO HLODAVCE
RYPOŠE *FUKOMYS DARLINGI* V ZÁVISLOSTI NA
VELIKOSTI SKUPINY A TEPLITĚ



Vypracovala: Pavlína Wiedenová

Školitel: doc. Mgr. Radim Šumbera, Ph.D.

České Budějovice 2011

Wiedenová P (2011) Denní energetický výdej podzemního hlodavce rypoše *Fukomys darlingi* v závislosti na velikosti skupiny a teplotě. [Daily energy expenditure of subterranean rodent, mole-rat *Fukomys darlingi*, in the relation with group size and temperature. Bc. Thesis, in Czech] – 38 p., Faculty of Sciences, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace:

Daily energy expenditure (DEE) was examined in the social subterranean rodent Mashona mole-rat (*Fukomys darlingi*) by the long-term (24 hours) indirect calorimetry. Individuals' DEEs were compared with DEEs of grouped mole-rats (groups of 2, 3, 4 and 7) to establish the role of social thermoregulation (“huddling”) in this species at two different temperatures (20 and 30°C). The average DEE of single isolated individual was $1.84 \pm 0.25 \text{ mlO}_2 \text{ g}^{-1}\text{h}^{-1}$ at $T_a = 30^\circ\text{C}$ and $2.99 \pm 0.34 \text{ mlO}_2 \text{ g}^{-1}\text{h}^{-1}$ at $T_a = 20^\circ\text{C}$. The influence of group size on daily energy expenditure (DEE) was observed. The energy savings rose with the increasing number of individuals up to 33.77% in group of seven. Maximal energy savings at 30°C were reached in group of three animals and did not increase further with an increasing number of animals in the group. Similarly at 20°C the maximal savings were observed when seven animals were present. My results confirm that social thermoregulation is an essential mechanism that saves energy expenditure of *F. darlingi*, which is important in the food-scarce underground environment.

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

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

V Českých Budějovicích dne 9. 3. 2011

Pavλίna Wiedenová

Především děkuji svému školiteli doc. Mgr. Radimu Šumberovi, Ph.D za všechny užitečné rady a pomoc, Mgr. Honzovi Okrouhlíkovi za nesčetné konzultace a za čas, který mi věnoval, Mgr. Miladě Zemanové za pomoc při seznamování se s technickým vybavením a RNDr. Jitce Zelové, Ph.D a mým rodičům za přečtení a opravu práce. Moje díky si v neposlední řadě zaslouží i Radka Pešková a Bc. Miloš Vítámvás za svou péči o rýsoše a spolupráci se mnou.

OBSAH

1. ÚVOD	1
1.1 Sociální termoregulace	1
1.2 Faktory ovlivňující efekt sociální termoregulace	6
1.3 Efekt sociální termoregulace u subterráních hlodavců	8
1.4 Metody používané k určení energetických výdejmů	10
2. CÍLE PRÁCE.....	16
3. METODIKA	17
3.1 Studovaná zvířata.....	17
3.2 Stanovení DEE.....	17
3.3 Porovnání krátkodobé a dlouhodobé nepřímé kalorimetrie.....	18
3.4 Vliv velikosti skupiny na efekt sociální termoregulace.....	18
3.5 Zpracování výsledků.....	19
4. VÝSLEDKY	20
4.1 Denní energetický výdej	20
4.2 Variabilita měření	20
4.3 Fluktuace spotřeby kyslíku během 24 hodin	21
4.4 Porovnání krátkodobé a dlouhodobé nepřímé kalorimetrie.....	22
4.5 Vliv velikosti skupiny na efekt sociální termoregulace.....	23
5. DISKUZE	24
5.1 Denní energetický výdej izolovaných jedinců <i>F. darlingi</i>	24
5.2 Klidový metabolismus a porovnání krátkodobé a dlouhodobé IC	25
5.3 Sociální termoregulace	26
6. ZÁVĚR	30
7. LITERATURA	31
8. PŘÍLOHY	37

1. ÚVOD

Množství energie potřebné k životu živočichů ovlivňují především dva faktory: a) endotermie, kdy endotermní živočichové mají výrazně vyšší energetické požadavky než ti exotermní, b) velikost těla, neboť čím je živočich větší, tím jsou větší jeho energetické nároky (Nagy 1987). Dalšími faktory, které velkou měrou ovlivňují energetiku živočichů, jsou jejich fyziologické nároky a etologie (např. lokomoční chování a potravní preference), v neposlední řadě také faktory okolního prostředí (teplota, vlhkost, srážky) a sociální faktory (Karasov 1983, Speakman 1997b).

Během evoluce se u endotermních živočichů vyvinula celá řada adaptací jak šetřit metabolickou energií. Tyto adaptace se mohou rozlišit na fyziologické a behaviorální (Perret 1998; Willmer et al. 2005). Fyziologické adaptace, kterými se studie zaměřené na energetiku živočichů nejčastěji zabývají, jsou často ty, které snižují úroveň bazálního metabolismu (BMR, basal metabolic rate) během nepříznivých podmínek (např. období chladu či nedostatku potravy). Nejextrémnějšími z nich je torpor (Gilbert et al. 2009). Je to stav strnulosti, při kterém dochází k omezení látkové výměny a k poklesu tělesné teploty a který umožňuje živočichům přečkat nepříznivé období (v zimě hibernace, v létě estivace) (Willmer et al. 2005). Tyto stavy však nejsou slučitelné s aktivitami, jako je například reprodukce či růst. Naproti tomu sociální termoregulace (spolu s výběrem příznivého mikroklimatu nebo změnami polohy těla je řazena mezi behaviorální adaptace) tyto aktivity neomezuje, protože umožňuje udržování vysoké tělesné teploty, a proto je široce využívána savci i ptáky. Pro zajímavost sociální termoregulace byla doposud popsána u 67 savců a 25 ptáků (Perret 1998; Gilbert et al. 2009).

1.1 Sociální termoregulace

Sociální termoregulace („huddling“) je definována jako aktivní a kontaktní agregace živočichů (Gilbert et al. 2009). Většinou se jedná o příbuzné jedince. Někdy může sociálně termoregulovat i více druhů společně (Howard 1949). Sociální termoregulace je důležitým termoregulačním mechanismem, jelikož tělesný kontakt vede k redukci tepelných ztrát v důsledku snížení velikosti povrchu těla, kterým se teplo nejvíce ztrácí. Mnoho studií ukázalo na pozitivní vliv sociální termoregulace na energetiku živočichů. Dokonce u některých ektotermních živočichů může být tento fenomén nápadný. Například roj včel medonosných (*Apis mellifera*) si udržoval centrální teplotu

34 ±1.2°C v rozmezí okolních teplot 4 - 16.4°C (Nagy & Stallone 1976). U plazů, kteří jsou převážně samotářští, bylo dokázáno u mladých pakober páskovaných (*Notechis scutatus*), že se větší skupina ochlazuje v nízkých okolních teplotách pomaleji (Aubret & Shine 2009). U endotermních živočichů je tento efekt samozřejmě nejvíce studovaný a nejnápadnější. Například u tučňáka císařského (*Aptenodytes forsteri*) jsou energetické výdaje díky sociální termoregulaci sníženy o 25% (Ancel et al. 1997), u koroptve polní (*Perdix perdix*) o 24% (v devítičlenné skupině) (Putala et al. 1995) a u ondatry pižmové (*Ondatra zibethicus*) o 14% (ve skupině po čtyřech jedincích) (Bazin & MacArthur 1992).

Pro malé savce, kteří mají nevýhodný poměr objemu a povrchu těla a spotřebují na svoji velikost mnohem více energie (Speakman 1997b), je sociální termoregulace zvláště důležitá. Zabraňuje totiž velkým ztrátám tepla při nízké teplotě, které jinak nutně vedou ke zvýšení spotřeby energie (Vickery & Millar 1984; Putala et al. 1995; Canals 1998). Sociální termoregulace tedy udržuje vyšší tělesnou teplotu jedinců a/nebo snižuje energetické výdaje jedinců spojené s termoregulací. Navíc těsná agregace jedinců zvyšuje okolní mikroklima a tak snižuje gradient mezi teplotou vnitřních orgánů (tělního jádra) a okolním vzduchem (Andrews et al. 1987; Canals 1998). Studie zabývající se sociální termoregulací malých savců ukázaly například u myši čtyřpruhé (*Rhabdomys pumilio*), že energetické nároky sociálně termoregulujících jedinců byly až o 20% nižší než u solitérního jedince (Scantlebury et al. 2006). Podobně u myšice lesní (*Apodemus flavicollis*) zaznamenal Fedyk (1971) pokles spotřeby energie díky sociální termoregulaci dokonce až o 49%, u hlodavce (*Reithrodontomys megalotis*) klesly metabolické výdaje až o 28% (Pearson 1960) a u myšice temnopásé (*Apodemus agrarius*) (Tertil 1972) a křečka bělonohého (*Peromyscus leucopus*) (Vogt & Lynch 1982) o 32-33%. Podobných příkladů je řada a proto jsou pro přehlednost zaznamenány v tabulce (Tab. 1).

Tabulka 1. Příklady energetických úspor [%], kterých bylo dosaženo díky sociální termoregulaci (pokud není uvedeno jinak, byly tyto hodnoty získány dle vzorce: $100 - \{(energetické\ výdaje\ skupiny / energetické\ výdaje\ všech\ jedinců\ měřených\ jednotlivě)\} \times 100$). Zaznamenány jsou podmínky experimentu, pokud je autor uvádí. V případě, že byl ve studii zkoumán vliv jiných faktorů než teploty a počtu jedinců ve skupině na efekt sociální termoregulace, je toto uvedeno v posledním sloupci (+ H = zvířatům bylo poskytnuto hnízdo, RS = pokus probíhal v období rozmnožování). *za 100% je považována stejně velká skupina při 25 °C; **jako 100% je brána skupina o dvou jedincích.

autor	druh savce	podmínky experimentu	jedinců ve skupině	energetické úspory	jiné faktory
Dlouhodobá (24 hod) nepřímá kalorimetrie					
Górecki 1969	<i>Apodemus agrarius</i> myšice temnopásá	$T_a = 20^\circ\text{C}$	2 3	17% 29%	– –
Tertil 1972	<i>Apodemus agrarius</i> myšice temnopásá	$T_a = 5, 20^\circ\text{C}$ potrava	2 3	13, 15% 21, 12%	4, 27% + H 27, 32% + H
Górecki 1968	<i>Clethrionomys glareolus</i> norník rudý	$T_a = 20^\circ\text{C}$ potrava, kolečko, hnízdo	2 4	14% 13%	– –
Gebczyński 1969	<i>Clethrionomys glareolus</i> norník rudý	$T_a = 3, 14^\circ\text{C}$ potrava, hnízdo	3 5	36, 28% * 29, 19% *	– –
tato studie	<i>Fukomys darlingi</i> rypoš Darlingův	$T_a = 20, 30^\circ\text{C}$ hnízdo, potrava	2 3 4 7	15, 12% 14, 27% 24, 25% 34, 26%	– – – –
Andrews et al. 1987	<i>Microtus townsendii</i> hraboš Townsendův	$T_a = 18.5^\circ\text{C}$	2 3 4	12% 20% 16%	– – –
Vogt & Lynch 1982	<i>Peromyscus leucopus</i> křeček bělonohý	$T_a = 13^\circ\text{C}$ bez hnízda	3	28%	33% + H

autor	druh savce	podmínky experimentu	jedinců ve skupině	energetické úspory	jiné faktory
Krátkodobá nepřímá kalorimetrie					
Karasov 1983	<i>Ammospermophilus leucurus</i> sysel běloocasý	R (3-8h) $T_a = 15^\circ\text{C}$ bez hnízda	5	34%	64% + H v 10°C
Fedyk 1971	<i>Apodemus flavicollis</i> myšice lesní	R (1,5h)	2	13, 18, 14, 19, 21%	–
		$T_a = 5, 10, 15, 20, 25^\circ\text{C}$	3	21, 25, 26, 29, 34%	–
		bez hnízda,	4	35, 37, 38, 43, 31%	–
		potraviny, po jídle	5	44, 45, 43, 44, 18%	–
Gebczyński 1969	<i>Clethrionomys glareolus</i> norník rudý	R (1h)	2	22, 15, 8, 22, 12%	–
		$T_a = 5, 10, 15, 20, 25^\circ\text{C}$	3	31, 27, 14, 31, 20%	–
		bez hnízda, potraviny i vody	5	35, 30, 18, 25, 11%	–
Withers Jarvis 1980	<i>Heterocephalus glaber</i> rypoš lysý	R (neudává)	2	– 8, 40, 33, 43, 16%	–
		$T_a = 15, 20, 25, 30, 34^\circ\text{C}$	4	27, 44, 44, 52, 78%	–
		ne v post-absorpčním stavu			–
Yahav Buffenstein 1991	<i>Heterocephalus glaber</i> rypoš lysý	R (1h)	4	11% **	–
		$T_a = \text{TNZ} (29-35^\circ\text{C})$	8	22% **	–
Perret 1998	<i>Microcebus murinus</i> maki trpasličí	R (1,5h)	2	17%	20% - RS
		$T_a = \text{TNZ} (25^\circ\text{C})$ post-absorpční stav	3,4	22%	40% - RS
Trojan Wojciechowska 1968	<i>Microtus arvalis</i> hraboš polní	R (1h)	2	1%	–
		$T_a = 20^\circ\text{C}$	3	0%	–
		bez hnízda, s	4	14%	–
		potravou a vodou	5	24%	–
			6	39%	–
			7	35%	–
			9	33%	–
Gebczyńska 1970	<i>Microtus oeconomus</i> hraboš severní	R (1h)	2	10%	–
		$T_a = 20^\circ\text{C}$ bez hnízda, potraviny	3	15%	–
Contreras 1984	<i>Mus musculus</i> myš domácí	R (2h)	3	30, 31, 21, 0%	–
	<i>Meriones unguiculatus</i> pískomil mongolský	$T_a = 5, 12.5, 20, 30^\circ\text{C}$	3	29, 32, 23, 6%	–

autor	druh savce	podmínky experimentu	jedinců ve skupině	energetické úspory	jiné faktory
Martin et al. 1980	<i>Mus musculus</i> myš domácí	R (18-24min)	3	23%, 14%, 14%	–
		T _a = 10, 15, 20°C			–
		bez potravy 5h			–
Roverud & Chappell 1991	<i>Noctilio albiventris</i> netopýr říční	R (1h)	2	9, 15, 15%	–
		T _a = 10, 20, 30°C	3	24, 29, 24%	–
		10-12h bez	4	37, 56, 11%	–
		potravy	8	36, 48, 15%	–
			16	42, 37, -11%	–
Baudinette 1972	<i>Notomys alexis</i> klokanomyš spinfexová	R (1h)	4	18%	–
		T _a = 28°C post-absorpční stav			–
Bazin & MacArthur 1992	<i>Ondatra zibethicus</i> ondatra pižmová	R (2,5 – 4,5h)	2	12, 5%	–
		T _a = -10, 0°C	4	11, 14%	–
Glaser & Lustick 1975	<i>Peromyscus leucopus noveboracensis</i> křeček bělonohý	R (20-30min) T _a = 5°C 2h bez potravy, bez hnízda	2	27%	53% + H
Alberts 1978	<i>Rattus norvegicus</i> potkan obecný věk 5-16 dnů	R (75min)	2	10%	–
		T _a = 28 (30)°C	4	24%	–
		hnízdo	8	34%	–
Pearson 1960	<i>Reithrodontomys megalotis</i> křeček	R (9-24min) T _a = 1°C bez hnízda	3	28%	–
Scantlebury et al. 2006	<i>Rhabdomys pumilio</i> myš čtyřpruhá	R (20min)	1-3x6-8	20%	–
		T _a = 5°C			–
		DLW v terénu, v zimě	2, 3, 4, 6 redukce na 1/2	19%	–

Sociální termoregulace je samozřejmě důležitá i u mláďat, která mají nižší termoregulační schopnosti a ztrácejí podstatně více tepla než dospělci. Efekt sociální termoregulace výrazně snižuje energetické výdaje mláďat (u mláďat potkanů například klesla spotřeba kyslíku o 34% ve skupině o osmi mláďatech) a zároveň udržuje tělesnou teplotu mláďat (ve skupině čtyř mladých potkanů zabraňovala sociální termoregulace silnému poklesu tělesné teploty, který byl pozorovaný u izolovaného mláděte a to již u pětidenních mláďat) (Alberts 1978). Dále je třeba zdůraznit, že kontaktní agregace jedinců („huddling“) může u některých druhů živočichů (např. u netopýra *Noctilio*

albiventris) tělesnou teplotu jedinců ve skupině i snížit (hypotermie). Netopýři ve skupinách nejsou vystaveni tak vysoké predaci jako izolovaní jedinci a proto mohou vstupovat do stavu hypotermie. Tento mechanismus jim zajišťuje zřetelné snížení energetických výdajů (Roverud & Chappell 1991).

Mezi další výhody související se sociální termoregulací spojené s udržováním tělesné teploty bez zvýšení produkce metabolického tepla patří například a) přispívání k přežívání v nižších teplotách, b) snižování příjmu potravy a přežívání při jejím nedostatku, c) snižování doby strávené hledáním potravy a možnost trávit více času odpočinkem (tím se také snižuje riziko predace – více níže) (Prychodko 1958; Putaala et al. 1995; Perret 1998). Sociální termoregulace živočichů může také snižovat nároky na vodu u druhů v aridních oblastech (Scantlebury et al. 2006). Kromě samotné termoregulace má „huddling“ několik dalších výhod. Například díky tzv. zředovacímu efektu nebo vyšší pravděpodobnosti spatření predátora může vést ke snížení predace. Bylo dokázáno, že se zvyšujícím se počtem jedinců stoupá ostražitost skupiny (Putala et al. 1995; Perret 1998). Sociální termoregulace má také sociální funkci (sociální harmonie a struktura). Obecně se dá říci, že efekt sociální termoregulace zvyšuje fitness jedinců (Contreras 1984, Vickery & Millar 1984).

Nevýhoda spojená s blízkostí většího počtu jedinců ve skupině je snadný přenos různých patogenů a parazitů (např. u vlaštovek *Hirundo pyrrhonota* bylo nalezeno více ektoparazitů -*Oeciacus vicarius* na jedince ve větších skupinách než v menších – Krebs & Davies 1993). Navíc se zvyšujícím se počtem jedinců ve skupině se také zvyšuje vzdálenost, kterou je nutné urazit při hledání potravy (neplatí v situaci nadbytku potravy). Například primáti maki trpasličí (*Microcebus murinus*) se v době páření shlukují pouze do malých skupin (dva až čtyři jedinci), což představuje kompromis mezi maximálními energetickými výhodami a minimální kompeticí o potravu či reprodukci (Perret 1998).

1.2 Faktory ovlivňující efekt sociální termoregulace

Mezi nejvýznamnější faktory, které mají vliv na efekt sociální termoregulace, patří především velikost skupiny (Trojan & Wojciechowska 1968). Se zvětšujícím se počtem jedinců totiž dochází k redukci plochy těla, která je vystavena chladu. Canals et al. (1989), který se zabýval geometrií sociální termoregulace a její energetikou, ukázal, že metabolické hodnoty nejsou na změně plochy povrchu těla lineárně závislé. Dle jeho

modelu je v sociální termoregulaci nejvýhodnějších pět jedinců. Pokud stoupá počet jedinců ve skupině nad pět, efektivita sociální termoregulace již dále neroste. Ačkoliv svůj model zároveň potvrdil experimentálními daty na dvou druzích - vačici chilské (*Marmosa elegans*) a křečkovi Darwinovu (*Phyllotis darwini*) – není obecně platný. To nezávisle prokázalo několik autorů: Například energetické výdaje (VO_2) u koroptve polní (*Perdix perdix*) klesaly úměrně se zvyšujícím se počtem jedinců (tři, šest a devět jedinců ve skupině). Úspory naměřené ve skupinách větších než čtyři jedinci jsou vysvětlovány rozdílným tvarem termoregulující skupiny. Koroptve v méně početných skupinách vytváří více asymetrické shluky, kdežto více početné skupiny mají kruhovitý tvar (Putala et al. 1995). U hraboše polního (*Microtus arvalis*) byl dokonce efekt sociální termoregulace znatelný až ve skupině o čtyřech jedincích. S dalším zvětšováním skupiny stoupalo i množství ušetřené energie až po sedm jedinců (ve skupinách po devíti jedincích už znatelný nárůst množství ušetřené energie nebyl) (Trojan & Wojciechowska 1968). Například u druhu hraboše Townsendova (*Microtus townsendii*) bylo množství ušetřené energie díky sociální termoregulaci na velikosti skupiny nezávislé (Andrews et al. 1987). V této studii však porovnávali s izolovanými jedinci pouze skupiny po dvou a třech jedincích a v tak malých skupinách se efekt sociální termoregulace ještě nemusel projevit. U hraboše polního byl efekt sociální termoregulace ve skupinách po dvou až třech jedincích také nevýrazný (viz výše) (Trojan & Wojciechowska 1968).

Dalším významným faktorem ovlivňujícím míru sociální termoregulace je teplota okolního prostředí (Prychodko 1958). S klesající teplotou efekt sociální termoregulace zpravidla stoupá (Batchelder et al. 1983). To bylo například u myšice temnopásé dokázáno pouze v případě, kdy pokusovaným jedincům nebyl poskytnut hnízdní materiál (Tertil 1972). Termoneutrální zóna (TNZ, thermoneutral zone) je rozsah okolních teplot (T_a), ve kterých jsou metabolické hodnoty nejnižší a nekolísají a proto nekolísá ani produkce tepla (Willmer et al. 2005). Z této definice vyplývá, že by efekt sociální termoregulace neměl být v rámci TNZ znatelný a měl by představovat energetickou výhodu jen v teplotách pod TNZ (Vickery & Millar 1984). Toto bylo potvrzeno v několika studiích. Například u norníků rudých (*Clethrionomys glareolus*) nebyl v TNZ (ve 30°C) pozorován vliv sociální termoregulace na spotřebu kyslíku. Ta byla stejná pro jedince i pro skupiny po dvou i třech jedincích. Efekt sociální termoregulace se zvyšoval až při teplotách pod 20°C (Gebczyński 1969). Naproti tomu

Perret (1998) dokázal, že primát maki trpasličí (*Microcebus murinus*) v TNZ snižoval svůj RMR v rozmnožovací sezóně až o 40% ve skupině po třech až čtyřech jedincích a stejně tak ve skupině o dvou jedincích bylo snížení výrazné (o 20%). V teplotách mimo TNZ může být efekt sociální termoregulace také potlačen. Například u normíků rudých se efekt sociální termoregulace ztrácí již při teplotách nad 20°C. Tento jev byl vysvětlen tak, že zvířata zvýšila svou aktivitu a snížila čas strávený v hnízdě (Gebczyński 1969).

Využívání hnízda živočichy zvyšuje efekt sociální termoregulace (Vickery & Millar 1984). Například myšice temnopásé snížily své energetické náklady ve skupině po dvou o 27% a ve skupině po třech o 32% (v porovnání s izolovaným jedincem) v případě, že jim bylo poskytnuto hnízdo, kdežto bez hnízda byly energetické nároky sníženy ve skupině po dvou jen o 15% a ve skupině po třech o 12%. Sociální termoregulace plně zastupovala vliv hnízda ve 20°C, kdežto v 5°C už samotná sociální termoregulace nestačila. Stojí za zmínku, že jak efekt sociální termoregulace tak i užití hnízda šetří určité množství energetických výdajů díky izolaci, nicméně kombinace obou faktorů neušetří tolik, jaký by byl jejich součet (Tertil 1972).

Pozice při těsné agregaci jedinců může hrát také významnou roli v energetické bilanci jedince. Pokud je agregovaná skupina velká, někteří jedinci se vyskytnou na okraji a proto mají nižší výhody spojené se sociální termoregulací. To může být jedním z důvodů, které brání jedincům připojovat se k velkým skupinám (Vickery & Millar 1984).

V neposlední řadě závisí efekt sociální termoregulace na vzdálenosti mezi jedinci. Alberts (1978) dokázal, že mláďata potkanů se snižující se teplotou okolí snižovala vzdálenost mezi sebou a tím snižovala celkovou plochu sociálně termoregulující skupiny. To by ukazovalo, že existuje přímá úměra mezi teplotou okolí a povrchem sociálně termoregulující skupiny.

1.3 Efekt sociální termoregulace u subterráních hlodavců

Život v podzemním prostředí je pro živočichy v mnoha ohledech velmi výhodný. Živočichové zde nejsou vystaveni teplotním extrémům, podzemní chodby jim poskytují úkryt před predátory a díky vysoké vlhkosti mají podzemní živočichové výhodu i v hospodaření s vodou (Baudinette 1972; Withers & Jarvis 1980). Aby mohli fosoriální hlodavci (hlodavci, kteří tráví většinu svého života v podzemí) obývat toto prostředí, vyvinula se u nich celá řada morfologických, anatomických a fyziologických

adaptací (Lovegrove 1986). Mezi nejvýznamnější fyziologické adaptace patří nízký bazální metabolismus (BMR), vysoká konduktance (C), široká termoneutrální zóna (TNZ) a nízká tělesná teplota (Tb) (McNab 1966; Lovegrove 1987). Nízký BMR (spolu s vysokou konduktancí) slouží jako adaptace proti přehřívání v podzemních norách, kde je omezený odvod tepla odparem díky nasycení prostředí vodními parami. Nízký BMR také redukuje výměnu plynů v prostředí s nízkou koncentrací O₂ a vysokou koncentrací CO₂ a slouží také k redukcí výdeje vody (McNab 1966; 1979). Snížená BMR může být adaptací, která kompenzuje vysoké energetické výdaje při kopání podzemních chodeb (Lovegrove 1987). Lovegrove a Wissel (1988) se domnívali, že je RMR u rypošů čeledi Bathyergidae na rozdíl od ostatních savců nezávislá na hmotnosti. Ukázalo se, že tomu tak není a RMR těchto savců je na hmotnosti závislá (Zelová et al. 2007). Navíc se zjistilo, že se BMR subterráních (kopou a hledají potravu pod zemí) a fosoriálních hlodavců (kopou pod zemí, ale potravu si víceméně hledají na povrchu) větších než 77 g a žijících ve vlhkých oblastech neliší od těch z aridních oblastí (přičemž BMR subterráních a fosoriálních hlodavců se neliší). Pokud by měla platit hypotéza nízké RMR kvůli vysoké energetické náročnosti kopání v podzemí, pak by měly být tyto hodnoty BMR odlišné, protože v tvrdších půdách aridních oblastí je kopání energeticky náročnější než v půdách vlhkých oblastí. Proto je pravděpodobnější vysvětlení redukce RMR hypotézou teplotního stresu (zabraňování přehřátí). Na druhou stranu subterrání hlodavci menší než 77 g žijící v aridních oblastech mají nižší BMR než fosoriální hlodavci z aridních oblastí. Tento fakt naopak hypotézu vysokých energetických nároků na hrabání podporuje (Sedláček 2007).

Zajímavou otázkou je zda i tito podzemní hlodavci dále snižují své energetické výdaje v sociálně termoregulující skupině. Například u fosoriálního pouštního hlodavce klokanomyši spinifexové (*Notomys alexis*), který má díky svému fosoriálnímu způsobu života snížené metabolické hodnoty (BMR), byl efekt sociální termoregulace zřetelný. Energetické výdaje se snížily ve skupině po čtyřech jedincích o 18% v porovnání s izolovaným jedincem (Baudinette 1972).

Studii, které se zabývají sociální termoregulací přímo u druhů rypošů, není mnoho (dvě studie na rypoše lysého (*Heterocephalus glaber*) a jedna studie na rypoše damarského (*Fukomys damarensis*) a natalského (*Cryptomys natalensis*)). Ve studii zabývající se druhem *H. glaber* Withers a Jarvis (1980) zjistili, že v sociálně termoregulující skupině rypoši sice snižovali energetické nároky, ale jejich tělesná teplota byla stejná jako teplota izolovaných jedinců. Jak izolovaní jedinci tak jedinci

ve skupině vykazovali stejný pokles tělesné teploty v nižších okolních teplotách a tento druh byl autory prohlášen za živočicha s velmi slabými schopnostmi termoregulace a tedy za ne příliš efektivního endotermního živočicha. V následující studii však Yahav & Buffenstein (1991) dokázali, že sociální termoregulace u toho druhu není jen adaptací, která snižuje energetické výdeje, ale je také důležitou součástí termoregulačních schopností tohoto druhu rypoše. Nejenže skupina osmi jedinců ušetřila 22% energetických výdejů, ale také udržovala stálou tělesnou teplotu (33.4°C) v rozsahu $T_a = 29.8 - 34.7^\circ\text{C}$. Dá se říci, že v okolních teplotách, kterým je rypoš lysý vystavován ve svém přirozeném prostředí, je díky sociální termoregulaci pravým homeotermním živočichem. Srovnáním efektu sociální termoregulace u dvou druhů rypošů (*Fukomys damarensis* a *Cryptomys natalensis*) se zabýval Kotze et al. (2008). Oba tyto druhy ušetřily více energie v sociálně termoregulujících skupinách než izolovaní jedinci a tyto úspory stoupaly se zvyšujícím se počtem jedinců ve skupině. *Fukomys damarensis* vykazoval vyšší energetické úspory se stoupajícím počtem jedinců než *C. natalensis* a také ve skupině nad sedm jedinců měl *F. damarensis* nižší spotřebu kyslíku než *C. natalensis*. Naopak ve skupině jeden až sedm jedinců měl nižší spotřebu kyslíku *C. natalensis*. To souvisí podle autorů s ekologií druhů. Rypoš damarský je druh aridních oblastí, zatímco rypoš natalský je druh vlhčích oblastí. Pro vyjádření energetických úspor v procentech je nutné použít grafické výsledky této studie (autor všechny číselné výsledky neuvádí). Například *F. damarensis* ušetřil ve skupině o sedmi jedincích cca 90% ve 14°C i ve 30°C. U *C. natalensis* bylo sledováno o něco menší množství energetických úspor (např. 70% ve skupině o sedmi jedincích ve 14°C).

1.4 Metody používané k určení energetických výdejů

Starší studie zabývající se sociální termoregulací živočichů zkoumaly její vliv například na přežívání, na udržení tělesné teploty v nízkých teplotách okolí, na množství příjmu potravy či na rychlost ztráty hmotnosti (jako index metabolického energetického výdeje) nebo na rychlost růstu u mláďat (např. Prychodko 1958; Howell 1976; Alberts 1978; Vickery & Millar 1984; Kauffmann et al. 2003). V současné době se však efekt sociální termoregulace („huddling“) určuje především konkrétním měřením energetických výdejů. Nejčastěji se používají následující metody:

- 1) časová energetická bilance (TEB, time-energy budgets)
- 2) použití stabilních izotopů tzv. metoda dvojité značené vody (DLW, doubly labelled water)

3) nepřímá kalorimetrie (IC, indirect calorimetry)

- odhad na základě bazálního metabolismu (BMR, basal metabolic rate) nebo na základě klidového metabolismu (RMR, resting metabolic rate)

Technika časové energetické bilance (TEB) je technika používaná především v terénních podmínkách a je založena na měření časových intervalů, které živočich stráví různými aktivitami případně i v různém prostředí (odpočinek, hledání potravy, běh, atd.). Pozorování těchto aktivit je nutné doplnit laboratorní analýzou, kdy se pomocí kalorimetrie určí energetická náročnost jednotlivých aktivit v různých podmínkách např. při různé okolní teplotě. Celkový energetický výdej (většinou denní energetický výdej, DEE, daily energy expenditure) se spočítá vynásobením délky jednotlivých aktivit adekvátními energetickými náklady (Speakman 1997b, Bakken 1976). Pro co nejpřesnější odhad je nutné určit environmentální faktory jako je např. okolní teplota nebo rychlost větru a také měřit metabolické hodnoty aktivit v laboratoři nejlépe ve stejném čase, jako jsou sledovány v terénu a tím se vyhnout vlivu sezóny. To se týká především aktivit spojených s obdobím rozmnožování (Nagy 1989). Výhoda této metody spočívá v její neinvazivnosti a je také relativně levná. Přesto se v odhadu DEE mohou objevit výrazné chyby a to i přes detailní zaznamenání všech aktivit, protože tento odhad je závislý na přesnosti měření metabolických hodnot spojených s určitou aktivitou (Nagy 1989). Corp et al. (1999) ve své studii samců myšice křovinné (*Apodemus sylvaticus*) – udává jako možné chyby metodiky TEB tyto:

- 1) Podcenění klidových výdejů energie. Jakmile bylo zvíře v hnízdě, byla k tomuto časovému intervalu přiřazena hodnota energetického výdeje rovna klidovému metabolismu (RMR) zjištěna v laboratorních podmínkách. Tento přístup ovšem zanedbává možné aktivity v hnízdě a tedy podceňuje energetické výdeje spojené s pobytem v hnízdě.
- 2) Podcenění aktivních výdejů energie. Měření energetických nákladů při aktivitě nepřímou kalorimetrií v laboratoři může podcenit variabilitu aktivity v terénu. Zvíře může mít v přirozeném prostředí větší výdaje než v laboratoři nebo používat jiné druhy pohybu, než ty umožněné v laboratorních podmínkách např. běhání v tzv. „kolečku“, které se standardně používá. Je pravděpodobné, že rychlost a vzdálenost, kterou zvířata urazí, může být zásadně podceněna.

Metoda dvojité značené vody (DLW, doubly labelled water) je metoda založená na vzácných izotopech vodíku a kyslíku, která umožňuje odhadnutí produkce CO₂ (Speakman 1998). Díky tomu, že atomy kyslíku v tělesné vodě (= veškerá voda přítomná v těle jako buněčná, intersticiální a v krevní plazmě) odcházejí z těla jako molekuly vody a CO₂, kdežto atomy vodíku pouze ve formě molekul vody, lze na základě rozdílu v rychlosti vylučování těchto dvou prvků určit produkci CO₂ a tedy energetický výdej (Nagy 1980). Abychom tento rozdíl mohli pozorovat, je nutné do tělní vody přidat vodu s těžkými izotopy - ¹⁸O a ²H, které jsou téměř identické (chemicky i fyzikálně) s běžnými formami prvků kyslíku a vodíku (Speakman 1998). U malých savců se tato technika nejčastěji provádí tak, že se chycenému zvířeti nejprve odebere vzorek krve kvůli stanovení počáteční hladiny izotopů, které jsou přirozeně v krvi přítomny a následně se injikuje DLW. Množství DLW, které je nutné použít, závisí na velikosti zvířete a na časovém úseku, po který chceme měřit výdej CO₂. Pro ilustraci uvádím následující příklad: nejlepší počáteční obohacení izotopy pro správnou analýzu je 4000 - 5000 p.p.m. Toho docílíme injikováním množství izotopu ¹⁸O spočítaném dle rovnice:

$$\text{potřebná dávka [ml]} = (0.65 \times \text{hmotnost [g]} \times \text{DIE}) / \text{IE}$$

-DIE je žádoucí počáteční obohacení v p.p.m.
-IE je obohacení roztoku injektátu v p.p.m.

Používané množství izotopu ²H bývá poloviční. Pro malé živočichy (50g) tato dávka umožní měření energetického výdeje maximálně 3.5 dne, ale u větších živočichů (50kg) tato dávka stačí na měření výdeje CO₂ po dobu až jednoho měsíce (Speakman 1997a).

Po krátkém časovém intervalu (jakmile je dosaženo izotopového ekvilibria) se živočichovi odebere vzorek krve pro stanovení počátečního izotopového obohacení. Čas, po kterém dojde k ekvilibriu, závisí opět na tělesné hmotnosti, ale i na způsobu aplikace izotopů (orálně, injekčně nitrožilně, do peritonea či do svalu). Např. u rejsků je to 15-30 minut (Speakman 1997a). Pak je zvíře vypuštěno a po zvoleném časovém intervalu (obvykle násobek 24 hodin) opět odchyceno a je mu odebrána krev pro ohodnocení konečného izotopového obohacení (Speakman & Racey 1988).

Možná chyba metodiky DLW podle Corpa et al. (1999) existuje u semifosoriálních a fosoriálních živočichů, kdy se v jejich norách a hnízdech může nahromadit CO₂, který je označený izotopy kyslíku. Pokud je tento plyn opět vdechnut

zkoumaným zvířetem, můžou se ve výsledcích objevit chyby. Nicméně to Corp ve své studii myšic křovinných nepotvrdil.

Výsledky získané metodou DLW se od výsledků nepřímé kalorimetrie liší asi o 3% (Speakman 1997a). Nagy (1989) uvádí nepřesnost metody DLW na cca 4% u ptáků a savců v zajetí a proto se často používá jako porovnávací metoda správnosti ostatních technik. Autor odhaduje, že nepřesnost v terénu může být zvýšena na 8-11%, pravděpodobně díky rozdílné aktivitě volně žijících živočichů a živočichů uzavřených v respirační komoře (Speakman 1997b) (u člověka byl energetický výdej volně se pohybujícího jedince měřený metodou DLW dokonce o 15% vyšší než výdej jedince měřený nepřímou kalorimetrií (Seale et al. 1990). Tento odhad je však těžké potvrdit, protože neexistuje přesnější metoda, která by přímo změřila energetické výdaje v terénu. Výsledky získané metodou TEB a DLW se například u ptáků liší až o 57% (Nagy 1989).

Corp et al. (1999) ve své studii porovnával denní energetický výdej (DEE) samců myšice křovinné (*Apodemus sylvaticus*) použitím DLW a TEB modelů. Denní energetický výdej zjištěný pomocí DLW byl signifikantně větší, než ten pomocí TEB modelu. Díky relativní přesnosti metody DLW (v porovnání s nepřímou kalorimetrií) a také kvůli množství chyb, kterých se lze dopustit při používání metody TEB, je tato metoda pro stanovování energetických výdajů živočichů pravděpodobně nejméně vhodná.

Důvodem, proč metoda DLW není příliš častým způsobem zjišťování energetických výdajů je vysoká cena a nutnost instrumentálně náročné analýzy (Speakman 1997a). Další nevýhoda je, že metodou DLW lze zjistit pouze celkový metabolismus (FMR) a ne jeho části, což bývá často nejzajímavější (Nagy 1989, Kinney & Tucker 1992). Navíc je možné se dopustit relativně velké chyby v důsledku nepřesnosti v měření koncentrace izotopů (viz Nagy 1989).

Nepřímá kalorimetrie (IC, Indirect calorimetry) je oblíbená metoda díky své relativní jednoduchosti. Touto metodou se měří spotřeba kyslíku a/nebo výdej CO₂ a lze ji přepočítat na energetické výdeje. Dříve se užívala i metoda přímé kalorimetrie, při které se měří celkové teplo vyprodukované živočichem. Tato metoda se používala především ve zdravotnictví. Komora, ve které byl uzavřen testovaný objekt, musela být ještě menší než při nepřímé kalorimetrii a proto se dnes převážně používá kalorimetrie nepřímá (Lighton 2008).

První komory, ve kterých se měřila spotřeba kyslíku nepřímou kalorimetrií, byly zcela uzavřené. Živočichem produkovaný CO_2 byl chemicky absorbován a díky tomu mohla být spotřeba O_2 měřena pomocí poklesu tlaku v komoře. Tento typ komory se používá ještě dnes například u diapauzního hmyzu. Zcela uzavřená komora však představovala problém s hypoxií (nedostatkem O_2), který může zásadně ovlivnit metabolismus živočichů. Proto byl k této uzavřené komoře přidán zdroj O_2 . Průtokový systém vynalezený ve 40. letech 20. století má tu výhodu, že současně se spotřebou kyslíku lze měřit i produkci oxidu uhličitého. Díky tomu lze určit respirační kvocient RQ (Speakman 1997a).

Chyby, které se mohou v souvislosti s touto metodikou vyskytnout, jsou pravděpodobně způsobeny tím, že je nutné zvířata umístit do relativně malého prostoru komory (čím je komora větší, tím jsou změny v koncentraci plynů v této komoře méně výrazné a v měření se může vyskytnout větší chyba). Může tak dojít ke stresování zvířat a ke změně přirozeného chování. Dalším nedostatkem je to, že se často měří pouze krátké časové úseky (viz dále), které často nemusí postihnout komplexní chování.

Hlavním parametrem, který se metodou nepřímé kalorimetrie měří, je bazální/klidový metabolismus. Hodnota bazálního metabolismu (BMR) je množství energie vydané živočichem, který je v klidu v teplotě termoneutrální zóny a jehož trávicí systém není aktivní, tzn. zvíře je na lačno, ale nehladoví (Willmer et al. 2005; Lovegrove 2000). Mezi BMR a energetickou bilancí daného jedince by měla být korelace, protože BMR je částí energetické bilance. Proto byla hodnota BMR často používána pro určení energetického výdeje živočichů. Hodnota bazálního metabolismu tedy může sloužit jako základ odhadu energetického výdeje (DEE), na kterém je poté provedena korekce pro aktivitu a pro výdej tepla v nižších teplotách (McNab 1963). Hodnota bazálního metabolismu se nejčastěji měří nepřímou kalorimetrií (viz. dále). Ve většině studií je tato hodnota nahrazena hodnotou klidového metabolismu (RMR, resting metabolic rate). Hodnota RMR je srovnatelná s hodnotou BMR, případně o něco vyšší. Hodnota RMR se používá proto, že i když zajistíme optimální teplotu okolí (=TNZ) a zvíře je v klidu v post-absorpční fázi, nemůžeme s jistotou říci, že zvíře je v celkovém klidu (že není např. stresované), ani zda je přesně ve fázi, kdy je na lačno, takže netráví, ale ani nehladoví. Z toho vyplývá, že hodnoty BMR a RMR se mohou lišit i velice výrazně. Např. příjem potravy významně zvýšil spotřebu kyslíku křečka Darwinova (*Phyllotis darwini*) a toto zvýšení trvalo cca čtyři hodiny. Pro představu tři hodiny po příjmu potravy byla spotřeba kyslíku o 20% vyšší než 16 hodin po jídle

(Nespolo et al. 2003). U bezobratlých může být toto navýšení spotřeby kyslíku mnohem výraznější. Pokud je zvíře právě po jídle může být jeho klidový metabolismus až čtyřikrát vyšší než BMR, jako je tomu u pavouka slíďáka lužního (*Pardosa prativaga*) (Jensen et al. 2010). Výhoda měření metabolismu nepřímou kalorimetrií spočívá především v tom, že se BMR (RMR) dá relativně snadno měřit u všech zvířat a existuje tak dostatek porovnatelných dat v různých studiích. Koteja (1991) se ve své studii kriticky zaměřil na používání BMR jako hodnoty sloužící k odhadnutí energetického výdeje. Použil hodnoty FMR (field metabolic rate, metabolický výdej v terénu) získané metodou DLW u různých skupin živočichů, porovnal je s BMR těchto skupin a došel k závěru, že odhady energetických výdajů na základě BMR nemusí být úplně přesné (u vačnatců roste BMR s hmotností těla rychleji než FMR, neexistuje korelace mezi odhady BMR a FMR u většiny placentálních živočichů, i když u hlodavců a ptáků je signifikantní) (Koteja 1991). Dá se tedy říci, že BMR je vyjádření metabolismu, které nemusí spolehlivě vypovídat o aktivitě živočicha a její energetické náročnosti. Navíc zjištěné hodnoty BMR se mohou značně lišit u stejných druhů živočichů v různých studiích i za použití stejné metody. Odhad denního energetického výdeje tak může být zatížen velkou chybou (Górecki 1968).

Výsledky studií zabývajících se vlivem sociální termoregulace, které použily metodu nepřímé kalorimetrie, sice nejsou plně porovnatelné v důsledku měření za různých okolních teplot a/nebo různého počtu jedinců v sociálně termoregulační skupině, ale ukazují, že průměr množství ušetřené energie u dlouhodobých měření je 17%, kdežto u krátkodobých 26% (Gilbert et al. 2009). Je nutné si však uvědomit, že dlouhodobá měření zahrnují i fáze aktivity, zatímco krátkodobá měření pouze fáze klidu. Proto je pravděpodobné, že při krátkodobých měřeních dochází k podcenění množství ušetřené energie. Příčina těchto nesrovnalostí může být například ta, že krátkodobá měření nemusí vždy zaznamenat interval spánku a celkového odpočinku (Gebczyński 1969). Další možné vysvětlení je to, že při krátkodobých experimentech bývají podmínky v komoře jiné – nebývá poskytnuta podestýlka nebo hnízdní materiál, často ani potrava či jiné vybavení, kdežto v dlouhodobých měřeních ano.

Důvodem, proč se efekt sociální termoregulace převážně stanovuje pomocí krátkodobé nepřímé kalorimetrie (viz Tab.1), je časová náročnost dlouhodobých měření a také jejich technická náročnost. Dlouhodobá měření však mohou poskytnout výsledky s vyšší vypovídající hodnotou a proto se ve své bakalářské práci zaměřuji na tuto metodiku.

2. CÍLE PRÁCE

Cíle mé bakalářské práce jsou rozděleny do dvou okruhů:

1. Metodická část

- zjistit, zda lze změřit denní energetický výdej (DEE) rypoše *Fukomys darlingi* pomocí dlouhodobé nepřímé kalorimetrie a zjistit, zda dochází k nějakým zásadnějším fluktuacím spotřeby kyslíku
- opakovanými měřeními zjistit, jaká je variabilita mezi jednotlivými měřeními
- porovnat výsledky s těmi získanými krátkodobou nepřímou kalorimetrií

2. Praktická část

- určit efekt sociální termoregulace v delším časovém úseku (24 hod) v závislosti na velikosti skupiny a okolní teplotě

3. METODIKA

3.1 Studovaná zvířata

Ryposh Darlingův (*Fukomys darlingi*) (dříve *Cryptomys darlingi* – Kock et al. 2006) se vyskytuje ve vlhkých lesnatých oblastech Afriky, kde obývá podzemní systémy chodeb (cca 25cm hluboko s centrální částí v cca 40cm) (Bennett et al. 1993). Tento sociální druh vytváří kolonie o pěti až devíti jedincích s nesezónní reprodukcí omezenou na dominantní pár (Bennett & Jarvis 1994).

V experimentu bylo použito dvanáct jedinců ze tří kolonií po dvou, třech a sedmi jedincích. Hlavní ♂ s hlavní ♀ sedmičlenné kolonie byl odchycen v Nsanje 16°55'J, 35°16'V, 53m n. m., jižní Malawi v srpnu roku 2005 a ostatní se narodili v chovech na Přírodovědecké fakultě v Českých Budějovicích. V našich podmínkách jsou rypoši chováni v teráriích (80 × 60 × 50 cm) na rašelinném substrátu. V chovné místnosti je udržována teplota $24 \pm 1^\circ\text{C}$ a vlhkost vzduchu $45 \pm 5\%$. Zvířata jsou třikrát týdně krmena mrkvemi a bramborami, strava je doplňována o suchou směs pro hlodavce, jablko a salát. Voda se zvířatům nepodává, protože ji získávají z potravy (Bennett & Faulkes 2000).

3.2 Stanovení DEE

Metodou nepřímé kalorimetrie jsem stanovila DEE 12 jedinců. Před každým měřením byla zvířata zvážena. Monitorování spotřeby kyslíku probíhalo ve vzduchotěsné komoře (3.9 l), ve které byla zvířatům poskytnuta rašelina, papírové ubrousky, mrkev a suchá směs pro hlodavce *ad libitum*, a kousek trubky, která byla jinak ponechána v jejich teráriu a sloužila tedy jako známý objekt a úkryt. Doba pokusu trvala 25 hodin, přičemž 1 hodina sloužila pro habituaci a nebyla tedy použita pro stanovování DEE. Měření byla prováděna ve dvou teplotách 20°C a 30°C (30°C je v rámci TNZ = 27 - 34°C – Zemanová 2010). Před zahájením pokusů bylo určeno náhodné pořadí jedinců, které však muselo být několikrát upraveno, pokud byla např. samice těhotná, nebo pokud měla kolonie mláďata.

Průtokový systém pro analýzu plynů byl sestaven následovně: Vzduch z klimatizace byl pumpován do respirační komory. Tento vzduch byl ještě před vstupem do komory zbaven CO₂ (Soda lime s indikátorem, Sigma-Aldrich) a vysušen (Drierite s indikátorem, Hammond Drierite Company Ltd.). Stálý průtok (343 ml/min) byl měřen průtokoměrem (S082-03g, Aalborg, USA). Část vzduchu vycházející z komory byla

znovu zbavena CO₂ a vody a za pomoci kyslíkového analyzátoru (Parox 1000, MBE Electronic AG, Switzerland) byl stanoven obsah kyslíku. Tento analyzátor určuje množství kyslíku na základě paramagnetických vlastností O₂ principem činky („dumb-bell“). (Koule na koncích činky jsou naplněny dusíkem. Magnetické pole, které je uvnitř analyzátoru, přitahuje kyslík a magnetické pole se tak posiluje. Dusík má opačnou magnetickou polarizaci a proto je odpuzován. Tento jev způsobuje vychýlení činky, které je úměrné koncentraci kyslíku ve vzorku vzduchu.)

Data z analyzátoru byla posílána do počítače, kde docházelo k vizualizaci dat pomocí programu DIAdem 8, současně byla data každou minutu ukládána pomocí datalogeru. Kalibrace byly prováděny vždy na začátku a na konci experimentu a dále ještě třikrát v průběhu pokusu. Kalibrace nebyly prováděny v temné fázi kvůli rušení zvířat. Tlak potřebný pro korekci byl zaznamenán na začátku pokusu a pak při následujících třech kalibracích. Denní energetický výdej byl z průběhu spotřeby kyslíku během dne spočítán dle následující rovnice:

$$\text{Spotřeba } O_2 [\text{mlO}_2 \cdot \text{min}^{-1}] = \frac{(20.95 - pO_2) * \text{průtok}}{(100 - pO_2)}$$

- pO₂ je koncentrace kyslíku ve vysušeném vzduchu zbaveném CO₂ vycházejícím z metabolické komory [%].
- průtok je průtok vzduchu do metabolické komory přepočtený na standardní podmínky [ml O₂ min⁻¹].

3.3 Porovnání krátkodobé a dlouhodobé nepřímé kalorimetrie

Pro porovnání výsledků získaných krátkodobou nepřímou kalorimetrií (Zemanová 2010) bylo nutné z denního záznamu spotřeby kyslíku rypošů vybrat nejnižší desetiminutový úsek. Tento úsek představoval klidový metabolismus jedince (RMR) a byl tak porovnatelný s výsledky Zemanové, která měřila pouze RMR krátkodobou kalorimetrií (délka jejich pokusů byla 90-300 min a z tohoto záznamu byl použit pro vyhodnocení nejnižší desetiminutový úsek).

3.4 Vliv velikosti skupiny na efekt sociální termoregulace

Pro určení vlivu velikosti skupiny na efektivitu sociální termoregulace bylo použito 12 jedinců, u kterých byl stanoven DEE (viz výše). Vytvořila jsem z nich pět skupin po dvou, po třech, po třech, po čtyřech a po sedmi, přičemž vytvořené skupiny se skládaly vždy z jedinců jedné kolonie. Postup měření DEE ve skupinách probíhal stejně jako v předchozím případě u izolovaných jedinců, měření byla opět provedena

ve třech opakováních a ve dvou teplotách (pouze skupina po sedmi jedincích byla ve 20°C změřena dvakrát, protože kolonie měla mláďata). Pokud byla hodnocena skupina o třech a více jedincích byla použita větší komora (11.8 l) a větší průtok (pro pár stejně jako pro izolovaného jedince 343 ml/min, pro skupinu po třech a čtyřech 634 ml/min a pro skupinu po sedmi 904 ml/min). Naměřené hodnoty DEE byly porovnány s DEE izolovaných jedinců a to těch, kteří byli použiti v dané skupině. Pro vyjádření energetických úspor ve skupině byl použit tento vzorec:

$$\text{Energetické úspory [\%]} = 100 - \{(DEE_s / DEE_i) \times 100\}$$

- DEE_s je DEE skupiny v mlO₂ g⁻¹h⁻¹

- DEE_i je DEE izolovaného jedince v mlO₂ g⁻¹h⁻¹

3.5 Zpracování výsledků

Pokud není uvedeno jinak, jsou všechny výsledky vyjádřeny jako průměr ± S.D. Ke statistickému vyhodnocení výsledků byl použit program Statistica verze 7. Grafy byly zpracovány v programu Microsoft Office Excel 2003, v případě Obr. 1 v programu SigmaPlot 9.0.

4. VÝSLEDKY

4.1 Denní energetický výdej

Denní energetický výdej rypoše *F. darlingi* byl změřen na 12 jedincích o hmotnosti 140.8 ± 24.8 g. Při $T_a = 30^\circ\text{C}$ byl DEE 1.84 ± 0.25 mlO₂ g⁻¹h⁻¹. Při $T_a = 20^\circ\text{C}$ byl DEE 2.99 ± 0.34 mlO₂ g⁻¹h⁻¹ (Tab. 2). Samci měli DEE nižší než samice (o 10.32% v $T_a = 30^\circ\text{C}$ a o 8.43% v $T_a = 20^\circ\text{C}$) tento rozdíl však nebyl signifikantní (v $T_a = 30^\circ\text{C}$: $p = 0.2$; $t = 1.73$; $df = 10$ a v $T_a = 20^\circ\text{C}$: $p = 0.17$; $t = 1.5$; $df = 10$). Jedinci větší než je průměrná hmotnost použitých jedinců (>140 g) měli DEE také o něco nižší než jedinci menší (< 140 g). V $T_a = 30^\circ\text{C}$ byl tento rozdíl 16.6% v $T_a = 20^\circ\text{C}$ činil rozdíl mezi těžšími a lehčími jedinci jen 8.01%. Tyto rozdíly však nebyly ani v jednom případě signifikantní. Pro statistické vyhodnocení byla použita lineární regrese (v $T_a = 30^\circ\text{C}$: $p = 0.08$; $F_{(1;10)} = 3.85$ a v $T_a = 20^\circ\text{C}$: $p = 0.38$; $F_{(1;10)} = 0.83$) (Obr.4 v příloze).

4.2 Variabilita měření

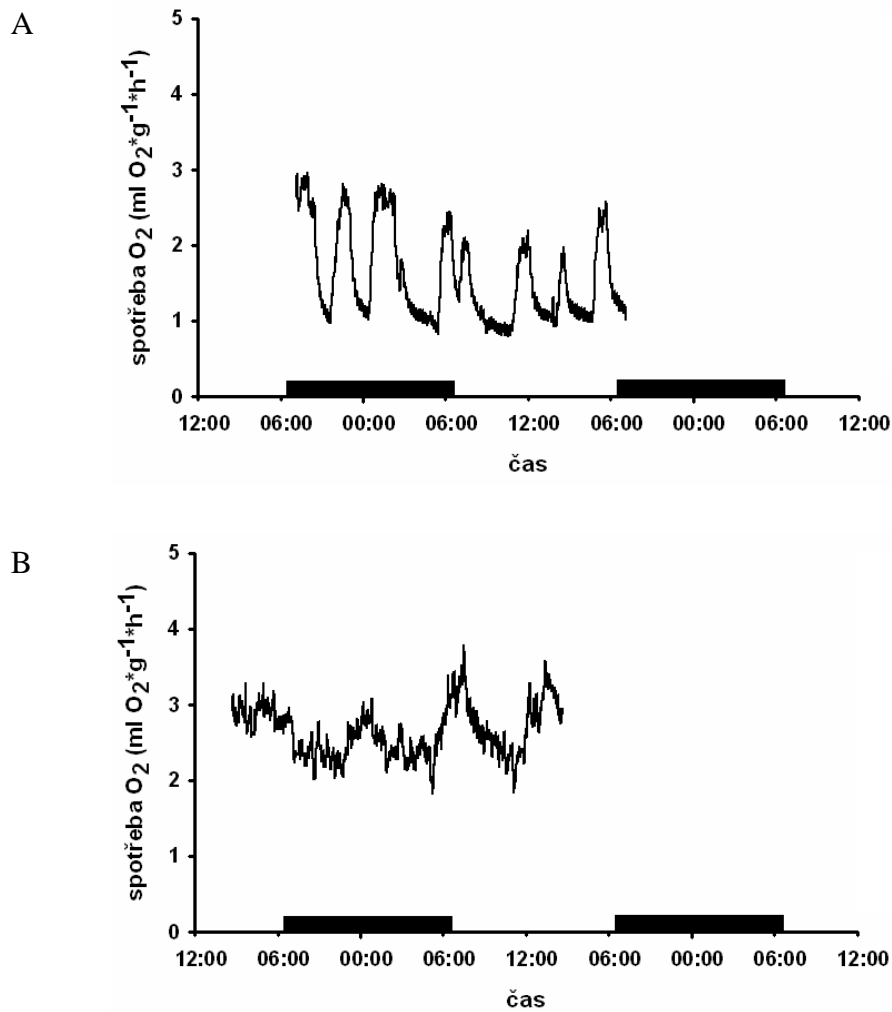
Směrodatná odchylka opakovaného měření izolovaného jedince byla 0.06 – 0.41 (průměrně 0.17 v $T_a = 30^\circ\text{C}$ a 0.22 v $T_a = 20^\circ\text{C}$). Nejvyšší variabilita (S.D. až 0.41) byla zjištěná u menších samic (100.2 g; 122.7 g a 131 g) (Tab. 2, Tab. 5 v příloze), navíc pokud byl jedinec měřen s většími časovými odstupy, tak variabilita těchto měření často stoupala. Pro vyhodnocení závislosti variability DEE na časovém odstupu mezi měřeními byla použita lineární regrese. Tato závislost však nebyla signifikantní (v $T_a = 30^\circ\text{C}$: $p = 0.88$; $F_{(1;49)} = 0.02$ a v $T_a = 20^\circ\text{C}$: $p = 0.99$; $F_{(1;47)} = 0.0$). Pro vyhodnocení regrese byla použita všechna měření jak izolovaných jedinců, tak všech skupin.

Tabulka 2. Denní energetický výdej (DEE) 12 izolovaných jedinců jako spotřeba kyslíku v ml O₂ g⁻¹h⁻¹ ve 20 a 30°C a v kJ den⁻¹ ve 20 a ve 30°C. Výsledky jsou uvedeny jako průměr ze tří opakovaných měření ± S.D., ID je identifikační číslo čipu jedinců.

ID	pohlaví	hmotnost [g]	DEE [mlO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹]	DEE [mlO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹]	DEE [kJ den ⁻¹]	DEE [kJ den ⁻¹]
			30°C	20°C	30°C	20°C
1673	hl♀	137.50	2.01 ± 0.19	2.84 ± 0.13	133.32 ± 12.6	188.38 ± 8.62
3565	hl♀	131.00	1.48 ± 0.06	2.77 ± 0.38	93.53 ± 3.79	175.05 ± 24.01
0000	hl♀	139.40	2.07 ± 0.23	3.65 ± 0.31	139.2 ± 15.47	245.45 ± 20.85
9516	hl♂	152.30	1.55 ± 0.09	2.47 ± 0.09	113.88 ± 6.61	181.47 ± 6.61
2884	hl♂	153.70	1.59 ± 0.11	2.73 ± 0.15	117.89 ± 8.16	202.42 ± 11.12
9953	hl♂	145.20	1.75 ± 1.13	2.99 ± 0.21	122.58 ± 79.15	209.43 ± 14.71
2332	♀	100.20	1.94 ± 0.35	2.85 ± 0.22	93.77 ± 16.92	137.76 ± 10.63
4036	♀	107.70	1.95 ± 0.09	3.61 ± 0.13	101.31 ± 4.68	187.56 ± 6.75
0815	♀	122.70	2.17 ± 0.41	3.04 ± 0.33	128.44 ± 24.27	179.94 ± 19.53
0190	♂	170.90	1.87 ± 0.10	3.29 ± 0.30	154.17 ± 8.24	271.23 ± 24.73
4396	♂	194.50	1.47 ± 0.16	2.73 ± 0.03	137.93 ± 15.01	256.15 ± 2.81
8653	♂	134.20	2.19 ± 0.16	2.97 ± 0.31	141.78 ± 10.36	192.27 ± 20.07
průměrná hodnota DEE			1.84 ± 0.25	2.99 ± 0.34	124.98 ± 16.98	203.09 ± 23.09

4.3 Fluktuace spotřeby kyslíku během 24 hodin

Z grafických záznamů spotřeby kyslíku rypošů *F. darlingi* během dne vyplývá, že v T_a = 30°C často střídají fáze aktivity a odpočinku (průměrně se vyskytovalo 7.3 fází aktivity za den) a spotřeba kyslíku při aktivní fázi je cca 2 až 3krát vyšší než ve fázi odpočinku. V T_a = 20°C se tato periodicitu často ztrácí a dochází k menším fluktuacím spotřeby kyslíku (Obr.1). Výrazné změny ve fluktuaci spotřeby kyslíku mezi dnem a nocí nebyly zaznamenány.



Obrázek 1. Klasický záznam spotřeby kyslíku [$\text{ml O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$] izolovaného jedince *F. darlingi* v průběhu 24 hodin A) v $T_a = 30^\circ\text{C}$; B) v $T_a = 20^\circ\text{C}$. Černé obdélníky označují temnou fázi denního cyklu.

4.4 Porovnání krátkodobé a dlouhodobé nepřímé kalorimetrie

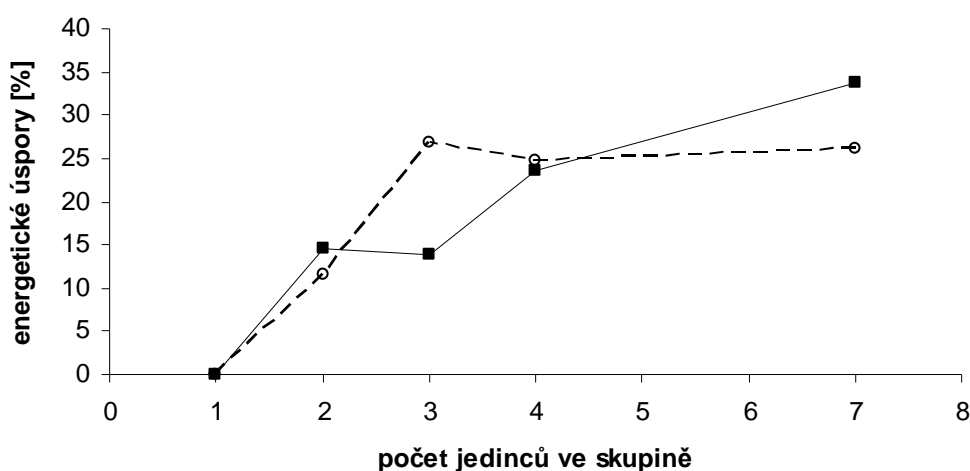
Klidový metabolismus určený z 24 hodinové nepřímé kalorimetrie na základě nejnižšího deseti minutového úseku je v $T_a = 30^\circ\text{C}$ roven $1.04 \pm 0.22 \text{ mlO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ a v $T_a = 20^\circ\text{C}$ roven $2.03 \pm 0.32 \text{ mlO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Tab. 2).

Tabulka 2. Hodnoty klidového metabolismu (VO_2 [$\text{ml O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$]) izolovaných jedinců v $T_a = 30$ a 20°C . Data získaná krátkodobou (Zemanová 2010) a dlouhodobou nepřímou kalorimetrií (IC) a jejich podíl [%] určený dle vzorce $100 - \{(\text{RMR z krátkodobé IC} / \text{RMR z dlouhodobé IC}) \times 100\}$.

	RMR ve 30°C [$\text{mlO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$]	RMR ve 20°C [$\text{mlO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$]
krátkodobá IC	0.76	1.67
dlouhodobá IC	1.04	2.03
podíl [%]	26.9	17.7

4.5 Vliv velikosti skupiny na efekt sociální termoregulace

Denní energetické výdeje skupiny byly ve všech měřeních nižší než DEE izolovaných jedinců. Při $T_a = 30^\circ\text{C}$ byly energetické úspory ve skupině po dvou 11.52% v porovnání s danými izolovanými jedinci, nejvyšší energetické úspory byly zjištěny ve skupinách po třech, čtyřech a sedmi (26.92%, 24.79% a 26.05%). Ve 20°C ušetřila skupina po dvou oproti izolovaným jedincům 14.56% energie, skupina po třech ušetřila 13.95%, skupina po čtyřech 23.64% a největší energetické úspory byly zaznamenány ve skupině po sedmi jedincích (33.77%) (viz Obr. 2, Tab.6 v příloze).



Obrázek 2. Průměrné energetické úspory skupiny v % oproti izolovaným jedincům v závislosti na početnosti skupiny a teplotě. \circ v $T_a = 30^\circ\text{C}$; \blacksquare v $T_a = 20^\circ\text{C}$.

5. DISKUZE

5.1 Denní energetický výdej izolovaných jedinců *F. darlingi*

Dlouhodobá nepřímá kalorimetrie je vhodná metoda pro určování DEE z několika důvodů. Je to relativně levná a spolehlivá metoda, která navíc kromě stanovení DEE může poskytnout i další informace o energetice živočichů. Například z celodenního záznamu spotřeby kyslíku lze určit energetickou náročnost aktivní a klidové fáze, frekvenci s jakou se tyto fáze střídají a podobně. Výsledky této studie naznačují, že izolovaní jedinci rypoše *F. darlingi* ve 30°C často střídají fáze aktivity a odpočinku, které se ve 20°C často ztrácí a dochází k méně výrazným fluktuacím spotřeby kyslíku, což naznačuje, že izolovaní jedinci ve 20°C nedokáží zřetelně zvýšit své energetické výdeje při aktivitě tak jako ve 30°C (Obr.1), protože mají zvýšenou potřebu termoregulace. Fluktuace spotřeby kyslíku nevykazují zřetelný trend, který by určil zda rypoši aktivují více ve dne nebo v noci. Vasicek et al. (2005) dokázal pomocí infračervených senzorů, že mají rypoši *F. darlingi* jednofázickou aktivitu, ale nemají jednoznačnou preferenci k denní či noční aktivitě. Výsledky předložené studie nesouhlasí s výsledky Vasicka a jím pozorovaný trend nebyl pozorován. Ačkoliv tato studie nebyla navržena pro určení cirkadiálních rytmů, z fluktuací spotřeby kyslíku během dne vyplývá, že rypoši *F. darlingi* často střídají fázi klidu s aktivitou a to nepravidelně, nezávisle na temné či světelné fázi cyklu.

Denní energetické výdeje rypoše *F. darlingi* v TNZ (30°C) jsou v porovnání s ostatními malými hlodavci nízké. Predikovaná hodnota DEE pro hlodavce je $DEE = 5.48 W^{0.712} \text{ kJ/den}$ (Nagy 1999) a výsledný DEE pro *F. darlingi* představuje 67.3% této predikované hodnoty. Snížený DEE oproti predikované hodnotě je však u ostatních subterráních hlodavců častý. Denní energetické výdeje čtyř druhů podzemních hlodavců uvedených v práci Zelové (2011) představovaly průměrně 73% predikované hodnoty DEE pro hlodavce a proto je pravděpodobné, že nízké DEE stejně jako nízká RMR je adaptace pro život v prostředí chudém na zdroje. Nárůst DEE ve 20°C o cca 63% představuje logické navýšení energetických nároků spojených se zvýšenou potřebou tepla pro udržení stálé T_b .

Variabilita opakovaných měření stejného izolovaného jedince byla v některých případech poměrně vysoká. Z tohoto důvodu je vhodné pro větší spolehlivost výsledků tato opakování provádět, zejména jedná-li se o měření menších jedinců, neboť u nich

byla variabilita opakovaných měření nejvýraznější (přestože závislost mezi hmotností jedince a spotřebou kyslíku nebyla signifikantní). Tato variabilita je pravděpodobně způsobena tím, že menší (mladší) jedinci nemusí mít zcela dovyvinutou schopnost termoregulace (Zemanová 2010). Podobně pokud opakované měření probíhá po delším časovém úseku, může být variabilita mezi opakovanými měřeními poměrně vysoká. To může být způsobeno tím, že zvířata mohou povyrůst, nebo mohou být v jiném fyziologickém stavu (nemoc, březost...) a nebo se zde teoreticky může projevit efekt sezóny. Například u rypoše *Heliophobius argenteocinereus* bylo zjištěno, že jeho DEE v přírodě kolísá mezi obdobími sucha a dešťů a to až o 38% (Zelová 2011). To však souvisí s rozdílnými podmínkami mezi obdobími, které se objevují ve volné přírodě. Na druhou stranu dokonce i v laboratorních podmínkách se objevuje tato sezonalita. Například u jedinců makiho (*Microcebus murinus*), u kterých bylo zamezeno páření, byl zjištěn rozdíl mezi RMR v období rozmnožování a mimo tohoto období (Perret 1998). Přestože závislost variability DEE na časové prodlevě mezi opakovanými měřeními nebyla signifikantní, je vhodné provádět měření v co nejmenších časových rozestupech.

5.2 Klidový metabolismus a porovnání krátkodobé a dlouhodobé IC

Klidový metabolismus (RMR) rypoše Darlingova je v porovnání s ostatními členy čeledě Bathyergidae o něco vyšší (ve srovnání s 13 druhy uvedenými Zelovou et al. 2007). Predikovaná hodnota RMR pro subterrání hlodavce je $RMR = 3.79 W^{-0.322} \text{ kJ/den}$ (Lovegrove 1986) a výsledná RMR pro *F. darlingi* představuje 135% této predikované hodnoty. Pozorovaný nárůst není nijak překvapivý, protože RMR stanovený pomocí dlouhodobé nepřímé kalorimetrie byl měřen na jedincích, kteří nebyli v post-absorpčním stavu. Při porovnání RMR této studie získaných dlouhodobou nepřímou kalorimetrií s výsledky Zemanové (2010) získané krátkodobou IC vyšlo najevo, že výsledky předložené studie byly (v obou případech – ve 30°C i 20°C) vyšší. Srovnání hodnot RMR je uvedeno v tabulce (Tab. 2). Tento rozdíl je pravděpodobně způsoben tím, že Zemanová měřila jedince v post-absorpčním stavu (12 hodin před pokusem byla zvířata bez potravy), kdežto v pokusech této studie byla zvířatům poskytnuta potrava *ad libitum* v průběhu celého měření i před ním. Jak je již uvedeno výše, živočichové při trávení potravy zřetelně zvyšují svoji spotřebu kyslíku (např. o 20% u křečka Darwinova). Z toho vyplývá, že výsledky této studie jsou s výsledky Zemanové (2010) srovnatelné.

5.3 Sociální termoregulace

Přestože se jedná o předběžné výsledky, byl efekt sociální termoregulace u rypoše *F. darlingi* zřetelný ve 20 i 30°C ve všech skupinách. Sociální termoregulace je tedy u rypošů *F. darlingi* důležitým mechanismem, který snižuje energetické nároky, což je v podzemním prostředí chudém na zdroje, zvláště výhodné. Energetické úspory byly zaznamenány již ve skupinách o dvou jedincích. To je v rozporu s některými studii např. Trojan & Wojciechowska (1968), kteří pro skupiny dvou i třech jedinců hraboše polního nenašli žádné energetické úspory v porovnání s izolovanými jedinci. Nicméně ve většině studií byl efekt sociální termoregulace zřetelný již ve skupině o dvou jedincích (Górecki 1969; Glaser & Lustick 1975; Perret 1998). Počet jedinců ve skupině rypošů má vliv na efekt sociální termoregulace. Se stoupajícím počtem jedinců stoupají i energetické úspory. Množství ušetřené energie však nestoupá se zvyšujícím se počtem jedinců rovnoměrně a závisí také na okolní teplotě. Canals et al. (1989) ve své studii uvádí, že nad pět jedinců v sociálně termoregulující skupině již nestoupají energetické úspory jedinců. Výsledky této studie však naznačují, že energetická výhodnost sociální termoregulace ve 20°C stoupá minimálně do sedmi jedinců. K neshodám výsledků Canalse a výsledků předložené studie mohlo dojít z několika důvodů. Canals potvrdil svůj matematický model pouze na dvou druzích, které byly podstatně menší (27.3 a 53.2 g), než rypoši v této studii. Dále RMR těchto zvířat je vyšší než RMR rypošů, což je parametr, ze kterého jeho model vychází a v neposlední řadě mají rypoši jiný tvar těla než Canalsem sledované druhy (vačice chilská a křeček Darwinův). Energetická výhodnost sociální termoregulace u skupin větších než pět jedinců byla sledována i v jiných studiích (např. Trojan & Wojciechowska 1968; Putaala et al. 1995 viz výše). Z těchto důvodů nelze Canalsův model považovat za obecně platný a pro použití na rypoších by bylo nutné jej modifikovat. Ve 30°C je u rypošů *F. darlingi* z energetického hlediska nejvýhodnější trojčlenná skupina (Obr.2). Pokud jsou tedy rypoši v TNZ stačí méně jedinců ve skupině pro to, aby jejich energetické výdeje byly minimální. V nižších teplotách je třeba většího počtu jedinců. Otázkou zůstává, zda budou energetické úspory rypošů v nízkých teplotách stoupat dále nad sedm jedinců.

Studie, která se zabývá porovnáním efektu sociální termoregulace u rypošů *F. damarensis* a *C. natalensis* (viz výše) uvádí, že energetické úspory, kterých je dosaženo v sociálně termoregulujících skupinách těchto druhů jsou srovnatelné

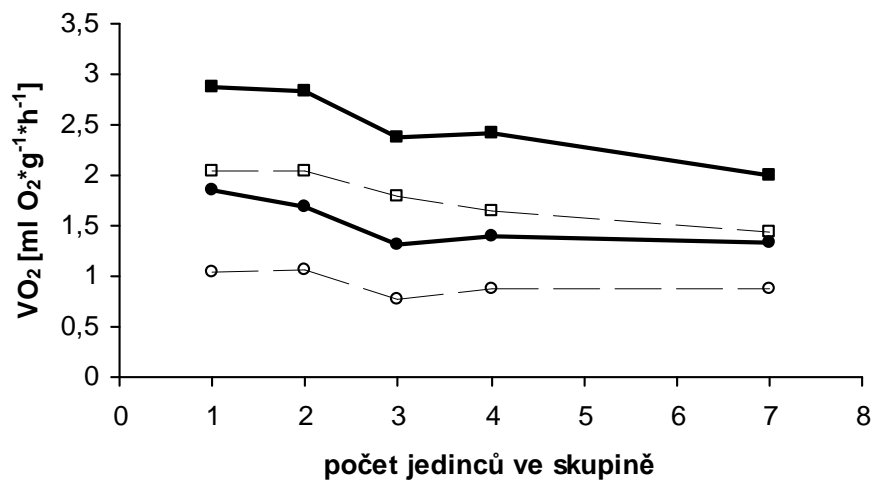
s ostatními malými savci. Z grafických výsledků však vyplývá, že například ve 14°C ušetří ve skupině po sedmi jedincích cca 70% energetických výdajů v případě *C. natalensis* a až 90% v případě *F. damarensis* (Kotze et al. 2008). Nicméně energetické úspory se u malých savců ve skupině po šesti až osmi jedincích pohybují okolo 27% (Trojan & Wojciechowska 1968; Scantlebury et al. 2006). Dokonce i ve 30°C (=TNZ) ušetřil *F. damarensis* cca 90% energetických výdajů (Kotze et al. 2008). Energetické úspory rypošů lysých jsou 22% ve skupině po osmi jedincích v TNZ (Yahav & Buffenstein 1991). Výsledky předložené studie jsou podobné (26% ve skupině o sedmi jedincích v TNZ). Z toho vyplývá, že je sociální termoregulace u *F. damarensis* a *C. natalensis* buď neuvěřitelně efektivní, nebo se autoři pravděpodobněji dopustili výpočetní chyby.

Vliv okolní teploty na efekt sociální termoregulace je z výsledků této studie zřetelný. V nižší teplotě energetické výdaje skupin stoupají. Ve většině studií zabývajících se vlivem sociální termoregulace v různých teplotách bylo pozorováno, že v nižších teplotách byly energetické úspory jedinců vyšší, než ve stejně velké skupině ve vyšších teplotách (např. Gebczyński 1969; Contreras 1984). Tento trend byl u rypošů *F. darlingi* pozorován pouze ve skupinách po dvou a sedmi jedincích, ve skupině po čtyřech jedincích nebyly energetické úspory od těch ve 30°C odlišné a ve skupině po třech jedincích byly dokonce vyšší ve 30°C než ve 20°C. Pro stanovení konkrétního vlivu okolní teploty u rypošů Darlingových by bylo nutné změřit energetické výdeje více skupin a měření provádět ve větším rozsahu okolních teplot. Zvolená teplota 20°C v této studii byla vybrána proto, aby nedocházelo k velkému stresování zvířat, protože jsme se obávali, že vystavení rypošů nižším teplotám po celý den by mohlo vést k jejich úmrtí. Z energetických výdajů a z jejich chování však usuzuji, že by snížení T_a při pokusech nepředstavovalo takový problém.

Jak je již uvedeno výše, v TNZ by neměl být efekt sociální termoregulace výrazný. Předpokládali jsme, že ve 30°C se vliv sociální termoregulace u *F. darlingi* nijak neprojeví. Energetické úspory ve 30°C však byly zřetelné. Ve skupině po třech jedincích představovaly energetické úspory 27%, což je dokonce o 13% více než ve 20°C. S dalším zvětšováním skupiny (nad tři jedince) již energetické úspory nestoupaly. Jedno z možných vysvětlení je psycho-fyziologický faktor. Martin et al. (1980) poukázal na to, že sociální termoregulace je energeticky výhodná nejen díky těsnému kontaktu jedinců a snižování plochy těla vystavené chladu, ale také díky psycho-fyziologickým faktorům. Sociální zvířata jsou jednoduše více uklidněná pokud

jsou ve společnosti členů své society. Tuto hypotézu Martin et al. (1980) potvrdil (ač sám přiznává, že se jedná o předběžné výsledky) nepřímou kalorimetrií za použití uzavřeného systému u dvou druhů hlodavců, u myši domácí (*Mus musculus*) a pískomila mongolského (*Meriones unguiculatus*). Trojice, které byl zamezen přímý kontakt mezi sebou (pouze mřížkou), měla nižší spotřebu kyslíku než úplně izolovaní jedinci. Contreras (1984) zopakoval tento experiment se stejnými druhy, ale spotřebu kyslíku měřil v průtokovém systému a narozdíl od Martin et al. byla doba jednoho měření delší. Jeho výsledky nepotvrdily psycho-fyziologickou hypotézu, protože oddělené trojice neměly odlišnou spotřebu kyslíku od kompletně izolovaných jedinců. Ačkoliv se výsledky Contreras (1984) zdají přesvědčivé, předložená studie naznačuje, že samotná přítomnost ostatních členů kolonie opravdu má vliv na energetické výdaje, které nejsou spojeny s termoregulací. Rypoši *F. darlingi* v této studii ušetřili v $T_a = 30^\circ\text{C}$ (=TNZ) až 27%. Pokud v TNZ nemá mít sociální termoregulace vliv, pak je pravděpodobnou příčinou snížení energetických výdajů psycho-fyziologický faktor. Navíc zvířata se opravdu zdála více klidnější ve společnosti jedinců své kolonie. Proto by bylo vhodné, aby se v následujících studiích psycho-fyziologický faktor znovu zvážil. Pro tento účel je možné místo dlouhodobé nepřímé kalorimetrie použít nepřímou kalorimetrii krátkodobou. Jak již bylo zmíněno výsledky krátkodobé a dlouhodobé kalorimetrie jsou srovnatelné a sledovaný trend ve změnách DEE jedinců v závislosti na velikosti skupiny je podobný průběhu změn RMR (Obr.3). Proto je možné pro vyhodnocení efektu sociální termoregulace nahradit dlouhodobou nepřímou kalorimetrii kalorimetrií krátkodobou, která není tak technicky a především časově náročná. Ovšem za předpokladu, že bude monitorována aktivita jedinců.

Velikost skupiny i teplota okolního prostředí má u rypoše Darlingova výrazný vliv na efekt sociální termoregulace („huddling“). Vzhledem k tomu, že vliv těchto faktorů není aditivní, nelze jednotlivě kvantifikovat vliv velikosti skupiny a vliv okolní teploty na energetické úspory.



Obrázek 3. Denní energetické výdeje a klidový metabolismus (VO_2 [ml O_2 g⁻¹ h⁻¹]) v závislosti na počtu jedinců ve skupině, ve 20°C a 30°C. ○ RMR v $T_a = 30^\circ C$; □ RMR v $T_a = 20^\circ C$; ● DEE v $T_a = 30^\circ C$; ■ DEE v $T_a = 20^\circ C$

6. ZÁVĚR

1. Metodická část

Metodou dlouhodobé nepřímé kalorimetrie se podařilo stanovit DEE rypoše *F. darlingi*. Současně se ukázalo, že jedinci střídají fázi klidu a aktivity nepravidelně a často. Tyto fluktuace nejsou závislé na temné či světelné fázi cyklu. Vysoká variabilita opakovaných měření DEE stejného izolovaného jedince byla často pozorována u menších jedinců a v případech, kdy opakované měření probíhalo po delším časovém úseku. Na základě analýz výsledků doporučuji měřit DEE opakovaně v co nejkratším časovém odstupu. Hodnoty DEE jsou u rypošů nižší než predikovaná hodnota pro hlodavce. Tento trend je u subterráních hlodavců častý a souvisí s adaptací pro život v prostředí chudém na zdroje.

2. Praktická část

Efekt velikosti skupiny na úspory DEE je u rypoše *F. darlingi* zřetelný ve všech skupinách. Se stoupajícím počtem jedinců stoupají i energetické úspory, avšak ne rovnoměrně. V nižší teplotě stoupají energetické úspory minimálně do sedmi jedinců ve skupině a v teplotě TNZ je z energetického hlediska nejvýhodnější trojčlenná skupina. Vliv velikosti skupiny a okolní teploty není aditivní a proto nelze konkrétně stanovit vliv jednotlivých faktorů zvlášť. V TNZ byly pozorovány energetické úspory až 27%, což naznačuje, že energetika rypošů Darlingových je ovlivňována psychofyzilogickým faktorem. Sociální termoregulace je důležitým mechanismem, který snižuje energetické nároky, proto je podzemními hlodavci široce využívána.

Pro stanovení efektu sociální termoregulace je možné nahradit dlouhodobou nepřímou kalorimetrii kalorimetrií krátkodobou, pokud bude zaručeno dosažení klidu všech jedinců.

7. LITERATURA

- Alberts JR (1978) Huddling by rat pups: group behavioral mechanisms of temperature regulation and energy conservation. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 92: 231–245
- Ancel A, Visser H, Handrich Y, Masman D, Le Maho Y (1997) Energy saving in huddling penguins. *Nature* 385: 304–305
- Andrews RV, Phillips D, Makihara D (1987) Metabolic and thermoregulatory consequences of social behaviors between *Microtus townsendii*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 87A: 345–348
- Aubret F, Shine R (2009) Causes and consequences of aggregation by neonatal tiger snakes (*Notechis scutatus*, Elapidae). *Austral Ecology* 34: 210–217
- Bakken GS (1976) A heat-transfer analysis of animals: unifying concepts and the application of metabolism chamber data to field ecology. *Journal of Theoretical Biology* 60: 337–384
- Batchelder P, Kinney RO, Demlow L, Lynch CB (1983) Effects of temperature and social interactions on huddling behavior in *Mus musculus*. *Physiology & Behavior* 31: 97–102
- Baudinette RV (1972) The impact of social aggregation on the respiratory physiology of Australian hopping mice. *Comparative Biochemistry and Physiology* 41A: 35–38
- Bazin RC, MacArthur RA (1992) Thermal benefits of huddling in the Muskrat (*Ondatra zibethicus*). *Journal of Mammalogy* 73: 559–564
- Bennett NC, Faulkes CG (2000) African mole-rats: ecology and eusociality. Cambridge University Press. Cambridge, UK.
- Bennett NC, Jarvis JUM, Cotterill FPD (1993) Poikilothermic traits and thermoregulation in the Afrotropical social subterranean Mashona mole-rat (*Cryptomys hottentotus darlingi*) (Rodentia: Bathyergidae). *Journal of Zoology, London* 231: 179–186
- Bennett NC, Jarvis JUM (1994) The colony structure and reproductive biology of the afrotropical Mashona mole-rat, *Cryptomys darlingi*. *Journal of Zoology, London* 234: 477–487
- Canals M (1998) Thermal ecology of small animals. *Biological Research* 31: 367–374

- Canals M, Rosenmann M, Bozinovic F (1989) Energetics and geometry of huddling in small mammals. *Journal of Theoretical Biology* 141: 181–189
- Contreras LC (1984) Bioenergetics of huddling: Test of a psycho-physiological hypothesis. *Journal of Mammalogy* 65: 256-26
- Corp N, Gorman ML, Speakman JR (1999) Daily energy expenditure of free-living male Wood Mice in different habitats and seasons. *Functional Ecology* 13: 585–593
- Fedyk A (1971) Social thermoregulation in *Apodemus flavicollis*. *Acta Theriologica* 16: 221-9
- Gebczyński M (1969) Social Regulation of body temperature in the bank vole. *Acta Theriologica* 29: 427-440
- Gebczyńska Z (1970) Bioenergetics of a root vole population. *Acta Theriologica* 15: 33–66
- Górecki A (1968) Metabolic rate and energy budget in the bank vole. *Acta Theriologica* 20: 341-365
- Górecki A (1969) Metabolic rate and energy budget of the striped field mouse. *Acta Theriologica* 14: 181-190
- Gilbert C, McCafferty D, Le Maho Y, Martrette JM, Giroud S, Blanc S, Ancel A (2009) One for all and all for one: the energetic benefits of huddling in endotherms. *Biological Reviews* 2009: 1-26
- Glaser H, Lustick SI (1975) Energetics and nesting behavior of the northern white-footed mouse (*Peromyscus leucopus noveboracensis*). *Physiological Zoology* 48: 105–113
- Howard WE (1949) Dispersal, amount of inbreeding, and longevity in a local population of deermice on the George reserve, Southern Michigan. *Contributions from the Laboratory of Vertebrate Biology, University of Michigan* 43: 1–50
- Howell DJ (1976) Weight loss and temperature regulation in clustered versus individual *Glossophaga soricina*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 53A: 197-199
- Jensen K, Mayntz D, Wang T, Simpson SJ, Overgaard J (2010) Metabolic consequences of feeding and fasting on nutritionally different diets in the wolf spider *Pardosa prativaga*. *Journal of Insect Physiology* 56: 1095-1100

- Karasov WH (1983) Wintertime energy-conservation by huddling in Antelope ground-squirrels (*Ammospermophilus leucurus*). *Journal of Mammalogy* 64: 341–345
- Kauffmann AS, Paul MJ, Butler MP, Zucker I (2003) Huddling, locomotor, and nest-building behaviors of furred and furless Siberian hamsters. *Physiology & Behavior* 79: 247–256
- Kinney JM, Tucker HN (1992) Energy metabolism - Tissue determinants and cellular corollaries. Raven press. New York.
- Kock D, Ingram CM, Frabotta LJ, Honeycutt RL, Burda H (2006) On the nomenclature of Bathyergidae and *Fukomys* n. gen. (Mammalia: Rodentia). *Zootaxa* 1142: 51-55
- Kotze J, Bennett NC, Scantlebury M (2008) The energetics of huddling in two species of mole-rat (Rodentia: Bathyergidae). *Physiology & Behavior* 93: 215-221
- Koteja P (1991) On the relation between basal and field metabolic rates in birds and mammals. *Functional Ecology* 5: 56-64
- Krebs JR, Davies NB (1993) An introduction to behavioural ecology – 3rd ed. Blackwell publishing company. Oxford, UK.
- Lighton JRB (2008) Measuring metabolic rates. A manual for scientists. Oxford university press. Oxford, UK.
- Lovegrove BG (1986) The metabolism of social subterranean rodents: adaptation to aridity. *Oecologia* 69: 551-555
- Lovegrove BG (1987) Thermoregulation in the subterranean rodent *Georychus capensis* (Rodentia, Bathyergidae). *Physiological Zoology* 60: 174-180
- Lovegrove BG, Wissel C (1988) Sociality in mole rats – metabolic scaling and the role of risk sensitivity. *Oecologia* 74: 600–606
- Martin RA, Fiorentini M, Connors F (1980) Social facilitation of reduced oxygen consumption in *Mus musculus* and *Meriones unguiculatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 65A: 519–522
- McNab BK (1963) A model of the energy budget of a wild mouse. *Ecology* 44: 521-532
- McNab BK (1966) The metabolism of fossorial rodent: A study of convergence. *Ecology* 47: 712-733
- McNab BK (1979) The influence of body size on the energetics and distribution of fossorial and burrowing mammals. *Ecology* 60: 1010-1021

- Nagy KA (1980) CO₂ production in animals: analysis of potential errors in the doubly labelled water method. *American Journal of Physiology* 238: 466-473
- Nagy KA (1987) Field metabolic rate and food requirement scaling in mammals and birds. *Ecological Monographs* 57: 111-128
- Nagy KA (1989) Field bioenergetics: Accuracy of models and methods. *Physiological Zoology* 62: 237-252
- Nagy KA, Girard IA, Brown TK (1999) Energetics of free-ranging mammals, reptiles and birds. *Annual Review of Nutrition* 19: 247-277
- Nagy KA, Stallone JN (1976) Temperature maintenance and CO₂ concentration in a swarm cluster of honey bees, *Apis mellifera*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 55A: 169-172
- Nespolo RF, Bacigalupe LD, Bozinovic F (2003) The influence of heat increment of feeding on basal metabolic rate in *Phyllotis darwini* (Muridae). *Comparative Biochemistry and Physiology* 134A: 139-145
- Pearson OP (1960) The oxygen consumption and bioenergetics of harvest mice. *Physiological Zoology* 33: 152-160
- Perret M (1998) Energetic advantage of nest-sharing in a solitary primate, the lesser mouse lemur (*Microcebus murinus*). *Journal of Mammalogy* 79: 1093-1102
- Prychodko W (1958) Effect of aggregation of laboratory mice (*Mus musculus*) on food intake at different temperatures. *Ecology* 39: 500-503
- Putala A, Hohtola E, Hissa R (1995) The effect of group-size on metabolism in huddling grey partridge (*Perdix perdix*). *Comparative Biochemistry and Physiology* 111B: 243-247
- Roverud RC, Chappell MA (1991) Energetic and thermoregulatory aspects of clustering behaviour in the neotropical bat *Noctilio albiventris*. *Physiological Zoology* 64: 1527-1541
- Scantlebury M, Bennett NC, Speakman JR, Pillay N, Schradin C (2006) Huddling in groups leads to daily energy savings in free-living African Four-Striped Grass Mice, *Rhabdomys pumilio*. *Functional Ecology* 20: 166-173
- Seale JL, Rumpler WV, Conway JM, Miles CW (1990) Comparison of doubly labelled water, intake-balance, and direct- and indirect-calorimetry methods for measuring energy expenditure in adult men. *The American Journal of Clinical Nutrition* 52: 66-71

- Sedláček F (2007) New data on metabolic parameters in subterranean rodents. In: Begall S, Burda H, Schleich CE, eds (2007) Subterranean rodents: news from underground. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Germany. p. 35–47
- Speakman JR, Racey PA (1988) The doubly-labelled water technique for measurement of energy expenditure in free-living animals. *Sciences Progress*, Oxford 72: 227-237
- Speakman JR (1997a) Doubly labelled water: Theory and practice. Chapman and Hall. London.
- Speakman JR (1997b) Factors influencing the daily energy expenditure of small mammals. *Proceedings of the Nutrition Society* 56: 1119-1136
- Speakman JR (1998) The history and theory of the doubly labelled water technique. *The American Journal of Clinical Nutrition* 68: 932S-938S
- Tertilt R (1972) The effect of behavioural thermoregulation on the daily metabolism of *Apodemus agrarius* (Pallas, 1771). *Acta Theriologica* 17: 295-313
- Trojan P, Wojciechowska B (1968) The effect of huddling on the resting metabolism rate of the European common vole *Microtus arvalis* (Pall). *Bulletin de l'Académie Polonaise des Sciences. Série des Sciences Biologiques* 16: 107–109
- Vasicek CA, Oosthuizen MK, Cooper HM, Bennett NC (2005) Circadian rhythms of locomotor activity in the subterranean Mashona mole rat, *Cryptomys darlingi*. *Physiology & Behavior* 84: 181-191
- Vickery WL, Millar JS (1984) The energetics of huddling by endotherms. *Oikos* 43: 88–93
- Vogt FD, Lynch GR (1982) Influence of ambient temperature, nest availability, huddling, and daily torpor on energy expenditure in the white-footed mouse (*Peromyscus leucopus*). *Physiological Zoology* 55: 56–63
- Willmer P, Stone G, Johnson I (2005) Environmental physiology of animals. 2nd ed. Blackwell Publishing company. Oxford, UK.
- Withers PC, Jarvis JUM (1980) The effect of huddling on thermoregulation and oxygen consumption for the naked mole-rat. *Comparative Biochemistry and Physiology* 66A: 215-219
- Yahav S, Buffenstein R (1991) Huddling Behavior Facilitates Homeothermy in the Naked Mole Rat *Heterocephalus glaber*. *Physiological Zoology* 64: 871-884

- Zelová J, Šumbera R, Okrouhlík J, Šklíba J, Lövy M, Burda H (2011) A seasonal difference of daily energy expenditure in a free-living subterranean rodent, the silvery mole-rat (*Heliophobius argenteocinereus*; Bathyergidae). Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & integrative physiology 158: 17-21
- Zelová J, Šumbera R, Sedláček F, Burda H (2007) Energetics in a solitary rodent, the silvery mole-rat, *Heliophobius argenteocinereus*, and allometry of RMR in African mole-rats (Bathyergidae). Comparative Biochemistry and Physiology 147A: 412-419
- Zemanová M (2010) Termoregulační schopnosti rypše *Fukomys darlingi* a jejich vývoj u mláďat. 31 pp. Magisterská diplomová práce, Přírodovědecká Fakulta, Jihočeská Univerzita.

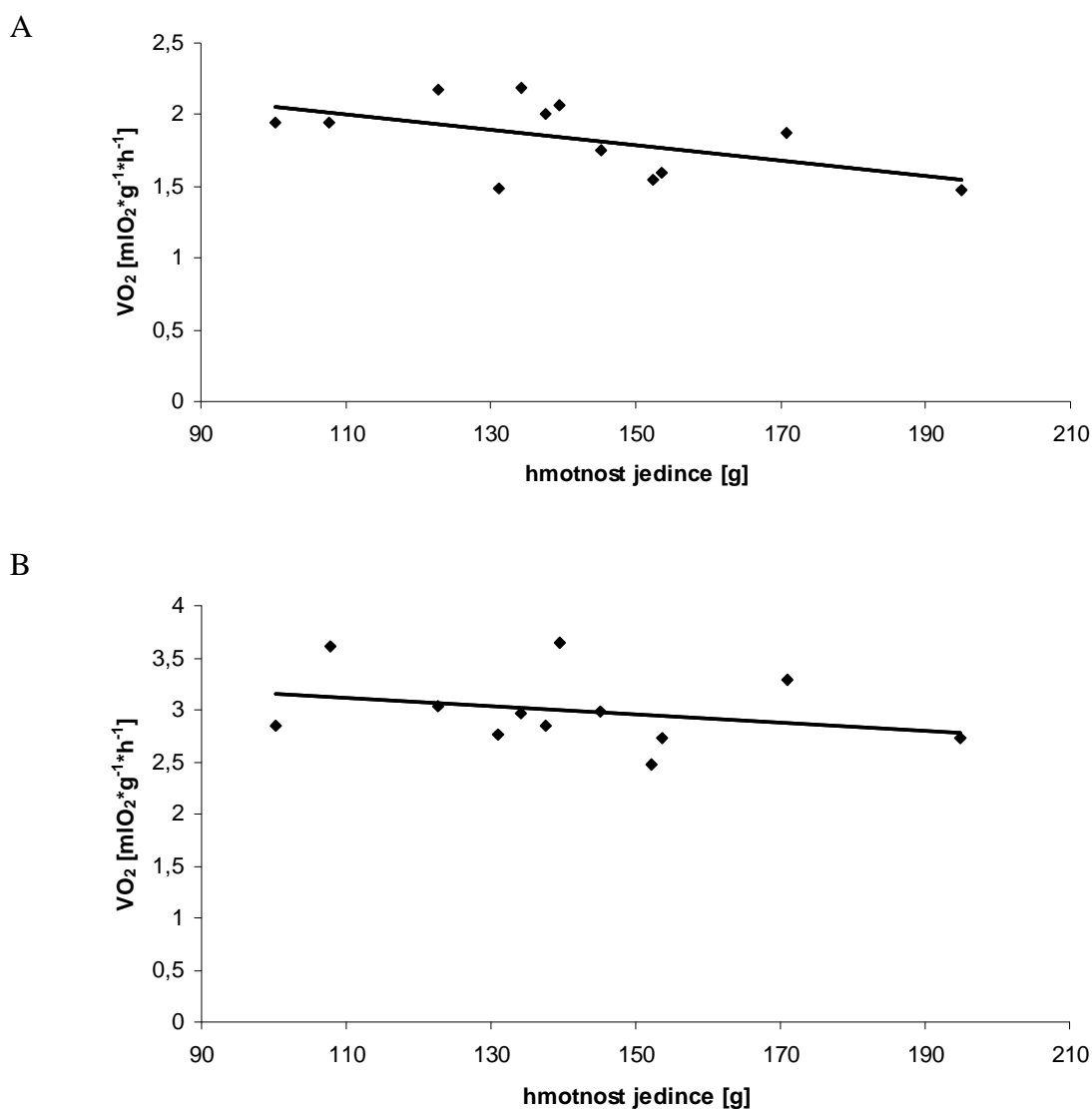
8. PŘÍLOHY

Tabulka 5. Denní energetický výdej (DEE) 12 izolovaných jedinců jako spotřeba kyslíku v ml O₂ g⁻¹h⁻¹ ve 20 a 30°C. Jsou uvedena všechna opakovaná měření. ID je identifikační číslo čipu jedinců.

ID	pohlaví	hmotnost [g]	DEE [mlO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹]	
			30°C	20°C
1673	hl♀	137.5	2.24	2.68
			1.77	2.83
			2.03	3.01
3565	hl♀	131	1.4	3.14
			1.48	2.92
			1.55	2.25
0000	hl♀	139.4	2.17	4.02
			1.75	3.27
			2.28	3.65
9516	hl♂	152.3	1.48	2.46
			1.68	2.58
			1.5	2.37
2884	hl♂	153.7	1.63	2.71
			1.69	2.56
			1.44	2.92
9953	hl♂	145.2	1.93	2.79
			1.72	2.9
			1.61	3.28
2332	♀	100.2	2.43	2.54
			1.78	3.07
			1.61	2.93
4036	♀	107.7	2.08	3.44
			1.89	3.65
			1.89	3.74
0815	♀	122.7	1.67	3.45
			2.17	3.03
			2.68	2.63
0190	♂	170.9	1.77	3.14
			1.83	3.71
			2	3.01
4396	♂	194.9	1.41	2.77
			1.31	2.72
			1.69	2.69
8653	♂	134.2	2.04	2.86
			2.42	2.65
			2.12	3.39

Tabulka 6. Denní energetický výdej (DEE) pěti skupin jako spotřeba kyslíku v ml O₂ g⁻¹h⁻¹ ve 20 a 30°C a průměrné energetické úspory skupiny oproti izolovaným jedincům v %.

N jedinců ve skupině	DEE [mlO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹]		E úspory [%]	
	30°C	20°C	30°C	20°C
2	1.69 ± 0.12	2.84 ± 0.28	11.52	14.56
3	1.37 ± 0.15	2.33 ± 0.48	25.18	14.30
3	1.25 ± 0.07	2.44 ± 0.11	28.66	13.59
4	1.4 ± 0.11	2.42 ± 0.28	24.79	23.64
7	1.34 ± 0.3	2 ± 0	26.05	33.77



Obrázek 4. Závislost hmotnosti jedince (W) v g na spotřebě kyslíku (VO₂) v ml O₂ g⁻¹h⁻¹ A) v T_a = 30°C a B) v T_a = 20°C. Body jsou proloženy regresní přímkou A) VO₂ = -0.0053 W + 2.5891; R² = 0.2781 B) VO₂ = -0.0038 W + 3.5338; R² = 0.0767. Tato závislost není ani v jednom případě signifikantní A) p = 0.08; F_(1;10) = 3.85 B) p = 0.38; F_(1;10) = 0.83.