

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE
FAKULTA AGROBIOLOGIE, POTRAVINOVÝCH A PŘÍRODNÍCH
ZDROJŮ
KATEDRA OBECNÉ ZOOTECHNIKY A ETOLOGIE



VLIV PODMÍNEK PROSTŘEDÍ A VÝŽIVY NA INTENZITU PŘÍJMU
KRMIVA U LABORATORNÍCH MYŠÍ
DIPLOMOVÁ PRÁCE

VEDOUcí PRÁCE: DOC. ING. LUKÁŠ JEBAVÝ, CSc.

AUTOR PRÁCE: PETRA ZAMAROVSKÁ

2012

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma **Vliv podmínek prostředí a výživy na intenzitu příjmu krmiva u laboratorních myši** vypracovala samostatně a použila jsem jen pramenů, které cituji a uvádím v přiložené bibliografii.

V Praze dne

Podpis autora práce

PODĚKOVÁNÍ

Touto cestou bych ráda poděkovala vedoucímu mojí diplomové práce doc. Ing. Lukáši Jebavému, CSc. za odbornou pomoc, rady a připomínky při zpracování této práce, a také všem blízkým za morální podporu i pomoc s jazykovou a technickou stránkou práce.

SOUHRN

Cílem práce bylo experimentální studium vlivu změn podmínek prostředí a výživy na intenzitu příjmu krmiva u laboratorních myší. Během deseti různých pokusů byly pozměňovány tyto parametry: délka světelného dne, počet zvířat ve skupině, obohacenost prostředí a složení krmné směsi.

V úvodní literární rešerši popisují řád hlodavců se zaměřením na myš domácí a laboratorní. Přibližují zde způsob života myší domácích a popisují podmínky, ve kterých jsou chovány myši laboratorní. Uvádím, čím se myši živí a čím bývají krmeny v péči člověka, věnuji se i faktorům ovlivňujícím příjem krmiva.

V kapitole *Materiál a metody* blíže charakterizují experimentální podmínky a detailně popisují jednotlivé pokusy. Zabývám se bližší charakteristikou použitého kmene laboratorních myší ICR a uvádím složení diet použitých v pokusech.

Další část prezentuje výsledky. Je doplněna tabulkami s průběžnými výsledky pokusů a tabulkami porovnávajícími tyto mezivýsledky. Vyplývá z nich, za jakých experimentálních podmínek myši vykazovaly statisticky významné rozdíly ve žravosti.

Na základě těchto experimentů jsem vyvodila, že z uvažovaných změn prostředí a výživy měly vliv na snížení intenzity příjmu krmiva tyto faktory:

1. zmenšení chovné skupiny v samostatných chovných nádržích z deseti členů na jednotlivce. Menší žravost projevovaly i myši chované po dvou v jednom boxu.
2. změna denního režimu, kdy myši byly čtyřicet hodin denně ve tmě.
3. krmení komerční směsí, která je užívána zájmovými chovateli.

Oproti očekávání nemělo na sníženou žravost vliv obohacené prostředí či podávání krmiva ve více dávkách. Na zvýšení příjmu potravy neměl statisticky průkazný vliv ani jeden ze studovaných faktorů.

Klíčová slova: žravost, příjem krmiva, laboratorní myši, denní režim, složení diety, obohacené prostředí

SUMMARY

Aim of my work was an experimental study of impact of changes in environmental conditions and nutrition to the voracity of laboratory mice. Over ten different experiments were held in which following parameters were altered: duration of light day, number of animals in a group, enrichment of environment and diet composition.

In the first introductory part, the bibliographic search of the order of rodents with a focus on domestic and laboratory mice is outlined. The way of life of house mice and conditions of breeding of laboratory mice is explained.

In the chapter *Material and Methods* the experimental conditions and details of various experiments are presented. I deal with closer characteristics of the strain ICR of laboratory mice and I mention the composition of the diets used in my experiments.

The results of the work are shown in the following section. It is complemented by tables with interim results of experiments and tables comparing these results. The results give a picture of conditions under which mice showed statistically significant differences in their voracity.

Based on these experiments I concluded that the considered changes in the environment and nutrition have an impact on the reduction of food intake according to following factors:

1. reduction of breeding groups in breeding tanks from ten members to the individual mouse. Smaller voracity was also observed for two mice in one box.
2. change in daily routine, when the mice were kept all day (24 hours) in the darkness.
3. utilization of commercial feed mixture that is used by hobby breeders.

On the contrary, there was observed no influence of the enriched environment or feed given in multiple doses. None of the studied factors was statistically significant on increase in food intake.

Keywords: voracity, food intake, laboratory mice, daily regimen, diet composition, enrichment

OBSAH

1 ÚVOD	7
2 CÍL PRÁCE	8
3 LITERÁRNÍ REŠERŠE	9
3.1 CHARAKTERISTIKA HLODAVCŮ	9
3.2 CHARAKTERISTIKA MYŠI DOMÁCÍ	10
3.2.1 ZPŮSOB ŽIVOTA	11
3.2.2 POTRAVA	11
3.2.3 ROZMNOŽOVÁNÍ	12
3.2.4 SMYSLY	12
3.3 MYŠI JAKO POKUSNÝ BIOLOGICKÝ MATERIÁL	13
3.3.1 HISTORIE CHOVU MYŠÍ	14
3.3.2 VYUŽITÍ MYŠI DOMÁCÍ V MEDICÍNĚ	15
3.3.3 SPECIFIKA LABORATORNÍCH MYŠÍ	16
3.3.4 USTÁJENÍ A POUŽÍVANÉ TECHNOLOGIE	19
3.3.5 VÝŽIVA A KRMENÍ LABORATORNÍCH MYŠÍ	22
4 MATERIÁL A METODY	25
4.1 PROVEDENÉ POKUSY	25
4.2 KMEN ICR	28
4.3 SLOŽENÍ POUŽITÝCH DIET	29
4.4 POUŽITÉ CHOVNÉ NÁDOBY	31
5 VLASTNÍ PRÁCE	32
6 DISKUZE	40
7 ZÁVĚR	42
POUŽITÁ LITERATURA	43
SEZNAM PŘÍLOH	46
PŘÍLOHY	47

1 ÚVOD

Chovatelství zvířat provází člověka už od nepaměti. S chovem zvířat začal kvůli zajištění obživy. Proč by měl lovit, riskovat při výpravě nezdar a následně hladovět, když mohl zvíře držet v ohradě a v případě potřeby jej mít hned po ruce? Je nutné připomenout, že chovaná zvířata byla zdrojem nejen potravy, ale i kůží, důležitých pro přežití lidí v chladných oblastech. Poté člověk zjistil, že kromě zásobárny potravy může zvíře rovněž pomoci s různými fyzicky náročnými pracemi, jako byla orba nebo těžba dřeva, pomoci při lovu nebo významně urychlit dopravu z místa na místo. Zároveň si však naši předci uvědomili, že kromě čistě praktického využití může být zvíře i naším společníkem. Takové zvíře nepřináší majiteli žádný materiální užitek a dokonce vyžaduje i určité náklady. Důvodem k takovému chovu byla radost, kterou přinášela jeho společnost. Postupně se řady druhů chovaných v zajetí rozšiřovaly a chov hobby zvířat se stal ve společnosti běžnou záležitostí.

S rozvojem lékařské vědy bylo zapotřebí najít organismy, na kterých by se mohly testovat a zkoumat nové metody a léčiva. Muselo se jednat o zvířata, dostatečně blízka člověku (tedy savce) a přitom dostatečně odpudivá, aby nevzbuzovala přílišnou lítost. Tak se do laboratoří dostali hlodavci, lidmi považovaní za odporné škůdce. Proběhlo mnoho významných a užitečných experimentů, bylo objeveno a otestováno ohromné množství léků a mimo to se dostali laboratorní hlodavci i do domácností, kde se stali oblíbenými mazlíčky. V posledních letech vedla přeměna laboratorních zvířat v kamarády nutně k dalšímu kroku. Člověk začal více přemýšlet o utrpení, které experimentální zvířata často prožívají a zformovaly se skupiny lidí, které se zasazovaly o to, aby se tomuto utrpení předcházelo, nebo aby se alespoň co nejvíce zmenšilo. Vznikly různé úmluvy, dohody a zákony na ochranu zvířat, začaly se vyvíjet alternativní pokusné modely, aby se testování léčiv obešla bez zvířat z řad obratlovců. Řešení této problematiky dodnes neustává a kromě pokračující tendence dostat hlodavce a ostatní vyšší zvířata pryč z laboratoří je vyvíjen tlak i na producenty kosmetiky. Ruku v ruce s tím jde úsilí o zlepšování podmínek zvířat produkovaných pro výživu člověka. V ideální budoucnosti se laboratoře obejdou bez zvířat a výrobci potravin živočišného původu budou schopni zajistit zvířatům důstojný život. Důležité je v úsilí o zlepšování životních podmínek zvířat nepolevovat.

2 CÍL PRÁCE

Cílem práce bude experimentálně zjistit, jak mohou podmínky prostředí, případně typ potravy ovlivnit intenzitu příjmu krmiva u laboratorních myší. Hodnoty z každého proběhlého pokusu budou srovnány s předem zjištěným příjmem krmiva za přesně definovaných „základních“ podmínek.

Hypotéza tedy zní: „Laboratorní myši budou během různě pozměňovaných podmínek prostředí a výživy projevovat různou žravost“. Zda je tato hypotéza pravdivá nebo ne, bude zjištěno pomocí statistického porovnání jednovýběrovým F-testem. Ten určí, jsou-li rozdíly ve žravosti v „základních“ podmínkách a za změněných podmínek statisticky průkazné.

3 LITERÁRNÍ REŠERŠE

3.1 Charakteristika hlodavců

Hlodavci jsou velmi druhově bohatý řád, je popsáno přes 1700 druhů, což je přes polovinu popsáných druhů savců vůbec. Jméno řádu hlodavci „Rodentia“ je odvozené z latinského slovesa „rodere“. Rodere znamená „kousat, hlodat, hryzat...“, což je pro tuto skupinu naprosto typické. Jednotnou charakteristikou všech hlodavců je pár dlátovitých řezáků. Tyto řezáky nemají žádné kořeny, zasahují hluboko do čelisti a ohýbají se mírně dopředu, často jsou zbarvené dožluta či dooranžova. Hlodavec, který nemá možnost nějakou dobu hlodat, musí brzy zemřít hladu, protože mu hlodáky tolik vyrostou, že už nemohou ukousnout žádnou potravu a stanou se nefunkční. Tyto neustále dorůstající zuby mají tvrdou sklovinu (email) na vnější straně a na vnitřní straně měkkou vrstvu, tvořenou zubovinou. Zubovina (dentin) se obroušuje rychleji než sklovina, a proto jsou řezáky neustále nabroušené. Hlodavci také ztratili špičáky, takže řezáky a třenové zuby (a stoličky) odděluje výrazná mezera diastema. Toto uspořádání jim umožňuje vynikající hryzáni všeho, od trávy a semen až po chitinózní hmyz (Hand et al., 2010; Kay, Hoekstra, 2008; Reichholf, 1996).

Diastema umožňuje nahromadění potravy v ústní dutině a teprve poté její postupné žvýkání, nebo její přenos na uskladnění. K posledně jmenovanému účelu slouží u některých druhů rovněž lícní torby. Premoláry a moláry (třenové zuby a stoličky) býložravců a všežravců se odlišují. Zatímco první typ má svou žvýkací (okluzní) plochu tvořenou hranolky dentinu, které navíc z vnější strany pokrývají záhyby emailu, druhý typ se vyznačuje příčnými lištami na této ploše. Např. u králíka a morčete jsou hypsodontní jak hlodáky, tak stoličky, což znamená, že celý život dorůstají. Oproti tomu myši a např. i křečci mají hypsodontní pouze hlodáky a stoličky jim nedorůstají, tzn. že stoličky jsou brachyodontní. Zuby dorůstají rychlostí cca 1–3 mm za týden v závislosti na druhu (Hartmann, 2008; Velenská, 2007).

Zubní vzorce a počet zubů jsou závislé na druhu, proměnlivé především v počtu stoliček a typické absencí špičáků. Zubní vzorec myši je 1003/1003, v úplném chrupu tedy mají 16 zubů (Matyáščík, 2001).

Mezi hlodavci jsou jak čistě býložravé, tzv. herbivorní druhy (morčata), tak druhy převážně býložravé, doplňující jídelníček živočišnou bílkovinou příležitostně (myši, křečci), až všežravé, omnivorní (křečci, potkani), kteří přijímají stejné díly rostlinné i živočišné potravy. Hlodavci jsou skupinově i jednotlivě žijící zvířata, staví nory nebo mají hnízda na zemském povrchu. Jde o zvířata s vysokou reprodukční schopností a krátkým generačním intervalem. I proto jsou hojně využívána v laboratořích. Mláďata, až na výjimky (např. morčata) bývají velmi nedokonale vyvinutá (Velenská, 2007).

3.2 Charakteristika myši domácí

Myš je všežravý hlodavec 7–10 cm dlouhý, o hmotnosti 20–50 g, samečci bývají větší než samičky. Charakteristické zbarvení myši je aguti se světlejší barvou na ventrální části těla. Oči jsou černé a kůže pigmentovaná. V průměru se dožívá dvou až tří let, výjimečně až pěti let. Má ohromující reprodukční schopnosti a je extrémně přizpůsobivá, rychle mění své zvyklosti v závislosti na proměnlivých podmínkách. Bývá součástí jídelníčku mnohých predátorů od lasic, přes kočky a lišky až po dravé ptáky (Bergoff, 1993; Reichholf, 1996; Vlček, Kameníková, 1982).

Jde o jeden z typicky kosmopolitně rozšířených druhů a synantropní zvíře, doprovázející člověka prakticky od nepaměti. Je popsáno více než 130 druhů myší, přičemž laboratorní myši byly vyšlechtěny z myši domácí. Ta, chována v zajetí, mívá kromě klasické šedohnědé barvy (aguti) a albinotické varianty širokou škálu možných zbarvení, která jsou definovaná ve standardech a šlechtěna mimo jiné i zájmovými chovateli. Kromě domácích či komerčních chovů je možno myš domácí rozdělit do dvou populací. Jednou z nich je komensálně žijící populace vázaná na lidská sídliště, druhou tvoří populace volně žijící na polích a stepích po způsobu původních myší. Domovský okrsek zabírá různě velkou plochu v závislosti na bohatosti dostupných potravních zdrojů. Například na obilných polích připadá jedna myš na každé tři metry čtverečné, na loukách bývají domovské okrsky o rozloze přes tři sta metrů čtverečných a v lesích jejich plocha může dosahovat až k šesti tisícům čtverečných metrů. Není neobvyklé, že se synantropní populace z lidských sídlišť během léta, kdy panují příznivé podmínky, stěhuje ven do přírody a na zimu se vrací do klimaticky bezpečného a na potravu bohatého prostředí lidských příbytků. Myši v domácnostech často kromě výkalů

a ohryzaných předmětů či potravin prozradí naprosto charakteristický a s ničím nezaměnitelný pach moči, tzv. „myšina“ (Jennings et al., 1998; Velenská, 2007; Vlček, Kameníková, 1982).

3.2.1 Způsob života

Volně žijící myši jsou primárně soumravná zvířata, den tráví většinou ve svých skrýších. Synantropní populace aktivuje během dne. Dobře šplhají i skáčou, rychle běhají a umí i plavat. I tyto dovednosti vysvětlují její rozšíření po celém světě. Myši jsou skupinově žijící zvířata. Tvoří různě velké rodinné spolky, jejichž členové se navzájem poznávají podle společného pachu hnízda či celé skupiny. Rodinu vede dominantní samec s několika samicemi a s mláďaty. V rámci skupiny mají danou hierarchii a na jedince z jiných skupin reagují zpravidla agresivně. Jsou velice opatrné, klasickým pastem na myši se dokáží vyhýbat. Přežívají i v extrémních podmínkách (např. v chladárnách s $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$ či v úplné tmě v šachtách hlubinných dolů) (Reichholf, 1996; Velenská, 2007).

3.2.2 Potrava

Co se týká stravy, myši jsou původně spíše býložravá zvířata, která výjimečně doplňují svůj jídelníček potravou živočišného původu. Dnes se však jedná převážně o omnivorní zvířata. Původní a volně žijící populace se živí především semeny trav a bylin, požíváním hmyzu a jeho larev doplňují myši živočišné proteiny. Na rozdíl od domácích myší vytvářejí volně žijící zvířata často zásoby. U domácích myší je tento sklon částečně potlačen. Kromě lidských potravin požívají domácí myši prakticky všechno, co obsahuje organický materiál. Jsou např. schopné žít se i mýdlem či prakticky jakýmkoliv organickým odpadem. Stran potravy tedy nemají téměř žádná omezení, snad jediným limitujícím faktorem je dostupnost vody. Konzumují-li převážně suchou stravu, pak ji spotřebují až 4–5 ml denně. V zajetí se krmí směsí obilnin, semen, zeleninou a čerstvým lupením, doplňuje se masem, tvarohem, vejci či vařenou rýží a tvrdým pečivem. V laboratořích a velkochovech se nejvíce užívají kompletní diety ve formě pelet, které jednak zabraňují selektivnímu vybírání určitých složek potravy a zajišťují stabilní přísun a příjem všech živin, jednak usnadňují dodržování hygieny, neboť mohou být podávány v násypných krmítcích, která bývají součástí vík

chovných van a krmivo tak nepřichází do kontaktu se znečištěnou podestýlkou či přímo s močí (Reichholf, 1996; Velenská, 2007).

3.2.3 Rozmnožování

Myš domácí může mláďata přivádět na svět v průběhu celého roku, volně žijící myši se rozmnožují mimo zimní období. Po jednadvaceti dnech březosti samice rodí 1–12 mláďat, průměrně pět nebo šest. Mláďata dosáhnou pohlavní dospělosti již velice brzy, a to ve třiceti až čtyřiceti dnech po narození. Samice mají navíc 6–24 hodin po porodu další říji, kdy mohou opět zabřeznout. Je-li tato říje nevyužita pro oplodnění, další říje se dostavuje až s odstavem mláďat. Během léta bývají vrhy větší než ve zbytku roku a při vysokých početních stavech myši klesá schopnost rozmnožování. Úplné omezení plodnosti se týká především níže hierarchicky postavených jedinců, dominantní samičky rodí dál, avšak počet jejich mláďat se zmenší a frekvence vrhů se prodlouží. Tímto se reguluje početní stav myši bez toho, aby došlo k prudkému poklesu stavů. Myši mláďata se rodí slepá, holá, bezzubá a s ušními boltci přiklopenými přes otvor zvukovodu. Po narození váží okolo jednoho gramu, a dalších 50–60 dní mláďata na hmotnosti rychle přibírají (Berghoff, 1993; Reichholf, 1996; Vlček, Kameníková, 1982).

3.2.4 Smysly

U myši jsou nejvýznamnějšími smysly čich a sluch. Orientují se podle pachových stop, které si značí močí. Dalším způsobem značení jsou otisky tlapek. Přímo na chodidlech mají pachové žlázy, které při každém kroku vylučují specificky aromatický sekret. Myši slyší zvuky v rozmezí frekvencí 80 Hz až 100 kHz. Na rozdíl od lidí, kteří slyší od 20 Hz do 20 kHz, tedy myši vnímají vysoké ultrazvukové tóny, hluboké tóny vnímají ale špatně. Navzájem se dorozumívají pískavými ultrazvukovými signály. Mláďata tak přivolávají matku do hnízda, pociťují-li strach. Tyto signály mají kmitočet kolem 70 kHz a jsou signálem pro návrat samice do hnízda. Samci podobnými zvukovými signály zjišťují říjné samice ve svém okolí v období rozmnožování a tímto ultrazvukovým „zpěvem“ je lákají. Ještě vyšší ultrazvukové tóny signalizují obvykle nebezpečí. Na tomto principu by ostatně měly fungovat prodávané plašičky myši, které produkují pro člověka neslyšitelný ultrazvuk. Jejich účinnost

je ovšem sporná. Zrak je u myši vyvinut málo, oko je spíše citlivé na vnímání pohybu než statického obrazu. Citlivost očí zasahuje až do oblasti ultrafialového záření. To jim pomáhá při navigaci a rozpoznávání potravy (Berghoff, 1993; Jennings et al., 1998; Velenská, 2007).

3.3 Myši jako pokusný biologický materiál

Lidé odedávna využívají nejrůznější druhy zvířat pro širokou škálu úkolů, od zvířat, jejichž síla je nám ku pomoci při fyzicky náročných pracích, přes zvířata, na nichž jsou zkoumány nejrůznější modely chování a jejich možné příčiny, až po využití zvířat pro medicínské pokusy. Využití zvířat jakožto pokusného biologického materiálu sahá daleko před začátek našeho letopočtu. S největší pravděpodobností patří prvenství v provádění pokusů na zvířatech starověkým Řekům. První konkrétnější zprávy pochází asi z roku 350 př. n. l., kdy Aristotelés prováděl pitvy psů. Podobných experimentátorů byla celá řada, zahrnující mimo jiné i Claudia Galéna (210–130 př. n. l.), jehož pokusy na živých vepřích a opicích jsou zachovány v písemné podobě. Od dob Galénových bylo prováděno nespočet pokusů na zvířatech, avšak použitelné údaje o nich nejsou známy. Se středověkem přišel s pokusy na zvířatech útlum, zvířata byla používána spíše nahodile a velice ojediněle. Teprve v první polovině 16. století se znovu objevují záznamy o učencích, jako byl Vesalius a další, kteří svým pozorováním, hlavně na zvířatech, rozšířili vědění a uvedli je na praktické základy. V druhé polovině 19. století začíná být kromě biologických poznatků zdůrazňován i význam pokusných zvířat jako takových. Claude Bernard (1813–1878), profesor všeobecné experimentální fyziologie, věnoval polovinu své knihy o fyziologii právě pokusům na zvířatech. V téže době se začínal formovat nový vědní obor mikrobiologie se všemi specifickými požadavky na pokusná zvířata. Současně s mikrobiologií se rozrůstala fyziologie, na niž navazovaly další nové obory – farmakologie, toxikologie, experimentální patologie, studium výživy a experimentální interní medicína. Až do doby Clauda Bernarda byly pro pokusy využívány spíše druhy zvířat domácích. Jednalo se především o psy, kočky, králíky, ovce, kozy, vepře, kuřata a jiné. Velmi rychle ovšem byla pochopena přednost menších zvířecích druhů (Vlček, Kameníková, 1982).

3.3.1 Historie chovu myší

Myši provázejí člověka od dob, kdy se usadil a začal pěstovat obilí. Zde začíná jejich dráha synantropního škůdce. Ve starověkém Egyptě si lidé myši již záměrně drželi v chrámech, kde měly být kněžím nápomocné při věštění budoucnosti. Tou dobou panovala domněnka, že se myš zrodila z bahna Nilu či ze špíny z domácnosti. Kréťané myši považovali za svaté, neboť výrazně ovlivnily výsledky bitev ve prospěch Kréťanů tím, že rozkousaly kožené řemeny na štítech protivníka, jež pak nemohl štítit v boji použít. Následkem toho byl myším postaven chrám (zasvěcený myšimu bohu Apollovi), vzniklo myší náboženství a v chrámech byly chovány bílé myšky. Kult myši zaniknul až ve středověku. Římské ženy údajně pomazávaly myším trusem své manžely, aby jim zabránily v nevěře. Kromě Egyptanů chovali myši pro potěchu jako domácí zvířata už před několika tisíci lety i Číňané. Bílé myšky byly považovány dokonce za posvátné. Z Dálného východu se díky portugalským námořníkům, kteří je vozili domů jako dárky, dostaly albinotické myšky do Evropy. V první polovině 19. století přišla do Anglie právě z Japonska první chovná zvířata různých barevných variet pro zájmové chovy. Již přes 2000 let se chová japonská tanečnice, černobílá myš s vrozenou poruchou statokinetického ústrojí, pro kterou je charakteristická ztráta koordinace pohybů a následný pohyb v kruzích (Berghoff, 1993; Velenská, 2007; Verkhoeff-Verhallen, 1999).

Jakožto pokusný materiál byla myš využívána již od 17. století. Její vhodnost pro použití v pokusech však byla plně pochopena až v druhé polovině 19. století, spolu se zjištěním, že k experimentům jsou velice vhodná i další malá zvířata, především potkani, ale i morčata a králíci. Myš jednak nevzbuzovala v lidech lítost, protože většinou byla vnímána jako zvíře nežádoucí a odporné, jednak je velice nenáročná na chov, a to z mnoha hledisek: pro chov myší stačí poměrně malé finanční prostředky, chovný prostor vyžaduje relativně malý objem, coby všežravec nevyžaduje specifickou dietu a v neposlední řadě má ohromující reprodukční schopnosti, které si uchovává i v zajetí a které umožní i z malého množství chovných zvířat získat velké množství potomků – pokusného materiálu (Berghoff, 1993; Vlček, Kameníková, 1982).

3.3.2 Využití myši domácí v medicíně

V medicíně má myš velice významné postavení už od starověku. Právě ve starověku se myši a jejich trus, chlupy či kosti používaly k „léčbě“ různých nemocí. Dnes již víme, že toto počínání nemuselo být vždy šťastné už jenom díky faktu, že myš je přenašečem mnohých zoonóz. Byl-li tedy pacient léčen myšimi produkty, v lepším případě se nestalo nic, v horším se kromě prodělávaných neduhů mohl navíc nakazit například tyfem, morem či leptospirózou. I přes tuto spíše úsměvnou část lidské historie se myš ve službách medicíny udržela. Rozvoj chovu myši začal v druhé polovině 19. století. Do konce 1. světové války byl však počet biomedicínských laboratoří malý a rovněž pokusy na zvířatech se prováděly jen v omezeném rozsahu. Chovná a pokusná zařízení byla často vědeckými a odbornými pracovníky improvizována, takže nezdávka nesplňovala vhodné zoohygienické podmínky. Pokusy pak často byly přerušovány kvůli špatnému zdravotnímu stavu a nehomogenosti zvířecího materiálu. V období mezi oběma světovými válkami bylo založeno několik velmi dobrých kolonií laboratorních zvířat, především ve Spojených státech. Začíná se s chovem inbredních kmenů myši a 1928 začíná studium izolovaných mikrobů prostých zvířat. Opravdu mohutný rozvoj však začíná v období po druhé světové válce. Kromě rozvoje výzkumu základního, ale i vojenského bylo investováno ohromné množství financí do farmaceutického průmyslu a biomedicínského výzkumu (Berghoff, 1993; Vlček, Kameníková, 1982).

Dnes je nenahraditelným modelovým zvířetem pro výzkum genetiky, onkologie, toxikologie a imunologie či pro studium buněčné a vývojové biologie. Myši je potřeba nejen pro vývoj nových léčiv, ale jsou užívány i v pokusech kosmetického průmyslu. Zde se sluší připomenout, že je snaha omezit počty pokusných zvířat na minimum např. i zásadami „3 R“ od W. M. S. Russella a R. L. Burche z roku 1959, které popsali ve své práci *The Principles of Humane Experimental Technique*. Smyslem těchto zásad – resp. těchto tří „R“ – je:

- 1) **Replacement** = anglicky nahrazení, výměna: nepoužívat zvířata v pokusech a najít místo nich jiné vhodné modely či náhrada obratlovců bezobratlými zvířaty, jakmile to je možné
- 2) **Reduction** = snížení, omezení: když už je nutno zvířata použít, tak minimalizovat jejich počet pro daný pokus
- 3) **Refinement** = zlepšení, zdokonalení: vylepšovat podmínky pro pokusná zvířata, maximálně snižovat jejich utrpení způsobené jak pokusem samotným, tak chovným prostředím.

Je poměrně jasné, že dnešní medicína se bez testování na laboratorních zvířatech zatím neobejde, dá se ovšem diskutovat o nutnosti takového testování při výrobě kosmetiky či jejích složek vůbec. Nicméně právě díky mnohým studiím, které na myších proběhly, patří myši mezi nejdůkladněji prozkoumané živočichy naší planety (Clark, 1996; Russel, Burch, 1959).

3.3.3 Specifika laboratorních myší

Všechny dnes používané kmeny laboratorních myší byly vyšlechtěny z původní divoké formy se zbarvením aguti a se světlejší ventrální částí těla. Jak stavbou těla, tak jeho objemem a proporcemi je laboratorní myš v zásadě podobná divoké myši. Jednotlivé kmeny jsou odlišné jak genotypem, tak fenotypem. Nejnápadnější rozdíly jsou v barvě srsti, i když nejčastěji jsou kmeny zastoupeny albinotickými zvířaty. Z hlediska genetiky můžeme kmeny myší rozdělit na **inbrední**, **outbrední**, **randombrední**, **hybridní (kogenní)** a **mutované** kmeny. Pro inbrední chov je typická příbuzenská plemenitba a prakticky stejný genotyp u zvířat téhož kmene. U outbredního chovu se naopak příbuzenské plemenitbě předchází pečlivou přípravou a dodržováním přípařovacích plánů. V praxi se užívá různých strategií, jak kombinovat chovná zvířata tak, aby nedocházelo k páření příbuzných jedinců. Při randombrední plemenitbě je výběr sexuálního partnera ponechán na náhodě a na chovaných zvířatech, která jsou chována ve větších stabilizovaných skupinách o několika samcích i samicích. Hybridní zvířata jsou získávána záměrným křížením dvou různých kmenů. Mutovaná zvířata jsou taková, do jejichž DNA je implantován známý a záměrně vybraný fragment DNA jiného druhu. Každý z těchto způsobů chovu má využití a každý experiment má specifické požadavky na pokusná zvířata (Vlček, Kameníková, 1982).

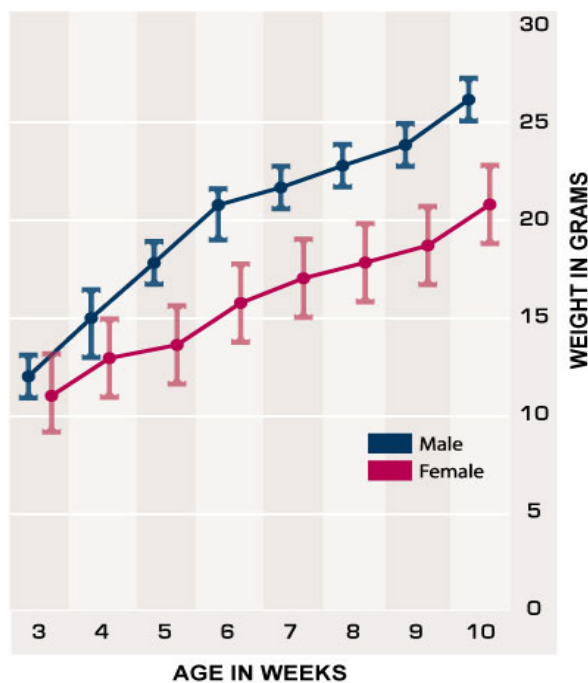
Laboratorní myši, podobně jako divoké předchůdkyně, mají po narození hmotnost okolo jednoho gramu. V době odstavu (tedy po třech týdnech), již dosahují hmotností mezi osmi až dvanácti gramy. Tabulka č. 3.3.3.1 znázorňuje průměrný nárůst hmotnosti po odstavu. Tato platí pro většinu albinotických kmenů, avšak i mezi nimi jsou v hmotnostním přírůstku rozdíly. Pravdou však je, že inbrední zvířata váží v průměru vždy méně než zvířata hybridní či randombrední, jak je patrné i z grafu 3.3.3.1, který popisuje nárůst hmotnosti inbredního kmene BALB/c a z grafu 3.3.3.2, popisujícího totéž pro outbrední kmen ICR (Taconic Farms, Inc, 2012; Vlček, Kameníková, 1982).

Tab. 3.3.3.1 Nárůst hmotnosti laboratorních myší po odstavu

Věk (dny)		20	24	28	32	36	40	44	48	56	63	70
Hmotnost (g)	♂	13	17	21	25	28	31	34	35	38	39	40
	♀	13	17	20	23	35	26	28	30	32	33	34

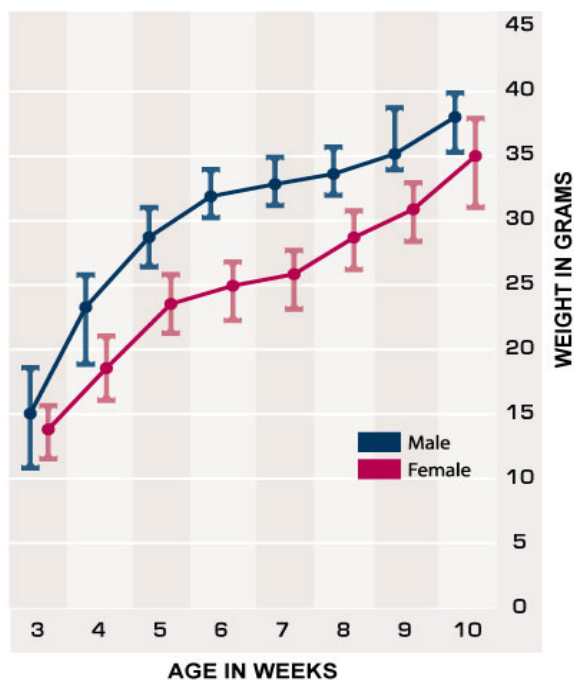
(Zdroj: Vlček, Kameníková, 1982)

Graf 3.3.3.1 Rychlost růstu inbredních BALB/c myší, vodorovná osa vyjadřuje věk v týdnech, svislá hmotnost v gramech



(Zdroj: Taconic Farms, Inc, 2012)

Graf 3.3.3.2 Rychlost růstu ICR myší, vodorovná osa vyjadřuje věk v týdnech, svislá hmotnost v gramech



(Zdroj: Taconic Farms, Inc, 2012)

Je vyšlechtěno přes 250 kmenů laboratorních myší s nejširší škálou využití, od zvířat vhodných k behaviorálním experimentům až po myši s náklonností k různým onemocněním (např. k diabetu či tumorům). Mezi nejčastěji držené a chované inbrední kmeny patří např.:

- albinotický **BALB/c**, na kterém se studuje kardiovaskulární systém, je užíván ve farmakologii, toxikologii a teratologii. Rychlost růstu kmene BALB/c je vyznačena v grafu 3.3.3.1 na straně 17.
- aguti **C3H**, užívaný pro výzkum očních onemocnění a imunologii
- **C57BL** s černou srstí, nízkým výskytem tumorů a preferencí alkoholu, na nichž jsou prováděny pokusy týkající se alkoholismu, dietou vyvolané obezity, toxikologie, závislosti na drogách, imunologie či superovulace. Rovněž se na nich studují poruchy chování a učení.
- světlehnědý neaguti **DBA/10laHsd** s využitím pro studium věkem vyvolané artritidy, imunologie a zánětů.

Nejpoužívanějšími outbredními kmeny jsou tyto:

- Black Swiss neboli **BLKSW**, kde jsou samice hojně využívané coby příjemkyně při embryotransferu
- **MF1** patří také hojně drženým kmenům, rovněž albinotický a s dobrým odchovem mláďat, uplatnění nachází zejména v onkologii, toxikologii, vakcinaci či teratologii.
- **NSA** neboli Non-Swiss albino, už z názvu vyplývá, že jde o další albinotický kmen, s uplatněním v toxikologii a výzkumu infekčních onemocnění.
- **ICR**, nejčastěji využívaný a nejpočetnější kmen outbredních myší. Jde o albinotická zvířata. ICR samice se využívají jako donoři i akceptoři embryí v laboratořích, kde je zapotřebí užití transgenních organismů. ICR matky tedy rodí mláďata vyvinutá z uměle upravených embryí. Graf 3.3.3.2 (str. 18) znázorňuje rychlost růstu myší kmene ICR. Další informace o ICR jsou v kapitole 4.2 *Kmen ICR* (Harlan laboratories a., 2012; Taconic Farms, Inc, 2012).

3.3.4 Ustájení a používané technologie

Ustájení a podmínky chovu vůbec poskytují zvířatům více či méně stabilní makro a mikroklíma. Prostředí by nemělo podléhat velkým výkyvům teploty a vzdušné vlhkosti, nemělo by dosahovat extrémních hodnot, ať už příliš vysokých (nad 29,4 °C) či příliš nízkých teplot. Je potřeba, aby chovné zařízení bylo dostatečně a přitom přiměřeně větráno. Totéž platí i pro osvětlení a hladinu hluku. Obyčejně nízkou hladinu zvuku zajišťuje běžný provoz v laboratoři. U světla můžeme hodnotit jeho intenzitu a délku světelné periody během dne. Je žádoucí, aby zvířata žila v prostředí přiměřeně hlučném. Myši chované v naprostém tichu by byly zbytečně plašeny příchody a prací personálu laboratoří. Tyto fyzikální faktory ovlivňují zdraví a celkovou pohodu zvířat. Tabulka 3.3.4.1 udává optimální rozmezí hodnot teploty,

vzdušné vlhkosti, intenzity osvětlení, hluku a některé další fyzikální parametry prostředí (Hedrich, Bullock, 2004).

Tabulka 3.3.4.1 Optimální hodnoty fyzikálních veličin prostředí

teplota	20–24 °C
relativní vlhkost	50 ±10 %
ventilace (výměna vzduchu za hodinu)	8–20
fotoperioda (světlo/tma)	12/12, 14/10
intenzita osvětlení	60–400 lx
hluk	~ 50 < 85 dB

(Zdroj: Hedrich, Bullock, 2004)

Myš jakožto soumravné zvíře a cíl mnoha predátorů vyhledává i během denní aktivity spíše spoře osvětlená místa s větším množstvím úkrytů, kam se v případě nebezpečí může rychle schovat. Je pro ni ideální takové prostředí, kde může uplatnit své přirozené chování, což znamená mimo jiné i skákat, šplhat a stavět si hnízdo. Toho není těžké docílit především v zájmových nebo soukromých produkčních chovech. Jako úkryty v klecích či teráriích poslouží různé hliněné, plastové či dřevěné domky, kusy kůry, květináče či papírové krabičky, k pohybu motivují prolézačky ať už průmyslově vyráběné dřevěné či přírodní větve, dobrou službu v tomto ohledu může také prokázat kolečko na běhání. Zde je potřeba vybírat taková, jejichž konstrukce minimalizuje riziko poranění zvířat. Jako ideální se jeví taková, která mají jednu stranu zcela otevřenou a volně přístupnou, druhou, kterou je připevněno k ubikaci, naopak plnou. Rovněž u běhací plochy je lepší, pokud je jednolitá a bez mezer, kde by mohla uvíznout nožka. V laboratořích, kde je na prvních místech úspora jak provozu, tak i prostoru a ze zcela pochopitelných důvodů i preference snadné obsluhy a údržby zvířat i jejich ubikací, bývají však myši chovány v minimalistických až strohých průmyslově vyráběných nádržích z tvrdého plastu. Nádrže jsou bez výstupků, kde by mohli chovaní hlodavci ubikace začít hryzat, případně se prohryzat až ven. Často tyto nádrže mívají světle mléčně zakalenou barvu, aby propouštěly světlo, ale zároveň aby myši nebyly světlu vystavené přespříliš. Tyto nádrže bývají opatřeny drátěným víkem, upevněným k bokům plastové vany. V jedné části víka je prohlubeň, která tak tvoří násypné krmítko a do které je možné upevnit napájecí lahve. Pro myši je potrava skrze mříž dostupná, nepropadne však do

podestýlky v boxu a nedojde tak jednak k jejímu znečištění a jednak je takový provoz ekonomičtější, neboť nedochází k velkým ztrátám krmiva. Drátěná víka rovněž umožňují pozorování zvířat bez jejich zbytečného vyrušování. Rozestup mezi dráty mříže víka by měl být maximálně šest milimetrů. Myši se totiž dokáží protáhnout i velice úzkými otvory. Napáječky bývají skleněné s kovovým ústím, plastové mohou myši opět přes mřížku ve víku rozhrzat a způsobit tak únik vody do podestýlky (Alderton, 2002; Bielfeld, 2002; Clark, 1996; Velenská, 2007; Verkhoeff-Verhallen, 1999).

Běžně se myším podestýlá hoblinami, slámovou řezankou či vícevrstvou papírovou podložkou, v některých velkochovech se podestýlka sterilizuje. Rovněž je možné použít papírovou řezanku, kukuřičná vřetena, drcený korek či dřevěné pelety. Nevhodnými stelivy jsou piliny i bentonitová a silikátová steliva pro kočky, často jsou příliš prашná, a myším tak mohou dráždit dýchací cesty či oči. Kočičí steliva navíc při neustálém kontaktu s tlapkami myši mohou zvířatům vysoušet a dráždit kůži. Ze stejných důvodů nejsou žádoucí rovněž parfemovaná steliva či hobliny z nedostatečně vyschlých a příliš pryskyřičnatých jehličnatých dřevin. Jako hnízdní materiál je možno použít papír, kusy netřepivých textilií, dřevitou vlnu, seno, opět však prakticky jenom v soukromých chovech, neboť není dobře možno takovýto hnízdní materiál standardizovat a udržet sterilní. Některé obchody s laboratorními zvířaty, dietami a stelivem pro ně nabízí sterilizovatelné papírové podestýlky, které zároveň mohou plnit funkci materiálu pro stavbu hnízda. Ubikace musí být bezpečná, nesmí obsahovat části, o něž by se myš mohla poranit. Tedy žádné ostré výběžky, předměty či naopak příliš úzké skuliny, kde by zvířatům mohly uvíznout nožky (Harlan laboratories b., 2012; Velenská, 2007; Verkhoeff-Verhallen, 1999).

Kromě fyzikálních vlivů a prostředí ubikace je třeba sledovat ještě další faktory, ovlivňující pohodu a dobrý zdravotní stav experimentálních zvířat. Jde o nároky na prostor během trvání pokusu a o čas navykání na nové podmínky, které definuje příloha č. 2 k vyhlášce 207/2004 Sb. Jako minimální plochu dna uvádí pro jednu myš v pokusu 180 cm² a výšku klece 12 cm a jako minimum pro matku s jedním vrhem mláďat mimo pokus 200 cm² a výšku 12 cm. Tyto požadavky by průmyslově vyráběné boxy měly splňovat. Obvykle v místech kde jsou prodávány, bývá i doporučení, kolik zvířat je v boxu daných rozměrů vhodné chovat maximálně. Např. česká firma VELAZ zaměřená na chov laboratorních zvířat vyrábí chovné boxy ve čtyřech velikostech, od maličkých boxů vhodných pro dvě myši až po poměrně velké nádrže vyhovující skupině morčat. Známé jsou pod názvy T I–T IV. Jejich rozměry a doporučené počty zvířat znázorňuje tabulka č. 4.4.1 v kapitole *Materiál a metody*. Je také potřeba zohlednit, že ubikace by pro skupinově žijící zvířata měla mít dost prostoru,

aby se v ní dala chovat alespoň po dvou jedincích. Jedině tak můžou provozovat sociální chování, určovat si hierarchii a věnovat se vzájemné péči, jde-li o kontaktní druhy (Anonym b., 2012; Clark, 1996; Vyhláška č. 207/2004 Sb., příloha č. 2).

Dodržování hygieny je jedním z rozhodujících faktorů ovlivňujících zdraví laboratorních zvířat. Obecně platí, že by ubikace měly být čištěny a desinfikovány alespoň jednou do týdne, u malých zvířat, jako jsou myši, se doporučuje jedno až tři čištění týdně. Účinnost čištění je kromě použitých prostředků výrazně ovlivněna i designem a materiálem ubikací, kde porézní materiály (např. dřevo, ale i některé plasty) více vsakují moč a nečistoty a hůře se z nich potom dostávají. Rovněž pak více vstřebávají desinfekční prostředky a déle trvá, než se tyto vypláchnou či vyvětrají do té míry, aby negativně neovlivňovaly život zvířat, nedráždily jim sliznice, kůži či oči. Kromě ubikací je potřeba, aby byly dobře omyvatelné a desinfikovatelné zásobníky na krmivo a vodu. Jedním z nejčastějších prostředků úklidu jsou tlakové parní čističe, které díky vysokému tlaku účinně odstraňují nečistoty mechanicky a díky horké páře ničí část nežádoucích mikroorganismů (Clark, 1996; Olfert et al., 1993).

3.3.5 Výživa a krmení laboratorních myší

Přestože jsou myši nejběžnější a nejpoužívanější experimentální zvířata, dodnes nejsou známy jejich přesné nutriční potřeby. Obsah proteinu bývá v dietách přibližně 20 %, avšak i menší množství jsou dobře snášena, obdobně i množství vlákniny v dietě má velice široké rozmezí. Požadavky myší na živiny ovlivňuje několik různých kritérií, od věku a životního stadia, až po enzymovou aktivitu daného kmene. Odhadem určené nutriční potřeby pro dospělou myš jsou uvedeny v tabulkách 3.3.5.1 a 3.3.5.2 (Benevega, 1995; Hand et al., 2010; Harkness, 1998).

Tabulka 3.3.5.1 Nutriční potřeby laboratorní myši: živiny + vitaminy

Živina	Tuk	protein	vláknin a	vit. A	vit. D	vit. E	vit. K
Zastoupení (na 1 kg krmiva)	<50 g	125–185 g	>60 g	500– 2400 IU	150– 1000 IU	20–32 IU	1,0–3,0 mg

(Zdroj: Benevega, 1995; Hand et al., 2010)

Tabulka 3.3.5.2 Nutriční potřeby laboratorní myši: minerální látky

Minerální látka	Ca	Cl	Mg	P	K	Na	Cu	Fe	Mn	Zn
Zastoupení (na 1 kg krmiva)	4,0– 5,0 g	0,5 g	0,5 g	3,0– 4,0 g	2,0 g	0,5 g	4,5– 6,0 mg	25– 35 mg	10– 45 mg	10– 30 mg

(Zdroj: Benevega, 1995; Hand et al., 2010)

Nejčastěji jsou v laboratořích využívána granulovaná krmiva, důvodů je mnoho. Takto upravené krmné směsi jsou totiž kompletní, stačí je doplnit pouze vodou. Dále jsou pelety tvrdé, takže se při jejich konzumaci přirozeně obrušují hlodáky, nemůže docházet k selektivnímu výběru některých komponent krmiva a tím k nevyváženému příjmu živin. Rovněž je jasně definováno množství živin, vitaminů i minerálů a jejich hladina je až do doby expirace stálá a nekolísá např. v závislosti na ročním období. Nespornou výhodou je i to, že jsou pelety připravovány v takových rozměrech, aby bylo jejich použití kompatibilní s chovnými nádržemi, jejichž víka mají v sobě prohlubeň, která slouží jako rezervoár na potravu, ze kterého mohou myši libovolně v průběhu dne užídat. Zatímco by menší komponenty krmné směsi propadly k myším do znečištěné podestýlky, zůstávají takto pelety uchráněné před močí chovaných zvířat. Vyrábějí se různé diety jednak vzhledem k životnímu stadiu zvířete (např. pro kojící matky), jednak vzhledem k požadavkům experimentu. Mohou obsahovat různé zkoumané komponenty, chemické prvky, které se běžně ve stravě nevyskytují, či různé poměry, nadbytky či nedostatky živin a jejich dopad na organismus

(zvýšeným obsahem vlákniny počínaje, těžkými kovy konče). V České republice je jedním z výrobců např. již zmíněná firma VELAZ, která podobně jako zahraniční konkurenti kromě ubikací a laboratorních zvířat produkuje i několik druhů peletovaných diet. Přístup k pitné nezávadné čerstvé vodě by měl být samozřejmostí, a pokud je podávána ze zásobních napájecích lahví, měla by být minimálně dvakrát do týdne vyměněna a lahve vymyty. Při příjmu výhradně suché diety spotřebuje myš průměrně čtyři až pět gramů krmiva a čtyři až šest mililitrů vody za den. Je-li krmena jinak než granulovanými dietami, musí být součástí jejího jídelníčku i materiál k ohryzu. Ideálním ohryzem je dřevo ovocných stromů, neošetřované chemikáliemi a takové, které nerostlo v bezprostřední blízkosti silnic (Benevega, 1995; Hájková, 2005; Hand et al., 2010; Velenská, 2007).

Na intenzitu příjmu potravy mají vliv jak fyzikální podmínky prostředí, ve kterém myši žijí, tak sociální faktory. Jako u ostatních zvířat vede zvýšení teploty ke snížení žravosti (a omezení laktace s následnou vyšší mortalitou sajících mláďat), naopak nižší teplota vede ke zvýšené spotřebě diety. S tím souvisí i vliv steliva a hnízdního materiálu. Nemají-li totiž myši (i potkani) možnost postavit si dostatečné hnízdo, hůře se jim udržuje tělesná teplota a vykazují vyšší žravost. Stejně tak světelná perioda ovlivňuje aktivitu myši a následně jejich zájem o krmivo, většinu potravy myši přijmou v tmavé části dne. Důležité je rovněž zohlednit velikost a sociální stabilitu skupiny. Ve stabilní skupině se žravost nemění nebo se zvyšuje (zvířata se vzájemně motivují k příjmu potravy), nestabilitou stresovaná zvířata žerou naopak méně. Podstatnou roli hraje také prostředí, které může motivovat chovaná zvířata k explorativnímu chování, budování hnízda a provozování dalších přirozených činností. Jestliže zvířata nemohou část dne věnovat právě přirozenému chování, zvyšuje se u nich spotřeba krmiva a zvířata tloustnou, což s sebou může přinášet nejrůznější zdravotní problémy. Přitom obohacením prostředí může být už jenom výměna peletovaného krmiva za různorodé směsi či dodání malého množství tvrdého pečiva či zeleniny. Myši preferují, mají-li v krmivu na výběr jak z chutí, tak z různých textur potravy. Problémem však je, že krmiva, která nejsou peletovaná není možno standardizovat, resp. jejich podávání může ovlivnit výsledky pokusu, neboť umožňují myším selektovat potravu a každá tedy nemusí ve výsledku z krmiva přijímat totéž. Rovněž nelze opomenout, že zvířata v pokusu i mimo něj budou preferovat chutnější krmivo, ať už to bude způsobeno vyšším podílem tuku, solí či cukru (Fonken et al., 2010; Jennings et al., 1998; Van der Weerd, 2002; Vlček, Kameníková, 1982).

4 MATERIÁL A METODY

Pozorování intenzity příjmu krmiva za různě upravených vnějších podmínek bylo prováděno na deseti samicích laboratorních myši outbredního kmene ICR. Jednalo se o dospělá zvířata s přibližnou hmotností 25–27 gramů. Různorodost podmínek spočívala v proměnách intervalů podávání krmiva, ve změněných délkách světelného dne, přítomnosti či naopak absencí hnízdního materiálu, úkrytů a předmětů sloužících k ohryzu, v použité dietě a ve změnách velikosti krmených skupin.

Pro zjištění, zda byly případné pozorované rozdíly v intenzitě příjmu krmiva statisticky průkazné, byl použit jednovýběrový F-test, který srovnával naměřené hodnoty všech pokusů s výslednými hodnotami prvního pokusu, tedy s intenzitou příjmu krmiva během „základních“ podmínek (viz podkapitola 4.1 Provedené pokusy).

4.1 Provedené pokusy

Myši byly zpočátku první dva týdny ponechány v klidu s ad libitním krmením, aby navykly novým podmínkám, které budou později popsány jako standardní a aby si utvořily stabilní hierarchii uvnitř skupiny. Podle přílohy č. 2 k vyhlášce 207/2004 Sb. by měla aklimatizace myši trvat v rozmezí pět až patnáct dní, přičemž delší čas zpravidla potřebují zvířata, která před sloučením do skupiny žila samostatně (Vyhláška č. 207/2004 Sb., příloha č. 2 ; Vlček, Kameníková, 1982).

Pokusy probíhaly v boxu VELAZ T III a v malých nádržkách typu T I, podle velikosti zkoumaných skupin myši. Každý pokus trval po dobu jednoho týdne a jednotlivé experimenty byly od sebe oddělené minimálně pětidenní pauzou, během které panovaly „základní“ podmínky (viz Pokus č. 1). Pokaždé byla krmná dávka předem navážená, aby se od ní dala po 24 hodinách odečíst hmotnost zbylého krmiva, a zjistit tak reálná průměrná denní spotřeba. Reálná spotřeba krmiva byla každý den zaznamenávána a průměrována na jedno zvíře. Na konci týdne, během kterého pokus probíhal, byl vypočítán aritmetický průměr pro spotřebu krmiva na myš a den během daného pokusu. Výsledek z prvního pokusu byl potom referenční hodnotou pro další pokusy, které byly s prvním porovnány pomocí jednovýběrového F-testu.

Délka světelného dne byla tvořena jak přirozeným osvětlením, tak umělým svícením řízeným časovým spínačem. Umělé osvětlení bylo využíváno tehdy, nebylo-li k dispozici přirozené denní světlo. Bylo-li pro pokus nutné, aby myši obklopovala tma, byla nádrž T III vložena do kartónové krabice s průduchy. Mimo pokusy bylo prostředí pokusu osvětleno po dobu dvanácti hodin stejně jako během základních podmínek. Ubikace byly čištěny každých pět dní nehledě na to, jestli zrovna probíhal pokus či pětidenní pauza mezi dvěma experimenty. Podestýlkou byly hobliny, hnízdním materiálem kartónové krabičky a trubičky, natrhaný papír a papírové ubrousky a řezanka ze skartovacího stroje. K obrušování zubů a hryzání byly myším předloženy jabloňové větve a korkové zátky. Když byly myši v nádržkách po jedné či po dvou, vždy bylo vybavení ubikací stejné ve všech boxech, aby rozmanitost předmětů obohacujících prostředí neovlivňovala výsledky pokusu.

- **Pokus č. 1:** prvním pokusným týdnem byl stanoven srovnávací standard (dále základní podmínky) pro všechny další pokusy. Za pokojové teploty bylo chováno všech deset myší pohromadě, krmení dostávaly jednou denně. Délka světelného dne byla dvanáct hodin. Dostávaly 150 % doporučené denní dávky diety VELAZ ST – 1, tedy přibližně 10 gramů pelet na myš a den a měly k dispozici hnízdní materiál a předměty k ohryzu. Ve zkratce tedy: **1x 10 myší, krmení standardní směs, 1x denně, 12 hod světlo/12 hod tma, obohacené prostředí.**
- **Pokus č. 2:** ve druhém týdnu dostávaly myši 150 % zjištěné průměrné spotřeby z prvního týdne (přibližně 6,5 g na myš), aby se případně mohla projevit zvýšená žravost (množství 150 % krmné dávky, tedy 6,5 g granulí na myš a den bylo užito ve všech dalších pokusech). Toto množství bylo rozděleno do dvou zhruba polovičních porcí, zbytky byly odklizeny a váženy po dvanácti hodinách. Prostedí bylo obohaceno materiálem pro stavbu hnízda a ohryzem. **1x 10 myší, krmení standardní směs, 2x denně, 12 hod světlo/12 hod tma, obohacené prostředí.**

- **Pokus č. 3:** v tomto pokusu se oproti základním podmínkám měnila početnost krmených skupin. Myši byly zvlášť po jedné v nádobách typu VELAZ T I. Byla krmena standardní dieta podávána v množství cca 6,5 g v jedné denní dávce, světelný den trval dvanáct hodin, prostředí bylo obohacené. **10x 1 myš, krmení standardní směs, 1x denně, 12 hod světlo/12 hod tma, obohacené prostředí.**
- **Pokus č. 4:** čtvrtý týden byly myši drženy v boxech T I po dvou. Délka světelného dne zůstává na dvanácti hodinách, jednou denně je podávána standardní krmná směs (přibližně třináct gramů pro jeden box, tedy pro dvě myši). Myši mají stále k dispozici ohryz a hnízdní materiál. **5x 2 myši, krmení standardní směs, 1x denně, 12 hod světlo/12 hod tma, obohacené prostředí.**
- **Pokus č. 5:** v pátém pokusu jsou myši opět chovány všechny pohromadě, podmínky jsou stejné jako u prvního pokusu, mění se akorát délka světelného dne. Oproti standardu je myším svíceno tak, aby byly ve světle 24 hodin denně. **1x 10 myši, krmení standardní směs, 1x denně, 24 hod světlo/0 hod tma, obohacené prostředí.**
- **Pokus č. 6:** v šestém pokusném týdnu se vůči základním podmínkám opět mění délka osvětlení. Myši tento týden strávily ve tmě, trvající čtyřadvacet hodin denně, krmení bylo k vážení odebíráno a nové dávky doplňovány vždy večer za tmy. **1x 10 myši, krmení standardní směs, 1x denně, 0 hod světlo/24 hod tma, obohacené prostředí.**
- **Pokus č. 7:** i sedmý pokus pracuje s fotoperiodou. Den trvá desetičlenné skupině osm hodin, tma je šestnáct hodin. **1x 10 myši, krmení standardní směs, 1x denně, 8 hod světlo/16 hod tma, obohacené prostředí.**

- **Pokus č. 8:** v osmém pokusu je naposledy zkoumán příjem krmiva za změněných světelných podmínek, hodnoty jsou opačné než v sedmém pokusu. Světlá část dne trvá šestnácti hodin, tma je po dobu osmi hodin. **1x 10 myši, krmení standardní směs, 1x denně, 16 hod světlo/8 hod tma, obohacené prostředí.**
- **Pokus č. 9:** tento týden se vrací doba světla do normálu, myši dostávají pouze krmivo, z prostředí mizí předměty, které mohly myši motivovat k fyzické aktivitě. Myši nedostávají kusy papíru pro vystýlání hnízda, lepenkové krabičky, ve kterých by se ukrývaly a které by mohly okusovat, a rovněž mizí i materiál k ohryzu. **1x 10 myši, krmení standardní směs, 1x denně, 12 hod světlo/12 hod tma, neobohacené prostředí.**
- **Pokus č. 10:** v posledním pokusu byla zaměněna standardní krmná směs. Místo VELAZ ST – 1 byl použit Beaphar Care +, na který byly myši týden před zahájením pokusu plynule navykány postupným zvyšováním jeho podílu v krmné dávce. **1x 10 myši, krmení komerční směsí, 1x denně, 12 hod světlo/12 hod tma, obohacené prostředí.**

4.2 Kmen ICR

Jde o outbrední kmen užívaný k celkovým studiím, v toxikologii, k testování a produkci vakcín. Rovněž se na něm zkoumá stárnutí, onkologie a teratologie. ICR je nejpoužívanějším kmenem v laboratořích, typický dobrým a rychlým růstem, s vysokou intenzitou reprodukce a výbornou schopností svá mláďata odchovávat. Průměrný počet odchovaných mláďat v jednom vrhu je pro kmen IRC 11,5. Většinou jsou tyto myši poměrně krotké a snášenlivé, pro použití v pokusech tedy můžeme počítat s tím, že vůči sobě nebudou agresivní. Samci bývají těžší než samice. Samci dosahují hmotnosti pětácti až čtyřiceti gramů, samice mívají mezi jednatřiceti a sedmatřiceti gramy, rychlost růstu tohoto kmene znázorňuje graf 3.3.3.2 na straně 18 (Harlan laboratories a., 2012).

4.3 Složení použitých diet

V pokusu byly použity dvě diety. První z nich, použitá ve většině pokusů byla od firmy VELAZ, typ ST – 1. Jedná se o kompletní krmnou směs pro myši a potkany v SPF chovech, je možné ji sterilizovat v autoklávech a je běžně užívána v laboratořích. Druhým krmivem bylo komerčně vyráběné krmivo pro potkany Beaphar Care +. Toto bylo zvoleno jednak proto, že je zájmovými chovateli označováno jako jedno z nejchutnějších a myši a potkany nejlépe přijímaných peletovaných krmiv (obdobně dobře je přijímána varianta krmiva pro zakrslé králíky) a jednak je z peletovaných komerčních krmiv, co se týká poměrů živin, nejpodobnější krmivu VELAZ ST – 1. Oba druhy krmení jsou tedy kompletní peletované směsi a nemůže tak docházet k selekci jednotlivých komponent krmiva, což by mohlo vést až už ke zdravotním obtížím, tak k možnému zkreslení výsledků experimentů.

Granule od VELAZu jsou přibližně jeden centimetr silné válečky s průměrnou délkou mezi čtyřmi a pěti centimetry, délka se však různí dle polámanosti granulí. Pelety Beaphar jsou různě veliké i tvarované kousky, lze však říci že mají rozměry přibližně centimetr v průměru a půl centimetru na výšku. Fotografie k porovnání obou krmiv jsou v příloze č. 1. Beaphar granule propadávají násypným krmítkem v drátěném víku boxu T III, byly tedy podávány v misce, přičemž do podestýlky roztahané a zahrabané krmivo bylo každý den pečlivě vybíráno, následně alespoň dvanáct hodin sušeno a až poté váženo. Tabulka 4.3.1 uvádí složení obou diet a tabulka 4.3.2 popisuje obsah živin, minerálů a vitamínů. Aby bylo možné obě diety porovnat, jsou nutriční hodnoty obou krmiv ST – 1 přepočítány na celkový podíl v daném krmivu místo uvedeného podílu v sušině, protože VELAZ ST – 1 má deklarovanou vlhkost 12,5 %, zatímco Beaphar Care + jenom 10,2 %) (Anonym a., 2012; Anonym c., 2012).

Tabulka 4.3.1 Složení diet VELAZ ST – 1 a Beaphar Care +

VELAZ ST – 1	Beaphar Care +
<p>Pšenice (46 %), sójový extrahovaný šrot toastovaný (22 %), rybí moučka (12 %), Kukuřice (6 %), Pšeničné otruby (5 %), Oves setý (3 %), Vojtěšková moučka (horkovzdušné úsušky mladé píce vojtěšky) (2,5 %), Pšeničná mouka krmná (1,5 %), Uhličitan vápenatý (mletý vápenec) (1,2 %), Dihydrogenfosforečnan vápenatý, Chlorid sodný (sůl kamenná, DL-methionin, L-lysin, Vitaminy A, D₃, E, Síran měďnatý pentahydrát (Cu SO₄ . 5 H₂O), Seleničitan sodný, Buthylhydroxyanisol, Butylhydroxytoluen, Etoxyquin</p>	<p>Obiloviny, deriváty rostlinného původu (Yucca Shidigera min. 0,2 %, Echinacea min. 0,05 %) , extrakt rostlinných proteinů, semena, maso a vedlejší masné produkty, minerály, Mannan oligo sacharidy, zelenina (Fructo oligo sacharidy min. 0,0076 %), řasy (Spirulina min. 0,0075 %).</p>

(Zdroj: Anonym a., 2012; Anonym c., 2012)

Tabulka 4.3.2 Celkový podíl nutričních hodnot diet VELAZ ST – 1 a Beaphar Care + v 1 kg krmiva

Živina / vitamin / minerální látka	VELAZ ST – 1	Beaphar Care +
dusíkaté látky	21 %	20,21 %
tuk	2,98 %	4,49 %
popeloviny	5,95 %	4,58 %
vláknina	3,85 %	4,04 %
Ca	9,63 g	7,99 g
P	6,3 g	6,02 g
Na	1,58 g	2,33 g
Cu	17,5 mg	20,92 mg
Vitamin A	24500 m. j.	1248,2 m. j.
Vitamin D ₃	1925 m. j.	1652,32 m. j.
Vitamin E	87,5 m. j.	141,88 m. j.

(Zdroj: Anonym a., 2012; Anonym c., 2012)

4.4 Použité chovné nádoby

Pro pokus byly zvoleny chovné nádoby vyráběné firmou VELAZ. Konkrétně byl použit typ T III a menší plastové nádržky, shodných rozměrů s boxy VELAZ T I. Nádoby od VELAZu byly opatřeny tradičním drátěným víkem, menší nádoby měly plastová víka s vyvrtanými průduchy a otvory pro vsunutí kapacích kovových trubiček, které jsou součástí napáječek. Fotografie v přílohách č. 2 a 3 dokumentují oba typy použitých chovných nádob včetně jejich vybavení .

Tabulka 4.4.1 znázorňuje VELAZem doporučená množství chovaných myší dle jejich hmotnosti v boxech různých rozměrů. Tyto počty zvířat jsou dle výrobce v souladu přílohou č. 2 k vyhlášce 207/2004 Sb. (Anonym b., 2012).

Tabulka 4.4.1 Doporučené množství myší chovaných v nádržích typu T I–IV firmy VELAZ

Typ nádrže	Rozměry nádrže (mm)	Doporučený počet myší dle jejich hmotnosti
T I	š x d = 245 x 110, v = 140	10g -> 4 ks 20g -> 3 ks 30g -> 2 ks 40g -> 2 ks
T II	š x d = 245 x 185, v = 140	10g -> 7 ks 20g -> 5 ks 30g -> 4 ks 40g -> 3 ks
T III	š x d = 395 x 235, v = 160	10g -> 18 ks 20g -> 12 ks 30g -> 8 ks 40g -> 6 ks
T IV	š x d = 555 x 345, v = 200	10g -> 47 ks 20g -> 27 ks 30g -> 21 ks 40g -> 16 ks

(Zdroj: Anonym b., 2012)

5 VLASTNÍ PRÁCE

Kromě zajišťování patřičných podmínek pro pokusy popsanych v předešlé kapitole, spočívala každodenní práce výzkumu především v rozvažování nového krmiva a odklizení a vážení krmiva zbylého. Denní dávky granulí byly vždy naváženy na váze s přesností na setiny gramu, nachystány do nádobek označených datem, pro které byly určeny, a opatřeny štítkem s naváženou hmotností. Myšim byla potrava podávána vždy navečer, kolem deváté hodiny (v případě podávání krmiva během dne nadvakrát, byla jedna dávka podána v devět hodin ráno a druhá v devět večer). Před podáním nové dávky byly vždy odebrány zbytky dávky předešlé, ty se zvažily a hmotnost zbytku se odečetla od hmotnosti, kterou měla celá dávka, tedy od hmotnosti zaznamenané na patřičném štítku. Tyto hodnoty pak byly využity pro vypočítání průměrů a následně pak i vyhodnocení jednovýběrovým F-testem.

Tabulky 5.1 – 5.10 obsahují data získaná z pokusu na deseti myších, přepočet spotřeby krmiva na jednu myš a průměrné spotřeby krmiva na jednu myš pro každý celý pokus.

Tabulka 5.1: Výsledky pro pokus č. 1: **1x 10 myši, krmení standardní směs, 1x denně, 12 hod světlo/12 hod tma, obohacené prostředí**

den pokusu	celková spotřeba deseti myší (g)	průměrná spotřeba jedné myši (g)	celkový průměr na jednu myš (g)
1	33,24	3,324	
2	40,41	4,041	
3	49,01	4,901	
4	45,20	4,520	
5	48,13	4,813	
6	45,49	4,549	
7	41,51	4,151	4,328

(tabulka: autorka)

Tabulka 5.2: Výsledky pro pokus č. 2: **1x 10 myši, krmení standardní směs, 2x denně, 12 hod světlo/12 hod tma, obohacené prostředí**

den pokusu	celková spotřeba deseti myši (g)	průměrná spotřeba jedné myši (g)	celkový průměr na jednu myš (g)
1	33,84	3,384	4,125
2	36,85	3,685	
3	40,64	4,064	
4	42,45	4,245	
5	47,69	4,769	
6	44,53	4,453	
7	42,78	4,278	

(tabulka: autorka)

Tabulka 5.3: Výsledky pro pokus č. 3: **10x 1 myš, krmení standardní směs, 1x denně, 12 hod světlo/12 hod tma, obohacené prostředí**

den pokusu	číslo myši										denní průměr (g)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	2,44	4,12	3,21	3,16	3,72	3,12	3,22	2,95	2,98	3,50	3,242
2	2,35	4,06	3,04	3,44	3,61	2,99	2,95	2,62	3,15	3,62	3,183
3	3,08	2,09	1,76	3,22	2,65	3,12	2,40	3,39	2,17	2,02	2,590
4	1,65	1,71	2,40	4,20	2,24	2,92	2,44	2,89	2,75	2,32	2,552
5	3,55	3,43	1,54	4,68	3,57	3,53	3,80	4,44	3,12	3,96	3,562
6	2,42	3,80	3,21	3,91	3,63	3,70	4,15	4,09	4,32	3,02	3,625
7	2,20	2,75	2,17	3,24	2,76	2,77	2,69	2,92	2,63	2,64	2,677
průměr myši v pokusu (g)	2,527	3,137	2,476	3,693	3,169	3,164	3,093	3,329	3,017	3,011	
celkový průměr na myš a den (g)											3,062

(tabulka: autorka)

Tabulka 5.4: Výsledky pro pokus č. 4: **5x 2 myši, krmení standardní směs, 1x denně, 12 hod světlo/12 hod tma, obohacené prostředí**

číslo boxu den pokusu	1	2	3	4	5	denní průměr (g)
1	7,80	6,40	5,72	6,03	6,66	3,261
2	8,64	5,83	7,56	9,12	7,28	3,843
3	9,26	5,20	8,02	8,95	8,13	3,956
4	8,41	7,85	8,08	10,58	9,36	4,428
5	8,92	5,98	7,80	9,07	8,62	4,039
6	8,62	6,24	7,41	8,78	7,98	3,903
7	8,57	6,28	7,43	8,69	8,05	3,902
průměr dvojice v pokusu (g)	4,301	3,127	3,716	4,373	4,006	
celkový průměr na myš a den (g)						3,905

(tabulka: autorka)

Tabulka 5.5: Výsledky pro pokus č. 5: **1x 10 myši, krmení standardní směs, 1x denně, 24 hod světlo/0 hod tma, obohacené prostředí.**

den pokusu	celková spotřeba deseti myši (g)	průměrná spotřeba jedné myši (g)	celkový průměr na jednu myš (g)
1	41,26	4,126	
2	46,28	4,628	
3	37,91	3,791	
4	45,03	4,503	
5	40,33	4,033	
6	42,63	4,263	
7	44,26	4,426	4,253

(tabulka: autorka)

Tabulka 5.6: Výsledky pro pokus č. 6: **1x 10 myši, krmení standardní směs, 1x denně, 0 hod světlo/24 hod tma, obohacené prostředí.**

den pokusu	celková spotřeba deseti myši (g)	průměrná spotřeba jedné myši (g)	celkový průměr na jednu myš (g)
1	41,93	4,193	
2	42,33	4,233	
3	39,64	3,964	
4	38,88	3,888	
5	37,77	3,777	
6	38,43	3,843	
7	38,27	3,827	

(tabulka: autorka)

Tabulka 5.7: Výsledky pro pokus č. 7: **1x 10 myši, krmení standardní směs, 1x denně, 8 hod světlo/16 hod tma, obohacené prostředí**

den pokusu	celková spotřeba deseti myši (g)	průměrná spotřeba jedné myši (g)	celkový průměr na jednu myš (g)
1	42,76	4,276	
2	42,17	4,217	
3	42,23	4,223	
4	40,16	4,016	
5	44,09	4,409	
6	41,83	4,183	
7	42,59	4,259	

(tabulka: autorka)

Tabulka 5.8: Výsledky pro pokus č. 8: **1x 10 myší, krmení standardní směs, 1x denně, 16 hod světlo/8 hod tma, obohacené prostředí**

den pokusu	celková spotřeba deseti myší (g)	průměrná spotřeba jedné myši (g)	celkový průměr na jednu myš (g)
1	45,58	4,558	4,306
2	37,12	3,712	
3	46,55	4,655	
4	38,13	3,813	
5	45,65	4,565	
6	44,98	4,498	
7	43,42	4,342	

(tabulka: autorka)

Tabulka 5.9: Výsledky pro pokus č. 9: **1x 10 myší, krmení standardní směs, 1x denně, 12 hod světlo/12 hod tma, neobohacené prostředí**

den pokusu	celková spotřeba deseti myší (g)	průměrná spotřeba jedné myši (g)	celkový průměr na jednu myš (g)
1	41,82	4,182	4,354
2	46,76	4,676	
3	41,71	4,171	
4	43,95	4,395	
5	42,78	4,278	
6	43,06	4,306	
7	44,70	4,470	

(tabulka: autorka)

Tabulka 5.10: Výsledky pro pokus č. 10: **1x 10 myši, krmení komerční směsí, 1x denně, 12 hod světlo/12 hod tma, obohacené prostředí**

den pokusu	celková spotřeba deseti myši (g)	průměrná spotřeba jedné myši (g)	celkový průměr na jednu myš (g)
1	42,04	4,204	3,994
2	37,34	3,734	
3	40,21	4,021	
4	37,71	3,771	
5	40,98	4,098	
6	39,60	3,960	
7	41,69	4,169	

(tabulka: autorka)

Průměrnou intenzitu příjmu krmiva během základních podmínek můžeme považovat za 100 %. Každé další výsledky z ostatních pokusů je pak možno vyjádřit v procentech, vztažených ke stu procentům právě z prvního pokusu. Tyto hodnoty jsou uspořádány v tabulce 5.11. Z této tabulky je možno zjistit, že při všech pokusech žraly myši méně než v prvním měřeném týdnu, tedy kromě devátého pokusu, kdy zvířata neměla obohacené prostředí. Tehdy myši zkonsumovaly potravu více než v základních i jiných podmínkách.

Tabulka 5.11: Změny intenzity příjmu krmiva v jednotlivých pokusech srovnané se základními podmínkami

Číslo pokusu	Průměrná spotřeba krmiva na jednu myš v pokusu (g)	%
1	4,328	100,00
2	4,125	95,31
3	3,062	70,75
4	3,905	90,23
5	4,253	98,27
6	3,961	91,52
7	4,226	97,64
8	4,306	99,49
9	4,354	100,60
10	3,994	92,28

(tabulka: autorka)

Z předešlé tabulky můžeme dojít k závěru, že se žádné dva pokusy neshodují v množství sežraných granulí. Avšak z doposud získaných výsledků ještě není patrné, jsou-li rozdíly statisticky významné. Proto byl využit program STATISTICA a jednovýběrový F-test pro porovnání průměrů všech pokusů se standardem. Standardem rozumíme nějakou referenční konstantu, v našem případě výsledná průměrná žravost z pokusu se základními podmínkami, tedy 4,328 g krmiva. Tabulka 5.12 je výstupem právě z programu STATISTICA. Jestliže je hodnota p menší nebo rovna 0,05, znamená to, že mezi průměrem prvního pokusu a průměrem pokusu s menším p je s 95% pravděpodobností statisticky průkazný rozdíl. Takové hodnoty (celé řádky daných pokusů) jsou v tabulce pro větší názornost vyznačeny tučnou kurzívou.

Tabulka 5.12: Testy průměrů vůči referenční konstantě, tj. průměru z prvního pokusu

	Průměr	Sm. odch.	N	Referenční konstanta	t	SV	p
1. pokus = standard	4,328333	0,543168	7	4,328333	0,00000	6	0,999999
2. pokus	4,125476	0,466592	7	4,328333	-1,15027	6	0,293804
3. pokus	3,061571	0,455543	7	4,328333	-7,35723	6	0,000323
4. pokus	3,904571	0,344644	7	4,328333	-3,25312	6	0,017398
5. pokus	4,252619	0,291969	7	4,328333	-0,68610	6	0,518269
6. pokus	3,960595	0,181872	7	4,328333	-5,34962	6	0,001745
7. pokus	4,226190	0,117769	7	4,328333	-2,29468	6	0,061547
8. pokus	4,306071	0,384350	7	4,328333	-0,15324	6	0,883231
9. pokus	4,353810	0,178014	7	4,328333	0,37865	6	0,717986
10. pokus	3,993929	0,184811	7	4,328333	-4,78732	6	0,003040

(tabulka: autorka)

S těmito výsledky můžeme konstatovat, že statisticky průkazný rozdíl ve žravosti je u pokusů, kde byly myši chovány v menších skupinách (pokusy č. 3 a 4), dalším pokusem se statisticky průkazným rozdílem bylo držení myši zcela potmě. Významný rozdíl ve žravosti se projevil i při podávání komerčního krmiva určeného pro zájmové chovy. Pozoruhodný je fakt, že všechny pozorované rozdíly se týkají pouze snížené konzumace granulí a žádné z podmínek u myši nevyvolaly průkazně větší zájem o krmivo. Tímto **můžeme potvrdit hypotézu ve znění: „Laboratorní myši budou projevovat různou žravost během různě pozměňovaných podmínek prostředí a výživy“**. Přinejmenším tedy některé z podmínek přiměly myši ke snížení příjmu krmiva.

6 DISKUZE

Je všeobecně známo, že potrava a její příjem má přímý vliv na zdraví zvířat i člověka. Intenzita příjmu krmiva je ovlivněna řadou faktorů i jejich souhrou. Jak nedostatečný, tak nadbytečný příjem může být příčinou různých onemocnění, od obezity přes diabetes až po výskyt tumorů. Je proto nezbytné kromě kvantity přijaté potravy sledovat i její kvalitu, tedy složení a vzájemné poměry živin, vitaminů a minerálů.

Jedním z faktorů ovlivňujících příjem krmiva je např. světlo, především délka jeho trvání v průběhu čtyřadvaceti hodin. Navzdory tomu, že se u myši dala očekávat zvýšená konzumace potravy při prodloužení světelné části dne, rozdíly nebyly statisticky průkazné ani u jednoho ze dvou pokusů, kdy byla doba světelného záření prodloužena. Stejně tak ani zkracování dne nevedlo ke změně žravosti. Je tedy otázkou, jestli světlo působí samostatně nebo je vázáno např. i na vyšší hluk během světlé periody.

Naopak zvýšená spotřeba krmiva byla očekávána během pokusu, kdy nebyl k dispozici hnízdni materiál, úkryty, ani předměty určené k okusu. Nejen v zoologických zahradách se ošetřovatelé snaží obohacovat prostředí, ve kterém chovaná zvířata žijí, ať už kvůli prevenci nadbytečné konzumace, nebo kvůli potlačení stereotypního chování. I když během experimentu, při němž chybělo v ubikaci jakékoliv obohacení, spotřeba mírně stoupla, rozdíl ve žravosti nebyl proti normálním podmínkám statisticky průkazný.

Dále bylo předpokládáno, že komerční krmivo, zájmovými chovateli hodnocené jako jedno z nejchutnějších na trhu, bude pro myši lákavé a zkonsumují ho tak více než standardních pelet, které byly užívány ve všech ostatních pokusech. Myši nejenže nekonsumovaly komerčních granulí víc, ale ještě byl zaznamenán významný pokles žravosti oproti normálu. Je ovšem možné, že kromě chutnosti granulí zde měl vliv i fakt, že komerční granule byly malé a propadávaly násypným krmítkem, proto byly podávány v misce a myši je během dne roztahaly po ubikaci. Když pak chtěly granule konzumovat, musely je hledat v podestýlce, což je na nějaký čas zaměstnalo. V podstatě tak bylo vytvořeno přirozeně obohacené prostředí, které dále mohlo ovlivňovat intenzitu příjmu krmiva. K ověření této domněnky by bylo vhodné upravit podmínky pokusu tak, aby krmivo nemohlo být roztaháno do prostředí, nebo naopak aby i ve standardních podmínkách mohly myši krmivo ukrývat do podestýlky a musely jej hledat pokaždé, když by dostaly hlad. Teprve potom by bylo možné

žravost během obou pokusů porovnávat. Pokusy rovněž potvrdily, že myši projevovaly menší zájem o krmivo, když byly drženy jednotlivě nebo ve dvojicích. Myši se evidentně navzájem motivují k vyšší spotřebě diety (stejně tak tomu je i u většiny ostatních skupinově žijících zvířat, kdy kompetice urychluje příjem potravy a zvětšuje i její zkonsumované množství).

Obdobný vliv kompetice na zvýšení intenzity příjmu krmiva se dal očekávat i u experimentu, kde byla dieta podávána dvakrát denně. Je chovatelskou praxí, že zvířata různých druhů zkonsumují více potravy, je-li tato rozdělena do několika krmných dávek během dne. Experiment na myších provedený pro tuto práci však zvýšenou žravost nepotvrdil. Je pravděpodobné, že myši nově dosypané krmivo nenalákalo, neboť byly zvyklé na neustálou přítomnost standardní směsi, která navíc neobsahuje lákavější komponenty, o které by myši mohly mezi sebou soupeřit. Aby se u myši projevila zvýšený zájem o krmivo, bylo by patrně nutné, aby si zvykly, že část dne potrava k dispozici není a dosypání nové dávky krmiva by pak spíše vzbudilo jejich pozornost. Pro další výzkum by mohlo být zajímavým námětem zjistit, jak dlouhá doba by byla potřebná k tomu, aby myši začaly na podávání krmiva dvakrát denně reagovat zvýšenou spotřebou krmiva.

Za zmínku stojí fakt, že po skončení všech pokusů byly myši krmeny kromě VELAZ peletami i super prémiovými granulemi pro štěňata, tvrdým pečivem, vařenými bramborami a zeleninou a ovocem v menším množství (myším bylo podáváno jablko, mrkev, zelí, čínské zelí, hroznové víno, okurka, paprika, hruška, květák, brokolice, rajčata...), a i když bylo všechno nabízené krmivo podáno zároveň v násypném krmítku, myši preferovaly všechno ostatní před kompletními peletami. Možná by tedy bylo vhodné zamyslet se nad skladbou krmení, protože myši vždy během pár dní zkonsumovaly všechno pečivo a psí granule, malé porce zeleniny zkonsumovaly vždy přes noc a krmivo od VELAZu v krmítku zůstalo. Přitom bylo podáno v množství, které by myši zkonsumovaly během dvou dní, kdyby neměly na výběr i z ostatních potravin. Je tedy otázka, jestli jsou kompletní granule tak málo chutné, nebo jestli myši preferují jiný poměr živin, protože i když odmítaly kompletní granule, ostatní složky diety konzumovaly rovnoměrně – tedy sežraly vždy od všeho trochu. Rozhodně by bylo zajímavé zjistit jejich reálnou kalorickou spotřebu při příjmu peletované kompletní směsi a různorodé diety a rovněž zjistit a porovnat příjem a poměr jednotlivých živin při obou způsobech krmení.

7 ZÁVĚR

V práci byla charakterizována myš domácí a myš laboratorní, bylo popsáno prostředí, ve kterém žijí a jejich způsob života. Literární rešerše se věnovala i potravě myši žijících volně i v péči člověka. Bylo provedeno deset pokusů zjišťujících intenzitu příjmu krmiva během různých podmínek prostředí a výživy, přičemž devět z nich bylo srovnáváno s prvním, jehož výsledky definovaly základní podmínky. Statistickým porovnáním výsledků všech pokusů s výsledky pokusu prvního pak byla potvrzena hypotéza, totiž že **laboratorní myši během různě pozměňovaných podmínek prostředí a výživy projevují různou žravost**. Statisticky průkazné rozdíly vyšly u čtyř pokusů, u všech se jednalo o snížení příjmu krmiva.

Byly to tyto:

- 1) rozdělení myši do boxu po jedné oproti původním deseti myším na box
- 2) rozdělení myši do boxu po dvojicích oproti původním deseti myším na box
- 3) chov myši za tmy
- 4) krmení komerčního krmiva Beaphar Care + Rat oproti dietě VELAZ ST-1 užívané standardně.

Tyto poznatky mohou být užity pro cílenou úpravu spotřeby krmiva u laboratorních myši.

POUŽITÁ LITERATURA

TIŠTĚNÉ ZDROJE

Alderton, D. 2000. Chov domácích miláčků. Columbus, Praha, 192 s. ISBN 80-7249-054-0

Benevega, J. 1995. Nutrient requirements of laboratory animals. National Academy Press, Washington D. C. 192 s. ISBN 0-309-05126-6

Bielfeld, H. 2002. Myši, správná péče a porozumění. Vašut, Praha, 72 s. ISBN 80-7236-158-9

Clark, J. D. 1996. Guide for the care and use of laboratory animals. National Academy of Sciences, Washington D. C. 140 s. ISBN 0-309-05377-3

Hájková, P. 2005. Hlodavci ve veterinární ordinaci II. díl. Herriot, 3 (12), 2–5

Hand, S., M., Thatcher, C., D., Remillard, R., L., Roudebush, P., Novotny, B., J. 2010. Small Animal Clinical Nutrition. Mark Morris Institute. Topeka, Kansas. 1314 s. ISBN 0-615297-01-3

Hartmann, M. 2008. Extrakce hypselodontních zubů u hlodavců a zajícovitých. Veterinární lékař, 6 (2), 69–74, ISSN 1214-3774

Hedrich, H., J., Bullock, G. 2004. The laboratory mouse. Elsevier academic press, London. 2202 s. ISBN 0-12-336425-6

Olfert, E., D., Cross, B., M., McWilliam, A., A. 1993. Guide to the care and use of experimental animals. Canadian council on animal care, Ottawa. 298 s. ISBN 0-919087-18-3

Reichholf, J. 1996. Savci. Ikar, Praha, 287 s. ISBN 80-85944-37-5

Russel, W., M., S., Burch, R. L. 1959. The Principles of Humane Experimental Technique. Johns Hopkins University, United States. 238 s. ISBN 978-0900767784

Van der Weerd, H., A., Aarsen, E., L., Mulder, A., Kruitwagen, C., L., J., J., Hendriksen, C., F., M., Baumans, V. 2002. Effects of environmental enrichment for mice: variation in experimental results. Journal of applied animal welfare science, 5 (2), 87-109

Velenská, N. 2007. Hlodavci. Robimaus, Rudná u Prahy, 167 s. ISBN 978-80-903-3572-1

Verkhoef-Verhallen, E. 1999. Encyklopedie králíků a hlodavců. Rebo productions, Čestlice, 320s. ISBN 80-7234-039-5

Vyhláška č. 207/2004 Sb., příloha č. 2

INTERNETOVÉ ZDROJE

Anonym a. Beaphar Care + potkan [on-line]. 2012 [cit. 25. 2. 2012]. Dostupné z <<http://www.beaphar.cz/hlodavci/25-krmivo/82-care-potkan>>

Anonym b. Rozměry polypropylenových chovných nádob řady –T [on-line]. 2012 [cit. 28. 2. 2012]. Dostupné z <<http://www.velaz.cz/documents/nabidka-chz-mysi-potkani.pdf>>

Anonym c. Krmné směsi z tuzemské produkce [on-line]. 2012 [cit. 3. 3. 2012]. Dostupné z <<http://www.velaz.cz/?url=krmne-smesi-tuzemska-produkce>>

Fonken, L., K., Workman, J., L., Walton, J., C., Weil, Z., M., Morris, J., S., Haim, A., Nelson, J., R. Light at night increases body mass by shifting the time of food intake [on-line]. 2010 [cit. 3. 3. 2012]. Dostupné z <<http://www.pnas.org/content/107/43/18664.full>>

Harkness, J. Pet Rodents Need Special Diet, Care [on-line]. 15. 6. 1998 [cit. 6. 3. 2012]. Dostupné z <<http://msucares.com/news/print/cvm/cvm98/980615jh.htm>>

Harlan laboratories a. ICR outbred mice [on-line]. 2012 [cit 12. 1. 2012]. Dostupné z <http://www.harlan.com/products_and_services/research_models_and_services/research_models/icr_cd1_outbred_mice.html>

Harlan laboratories b. Enrichment products [on-line]. 2012 [cit 12. 1. 2012]. Dostupné z <http://www.harlan.com/products_and_services/research_models_and_services/bedding_and_enrichment_products/enrichment_products.html>

Jennings, M., Batchelor, B., R., Brain, P., F., Dick, A., Elliott, H., Francis, R., J., Hubrecht, R., C., Hurst, J., L., Morton, D., B., Peters, A., G., Raymond, R., Sales, G., D., Sherwin, M., C., West, C. Refining rodent husbandry: The mouse [on-line]. 1998 [cit 12. 1. 2012]. Dostupné z <<http://www.rspca.org.uk/ImageLocator/LocateAsset?asset=document&assetId=1232712323170&mode=prd>>

Kay, E. H., Hoekstra, H. E. Rodents [on-line]. 19. 5. 2008 [cit 20. 2. 2012]. Dostupné z <http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6VRT-4SJ91G8-9&_user=10&_coverDate=05%2F20%2F2008&_alid=1042804859&_rdoc=9&_fmt=high&_orig=search&_cdi=6243&_sort=r&_docanchor=&view=c&_ct=285&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=cd7a9d4e0c6f35906e5519ec5dc44db2>

Matyáščík, T. Zubní vzorce savců [on-line]. 17. 8. 2001 [cit 20. 2. 2012]. Dostupné z <http://www.savci.upol.cz/teorie/zubni_vzorce.htm>

Taconic Farms, Inc. Traditional models [on-line]. 2006–2012 [cit 26. 1. 2012]. Dostupné z <<http://www.taconic.com/wmspage.cfm?parm1=1575>>

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1: Srovnávací fotografie krmiv Beaphar Care + Rat a VELAZ ST – 1

Příloha 2: Fotografie zařízené a obydlené nádrže typu VELAZ T III

Příloha 3: Fotografie zařízené a obydlené nádrže, rozměry srovnatelné s typem VELAZ T I

PŘÍLOHY

Příloha 1: Srovnávací fotografie krmiv VELAZ ST – 1 (vlevo) a Beaphar Care + Rat (vpravo)



(foto: autorka)

Příloha 2: Fotografie zařízené a obydlené nádrže typu VELAZ T III



(foto: autorka)

Příloha 3: Fotografie zařízené a obydlené nádrže, rozměry srovnatelné s typem VELAZ T I



(foto: autorka)