

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



**Česká zemědělská
univerzita v Praze**

**Vliv změny diety na mikrobiotu gibbonů
(*Nomascus gabriellae*)**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Tereza Benešová

Obor studia: Výživa zvířat a dietetika

Vedoucí práce: doc. Ing. Věra Neužil Bunešová, Ph.D.

© 2021 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv změny diety na mikrobiotu gibbonů (*Nomascus gabriellae*)" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 26. 4. 2021

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala doc. Ing. Věře Neužil Bunešové, Ph.D. za její odborné a pečlivé vedení, cenné rady, ochotu, věnovaný čas, trpělivost a pomoc při zpracování této diplomové práce. Dále bych ráda poděkovala kolektivu pracovníků Katedry mikrobiologie, výživy a dietetiky (ČZU v Praze) za poskytnutí pracovního prostoru a vytvoření vhodných pracovních podmínek. Poděkování patří také Ing. Petře Bolechové, Ph.D. a Ing. Jitce Vokurkové za pomoc a poskytnutí potřebných informací. Rovněž děkuji za odborné rady, konzultace a pomoc při práci v laboratoři Ing. Nikol Modráčkové.

Také bych chtěla poděkovat své rodině a přátelům za podporu během celé doby studia.

Vliv změny diety na mikrobiotu gibbonů (*Nomascus gabriellae*)

Souhrn

Střevní mikrobiota hraje klíčovou roli v různých aspektech týkajících se zdraví lidí i zvířat, včetně trávení a metabolismu živin, vývoje a funkce imunitního systému, ochrany před infekcemi a patogeny, vývoje nervového systému a má rozšířený vliv i mimo gastrointestinální trakt (GIT). Na činnost a složení mikrobioty GIT má vliv řada faktorů vnějšího prostředí. Jedním z hlavních faktorů je dieta. Optimální živinové složení krmné dávky a správná technika krmení jsou základem pro zdraví a welfare gibbonů chovaných v zajetí.

Praktickým cílem práce bylo kvantitativně stanovit vybrané skupiny mikroorganismů před a po změně krmné dávky u vybraných jedinců gibbonů chovaných v zoologické zahradě. Snahou bylo ověřit vliv složení krmné dávky, na základě výpočtu procentuálního zastoupení živin (sušina, bílkoviny, tuky, vláknina, sacharidy, glukóza, fruktóza, sacharóza, ADF a NDF), na složení střevní mikrobioty gibbonů. V rámci experimentu byly použity fekální vzorky od čtyř jedinců gibbonů zastupující dvě rodiny (rodina Miloš – samec a samice, rodina Rony – samec a samice) jednoho druhu (gibon zlatolící – *Nomascus gabriellae*) ze Zoologické zahrady Olomouc. Výzkum probíhal od května do září roku 2019. Pro stanovení vybraných skupin mikroorganismů byla použita kultivační desková metoda za pomoci selektivních médií. Hodnoceny byly skupiny mikroorganismů patřící mezi komenzální mikroby, které by měly pozitivně ovlivňovat mikrobiotu gibbonů, dále pak koliformní bakterie a *Escherichia coli*. Pro identifikaci detekovaných mikroorganismů byla využita metoda hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF MS.

Dieta se změnila tak, že bylo gibbonům podáváno nižší množství ovoce a vyšší množství zeleniny. Na základě kalkulace živin byl po změně diety u rodiny Miloš zjištěn statisticky významný rozdíl v obsahu bílkovin, tuku, vlákniny, sacharidů, glukózy, fruktózy a ADF. U rodiny Rony byl po změně zjištěn statisticky významný rozdíl v obsahu sušiny, bílkovin, tuku, vlákniny, sacharidů, glukózy, fruktózy, sacharózy a ADF. Dle statistických analýz byl u rodiny Miloš po změně diety zjištěn významný rozdíl v detekovaných počtech laktobacilů a koliformních bakterií. U rodiny Rony byl zjištěn statisticky významný rozdíl v počtech laktobacilů a bifidobakterií (na agaru BIF-MUP-NORF). Celkově byly detekované počty velmi variabilní, což bylo pravděpodobně způsobeno nedostatečnou selektivitou médií. Předpokládalo se, že po změně krmné dávky dojde ke změnám v kvantitativním zastoupení bakterií *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Escherichia coli* a koliformních bakterií. Tento předpoklad byl ne zcela potvrzen. Druhovému složení detekované na médiích bylo obdobné před i po změně krmné dávky. Je třeba provést další studie s více jedinci, větším množstvím vzorků a využitím molekulárně genetických metod. Současně by bylo vhodné v rámci budoucích výzkumů obohatit krmnou dávku o prebiotické, anebo probiotické doplňky, což by mohlo přinést zásadnější posuny ve složení mikrobioty gibbonů.

Klíčová slova: dieta, vláknina, mikrobiota, kultivace, probiotika, *Hylobatidae*

Effect of diet change on gibbons microbiota (*Nomascus gabriellae*)

Summary

The intestinal microbiota plays a key role in various aspects related to human and animal health, including digestion and nutrient metabolism, development and function of the immune system, protection against infections and pathogens, nervous system development and has widespread effects outside the gastrointestinal tract (GIT). The activity and composition of the GIT microbiota are influenced by many environmental factors. One of the main factors is diet. The optimal nutrient composition of the feed ration and the correct feeding technique are the basis for the health and welfare of captive-bred gibbons.

The practical goal of the work was to quantify selected groups of microorganisms before and after changing the feed ration in selected individuals of gibbons kept in the zoo. The aim was to verify the effect of feed ration composition, based on the calculation of the percentage of nutrients (dry matter, protein, fat, fiber, carbohydrates, glucose, fructose, sucrose, ADF and NDF), on the composition of the intestinal microbiota of gibbons. Fecal samples from four gibbons representing two families (Miloš family – male and female, Rony family – male and female) of one species (Yellow-cheeked gibbon – *Nomascus gabriellae*) from the Olomouc Zoo were used in the experiment. The research took place from May to September 2019. A culture plate method using selective media was used to determine selected groups of microorganisms. Groups of microorganisms belonging to the commensal microbes that should positively affect the microbiota of gibbons, as well as coliform bacteria and *Escherichia coli* were evaluated. The MALDI-TOF MS mass spectrometry method was used to identify the detected microorganisms.

The diet was changed so that the gibbons were given less fruit and more vegetables. Based on the calculation of nutrients, a statistically significant difference in the content of protein, fat, fiber, carbohydrates, glucose, fructose and ADF was found in the Miloš family after a change in diet. After the change, a statistically significant difference in the content of dry matter, protein, fat, fiber, carbohydrates, glucose, fructose, sucrose and ADF was found in the Rony family. According to statistical analyzes, a significant difference in the detected numbers of lactobacilli and coliform bacteria was found in the Miloš family after a change in diet. A statistically significant difference in the numbers of lactobacilli and bifidobacteria (on BIF-MUP-NORF agar) was found in the Rony family. Overall, the numbers detected were very variable, probably due to insufficient media selectivity. Changes in the quantitative representation of *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Escherichia coli* and coliform bacteria were expected to occur after a change in the feed ration. This assumption was not fully confirmed. The species composition detected on the media was similar before and after the change in the feed ration. Further studies are needed with more individuals, more samples and the use of molecular genetic methods. At the same time, it would be appropriate in future research to enrich the feed ration with prebiotic or probiotic supplements, which could bring about more fundamental shifts in the composition of gibbons microbiota.

Keywords: diet, fiber, microbiota, cultivation, probiotics, *Hylobatidae*

Obsah

1 Úvod	1
2 Vědecká hypotéza.....	2
3 Cíl práce.....	3
4 Literární rešerše.....	4
4.1 Obecná charakteristika gibbonů.....	4
4.1.1 Výskyt gibbonů.....	5
4.1.2 Identifikace druhů.....	6
4.1.3 <i>Nomascus gabriellae</i> – gibbon zlatolící	7
4.1.4 Sociální skupiny.....	8
4.2 Charakteristika trávicího traktu primátů	8
4.2.1 Morfologie trávicí soustavy	9
4.2.2 Fyziologie trávicí soustavy	10
4.2.3 Rozdělení primátů na základě potravní specializace	11
4.3 Potravní ekologie gibbonů	12
4.3.1 Potrava ve volné přírodě.....	13
4.3.2 Potrava v zajetí	14
4.4 Mikrobiota gastrointestinálního traktu gibbonů	15
4.5 Možnosti modulace mikrobioty	18
4.5.1 Dieta.....	18
4.5.2 Probiotika.....	21
4.5.3 Prebiotika.....	23
4.5.4 Vliv vlákniny na mikrobiotu.....	24
4.5.5 Další významné faktory	26
5 Materiál a metody	28
5.1 Chovatelská data a podklady	28
5.1.1 Zoologická zahrada Olomouc.....	28
5.2 Metodika odběru fekálních vzorků a sběru dat	28
Odběr vzorků.....	28
Použité vzorky.....	28
5.3 Výpočet složení krmné dávky	29
5.4 Mikrobiologická analýza fekálních vzorků	30
5.4.1 Použitá média pro detekci mikroorganismů	30
5.4.2 Kultivační stanovení vybraných skupin mikroorganismů	31
5.4.3 Kvantifikace.....	33
5.4.4 Izolace narostlých kolonií bakterií.....	33
5.4.5 MALDI-TOF MS (Extrakce pomocí ethanolu a kyseliny mravenčí).....	34
5.4.6 Identifikace detekovaných mikroorganismů.....	34

5.5	Statistická analýza.....	34
6	Výsledky	35
6.1	Změna diety	35
6.2	Analýza složení potravy	36
6.2.1	Původní dieta	36
6.2.2	Nová dieta	37
6.3	Kultivační stanovení.....	37
6.4	Detekované počty mikroorganismů.....	38
7	Diskuze	41
8	Závěr.....	44
9	Literatura.....	45
10	Seznam použitých zkratk a symbolů	57

1 Úvod

Gastrointestinální trakt (GIT) všech živočichů včetně člověka je osídlen společenstvím mikroorganismů, které je souhrnně nazýváno mikrobiota. Mikrobiota představuje důležitou složku organismu, která se podílí na jeho správném fungování. Mikroorganismy GIT jsou tělu prospěšné a zastávají mnoho funkcí např. bariérovou, metabolickou, regulační a další. Ve většině případů hostiteli prospívají, ale mohou působit i negativně. Aktivitu a obsah střevní mikrobioty ovlivňují faktory jako je dieta, věk, zdravotní stav, stres, antibiotika aj. Složení mikrobioty trávicího traktu se v průběhu života jedince mění a je pro každého jedince odlišné. Významným bakteriálním rodem nacházejícím se v GIT lidí i zvířat zejména v období mléčné výživy je rod *Bifidobacterium*. Tyto bakterie jsou však typické i pro mikrobiotu dospělých jedinců. V posledních letech byly provedeny výzkumy potvrzující četné zastoupení této bakteriální skupiny v mikrobiotě primátů.

Giboni patří mezi lidoopy společně s orangutany, šimpanzi a gorilami. Jedná se o druhy vyskytující se převážně v Jihovýchodní Asii, především v tropických deštných lesích, kde obývají stromová patra. Je pro ně typický způsob pohybu tzv. brachiace, kdy se pomocí předních končetin zavěšují z jedné větve na druhou. Tento způsob jim usnadňuje pohyb v korunách stromů. Jsou to zvířata, která nemají ocas, což je pravděpodobně vývojový znak, kdy by pro ně ocas mohl být v přírodě limitující z důvodu chytání ocasu ostatními zvířaty případně predátory. Giboni žijí v rodinných skupinách, kde jsou hlavními členy samec a samice a zůstávají s nimi odrostlá mláďata. Giboni se v přírodě živí zralými plody, pupeny a listím. V zajetí je jejich přirozená potrava nahrazena ovocem a zeleninou, doplněna o živočišnou bílkovinu především ve formě vajec, dále pak jim jsou k dispozici větve s listím (okus). Právě dieta patří mezi hlavní činitele ovlivňující složení mikrobioty hostitele.

Obsahem této práce je zkoumání změn v zastoupení detekovaných skupin mikroorganismů před a po změně krmné dávky u vybraných jedinců gibbonů. Předpokládají se kvantitativní změny v zastoupení a druhová variabilita jednotlivých detekovaných skupin mikroorganismů po obměně složení krmné dávky.

2 Vědecká hypotéza

Modulace mikrobioty primátů držených v zajetí je velmi aktuálním tématem. Primáti chovaní v zoologických zahradách jsou velmi náchylní k výskytu průjmů a dalších obtíží postihující trávicí trakt. Z toho důvodu jim jsou často podávána antibiotika, která běžně způsobují další dysbiotické stavy střevní mikrobioty. Mikrobiota lze pozitivně ovlivnit například probiotiky a prebiotiky, nicméně zásadním faktorem je dieta zvířat. Navíc zvýšený obsah vlákniny v základní dietě gibbonů může podporovat zastoupení probiotických skupin mikroorganismů jako jsou bifidobakterie a laktobacily.

Hypotéza: Předpokládáme, že po změně krmné dávky dojde ke kvantitativním změnám v zastoupení detekovaných skupin mikroorganismů. Navíc bude pozměněna druhová variabilita detekovaných skupin mikroorganismů.

3 Cíl práce

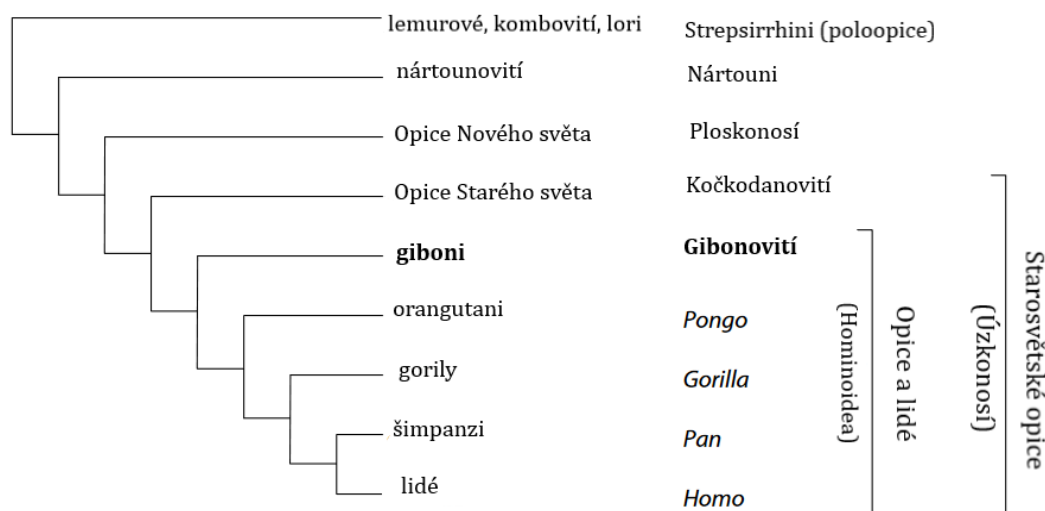
Cílem teoretické části této diplomové práce bylo vytvořit ucelený přehled o problematice zahrnující informace o zkoumaném živočišném druhu týkající se především anatomie a fyziologie trávicího traktu, diety, střevní mikrobioty a možnostech jejího ovlivnění.

Cílem praktické části práce bylo kultivačně stanovit vybrané skupiny mikroorganismů před a po změně krmné dávky u vybraných jedinců chovaných v zoologické zahradě. Získaná data vyhodnotit s ohledem na složení krmné dávky.

4 Literární rešerše

4.1 Obecná charakteristika gibbonů

Giboni jsou zástupci primátů patřící do čeledi gibbonovití (Hylobatidae), kromě lidoopů z čeledi Hominidae, jsou nejbližšími žijícími příbuznými lidí (viz Obrázek č. 1). Obě zmíněné čeledi patří do nadčeledi Hominoidea (Roos 2016). S touto nadčeledí sdílejí giboni řadu společných charakteristických znaků jako například široký hrudník, dlouhé klíční kosti, výrazně dlouhé přední končetiny, zmenšenou bederní oblast, větší počet křížových obratlů aj. (Rawson 2011). Charakteristické jsou pro ně také dlouhé a štíhlé prsty na předních i zadních končetinách se silnými palci (Dobroruka 1983). Gibonovití jsou rozděleni do čtyř rodů *Hylobates*, *Hoolock*, *Symphalangus* a *Nomascus* skládajících se z 12 – 19 druhů, řadě z nich hrozí vyhynutí (Mootnick 2006; Meyer et al. 2012).



Obrázek č. 1 – *Fylogenetické zařazení gibbonů (Hylobatidae) (Upraveno podle Rawson 2011)*

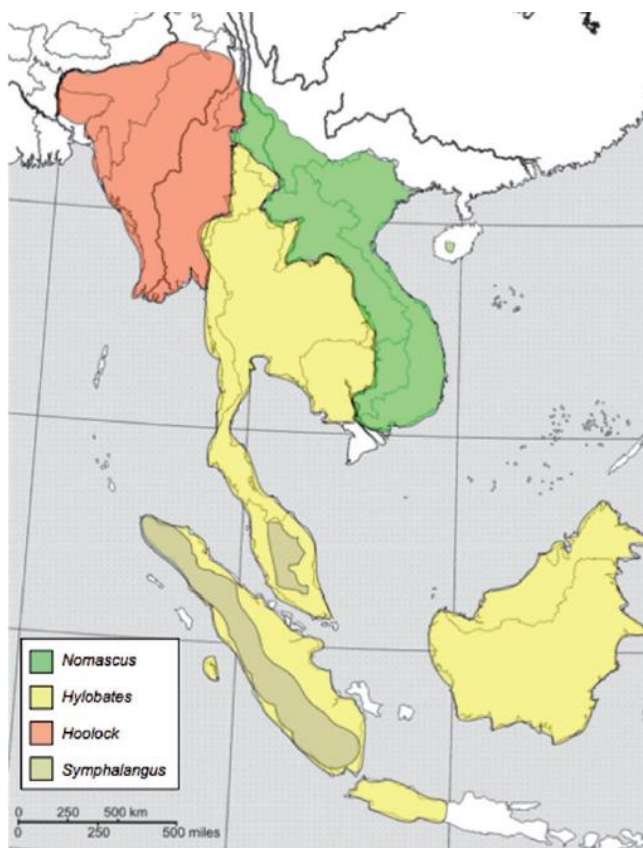
Giboni patří mezi jedny z nejohroženějších druhů primátů na celém světě (Melfi 2013). Hlavním důvodem je ztráta jejich lesních stanovišť v důsledku pěstování plodin, plantáží, lovu divoké zvěře a obchodu s masem (Fan et al. 2017). Mezi hlavní důvody chování gibbonů v zajetí patří zachování druhové a poddruhové rozmanitosti a vytvoření životaschopného genofondu s konečným cílem vypuštění zvířat do chráněného původního prostředí (Mootnick 2006).

Giboni jsou stromové opice, které žijí a shánějí potravu v korunách stromů. Při získávání potravy a krmení ve větvích využívají giboni kvadрупédní (čtyřnohé) lezení doprovázené různými polohami sedu. Naproti tomu při aktivním pohybu mezi větvemi využívají tzv. brachiaci, zavěšování na větvích pomocí předních končetin, zadní končetiny nezapojují nebo jen velmi málo (Brockelman et al. 2014). Jsou to skvělí akrobaté, bez sebemenších komplikací skáčou z větve na větev, kde se zavěšují pomocí dlouhých prstů. Pohyb na zemi už není tak jistý, pohybují se vzpřímeně na zadních končetinách. U gibbonů není patrný výrazný velikostní sexuální dimorfismus (Dobroruka 1983).

Jsou po vřeštánech nejhlasitější primáti. Svým hlasem si většina gibbonů označuje svá teritoria, uvádí se, že „zpívají“. Jednotlivé druhy gibbonů lze rozeznat podle druhu písně a doby projevu, tyto písně se staly důležitým nástrojem v určování jejich systematického zařazení (Coudrat et al. 2015).

4.1.1 Výskyt gibbonů

Jedná se o malé, stromové druhy opic vyskytující se v tropických a subtropických deštných pralesech od jižní přes jihovýchodní až po východní Asii (viz Obrázek č. 2). Jejich areál rozšíření se rozprostírá na území severovýchodní Indie, Bangladéše, jižní Číny, Thajska, Kambodže, Laosu, Vietnamu, Malajsie, Sumatry a Indonésie (Mootnick 2006). Přičemž geografické rozšíření jednotlivých rodů je ohraničeno hlavními řekami. Řeka Mekong odděluje rod *Nomascus* a *Hylobates*. Řeka Salween odděluje rod *Hoolock* a *Hylobates*. U rodu *Symphalangus* a *Hylobates* je patrná sympatrie (Meyer et al. 2012).



Obrázek č. 2 – Geografické rozšíření čtyř rodů gibbonů (Meyer et al. 2012)

Rod *Symphalangus*

Rod *Symphalangus* má pouze jednoho zástupce, a to siamanga (*Symphalangus syndactylus*). Siamang se vyskytuje v horských a nížinných lesích na Sumatře, Malajsii a malých částech Thajska. Přestože jsou rodiny siamangů největší z „menších opic“, jejich území zaujímá asi jen 50 až 60 akrů, zejména oblasti bohaté na listy a fíky. Stejně jako všichni ostatní giboni jsou to stromoví akrobati, kteří dávají přednost houpání z větve na větev, než aby

šli po zemi. Siamangové jsou největšími gibony. Samci mají průměrnou hmotnost 11,9 kg, zatímco samice váží kolem 10,7 kg. Obě pohlaví mohou dorůst do výšky zhruba 90 cm. Odhady se liší, ale siamangové se mohou dožít okolo 25 až 40 let ve volné přírodě a v zajetí se mohou dožít více než 40 let. Od ostatních gibonů lze siamangy odlišit na základě nahého hrdelního vaku, který slouží k jejich nejhlasitějšímu „zpěvu“ mezi gibony, dále pak se odlišují srostlým druhým a třetím prstem na předních končetinách. Mají tmavě černou srst se šedými nebo načervenalými chlupy roztroušenými kolem většinou nahého obličejce (Starr 2018).

Rod *Nomascus*

Giboni rodu *Nomascus* se vyskytují hlavně na území jižního Laosu, Číny, Vietnamu a také na ostrově Hainan. Rod *Nomascus* zahrnuje tyto druhy: *N. concolor*, *N. nasutus*, *N. hainanus*, *N. leucogenys*, *N. siki*, *N. gabriellae*, *N. annamensis*. Všechny druhy tohoto rodu jsou ohroženy nebo kriticky ohroženy. Některé druhy jsou všechny černé, některé jsou světlé se zřetelnými černými chlupy na hlavě, některé mají výrazné světlé lící skvrny. Je pro ně typický sexuální dichromatismus (pohlavní dvoubarevnost), kdy samci jsou většinou černí s bílou srstí na tvářích, zatímco samice jsou světlé, zlatavé barvy s černými tvářemi. Jejich hmotnost se pohybuje od 5,3 až po 10 kg. Délka života ve volné přírodě bývá kolem 28 let, v zajetí se mohou dožít i 51 let věku (Davi 2017; Downey 2018; Botting 2020; Covert 2020; Lussier 2020).

Rod *Hoolock*

Giboni rodu *Hoolock*, zastupováni druhem *Hoolock*, také známí jako giboni s bílým obočím, jsou jedinými opicemi, žijícími na indickém subkontinentu. Vyskytují se v hustých lesích, které sahají od řeky Brahmaputry na severovýchodě Indie, přes Bangladéš až do západního Myanmaru. Mezi samci a samicemi není velký velikostní rozdíl, váží okolo 6 až 9 kg a jsou vysokí 60 až 90 cm. Mohou žít až 35 let ve volné přírodě a až 60 let v zajetí. Samci mají černou srst, zatímco samice jsou krémově bělavé barvy s tmavými chlupy na hrudi a krku. Bílé obočí ve skutečnosti tvoří přímou linii nad očima samců a černé tváře samic vypadají, jako by byly orámovány bílou srstí (Abrams 2019).

Rod *Hylobates*

Do rodu *Hylobates* patří druhy: *H. lar*, *H. agilis*, *H. muelleri*, *H. pileatus*, *H. moloch*. Tento rod gibonů zaujímá území jihovýchodní Asie, zejména Thajsko, Malajsii, Indonésii, Kambodžu, Laos, ostrov Borneo a Jávu. Jejich hmotnost se pohybuje v rozmezí 3,5 až 9 kg. Mohou dosahovat velikosti 40 až 64 cm. Samci jsou zpravidla větší než samice. Mohou mít černou až světle hnědou srst s černými znaky na hrudi a hlavě. Mohou mít různě ohraničenou tvář světlejšími nebo tmavšími chlupy. Stejně tak jako ostatní lidoopi nemají ocas. Jedním z nejpozoruhodnějších rysů jsou extrémně dlouhé paže, zejména prodloužené loketní kosti (Downey 2018; Abrams 2019).

4.1.2 Identifikace druhů

Přesná taxonomická identifikace může být u některých druhů gibonů komplikovaná. Důvodem jsou různé odchylky ve zbarvení srsti, sexuální dichromatismus, změny ve zbarvení

srsti v průběhu vývoje od mláděte po dospělého jedince. Vliv na zbarvení mohou mít také faktory vnějšího prostředí jako například podvýživa, věk, biotop (zda jsou vystaveni přímému slunci či nikoliv) atd. Mezi další důvody patří odlišná vokalizace jednotlivých druhů, problémy při rozlišování některých poddruhů gibbonů od sebe navzájem, chyby nebo nedostatek informací o původu odchycených gibbonů (Mootnick 2006).

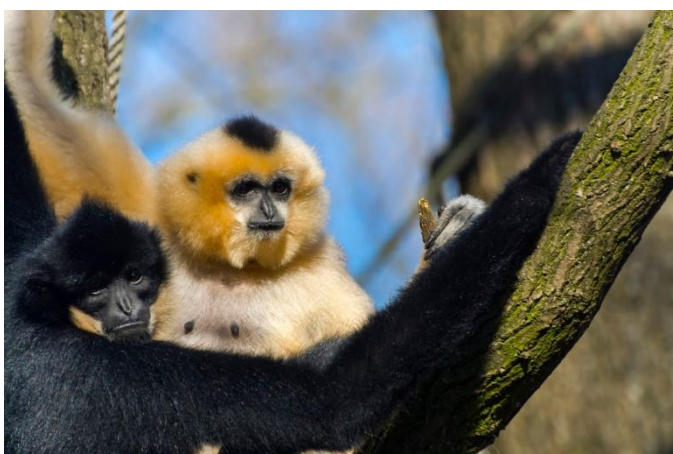
4.1.3 *Nomascus gabriellae* – gibbon zlatolící

Experimentální část práce se zaměřuje na vliv změny diety na mikrobiotu gibona zlatolícího (také nazývaného žlutolící), tudíž je zde daný druh více specifikován.

Tento druh se vyskytuje na území Vietnamu, Laosu a Kambodže (Lussier 2020). Dle Mootnick (2006) byl *Nomascus gabriellae* označován jako gibbon s bledou tváří (Osgood 1932), gibbon s červenou tváří (Groves 2005), gibbon se žlutou tváří (Geissmann 1995) a gibbon se zlatou tváří (Varsik 2000). Zatímco ostatní druhy gibbonů vyhledávají spíše horské oblasti ve vyšších nadmořských výškách, giboni zlatolící preferují vlhké, nížinné a stále zelené lesy. Vysoko v korunách stromů, mimo dosah predátorů, mají přístup ke všemu, co potřebují k přežití. Co se velikosti a hmotnosti týče, vykazuje tento druh gibbonů pouze nepatrné rozdíly mezi pohlavími. Samci a samice dosahují výšky od 60 do 80 cm a mohou vážit 7 až 11 kg. V současné době není délka života gibbonů zlatolících ve volné přírodě známa, ale někteří jedinci v zajetí se dožili až 50 let.

Zajímavostí je, že se mláďata obou pohlaví rodí světlá, se zlatožlutou srstí. Při dospívání jejich srst zčerná. Samcům černá srst zůstane, zatímco srst samic se opět vrátí do světlé barvy (viz Obrázek č. 3) (Lussier 2020). Dospělí samci jsou převážně černí, ale často mají tmavě hnědou až bledě hnědou barvu na horní části hrudníku a mohou mít světlejší barvu kolem bradavek. Mají drobné, bílé lícní skvrny, které sahají až ke spodní části nadočnicového oblouku. Dospělé samice mohou být menší než dospělí samci. Mají žlutohnědou barvu a mohou mít tmavší srst na hrudi, na okrajích a koncích prstů na všech končetinách a na vnější straně předloktí. Jejich načernalá korunní skvrna se zužuje na šíji a v některých případech jim černé chlupy sahají až ke středu lopatek. Pod očima mají černou srst a kolem uší okrajové chlupy. Samice mohou mít mírně červenohnědé genitální chloupky s několika mírně červenohnědými až černými chloupky kolem řitního otvoru (Mootnick 2006).

Gibbon zlatolící je Mezinárodní unií pro ochranu přírody (IUCN 2008) klasifikován jako ohrožený, je zmíněn v IUCN Červeném seznamu ohrožených druhů. Přestože život vysoko v korunách stromů udržuje gibony relativně v bezpečí před predací, jsou extrémně citliví na degradaci lesů. Nížinné stále zelené lesy, kde se gibbonům zlatolícím daří, mají bohužel dlouhou historii kácení, z důvodu vytvoření prostoru pro zemědělskou půdu a usnadnění dalších lidských projektů (Lussier 2020).



Obrázek č. 3 – Samec (vlevo) a samice (vpravo) gibona žlutolícího (Lussier 2020)

4.1.4 Sociální skupiny

Pro primáty jsou charakteristickým rysem sociální skupiny, ve kterých panuje určitá hierarchie. Je možné rozlišovat 3 základní typy sociální organizace: solitérní druhy, druhy žijící v párech a druhy žijící ve skupinách (Kappeler 2002). Podle Vančaty (2003) existují následující druhy sociálních struktur: solitérní, noyau, párová, jednosamcová, mnohosamco-samicová, harémová, age graded, fission-fusion. Je možné u jednoho druhu sledovat více typů sociálních struktur.

Giboni obvykle žijí v malých sociálních skupinách. Charakteristickou sociální strukturou je pro ně monogamní pár s jedním dospělým párem a 2 – 3 potomky. Toto uskupení má hlavně sociální charakter, ne však reprodukční. Jak samec, tak i samice se páří mimo daný pár, mohou tak mít mládě se členem jiné skupiny nebo se solitérně žijícím jedincem (Vančata 2003). Stejně jako mnoho jiných sociálních primátů, používají giboni žlutolící ke komunikaci gesta obličejů a řeč těla. Členové rodiny se také navzájem upravují jako způsob navazování a posilování sociálních vazeb. Giboni jsou známí svými hlasitými a dalekosáhlými vokalizacemi, jejichž hlavní funkcí je pomáhat členům rodiny se znovu spojit po noci strávené na samostatných stromech, a také varovat neznámé gibony, aby se drželi dál (Lussier 2020).

4.2 Charakteristika trávicího traktu primátů

Gastrointestinální trakt (GIT) je v podstatě kontinuální trubice, která prochází břišní dutinou od úst až po konečník. V GIT je potrava zpracována ve čtyřech fázích. První je pozření, kdy se potrava dostává do těla. Druhou je trávení, při kterém dochází k mechanickým a chemickým procesům. Další je absorpce, při které strávená potrava přechází do kardiovaskulárních a lymfatických systémů, za účelem distribuce do buněk. A poslední fází je defekace, při které se z těla vylučují nestrávené produkty (Lambert 1998).

Morfologie trávicího traktu je pro všechny savce velmi podobná. Skládá se z trávicí trubice (kompletní zažívací trakt) a z přídatných žláz, jejichž hlavní funkcí je vylučování trávicích šťáv. Mezi přídatné žlázy savčího trávicího traktu patří tři páry slinných žláz, žlázy slinivky břišní, játra a žlučník. Pro všechny obratlovce je charakteristická struktura stěny

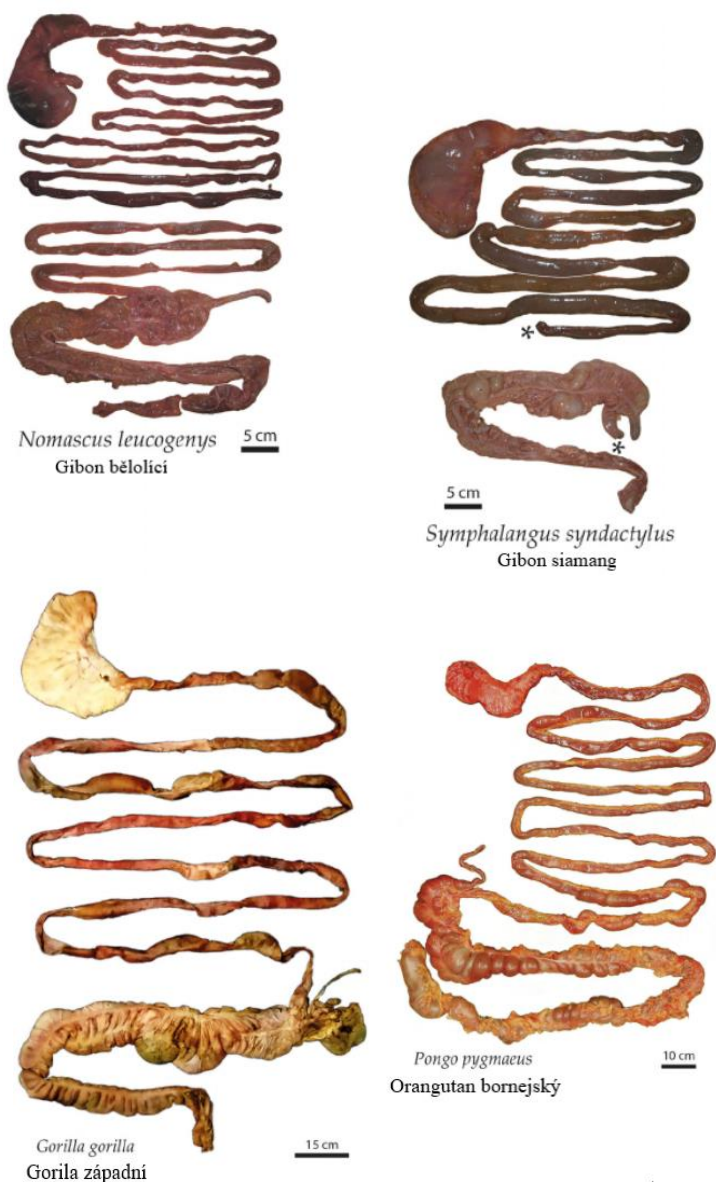
trávicího traktu, jejíž vnitřní část sliznice je oddělena pojivovou tkání od vnější trubice minimálně dvěma vrstvami svalů. Přijatá potrava se pomocí kontrakcí hladké svaloviny pohybuje podél stěny trubice, tyto kontrakční vlny se nazývají peristaltika. Průchod potravy uvnitř trubice z jedné části do druhé je řízen kruhovými chlopněmi, tzv. svěrači (Chivers & Hladík 1980).

4.2.1 Morfologie trávicí soustavy

Trávicí soustava začíná dutinou ústní, která slouží k přijímání potravy. V ústech dochází k mechanickému rozmělnění potravy pomocí zubů a k promíchání potravy se slinami, které usnadňují polknutí sousta (Kumar 2003). Primáti mají zachovány všechny čtyři typy zubů a jejich trvalý chrup má až 36 zubů (Berkovitz & Shellis 2018). Giboni mají jednoduché stoličky s nízkými hrbolky a širokými rýhami. Řezáky jsou relativně krátké, ale široké, horní špičáky jsou u obou pohlaví dlouhé a ostří se o první třenový zub (Fleagle 2013). Následuje hltan (*pharynx*), který je společným oddílem trávicí a dýchací soustavy. Hltan pokračuje do jícnu (*esophagus*), svalové trubice, která spojuje hltan se žaludkem (Kumar 2003). Rozdíly v histologické struktuře rozdělují další části traktu na žaludek, tenké střevo (*duodenum, jejunum, ileum*), slepé a tlusté střevo (*caecum a colon*). Rozdílné uspořádání sliznice (mukózy) a pojivové tkáně napomáhá trávení mechanicky, buďto mícháním, zpomalením průchodu tráveniny nebo zvětšováním absorpční plochy (Chivers & Hladík 1980).

Žaludek (*ventriculus*) je orgán, který slouží k dočasnému uskladnění přijímané potravy, k přípravě na trávení potravy a probíhá v něm vlastní trávení žaludeční šťávou. Z žaludku putuje natrávená potrava do horní části tenkého střeva (*intestinum tenue*), která je zvaná dvanáctník, kde trávicí enzymy bakterií pokračují v trávicím procesu. Druhou a zároveň nejdelší částí tenkého střeva je lačník. Poslední částí je kyčelník, který ústí do slepého střeva. Na tenké střevo navazuje tlusté střevo (*intestinum crassum*). Tlusté střevo je velmi důležitým orgánem. Je místem konečného využití krmiva, vstřebávání vody, minerálních látek a vitamínů. Začíná slepým střevem, následuje tračník a poslední částí je konečník, který je zakončen řitním otvorem (*anus*) (Kumar 2003).

Trávicí trakt gibbonů je podobný ostatním lidoopům, tlusté střevo je ale kratší. Porovnání trávicích traktů lidoopů znázorňuje obrázek níže (viz Obrázek č. 4). Dle McGrosky et al. (2019) byla u gibona bělolícího o hmotnosti 6,55 kg zjištěna celková délka střeva 545 cm, z toho tenké střevo měřilo 449 cm, slepé střevo 13 cm a tlusté střevo 83 cm.



Obrázek č. 4 – Porovnání trávicích traktů lidoopů (Upraveno podle McGrosky et al. 2019)

4.2.2 Fyziologie trávicí soustavy

Příjem potravy představuje zformování a vpravení sousta do dutiny ústní pomocí tlamy, zubů a jazyka. Procesem žvýkání dojde k mechanickému zpracování potravy. Vlákniatá dieta býložravců vyžaduje více žvýkání než masitá potrava masožravců. Žvýkáním se utvoří polodlouhé nebo kulovité sousto potravy (bolus). Sousto je smícháno se slinami obsahující mucin, který způsobuje hlenovitý charakter slin. Sousto slepuje dohromady a usnadňuje tak polykání (Reece 2010). Sliny také obsahují hydrolytický enzym amylázu, která iniciuje rozklad polysacharidového škrobu na disacharid maltózu (Kumar 2003).

Polykání je proces, při kterém je sousto posouváno z dutiny ústní do žaludku. Když je potrava připravena ke spolknutí, přesune se pomocí jazyka do zadní části ústní dutiny. U savců začíná proces polykání, když se měkké patro zvedne a tlačí proti zadní stěně hltanu. Zvýšení patra utěšňuje nosní dutinu a brání tak vstupu potravy. Tlak na hltan stimuluje neurony uvnitř

jeho stěn, které vysílají impulzy do centra polykání v prodloužené míše. V reakci na to neurony z polykacího centra vysílají impulzy, které inhibují dýchání a utěšňují průdušnici zvednutím hrtanu. Tím dojde k uzavření vstupu do hrtanu, nosních průchodů (dutin) a zabránění tak vniknutí potravy do těchto oddílů. Po průchodu tracheálním otvorem vstupuje potrava do jícnu. Potrava je v jícnu transportována pomocí peristaltických vln, které vznikají činností jeho svaloviny (Kumar 2003; Reece 2010).

Peristaltické vlny posouvají sousto k česlu žaludku. Když se potrava dostane do žaludku, je její další pohyb umožněn hladkou svalovinou ve stěně žaludku a střeva. Svalová aktivita je spontánní a je ovlivňována autonomní nervovou soustavou. Žaludek přijímá a skladuje potravu a mění svůj objem na základě množství přijaté potravy. Tělo žaludku je místem, kde dochází k promíchání potravy s žaludeční šťávou. Kromě mucinu, který je vyměšován po celé délce trávicí trubice, vylučují žaludeční žlázy pepsinogen, kyselinu chlorovodíkovou (HCl) a gastrin. HCl a pepsinogen zahajují trávení bílkovin, gastrin stimuluje sekreci HCl (Kumar 2003).

Obsah žaludku, který vstupuje do tenkého střeva je označován jako zažitina (chymus). Složení zažitiny se odvíjí od přijímané potravy a potravních zvyčích zvířete. Ve střevě je zažitina trávena střevními šťávami. Tenké střevo svými pohyby umožňuje promíchávání a zároveň posouvání střevního obsahu kaudálním směrem. Následně dochází k promísení obsahu s pankreatickou šťávou a žlučí. Probíhá zde trávení sacharidů, tuků a bílkovin. V tenkém střevě dochází ke vstřebávání konečných produktů trávení.

Koncový úsek tenkého střeva (kyčelník) přechází do tlustého střeva. U většiny zvířat v tlustém střevě dochází k fermentaci tráveniny, u býložravců je tento proces intenzivnější. U nepřežvýkavých býložravců dochází k fermentaci ve slepém střevě a tračníku. V tlustém střevě se uskutečňuje bakteriální rozklad a zpětné vstřebávání vody a elektrolytů. Kontrakce slepého střeva způsobují promíchávání obsahu, odstraňování plynů a posun tráveniny do tračníku (Reece 2010).

4.2.3 Rozdělení primátů na základě potravní specializace

Primáty lze na základě potravní specializace rozdělit do tří základních skupin: faunivorní, frugivorní a foliovorní. Jednotlivé skupiny jsou z hlediska trávicího traktu a procesu trávení odlišné, z důvodu různé adaptace příjmu potravy (Nash 1986).

Faunivorní primáti se živí převážně živočišnou stravou, která zahrnuje například bezobratlí, ryby a drobné obratlovce. Živočišná strava je zdrojem bílkovin a tuků, které jsou snadno stravitelné, a proto je trávicí trakt této skupiny zvířat poměrně krátký a jednoduchý. Trávicí trakt je tvořený jednoduchým žaludkem, který následuje klikaté tenké střevo, krátké kuželovité slepé střevo a tračník.

Frugivorní primáti dávají přednost rostlinné stravě, v podobě ovoce (květy i plody), semen a hlíz. Tento druh stravy je bohatý na sacharidy s krátkým řetězcem, které jsou rychle hydrolyzovány v oblasti tlustého střeva, absorbovány a ihned využity. Do této skupiny patří většina primátů, kteří si tuto stravu obohacují různým množstvím hmyzu nebo listů. Nemají však ve střevech výraznou strukturální specializaci, i když jejich morfologie může vykazovat značné mezidruhové rozdíly (Chivers & Hladik 1980). Žaludek je jednoduchý, kulovitýho

tvaru. Dvanáctník má obvykle tvar písmene C na rozdíl od dvanáctníku jiných savců, u kterých bývá ve tvaru písmene U (Hill 1958).

Folivorní primáti se nejčastěji živí mladými a zralými listy, trávou, stonky, nebo také kůrou a pryskyřicí. Tato strava obsahuje bílkoviny a sacharidy s dlouhým řetězcem, které vyžadují fermentaci v žaludku nebo tlustém střevě. Nejvýznamnější adaptací jsou komory pro bakteriální fermentaci celulózy a pro absorpci těkavých mastných kyselin a dalších metabolitů (Chivers & Hladik 1980).

Dle studie Clink et al. (2017) jsou giboni převážně frugivoři. Značnou část jejich stravy, zhruba 70 % z celkového příjmu, tvoří ovoce a fíky. Bylo zjištěno, že při omezeném množství ovoce, začleňovali giboni do své stravy více listů a fíků, což pro ně představovalo záložní potravu. Giboni jsou považováni za odborníky na zralé ovoce a mají několik morfologických adaptací pro zpracování méně kvalitní potravy, například uzpůsobení zubů nebo trávicího traktu (Harrison & Marshall 2011).

4.3 Potravní ekologie gibbonů

Obecně lze stravu všech primátů rozdělit na rostlinnou část, kterou tvoří hlavně zelenina, ovoce, květy, listy, kořínky, ořechy, kůry, semena, stonky a hlízy. A část živočišnou, která zahrnuje bezobratlí, hmyz, drobné ptáky, ptačí vejce, malé hlodavce atd. Pro řadu savců je jejich strava poměrně dost specifická, u primátů tomu tak není. Je pro ně obtížné stanovit pevná a striktní pravidla. Obecně jsou primáti považováni za všežravce, jak dokazuje fyziologie jejich trávicího traktu. Existují však výjimky se specifickou potravní a dietní preferencí (Napier & Groves 2018).

Pro stanovení stravy primátů je zásadní pochopit jejich chování, ekologii a morfologii. Během celého roku přijímají primáti potravu, která je výživná a relativně snadno stravitelná. Tato potrava je označovaná jako preferenční. V době, kdy je této stravy omezené množství, musí primáti přejít na stravu nutričně méně kvalitní, nebo hůře stravitelnou. Jedná se o záložní potravu, která je velmi důležitá pro přežití, dokud se neobnoví preferovaná potrava (Marshall & Wrangham 2007).

Primáti, hlavně frugivoři, jsou důležitými rozptylovači semen. Konzumací plodů, které jsou následně zpracovány trávicí soustavou, dochází ke zvýšení klíčivosti semen, sloužících jako osivo. Primáti tak hrají důležitou roli při obnově lesů a jsou nezbytní pro zdravý lesní ekosystém (Fuzessy et al. 2015; Bach et al. 2018).

Twichell-Heyne a Pontzer (2016) ve své studii zabývající se potravní ekologií divoce žijících gibbonů uvádí, že existují významné rozdíly mezi jednotlivými rody gibbonů. Jejich strava je složena z ovoce (60 %), listů (28 %), květů (6 %) a živočišné složky (6 %). Mezi rody byly zjištěny rozdíly na základě různého místa výskytu, množství ročních srážek v dané lokalitě, zeměpisné šířky, nadmořské výšky, teritoria a velikosti lesa, což se projevovalo v rozdílném složení jejich potravy, v množství spotřeby veškerého ovoce a listů a také v rozmanitosti rostlinné stravy. Rod *Nomascus* trávil nejvíce času požíváním listů (44 % z celkového času krmení), následovaný *Symphalangus* (31 %). *Hoolock* a *Nomascus* měly nejextrémnější biotop, nejvyšší nadmořské výšky a zeměpisné šířky, nejméně srážek a největší rozdíly ve složení potravy.

Vzhledem k tomu, že preferované potraviny je stále méně, giboni mění svou stravu tím, že do ní zařazují větší množství méně kvalitních složek, jako jsou například listy. Některé druhy jsou schopné udržovat vysoké dávky ovoce ve své stravě tím, že častěji využívají klíčové druhy potravy. U různých populací gibonů byla zjištěna konzumace hmyzu, sloužící jako alternativní zdroj bílkovin (Fan et al. 2012).

Studie zabývající se výživou jávských gibonů (*Hylobates moloch* – gibbon stříbrný) znázornila výživové složení stravy, kterou obvykle přijímají. Květy a zralé plody obsahovaly nejvíce sacharidů. Mladé listy měly vyšší obsah vody, popelovin a dusíkatých látek. Obsah vlákniny byl nejvyšší ve zralých plodech. Jedli také malé množství nezralého ovoce, které mělo vyšší obsah tuku ve srovnání s jinými zdroji potravy (Oktaviani et al. 2018). U skupiny gibonů (*Nomascus gabriellae* – gibbon zlatolící) z Kambodži, která měla podobný příjem potravy, autoři studie zjistili, že zralé plody měly kromě vysokého obsahu cukru také vyšší obsah tuku. Mladé listy a květy měly nejvyšší obsah bílkovin. Květy jsou také důležitým zdrojem vápníku a fosforu. Zralé listy měly vysoký obsah vody a nízký obsah vlákniny ve srovnání s listy mladými, což z nich v období sucha dělalo cenný zdroj vody (Hon et al. 2018).

4.3.1 Potrava ve volné přírodě

Velkou složkou potravy gibonů (až 70 %) tvoří hlavně ovoce (McConkey et al. 2002). Přestože jsou zralé plody hlavním typem jejich obživy, konzumují v menší míře také mladé listy, výhonky, květy a hmyz. Zdroje ovoce a plodů hledají ve velikostně odlišných porostech od vinné révy a přízemních stromů až po velké stromové koruny s nadbytkem plodin (Suwanvecho et al. 2017). O nutričním složení stravy divoce žijících gibonů bylo provedeno jen několik studií, které naznačují, že se vyhýbají těžce stravitelným složkám potravy, stejně tak jako potravě s vysokým obsahem tříslovin (Cheyne 2010).

Potrava gibonů má tendenci se měnit podle sezóny. V období sucha (listopad – duben) je k dispozici méně ovoce a spousta druhů gibonů se této změně přizpůsobuje zvýšením spotřeby listů a snížením spotřeby ovoce. Mění se také jejich aktivita, v období sucha tráví giboni více času požíváním potravy a méně času jinými aktivitami ve srovnání s obdobím dešťů (květen – říjen). Spotřeba ovoce obvykle během období dešťů vrcholí (Frechette 2017). Každoročně se také mění biotop gibonů. Stromy obvykle nemají dva po sobě jdoucí vysoce plodné roky. Giboni se tak musí zajímat o své stanoviště, kde jsou k dispozici jejich preferované a méně preferované plody ovoce (Suwanvecho et al. 2017). S fragmentací lesa narostla také spotřeba listů, stejně tak jako doba strávená hledáním potravy a krmením. Dle studie Borah et al. (2017) se spotřeba ovoce gibonů rodu *Hoolock* pohybovala v rozmezí 34 – 71 % z celkového krmení v různých měsících. V lednu konzumovali 60 % listů a pouze 37 % plodů.

Velké množství primátů také pojídá květy rostlin, ale květy se obecně nepovažují za významný zdroj energie. U gibonů a siamangů bylo zjištěno, že využívají květy jako záložní i preferenční druh potravy (Lappan 2009). Během období s nízkým množstvím ovoce giboni často zahrnují do své stravy pestřejší druhy plodů. Jedná se pravděpodobně o strategii, jak se vyrovnat s případnými sekundárními metabolity (toxiny, inhibitory trávení) přítomnými v méně preferovaných zdrojích ovoce (Fan 2012).

4.3.2 Potrava v zajetí

Giboni jsou chováni v mnoha zoologických zahradách po celém světě. V uměle vytvořených podmínkách je snahou jim co nejvíce napodobit jejich přirozenou potravu. Podává se jim ve velké míře hlavně ovoce (banány, hrušky, jablka, hroznové víno) a zelenina (mrkev, rajčata, okurky, ledový salát apod.). Nedílnou součástí potravy jsou i živočišné bílkoviny, které jim jsou podávány ve formě vařených vajec, tvarohu, vařeného drůbežního masa s rýží nebo těstovinami. Dále jim jsou k dispozici větve s listím a pampeliškové listy (Kořínek 1999).

Dle Milton (2000) se nejvíce pěstované ovoce dostupné v supermarketech pěstuje pro lidskou spotřebu a selektivně se množí a kultivuje, aby přitahovalo lidskou chuť. Takové ovoce má vysoký obsah cukrů, zejména sacharózy, málo vlákniny a je chudým zdrojem bílkovin, vitamínů a minerálů. V zajetí se obecně neberou v úvahu sezónní změny ve stravě gibbonů, které zažívají ve volné přírodě. Nevhodná výživa nebo potrava s vysokým obsahem sacharidů mohou způsobit nadváhu gibbonů, rozvoj cukrovky, srdečních chorob, střevních problémů atd.

Byla provedena studie, kde porovnávali nutriční vlastnosti plodů konzumovaných primáty ve volné přírodě s druhy ovoce, které se běžně používají ve stravě primátů chovaných v zajetí v evropských zoologických zahradách. Z literatury shromáždili údaje o obsahu živin a energii divokých plodů z různých stanovišť primátů. Výživové a energetické hodnoty plodů krmných primátů v zajetí byly převzaty z databáze krmiv Zootrition®. Jak je patrné z Obrázku č. 5 (viz níže) mělo divoké ovoce vyšší obsah neutrálně detergentní (NDF) a acidodetergentní (ADF) vlákniny a ligninu ve srovnání s ovocem krmným v zoologických zahradách. Obsah bílkovin byl také vyšší, ale obsah sacharidů a metabolizovatelné energie byl nižší. Divoké ovoce a plody krmné v zoo se navíc lišily složením cukru, přičemž poměr monosacharidů (glukóza, fruktóza) k disacharidům (sacharóza) byl nižší v pěstovaných plodech. Celkově lze konstatovat, že některé druhy zeleniny svým nutričním složením více připomínají divoké ovoce oproti komerčně dostupnému ovoci a jsou tak lepší volbou pro primáty chované v zajetí (Schwitzer et al. 2008).

a)	Ovoce		Zelenina	b)	Ovoce		Zelenina
	Divoké	Pěstované	Pěstovaná		Divoké	Pěstované	Pěstovaná
Popeloviny	5.2 ± 2.1	3.6 ± 1.6 ^a	7.5 ± 2.7 ^b	Fruktosa	1.03 ± 1.19	17.74 ± 11.04	9.98 ± 6.45
Hrubý tuk	4.7 ± 5.1	4.2 ± 6.1	3.4 ± 2.4	Sacharosa	0.12 ± 0.14	16.03 ± 14.24	6.69 ± 7.55
Hrubý protein	7.7 ± 5.0	5.7 ± 2.8 ^a	16.5 ± 7.3 ^b	Glukosa	1.15 ± 1.17	13.51 ± 8.86	9.11 ± 5.99
Vláknina	26.6 ± 14.4	12.8 ± 5.6 ^a	19.6 ± 11.9	Ca	1.26 ± 1.92	0.15 ± 0.21	0.28 ± 0.14
NDF	47.2 ± 18.1	12.4 ± 5.4 ^a	17.4 ± 6.2 ^a	P	0.41 ± 0.55	0.14 ± 0.16	0.71 ± 0.78
ADF	42.7 ± 14.8	8.5 ± 4.8 ^a	11.3 ± 4.3 ^a	Na	0.47 ± 0.72	0.02 ± 0.04	0.26 ± 0.31
ADL	21.9 ± 9.0	3.1 ± 2.0 ^a	4.1 ± 3.3 ^a	K	3.16 ± 4.87	1.70 ± 1.87	3.10 ± 1.01
Sacharidy	17.4 ± 16.3	48.6 ± 20.1 ^b	29.7 ± 14.0 ^b	Mg	0.47 ± 0.07	0.08 ± 0.03	0.16 ± 0.08
ME	209.1 ± 122.1	359.4 ± 50.0 ^b	338.4 ± 27.5 ^b	Vitamin C	0.07 ± 0.01	0.23 ± 0.26	0.56 ± 0.91

Obrázek č. 5 – Průměrný obsah živin a energie v divokém a pěstovaném ovoci a zelenině. Hodnoty jsou uvedeny jako % DM (dry matter – sušina), s výjimkou ME, která je uvedena jako kcal/100g. (Upraveno podle Schwitzer et al. 2008)

V rámci Evropské asociace zoologických zahrad a akvárií (EAZA) ani Asociace zoologických zahrad a akvárií (AZA) nejsou doposud jasně dané pokyny pro chov rodu *Nomascus* (tzv. Best Practice guidelines, resp. Animal Care Manuals pro AZA), kde by bylo

možné nalézt doporučení pro sestavení krmné dávky. Dle Husbandry Manual pro gibona stříbrného (*Hylobates moloch*) je doporučována krmná dávka složená z ovoce, zeleniny, okusu, vařeného kuřecího masa, vařených vajec a granulí určených pro primáty. Je doporučováno podávat krmnou dávku alespoň ve dvou dávkách během dne a to ráno (zejména ovoce) a odpoledne (zejména zelenina). V rámci enrichmentu je možné využít ledové bloky se zamraženým ovocem nebo rozptýlení semen, ořechů a granulí po expozici (Cocks 2008).

Cocks (2008) v Husbandry Manual varuje před zkrmováním citrusů, hroznového vína, ananasu, rajčat a dalšího vysoce kyselého ovoce, které může způsobovat zažívací potíže nebo otoky očí. V českém jazyce je dostupné doporučení Ústřední komise pro ochranu zvířat, které v požadavcích na výživu gibbonovitých uvádí: „Minimálně dvakrát denně pestrá ovocná a zeleninová strava, dostatek živočišné bílkoviny.“ Množství KD, jednotlivé komponenty, živinové údaje nebo technika krmení nejsou více specifikovány (Holečková & Dousek 2006).

Cabana (2018) uvádí, že složením krmné dávky lze v lidské péči ovlivnit nejen zdravotní stav zvířete, ale také jeho chování. Krmná dávka s nízkým obsahem sacharidů a vysokým obsahem vlákniny může u primátů snižovat výskyt regurgitace a koprofágie, a naopak zvyšovat dobu strávenou přirozeným chováním, tedy hledáním a sběrem potravy a sociálními interakcemi s ostatními členy skupiny.

4.4 Mikrobiota gastrointestinálního traktu gibbonů

Mikrobiota GIT je soubor mikroorganismů žijících v trávicí soustavě živočichů a také člověka. Tento heterogenní mikrobiální ekosystém zahrnuje až 10^{14} koloniálních jednotek bakterií. Bakteriální komunita se mezi živočišnými druhy liší, jsou rozdíly i mezi jednotlivci, a také v jednotlivých částech trávicího traktu (Russel et al. 2011). Mikrobiota představuje všechny mikroorganismy (bakterie, mikroskopické houby, archea, viry a prvoky), které kolonizují kůži, ústa, dýchací systém, gastrointestinální trakt a také pochvu, i když více než 70 % mikrobů žije v GIT (Ramos & Martin 2021).

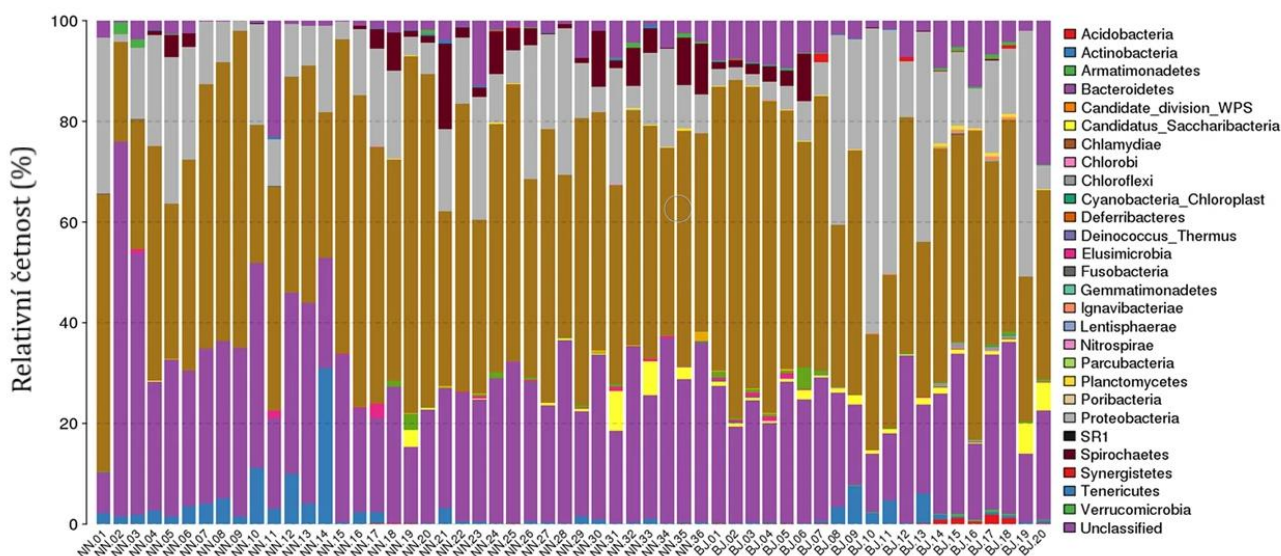
Mikrobiota GIT zvířat a lidí zahrnuje komplexní sdružení mikrobů a byla dokonce považována za endokrinní orgán. Významně přispívá k výživě, zdraví, růstu, vývoji, reprodukci a imunitě hostitele prostřednictvím komenzálních, mutualistických a patogenních vztahů (Jia et al. 2018). Je zajímavé, že střevní mikrobiota obsahuje sacharidové enzymy schopné fermentovat složité sacharidy za vzniku mastných kyselin. Mikroby také ovlivňují metabolismus lipidů a proteinů zvyšováním lipidové hydrolyzy, inhibicí lipogenních enzymů a vytvářením malých signálních molekul a bakteriocinů (antimikrobiální peptidy). Kromě toho jsou střevní mikroby také rozhodující pro syntézu několika vitamínů ze skupiny B (biotin, kyselina nikotinová, kyselina pantothenová, pyridoxin a thiamin) a vitamínu K (Ramos & Martin 2021).

GIT primátů je domovem bilionů bakterií. Dysbióza v jejich složení může být spojena s řadou metabolických, autoimunitních a infekčních onemocnění. Bylo zjištěno, že primáti žijící ve volné přírodě mají výrazně odlišnou mikrobiotu oproti primátům chovaných v zajetí. Primáti žijící v uměle vytvořených podmínkách přichází o své původní mikroby a jejich trávicí trakt kolonizují střevní bakteriální kmeny *Prevotella* a *Bacteroides*. Oba tyto kmeny bakterií jsou schopné degradace polysacharidů, což naznačuje, že jejich výskyt může být spojen spíše

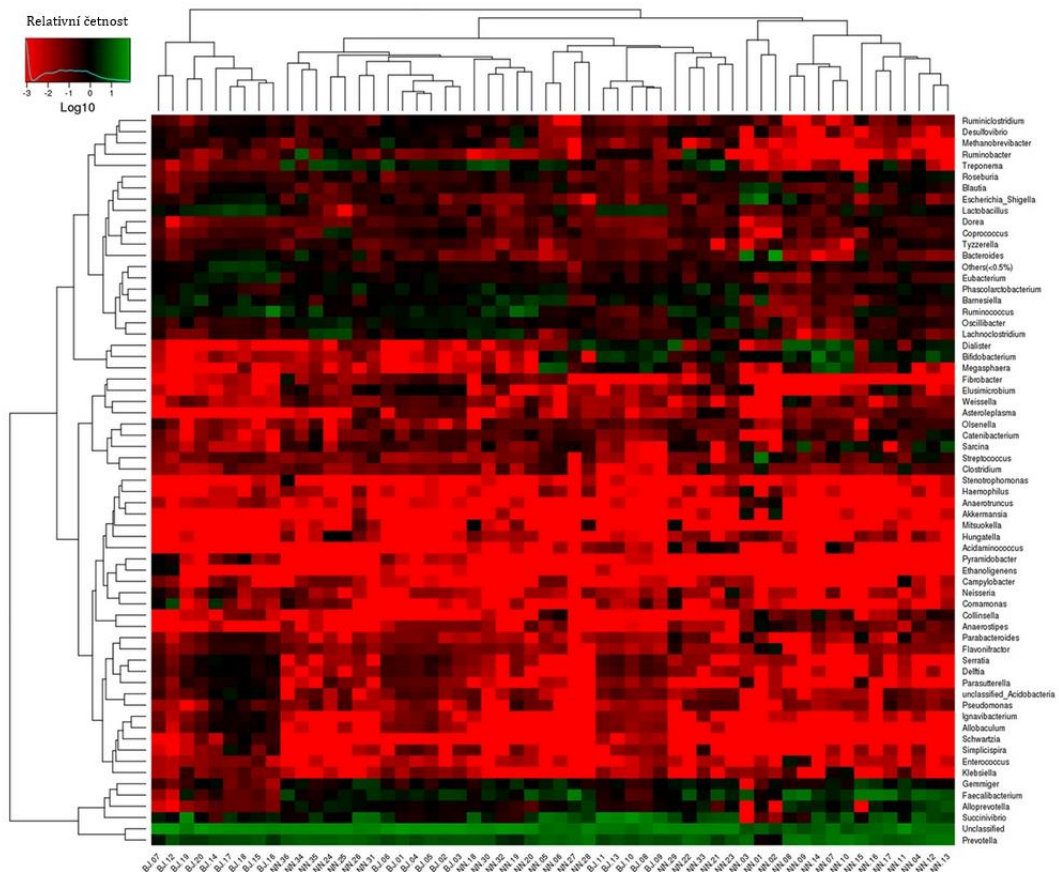
s posunem v rozmanitosti nebo typech polysacharidů v potravě, než s celkovou ztrátou vlákniny (Clayton et al. 2016).

Bylo prokázáno, že střevní mikrobiota je pozoruhodně stabilní po celou dobu života primátů. Mikrobiota získaná v raném věku může být zděděna od matky nebo od jiných sociálních kontaktů, ačkoliv složení mikrobioty je především ovlivněno genetikou hostitele. Později v průběhu života se může mikrobiota změnit v důsledku vnějších faktorů jako je např. výživa (méně rozmanitá strava vede k méně rozmanitým střevním mikrobům) nebo infekce patogeny. Sezónní nebo mimosezónní změny prostředí mohou vést k drastickým změnám v mikrobiotě zvířete. V některých případech se ukázalo, že je mikrobiota odolná vůči narušení biotopu, infekcím nebo změnám ve stravě (Avelo et al. 2016). Existují ale také studie, které tvrdí, že změny v prostředí a stravě ovlivnily nejen střevní mikrobiom (soubor genů mikroorganismů) a účinnost trávení, ale také imunitní a stresové reakce (Stumpf et al. 2016). Přestože se mikrobiom GIT mezi jednotlivci v populacích liší, složení bakterií může být podobné u blízké příbuzných jedinců a primátů stejného druhu (Zoetendal et al. 2001; Palmer et al. 2007).

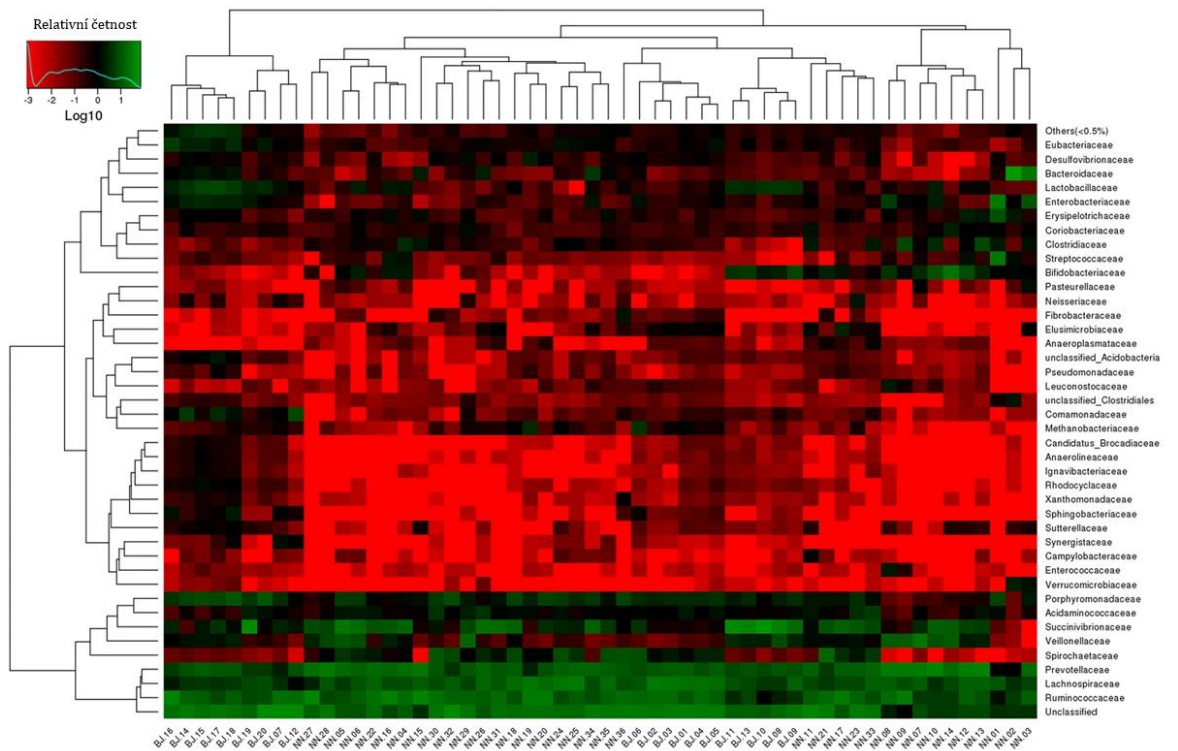
Dle studie Jia et al. (2018) obsahoval mikrobiom gastrointestinálního traktu gibbonů chovaných v zajetí 30 kmenů bakterií, v nichž dominovaly kmeny *Firmicutes*, *Bacteroidetes* a *Proteobacteria* (viz Obrázek č. 6). Přibližně 50 % sekvenací bylo klasifikováno na úroveň rodu. Dominantními rody bakterií byly *Succinivibrio* (*Proteobacteria*), *Prevotella* (*Bacteroidetes*), *Bacteroides* (*Bacteroidetes*), *Ruminococcus* (*Firmicutes*), *Lactobacillus* (*Firmicutes*) a *Faecalibacterium* (*Firmicutes*) (viz Obrázek č. 7). Až 70 % sekvenací bylo klasifikováno na úroveň čeledi, přičemž dominantní byly *Succinivibrionaceae* (*Proteobacteria*), *Ruminococcaceae* (*Firmicutes*), *Lachnospiraceae* (*Firmicutes*) a *Prevotellaceae* (*Bacteroidetes*) (viz Obrázek č. 8).



Obrázek č. 6 – Taxonomické rozdělení fekální mikrobioty na úrovni kmene (Upraveno podle Jia et al. 2018)



Obrázek č. 7 – Mapa relativní četnosti zobrazující bakterie na rodové úrovni (Upraveno dle Jia et al. 2018)



Obrázek č. 8 – Mapa relativní četnosti zobrazující bakterie na úrovni čeledi (Upraveno dle Jia et al. 2018)

Mikrobiální druhová bohatost se u dospělých gibbonů (> 8 let) za odlišných podmínek v zajetí výrazně lišila. Mezi zkoumanými věkovými skupinami měla mikrobiota dospělých gibbonů větší druhovou variabilitu a bohatší rozmanitost oproti mikrobiotě kojených mláďat (< 6 měsíců) a dospívajících jedinců (ve věku 2 – 5 let). Dále bylo zjištěno na věku závislé zvýšení relativního množství kmenů *Firmicutes* a *Fibrobacteres*, spolu se současným zvýšením příjmu vlákniny ve stravě. Současně byly zjištěny rozdíly ve složení mikrobioty na základě pohlaví. Pouze u samic gibbonů byly detekovány relativně nízké četnosti kmenů *Chlamydiae*, *Deinococcus Thermus* a *Deferribacteres*. Bakteriální kmeny *Acidobacteria*, *Cyanobacteria Chloroplast*, *Chloroflexi* a *Nitrospirae* vykazovaly významné rozdíly mezi pohlavími.

Jak bylo dříve zmíněno, giboni patří mezi frugivory a při příjmu potravy využívají behaviorální úpravu své stravy. Zároveň si z hlediska výživy vybírají nejcennější dostupné zdroje, hlavně energeticky bohaté plody ovoce, které jsou k dispozici. Giboni mají v GIT adaptační mechanismy a používají mikrobiální trávení na pomoc při degradaci vlákniny pro lepší účinnost trávení tím, že štěpí rezistentní vlákninu a škrob, modulují absorpci živin a produkují mastné kyseliny s krátkým řetězcem (např. acetát, propionát a butyrát), které jsou důležitým zdrojem energie hostitele (Jia et al. 2018).

4.5 Možnosti modulace mikrobioty

Na mikrobiotu GIT má vliv řada faktorů vnějšího prostředí. Mezi nejvýznamnější faktory patří hlavně dieta, genetika, fyziologie hostitele (věk, nemoci, stres atd.) a podmínky vnějšího prostředí (Wang et al. 2011; Goodrich et al. 2014; Clayton et al. 2016). Dle Ramos & Martin (2021) zajišťuje střevní mikrobiota centrální funkce v těle hostitele, jelikož se podílí na udržování bariéry střevních endoteliálních buněk, metabolismu živin, imunomodulaci a ochraně před patogeny. Složení střevní bariéry je charakteristické individuální variabilitou a může být formováno různými faktory (věk, genetika, způsob porodu, léky, zeměpisná oblast, strava). Strava je považována za jeden z nejdůležitějších faktorů ovlivňujících střevní mikrobiotu.

4.5.1 Dieta

Stále častěji je strava uznávána jako klíčový faktor, který zprostředkovává složení a metabolickou funkci gastrointestinální mikrobioty (Sonnenburg & Bäckhed 2016). Schopnost diety modifikovat gastrointestinální mikrobiotu lidí a jiných savců byla rozsáhle studována, což dokazuje, že složení stravy, obvyklý denní příjem a akutní dietní změny ovlivňují mikrobiální společenství ve střevě. Mezi savci existují kompoziční a funkční rozdíly v mikrobiotě býložravců, všežravců a masožravců (Muegge et al. 2011).

Dieta je hlavním faktorem ovlivňujícím složení a metabolismus mikrobioty tlustého střeva. Množství, druh a rovnováha hlavních dietních makronutrientů (sacharidy, bílkoviny a tuky) mají velký vliv na střevní mikrobiotu. Bakterie tlustého střeva mají řadu enzymů, které mohou degradovat složité složky potravy. Některé bakterie jsou schopné metabolizovat velké množství látek, zatímco jiné druhy jsou specializované na konkrétní činnost, například degradaci buněčných stěn rostlin. Mikrobiální metabolismus dietních sacharidů vede hlavně k tvorbě plynů a mastných kyselin s krátkým řetězcem. Tyto slabé kyseliny ovlivňují mikrobiální složení a přímo ovlivňují zdraví hostitele, přičemž preferovaným zdrojem energie

pro kolonocyty je butyrát. Určité bakteriální druhy v tlustém střevě přežívají díky cross-feedingu, při kterém k růstu využívají buď produkty rozpadu komplexní degradace sacharidů nebo produkty fermentace zprostředkované ostatními mikroorganismy, jako například kyselinu mléčnou. Mikrobiální metabolismus bílkovin vede ke vzniku dalších produktů fermentace, které mohou být potenciálně škodlivé pro zdraví hostitele (Scott et al. 2013).

Clayton et al. (2016) ve své studii uvádí, že změny v dietě mají obrovský vliv na složení střevního mikrobiomu u primátů chovaných v zajetí. Nedávné studie prováděné u lidí a myši podpořily hypotézu, že ztráta přirozené vlákniny způsobuje ztrátu přirozené mikrobiální rozmanitosti (Sonnenburg et al. 2016). Bylo zjištěno, že populace konzumující potravu s vysokým obsahem vlákniny mají složení mikrobiomu podobné populacím divoce žijících, naproti tomu populace konzumující potravu s nízkým obsahem vlákniny měly mikrobiom podobný lidskému (Clayton et al. 2016).

Sacharidy

Dietní sacharidy jsou většinou kategorizovány jako stravitelné a nestravitelné. Stravitelné sacharidy se používají k získávání energie prostřednictvím degradace trávicími enzymy. Škroby, obvykle ze zrn a hlíz, jsou hlavním zdrojem energie, zejména v zemědělských oblastech. Monosacharidy a disacharidy, které se přirozeně vyskytují v ovoci, jsou sacharidy složené z jedné a dvou molekul cukru. Používají se k přidání sladkosti do potravin. Nestravitelné sacharidy lze rozdělit na fermentovatelnou (stravitelnou) a nefermentovatelnou (nestravitelnou) vlákninu. Stravitelná vláknina (pektiny, β -glukany, β -fruktany, inuliny, některé rezistentní škroby a další) je fermentována střevní mikrobiotou a produkuje tak řadu prospěšných látek, včetně mastných kyselin s krátkým řetězcem. Mastné kyseliny s krátkým řetězcem jsou hlavním konečným produktem fermentace sacharidů, přispívají ke zdraví střev různými způsoby, například pomáhají snižovat intrakolonické pH, čímž inhibují růst a aktivitu patogenních bakterií (Seo et al. 2020).

Na rozdíl od stravitelných sacharidů se nestravitelné sacharidy v tenkém střevě enzymaticky nerozkládají. Místo toho se dostanou do tlustého střeva, kde mohou podstoupit fermentaci osídlenými mikroorganismy (Singh et al. 2017). Vláknina je vynikajícím zdrojem sacharidů přístupným pro mikrobiotu střev, může být využita střevními mikroby jako zdroj energie a hostitelem jako zdroj uhlíku. Bylo zjištěno, že podávání rezistentního škrobu zvyšuje hojnost *Bifidobacterium adolescentis*, *Ruminococcus bromii*, *Eubacterium rectale* a *Parabacteriodes distasonis* (Martinez et al. 2010). Mnoho studií uvádí, že strava s vysokým obsahem nestravitelných sacharidů zvyšuje množství bifidobakterií a bakterií mléčného kvašení vyskytujících se ve střevech (Carvalho-Wells et al. 2010).

Je známo, že účinek stravy s vysokým obsahem sacharidů na metabolismus hostitele závisí na glykemickém indexu (GI) a glykemické zátěži (GZ). Čím vyšší je GI a GZ ve stravě, tím více se zvyšuje riziko výskytu metabolických poruch (kardiovaskulární onemocnění, diabetes atd.). Diety s vysokým obsahem sacharidů, zejména ty, které obsahují velké dávky zrnin, zvyšují hladiny triglyceridů (podílejí se na hladině celkového cholesterolu) a snižují hladiny lipoproteinového cholesterolu (HDL). Kromě toho diety bohaté na složky potravy s vysokým GI snižují beta-oxidaci mastných kyselin a zvyšují akumulaci tuků snížením hladiny karnitin palmitoyl transferázy (Seo et al. 2020). Dle studie Jena et al. (2014) vyvolala vysoká

spotřeba cukru u zvířat obezitu, inzulínovou rezistenci, zánět a metabolickou disfunkci v důsledku změn ve střevní mikrobiotě.

Dopad sacharidů na střevní mikrobiotu je komplikovaný a závisí na jejich typech. Stravitelné sacharidy zahrnující monosacharidy a disacharidy souvisejí s množением oportunních patogenů a poklesem produkce mastných kyselin. Složité nestravitelné sacharidy, nazývané také jako sacharidy přístupné pro mikrobiotu, jsou fermentovány právě pomocí střevní mikrobioty, což vede ke zvýšení hladin mastných kyselin a následně k pozitivnímu zdravotnímu účinku. Tyto komplexní sacharidy, včetně rezistentního škrobu, oligosacharidů a hlavně vlákniny, mohou pozitivně modulovat řadu zdraví prospěšných mikrobů ve střevě, zejména *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Akkermansia*, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Clostridium* a *Ruminococcus*. Mezi tyto nestravitelné sacharidy patří i dříve zmíněné frukto-oligosacharidy a galakto-oligosacharidy, označované jako prebiotika, což jsou substráty, které jsou selektivně využívány hostitelskými mikroorganismy, což přináší zdravotní přínos (Ramos & Martin 2021).

Bílkoviny

Kvalita bílkovin ve stravě má rovněž zásadní a rozdílné účinky na střevní mikrobiotu. I když je konzumace bílkovin pozitivně spojena s celkovou mikrobiální rozmanitostí, zdroj dietních bílkovin, živočišných nebo rostlinných, určuje jeho účinky na složení střevní mikrobioty. V nedávné studii se u myši krmených stravou založenou na živočišných bílkovinách zvýšila relativní hojnost bakteriálních rodů, jako například *Enterococcus*, *Streptococcus* a *Peptostreptococcus*, které byly spojeny s gastrointestinálními chorobami. Podobně tomu bylo u fermentace živočišného proteinu, při které došlo ke snížení četnosti bifidobakterií a produkce mastných kyselin s krátkým řetězcem. Naproti tomu myši krmené stravou na bázi rostlinných proteinů obohatily funkční taxonomické jednotky patřící do čeledi Bifidobacteriaceae a Desulfovibrionaceae a vykazovaly zvýšený výskyt Lactobacillaceae a čeledi Lachnospiraceae a Erysipelotrichaceae, stimulující produkci mastných kyselin s krátkým řetězcem (Kostovcikova et al. 2019).

K fermentaci aminokyselin jako zdroje energie dochází v distální části tlustého střeva. Proteinová fermentace má za následek rozmanitější profil metabolitů ve srovnání s fermentací sacharidů. Hlavní cestou fermentace aminokyselin v lidském tlustém střevě je deaminace, která vede k produkci mastných kyselin s krátkým řetězcem a amoniaku. Většina produkovaného amoniaku se rychle vstřebává, metabolizuje v játrech a vylučuje se močí (Scott et al. 2013).

Tuky

Při modulaci složení střevní mikrobioty má důležitou úlohu také kvalita tuků v potravě. Mastné kyseliny lze rozdělit na nasycené a nenasycené podle dvojných vazeb mezi molekulami uhlíku. Nasycené tuky se nacházejí téměř výlučně v živočišných zdrojích, zatímco nenasycené zahrnují převážně rostlinné tuky, zejména omega-3 (včetně kyseliny linolenové) a omega-6 (včetně kyseliny linolové). Důležité je, že oba typy tuků mají protichůdné účinky na modulaci střevní mikrobioty. Zejména nasycené tuky korelují s její negativní modulací. Diety s nasycenými tuky jako hlavní tukovou složkou trvale snižují zdraví prospěšné mikroby, jako jsou *Bifidobacterium*, *Bacteroidetes*, *Prevotella* a *Lactobacillus*. Naproti tomu diety obsahující nenasycené rostlinné tuky snižují škodlivé bakterie a zvyšují množství bifidobakterií a bakterií

produkující butyrát (*Roseburia* a *Faecilibacterium*), které jsou spojovány s pozitivními účinky na zdraví (Ramos & Martin 2021).

Ve studii Abulizi et al. (2019) poukázali na důležitost kvality tuku pro zdraví střev. Zjistili, že změny střevní mikrobioty a reakce hostitele na stravu obsahující buď mléčný tuk (bohatý na nasycené tuky), kukuřičný olej (bohatý na polynenasycené tuky – PUFA) nebo olivový olej (bohatý na mononenasycené tuky – MUFA) se významně lišily v závislosti na úrovni nasycení nebo nenasycení, což svědčí o tom, že typ mastných kyselin jednoznačně mění relativní mikrobiální hojnost.

Vitamíny a minerály

Několik studií naznačuje, že kromě makronutrientů mohou hrát důležitou roli při formování střevní mikrobioty také mikroživiny. V tomto smyslu Yang et al. (2020) nedávno shrnuli dosud publikované studie hodnotící změny mikrobiomu po nedostatku a doplnění vitamínů, minerálů a stopových prvků. Například suplementace vitamíny A a E může modulovat zdraví prospěšné mikroby z rodu *Bifidobacterium* a *Lactobacillus*. Naproti tomu vyšší příjem železa je spojen s nepříznivými účinky na střevní mikrobiom a snížením výskytu rodu *Bifidobacterium* a *Lactobacillus* (Simonyté-Sjödin et al. 2019).

Vitamíny jsou mikroživiny, které mají fyziologické účinky na různé biologické reakce, včetně imunity hostitele. Nedostatek vitamínů proto vede ke zvýšenému riziku vzniku infekčních, alergických a zánětlivých onemocnění. Vitamíny jsou základní mikroživiny, které jsou syntetizovány bakteriemi, kvasinkami a rostlinami, nikoli však savci. Savci proto musí získávat vitamíny ze stravy nebo se spoléhat na jejich syntézu komenzálními bakteriemi v GIT. Některé vitamíny jsou rozpustné ve vodě (např. vitamíny skupiny B a vitamín C) zatímco jiné jsou rozpustné v tucích (např. A, D, E, K). Vitamíny rozpustné ve vodě nejsou ukládány v těle a veškerý přebytek je vylučován močí.

Kromě stravy jsou komenzální bakterie považovány za důležité z hlediska kontroly zdraví hostitele. Co se vitamínů týče jsou komenzální bakterie poskytovatelem i konzumentem vitamínu B a vitamínu K. Ačkoli se obecně vitamín B ze stravy vstřebává v tenkém střevě, bakteriální vitamín B je produkován a vstřebáván hlavně v tlustém střevě, což naznačuje, že je v těle hostitele s vitamínem B ze stravy a ze střevní mikrobioty odlišně zacházeno. Vitamíny skupiny B jsou důležitými kofaktory a koenzymy v několika metabolických cestách a v poslední době se uvádí, že hrají důležitou roli při udržování imunitní homeostázy. Složení potravy a střevní mikrobiota tedy modulují imunitní funkci hostitele pomocí vitamínu B (Yoshii et al. 2019).

4.5.2 Probiotika

Význam slova probiotikum znamená „pro život“ a je tedy pravým opakem slova antibiotikum. Řadu let byla brána jako nejvhodnější definice dle Fullera (1989): „Probiotika jsou živé mikrobiální krmné doplňky, které příznivě ovlivňují hostitele zlepšením jeho střevní mikrobiální rovnováhy“.

Po dlouhou dobu byla probiotika definována jako živé mikroorganismy přirozeně se vyskytující v gastrointestinálním traktu člověka i zvířat, jejichž podávání v dostatečném množství má pozitivní účinek na zdraví hostitele a zároveň zlepšuje rovnováhu střevní

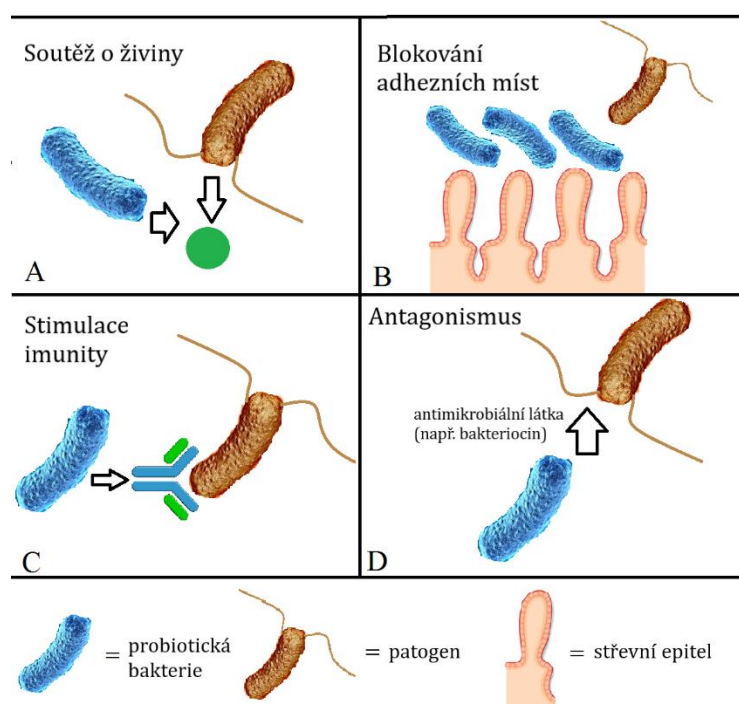
mikrobioty (FAO/WHO 2001). Celosvětově nepoužívanější a nejuznávanější verze zní: „Probiotika jsou živé mikroorganismy, které při podávání v dostatečném množství poskytují hostiteli zdravotní přínos“ (Hill et al. 2014).

Nejvíce používané jsou bakterie rodů *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*, jejich příznivé účinky zahrnují tlumení alergií, imunostimulační účinky, prevence kolorektálního karcinomu, zmírnění a prevence zácpy, terapie zánětlivých střevních onemocnění a průjmů. Jak v minulosti, tak v současné době se jako probiotika široce využívají bakterie mléčného kvašení (BMK) a to zejména rody *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* a *Lactococcus*. Důvodem jsou hlavně dlouhodobé zkušenosti s těmito bakteriemi například při zpracování mléka, snadná manipulovatelnost a jsou v naprosté většině nepatogenní (Rada 2011). Zástupci bakterií rodu *Bifidobacterium* se často vyskytují v tlustém střevě lidí a zvířat a byli izolováni také z bachoru přežvýkavců a výkalového vaku včely medonosné (Scardovi 1986; Rada & Marounek 2005). U člověka převažují druhy *Bifidobacterium longum*, *B. bifidum*, *B. breve* a *B. adolescentis*, zatímco pro zvířata je typický druh *B. animalis*, který se pro své příznivé technologické vlastnosti používá i do mléčných kysaných výrobků (Vlková a kol. 2004). Bifidobakterie jsou téměř ideálními zástupci probiotických bakterií, jelikož jsou nepatogenní. Jsou to typické střevní mikroorganismy, u nichž jsou prokazatelně doloženy pozitivní účinky na zdravotní stav lidí a zvířat (Mitsuoka 1992). Napomáhají udržovat správnou mikrobiální rovnováhu a snižují riziko infekce patogeny. Mohou mít pozitivní vliv na imunitní stimulaci hostitele a díky tomu jsou bifidobakterie velmi vhodná jako probiotika (Gaggia et al. 2010; Russell et al. 2011).

K tomu, aby došlo k pozitivnímu účinku působení probiotik je zapotřebí, aby tyto mikroorganismy po požití hostitelem prošly celým trávicím traktem až do střev v nepoškozeném stavu s vysokou vitalitou. V GIT jsou nuceni odolávat nízkým hodnotám pH v žaludku, účinkům žlučových kyselin a působení trávicích enzymů. Je nutné, aby používané probiotické mikroorganismy byly všeobecně uznávané jako bezpečné a bez zdravotních rizik pro hostitele (Biavati et al. 2000).

Probiotika působí v těle hostitele tak, že dojde k přichycení probiotických organismů na střevní epitel, probiotické bakterie obsadí přilnavá místa na epitelu a zablokují je, tím zabrání usazení patogenních bakterií ve střevě hostitele. Střevní mikrobiota je v přímém kontaktu s epiteliálními buňkami střeva a tím stimuluje imunitní systém. Probiotika tak účinně navozují imunitní účinky a stabilizují bariéru střevní sliznice (viz Obrázek č. 9) (Saarela et al. 2000).

Působení probiotik



Obrázek č. 9 – Mechanismus účinku probiotik (Upraveno dle Rasool et al. 2018)

Mikrobiální rovnováhu a současně s ní také stravitelnost krmiv a zdraví jedince mohou ovlivnit činitelé jako je věk zvířete, nemoci, složení stravy, krmné postupy, management farmy a další parametry (Simpson et al. 2002; Chaucheyras-Durand & Durand 2010). Věk zvířat může být velmi důležitým faktorem. Kolonizační proces je během raného života nestabilní a novorozená zvířata jsou tak náchylná k patogenům pocházejících z vnějšího prostředí. Počáteční kolonizace má pro hostitele velký význam, jelikož bakterie mohou modulovat expresi genů v epitelálních buňkách a vytvářet tak pro sebe příznivé prostředí (Siggers et al. 2007). Další významný účinek probiotik byl popsán, když byla zahrnuta do stravy zvířat v období, které bylo pro zvíře a střevní mikrobiotu stresující (Chaucheyras-Durand & Durand 2010). Krmení probiotických bakterií snižuje infekce, průjemová onemocnění a úmrtnost, což odpovídá potřebám antibiotické léčby a snižuje se tak výskyt a šíření bakterií rezistentních na antibiotika a rezidua antibiotik v mléce, mléčných výrobcích a také v mase (Abu-Tarboush et al. 1996). Dle Shim et al. (2005) krmení bifidobakterií mladým hospodářským zvířatům vedlo ke zlepšení přírůstku tělesné hmotnosti a konverzi krmiva, snížení výskytu průjmů a ke zlepšení zdravotního stavu.

4.5.3 Prebiotika

Gibson a Roberfroid (1995) definovali prebiotika jako: „Nestravitelné potravní ingredience, které příznivě ovlivňují hostitele prostřednictvím selektivní stimulace růstu anebo aktivity určitých bakterií v tlustém střevě“. Dle Rastall & Gibson (2002) byla většina prebiotik

zahrnuta mezi sacharidy, od jednoduchých cukrů, přes disacharidy a oligosacharidy až po polysacharidy. Do potravin a krmiv pro zvířata jsou jako prebiotikum běžně přidávány galakto-oligosacharidy (GOS), které se nacházejí v lidském mateřském mléce, dále pak frukto-oligosacharidy (FOS), které jsou součástí různých potravin jako je cibule, pórek nebo chřest (Vandenplans et al. 2015).

V roce 2004 autor původní definice G. Gibson navrhl upravenou definici: „Prebiotika jsou selektivně fermentované ingredience, které umožňují specifické změny ve složení nebo aktivitě střevní mikrobioty, což má příznivý vliv na zdravotní stav hostitele“ (Rada 2011). Definice prebiotik byla aktualizována v roce 2017. Prebiotikum je substrát, jenž je selektivně využíván hostitelskými mikroorganismy, které poskytují zdravotní přínos. Tato definice rozšiřuje koncept prebiotik a je podle ní možné mezi prebiotika řadit i jiné látky, než jsou sacharidy, využívat je i v jiných částech těla, než je gastrointestinální trakt, a přijímat je v jiných formách než ve stravě (Gibson et al. 2017).

Komerčně dostupná prebiotika jsou většinou již zmíněné frukto-oligosacharidy, galakto-oligosacharidy, dále pak isomalto-oligosacharidy, transgalakto-oligosacharidy, inulin a oligofruktóza. Fyziologické vlastnosti oligosacharidů závisí na jejich chemické struktuře a složení. Většina oligosacharidů je rozpustná ve vodě nebo fyziologických tekutinách (Shim 2005). Fermentace prebiotik střevní mikrobiotou produkuje mastné kyseliny s krátkým řetězcem jako je kyselina octová, máselná a propionová. Dále pak také kyselinu mléčnou. Tyto kyseliny snižují pH tlustého střeva. Dalším produktem fermentace prebiotik je peptidoglykan, který je schopný stimulovat imunitní systém proti patogenním mikroorganismům (Davari et al. 2019).

Konzumace prebiotik může zlepšovat funkce imunitního systému zvyšováním populace ochranných mikroorganismů. Dle předchozích studií je zřejmé, že prebiotika mohou snižovat populace škodlivých bakterií (Klatt et al. 2013; Denji et al. 2015; Stinson et al. 2017). Například monosacharid manóza je schopný snižovat kolonizaci patogenů prostřednictvím navázání na bakterie rodu *Salmonella* pomocí prstovitých výběžků tzv. fimbrií (Oyofa et al. 1989). Prebiotika mohou také vyvolat expresi imunitních molekul, zejména cytokinů (Davani-Davari et al. 2019). Je zajímavé, že mateřské prebiotické metabolity mohou procházet placentou a ovlivňovat vývoj imunitního systému plodu (Thorburn et al. 2014; Stinson et al. 2017). Fujiwara et al. (2010) ve své studii zjistili, že podávání FOS na modelu březí myši modifikovalo mikrobiotu potomků a následně byl zmírněn jejich zánět kůže. Naproti tomu Shadid et al. (2007) ve své studii prokázali, že bifidogenní účinky suplementace prebiotik u lidí nelze přenést na další generaci.

Přestože existuje mnoho studií, které neprokázaly žádné nežádoucí účinky při užívání prebiotik, existují výjimky, které uvádí, že užívání prebiotik v nadměrných dávkách může vyvolat nadýmání, bolesti břicha, zvýšenou pohyblivost střev nebo změnu konzistence stolice (Marteau & Seksik 2004).

4.5.4 Vliv vlákniny na mikrobiotu

Spotřeba konkrétních složek stravy, jako je vláknina a prebiotika, je ve skutečnosti cestou, kterou lze modulovat mikrobiotu. Vláknina je nestravitelnou částí potravy, která je podrobena bakteriální fermentaci v gastrointestinálním traktu a ovlivňuje tak bakteriální složení

a mikrobiální metabolické aktivity, včetně produkce konečných produktů fermentace (Slavin 2013).

Dietní vláknina, jak ji definovala Komise pro Codex Alimentarius v roce 2010, patří mezi sacharidové polymery s deseti nebo více monomerními jednotkami, které nejsou stráveny ani absorbovány v tenkém střevě. Vláknina je heterogenní, proto se k jejímu popisu používají různé klasifikace zahrnující původ, chemické složení a fyzikálně-chemické vlastnosti apod. Důležité je, že každá z těchto vlastností může také ovlivnit mikrobiální fermentaci. Z hlediska původu lze rostlinnou vlákninu rozdělit na vlákninu z obilovin, ovoce, zeleniny, ořechů a luštěnin. Přičemž složení vlákniny je z každého druhu rostliny jiné. Například banány obsahují rezistentní škrob a fruktany inulinového typu, zatímco jablka jsou zdrojem pektinu. Strava bohatá na rostlinné druhy potravin tak poskytuje mnoho různých druhů vlákniny, čímž podporuje rozmanitější složení mikrobioty (Bourquion et al. 1993).

Ovoce je hlavním zdrojem pektinu, přičemž více než 90 % komerčních pektinů pochází z vedlejších ovocných produktů. Ovocné pektiny jsou komplexní heterogenní polysacharidy, které vykazují řadu fyzikálně-chemických vlastností a zdravotních funkcí. Pektiny se vyskytují v primárních buněčných stěnách a středních lamelách rostlin a jsou obvykle zesítěné s celulózą a hemicelulózą. Pektin hraje důležitou roli ve struktuře rostlinné tkáně a přispívá k mezibuněčné adhezi, integritě a rigiditě buněčné stěny. Pektin je odolný vůči endogenním trávicím enzymům během průchodu žaludkem a tenkým střevem, ale může být fermentován střevní mikrobiotou v tlustém střevě (Cui et al. 2021). Dle Licht et al. (2010) vzrostl zájem o ovocný pektin jako potenciální prebiotikum. Bylo zjištěno, že pektin moduluje složení a rozmanitost střevní mikrobioty, zmírňuje záněty střev (Singh et al. 2019) a předchází rozvoji aterosklerózy (Chen et al. 2018).

Mezi fyzikálně-chemické vlastnosti vlákniny patří fermentovatelnost, rozpustnost a viskozita. Tyto vlastnosti ovlivňují nejen samotnou fermentaci, ale také terapeutické účinky spotřeby vlákniny (Mcorrie & Fahey 2013). Nerozpustná vláknina, jako je celulóza, je obecně špatně fermentována střevními mikroby, ale její přítomnost ve stravě zvyšuje rychlost průchodu střev a tím snižuje dobu, která je k dispozici pro bakteriální fermentaci nestrávené potravy v tlustém střevě (Titgemeyer et al. 1991). Vláknina, která je vysoce fermentovatelná a zároveň má vysokou rozpustnost a viskozitu zahrnuje β -glukan a pektiny (Mcorrie & Fahey 2013). Tato vláknina se přirozeně vyskytuje v zrnech ovsa a ječmene (β -glukan) a v jablku (pektin) (Schieber et al. 2001; Elleuch et al. 2011). Neviskózní, rozpustná vláknina, která je snadno fermentovatelná gastrointestinálními mikroorganismy, zahrnuje inulin, rezistentní maltodextriny, rezistentní škrob, polydextrózu a rozpustnou kukuřičnou vlákninu (Martínez et al. 2010; Holscher et al. 2015).

Fruktany inulinového typu se přirozeně vyskytují v agáve, chřestu, banánech, kořenu čekanky, česneku, cibuli, pórku a pšenici (Moshfegh et al. 1999). Studie prováděné na hlodavcích prokázaly, že podávání inulinu značně snižuje tělesnou hmotnost, hladinu cholesterolu v krvi a koncentraci glukózy v krvi (Márquez-Aguirre et al. 2013). Rozpustná vláknina, do které patří např. FOS a pektin, je metabolizována bakteriemi v proximální části trávicího traktu (kyčelník a vzestupný tračník). Zatímco vláknina méně rozpustná, např. celulóza, může být částečně fermentována v distální části tračníku, kde je doba průchodu pomalejší a bakteriální hustota vyšší (Koropatkin et al. 2012). V nedávné době se prokázalo, že vláknina s různou délkou řetězce a rozpustností má rozdílný vliv na složení mikrobioty slepého

střeva myši. Myši jejichž dieta byla obohacena o 5 – 10% doplněk celulózy, nerozpustné vlákniny, měly významně odlišné složení mikrobiální komunity oproti myším konzumujících 10 % FOS nebo inulin, rozpustné vlákniny (Liu et al. 2016).

Jedním z mechanismů, kterým je vláknina prospěšná pro zdraví střev, je zvětšování střevního obsahu. Rozpustná i nerozpustná vláknina, včetně nerozpustných neškrobových polysacharidů, jako je celulóza, zvětšují střevní obsah na základě jejich samotné přítomnosti a také jejich schopnosti absorbovat vodu. Zvětšení střevního obsahu přispívá ke zdravím zředěním toxinů, snížením nitrokolonického tlaku a zvýšením frekvence defekace. Vláknina navíc zlepšuje zdraví střev stimulováním fermentace, což vede k množení bakterií. Mnoho zdravotních výhod vlákniny se připisuje účinkům její fermentace pomocí mikrobů tlustého střeva a jejich metabolitů. Vláknina je fermentována na organické kyseliny, které slouží jako zdroj energie pro další bakterie, stejně jako pro střevní epitel a periferní tkáň (Seo et al. 2020).

4.5.5 Další významné faktory

Antibiotika a jiné veterinární zásahy

Antibiotika jsou široce využívána pro různé účely v oblasti lidského zdraví, chovu zvířat a akvakultury, jelikož mohou předcházet a kontrolovat nemoci a jako doplňkové látky mohou podporovat růst zvířat (Zhang et al. 2019). Konvenční antibiotika jsou obecně bakteriostatická nebo baktericidní, což znamená, že zabíjejí nebo zabraňují růstu patogenních i prospěšných mikrobů (Kostopoulou et al. 2015).

Mikrobiota ve střevech ovlivňuje fyziologii a metabolismus hostitele a může reagovat různými způsoby. Například bakterie, které produkují trávicí enzymy, mohou syntetizovat nebo poskytovat základní mikroživiny (jako jsou vitamíny a kofaktory) a jsou nezbytné pro správné fungování imunitního a nervového systému (Isaac et al. 2017; Zhang et al. 2017). Willing et al. (2011) uvedli, že změny ve střevní mikrobiotě vyvolané antibiotiky mohou vést k narušení regulace imunitní homeostázy a ke zvýšení náchylnosti k patogenním infekcím. Antibiotika mění složení mikrobioty různými způsoby v závislosti na jejich spektru aktivity, což je faktor, který může být užitečný při identifikaci skupin bakterií náchylných k chorobám nebo narušujících imunitu hostitele. Z hlediska ekologického dopadu léčiva na mikrobiotu je velmi důležitá aplikovaná dávka antibiotika. Subterapeutické dávky antibiotik se v zemědělství používaly jak profylakticky (preventivní ošetření), tak k podpoře růstu zvířat. Antibiotické růstové stimulanty byly kritizovány, protože měnily složení mikrobioty a podporovaly nebezpečnou úroveň rezistence na antibiotika (Smith et al. 2002). Selatům, kterým byl podáván amoxicilin jednou denně po narození, zůstala mikrobiota významně změněna po dobu pěti týdnů po ukončení léčby, což poukazuje na dlouhodobý účinek antibiotik na homeostázu střev (Janczyk et al. 2007). Terapeutické dávky, které se používají v klinické praxi, jsou navrženy tak, aby se minimalizovaly účinky na hostitele a maximalizovalo odstranění patogenů (Willing et al. 2011).

V případě léčby se většina antibiotik podává zvířatům přimíchaná do krmiva. Z pohledu chovatelů se jedná o praktický způsob podávání terapeutických antibiotik velkým skupinám zvířat, ale má to zjevnou nevýhodu v tom, že nemocná a slabší zvířata se ztrátou chuti k jídlu konzumují menší množství antibiotik oproti zdravým zvířatům (Wegener 2003). Po antibiotické léčbě obvykle následuje snížení mikrobiální diverzity, která se do původního stavu vrátí během

několika dnů nebo týdnů (Jernberg et al. 2007; Dethlefsen et al. 2008). Přestože se většina mikrobioty obnoví, některé mikroorganismy jsou definitivně a nenávratně ztraceny (Jakobsson et al. 2010).

Clayton et al. (2016) se ve své studii zabývali nejčastějšími vlivy vnějšího prostředí působící na střevní mikrobiom. Zkoumali rozdíly účinku užívání antibiotik mezi jednotlivci a také nemoci, které mohly být nebo byly ovlivněny mikrobiomem. Snahou bylo zjistit, zda se liší mikrobiom testovaných jedinců chovaných v zajetí od divoce žijících populací primátů stejného druhu. Byl zjištěn pozitivní trend, ale z důvodu malého množství vzorků nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly. U odebraných vzorků z druhé zoologické zahrady, kde bylo celkem 33 zvířat, jedenácti z nich nikdy nebyla podávána antibiotika. Testovalo se, zda se mikrobiom zbývajících dvaceti dvou jedinců, kteří dostávali antibiotika, více podobá lidskému mikrobiomu. Toto tvrzení se nepotvrdilo, je tak možné tvrdit, že antibiotika nevedou ke konvergenci mikrobiomu primátů chovaných v zajetí s lidským mikrobiomem.

Welfare a stres

Změny ve střevní mikrobiotě ovlivňují také fyziologické a behaviorální procesy, jako jsou např. stres, úzkost, změny sociálního chování a paměť, které přímo souvisejí s welfare zvířat. Dobré životní podmínky a zdraví zvířat jsou předpokladem pro správné fungování a složení střevní mikrobioty, zabráňují šíření infekcí a podílí se na kontrole kolonizace patogeny (Kraimi et al. 2019).

Dle Clayton et al. (2018) jsou patrné důkazy o tom, že existuje vztah mezi střevní mikrobiotou a funkcí nervového systému. Nedávné studie identifikovaly změny ve střevní mikrobiotě spojené se stresem a roli stresu a chování souvisejícího se stresem v modulaci mikrobioty. Mechanismy, kterými může mikrobiota ovlivňovat funkci centrální nervové soustavy (CNS), zahrnují hlavně aktivaci imunitního systému, aktivaci nervu vagu a tvorbu metabolitů s neuroaktivními vlastnostmi. Osa mikrobiota-střevo-mozek je nově vznikající koncept, který naznačuje složitou roli mikrobů při vzniku a léčbě poruch nervového systému, včetně psychických poruch souvisejících se stresem. Například Park et al. (2013) ve své studii prováděné na myši, která byla vystavena stresu zjistili, že existuje vztah mezi zvýšenou expresí kortikotropního hormonu a změnou ve složení střevní mikrobioty. Další studie ukázaly blízký vztah mezi poruchami ve střevní mikrobiotě a přítomností stresu (De Palma et al. 2015). Přestože je tato problematika dobře prostudovaná u hlodavců, u primátů je známo jen málo informací, navzdory skutečnosti, že jsou primáti ideálními modely pro zkoumání vztahu mikrobiota-střevo-mozek (Clayton et al. 2018).

5 Materiál a metody

5.1 Chovatelská data a podklady

Veškeré chovatelské údaje a způsoby chovu jednotlivých gibbonů, informace ohledně složení krmných dávek před a po změně diety poskytla zúčastněná zoologická zahrada.

5.1.1 Zoologická zahrada Olomouc

Během této studie chovala Zoologická zahrada Olomouc celkem pět gibbonů zlatolících ve dvou rodinách. První byla rodina Miloš skládající se z chovného páru samice Milouš (v roce 1988 import mláďete z Vietnamu) a samce Dana (narozen 2003 v Jihlavě). Druhá rodina Rony byla tvořena dalším chovným párem, skládající se ze samice Rony (narozena 2003 v Olomouci), samce Tondy (narozen 2002 v Jihlavě) a mladé samičky Ruby (narozena 2014 v Olomouci).

Giboni jsou chováni v pavilonu opic. K dispozici mají vnitřní vytápěnou ubikaci a venkovní výběh. V zimních měsících mají do výběhu přístup jen omezeně v závislosti na počasí. Za příznivých klimatických podmínek mohou do výběhu kdykoliv během dne a přes léto venku i nocují (Vokurková pers. comm. 2021).

5.2 Metodika odběru fekálních vzorků a sběru dat

Odběr vzorků

U vybraných jedinců gibbonů rodu *Nomascus* bylo kromě sestavení dat o složení krmné dávky, následující den provedeno sbírání vzorků výkalů. Sběr vzorků byl proveden pověřenými ošetřovateli olomoucké zoologické zahrady. Vzorky byly odebírány po dobu osmi týdnů před změnou KD a dalších osm týdnů po změně KD (jednou týdně jeden vzorek od každého jedince).

Do skleněné zkumavky obsahující odběrové médium s glycerolem (jedná se o médium pro ředící řadu s glycerolem v poměru 1:1, složení ředící řady viz níže Tabulka č. 3) bylo co nejvíc asepticky odebráno malé množství čerstvé stolice (zhruba 1 g, „odpovídá velikosti lískového ořechu“). Odebrání stolice bylo provedeno pomocí přiložené sterilní tyčinky, která byla hned po odběru vyhozena. Aby byl vzorek co nejčerstvější, byl odběr proveden ihned po vykonání potřeby zvířete. Pokud to nebylo možné, byl trus odebrán z části výkalu, který se nedotkl země.

Zkumavka byla pečlivě uzavřena a její obsah byl opatrně promíchán, tak aby byl celý vzorek ponořen do tekutiny. Jelikož se jedná o anaerobní bakterie trávicího traktu, není vhodné míchat příliš intenzivně, vzorek by se mohl promíchat se vzduchem, což by bylo nežádoucí. Na zkumavku byl zaznamenán číselný údaj voděodolnou fixou, aby nedošlo ke smazání. Dále bylo nutné dbát na to, aby nedošlo k vylití bujónu. Zkumavka s odebraným vzorkem byla následně hluboce zamrazena. Všechny vzorky byly označeny a bylo zaznamenáno, o jaký druh zvířete se jednalo (jméno, pohlaví apod.).

Použité vzorky

Pro účely experimentu bylo použito celkem 52 fekálních vzorků získaných od čtyř gibbonů zlatolících ze Zoologické zahrady Olomouc v České republice. Sběr vzorků trval celkem 16

týdnů (8 týdnů před a 8 týdnů po změně diety). Přesněji byl sběr vzorků zahájen 28. 5. 2019, po osmi týdnech byl sběr přerušen a v průběhu tří týdnů byla změněna krmná dávka se zaměřením na snížení obsahu cukru a zvýšení vlákniny. Sběr vzorků po úpravě krmné dávky probíhal ve stejné frekvenci dalších osm týdnů. Sběr výkalů byl ukončen 24. 9. 2019.

Tabulka č. 1: Seznam testovaných jedinců

Jedinec	Druh	Zoologická zahrada	Pohlaví
r. Miloš – Dan	Gibon zlatolící (<i>Nomascus gabriellae</i>)	Olomouc	Samec
r. Miloš – Milouš	Gibon zlatolící (<i>Nomascus gabriellae</i>)	Olomouc	Samice
r. Rony – Tonda	Gibon zlatolící (<i>Nomascus gabriellae</i>)	Olomouc	Samec
r. Rony – Rony	Gibon zlatolící (<i>Nomascus gabriellae</i>)	Olomouc	Samice

r. - rodina

5.3 Výpočet složení krmné dávky

Nutriční složení potravy bylo hodnoceno pomocí sestavené databáze potravin a jejich živinového složení v programu Excel. Pro sestavení tabulky v Excelu byla data čerpána z databáze Souci-Fachmann-Kraut (“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019), nebo z oficiálních materiálů deklarovaných výrobcí granulí a dostupných publikací. Kompletní seznam použitých komponentů a zdrojů informací je uveden v přílohách (viz Příloha č. 1). Pro účely této práce se stanovoval obsah sušiny, bílkovin, tuku, vlákniny, sacharidů celkem, glukózy, fruktózy, sacharózy, acidodetergentní vlákniny (ADF) a neutrálně detergentní vlákniny (NDF) v sušině. Výpočet výživových hodnot krmných dávek byl proveden pod dohledem Ing. Petry Bolechové, Ph.D. Údaje o složení týdenní krmné dávky chovné skupiny byl poskytnut zahradou na základě dohody o experimentu. Vypočítáno bylo složení KD den před odběrem vzorků pro kultivační analýzu mikrobioty.

Zoologická zahrada Olomouc poskytla přesné informace o hmotnosti každého komponentu v dané kategorii KD skupiny po dobu prvních osmi týdnů (jablka 360 g, hrušky 140 g...). Po změně KD poskytla zoologická zahrada pouze druhové složení a hmotnost každé kategorie (viz Příloha č. 2 – 5). Ve druhém případě bylo tedy počítáno s celkovou hmotností kategorie, rozpočítanou ve stejném poměru pro jednotlivé prvky. Jelikož zoologická zahrada neposkytla informace o hmotnosti okusu, bylo počítáno jednotně se 100 g okusu/jedinec/den. Výsledná data byla shromážděna v tabulce (viz Příloha č. 6), pro další statistickou analýzu.

5.4 Mikrobiologická analýza fekálních vzorků

5.4.1 Použitá média pro detekci mikroorganismů

Pro stanovení celkových počtů anaerobních mikroorganismů, které slouží jako detekovaná kontrolní skupina, bylo použito modifikované médium, jehož základní složkou byl Wilkins-Chalgren agar (Oxoid) doplněný o sójový pepton, cystein a tween, pod označením WSP. Přesné složení médií je uvedeno v Tabulce č. 2. Dalším použitým médiem byl zmíněný modifikovaný Wilkins-Chalgren agar s mupirocinem a kyselinou octovou (WSP-MUP), dále pak již modifikovaný WSP-MUP agar s přídatkem norfloxacinu (WSP-MUP+NORF), obě varianty slouží ke stanovení přítomnosti rodu *Bifidobacterium*. Dalším použitým médiem bylo TBX (Tryptone Bile X-glucuronide, Oxoid), které se používá na selektivní stanovení *Escherichia coli* a koliformních bakterií. Posledním použitým médiem byla Rogosa agar (Oxoid), pomocí kterého se stanovuje rod *Lactobacillus*.

Příprava WSP média byla provedena rozpuštěním agaru Wilkins-Chalgren v destilované vodě s přídatkem sójového peptonu, cysteinu a tweenu. Vše bylo dobře promícháno, rozvářeno a sterilováno. Po vytemperování na 47 °C byl přidán mupirocin a kyselina octová. Směs byla opět opatrně promíchána. Pro modifikovaný agar (WSP-MUP+NORF) byl postup přípravy i složení směsi stejné, pouze byl do směsi jako selektivní složka přidán mupirocin a norfloxacin (kyselina octová je již obsažena v zásobním roztoku antibiotika). Médium TBX bylo připraveno rozpuštěním agaru TBX v destilované vodě, směs byla promíchána a poté sterilována. Obdobně bylo připraveno poslední médium, agar Rogosa byl smíchán s destilovanou vodou, poté byl promíchán a rozvářen. Na závěr (dvě minuty před koncem rozváření) bylo do směsi přidáno 132 µl/100 ml kyseliny octové.



Obrázek č. 10 - Příprava médií

Tabulka č. 2: Složení použitých selektivních médií pro růst bakterií

Médium	Složení selektivního média na 1000 ml dH ₂ O	Podmínky kultivace
Wilkins-Chalgren agar pro celkové počty anaerobních mikroorganismů (WSP)	43 g Wilkins-Chalgren anaerob agar (Oxoid), 5 g sójový pepton (Oxoid), 0,5 g cystein (Oxoid), 1 ml tween (Sigma)	48 h, anaerobní, při 37 °C
Wilkins-Chalgren (WSP-MUP agar pro <i>Bifidobacterium</i> spp.)	43 g Wilkins-Chalgren anaerob agar (Oxoid), 5 g sójový pepton (Oxoid), 0,5 g cystein (Oxoid), 1 ml tween (Sigma), 100 mg mupirocin (Oxoid), 100 µl ledová kys. octová (Sigma)	48 h, anaerobní, při 37 °C
Modifikovaný agar s norfloxacinem (WSP-MUP+NORF pro vyšší selektivitu <i>Bifidobacterium</i> spp.)	43 g Wilkins-Chalgren anaerob agar (Oxoid), 5 g sójový pepton (Oxoid), 0,5 g cystein (Oxoid), 100 mg mupirocin (Oxoid), 1 ml tween (Sigma), 200 mg norfloxacin (Sigma), 100 µl ledová kys. octová (Sigma)	48 h, anaerobní, při 37 °C
TBX (agar pro <i>Escherichia coli</i> , koliformní bakterie)	TBX agar (Oxoid)	24 h, fakultativně anaerobní, při 37 °C
Rogosa (agar pro <i>Lactobacillus</i> spp.)	Rogosa agar (Oxoid) 1 320 µl	48 h, mikroaerofilní, při 37 °C

5.4.2 Kultivační stanovení vybraných skupin mikroorganismů

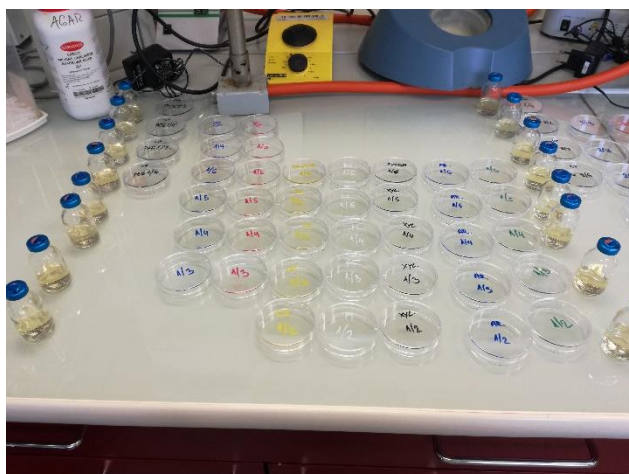
Každý testovaný fekální vzorek byl zpracován pomocí kultivační deskové metody na výše uvedených selektivních médiích. Pro rozbor vzorků byla vytvořena ředící řada 2. – 8. ředění (odebraný vzorek představuje 1. ředění). Pro kontrolní celkové počty bylo použito 6. – 8. ředění. Pro bifidobakterie kultivované na agaru WSP-MUP bylo použito 3. – 5. ředění, na agaru WSP-MUP-NORF 2. – 5. ředění. Pro selektivní stanovení *Escherichia coli* a koliformních bakterií bylo použito 2. – 7. ředění. Pro stanovení laktobacilů bylo použito 3. – 7. ředění. Ředící řada byla složena z anaerobně připravených zkumavek s médiem pro ředící řadu (9 ml/zkumavka), jehož přesné složení je uvedeno v Tabulce č. 3.

Tabulka č. 3: Složení ředící řady

Komponenty	Množství na 1 liter d H ₂ O
Tryptone (Oxoid)	5 g
Nutrient broth No. 2 (Oxoid)	5 g
Yeast extract (Oxoid)	2,5 g
Tween (Sigma)	0,5 ml
Cystein (Oxoid)	0,25 g

Skleněná zkumavka, která obsahovala odběrové médium s fekálním vzorkem, byla označena jako první ředění. Tato odběrová zkumavka se vzorkem byla zvážena před a po vložení vzorku, díky čemuž bylo možné z rozdílů hodnot vypočítat množství vzorku, které bylo odebráno a následně převedeno do druhého ředění. Před tím, než bylo odebráno odpovídající množství vzorku byla zkumavka zhomogenizována pomocí vortexu (třepačka sloužící k homogenizaci vzorku). Následně byl z každého dalšího ředění sterilně odebrán injekční stříkačkou 1 ml média, který byl vložen do další zkumavky ředící řady. Bylo nutné pracovat asepticky, zkumavky ožehnout před odebráním média i po aplikování do vyššího ředění, aby nedošlo ke kontaminaci. Nezbytné bylo také používat pokaždé jinou sterilně připravenou stříkačku s jehlou.

Po vytvoření ředící řady byl z každé zkumavky odebrán 0,5 ml média, který byl přenesen do předem připravených a nadepsaných malých Petriho misek. Inokulum bylo zalito příslušným agarem (cca 5 ml), v případě Rogosy byla miska po zatuhnutí agarů s inokulem ještě jednou přelita. Na předem nalité a ztuhlé médium TBX (velké Petriho misky cca 10 ml), bylo aplikováno 0,1 ml inokula, které bylo následně pomocí sterilní skleněné hokejky rozetřeno.



Obrázek č. 11 - Příprava Petriho misek na rozbor, po stranách ředící řada

Misky s médii pro celkové počty a bifidobakterie byly kultivovány za anaerobních podmínek v anaerostatech, laktobacily byly kultivovány mikroaerofilně, koliformní bakterie

byly kultivovány za aerobních podmínek. Vše bylo dáno do termostatu, kde byla nastavena teplota na 37 °C. Anaerobní bakterie byly v termostatu ponechány po dobu 48 hodin. Koliformní bakterie byly odebrány a zkontrolovány po 24 hodinách.

5.4.3 Kvantifikace

Kolonie narostlé v Petriho miskách byly spočítány pomocí digitálního počítadla a celkový počet byl vynásoben číslem 2 (z toho důvodu, že byly použity malé Petriho misky a inokulační dávka byla 0,5 ml a ne 1 ml). Na médiu TBX byly narostlé kolonie vynásobeny číslem 10 (jelikož byla inokulační dávka 0,1 ml).

Zpravidla by měl být počet kolonií s každým vyšším ředěním 10x nižší. Příslušným výpočtem (viz níže) byly získány počty bakterií, tedy přesněji počty kolonií tvořících jednotek v 1 g vzorku stolice (KTJ/1g stolice).

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

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

F – převrácená hodnota vyššího ředění

KTJ – kolonie tvořící jednotka

5.4.4 Izolace narostlých kolonií bakterií

Po kultivaci byly z Petriho misek u vybraných vzorků sterilně odebrány bakteriologickou kličkou narostlé kolonie s rozdílnými kultivačními charakteristikami (barva, tvar, struktura kolonie). Následně byly vloženy do zkumavek s tekutým médiem WSP bujón (složení viz Tabulka č. 4). Tímto byl vytvořen izolát, který se dále nechal kultivovat 24 hodin v termostatu při teplotě 37 °C. Cílem bylo odebrat z daného vzorku co nejvíce kolonií s odlišnými kultivačními znaky, tak aby byla ověřena identita kultivovaných bakterií na selektivním médiu.

Z narostlého izolátu bylo injekční stříkačkou odebráno velmi malé množství média s narostlou kulturou na podložní sklíčko. To bylo dále přikryto krycím sklíčkem a pozorováno ve světelném mikroskopu s fázovým kontrastem. Mikroskopické pozorování probíhalo pod zvětšením 400x. U některých vybraných izolátů byl pořízen digitální snímek.

Kontrola byla důležitá pro vyloučení případně kontaminovaných vzorků. Ze vzorků čistých kultur byl odebrán 1 ml média do sterilních zkumavek Eppendorf (1,5 ml), které byly následně použity pro identifikaci MALDI-TOF MS.

Tabulka č. 4: Složení tekutého média WSP bujón

Komponenty	Množství na 1 liter d H ₂ O
Wilkins-Chalgren broth (Oxoid)	33 g
Sojový pepton (Oxoid)	5 g
Cystein (Oxoid)	0,5 g
Tween (Sigma)	1 ml

5.4.5 MALDI-TOF MS (Extrakce pomocí ethanolu a kyseliny mravenčí)

Do označených zkumavek Eppendorf o objemu 1,5 ml byl sterilně převeden 1 ml mikroskopicky zkontrolované kultury. Zkumavky byly dány do centrifugy po dobu dvou minut při maximálních otáčkách (14 500 otáček za minutu). Tím bylo dosaženo usazení pelety bakteriálních buněk na dně zkumavky. Bakteriální peleta byla resuspendována 500 μ l 70% ethanolu, pro fixaci vzorku. Eppendorf zkumavky byly opět centrifugovány za stejných podmínek. Následně byl odlit a odpipetován přebytečný ethanol, zůstal pouze sediment (peleta). Vzorek se nechal deset minut schnout za přítomnosti vzduchu. K sedimentu bylo přidáno 15 μ l kyseliny mravenčí a 15 μ l acetonitrilu (obojí Sigma). Suspenze byla zvortexována (promíchána) a opět stočená v centrifuze. Následně byl 1 μ l supernatantu napipetován ve dvou kopiích na speciální destičku (Bruker). Na závěr po zaschnutí byl na každý vzorek napipetován 1 μ l matrice (Bruker). Tím byly vzorky připraveny k identifikaci a vloženy do přístroje.

5.4.6 Identifikace detekovaných mikroorganismů

Konečná identifikace mikroorganismů byla provedena pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF MS (Z anglického Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation Time-of-Flight mass spektrometry/hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí a ionizací za účasti matrice s průletovým analyzátozem; Bruker Daltonik GmbH, Německo). Pro identifikaci druhů byl použit program BioTyper (Bruker Daltonik GmbH, Německo). Tento postup byl vybrán z toho důvodu, že se jedná o spolehlivou a velmi rychlou metodu, oproti ostatním identifikačním metodám.

5.5 Statistická analýza

Naměřená a vypočítaná data byla shromážděna v tabulce programu Excel (viz Příloha č. 9). Statistická analýza byla provedena pomocí statistického programu STATISTICA a pro analýzy bylo jednotně počítáno s 95% intervalem spolehlivosti ($p = 0,05$).

Nejprve byla otestována normalita dat. Následně byly vypočítány průměrné hodnoty a směrodatné odchylky detekovaných počtů mikroorganismů zjištěných na jednotlivých médiích. Pro porovnání změny vybraných skupin mikroorganismů v dietě před a po byl použit párový t-test (pokud data pocházela z normálového rozdělení) a Mann-Whitneyův U Test (pokud nepocházela z normálového rozdělení).

Dále pak byly vypočítány aritmetické průměry a směrodatné odchylky pro jednotlivé živiny krmné dávky před a po změně diety (sušina, bílkoviny, sacharidy...). Pro porovnání živinového složení krmných dávek byl použit opět párový t-test (pro data z normálového rozdělení) a Mann-Whitneyův U Test (pro data, která nepocházela z normálového rozdělení).

6 Výsledky

Cílem této práce bylo zjistit kvantitativní zastoupení vybraných skupin mikroorganismů před a po změně krmné dávky u zvolených jedinců gibbonů. Jednalo se konkrétně o 4 zástupce gibbonů patřících do dvou rodin (MILOŠ, RONY). Změna KD spočívala ve snížení obsahu cukrů a současném navýšení obsahu vlákniny a bílkovin nahrazením ovoce zeleninou. Kompletní seznam jednotlivých komponentů a informací ohledně krmných dávek je uveden v přílohách (viz Příloha č. 2 – 5).

Pro hodnocení byly vybrány skupiny mikroorganismů patřící mezi komenzální mikroby, které by měly pozitivně ovlivňovat mikrobiotu gibbonů, dále pak koliformní bakterie a *Escherichia coli*. Pro stanovení vybraných skupin mikroorganismů byla použita kultivační desková metoda.

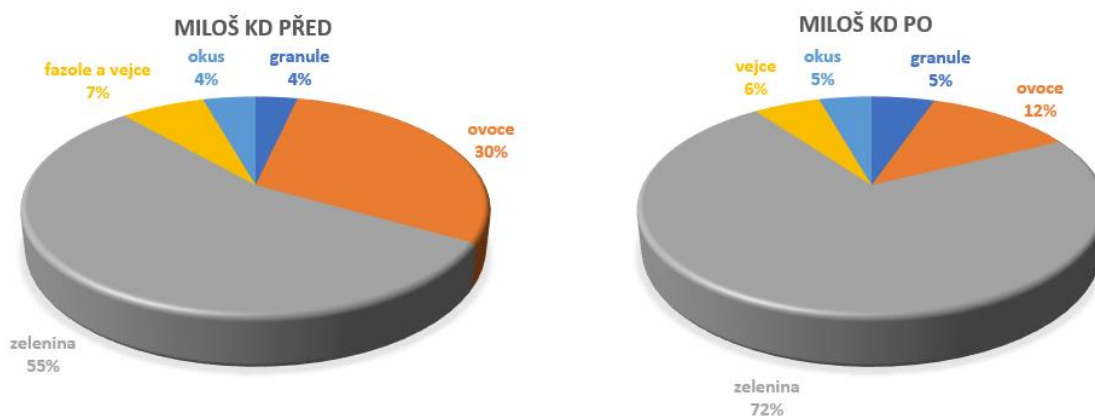
6.1 Změna diety

Základem krmné dávky před i po změně diety byla pestrá skladba ovoce a zeleniny, doplněná o komerčně vyráběné granule, vejce nebo fazole. Giboni měli ad libitní přístup k olistěným větvím (okus), byly jim podávány hlavně větve dubu, buku, vrby jívy, habru, třešně a lísky. Mezi okus byla řazena také tráva a jetel. Pro účely této práce bylo počítáno s jednotným množstvím 100 g/jedinec/den.

V rámci změny diety bylo z obou krmných dávek vyřazeno vysokoenergetické ovoce jako například banány, jahody, třešně. U rodiny Miloš byly navíc z původní KD vyřazeny mandarinky, které rodina Rony v KD neměla vůbec. Místo toho byly součástí jejich původní KD meruňky, grepy a višně, tyto komponenty byly po změně diety vyřazeny. Co se týká zeleniny byly u rodiny Miloš z původní KD vyřazeny rajčata, brokolice, lilek, fenykl, květák a hrášek, namísto toho jim bylo přidáno větší množství salátů (ledový, římský, kadeřavý, čekanka...) a listové zeleniny (špenát). Naproti tomu rodina Rony dostávala rajčata i po změně KD, z jejich diety byl vyřazen lilek, fenykl, brokolice a vodní meloun. Náhrada představovala opět větší množství výše zmíněných salátů a listové zeleniny.

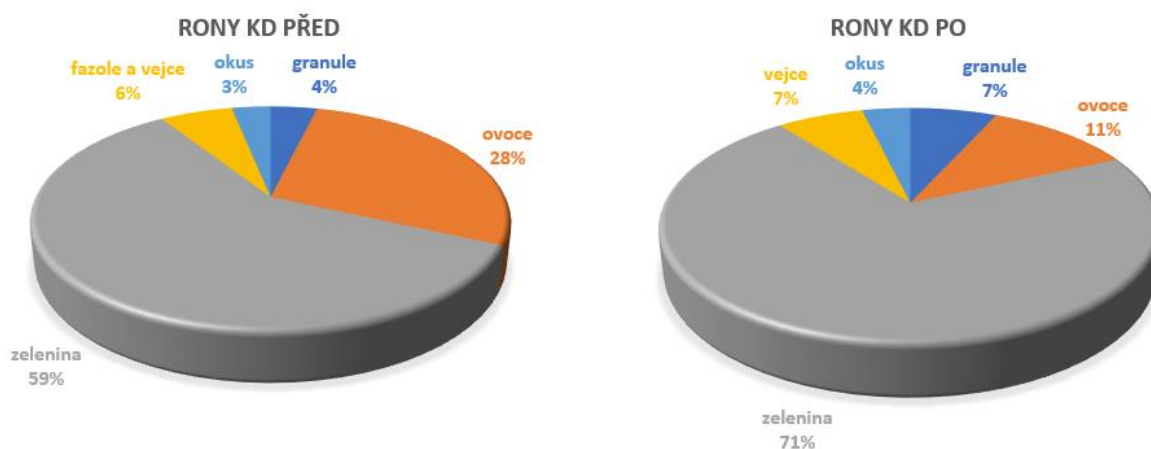
Další patrnou změnou v krmné dávce u rodiny Miloš bylo úplné vyřazení fazolí a navýšení množství podávaných granulí St. Laurent určených pro listožravé primáty. Došlo ke snížení množství podávaného ovoce z průměrných 680,5 g/den na 282,3 g/den a současně k navýšení průměrného množství podávané zeleniny z 1 260,3 g/den na 1 650 g/den. Procentuální skladba krmné dávky rodiny Miloš je znázorněna níže (viz Graf č. 3).

Graf č. 3 – Procentuální zastoupení jednotlivých složek komponentů KD před a po, r. Miloš



U rodiny Rony byl podáván jiný druh granulí, a to Mazuri určené pro novosvětské a starosvětské primáty zahrnující lidoopy. I u této rodiny došlo po změně diety k navýšení množství podávaných granulí ze 120 g/den na 180 g/den. Současně došlo opět ke snížení průměrného množství ovoce z 886,9 g/den na 305 g/den a zvýšení průměrného množství zeleniny z 1 872,3 g/den na 1 900 g/den. Došlo také k vyřazení fazolí. Procentuální skladba krmné dávky pro rodinu Rony je znázorněna v grafu níže (viz Graf č. 4).

Graf č. 4 – Procentuální zastoupení jednotlivých složek komponentů KD před a po, rodina Rony



6.2 Analýza složení potravy

6.2.1 Původní dieta

Živinové složení původních krmných dávek obou rodin je uvedeno v přílohách (viz Příloha č. 7). U rodiny Miloš byly zjištěny průměrné hodnoty sušiny okolo $16,34 \pm 0,67$ %, bílkovin $20,25 \pm 1,05$ %, tuku $2,42 \pm 0,46$ %, celkové vlákniny $14,80 \pm 1,92$ %, sacharidů celkem $43,16 \pm 1,28$ %, glukózy $7,29 \pm 1,23$ %, fruktózy $10,53 \pm 0,83$ %, sacharózy $10,22 \pm 2,23$ %, ADF $19,02 \pm 1,17$ % a NDF $35,90 \pm 1,62$ %.

V rámci rodiny Rony byly v původní KD zjištěny průměrné hodnoty sušiny 16,52 ± 0,73 %, bílkovin 18,99 ± 0,77 %, tuku 2,88 ± 0,30 %, vlákniny 11,98 ± 2,17 %, sacharidů celkem 45,37 ± 2,24 %, glukózy 7,03 ± 1,29 %, fruktózy 10,08 ± 0,98 % sacharózy 10,44 ± 2,52 %, ADF 16,93 ± 0,67 % a NDF 32,49 ± 1,09 %.

6.2.2 Nová dieta

Nutriční složení krmných dávek po změně diety je uvedeno v přílohách (viz Příloha č. 8). Po změně diety došlo u rodiny Miloš ke zvýšení obsahu bílkovin na 24,09 ± 0,95 % a tuku na 3,22 ± 0,15 %. Celková vláknina byla snížena o cca 2,64 %. Sníženy byly také celkové sacharidy na hodnotu 36,80 ± 1,96 %. Kleslo také množství jednoduchých cukrů. Na hodnotu 20,82 ± 0,92 % byla zvýšena ADF a na 37,38 ± 2,00 % byla zvýšena NDF. Obsah sušiny se příliš nezměnil (viz Tabulka č. 5) Výsledek párového t-testu ukázal, že po změně diety došlo ke statisticky významnému rozdílu v obsahu bílkovin, glukózy a ADF. Dle Mann-Whitney U test byl zjištěn statisticky významný rozdíl v obsahu tuku, sacharidů, vlákniny a fruktózy (viz Příloha č. 18).

U rodiny Rony došlo po změně diety k navýšení bílkovin na průměrnou hodnotu 23,24 ± 0,69 %. Obsah tuku byl zvýšen na 3,77 ± 0,20 %. Celková vláknina byla snížena na hodnotu 8,61 ± 0,49 %. Sacharidy byly sníženy na průměrnou hodnotu 40,58 ± 1,32 %. Došlo také ke snížení glukózy, fruktózy a sacharózy. Oproti původní dietě došlo ke zvýšení ADF na 18,02 ± 0,81 % a NDF na 33,95 ± 2,98 %. Sušina byla navýšena o cca 1,55 %. Na základě párového t-testu bylo zjištěno, že po změně diety došlo ke statisticky významnému rozdílu v obsahu sušiny, tuku, sacharidů, glukózy, sacharózy a ADF. Podle Mann-Whitney U test byl zjištěn statisticky významný rozdíl v obsahu bílkovin, vlákniny a fruktózy (viz Příloha č. 20).

Tabulka č. 5 – Průměrné hodnoty živin krmných dávek před a po

	KD		Sušina	Bílkoviny	Tuky	Vláknina	Sacharidy	Glukóza	Fruktóza	Sacharóza	ADF	NDF
			%									
r. Miloš	před	Průměr	16,34	20,25	2,42	14,8	43,16	7,29	10,53	10,22	19,02	35,9
		SD ±	0,67	1,05	0,46	1,92	1,28	1,23	0,83	2,23	1,17	1,62
	po	Průměr	16,65	24,09*	3,22*	12,16*	36,8*	5,18*	5,61*	9,23	20,82*	37,38
		SD ±	0,4	0,95	0,15	1,67	1,96	0,67	0,64	2,23	0,92	2
r. Rony	před	Průměr	16,52	18,99	2,88	11,98	45,37	7,03	10,08	10,44	16,93	32,49
		SD ±	0,73	0,77	0,3	2,17	2,24	1,29	0,98	2,52	0,67	1,09
	po	Průměr	18,07*	23,24*	3,77*	8,61*	40,58*	4,25*	4,8*	7,41*	18,02*	33,95
		SD ±	0,77	0,69	0,2	0,49	1,32	0,41	0,29	1,57	0,81	2,98

*statisticky významný rozdíl

6.3 Kultivační stanovení

Pro kontrolní stanovení celkových počtů anaerobních bakterií byl použit modifikovaný Wilkins-Chalgren agar se sójovým peptonem, cysteinem a tweenem, bez selektivních složek (CP). Pro bifidobakterie byly použity dva typy selektivních agarů, a to modifikovaný Wilkins-Chalgren agar s kyselinou octovou a mupirocinem (BIF-MUP) a Wilkins-Chalgren agar s mupirocinem a norfloxacinem (BIF-MUP-NORF). Agar BIF-NORF obsahoval kombinaci dvou antibiotik, tudíž u něj byla očekávána vyšší selektivita. Pro laktobacily bylo použito

médium Rogosa (LBC). Pro selektivní stanovení *Escherichia coli* (EC) a koliformních bakterií (KB) bylo použito médium TBX.

Z výsledků je patrné, že na médiu BIF-MUP byly u všech jedinců zjištěny vyšší hodnoty, oproti hodnotám detekovaných na médiu BIF-MUP-NORF, což je pravděpodobně dáno selektivitou média. Selektivita byla ověřena identifikací narostlých kolonií pomocí metody MALDI-TOF MS. Médium BIF-MUP nelze považovat za selektivní v případě testovaných fekálních vzorků, jelikož na něm byly detekovány i jiné mikroorganismy, především laktobacily, sarciny a *Corynebacterium vitaeruminis* (viz Tabulka č. 6). Médium BIF-MUP-NORF bylo dle výsledků více selektivní, identifikované druhy byly především bifidobakterie, v malé míře byly zjištěny i jiné druhy mikroorganismů jako např. *C. vitaeruminis*, což koresponduje s tím, že počty byly mnohem nižší. Další sledovanou skupinou, která se řadí mezi probiotické bakterie, byly laktobacily. Médium bylo selektivní, byly zjištěny druhy *Lactobacillus murinus* a *Lactobacillus reuteri*. Na médiu TBX byly zjištěny druhy *Escherichia coli*, které tvořily modrozelené kolonie, dále pak byly zjištěny druhy *Enterococcus hirae*, *Raoultella ornithinolytica* a *Serratia marcescens/ureilytica*, které tvořily bílé kolonie, které jsou při vyhodnocení řazeny ke koliformním bakteriím.

Tabulka č. 6 – Identita izolátů detekovaných na selektivních médiích identifikovaných metodou MALDI-TOF MS

Selektivní médium	Identifikace vybraných izolátů metodou MALDI-TOF MS
BIF-MUP	NRI (Sarcina), <i>Corynebacterium vitaeruminis</i> , <i>Lactobacillus murinus</i> , <i>Bifidobacterium</i> sp.
BIF-MUP-NORF	<i>Bifidobacterium cetenum/pseudocatenulatum</i> , <i>Bifidobacterium</i> sp., <i>Corynebacterium vitaeruminis</i>
Rogosa	<i>Lactobacillus murinus</i> , <i>Lactobacillus reuteri</i>
TBX – modrozelené kolonie	<i>Escherichia coli</i>
TBX – bílé a ostatní kolonie	<i>Enterococcus hirae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Raoultella ornithinolytica</i> , <i>Serratia marcescens/ureilytica</i>

6.4 Detekované počty mikroorganismů

Přesné hodnoty stanovených počtů detekovaných bakterií ze vzorků výkalů od každého jedince před a po změně diety jsou uvedeny v Přílohách (viz Přílohy č. 10 – 17). Výsledky jsou vyjádřeny jako logaritmus počtu kolonií tvořících jednotek v 1 g stolice (log KTJ/g).

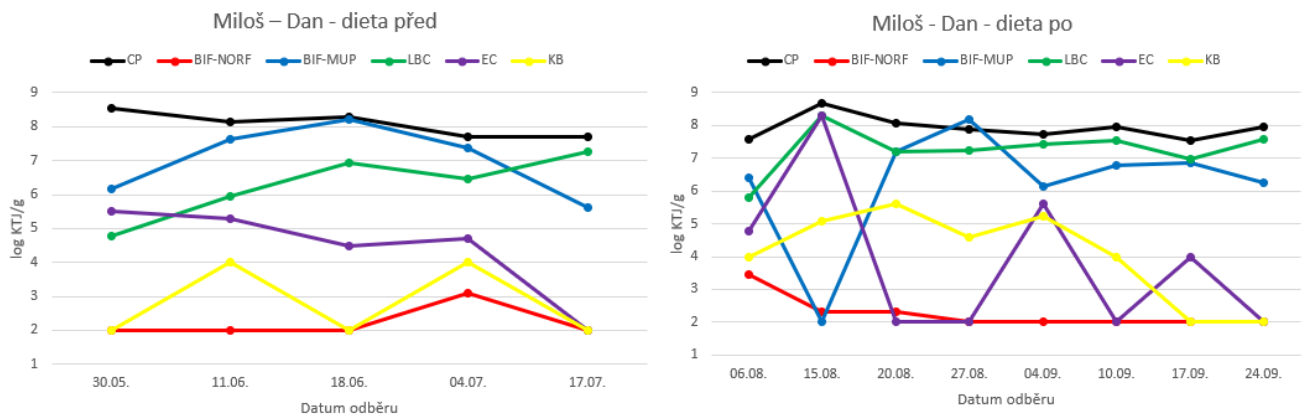
RODINA MILOŠ

Na základě grafického zobrazení kultivačních výsledků (viz Graf č. 5) byla po změně KD u samce Dana patrná variabilita detekovaných počtů bakterií, která byla pravděpodobně způsobena neselektivitou použitých médií. Po změně diety se od původní diety počty bifidobakterií na agaru BIF-MUP-NORF příliš nelišily. Na agaru BIF-MUP došlo k mírnému kolísání a ke snížení počtu průměrných hodnot bifidobakterií. Detekované počty laktobacilů

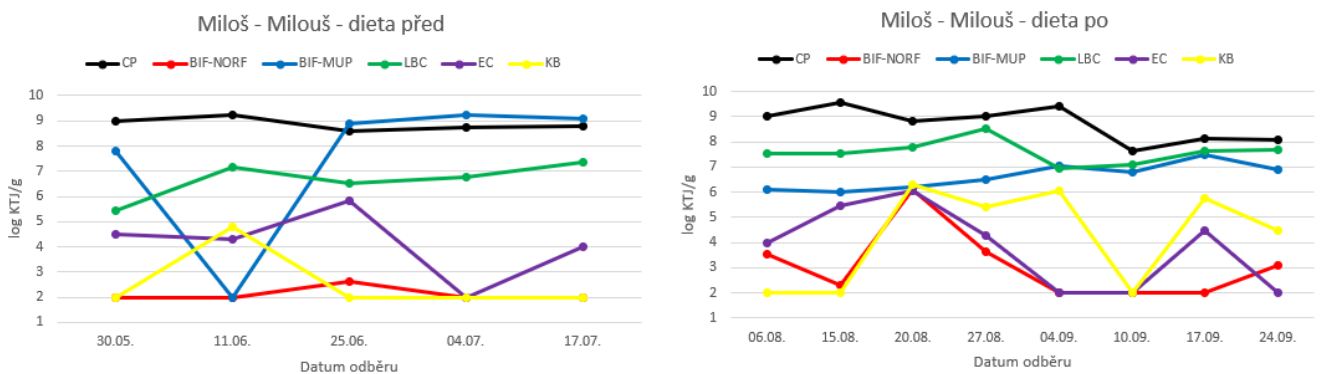
byly před i po změně diety poměrně stabilní. Po změně diety je také patrná variabilita bakterií *E. coli* a koliformních bakterií. Variabilita detekovaných počtů bakterií je zřejmá i u samice Milouš (viz Graf č. 6). Došlo ke zvýšení počtu bifidobakterií detekovaných na agaru BIF-MUP-NORF. U agaru BIF-MUP byly zjištěny nižší průměrné hodnoty oproti původní dietě. Variabilita v počtech laktobacilů se po změně diety příliš nelišila. Průměrné hodnoty detekovaných počtů bakterií *E. coli* byly nižší oproti původní KD, zatímco počty koliformních bakterií vykazovaly vyšší průměrné hodnoty oproti původní dietě.

Ke statistickému vyhodnocení byla použita data od obou jedinců reprezentující rodinu Miloš. Za použití párového t-testu byl před a po změně diety zjištěn statisticky významný rozdíl v detekovaných počtech laktobacilů a na základě Mann-Whitney U Testu byl zjištěn statisticky významný rozdíl v detekovaných počtech koliformních bakterií. Jednalo se o nárůst počtů po změně diety, jednotlivé počty a statistické vyhodnocení je uvedeno v příloze (viz Příloha č. 19).

Graf č. 5 – Detekované počty mikroorganismů rodina Miloš, samec Dan (log KTJ/g)



Graf č. 6 – Detekované počty mikroorganismů rodina Miloš, samice Milouš (log KTJ/g)



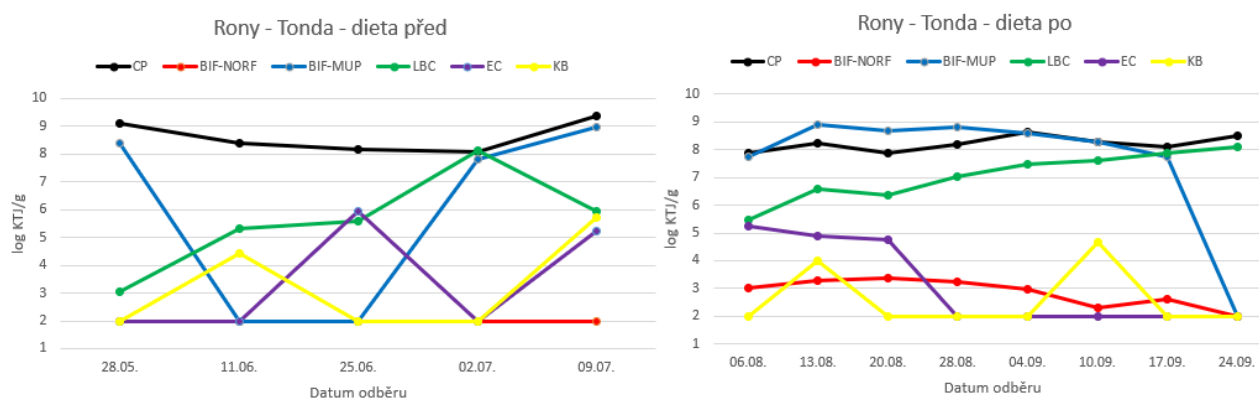
RODINA RONY

U rodiny Rony samce Tondy byla po změně diety také zjištěna značná proměnlivost detekovaných počtů vybraných druhů bakterií (viz Graf č. 7). Po změně diety byly zjištěny průměrné počty bifidobakterií na agaru BIF-MUP-NORF v nepatrně vyšších hodnotách. Na agaru BIF-MUP byly průměrné hodnoty oproti původní dietě vyšší. K navýšení došlo také u průměrných hodnot laktobacilů, tato skupina bakterií byla po změně KD poměrně stabilní. U bakterií *E. coli* byla zjištěna variabilita v detekovaných počtech, po změně došlo k mírnému

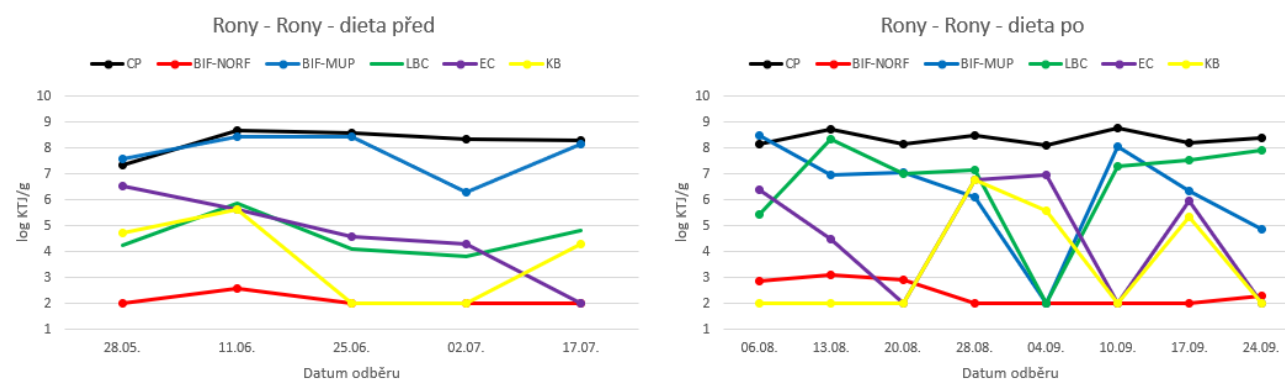
snížení průměrných hodnot. V závislosti na čase byla zjištěna proměnlivost i u koliformních bakterií. Druhá variabilita je patrná i u samice Rony (viz Graf č. 8). Po změně diety byly u samice Rony zjištěny mírně vyšší průměrné počty bifidobakterií na agaru BIF-MUP-NORF. Na agaru BIF-MUP byly zjištěny nižší průměrné hodnoty počtů mikroorganismů. Po změně diety došlo ke kolísání průměrných počtů laktobacilů, nestabilní byly také bakterie *E. coli* a koliformní bakterie.

Na základě statistických analýz, kdy byla použita data obou jedinců z rodiny Rony, byl za použití párového t-testu zjištěn statisticky významný rozdíl v detekovaných počtech laktobacilů a Mann-Whitneyův U Test prokázal statisticky významný rozdíl v detekovaných počtech bifidobakterií na agaru BIF-MUP-NORF, jednalo se opět o nárůst počtů po změně krmné dávky (viz Příloha č. 21).

Graf č. 7 - Detekované počty mikroorganismů rodina Rony, samec Tonda (log KTJ/g)



Graf č. 8 - Detekované počty mikroorganismů rodina Rony, samice Rony (log KTJ/g)



Je možné konstatovat, že u rodiny Miloš byly poměrně stabilní skupinou před i po změně diety laktobacily, zatímco u rodiny Rony jejich počty v průběhu času poměrně kolísaly. Nicméně u všech jedinců došlo po změně k navýšení jejich průměrných počtů. U obou rodin byly stabilní počty zjištěny u kontrolních celkových počtů a bifidobakterií na médiu BIF-MUP-NORF. V převážné většině došlo na médiu BIF-MUP po změně diety ke snížení průměrných detekovaných počtů bakterií. Další poměrně stabilní skupinou před a po změně diety byly bakterie *E. coli*. Co se týče koliformních bakterií u rodiny Miloš došlo po změně diety k jejich navýšení, zatímco u rodiny Rony došlo ke snížení detekovaných počtů.

7 Diskuze

Gastrointestinální trakt (GIT) savců obsahuje vysoce různorodé a dynamické společenství bakterií. Soubor této střevní bakteriální komunity, která kolektivně funguje jako plně sjednocený orgán v metabolismu hostitele, se u různých druhů hostitelů značně liší a může být formován dlouhodobými nutričními intervencemi. Poslední desetiletí bylo pozoruhodné v odhalení zásadní role střevního mikrobiomu pro zdraví hostitele. Mezi různými vnitřními a vnějšími faktory, které ovlivňují složení a rozmanitost střevní mikrobioty, byla značná pozornost věnována dietě a jejímu potenciálnímu vlivu na zdraví a metabolismus hostitele. Dieta formuje spektrum střevních mikrobů poskytováním substrátů, které odlišně podporují růst a aktivitu specifických mikrobiálních komunit (Nagpal et al. 2018).

Dle Scott et al. (2013) je strava hlavním faktorem ovlivňujícím složení a metabolismus tlustého střeva. Množství, druh a rovnováha základních živin (sacharidy, bílkoviny, tuky) mají velký vliv na střevní mikrobiotu. Některé bakterie tlustého střeva jsou schopny metabolizovat pozoruhodnou škálu substrátů, zatímco jiné druhy provádějí specializovanější činnosti, včetně primární degradace buněčných stěn rostlin. A protože dieta ovlivňuje složení střevní mikrobioty, lze očekávat, že po změně KD dojde ke změně mikrobiálního osídlení.

Dieta může mít výrazný dopad na střevní prostředí, včetně doby průchodu střevem a hodnotu pH. Hostitel navíc nekóduje všechny enzymy potřebné k degradaci strukturních polysacharidů obsažených v rostlinné stravě a spoléhá tak na mikrobiotu tlustého střeva. Mezi hlavní formy sacharidů dostupných pro bakterie v tlustém střevě patří rezistentní škrob, neškrobové polysacharidy a oligosacharidy (Flint et al. 2012).

Ve volné přírodě tvoří převážnou složku potravy gibbonů hlavně ovoce (McConkey et al. 2002). V menším množství konzumují také například mladé listy, výhonky a květy rostlin, semena, kůry, bezobratlí, hmyz nebo ptačí vejce (Napier & Groves 2018). Ovoce a plody, které jsou bohatým zdrojem cukrů, jsou důležitým zdrojem potravy pro gibony. Květy jsou dobrým zdrojem dusíkatých látek a sacharidů, zatímco listy a pupeny jsou zdrojem bílkovin a minerálních látek (Ma et al. 2016). Dle studie Twichell-Heyne a Pontzer (2016) byla zjištěna rozmanitost ve složení potravy na základě různého místa výskytu, množství ročních srážek v dané lokalitě, zeměpisné šířky, nadmořské výšky, teritoria a velikosti lesa. Potrava gibbonů má tendenci se měnit podle sezóny. V období sucha (listopad – duben), kdy je k dispozici méně ovoce, se giboni přizpůsobují zvýšením spotřeby listů a snížením spotřeby ovoce.

Naproti tomu v umělých podmínkách zoologických zahrad je gibbonům podáváno ve velké míře hlavně ovoce (jablka, hrušky...), zelenina (mrkev, okurka...), živočišné bílkoviny, které jim jsou podávány ve formě vařených vajec, vařeného drůbežního masa s rýží nebo těstovinami. V podmínkách zajetí prakticky chybí sezónnost, která je v rámci potravní ekologie gibbonů velmi výrazná. Listy jsou konzumovány celoročně, ale v některých měsících mohou tvořit i přes 50 % jejich potravy (Bach et al. 2017). V zoologických zahradách je okus (větve s listy) gibbonům podáván spíše jako doplněk. Další složky jako výhonky, květy rostlin nebo například semena v krmných dávkách většinou zcela chybí. Zároveň jim jsou podávány komerčně vyráběné granule s kompletním složením určené pro vybraný druh primátů. Podobně tomu bylo i v KD sledovaných gibbonů, kdy základem byla pestrá skladba ovoce a zeleniny doplněná o granule, vejce a fazole. K dispozici jim byl také okus. Po změně bylo z KD vyřazené

ovoce s vysokým obsahem cukru (banány, jahody...) nahrazeno zeleninou s vysokým obsahem vlákniny (čekanka, listová zelenina...), současně byly z diety vyřazeny fazole.

Dle studie Schwitzer et al. (2008) byly zjištěny rozdíly v nutričním složení komponent přijímaných primáty ve volné přírodě a komponent, které se běžně používají ve stravě primátů chovaných v zajetí. Bylo zjištěno, že ovoce v přírodě mělo vyšší obsah neutrálně detergentní (NDF) a acidodetergentní (ADF) vlákniny a ligninu, ve srovnání s ovocem krmeným v umělých podmínkách zoologických zahrad. Vyšší byl také obsah bílkovin, naproti tomu obsah sacharidů byl nižší. Dle Ma et al. (2016) konzumují giboni v přírodě ovoce, které v sušině obsahuje kolem 40 % NDF a 30 % ADF. Zatímco v uměle vytvořených dietách jim je podáváno ovoce, které v sušině obsahuje až třikrát nižší hodnoty (např. hrušky, jablko, viz Příloha 1). Dále je uváděno, že giboni v přírodě konzumují potravu, která v sušině obsahuje 11,1 % bílkovin, 3,6 % tuku, 50,3 % sacharidů, 30,1 % NDF a 9 % ADF (Coudrat & Cabana 2019). V rámci této práce bylo zjištěno, že po změně KD obsahuje strava gibonů v sušině 24,09 % bílkovin, 3,22 % tuku, 36,8 % sacharidů, 37,38 % NDF a 20,82 % ADF u rodiny Miloš a 23,24 % bílkovin, 3,77 % tuku, 40,58 % sacharidů, 33,95 % NDF a 18,02 % ADF u rodiny Rony.

Cílem této práce bylo kultivačně stanovit vybrané skupiny mikroorganismů před a po změně krmné dávky a identifikovat variabilitu detekovaných skupin mikroorganismů. Na základě toho bylo zjištěno, že po změně krmné dávky došlo u všech testovaných jedinců k navýšení průměrných hodnot laktobacilů a bifidobakterií na agaru BIF-MUP-NORF, což lze hodnotit jako pozitivní trend. Médium pro laktobacily bylo shledáno jako selektivní a byly na něm detekovány kolonie *Lactobacillus murinus* a *Lactobacillus reuteri*. Dle Lebovitz et al. (2019) je *L. murinus* běžnou střevní bakterií vyskytující se u mnoha druhů savců s možnými probiotickými účinky, jedná se o druh rezistentní na antibiotika. *L. reuteri* je součástí střevní mikrobioty lidí i zvířat, kterou lze využívat jako probiotickou kulturu. V dřívějších studiích vykazoval *L. reuteri* vynikající výsledky v oblasti funkčního zdraví (Karimi et al. 2021).

Bifidobakterie jsou považovány za probiotické mikroorganismy, spolu s laktobacily se jeví jako nejslibnější mikrobiální rody podporující zdraví hostitele. Funkční vlastnosti těchto bakterií přímo nebo nepřímo přispívají k několika zdravotním přínosům, včetně ochrany před patogenními mikroby, hypertenzí, záněty, diabetem, oxidativním stresem apod. Tyto mikroby se také podílejí na modulaci mikrobiomu a imunitní modulaci (Sharma et al. 2021). Jak laktobacily, tak bifidobakterie jsou sacharolytické bakterie se schopností využívat i rostlinné oligosacharidy jako je inulin obsažený například v čekance nebo pórku. Z čehož vyplývá, že změna diety by mohla mít vliv na jejich navýšení. Nicméně by bylo pravděpodobně více efektivní společně se změnou v komponentech a jejich podílu v dietě začlenit do KD přímo prebiotikum jako např. FOS, inulin aj. Dle Myhill et al. 2020 je konzumace diety bohaté na vlákninu spojena se sníženým výskytem zánětlivých a autoimunitních onemocnění. Vláknina z potravy, ve formě inulinu a FOS, odolává žaludeční kyselosti a zůstává nedotčena po celou dobu průchodu tenkým střevem a je fermentována komenzální mikrobiotou ve slepém a tlustém střevě. Hraje klíčovou roli v regulaci imunitní funkce sliznice a může modulovat imunitní a zánětlivé reakce vyvolané střevními mikroby. Singh et al. 2020 ve své studii uvedli, že FOS stimulují zdraví hostitele zvýšením růstu bifidobakterií a laktobacilů v tlustém střevě, zvyšují absorpci základních minerálů a iontů (Mg^{2+} a Ca^{2+}) v tenkém střevě, regulují metabolismus glukózy v krvi, snižují hladinu triglyceridů, fosfolipidů a cholesterolu, snižují riziko výskytu

rakoviny tlustého střeva atd. FOS jsou přirozeně přítomny v různých surovinách bohatých na inulin jako je například již zmíněná čekanka, topinambur, chřest a agáve (Singh et al. 2020).

Druhé použité médium pro stanovení bifidobakterií BIF-MUP nebylo příliš selektivní a z výsledků je patrné, že v mikrobiotě gibbonů jsou opakovaně detekovány sarciny. Výskyt sarcin u gibbonů uvádí i publikace Makovska et al. 2021. Autoři ve své studii uvádí, že detekce *Clostridium ventriculi* (syn. *Sarcina ventriculi*) bývá často spojena s různými patologiemi zažívacího traktu lidí i zvířat, ačkoliv u gibbonů a dalších primátů se zdá být tento bakteriální taxon běžnou součástí mikrobioty GIT bez prokazatelných zdravotních problémů. Je však potřeba zmínit, že rod *Sarcina* je oportunní patogen a v případě dysbiózy může způsobit zdravotní komplikace. Dle Owens et al. 2021 jsou infekce lidí a zvířat bakteriemi rodu *Sarcina* spojeny s dilatací žaludku a emfyzematózní gastritidou. Emfyzematózní gastritida je potenciálně smrtelné infekční onemocnění způsobené bakteriemi tvořícími plyn (Laass et al. 2010). Bylo zjištěno, že infekce spojena s tímto rodem bakterií je spojena se smrtelným onemocněním neznámé etiologie, která postihuje útočiště šimpanzů v Sierra Leone. Toto onemocnění je charakteristické neurologickými (slabost, ataxie, záchvaty) a gastrointestinálními (břišní distenze, anorexie, zvracení) příznaky, které vedou k úhynu zvířat i po veterinárním ošetření (Owens et al. 2021). Dalším poměrně často detekovaným mikroorganismem byl *Corynebacterium vitaeruminis*. Jedná se o jeden z mála významných aktinobakteriálních druhů izolovaných z kravského bacheru, který je producentem vitamínu B. Aktinobakterie představují malý podíl (až 3 %) z bacherové mikrobioty a ve srovnání s předními obyvateli bacheru (*Firmicutes* a *Bacteroidetes*) nebyly plně prozkoumány (Al-Dilaimi et al. 2014).

Na základě kultivačních metod lze samozřejmě stanovit jen určitou část mikroorganismů a výsledky jsou velmi ovlivněny kvalitou kultivačních podmínek a laboratorní práce, dále také rychlostí sběru vzorků a podmínkami skladování. Na druhou stranu přináší kultivace zajímavé poznatky jako například v našem případě o hojném zastoupení sarcin, nebo možnost izolovat potenciální nové druhy rodu *Bifidobacterium* (Neuzil-Bunesova et al. 2020).

Výzkumů zabývajících se změnou diety a jejího vlivu na složení mikrobioty primátů není mnoho. Velká část z nich hodnotí tyto vlivy pomocí analýz mikrobiomu, které ukazují, že střevní mikrobiální složení se může rychle měnit ze dne na den, což má důsledky pro fyzické fungování, zdraví a kondici hostitele. Například u lemurů dochází k postupnému vývoji mikrobiálního osídlení od období mléčné výživy u mláďat po dospělé jedince, tyto postupné změny souvisejí s rozdíly v morfologii trávicího traktu a ve stravovacích režimech (McKenney et al. 2015). Na základě sezónnosti a výskytu dešťových srážek kolísá střevní mikrobiom goril nížinných a šimpanzů učenlivých, kdy střevní mikrobiotu ovlivňuje příjem listů a kůry bohatých na vlákninu (Hicks et al. 2018).

Analyzované fekální vzorky určené pro tuto diplomovou práci je možné v budoucnu zpracovat pomocí molekulárně genetických metod, kde by bylo dobré se zaměřit i na další skupiny mikroorganismů nebo jiné parametry.

8 Závěr

Pomocí kultivační deskové metody byla provedena mikrobiální analýza, kdy pro hodnocení detekovaných skupin mikroorganismů byla využita selektivní média. Cílem práce bylo zjistit kvantitativní zastoupení vybraných skupin mikroorganismů před a po změně krmné dávky u čtyř jedinců gibbonů (zastupujících dvě rodiny) chovaných v Zoologické zahradě Olomouc a na základě toho ověřit vliv složení KD na mikrobiální osídlení trávicího traktu. Identifikace detekovaných mikroorganismů byla provedena pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF MS.

Změna diety spočívala ve snížení obsahu cukru (snížením množství vysokoenergetického ovoce) a současném navýšení obsahu vlákniny a bílkovin (zvýšením množství podávané zeleniny s vysokým obsahem vlákniny). Na základě kalkulace živin byl po změně diety u rodiny Miloš potvrzen statisticky významný rozdíl v obsahu bílkovin, tuku, vlákniny, sacharidů, glukózy, fruktózy a ADF. U rodiny Rony byl po změně zjištěn statisticky významný rozdíl v obsahu sušiny, bílkovin, tuku, vlákniny, sacharidů, glukózy, fruktózy, sacharózy a ADF.

Předpokládaná hypotéza nebyla zcela potvrzena. Výsledky znázorňují, že došlo u všech jedinců gibbonů k navýšení laktobacilů a bifidobakterií na médiu BIF-MUP-NORF, což je možné hodnotit jako pozitivní trend, který by bylo dobré potvrdit pomocí molekulárně genetických metod. U ostatních hodnocených skupin mikroorganismů výsledky nevykazují trend v navyšování. Dle statistických analýz byl u rodiny Miloš po změně diety zjištěn významný rozdíl v detekovaných počtech laktobacilů a koliformních bakterií. U rodiny Rony byl zjištěn statisticky významný rozdíl také v počtech laktobacilů a bifidobakterií na agaru BIF-MUP-NORF. Dalo by se proto tvrdit, že kultivační stanovení nejsou příliš vhodná pro sledování mikrobiálního složení na základě změny krmné dávky. Druhé složení detekované na médiích bylo obdobné před i po změně krmné dávky. Bylo by pravděpodobně vhodnější zaměřit se na určitou skupinu mikroorganismů a kvantifikovat jí pomocí molekulárně genetických metod, kde nebudou hrát roli podmínky kultivace a další faktory s tím spojené. Za pokus by také stálo zaměřit se na přidání prebiotik přímo do krmné dávky ve formě komponentů bohatých na inulin jako je např. chřest, česnek, cibule nebo fazole. Nicméně pomocí kultivace a izolace byly detekovány zajímavé druhy mikroorganismů, které by zasloužily pozornost v budoucích výzkumech.

9 Literatura

- Abrams S. 2019. Western Hoolock gibbon *Hoolock*. New England Primate Conservancy. Available from <https://www.neprimateconservancy.org/western-hoolock-gibbon.html> (accessed January 2021).
- Abulizi N, Quin C, Brown K, Chan YK, Gill SK, Gibson DL. 2019. Gut mucosal proteins and bacteriome are shaped by the saturation index of dietary lipids. *Nutrients*, **11**:418.
- Abu-Tarboush HM, Al-Saiady MY, Keir El-Din AH. 1996. Evaluation of diet containing Lactobacilli on performance, fecal coliform and lactobacilli of young dairy calves. *Animal Feed Science and Technology* **57**:39-49.
- Aivelo T, Laakkonen J, Jernvall J. 2016. Population and individual level dynamics of the intestinal microbiota of a small primate. *Applied and Environmental Microbiology* **82**:3537-3545.
- Al-Dilaimi A, Albersmeier A, Kalinowski J, Rückert Ch. 2014. Complete genome sequence of *Corynebacterium vitaeruminis* DSM 2029, isolated from the cow rumen as a vitamin B producer. *Journal of Biotechnology* **189**:70-71.
- Bach T, Chen J, Hoang M, Beng K, Nguyen V. 2017. Feeding behavior and activity budget of the southern yellow-cheeked crested gibbons (*Nomascus gabriellae*) in a lowland tropical forest. *American Journal of Primatology* **79**:1-14.
- Bach TH, Chen J, McConkey KR, Dayananda SK. 2018. Gibbons (*Nomascus gabriellae*) provide key seed dispersal for the Pacific walnut (*Dracontomelon dao*), in Asia's lowland tropical forest. *Acta Oecologica* **88**:71-79.
- Berkovitz B, Shellis P. 2018. The Teeth of Mammalian Vertebrates. Academic Press Chapter 9 – Primates. Academic Press, London.
- Biavati B, Vescovo M, Torriani S, Bottazzi V. 2000. Bifidobacteria: history, ecology, physiology and applications. *Annals of microbiology* **50**:117-132.
- Bolechová P, Hejmanová P, Myšková I. 2017. Okus: metodika využití okusových rostlin při výživě zvířat v lidské péči. Česká zemědělská univerzita v Praze.
- Borah M, Kumar A, Devi A. 2017. Diet and feeding ecology of the western hoolock gibbon (*Hoolock hoolock*) in tropical forest fragment of Northeast India. *Primates* **59**:1-14.
- Botting J. 2020. Northern white-cheeked gibbon *Nomascus leucogenys*. New England Primate Conservancy. Available from <https://www.neprimateconservancy.org/northern-white-cheeked-gibbon.html> (accessed January 2021).
- Bourquin LD, Titgemeyer EC, Fahey GC Jr. 1993. Vegetable fiber fermentation by human fecal bacteria: cell wall polysaccharide disappearance and short-chain fatty acid production during in vitro fermentation and water holding capacity of unfermented residues. *The Journal of nutrition* **123**:860-9.
- Brockelman WY, Nathalang A, Suwanvecho U. 2014. Evolution of Small-Group Territoriality in Gibbons. Springer Japan.

- Cabana F, Jasmi R, Maguire R. 2018. Great ape nutrition: low-sugar and high-fibre diets can lead to increased natural behaviours, decreased regurgitation and reingestion, and reversal of prediabetes. *International Zoo Yearbook* **52**:48-61.
- Carvalho-Wells AL, Helmolz K, Nodet C, Molzer C, Leonard C, McKeivith B, Thielecke F, Jackson KG, Tuohy KM. 2010. Determination of the in vivo prebiotic potential of a maize-based whole grain breakfast cereal: A human feeding study. *The British Journal of Nutrition* **104**:1353-1356.
- Clayton JB, et al. 2016. Captivity humanizes the primate microbiome. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**:10376-10381.
- Clayton JB, et al. 2018 The gut microbiome of nonhuman primates: Lessons in ecology and evolution. *American Journal of Primatology* 80 (e22867) DOI: 10.1002/ajp.22867.
- Clink DJ, Dillis Ch, Feilen KL, Beaudrot L, Marshall AJ. 2017. Dietary diversity, feeding selectivity, and responses to fruit scarcity of two sympatric Bornean primates (*Hylobates albibarbis* and *Presbytis rubicunda rubida*). *PLoS ONE* 12 (e0173369) DOI: 10.1371/journal.pone.0173369.
- Cocks L. 2008. Husbandry Manual for the Javan Gibbon (*Hylobates moloch*). Perth Zoo.
- Codex Alimentarius Committee. Guidelines on nutrition labelling CAC/GL 2-1985 as last amended. 2010. Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Secretariat of the Codex Alimentarius Commission, Italy.
- Coudrat C, Cabana F. 2019. Preliminary results on the food intake and nutrient digestibility of southern white-cheeked gibbons (*Nomascus siki*) and red-shanked douc langurs (*Pygathrix nemaeus*) at the Endangered Primate Rescue Center. *Vietnamese Journal of Primatology* **3**:71-76.
- Coudrat CNZ, Nanthavong C, Ngoprasert D, Suwanwaree P, Savini T. 2015. Singing Patterns of White-Cheeked Gibbons (*Nomascus* sp.) in the Annamite Mountains of Laos. *International Journal of Primatology* **36**:691-706.
- Covert T. 2020. Southern white-cheeked gibbon *Nomascus siki*. New England Primate Conservancy. Available from <https://www.neprimateconservancy.org/southern-white-cheeked-gibbon.html> (accessed January 2021).
- Cui J, Zhao Ch, Feng L, Han Y, Du H, Xiao H, Zheng J. 2021. Pectins from fruits: Relationships between extraction methods, structural characteristics, and functional properties. *Trends in Food Science & Technology* **110**:39-54.
- Davi CR. 2017. Black crested gibbon *Nomascus concolor*. New England Primate Conservancy. Available from <https://www.neprimateconservancy.org/black-crested-gibbon.html> (accessed January 2021).
- De Palma G, Blennerhassett P, Lu J, Deng Y, Park AJ, Green W, Bercik P. 2015. Microbiota and host determinants of behavioural phenotype in maternally separated mice. *Nature Communications* **6**:7735.

- Denji KA, Mansour MR, Akrami R, Ghobadi S, Jafarpour S, Mirbeygi S. 2015. Effect of Dietary Prebiotic Mannan Oligosaccharide (MOS) on Growth Performance, Intestinal Microflora, Body composition, Haematological and Blood Serum Biochemical Parameters of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. *Journal of Fisheries and Aquatic Science* **10**: 255-265.
- Dethlefsen L, Huse S, Sogin ML, Relman DA. 2008. The Pervasive Effects of an antibiotic on the Human Gut Microbiota, as Revealed by Deep 16S rRNA sequencing. *PLoS Biology* **6** (e280) DOI: 10.1371/journal.pbio.0060280.
- Dobroruka LJ. 1983. *Poloopice a opice* 2. vyd. Státní zemědělské nakladatelství, Praha.
- Downey K. 2018. Hainan gibbon *Nomascus hainanus*. New England Primate Conservancy. Available from <https://www.neprimateconservancy.org/hainan-gibbon.html> (accessed January 2021).
- Elleuch M, Bedigian D, Roiseux O, Besbes S, Blecker C, Attia H. 2011 Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food Chemistry* **124**:411-21.
- Fan PF, et al. 2017. Description of a New Species of Hoolock gibbon (Primates: *Hylobatidae*) based on Integrative Taxonomy. *American Journal of Primatology* **79**:22631.
- Fan PF, Hanlan F, Ma Ch. Y. 2012. Behavioral Responses of Cao Vit Gibbon (*Nomascus Nasutus*) to Variations in Food Abundance and Temperature in Bangliang, Jingxi, China. *American Journal of Primatology* **74**:632-41.
- FAO/WHO. 2001. Joint Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria.
- Feedipedia©2012-2020. Animal Feed Resources Information System. Available from <https://www.feedipedia.org/node/524> (accessed April 2021).
- Fleagle J. 2013. Apes and Humans. *Primate Adaptation and Evolution*. Academic Press, New York.
- Flint HJ, Scott KP, Duncan SG, Louis P, Forano E. 2012. Microbial degradation of complex carbohydrates in the gut. *Gut Microbes* **3**:289-306.
- Frechette JL, Hon N, Behie A, Rawson B. 2017. Seasonal Variation in the Diet and Activity Budget of the Northern Yellow-Cheeked Crested Gibbon (*Nomascus annamensis*). *Cambodian Journal of Natural History* **2**:168-178.
- Fujiwara R, Takemura N, Watanabe J, Sonoyama K. 2010. Maternal consumption of fructo-oligosaccharide diminishes the severity of skin inflammation in offspring of nc/nga mice. *The British journal of nutrition* **103**:530-538.
- Fuller R. 1989. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*. **66**: 365-368.
- Fuzessy LF, Cornelissen TG, Janson Ch, Silveira FAO. 2015. How do primates affect seed germination? A meta-analysis of gut passage effects on neotropical plants. *Wiley Online Library. Oikos* **125**:1069-80.

- Gaggia F, Mattarelli P, Biavati B. 2010. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *International Journal of Food Microbiology* DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.031.
- Gibson GR, et al. 2017. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* **14**:491-502.
- Goodrich JK, Waters JL, Poole AC, Sutter JL, Koren O, Blekhman R, Beaumont M, Van Treuren W, Knight R, Bell JT. 2014. Human genetics shape the gut microbiome. *Cell* **159**:789-799.
- Harrison M, Marshall A. 2011. Strategies for the Use of Fallback Foods in Apes. *International Journal of Primatology* **32**:531-565.
- Hicks AL, et al. 2018. Gut microbiomes of wild great apes fluctuate seasonally in response to diet. *Nature Communications* **9**:1786.
- Hill C, et al. 2014. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* **11**:506-514.
- Hill WCO. 1958. Pharynx, oesophagus, stomach, small and large intestine: Form and position. *Primatologia* **3**:139-207.
- Holečková D, Dousek J. 2006. Doporučení Ústřední komise pro ochranu zvířat: Podmínky chovu savců volně žijících druhů v zajetí. Ministerstvo zemědělství České republiky, Dvůr Králové nad Labem.
- Holscher HD, Caporaso JG, Hooda S, Brulc JM, Fahey GCJ, Swanson KS, Fahey GC Jr., Swanson KS. 2015. Fiber supplementation influences phylogenetic structure and functional capacity of the human intestinal microbiome: follow-up of a randomized controlled trial. *The American Journal of Clinical Nutrition* **101**:55-64.
- Hon N, Behie AM, Rothman JM, Ryan KG. 2018. Nutritional composition of the diet of the northern yellow-cheeked crested gibbon (*Nomascus annamensis*) in northeastern Cambodia. *Primates* **59**:339-346.
- Chaucheyras-Durand F, Durand H, 2010. Probiotics in animal nutrition and health. *Beneficial Microbes* **1**:3-9.
- Chen Y, Xu C, Huang R, Song J, Li D, Xia M. 2018. Butyrate from pectin fermentation inhibits intestinal cholesterol absorption and attenuates atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry* **56**:175-182.
- Cheyne S. 2010. Behavioural Ecology of Gibbons (*Hylobates albibarbis*) in a Degraded Peat-Swamp Forest. Springer. DOI: 10.1007/978-1-4419-1560-3_8.
- Chivers DJ, Hladik CM. 1980. Morphology of the gastrointestinal tract in primates: Comparisons with other mammals in relation to diet. *Journal of Morphology* **16**:337-386.

- Isaac S, Scher JU, Djukovic A, Jiménez N, Littman DR, Abramson SB, Pamer EG, Ubeda C. 2017. Short – and long-term effects of oral vancomycin on the human intestinal microbiota. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **72**:128-136.
- Jakobsson HE, Jernberg C, Andersson AF, Sjölund-Karlsson M, Jansson JK, Engstrand L. 2010. Short-Term Antibiotic Treatment Has Differing Long-Term Impacts on the Human Throat and Gut Microbiome. *PLoS ONE* 5 (e9836) DOI: 10.1371/journal.pone.0009836.
- Janczyk P, Pieper R, Souffrant WB, Bimczok D, Röthkötter HJ, Smidt H. 2007. Parenteral long-acting amoxicillin reduces intestinal bacterial community diversity in piglets even 5 weeks after the administration. *The ISME Journal* **1**:180-183.
- Jena PK, Singh S, Prajapati B, Nareshkumar G, Mehta T, Seshadri S. 2014. Impact of Targeted Specific Antibiotic Delivery for Gut Microbiota Modulation on High-Fructose-Fed Rats. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **172**:3810-3826.
- Jernberg C, Lofmark S, Edlund C, Jansson JK. 2007. Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. *The ISME Journal* **1**:56-66.
- Jia T, Zhao S, Knott K, Li X, Liu Y, Li Y, Chen Y, Yang M, Lu Y, Wu J, Zhang Ch. 2018. The gastrointestinal tract microbiota of northern white-cheeked gibbons (*Nomascus leucogenys*) varies with age and captive condition. *Scientific reports* **8**:3214.
- Kappeler PM, Van Schaik CP. 2002. Evolution of primate social systems. *International Journal of Primatology* **23**:707-740.
- Karimi M, Sekhavatizadeh SS, Hosseinzadeh S. 2021. Milk dessert containing *Lactobacillus reuteri* (ATCC 23272) encapsulated with sodium alginate, *Ferula assa-foetida* and Zedo (*Amygdalus scoparia*) gum as three layers of wall materials. *Food and Bioproducts Processing* **127**:244-254.
- Kazemi M, Abadi EIK, Mokhtarpour A. 2019. Evaluation of the nutritional value of Iranian melon (*Cucumis melo* cv. Khatooni) wastes before and after ensiling in sheep feeding. *Journal of Livestock Science and Technologies* **7**:9-15.
- Klatt NR, et al. 2013. Probiotic/prebiotic supplementation of antiretrovirals improves gastrointestinal immunity in siv-infected macaques. *The Journal of Clinical Investigation* **123**:903-907.
- Koropatkin NM, Cameron EA, Martens EC. 2012. How glycan metabolism shapes the human gut microbiota. *Nature reviews Microbiology* **10**:323-35.
- Kořínek M. 1999. *Zoologická zahrada*. Rubico, Olomouc.
- Kostopoulou ON, Magoulas GE, Papadopoulos GE, Mouzaki A, Dinos GP, Papaioannou D, Kalpaxis DL. 2015. Synthesis and evaluation of chloramphenicol homodimers: molecular target, antimicrobial activity, and toxicity against human cells *PLoS One*. 10 (e0134526) DOI: 10.1371/journal.pone.0134526.
- Kostovcikova K, Coufal S, Galanova N, Fajstova A, Hudcovic T, Kostovcik M, Prochazkova P, Jiraskova ZZ, Cermakova M, Sediva B. 2019. Diet rich in animal protein promotes pro-

inflammatory macrophage response and exacerbates colitis in mice. *Frontiers Immunology* **10**:919.

Koukolová V, Koukol O, Homolka P, Jančík F. 2010. Certifikovaná metodika: Bachorová degradovatelnost neutrálně detergentní vlákniny a stravitelnost organické hmoty jetele lučního. Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha – Uhřetěves.

Kraimi N, Dawkins M, Gebhardt-Henrich SG, Velge P, Rychlik I, Volf J, Creach P, Smith A, Colles F, Leterrier Ch. 2019. Influence of the microbiota-gut-brain axis on behavior and welfare in farm animals: A review, *Physiology & Behavior* **210**:112658.

Kumar A. 2003. *Animal physiology*. Discovery publishing house. India.

Laass MW, Pargac N, Fischer R, Hannelore B, Knoke M, Henker J. 2010. Emphysematous gastritis caused by *Sarcina ventriculi*. *Gastrointestinal Endoscopy* **72**:1101-03.

Lambert JE. 1998. Primate Digestion: Interactions Among Anatomy, Physiology, and Feeding Ecology. *Evolutionary Anthropology: Issues, News, and Reviews* **7**:8-20.

Lappan S. 2009. Flowers are an important food for small apes in southern Sumatra. *American Journal of Primatology* **71**:624-35.

Lebovitz Y, et al. 2019. Lactobacillus rescues postnatal neurobehavioral and microglial dysfunction in a model of maternal microbiome dysbiosis. *Brain, Behavior and Immunity* **81**:617-629.

Licht TR, Hansen M, Bergstrom A, Poulsen M, Krath BN, Markowski J. 2010. Effects of apples and specific apple components on the cecal environment of conventional rats: Role of apple pectin. *BMC Microbiology*, **10**:13.

Liu T, Cephas KD, Holscher HD, Kerr KR, Mangian HF, Tappenden KA, Swanson KS. 2016. Nondigestible Fructans alter gastrointestinal barrier function, gene expression, histomorphology, and the microbiota profiles of Diet-Induced Obese C57BL / 6J Mice. *The Journal of Nutrition* **146**:949-56.

Lussier Z. 2020. Yellow-cheeked gibbon *Nomascus gabriellae*. New England Primate Conservancy. Available from <https://www.neprimateconservancy.org/gibbons.html> (accessed January 2021).

Ma C, Liao J, Fan P. 2016. Food selection in relation to nutritional chemistry of Cao Vit gibbons in Jingxi, China. *Primates* **58**:63-74.

Márquez-Aguirre AL, Camacho-Ruíz RM, Arriaga-Alba M, Padilla-Camberos E, Kirchmayr M, Blasco JL, González-Ávila M. 2013 Effects of Agave tequilana fructans with different degree of polymerization profiles on body weight, blood lipids and fecal Lactobacilli/Bifidobacteria in obese mice. *Food and Function* **4**:1237-44.

Marshall AJ, Wrangham RW. 2007. Evolutionary consequences of fallback foods. *International Journal of Primatology* **28**:1219-1235.

Martenau P, Seksik P. 2004. Tolerance of probiotics and prebiotics. *Journal of Clinical Gastroenterology* **38**:67-9.

- Martinez I, Kim J, Duffy PR, Schlegel VL, Walter J. 2010. Resistant starches types 2 and 4 have differential effects on the composition of the fecal microbiota in human subjects. *PLoS ONE* 5 (e15046) DOI: 10.1371/journal-pone.0015046.
- McConkey KR, Aldy F, Ario A, Chivers DJ. 2002. Selection of Fruit by Gibbons (*Hylobates muelleri X agilis*) in the Rain Forest of Central Borneo. *International Journal of Primatology* 23:123-145.
- McGrosky A, Meloro C, Navarrete A, Heldstab S, Kitchener A, Isler K, Clauss M. 2019. Gross intestinal morphometry and allometry in primates. *American Journal of Primatology* 81:1-15.
- McKenney EA, Rodrigo A, Yoder AD. 2015. Patterns of Gut Bacterial Colonization in Three Primate Species. *PLoS ONE* 10 (e0124618) DOI: 10.1371/journal.pone.0124618.
- McCorrie JW, Fahey GC. 2013. A review of gastrointestinal physiology and the mechanisms underlying the health benefits of dietary fiber: Matching an effective fiber with specific patient needs. *Clinical Nursing Studies* 1:82-92.
- Meyer TJ, McLain AT, Oldenburg JM, Faulk Ch, Bourgeois MG, Conlin EM, Mootnick AR, Jong PJ, Roos Ch, Carbone L, Batzer MA. 2012. An *Alu*-Based Phylogeny of Gibbons (*Hylobatidae*), *Molecular Biology and Evolution* 29: 3441-3450.
- Milton K. 2000. Back to basics: why foods of wild primates have relevance for modern human health. *Nutrition* 16:481-483.
- Mitsuoka T. 1992. The human gastrointestinal tract. *The Lactic Acid Bacteria* 1:69-114.
- Mootnick AR. 2006. Gibbon (*Hylobatidae*) Species Identification Recommended for Rescue or Breeding Centers. *Primate Conservation* 21:103-138.
- Moshfegh AJ, Friday JE, Goldman JP, Ahuja JK. 1999 Presence of inulin and oligofructose in the diets of Americans. *The Journal of Nutrition* 129:1407-11.
- Muegge BD, Kuczynski J, Knights D, Clemente JC, González A, Fontana L, Henrissat B, Knight R, Gordon JI. 2011. Diet drives convergence in gut microbiome functions across mammalian phylogeny and within humans. *Science* 332:970-4.
- Myhill LJ, Jensen P, Zakeri A, Nielsen LF, Jakobsen SR, Mejer H, Thamsborg SM, Nejsum P, Williams AR. 2020. Effects of the dietary fibre inulin and Trichuris suis products on inflammatory responses in lipopolysaccharide-stimulated macrophages. *Molecular Immunology* 121:127-135.
- Nagpal R, Shively CA, Appt SA, Register TC, Michalson KT, Vitolins MZ, Yadav H. 2018. Gut Microbiome Composition in Non-human Primates Consuming a Western or Mediterranean Diet. *Frontiers in Nutrition* 5:28.
- Nahand MK, Doust-Nobar RS, Maheri-Sis N, Ghorbani A. 2012. Rumen degradation of dry matter and organic matter digestibility of Cherry tree leaves in ruminant nutrition using in vitro gas production and in situ techniques. *Journal of American Science* 7:286-289.
- Napier JR, Groves CP. 2018. Primate – Mammal. *Encyclopaedia Britannica*. Available from <https://www.britannica.com/animal/primate-mammal/Introduction> (accessed February 2019).

- Nash LT. 1986. Dietary, Behavioral, and Morphological Aspects of Gummivory in Primates. *Yearbook of Physical Anthropology* **29**:113-137.
- National Research Council. 2007. *Nutrient Requirements of Small Ruminants*. National Academies Press, Washington, D.C.
- Neuzil-Bunesova V, et al. 2020. Five novel bifidobacterial species isolated from faeces of primates in two Czech zoos: *Bifidobacterium erythrocebis* sp. nov., *Bifidobacterium moraviense* sp. nov., *Bifidobacterium oedipodis* sp. nov., *Bifidobacterium olomucense* sp. nov. and *Bifidobacterium panos* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **71** (1) DOI: 10.1099/ijsem.0.004573.
- Oktaviani R, Kim S, Cahyana AN, Choe JC. 2018. Nutrient Composition of The Diets of Javan gibbons (*Hylobates moloch*). *IOP Conference Series Earth and Environmental Science* **197**:012048.
- Owens, LA, et al. 2021. A *Sarcina* bacterium linked to lethal disease in sanctuary chimpanzees in Sierra Leone. *Nature Communications* **12**:763.
- Oyofe B, DeLoach J, Corrier D, Norman J, Ziprin R, Mollenhauer H. 1989. Prevention of salmonella typhimurium colonization of broilers with d-mannose. *Poultry Science* **68**:1357-1360.
- Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. 2007. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS. Biol.* **5** (e177) DOI: 10.1371/journal.pbio.0050177.
- Park AJ, Collins J, Blennerhassett PA, Ghia JE, Verdu EF, Bercik P, Collins SM. 2013. Altered colonic function and microbiota profile in a mouse model of chronic depression. *Neurogastroenterology and Motility* **25**:733-575.
- Rada V, Marounek M. 2005. Probiotika a prebiotika ve výživě zvířat. Výzkumný ústav živočišné výroby. Vědecký výbor výživy zvířat. Praha. Available from https://www.tainex.cz/art_file/probiotika-a-prebiotika-ve-vyzive-zvirat.pdf (accessed February 2020).
- Rada V. 2011. Využití probiotik, prebiotik a synbiotik. *Medicína pro praxi* **8**:10-15.
- Ramos S, Martín MÁ. 2021. Impact of diet on gut microbiota, *Current Opinion in Food Science* **37**:83-90.
- Rastall RA, Gibson GR. 2002. Prebiotic oligosaccharides: Evaluation of biological activities and potential future developments. *Probiotics and Prebiotics, Where Are We Going*. Caister Academic Press, UK.
- Rawson BM, Insua-Cao P, Nguyen Manh Ha, Van Ngoc Thinh, Hoang Minh Duc, Mahood S, Geissmann T, Roos C. 2011. The Conservation Status of Gibbons in Vietnam. *Fauna & Flora International/Conservation International*, Hanoi, Vietnam.
- Reece WO. 2010. *Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat*. Grada publishing, a. s. Praha.
- Roos C. 2016. Phylogeny and Classification of Gibbons (*Hylobatidae*). *Evolution of Gibbons and Siamang*. Springer Science DOI: 10.1007/978-1-4939-56-14-2_7.

- Russell DA, Ross RP, Fitzgerald GF, Stanton C. 2011. Metabolic activities and probiotic potential of bifidobacteria. *International Journal of Food Microbiology* **149**:88-105.
- Saarela M, Mogensen G, Fondén R, Mättö J, Mattila-Sandholm T. 2000. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of Biotechnology* **84**:197-215.
- Scardovi V. 1986. Genus *Bifidobacterium*. In: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Williams and Wilkins MD, Baltimore.
- Scott KP, Gratz SW, Sheridan PO, Flint HJ, Duncan SH. 2013. The influence of diet on the gut 53ikrobiota. *Pharmacological Research* **69**:52-60.
- Seo YS, Lee HB, Kim Y, Park HY. 2020. Dietary carbohydrate constituents related to gut dysbiosis and health. *Microorganisms* **8**:427.
- Shadid R, Haarman M, Knol J, Theis W, Beermann C, Rjosk-Dendorfer D, Schendel DJ, Koletzko BV, Krauss-Etschmann S. 2007. Effects of galactooligosaccharide and long-chain fructooligosaccharide supplementation during pregnancy on maternal and neonatal Microbiota and immunity – A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *The American journal of clinical nutrition* **86**:1426-1437.
- Sharma M, Wasan A, Sharma RK. 2021. Recent developments in probiotics: An emphasis on *Bifidobacterium*. *Food Bioscience* **41**:100993.
- Shim SB, Verstegen MWA, Kim IH, Kwon OS, Verdonk J. 2005. Effects of feeding antibiotic-free creep feed supplemented with oligofructose, probiotics or synbiotics to suckling piglets increases the preweaning weight gain and composition of intestinal Microbiota. *Archives of Animal Nutrition* **59**:419-427.
- Shim SB. 2005. Effects of prebiotics, probiotics and synbiotics in the diet of young pigs [Ph.D. Thesis]. Animal Nutrition Group, Wageningen Universiteit, Netherlands.
- Schieber A, Stintzing F, Carle R. 2001. By-products of plantfood processing as a source of functional compounds – recent developments. *Trends in Food Science & Technology* **12**:401-13.
- Schwitzer Ch, Polowinsky SY, Solman C. 2008. Fruits as Foods – common misconceptions about frugivory. *Zoo animal nutrition IV – EAZA*. Bristol, UK.
- Siggers RH, Thyman T, Siggers JL, Schmidt M, Hansen AK, Sangild PT. 2007. Bacterial colonization affects early organ and gastrointestinal growth in the neonate. *Livestock Science* **109**:14-18.
- Simonyté-Sjödín K, Domellöf M, Lagerqvist C, Hernell O, Lönnerdal B, Szymlek-Gay EA, Sjödín A, West CE, Lind T. 2019. Administration of ferrous sulfate drops has significant effects on the gut Microbiota of iron-sufficient infants: a randomised controlled study. *Gut* **68**:2095-2097.
- Simpson JM, Martineau B, Jones WE, Ballam JM, Mackie RI. 2002. Characterization of fecal bacterial populations in canines: effects of age, breed and dietary fiber. *Microbial Ecology* **44**: 186-197.

- Singh RK, Chang HW, Yan D, Lee KM, Ucmak D, Wong K, Abrouk M, Farahnik B, Nakamura M, Zhu TH. 2017. Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. *Journal of Translation Medicine* **15**:73.
- Singh RS, Singh T, Kennedy JF. 2020. Enzymatic synthesis of fructooligosaccharides from inulin in a batch system. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications* **1**:100009.
- Singh V, Yeoh BS, Walker RE, Xiao X, Saha P, Golonka RM. 2019. Microbiota fermentation-NLRP3 axis shapes the impact of dietary fibres on intestinal inflammation *Gut* **68**:1801-12.
- Slavin J. 2013. Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients* **5**:1417-1435.
- Smith DL, Harris AD, Johnson JA, Silbergeld EK, Morris JG Jr. 2002. Animal antibiotic use has an early but important impact on the emergence of antibiotic resistance in human commensal bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **99**:6434-6439.
- Sonnenburg ED, Smits SA, Tikhonov M, Higginbottom SK, Wingreen NS, Sonnenburg JL. 2016. Diet-induced extinctions in the gut microbiota compound over generations. *Nature* **529**:212-215.
- Sonnenburg JL, Bäckhed F. 2016. Diet – microbiota interactions as moderators of human metabolism. *Nature* **535**:56-64.
- Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank. 2019. Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank. Medpharm Scientific Publishers. Available from <https://www.sfk.online/#/home> (accessed April 2021).
- St Laurent. Leaf-eating monkeys Old and New World. La Chapelle Saint-Laurent. Available from <https://www.st-laurent.fr/en/dry-food/831-dry-food.html> (accessed April 2021).
- Starr E. 2018. Siamang *Symphalangus syndactylus*. New England Primate Conservancy. Available from <https://www.neprimateconservancy.org/siamang.html> (accessed January 2021).
- Stinson LF, Payne MS, Keelan JA. 2017. Planting the seed: Origins, composition, and postnatal health significance of the fetal gastrointestinal microbiota. *Crit. Rev. Microbiology* **43**:352-369.
- Stumpf RM, Gomez A, Amato KR, Yeoman CJ, Polk JD, Wilson BA, Nelson KE, White BA, Leigh SROV. 2016. Microbiomes, metagenomics, and primate conservation: New strategies, tools, and applications. *Biological Conservation* **199**:56-66.
- Suwanvecho U, Brockelman WY, Nathalang A. 2017. High interannual variation in the diet of a tropical forest Frugivore (*Hylobates lar*). *Biotropica* **50**:1-11.
- Thorburn AN, Macia L, Mackay CR. 2014. Diet, metabolites, and “western-lifestyle” inflammatory diseases. *Immunity* **40**:833-842.
- Titgemeyer EC, Bourquin LD, Fahey GC, Garleb KA. 1991. Fermentability of various fiber sources by human fecal bacteria in vitro. *The American journal of Clinical Nutrition* **53**:1418-24.
- Trhoň©2006 - 2021 ZooFoods. Available from <https://www.zoo-trhon.cz/mazuri-primate> (accessed april 2021).
- Twichell-Heyne A, Pontzer H. 2016. Geographic Variations in Gibbon Diets. Conference Paper: American Association of Physical Anthropologists, Georgia.

- Vančata V. 2003. Primatologie 1 – Evoluce, adaptace, ekologie a chování primátů Prosimii a Platyrrhina. Univerzita Karlova, Praha.
- Vančata, V. 2003. Primatologie 2 – Catarrhina – opice a lidoopi. Univerzita Karlova, Praha.
- Vandenplas Y, Zakharova I, Dmitrieva Y. 2015. Oligosaccharides in infant formula: more evidence to validate the role of prebiotics. *The British journal of nutrition* **113**:1339-44.
- Vlková E, Rada V, Trojanová I. 2004. Enumeration, isolation and identification of bifidobacteria from dairy products. *Acta Agric. Slovenica* **84**:31-36.
- Wang Z, et al. 2011. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature* **472**:57-63.
- Wegener HC. 2003. Antibiotics in animal feed and their role in resistance development. *Current Opinion in Microbiology* **6**:439-45.
- Willing BP, Russell SL, Finlay BB. 2011. Shifting the balance: antibiotic effects on host-microbiota mutualism. *Nature Reviews Microbiology* **9**:233-243.
- Yang Q, Liang Q, Balakrishnan B, Belobrajdic DP, Feng QJ, Zhang W. 2020. Role of dietary nutrients in the modulation of gut microbiota: a narrative review. *Nutrients* **12**:381.
- Yoshii K, Hosomi K, Sawane K, Kunisawa J. 2019. Metabolism of Dietary and Microbial Vitamin B Family in the Regulation of Host Immunity. *Frontiers in Nutrition* **6**:48.
- Zhang JY, Holdorf AD, Walhout AJM. 2017. *C. elegans* and its bacterial diet as a model for systems-level understanding of host-microbiota interactions. *Current opinion in Biotechnology* **46**:74-80.
- Zhang YX, Guo PY, Wu YM, Zhang XY, Wang MX, Yang SM, Sun YS, Deng J, Su HT. 2019. Evaluation of the subtle effects and oxidative stress response of chloramphenicol, thiamphenicol, and florfenicol in *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry* **38**:575-584.
- Zoetendal EG, Akkermans ADL, Vliet WMA, Visser JAGM, Vos WM. 2001. The host genotype affects the bacterial community in the human gastrointestinal tract. *Microbial Ecology in Health Disease* **13**:129-134.

Použité obrázky:

Jia T, Zhao S, Knott K, Li X, Liu Y, Li Y, Chen Y, Yang M, Lu Y, Wu J, Zhang Ch. 2018. The gastrointestinal tract microbiota of northern white-cheeked gibbons (*Nomascus leucogenys*) varies with age and captive condition. *Scientific reports* **8**:3214.

McGrosky A, Meloro C, Navarrete A, Heldstab S, Kitchener A, Isler K, Clauss M. 2019. Gross intestinal morphometry and allometry in primates. *American Journal of Primatology* **81**:1-15.

Meyer TJ, McLain AT, Oldenburg JM, Faulk Ch, Bourgeois MG, Conlin EM, Mootnick AR, Jong PJ, Roos Ch, Carbone L, Batzer MA. 2012. An *Alu*-Based Phylogeny of Gibbons (*Hylobatidae*), *Molecular Biology and Evolution* **29**:3441-50.

Rasool SA, Mirza F, Waheed H, Munir M. 2018. Probiotics as Human Health Promoters. *RADS Journal of Biological Research and Applied Sciences* **9**:102-105.

Rawson BM, Insua-Cao P, Manh Ha N, Thinh VN, Duc HM, Mahood S, Geissmann T, Roos C. 2011. The Conservation Status of Gibbons in Vietnam. *Fauna & Flora International/Conservation International*, Hanoi, Vietnam.

Schwitzer Ch, Polowinsky SY, Solman C. 2008. Fruits as Foods – common misconceptions about frugivory. *Zoo animal nutrition IV – EAZA*. Bristol, UK.

10 Seznam použitých zkratk a symbolů

ADF	acidodetergentní vláknina
AZA	Asociace zoologických zahrad a akvárií
CP	hrubý protein
DM	sušina
EAZA	Evropská asociace zoologických zahrad a akvárií
GIT	gastrointestinální trakt
IUCN	Mezinárodní unie na ochranu přírody (International Union for Conservation of Nature)
KD	krmná dávka
NDF	neutrálně detergentní vláknina
SCFA	mastné kyseliny s krátkým řetězcem

Samostatné přílohy

Příloha č. 1 – Živinové složení komponentů KD

Komponent	Živiny (% DM)							Zdroj
	DM	CP	Tuk	Vláknina	Sacharidy	ADF	NDF	
granule Mazuri	90	16,21	5,68	3,87	58,31	11,47	17,4	(Trhoň)
granule St. Laurent	91	20	3,5	13,3		14,2	22,8	(St. Laurent)
vejce vařené	25,3	12,5	5,3	0	0,6	0	0	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
fazole vařené	26,6	7,45	0,6	6,94	10,4	1,96	5,57	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
třešň ptačí	40,4	1,22				8,87	12,24	(Nahand et al. 2012)
ananas	15,1	0,46	0,15	0,99	12,4	0,15	0,84	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
banán	26,1	1,15	0,18	1,82	20	0,62	1,2	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
bluma	19,3	0,79	0,2	1,81	1,68	1,38	0,87	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
broskev	12,7	0,76	0,11	1,92	8,89	0,78	1,14	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
hroznové víno	18,9	0,68	0,28	1,5	15,2	0,21	1,29	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
hruška	17,1	0,47	0,29	3,27	12,4	0,61	2,66	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
grapefruit	12,7	7	0,15	1,6	7,41	0,15	0,21	(Feedipedia © 2012-2019)
jablko	15,1	0,34	0,58	2,02	11,4	0,48	1,54	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
jahoda	10,5	0,82	0,4	1,63	5,51	0,58	1,05	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
kiwi	17	1	0,63	2,52	9,12	0,59	1,53	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
mango	18	0,6	0,45	1,7	12,4	0,63	1,07	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
mandarinka	13,5	0,7	0,3	1,7	10,1	0,67	1,03	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
meruňka	14,7	0,9	0,13	1,54	8,54	0,71	0,83	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
nektarinka	13,72	0,69	0,34	1,17	11,18	0,78	1,14	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
pomeranč	14,3	1	0,2	1,6	8,25	0,6	1	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
třešň	17,2	0,9	0,31	1,31	13,3	0,5	0,81	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
višň	17,2	0,9	0,31	1,31	13,3	0,5	0,81	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
vodní meloun	9,7	0,6	0,2	8,29	0,22	0,02	0,2	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
žlutý meloun	14,6	0,9	0,1	0,73	12,4	2,48	3,17	(Kazemi et al. 2019)
brokolice	11,5	3,78	0,2	3	2,66	1,3	1,7	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
celer	7,2	1,2	0,2	2,55	2,18	0,98	1,57	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
celer nať	7,7	1,66	0,3	2,88	2,5	0,27	1,84	(Feedipedia © 2012-2019)
cibule	8,8	1,18	0,25	1,81	4,92	0,29	1,52	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
cuketa	4	1				0,41	0,6	(National Research Council 2007)
čekanka bílá	5,9	1,22	0,18	1,26	2,44	0,37	0,89	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
čínské zelí	6,25	1,26	0,3	1,9	1,24	1,12	1,8	(Song et al. 2020)
fenykl	7,6	1,4	0,2	1,22	1,24	1,88	3,27	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
kedluben	8,4	1,94	0,16	1,46	3,7	0,48	0,96	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
květák	9	2,46	0,28	2,92	2,34	0,49	2,43	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
lilek	7,4	1,24	0,18	2,82	2,49	1,41	1,41	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
mrkev	11,8	0,98	0,2	3,63	4,8	1,74	1,89	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
okurka	4	0,6	0,2	0,54	1,81	0,15	0,39	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
paprika	5,9	1,08	0,24	3,59	2,91	0,97	2,62	(National Research Council 2007)
petržel	16,2	2,88	0,47		6,05	2,14	2,53	(National Research Council 2007)
pórek	13,9	2,14	0,29	2,27	3,26	0,52	1,75	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
hrášek	24,8	6,55	0,48	4,25	12,3	0,26	3,99	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
rajče	5,8	0,95	0,21	0,95	2,6	0,22	0,73	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
celer řapíkatý	11,4	1,55	0,33	4,23	2,25	0,55	3,68	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
ředkvička	25,4	2,8	0,3		11,7	1,22	1,68	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
červená řepa	13,5	1,53	0,1	2,53	8,38	0,48	2,05	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
salát hlávkový	5,7	1,19	0,22	1,44	1,06	0,2	1,24	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
salát kadeřavý	7	1,23	0,3	1,42	1,03	0,99	1,23	(National Research Council 2007)
salát ledový	6,51	2,46	0,46	1,41	1,01	1,3	1,7	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
salát římský	7,59	3,18	0,39	1,24	1,01	1	1,1	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)
špenát	8,8	2,81	0,3	2,58	0,61	1,36	1,22	(“Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank“ 2019)

Příloha č. 2 – KD rodina Miloš před změnou diety

1. týden	2. týden	3. týden	4. týden	5. týden	6. týden	7. týden	8. týden
granule St. Laurent 80 g	granule St. Laurent 80 g	granule St. Laurent 80 g	granule St. Laurent 80 g	granule St. Laurent 80 g	granule St. Laurent 80 g	granule St. Laurent 80 g	granule St. Laurent 80 g
hrozny 58 g banány 50 g pomeranče 34 g nektarinky 204 g jablka 166 g blumy 80 g hrušky 42 g jahody 16 g kiwi 30 g	pomeranče 86 g jablka 364 g ananas 116 g hrušky 36 g kiwi 78 g	kiwi 34 g mandarinky 98 g pomeranče 44 g broskve 124 g jablka 270 g ananas 110 g	jablka 210 g hruška 44 g broskve 64 g ananas 114 g nektarinka 28 g kiwi 70 g hrozny 28 g třešně 124 g	jablka 204 g hrušky 79 g pomeranče 64 g ananas 36 g nektarinka 63 g kiwi 70 g hrozny 28 g	kiwi 120 g broskve 114 g pomeranče 158 g jablka 162 g hrušky 86 g hrozny 10 g	broskve 186 g kiwi 22 g mango 20 g hrozny 62 g mandarinky 56 g třešně 78 g jablka 184 g hrušky 72 g	jablka 174 g hrušky 288 g pomeranče 44 g nektarinky 112 g blumy 54 g
680 g	680 g	680 g	682 g	680 g	680 g	680 g	682 g
vejce 2 ks	fazole 200 g	vejce 2 ks	vejce 2 ks	fazole 200 g	vejce 2 ks	fazole 200 g	fazole 200 g
papriky 292 g rajčata 340 g řepa 98 g petžel 156 g mrkev 68 g okurka 90 g brokolice 108 g kedlubny 32 g lilek 38 g žlutý meloun 38 g	čínské zelí 198 g rajčata 154 g mrkev 484 g fenykl 100 g paprika 146 g ředkvičky 22 g řepa 72 g okurka 16 g brokolice 68 g	mrkev 58 g rajčata 482 g papriky 230 g fenykl 102 g celet nať 110 g petžel 58 g salát 58 g okurka 30 g květák 190 g	kedlubny 156 g lilek 38 g okurka 90 g rajče 216 g mrkev 114 g papriky 200 g žlutý meloun 88 g ledový salát 86 g brokolice 102 g řepa 42 g celer 128 g	řepa 344 g rajčata 56 g petžel 188 g papriky 170 g lilek 168 g salát 148 g kedlubny 93 g žlutý meloun 93 g vodní meloun 124 g	rajčata 188 g řepa 344 g papriky 170 g mrkev 192 g lilek 168 g ledový salát 142 g petžel 56 g	květák 224 g petžel 198 g rajčata 308 g mrkev 172 g papriky 50 g cuketa 92 g okurka 24 g ledový salát 46 g celer 28 g lilek 16 g ředkvičky 8 g žlutý meloun 38 g hrašek 52 g	rajčata 270 g celer 140 g papriky 178 g okurka 158 g fenykl 84 g řepa 124 g čínské zelí 120 g mrkev 164 g květák 22 g
1 260 g	1 260 g	1 260 g	1 260 g	1 260 g	1 260 g	1 262 g	1 260 g
dub	líška	vrba jíva, tráva, jetel	vrba jíva	třešeň	dub	třešeň, tráva	habr

Příloha č. 3 – KD rodina Miloš po změně diety

1. týden	2. týden	3. týden	4. týden	5. týden	6. týden	7. týden	8. týden
granule St. Laurent 120 g	granule St. Laurent 120 g	granule St. Laurent 120 g	granule St. Laurent 120 g	granule St. Laurent 120 g	granule St. Laurent 120 g	granule St. Laurent 120 g	granule St. Laurent 120 g
broskve mango jablka pomeranče kiwi	nektarinky ananas jablka blumy kiwi	broskve hrozny jablka pomeranče kiwi	broskve hrozny jablka kiwi	mango broskve jablka kiwi	nektarinky jablka hrozny blumy	pomeranče jablka hrušky blumy	pomeranče jablka hrušky blumy
300 g	300 g	300 g	300 g	290 g	256 g	256 g	256 g
vejce 3 ks	vejce 2 ks	vejce 2 ks	vejce 2 ks	vejce 2 ks	vejce 2 ks	vejce 2 ks	vejce 2 ks
okurka mrkev ředkvičky ledový salát mix salát salát řepa papriky 292 g čekanka bílá cuketa	okurka mrkev pórek ledový salát mix salát kedlubny řepa paprika čekanka bílá vodní meloun	okurka mrkev ředkvičky ledový salát mix salát salát řepa papriky	okurka mrkev ředkvičky ledový salát mix salát salát řepa papriky žlutý meloun	okurka papriky cuketa ředkvičky mrkev mix salát ledový salát pórek	okurka petržel mrkev salát mix salát ledový salát žlutý meloun kedlubny římský salát špenát	okurka petržel mrkev salát mix salát ledový salát žlutý meloun celer papriky	okurka petržel mrkev salát salát kadeřavý žlutý meloun čínské zelí celer papriky
1 700 g	1 700 g	1 700 g	1 700 g	1 600 g	1 600 g	1 600 g	1 600 g
vrba jíva	třešeň	dub	vrba jíva	vrba jíva	buk	dub	dub

Příloha č. 4 – KD rodina Rony před změnou diety

1. týden	2. týden	3. týden	4. týden	5. týden	6. týden	7. týden	8. týden
granule Mazurí 120 g	granule Mazurí 120 g	granule Mazurí 120 g	granule Mazurí 120 g	granule Mazurí 120 g	granule Mazurí 120 g	granule Mazurí 120 g	granule Mazurí 120 g
jablka 360 g hrušky 140 g nektarinky 146 g pomeranče 229 g	jablka 328 g pomeranče 118 g nektarinky 164 g hrozny 26 g mango 46 g jahody 28 g kiwi 72 g hrušky 28 g meruňky 140 g	pomeranče 260 g jablka 338 g broskve 158 g ananas 140 g kiwi 54 g	jablka 374 g gřep 124 g mnago 142 g ananas 78 g kiwi 40 g nektarinky 24 g hrozny 46 g třešně 124 g	jablka 360 g nektarinky 288 g kiwi 56 g	jablka 246 g kiwi 214 g hrušky 70 g broskve 102 g hrozny 34 g višně 94 g	broskve 152 g kiwi 152 g jablka 360 g nektarinky 146 g hrušky 140 g	jablka 240 g hrušky 260 g blumy 234 g nektarinky 68 g pomeranče 62 g ananas 90 g
875 g	950 g	950 g	952 g	704 g	760 g	950 g	954 g
vejce 2 ks	vejce 3 ks	vejce 3 ks	vejce 3 ks	vejce 3 ks	vejce 3 ks	vejce 3 ks	fazole 300 g
žlutý meloun 302 g lilek 46 g řepa 170 g mrkev 244 g okurka 124 g pórek 32 g petržel 166 g rajčata 164 g papriky 78 g čínské zelí 224 g	petržel 140 g cuketa 58 g fenykl 180 g brokolice 90 g řepa 134 g rajčata 408 g ředkvičky 110 g mrkev 182 g papriky 228 g okurka 188 g kedlubny 132 g	rajčata 792 g mrkev 210 g salát 120 g petržel 178 g fenykl 114 g celer nať 40 g kedlubny 68 g papriky 328 g	papriky 190 g řepa 128 g lilek 88 g brokolice 40 g zelí 124 g žlutý meloun 192 g celer 248 g okurka 252 g ledový salát 68 g rajčata 72 g mrkev 306 g kedlubny 150 g	žlutý meloun 200 g celer 50 g kedlubny 90 g ledový salát 90 g mrkev 400 g řepa 130 g papriky 200 g rajčata 80 g petržel 150 g cibule 105 g lilek 105 g vodní meloun 262 g	mrkev 776 g ledový salát 156 g papriky 390 g ředkvičky 70 g rajčata 274 g řepa 90 g petržel 50 g kedlubny 46 g vodní meloun 190 g	řepa 570 g petržel 108 g ledový salát 172 g kedlubny 120 g papriky 286 g okurka 82 g rajčata 260 g celer 224 g	celer 208 g okurka 380 g petržel 204 g rajčata 270 g papriky 282 g mrkev 194 g řepa 38 g fenykl 50 g květák 170 g čínské zelí 72 g
1 550 g	1 850 g	1 850 g	1 858 g	2 112 g	2 040 g	1 850 g	1 868 g
líška, dub	líška	vrba jíva, tráva, jetel	vrba jíva	třešeň	dub	třešeň	habr

Příloha č. 5 – KD rodina Rony po změně diety

1. týden	2. týden	3. týden	4. týden	5. týden	6. týden	7. týden	8. týden
granule Mazurí 180 g	granule Mazurí 180 g	granule Mazurí 180 g	granule Mazurí 180 g	granule Mazurí 180 g	granule Mazurí 180 g	granule Mazurí 180 g	granule Mazurí 180 g
broskve mango jablka pomeranče hrušky	broskve ananas jablka 328 g blumy	broskve hrozny jablka pomeranče hrušky	broskve jablka pomeranče hrušky	mango broskve jablka kiwi	nektarinky jablka hrozny blumy	pomeranče jablka hrušky blumy	pomeranče jablka hrušky blumy
300 g	250 g	300 g	320 g	310 g	320 g	320 g	320 g
vejce 3 ks	vejce 3 ks	vejce 3 ks	vejce 3 ks	vejce 3 ks	vejce 3 ks	vejce 3 ks	vejce 3 ks
mrkev okurka papriky řepa cuketa ledový salát čekanca bílá mix salát mix salát ředkvičky rajčata	mrkev okurka papriky petržel ledový salát čekanca bílá mix salát rajčata celer řapíkatý celer nať	mrkev okurka papriky řepa ledový salát celer řapíkatý mix salát mix salát rajčata	mrkev okurka papriky řepa ledový salát petržel mix salát ředkvičky rajčata	okurka papriky cuketa mrkev salát mix salát salát pórek	okurka petržel mrkev salát ledový salát žlutý meloun kedlubny římský salát špenát	okurka petržel mrkev salát mix salát ledový salát žlutý meloun papriky římský salát celer	okurka petržel mrkev salát salát kadeřavý ledový salát žlutý meloun čínské zelí celer papriky
1 900 g	1 500 g	1 900 g	2 000 g	1 900 g	2 000 g	2 000 g	2 000 g
vrba jíva	třešeň	dub	vrba jíva	vrba jíva	buk	dub	dub

Příloha č. 6 – Nutriční složení KD před změnou diety pro statistické hodnocení (%)

r. Miloš		Sušina	Bílkovina	Tuk	Vláknina	Sacharidy	Glukóza	Fruktóza	Sacharóza	ADF	NDF
před	30.05.2019	16,16	20,88	2,81	12,32	42,79	8,18	10,29	9,50	19,45	37,48
před	05.06.2019	16,75	18,83	2,00	17,14	43,80	7,15	10,94	9,80	19,21	33,75
před	11.06.2019	15,26	21,95	2,93	13,53	41,23	7,17	10,16	9,24	19,37	37,35
před	18.06.2019	15,81	20,98	2,87	12,84	43,88	9,68	12,21	11,15	20,24	36,85
před	25.06.2019	17,23	19,42	1,94	16,51	43,86	6,25	9,70	13,52	17,10	34,29
před	04.07.2019	16,49	20,46	2,80	13,95	41,54	6,84	9,78	13,15	20,25	37,54
před	10.07.2019	17,05	20,29	1,97	15,02	43,12	7,41	10,15	7,64	17,41	34,21
před	17.07.2019	15,95	19,21	2,06	17,06	45,06	5,62	10,99	7,75	19,13	35,72
po	06.08.2019	16,31	24,51	3,40	11,53	36,15	5,04	4,99	10,49	20,00	35,65
po	15.08.2019	16,05	23,76	3,18	16,11	34,82	6,14	7,00	8,69	20,91	37,43
po	20.08.2019	16,83	23,40	3,05	12,12	37,71	5,56	5,39	10,66	20,17	35,97
po	27.08.2019	17,24	22,42	2,98	11,39	40,99	6,01	5,90	13,58	19,40	34,75
po	04.09.2019	16,71	23,93	3,23	11,66	34,97	5,03	5,51	7,88	20,85	36,93
po	10.09.2019	16,70	25,61	3,26	10,56	35,95	4,88	5,03	6,59	21,49	38,25
po	17.09.2019	16,31	24,61	3,25	11,97	37,05	4,27	5,38	7,76	21,62	39,34
po	24.09.2019	17,05	24,50	3,41	11,91	36,78	4,52	5,69	8,21	22,13	40,73

r. Rony		Sušina	Bílkovina	Tuk	Vláknina	Sacharidy	Glukóza	Fruktóza	Sacharóza	ADF	NDF
před	28.05.2019	17,99	17,59	2,83	9,77	48,48	6,36	10,14	12,75	17,05	32,37
před	04.06.2019	16,29	19,62	2,99	9,63	44,67	6,65	8,9	8,95	16,21	31,15
před	11.06.2019	15,49	20,08	3,12	10,5	43,78	7,46	10,41	8,42	17,07	33,38
před	18.06.2019	16,26	18,62	2,97	11,32	47,54	8,57	11,02	13,71	17,41	31,48
před	25.06.2019	17,02	19,04	3,06	13,88	43,98	6,23	9,35	10,78	17,23	32,48
před	02.07.2019	16,51	18,77	2,95	15,41	41,7	9,22	11,8	8,59	17,93	34,21
před	09.07.2019	16,4	19,51	2,99	11,27	46,51	5,4	9,23	13,16	16,66	33,32
před	17.07.2019	16,23	18,65	2,16	14,02	46,33	6,38	9,8	7,12	15,84	31,5
po	06.08.2019	17,84	22,82	3,77	8,53	41,82	4,78	4,78	9,25	17,84	32,29
po	13.08.2019	18,92	24,31	4,21	8,91	38,5	3,53	4,24	4,37	19,55	36,98
po	20.08.2019	19,21	22,78	3,78	8,44	42,12	4,48	4,95	8,77	17,92	32,4
po	28.08.2019	18,59	22,36	3,51	8,18	41,62	3,95	4,73	8,83	16,64	31,66
po	04.09.2019	18,08	22,95	3,74	8,56	39,04	4,38	4,68	6,74	17,69	31,9
po	10.09.2019	17,22	24,13	3,66	7,84	40,07	4,61	4,76	6,87	17,94	32,46
po	17.09.2019	17,44	23,57	3,72	9,04	40,49	3,98	4,99	7,2	18,3	39,96
po	24.09.2019	17,27	22,97	3,75	9,38	40,98	4,28	5,24	7,28	18,26	33,97

Příloha č. 7 – Průměrné hodnoty živinového složení KD před změnou diety

KD před												
Miloš r.	Sušina %	Bílkovina %	Tuk %	Vláknina %	Sacharidy %	Glukóza %	Fruktóza %	Sacharóza %	ADF %	NDF %		kg/ks
30.5.2019	16,16	20,88	2,81	12,32	42,79	8,18	10,29	9,50	19,45	37,48		1,16
5.6.2019	16,75	18,83	2,00	17,14	43,80	7,15	10,94	9,80	19,21	33,75		1,21
11.6.2019	15,26	21,95	2,93	13,53	41,23	7,17	10,16	9,24	19,37	37,35		1,19
18.6.2019	15,81	20,98	2,87	12,84	43,88	9,68	12,21	11,15	20,24	36,85		1,16
25.6.2019	17,23	19,42	1,94	16,51	43,86	6,25	9,70	13,52	17,10	34,29		1,20
4.7.2019	16,49	20,46	2,80	13,95	41,54	6,84	9,78	13,15	20,25	37,54		1,15
10.7.2019	17,05	20,29	1,97	15,02	43,12	7,41	10,15	7,64	17,41	34,21		1,20
17.7.2019	15,95	19,21	2,06	17,06	45,06	5,62	10,99	7,75	19,13	35,72		1,20
průměr	16,34	20,25	2,42	14,80	43,16	7,29	10,53	10,22	19,02	35,90		
SD	0,67	1,05	0,46	1,92	1,28	1,23	0,83	2,23	1,17	1,62		

KD před												
Rony r.	Sušina %	Bílkovina %	Tuk %	Vláknina %	Sacharidy %	Glukóza %	Fruktóza %	Sacharóza %	ADF %	NDF %		kg/ks
28.5.2019	17,99	17,59	2,83	9,77	48,48	6,36	10,14	12,75	17,05	32,37		0,98
4.6.2019	16,29	19,62	2,99	9,63	44,67	6,65	8,9	8,95	16,21	31,15		1,12
11.6.2019	15,49	20,08	3,12	10,5	43,78	7,46	10,41	8,42	17,07	33,38		1,12
18.6.2019	16,26	18,62	2,97	11,32	47,54	8,57	11,02	13,71	17,41	31,48		1,13
25.6.2019	17,02	19,04	3,06	13,88	43,98	6,23	9,35	10,78	17,23	32,48		1,05
2.7.2019	16,51	18,77	2,95	15,41	41,7	9,22	11,8	8,59	17,93	34,21		1,12
9.7.2019	16,4	19,51	2,99	11,27	46,51	5,4	9,23	13,16	16,66	33,32		1,11
17.7.2019	16,23	18,65	2,16	14,02	46,33	6,38	9,8	7,12	15,84	31,5		1,18
průměr	16,52	18,99	2,88	11,98	45,37	7,03	10,08	10,44	16,93	32,49		
SD	0,73	0,77	0,30	2,17	2,24	1,29	0,98	2,52	0,67	1,09		

Příloha č. 8 – Průměrné hodnoty živinového složení KD po změně diety

KD po												
Miloš r.	Sušina %	Bílkovina %	Tuk %	Vláknina %	Sacharidy %	Glukóza %	Fruktóza %	Sacharóza %	ADF %	NDF %		kg/ks
6.8.2019	16,31	24,51	3,40	11,53	36,15	5,04	4,99	10,49	20,00	35,65		1,24
15.8.2019	16,05	23,76	3,18	16,11	34,82	6,14	7,00	8,69	20,91	37,43		1,21
20.8.2019	16,83	23,40	3,05	12,12	37,71	5,56	5,39	10,66	20,17	35,97		1,21
27.8.2019	17,24	22,42	2,98	11,39	40,99	6,01	5,90	13,58	19,40	34,75		1,21
4.9.2019	16,71	23,93	3,23	11,66	34,97	5,03	5,51	7,88	20,85	36,93		1,16
10.9.2019	16,70	25,61	3,26	10,56	35,95	4,88	5,03	6,59	21,49	38,25		1,14
17.9.2019	16,31	24,61	3,25	11,97	37,05	4,27	5,38	7,76	21,62	39,34		1,17
24.9.2019	17,05	24,50	3,41	11,91	36,78	4,52	5,69	8,21	22,13	40,73		1,06
průměr	16,65	24,09	3,22	12,16	36,80	5,18	5,61	9,23	20,82	37,38		
SD	0,40	0,95	0,15	1,67	1,96	0,67	0,64	2,23	0,92	2,00		

KD po												
Rony r.	Sušina %	Bílkovina %	Tuk %	Vláknina %	Sacharidy %	Glukóza %	Fruktóza %	Sacharóza %	ADF %	NDF %		kg/ks
6.8.2019	17,84	22,82	3,77	8,53	41,82	4,78	4,78	9,25	17,84	32,29		0,94
13.8.2019	18,92	24,31	4,21	8,91	38,5	3,53	4,24	4,37	19,55	36,98		0,79
20.8.2019	19,21	22,78	3,78	8,44	42,12	4,48	4,95	8,77	17,92	32,4		0,87
28.8.2019	18,59	22,36	3,51	8,18	41,62	3,95	4,73	8,83	16,64	31,66		0,98
4.9.2019	18,08	22,95	3,74	8,56	39,04	4,38	4,68	6,74	17,69	31,9		0,95
10.9.2019	17,22	24,13	3,66	7,84	40,07	4,61	4,76	6,87	17,94	32,46		0,98
17.9.2019	17,44	23,57	3,72	9,04	40,49	3,98	4,99	7,2	18,3	39,96		0,98
24.9.2019	17,27	22,97	3,75	9,38	40,98	4,28	5,24	7,28	18,26	33,97		0,98
průměr	18,07	23,24	3,77	8,61	40,58	4,25	4,80	7,41	18,02	33,95		
SD	0,77	0,69	0,20	0,49	1,32	0,41	0,29	1,57	0,81	2,98		

Příloha č. 9 – Detekované počty mikroorganismů pro statistické hodnocení

Zvíře	Zvíře	KD	Datum odběru	CP	BIF-NORF	BIF-MUP	LBC	EC	KB
r.Miloš - Dan - Terka	Dan	před	30.05.2019	8,54	2	6,18	4,76	5,51	2
r.Miloš - Dan - Terka	Dan	před	11.06.2019	8,15	2	7,64	5,95	5,28	4
r.Miloš - Dan - Terka	Dan	před	18.06.2019	8,27	2	8,2	6,95	4,48	2
r.Miloš - Dan - Terka	Dan	před	04.07.2019	7,71	3,08	7,38	6,44	4,69	4
r.Miloš - Dan - Terka	Dan	před	17.07.2019	7,71	2	5,61	7,25	2	2
r.Miloš - Dan - Terka	Dan	po	06.08.2019	7,59	3,45	6,39	5,81	4,78	4
r.Miloš - Dan - Terka	Dan	po	15.08.2019	8,67	2,3	2	8,29	8,28	5,08
r.Miloš - Dan - Terka	Dan	po	20.08.2019	8,07	2,3	7,2	7,19	2	5,6
r.Miloš - Dan - Terka	Dan	po	27.08.2019	7,9	2	8,19	7,25	2	4,6
r.Miloš - Dan - Terka	Dan	po	04.09.2019	7,74	2	6,14	7,44	5,6	5,23
r.Miloš - Dan - Terka	Dan	po	10.09.2019	7,96	2	6,79	7,53	2	4
r.Miloš - Dan - Terka	Dan	po	17.09.2019	7,53	2	6,85	6,97	4	2
r.Miloš - Dan - Terka	Dan	po	24.09.2019	7,95	2	6,27	7,58	2	2
r.Miloš - samice - Terka	Miloš	před	30.05.2019	9,01	2	7,78	5,41	4,48	2
r.Miloš - samice - Terka	Miloš	před	11.06.2019	9,21	2	2	7,14	4,3	4,8
r.Miloš - samice - Terka	Miloš	před	25.06.2019	8,6	2,6	8,89	6,52	5,83	2
r.Miloš - samice - Terka	Miloš	před	04.07.2019	8,75	2	9,21	6,76	2	2
r.Miloš - samice - Terka	Miloš	před	17.07.2019	8,78	2	9,08	7,37	4	2
r.Miloš - samice - Terka	Miloš	po	06.08.2019	9	3,56	6,09	7,55	4	2
r.Miloš - samice - Terka	Miloš	po	15.08.2019	9,56	2,3	5,99	7,51	5,45	2
r.Miloš - samice - Terka	Miloš	po	20.08.2019	8,82	6,08	6,21	7,79	6,05	6,3
r.Miloš - samice - Terka	Miloš	po	27.08.2019	8,99	3,62	6,49	8,51	4,26	5,41
r.Miloš - samice - Terka	Miloš	po	04.09.2019	9,39	2	7,05	6,94	2	6,05
r.Miloš - samice - Terka	Miloš	po	10.09.2019	7,65	2	6,78	7,1	2	2
r.Miloš - samice - Terka	Miloš	po	17.09.2019	8,12	2	7,46	7,63	4,48	5,76
r.Miloš - samice - Terka	Miloš	po	24.09.2019	8,08	3,08	6,87	7,69	2	4,48

Zvíře	Zvíře	KD	Datum odběru	CP	BIF-NORF	BIF-MUP	LBC	EC	KB
r.Rony - Tonda - Terka	Rony	před	28.05.2019	9,12	2	8,41	3,04	2	2
r.Rony - Tonda - Terka	Rony	před	11.06.2019	8,39	2	2	5,32	2	4,43
r.Rony - Tonda - Terka	Rony	před	25.06.2019	8,19	2	2	5,58	5,95	<102
r.Rony - Tonda - Terka	Rony	před	02.07.2019	8,09	2	7,81	8,12	2	2
r.Rony - Tonda - Terka	Rony	před	09.07.2019	9,36	2	8,96	5,93	5,23	5,71
r.Rony - Tonda - Terka	Rony	po	06.08.2019	7,88	3	7,74	5,46	5,23	2
r.Rony - Tonda - Terka	Rony	po	13.08.2019	8,25	3,3	8,89	6,59	4,9	4
r.Rony - Tonda - Terka	Rony	po	20.08.2019	7,86	3,37	8,69	6,36	4,74	2
r.Rony - Tonda - Terka	Rony	po	28.08.2019	8,19	3,26	8,79	7,03	2	2
r.Rony - Tonda - Terka	Rony	po	04.09.2019	8,65	2,96	8,58	7,47	2	2
r.Rony - Tonda - Terka	Rony	po	10.09.2019	8,29	2,3	8,29	7,61	2	4,66
r.Rony - Tonda - Terka	Rony	po	17.09.2019	8,08	2,6	7,72	7,86	2	2
r.Rony - Tonda - Terka	Rony	po	24.09.2019	8,51	2	2	8,09	2	2
r. Rony - samice - Terka	Rony	před	28.05.2019	7,34	2	7,6	4,23	6,51	4,74
r. Rony - samice - Terka	Rony	před	11.06.2019	8,66	2,6	8,45	5,89	5,64	5,64
r. Rony - samice - Terka	Rony	před	25.06.2019	8,58	2	8,42	4,09	4,56	2
r. Rony - samice - Terka	Rony	před	02.07.2019	8,36	2	6,29	3,8	4,3	2
r. Rony - samice - Terka	Rony	před	17.07.2019	8,3	2	8,15	4,83	2	4,3
r. Rony - samice - Terka	Rony	po	06.08.2019	8,16	2,86	8,49	5,43	6,38	2
r. Rony - samice - Terka	Rony	po	13.08.2019	8,7	3,1	6,98	8,33	4,48	2
r. Rony - samice - Terka	Rony	po	20.08.2019	8,14	2,9	7,06	7	2	2
r. Rony - samice - Terka	Rony	po	28.08.2019	8,46	2	6,1	7,14	6,76	6,79
r. Rony - samice - Terka	Rony	po	04.09.2019	8,12	2	2	2	6,98	5,56
r. Rony - samice - Terka	Rony	po	10.09.2019	8,79	2	8,05	7,31	2	2
r. Rony - samice - Terka	Rony	po	17.09.2019	8,2	2	6,34	7,52	5,97	5,32
r. Rony - samice - Terka	Rony	po	24.09.2019	8,37	2,3	4,86	7,91	2	2

Příloha č. 10 – Detekované počty mikroorganismů – rodina Miloš, samec Dan, KD před

MILOŠ – Dan ♂ KD před	Detekované počty mikroorganismů log KTJ/g					
	CP	BIF-NORF	BIF-MUP	LBC	EC	KB
30.5.2019	8,54	2	6,18	4,76	5,51	2
11.6.2019	8,15	2	7,64	5,95	5,28	4
18.6.2019	8,27	2	8,2	6,95	4,48	2
4.7.2019	7,71	3,08	7,38	6,44	4,69	4
17.7.2019	7,71	2	5,61	7,25	2	2
Průměr ± SD	8,08 ± 0,36	2,22 ± 0,48	7,00 ± 1,07	6,27 ± 0,98	4,39 ± 1,40	2,80 ± 1,10

Příloha č. 11 – Detekované počty mikroorganismů – rodina Miloš, samec Dan, KD po

MILOŠ – Dan ♂ KD po	Detekované počty mikroorganismů log KTJ/g					
	CP	BIF-NORF	BIF-MUP	LBC	EC	KB
6.8.2019	7,59	3,45	6,39	5,81	4,78	4
15.8.2019	8,67	2,3	2	8,29	8,28	5,08
20.8.2019	8,07	2,3	7,2	7,19	2	5,6
27.8.2019	7,9	2	8,19	7,25	2	4,6
4.9.2019	7,74	2	6,14	7,44	5,6	5,23
10.9.2019	7,96	2	6,79	7,53	2	4
17.9.2019	7,53	2	6,85	6,97	4	2
24.9.2019	7,95	2	6,27	7,58	2	2
Průměr ± SD	7,93 ± 0,35	2,26 ± 0,50	6,23 ± 1,83	7,26 ± 0,70	3,83 ± 2,31	4,06 ± 1,39

Příloha č. 12 – Detekované počty mikroorganismů – rodina Miloš, samice Milouš, KD před

MILOŠ – Milouš ♀ KD před	Detekované počty mikroorganismů log KTJ/g					
	CP	BIF-NORF	BIF-MUP	LBC	EC	KB
30.5.2019	9,01	2	7,78	5,41	4,48	2
11.6.2019	9,21	2	2	7,14	4,3	4,8
25.6.2019	8,6	2,6	8,89	6,52	5,83	2
4.7.2019	8,75	2	9,21	6,76	2	2
17.7.2019	8,78	2	9,08	7,37	4	2
Průměr ± SD	8,87 ± 0,24	2,12 ± 0,27	7,39 ± 3,07	6,64 ± 0,76	4,12 ± 1,38	2,56 ± 1,25

Příloha č. 13 – Detekované počty mikroorganismů – rodina Miloš, samice Milouš, KD po

MILOŠ – Milouš ♀ KD po	Detekované počty mikroorganismů log KTJ/g					
	CP	BIF-NORF	BIF-MUP	LBC	EC	KB
6.8.2019	9	3,56	6,09	7,55	4	2
15.8.2019	9,56	2,3	5,99	7,51	5,45	2
20.8.2019	8,82	6,08	6,21	7,79	6,05	6,3
27.8.2019	8,99	3,62	6,49	8,51	4,26	5,41
4.9.2019	9,39	2	7,05	6,94	2	6,05

10.9.2019	7,65	2	6,78	7,1	2	2
17.9.2019	8,12	2	7,46	7,63	4,48	5,76
24.9.2019	8,08	3,08	6,87	7,69	2	4,48
Průměr ± SD	8,70 ± 0,68	3,08 ± 1,40	6,62 ± 0,51	7,59 ± 0,47	3,78 ± 1,61	4,25 ± 1,94

Příloha č. 14 – Detekované počty mikroorganismů – rodina Rony, samec Tonda, KD před

RONY – Tonda ♂ KD před	Detekované počty mikroorganismů log KTJ/g					
	CP	BIF-NORF	BIF-MUP	LBC	EC	KB
28.5.2019	9,12	2	8,41	3,04	2	2
11.6.2019	8,39	2	2	5,32	2	4,43
25.6.2019	8,19	2	2	5,58	5,95	2
2.7.2019	8,09	2	7,81	8,12	2	2
9.7.2019	9,36	2	8,96	5,93	5,23	5,71
Průměr ± SD	8,63 ± 0,57	2,00 ± 0,00	5,84 ± 3,53	5,60 ± 1,81	3,44 ± 1,98	3,23 ± 1,74

Příloha č. 15 – Detekované počty mikroorganismů – rodina Rony, samec Tonda, KD po

RONY – Tonda ♂ KD po	Detekované počty mikroorganismů log KTJ/g					
	CP	BIF-NORF	BIF-MUP	LBC	EC	KB
6.8.2019	7,88	3	7,74	5,46	5,23	2
13.8.2019	8,25	3,3	8,89	6,59	4,9	4
20.8.2019	7,86	3,37	8,69	6,36	4,74	2
28.8.2019	8,19	3,26	8,79	7,03	2	2
4.9.2019	8,65	2,96	8,58	7,47	2	2
10.9.2019	8,29	2,3	8,29	7,61	2	4,66
17.9.2019	8,08	2,6	7,72	7,86	2	2
24.9.2019	8,51	2	2	8,09	2	2
Průměr ± SD	8,21 ± 0,28	2,85 ± 0,50	7,59 ± 2,30	7,06 ± 0,88	3,11 ± 1,54	2,58 ± 1,09

Příloha č. 16 – Detekované počty mikroorganismů – rodina Rony, samice Rony, KD před

RONY – Rony ♀ KD před	Detekované počty mikroorganismů log KTJ/g					
	CP	BIF-NORF	BIF-MUP	LBC	EC	KB
28.5.2019	7,34	2	7,6	4,23	6,51	4,74
11.6.2019	8,66	2,6	8,45	5,89	5,64	5,64
25.6.2019	8,58	2	8,42	4,09	4,56	2
2.7.2019	8,36	2	6,29	3,8	4,3	2
17.7.2019	8,3	2	8,15	4,83	2	4,3
Průměr ± SD	8,25 ± 0,53	2,12 ± 0,27	7,78 ± 0,90	4,57 ± 0,83	4,60 ± 1,70	3,74 ± 1,66

Příloha č. 17 – Detekované počty mikroorganismů – rodina Rony, samice Rony, KD po

RONY – Rony ♀ KD po	Detekované počty mikroorganismů log KTJ/g					
	CP	BIF-NORF	BIF-MUP	LBC	EC	KB
6.8.2019	8,16	2,86	8,49	5,43	6,38	2
13.8.2019	8,7	3,1	6,98	8,33	4,48	2
20.8.2019	8,14	2,9	7,06	7	2	2
28.8.2019	8,46	2	6,1	7,14	6,76	6,79
4.9.2019	8,12	2	2	2	6,98	5,56
10.9.2019	8,79	2	8,05	7,31	2	2
17.9.2019	8,2	2	6,34	7,52	5,97	5,32
24.9.2019	8,37	2,3	4,86	7,91	2	2
Průměr ± SD	8,37 ± 0,26	2,40 ± 0,48	6,24 ± 2,05	6,58 ± 2,04	4,57 ± 2,26	3,46 ± 2,06

Příloha č. 18 – Statistická analýza dat, živinové složení diety před a po, rodina Miloš

Proměnná	Testy normality (Tabulky na grafy_Benešová_NM)					
	N	max D	K-S p	Lilliefors p	W	p
Sušina %	16	0,144516	p > .20	p > .20	0,956775	0,603859
Bílkovina %	16	0,148598	p > .20	p > .20	0,932553	0,267507
Tuk %	16	0,233986	p > .20	p < ,05	0,835097	0,008286
Vláknina %	16	0,199576	p > .20	p < ,10	0,885274	0,046923
Sacharidy %	16	0,171312	p > .20	p > .20	0,885990	0,048154
Glukóza %	16	0,120700	p > .20	p > .20	0,948024	0,459040
Fruktóza %	16	0,232131	p > .20	p < ,05	0,841216	0,010144
Sacharóza %	16	0,128255	p > .20	p > .20	0,912712	0,128699
ADF %	16	0,158258	p > .20	p > .20	0,948696	0,469312
NDF %	16	0,131688	p > .20	p > .20	0,962524	0,707739

Proměnná	t-testy; grupováno: Prom1 (Tabulky na grafy_Benešová_NM)										
	Skup. 1: před					Skup. 2: po					
	Průměr před	Průměr po	t	sv	p	Poč. plat před	Poč. plat po	Sm.odch. před	Sm.odch. po	F-poměr Rozptyly	p Rozptyly
Sušina %	16,33750	16,65000	-1,13351	14	0,276038	8	8	0,667463	0,403166	2,740860	0,206826
Bílkovina %	20,25213	24,09250	-7,68532	14	0,000002	8	8	1,045986	0,950545	1,210896	0,807142
Glukóza %	7,28750	5,18125	4,24657	14	0,000814	8	8	1,232045	0,670894	3,372454	0,131199
Sacharóza %	10,21875	9,23250	0,88471	14	0,391255	8	8	2,228141	2,230950	1,002522	0,997434
ADF %	19,02000	20,82125	-3,41707	14	0,004169	8	8	1,173237	0,920038	1,626149	0,536703
NDF %	35,89875	37,38125	-1,63186	14	0,124991	8	8	1,616614	1,997280	1,526389	0,590598

Proměnná	Mann-Whitneyův U Test (w/ oprava na spojitost) (Tabulky na grafy_Benešová_NM)									
	Dle proměn. Prom1									
	Označené testy jsou významné na hladině p < 0,05000									
	Sčet poř. před	Sčet poř. po	U	Z	p-hodn.	Z upravené	p-hodn.	N platn. před	N platn. po	2*1str. přesné p
Tuk %	36,0000	100,0000	0,000000	-3,30816	0,000939	-3,30816	0,000939	8	8	0,000155
Sacharidy %	100,0000	36,0000	0,000000	3,30816	0,000939	3,30816	0,000939	8	8	0,000155
Vláknina %	95,0000	41,0000	5,000000	2,78306	0,005385	2,78306	0,005385	8	8	0,002953
Fruktóza %	100,0000	36,0000	0,000000	3,30816	0,000939	3,30816	0,000939	8	8	0,000155

Příloha č. 19 – Statistická analýza dat, detekované počty mikroorganismů, rodina Miloš

Proměnná	Testy normality (Tabulky na grafy_Benešová_NM)					
	N	max D	K-S p	Lilliefors p	W	p
CP	26	0,146169	p > ,20	p < ,10	0,941859	0,148763
BIF-NORF	26	0,314041	p < ,01	p < ,01	0,591930	0,000000
BIF-MUP	26	0,218145	p < ,15	p < ,01	0,842533	0,001023
LBC	26	0,178291	p > ,20	p < ,05	0,926476	0,063905
EC	26	0,223838	p < ,10	p < ,01	0,877580	0,005120
KB	26	0,299963	p < ,01	p < ,01	0,813707	0,000304

Mann-Whitneyův U Test (w/ oprava na spojitost) (Tabulky na grafy_Benešová_NM)										
Dle proměn. KD										
Označené testy jsou významné na hladině p < ,05000										
Proměnná	Sčt poř. před	Sčt poř. po	U	Z	p-hodn.	Z upravené	p-hodn.	N platn. před	N platn. po	2*1str. přesné p
BIF-NORF	109 5000	241 5000	54 50000	-1,31762	0,187633	-1,50566	0,132155	10	16	0,182384
BIF-MUP	168 5000	182 5000	46 50000	1,73925	0,081991	1,73955	0,081939	10	16	0,077216
EC	151 0000	200 0000	64 00000	0,81692	0,413974	0,83541	0,403490	10	16	0,420968
KB	93 5000	257 5000	38 50000	-2,16089	0,030705	-2,27929	0,022650	10	16	0,026751

t-testy; grupováno: KD (Tabulky na grafy_Benešová_NM)											
Skup. 1: před											
Skup. 2: po											
Proměnná	Průměr před	Průměr po	t	sv	p	Poč.plat před	Poč.plat. po	Sm.odch. před	Sm.odch. po	F-poměr Rozptyly	p Rozptyly
CP	8,473000	8,313750	0,65078	24	0,521371	10	16	0,509140	0,658836	1,674483	0,438663
LBC	6,455000	7,423750	-3,40257	24	0,002343	10	16	0,849905	0,603930	1,980467	0,232606

Příloha č. 20 – Statistická analýza dat, živinové složení diety před a po, rodina Rony

Proměnná	Testy normality (Tabulky na grafy_Benešová_NM)					
	N	max D	K-S p	Lilliefors p	W	p
Sušina %	16	0,142826	p > ,20	p > ,20	0,962811	0,712973
Bílkovina %	16	0,206006	p > ,20	p < ,10	0,883703	0,044333
Tuk %	16	0,177573	p > ,20	p < ,20	0,922084	0,182212
Vláknina %	16	0,214469	p > ,20	p < ,05	0,852518	0,014841
Sacharidy %	16	0,173308	p > ,20	p < ,20	0,950903	0,504120
Glukóza %	16	0,192766	p > ,20	p < ,15	0,911058	0,121033
Fruktóza %	16	0,282499	p < ,15	p < ,01	0,819700	0,005036
Sacharóza %	16	0,199338	p > ,20	p < ,10	0,923579	0,192565
ADF %	16	0,118967	p > ,20	p > ,20	0,969938	0,837603
NDF %	16	0,251360	p > ,20	p < ,01	0,754891	0,000728

t-testy; grupováno: Prom1 (Tabulky na grafy_Benešová_NM)											
Skup. 1: před											
Skup. 2: po											
Proměnná	Průměr před	Průměr po	t	sv	p	Poč.plat před	Poč.plat. po	Sm.odch. před	Sm.odch. po	F-poměr Rozptyly	p Rozptyly
Sušina %	16,52375	18,07125	-4,14761	14	0,000986	8	8	0,726124	0,765776	1,11220	0,892041
Tuk %	2,88375	3,76750	-6,87575	14	0,000008	8	8	0,304253	0,198980	2,33804	0,284992
Sacharidy %	45,37375	40,58000	5,22496	14	0,000129	8	8	2,236745	1,315675	2,89025	0,184798
Glukóza %	7,03375	4,24875	5,81896	14	0,000045	8	8	1,290913	0,407516	10,03468	0,006956
Sacharóza %	10,43500	7,41375	2,88105	14	0,012086	8	8	2,515330	1,571832	2,56081	0,237940
ADF %	16,92500	18,01750	-2,95152	14	0,010514	8	8	0,669072	0,805246	1,44848	0,637133

Mann-Whitneyův U Test (w/ oprava na spojitost) (Tabulky na grafy_Benešová_NM)										
Dle proměn. Prom1										
Označené testy jsou významné na hladině p < ,05000										
Proměnná	Sčt poř. před	Sčt poř. po	U	Z	p-hodn.	Z upravené	p-hodn.	N platn. před	N platn. po	2*1str. přesné p
Bílkovina %	36,0000	100,0000	0,00000	-3,30816	0,000939	-3,30816	0,000939	8	8	0,000155
Vláknina %	100,0000	36,0000	0,00000	3,30816	0,000939	3,30816	0,000939	8	8	0,000155
Fruktóza %	100,0000	36,0000	0,00000	3,30816	0,000939	3,30816	0,000939	8	8	0,000155
NDF %	60,0000	76,0000	24,00000	-0,78766	0,430898	-0,78766	0,430898	8	8	0,441803

Příloha č. 21 – Statistická analýza dat, detekované počty, rodina Rony

Proměnná	Testy normality (Tabulky na grafy_Benešová_NM)					
	N	max D	K-S p	Lilliefors p	W	p
CP	26	0,137672	p > ,20	p < ,15	0,955871	0,316802
BIF-NORF	26	0,326188	p < ,01	p < ,01	0,763436	0,000045
BIF-MUP	26	0,237762	p < ,10	p < ,01	0,755110	0,000033
LBC	26	0,152447	p > ,20	p < ,10	0,931817	0,085617
EC	26	0,302162	p < ,01	p < ,01	0,807356	0,000235
KB	26	0,384745	p < ,01	p < ,01	0,724828	0,000012

Proměnná	t-testy; grupováno: KD (Tabulky na grafy_Benešová_NM)										
	Průměr		t	sv	p	Poč.plat. před	Poč.plat. po	Sm.odch. před	Sm.odch. po	F-poměr Rozptyly	p Rozptyly
CP	8,439000	8,290625	0,91112	24	0,371294	10	16	0,557802	0,272824	4,180185	0,014589
LBC	5,083000	6,819375	-2,87455	24	0,008344	10	16	1,433442	1,536162	1,148454	0,860619

Proměnná	Mann-Whitneyův U Test (w/ oprava na spojitost) (Tabulky na grafy_Benešová_NM)									
	Sčt. poř. před	Sčt. poř. po	U	Z	p-hodn.	Z upravené	p-hodn.	N platn. před	N platn. po	2*1str. přesné p
BIF-NORF	85,0000	266,0000	30,00000	-2,60888	0,009084	-2,84017	0,004509	10	16	0,007270
BIF-MUP	136,0000	215,0000	79,00000	0,02635	0,978976	0,02640	0,978940	10	16	0,979370
EC	137,5000	213,5000	77,50000	0,10541	0,916051	0,11100	0,911620	10	16	0,897126
KB	149,5000	201,5000	65,50000	0,73786	0,460597	0,84223	0,399659	10	16	0,451781