

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra etologie a zájmových chovů



**Vliv potravy na koncentraci kortikosteronu u gibonů
(*Nomascus spp.*)**

Diplomová práce

Bc. Lucie Šnajdrová

Zájmové chovy zvířat

Ing. Petra Bolechová, Ph.D.

© 2020 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

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

V Praze dne 24. 7. 2020

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala své vedoucí práce, Ing. Petře Bolechové, Ph.D., která je přední odbornicí v celé problematice a bez jejíž pomoci a rad by nebylo možné práci dokončit. Velké poděkování patří také všem chovatelům a zoologům ze zoologických zahrad, kteří se na studii podíleli, zejména pak Ing. Jitce Vokurkové ze Zoologické zahrady Olomouc.

Největší poděkování si pak zaslouží má rodina, partner a přátelé, kteří za mnou stáli nejen během mých studií, ale většinu mého života a dodávali mi naději a energii, když se vše zdálo černé.

Vliv potravy na koncentraci kortikosteronu u gibbonů (*Nomascus* spp.)

Souhrn

Vhodné živinové složení krmné dávky a správná technika krmení jsou základem zdraví a welfare primátů chovaných v zoologických zahradách. V posledních letech se navíc ukazuje souvislost mezi složením krmné dávky a relativním zastoupením určitých typů chování v celkové denní aktivitě, stejně jako souvislost mezi složením krmné dávky (KD) a složením střevní mikrobioty, která dle studií na lidech má potenciál ovlivnit odolnost vůči stresu a reakce na úzkost a strach. Přesto složení krmných dávek (KD) v zoologických zahradách ne vždy respektuje znalosti o přirozené potravě gibbonů (a dalších primátů) a jejím živinovém složení získané in-situ, tedy v místě přirozeného výskytu druhu.

Cílem práce bylo ověřit a vyhodnotit vliv složení KD (vypočítáním procentuálního zastoupení bílkovin, acidodetergentní vlákniny a neutrálně detergentní vlákniny v celkové sušině krmné dávky) na koncentraci kortikosteronu ve fekálních vzorcích gibbonů rodu *Nomascus*. Předmětem studie byli čtyři jedinci (dva samci a dvě samice) dvou druhů (gibbon žlutolící *Nomascus gabrielleae* a gibbon bělolící *Nomascus leucogenys*) ve dvou zoologických zahradách (Zoologická zahrada Liberec a Zoologická zahrada Olomouc). Studie probíhala mezi květnem a říjnem 2019. Tato studie navazuje na předchozí studie u velkých lidoopů a je tak dalším logickým krokem ve výzkumu této problematiky.

Přestože nebyla potvrzena statisticky významná souvislost mezi koncentrací kortikosteronu ve fekálních vzorcích gibbonů a relativním zastoupením bílkovin, ADF a NDF v sušině KD ani koncentrací kortikosteronu s dalšími faktory (maximální denní teplota vzduchu, denní návštěvnost zoo) je třeba provést další studie s více jedinci, aby bylo možné tyto souvislosti vyloučit nebo potvrdit. Zároveň by bylo vhodné před dalším výzkumem vytvořit jednoduchou databázi živinového složení jednotlivých komponent krmných v zoologických zahradách (včetně okusu), která by byla k dispozici jak výživářům či krmivářům, tak samotným chovatelům. Ti by měli být schopni průběžně vážit každý komponent KD (včetně okusu) a se zvířaty pracovat tak, aby bylo možné je v případě potřeby přepustit mezi výběhem a ubikací a odebrat vždy čerstvý vzorek výkalu pro maximální přesnost analýzy.

Klíčová slova: gibbon, hormony, kortikosteron, potrava, zdraví

Effects of the Diet on the Corticosterone Concentration in Crested Gibbons (*Nomascus* spp.)

Summary

Appropriate nutrient composition of the feed ration and proper feeding technique are the keys to good health and welfare of primates kept in zoos. In addition, recent years have shown a link between the nutrient content of the food and relative proportion of certain types of behaviour in total daily activity, as well as a link between the nutrient content of the food and gut microbiota composition, which according to the research in humans has the potential to affect stress resistance and reaction to anxiety and fear. Still, the feed composition in zoos does not always respect findings on the gibbon (and other primate) diets and its nutrient content in-situ, i.e. at the place of natural occurrence of the species.

The aim of this study was to verify and evaluate the effect of diet composition (by calculating the percentage of protein, acid detergent fiber and neutral detergent fiber in the total dry matter of the feed ration) on the concentration of corticosterone in faecal samples of gibbons *Nomascus* spp. We observed four animals (two males and two females) of two species (The yellow-cheeked gibbon *Nomascus gabriellae* and Northern white-cheeked gibbon *Nomascus leucogenys*) in two zoos (Zoologická zahrada Liberec, Zoologická zahrada Olomouc). The study took place between May and October 2019. This study build on previous studies in great apes and is thus the next logical step in research on this subject.

Although no statistically significant relationship between corticosterone concentration in faecal samples of gibbons and percentage of protein, ADF and NDF in the dry matter of their feed, neither the relationship between corticosterone concentration and other factors (daily maximum air temperature, daily zoo attendance) has been confirmed, further multi-subject studies are required to rule out or confirm these connections. At the same time, it would be helpful to create a simple database of nutrient composition for all components fed in zoos (including browse) before further research, which would be also available for nutritionists or food service specialists, as well as zoo keepers themselves. They should be able to weigh each component of the feed (including the browse) on an ongoing basis and train the animals so that, if necessary, they will move between the enclosures on command and keepers will be always able to take a fresh faecal sample for maximum accuracy of analysis.

Keywords: gibbon, hormones, corticosterone, diet, health

Obsah

Úvod	8
Vědecká hypotéza a cíle práce	9
Literární rešerše	10
1.1 Giboni.....	10
1.1.1 Taxonomie a stupeň ohrožení	10
1.1.2 Zastoupení v chovech a chovných programech	11
1.1.3 Popis a způsob života gibbonů	13
1.2 Potrava gibbonů	16
1.2.1 Stavba trávicí soustavy	16
1.2.2 Složení potravy gibbonů v přírodě	17
1.2.3 Potravní chování gibbonů v přírodě	21
1.2.4 Potrava gibbonů v lidské péči	22
1.3 Mikrobiota	25
1.3.1 Funkce střevní mikrobioty	25
1.3.2 Složení střevní mikrobioty	26
1.3.3 Střevní mikrobiota gibbonů a způsoby její modulace	27
1.3.4 Dysbióza, průjem a zánětlivé střevní onemocnění primátů	29
1.4 Stres a stresové hormony.....	29
1.4.1 Stres	29
1.4.2 Stresová odpověď	29
1.4.3 Glukokortikoidy	31
1.5 Neinvazivní metody ke stanovení stresových hormonů.....	32
1.5.1 Analýza stresových hormonů ze vzorku slin	32
1.5.2 Analýza stresových hormonů ze vzorku chlupů	32
1.5.3 Analýza stresových hormonů ze vzorku moči	33
1.5.4 Analýza stresových hormonů ze vzorku výkalů	33
Materiál a metody.....	34
1.1 Zvířata a chovatelská zařízení	34
1.1.1 Zoologická zahrada Liberec	34
1.1.2 Zoologická zahrada Olomouc	34
1.2 Výpočet složení krmné dávky	35
1.3 Terénní část – sběr vzorků	35
1.4 Analýza kortikosteronu	36
1.4.1 Extrakce vzorků k ELISA analýze	36
1.4.2 Příprava roztoků k vlastní analýze.....	36
1.4.3 ELISA analýza.....	37
1.4.4 Výpočet koncentrace kortikosteronu	37

1.5	Doplňující data	37
1.6	Statistická analýza dat	38
	Výsledky.....	39
1.1	Složení krmné dávky.....	39
1.1.1	Zoologická zahrada Liberec.....	39
1.1.2	Zoologická zahrada Olomouc	40
1.1.3	Rozdíly mezi zahradami	41
1.2	Vztah mezi složením KD a koncentrací kortikosteronu	42
1.3	Další faktory	44
	Diskuze	47
	Závěr	49
	Literatura.....	50
	Seznam použitých zkratk a symbolů	63
	Samostatné přílohy	I

Úvod

Všichni giboni rodu *Nomascus* spp. patří k ohroženým druhům primátů, u některých z nich zbývá v přírodě už jen posledních pár jedinců (gibon hainanský (*Nomascus hainanus*)). Pokud chceme efektivně chránit tyto druhy, je důležité znát jejich biologii a v první řadě adekvátně pečovat o jedince chované v zoologických zahradách tak, abychom měli zdravou reprodukcující se populaci projevující co nejvíce prvků přirozeného chování.

Pochopení a zvládnutí správné výživy je základem k úspěchu, přesto se v krmení primátů stále vyskytují závažná pochybení vycházející nejen z neznalosti, ale často také z antropomorfizace primátů (zejména lidoopů), zvyku a dobré vůle jejich ošetřovatelů jim „přilepšit“. Potom dochází k překrmování, nutričním dysbalancím a aplikaci nesprávné techniky krmení, což vede kromě zažívacích problémů také k abnormálnímu chování jako je regurgitace a koprofágie.

Cílem každého ošetřovatele je vyvarovat se těchto chyb a zajistit zvířatům v zoologických zahradách maximální welfare.

Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem práce je ověřit a vyhodnotit souvislost mezi živinovým složením krmné dávky a koncentrací kortikosteronu ve fekálních vzorcích gibbonů rodu *Nomascus* spp. chovaných v lidské péči.

Při podávání vysokovlákninové* krmné dávky bude u gibbonů stanovena nižší koncentrace kortikosteronu než při nízkovlákninové** krmné dávce.

*vysokovlákninová = nad 20 % NDF v sušině

**nízkovlákninová = do 20 % NDF v sušině

Literární rešerše

1.1 Giboni

1.1.1 Taxonomie a stupeň ohrožení

Řád primáti Primates Linnaeus, 1758 zahrnuje asi 508 druhů zvířat (Integrated Taxonomic Information System (ITIS) 2018) vyskytujících se ve Střední a Jižní Americe, v Africe (i na Madagaskaru) a jižní a jihovýchodní Asii. Jediný volně žijící primát v Evropě – makak magot *Macaca sylvanus* (Linnaeus, 1758) – zde byl patrně introdukovan (Schultz 1969).

Primáti se dělí na dva podřády, Strepsirhini (dříve Prosimii - tzv. poloopice) a Haplorrhini (dříve Anthrooidea – tzv. vyšší primáti). Mezi poloopice v dnešním pojetí patří madagaskarští lemuři Lemuriformes, dále čeleď kuskolovití Daubentonidae (možná se jedná o samostatný infrařád Chiromyiformes) a infrařád Lorisiformes zahrnující kombovitě Galagidae, outloně *Nycticebus* spp., lorie *Loris* spp. a pota *Arctocebus* spp., *Perodicticus* sp. (Groves 2018) vyskytující se jak v Africe, tak v Asii (Schultz 1969).

Do druhého zmiňovaného podřádu primátů, vyšší primáti, patří infrařád nártouni Tarsiiformes s jedinou čeledí nártounovití Tarsiidae (Groves 2018) obývající Filipíny a Indonésii (Schultz 1969) a zbývající primáti tvoří infrařád opice Simiiformes. Tato kategorie tak zahrnuje široké spektrum primátů včetně člověka (Groves 2018).

Tradiční rozdělení opic na ploskonosé neboli novosvětské opice Platyrrhini obývající Střední a Jižní Ameriku a úzkonosé neboli starosvětské opice Catarrhini obývající Afriku a Asii (Evropu) se již oficiálně nepoužívá a tzv. ploskonosé dělíme rovnou na několik čeledí (2–5) a tzv. úzkonosé na dvě nadčeledi – kočkodanovití Cercopithecoidea a lidoopi Hominoidea. Do druhé zmiňované (nadčeleď lidoopi Hominoidea) řadíme všechny druhy žijících gibbonů čeledi Hylobatidae, stejně tak hominidy Hominidae včetně člověka (Schultz 1969; Groves 2018), viz Tabulka 1.

Tabulka 1: Taxonomické zařazení gibbonů (Fan et al. 2017; Groves 2018)

Řád:	Primáti (Primates)
Podřád:	Vyšší primáti (Haplorrhini)
Infrařád:	Opice (Simiiformes)
Nadčeleď:	Lidoopi (Hominoidea)
Čeleď:	Gibonovití (Hylobatidae)
Rod:	Gibon (<i>Hoolock</i>)
	Gibon (<i>Hylobates</i>)
	Gibon (<i>Nomascus</i>)
	Siamang (<i>Symphalangus</i>)

Rozlišujeme čtyři rody gibbonů (*Hoolock*, *Hylobates*, *Nomascus* a *Symphalangus*) a až 20 druhů včetně nedávno popsaného *Hoolock tianxing* (Fan et al. 2017).

Jak je patrné z Tabulky 2, rod *Nomascus* Miller, 1933, kterým se zabývá tato práce, zahrnuje sedm druhů, čtyři z nich Mezinárodní svaz ochrany přírody (IUCN) hodnotí jako kriticky ohrožené (CR), dva jako ohrožené (EN) a jeden spadá do nevyhodnocených taxonů (NE) (Bleisch et al. 2008a; Bleisch et al. 2008b; Bleisch & Geissmann 2008; Geissmann et al. 2008; Geissmann & Bleisch 2008; Manh Ha et al. 2008). Jedná se o gibona annámského *Nomascus annamensis*, vědecky popsaného v roce 2010 (Thinh et al. 2010).

1.1.2 Zastoupení v chovech a chovných programech

Členské zahrady Evropské asociace zoologických zahrad a akvárií (EAZA) chovají osm z dvaceti druhů gibbonů v rámci tří rodů (*Hylobates*, *Nomascus*, *Symphalangus*). Pro šest druhů je veden Evropský záchovný program (EEP), tyto druhy jsou v Tabulce 2 barevně zvýrazněny. Jedná se o dva druhy gibbonů z rodu *Nomascus* – gibony bělolící *Nomascus leucogenys* Ogilby, 1840 a gibony žlutolící *Nomascus gabriellae* Thomas, 1909, dále tři druhy gibbonů z rodu *Hylobates* – gibony lar *Hylobates lar* (Linnaeus, 1771), gibony stříbrné *Hylobates moloch* (Audebert, 1798) a gibony káповé *Hylobates pileatus* (Gray, 1861) a jedině zástupce rodu *Symphalangus* - siamangy *Symphalangus syndactylus* (Raffles, 1821) (The European Association of Zoos and Aquaria 2019).

Další dva druhy gibbonů – Gibon tmavoruký *Hylobates agilis* F.Cuvier, 1821 a z rodu *Nomascus* zástupce *Nomascus siki* (Delacour, 1951) – jsou v EAZA sice chováni, ale byli pro nízký počet chovaných jedinců z EEP vyřazeni (The European Association of Zoos and Aquaria 2019).

V rámci Unie českých a slovenských zoologických zahrad (USCZOO) jsou chováni giboni v pěti druzích ze tří rodů: giboni stříbrní *Hylobates moloch*, giboni lar *Hylobates lar*, giboni bělolící *Nomascus leucogenys*, giboni žlutolící *Nomascus gabriellae* a siamangové *Symphalangus syndactylus*. Nejčastěji je chován rod *Nomascus* spp., a to v deseti zoologických zahradách.

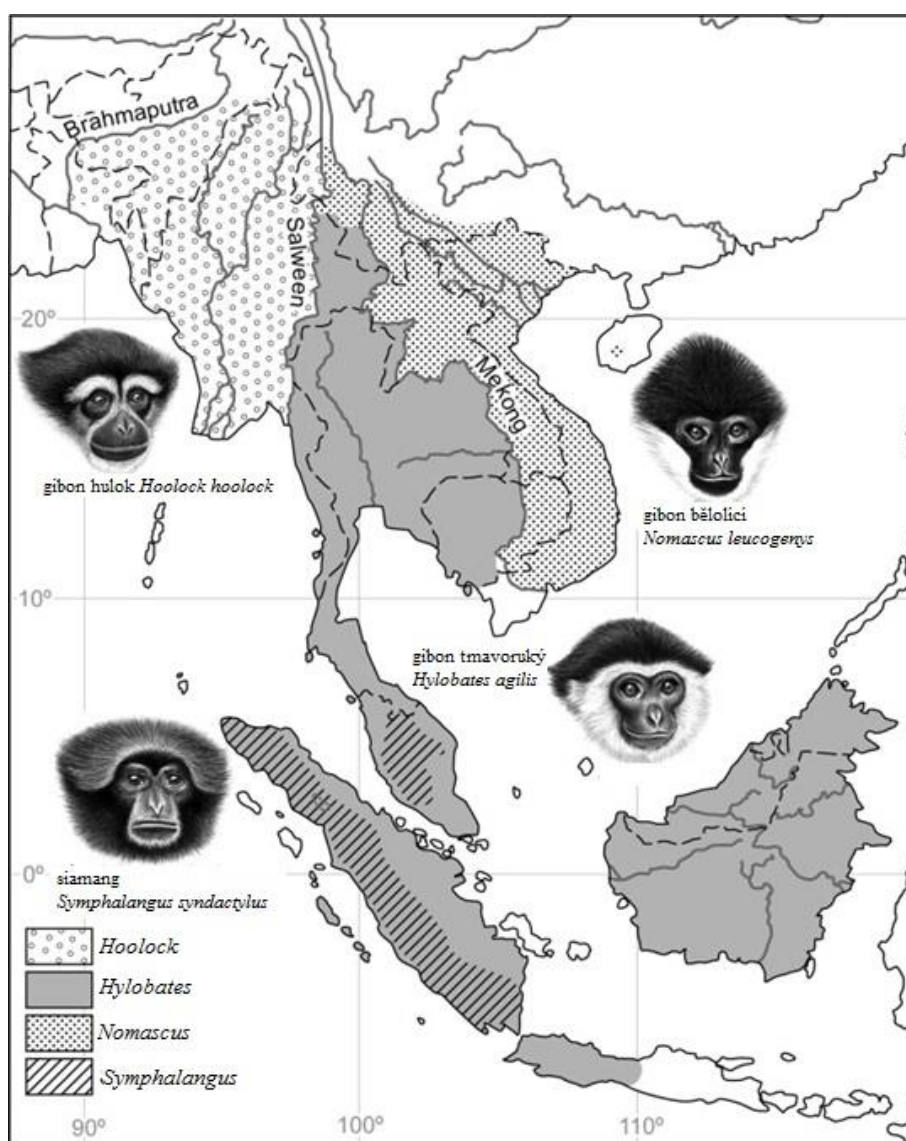
Gibony bělolící *Nomascus leucogenys* chová Zoologická zahrada Liberec, Zoologická zahrada Ústí nad Labem, Zoologická a botanická zahrada města Plzně a Zoologická zahrada Ostrava. Gibony žlutolící *Nomascus gabriellae* chová Zoologická zahrada Jihlava, Zoologická zahrada Olomouc, ZOO Chleby, Zoologická zahrada Košice, Národní zoologická zahrada Bojnice a Zoologická zahrada Bratislava.

Tabulka 2: Druhy gibbonů a jejich zastoupení v chovech a chovných programech (The Gibbon Species Survival Plan (SSP) 2020.; European Association of Zoos and Aquaria 2020; The European Association of Zoos and Aquaria 2019)

<i>Nomascus</i>	<i>Nomascus annamensis</i>	gibon annamský	X
	<i>Nomascus concolor</i>	gibon černý	X
	<i>Nomascus hainanus</i>	gibon hainanský	X
	<i>Nomascus siki</i>	Siki	EAZA
	<i>Nomascus gabriellae</i>	gibon žlutolící/ zlatolící	EAZA – EEP
	<i>Nomascus leucogenys</i>	gibon bělolící	EAZA – EEP, USCZOO
	<i>Nomascus nasutus</i>	gibon černochocholátý	X
<i>Hylobates</i>	<i>Hylobates agilis</i>	gibon tmavoruký	EAZA
	<i>Hylobates albibarbis</i>	gibon bělobradý	X
	<i>Hylobates klossii</i>	gibon malý	X
	<i>Hylobates lar</i>	gibon lar	EAZA – EEP, USCZOO
	<i>Hylobates moloch</i>	gibon stříbrný	EAZA – EEP, USCZOO
	<i>Hylobates muelleri</i>	gibon Müllerův	X
	<i>Hylobates pileatus</i>	gibon káповý	EAZA – EEP
	<i>Hylobates abbotii</i>	-	X
	<i>Hylobates funereus</i>	-	X
<i>Hoolock</i>	<i>Hoolock leuconedys</i>	gibon hnědohřbetý	X
	<i>Hoolock hoolock</i>	gibon hulok	X
	<i>Hoolock tianxing</i>	-	X
<i>Symphalangus</i>	<i>Symphalangus syndactylus</i>	siamang	EAZA – EEP, USCZOO

Členské zoologické zahrady Evropské asociace zoologických zahrad a akvárií (EAZA) podporují celkem 28 in-situ projektů na ochranu velkých lidoopů a pouze tři na ochranu gibbonů. Jedná se o projekt HURO v Indii (francouzská Zoo de la Palmyre), který se zaměřuje na ochranu gibbonů hulok *Hoolock hoolock* (Harlan, 1834), Kalaweit v Indonésii (francouzská ZooParc de Beauval), který si klade za cíl ochranu gibbonů na Borneu, Sumatře a Jávě, zejména potom záchranu, rehabilitaci a vypuštění gibbonů nelegálně chovaných v zajetí, a Anoulak v Laosu (francouzská Zoo de la Ville de Lyon a Parc Animalier d’Auvergne), který spolupracuje mj. s Ing. Michalem Hradcem, Ph.D. z České zemědělské univerzity v Praze na výzkumu rozšíření a taxonomické příslušnosti k druhu gibbonů bělolících a gibbonů siki v národním parku Nakai-Nam Theun (The European Association of Zoos and Aquaria 2018; Association Anoulak 2019; © HURO 2020; Kalaweit 2020).

1.1.3 Popis a způsob života gibbonů



Obrázek 1: Rozšíření čtyř recentních rodů gibbonů (převzato a upraveno dle Fleagle 2013)

Giboni žijí v lesích jihovýchodní Asie od severovýchodní Indie přes Myanmar, západní Čínu, Thajsko, Laos, Kambodžu a Vietnam, po Malajský poloostrov na pevnině a ostrovy Sumatru, Borneo, Jávu a Mentavajské ostrovy (Ankel-Simons 2000; Fleagle 2013). Rozšíření gibonů je patrné z Obrázku 1. Gibon bělolící *Nomascus leucogenys* se v současnosti vyskytuje pouze v Číně (provincii Jün-nan), Vietnamu a Laosu, gibon žlutolící *Nomascus gabriellae* v jižním Vietnamu, jižním Laosu a severovýchodní Kambodži (Geissmann et al. 2000).

Hmotnost gibonů se pohybuje mezi pěti a jedenácti kilogramy a délka jejich těla dosahuje 42–64 cm bez velikostního rozdílu mezi samcem a samicí (Ankel-Simons 2000; Fleagle 2013). Giboni jsou přizpůsobeni pohybu v korunách stromů, nemají ocas, ale extrémně prodloužené hrudní končetiny s dlouhými a štíhlými prsty a svalnatými palci na ruce i na nohou (Ankel-Simons 2000; Fleagle 2013). Intermembrální index gibonů udávající poměr délek hrudních a pánevních končetin se pohybuje mezi 120 a 130 (Ankel-Simons 2000), u gibonů černých *Nomascus conocolor* je to 140 a u siamangů *Symphalangus syndactylus* 147 (Fleagle 2013), Ankel-Simons (2000) uvádí intermembrální index u siamangů až 160. Giboni příležitostně slézají i na zem, kde mohou používat k pohybu také bipední chůzi. Tu využívají i při pohybu po horizontálních větvích (Ankel-Simons 2000; Channon et al. 2009). Dalším způsobem pohybu gibonů je skákání (Channon et al. 2009). Oproti ostatním lidoopům mají giboni vyvinuty sedací mozoly a samicím se v závislosti na hormonálním cyklu mění velikost a barva zduření anogenitální oblasti (Ankel-Simons 2000; Fleagle 2013).

Výrazné rozdíly mezi pohlavími můžeme vidět u některých druhů ve zbarvení, které tak vykazuje mezidruhovou i vnitrodruhovou variabilitu (Ankel-Simons 2000). U gibonů rodu *Nomascus* se vyskytuje pohlavní dichromatismus, mláďata se rodí žlutohnědá a zhruba v šestém měsíci se začnou přebarvovat do černa. Přeměna barvy srsti může trvat až do 18 měsíců (Mootnick 2006; Mootnick & Fan 2011). V dospělosti zůstávají samci černí, samice zpět přebarvují do žlutohnědé, zlaté až oranžové s černou korunkou či pruhem na hlavě a bílým prstencem lemujícím obličej (Mootnick 2006), viz Obrázek 2.



Obrázek 2: Zbarvení samce, samice a mláděte u gibonů rodu *Nomascus* (převzato a upraveno dle <https://www.gibbonssp.org/taxonomy> 2020)

Dospělí samci a černě zbarvená mláďata obou pohlaví mají na hlavě vztyčené delší chlupy tvořící chocholku, u gibbonů bělolících se bílé skvrny chlupů na lících stýkají pod černou bradou a mohou zasahovat až ke špičkám uší, u gibbonů žlutolících jsou skvrny na tvářích malé, na krku rozdělené s nádechem žlutohnědé barvy (Mootnick 2006). Zbarvení samce, samice a mláďate všech sedmi druhů gibbonů rodu *Nomascus* je naznačeno na Obrázku 2.

Giboni rodu *Nomascus* jsou tradičně považováni za monogamní, ale ukazuje se, že jejich sociální systém může být pestřejší, než se dříve myslelo, mohou se vyskytovat polygynní skupiny (Jiang et al. 1999; Barca et al. 2016) či mimopárové kopulace (Kenyon et al. 2011; Dixon 2015), u gibbonů lar *Hylobates lar* byla pozorována také polyandrie (Reichard & Barelli 2008).

Pro gibony je typická hlasitá stereotypní druhově a pohlavně specifická vokalizace, známá jako zpěv (Geissmann 2000; Geissmann 2002). Název jednoho rodu gibbonů – *Hoolock* – vznikl z bengálského a hindského „ulluck“, což je pravděpodobně odvozenina z ásámského výrazu „houlou“. Oba výrazy se přitom vyslovují podobně a připomínají zvuk, který hulokové vydávají při vokalizaci (Mootnick & Groves 2005). Tyto zpěvy přesahují ve vzdálenosti 2,7 metru od zdroje hlasitost 100 dB (Terleph et al. 2016). Zpěv gibbonů je druhově specifický (Geissmann 2002), a zpěv hybridů není shodný se zpěvem ani jednoho rodiče (Geissmann 1984).

Zpěv můžeme rozlišit na samčí a samičí sólový, nebo se může jednat o duet, což je pravděpodobně způsob zpěvu předka všech recentních druhů gibbonů. Tento zpěv byl zřejmě stejný u samců i u samic a až později se rozdělil do částí specifických pro dané pohlaví v procesu vývoje sólových zpěvů zvaném „duet-splitting“. Druhy gibbonů, které nezpívají duety (gibon malý *Hylobates klossii* a gibon stříbrný *Hylobates moloch*) jsou výsledkem tohoto procesu (Geissmann 2002).

Hlasitost umocněná zpěvem z vyšších míst v korunách stromů a v ranních hodinách naznačuje, že zpěv může mít funkci vymezování teritoria (Mitani 1985), Cowlshaw (1992) říká, že teritoriální je zpěv samice, zatímco zpěv samce má přitahovat partnerku. Další možnou funkcí zpěvu je dle něj označení párového pouta pro předcházení konfliktů na hranicích teritoria.

Přestože zpěv gibbonů bývá považován za stereotypní, výzkum gibbonů tmavorukých *Hylobates agilis agilis* ukázal, že se v rámci zpěvu mezi jedinci objevují akustické individuality (Oyakawa et al. 2007), což potvrdili Terleph et al. (2015) u gibbonů lar *Hylobates lar* a Clink et al. (2017), kdy s přesností 95,7 % dokázali identifikovat samice gibbonů Müllerových *Hylobates muelleri* dle zpěvu. Na zpěv má vliv také věk jedince a mohl by dokonce souviset s kondicí zvířete (Terleph et al. 2016).

1.2 Potrava gibonů

1.2.1 Stavba trávicí soustavy

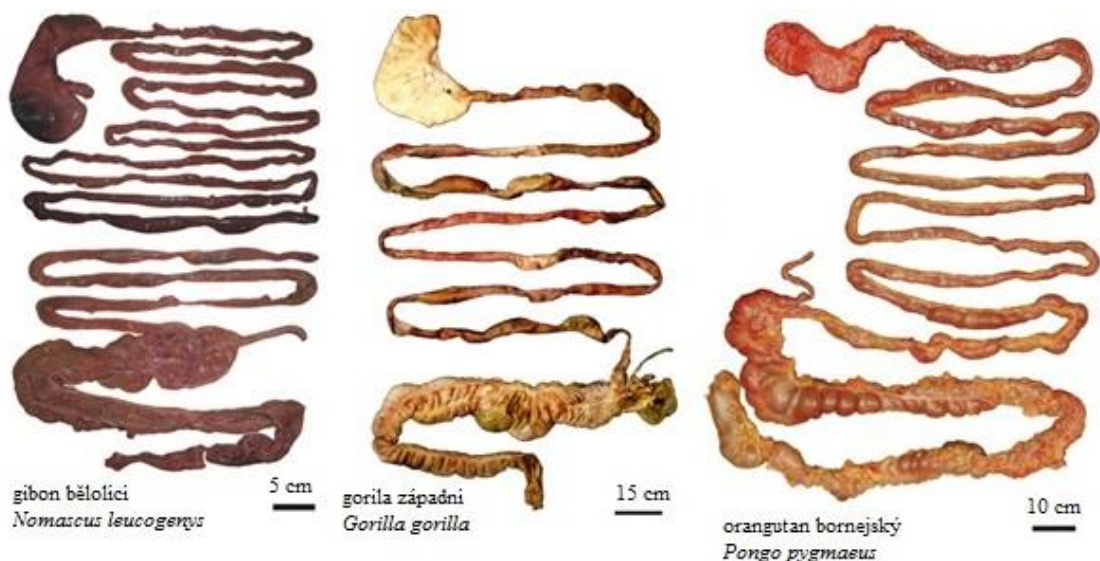
Giboni mají jednoduché stoličky s nízkými hrbolky a širokými rýhami. Řezáky jsou relativně krátké, ale široké, horní špičáky jsou u obou pohlaví dlouhé a ostří se o první třenový zub (Fleagle 2013).

Dle Chivers & Hladík (1980) lze pozorovat na stavbě trávicího traktu primátů i dalších savců přizpůsobení různým typům přijímané potravy. Dle Lambert (1998) jsou bílkoviny štěpeny v žaludku, trávení tuků probíhá téměř výhradně v tenkém střevě a teprve v souvislosti s trávením sacharidů (zejména polysacharidů) můžeme pozorovat specializaci trávicího traktu.

Chivers & Hladík (1980) uvádějí, že živočišná potrava (bezobratlí, ryby, malí obratlovci) poskytuje zvířatům zdroj bílkovin a tuků, je snadno stravitelná a vyžaduje relativně jednoduchý a krátký trávicí trakt. Květy, plody, semena a hlízy obsahují krátkořetězcové sacharidy, které jsou rychle štěpeny a vstřebávány v dlouhém tenkém střevě. Listy, stonky, tráva, kůra a pryskyřice obvykle obsahují bílkoviny a polysacharidy, které vyžadují fermentaci v relativně velkém žaludku se dvěma až čtyřmi komorami, tzv. foregut fermentace, nebo tlustém střevu, tzv. hindgut fermentace (Chivers & Hladík 1980; Dehority 1997).

Giboni patří mezi tzv. hindgut fermenters (Chang et al. 2016), zvířata, u kterých fermentace vlákniny probíhá ve slepém nebo slepém a tlustém střevě (Dehority 1997). Přestože hindgut i foregut fermentoři tráví vlákninu dobře, efektivita trávení u hindgut fermentorů je výrazně nižší (Edwards & Ullrey 1999). Foregut fermentoři jsou tak lépe adaptováni na energeticky chudou potravu, hindgut fermentoři naopak na bohatší. Ztrácejí totiž ve výkalech část mikrobioty, která tak nemůže být využita jako zdroj bílkovin (Alexander 1993).

Trávicí trakt gibonů je podobný ostatním lidoopům, tlusté střevo je ale kratší (National Research Council 2003). Porovnání trávicích traktů lidoopů vidíme na Obrázku 3. Celková délka střev gibona bělolícího vážícího 6550 g byla 545 cm, z toho tenké střevo měřilo 449 cm, slepé střevo 13 cm a tlusté střevo 83 cm (McGrosky et al. 2019).



Obrázek 3: Trávicí traktusy gibona, gorily a orangutana (převzato a upraveno dle McGrosky et al. 2019)

Průměrná doba průchodu semen stromu *Dracontomelon dao* trávicím traktem gibbonů žlutolících je $13,2 \pm 7,5$ hodiny (Hai et al. 2018) a dle Chang et al. (2016) lze dobu průchodu semen trávicím traktem ovlivnit zastoupením vlákniny v potravě. Vysokovlákninová (18–22 % vláknina) potrava způsobuje u gibbonů *Hylobates lar* a orangutanů *Pongo pygmaeus* delší průchod, zatímco nízkovlákninová (14–16 % vláknina) potrava průchod semen trávicím traktem zrychluje. Přestože toto zjištění neplatí plošně a liší se u jednotlivých druhů primátů (Chang et al. 2016) potvrzuje předchozí poznatky o rozdílném trávení sympatrických primátů s různými potravními strategiemi. Zatímco u převážně listožravých vřešťanů pláštíkových *Alouatta palliata* (Gray, 1849) trval průchod barevných plastových značek trávicím traktem $20,4 \pm 3,5$ hodiny, u převážně plodožravých chápanů středoamerických *Ateles geoffroyi* Kuhl, 1820 průchod trávicím traktem trval $4,4 \pm 1,5$ hodiny (Milton 1981).

1.2.2 Složení potravy gibbonů v přírodě

Potravu primátů lze z hlediska dominantní složky kategorizovat na faunivorní (zvířata a hmyz), gumivorní (rostlinné exudáty), frugivorní (ovoce) nebo foliovorní (listy). Ve skutečnosti je však potravní ekologie primátů složitější a zahrnuje kombinaci výše uvedeného (Wolfensohn & Honess 2005). Jediným opravdovým faunivorním primátem je nártoun *Tarismus* spp. (Milton 1986), vysoké zastoupení živočišné složky v potravě lze pozorovat u některých poloopic, například zástupců čeledi Cheirogaleidae (Atsalis 1999), Lorisidae (Nekaris & Rasmussen 2003; Nekaris 2005), Galagidae (Kay & Sheine 1979) a Daubentoniidae (Sterling et al. 1994), vyšší podíl živočišné složky v potravě vyšších primátů (> 35 %) je spíše výjimka (Milton 1986). Milton (1986) uvádí, že zastoupení rostlinné a živočišné složky v potravě není závislé na velikosti druhu, kromě poloopic však mezi druhy s vysokým zastoupením hmyzu v potravě patří z vyšších primátů například kosmanovití Callitrichidae dosahující hmotnosti od 150 do 700 g (Garber 1992) a kotulové *Saimiri* spp. (Lima & Ferrari 2003).

U většiny druhů primátů pak činí více než 70 % roční potravy rostlinná složka, u některých druhů její relativní zastoupení může dosahovat až 99 % celkové potravy (Milton 1986). Folivoři konzumují zralé i mladé listy a výhonky, frugivoři dužinu plodů, slupku a semena, oba mohou konzumovat také květy a pupeny. Některé části rostliny nemusejí být stráveny a procházejí trávicím traktem v nezměněném stavu (Wolfensohn & Honess 2005).

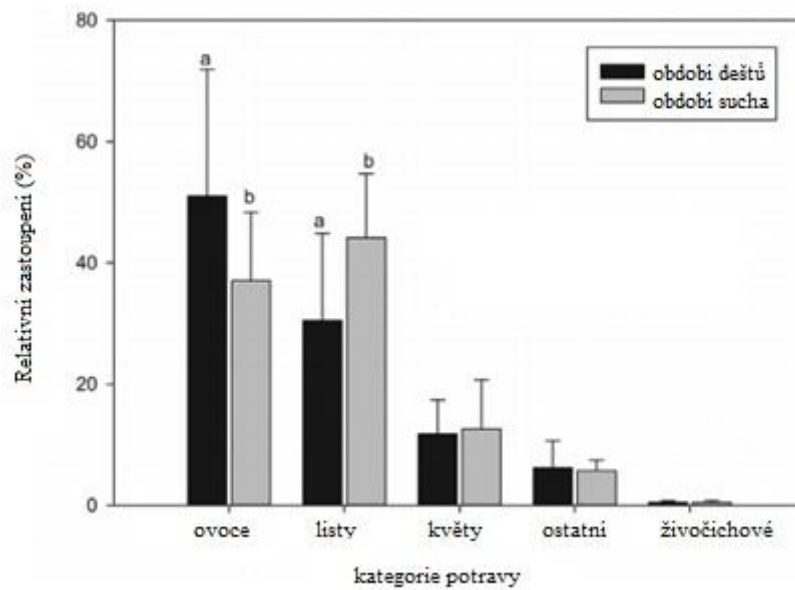
Rostlinný materiál je z většiny tvořen sacharidy, které tak činí až 40 % potravy primátů. Sacharidy můžeme rozdělit na monosacharidy (jednoduché cukry jako například glukóza), disacharidy (např. sacharóza), oligosacharidy, a polysacharidy (Wolfensohn & Honess 2005). Polysacharidy se dále dělí na nestrukturní (např. škrob, pektin) a strukturní, které mohou být popsány jako hrubá vláknina (CF) nebo acidodetergentní vláknina (ADF), skládající se zejména z celulózy a ligninu, nebo neutrálně detergentní vláknina (NDF) obsahující také hemicelulózu (Balthrop et al. 2011), viz Tabulka 3.

Tabulka 3: Definice složení potravy (převzato a upraveno dle Balthrop et al. 2011)

Weendenská analýza	Chemické složení		Van Soestova analýza			
Vlhkost	Voda					
Hrubý protein	Sušina	Organické látky	Bílkoviny	Neutrálné rozpustné látky		
			Nebílkovinné dusíkaté látky			
Hrubý tuk			Lipidy			
			Pigmenty			
Bezdušikáté látky výtahkové			Škroby			
			Cukry			
			Organické kyseliny			
			Pektiny			
Hrubá vláknina			Hemicelulóza		ADF	NDF
			Celulóza			
	Lignin					
	Dusík vázaný ve vláknině					
Hrubý popel	Anorganické látky	Ner rozpustné popeloviny	Křemičitany			
		Rozpustné popeloviny				

Potrava gibbonů ve volné přírodě se skládá z rostlinné a živočišné složky a je variabilní v rámci roku s ohledem na dostupnost jednotlivých komponent (Fan et al. 2009; Campbell et al. 2015; Bach et al. 2017). Studie v národním parku Cat Tien ve Vietnamu zaznamenala u gibbonů žlutolících celoročně procentuální převahu rostlinné složky v přijímané potravě (celkem 69 druhů rostlin) nad živočišnou (hmyzem a ptačími vejci), která tvořila ročně jen 0,5 % celkové přijaté potravy (Bach et al. 2017). U gibbonů černých *Nomascus concolor jingdongensis* (Ma & Y. Wang, 1986) byla zaznamenána kromě konzumace ptačích vajec, také predace ptačích mláďat a poletuch tmavoocasých *Petaurista philipensis* (Elliot, 1839), v jednom případě juvenil ulovil blíže neurčeného ještěra o celkové délce 15 cm (Fan & Jiang 2009).

Bach et al. (2017) uvádí, že nejčastější složkou potravy gibbonů žlutolících v národním parku Cat Tien bylo ovoce (43,3 %) a listy (38,4 %), méně květy (11,6 %) a další rostlinné části (pupeny, řapíky, výhonky a kořeny), 40,8 % ovoce tvořily fiky. Výrazná sezónní variabilita v typu přijímané potravy u gibbonů žlutolících souvisí s dostupností ovoce, která je vyšší v období dešťů (květen až říjen) než v období sucha (říjen až květen). Giboni konzumovali plody celkem 50 druhů rostlin. Mezi červnem a zářím (období dešťů) plodilo ve zvolených transektech v národním parku Cat Tien ve Vietnamu 42 z těchto 50 druhů rostlin, od začátku období sucha až do druhého měsíce období dešťů plodilo jen 8 těchto druhů. Zvýšený příjem ovoce v období dešťů, a naopak v období sucha vyšší konzumace listů jsou patrné z Grafu 1.



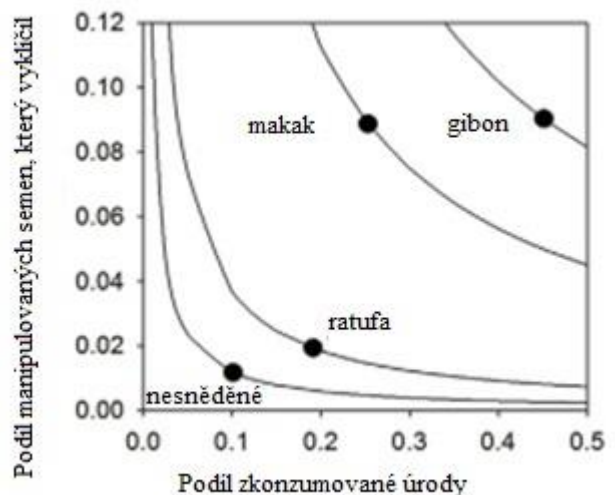
Graf 1: Relativní zastoupení jednotlivých komponentů v potravě gibbonů žlutolících v závislosti na střídání období dešťů a období sucha (převzato a upraveno dle Bach et al. 2017)

Ovoce tvořilo v červenci až 75,4 % potravy gibbonů žlutolících, v srpnu až 75,1 %. V tomto období byly dostupné zralé plody *Calamus flagellum*, *Ficus kurzii*, *Sphenodesma thorelli* (červenec), *Garcinia oliveri* a *Dracontomelon dao* (srpen) (Bach et al. 2017). Pro kompletní seznam gibony konzumovaných druhů v této studii, viz Příloha 1.

Dle Hai et al. (2018) giboni žlutolící upřednostňují v době dostupnosti plody stromu *Dracontomelon dao* (viz Obrázek 4), pro něž jsou zároveň nejefektivnějšími šířiteli semen, jak je patrné z Grafu 2.



Obrázek 4: Listy a plody stromu *Dracontomelon dao* (převzato a upraveno dle Hai et al. 2018)



Graf 2: Izokliny udávají efektivitu šíření semen stromu *Dracontomelon dao* různými druhy zvířat (převzato a upraveno dle Hai et al. 2018)

Při studii v národním parku Cat Tien zkonsumovali giboni žlutolící přibližně 45 % celkové úrody plodů, což bylo čtyřikrát více než makakové a semena roznesli na vzdálenost $179,3 \pm 98,0$ metrů. Semena, která prošla zaživačím traktem gibonů rychleji klíčila než semena přirozeně spadlého ovoce (Hai et al. 2018).

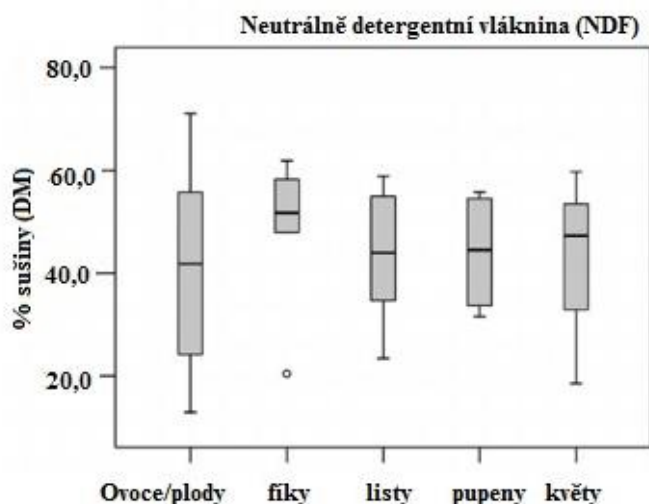
Giboni obecně preferují velké žluté plody s měkkou šťavnatou dužinou a tenkou slupkou, dostupné ve velkém množství (McConkey et al. 2002). Důležitost zastoupení druhu ovoce v potravě není vždy shodná s oblíbeností, neboť pokud není dostupný preferovaný druh, giboni i další primáti konzumují tzv. „fallback“ ovoce, tj. ovoce, které má relativně nízkou nutriční hodnotu a zvířata se mu zpravidla vyhýbají, ale vzhledem k jeho vysoké dostupnosti tvoří velkou část jejich potravy (Marshall et al. 2009; Clink et al. 2017).

Zejména menší druhy gibonů málokdy konzumují zralé ovoce. Semena jsou většinou polykána i vyloučena vcelku, pouze výjimečně jsou strávena, což vysvětluje efektivitu gibonů jako šířitelů semen (Chivers & Raemaekers 1986; Hai et al. 2018). Limit velikosti semen, které jsou giboni schopni spolknout vcelku je pravděpodobně 20 milimetrů (McConkey et al. 2002). Makakové *Macaca* sp. na rozdíl od gibonů část semen z ovoce vyplivnou, ratufy *Ratufa* sp. semena rozkousávají (Hai et al. 2018).

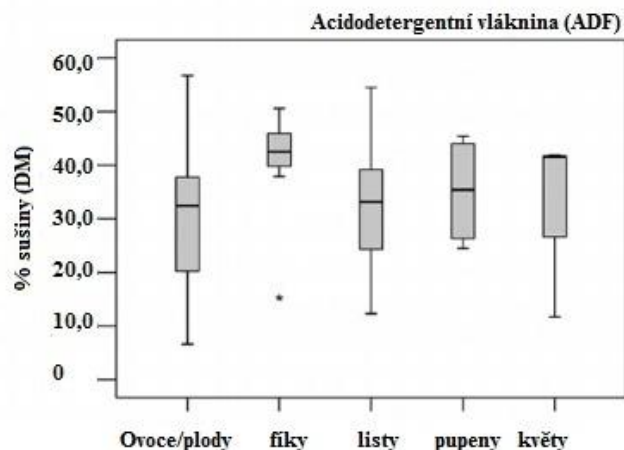
Vysoká konzumace květů gibony žlutolícími byla zaznamenána v lednu (24,5 %) a v únoru (35,1 %) a korespondovala s dostupností květů *Sphenodesma thorelli* a *Raphistemma pulchellum*. Listy byly konzumovány celoročně, nejvíce v únoru (52,4 %) a březnu (54,7 %), ostatní rostlinné části byly konzumovány na přechodu mezi obdobími dešťů a sucha, nejvíce v říjnu (13,6 %) (Bach et al. 2017).

Dle Chivers & Raemaekers (1986) giboni (zejména siamangové) dávají přednost mladým listům navzdory hojnosti zralých listů, což může být vysvětlováno vyšším zastoupením bílkovin, nižším obsahem vlákniny nebo sekundárních metabolitů v mladých listech, případně kombinací všech tří vlastností.

Z Grafů 3 a 4 je patrné, že ačkoliv jsou giboni považováni především za plodožravce, relativní zastoupení neutrálně detergentní vlákniny a acidodetergentní vlákniny v sušině je značně vysoké (průměr NDF pro ovoce > 40 % sušiny, ADF > 30 % sušiny) (Ma et al. 2016).



Graf 3: Relativní zastoupení NDF v sušině různých rostlinných částí konzumovaných gibony černochocholáťmi (převzato a upraveno dle Ma et al. 2017)



Graf 4: Relativní zastoupení ADF v sušině různých rostlinných částí konzumovaných gibony černochocholátými (převzato a upraveno dle Ma et al. 2017)

Seznam rostlinných druhů, které giboni černochocholátí konzumují, jejich částí a složení z hlediska procentuálního zastoupení ADF a NDF lze nalézt v Příloze 2 a 3.

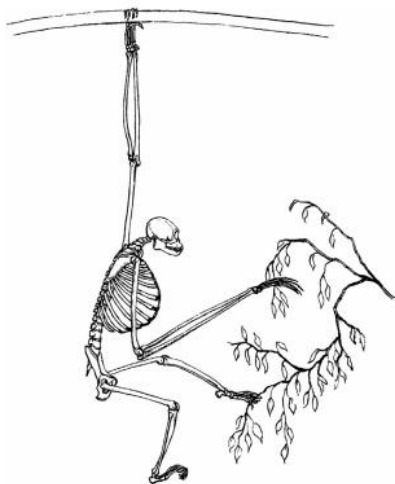
Coudrat & Cabana (2019) po dobu šesti dnů sledovali potravu, přijímanou gibony siki v Záchraném centru pro ohrožené primáty v národním parku Cuc Phuong ve Vietnamu, její živinové složení a stravitelnost. Zjistili, že pokud mají giboni možnost, vyberou si raději zeleninu než ovoce a dokážou fermentovat a strávit více vlákniny (ADF i NDF) než se dříve myslelo. Jejich potrava pak obsahovala průměrně 30,1 % NDF, ale jen 9 % ADF v sušině.

1.2.3 Potravní chování gibonů v přírodě

U volně žijících primátů tvoří potravní chování významné procento denních aktivit (Wolfensohn & Honess 2005). Bach et al. (2017) uvádí, že giboni žlutolící stráví příjmem potravy v průměru 45 % času, během roku se však tato hodnota mění. Doba strávená příjmem potravy je závislá na teplotě a srážkách – čím jsou teplota a srážky vyšší, tím méně času tráví giboni příjmem potravy. Bach et al. (2017) dále uvádí, že existuje negativní korelace mezi zastoupením ovoce v potravě a časem stráveným příjmem potravy, naopak pozitivní korelace mezi zastoupením listů v potravě a časem stráveným příjmem potravy.

Aktivita související s příjmem potravy byla při studii gibonů žlutolících v národním parku Cat Tien zaznamenána v časovém rozmezí 5:40 až 16:10, nejvyšší aktivita byla zaznamenána mezi sedmou a devátou hodinou ráno. Byla zjištěna závislost potravního chování gibonů na ročním období. V období dešťů se začínali giboni krmit relativně dříve, v období sucha s potravní aktivitou končili relativně později. V období dešťů vykazovala konzumace ovoce dva velké a jeden menší vrchol, a to ráno, v poledne a odpoledne, v období sucha převažovala u gibonů žlutolících konzumace ovoce ráno, v průběhu dne se zastoupení ovoce snižovalo a zvyšovala se konzumace květů dalších rostlinných částí. Listy, hmyz a ptačí vejce nevykazovaly v konzumaci žádný denní trend (Bach et al. 2017).

Giboni černochocholatí *Nomasucs nasutus* (Kunkel d’Herculais, 1884) v přírodní rezervaci Bangliang v Číně konzumují potravu nejčastěji (60,3 % ± 7,5 %) ve středním stromovém patře ve výšce šesti až deseti metrů. Nejčastější pozicí při krmení se je závěs (55,5 % ± 12,2 %) a to zejména pokud konzumují plody, sed (44,0 % ± 12,2 %), méně přijímají potravu vestoje, v podřepu nebo vleže, a to dohromady v 0,5 % ± 0,6 % případů (Fei et al. 2015). Poloha gibbonů při příjmu potravy je patrná z Obrázku 5 a 6.



Obrázek 5: Polohy siamanga při příjmu potravy (Fleagle 2013)



Obrázek 6: Poloha gibona (*Hylobates* sp.) při příjmu potravy v závěsu (Fleagle 2013)

U gibbonů lar *Hylobates lar* (Linnaeus, 1771) byla pozorována v čerstvých výkalech přítomnost celých nestrávených listů *Gironniera nervosa* z čeledi konopovité (Barelli & Huffman 2017). U afrických lidoopů bylo polykání celých listů s hrubým povrchem popsáno jako způsob zbavení se vnitřních parazitů (Huffman 2001). Ve výkalech gibbonů byly nalezeny hlístice *Streptopharagus pigmentatus*, avšak nikdy ne současně s listy (Barelli & Huffman 2017).

1.2.4 Potrava gibbonů v lidské péči

Pro sestavení adekvátní krmné dávky pro primáty chované v lidské péči je nutné zvážit, jakým způsobem daná zvířata shánějí a přijímají potravu, jakou stavbu má jejich trávicí trakt a jak funguje a jaké nové možnosti (a naopak omezení) přináší chov v lidské péči (Wolfensohn & Honess 2005). V rámci Evropské asociace zoologických zahrad a akvárií (EAZA) ani Asociace zoologických zahrad a akvárií (AZA) dosud neexistují pokyny pro chov (tzv. Best Practice guidelines, resp. Animal Care Manuals pro AZA) pro rod *Nomascus* spp., kde by bylo možné nalézt doporučení k sestavení krmné dávky. Dle australského Husbandry Manual pro gibony stříbrné *Hylobates moloch* je doporučována krmná dávka složená z ovoce, zeleniny, okusu, vařeného kuřete, sýru, vajec a granulí pro primáty. Doporučováno je podávat krmnou dávku alespoň ve dvou denních dávkách – ráno (zejména ovoce) a odpoledne (zejména zelenina) a obohatit chov o behaviorální enrichment, například poskytnutí ledových bloků se zamraženým ovocem nebo rozptýlení semen, ořechů a granulí po expozici. Dalším typem

enrichmentu mohou být lepenkové krabice naplněné slámou, v nichž jsou ukrytá semena, a nízkokalorický džem rozmazaný na určitých místech v expozici (Cocks 2008).

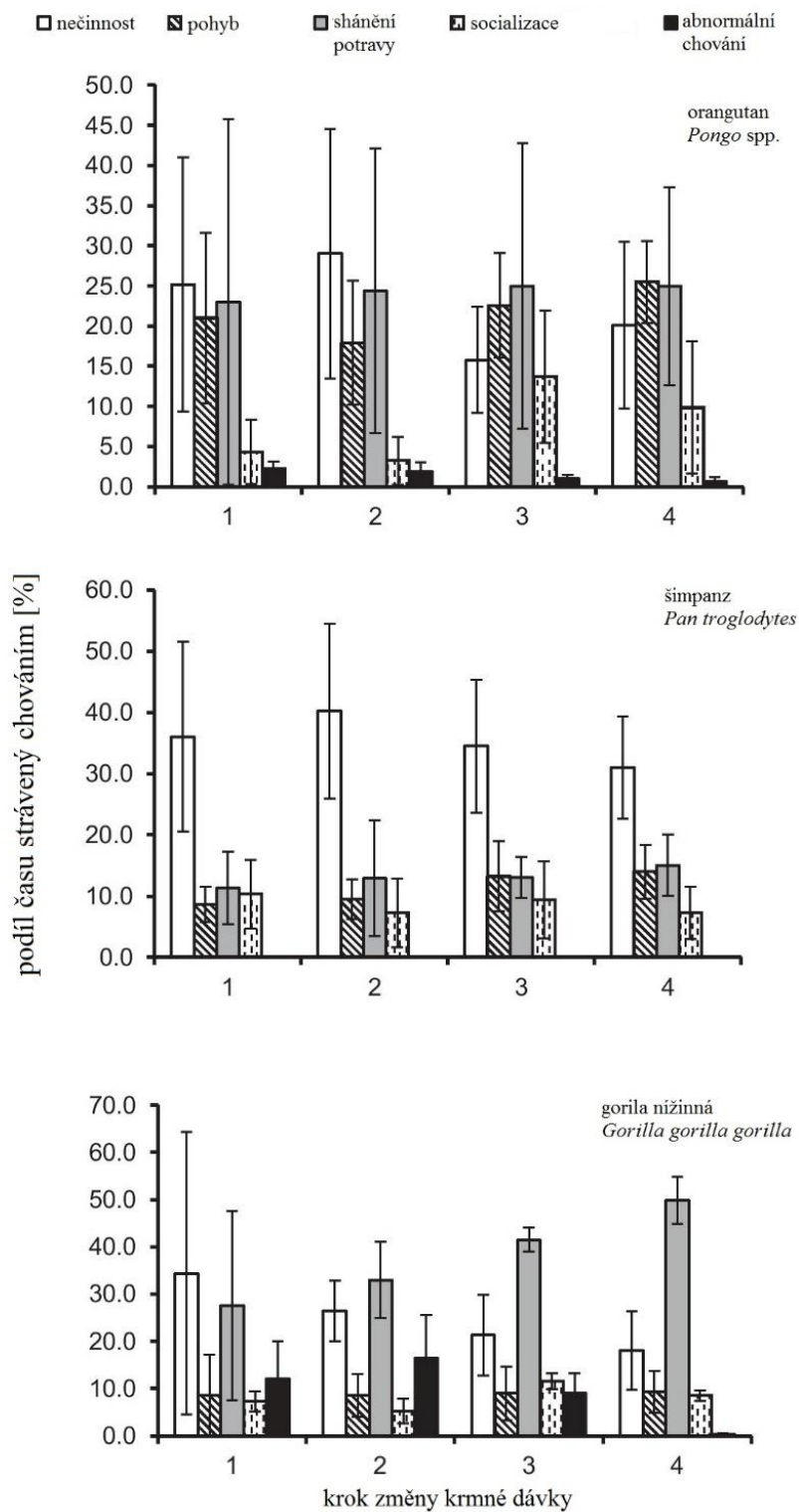
Miller (2010) v Husbandry Manual pro gibony lar *Hylobates lar* upozorňuje, že je důležité pokrýt požadavky na živiny pro všechny členy skupiny včetně kojících samic a mláďat. Zároveň má být předkládáno krmení tak, aby prodloužilo dobu shánění potravy a krmení se. Chivers & Raemaekers (1986) však upozorňují, že i při přesném sledování podávaného množství potravy i živinového složení není možné zajistit, že každý jedinec ze skupiny zkonsumuje jemu určený podíl.

V příloze zmíněného Husbandry Manual je uvedena krmná dávka na jedince, používaná v Zoo Perth, která zahrnuje kromě doporučených komponent vařené jehněčí srdce a moučné červy a specifikuje typ používaných granulí na granule pro listožravce a pro granule všežravé primáty. Poměr ovoce a zeleniny v krmné dávce činí 1:1, celkem 300 gramů ovoce (s výjimkou citrusů) je podáváno ráno spolu s 40 gramy granulí pro listožravce. Odpolední krmná dávka je tvořena 300 gramy zeleniny (pestrá směs syrové zeleniny s výjimkou řepy, zejména zelená listová zelenina, brokolice, paprika) spolu s masem a vejci nebo sýrem (Cocks 2008).

Cocks (2008) varuje před zkrmováním citrusů, hroznového vína, ananasu, rajčat a dalšího vysoce kyselého ovoce, které může způsobovat průjem nebo otoky očí (Mootnick et al. 1987).

V českém jazyce dostupné doporučení Ústřední komise pro ochranu zvířat udává v požadavcích na výživu gibbonovitých: „Minimálně dvakrát denně pestrá ovocná a zeleninová strava, dostatek živočišné bílkoviny.“ Více nespecifikuje množství KD, jednotlivé komponenty, živinové údaje nebo techniku krmení (Holečková & Dousek 2006). Chivers & Raemaekers (1986) uvádějí, že volně žijící giboni lar *Hylobates lar* a giboni tmavoručí *Hylobates agilis* zkonsumují denně cca 800 gramů potravy. Wolfensohn & Honess (2005) upozorňují, že pouhá hmotnostní kontrola předkládané potravy, ač odpovídající objemovým požadavkům na krmení, není dostatečná, neboť je třeba kontrolovat, kolik z předložené krmné dávky zvíře skutečně zkonsumuje, jakou část si vybírá a jaké je živinové složení této části. Například ovoce obsahuje velké procento vody, a proto je nutné znát obsah sušiny a metabolizovatelné energie.

Dle Cabany (2018) lze složením krmné dávky v lidské péči ovlivnit nejen zdravotní stav zvířete, ale také chování. Krmná dávka s nízkým obsahem cukrů a vysokým obsahem vlákniny může u velkých lidoopů snížit výskyt regurgitace a koprofágie, a naopak zvýšit dobu strávenou přirozeným chováním – hledáním a sběrem potravy a sociálními interakcemi s ostatními členy skupiny (viz Graf 5).



Graf 5: Vliv složení potravy (snížení WSC a zvýšení NDF v krocích 1-4) na podíl denních aktivit [%] strávený daným typem chování u lidoopů (převzato a upraveno dle Cabana et al. 2018)

Vliv změny krmné dávky se snížením obsahu jednoduchých cukrů a škrobů (WSC) a zvýšením neutrálně rozpustné vlákniny (NDF) byl studován u patnácti orangutanů bornejských, osmi orangutanů sumaterských, tří kříženců orangutanů sumaterských a orangutanů bornejských a dvanácti šimpanzů učenlivých v singapurské zoo a u čtyř goril nížinných západních v Longleat Safari and Adventure Park ve Velké Británii. Obsah WSC v krmné dávce byl snížen z 59,0–64,3 % na 47,5–47,7 % sušiny a obsah NDF zvýšen z 11,5–14,4 % na 15,7–22,9 % sušiny. Postupná změna krmné dávky probíhala ve čtyřech krocích, každý krok trval dva týdny (Cabana et al. 2018).

1.3 Mikrobiota

Mikrobiota, někdy známá pod dříve používaným, avšak zavádějícím označením flóra či mikroflóra (Simon & Gorbach 1984; Guarner & Malagelada 2003; Sears 2005; Liang et al. 2018), je společenstvo mikroorganismů zahrnující bakterie, viry, mikroskopické houby a jednobuněčné eukaryotické organismy, osazující specifické prostředí na povrchu nebo uvnitř těla člověka, zvířat i hmyzu (Donaldson et al. 2016). Celkový genom mikrobioty označujeme jako mikrobiom (Hooper & Gordon 2001).

U lidí bylo zdokumentováno, že osazování hostitelského organismu mikroorganismy začíná porodem a v raných fázích vývoje není mikrobiota u novorozenců rozlišena dle oblasti na/v těle. Podobá se mikrobiotě matek, a to v závislosti na způsobu porodu. U dětí, které přišly na svět vaginálním porodem, je složení jejich mikrobioty podobné vaginální mikrobiotě matek, dominantními jsou druhy bakterií rodu *Lactobacillus*, *Prevotella* a *Sneathia*. Mikrobiota dětí, které byly na svět přivedeny císařským řezem, se podobá mikrobiotě matčiny kůže, dominantními jsou druhy bakterií rodu *Staphylococcus*, *Corynebacterium* a *Propionibacterium* (Dominguez-Bello et al. 2010).

1.3.1 Funkce střevní mikrobioty

Úlohou střevní mikrobioty je zejména degradace strukturálních polysacharidů, které hostitelský organismus není schopen sám dosáhnout vzhledem k absenci potřebných enzymů. Býložravá zvířata jsou proto závislá na symbiontech v trávicím traktu, kteří jsou díky mikrobiální fermentaci schopni tyto živiny zpřístupnit. Hostitelé tak získávají až 70 % energetického příjmu (Flint et al. 2008; Flint et al. 2014). U lidí anaerobní mikrobiální fermentace v tlustém střevě pokrývá asi 5–10 % energetických požadavků (McNeil 1984).

K mikrobiální fermentaci a vzniku mastných kyselin s krátkým řetězcem SCFAs (short-chain fatty acids), které je hostitelský organismus schopen vstřebat, dochází v předžaludku u tzv. foregut fermentorů a ve zvětšeném slepém a/nebo tlustém střevě u hindgut fermentorů (Chivers & Hladik 1980; Flint et al. 2008). Díky pomalému posunu tráveniny tam nastávají anaerobní podmínky vhodné pro aktivitu symbiotických střevních mikroorganismů podílejících se na degradaci rostlinného materiálu (Flint et al. 2008).

Další funkcí střevní mikrobioty je ochrana hostitelského organismu před patogeny, podílí se na detoxikaci a metabolismu vitamínů. U lidí se nově ukazuje spojitost střevní mikrobioty s nervovým systémem a její vliv na změny nálad (Rea et al. 2016; Frühauf 2017). Klinické i experimentální studie ukazují, že složení střevní mikrobioty má vliv nejen na enterický nervový

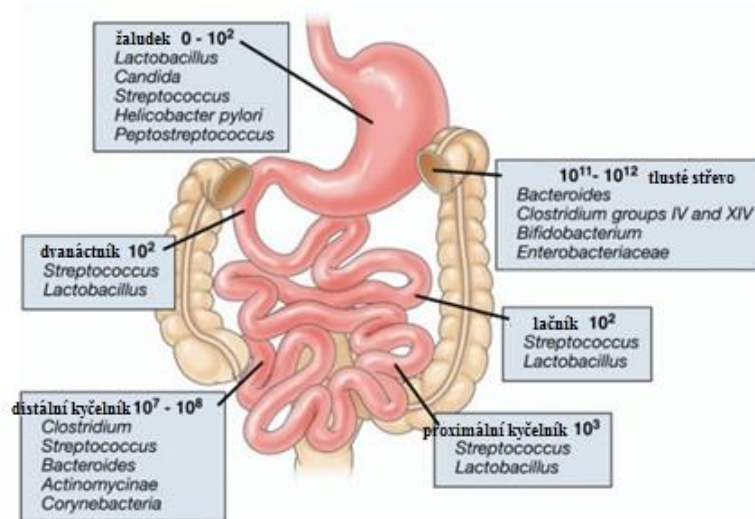
system, ale ovlivňuje endokrinně a metabolicky také centrální nervový systém (CNS) pomocí obousměrné komunikační osy střevo-mozek (gut-brain axis) (Carabotti et al. 2015) a v postnatálním vývoji je důležitá pro správný vývoj hypotalamo-hypofyzárně-adrenokortikální osy (Sudo et al. 2004). Bylo prokázáno, že stres ovlivňuje složení střevní mikrobioty a složení střevní mikrobioty ovlivňuje reakce na stresor (Foster & McVey Neufeld 2013). Germ-free myši (bez přítomnosti mikrobioty) vykazovaly při vlivu stresoru přehnanou stresovou odpověď s výrazně vyšší koncentrací ACTH a kortikosteronu v plazmě než SPF a gnotobiotické myši (Sudo et al. 2004). Bailey & Coe (1999) potvrdili, že u makaků rhesus *Macaca mulatta* (Zimmermann, 1780) ovlivňuje stres z oddělení mláděte od matky složení střevní mikrobioty a snižuje její početnost. Zjistili také, že mláďata, která vykazovala zjevné známky stresu, byla náchylnější k bakteriální infekci. Diverzita a komplexnost střevní mikrobioty tak může být určujícím faktorem pro odolnost vůči stresu, může ovlivňovat reakce na úzkost a strach, snížit tzv. behavioural despair – chování pozorované u zvířat, která v bezvýchodné situaci přestávají bojovat o přežití (Kaur Multani et al. 2014) – a neschopnost prožívat kladné emoce (Jia et al. 2018).

1.3.2 Složení střevní mikrobioty

Střevní mikrobiota dospělého člověka čítá asi 500–1000 druhů mikroorganismů (Moore & Holdeman 1975; Hooper & Gordon 2001). Celkem se jedná až 100 bilionů (10^{14}) mikroorganismů (Ley et al. 2006), z nichž nejvíce se jich nachází v tlustém střevu v hustotě cca 320 miliard na gram střevního obsahu (Whitman et al. 1998; Ley et al. 2006). Moore & Holdeman (1975) uvádějí, že v lidských výkalech se vyskytuje přibližně 400 miliard mikroorganismů na gram sušiny. Střevní mikrobiom člověka je více než 150x větší než lidský genom (Qin et al. 2010)

Nejvíce zastoupenými bakteriálními kmeny střevní mikrobioty člověka jsou kmeny Bacteroidetes a Firmicutes, nejvíce zastoupenými druhy pak druhy rodu *Bacteriodes*, *Prevotella* a *Ruminococcus* (Liang et al. 2018).

Existuje rozdíl mezi mikrobiotou tenkého a tlustého střeva (Sartor 2008; Donaldson et al. 2016). Tenké střevo je více zásobováno kyslíkem, má nižší pH a obsahuje více antimikrobiálních látek. V mikrobiotě tenkého střeva proto převažují rychle rostoucí fakultativní anaerobové, kteří tolerují kombinovaný účinek žlučových kyselin a antimikrobiálních látek. Dominují zde čeledi Lactobacillaceae a Enterobacteriaceae. V tlustém střevě je nižší zásobenost kyslíkem, méně antimikrobiálních látek a trávenina prochází pomaleji než v tenkém střevě. Vyskytují se zde anaerobní bakterie, zejména Bacteroidaceae a Clostridia, umožňující fermentaci polysacharidů (Donaldson et al. 2016). Zastoupení druhů bakterií v jednotlivých úsecích trávicí soustavy člověka znázorňuje Obrázek 7.



Obrázek 7: Složení a koncentrace mikrobioty v jednotlivých úsecích trávicího traktu člověka (převzato a upraveno dle Sartor 2008)

Rozdíl ve složení střevní mikrobioty můžeme pozorovat také mezi pohlavími. Ženy mají ve střevní mikrobiotě relativně nižší zastoupení kmene Bacteroidetes než muži a jejich střevní mikrobiotu výrazně ovlivňuje index tělesné hmotnosti (BMI). U mužů vztah mezi složením mikrobioty a BMI není tak silný (Dominianni et al. 2015).

1.3.3 Střevní mikrobiota gibbonů a způsoby její modulace

Střevní mikrobiota primátů chovaných v lidské péči je ovlivněna podmínkami chovu – geograficky, krmnou dávkou, onemocněními, veterinární medicínou, zoohygienu a stresem (Clayton et al. 2016).

Nedávná studie mikrobioty gibbonů bělolících *Nomascus leucogenys* potvrdila zjištění Claytona et al. (2016), že primáti chovaní v lidské péči mají podobné složení střevní mikrobioty jako lidé. Ve studii bylo zjištěno celkem 30 kmenů bakterií, z toho nejvíce zastoupeny byly kmeny Firmicutes, Bacteroidetes a Proteobacteria (Jia et al. 2018).

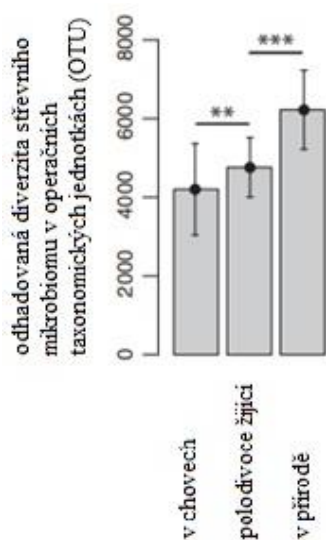
Asi 70 % sekvencí mikrobiomu bylo zařazeno do čeledí, nejčastěji zastoupeny byly čeledě Succinivibrionaceae (kmen Proteobacteria), Ruminococcaceae a Lachnospiraceae (kmen Firmicutes) a Prevotellaceae (kmen Bacteroidetes). S přesností na rod bylo určeno 50 % sekvencí a nejčastějšími rody byly *Succinivibrio* (Proteobacteria), *Prevotella* a *Bacteroides* (Bacteroidetes) a *Ruminococcus*, *Lactobacillus*, *Faecalibacterium* (Firmicutes) (Jia et al. 2018).

Složení potravy je hlavním faktorem ovlivňujícím střevní mikrobiotu (Scott et al. 2013; Jullian & Grimm 2017). Mnoho bakterií z kmene Bacteroidetes, který byl ve střevní mikrobiotě gibbonů identifikován, štěpí škroby a bílkoviny, které jsou v krmných dávkách gibbonů chovaných v lidské péči zastoupeny ve velkém množství (Jia et al. 2018). Klíčovým prvkem pro zachování zdraví je ale konzumace potravy s vysokým obsahem vlákniny, která může fermentovat v tlustém střevě, a omezené množství bílkovin a tuků (Scott et al. 2013). U zvířat, která tráví vlákninu mikrobiální fermentací ve střevě, tzv. hindgut fermenters,

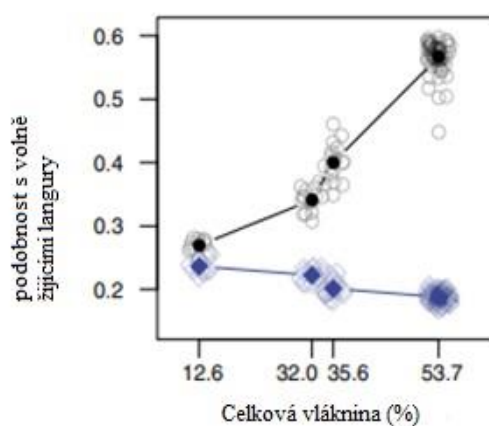
poskytují nestravitelné polysacharidy buněčných stěn rostlin substrát pro růst fibrolytických bakterií, jejichž konečný produkt metabolismu – zejména těkavé mastné kyseliny (VFA) – jsou pro hostitele cenným zdrojem energie (Jullian & Grimm 2017). Výzkum na převážně listožravých opicích – langurech duk *Pygathrix nemaeus* (Linnaeus, 1771) – zjistil nižší diverzitu střevní mikrobioty u zvířat v chovech než u volně žijících jedinců (Clayton et al. 2016), jak je patrné z Grafu 6.

Čím byl v krmné dávce chovaných zvířat nižší obsah vlákniny, tím více se lišilo složení jejich střevní mikrobioty od volně žijících zvířat a zároveň se více podobalo lidské střevní mikrobiotě (viz Graf 7). Výzkum ukázal, že zvířata v chovech ztrácejí významnou část diverzity pro druh typické střevní mikrobioty, a naopak jejich trávicí trakt osazují rody bakterií typické pro lidskou střevní mikrobiotu – rody *Bacteriodes* a *Prevotella* (Clayton et al. 2016).

V průběhu studie uhynulo pět langurů v souvislosti s gastrointestinálními onemocněními. Ukázalo se, že střevní mikrobiota uhynulých jedinců se lišila od mikrobioty volně žijících zvířat více, než tomu bylo u přeživších zvířat z chovů. Statisticky však tato souvislost nebyla průkazná (Clayton et al. 2016).



Graf 6: Diverzita střevního mikrobiomu langurů duk (převzato a upraveno dle Clayton et al. 2016)



Graf 7: Vztah mezi zastoupením vlákniny v potravě langurů duk v chovech a podobností střevního mikrobiomu s volně žijícími vs. modrá barva udává podobnost střevního mikrobiomu langurů duk v chovech s lidmi (převzato a upraveno dle Clayton et al. 2016)

Střevní mikrobiotu je možné ovlivnit také zařazením prebiotik a probiotik do krmné dávky. Prebiotika jsou molekuly stimulující a vyživující růst specifické mutualistické nebo komenzální střevní bakteriální kultury. Často jsou specifické pro určitou skupinu bakterií na základě jejich specifických metabolických požadavků (Donaldson et al. 2016). Jejich přidání do KD stimuluje produkci mastných kyselin s krátkým řetězcem (SCFA), snižuje pH a tím bojuje proti patogenům (Scott et al. 2013). Probiotika jsou živé organismy, které, pokud jsou podávány v potravě v adekvátním množství, přispívají ke zlepšení zdravotního stavu hostitelů (Sanders 2008), zmírňují například narušení mikrobioty při užívání antibiotik (Scott et al. 2013). Jia et al. (2018) uvádí, že jejich studie odhalila relativně nižší množství rodu *Bifidobacterium* spp. ve střevní mikrobiotě dospělých gibbonů než u kojených mláďat a juvenilů, z čehož usuzují, že u

dospělých gibbonů je těchto bakterií nedostatek. Druhy rodu *Bifidobacterium* jsou považovány za jedny z nejdůležitějších probiotik, které ovlivňuje činnost imunitního systému a zajišťují množství dalších fyziologických funkcí. Jejich nízké zastoupení tak u starších jedinců může vést k metabolickým a dalším zdravotním poruchám. Úprava krmné dávky a přidání těchto probiotik do KD gibbonů by mělo být dále zkoumáno s ohledem na možné zvýšení imunity a odolnost vůči nemocem. Scott et al. (2013) však uvádí, že jako probiotika často využívané druhy rodu *Bifidobacterium* a *Lactobacillus* tvoří pouze malou část střevní mikrobioty lidí a mohou existovat další mikroorganismy vhodné pro toto využití.

1.3.4 Dysbióza, průjem a zánětlivé střevní onemocnění primátů

Pokud je narušen rovnovážný stav mikrobioty, nastává dysbióza. Příčinou může být užívání antibiotik, zvýšený stres nebo nesprávná výživa – nadbytek tuků, cukrů a bílkovin a nedostatek vlákniny. V důsledku dysbiózy dochází k rozvoji metabolických poruch, obezity, autoimunitních chorob a zánětlivých onemocnění. Byla prokázána souvislost s výskytem Crohnovy nemoci, ulcerózní kolitidy, kolorektálního karcinomu a řady dalších onemocnění (Clayton et al. 2016).

Dysbióza nastává také tehdy, pokud dojde k infekci patogenními organismy a jejich pomnožení. DePaoli & Johnsen (2016) uvádějí, že giboni jsou silně vnímaví k infekci hádětem střevním *Strongyloides stercoralis* a následná strongyloidóza pro ně může být fatální. Gillespie et al. (2013) zaznamenali u gibbonů lar *Hylobates lar* další parazitické hlístice, které mohou způsobit úhyn zvíře (*Ternidens* sp., *Trychostrongylus* sp., *Necator* sp., *Strongyloides fulleborni*).

U gibbonů jako lidoopů znamená infekce patogenními organismy riziko potenciální zoonózy. Jedná se o infekce způsobené nejen hlísticemi, ale také bakteriemi (*Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Mycobacterium* spp.) a prvoky (*Giardia intestinalis*, *Balantidium coli*, *Entamoeba histolytica*), vyšetření výkalů by se proto mělo provádět alespoň dvakrát ročně u všech primátů (Cocks 2008).

1.4 Stres a stresové hormony

1.4.1 Stres

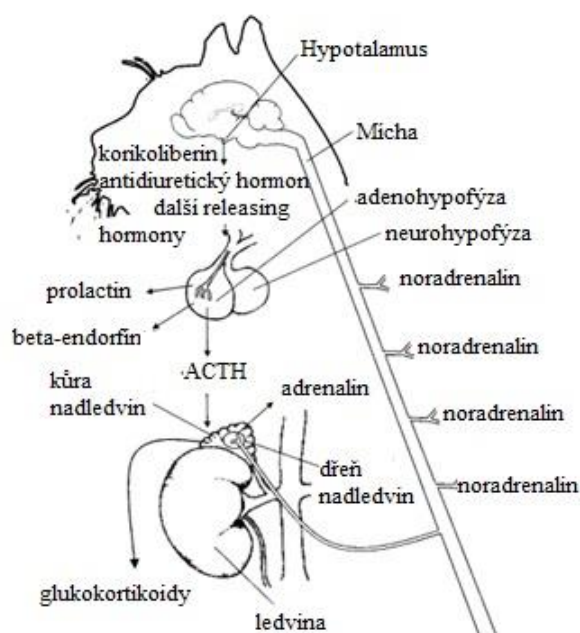
Termín stres je velmi často používané označení pro něco, co je obecně považováno za nežádoucí, přestože samotná definice stresu je problematická a v literatuře často nepřesná. Jako stres tak bývá označován děj i stav, ke kterému tento děj vede (Reeder & Kramer 2005; Ranabir & Reetu 2011). Moderní definice označuje stres jako narušení stálého vnitřního prostředí organismu, tzv. homeostázy. Jakákoliv událost nebo síla (fyzická, psychologická nebo obojí), která stres způsobuje, je označována jako stresor (Reeder & Kramer 2005).

1.4.2 Stresová odpověď

Stresor vyvolává stresovou odpověď, což jsou fyziologické, hormonální a behaviorální změny, které umožňují zvířeti se stresorem vyrovnat (Romero 2004). Při zahájení stresové odpovědi uvolňuje sympatický nervový systém noradrenalin z míšních nervů a adrenalin z kůry

nadledvin. Uvolnění těchto hormonů do krve je velmi rychlé, trvá maximálně v řádu sekund a stejně rychle následují jejich účinky na organismus, tj. zrychlení srdeční činnosti, vazodilatace arteriol kosterní svaloviny, generalizovaná vazokonstrikce, relaxace svaloviny průdušek, rozšíření zornic, piloerekce a mobilizace jaterního glykogenu a volných mastných kyselin (Reeder & Kramer 2005; Wingfield & Romero 2011). Sympatikus působí antagonisticky na parasympatikus, a tak stresová odpověď inhibuje uvolňování gonadotropinu (GnRH), luteinizačního hormonu (LH), folikulo stimulujícího hormonu (FSH) a pohlavních hormonů (Sapolsky 2002).

Ve stejný čas začíná stresová odpověď hypotalamo-hypofyzárně-adrenokortikální osy vyplavením kortikoliberinu (CRH), arginin-vazopresinu a dalších releasing hormonů z paraventriculárního jádra hypotalamu. Ty putují do adenohipofýzy, kde spouštějí uvolňování adrenokortikotropního hormonu (ACTH) a β -endorfinu do krve. Z adenohipofýzy je uvolňován také prolaktin. ACTH putuje do kůry nadledvin, kde způsobuje uvolňování glukokortikoidů – kortizolu, kortikosteronu, nebo jejich kombinace (Reeder & Kramer 2005). Schéma účinku jednotlivých hormonů je znázorněno na Obrázku 8.



Obrázek 8: Schéma vyplavování hormonů při stresové odpovědi (převzato a upraveno dle Reeder & Kramer 2005)

Smyslem stresové odpovědi je získání energie dostupné pro okamžité využití, tj. zvýšení koncentrace glukózy v krvi, která je spolu s kyslíkem díky zvýšené tepové a dechové frekvenci rychle distribuována po těle. Voda je udržována v oběhovém systému a mění se krevní zásobení jednotlivých částí těla. Reprodukční funkce jsou omezeny, zánětlivé procesy a vnímání bolesti je potlačeno (Sapolsky 2002).

Akutní nebo časově omezený průběh stresové odpovědi s jejími katabolickými a imunosupresivními účinky je pro organismus přínosný a nepřináší s sebou negativní důsledky, zvýšená a prodloužená doba uvolňování kortikoliberinu však může způsobovat nespecifické

obtíže jako deprese, ztrátu hmotnosti, žaludeční vředy nebo dlouhodobou imunosupresi (Chrousos & Gold 1992).

Ange-van Heugten et al. (2009) uvádí, že u chápanů *Ateles* spp. a *Lagothrix* spp. lze předpokládat vyšší náchylnost k stresu, pokud jejich KD obsahuje vysoké množství ovoce (nutričně: sacharidů, celkových cukrů a glukózy) a nízké množství kompletního krmiva pro primáty (granulí). Edes et al. (2016) uvádí, že stres přispívá u primátů chovaných v zoologických zahradách k rozvoji chronických onemocnění.

1.4.3 Glukokortikoidy

Glukokortikoidy, tradičně označovány jako stresové hormony, jsou steroidní hormony produkované kůrou nadledvin (zejména v zona fasciculata), které v organismu stimulují glukoneogenezi, tj. syntézu glukózy z necukerných zbytků a snižují vnímavost k inzulínu. Mezi další funkce patří regulace štěpení bílkovin v těle, mobilizace mastných kyselin v tukové tkáni a stimulace lipolýzy za účelem získání energie (Holst et al. 2004; Reeder & Kramer 2005). Mimo účinků podporujících stresovou odpověď a napomáhajících organismu vyrovnat se se stresem zajišťují také negativní zpětnou vazbu a bojují proti zánětu (Munck et al. 1984). Mimo buňku je většina glukokortikoidů vázaná na transportní bílkovinu transkortin, jen asi 5–10 % je volná a biologicky aktivní (Sheriff et al. 2011).

Uvolňování glukokortikoidů podléhá cirkadiánnímu rytmu řízenému suprachiasmatickým jádrem v hypotalamu. To slouží jako centrální hodiny, jejichž hlavní funkcí je řídit chod fyziologických, hormonálních a behaviorálních procesů tak, aby byl organismus co nejlépe přizpůsoben a připraven na měnící se podmínky dne a noci a časově omezenému období příjmu potravy (Nader et al. 2010; Kalsbeek et al. 2016).

Hlavním glukokortikoidem u lidí je kortizol, kterého organismus vyprodukuje asi 15 mg denně. Poločas rozpadu kortizolu je 70–120 minut (Pofi & Tomlinson 2019). Dalším významným glukokortikoidem je kortikosteron, který v plazmě cirkuluje ve nižších koncentracích a tvoří jen asi 7 % aktivních glukokortikoidů, v mozkomíšním moku naopak dominuje a tvoří 40 % aktivních glukokortikoidů (Raubenheimer et al. 2006). Poločas rozpadu kortikosteronu v plazmě u dětí je 40 ± 2 minuty (Huges et al. 1964). Studie u lidských pacientů s depresí potvrdila zvýšené koncentrace kortizolu i kortikosteronu v plazmě oproti kontrolní skupině, ne však změnu poměru mezi těmito dvěma hormony (Seckl et al. 1990). Mezi primáty lze pozorovat výrazné mezidruhové rozdíly v nárůstu koncentrace jednotlivých glukokortikoidů ve výkalech v odpovědi na psychologický stresor. U makaků magot to je například pro kortikosteron až 11,7x nárůst oproti výchozí koncentraci (Heistermann et al. 2006).

Studie stále více využívají vyplavení glukokortikoidů jako ukazatel míry stresové odpovědi (Romero 2004). Jimeno et al. (2018) však uvádí u zebřiček pestrých *Taeniopygia guttata* (Vieillot, 1817) souvislost mezi změnami koncentrace kortikosteronu a současným a předpokládaným metabolickým výdejem nezávisle na psychologickém stresu. Popsáno bylo také výrazné zvýšení koncentrace kortizolu v plazmě během těhotenství (Jung et al. 2011).

1.5 Neinvazivní metody ke stanovení stresových hormonů

Stresové hormony jsou tradičně analyzovány ze vzorku krevního séra nebo krevní plazmy (Davenport et al. 2006). Protože stres způsobený samotným odchytem a odběrem vzorku pro zjištění koncentrace stresových hormonů v krvi zvířat může výslednou hodnotu koncentrace ovlivnit (Reeder & Kramer 2005; Davenport et al. 2006), je důležité zvážit jiné postupy, kdy je minimalizována či vynechána manipulace se zvířetem, tzv. neinvazivní metody sběru vzorků. Ty jsou založeny na předpokladu, že koncentraci hormonů je možné zjistit kromě vzorku krve také ze slin, moči, výkalů nebo chlupů zvířat (Heistermann 2010). Základem pro vývoj takových metod je znalost druhově specifického metabolismu a vylučování glukokortikoidů (Touma et al. 2003).

1.5.1 Analýza stresových hormonů ze vzorku slin

Vzorek slin pro analýzu může být získán z bavlněného provazu či gázy, které zvířata olizují, cucají nebo kousají. Výhodou této metody je, že vzorek může být získán zcela neinvazivně bez imobilizace zvířat a opakovaně v krátkém čase (Lutz et al. 2000), naopak nevýhodou v některých případech může být to, že koncentrace glukokortikoidů ve slinách je vysoce variabilní v průběhu dne a mění se v závislosti na příjmu potravy či neobvyklou situací krátce před odběrem vzorku (Davenport et al. 2006; Heistermann 2010). Tento způsob analýzy tak může být využit, pouze pokud chceme zjistit okamžitou změnu koncentrace hormonu (Kutsukake et al. 2009).

Z důvodu nutnosti kooperace zvířat, není jisté, že pokaždé získáme vzorek od všech jedinců (Tiefenbacher et al. 2003). Makakové rhesus *Macaca mulatta* při studii okusovali konce provazů, takže nebylo možné vzorek získat nebo ztratili o předmět zájem dříve, než byl získán dostatečný (0,4 ml) vzorek slin (Lutz et al. 2000). Chápani *Lagothrix* spp. a *Ateles* spp. znehodnotili vzorek tím, že gáza nebo provaz nasákly slinami více jedinců (Ange-van Heugten et al. 2009).

1.5.2 Analýza stresových hormonů ze vzorku chlupů

Pro zjištění dlouhodobější aktivity hypotalamo-hypofyzárně-adrenokortikotropní osy a monitorování chronického stresu lze využít k analýze stresových hormonů chlupy. Ty lze spolehlivě odebrat od daného zvířete a vypráním zajistit, že nejsou znečištěny slinami nebo potem, které by mohly výsledek ovlivnit. Zároveň ale při čištění mohou být z chlupu některé molekuly hormonů vymyty, a tak je využití této metody pro přesný odhad koncentrace stresových hormonů limitováno (Davenport et al. 2006).

V chovech v lidské péči lze získat vzorek anestezií a oholením části těla zvířat (Davenport et al. 2006), což vzhledem k manipulaci se zvířetem nelze označit za plně neinvazivní metodu (Heistermann 2010). Chlupy pro analýzu lze také sesbírat z hnízd či využít chlupové pasti (Koren et al. 2002).

1.5.3 Analýza stresových hormonů ze vzorku moči

Stanovení hormonů ze vzorků moči je tradiční metodou, využívanou zejména u samic primátů. Kromě steroidních hormonů moč obsahuje také proteohormony (například gonadotropiny), peptidové hormony a katecholaminy (Ziegler et al. 1993; Heistermann 2010).

Heistermann (2010) uvádí, že kortizol a testosteron vykazují v sekreci cirkadiánní rytmus, což potvrdil Muller et Lipson (2003) u samců šimpanzů učenlivých *Pan troglodytes* (Blumenbach, 1775). Proto je nutné vždy zvážit, kdy budeme sběr vzorků moči provádět. Ideální je první ranní moč, která má kumulativní charakter. Pokud není možné odebrat ranní moč, vzorky by se měly získávat alespoň přibližně ve stejnou dobu, aby se předešlo zkreslení cirkadiánním rytmem (Heistermann 2010).

Na poskytnutí vzorku moči do nádobek držných zaměstnanci zoo je možné zvíře trénovat (Deschner et al. 2008), případně jej lze odebrat z podlahy či zachytit při močení (Ziegler et al. 1993; Heistermann 2010).

1.5.4 Analýza stresových hormonů ze vzorku výkalů

Výhoda využití výkalů (namísto slin, moči nebo chlupů) za účelem hormonální analýzy spočívá v tom, že zvíře není třeba na odběr oddělovat, nelze však z nich stanovit proteohormony, peptidové hormony a katecholaminy, protože buď nejsou do výkalů vylučovány, nebo jsou silně degradované a současnými metodami nedekovatelné (Heistermann 2010). Také steroidní hormony jsou metabolizovány v játrech a žlučové se dostávají do střev, a nakonec do výkalů. Nejedná se tak v pravém smyslu o analýzu hormonů ve výkalech, ale o analýzu koncentrace jejich metabolitů (Palme 2005).

Pro analýzu obvykle stačí vzorek o hmotnosti jeden až tři gramy, avšak protože steroidní hormony se mohou vyskytovat ve vzorku nerovnoměrně, je vhodné před odběrem celý vzorek homogenizovat rozmícháním a ujistit se, že není kontaminován močí nebo vodou, které mohou analýzu hormonů ovlivnit (Wasser et al. 1988; Heistermann 2010). Odběr vzorků výkalů by měl probíhat vždy v podobnou dobu, i když denní trend díky delšímu průchodu trávicím traktem není tak výrazný jako u vzorků moči (Muller & Lipson 2003; Heistermann 2010), a měl by být krátce po odebrání zamrazen při -20 °C, neboť díky střevní mikrobiotě hormony podléhají rychlé degradaci (Wasser et al. 1988; Heistermann 2010). Wasser et al. (1988) však nepotvrdili rozdíl v koncentraci steroidních hormonů ve výkalech, pokud byly rozdíly v době zpracování vzorku pro další uchování do 40 minut.

Existuje trade-off mezi kvalitou usušení vzorku a citlivostí metabolitu k teplu. Sušení vzorků výkalů v troubě na 90 °C pak způsobuje pokles koncentrace glukokortikoidů, pro teploty 50 °C a 70 °C tento efekt nebyl pozorován (Gholib et al. 2018).

Vzhledem k průchodu hormonů trávicím traktem, ukazují výsledky analýzy kortikosteronu ve fekálních vzorcích zpoždění oproti skutečné koncentraci v plazmě. Toto zpoždění je různé mezi druhy, ale také jedinci. Je proto nutné znát dobu průchodu tráveniny trávicím traktem pro stavení správné metodiky experimentu (Palme 2005).

Materiál a metody

Tato práce je součástí grantu Mikrobiom primátů: vliv prostředí a složení potravy na zdravotní a reprodukční stav a výskyt bifidobakterií (CIGA20182018).

1.1 Zvířata a chovatelská zařízení

1.1.1 Zoologická zahrada Liberec

Zoologická zahrada Liberec chovala v době studie rodinu čtyř zvířat. Chovný pár tvořil samec Matěj (*1991 v Liberci) a samice Wen-Wen (*1993 v přírodě, †2020 v Liberci), skupinu doplňovala dvě mladá zvířata neurčeného pohlaví narozená v Liberci – Charlie (*2014) a 609019 (*2016). V průběhu studie byla samice Wen-Wen březí a 27. července 2019 porodila mládě Jondu, které bylo určeno jako samec, a následně ho kojila až do ukončení sledování. Samice Wen-Wen uhynula 28. ledna 2020 na obtíže nesouvisející s trávením (bronchopneumonie, zánět epikardu a endokardu), avšak byla u ní zjištěna masivní infekce hlístic *Trichuris* sp. (Bolechová pers. comm. 2020).

Chovná skupina měla k dispozici dvě spojené venkovní klece o výměře celkem 87,7 m² a vnitřní ubikaci o výměře 16,5 m². Na prostory gibbonů navazovala ubikace makaků lvích *Macaca silenus* (Linnaeus, 1758), ve stejném pavilonu byl dále chován chovný pár tamarinů pinčích *Saguinus oedipus* (Linnaeus, 1758), skupina kočkodanů Dianiných *Cercopithecus diana* (Linnaeus, 1758) a skupina šimpanzů *Pan troglodytes* (Blumenbach, 1775) (Bolechová pers. comm. 2019).

1.1.2 Zoologická zahrada Olomouc

Zoologická zahrada Olomouc chovala v době studie celkem pět gibbonů žlutolících ve dvou rodinách. První rodina byla tvořena chovným párem, skládajícím se ze samce Dana (*2003 v Jihlavě) a samice Milouš (*~2000 v přírodě ve Vietnamu, ručně odchovaná), druhá rodina byla tvořena druhým chovným párem, který tvořil samec Tony (*2002 v Jihlavě), samice Rony (*2003 v Olomouci) a jejich potomek – samice Ruby (*2014 v Olomouci) (Vokurková pers. comm. 2019).

Rozměr vnitřní ubikace je 3 x 5 x 4 m, venkovní prostor má rozměry 4 x 6 x 4 m. V blízkosti gibbonů jsou chováni další primáti, lidoopi siamangové *Symphalangus syndactylus* a giboni lar *Hylobates lar*, starosvětské opice kočkodani husarští *Erythrocebus patas* (Schreber, 1775), novosvětské opice kalimika *Callimico goeldii* (Thomas, 1904), lvíčci zlatí *Leontopithecus Rosalia* (Linnaeus, 1766), tamariní vousatí *Saguinus imperator* (Goeldi, 1907), kosmani běločelí *Callithrix geoffroyi* (É. Geoffroy in Humboldt, 1812), kosmani stříbřítí *Callithrix argentata* (Linnaeus, 1771) a kosmani zakrslí *Callithrix pygmaea* (Spix, 1823) a lemuři – lemuři černí *Eulemur macaco macaco* (Linnaeus, 1766), lemuři běločelí *Eulemur fulvus albifrons* (É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1796) a vari černobílí *Varecia variegata* (Kerr, 1792) (Vokurková pers. comm. 2019).

1.2 Výpočet složení krmné dávky

Nutriční složení potravy bylo hodnoceno pomocí sestavené databáze potravin a jejich živinového složení v programu Excel. Data pro sestavení excelovské tabulky byla čerpána z databáze Souci-Fachmann-Kraut ("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019), nebo z oficiálních materiálů výrobců granulí a dostupných publikací. Kompletní seznam použitých komponent a zdrojů informací viz Příloha 4–6. Pro účely této práce se stanovoval pouze obsah bílkovin, acidodetergentní vlákniny (ADF) a neutrálně detergentní vlákniny (NDF) v sušině. Údaje o složení týdenní krmné dávky chovné skupiny poskytly zúčastněné zoologické zahrady. Vypočítáno bylo složení KD den před odběrem vzorků pro analýzu kortikosteronu.

Zoologická zahrada Liberec poskytla týdenní přehled KD jedince určený pro chovatele udávající celkovou hmotnost a druhové složení pro každou kategorii potravin v krmné dávce, tj. zvláště pro ovoce, zvláště pro zeleninu, zvláště pro granule, případně další komponenty (luštěniny, vejce, maso). Pro výpočet byl tedy využit model počítající se stejným zastoupením každé komponenty (např. 33,33 % jablko, 33,33 % banán, 33,33 % pomeranč) v jednotlivé kategorii (~ 100 % ovoce).

Zoologická zahrada Olomouc poskytla přesné informace o hmotnosti každé komponenty v dané kategorii KD skupiny po dobu prvních osmi týdnů (360 g jablka, 140 g hrušky...). Po změně KD poskytla pouze druhové složení a hmotnost každé kategorie, tj. jako Liberec (jablka, hrušky, pomeranče, mango, broskve – celkem 300 gramů), viz Příloha 7-10. Ve druhém případě bylo tedy počítáno s celkovou hmotností kategorie, rozpočítanou ve stejném poměru pro jednotlivé prvky.

Protože ani jedna zoologická zahrada neposkytla informace o hmotnosti okusu, bylo počítáno jednotně se 100 g okusu/jedinec/den.

Výsledná data byla shromážděna v tabulce, viz Příloha 11 a 12, pro další statistickou analýzu.

1.3 Terénní část – sběr vzorků

U sledovaných rodin gibbonů rodu *Nomascus* byly kromě sběru dat o složení krmné dávky sbírány následující den vzorky výkalů. Sběr zajišťovali sami ošetřovatelé, kteří měli možnost zaznamenat ke každému odběru i případné nezvyklé situace, které se v chovu vyskytly (nemoc zvířete, veterinární zákrok, úprava expozice, změna počasí, neobvyklé chování zvířete nebo ošetřovatele a další). Homogenizované vzorky o minimální hmotnosti 1 g byly odebírány od rodičovských párů v rozsahu osmi týdnů při původní krmné dávce (dvakrát týdně jeden vzorek od každého jedince) v dopoledních hodinách. Vzorky pro analýzu byly uskladněny v uzavíratelném zipovém sáčku. Ošetřovatelé byli poučeni, aby výkaly do půl hodiny zamrazili při -20°C.

Před samotným pokusem bylo odebráno v průběhu dne (19. 3. 2019 v Liberci a 1. 3. 2019 v Olomouci) od každého jedince několik validačních vzorků pro ověření cirkadiálního rytmu v koncentraci kortikosteronu.

Sběr výkalů pro pokus započal 10. 5. 2019 v Zoologické zahradě Liberec a 27. 5. 2019 v Zoologické zahradě Olomouc. Po osmi týdnech byl sběr přerušen a v průběhu tří týdnů byla změněna krmná dávka s důrazem na zvýšení zastoupení neutrálně detergentní vlákniny (NDF).

Návrh úpravy krmné dávky byl proveden pod dohledem vedoucího práce a aplikován po souhlasu příslušné zoo. Sběr výkalů po úpravě krmné dávky probíhal ve stejné frekvenci dalších osm týdnů. V Zoo Liberec došlo k přerušení sběru mezi 22.8.2019 a 1.10.2019 z blíže nespecifikovaných chovatelských důvodů, dále pokračoval beze změny. Sběr vzorků byl ukončen 31.10.2019 v Zoologické zahradě Liberec a 23.9.2019 v Zoologické zahradě Olomouc.

Pro analýzu bylo vybráno 65 vzorků, tj. v průměru jeden vzorek/jedinec/týden.

1.4 Analýza kortikosteronu

1.4.1 Extrakce vzorků k ELISA analýze

Ke stanovení koncentrace metabolitů glukokortikoidních hormonů ve výkalech se používá enzymový imunologický test ELISA (Möstl et al. 2005). Pro účely této práce byla koncentrace kortikosteronu stanovena po usušení vzorků pomocí DetectX[®] Corticosterone Enzyme Immunoassay Kit od Arbor Assays.

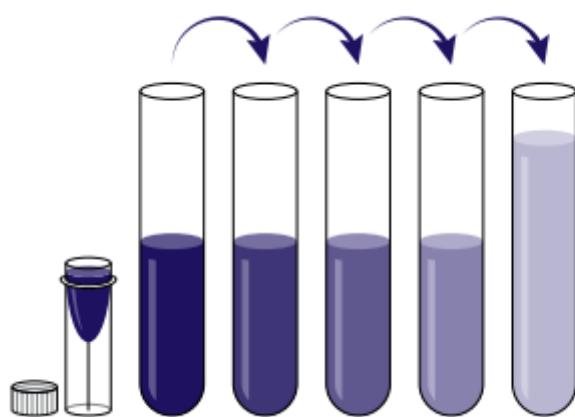
Před vlastní analýzou je doporučeno organický materiál určený k extrakci steroidních hormonů zbavit přebytečné vodní báze a k analýze využít jen pevnou část. Vzorky výkalů byly usušeny v sušárně Binder při teplotě 70 °C, následně bylo z každého suchého vzorku odváženo 0,2 g do zkumavky. Pomocí pipety byly vzorky zafixovány dvěma mililitry 86 % ethanolu a důkladně protřepány po dobu třiceti minut na třepače Mini Rocking Platform od Biometra, vortexovány na třepače IKA MS 1 a centrifugovány 15 minut při 7000 otáčkách za minutu a teplotě 4 °C na centrifuze Hermle. Supernatant byl odpipetován do čisté mikrozkušavky a vzorek byl uskladněn při teplotě ≤ -20 °C do doby vlastní analýzy (Arbor Assays 2020).

1.4.2 Příprava roztoků k vlastní analýze

Corticosterone KIT je standardně uchováván při teplotě 4–7 °C v lednici. Před vlastní analýzou je potřeba reagenční látky kitu nechat zahřát na pokojovou teplotu, a to minimálně po dobu 30 minut.

Roztok testovacího pufru byl připraven dle návodu výrobce (Arbor Assays 2020). Koncentrát testovacího pufru (Assay Buffer Concentrate) byl rozředěn v deionizované vodě v poměru 1:5. Následně byl připraven omývací roztok rozředěním omývacího pufru (Wash Buffer Concentrate) v deionizované vodě v poměru 1:20.

Posledním krokem byla příprava standardů k potažení na mikrotitrační destičku (ve výsledcích standardy tvoří kalibrační křivku, ke které jsou propočítávány naměřené hodnoty koncentrace hormonů). Byla vytvořena standardní řada o různé koncentraci daného metabolitu hormonu. Do zkumavky číslo jedna bylo napipetováno 450 μ l roztoku Assay Buffer a do zkumavek dva až osm 250 μ l stejného roztoku. Do zkumavky číslo jedna následně bylo napipetováno 50 μ l komerčně připraveného roztoku kortikosteronu a vše bylo promícháno třepáním na třepače IKA MS 1. Ze stejné zkumavky bylo odebráno 250 μ l naředěného roztoku a napipetováno do zkumavky číslo dvě s následným třepáním. Sériové ředění bylo opakováno pro další zkumavky, viz Obrázek 9, s výslednými koncentracemi kortikosteronu 10 000; 5 000; 2 500; 1 250; 625; 312,5; 156,25; 78,125 [$\text{pg}\cdot\text{ml}^{-1}$].



Obrázek 9: Schéma sériového ředění (Arbor Assays 2020)

1.4.3 ELISA analýza

Veškeré vzorky včetně standardů byly měřeny duplicitně ke zvýšení přesnosti determinace koncentrací kortikosteronu.

Nejprve bylo napipetováno 50 μ l standardů a vzorků do každé jamky na mikrotitrační destičce (souběžně duplicitně), následně bylo napipetováno 75 μ l Assay Buffer do dvou souběžných jamek značených „nespecifická vazba“ (NSB wells) a 50 μ l Assay Buffer do dvou souběžných jamek značených B0 a Zero standard. Pomocí vícekanálové pipety bylo přidáno 25 μ l konjugátu (DetectX[®] Corticosterone Conjugate) do každé jamky a 25 μ l protilátek (DetectX[®] Corticosterone Antibody) do každé jamky mimo jamky NBS, viz Příloha 13. Mikrotitrační destička (MTP) byla zakryta víčkem, uzavření bylo zajištěno ještě parafínovými pásky Parafilm a při pokojové teplotě po dobu jedné hodiny byla mikrotitrační destička ponechána na laboratorní třepačce Mini Rocking Platform od Biometra (Arbor Assays 2020).

Obsah destičky byl vylit/vytřepán a následovalo její promytí v roztoku 300 μ l omývacího pufru Wash Buffer se závěrečným vysušením destičky pomocí automatické promývačky MTP. Následně bylo napipetováno 100 μ l TMB substrátu do každé jamky MTP a ta se nechala inkubovat při pokojové teplotě po dobu 30 minut. Poté bylo přidáno 50 μ l roztoku Stop Solution do každé jamky MTP (Arbor Assays 2020).

1.4.4 Výpočet koncentrace kortikosteronu

Pomocí readeru byla změřena optická hustota (absorbance) vzorků a standardů při vlnové délce 450 nm. Výsledná optická hustota duplicitních vzorků byla zprůměrována a pomocí softwaru Gen byla dle kalibrační křivky standardů vypočtena koncentrace kortikosteronu pro každý individuální vzorek.

1.5 Doplnující data

Získaná data byla zapisována do excelovské tabulky v rozsahu – zoologická zahrada, druh, pohlaví, jedinec, věk, datum analýzy kortikosteronu, typ KD (před/po), relativní

zastoupení bílkovin, ADF a NDF v den před odběrem vzorků, koncentrace kortikosteronu ve fekálních vzorcích, počet zvířat ve skupině, počet pohlavně dospělých samců ve skupině, reprodukční stav, přítomnost dalších gibbonů, lidoopů, primátů v pavilonu/jeho blízkosti, parazitologické a bakteriální vyšetření, maximální denní teplota vzduchu v den odběru vzorku, denní návštěvnost v den odběru vzorku, volnost pohybu mezi venkovní a vnitřní expozicí, velikost venkovní a vnitřní expozice a vzdálenost od nejbližšího predátora.

Data byla získána výpočtem, kvantitativní analýzou, vlastním pozorováním, ale také informacemi od Ing. Petry Bolechové, Ph.D. a Ing. Jitky Vokurkové ze zúčastněných zoologických zahrad. Maximální denní teplota byla zjišťována zpětně z archivu portálu in-počasí.cz z nejbližší meteorologické stanice pro danou zoologickou zahradu (In Meteo, s.r.o. 2020).

Vzhledem k malému rozptylu některých hodnot a nízkému počtu studovaných gibbonů, byly pro další analýzu vybrány proměnné zoo, jméno, typ KD (před/po), bílkovina, ADF, NDF, kortikosteron, maximální denní teplota vzduchu a denní návštěvnost.

1.6 Statistická analýza dat

Naměřená a vypočítaná data byla shromážděna v tabulce programu Excel (viz Příloha 11 a 12) a byla doplněná o další faktory, které by mohly koncentraci kortikosteronu ovlivnit. Statistická analýza výsledků byla provedena pomocí statistického programu STATISTICA a pro analýzy bylo jednotně počítáno s 95% intervalem spolehlivosti ($p = 0,05$).

Prvním krokem bylo vypočítání aritmetických průměrů pro jednotlivé složky KD (bílkovina, ADF, NDF) v zoologických zahradách před a po změně KD, a také vypočítání jejich směrodatné odchylky, rozptylu a variačního koeficientu. Pro porovnání složení KD (relativní zastoupení bílkovin, ADF a NDF v sušině) zoologických zahrad byl použit párový t-test.

Aritmetický průměr a další základní popisné statistiky byly vypočítány také pro koncentraci kortikosteronu ve fekálních vzorcích před a po změně KD, následně byl ověřen rozdíl mezi hodnotami kortikosteronu před a po změně KD pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu. Statistický rozdíl v koncentraci kortikosteronu před a po změně KD mezi jednotlivými zahradami byl ověřen pomocí analýzy rozptylu s interakcemi a Turkeyovým HSD testem.

Pro ověření závislosti koncentrace kortikosteronu ve fekálních vzorcích na relativním zastoupení bílkovin, ADF a NDF v sušině KD byla využita vícenásobná regresní analýza.

Vícenásobná regresní analýza byla využita také pro zhodnocení vlivu dalších faktorů (maximální denní teplota vzduchu a denní návštěvnost zoo), jednofaktorová ANOVA byla využita pro porovnání koncentrace kortikosteronu ve fekálních vzorcích mezi jedinci.

Výsledky

1.1 Složení krmné dávky

1.1.1 Zoologická zahrada Liberec

Základ KD tvořila před i po změně zelenina (mrkev, okurka, rajčata, čekanka, cibule, paprika, čínské zelí, petržel, celer) a ovoce (jablko, banán, pomeranč), dále okopaniny (batáty a vařené brambory) a granule St. Laurent Primate Leaf Eater. V rámci týdne se pak střídaly komponenty jako vařená sója a fazole, vařená směs luštěnin, klíčená čočka nebo vařená vejce. Zvířata měla k dispozici vrbové větve na okus bez omezení, pro výpočet bylo jednotně použito 100 g okusu vrby jívy/jedinec/den.

V rámci změny krmné dávky bylo vyřazeno vařené kuřecí maso (v původní KD 50 g/ks/týden), snížena dávka luštěnin (ze 125 g/ks/3x týdně na 120 g/ks/3x týdně), upraven byl také poměr zeleniny a ovoce a granulí pro listožravé primáty, viz Tabulka 4.

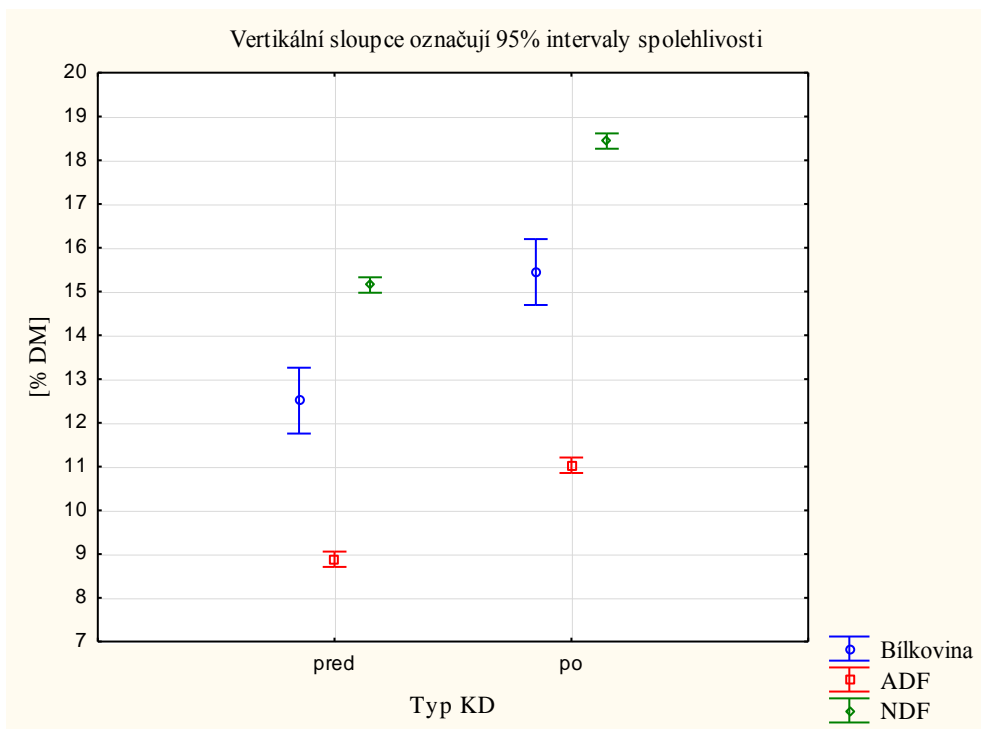
Tabulka 4: Změna zastoupení některých komponentů v KD Zoo Liberec [g/jedinec/den]

	Před	Po
Zelenina	1250	1200
Ovoce	500	100
Granule	40	60
Okus	Ad libitum → 100	Ad libitum → 100

Průměr vypočítaného procentuálního zastoupení živin v sušině před a po změně KD, viz Tabulka 5 a Graf 8. Výsledek párového t-testu ukázal, že došlo ke statisticky významnému zvýšení procentuálního zastoupení bílkovin, ADF i NDF v sušině po změně KD.

Tabulka 5: Změna procentuálního zastoupení bílkovin, ADF a NDF v sušině před a po změně KD v Zoo Liberec

		Bílkovina	ADF	NDF
Před změnou KD	Aritmetický průměr	12,51	8,88	15,15
	Směrodatná odchylka	1,15	0,15	0,28
	Rozptyl	1,32	0,02	0,08
	Variační koeficient [%]	9,20	1,74	1,86
Po změně KD	Aritmetický průměr	15,45	11,03	18,44
	Směrodatná odchylka	0,81	0,29	0,17
	Rozptyl	0,65	0,08	0,03
	Variační koeficient [%]	5,23	2,63	0,90
p-hodnota párového t-testu		0,000732	< 0,001	< 0,001



Graf 8: Změna složení KD v Zoo Liberec

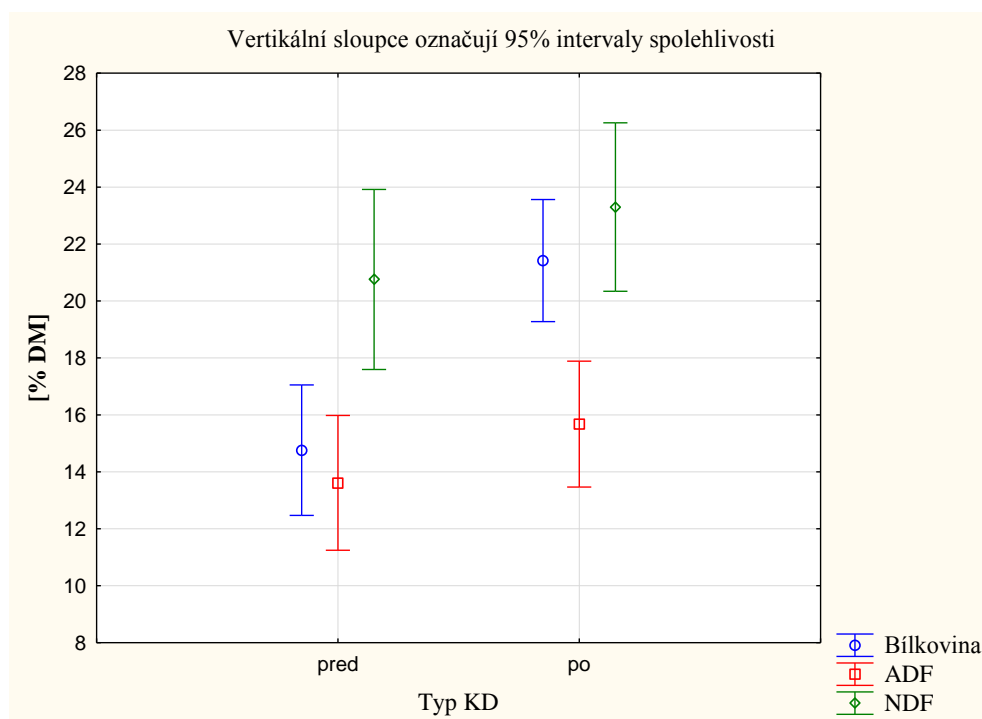
1.1.2 Zoologická zahrada Olomouc

Základ krmné dávky před i po změně tvořila pestrá skladba zeleniny a ovoce, doplněná o granule a vejce nebo fazole. Po celou dobu měli giboni k dispozici větve na okus bez omezení (dub, buk, habr, jíva, líska, třešeň), ale také byla mezi „okus“ zařazena tráva a jetel. Protože je velmi nejisté konkrétní složení této komponenty (možnost zastoupení nejrůznějších druhů trav v různém poměru), nebyla v tento den nutriční hodnota stanovována. Pro účely této práce bylo počítáno se 100 gramy okusu/jedinec/den. Po změně KD bylo zařazeno vyšší množství salátů a listové zeleniny. V rámci změny krmné dávky byly také změněny granule z OWM Mazuri na St. Laurent Primate Leaf Eater a navýšena jejich denní dávka ze 40 g/ks/den na 60 g/ks/den, viz Příloha 7-10.

Výsledek párového t-testu ukázal, že zvýšení relativního zastoupení bílkovin v sušině KD před změnou a po změně bylo statisticky významné, zastoupení ADF a NDF se také zvýšilo, ale ne na hladině významnosti 0,05, viz Tabulka 6 a Graf 9.

Tabulka 6: Změna procentuálního zastoupení bílkovin, ADF a NDF v sušině před a po změně KD v Zoo Olomouc

		Bílkovina	ADF	NDF
Před změnou KD	Aritmetický průměr	14,76	13,61	20,76
	Směrodatná odchylka	3,04	2,89	3,10
	Rozptyl	9,21	8,37	9,61
	Variační koeficient [%]	20,56	21,25	14,93
Po změně KD	Aritmetický průměr	21,42	15,68	23,30
	Směrodatná odchylka	2,59	2,90	4,43
	Rozptyl	6,73	8,40	19,60
	Variační koeficient [%]	12,11	18,48	19,00
p-hodnota párového t-testu		0,012907	0,170014	0,256671



Graf 9: Změna složení KD v Zoo Olomouc

1.1.3 Rozdíly mezi zahradami

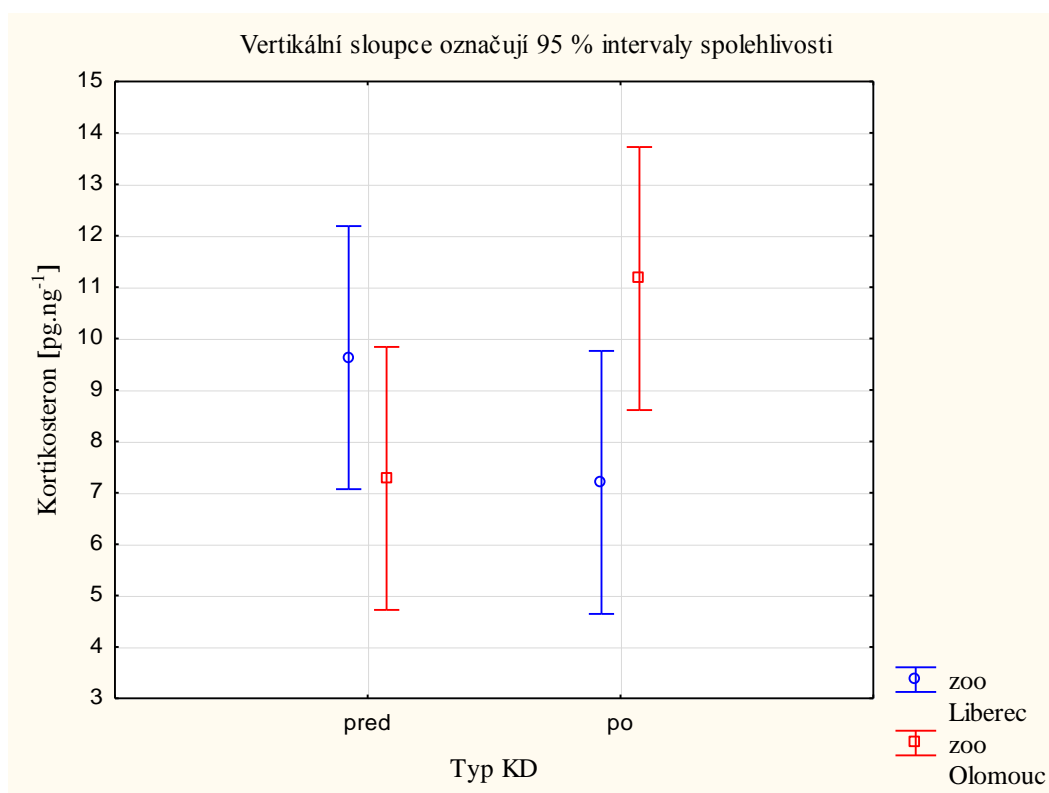
Za použití t-testu pro nezávislé vzorky nebyl před změnou KD zjištěn statisticky významný rozdíl mezi procentuálním zastoupením bílkovin v sušině v KD Zoo Liberec a Zoo Olomouc ($p = 0,055142$), ale bylo zjištěno statisticky významné vyšší procentuální zastoupením ADF ($p = 0,001060$) a NDF ($p = 0,000511$) v KD Zoo Olomouc než v Zoo Liberec.

Po změně KD byl již zjištěn statisticky významný rozdíl mezi zahradami v procentuálním zastoupením bílkovin ($p = 0,000022$), ADF ($p = 0,000486$) i NDF ($p = 0,007796$) v sušině KD. Vyšší relativní zastoupení těchto složek v KD měla Zoo Olomouc.

1.2 Vztah mezi složením KD a koncentrací kortikosteronu

Koncentrace kortikosteronu ve fekálních vzorcích gibbonů se pohybovala v rozmezí 0,870 [pg.ng⁻¹] až 19,37 [pg.ng⁻¹]. Průměrná koncentrace kortikosteronu ve fekálních vzorcích byla vyšší po změně KD (9,18 [pg.ng⁻¹]) než před změnou (8,45 [pg.ng⁻¹]), viz Tabulka 7, jednofaktorová ANOVA však neukázala statisticky významný rozdíl ($p = 0,58304$).

V Zoo Liberec se po změně KD ve fekálních vzorcích koncentrace kortikosteronu snížila, v Zoo Olomouc naopak zvýšila, jak je patrné z Grafu 10. ANOVA s interakcemi a Tukeyův HSD test však neprokázal statisticky významný rozdíl v koncentraci kortikosteronu před a po změně KD ani v jedné ze zoologických zahrad, viz Tabulka 7 a 8.



Graf 10: Změna v koncentracích kortikosteronu před a po změně KD v jednotlivých zoo

Tabulka 7: Průměrná koncentrace kortikosteronu [pg.ng⁻¹] v jednotlivých zoologických zahradách před a po změně KD

Zoo	Typ KD	Aritmetický průměr	Směrodatná odchylka	Rozptyl	Variační koeficient [%]
Liberec	Před	9,63	6,78	45,97	70,40
Liberec	Po	7,20	4,89	23,91	67,92
Olomouc	Před	7,28	4,30	18,49	59,07
Olomouc	Po	11,17	4,04	16,32	36,17

Tabulka 8: Statisticky nevýznamné rozdíly mezi koncentrací kortikosteronu před a po změně KD v jednotlivých zoologických zahradách

Tukeyův HSD test; proměnná Kortikosteron [pg.ng ⁻¹] Přibližné pravděpodobnosti pro post hoc testy					
zoo	Typ KD	Liberec před	Liberec po	Olomouc před	Olomouc po
Liberec	Před		0,540976	0,567366	0,830165
Liberec	Po	0,540976		0,999976	0,137489
Olomouc	Před	0,567366	0,999976		0,149692
Olomouc	Po	0,830165	0,137489	0,149692	

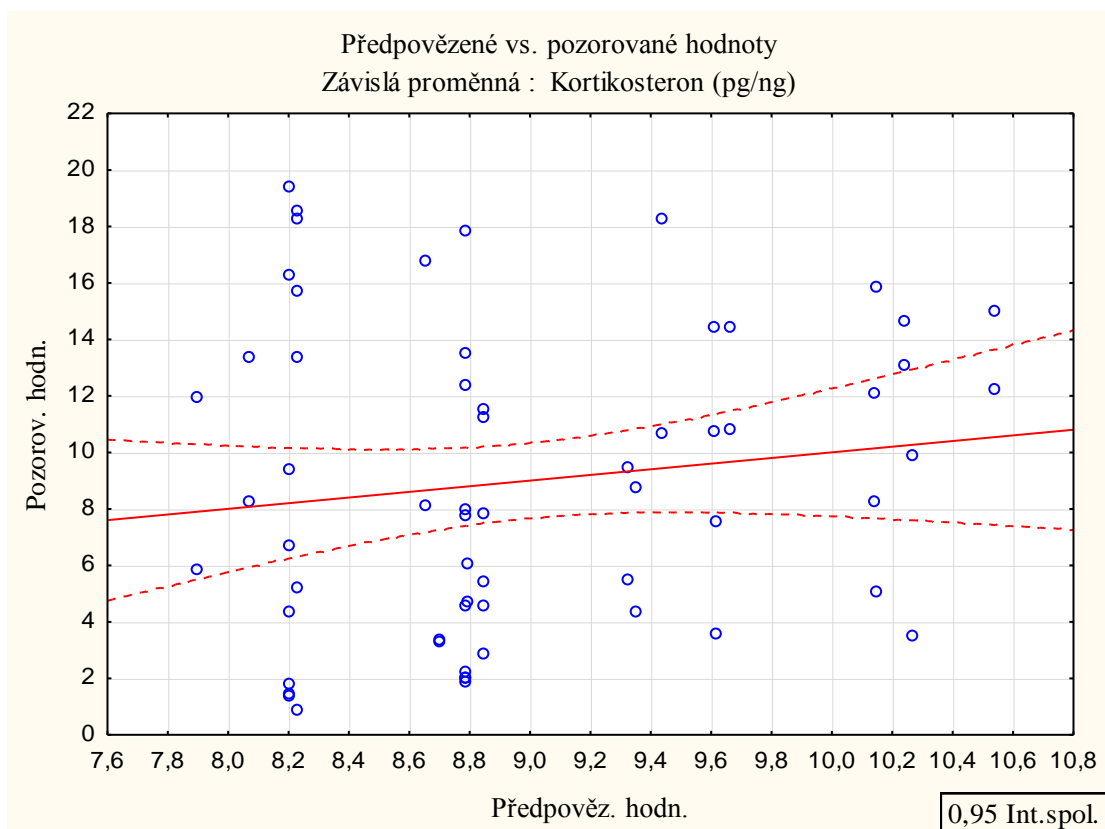
Vícenásobná regrese neukázala statisticky významnou souvislost mezi relativním zastoupením bílkovin, ADF a NDF v sušině KD a koncentrací kortikosteronu ve fekálních vzorcích, viz Tabulka 9 a 10 a Graf 11.

Tabulka 9: Statistické shrnutí vícenásobné regresní analýzy pro koncentraci kortikosteronu v závislosti na relativním zastoupení bílkovin, ADF a NDF v sušině KD

	Hodnota
Vícenás. R	0,170092071
Vícenás. R ²	0,0289313125
Upravené R ²	-0,0212963783
F (3,58)	0,576003237
p	0,63309294
Sm. chyba odhadu	5,3240847

Tabulka 10: Výsledky regresní analýzy pro koncentraci kortikosteronu v závislosti na relativním zastoupení bílkovin, ADF a NDF v sušině KD

R = 0,17009207 R ² = 0,02893131 Upravené R ² = ----- F (3,58) = 0,57600 p < 0,63309 Směrod. chyba odhadu: 5,3241						
	b*	Sm. chyba z b*	b	Sm. chyba z b	t(58)	p-hodn.
Abs. člen			6,846407	3,926377	1,743696	0,086511
Bílkovina	-0,086172	0,178070	-0,116666	0,241084	-0,483925	0,630262
ADF	0,255802	0,387831	0,416473	0,631430	0,659570	0,512140
NDF	-0,042567	0,378421	-0,056412	0,501508	-0,112485	0,910827



Graf 11: Závislost mezi koncentrací kortikosteronu a relativním zastoupením NDF v sušině KD nebyla zjištěna

1.3 Další faktory

Pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu byla hodnocena souvislost mezi koncentrací kortikosteronu ve fekálních vzorcích a konkrétním jedinci. Nejnižší průměrná koncentrace kortikosteronu byla naměřena u samce Matěje ze Zoo Liberec, nejvyšší u samce Tonyho ze Zoo Olomouc. Tato souvislost nebyla statisticky významná ($p = 0,35758$), viz Tabulka 11.

Tabulka 11: Průměrné koncentrace kortikosteronu [$\text{pg}\cdot\text{ng}^{-1}$] ve fekálních vzorcích jedinců

	Jméno	Pohlaví	Aritmetický průměr	Směrodatná odchylka	Rozptyl	Variační koeficient [%]
Před změnou KD	Matěj	samec	8,43	7,07	50,04	83,95
	Wen-Wen	samice	10,83	6,71	45,06	61,98
	Rony	samice	5,91	3,25	10,55	54,99
	Tony	samec	8,65	4,98	24,83	57,59
Po změně KD	Matěj	samec	6,02	3,30	10,92	54,93
	Wen-Wen	samice	8,39	6,09	37,11	72,61
	Rony	samice	10,45	4,43	19,59	42,34
	Tony	samec	11,88	3,78	14,28	31,81

Maximální denní teplota vzduchu se pod dobu studie pohybovala od 10,8 °C do 33,8 °C. Při odebrání vzorků „před změnou KD“ byla průměrná maximální denní teplota v Liberci 24,3 °C, při odebrání vzorků „po změně KD“ průměrná nejvyšší denní teplota klesla na 17,1 °C. V Zoo Olomouc byla v prvním časovém úseku naměřena průměrná maximální denní teplota 25,5 °C a po změně KD 23,6 °C, viz Tabulka 12. Maximální denní teplota za celé období byla v Olomouci průměrně téměř o 4 °C vyšší (24,6 °C) než v Liberci (20,7 °C).

Tabulka 12: Maximální teploty vzduchu [°C] v době studie

Zoo	Typ KD	Aritmetický průměr	Směrodatná odchylka	Rozptyl	Variační koeficient [%]
Liberec	Před	24,3	4,6	20,7	18,8
Liberec	Po	17,1	5,5	30,0	32,1
Olomouc	Před	25,3	5,5	29,8	21,6
Olomouc	Po	23,6	4,5	20,3	19,1

Návštěvnost zoologických zahrad se pohybovala od 179 do 2741 osob/den. Vyšší průměrnou denní návštěvnost měla Zoo Liberec (1374 osob/den) než Zoo Olomouc (1137 osob/den). V časovém rozmezí „před změnou KD“ byla průměrná denní návštěvnost v Zoo Liberec 1882 osob, v časovém úseku „po změně KD“ 867 osob. Zoo Olomouc měla průměrnou návštěvnost v časovém úseku „před změnou KD“ 1264 osob/den a „po změně KD“ 1010 osob/den. Vícenásobná regresní analýza nepotvrdila závislost koncentrace kortikosteronu na denní návštěvnosti ani nejvyšší denní teplotě viz Tabulka 13 a 14.

Tabulka 13: Statistické shrnutí vícenásobné regresní analýzy závislosti koncentrace kortikosteronu na denní návštěvnosti a nejvyšší denní teplotě

Statist.	Hodnota
Vícenás. R	0,124845842
Vícenás. R ²	0,0155864843
Upravené R ²	-0,0166893687
F (2,61)	0,482914714
P	0,619320989
Sm. chyba odhadu	5,31264447

Tabulka 14: Výsledky vícenásobné regresní analýzy závislosti koncentrace kortikosteronu na denní návštěvnosti a nejvyšší denní teplotě

N = 64	R = 0,12484584 R2 = 0,01558648 Upravené R2 = ----- F (2,61) = 0,48291 p < 0,61932 Směrod. chyba odhadu: 5,3126					
	b*	Sm. Chyba z b*	b	Sm. chyba z b	T (61)	p-hodn.
Abs.člen			6,810668	2,725499	2,498870	0,015168
Max. d. teplota vzduchu	0,062415	0,132686	0,057313	0,121838	0,470399	0,639748
Denní návštěvnost	0,091595	0,132686	0,000569	0,000825	0,690313	0,492616

Diskuze

Potrava je faktor nejvíce ovlivňující složení střevní mikrobioty (Scott et al. 2013; Jullian & Grimm 2017), a protože složení střevní mikrobioty ovlivňuje centrální nervový systém, funkci a vývoj hypotalamo-hypofyzárně-adrenokortikotropní osy, míru stresové odpovědi a změny nálad (Sudo et al. 2004; Foster & McVey Neufeld 2013; Carabotti et al. 2015; Rea et al. 2016; Frühauf 2017), lze očekávat souvislost mezi složením KD a funkcí CNS, koncentrací glukokortikoidů v plazmě a jejich metabolitů v moči a výkalech.

Přestože došlo u obou zoologických zahrad ke zvýšení procentuálního zastoupení bílkovin, ADF a NDF v sušině krmných dávek gibbonů (viz Tabulka 5 a 6), nepotvrdila tato práce související snížení koncentrace kortikosteronu v jejich výkalech (viz Tabulka 8). V Zoo Liberec se koncentrace kortikosteronu ve výkalech po změně KD mírně snížila a v Zoo Olomouc mírně zvýšila, ne však na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Nebylo potvrzeno ani zjištění Ange-van Heugten et al. (2009), že při vyšším zastoupení ovoce v KD je koncentrace stresových hormonů vyšší.

Výsledky mohlo ovlivnit několik skutečností. V rámci studie jedna samice prošla fází březosti, porodu a kojení, zatímco druhá samice měla nasazenou antikoncepci, a to jsou faktory, které koncentraci glukokortikoidů výrazně ovlivňují (Jung et al. 2011), dalším faktorem mohlo být počasí, které v přírodě ovlivňuje potravní chování gibbonů (Bach et al. 2017). V průběhu studie se teplota vzduchu výrazně měnila (viz Tabulka 12), avšak statisticky významná souvislost mezi koncentrací kortikosteronu ve výkalech a maximální denní teplotou vzduchu nebyla pozorována, stejně jako se na koncentraci kortikosteronu neprojevila denní návštěvnost zoologické zahrady (viz Tabulka 14).

Samice Wen-Wen (Zoo Liberec) uhynula zhruba tři měsíce po ukončení studie na problémy nesouvisející s trávením, byla však u ní prokázána infekce parazitickou hlísticí *Trichuris* sp. (Bolechová pers. comm. 2020), což také mohlo ovlivnit výsledky analýz stresových hormonů. Dalším z faktorů, které ovlivňují střevní mikrobiotu, je pohlaví (Dominianni et al. 2015) a vzhledem k propojenosti trávicí soustavy s centrálním nervovým systémem pomocí osy střevo-mozek (gut-brain axis) (Carabotti et al. 2015) lze očekávat i změny koncentrace stresových hormonů v závislosti na pohlaví, to se ale v této práci nepotvrdilo (viz Tabulka 11).

V přírodě giboni žlutolící konzumují asi 69 druhů rostlin (Bach et al. 2017), což zhruba odpovídá 61 typům komodit podávaných po dobu studie v obou zoologických zahradách dohromady (viz Příloha 4-6). V zoologických zahradách však prakticky úplně chybí sezónnost, která je v potravní ekologii (nejen) gibbonů velmi výrazná (viz Graf 1) a vyznačuje se vysokou konzumací ovoce v době jeho dostupnosti v období dešťů a zvýšenou konzumací listů, v době nedostatku ovoce, v období sucha. Listy mohou tvořit v některých měsících i přes 50 % potravy, ale jsou konzumovány celoročně (Bach et al. 2017). V KD zoologických zahrad se jedná spíše o doplněk. Další komponenty, jako jsou květy, které tvoří v potravě gibbonů žlutolících v přírodě zhruba desetinu přijímané potravy (Bach et al. 2017), většinou v KD úplně chybí, podobně jako pupeny a výhonky.

Při výpočtech složení KD v zoologických zahradách bylo i pro běžně používané komponenty v krmných dávkách někdy velmi složité nalézt adekvátní informace k živinovému složení, které se navíc často liší. Znamená to, že v praxi jsou zvířata krmena něčím, o čem

vlastně nevíme, jestli to odpovídá potravě, kterou by zvířata konzumovala ve volné přírodě. Zatímco v přírodě giboni konzumují ovoce, které obsahuje v sušině přes 40 % NDF a 30 % ADF (Ma et al. 2016), v chovech dostávají ovoce, u něž jsou tyto hodnoty až třináctkrát nižší (např. jablko, viz Příloha 4-6). Coudrat & Cabana (2019) dále uvádějí, že giboni v přírodě konzumují potravu, která průměrně obsahuje 30,1 % NDF a 9 % ADF v sušině, po změně KD v zoologických zahradách jsme dosáhli 18,44 % NDF a 11,03 % ADF v sušině v Zoo Liberec a 23,30 % NDF a 15,68 % ADF v sušině v Zoo Olomouc. Vzhledem k nízkému počtu studií potravy gibbonů in-situ a velmi nízkému obsahu ADF dle této ojedinělé studie živinového složení potravy in-situ, však ještě není možné učinit finální závěry ohledně správného zastoupení těchto složek vlákniny v potravě gibbonů v chovech.

Vysoký rozptyl a variační koeficient pro hodnoty koncentrace kortikosteronu ve fekálních vzorcích nevylučují kontaminaci vzorků, možná je kontaminace močí, která by mohla výsledky ovlivnit (Wasser et al. 1988; Heistermann 2010).

Před realizováním další studie, ale i pro účely každodenní péče o zvířata v zoologických zahradách, by bylo vhodné sestavit databázi nejčastěji používaných komodit v KD v českém jazyce včetně okusu v různých růstových fázích. Je také třeba, aby chovatelé alespoň průběžně vážili krmné dávky a nesnědené zbytky (včetně okusu) a poskytovali tyto informace výživářům či krmivařům, kteří mohou zhodnotit jejich živinové složení, neboť pouhá kontrola hmotnosti podaného krmení nestačí (Wolfensohn & Honess 2005).

Bylo by vhodné zvířata trénovat, aby je bylo možné v případě potřeby přepustit z venkovního do vnitřního prostoru a naopak, za účelem zajištění čerstvosti odebraného vzorku. Tento trénink navíc může být užitečný i při běžném provozu, v rámci nezvyklých situací, během transportů a veterinárních vyšetření.

Pro další výzkum by bylo možné využít také analýzu stresových hormonů ze slin, protože vlivem střevní mikrobioty metabolity steroidních hormonů rychle degradují (Wasser et al. 1988; Heistermann 2010), nebo porovnat hodnoty koncentrací kortizolu a kortikosteronu, neboť na toto téma zatím nebylo publikováno mnoho studií (Heistermann et al. 2006) a výsledky koncentrací kortikosteronu ve fekálních vzorcích u gibbonů a jejich souvislost se složením krmné dávky vyhodnocovaná v této práci mohou posloužit jako pilotní studie pro další analýzy.

Další výzkum by mohl ověřit také složení střevní mikrobioty v souvislosti se složením KD (včetně výpočtu zastoupení sacharidů a jednoduchých cukrů) a koncentrací stresových hormonů ve slinách, výkalech nebo moči, případně rozšířit tuto oblast o etologickou studii za použití instalovaných kamer a vyhodnotit změny chování při změně KD, podobně jako tomu bylo u velkých lidoopů (Cabana et al. 2018)

Přestože stanovená hypotéza nebyla potvrzena, tj. nebyla zjištěna souvislost mezi zastoupením bílkovin, ADF a NDF v krmné dávce a koncentrací kortikosteronu ve fekálních vzorcích gibbonů rodu *Nomascus*, splnila práce svůj cíl tuto souvislost ověřit.

Závěr

Tato studie splnila stanovený cíl, tj. ověřit a vyhodnotit souvislost mezi živinovým složením krmné dávky a koncentrací kortikosteronu ve fekálních vzorcích gibbonů rodu *Nomascus* spp. chovaných v lidské péči. Analýza však u gibbonů nepotvrdila statisticky významnou závislost koncentrace kortikosteronu ve fekálních vzorcích na zastoupení bílkovin, ADF a NDF v jejich krmné dávce [% DM]. Nebyla potvrzena hypotéza, že při vysokovlákninové KD bude koncentrace kortikosteronu ve fekálních vzorcích nižší než při nízkovlákninové KD, neboť nebyla zjištěna žádná závislost mezi zastoupením NDF v KD a koncentrací kortikosteronu ve fekálních vzorcích.

Pro další výzkum je třeba vytvořit dostupnou živinovou databázi komponentů používaných v KD zoologických zahrad a realizovat studii na větším počtu zvířat, kde by bylo vhodné zahrnout také výpočet zastoupení sacharidů a jednoduchých cukrů a mikrobiologickou analýzu výkalů pro zhodnocení střevní mikrobioty gibbonů chovaných v českých a slovenských zoologických zahradách. Jako další vhodný krok lze doporučit etologickou studii s použitím instalovaných kamer za účelem zjištění změny denních aktivit při změně KD se zaměřením na zvýšení zastoupení NDF.

Literatura

© HURO. (n.d.). HURO. Available from <https://www.zoo-palmyre.fr/en/conservation/huro> (accessed July 2020).

Alexander R. 1993. The relative merits of foregut and hindgut fermentation. *Journal of Zoology* **vol. 231**:391-401.

Ange-van Heugten K, van Heugten E, Timmer S, Bosch G, Elias A, Whisnant S, Swarts H, Ferket P, Verstegen M. 2009. Fecal and Salivary Cortisol Concentrations in Woolly (Lagothrix spp.) and Spider Monkeys (Ateles spp.). *International Journal of Zoology* **vol. 2009**:1-9.

Ankel-Simons F. 2000. *Primate anatomy: an introduction*. Academic Press, San Diego.

Arbor Assays. 2020. DetectX® Steroid Solid Extraction Protocol: For our DetectX® Steroid Immunoassay Kits. Arbor Assays, Ann Arbor. Available from https://www.arborassays.com/assets/Steroid_Solid_Extraction_190222-1.pdf (accessed July 2020)

Arbor Assays. 2020. DetectX® Corticosterone Enzyme Immunoassay Kit. Arbor Assays, Ann Arbor. Available from <https://www.arborassays.com/documentation/inserts/K014-H.pdf> (accessed July 2020).

Association Anoulak. 2019. Annual Report 2019. Association Anoulak, Manosque. Available from https://www.conservationlaos.com/wp-content/uploads/2020/01/2019_Annual_Report_compressed.pdf (accessed July 2020).

Atsalis S. 1999. Diet of the Brown Mouse Lemur (*Microcebus rufus*) in Ranomafana National Park, Madagascar. *International Journal of Primatology* **vol. 20**:193-229.

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* **vol. 79**:1-14.

Bailey M, Coe C. 1999. Maternal separation disrupts the integrity of the intestinal microflora in infant rhesus monkeys. *Developmental Psychobiology* **35**:146-155.

Baltrip J, Brand B, Cowie R, Danier J, De Boever J, De Jonge L, Jackson F, Makkar H, Piotrowski C. 2011. *Quality assurance for animal feed analysis laboratories edition*. FAO Animal Production and Health manual 14, Rome.

Banaszkiewicz T. 2011. Nutritional Value of Soybean Meal. 1-20 in *Soybean and Nutrition*. InTech, Croatia.

- Barca B, Vincent C, Soeung K, Nuttall M, Hobson K. 2016. Multi-Female Group in the Southernmost Species of *Nomascus*: Field Observations in Eastern Cambodia Reveal Multiple Breeding Females in a Single Group of Southern Yellow-Cheeked Crested Gibbon *Nomascus gabriellae*. *Asian Primates Journal* **6**:15-19.
- Barelli C, Huffman M. 2017. Leaf swallowing and parasite expulsion in Khao Yai white-handed gibbons (*Hylobates lar*), the first report in an Asian ape species. *American Journal of Primatology* **vol. 79**:1-7. (accessed March 2020).
- Bleisch B, Geissmann T. 2008. *Nomascus nasutus*. The IUCN Red List of Threatened Species. Available from <https://www.iucnredlist.org/species/41642/10526189> (accessed 2020-03-21).
- Bleisch B, Geissmann T, Manh Ha N, Rawson B, Timmins R. 2008a. *Nomascus leucogenys*. The IUCN Red List of Threatened Species. Available from <https://www.iucnredlist.org/species/39895/10272040> (accessed March 2020).
- Bleisch B, Geissmann T, Timmins R, Xuelong J. 2008b. *Nomascus conocolor*. The IUCN Red List of Threatened Species. Available from <https://www.iucnredlist.org/species/39775/10265349> (accessed March 2020).
- Bolechová P, Hejčmanová P, Myšková I. 2017. Okus: metodika využití okusových rostlin při výživě zvířat v lidské péči. Česká zemědělská univerzita v Praze.
- Bolechová P. DP giboni_mikrobiom [elektornická pošta]. 4. února 2019 [cit. 2020-07-20]
- Bolechová P. Venuše [elektornická pošta]. 13. května 2020 [cit. 2020-07-20]
- 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* **vol. 52**:48-61.
- Campbell C, Cheyne S, Rawson B. 2015. Best Practice Guidelines for the Rehabilitation and Translocation of Gibbons: Occasional Paper of the IUCN Species Survival Commission No. 51. IUCN SSC Primate Specialist Group, Gland, Switzerland.
- Carabotti M, Scirocco A, Maselli M, Severi C. 2015. The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Annals of Gastroenterology* **28**:203-209.
- Clayton J et al. 2016. Captivity humanizes the primate microbiome. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **vol. 113**:10376-10381.

- Clink D, Bernard H, Crofoot M, Marshall A. 2017. Investigating Individual Vocal Signatures and Small-Scale Patterns of Geographic Variation in Female Bornean Gibbon (*Hylobates muelleri*) Great Calls. *International Journal of Primatology* **vol. 38**:656-671.
- Clink D, Dillis C, Feilen K, Beaudrot L, Marshall A, Wilson B. 2017. Dietary diversity, feeding selectivity, and responses to fruit scarcity of two sympatric Bornean primates (*Hylobates albibarbis* and *Presbytis rubicunda rubida*). *PLOS ONE* **vol. 12**:1-23.
- Cocks L. 2008. Husbandry Manual for the Javan Gibbon (*Hylobates moloch*). Perth Zoo.
- 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, Vietnam. *Vietnamese Journal of Primatology* **3**:71-76.
- Cowlshaw G. 1992. Song Function in Gibbons. *Behaviour* **121**:131-153. Brill.
- Davenport M, Tiefenbacher S, Lutz C, Novak M, Meyer J. 2006. Analysis of endogenous cortisol concentrations in the hair of rhesus macaques. *General and Comparative Endocrinology* **vol. 147**:255-261.
- Dehority B. 1997. Foregut Fermentation. Pages 39-83 in R. Mackie and B. White, editors. *Gastrointestinal Microbiology*. Springer US, Boston, MA.
- DePaoli A, Johnsen D. 2016. Fatal Strongyloidiasis in Gibbons (*Hylobates lar*). *Veterinary Pathology* **vol. 15**:31-39.
- Deschner T, Kratzsch J, Hohmann G. 2008. Urinary C-peptide as a method for monitoring body mass changes in captive bonobos (*Pan paniscus*). *Hormones and Behavior* **vol. 54**:620-626.
- Dixon A. 2015. Primate sexuality. Pages 1-9 in *The International Encyclopedia of Human Sexuality*. John Wiley&Sons, Inc.
- Dominguez-Bello M, Costello E, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, Knight R. 2010. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **vol. 107**:11971-11975.
- Dominianni C, Sinha R, Goedert J, Pei Z, Yang L, Hayes R, Ahn J, Wilson B. 2015. Sex, Body Mass Index, and Dietary Fiber Intake Influence the Human Gut Microbiome. *PLOS ONE* **vol. 10**: 1-14
- Donaldson G, Lee S, Mazmanian S. 2016. Gut biogeography of the bacterial microbiota. *Nature Reviews Microbiology* **vol. 14**:20-32.

- Edes A, Wolfe B, Crews D. 2016. Assessing Stress in Zoo-Housed Western Lowland Gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*) Using Allostatic Load. *International Journal of Primatology* **vol. 37**:241-259.
- Edwards M, Ullrey D. 1999. Effect of dietary fiber concentration on apparent digestibility and digesta passage in non-human primates. II. Hindgut-and foregut-fermenting folivores. *Zoo Biology* **18**:537-549.
- Emile JC, Barre P, Bourgoin F, Perceau R, Mahieu S, Novak S. 2020. Effect of season and species on the nutritive value of leaves of high stem trees. *Grassland Science in Europe* **23**:179-181.
- European Association of Zoos and Aquaria. [2020]. EAZA Ex-situ **Programme** overview: January 2020. Pages 1-10 in EAZA edition.. Available from <https://www.eaza.net/assets/Uploads/CCC/January-2020.pdf> (accessed July 2020).
- Fan P et al. 2017. Description of a new species of Hoolock gibbon (Primates: Hylobatidae) based on integrative taxonomy. *American Journal of Primatology* **vol. 79**:1-15.
- Fan P, Jiang X. 2009. Predation on giant flying squirrels (*Petaurista philippensis*) by black crested gibbons (*Nomascus concolor jingdongensis*) at Mt. Wuliang, Yunnan, China. *Primates* **vol. 50**:45-49.
- Fan P, Ni Q, Sun G, Huang B, Jiang X. 2009. Gibbons under seasonal stress: the diet of the black crested gibbon (*Nomascus concolor*) on Mt. Wuliang, Central Yunnan, China. *Primates* **vol. 50**:37-44.
- Feedipedia. © 2012-2019. Celery Leaves. INRS. Available at <https://www.feedipedia.org/node/524> (accessed July 2020).
- Fei H, Ma C, Bartlett T, Dai R, Xiao W, Fan P. 2015. Feeding Postures of Cao Vit Gibbons (*Nomascus nasutus*) Living in a Low-Canopy Karst Forest. *International Journal of Primatology* **vol. 36**:1036-1054.
- Fleagle J. 2013. Apes and Humans. Pages 151-168 in *Primate Adaptation and Evolution*. Elsevier.
- Flint H, Bayer E, Rincon M, Lamed R, White B. 2008. Polysaccharide utilization by gut bacteria: potential for new insights from genomic analysis. *Nature Reviews Microbiology* **vol. 6**:121-131.
- Flint H, Scott K, Duncan S, Louis P, Forano E. 2014. Microbial degradation of complex carbohydrates in the gut. *Gut Microbes* **vol. 3**:289-306.

- Foster J, McVey Neufeld K. 2013. Gut–brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression. *Trends in Neurosciences* **vol. 36**:305-312.
- Frühauf P. 2017. Střevní mikrobiota a možnosti ovlivnění. *Pediatric pro praxi* **18**:239-241.
- Garber P. 1992. Vertical clinging, small body size, and the evolution of feeding adaptations in the Callitrichinae. *American Journal of Physical Anthropology* **vol. 88**:469-482.
- Geissmann T, Bleisch W. 2008. *Nomascus hainanus*. The IUCN Red List of Threatened Species. Available from <https://www.iucnredlist.org/species/41643/10526461> (accessed March 2020).
- Geissmann T, Manh Ha N, Rawson B, Timmins R, Traeholt C, Walston J. 2008. *Nomascus gabriellae*. The IUCN Red List of Threatened Species. Available from <https://www.iucnredlist.org/species/39776/10265736> (accessed March 2020).
- Geissmann T. 1984. Inheritance of Song Parameters in the Gibbon Song, Analysed in 2 Hybrid Gibbons (*Hylobates pileatus* x *H. lar*). *Folia Primatologica* **42**:216-235.
- Geissmann T. 2002. Duet-splitting and the evolution of gibbon songs. *Biological Reviews* **vol. 77**:57-76.
- Geissmann T, Lormée N, Momberg F. 2000. Vietnam Primate Conservation Status Review 2000 Part 1: Gibbons. *Fauna & Flora International*, Hanoi.
- Geissmann T. 2000. Gibbon Song and Human Music from an Evolutionary Perspective. Pages 103-123 in N. Wallin, B. Merker and S. Brown, editors. *The origins of music*. MIT Press, Cambridge (Massachusetts).
- Gholib G, Heistermann M, Agil M, Supriatna I, Purwantara B, Nugraha T, Engelhardt A. 2018. Comparison of fecal preservation and extraction methods for steroid hormone metabolite analysis in wild crested macaques. *Primates* **vol. 59**:281-292.
- Gillespie T, Barelli C, Heistermann M. 2013. Effects of social status and stress on patterns of gastrointestinal parasitism in wild white-handed gibbons (*Hylobates lar*). *American Journal of Physical Anthropology* **vol. 150**:602-608.
- Groves C. 2018. Primate taxonomy. Pages 1-6 in *The International Encyclopedia of Biological Anthropology*. John Wiley & Sons, Inc.
- Guarner F, Malagelada J. 2003. Gut flora in health and disease. *The Lancet* **vol. 361**:512-519.
- Hai B, Chen J, McConkey K, Dayananda S. 2018. Gibbons (*Nomascus gabriellae*) provide key seed dispersal for the Pacific walnut (*Dracontomelon dao*), in Asia's lowland tropical forest. *Acta Oecologica* **vol. 88**:71-79.

Heistermann M. 2010. Non-invasive monitoring of endocrine status in laboratory primates: methods, guidelines and applications. *Advances in Science and Research* **vol. 5**:1-9.

Heistermann M, Palme R, Ganswindt A. 2006. Comparison of different enzymeimmunoassays for assessment of adrenocortical activity in primates based on fecal analysis. *American Journal of Primatology* **vol. 68**:257-273.

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.

Holst J, Soldin O, Guo T, Soldin S. 2004. Steroid hormones: relevance and measurement in the clinical laboratory. *Clinics in Laboratory Medicine* **vol. 24**:105-118.

Hooper L, Gordon J. 2001. Commensal Host-Bacterial Relationships in the Gut. *Science* **292**:1115-1118.

Huffman M. 2001. Self-Medicative Behavior in the African Great Apes: An Evolutionary Perspective into the Origins of Human Traditional Medicine. *BioScience* **vol. 51**:651-666.

Huges E, Ely R, Chodos D, Done A, Kirschvink J, Ainger L, Kelley V. 1964. Corticosterone Half-Life in Children. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine* **vol. 108**:366-371.

Chang N, Su H, Lee L. 2016. Effects of Dietary Fiber on Gut Retention Time in Captive *Macaca cyclopis*, *Macaca fascicularis*, *Hylobates lar*, and *Pongo pygmaeus* and the Germination of Ingested Seeds. *International Journal of Primatology* **vol. 37**:671-687.

Channon A, Günther M, Crompton R, Vereecke E. 2009. Mechanical constraints on the functional morphology of the gibbon hind limb. *Journal of Anatomy* **vol. 215**:383-400.

Chivers D, Raemaekers J. 1986. Natural and synthetic diets of Malayan gibbons. Pages 39-56 in *Primate Ecology and Conservation*. Cambridge University Press, Cambridge.

Chivers D, Hladik C. 1980. Morphology of the gastrointestinal tract in primates: Comparisons with other mammals in relation to diet. *Journal of Morphology* **166**:337-386.

Chrousos G, Gold P. 1992. The concepts of stress and stress system disorders: Overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA: The Journal of the American Medical Association* **vol. 267**:1244-1252.

In Meteo, s.r.o. 2020. Archiv počasí. Available from <https://www.in-pocasi.cz/archiv/> (accessed July 2020).

Integrated Taxonomic Information System (ITIS). 2018. Primates Linnaeus, 1758. Available from

https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=180089#null (accessed July 2020).

Jiang X, Wang Y, Wang Q. 1999. Coexistence of monogamy and polygyny in black-crested gibbon (*Hylobates concolor*). *Primates* **vol. 40**:607-611.

Jia T et al. 2018. The gastrointestinal tract microbiota of northern white-cheeked gibbons (*Nomascus leucogenys*) varies with age and captive condition. *Scientific Reports* **vol. 8**:1-14.

Jimeno B, Hau M, Verhulst S. 2018. Corticosterone levels reflect variation in metabolic rate, independent of 'stress'. *Scientific Reports* **vol. 8**:1-8.

Julliard V, Grimm P. 2017. The Impact of Diet on the Hindgut Microbiome. *Journal of Equine Veterinary Science* **vol. 52**:23-28.

Jung C, Ho J, Torpy D, Rogers A, Doogue M, Lewis J, Czajko R, Inder W. 2011. A Longitudinal Study of Plasma and Urinary Cortisol in Pregnancy and Postpartum. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **vol. 96**:1533-1540.

Kalaweit. (n.d.). Mission statement. Available from <https://www.kalaweit.org/missions.php> (accessed July 2020).

Kalsbeek A, Palm I, La Fleur S, Scheer F, Perreau-Lenz S, Ruiten M, Kreier F, Cailotto C, Buijs R. 2016. SCN Outputs and the Hypothalamic Balance of Life. *Journal of Biological Rhythms* **vol. 21**:458-469.

Kaur Multani P, Saini N, Kaur R, Sharma P. 2014. Biomarkers for drugs of abuse and neuropsychiatric disorders. Pages 983-1001 in R. Gupta, editor. *Biomarkers in Toxicology*. Elsevier.

Kay R, Sheine W. 1979. On the relationship between chitin particle size and digestibility in the primate *Galago senegalensis*. *American Journal of Physical Anthropology* **vol. 50**:301-308.

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. Iranian Society of Animal Science.

Kenyon M, Roos C, Binh V, Chivers D. 2011. Extrapair Paternity in Golden-Cheeked Gibbons (*Nomascus gabriellae*) in the Secondary Lowland Forest of Cat Tien National Park, Vietnam. *Folia Primatologica* **vol. 82**:154-164.

Koren L, Mokady O, Karaskov T, Klein J, Koren G, Geffen E. 2002. A novel method using hair for determining hormonal levels in wildlife. *Animal Behaviour* **vol. 63**:403-406.

- 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.
- Kutsukake N, Ikeda K, Honma S, Teramoto M, Mori Y, Hayasaka I, Yamamoto R, Ishida T, Yoshikawa Y, Hasegawa T. 2009. Validation of salivary cortisol and **testosterone assays** in chimpanzees by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *American Journal of Primatology* vol. **71**:696-706.
- Lambert J. 1998. Primate Digestion: Interactions Among Anatomy, Physiology, and Feeding Ecology. *Evolutionary Anthropology* vol. **7**:8-20. Wiley-Liss, Inc.
- Ley R, Peterson D, Gordon J. 2006. Ecological and Evolutionary Forces Shaping Microbial Diversity in the Human Intestine. *Cell* vol. **124**:837-848.
- Liang D, Leung R, Guan W, Au W. 2018. Involvement of gut microbiome in human health and disease: brief overview, knowledge gaps and research opportunities. *Gut Pathogens* vol. **10**:1-9.
- Lima E, Ferrari S. 2003. Diet of a Free-Ranging Group of Squirrel Monkeys (*Saimiri sciureus*) in Eastern Brazilian Amazonia. *Folia Primatologica* vol. **74**:150-158.
- Lutz C, Tiefenbacher S, Jorgensen M, Meyer J, Novak M. 2000. Techniques for Collecting Saliva From Awake, Unrestrained, Adult Monkeys for Cortisol Assay. *American Journal of Primatology* **52**:93-99. Wiley-Liss, Inc.
- Ma C, Liao J, Fan P. 2016. Food selection in relation to nutritional chemistry of Cao Vit gibbons in Jingxi, China. *Primates* vol. **58**:63-74.
- Manh Ha N, Rawson B, Geissmann T, Timmins R. 2008. *Nomascus siki*. The IUCN Red List of Threatened Species. Available from <https://www.iucnredlist.org/species/39896/10272362> (accessed March 2020).
- Marshall A, Boyko C, Feilen K, Boyko R, Leighton M. 2009. Defining fallback foods and assessing their importance in primate ecology and evolution. *American Journal of Physical Anthropology* vol. **140**:603-614.
- McConkey K, Aldy F, Ario A, Chivers D. 2002. Selection of Fruit by Gibbons (*Hylobates muelleri* × *agilis*) in the Rain Forests of Central Borneo. *International Journal of Primatology* vol. **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* vol. **81**:1-15.

- McNeil N. 1984. The contribution of the large intestine to energy supplies in man. *The American Journal of Clinical Nutrition* **vol. 39**:338-342.
- Miller S. 2010. Husbandry Manual for White-Handed Gibbon *Hylobates lar* (Mammalia - Hylobatidae). Western Sydney Institute of TAFE, Richmond.
- Milton K. 1986. Digestive Physiology in Primates. *Physiology* **vol. 1**:76-79.
- Milton K. 1981. Food Choice and Digestive Strategies of Two Sympatric Primate Species. *The American Naturalist* **vol. 117**:496-505.
- Mitani J. 1985. Gibbon Song Duets and Intergroup Spacing. *Behaviour* **vol. 92**:59-96. Brill.
- Moore W, Holdeman L. 1975. Discussion of Current Bacteriological Investigations of the Relationships between Intestinal Flora, Diet, and Colon Cancer. *Cancer research* **35**:3418-3420.
- Mootnick A, Fan P. 2011. A Comparative Study of Crested Gibbons (*Nomascus*). *American Journal of Primatology* **73**:135-154.
- Mootnick A, Groves C. 2005. A New Generic Name for the Hoolock Gibbon (*Hylobatidae*). *International Journal of Primatology* **vol. 26**:971-976.
- Mootnick A. 2006. Gibbon (*Hylobatidae*) Species Identification Recommended for Rescue or Breeding Centers. *Primate Conservation* **vol. 21**:103-138.
- Mootnick et al. 1987 in Cocks L. 2008. Husbandry Manual for the Javan Gibbon (*Hylobates moloch*). Perth Zoo.
- Moser BR, Zheljazkov VD, Bakota EL, Evangelista RL, Gawde A, Cantrell CL, Winkler-Moser JK, Hristov AN, Astatkie T, Jeliaskova E. 2014. Method for obtaining three products with different properties from fennel (*Foeniculum vulgare*) seed. *Industrial Crops and Products* **60**:335-342.
- Möstl E, Rettenbacher S, Paplme R. 2005. Measurement of Corticosterone Metabolites in Birds' Droppings: An Analytical Approach. *Annals of the New York Academy of Sciences* **vol. 1046**:17-34.
- Muller M, Lipson S. 2003. Diurnal patterns of urinary steroid excretion in wild chimpanzees. *American Journal of Primatology* **vol. 60**:161-166.
- Munck A, Guyre P, Holbrook N. 1984. Physiological Functions of Glucocorticoids in Stress and Their Relation to Pharmacological Actions. *Endocrine Reviews* **vol. 5**:25-44.
- Nader N, Chrousos G, Kino T. 2010. Interactions of the circadian CLOCK system and the HPA axis. *Trends in Endocrinology & Metabolism* **vol. 21**:277-286.
- Nahand MK, Doust-Nobar RS, Maheri-Sis N, Ghorbani A. 2011. 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.

- National Research Council . 2003. Feeding Ecology, Digestive Strategies, and Implications for Feeding Programs in Captivity. Pages 5-40 in Nutrient Requirements of Nonhuman Primates: Second Revised Edition. The National Academies Press, Washington.
- National Research Council. 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants. National Academies Press, Washington, D.C.
- Nekaris K. 2005. Foraging behaviour of the slender loris (*Loris lydekkerianus lydekkerianus*): implications for theories of primate origins. *Journal of Human Evolution* **vol. 49**:289-300.
- Nekaris K, Rasmussen D. 2003. Diet and Feeding Behavior of Mysore Slender Lorises. *International Journal of Primatology* **vol. 24**:33-46.
- Oyakawa C, Koda H, Sugiura H. 2007. Acoustic features contributing to the individuality of wild agile gibbon (*Hylobates agilis agilis*) songs. *American Journal of Primatology* **vol. 69**:777-790.
- Palme R. 2005. Measuring Fecal Steroids: Guidelines for Practical Application. *Annals of the New York Academy of Sciences* **vol. 1046**:75-80.
- Parlak AÖ, Gökkuş A. 2011. Forage yield and quality of kermes oak and herbaceous species throughout a year in Mediterranean zone of western Turkey. *Journal of Food Agriculture and Environment* **9**:510-515.
- Pofi R, Tomlinson J. 2019. Glucocorticoids in pregnancy. *Obstetric Medicine* **vol. 13**:62-69.
- Qin J et al. 2010. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* **vol. 464**:59-65.
- Ranabir S, Reetu K. 2011. Stress and hormones. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism* **vol. 15**:18-22.
- Raubenheimer P, Young E, Andrew R, Seckl J. 2006. The role of corticosterone in human hypothalamic-pituitary-adrenal axis feedback. *Clinical Endocrinology* **vol. 65**:22-26.
- Rea K, Dinan T, Cryan J. 2016. The microbiome: A key regulator of stress and neuroinflammation. *Neurobiology of Stress* **vol. 4**:23-33.
- Reeder D, Kramer K. 2005. Stress in Free-ranging mammals: Integrating Physiology, Ecology, and Natural History. *Journal of Mammalogy* **vol. 86**:225-235.
- Reichard U, Barelli C. 2008. Life History and Reproductive Strategies of Khao Yai *Hylobates lar*: Implications for Social Evolution in Apes. *International Journal of Primatology* **vol. 29**:823-844.
- Romero L. 2004. Physiological stress in ecology: lessons from biomedical research. *Trends in Ecology & Evolution* **vol. 19**:249-255.
- Sanders M. 2008. Probiotics: Definition, Sources, Selection, and Uses. *Clinical Infectious Diseases* **vol. 46**:58-61.

- Sapolsky R. 2002. Endocrinology of the Stress Response. Pages 409-450 in J. Becker, S. Breedlove, D. Crews and M. McCarthy, editors. Behavioural Endocrinology. MIT Press, Cambridge (Massachusetts).
- Sartor R. 2008. Microbial Influences in Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology* **vol. 134**:577-594.
- Scott K, Gratz S, Sheridan P, Flint H, Duncan S. 2013. The influence of diet on the gut microbiota. *Pharmacological Research* **vol. 69**:52-60.
- Sears C. 2005. A dynamic partnership: Celebrating our gut flora. *Anaerobe* **vol. 11**:247-251.
- Seckl J, Campbell J, Edwards C, Christie J, Whalley L, Goodwin G, Fink G. 1990. Diurnal variation of plasma corticosterone in depression. *Psychoneuroendocrinology* **vol. 15**:485-488.
- Sherasia PL, Garg MR, Bhandari BM. 2017. Beans. 7-54 in Pulses and their by-products as animal feed. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Sharma RK, Singh B, Sahoo A. 2008. Exploring feeding value of oak (*Quercus incana*) leaves: Nutrient intake and utilization in calves. *Livestock Science* **118**:157-165.
- Sheriff M, Dantzer B, Delehanty B, Palme R, Boonstra R. 2011. Measuring stress in wildlife: techniques for quantifying glucocorticoids. *Oecologia* **vol. 166**:869-887.
- Schultz A. 1969. Origin and Distribution of Primates in Time and Space. Pages 35-42 in *The Life of Primates* edition.. Unwin Bros. Ltd., Woking.
- Simon G, Gorbach S. 1984. Intestinal flora in health and disease. *Gastroenterology* **vol. 86**:174-193.
- Song KH, Woo JS, Kim JR, Ryu GL, Baek YC, Oh YK, Kwak WS, Park KK. 2020. Nutritional value and in situ degradability of fruit-vegetable byproducts and their feeding effects on performance of growing Hanwoo steers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* **33**:973-980.
- Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank. 2019. Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank. medpharm Scientific Publishers. Available from <https://www.sfk.online/#/home> (accessed April 2020).
- St Laurent. Leaf-eating monkeys Old and New World. La Chapelle Saint-Laurent. Available at [https://www.st-laurent.fr/img/cms/FT%20Mammiferes%20-%20Anglais/English%20Saint%20Laurent%20Singes%20FOLIVORES%20AM%20et%20NM%20\(300033\)%20with%20insects.pdf](https://www.st-laurent.fr/img/cms/FT%20Mammiferes%20-%20Anglais/English%20Saint%20Laurent%20Singes%20FOLIVORES%20AM%20et%20NM%20(300033)%20with%20insects.pdf) (accessed July 20, 2020).
- Sterling E, Dierenfeld E, Ashbourne C, Feistner A. 1994. Dietary Intake, Food Composition and Nutrient Intake in Wild and Captive Populations of *Daubentonia madagascariensis*. *Folia Primatologica* **vol. 62**:115-124.
- Sudo N, Chida Y, Aiba Y, Sonoda J, Oyama N, Yu X, Kubo C, Koga Y. 2004. Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *The Journal of Physiology* **vol. 558**:263-275.

- Terleph T, Malaivijitnond S, Reichard U. 2016. Age related decline in female lar gibbon great call performance suggests that call features correlate with physical condition. *BMC Evolutionary Biology* **vol. 16**:1-13.
- Terleph T, Malaivijitnond S, Reichard U. 2015. Lar gibbon (*Hylobates lar*) great call reveals individual caller identity. *American Journal of Primatology* **vol. 77**:811-821.
- The European Association of Zoos and Aquaria. 2018. The European Association of Zoos and Aquaria: Annual Report 2018.
- The European Association of Zoos and Aquaria. 2019. TAG Reports 2018.
- The Gibbon Species Survival Plan (SSP). (n.d.). Gibbon genus list. Available from <https://static1.squarespace.com/static/596fcdfad482e9ea3a5788c9/t/5bb91b3e4785d317a3e8387c/1538857790885/Gibbon+genus+list+-+Google+Docs.pdf> (accessed July 2020).
- Thinh V, Mootnick A, Thanh V, Nadler T, Roos C. 2010. A new species of crested gibbon, from the central Annamite mountain range. *Vietnamese Journal of Primatology* **4**:1-12.
- Tiefenbacher S, Lee B, Meyer J, Spealman R. 2003. Noninvasive technique for the repeated sampling of salivary free cortisol in awake, unrestrained squirrel monkeys. *American Journal of Primatology* **vol. 60**:69-75.
- Touma C, Sachser N, Möstl E, Palme R. 2003. Effects of sex and time of day on metabolism and excretion of corticosterone in urine and feces of mice. *General and Comparative Endocrinology* **vol. 130**:267-278.
- Trhoň V. Složení granulí [elektornická pošta] [cit. 2020-07-20]
- Vokurková J. Fwd: DP giboni_mikrobiom [elektornická pošta]. 9. února 2019 [cit. 2020-07-20]
- Wang S, Terranova M, Kreuzer M, Marquardt S, Eggenschwiler L, Schwarm A. 2018. Supplementation of Pelleted Hazel (*Corylus avellana*) Leaves Decreases Methane and Urinary Nitrogen Emissions by Sheep at Unchanged Forage Intake. *Scientific Reports* **8**:1-10.
- Wasser S, Risler L, Steiner R. 1988. Excreted Steroids in Primate Feces Over the Menstrual Cycle and Pregnancy. *Biology of Reproduction* **vol. 39**:862-872.
- Whitman W, Coleman D, Wiebe W. 1998. Prokaryotes: The unseen majority. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **vol. 95**:6578-6583.
- Wingfield J, Romero L. 2011. Adrenocortical responses to stress and their modulation in free-living vertebrates. Pages 211-234 in *Comprehensive Physiology*.
- Wolfensohn S, Honess P. 2005. Nutrition. Pages 43-59 in S. Wolfensohn and P. Honess, editors. *Handbook of Primate Husbandry and Welfare*. Blackwell Publishing, Oxford, UK.
- Zia-ur-Rehman Z, Islam M, Shah WH. 2003. Effect of microwave and conventional cooking on insoluble dietary fibre components of vegetables. *Food Chemistry* **80**:237-240.

Ziegler T, Matteri R, Wegner F. 1993. Detection of urinary gonadotropins in callitrichid monkeys with a sensitive immunoassay based upon a unique monoclonal antibody. *American Journal of Primatology* **vol. 31**:181-188.

Seznam použitých zkratek a symbolů

ACTH	adrenokortikotropní hormon
ADF	acidodetergentní vláknina
ANOVA	analýza rozptylu
AZA	Asociace zoologických zahrad a akvárií
BMI	index tělesné hmotnosti
CR	kriticky ohrožený druh
CRH	kortikoliberin
DM	sušina
EAZA	Evropská asociace zoologických zahrad a akvárií
EEP	Evropský záchovný program
EN	ohrožený druh
FSH	folikulostimulační hormon
GnRH	gonadotropin
ITIS	Integrated Taxonomic Information System
IUCN	Mezinárodní svaz ochrany přírody
KD	krmná dávka
LH	luteinizační hormon
MTP	mikrotitrační destička
NDF	neutrálně detergentní vláknina
NE	nevyhodnocený taxon
OTU	operační taxonomická jednotka
OWM	starosvětští primáti
SCFA	mastné kyseliny s krátkým řetězcem
SFK	Souci-Fachmann-Kraut databáze
USCZOO	Unie českých a slovenských zoologických zahrad
VFA	těkavé mastné kyseliny

WAZA Světová asociace zoologických zahrad a akvárií
WSC rozpustné sacharidy

Samostatné přílohy

Příloha 1: Potrava gibonů žlutolících v přírodě (převzato a upraveno dle Bach et al. 2017)

Druh	Forma	Části	rel. zastoupení	Druh	Forma	Části	rel. zastoupení
<i>Spondias pinnata</i>	S	ovoce, mladé listy	0.23	<i>Lagerstroemia ovalifolia</i>	S	ovoce, mladé listy	7.91
<i>Baccaurea ramiflora</i>	S	ovoce	0.31	<i>Grewia tomentosa</i>	S	ovoce	2.61
<i>Semecarpus reticulata</i>	S	ovoce	0.30	<i>Aglaia cf. hiernii</i>	S	ovoce	0.49
<i>Dracontomelon dao</i>	S	ovoce	5.06	<i>Albiza myriophylla</i>	S	mladé listy	0.05
<i>Mangifera cf. dongnaiensis</i>	S	ovoce, mladé listy	0.12	<i>Artocarpus lakoocha</i>	S	ovoce	0.05
<i>Alphonsea gaudichaudiana</i>	S	ovoce	0.62	<i>Ficus altissima</i>	S/H	ovoce	0.41
<i>Uvaria cf. hamiltonii</i>	L	ovoce	0.40	<i>Ficus depressa</i>	S/H	ovoce	0.10
<i>Uvaria cf. boniana</i>	L	ovoce	0.22	<i>Ficus kurzii</i>	S/H	ovoce, mladé listy	6.66
<i>Uvaria cf. javana</i>	L	ovoce	0.10	<i>Ficus sumatrana</i>	S/H	ovoce	3.16
<i>Mitrephora thorelii</i>	S	ovoce	0.44	<i>Ficus cf. costata</i>	S/H	ovoce, mladé listy	3.39
<i>Willughbeia edulis</i>	L	ovoce	0.00	<i>Ficus subcordata</i>	S/H	ovoce	0.59
<i>Raphistemma pulchellum</i>	L	listy, květy	4.27	<i>Ficus superba var. japonica</i>	S/H	ovoce	0.10
<i>Hoya cf. verticillata</i>	L	listy, květy	1.53	<i>Ficus benjamina</i>	S/H	ovoce, mladé listy	6.09
<i>Parabarium sp.</i>	L	zralé listy	1.87	<i>Ficus cf. capillipes</i>	S/H	ovoce	0.04
<i>Melodinus yunnanensis</i>	L	ovoce	0.30	<i>Artocarpus chaplasha</i>	S	ovoce	0.14
<i>Pothos scandens</i>	E	mladé listy, pupeny, květy	5.71	<i>Ficus racemosa</i>	S	ovoce	1.14
<i>Epipremnum giganteum</i>	E	mladé listy, řapíky, kořeny	0.44	<i>Ficus cf. consociate</i>	S	ovoce	0.00
<i>Calamus flagellum</i>	L	ovoce	2.98	<i>Knema lenta</i>	S	ovoce	0.68
<i>Bambusa blumeana</i>	S	mladé listy, pupeny, výhonky	0.03	<i>Olax scandens</i>	L	ovoce	0.11
<i>Stereospermum neuranthum</i>	S	YL,FL	0.71	<i>Acampe papillosa</i>	E	květy	0.63
<i>Canarium album</i>	S	ovoce	0.00	<i>Bulbophyllum rufinum</i>	E	květy, mladé listy	0.42
<i>Ochrocarpus siamensis</i>	S	ovoce	1.46	<i>Otochilus prorrectus</i>	E	květy, mladé listy	0.37
<i>Stixis scandens</i>	L	ovoce	0.22	<i>Drynaria quercifolia</i>	E	mladé listy, pupeny	0.03
<i>Siphonodon celastrineus</i>	S	ovoce	0.10	<i>Zizyphus oenoplia</i>	L	ovoce	0.05
<i>Parinari annamensis</i>	S	ovoce	0.11	<i>Carallia brachiata</i>	S	ovoce	2.15
<i>Garcinia cowa</i>	S	ovoce, mladé listy	1.50	<i>Rothmannia eucodon</i>	S	ovoce	4.54
<i>Garcinia cf. ferrea</i>	S	ovoce	0.22	<i>Casearia sp.</i>	S	ovoce	0.55
<i>Garcinia oliveri</i>	S	ovoce	2.87	<i>Nephelium hypoleucum</i>	S	ovoce	0.21
<i>Garcinia cf. delpyana</i>	S	ovoce, mladé listy	0.04	<i>Xerospermum noronhianum</i>	S	ovoce	0.97
<i>Diospyros cf. sumatrana</i>	S	ovoce, mladé listy	6.13	<i>Sphenodesma pierrei</i>	L	ovoce	1.18
<i>Acacia cf. comosa.</i>	L	zralé listy	0.30	<i>Sphenodesma thorelii</i>	L	květy, mladé listy	9.80
<i>Azelia xylocarpa</i>	S	mladé listy	3.04	Unidentified 1	L	ovoce	1.87
<i>Fagraea auriculata</i>	E	ovoce, mladé listy	0.59	Unidentified 2	L	ovoce	0.03
<i>Beilschmiedia roxburghiana</i>	S	ovoce	0.03	Unidentified 3	L	ovoce	0.04
<i>Strychnos dongnaiensis.</i>	L	ovoce	0.55				

Příloha 2: Druhy rostlin konzumovaných gibony černochocholátky
v přírodě a jejich složení z hlediska ADF a NDF
(převzato a upraveno dle Ma et al. 2016)

Druh	Část	Důležitost	NDF[% DM]	ADF[% DM]
<i>Acer paxi</i>	List	NE	39.97	32.81
<i>Acer tonkinense</i>	List	NE	26.39	18.79
<i>Artocarpus hypargyreus</i> ^a	Ovoce	nizká	46.38	32.57
<i>Bauhinia rubro-villosa</i>	Květy	nizká	47.25	41.59
<i>Bridelia fordii</i>	Ovoce	NE	54.77	46.63
<i>Bridelia fordii</i>	List	NE	35.01	20.72
<i>Broussonetia papyrifera</i> ^a	Květy	vysoká	18.52	11.68
<i>Broussonetia papyrifera</i> ^a	Ovoce	vysoká	41.57	30.14
<i>Broussonetia papyrifera</i> ^a	List	vysoká	23.42	12.30
<i>Burretiodendron hsienmu</i>	Pupen	nizká	31.53	24.51
<i>Burretiodendron hsienmu</i>	List	nizká	57.84	39.20
<i>Canavalia cathartica</i>	Ovoce	NE	68.94	34.25
<i>Cephalomappa sinensis</i>	List	vysoká	44.59	36.19
<i>Choerospondias axillaris</i> ^a	Ovoce	vysoká	20.13	9.90
<i>Cinnamomum saxatile</i>	List	NE	62.07	42.34
<i>Cudrania cochinchinensis</i>	Ovoce	nizká	12.93	6.64
<i>Cuscuta chinensis</i>	Pupen	nizká	55.79	45.40
<i>Debregeasia longifolia</i>	Ovoce	NE	33.95	27.27
<i>Dioscorea opposita</i>	Ovoce	nizká	71.03	56.75
<i>Diospyros kaki</i> var. <i>silvestris</i> ^a	Ovoce	nizká	23.83	21.32
<i>Embelia scandens</i>	Ovoce	nizká	66.91	53.22
<i>Embelia subcoriacea</i>	Ovoce	nizká	54.59	39.78
<i>Embelia subcoriacea</i>	Listy	nizká	34.66	24.31
<i>Ficus auriculata</i>	Fik	nizká	47.95	42.52
<i>Ficus cyrtophylla</i>	Fik	nizká	20.43	15.25
<i>Ficus gibbosa</i>	Fik	nizká	61.86	41.70
<i>Ficus glaberrima</i> ^a	Fik	vysoká	51.74	43.62
<i>Ficus glaberrima</i> ^a	Listy	nizká	43.38	29.29
<i>Ficus hookeriana</i> ^a	Pupen	nizká	53.30	42.65
<i>Ficus hookeriana</i> ^a	Fik	vysoká	47.96	37.91
<i>Ficus microcarpa</i>	Fik	vysoká	59.04	48.32
<i>Ficus virens</i>	Fik	nizká	57.49	50.61
<i>Garcinia bracteata</i>	Ovoce	nizká	53.95	33.91
<i>Iodes vitiginea</i>	Ovoce	vysoká	29.22	21.41
<i>Iodes vitiginea</i>	List	nizká	44.94	31.45
<i>Itoa orientalis</i>	List	NE	40.14	25.65
<i>Kadsura coccinea</i>	Ovoce	nizká	62.99	32.31
<i>Lagerstroemia suprareticulata</i>	Pupen	NE	20.82	9.50
<i>Lagerstroemia suprareticulata</i>	List	NE	33.65	20.79
<i>Mallotus conspurcatus</i>	Ovoce	NE	63.60	49.68

Příloha 3: Druhy rostlin konzumovaných gibony
černochocholaty v přírodě a jejich složení
z hlediska ADF a NDF, část 2
(převzato a upraveno dle Ma et al. 2016)

Druh	Část	Důležitost	NDF [% DM]	ADF [% DM]
<i>Mitrephora maingayi</i> ^a	Ovoce	nizká	42.01	36.33
<i>Oreocnide frutescens</i>	Ovoce	nizká	38.06	27.84
<i>Pavetta hongkongensis</i>	List	NE	40.42	29.04
<i>Platycarya longipes</i>	Pupen	NE	22.92	16.75
<i>Platycarya longipes</i>	List	NE	51.55	40.68
<i>Quercus chingsiensis</i>	List	NE	54.01	41.46
<i>Quercus glauca</i>	List	nizká	58.89	47.49
<i>Radermachera hainanensis</i>	Květy	nizká	59.72	41.89
<i>Radermachera hainanensis</i>	Ovoce	nizká	45.03	33.85
<i>Rapanea kwangsiensis</i>	Ovoce	nizká	63.53	39.20
<i>Rhaphidophora lancifolia</i>	List	nizká	54.92	54.48
<i>Rhus chinensis</i>	Ovoce	NE	64.67	49.20
<i>Saurauia thyrsoiflora</i>	Ovoce	vysoká	41.39	35.34
<i>Saurauia trisyala</i>	Ovoce	nizká	16.28	12.18
<i>Saurauia trisyala</i>	List	NE	60.17	51.55
<i>Schefflera delavayi</i>	Pupen	NE	38.71	27.34
<i>Schefflera minutistellata</i>	Pupen	NE	38.01	32.62
<i>Schefflera minutistellata</i>	Ovoce	nizká	56.96	42.06
<i>Scurrula parasitica</i>	Ovoce	vysoká	56.95	39.72
<i>Spondias lakonensis</i> ^a	Ovoce	vysoká	24.50	19.11
<i>Tetradium calcicola</i>	Ovoce	NE	53.03	44.57
<i>Tetrastigma delavayi</i>	Ovoce	nizká	43.99	36.05
<i>Tetrastigma kwangsiense</i>	Ovoce	nizká	18.95	12.45
<i>Tetrastigma pubinerve</i> ^a	Pupen	nizká	35.76	28.14
<i>Tetrastigma pubinerve</i> ^a	Ovoce	nizká	37.42	21.94
<i>Tetrastigma pubinerve</i> ^a	List	vysoká	42.91	34.85
<i>Trichosanthes kirilowii</i>	List	vysoká	34.14	20.63
<i>Trichosanthes baviensis</i>	Ovoce	NE	60.16	45.28
<i>Trichosanthes truncata</i>	Ovoce	NE	53.78	40.04
<i>Ziziphus mauritiana</i> ^a	Ovoce	nizká	14.90	9.67

Příloha 4: Seznam komodit, které byly využity pro výpočty KD a jejich složení

Komodita	DM [%]	Bílkovina [% DM]	ADF [% DM]	NDF [% DM]	Zdroj
Mazuri OWM	90,00	16,21	11,47	17,40	(Trhoň pers. comm.)
St. Laurent	91,00	20,00	14,20	22,80	(St Laurent)
vařená sója	37,08	8,90	2,68	4,81	(Banaszkiewicz 2011)
vařené fazole	26,60	7,45	1,96	5,57	(Sherasia et al. 2017; "Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
batáty	30,80	1,63	1,63	1,51	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
vařené brambory	22,20	2,04	0,74	0,96	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
buk lesní	36,30	6,24	18,15	23,60	(Bolechová et al. 2017)
dub (letní)	59,50	19,58	18,15	24,34	(Sharma et al. 2008; Parlak & Gökkuş 2011; Bolechová et al. 2017)
habr obecný	62,00	0,10	27,16	31,93	(National Research Council 2007)
jetel	17,43	3,45	5,16	6,98	(Koukolová et al. 2010)
jíva	33,80	5,37	6,79	13,35	(Bolechová et al. 2017)
líška obecná	37,30	4,63	11,45	18,09	(Wang et al. 2018; Bolechová et al. 2017)
tráva					
třešeň ptačí	40,40	1,22	8,87	12,24	(Nahand et al. 2012; Emile et al. 2020)
ananas	15,10	0,46	0,15	0,84	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
banán	26,10	1,15	0,62	1,20	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
bluma (ryngle)	19,30	0,79	1,38	0,87	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
broskev	12,70	0,76	0,78	1,14	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
gřep	11,60	0,60	0,54	1,06	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
hroznové víno	18,90	0,68	0,21	1,29	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
hruška	17,10	0,47	0,61	2,66	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
jablko	15,10	0,34	0,48	1,54	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
jahoda	10,50	0,82	0,58	1,05	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
kiwi	17,00	1,00	0,59	1,53	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
mango	18,00	0,60	0,63	1,07	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)

Príloha 5: Seznam komodit, ktoré byly využity pro výpočty KD a jejich složení, část 2

Komodita	DM [%]	Bílkovina [% DM]	ADF [% DM]	NDF [% DM]	Zdroj
meruňka	14,70	0,90	0,71	0,83	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
nektarinka	12,70	0,76	0,78	1,14	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
pomeranč	14,30	1,00	0,60	1,00	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
třešně	17,20	0,90	0,50	0,81	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
višně	17,20	0,90	0,50	0,81	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
vodní meloun	9,70	0,60	0,02	0,20	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
žlutý meloun	14,04	1,04	2,48	3,17	(Kazemi et al. 2019)
brokolice	11,50	3,78	1,30	1,70	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
celer	7,20	1,20	0,98	1,57	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
celer natě	7,70	1,66	0,27	1,84	(Feedipedia © 2012-2019)
cibule	8,80	1,18	0,29	1,52	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
cuketa	4,00	1,00	0,41	0,60	(National Research Council 2007)
čekanka	5,90	1,22	0,37	0,89	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
čínské zelí	6,25	1,26	1,12	1,80	(Song et. al 2020)
endivie	7,40	1,75	0,18	1,04	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
fenykl	7,60	1,40	1,88	3,27	(Moser et al. 2014; "Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
kedluben	8,40	1,94	0,48	0,96	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
květák	9,00	2,46	0,49	2,43	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
lilek	7,40	1,24	1,41	1,41	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
mrkev	11,80	0,98	1,74	1,89	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
okurka	4,00	0,60	0,15	0,39	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
paprika	5,00	0,89	0,85	0,89	(National Research Council 2007)
petržel	12,00	2,88	2,14	2,53	(National Research Council 2007)
pórek	13,90	2,14	0,52	1,75	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
rajče	5,80	0,95	0,22	0,73	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)

Příloha 6: Seznam komodit, které byly využity pro výpočty KD a jejich složení, část 3

Komodita	DM [%]	Bílkovina [% DM]	ADF [% DM]	NDF [% DM]	Zdroj
řapíkatý celer	11,4	0,7	0,55	3,68	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
ředkvičky	3,80	0,60	1,22	1,68	(Zia-ur-Rehman et al. 2003; "Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
řepa (červená)	11,20	1,30	0,48	2,05	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
salát hlávkový	5,70	1,19	0,20	1,24	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
salát kadeřavý	7,00	1,23	0,99	1,23	(National Research Council 2007)
salát ledový	6,51	2,46	1,30	1,70	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
salát římský	5,10	1,60	1,00	1,10	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
špenát	8,80	2,81	1,36	1,22	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
kuřecí maso	29,60	22,20	0,00	0,00	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)
vejce	25,30	12,50	0,00	0,00	("Souci-Fachmann-Kraut-Datenbank" 2019)

Příloha 7: KD Zoo Olomouc před změnou

1. týden	2. týden	3. týden	4. týden
OWM granule 120 g	OWM granule 120 g	OWM granule 120 g	OWM granule 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 Grep 124 g Mango 142 g Ananas 78 g Kiwi 40 g Nektarinky 24 g Hrozny 46 g Třešně 124 g
Vejce 2 ks	Vejce 3 ks	Vejce 3 ks	Vejce 3 ks
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 Paprika 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 Paprika 228 g Okurka 188 g Kedluben 132 g	Rajčata 792 g Mrkev 210 g Salát 120 g Petržel 178 g Fenykl 114 g Celerové natě 40 g Kedluben 68 g Papriky 328 g	Čer. paprika 190 g Červená 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 Rajče 72 g Mrkev 306 g Kedluben 150 g
Líska, dub	Líska	Vrba jíva, tráva, jetel	Vrba jíva

Příloha 8: KD Zoo Olomouc před změnou, část 2

5. týden	6. týden	7. týden	8. týden
OWM granule 120 g	OWM granule 120 g	OWM granule 120 g	OWM granule 120 g
Vodní meloun 262 g Jablka 360 g Nektarinky 288 g Kiwi 56 g	Jablka 246 g Vodní meloun 190 g Kiwi 214 g Hrušky 70 g Broskve 102 g Hrozny 34 g Višně 94 ks	Broskev 152 g Kiwi 152 g Jablka 360 g Nektarinka 146 g Hrušky 140 g	Jablka 240 g Hrušky 260 g Blumy 234 g Nektarinky 68 g Pomeranče 62 g Ananas 90 g
Vejde 3 ks	Vejde 3 ks	Vejde 3 ks	Fazole 300 g
Žlutý meloun 200 g Celer 50 g Kedluben 90 g Ledový salát 90 g Mrkev 400 g Řepa 130 g Paprika 200 g Rajčata 80 g Petržel 150 g Cibule 105 g Lilek 105 g	Mrkev 776 g Ledový salát 156 g Paprika 390 g Ředkvičky 70 g Rajčata 274 g Řepa 90 g Petržel 50 g Kedluben 46 g	Řepa 570 g Petržel 108 g Ledový salát 172 g Kedluben 120 g Paprika 286 g Okurka 82 g Rajčata 260 g Celer 224 g	Celer 208 g Okurka 380 g Petržel 204 g Rajče 270 g Čer. Paprika 282 g Mrkev 194 g Řepa 38 g Fenykl 50 g Květák 170 g Čínské zelí 72 g
Třešeň	Dub	Třešeň	Habr

Příloha 9: KD Zoo Olomouc po změně

1. týden	2. týden	3. týden	4. týden
OWM granule 180 g	OWM granule 180 g	OWM granule 180 g	OWM granule 180 g
Broskve	Broskve	Broskve	Broskve
Mango	Ananas	Hrozný	Jablka
Jablka	Jablka	Jablka	Pomeranče
Pomeranče	Blumy	Pomeranče hrušky	Hrušky
Hrušky			
Celkem 300 g	Celkem 250 g	Celkem 300 g	Celkem 320 g
Vejce 3 ks	Vejce 3 ks	Vejce 3 ks	Vejce 3 ks
Mrkev	Mrkev	Mrkev	Mrkev
Okurka	Okurka	Okurka	Okurka
Zelená paprika	Zelená paprika	Červená Paprika	Červená Paprika
Řepa	Petržel	Řepa	Řepa
Cuketa	Ledový salát	Ledový salát	Ledový salát
Ledový salát	Čekanka bílá	Řapíkatý celer	Petržel
Čekanka bílá	Mix salát (hlávkový, ledový, římský, štěrbák)	Mix salát (hlávkový, ledový, římský, štěrbák)	Mix salát (hlávkový, ledový, římský, štěrbák)
Mix salát (hlávkový, ledový, římský, štěrbák)	Rajče	Ředkvička	Ředkvička
Ředkvička	Řapíkatý celer	Rajče	Rajče
Rajče	Celer		
Celkem 1900 g	Celkem 1500 g	Celkem 1900 g	Celkem 2000 g
Vrba jíva	Třešeň	Dub	Vrba jíva

Příloha 10: KD Zoo Olomouc po změně, část 2

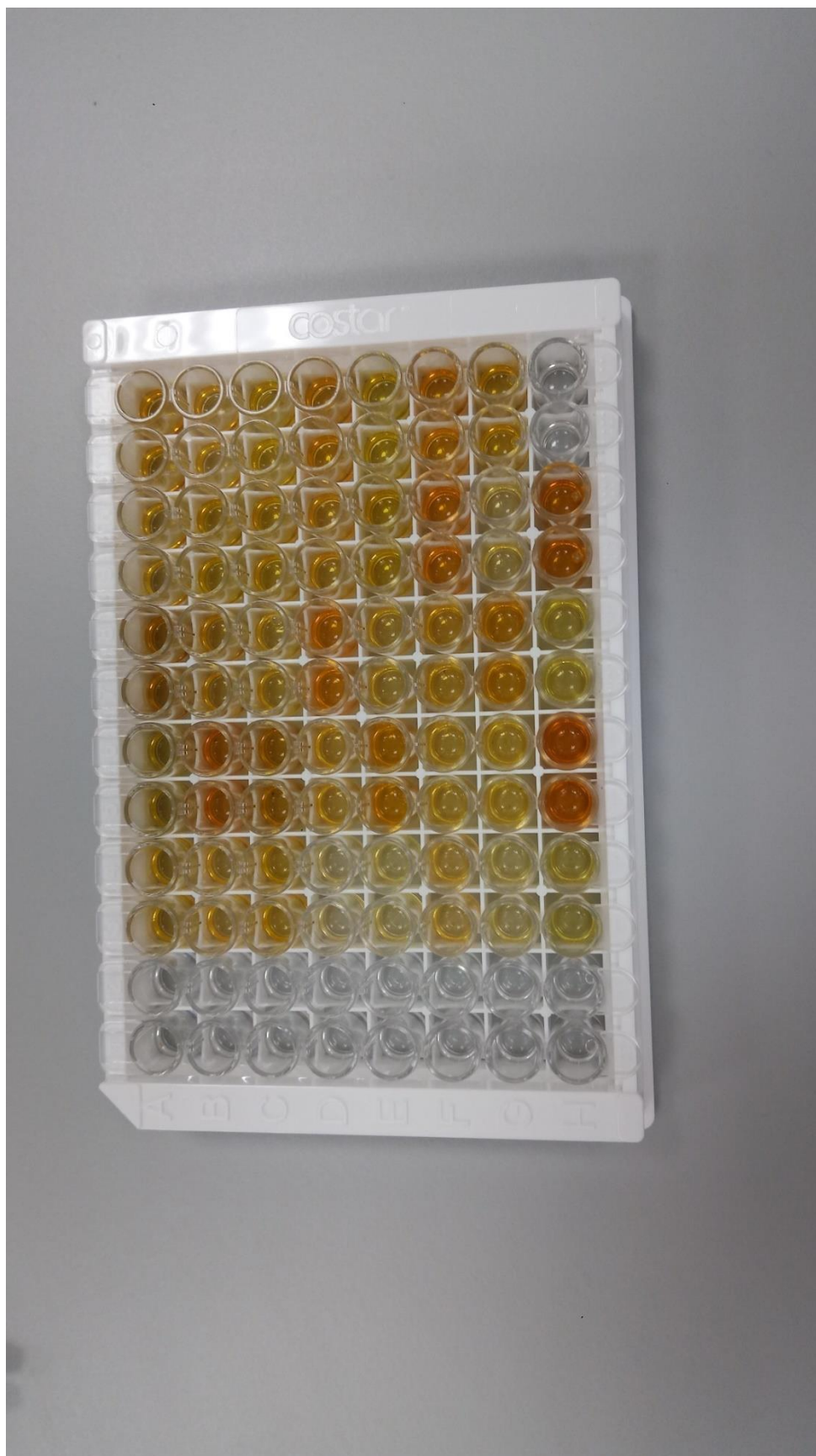
5. týden	6. týden	7. týden	8. týden
OWM granule 180 g	OWM granule 180 g	OWM granule 180 g	OWM granule 180 g
Mango	Nektarinky	Pomeranče	Pomeranče
Broskve	Jablka	Jablka	Jablka
Jablka	Hrozny	Hrušky	Hrušky
Kiwi	Blumy	Blumy	Blumy
Celkem 310 g	Celkem 320 g	Celkem 320 g	Celkem 320 g
Vejce 3 ks	Vejce 3 ks	Vejce 3 ks	Vejce 3 ks
Okurka	Okurka	Okurka	Okurka
Červená paprika	Petržel	Petržel	Petržel
Cuketa	Mrkev	Mrkev	Mrkev
Ředkvičky	Salát	Salát	Salát
Mrkev	Mix salát (hlávkový, ledový, římský, štěrbák)	Mix salát (hlávkový, ledový, římský, štěrbák)	Salát kadeřavý
Salát	Ledový salát	Ledový salát	Ledový salát
Mix salát (hlávkový, ledový, římský, štěrbák)	Žlutý meloun	Žlutý meloun	Žlutý meloun
Ledový salát	Kedluben	Červená paprika	Čínské zelí
Pórek	Římský salát	Římský salát	Celer
	Špenát	Celer	Červená paprika
Celkem 1900 g	Celkem 2000 g	Celkem 2000 g	Celkem 2000 g
Vrba jíva	Buk	Dub	Dub

Příloha 11: Tabulka složení potravy a koncentrace kortikosteronu před změnou KD

Zoo	Druh	Pohlaví	Jméno	Typ KD	Bílkovina [% DM]	ADF [% DM]	NDF [% DM]	Kortikosteron [pg.ng-1]
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samec	Matej	pred	11,51	9,01	15,19	6,65
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samice	WenWen	pred	11,51	9,01	15,19	4,35
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samec	Matej	pred	13,17	8,81	15,32	13,36
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samice	WenWen	pred	13,17	8,81	15,32	18,53
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samec	Matej	pred	14,5	8,59	14,47	8,22
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samice	WenWen	pred	14,5	8,59	14,47	13,37
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samec	Matej	pred	13,17	8,81	15,32	0,87
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samice	WenWen	pred	13,17	8,81	15,32	18,23
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samec	Matej	pred	11,51	9,01	15,19	1,44
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samice	WenWen	pred	11,51	9,01	15,19	16,23
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samec	Matej	pred	11,51	9,01	15,19	19,37
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samice	WenWen	pred	11,51	9,01	15,19	9,4
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samec	Matej	pred	13,17	8,81	15,32	15,71
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samice	WenWen	pred	13,17	8,81	15,32	5,17
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samec	Matej	pred	11,51	9,01	15,19	1,79
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samice	WenWen	pred	11,51	9,01	15,19	1,36
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samice	Rony	pred	16,68	15,02	22,78	3,58
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samec	Tony	pred	16,68	15,02	22,78	7,56
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samice	Rony	pred	15,42	13,14	21,21	5,49
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samec	Tony	pred	15,42	13,14	21,21	9,45
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samice	Rony	pred				4,68
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samec	Tony	pred				2,73
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samice	Rony	pred	14,83	10,6	18,35	4,67
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samec	Tony	pred	14,83	10,6	18,35	6,01
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samice	Rony	pred	12,57	12,05	17,61	8,13
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samec	Tony	pred	12,57	12,05	17,61	16,76
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samice	Rony	pred	19,99	15,15	21,34	4,36
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samec	Tony	pred	19,99	15,15	21,34	8,77
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samice	Rony	pred	13,1	10,67	17,87	3,29
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samec	Tony	pred	13,1	10,67	17,87	3,31
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samice	Rony	pred	10,73	18,66	26,14	13,05
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samec	Tony	pred	10,73	18,66	26,14	14,62

Příloha 12: Tabulka složení potravy a koncentrace kortikosteronu po změně KD

Zoo	Druh	Pohlaví	Jméno	Typ KD	Bílkovina [% DM]	ADF [% DM]	NDF [% DM]	Kortikosteron [pg.ng-1]
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samec	Matej	po	16,03	10,82	18,32	7,73
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samice	WenWen	po	16,03	10,82	18,32	13,48
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samec	Matej	po	14,47	11,38	18,64	11,51
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samice	WenWen	po	14,47	11,38	18,64	11,21
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samec	Matej	po	16,03	10,82	18,32	4,58
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samice	WenWen	po	16,03	10,82	18,32	12,37
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samec	Matej	po	14,47	11,38	18,64	4,52
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samice	WenWen	po	14,47	11,38	18,64	5,4
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samec	Matej	po	16,03	10,82	18,32	7,95
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samice	WenWen	po	16,03	10,82	18,32	17,81
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samec	Matej	po	14,47	11,38	18,64	7,8
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samice	WenWen	po	14,47	11,38	18,64	2,86
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samec	Matej	po	16,03	10,82	18,32	1,85
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samice	WenWen	po	16,03	10,82	18,32	2,02
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samec	Matej	po	16,03	10,82	18,32	2,18
Liberec	<i>N. leucogenys</i>	samice	WenWen	po	16,03	10,82	18,32	1,97
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samice	Rony	po	20,17	13,13	23,02	10,76
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samec	Tony	po	20,17	13,13	23,02	14,39
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samice	Rony	po	17,16	14,17	21,83	18,23
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samec	Tony	po	17,16	14,17	21,83	10,67
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samice	Rony	po	24,35	17,1	26,29	9,88
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samec	Tony	po	24,35	17,1	26,29	3,51
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samice	Rony	po	20,19	12,11	13,54	5,80
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samec	Tony	po	20,19	12,11	13,54	11,96
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samice	Rony	po	20,29	13,07	22,75	10,69
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samec	Tony	po	20,29	13,07	22,75	14,41
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samice	Rony	po	20,82	19,93	27,75	14,96
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samec	Tony	po	20,82	19,93	27,75	12,22
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samice	Rony	po	24,62	17,94	25,58	8,27
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samec	Tony	po	24,62	17,94	25,58	12,05
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samice	Rony	po	23,75	17,97	25,63	5,03
Olomouc	<i>N. gabriellae</i>	samec	Tony	po	23,75	17,97	25,63	15,83



Příloha 13: Potažená titrační mikrodestička se standardy kortikosteronu a vzorky