

Univerzita Hradec Králové
Přírodovědecká fakulta
Katedra biologie

Některé případy herbivorie ryb v České republice

Disertační práce

Autor: Tomáš Zapletal

Studijní program: Biologie D

Studijní obor: Aplikovaná biologie a ekologie (DR-BI)

Vedoucí práce: RNDr. Michal Andreas, Ph.D.

Hradec Králové

leden 2019

Zadání disertační práce

Autor:	Ing. Tomáš Zapletal, Ph.D.
Studium:	S15BI001DK
Studijní program:	P1501 Biologie
Studijní obor:	Aplikovaná biologie a ekologie
Název disertační práce:	Některé případy herbivorie ryb v České republice
Název disertační práce AJ:	Some cases of fish herbivory in the Czech Republic

Cíl, metody, literatura, předpoklady:

Cílem předložené práce je ověření následujících hypotéz: 1. Takzvaná "herbivorie" karnivorních druhů ryb je způsobena náhodnou konzumací rostlinné hmoty, která je pouze matricí pro přisedlé živočišné komponenty s kterými je pak požírána. 2. Potravní aktivita amura bílého má za následek průkazné snížení početnosti vodních makrofyt v umělých vodních kanálech. 3. Perlín ostrobřichý konzumuje vodní cévnaté rostliny v souvislosti s jejich pokrytím vláknitými řasami a neomezuje tudíž rozvoj zvláště chráněného rdestu ostrolistého.

Coops H., Kerkum F. C. M., Van den Berg M. S. & Van Splunder I. 2007: Submerged macrophyte vegetation and the European Water Framework Directive: assessment of status and trends in shallow, alkaline lakes in the Netherlands. *Hydrobiologia* 584: 395-402. DOI 10.1007/s10750-007-0586-9
Grulich v. & Vydrová a. 2006: Metodika odběru a zpracování vzorků makrofyt stojatých vod. VÚV TGM, 13 pp.
Natarajan A.V. & Jhingran A.G., 1961: Index of preponderance a method of grading the food elements in the stomach analysis of fishes. *Indian Journal of Fisheries* 8: 54 - 59.
Pivnička K., 1981: *Ekologie ryb: odhady základních parametrů charakterizujících rybí populace*. SPN Praha, 1. ed., 251 pp.

Anotace:

Herbivorie sladkovodních ryb je ve většině případů způsobena jejich fyziologickými a nutričními požadavky. Býložravé ryby konzumují rostlinnou biomasu záměrně. Těmito druhy jsou např. amur bílý a perlín ostrobřichý. Na druhé straně ryby nesespecializované na příjem rostlinné potravy jako například lososovitě ryby, nebo okoun říční mohou za určitých situací konzumovat rostliny. U těchto ryb však konzumace vodních makrofyt není důsledkem pokrytí přímých nutričních nároků.

Garantující pracoviště:	Katedra biologie, Přírodovědecká fakulta
Vedoucí práce:	RNDr. Michal Andreas, Ph.D.
Oponent:	prof. Ing. Lukáš Kalous, Ph.D.
Datum zadání závěrečné práce:	23.10.2015

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem dizertační práci vypracoval samostatně a že jsem v seznamu použité literatury uvedl všechny prameny, ze kterých jsem vycházel.

V Hradci Králové dne 20. 1. 2019

Tomáš Zapletal

Anotace:

ZAPLETAL T. *Některé případy herbivorie ryb v České republice*. Hradec Králové, 2019. Dizertační práce na Přírodovědecké fakultě Univerzity Hradec Králové. Vedoucí dizertační práce Michal Andreas, 57 s.

Herbivorie sladkovodních ryb je ve většině případů způsobena jejich fyziologickými a nutričními požadavky. Býložravé ryby konzumují rostlinnou biomasu záměrně. Těmito druhy jsou například amur bílý a perlín ostrobřichý. Na druhé straně ryby nesespecializované na příjem rostlinné potravy jako například lososovité ryby, nebo okoun říční mohou za určitých situací konzumovat rostliny. U těchto ryb však konzumace vodních makrofyt není důsledkem pokrytí přímých nutričních nároků.

Klíčová slova:

potravní preference, potravní chování, cévnaté rostliny, biomanipulace, příležitostná potrava

Annotation:

ZAPLETAL T. *Some cases of fish herbivory in the Czech republic*. Hradec Králové, 2019. Dissertation Thesis at Faculty of Science University of Hradec Králové. Dissertation Supervisor Michal Andreas, 57 p.

Herbivory of freshwater fishes is caused by their physiological and nutritional requirements. Herbivorous fish consume plant biomass intentionally. These species are e.g. grass carp and rudd. On the other hand, non- herbivory fishes e.g. salmonids or European perch, may consume plant under certain conditions. Anyway, the consumption of water plants is not a result of their nutritional needs.

Keywords:

feeding preference, feeding behaviour, vascular plants, biomanipulation, accidental diet

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval svému školiteli RNDr. Michalovi Andreasovi, Ph.D. za odborné vedení jak v průběhu studia, tak i při zpracování výsledků a této závěrečné práce. Dále děkuji jmenovitě těmto kolegům: doc. RNDr. Zdeňkovi Adámkovi, CSc., Mgr. Liborovi Miklovi, Ph.D., Mgr. Janu Špačkovi, Ph.D. a Ing. Lucii Všetickové, Ph.D. Jazykové korektury v anglickém jazyce byly provedeny Dr. Kevinem Roche.

Celá studie byla financována Projektem specifického výzkumu Univerzity Hradec Králové a zčásti Projektem Evropského centra pro ichtyoparazitologii.

OBSAH

1. ÚVOD	8
2. TEORETICKÁ ČÁST	10
2.1 Herbivorie ryb	10
2.2 Fyziologie trávení	11
2.3 Býložravé druhy ryb v České republice	12
2.3.1 Amur bílý <i>Ctenopharyngodon idella</i> (Valenciennes 1844)	12
2.3.2 Perlín ostrobřichý <i>Scardinius erythrophthalmus</i> (L. 1758)	13
2.4 Další studované druhy ryb	14
2.4.1 Okoun říční <i>Perca fluviatilis</i> L.	14
2.4.2 Pstruh obecný <i>Salmo trutta</i> L. 1758	16
2.5 Konkrétní případy studia herbivorie ryb	17
2.6 Literatura	21
3. PUBLIKOVANÉ VÝSLEDKY	25
Článek 1	25
Článek 2	29
Článek 3	33
Článek 4	38
4. ZÁVĚR	49
5. CURRICULUM VITAE	51
6. PŘEHLED PUBLIKOVANÝCH PRACÍ	52

1. ÚVOD

Herbivorie sladkovodních ryb je fyziologicky podmíněna jejich nutričními požadavky, morfologickým a funkčním uzpůsobením zažívacího traktu a potravní nabídkou obývaného biotopu. Striktně herbivorní druhy konzumují rostlinnou potravu záměrně. Druhy vyskytující se v České republice a konzumující cévnaté rostliny jsou nepůvodní amur bílý *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes 1844) a na území ČR původní perlín ostrobřichý *Scardinius erythrophthalmus* (L. 1758). Do herbivorie je řazena také konzumace fytoplanktonu. V České republice je tímto konzumentem fytoplanktonu dle Krupauera (1989) nepůvodní tolstolobik bílý *Hypophthalmichthys molitrix* (Valenciennes 1844). Tyto druhy se aktivně podílejí na modelaci rostlinných společenstev ve stojatých i tekoucích vodách, což lze využít při uplatnění biomanipulace – např. využití biomelioračního efektu amura bílého v silně zarostlých umělých vodních kanálech (Adámek & Kokord'ák 1982). Naopak, některé dříve propagované efekty, jakými je například využití tolstolobika bílého pro účelové rybářské hospodaření, se nesetkaly s úspěchem. Snaha měla v podstatě opačný následek, tolstolobik sice vyvinul potravní tlak na zelené řasy a sinice, na druhé straně však ve vyloučených exkrementech vzápětí dovoval vodní akumulaci volným fosforem, využitelným pro eutrofizaci, která vyústila v následný opětovný nežádoucí nárůst řas a sinic (Zhou a kol. 2011).

Další zmiňovaný druh, perlín ostrobřichý, je spíše indiferentním druhem. Nekonzumuje celé stélky rostlin, ale pouze jejich periferní části. Jeho výskyt v biotopu mu přisuzuje určité indikativní vlastnosti, je jedním z druhů určující dobrý ekologický potenciál a ekologický stav vodního útvaru (Borovec 2013).

Rostlinný materiál je také detekován u rybích druhů, které jsou omnivorní, nebo dokonce karnivorní, a u nichž je racionální trávení této složky potravy dosti pravděpodobně fyziologicky vyloučeno (Farrell 2011). V průběhu osm let trvající biomanipulace na vodárenské nádrži Hamry, situované

na Českomoravské vrchovině, byly v žaludcích okouna říčního *Perca fluviatilis* L. 1758 nalezeny části terestrické vegetace. Podobný případ byl zjištěn také v řece Metuji poblíž obce Bražec v potravě pstruha obecného *Salmo trutta* L. 1758. Zde se však jednalo o akvatické druhy rostlin.

Předložená disertační práce má objasnit některé příčiny herbivorie, popsat její určité typy, možnosti využití v praxi a vliv na biotop a to konkrétně:

- přijímání rostlin karnivorními druhy – okounem říčním a pstruhem obecným
- biomanipulaci v umělých vodních útvarech s využitím herbivorie – amur bílý
- vliv herbivorního druhu na cévnaté rostliny – perlín ostrobřichý

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Herbivorie ryb

Herbivorie ryb je konzumace rostlinné potravy. Je spojena s fyziologickým, morfologickým a enzymatickým uzpůsobením trávicího traktu býložravých rybích druhů. Adaptace je výsledkem dlouhodobého evolučního vývoje, ekosystémových změn a vývoje potravních strategií. Potravu býložravých ryb tvoří fytoplankton, řasy a cévnaté rostliny včetně jejich částí, jakými jsou např. plody (Gerking 1994).

Ve světových vodách se vyskytuje 44 čeledí býložravých kostnatých ryb, z nichž 21 čeledí jsou ryby sladkovodní. Z mořských ryb jsou velmi známí konzumenti řas ploskozubci (Scaridae), ze sladkovodních některé býložravé amazonské tetry čeledi Characidae (Gerking 1994).

V České republice jsou typicky herbivorní druhy dle Krupauera (1989) amur bílý, tolstolobec pestrý *Hypophthalmichthys nobilis* (Richardson 1844) a tolstolobik bílý. Tolstolobec pestrý není typický herbivor, protože konzumuje jak fytoplankton, tak zooplankton (Cremer & Smitherman 1980), tolstolobik bílý konzumuje fytoplankton (Yao a kol. 2016) a pro studium konzumpce cévnatých rostlin nemá žádný význam.

Mezi herbivorními druhy popisovanými v odborné ichtyologické literatuře se stále častěji setkáváme s perlínem ostrobřichým, neboť části vodních makrofyt tvoří podstatnou část jeho potravy (Tomec a kol. 2003).

2.2 Fyziologie trávení

Zažívací trakt býložravých kaprovitých ryb (Cyprinidae) vykazuje určité odlišnosti oproti zažívacímu traktu ostatních druhů ryb. Je bez žaludku a trávicí trubice má odlišnou strukturu. Střevo začíná rozšířenou částí, nazvanou bulbus intestinalis. Střevní stěna je složena ze tří vrstev: serózní, myózní a mukózní. Histologicky je epitel sliznice jednovrstevný a obsahuje mukosekreční buňky a enterocyty. Protože bulbus intestinalis nevylučuje kyselinu chlorovodíkovou, trávení probíhá v neutrálním až bazickém prostředí (Gerking 1994).

Trávení proteinů a lipidů probíhá podobně jako u omnivorních druhů ryb (kapr obecný – *Cyprinus carpio* L. 1758). Spektrum enzymů hydrolyzujících proteiny je poměrně široké. Jedná se zejména o trypsiny, chymotrypsiny, karboxypeptidázy a elastázy. Trypsin je ve střevě aktivován enterokinázou. Konečného produktu štěpení bílkovin je dosaženo prostřednictvím aktivity dipeptidázy. Z hlediska metabolismu lipidů jsou nejdůležitější frakcí triacylglyceroly, tvořící majoritní část této složky v potravě. Po emulgaci jsou hydrolyzovány pankreatickou lipázou, jejímž profaktorem je kolipáza. Relativní stravitelnost lipidů závisí na jejich původu, délce jejich řetězce a stupni nenasycenosti (Dvořák a kol. 2014).

Poněkud složitější situace je u býložravých ryb s metabolismem sacharidů, zejména celulózy. Donedávna bylo považováno za obtížně představitelné účinné trávení této potravní složky býložravými rybami (Lesel a kol. 1986). Některé výzkumy však ukazují, že díky kolonizaci trávicí soustavy celulolytickými bakteriemi je pro tyto druhy ryb celulóza stravitelná (Das & Tripathi 1991)

2.3 Býložravé druhy ryb v České republice

2.3.1 Amur bílý *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes 1844)

Actinopterygii > Cypriniformes > Cyprinidae > Squaliobarbinae

Amur bílý (obr. 1) má válcovité tělo, hlava je středně velká s prostornými ústy polospodního postavení. Šupiny jsou velké cykloidní. Dorůstá obvykle do délky 80–100 cm a hmotnosti 6–10 kg výjimečně do délky 130 cm a hmotnosti 20 kg. Ploutevní vzorec je: D III 7, A III 8, P II 17, V II 8 (Baruš & Oliva 1995)

Základní zbarvení amura je zlatisté až stříbřité. Hřbet má amur bílý olivově zelený, boky jsou světlejší. Břicho je světlé barvy, někdy se slabým žlutošedým odstínem. V juvenilním stádiu je amur spíše světlejší. Oči mají duhovku se zlatavým nádechem (Krupauer 1989). Pohlavně dospívá amur bílý v rozmezí 3–11 let.

Juvenilní jedinci amura bílého (cca 80 mm) konzumují zejména zooplankton - *Cladocera*, *Rotatoria* and *Copepoda* sbíraný z vodních rostlin (Adámek & Sanh, 1977). Makrozoobentos není výrazně ovlivňován (Terrell 1975).

Adultní amur bílý je typický herbivorní druh (Krupauer 1989). Například amur bílý starší dvou let konzumoval v kanálech Portugalské zavlažovací soustavy *Myriophyllum aquaticum*, *Potamogeton pectinatus*, *Eichhornia crassipes*, a *Lemna sp.* (Catarino a kol. 1997). Masser (2002) zjistil, že díky potravní preferenci rostlinného materiálu dokáže amur bílý efektivně kontrolovat invazivní rozvoj vodních makrofyt. Podobný biomeliorační efekt byl zaznamenán Kokordžákem (1972). Kiambi & Zdinak (1980) popsali vodní makrofyta jako dominantní část potravy s konsumpčním koeficientem dle Iljina (1966) v rozmezí hodnot 12-57.



Obr. 1 – Amur bílý, 600 mm celkové délky (foto autor)

2.3.2 Perlín ostrobřichý *Scardinius erythrophthalmus* (L. 1758)

Actinopterygii > Cypriniformes > Cyprinidae > Leuciscinae

Perlín ostrobřichý (obr. 2) má vysoké, ze stran zploštělé tělo, hlavu s malými ústy terminálního postavení. Šupiny jsou cykloidní, poměrně velké. V době reprodukce mají samci výraznou třecí vyraženou. Dorůstá obvykle do délky 35 cm a hmotnosti 0,30 – 0,35 kg výjimečně do délky 40 cm a hmotnosti 1,3 kg. Ploutevní vzorec je: D II – III 7-9, A III 10-12, V II, 8, P I, 15 (Baruš & Oliva, 1995)

Perlíni jsou zlatostříbřitě zbarveni, hřbet je tmavě modrý až nazelenalý. Břicho je bílé až žlutobílé. Duhovka oka je žlutá (Baruš & Oliva, 1995). Pohlavně dospívá perlín v rozmezí 2–3 let.

Perlín ostrobřichý, je typickým zástupcem kaprovitých ryb stojatých vod (Wolnicki et al. 2009), především těch, které se vyznačují zvýšenou mírou zarůstání ponořenou měkkou vegetací. Potravu subadultního perlína tvoří převážně řasy (Tomec et al. 2003), adultní perlín konzumuje velkou měrou cévnaté rostliny, které rozmělnuje svými požerákovými zuby (Baruš & Oliva 1995). Příjem rostlinné potravy a převaha této složky vůči živočišné potravě stoupá s narůstající teplotou vody (Vejříková et al. 2016). Protože je perlín také z hlediska rozmnožování fytofilní druh, představují vodní útvary, silně zarostlé

akvatickou vegetací, optimální prostředí pro jeho populace (Baruš & Oliva 1995).

Přítomnost perlína v těchto vodách tak indikuje dobrý ekologický stav stojatých vod (Borovec 2013).



Obr. 2 – Perlín ostrobřichý, 350 mm celkové délky (foto Ivana Vejříková)

2.4 Další studované druhy ryb

2.4.1 Okoun říční *Perca fluviatilis* L.

Actinopterygii > Perciformes > Percidae > Percinae

Okoun říční (obr. 3) má větvenité tělo, hlava je středně velká s prostornými ústy terminálního postavení. Šupiny jsou drobné, ktenoidní. Dorůstá obvykle do délky 20–30 cm a hmotnosti 0,25 kg výjimečně do délky 50 cm a hmotnosti 3 kg. Ploutevní vzorec je: D₁ XII – XVI, D₂ I – III 12–16, A II 7 - 10 (Baruš & Oliva 1995)

Základní zbarvení okouna říčního je žlutozelené a šedé s mosazným leskem. Na bocích těla má okoun 5–9 tmavých příčných pruhů. Mladí okouni mívají boky s modrofialovým leskem. Břicho je bílé. Oči mají oranžovou

duhovku (Švátora 1986). Pohlavně dospívá okoun v rozmezí 1–4 let (samci dříve).

Okoun začíná od svojí délky těla cca 15 cm preferovat ryby jako potravu. Tato potravní složka je jako dominantní část potravy u větších okounů uváděna Teschem (1955) a Makarovou (1983). Jedná se o různé druhy kaprovitých ryb, ale také mladší ročníky vlastního druhu. Plůdek okouna se může podílet na objemu potravy dospělých jedinců až 89 % hmotnostního podílu (Thorpe 1974). Dle Hergenradera & Haslera (1966) je okoun, jako hejnová ryba, schopen zformovat skupinu, která loví potravu organizovaně. V této skupině je ustanovena funkční hierarchie ve smyslu organizace činností při nahánění potravy. Drobné ryby, které tvoří potravu okouna, jsou uzavřeny do smyčky a následně konzumovány. V rámci funkčnosti skupiny lze do hejna okounů vpustit pouze několik jedinců. Větší hejno okounů vykazuje menší soudržnost.

Kromě ryb v této době konzumuje vodní bezobratlé a zooplankton (Dyk 1952, Peterka & Matěna 2011). Juvenilní okouni jsou téměř vždy výhradními konzumenty zooplanktonu (Adámek a kol. 2004, Kratochvíl a kol. 2008).

Herbivorie okouna říčního nebyla dosud popsána.



Obr. 3 – Okoun říční, 400 mm celkové délky (foto Ivana Vejříková)

2.4.2 Pstruh obecný *Salmo trutta* L. 1758

Actinopterygii > Clupeiformes > Salmonidae > Salmoninae

Pstruh obecný (obr. 4) má vřetenovité tělo, hlava je středně velká s prostornými ústy terminálního postavení. Šupiny jsou drobné cykloidní. Dorůstá obvykle do délky 30–45 cm a hmotnosti 0,25 – 0,80 kg výjimečně do délky 60 cm a hmotnosti 3 kg. Ploutevní vzorec je: D II – IV(V) 8–12, A II – IV 7 – 10, P I, 8 – 14, V I – II, 7 -10 (Baruš & Oliva 1995)

Základní zbarvení pstruha obecného je žlutohnědé s mosazně zeleným leskem. Na hřbetě má pstruh temné až černé skvrnky, na bocích podél postranní čáry jsou skvrnky karmínově červené s bílými okraji. Hřbetní ploutev je poměrně bohatě tečkovaná, ocasní ploutev až na výjimky tečkovaná není. Břicho je bílé. Oči mají žlutohnědou duhovku (Spurný 1998). Pohlavně dospívá pstruh obecný v rozmezí 2–4 let (samci dříve).

Mladší jedinci pstruha obecného se živí zejména vodními bezobratlými (Montori a kol. 2005). Mezi tyto organismy patří zejména chrostíci, pošvatky, jepice a dvoukřídlí (Teixeira & Cortes 2006).

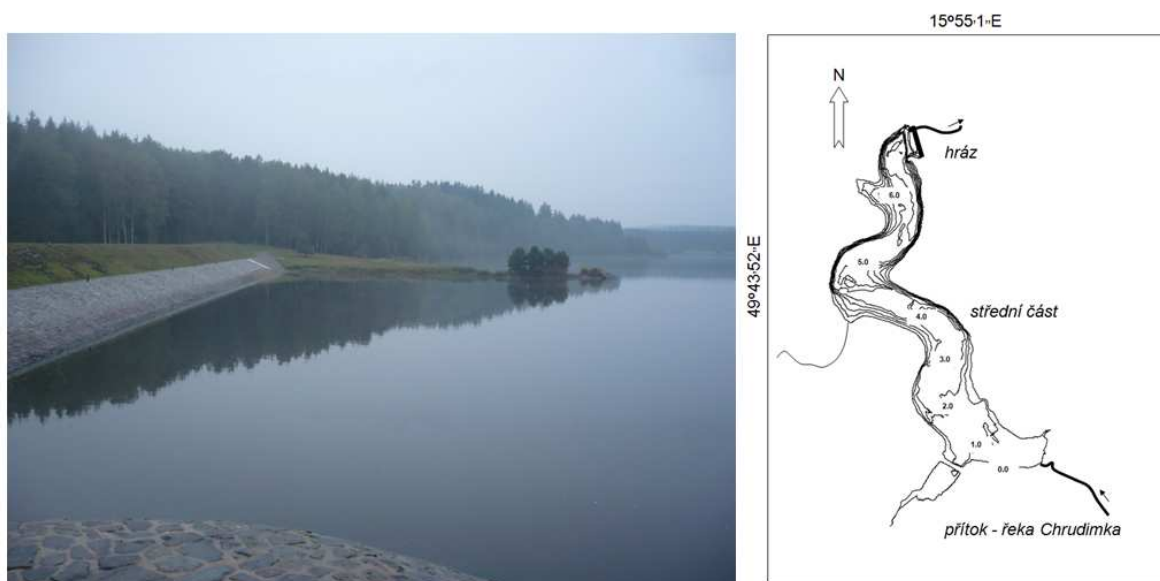
Starší pstruzi přecházejí postupně na konzumaci ryb a koryšů (Kaeding & Kaya 1978, Jensen a kol. 2004). V závislosti na věkové kohortě a vývoji potravní základny se složení potravy mění sezónně (Tuček 1955, Kokeš 1982). Podobně jako v případě okouna říčního nebyla herbivorie pstruha obecného formy potoční doposud popsána.



Obr. 4 – Pstruh obecný, 400 mm celkové délky (foto autor)

2.5 Konkrétní případy studia herbivorie ryb

Fenomén náhodné herbivorie okouna říčního jsme zaznamenali při ichtyologickém průzkumu (Zapletal 2013) vodárenské nádrže Hamry (obr. 5) situované na řece Chrudimce poblíž města Hlinska. Rostlinná matrice tu byla nalezena v průběhu analýz potravy tzv. doprovodných druhů ryb. Ryby zde byly loveny v nádrži o vodní ploše 42,3 ha, s průměrnou hloubkou 2 m a zásobním prostorem 1,206 mil. m³.



Obr. 5 – Vodárenská nádrž Hamry (foto Povodí Labe, státní podnik)

V potravě okouna říčního byly nalezeny části trav rodu *Alopecurus*. V první studii proto bylo objasněno, co může být příčinou této neobvyklé konzumace rostlin.

Další neobvyklý případ konzumace rostlin pstruhem obecným byl zjištěn v řece Metuji poblíž města Náchod. V žaludcích ryb byly nalezeny části rostlin, které tvořily majoritní část zažitiny. Řeka Metuje s převážně lotickým charakterem a délce toku 77,2 km je ve své dolní části silně zarostlá cévnatými vodními rostlinami. Jedná se zejména o lakušník vzplývavý *Batrachium fluitans* (Lammens 1910) který tvořil dominantní část potravy pstruhů obecných v roce 2016. Druhá studie přispěla k objasnění mechanismu této neobvyklé konzumace

rostlin pstruhy obecnými (Zapletal 2016).

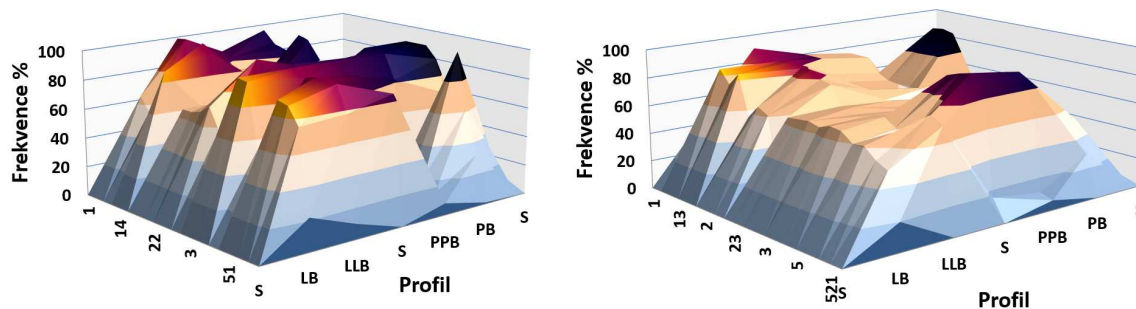
Státní podnik Povodí Labe prováděl dlouhodobě biomanipulační zásah amurem bílým na Opatovickém kanálu a Malém labském náhonu (obr. 6). Jedná se o umělá vodní díla zřízená za účelem napájení rybničních soustav. Opatovický kanál je dlouhý 34,5 km, průměrná šířka koryta je 15 m a dlouhodobý průměrný průtok se pohybuje v rozmezí 1-3 m³/s. Malý labský náhon je menší, je dlouhý 0,8 km, průměrná šířka koryta je 9 m a dlouhodobý průměrný průtok je 1 m³/s.



Obr. 6 – Opatovický kanál – Opatovice nad Labem vlevo, Malý labský náhon – Hradec Králové vpravo (foto Český rybářský svaz)

Oba umělé kanály mají mírně lotický charakter s bahnitým dnem. Vzhledem k této své vlastnosti jsou tyto lokality vystaveny enormnímu zarůstání submersními a emersními makrofyty, zejména lakušníkem vzplývavým *Batrachium fluitans*, lakušníkem okrouhlým *Batrachium circinatum* (Sibthorp 1796) a zblochanem vodním *Glyceria maxima* (Hartmann, 1919). Přes biomeliorační zásah správce toků však k uspokojivému vyřešení situace nedošlo, přestože porosty vodních makrofyt byly před zásahem silně zapojeny (obr. 7) a v současnosti jsou obě výše uvedená zařízení prakticky bez makrofyt. Příčiny

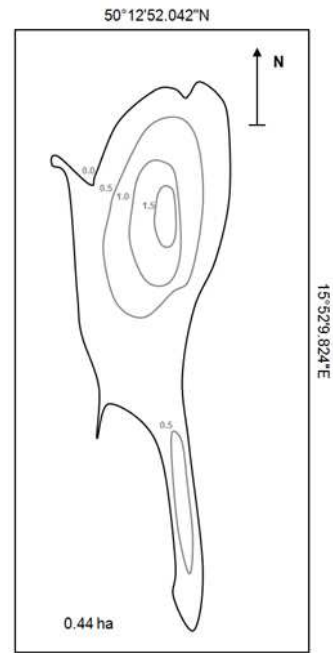
a důsledky tohoto jevu řeší třetí studie.



Obr. 7 – Prostorová distribuce vodních makrofyt vyjádřená jako pokryvnost v % před výzkumem – Opatovický kanál vlevo, Malý labský náhon vpravo

Problematika konzumace zvláště chráněných vodních rostlin perlínem ostrobřichým byla řešena ve čtvrté studii, provedené na mrtvém rameni řeky Orlice zvaném Pekelská jezera (obr. 8). Jedná se o lokalitu s vodní plochou o rozloze 0,4 ha a maximální hloubkou 2 m, nacházející se ve východní části areálu města Hradce Králové. V celé lokalitě byl zaznamenán poměrně hojně zastoupený rdest ostrolistý (*Potamogeton acutifolius* Link, 1824).

Vlastní akumulace tohoto ramene je svým ekologickým statutem typem karasového jezera s velmi dobrým ekologickým potenciálem z hlediska vývoje vodních makrofyt (Borovec 2013). Tato skutečnost, spolu se subdominantním výskytem perlína v této lokalitě, byla zásadním rozhodujícím kritériem při sestavování experimentu.



Obr. 8 – Pekelská jezera (foto autor)

2.6 Literatura

Adámek Z. & Sanh T. D. 1977: The food of grass carp fry (*Ctenopharyngodon idella*) in southern moravian fingerling ponds. *Folia Zoologica* **30(3)**:263-270.

Adámek Z. & Kokord'ák, J. 1982: Význam makrofyt ve vodním hospodářství. *Dům techniky ČSVTS České Budějovice*: 181-183.

Adámek Z., Musil J. & Sukop. I. 2004: Diet Composition and Selectivity in O+ Perch (*Perca fluviatilis* L.) and its Competition with Adult Fish and Carp (*Cyprinus carpio* L.) Stock in Pond Culture. *Agriculturae Conspectus Scientificus* **69(1)**: 21-27.

Baruš V. & Oliva O. 1995: *Mihulovci a ryby II*. Praha: Academia, 698 pp. ISSN 0430-120X

Borovec J. 2013: *Metodika pro hodnocení ekologického potenciálu silně ovlivněných a umělých vodních útvarů – kategorie jezero*. České Budějovice: Biologické centrum AV ČR, 35 pp.

Catarino, L. F., Ferreira, M. T. & Moreira, I. S. 1997: Preferences of Grass Carp for Macrophytes in Iberian Drainage Channels, *J. Aquat. Plant Management*. **36**: 79-83.

Cremer M. C. & Smitherman R. O. 1980: Food habits and growth of silver and bighead carp in cages and ponds. *Aquaculture* **20(1)**: 57-64.

Das K. M. & Tripathi S. D. 1991: Studies on the digestive enzymes of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Val.). *Aquaculture* **92(1)**: 21-32.

Dvořák P., Pyszko M., Velíšek J., Dvořáková Líšková Z. & Andreji J. 2014: *Anatomie a fyziologie ryb*. Vodňany: FROV JU, 189 pp.

Dyk V. 1952: *Naše ryby*. Praha: Zdravotnické nakladatelství, 336 pp.

Farrell A. eds. 2011: *Encyklopedia of Fish Physiology*. Cambridge: Academic Press, 2272 pp. ISBN 9780123745453

Gerking S. D. 1994: *Feeding Ecology of Fish*. Tempe, USA: Arizona state University, 416 pp. ISBN: 9780122807800

- Hergenrader G.L. & Hasler A.D. 1966: Diel activity nad vertical distribution of yellow perch (*Perca fluviatilis*) under the ice. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **23**: 499-509.
- Iljin V. M. 1966: Biotechnika vyraščivaniya trechletkov rastitel'nojadnykh ryb vmeste s karpom, *Trudy VNIORCH* **14**: 275-301.
- Jensen H., Bøhn T., Amundsen P. A. & Aspholm P. E. 2004: Feeding ecology of piscivorous brown trout (*Salmo trutta* L.) in a subarctic watercourse. – *Annales Zoologici Fenici* **41**: 319–328.
- Kaeding L. R. & Kaya C.M. 1978: Growth and diets of trout from contrasting environments in a geothermally heated stream: the Firehole River of Yellowstone National Park. – *Transactions of the American Fisheries Society* **107**: 432–438.
- Kiambi R. V. & Zdinak A. 1980: Food preference and growth of grass carp *Ctenopharyngodon idella*, and hybrid carp, *C. idella* female x *Aristichthys nobilis* male, *Proc. V int. symp. Biol. Contr. Weeds, Brisbane*: 281-286.
- Kokeš J. 1982: Potrava juvenilních jedinců pstruha potočního (*Salmo trutta*) dvou potoků v povodí říčky Bělé. *Vertebratologické zprávy*: 43–47.
- Kokord'ák, J. 1972: K otázke aplikácie bylinožravých rýb vo vodnom hospodárstve, *Bulletin Metod střediska chem. Technol. Lab.* **20**: 243-246.
- Kratochvíl M., Peterka J., Kubečka J., Matěna J., Vašek M., Vaníčková I., Čech M. & Sed'a J. 2008: Diet of larvae and juvenile perch, *Perca fluviatilis* performing diel vertical migrations in a deep reservoir. *Folia Zoologica* **57(3)**: 313-323.
- Krupauer V. 1989: *Býložravé ryby*. Praha: VZVŽ ČSR, 115 pp.
- Makarova N.P. 1983: On the feeding biology of perch *Perca fluviatilis* L. in the Volga delta. *Voprosy Ikhtiologii* **23(1)**: 62-70.
- Lesel R., Fromageot C. & Lesel M. 1986: Cellulose digestibility in grass carp, *Ctenopharyngodon idella* and goldfish, *Carrasius auratus*. *Aquaculture* **54(1)**: 11-17.

- Masser M. P. 2002: Using grass carp in aquaculture and private impoundments. *Southern regional Aquaculture center 3600*: 1-5.
- Montori A., Tierno de Figureoa J. M. & Santos X. 2006: The diet of the brown trout *Salmo trutta* (L.) during the reproductive period: Size-related and sexual effect. *International Review of Hydrobiology* **91**: 438–450.
- Peterka J. & Matěna J. 2011: Feeding behaviour determining differential capture success of evasive prey in underyearling European perch (*Perca fluviatilis* L.) and roach (*Rutilus rutilus* (L.)). *Hydrobiologia* **661(1)**: 113–121. DOI: 10.1007/s10750-010-0507-1
- Spurný P., 1998: *Ichtyologie*. Brno: MZLU, 280 pp.
- Švátora M. 1986: *Okoun říční*. Praha: Český rybářský svaz, 82 pp.
- Terrell T. T. 1975: The impact of macrophyte control by white amur (*Ctenopharyngodon idella*), *Verh. Internat. Verein. Limnol.* **19**: 2510-2514.
- Tesch F. W. 1955: Das Wachstum des Barches (*Perca fluviatilis* L.) in verschiedenen Gewässern. *Zeitschrift zum Fischerei* **4**: 321-420.
- Thorpe J. E. 1974: Trout and perch populations at Loch Leven, Kinross. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh Section B - Biological Sciences* **74**: 295-313.
- Teixeira A. & Cortes R. M. 2006: Diet of stocked and wild trout (*Salmo trutta*): Is there competition for resources? *Folia Zoologica* **55**: 61–73.
- Tomec M., Teskeredžić Z. & Teskeredžić E. 2003: Food nutritive value of gut contents of rudd (*Scardinius erythrophthalmus* L.) from Vrana Lake, Cres Island, Croatia. *Czech Journal of Animal Science* **48(1)**: 28-34.
- Tuček J. 1955: O potravě pstruha obecného (*Salmo trutta morpha fario* L.) a její přístupnosti v předjarních měsících v řece Moravici. *Živočišná výroba* **28**: 385–394.
- Vejříková I., Vejřík L., Syväranta J., Kiljunen M., Čech M., Blabolil P., Vašek M., Sajdllová Z., Chung S.H.T. , Šmejkal M, Frouzová J & Peterka J. 2016:

Distribution of Herbivorous fish Is Frozen by Low Temperature. *Scientific reports*: 1–11. DOI: 10.1038/srep39600

Wolnicki J., Sikorska J. & Kamiński R. 2009: Response of larval and juvenile rudd *Scardinius erythrophthalmus* (L.) to different diets under controlled conditions. *Czech Journal of Animal Science* **54(7)**: 331–337. ISSN 1212–1819

Yao X., Huang G., Xie P. & Xu J. 2016: Trophic niche differences between coexisting omnivores silver carp and bighead carp in a pelagic food web. *Ecological Research* **31**: 831–839. DOI 10.1007/s11284-016-1393-4

Zapletal T. 2013: *Potrava doprovodných druhů ryb ve vodárenské nádrži*. Doktorská disertační práce. Brno: Mendelova univerzita, 132 pp.

Zapletal T. 2016) Aquatic plants in the diet of the brown trout (*Salmo trutta* morpha *fario* L.). *Acta Musei Reginaehradecensis s. A* **36(1-2)**: 93 - 95. ISSN 0231 – 9616

Zhou G., Zhao X., Bi Y. & Hu Z. 2011: Effect of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) on spring phytoplankton community structure of Three-Gorges Reservoir (China). *Journal of Limnology* **70(1)**: 26–32. DOI 10.3274/JL11-70-1-05

3. PUBLIKOVANÉ VÝSLEDKY

Článek 1

Periodikum s impakt faktorem – 0,8

ZAPLETAL, T., ADÁMEK, Z., JURAJDA, P., ROCHE, K., VŠETIČKOVÁ, L., MAREŠ, J., (2016): Consumption of plant material by perch (*Perca fluviatilis*). *Folia Zoologica* 65(2): 95 - 97. ISSN 0139-7893.

Stručný obsah:

V průběhu biomanipulačních opatření na vodárenské nádrži Hamry bylo zjištěno, že normálně piscivorní adultní okoun říční konzumuje v jarním období úlomky makrofyt jako dominantní složku potravy. Makrofyta tvořila gravimetricky 54 %, frekvence výskytu této složky byla dokonce 90 %. Shodou okolností byly v obsahu žaludků nalezeny také jikry ryb. Jakkoliv je trávení okouna říčního adaptováno na příjem živočišné potravy, rostliny zde byly ochotně přijímány spolu s přisedlými jikrami. Ryby tak ať již náhodnou nebo záměrnou konzumací obou složek mohly profitovat z jejich společného výskytu v lokalitě. Každopádně se jednalo o první popsany případ, kdy byla rostlinná složka spolu s přisedlou složkou živočišnou přijata v takovém množství.

Consumption of plant material by perch (*Perca fluviatilis*)

Tomáš ZAPLETAL^{1,2,4}, Zdeněk ADÁMEK³, Pavel JURAJDA^{3*}, Kevin ROCHE³, Lucie VŠETIČKOVÁ³ and Jan MAREŠ²

¹ Faculty of Science, University of Hradec Králové, Rokytanského 62, 500 03 Hradec Králové, Czech Republic

² Faculty of Agronomy, Mendel University, Zemědělská 1/1665, 613 00 Brno, Czech Republic

³ Institute of Vertebrate Biology, Academy of Sciences of the Czech Republic, v.v.i.

Květná 8, 603 65 Brno, Czech Republic; e-mail: jurajda@brno.cas.cz

⁴ River Elbe Board, s.e., Víta Nejedlého 951, 500 03 Hradec Králové, Czech Republic

Received 29 January 2016; Accepted 4 March 2016

Abstract. While removing fish during reservoir biomanipulation, it was noted that the diet of normally piscivorous 5+ to 7+ perch was dominated by macrophyte fragments, with fish eggs sub-dominant. To the best of our knowledge, macrophytes have not previously been reported as a food item in perch. Here, we briefly discuss this finding and its significance for perch diet studies.

Key words: dietary preference, diet breadth, biomanipulation, accidental feeding

Introduction

While 0+ perch (*Perca fluviatilis*) feed almost exclusively on zooplankton (Adámek et al. 2004, Kratochvíl et al. 2008), juvenile fish (1+) usually switch to other feeding strategies (Persson & Greenberg 1990), with a shift to piscivory/benthivory at 100–150 mm standard length (SL) (Jacobsen et al. 2002) and almost obligatory piscivorous feeding habits at >155 mm SL (Horpilla et al. 2000). In addition to predation on other fish species, perch are also known to consume fish eggs and several studies have examined this feeding behaviour in more detail. Zick et al. (2006), for example, reported up to 168 eggs (67 % of digestive tract content) in one perch at Grundlsee (Austria). As far as we are aware, however, there have been no previous reports of macrophytes as a significant dietary item in normally piscivorous perch. During an ongoing biomanipulation project to improve drinking water quality at a reservoir in the Czech Republic (Jurajda et al. 2014), we observed a surprisingly high percentage of macrophyte fragments in the digestive tracts of adult perch in spring. In this short note, we assess the degree to which macrophytes are consumed by perch in the reservoir and discuss its possible significance.

Material and Methods

This study was carried out at the Hamry drinking water reservoir (49°43'52" N, 15°55'1" E; elevation 603 m

a.s.l.) in the Bohemian-Moravian highlands of the Czech Republic. About half of the 42 ha reservoir's shoreline comprises bankside meadows with a low slope and littoral macrophytes that are flooded during higher spring water levels. The rest of the shoreline comprises coniferous forest with steep to vertical gravel banks with limited or absent vegetation. The inlet area is shallow with soft sediment and a thick layer of detritus from decaying flooded vegetation and littoral macrophyte beds (principally reed canary grass, *Phalaris arundinacea*).

During an ongoing biomanipulation experiment (Jurajda et al. 2014), roach, bream and perch were removed using a 100 m beach seine (max. depth 4 m, mesh 20 mm) and Nordic gillnets in spring (May) and late summer (August and September) of 2012. Of the fish caught, 33 were perch aged 5+ to 7+. These were taken for diet analysis as part of the biomanipulation experiment to assess predation rates on small cyprinids. All fish were weighed to the nearest 0.1 g and measured to the nearest 1 mm using digital callipers. Number, mean SL and mean total biomass (WT) of the perch were relatively balanced between spring and summer – spring n = 20, mean SL 213 (162–273), mean WT 189 (65–342); summer n = 13, mean SL 219 (175–300), mean WT 204 (99–525). After measuring, the fish were dissected and the digestive

* Corresponding Author

tract contents preserved in 4 % formaldehyde for later analysis in the laboratory.

A modified gravimetric method was used to determine diet composition. Mucus and mineral particles were removed from the sample and discarded. All macrophytes and detritus were then separated out from other taxa under a 40× magnification binocular microscope and determined under a 40-450× magnification microscope. Data are presented as relative percentage biomass (% W; Hyslop 1980) and frequency of occurrence (% FO; Pivnička 1981).

All aspects of this study were carried out in accordance with Czech regulations regarding animal care and protection.

Table 1. Relative percentage biomass (% W) and frequency of occurrence (% FO) of main dietary components in the diet of perch collected from the Hamry Reservoir in spring and summer of 2012; spring = May, summer = Aug/Sep.

	Spring % W	Spring % FO	Summer % W	Summer % FO
Zooplankton				
Cladocera	0.09	5.00	1.76	28.57
Invertebrates				
<i>Astacus astacus</i>	-	-	1.44	14.29
Ephemeroptera	0.16	10.00	-	-
Trichoptera	0.47	10.00	3.20	14.29
Diptera	1.04	20.00	-	-
Total Invert.	1.76	45.00	6.40	57.14
Fish	15.91	15.00	93.60	57.14
Fish eggs	28.44	75.00	-	-
Macrophyte	53.89	90.00	-	-

Results and Discussion

While all fish sampled in spring (20) had food in their digestive tracts, six of the 13 fish sampled in summer had empty digestive tracts. There was a clear difference in perch diet between spring and summer (Table 1), with summer diet comprised almost entirely of fish and spring diet dominated by macrophytes (*Alopecurus* sp.) and fish eggs. There was no difference in the quantity of detritus, plankton or aquatic invertebrates taken between spring and summer. These results should be treated with some caution, however, as both the relatively high number of fish with empty tracts in summer and the low number of 5+ to 7+ fish caught overall mean that the data could be easily skewed by outliers. Overall, spring perch ate approximately the same number/biomass of fish as summer perch, the only difference being that summer perch diet was restricted almost

solely to fish while spring perch diet included a large quantity of macrophytes and fish eggs. Hence, while the data intuitively suggest diet switching in perch between spring and summer, i.e. switching to a more profitable (in this case stationary) prey source (fish eggs) for a limited time when their absolute density is high (see Stephens & Krebs 1986), it would be more correct to talk of a widening of the diet spectrum in spring to include fish eggs, and possibly macrophytes. In this sense, the inclusion of eggs and vegetation into perch diet is still of interest.

Fish eggs have occasionally been reported as an important perch dietary item (Zick et al. 2006), their consumption being related to availability during the spring spawning season. To the best of the authors' knowledge, however, macrophytes have not been reported as a significant food item in perch diet. Though fragments of vegetation have frequently been noted, they tend to be found at low frequencies and are usually assumed to have been accidentally consumed, either when preying on aquatic insects or as part of the previous meal of fish prey (Adámek & Sukop 2001, Adámek et al. 2006). As many fish eggs were still attached to fragments of littoral vegetation when removed from the gut, much of the macrophyte would appear to have been taken accidentally. Note, however, that macrophytes were found at higher levels than fish eggs, both by % W and % FO (Table 1). Whether this plant material was actively grazed upon as a separate preferred dietary item, however, or taken accidentally during non-specific grazing for eggs, cannot be judged. Similarly, the degree to which plant material is consumed accidentally when preying on aquatic insects or as part of a fish's previous meal is also unknown. The fact that macrophytes were absent from the diet in summer, when perch returned to an almost exclusively piscivorous diet, suggests that plant consumption is strongly associated with egg consumption.

As the perch digestive system is specialised toward animal nutrition, it is not clear whether the fish gains any nutritional benefit from consuming macrophytes. Indeed, it is possible that large-scale macrophyte consumption (accidental or otherwise) may impact on perch body condition by limiting the presumed profitability of egg predation. For example, fish could potentially reach satiation and cease to feed before reaching a critical energy level, or energy used to digest low-benefit macrophyte material may outweigh any energy gained by eating more profitable fish eggs. In conclusion, our data support the concept of a widening of perch diet in spring in the Hamry

Reservoir to take advantage of a seasonal increase in an easily obtained and profitable prey source (fish eggs). As a result, submerged aquatic macrophytes, whether by accident or intentionally, also become a part of the diet. Further studies are needed to assess whether this pattern is general in large perch or the result of individual specialisation, and to fully assess

the implications of such behaviour on perch body condition.

Acknowledgements

This study was supported through research project ECIP P505/12/G112 of the "European Centre of Ichthyoparasitology". We would like to thank all the members of the Institute of Vertebrate Biology, Czech Academy of Sciences, who helped with field work.

Literature

- Adáček Z., Jurajda P., Musil J. et al. 2006: Perch (*Perca fluviatilis*) diet during the flooding period of the Chabařovice coal mining pit (North-West Bohemia, Czech Republic). *Proceedings of the 5th International Conference on Reservoir Limnology and Water Quality, Brno, Czech Republic*: 67–68.
- Adáček Z., Musil J. & Sukop I. 2004: Diet composition and selectivity in 0+ perch (*Perca fluviatilis* L.) and its competition with adult fish and carp (*Cyprinus carpio* L.) stock in pond culture. *Agric. Conspec. Sci.* 69: 21–27.
- Adáček Z. & Sukop I. 2001: The role of supplementary feeding in food competition between common carp (*Cyprinus carpio*) and perch (*Perca fluviatilis*) in a pond culture. *Krmiva* 43 (4): 175–184.
- Horpilla J., Ruuhijarvi J., Rask M. et al. 2000: Seasonal changes in the diets and relative abundances of perch and roach in the littoral and pelagic zones of a large lake. *J. Fish Biol.* 56: 51–72.
- Hyslop E.J. 1980: Stomach contents analysis – a review of methods and their application. *J. Fish Biol.* 17: 411–429.
- Jacobsen L., Berg S., Broberg M. et al. 2002: Activity and food choice of piscivorous perch (*Perca fluviatilis*) in a eutrophic shallow lake: a radio-telemetry study. *Freshw. Biol.* 47 (12): 2370–2379.
- Jurajda P., Adáček Z., Janáč M. et al. 2014: Evaluation of five-year effort in biomanipulation measures on the Hamry Reservoir. *The conference "Ecology of Fish in Lakes and Reservoirs" (EcoFiL 2014), 8-11 September 2014, České Budějovice, Czech Republic*: 3.
- Kratochvíl M., Peterka J., Kubečka J. et al. 2008: Diet of larvae and juvenile perch, *Perca fluviatilis* performing diel vertical migrations in a deep reservoir. *Folia Zool.* 57: 313–323.
- Persson L. & Greenberg L.A. 1990: Juvenile competitive bottlenecks: the perch (*Perca fluviatilis*) – roach (*Rutilus rutilus*) interaction. *Ecology* 21: 44–56.
- Pivnička K. 1981: Fish ecology: estimates of basic parameters characterising fish populations, 1st ed. *SPN, Praha*: 251. (in Czech)
- Stephens D.W. & Krebs J.R. 1986: Foraging theory. *Oxford University Press, Oxford, U.K.*
- Zick D., Gassner H., Jagsch A. & Patzner R.A. 2006: Auswirkung und Populationsentwicklung des eingeschleppten Flussbarsches (*Perca fluviatilis*) im Grundlsee (Steiermark). *Oesterr. Fisch.* 59: 20–27.

Článek 2

Recenzované periodikum

ZAPLETAL, T., (2016): Aquatic plants in the diet of the brown trout (*Salmo trutta morpha fario* L.). *Acta Musei Reginaehradecensis* 36(1,2): 93 - 95. ISSN 0231-9616.

Stručný obsah:

Analýzou obsahu žaludků pstruhů obecných ulovených na řece Metuji poblíž Náchoda bylo zjištěno, že ryby hojně konzumovaly rostlinný materiál. Ukázalo se, že zbytky lakušníku vzplývavého tvořily v dubnu a květnu dominantní část potravy, a to jak gravimetricky, tak i frekvencí výskytu. Součástí potravy bylo v tomto období také velké množství bezobratlých, především larev muchniček a jepic. V červnu, kdy docházelo k maturaci přisedlých juvenilních stádií bezobratlých, rostlinná matrice postupně z potravy mizela. Jednalo se tak pravděpodobně o dočasný příjem rostlin. Podobně jako v pilotní studii jde o první popsany případ takového jevu.

Aquatic plants in the diet of the brown trout (*Salmo trutta morpha fario* L.)

Vodní rostliny v potravě pstruha obecného formy potoční (*Salmo trutta morpha fario* L.)

Tomáš Zapletal ¹⁾

1) Faculty of Science, University of Hradec Králové, Rokitsanského 62, CZ – 500 03 Hradec Králové, Czech Republic; e-mail: zapletal1970@gmail.com

Abstract: Brown trout (*Salmo trutta m. fario* L.) is a carnivorous fish species foraging on aquatic invertebrates and small fish. To my knowledge, aquatic plants have not been reported as a dominant food item. I found plants in the diet of the brown trout in the Metuje river (Czech Republic) and the aim of this paper is to quantify and explain this unusual foraging behaviour. Trouts were caught during April–June 2016 and ten fish monthly were analysed. Trouts consumed the river water-crowfoot, *Batrachium fluitans* Lam., which made a dominant part of the diet (on average 49% of weight of the stomach content, and 73% frequency among individuals) and the amount of plants in the diet decreased as the season progressed. Otherwise frequent aquatic invertebrates and small fish were found to be subdominant part of the diet. I suggest that aquatic plants were eaten unintentionally with aquatic insects, particularly larvae of the black flies (Simuliidae), attached on them.

Key words: diet preference, food, foraging behaviour, herbivory, stomach content

INTRODUCTION

Brown trout (*Salmo trutta morpha fario* L.) is the typical fish species of mountain and sub-mountain streams. Stoneflies (Plecoptera), mayflies (Ephemeroptera), true flies (Diptera) and caddisflies (Trichoptera) make a common part of its diet (MONTORI et al. 2005, TEIXEIRA & CORTES 2006). Moreover, older brown trouts consume small fish and crayfish (KAEDING & KAYA 1978, JENSEN et al. 2004). Apart from the role of fish age, the diet composition changes seasonally, depending on prey base composition (TUČEK 1955, DYK 1956, KOKEŠ 1982). Conditionally, brown trout can be an opportunistic feeder with more general food habits, or a specialized feeder on aquatic invertebrates (DYK 1956, OSCOZ et al. 2005, BELICA 2007).

I found no previous reports of aquatic plants as an important dietary item in the carnivorous brown trout. During the research of diet composition of trout from the Metuje river a surprisingly high proportion of river water-crowfoot (*Batrachium fluitans* Lam.) was found in the stomach content of adult brown trout in spring period. Here I analyse the degree to which aquatic plants are consumed and provide the possible explanation of this phenomenon.

MATERIAL AND METHODS

This study was carried out on the Metuje river near the village of Bražec (Náchod district, the Czech Republic), where the 500 m stretch of the river was angled upstream starting from 50°39'6.08" N, 16°16'1.85" E. The river has a high proportion of streams and its water surface is substantially covered by aquatic plants, dominated with river water-crowfoot, *Batrachium fluitans* Lam. (Figure 1).

Adult trouts were continuously captured by the members of the Czech Anglers Union during April–June 2016. Thirty studied adult trouts (ten individuals monthly) aged five

to eight years were in the similar condition, 228–400 mm of standard length. The fish were killed, weighed to the nearest 0.1 g (total weight, Wt) and measured to the nearest 1 mm (standard length, SL) using digital callipers (Table 1). The fish were then dissected and the stomach contents preserved in 4% formaldehyde for later analysis.



Fig. 1. Metuje river in Bražec (Náchod District, Czech Republic), 24th May 2016. Photo by T. Zapletal.
Obr. 1. Řeka Metuje v Bražci (okres Náchod), 24. května 2016. Foto T. Zapletal.

A modified gravimetric method was used to determine diet composition (HYSLOP 1980). All items were separated and determined under a binocular microscope, magnification 40 and 40–450×, respectively. The relative weight of dietary item “i” (Wi, in %) was expressed as percentage proportion between weight of a particular food component and the sum of weights of all food components; frequency of occurrence (FOi, in %) is the number of individuals containing a particular dietary component in the stomach relative to number of all individuals. The index of preponderance

Tab. 1. Number and biometrical data of examined brown trouts caught in the Metuje river in April–June 2016.

Explanation: SL – standard length (cm), Wt – total weight (g).

Tab. 1. Počet a biometrická data hodnocených pstruhů obecných formy potoční z řeky Metuje v dubnu až červnu 2016.

Výsvětlivky: SL – délka těla (cm), Wt – celková hmotnost (g).

	April / Duben	May / Květen	June / Červen
No. of fish / Počet ryb	10	10	10
SL (mean ± SD)	252.2 ± 19.3	280.6 ± 54.2	303.4 ± 34.9
SL (min–max)	228–283	235–402	273–400
Wt (mean ± SD)	213.9 ± 47.5	318.9 ± 209.9	426.7 ± 185.6
Wt (min–max)	155–299	169–832	264–810

Tab. 2. Diet composition of the brown trouts caught in the Metuje river in April–June 2016. Explanation: Wi (%) – relative weight, FOi (%) – frequency of occurrence among individuals, IPi (%) – index of preponderance.

Tab. 2. Složení potravy hodnocených pstruhů obecných formy potoční z řeky Metuje v dubnu až červnu 2016. Výsvětlivky: Wi (%) – hmotnostní podíl, FOi (%) – frekvence výskytu mezi jedinci, IPi (%) – index převahy.

	April / Duben			May / Květen			June / Červen		
	Wi	FOi	IP	Wi	FOi	IP	Wi	FOi	IP
Aquatic plants / Vodní rostliny									
<i>Batrachium fluitans</i>	64.1	90	71.2	57.6	80	71.2	24.0	50	22.5
Fish / Ryby	11.5	50	7.1	18.0	20	5.6	25.0	30	14.0
Aquatic insects / Vodní bezobratlí									
Diptera: Simuliidae	8.5	70	7.4	5.3	50	4.1	9.3	60	10.5
Ephemeroptera	10.7	80	10.6	9.8	60	9.1	2.2	30	1.2
Terrestrial insects / Suchozemský hmyz	5.2	60	3.7	9.3	70	10.0	39.5	70	51.8

(IPi, in %) according to NATARAJAN & JHINGRAN (1961) was used to assess the “importance” of dietary item “i” and it was calculated using the equation (for explanations see the text above):

$$IPi = (Wi * FOi) / (\sum W * FOi) \times 100$$

Statistical comparisons of relative weight of aquatic plants (%) in the food of fish in three particular months (April, May and June) were undertaken using one-way ANOVA with post hoc Tukey HSD test. Tests were performed in STATISTICA 6. All aspects of this study were carried out in accordance with Czech law regarding animal care and protection.

RESULTS AND DISCUSSION

All sampled fish had stomachs filled with food. The overall relative weight of the river water-crowfoot in the food was found to be 48.6%, being the highest in April and May (64.1 and 57.6%, respectively) and then decreasing in June (24.0 %; ANOVA: $F_{2,27} = 4.9$, $P = 0.02$). Terrestrial insects (W = 18.0%, FO = 66.7%, IP = 21.8%), fish (W = 18.2%, FO = 33.3%, IP = 8.9%) and aquatic invertebrates (W = 7.7%, FO = 58.3%, IP = 7.2%) were found to be subdominant (Table 2).

To my knowledge, aquatic plants have not been previously reported as a dominant food item. Typically, benthic invertebrates compose the major proportion of trout's diet (DYK 1956, NEVEU 1980, MONTORI et al. 2005, TEIXEIRA & CORTES 2006, BELICA 2007). Small fish are recedent part of the diet (BARUŠ & OLIVA 1995, KAEDING & KAYA 1978, JENSEN et al. 2004). Dipters (Simuliidae) are described as an important diet item by BARUŠ & OLIVA (1995).

Black flies may have been attached to a river water-crowfoot (phenomenon described by OOSTERBROEK 2006)

and brown trouts probably consumed plant material only unintentionally when preying on the black flies (i.e., foraging on plants was not motivated by nutritional and physiological requirements). The fact that macrophyte proportion in the diet decreased in June, when brown trout returned to an almost exclusive diet, aquatic invertebrates and fish, strongly suggests, that plant consumption was associated with black flies consumption. Herbivory is physiologically impossible in the brown trout (BARUŠ & OLIVA 1995). The digestive tract of this species is not adapted to digest the herbivorous food (SPURNÝ 1998). However, the similar case of “herbivory” in carnivorous fish was described in the European perch, *Perca fluviatilis* L. (ZAPLETAL et al. 2016). Terrestrial macrophytes (*Alopecurus* sp.) with fish eggs were found there.

SOUHRN

V průběhu období duben–červen 2016 byla provedena analýza potravy pstruha obecného formy potoční (*Salmo trutta* m. *fario* L.) z úseku řeky Metuje pod městem Náchod. Při sportovním rybolovu bylo průběžně odloveno 30 jedinců (10 měsíčně) a potrava v žaludcích byla hodnocena gravimetrickou metodou. Důvodem byl nezvyklý nález rostlinného materiálu v potravě pstruha. Jednalo se o lukušník vzpěvavý (*Batrachium fluitans* Lam.) a tento materiál činil dominantní část potravy (celkově 49 %, přičemž relativní hmotnost v potravě klesala během sezóny). V dosavadní ichtyologické literatuře nebyl podobný případ doposud zaznamenán.

Součástí potravy bylo také velké množství vodních bezobratlých, především larev muchniček (Simuliidae) a jepic (Ephemeroptera) nalezených v přirozeném biotopu hlavně v porostech lukušníku vzpěvavého. Makrofyta byla přijímána rybami pravděpodobně jen jako balastní složka potravy společně s přisedlými bezobratlými. Vodní rostliny díky tomu tvořily v potravě dominantní podíl. V červnu, kdy došlo k maturaci přisedlých bezobratlých a jejich mizení

z porostů vodních rostlin, konzumace makrofyt významně poklesla a potrava již odpovídala typickému karnivornímu způsobu obživy. Herbivorie pstruha obecného formy potoční je fyziologicky vyloučena, protože jeho zažívacího trakt není přizpůsoben na efektivní využití rostlinné potravy. Podobné chování bylo popsáno u okouna říčního (*Perca fluviatilis* L.), který při lovu konzumoval zatopenou suchozemskou vegetaci spolu s přísedlými jikrami.

ACKNOWLEDGEMENTS

The study was supported by the project called „Specific research“ No. 2117/2016 of the University of Hradec Králové. I thank both of reviewers of this manuscript; Dr. M. Pačlík particularly.

REFERENCES

- BARUŠ V. & OLIVA O. (1995): Míhulovci (Petromyzontes) a ryby (Osteichthyes). Academia Praha, 1st. ed., 632 pp.
- BELICA L. (2007): Brown trout (*Salmo trutta*): A technical conservation assessment.
- USDA Forest Service, Rocky Mountain region. Species conservation project, 28 pp.
- DOHNAL L. (1999): Analýza rozptylu ANOVA. – *Fons*, 4: 21–25.
- DYK V. (1956): Naše ryby I. ČSAZV Praha, 1st. ed., 340 pp.
- HYSLOP E. J. (1980): Stomach contents analysis – a review of methods and their application. – *Journal of Fish Biology*, 17: 411–429.
- JENSEN H., BÖHN T., AMUNDSEN P. A. & ASPHOLM P. E. (2004): Feeding ecology of piscivorous brown trout (*Salmo trutta* L.) in a subarctic watercourse. – *Annales Zoologici Fennici*, 41: 319–328.
- JOHNSON B. O. & UGEDAL O. (2008): Feeding by hatchery-reared and wild brown trout, *Salmo trutta* L., in a Norwegian stream. – *Aquaculture research*, 17: 281–287.
- KAEDING L. R. & KAYA C.M. (1978): Growth and diets of trout from contrasting environments in a geothermally heated stream: the Firehole River of Yellowstone National Park. – *Transactions of the American Fisheries Society*, 107: 432–438.
- KOKEŠ J. (1982): Potrava juvenilních jedinců pstruha potočního (*Salmo trutta*) dvou potoků v povodí říčky Bělé. – *Vertebratologické zprávy*: 43–47.
- MONTORI A., TIerno DE FIGUEROA J. M. & SANTOS X. (2006): The diet of the brown trout *Salmo trutta* (L.) during the reproductive period: Size-related and sexual effect. – *International Review of Hydrobiology*, 91: 438–450.
- NATARAJAN A. V. & JHINGRAN A. G. (1961): Index of preponderance – a method of grading the food elements in the stomach analysis of fishes. – *Indian Journal of Fisheries*, 8: 54–59.
- NEVEU A. (1980): Relations entre le bentos, la derive, le rythme alimentaire et le taux de consommation de truites communes (*S. trutta* L.) en canal experimental. – *Hydrobiologia*, 76: 217–228.
- OSCOZ J., LEUNDA P. M., CAMPOS F., ESCALA M. C. & MIRANDA R. (2005): Diet of 0+ brown trout (*Salmo trutta* L., 1758) from the river Erro (Navarra, north of Spain). – *Limnetica*, 24: 319–326.
- OOSTERBROEK P. (2006): The European Families of the Diptera – Identification, diagnosis, biology. DZS d.d. Utrecht, 205 pp.
- SPURNÝ P. (1998): Ichtyologie. MZLU Brno, 1st. ed., 280 pp.
- TEIXEIRA A. & CORTES R. M. (2006): Diet of stocked and wild trout (*Salmo trutta*): Is there competition for resources? – *Folia Zoologica*, 55: 61–73.
- TUČEK J. (1955): O potravě pstruha obecného (*Salmo trutta morpha fario* L.) a její přístupnosti v předjarních měsících v řece Moravici. – *Živočišná výroba*, 28: 385–394.
- ZAPLETAL T., ADÁMEK Z., JURAJDA P., ROCHE K., VŠETIČKOVÁ L. & MAREŠ J. (2016): Consumption of plant material by perch (*Perca fluviatilis*). – *Folia Zoologica*, 65: 95–97.

Článek 3

Článek ve sborníku z konference indexovaný ve WoS

ZAPLETAL, T., ANDREAS, M., (2016): Biomanipulating effect of grass carp (*Ctenopharyngodon idella* Val.) in artificial water channels. *Mendelnet 2016*: 364-367. ISBN 978 – 80 – 7509 – 443 – 8.

Stručný obsah:

Dva uměle vytvořené vodní kanály v minulosti silně zarůstaly vodními makrofyty. K redukci těchto makrofyt byl v rámci biomanipulace vysazován amur bílý. Vysazování amuři skutečně konzumovali rostlinný materiál ve významném množství. Zároveň v letech 1998–2015 došlo k průkazně silnému ústupu vodních makrofyt. Kauzální spojitost mezi úbytkem vodních makrofyt a působením amura bílého však nebylo možno zcela přesně doložit, protože na úbytku makrofyt se podílely také intenzivní povodně v průběhu sledovaného období. Přesto lze konstatovat, že vysazováním amura bílého je možné dosáhnout alespoň částečného biomelioračního efektu.

BIOMANIPULATING EFFECT OF GRASS CARP (*CTENOPHARYNGODON IDELLA* VAL.) IN ARTIFICIAL WATER CHANNELS

TOMAS ZAPLETAL, MICHAL ANDREAS

Department of Biology
University of Hradec Kralove
Namesti Svobody 301, 500 02 Hradec Kralove
CZECH REPUBLIC
zapletal1970@gmail.com

Abstract: The grass carp (*Ctenopharyngodon idella* Val.) is an important species used to control invasive aquatic macrophytes in many parts the world. In this study, we assess the diet of grass carp introduced to two artificial channels overgrown with aquatic vegetation. We examined forty 7+ to 9+ carp (517–814 mm standard length) sampled in the summers of 1998 and 2015. Aquatic vegetation was the dominant dietary item, with insects, fruit and vegetable remains (stones of *Prunus* sp., potato remains) and detritus a minor part of the diet. Aquatic plant biomass declined significantly at the study sites after carp were introduced, with coverage reduced from 65–70% of the water's surface in summer 1998 to 10% in summer 2015.

Key words: overgrown channels, aquatic vegetation, biomanipulation, carp, fish diet

INTRODUCTION

The herbivorous grass carp (*Ctenopharyngodon idella* Val.) has become an important species in many types of water body around the world due to its potential biomelioratory effect against invasive aquatic macrophytes (Adámek and Kokorďák 1982, Krupauer 1989). In general, its successful acclimatisation is only really limited by a mean temperature isotherm of around 5 °C (Opuszyński 1969, Carter et al. 1992). Grass carp are relatively well known to fish farmers in the Czech Republic (Krupauer 1967), having been introduced into Czech fish ponds in 1961 to provide biotechnological control of aquatic weeds and, at the same time, to increase fish production (Adámek et al. 1996, Kubů and Lusk 1962). Today, grass carp are an important element of fish pond stock. In some cases, however, the species can cause significant limnological changes to pond ecosystems due to its dietary preference for aquatic plants (Pípalová et al. 2009).

Between 1995 and 1998, around 1500 adult grass carp were stocked into two artificial channels (i.e. approx. 214 each year) in order to clear them of weed growth, the channels having become overgrown with aquatic plants in the early 1990s (Zapletal and Lohnický 2015). Since then, the accumulation of plant production in the channels has decreased dramatically.

Here, we assess whether feeding activity of grass carp was directly responsible for the decrease in aquatic plant biomass in the artificial channels. Secondly, we evaluate whether grass carp diet composition changed between 1998, when stocking ceased, and 2015, following the reduction in aquatic plant biomass.

MATERIAL AND METHODS

Study site

This study was carried out along two artificial channels, the Opatovický channel near the village of Opatovice nad Labem and the Maly labský millrace near the town of Hradec Králové, both in eastern Bohemia, Czech Republic. In each case, a 100m stretch of channel was fished upstream (method below) starting from 50°8'38.4 N, 15°47'28.1 E for the Opatovický channel and 50°23'45.6"N, 15°82'42.0"E for the Maly labský millrace. Before stocking, both channels were covered by a dense growth of contiguous riparian vegetation, with the surface community dominated by river water-crowfoot

(*Batrachium fluitans* Lam.), fan-leaved water-crowfoot (*Batrachium circinatum* Sibth.) and variegated red sweet-grass (*Glyceria maxima* Hartm.)—all taxa described according to Danihelka et al. (2012).

Percentage coverage of aquatic vegetation was evaluated in the second half of June in 1998, 2001, 2004, 2007, 2010, 2013 and 2015 (A three-year period was chosen as changes year-to-year were non-significant). At each site, Aquatic vegetation was sampled from 11 x 1 m² sites along the same 100 m stretch used for fishing and relative percentage coverage evaluated. The final result is an average of the 11 values (all methods according to Grulich and Vydrová 2006).

Fish sampling and analysis

A total of forty 7+ to 9+ carp (517–814 mm standard length [SL], 1300–5066 g total weight [TW]) were collected by means of electrofishing and angling, ten specimens at each site each year (i.e. Opatovický 1998 and 2015, Maly labsky 1998 and 2015). After weighing (TW; nearest 0.1 g) and measuring (SL; nearest 1 mm), each fish humanely sacrificed and the gut contents removed and preserved in 4% formaldehyde for later laboratory analysis. Each sample was observed under a 40–450 x magnification binocular microscope and the remains separated into taxa. Unidentified plant remains were registered as “macrophyte fragments” only. Diet composition is presented as relative percentage biomass (%Wi; Hyslop 1980) and index of preponderance (IP; Natarajan and Jhingran 1961). Statistical relevance ($P < 0.05$) was assessed using one way ANOVA (Dohal 1999) with post-hoc Tukey tests using the software provided in Microsoft® EXCEL 2010.

All aspects of this study were carried out in accordance with Czech regulations regarding animal welfare and protection.

RESULTS AND DISCUSSION

Aquatic vegetation coverage

In 1998, approximately 70% of the Opatovický channel was covered in river water-crowfoot (70%), fan-leaved water-crowfoot (20%) and variegated red sweet-grass (10%). At the Maly labsky millrace, on the other hand, fan-leaved water-crowfoot only covered approximately 65% of the water's surface. These figures only dropped after 2006, following severe flooding ($Q > 100$). In 2015, seventeen years later, aquatic vegetation cover had been reduced to just 9% on the Opatovický channel and 11% on the Maly labsky millrace, with fan-leaved water crowfoot the dominant species at both sites (Figure 1). Coverage in all years after 2006 was significantly lower than those before 2006 (ANOVA, all $P < 0.05$). This would suggest that grass carp had not been able to reduce macrophyte coverage in the channels prior to 2006. After large-scale scouring of the channels following flooding in 2006, however, the carp were able to prevent macrophytes from proliferating and covering the channels' surface once more.

Diet composition and biomanipulation effect

Macrophyte fragments; undeterminable parts of river water-crowfoot, red sweet-grass and remains of terrestrial vegetation; dominated in grass carp diet at both localities, both at the start and end of the study (Opatovický channel, IP 1998 = 33.8, 2015 = 66.7; Maly labsky millrace, IP 1998 = 53.7, 2015 = 70.0). Water-crowfoot was sub-dominant in 1998 (Opatovický, IP = 28.2; Maly labsky millrace, IP = 34.3), but was recedent 17-years later (Figure 2). Red sweet-grass was only found in one case in the Opatovický channel in 1998 and has not been observed since in either study area. Fruit and vegetable remains (including stones of *Prunus sp.* and potato peelings from household/garden waste) and filamentous algae and aquatic invertebrates (intake associated with consumption of macrophytes; see also Pípalová 2009) were only recorded as recedent (IP < 10.0; Figure 2). While the relative percentage of identifiable remains changed between 1998 and 2015, there was no significant difference ($P > 0.05$) in the overall mean level of macrophytes eaten between the two periods (i.e. Opatovický channel 1998 = 70% 2015 = 69%, Maly labsky millrace 1998 = 82%, 2015 = 79%)

Herbivory in grass carp is a well-known and widely-described phenomenon. Catarino et al. (1997), for example, noted that grass carp in a large Portuguese irrigation system fed primarily on the dominant species of parrot feather watermilfoil (*Myriophyllum aquaticum*), fennel pondweed (*Struckenia pectinate*) and duckweed (*Lemna sp.*). Similar results were obtained at localities in the USA by Masser (2002). As such, grass carp are successful generalist feeders that can vary their feeding behaviour and

dietary choices depending upon the aquatic plant species available. Our own results clearly demonstrate, however, that while grass carp diet consisted almost entirely of the dominant aquatic plant species, they were unable to reduce aquatic biomass to any great degree until flooding apparently reduced aquatic biomass in the channels to between 55 and 60% of its former level. From then on, they were able to control any further growth to such an extent that the channels remain largely clear of plant growth to this day. In doing so, they played an important role in maintaining water discharge in these shallow artificial channels.

Figure 1 Aquatic plant coverage at the Opatovicky channel (white) and the Maly labsky millrace (grey) between 1998 and 2015

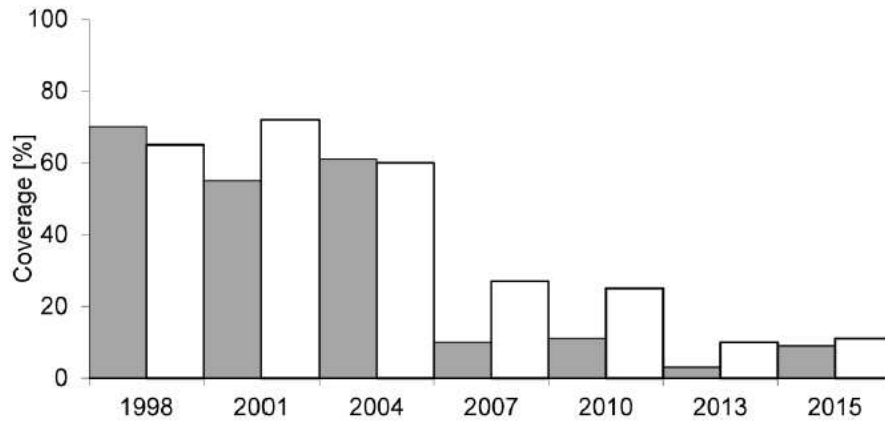
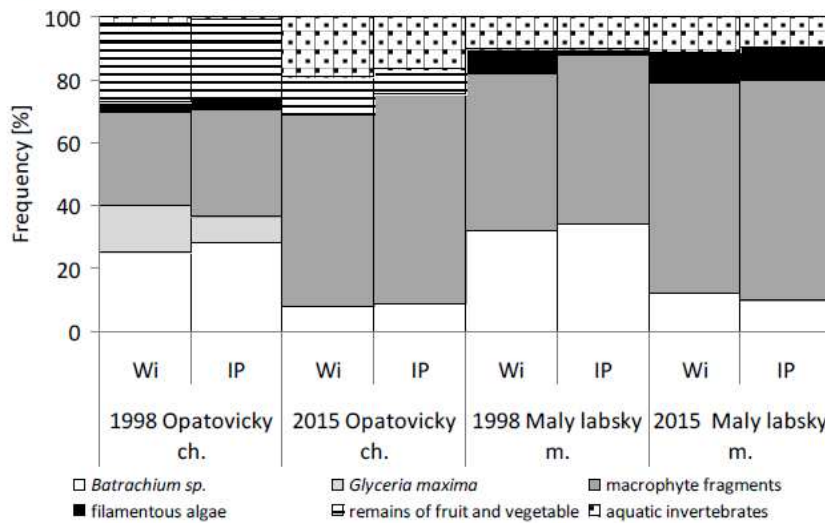


Figure 2 Diet composition of grass carp in 1998 and 2015; relative percentage biomass total food intake (Wi) and index of preponderance (IP)



CONCLUSION

At the stocking densities used in this study, grass carp in previously overgrown artificial channels in the Czech Republic did not have any clear bio-meliorating effect in overgrown channels until after flooding had reduced aquatic plant biomass by around 60%. Since then, the carp have proved highly

effective at controlling plant biomass in these channels, thereby playing an important role in maintaining water discharge. Future biomanipulation studies using grass carp, therefore, should either, use higher stocking densities, remove the bulk of plant material prior to stocking or stock carp during winter when the plant material has died back.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was financially supported through Specific Research Project No. 2117/2016 from the University of Hradec Králové (PrFÚHK). We would like to thank Pavel Jurajda for methodological help and Kevin Roche for English language correction.

REFERENCES

- Adámek, Z., Kokorďák, J. 1982. Význam makrofyt ve vodním hospodářství. In *Proceedings of Congress – Význam makrofyt ve vodním hospodářství, hygieně vody a rybářství 82*. Tábor, Czech Republic, June. Dům techniky ČSVTS, pp. 181–183.
- Adámek, Z., Horecká, M., Fašaič, K. 1996. Food relationships among tench (*Tinca tinca* L.), grass carp (*Ctenopharyngodon idella* Val.) and silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.). *Ichthyos*, 13(1): 50–61.
- Carter, C.G., Houlihan, D.F., McCarthy, I.D., Brafield, A.E. 1992. Variation in the food intake of grass carp (*Ctenopharyngodon idella* Val.), fed singly or in groups. *Aquatic Living Resources*, 5: 225–228.
- Catarino, L.F., Ferreira, M.T., Moreira, I.S. 1997. Preferences of Grass Carp for Macrophytes in Iberian Drainage Channels. *Journal of Aquatic Plant Management*, 36: 79–83.
- Danihelka, J., Chrtěk, J., Kaplan, Z. 2012. Checklist of vascular plants of the Czech Republic. *Preslia*, 84: 647–811.
- Dohnal, L. 1999. Analýza rozptylu ANOVA. *Fons*, 4: 21–25.
- Grulich, V., Vydrová, A. 2006. *Metodika odběru a zpracování vzorků makrofyt tekoucích vod*. Praha: Výzkumný ústav vodohospodářský Tomáše Garrigue Masaryka.
- Hyslop, E.J. 1980. Stomach contents analysis – a review of methods and their application. *Journal of Fish Biology*, 17(4): 411–429.
- Krupauer, A. 1967. Výběrovost v potravě u dvouletých bílých amurů. *Bulletin VÚRH Vodňany*, 1: 7–17.
- Krupauer, A. 1989. *Býložravé ryby*. 1 vyd., Praha: Ministerstvo Zemědělství a Výživy ČSR a ČRS.
- Kubů, F., Lusk, J. 1962. První zkušenosti po výlovu bílého amura u nás. *České rybářství*, 3: 19.
- Masser, M.P. 2002. Using grass carp in aquaculture and private impoundments. *Southern regional Aquaculture center*, 3600: 1–5.
- Natarajan, A., Jhingran, A.G. 1961. Index of preponderance – a method of grading the food elements in the stomach analysis of fishes. *Indian Journal of Fisheries*, 8: 54–59.
- Opuszyński, K. 1969. Produkcja ryb roślinozernych (*Ctenopharyngodon idella* Val. i *Hypophthalmichthys molitrix* Val.) w stawach karpiovych. *Roczniki Nauk Rolniczych*, 2: 219–309.
- Pípalová, I., Květ, J., Adámek, Z. 2009. Limnological changes in a pond ecosystem caused by grass carp (*Ctenopharyngodon idella* Val.) low stocking density. *Czech Journal of Animal Science*, 54(1): 31–45.
- Zapletal, T., Lohniský, K. 2015. Summer diet composition of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* Val. (actinopterygii: cypriniformes: cyprinidae) in an artificial channel. *Východočeský sborník přírodovědný – Práce a studie*, 22: 121–126.

Článek 4

Periodikum s impakt faktorem – 0,5 v tisku

ZAPLETAL, T., ANDREAS, M., ADÁMEK, Z., ŠPAČEK, J., MIKL, L., MAREŠ, J., (2019): Endangered aquatic macrophytes in the diet of rudd (*Scardinius erythrophthalmus*). *Folia Zoologica* 68(1): XX - XX.

Stručný obsah:

Mrtvá ramena řek jsou specifické vodní útvary, ve kterých se vyskytuje velké množství vodních makrofyt. Jedním z těchto makrofyt je rdest ostrolistý. Zároveň se zde vyskytuje perlín ostrobřichý, který může být konzumentem těchto rostlin. Protože rdest ostrolistý je zvláště chráněným druhem, byl proveden průzkum, jakou roli sehrává tato rostlina v potravě perlína.

Byla zde provedena jak potravní analýza in-situ, tak specializovaný klecový experiment. V jedné z klecí byla ponechána přirozená sukcese vodních rostlin, ve druhé kleci byly rostliny mechanicky čištěny. Navíc byly provedeny nutriční analýzy přijaté rostlinné potravy.

Výsledky prokázaly, že perlín ostrobřichý přijímá rdest ostrolistý záměrně a ve významném množství. Přijatý rdest ostrolistý je významným potravním zdrojem také v důsledku přisedlých bezobratlých a perifytonu. S tím také korespondují výsledky klecového experimentu. Studie přesto neprokázala žádný devastující vliv perlína ostrolistého na porosty zvláště chráněných rostlin. Fytocenologické průzkumy poukázaly na skutečnost, že perlín a rdest ostrolistý se mohou vedle sebe vyskytovat a oba z toho mohou navíc profitovat.

FOLIA ZOOLOGICA

INTERNATIONAL JOURNAL OF VERTEBRATE ZOOLOGY

Decision Letter (FZ-2018-066.R1)

From: jzima@brno.cas.cz
To: zapletal.tomas@email.cz
CC:
Subject: Folia Zoologica - Decision on Manuscript ID FZ-2018-066.R1
Body: 09-Dec-2018

Dear Dr. Zapletal:

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "Endangered aquatic macrophytes in the diet of rudd (*Scardinius erythrophthalmus*)" in its current form for publication in Folia Zoologica. The comments of the reviewer(s) who reviewed your manuscript are included at the foot of this letter.

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Editors of Folia Zoologica, we look forward to your continued contributions to the Journal.

Sincerely,
Dr. Jan Zima
Editor in Chief, Folia Zoologica
jzima@brno.cas.cz

Reviewer: 1

Comments to the Author
The paper is clearly improved after revision. Authors took into account reviews, mainly comments and questions from the second reviewer who helped significantly to improve the MS and highlighted the inconsistencies I have overlooked (which I apologize to both the editor and the author). Just one mistype occurs in the revised version, I think:
L 83 - "mi" should be "ni" (relative abundance of the prey item in the environment)

Associate Editor
Comments to the Author:
(There are no comments.)

Date Sent: 09-Dec-2018

SCHOLARONE™
Manuscripts

Manuscripts with Decisions

ACTION	STATUS	ID	TITLE	SUBMITTED	DECISIONED
	ME: Glosová, Lenka	FZ-2018-066.R1	Endangered aquatic macrophytes in the diet of rudd (<i>Scardinius erythrophthalmus</i>) View Submission	21-Nov-2018	09-Dec-2018
	<ul style="list-style-type: none">Accept (09-Dec-2018)Awaiting Production Checklist				

[view decision letter](#)

Endangered aquatic macrophytes in the diet of rudd (*Scardinius erythrophthalmus*)

Tomáš ZAPLETAL^{1*}, Michal ANDREAS¹, Zdeněk ADÁMEK², Jan ŠPAČEK¹, Libor MIKL²
and Jan MAREŠ³

¹Faculty of Science, University of Hradec Králové, Rokytanského 62, 500 03 Hradec Králové, Czech Republic; e-mail: zapletal1970@gmail.com

²Institute of Vertebrate Biology, Czech Academy of Sciences, Květná 8, 603 65 Brno, Czech Republic

³Faculty of Agronomy, Mendel University, Zemědělská 1/1665, 603 65 Brno, Czech Republic

Received 18 September 2018; Accepted 9 December 2018

Abstract. Oxbow lakes are specialised standing water bodies that often support unique macrophyte and animal communities. Between 2015 and 2016, we assessed the diet composition of adult rudd (*Scardinius erythrophthalmus*) in one such macrophyte-rich lake. Over 2016, we also undertook a series of feeding behaviour tests under artificial conditions, the aim being to assess whether adult rudd represent a threat to the endangered sharp-leaved pondweed (*Potamogeton acutifolius*). In total, we examined 100 digestive tracts of rudd feeding under natural conditions and 100 from rudd feeding under artificial conditions. Our results show that i) *P. acutifolius* is deliberately consumed by rudd, and ii) pondweeds, periphyton and invertebrates were the dominant dietary components in the diet. A reluctance to consume cleaned *P. acutifolius* suggests a link with periphyton and invertebrate consumption. While rudd clearly consume *P. acutifolius*, we found no evidence of any negative impact on either pondweed development or on the macrophyte community as a whole.

Key words: herbivorous fish, diet composition, oxbow lakes, *Potamogeton acutifolius*, feeding habits

Introduction

Oxbow lakes are a distinctive form of shallow standing waterbody, formed when a wide meander from the main stem of a river is cut off. Such lakes provide optimal conditions for submerged macrophytes, with high nutrient availability, plenty of light and warm water temperatures. As such, many of these lakes support unique macrophyte and animal communities, often including endangered macrophyte species. The sharp-leaved pondweed (*Potamogeton acutifolius*) is typically found in mesotrophic to mid-eutrophic lentic habitats along lowland rivers (e.g. oxbow lakes), but has shown a recent decline, possibly due to the increasing occurrence of longer dry period leading to a drop in water levels and increased eutrophication. The species is currently included in the European Red List data book for vascular plants as an endangered species and is classified as endangered in the Czech Republic according to Red List of Protected Species (Daníhelka et al. 2012).

The rudd, *Scardinius erythrophthalmus*, is a widespread European cyprinid species found in most still or slow-flowing freshwaters (Wolnicki et al. 2009). As rudd are phytophilic and spawn on soft aquatic macrophytes, they are usually associated with abundant submerged vegetation (Hicks 2003). Rudd fry consume unicellular algae and phytoplankton and switch to zooplankton and small chironomids when they reach ca. 10 mm standard length (SL) (Kennedy & Fitzmaurice 1974). Older rudd (> 149 mm SL) may also consume chironomids; however, the greater part of their diet consists of soft submerged macrophytes (Baruš & Oliva 1995, Tomec et al. 2003). The predominance of different food categories in the diet depends strongly on season (Nurminen et al. 2003), with rudd usually preferring zooplankton and small invertebrates in spring and autumn, with macrophytes and algae increasing in importance in summer (García-Berthou & Moreno-Amich 2000, Vejříková et al. 2016).

As rudd commonly occupy the same habitat as *P. acutifolius*, they could theoretically pose a threat to this endangered species (Guinan et al. 2015), either through grazing to the plant or through other, as yet unidentified, impacts. To the best of our knowledge, such interactions have yet to be examined in the native habitat of both species. The aim of this study, therefore, was to assess whether rudd is a significant consumer of *P. acutifolius* in small, shallow macrophyte-rich oxbow lakes, and whether they have any impact on macrophyte-rich aquatic systems as a whole.

* Corresponding Author

Material and Methods

Study area

This study was undertaken in a shallow (max. depth 2 m) 0.4 ha oxbow lake associated with the River Orlice (the Elbe River basin), situated near the town of Hradec Králové in north-eastern Bohemia, Czech Republic (50°13'04" N, 15°53'82" E, altitude 230.5 m a.s.l.; Fig. 1).

The locality is situated within the Pekelská jezera Nature Park and the alluvial wetlands are artificially flooded at least once each five years. While the oxbows come under the control of the Czech Anglers Union, no fish had been stocked in the oxbows for at least five years before this study. The most common species in the oxbows are cyprinids, with crucian carp (*Carassius carassius*) and rudd (*Scardinius erythrophthalmus*) usually dominant. Common carp (*Cyprinus carpio*) also occur rarely due to earlier stocking efforts.

The aquatic macrophyte community in the oxbow is dominated by hornwort (*Ceratophyllum demersum*), Eurasian watermilfoil (*Myriophyllum spicatum*), *P. acutifolius* and water crowfoot (*Batrachium trichophyllum*).

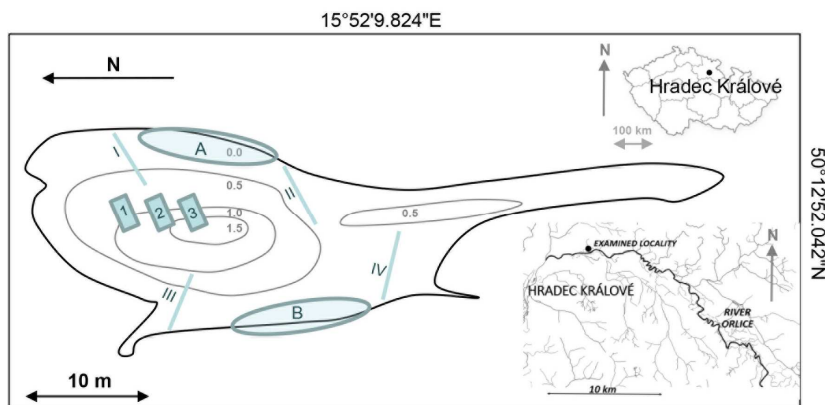


Fig. 1. Plan of the oxbow study area in the Pekelská jezera Nature Park, with monitoring and experimental sites indicated. A + B = beach seining sites, I-IV aquatic macrophyte monitoring sites, 1-3 experimental cages.

Macrophyte sampling

For the purposes of this study, submerged aquatic macrophytes were sampled manually along a 15 m stretch at four littoral sites (Fig. 1) in April, June, August, October and December of 2015 and 2016, based on the methods of Grulich & Vydrová (2006). For organisational reasons, monitoring was undertaken each two months at the same time as fish monitoring. Macrophytes were determined to species level and expressed as relative frequency over the study stretch. These values were then expressed gravimetrically and used to determine Ivlev's index of electivity (see below).

Fish sampling

Rudd sampling was performed in April, June, August, October and December of 2015 and 2016 using a 20 m 2 cm mesh beach seine along both long banks (Fig. 1). All fish caught were identified to species, measured to the nearest 1 mm (SL) and species other than rudd released back to the oxbow alive.

Fish caught in 2015 were used for dietary analysis (100 individuals), while those in 2016 were used for a field test of feeding preference under artificial conditions (100 individuals). All rudd in the feeding experiment were >180 mm SL and aged five years or older, this being the dominant category in the oxbow, i.e. the main potential threat to submerged macrophytes (Baruš & Oliva 1995, Tomec et al. 2003). In addition, we captured and examined 20 sub-adult rudd < 180 mm SL in June 2015, though this cohort was not expected to consume macrophytes. Immediately after capture, all fish were

euthanised with an overdose of clove oil, placed separately into laboratory zip-lock bags and kept on ice in a cooler box until examined in the laboratory (Taraborelli et al. 2010, Mikl et al. 2017).

Diet analysis: 2015

Rudd were weighed to the nearest 0.1 g and the first third of the digestive tract removed and weighed to the nearest 0.001 g. The final two thirds of the gut were not examined due to excessive food digestion (Vøllestad 1985). The gut was again weighed after removal of ingested food, the difference being considered the mass of food. Gut contents were frozen for further analysis. Fish with empty digestive tracts were noted and excluded from further analysis.

Nutritional analysis

Protein, lipid and ash content were analysed in order to determine the basic biochemical composition of *P. acutifolius* and filamentous algae, protein being quantified using the Kjeldahl method, lipids using extraction with trichloroethylene and ash assessed following incineration in a muffle furnace at 525 °C for six hours (see Tomec et al. 2003). While other macrophyte species may also contribute significantly to the diet, we concentrate on *P. acutifolius* only as a) we are specifically interested in the value of this particular species as a food item, and b) previous studies have already determined the nutritional value of *P. crispus* (Shaltout et al. 2016) and *C. demersum* (Esteves & Suzuki 2010, Laining et al. 2016).

Field experiment: 2016

Three 2 m³ (2 × 1 × 1 m) 20 mm mesh cages were placed on the lake bottom and stabilised with iron rods. All three cages covered an area of submerged macrophytes of similar density and composition (including *P. acutifolius*) to that under natural pond conditions. The macrophytes in cage 3 were cleaned of invertebrates and algae using a soft toothbrush and pressurised water. Rudd were only stocked (or restocked) in the cage after full sedimentation of solid particles to the bottom. While recolonisation is, to some extent, inevitable during the exposure period, we expect no bias toward colonisation from previously cleaned invertebrates.

Twenty rudd of > 180 mm SL were stocked in two of the cages and the third cage (Group 1 – no fish; control) contained submerged macrophytes only (Fig. 1). In one of the two stocked cages, the macrophytes were left in their natural state (Group 2) while those in the second cage were regularly cleaned of epiphytic organisms (Group 3). Between April and December 2016, the rudd were removed from both stocked cages each month and replaced with 20 new individuals of the same size cohort. The removed rudd were euthanised with an overdose of clove oil, placed separately into laboratory zip-lock bags and kept on ice in a cool box until laboratory processing. Each fish was measured to the nearest 1 mm SL and weighed to the nearest 0.1 g. The gut contents in the first third of the digestive tract were removed and weighed to the nearest 0.001 g. Dietary composition was determined as set out below.

Data analysis: 2015-2016

A modification of the gravimetric method (Hyslop 1980) was used to analyse food content in the laboratory. The bulk of the sample consisted of aquatic macrophytes and these were separated from determinable taxa under a binocular microscope. Invertebrate taxa were determined to the lowest taxonomic level by examining identifiable remains (e.g. chironomid head capsules and chitinous remains (carapace, exopodites, post-abdomens) of cladocerans under a 40-450× magnification binocular microscope. *Simocephalus* sp., for example, were determined using the reconstruction method of Orlova-Bienkowskaya (2001). The proportion of total food intake represented by each category was evaluated by the indirect method of Manko (2016), using the following formula:

$$\%m = (m_i/m_t) \times 100$$

where m_i is the weight of a particular food component and m_i is the weight of all food components combined. This value was then combined with frequency of occurrence and expressed as the index of preponderance (IP) according to Natarajan & Jhingran (1961):

$$\%IP = 100 \times ((m_i \times FO_i) / \Sigma(m_i \times FO_i))$$

where m_i is the weight percentage of a particular food component and FO_i is the frequency of occurrence of that food component (Pivnička 1981). The degree of selectivity for all dietary items found in rudd digestive tracts was evaluated using Ivlev's index of electivity (E; Ivlev 1961):

$$\%E = (r_i - n_i) / (r_i + n_i)$$

where r_i is the relative abundance of prey item i in the gut and n_i is the relative abundance of the same prey item in the environment. Prey items in the environment were expressed gravimetrically as n_i . A value of $E = 0$ means a particular food item was taken in direct relation to its availability, $-1 < E < -0.01$ indicates avoidance (consumed less than expected from estimates in the environment) and $0.01 < E < 1$ represents preference (consumed more than expected from estimates in the environment). The index of electivity was evaluated in 2015 only in order to assess the diet preferences of free-living fish. In 2016, the same site was used for the caged experiments.

Statistical evaluation

Differences between macrophyte and dietary groups compared during field observation and during the cage experiment were evaluated using one-way ANOVA ($P < 0.05$) with post-hoc Tukey-tests. All analyses were performed using the R software package v. 3.5.1 – R Core Team 2018 (Crawley 2007).

Results

Macrophyte composition

From April to December in both 2015 and 2016, *C. demersum* dominated in the macrophyte community (32.7 %), followed by *P. acutifolius* (13.1 %) and *M. spicatum* (16.6 %) (Fig. 2.) Both *P. crispus* (8.6 %) and *B. trichophyllum* (9 %) were recedent. Surface water macrophyte coverage was 72.5 % in 2015 and 80 % in 2016, with no significant difference in the overall proportion of *P. acutifolius* observed in 2015 and 2016 ($P > 0.05$). By December 2015, however, *P. acutifolius* abundance had decreased to 5 %, and it was not found at all in December 2016 (Fig. 2). Likewise, *P. crispus* was down to 10 % in December 2015 and was not found in December 2016. In both cases, these represent standard seasonal successional declines over the winter period.

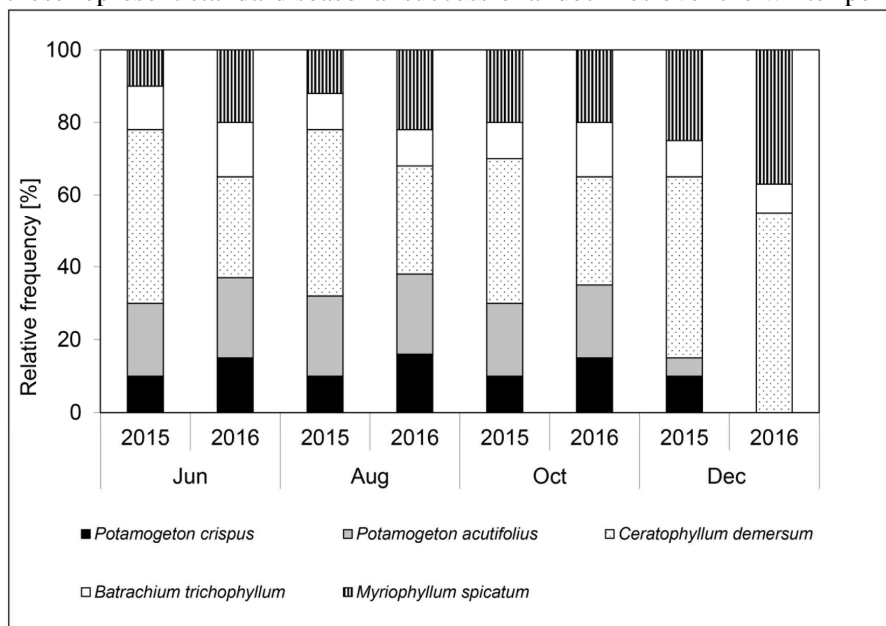


Fig. 2. Temporal variation in macrophyte composition over 2015 and 2016 at the oxbow study site in the Pekelská jezera Nature Park.

Diet composition

Three items dominated the diet of adult rudd under natural conditions, *P. acutifolius* (%IP = 35.7 ± 8.3), filamentous algae (%IP = 31.9 ± 32.4) and *P. crispus* (%IP = 21.1 ± 16.7). These were followed by *C. demersum* (%IP = 16.7 ± 15.8) and detritus (%IP = 11.4 ± 9.5), with *B. trichophyllum* (%IP = 6.0 ± 2.1) and aquatic invertebrates (mainly chironomids and *Simocephalus* sp.; %IP = 1.8 ± 1.4) recedent (Table 1). *Potamogeton acutifolius* was observed in June, August and October 2015 only, being replaced by *C. demersum* in October 2015.

Over the whole sampling season, rudd consumed significantly more *P. acutifolius* and *P. crispus* than all other dietary items together ($P < 0.05$), with no significant difference between the quantities of *P. acutifolius* and *P. crispus* taken ($P > 0.05$). The mean index of electivity value for *P. acutifolius* was 0.25 and 0.36 for *P. crispus* (Fig. 3), suggesting intentional consumption of these food items (December [winter] values excluded). Mean values for *C. demersum* (-0.46) and *B. trichophyllum* (-0.30) indicated avoidance of these food items.

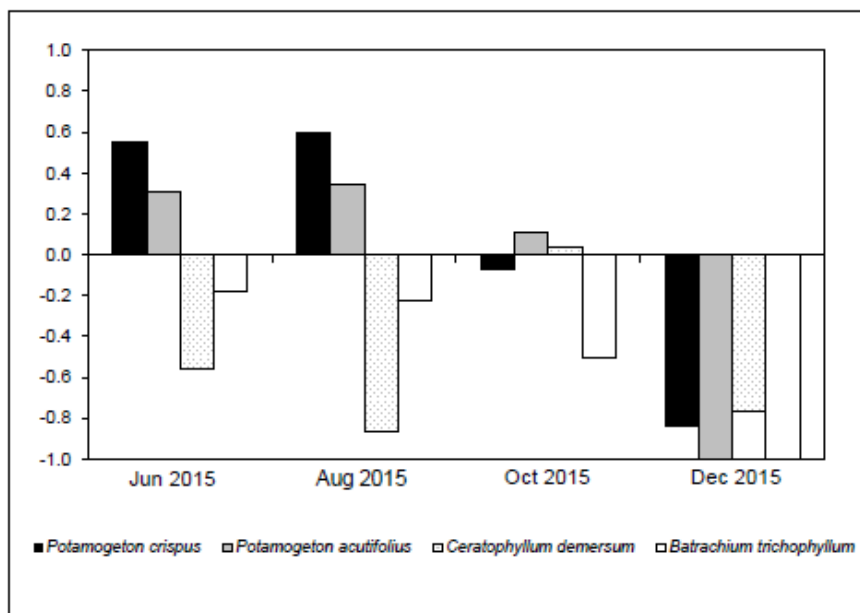


Fig. 3. Ivlev's index of electivity for macrophytes at the oxbow study site in the Pekelská jezera Nature Park (2015 only).

Field experiment

Macrophyte community development was similar in all three cages (Group 1 – control, Group 2 – uncleaned, Group 3 – cleaned) over the whole experiment, with no significant difference in the quantity of *P. acutifolius* available throughout ($P > 0.05$). Rudd dietary composition, however, showed significant differences between the stocked cages (Tables 2 and 3), with invertebrates (%IP = uncleaned 32.5 ± 26.6 , cleaned 54.2 ± 20.7) and detritus (%IP = uncleaned 31.8 ± 8.6 , cleaned 42.2 ± 17.8) dominant items in the cage with cleaned macrophytes (Group 3), and all macrophyte species and filamentous algae recedent (Tables 1-3). In the uncleaned cage (Group 2), *P. acutifolius* (%IP = 19.0 ± 4.2), *P. crispus* (%IP = 15.7 ± 7.3) and filamentous algae (%IP = 12.1 ± 6.7) were all important dietary items, with all other items recedent. Fish consumed significantly more macrophytes (including *P. acutifolius*) in the uncleaned cage ($P < 0.05$); with significantly less ($P < 0.05$) *P. acutifolius* remaining Fig. 4; (Tables 1-3).

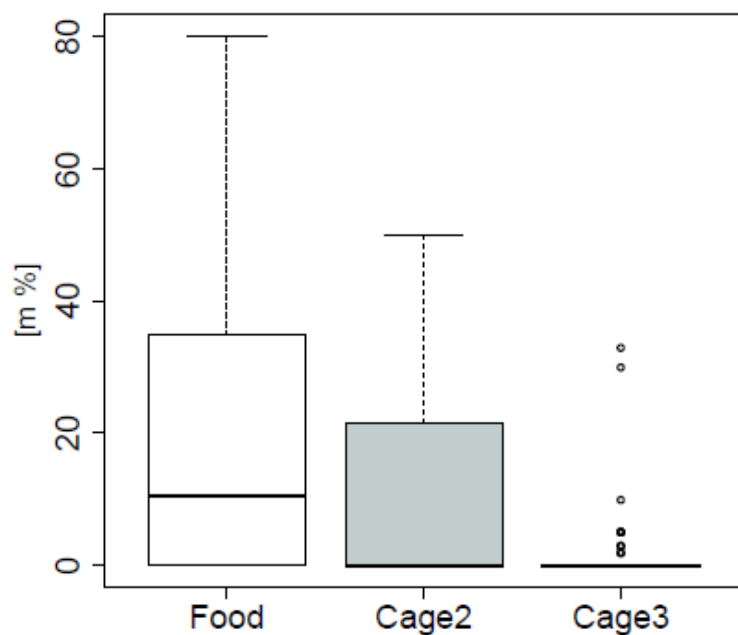


Fig. 4. Consumption of *P. acutifolius* by free-living rudd in 2015 (Food) and in the experimental cages 2016 (Cage 2 – uncleaned, Cage 3 – cleaned). Boxplots = quartiles (Q1, median and Q3), whiskers = maximum, dots = outliers.

Table 1. Index of preponderance (IP) of main food items under natural conditions. SL = standard length (mm), Wt = total weight (g), SD = standard deviation.

	Apr 2015	Jun 2015	Aug 2015	Oct 2015	Dec 2015	Mean
<i>Potamogeton crispus</i>	-	34.8	40.1	8.6	0.9	21.1
<i>Potamogeton acutifolius</i>	-	37.6	44.8	24.7	-	35.7
<i>Ceratophyllum demersum</i>	-	13.5	3.3	43.2	6.7	16.7
<i>Batrachium trichophyllum</i>	-	8.3	6.3	3.3	-	6.0
Filamentous algae	74.0	3.3	1.4	12.3	68.5	31.9
Aquatic invertebrates	3.9	0.6	0.5	2.3	-	1.8
Detritus	22.1	1.9	3.6	5.6	23.9	11.4
n fish	20	20	20	20	20	
n fish with no food	4	0	0	0	2	
SL (SD)	214.4 (18.7)	271.5 (13.8)	292.3 (19.5)	297.0 (12.1)	292.5 (14.5)	
Wt (SD)	280.9 (92.5)	469.6 (55.4)	369.3 (23.0)	338.2 (55.9)	312.6 (50.7)	

Table 2. Index of preponderance (IP) of main food items in experimental Cage 2 – uncleaned macrophytes. SL = standard length (mm), Wt = total weight (g), SD = standard deviation.

	Apr 2016	Jun 2016	Aug 2016	Oct 2016	Dec 2016	Mean
<i>Potamogeton crispus</i>	-	22.7	18.9	5.6	-	15.7
<i>Potamogeton acutifolius</i>	-	21.5	22.3	13.1	-	19.0
<i>Ceratophyllum demersum</i>	-	2.8	5.4	4.9	-	4.4
<i>Batrachium trichophyllum</i>	-	0.2	0.5	0.4	-	0.4
Filamentous algae	21.5	6.8	17.3	11.6	3.1	12.1
Aquatic invertebrates	46.2	12.5	6.6	19.0	78.3	32.5
Detritus	32.3	33.5	29.0	45.4	18.6	31.8
n fish	20	20	20	20	20	
n fish with no food	12	3	0	0	12	
SL (SD)	220.4 (24.5)	292.5 (9.7)	289.9 (11.7)	298.9 (11.7)	226.0 (31.9)	
Wt (SD)	288.5 (106.1)	437.6 (54.6)	389.63 (64.3)	323.1 (43.9)	260.5 (98.9)	

Table 3. Index of preponderance (IP) of main food items in experimental Cage 3 – cleaned macrophytes. SL = standard length (mm), Wt = total weight (g), SD = standard deviation.

	Apr 2016	Jun 2016	Aug 2016	Oct 2016	Dec 2016	Mean
<i>Potamogeton crispus</i>	-	0.4	0.7	1.7	-	0.9
<i>Potamogeton acutifolius</i>	-	0.5	0.6	6.6	-	2.6
<i>Ceratophyllum demersum</i>	-	0.3	0.1	0.3	-	0.2
<i>Batrachium trichophyllum</i>	-	0.1	0.1	0.0	-	0.1
<i>Filamentous algae</i>	2.1	0.9	1.7	2.3	-	1.8
<i>Aquatic invertebrates</i>	80.1	59.6	37.0	24.1	70	54.2
<i>Detritus</i>	17.8	38.2	59.8	65.0	30	42.2
n fish	20	20	20	20	20	
n fish with no food	15	4	7	13	19	
SL (SD)	211.9 (20.7)	285.4 (11.6)	278.5 (10.0)	278.5 (10.0)	219.0 (35.9)	
Wt (SD)	240.2 (68.3)	390.9 (49.6)	298.8 (46.1)	285.0 (47.9)	249.9 (108.0)	

Nutritional content

Nutritional analysis indicated only slight differences between cleaned and uncleaned *P. acutifolius*, with fat at 7.3 % and 7.1 %, respectively and protein at 12 % and 13.5 %, respectively (Table 4). In comparison, filamentous algae contained a much lower proportion of fat (2.9 %) and protein (8.7 %) (Table 4).

Table 4. Nutritional analysis of *P. acutifolius* and filamentous algae in the experimental cages (Cage 2 – uncleaned, Cage 3 – cleaned).

Parameter	Unit	Uncleaned <i>P. acutifolius</i>	Cleaned <i>P. acutifolius</i>	<i>Filamentous algae</i>
Protein	%	12	13.5	8.7
Fat	%	7.1	7.3	2.9
Ash	%	34.1	24.8	31.6

Discussion

In this study, we investigated the potential influence of rudd on *P. acutifolius*, an endangered aquatic macrophyte, in a shallow oxbow lake. Conditions within the oxbow lake (small area and a relatively low rudd density [max. 500 ind./locality, or 0.125 ind./m²]) limited our experiment somewhat by preventing us undertaking the field experiment and dietary analysis in the same year. Further, significant changes occurred in the 2017 plant and fish community (attributable to a particularly hard winter over 2016/2017) and this prevented us undertaking replicates of the experiment under similar conditions. Despite this, we strongly believe that our study truly reflected natural conditions in this oxbow lake and, as such, the conclusions can be applied to similar habitats along many waterbodies throughout Europe. It should also be noted that many of the organisms taken as food were unidentifiable due to different stages of digestion and the absence of more durable body parts (e.g. Rotifera, Cnidaria, Oligochaeta). Such organisms could still represent important dietary items and their absence in the total identified prey may have had an impact on the relative quantities of macrophytes and invertebrates in the dietary analysis. Nevertheless, we feel the relative proportions are generally accurate and certainly allow comparisons between samples. Finally, while the density of fish in the cage experiments was higher than that in the oxbow itself (10 ind./m² vs. 0.125 ind./m²), and hence there may have been density dependant impacts of observed diet, the fact that a significant proportion of *P. acutifolius* remained in the cage at the end of each experimental run would tend supported our findings, i.e. that rudd, even at relatively high densities, were not having a significant impact on *P. acutifolius*.

Dietary analysis indicated that rudd deliberately consumed submerged macrophytes throughout the year, as also noted by Losos et al. (1980), Prejs (1984) and García-Berthou & Moreno-Amich (2000). On the other hand, Tomec et al. (2003) noted that rudd from Lake Vrana (Croatia) mainly consumed algae, with macroinvertebrates (e.g. chironomids and Trichoptera larvae) always forming an accompanying but important part of the diet and submergent macrophytes only representing a minor

proportion. Several other authors have also recorded rudd diet as including macroinvertebrates, especially gammarids, Asellus and trichopteran larvae (e.g. Martyniak et al. 1996, García-Berthou & Moreno-Amich 2000). Our own data confirm that macrophytes are indeed taken alongside algae and macroinvertebrates at significant levels; however, we suggest that further studies are needed to clarify the relative importance of the three food types in rudd diet and the specific roles played by different macroinvertebrate taxa in different environments and seasons.

There are several reasons why *P. acutifolius* may have been consumed at the level observed in this study. Our results showed that some macrophyte species at the study site were consumed more or less often by rudd than their availability would suggest. While *C. demersum* was the dominant species at the study site, for example, its proportion in the diet was very low, while *M. spicatum*, which was also abundant, was not consumed at all. In these cases, we suggest that the species were avoided due to the shape of the plant, deposition of inorganic substances in the cell walls (Stanković & Pajević 2001) and presence of aromatic oils (Wang et al. 2015). In comparison, both pondweed species were frequently consumed by rudd, probably due to the relative absence of inorganic substances and the presence of partially decomposed and soft peripheral parts. The proportion of *P. crispus* in the diet decreased strongly over autumn, probably reflecting the end of the *P. crispus* growing season. Our comparative experiments indicated that rudd consumed *P. acutifolius* significantly more often when confronted with macrophytes covered with algae and macroinvertebrates. As algae also represent a significant source of nutrition (Table 4), it is likely that the fish increase their intake of *P. acutifolius* (either accidentally or intentionally) while feeding on the algae attached to the plant's surface. Interestingly, we noted a significant difference between fish feeding naturally (i.e. outside the cages) and those feeding in Cage 2 (uncleaned), possibly as a result of differing feeding behaviour due to an increased relative fish density in the enclosed space and a more restricted potential diet. Further studies would be needed to clarify this observation. In comparison, macroinvertebrates dominated the diet in Cage 3 (cleaned), despite the macrophytes being regularly cleaned of periphyton/algae. Owing to its upturned mouth (which allows it to feed at the water's surface or on the underside of leaves), the rudd is morphologically ill-adapted to feeding on the bottom substrate (Eklöv & Hamrin 1989). As such, we assume that the fish were forced to support consumption of incoming phytophilous invertebrates with those from bottom habitats due to the temporary absence of a periphyton/algal community on the macrophyte surface.

We suggest that the leaves of some aquatic plants, including *P. acutifolius*, may become an attractive food source, or are taken more often accidentally, as they gradually decompose and soften, particularly when covered in periphyton/algae and invertebrates. In our case, increased consumption of filamentous algae may have a similar cause, being taken from the oxbow bottom at the same time as invertebrates. Periphyton and benthic filamentous algae in standing waters are commonly inhabited by ciliates, rotifers, cnidarians, small oligochaetes, larval stages of Chironomidae, Trichoptera, Mollusca and small cladocerans (Lodge 1990, Ravera & Jamet 1991). Such items represent a more profitable food source for rudd than macrophytes alone (Lodge 1990, Ravera & Jamet 1991), and are found in the diet more often at times when there are not enough macrophytes (e.g. in April and December).

Our study showed that rudd consumed a significant quantity of *P. acutifolius*, and that macrophyte consumption increased when the leaves were covered in periphyton, algae and invertebrates. When regularly cleaned, macrophytes were only consumed at low levels, suggesting that *P. acutifolius* may not always have been the primary target of the rudd. Despite the relatively high levels of consumption, there appeared to be no negative impact on the *P. acutifolius* population, as also indicated by the long-term co-existence of the two species in the oxbow.

Acknowledgements

The research was supported by Specific Research Project No. 2117/2016 from the University of Hradec Králové (PřFÚHK).

Literature

- Baruš V. & Oliva O. 1995: Cyclostome, Petromyzonte and Osteichthye fishes (2). *Academia Praha*: 698. (in Czech)
- Crawley M.J. 2007: The R Book. *John Wiley & Sons, Ltd., Chichester*: 942.
- Danihelka J., Chrtek J. & Kaplan Z. 2012: Checklist of vascular plants of the Czech Republic. *Preslia* 84: 647–811.
- Eklöv P. & Hamrin S.F. 1989: Predatory efficiency and prey selection: interactions between pike *Esox Lucius*, perch *Perca fluviatilis* and rudd *Scardinius erythrophthalmus*. *Oikos* 56: 149–156.

- Esteves B.S. & Suzuki M.S. 2010: Limnological variables and nutritional content of submerged aquatic macrophytes in a tropical lagoon. *Acta Limnol. Bras.* 22: [dx.doi.org/10.4322/actalb.02202008](https://doi.org/10.4322/actalb.02202008).
- García-Berthou E. & Moreno-Amich R. 2000: Rudd (*Scardinius erythrophthalmus*) introduced to the Iberian Peninsula: feeding ecology in Lake Banyoles. *Hydrobiologia* 436: 159–164.
- Grulich V. & Vydrová A. 2006: Method of sampling and processing macrophyte in standing waters. *VÚV – TGM: 13. (in Czech)*
- Guinan M.E., Jr., Lapuscinski K.L. & Teece M.A. 2015: Seasonal diet shifts and trophic position of an invasive cyprinid, the rudd *Scardinius erythrophthalmus* (Linnaeus, 1758), in upper Niagara River. *Aquat. Invasions* 10: 217–225.
- Hicks B.J. 2003: Biology and potential impacts of rudd (*Scardinius erythrophthalmus* L.) in New Zealand. In: Munro R. (ed.), *Managing invasive freshwater fish in New Zealand. Proceedings of a workshop hosted by Department of Conservation, 10-12 May 2001, Hamilton, Wellington, New Zealand: 49–58.*
- Hyslop E.J. 1980: Stomach contents analysis – a review of methods and their application. *J. Fish Biol.* 17: 411–429.
- Ivlev V.S. 1961: *Experimental ecology of the feeding of fishes.* Yale University Press, New Haven: 302.
- Kennedy M. & Fitzmaurice P. 1974: Biology of rudd *Scardinius erythrophthalmus* (L.) in Irish waters. *Proc. R. Ir. Acad. B* 74: 245–303.
- Laining A., Usman U. & Syah R. 2016: Aquatic weed *Ceratophyllum* sp. as a dietary protein source: its effects on growth and fillet amino acid profile of rabbitfish, *Siganus guttatus*. *AACL Bioflux* 9: 352–359.
- Lodge D.M. 1990: Herbivory on freshwater macrophytes. *Aquat. Bot.* 41: 195–224.
- Losos B., Peňáz M. & Kubíčková J. 1980: Food and growth of fishes of the Jihlava River. *Acta Sci. Nat. Brno* 14: 1–46.
- Manko P. 2016: Stomach content analysis in freshwater fish feeding ecology. *University of Prešov: 116.*
- Martyniak A., Hliwa P., Boroń S. et al. 1996: The diet of rudd, *Scardinius erythrophthalmus* and its role in a biomanipulation experiment in Lake Wirbel. *Folia Zool.* 45: 271–276.
- Mikl L., Adámek Z., Roche K. et al. 2017: Invasive Ponto-Caspian gobies in the diet of piscivorous fish in a European lowland river. *Fundam. Appl. Limnol.* 190: 157–171.
- Natarajan A.V. & Jhingran A.G. 1961: Index of preponderance – a method of grading the food elements in the stomach analysis of fishes. *Indian J. Fish.* 8: 54–59.
- Nurminen L., Horppila J., Lappalainen J. & Malinen T. 2003: Implications of rudd (*Scardinius erythrophthalmus*) in a shallow eutrophic lake. *Hydrobiologia* 506–509: 511–518.
- Orlova-Bienkowskaya M.Y. 2001: Cladocera: Anomopoda, Daphnidae: genus *Simocephalus*. *Backhuys Publishers Leiden: 130.*
- Pivnička K. 1981: Fish ecology: estimation of basic parameters characterizing fish populations. *SPN Praha: 251. (in Czech)*
- Prejs A. 1984: Herbivory by temperate freshwater fishes and its consequences. *Environ. Biol. Fishes* 40: 281–296
- Ravera O. & Jamet J.L. 1991: The diet of the rudd (*Scardinius erythrophthalmus*, L.) in relation to the possible consequences for the removal of this species from an eutrophic lake. *Arch. Hydrobiol.* 123: 99–109.
- Shaltout K.H., Eid E.M. & El-Komi T.M. 2016: Phytomass and nutrient value of *Potamogeton crispus* L. in the water courses of Nile Delta, Egypt. *Rend. Lincei* 27: 251–259.
- Stanković Ž. & Pajević S. 2001: Mineral composition of some macrophytes of Zasavica. In: Igić R. & Gajin S. (ed.), “Zasavica 2001” – monograph. *Izd. PMF, Institut za Biologiju, Novi Sad I Goransko-ekološki pokret Sremska Mitrovica: 87–93. (in Croatian)*
- Taraborelli A.C., Fox M.G., Johnson T.B. & Schaner T. 2010: Round goby (*Neogobius melanostomus*) population structure, biomass, prey consumption and mortality from predation in the Bay of Quinte, Lake Ontario. *J. Gt. Lakes Res.* 36: 625–632.
- Tomec M., Teskeredžić Z. & Teskeredžić E. 2003: Food and nutritive value of gut contents of rudd (*Scardinius erythrophthalmus* L.) from Vrana Lake, Cres Island, Croatia. *Czech J. Anim. Sci.* 48: 28–34.
- Vejříková I., Vejřík L., Syväranta J. et al. 2016: Distribution of herbivorous fish is frozen by low temperature. *Sci. Rep.* 6: 39600.
- Vøllestad L.A. 1985: Resource partitioning of roach *Rutilus rutilus* and bleak *Alburnus alburnus* in two eutrophic lakes in SE Norway. *Holarct. Ecol.* 8: 88–92.
- Wang H., Liang F. & Zhang L. 2015: Composition and anti-cyanobacterial activity of essential oils from six different submerged macrophytes. *Pol. J. Environ. Stud.* 24: 333–338.
- Wolnicki J., Sikorska J. & Kamiński R. 2009: Response of larval and juvenile rudd *Scardinius erythrophthalmus* (L.) to different diets under controlled conditions. *Czech J. Anim. Sci.* 54: 331–337.

4. ZÁVĚR

Cílem disertační práce bylo vyhodnotit tři různé typy příjmu rostlinné potravy sladkovodními rybami v České republice. Kromě zodpovězení otázek pro praktické využití a otestování hypotéz měl cíl posunout o něco dále úroveň znalostí ve vědním oboru aplikovaná ekologie ryb.

Příjem rostlinné potravy dravými rybami byl dosud málo známý a popsáný jev. Také v našem případě se jednalo o náhodné nálezy rostlin v žaludcích ryb při průzkumu, který měl primárně jiný cíl. Přínos zjištění, že okoun říční a pstruh obecný mohou, za jistých okolností dominantně, konzumovat rostliny, spočívá zejména ve zjištění příčiny, proč tomu tak je. V obou případech byla konzumace rostlin spojena s přísunem živočišné složky. Hypotéza „Takzvaná ‘herbivorie‘ karnivorních druhů ryb je způsobena náhodnou konzumací rostlinné hmoty, která je pouze matricí pro přisedlé živočišné komponenty, s kterými je pak požírána“ však nemůže být přijata pro její obtížnou průkaznost.

Biomeliorační účinek amura bílého je již poměrně známý a byl dostatečně popsán. Provedená studie měla proto spíše ověřit na praktickém případě využitelnost metody pro správce toku. Přestože amur bílý prokazatelně konzumoval cévnaté rostliny, na jejich postupném vymizení v umělých vodních tocích participovalo více činitelů (povodně, zastínění toku apod.). Hypotézu „Potravní aktivita amura bílého má za následek průkazné snížení početnosti vodních makrofyt v umělých vodních kanálech“ proto nebylo možné přijmout.

Studiem potravních vztahů mezi perlínem ostrobřichým a rdestem ostrolistým bylo zjištěno, že ryby sice tuto zvláště chráněnou rostlinu konzumují, ale nikterak neomezují její rozvoj v akvatických systémech. Konzumace cévnatých rostlin v konsekvenci přisedlých organismů byla prokázána. Hypotézu „Perlín ostrobřichý konzumuje vodní cévnaté rostliny

v souvislosti s jejich pokrytím vláknitými řasami a neomezuje rozvoj zvláště chráněného rdestu ostrolistého“ lze proto přijmout.

5. CURRICULUM VITAE

Osobní údaje

Jméno, příjmení	Tomáš Zapletal
Adresa	Na Zavadilce 313, Jaroměř
E-mail	zapletal1970@gmail.com
Datum narození	3. 3. 1970

Vzdělání

2015 – současnost Doktorské studium biologie, obor aplikovaná biologie a ekologie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Hradec Králové.

2018 – současnost Doktorské studium politologie, obor politologie, Fakulta mezinárodních vztahů, Vysoká škola ekonomická v Praze.

2011–2013 Doktorské studium rybářství a hydrobiologie, obor Speciální zootechnika, Agronomická fakulta Mendelova univerzita v Brně.

Pracovní zkušenosti:

1995 – současnost Povodí Labe, státní podnik – zaměření jakost vody v nádržích.

Spolupráce na řešených projektech: Projekt specifického výzkumu č. 2117/2016 UHK a ECIP P505/12/G112 Evropského centra pro ichtyoparazitologii.

6. PŘEHLED PUBLIKOVANÝCH PRACÍ

1. **ZAPLETAL, T.** (1992): Potrava lipana a výběr umělé mušky [The food of grayling and the choice of an artificial fly]. *Časopis Rybářství* 10: 238 - 239.
2. **ZAPLETAL, T.** (1993): Siveni v Krkonoších [Brook trout in the Giant Mountains]. *Časopis Krkonoše – Jizerské hory* 3: 10 - 11.
3. **ZAPLETAL, T.** (1993): Krasavci labských peřejí a tůní [Gems of Elbe rapids and pools]. *Časopis Krkonoše – Jizerské hory* 7: 10 - 11.
4. **ZAPLETAL, T.** (1994): Raků stále ubývá [The number of crayfish is decreasing]. *Časopis Krkonoše – Jizerské hory* 2: 10 - 11.
5. **LOHNISKÝ K., ZAPLETAL T.**, (1994): *Potrava Lipana podhorního, Thymallus thymallus (Linnaeus, 1758), ve znečištěném podhorském úseku Labe [The food of grayling, Thymallus thymallus (Linnaeus, 1758), in the polluted submountain part of the Labe river]. Opera Corcontica* 31: 135 - 147.
6. **ZAPLETAL, T.** (1994): Primární produkce planktonu Lednicko – Valtické rybniční soustavy [Primary production of plankton in the Lednicko-Valticky fishpond system]. *Diplomová práce, VŠZ Brno*: 49 s.
7. **ZAPLETAL, T.** (1996): Ecllosion semi-intensive et nourriture de démarrage de jeunes écrevisses (*Astacus astacus* Linnaeus, 1758) dans les conditions de l'écloserie [Hatching and semi-intensive food start up of young European crayfish (*Astacus astacus* Linnaeus, 1758) under the condition of the hatchery]. *L'astaciculteur de France Bull.* no 46: 2 - 7. ISSN 1244 – 457X.

8. **ZAPLETAL T.**, DOHNAL K., LOHNISKÝ K., (1996): *Mihule potoční ve Zdoňovském potoce [Brook lamprey in the Zdonovsky brook]*. *Vodní hospodářství*, 11: 364 - 365.
9. KERŠNER, V., **ZAPLETAL, T.**, HETEŠA, J. (1997): Primary production in pools and fishponds in Southern Moravia (Czech Republic). *Acta Musei Moraviae, Sci. Biol* 82: 3 - 18. ISSN 1211-8788.
10. **ZAPLETAL, T.** (1998): Stáří a růst okouna říčního (*Perca fluviatilis* LINNAEUS, 1758) v úseku řeky Labe a Svratky [Age and growth of perch (*Perca fluviatilis*, Linnaeus 1758) in a stretch of the Labe and Svratka River]. *Acta Musei Reginaehradecensis s. A* 26: 183 - 188. ISSN 0231-9616.
11. LOHNISKÝ, K., **ZAPLETAL, T.** (2000). Záchranný transfer populace mihule potoční (*Lampetra planeri*), mřenky mramorované (*Barbatula barbatula*) a vranky obecné (*Cottus gobio*) v rámci úprav Zdoňovského potoka [Rescue population transfer of brook lamprey (*Lampetra planeri*), stone loach (*Barbatula barbatula*) and European bullhead (*Cottus gobio*) within the frame of Zdonovsky brook changes]. *Bulletin Lampetra IV, ZO ČSOP, Vlašim*: 146 - 152.
12. **ZAPLETAL T.**, (2001): The age and growth of wild goldfish *Carassius auratus gibelio* (BLOCH, 1783) in inundated depression originated by peat extraction. *Acta Musei Reginaehradecensis s. A* 28: 235 -238. ISSN 0231-9616.
13. **ZAPLETAL, T.** (2001): Chov raka pruhovaného v akvarijských podmínkách [The breeding of spiny cheek crayfish in aquarium conditions]. *Akvárium Terárium* 44: 10 - 11.

14. **ZAPLETAL, T., ŠPAČEK, J., KOZA, V.,** (2012): Food base of accompanying fish species in Hamry water supply reservoir. *Východočeský sborník přírodovědný, Práce a studie* 19(1): 285 -190. ISSN 1212 – 1460.
15. **ZAPLETAL, T., MAREŠ, J., JURAJDA, P., VŠETIČKOVÁ, L.,** (2012): The food of common bream (*Abramis brama* L.) in a biomanipulated water supply reservoir. *Magazine Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendeleianae Brunensis* (6): 357 - 366. ISBN 978 – 254 – 1236 – 7.
16. **ZAPLETAL, T., MAREŠ, J., HADAŠOVÁ, L.,** (2012): The food of roach (*Rutilus rutilus* L.) in a biomanipulated water supply reservoir. *XIII. Česká ichtyologická konference - Sborník abstraktů*: 42.
17. **JURAJDA, P., ADÁMEK, Z., JANÁČ, M., VALOVÁ, Z., REDERER, L., ZAPLETAL, T., KOZA, V., ŠPAČEK, J.,** (2013): Zhodnocení čtyřletého úsilí o uplatnění biomanipulačních opatření na vodárenské nádrži Hamry [Evaluation of four-year effort in biomanipulation measures on the Hamry water supply reservoir]. *Vodní nádrže 2013 - Sborník příspěvků*: 114 – 117.
ZAPLETAL, T., MAREŠ, J., HADAŠOVÁ, L., (2013): The food of perch (*Perca fluviatilis* L.) in a biomanipulated water supply reservoir. *Mendelnet 2013 - Sborník příspěvků*: 793 - 797. ISBN 978 – 80 – 7375 – 908 – 7.
18. **ZAPLETAL, T.** (2013): Potrava doprovodných druhů ryb ve vodárenské nádrži [The food of accompanying fish species in the water supply reservoir]. *Doktorská disertační práce, Mendelova univerzita v Brně*: 132 s.
19. **ZAPLETAL, T., MAREŠ, J., JURAJDA, P., VŠETIČKOVÁ, L.,** (2014): The food of roach (*Rutilus rutilus* L.) in a biomanipulated water supply reservoir. *Acta Ichthyologica et Piscatoria* (1): 15 - 22. ISSN 1734-1515. DOI: 10.3750/AIP2014.44.1.03.

20. JURAJDA, P., ADÁMEK, Z., JANÁČ, M., JURAJDOVÁ, Z., MIKL, L., REDERER, L., ZAPLETAL, T., KOZA, V., ŠPAČEK, J., (2014): Evaluation of five-year effort in biomanipulation measures on the Hamry reservoir. *ECOFIL 2014 – Book of Abstract: 3*.
21. JURAJDA, P., ADÁMEK, Z., JANÁČ, M., ROCHE, K., MIKL, L., REDERER, L., ZAPLETAL, T., KOZA, V., ŠPAČEK, J., (2014): Biomanipulační opatření na vodárenské nádrži Hamry – slabá odezva fytoplanktonu na redukci biomasy planktonofágních ryb. [Biomanipulation measures at the Hamry water supply reservoir – poor reaction of phytoplankton to planctivorous fish reduction]. *65 let výuky rybářství v Brně – Sborník příspěvků, Mendelova univerzita v Brně: 140 – 146*. ISBN 978 – 80 – 7509 – 153 - 6.
22. ZAPLETAL, T., ŠPAČEK, J., JURAJDA, P., VŠETIČKOVÁ, L., (2014): Struktura zooplanktonu v potravě cejna velkého (*Abramis brama*) v průběhu biomanipulace. [The structure of zooplankton in diet of common bream (*Abramis brama*) during biomanipulation]. *65 let výuky rybářství v Brně – Sborník příspěvků, Mendelova univerzita v Brně: 140 – 146*. ISBN 978 – 80 – 7509 – 153 - 6.
23. ZAPLETAL, T., MOCEK, B., ŠVÁTORA, M., (2014): In memoriam of RNDr. Karel Lohniský, Ph.D. *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae* (78): 303 - 306. ISSN 1211 – 376X.
24. ZAPLETAL, T., LOHNISKÝ, K., (2015): Plastické znaky adultního lipana podhorního (*Thymallus thymallus*, 1758 Linnaeus) ve východních Čechách. [Plastic characteristics of adult European grayling (*Thymallus thymallus*, 1758 Linnaeus) in eastern Bohemia]. *Acta Musei Reginaehradecensis s. A* 35: 79 - 82. ISBN 978 – 80 – 87686 – 03 – 4.

25. **ZAPLETAL, T., LOHNISKÝ, K.**, (2015): Summer diet composition of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* Val. (Actinopterygii: Cypriniformes: Cyprinidae) in an artificial channel. *Východočeský sborník přírodovědný, Práce*
26. **JURAJDA, P., ADÁMEK, Z., JANÁČ, M., ROCHE, K., MIKL, L., REDERER, L., ZAPLETAL, T., KOZA, V., ŠPAČEK, J.**, (2016): Use of multiple fish – removal methods during biomanipulation of a drinking water reservoir - Evaluation of five-years. *Fisheries Research* 173: 101 - 108. ISSN 0165-7836. DOI: 10.1016/j.fishres.2015.04.012.
27. **ŠVÁTORA, M., HOŘICKÁ, Z., LERCH, Z., ŠANDA, R., ZAPLETAL, T.**, (2016): Od sivena ke pstruhovi – aneb příběh vodárenské nádrže Souš v Jizerských horách. [From brook trout to brown trout – or the tale of Souš water supply reservoir in the Jizera mountains]. *RYBICON 2016 – Book of Abstract: 39.*
28. **ZAPLETAL, T., ADÁMEK, Z., JURAJDA, P., ROCHE, K., VŠETIČKOVÁ, L., MAREŠ, J.**, (2016): Consumption of plant material by perch (*Perca fluviatilis*). *Folia Zoologica* 65(2): 95 - 97. ISSN 0139-7893.
29. **ZAPLETAL, T., ANDREAS, M.**, (2016): Biomanipulating effect of grass carp (*Ctenopharyngodon idella* Val.) in artificial water channels. *Mendelnet 2016 – Conference Proceedings: 364 - 367.* ISBN 978 – 80 – 7509 – 443 – 8.
30. **ZAPLETAL, T., ŠPAČEK, J., KOZA, V.**, (2016): Does feeding activity of non-commercial fish fry cause a decrease in zooplankton abundance in reservoirs? *Východočeský sborník přírodovědný, Práce a studie* 23(1): 123 -132. ISSN 1212 – 1460.

31. **ZAPLETAL, T.** (2016): Aquatic plants in the diet of the brown trout (*Salmo trutta morpha fario* L.). *Acta Musei Reginae hradecensis s. A* 36(1-2): 93 - 95. ISSN 0231 – 9616.
32. **KOPP, R., ZAPLETAL, T., JURAJDA, P., ADÁMEK, Z., JUREK, L., HADAŠOVÁ, L.**, (2017): Dynamika fytoplanktonu vodárenské nádrže Hamry v průběhu biomanipulačních opatření. [Evaluation of phytoplankton development in the Hamry water supply reservoir during biomanipulation measures]. *Vodní nádrže 2017 - Sborník příspěvků*: 112 – 117. **VÁVRA, M., ZAPLETAL, T.**, (2017): Ecological quality of pools, river branches and oxbow lakes of the middle Elbe region. *Mendelnet 2017 – Conference Proceedings*: 348 - 353. ISBN 978 – 80 – 7509 – 529 – 9.
33. **ZAPLETAL, T., KOZA, V., JURAJDA, P.**, (2018): Biomanipulace známé i neznámé. [Biomanipulation measures known and unknown].
34. **ZAPLETAL, T.** (2018): Maximální růst tolstolobce pestrého (*Hypophthalmichthys nobilis Richardson*) v severovýchodních Čechách. Maximal growth of bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis Richardson*) in Northeastern Bohemia. *Acta Musei Reginae hradecensis s. A* 37: 15 - 18. ISSN 0231 – 9616.
35. **ZAPLETAL, T., KOZA, V., JURAJDA, P.**, (2018): Biomanipulace na vodárenských nádržích známé i neznámé. [Biomanipulation measures in water supply reservoirs known and unknown]. *Vodní hospodářství* 11: 1 – 4.