

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: N4106 Zemědělská specializace

Studijní obor: Biologie a ochrana zájmových organismů

Katedra: Katedra biologických disciplín

Vedoucí katedry: doc. RNDr. Ing. Josef Rajchard, Ph.D.

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Reprodukce havajské krevetky *Halocaridina rubra*

Vedoucí diplomové práce: RNDr. Irena Šetlíková, Ph.D.

Autor diplomové práce: Bc. Václav Homolka

České Budějovice, 2015

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
Fakulta zemědělská
Akademický rok: 2014/2015

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: Bc. Václav HOMOLKA
Osobní číslo: Z13469
Studijní program: N4106 Zemědělská specializace
Studijní obor: Biologie a ochrana zájmových organismů
Název tématu: Reprodukce havajské krevetky *Halocaridina rubra*
Zadávací katedra: Katedra biologických disciplin

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Chov vybraných druhů krevet a jejich barevných forem je poměrně novou, rychle se rozvíjející oblastí akvaristiky. Velká odolnost endemického druhu havajské krevetky *Halocaridina rubra* a fakt, že se tento druh v Evropě chová velmi vzácně, je důvodem zvýšeného zájmu o její chov. Navíc nebyly dosud v přírodě pozorovány samice nosící vajíčka ani larvy. Cílem práce bude (1) zdokumentovat reprodukci krevetky havajské (*Halocaridina rubra*) a (2) zjistit vliv světla a úkrytu na její reprodukci v experimentálním chovu. Literární rešerše bude zahrnovat biologii krevetky havajské *Halocaridina rubra* se zřetelem na její rozmnožování. Na základě získaných údajů bude vypracováno doporučení pro chov.

Rozsah grafických prací: 10
Rozsah pracovní zprávy: 40
Forma zpracování diplomové práce: tištěná
Seznam odborné literatury:

Bailey-Brock, J.H, Brock, R.E. 1993. Feeding, reproduction, and sense organs of the Hawaiian anchialine shrimp *Halocaridina rubra* (Atyidae). *Pacific Science*, 47 (4): 338 - 355.

Couret, C.L., Wong, D.C.L. (1978). Larval development of *Halocaridina rubra* Holthuis (Decapoda, Atyidae). *Crustaceana*, 34 (3): 301 - 309.

Holthuis, L.B. (1963). On red coloured shrimps (Decapoda, Caridea) from tropical land-locked saltwater pools. *Zoologische Mededelingen*, 16: 261 - 279.

Iwai Jr., T.Y. (2005). Captive breeding of the endemic Hawaiian red shrimp, *Halocaridina rubra*, Part I: Reproduction, larval development, and first feeding. Division of Aquatic Resources, Hawaii Department of Land and Natural Resources, Honolulu, Hawaii, USA.


Patoka, J., 2010. Krevety sladkovodní. nakl. Robimaus, Rudná u Prahy, 69 s.

Vedoucí diplomové práce: RNDr. Irena Šetlíková, Ph.D.
Katedra biologických disciplin

Datum zadání diplomové práce: 29. ledna 2015
Termín odevzdání diplomové práce: 30. dubna 2015


prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h. c.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚLSKÁ FAKULTA
studijní středisko
Studentská 13
370 05 České Budějovice


doc. RNDr. Ing. Josef Rajčard, Ph.D.
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 30. ledna 2015

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

Datum...

Podpis studenta

Poděkování

Chtěl bych poděkovat své školitelce, paní RNDr. Ireně Šetlíkové, Ph.D., za pomoc při zpracování této práce. Neméně dík patří mé rodině za podporu při průběhu experimentu a pozdějšího sestavování diplomové práce. Mé díky patří všem, kteří mi poskytli potřebné informace, pomoc a radu pro vypracování této práce. Dále bych ještě rád poděkoval za konzultační a informační činnost Rebecce Vaught a kol. z Auburnské univerzity, Silvii Maya Dolena z Hawaii Opae Ula Farm & Aquarium, Jiřímu Libusovi a Janu Dvořákovi. Janu Dvořákovi a Silvii Maya Dolena taktéž za chovné krevetky, které byly použity při diplomové práci.

OBSAH

1. ÚVOD A CÍLE PRÁCE	8
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED.....	9
2.1 Systematické zařazení	9
2.2 Rozšíření a charakteristika lokalit výskytu	9
2.3 Popis a charakteristika druhu	12
2.4 Potrava	16
2.5 Rozmnožování a vývoj.....	17
2.6 Založení chovu a jeho nároky	21
3. METODIKA	23
3.1 Původ pokusných jedinců, podmínky a uspořádání pokusu	23
3.2 Zdokumentování reprodukce a jednotlivých fází vývoje.....	24
3.3 Anestezie: Znehybňovací proces.....	25
4. VÝSLEDKY	26
4.1 Ověření chronobiologického faktoru a vlivu úkrytů na počet páření	26
4.2 Fáze reprodukce	28
4.2.1 Pohlavní dimorfismus, páření a sestup vajíček.....	28
4.2.2 Vývoj vajíček a líhnutí larev	40
4.2.3 Larvální stádia.....	48
4.2.4 Juvenilní stádia.....	58
4.3 Doporučení pro chov.....	58
5. DISKUZE.....	64
5.1 Úkryty a chronobiologické faktory reprodukce	64
5.2 Úspěšnost reprodukce	66
5.3 Dokumentace larválních stádií a juvenilů	68
5.4 <i>Halocaridina rubra</i> – perspektivní druh	70
6. ZÁVĚR	72
7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	73

Souhrn

Krevetka havajská - *Halocaridina rubra* (řád Decapoda; čeleď Atyidae) je krevetka vyskytující se endemicky na Havajském souostroví. Je přizpůsobena specifickému prostředí podzemních systémů a příbřežních brakických jezírek. *Halocaridina rubra* je potenciálně velmi zajímavý druh pro chovatele i vědecké práce.

Cílem práce bylo: (1) zdokumentování reprodukce krevetky *Halocaridina rubra* a (2) ověření vlivu vybraných chronobiologických faktorů a vlivu přirozených úkrytů na reprodukci.

Experiment byl proveden v akvariijní a chronobiologické místnosti na Katedře biologických disciplín ZF JU. Experimentální práce trvala tři měsíce (3. 11. 2014 - 3. 2. 2015). Testované krevetky byly po skupinách 10 samic a 16 samců nasazeny do nádrží. Pokus měl 4 varianty a dvě opakování: na světle s úkrytem, na světle bez úkrytu, ve tmě s úkrytem a bez úkrytu. Byla hodnocena četnost páření krevet.

Pro rozmnožování *Halocaridina rubra* nejsou významné světelné podmínky (střídání dne a noci, trvalá tma) ani nevyžaduje k rozmnožování úkryty. Byla pozorována a zaznamenána reprodukce krevetky *Halocaridina rubra* - přenos spermatoforu, vajíčka, čtyři larvální stádia typu zoea, stádium megalopa a dvě juvenilní stádia. Byla vypracována doporučení pro chov.

Byla odzkoušena anestezie krevet pomocí eugenolu (hřebíčkového oleje).

Klíčová slova: *Halocaridina rubra*, rozmnožování, úkryty, chronobiologie, anestezie, chov akvariijních krevet

Summary

Hawaiian red shrimp - *Halocaridina rubra* (order Decapoda; family Atyidae) is an endemic species originated from Hawaii Islands. It is adapted to a specific environment of underground systems and anchialine pools. *Halocaridina rubra* has a great potential for aquarium shrimps breeders as well as for researchers.

The aim of this work was to: (1) document the reproduction of shrimp *Halocaridina rubra* and (2) determine the influence of selected chronobiological factors and presence/absence of a shelter for its reproduction. The experiment was realized in the aquarium room and chronobiological laboratory at the department of Biological disciplines at the Faculty of Agriculture, University of South Bohemia in České Budějovice. The experiment took three months (i.e. from 3rd November 2014 to 3rd February 2015). This experiment had 4 treatments each with two repetitions: on the light with and without a shelter, in the dark with and without a shelter. Experimental shrimps were put into the aquaria in the breeding groups: 10: 16 (female: male). The frequency of mating was evaluated.

Neither the light conditions (12 h (light): 12 h (dark) or permanent dark) nor the presence of shelter had impact on the reproduction of *Halocaridina rubra*. The reproduction of shrimp *Halocaridina rubra* was documented. Spermatophore transfer, eggs, four larval stages of zoea type, megalopal stage and two juvenil stages are monitored.

Recommendations for breeding have been developed.

Anesthesia was tested by using eugenol (clove oil) in shrimps.

Key words: *Halocaridina rubra*, reproduction, shelters, chronobiology, anesthesia, breeding of aquarium shrimps

1. ÚVOD A CÍLE PRÁCE

Chov akvariijních krevet patří k poměrně nové oblasti akvaristiky. Její největší rozmach začal po roce 2000, kdy narostl zájem chovatelů z celého světa o chov rozmanitých druhů krevet a následně i jejich barevných forem. K nejvýznamnějším chovatelům patří státy jihovýchodní a východní Asie, zejména pak Japonsko a Tchaj-wan. Z evropských států je z pohledu chovu akvariijních krevet významné především Německo, ale i v České republice rychle stoupá počet chovatelů i nabízených druhů či variet. Pravidelně se také pořádají soutěžní výstavy a roste počet nových forem oceňovaných v řádu tisíců USD.

Nejenom že se krevetky stávají stále častějšími spoluobyteli akvárií, ale v posledních letech dokonce jejich hlavní dominantou – zejména díky své estetičnosti, praktičnosti a zajímavému způsobu chování.

Cílem experimentální práce bylo: (1) ověřit vliv světla/tmy a úkrytů na rozmnožování druhu *Halocaridina rubra*, (2) zdokumentovat vývojové fáze tohoto druhu, a tak (3) přinést nové poznatky týkající odchovu v akváriích.

2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Systematické zařazení

Halocaridina rubra patří do třídy rakovci (Malacostraca Latreille, 1802), podtřídy (Eumalacostraca Grobben, 1892), nadřádu (Eucarida Calman, 1904), řádu desetinožci (Decapoda Latreille, 1802), podřádu (Pleocyemata Burkenroad, 1963), infrařádu krevety (Caridea Dana, 1852), nadčeledi (Atyoidea de Haan, 1849) a čeledi (Atyidae de Haan, 1849). Rod *Halocaridina* byl popsán v roce 1963 Holthuisem. Prozatím byly popsány pouze dva druhy rodu *Halocaridina*, a to *Halocaridina rubra* (Holthuis, 1963) (obr. 1) a *H. palahemo* (Kensley a Williams, 1986) (ITIS, 2014 <http://www.itis.gov/>). Nicméně Brock a Brock (1993) naznačují, že *Halocaridina rubra* a *Halocaridina palahemo* je jeden druh.

Halocaridina rubra neboli krevetka havajská (Biolib, 2014 <http://www.biolib.cz/>) má v angličtině mnoho jmen: Hawaiian red shrimp, Hawaiian volcano shrimp, Red pond shrimp, Anchialine shrimp. Domorodé havajské pojmenování je ‘ōpae‘ula (Dvořák, 2010 <http://www.akvakrevetky.wz.cz/>).



Obr. 1: *Halocaridina rubra* - populace z východní části ostrova Havaj (foto Homolka, 2014)

2.2 Rozšíření a charakteristika lokalit výskytu

Halocaridina rubra je endemit Havajských ostrovů. Tyto krevety se vyskytují na pěti Havajských ostrovech: Hawai'i (Havaj), Kaho'olawe, Maui, Moloka'i a O'ahu (Santos a kol., 2008). Vyskytují se i na izolovaných ostrůvcích (Mokolea, Kapapa a Kaohikaipu) u O'ahu (Iwai, 2005 nepublikovaná data, resp. Iwai Jr., 2005).

Ivey a Santos v roce 2007 přečetli kompletně její mitochondriální genom. Průzkum prováděný na 573 jedincích ze 34 míst ostrovů Havaj, Maui a O'ahu odhalil 13 odlišných genetických skupin, které patří do 8 rozličných linií. Obecně platí, že genetická linie nebo skupina byla omezena na konkrétní region jednoho havajského ostrova bez výměny jedinců. Překážky toku genů jsou moře a geologie havajských ostrovů. Evoluční diverzifikace je řízena fragmentací populací. Diverzifikace genu byla stanovena 20 % za milion let (Santos a kol., 2008).

Souostroví Havaj fyziograficky spadá do polynéské podoblasti Oceánie. Nachází se přibližně 3200 km od severoamerické pevniny, rozkládá se od 18°55' do 28°27' severní šířky a od 154°48' do 178°22' západní délky. Havajské ostrovy jsou nepřetržitě tvořeny vulkanickou činností – čedičovými lávami. Severozápadní ostrovy jsou geologicky starší a bez aktivní vulkanické činnosti. V současnosti je sopečná aktivita přítomna pouze na nejjihnějším ostrově Havaj (Wikipedians, 2011). Některé oblasti jsou tvořeny také fosilizovanými korály (Santos a kol., 2008).

Krevetky žijí v relativně klidných vodách (Bailey-Brock a Brock, 1993). Přírozenými stanovišti *Halocaridina rubra* jsou brakická příbřežní jezírka takzvaná anchialine pools (pojmenování z řeckého slova anchialos „blízko moře“). Jsou to jezírka bez povrchové spojitosti s mořem. Napojení na moře je podpovrchovým jeskynním systémem. Obsahují částečně i mořskou vodu, která se mísí s povrchovou či podpovrchovou sladkou vodou, v závislosti na přílivových rytmech, čímž vzniká unikátní neustále se měnící brakické prostředí (Holthuis, 1973). *Halocaridina rubra* se může setkat s rozdílnou salinitou jak časově tak prostorově (Havird a kol., 2014). Slapové jevy také v některých případech způsobují celkové vyschnutí jezírka. Mnohá stanoviště *H. rubra* byla zničena přírozenými (např. bouře, záplavy a stáří) ale i antropogenními vlivy (např. zavlečení dravých invazivních druhů, urbanizace, znečištění, sedimentace a výkopy) (Iwai Jr., 2005).

Jak je patrné z obr. 2, nejvíce anchialine pools se nachází na ostrově Havaj – přibližně 600 až 650 jezírek (Gon III, 2012). Na ostrovech Havaj a Maui jsou příbřežní jezírka tvořena z nedávných lávových toků. Na Kaho'olawe je bombový kráter a na Moloka'i je jezero. O'ahu má vápencové útvary (Brock a Brock, 1993).

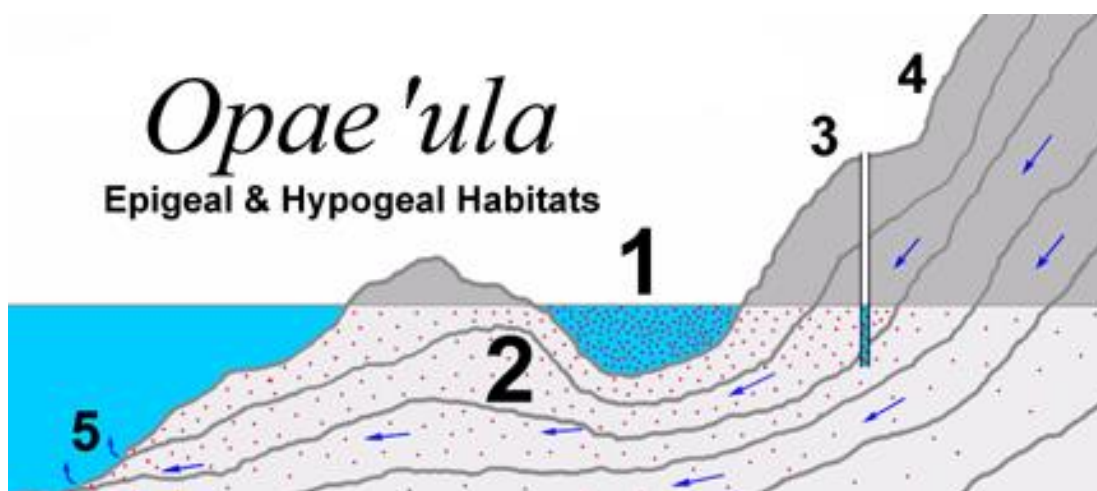


Obr. 2 : Mapa výskytu anchialine pools (označeny červeně) na havajském souostroví (<http://www.hawaiicoreregionplan.info/>, 2012)

Poznámka: Část ostrova Kaho'olawe byla pronajata v roce 1941 Vojenskému námořnictvu Spojených států amerických. O sedm měsíců později, den po japonském útoku na Pearl Harbor, armáda převzala celý ostrov. Ostrov byl určen pro armádní cvičení. Byl ostřelován, torpédován, bombardován a v roce 1965 pod záštitou DASA (Agentura obranné jaderné podpory) byly odpáleny tři série 500 tunových trinitrotolueunových povrchových pum. Pumy byly postaveny na pláži nad vodní hladinou na jihozápadě ostrova. Výsledkem je současný “Sailor's Hat” kráter. Vzniklý vodní ekosystém osídlily dva endemické druhy krevetek: *Metabetaeus lohena* a *Halocaridina rubra*. V roce 1990 prezident George Bush vydal memorandum ministra obrany Richarda Cheneyho o zákazu používání zbraní na ostrově. V roce 1993 bylo rozhodnuto o přivlastnění Kaho'olawe ke státu Havaj a obnovení životního prostředí (<http://www.protectkahoolaweohana.org/>, 2013).

Salinita v anchialine pools se velmi liší (Fukumoto, 2011). Santos a kol. (2008) naměřili v anchialine pools slanost 1 - 16 ‰. Teplota se pohybovala v rozmezí 17 – 30 °C. Fukumoto (2011) uvádí, že některé části mohou být geotermálně vyhřívány a mají teplotu vody i 35°C. Poréznost lávy je poměrně vysoká. V závislosti na lávových proudech tvoří volné prostory v lávě 5 až 25%. Pokud je to možné, volné prostory se

zaplní vodou a mohou tak vytvořit podzemní systémy, kterými se *Halocaridina rubra* může pohybovat i dále do vnitrozemí či mezi jednotlivými anchialine pools. Těmito systémy je spojena mořská voda z oceánu se sladkovodními vodami – což potvrzují i domorodí Havajci, kteří vědí o místech, kde mohou pomocí zapečetěné tykve nabírat sladkou vodu přímo z pramenů v oceánu. Rybáři také tvrdí, že loví akule (*Trachurops crumenophthalmus*) a opelu (*Decapterus pinnulatus* a *D. maruadsi*) s žaludky plnými ‘ōpae‘ula (*Halocaridina rubra*), které byly vyplaveny do oceánu po silných bouřích. Naopak pokud se ve vnitrozemí vyhloubí díra dostatečně hluboká, i několik kilometrů od anchialine pool, a zaplaví se vodou, je pravděpodobné, že se mohou objevit i jedinci *Halocaridina rubra*. Největší populace těchto krevetek se patrně vyskytují v podzemí okolo a pod anchialine pools (obr. 3) (Fukumoto, 2011).

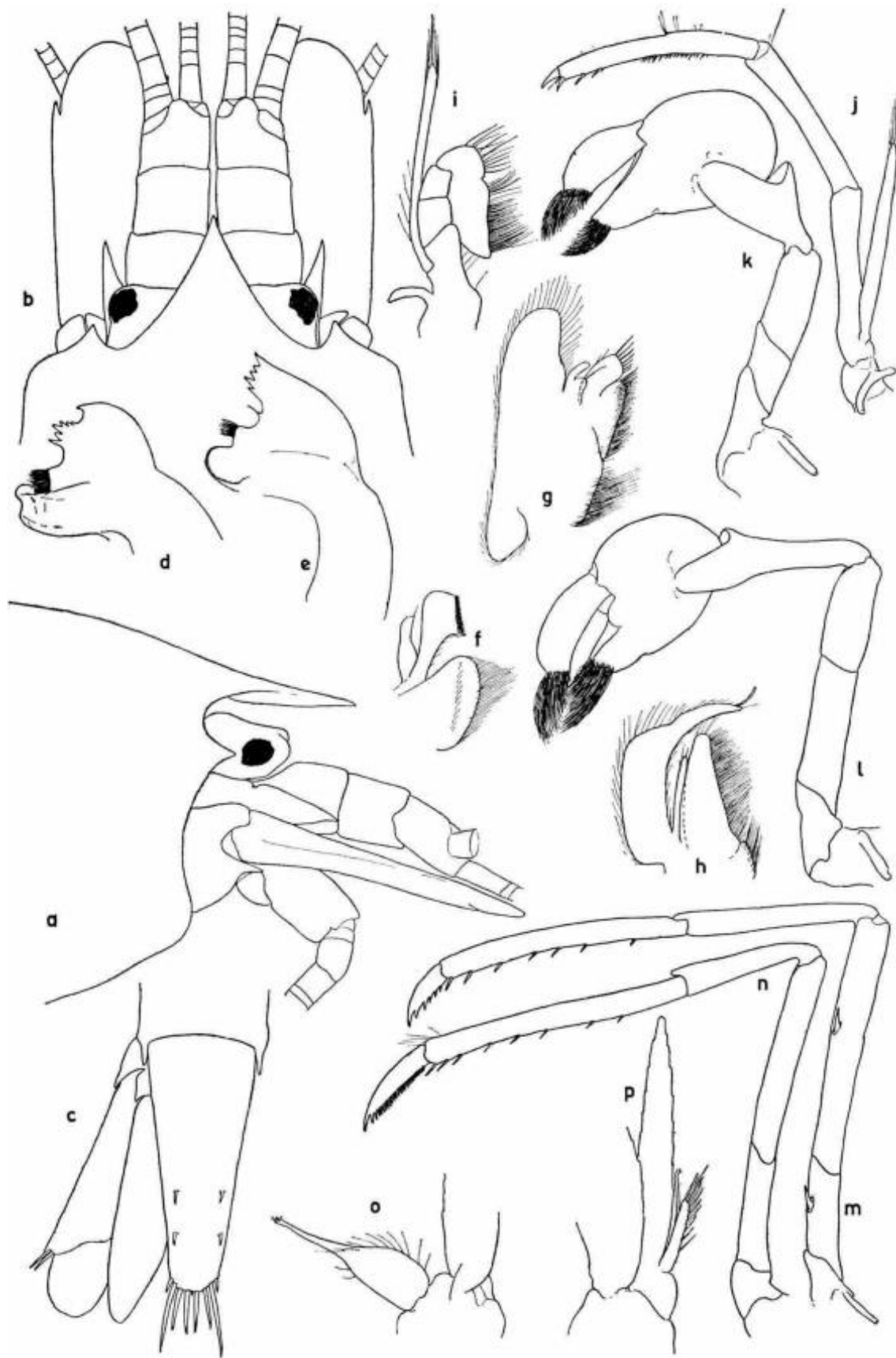


Obr. 3 : Životní prostředí *Halocaridina rubra* (Fukumoto, 2011)

1: anchialine pool (brakické příbřežní jezírko); 2: podzemní prostory pod a kolem anchialine pool; 3: vrt; 4: déšť a podzemní sladká voda proudí k oceánu; 5: podzemní voda proudí do oceánu

2.3 Popis a charakteristika druhu

Halocaridina rubra dorůstá do délky až 1,5 cm (Jelínek, 2011). Oči má redukované, ale výrazně pigmentované (Hothuis, 1963). Oko je složené přibližně z 50 ommatidií (Brock a Brock, 1993). Rohovka je velmi malá (Hothuis, 1963). Charakteristická je poměrně masivní hlavohruď. Kresba na obr. 4 ukazuje další části krevetky.



Obr. 4: *Halocaridina rubra* (Holthuis, 1963)

a – c: holotyp (typový exemplář, podle kterého byl druh popsán) a d – p: paratyp

a: přední část těla z laterálního pohledu; b: přední část těla z dorzálního pohledu; c: telson z dorzálního pohledu; d, e: mandibula (kusadla = 1. pár gnathopodů); f: maxilula (1. pár čelistí = 2. pár gnathopodů); g: maxila (2. pár čelistí = 3. pár gnathopodů); h: 1. maxilipeda (1. pár thoracopodů); i: 2. maxilipeda (2. pár thoracopodů); j: 3. maxilipeda (3. pár thoracopodů); k: 1. pereiopod (1. pár cheliped = 4. pár thoracopodů); l: 2. pereiopod (2. pár cheliped = 5. pár thoracopodů); m: 3. pereiopod (1. pár kráčivých končetin = 6. pár thoracopodů); n: 5. pereiopod (3. pár kráčivých končetin = 8. pár thoracopodů); o: endopodit prvního pleopodu samce; p: endopodit druhého pleopodu samce

a – c, f – n: zvětšeno 30 x a d, e, o, p: zvětšeno 60 x

Morfologická variabilita souvisí i s genetickou variabilitou jednotlivých populací. Liší se zbarvení, velikost, zakřivení krunýře, délka rostra, počet dlouhých a krátkých ostnů na telsonu a přítomnost jednoho nebo dvou trnů na uropodu. Jejich červená barva je blíže charakterizována jako rumělkově červená, šarlatově rumělková, světle až jasně červená s možnou variancí až do průhledné bílé barvy (Hothuis, 1973). Další uváděné variance: červená, růžová, bílá, průhledně světle žlutá, a pruhovaná tj. červená v kombinaci s průhlednými částmi těla (uvádí se jako rili) (anchialine fact sheet, 2010). Populace z O'ahu z 'Ewa oblasti je nejméně barevná, zatímco krevety z oblasti Kona na Havaji, jsou nejvíce intenzivně červené (například Waikoloa a Kuki'o krevetky, a to i po 1 nebo 2 letech v zajetí). Když jsou krevetky vyrušeny, chromatofory se zatahují a krevetky ztrácí své zbarvení na části nebo na celém těle. Může trvat několik minut či hodin než se zbarvení vrátí do jasných barev (Brock a Brock, 1993). Salinita (od 2 do 36‰) nemá vliv na zbarvení (Vaught a kol., 2014). Krevetky z 'Ewa populace a populace z Kahuku, O'ahu jsou nejmenší. Krevetky z Kona pobřeží jsou naopak největší. Zakřivené, mírně zakřivené a rovné krunýře jsou přítomny ve sbírkách z Kiiki'o, Puhi Via (Ka'ii oblast), a Lua 0 Palahemo. Zakřivené krunýře má populace z 'Ewa. Zakřivení krunýře pravděpodobně není ovlivněno pohlavím. Pouze dvě populace - Puhi a Via vzorky měly krátké rostrum, které dosahovalo pouze k oku, všechny krevetky z Lua 0 Palahemo měly krátké

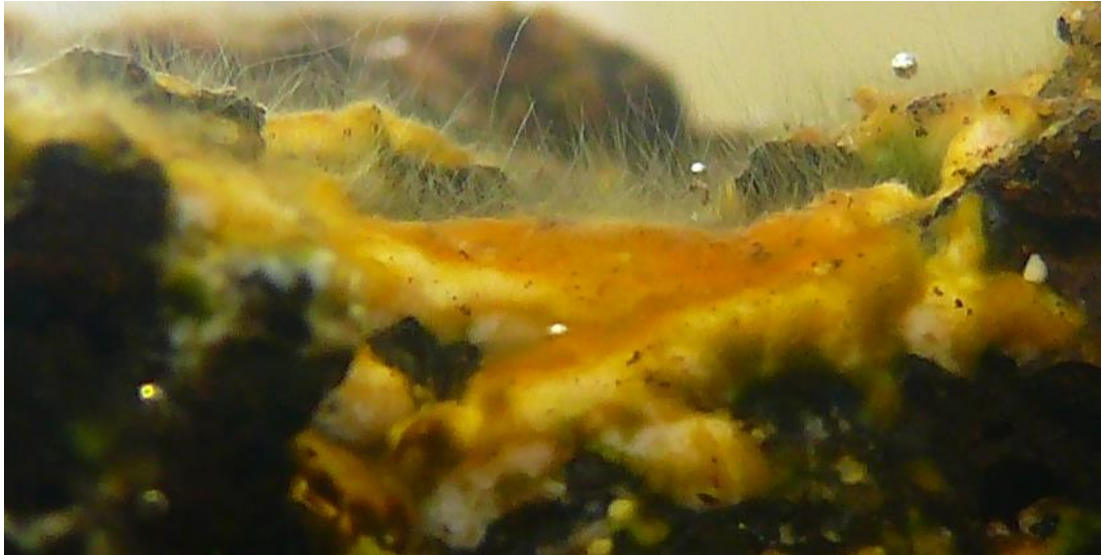
rostrum. Značné rozdíly jsou v počtu bočních a koncových trnů na telsonu. Dokonce nemusí být ani symetrické strany telsonu.

Halocaridina rubra se dožívá dvaceti i více let (Jelínek, 2011 <http://www.akvarista.cz/>). Pro srovnání, běžná akvarijní krevetka *Neocaridina davidi* se dožívá obvykle dvanácti až patnácti měsíců, ve vhodných podmínkách výjimečně i déle než dvacet měsíců (Libus, 2011 <http://www.akvarista.cz/>). Bez potravy vydrží *Halocaridina rubra* 42 dní. Je tolerantní k slanosti vody přibližně v rozmezí 5 až 40 ‰ (Linhoff, 2007). Havird a kol. (2014) naznačují, že všechny páry žáber mají osmoregulační funkci. V laboratoři *Halocaridina rubra* tolerovala široké rozpětí salinity ~ 0 - 56 ‰ a chovala se jako hyper a hypo – osmoregulátor (eurýhaliní živočich), při zachování maximálního osmotického gradientu ~868 mOsm kg⁻¹ H₂O ve sladké vodě. Ionty transportují žábry, které jsou vyvinuty ve 4. larvální fázi (přibližně 15. den po vylíhnutí). Kompromis mezi osmoregulací a dýcháním kompenzuje možnost získávání energie anaerobní cestou, což je nezbytné v prostorách s nízkou hladinou kyslíku. Tyto skutečnosti potencionálně činí *Halocaridina rubra* jedinečnou mezi druhy krevet vyskytujících se v příbřežních brakických jezírkách (Havird a kol., 2014). Při teplotě pod 10°C krevetky hynou (Fukumoto, 2011). O specifickém chování vypovídá i prastará legenda o Wai'anapanapa jeskyni: „Kdysi havajská princezna jménem Popoalaea utekla od svého krutého manžela, náčelníka Kakae. Schovala se na římse za podvodním vchodem do jeskyně. Věrná služebná seděla naproti ní a vířila na princeznu s pery kahili, symbolem královské hodnosti. Všimnuvši si odrazu kahili ve vodě náčelník Kakae objevil Popoalaeu v úkrytu a zabil ji. V určitých obdobích roku, se drobné červené krevety objeví v jezírku a voda zčervená. Někteří říkají, že to je připomínka krve zabité princezny (www.scienceviews.com/, 2010).“ Vysoké hustoty krevetek v zachovalých anchialine pools se mohou pohybovat přes tři sta jedinců na m² (Linhoff, 2007). Celkově není možné určit velikost populace, ale je odhadována na miliony jedinců (anchialine fact sheet, 2010). *Halocaridina rubra* je dobře přizpůsobena měnícím se podmínkám brakických příbřežních jezírek a podzemním biotopům. Po substrátu se pohybují pomocí třech párů pereopodů (obr. 4). Pohybová činnost také často zahrnuje plavání ve volné vodě činností pleopodů. Při vysoké hustotě populace na jednom místě byla reakce na vyrušení krevetek připodobněna k vystřelujícímu popcornu na pánvi. Krevetky nejsou schopny se bránit vizuálním dravcům (Brock a Brock, 1993). V jezírkách, kde je introdukovaná ryba

Gambusia affinis, jsou krevetky přítomny převážně v noci a převládají jedinci velcí nad 1 cm (Caps a kol., 2009). Naopak v jezírkách, kde je introdukovaná dravá kreveta *Macrobrachium lar*, která loví v noci, jsou krevetky přítomny převážně přes den (Carey a kol., 2010). Introdukovaní byli také KOI kapři, tilapie, a další. Účinným řešením je látka rotenon, která zabije invazivní druhy. Rotenon se na světle rozkládá a při správném použití nelikviduje *Halocaridina rubra* (Fukumoto, 2011). Přírodním částečným predátorem *Halocaridina rubra* je vzácnější a větší krevetka *Metabetaeus lohena*, vyskytující se pouze v několika málo havajských anchialine pools (Anchialine fact sheet, 2010).

2.4 Potrava

Hlavním přírodním zdrojem potravy *Halocaridina rubra* jsou sinicové a bakteriální nárosty. Komerční sušené směsi krmiva či jinou náhradní potravu přijímají ojediněle (Dvořák, 2010 <http://www.akvakrevetky.wz.cz/> shoduje se s Jelínek, 2011). Potravu získávají seškrabáváním z podkladu, nebo při vysokých koncentracích fytoplanktonu, filtrací z volné vody (Dvořák, 2010 <http://www.akvakrevetky.wz.cz/>). Nicméně Fukumoto (2011) doporučuje podávat jako krmivo sušený spirulinový prášek. *Halocaridina rubra* je především mikrofág. V přírodě pomocí cheliped odstraňují potravu z povrchové krusty. Maxily přenáší uvolněné rostlinné, sinicové či rozsivkové fragmenty do úst. Krevetky také přitahuje uhynulý hmyz na vodní hladině. V typických jezírkách, osídlených krevetkami, se vyskytují sinice, souvislé povlaky vláknitých řas a rozsivek, které způsobují oranžovou barvu dna (obr. 5). Tato oranžová kůra v anchialine jezírkách má bio-sedimentární strukturu s nepravidelným, tvárným povrchem nesoucím epifyty, které přidávají zelený nebo hnědý nádech. Horní plocha je aktivně rostoucí společenstvo. Jasně červené krevetky se na těchto površích mohou vyskytovat ve velmi velkém počtu (Brock a Brock, 1993).



Obr. 5: Oranžové nárůsty sinic rodu *Phormidium* a *Leptolyngbya* vytvářející stromatolitické útvary z usazeného uhličitanu vápenatého v pochvách (foto Homolka, 2015)

2.5 Rozmnožování a vývoj

Pohlavní dimorfismus je nevýrazný. Hlavním rozlišujícím znakem jsou u samic vajíčka vyvíjející se v ováriích či nošená na pleopodech (Jelínek, 2011). Rozdílným znakem mezi samcem a samicí je endopod prvního a druhého pleopodu. Nejvýraznějším rozdílem je tzv. appendix maskulina druhého samčího pleopodu, který samice nemají. Tento znak je kvůli malé velikosti krevetek pouhým okem špatně viditelný (Brock a Brock, 1993).

Halocaridina rubra patří k druhům se zkráceným larválním vývojem. To je přechodný typ mezi nepřímým (původním) a přímým (odvozeným) typem vývoje larev.

Praktické (chovatelské) rozdělení akvarijských krevet podle typu vývoje:

1. Přímý vývoj (odvozený, specializovaný typ vývoje)

Tento typ je význačný v nepřítomnosti larválního stádia. Z vajíček se přímo líhnou malí jedinci se shodnou tělesnou stavbou, jakou mají dospělé krevety. Pro tyto druhy krevet jsou charakteristická velká vajíčka v počtu maximálně několika desítek kusů. Vajíčka obsahují velké množství zásobních látek důležitých pro kompletní vývoj embryí. Tento vývojový typ se vyskytuje zejména u sekundárně sladkovodních a brakických druhů čeledí Atyidae a Palaeomonidae.

2. Nepřímý vývoj (původní, primitivní typ vývoje)

Typ je charakteristický přítomností larválního stádia. V průběhu larválního vývoje se larvy několikrát svlékají a mění svojí tělesnou stavbu. Na konci svého larválního vývoje metamorfují na malé krevety. Larvy většiny druhů tohoto typu vyžadují od určité fáze svého vývoje slanou vodu specifické salinity. V přírodě jsou vylíhlé larvy unášeny proudem ze sladkých vod do moře. V moři se larvy vyvíjejí a po metamorfóze se vrací zpátky do sladkých vod. Pro tyto druhy krevet jsou specifická velmi malá vajíčka v počtech několika set až tisíc kusů. Vajíčka obsahují jen minimální množství zásobních látek potřebných pro základní vývin jedinců. energii a stavební látky pro další vývoj a růst musí larvy přijímat již z potravy.

3. Přechodné typy

Mezi oběma výše zmíněnými typy vývoje existuje několik přechodných typů. Jako příklad lze uvést právě havajskou krevetku *Halocaridina rubra* (vývoj ve vodách s rozmanitou salinitou) či krevetku *Caridina simoni* (vývoj ve sladké vodě). U těchto druhů se líhnou larvy se zkráceným vývojem. Larvy nepřijímají potravu a veškeré stavební látky a energii čerpají ze zásobního žloutkového vaku. (Dvořák, 2007 <http://www.akvakrevetky.wz.cz/>). Mají celkem 4-7 planktonních (larválních) stádií (Patoka, 2010).

U krevetek *Halocaridina rubra* doposud nebyly v přírodě pozorovány samice nosící vajíčka a nebyly ani nikdy pozorovány larvy v přírodních brakických příbřežních jezírcích (pozorování přes 23 let). Hypogeální prostředí může být totiž pro úspěšné rozmnožení lepší díky vyšší salinitě a nepřítomnosti vizuálních predátorů (Brock a Brock, 1993). Nicméně Dr. Maciolek v roce 1972 popisuje z chovu v zajetí barvu vajíček jako nazelenalou (Hothuis, 1973). Barvu vajíček jako červenou / kaštanovou uvádí <http://en.wikipedia.org/>, takovouto barvu lze vidět také na všech obrázcích <https://www.google.com/imghp> či dalších akvaristických odkazech (např. <http://rybicky.net/>, <http://www.akvarista.cz/web/>, <http://www.akvakrevetky.wz.cz/>) (2014). Jediný další popsaný exemplář s nazelenalými vajíčky (nafocený v roce 2007) pochází ze soukromých chovů Mustafa Ucozler (<http://www.petshrimp.com/>, 2013), který exemplář popisuje jako white supershrimp s modrozelenými vajíčky. Ve svém

chovu popisuje také první barevnou mutaci nazvanou yellow supershrimp s celým žlutozlatým povrchem těla. Tato mutace má červeno / kaštanová vajíčka. Na fotografii od Mike Yamamoto nosí bílá (možná spíše průhledně žlutá) samice žlutá vajíčka (anchialine fact sheet, 2010). Couret a Wong (1978) popisují vajíčka jako červenohnědá. Vajíčka jsou oválná, velká 0,93 – 1,01 mm x 0,71 – 0,75 mm. Patnáctý den po sestoupení vajíček je viditelný na jednom pólu vajíčka neprůhledný bod. Výstupky a pigmentace jsou patrné 25. den, zaživací trakt 29. den vývoje. Celková doba embryonálního vývoje trvala 38 dní. Po této době se líhne volně plovoucí lecitotrofní zoea. Larvální vývoj je zkrácen. Zoea v první etapě měla celkovou velikost od 2,58 do 2,61 mm a délku karapaxu: 0,83 mm. První etapa trvala tři dny. Zoea ve druhé etapě měla celkovou velikost 2,55 mm a délku karapaxu: 0,80 mm. Druhá etapa trvala čtyři dny. Zoea ve třetí etapě měla celkovou velikost 2,70 mm a délku karapaxu: 0,82 mm. Třetí etapa trvala pět dní. Zoea ve čtvrté etapě měla celkovou velikost 2,73 mm a délku karapaxu: 0,84 mm. Čtvrtá etapa trvala pět dní. Následné stádium megalopa mělo celkovou délku 2,68 mm a délku karapaxu: 0,82 mm. Stádium megalopa trvalo deset a půl dne. Střevo bylo pozorováno prázdné. První juvenilní stádium mělo celkovou délku 2,75 mm a délku karapaxu: 0,88 mm. První juvenilní stádium trvalo sedm a půl dne. V této fázi byla zásoba žloutku téměř vyčerpána. Střevo bylo stále prázdné. Nebyla pozorována žádná krmící činnost ani fekální pelety. Druhé juvenilní stádium mělo celkovou délku 2,82 mm a délku karapaxu: 0,92 mm. Druhé juvenilní stádium trvalo sedm až osm dní. Střevo obsahovalo potravu. Bylo pozorováno, jak toto stádium přijímá potravu a vylučuje výkaly (Couret a Wong, 1978). Mladé krevetky bývají běžně viděny v substrátu jezírek (Brock a Brock, 1993). Larvální vývoj trvá 24 až 37 dní v závislosti na teplotě (Dvořák, 2010 <http://www.akvakrevetky.wz.cz/>). Couret a Wong (1978) dále uvádějí, že samice nosí přibližně dvanáct vajíček. V laboratorních podmínkách se *Halocaridina rubra* rozmnožovala pouze v akváriu s prázdnou skořápkou plže *Achatina fulica* (oblovka žravá). V ostatních nádržích bez tmavého přístřeší se nepodařilo krevetky rozmnožit. Terénní pozorování naznačují, že *Halocaridina rubra* je hypogeální druh, využívající mezery a zlomeniny v lávě jako pravděpodobné trasy pro rozptýlení i v souvislosti s rozmnožováním. Toto tvrzení podporuje i kolonizace poměrně nedávných lávových útvarů při pobřeží. Zdá se, že velká vajíčka, ze kterých se líhnou lecitotrofní larvy typu zoea, jsou přizpůsobením k úspěšnému dokončení reprodukčního cyklu v podzemních prostorech, v těchto místech je dostupnost

vhodného planktonu omezená což limituje planktonofágní způsob výživy. Couret a Wong (1978) se domnívají, že podzemní podmínky jsou nezbytnou podmínkou pro reprodukci. Chování svědčící o páření bylo pozorováno jen jednou a to v zajetí, ale přenos spermatoforu nebyl zaznamenán. Páření *Halocaridina rubra* pravděpodobně probíhá ve tmě. K jedinému popsanému páření došlo v průběhu dne pod kamenem. Předpokládá se tedy, že k páření dochází na skrytých místech, jako například pod kamením v akváriu nebo jezírku. Populace krevetek chovaných v laboratoři od roků 1983 (z Honokōhau, Kona), 1986, 1992 (Waikoloa, Kona), a 1989 ('Ewa a Kahuku, O'ahu) produkovaly vajíčka, ale reprodukce nebyla vidět, dokud nebyla pravidelně přidávána potrava. Krmivo pro ryby bylo okamžitě přijímáno jak z vodní hladiny, tak ze dna. Nejdříve se krevetky krmily na švábovi spadlém do akvária. Předtím byly déle jak tři roky bez přidávané potravy. Patrně díky chemosensorickému vnímání začala celá populace přijímat potravu a zvýšila se aktivita v akváriu. Populace z Honokōhau se projevila jako neplodnější a samice produkovaly vajíčka po celý rok. Největší počet samic s vajíčky byl zaznamenán na jaře a začátkem léta, nejméně na podzim. Bylo pozorováno, jak samice přenáší a vypouští 10 – 16 embryí. Zoi jsou pozitivně fototaktické a plavou směrem k hladině. Larvy (zoea) zvládají vertikální i boční řízené pohyby a mohou zůstat téměř nehybné v poloze hlavou dolů. Stádia megalopa se na krátký čas zavěšovala na řasovém filmu na bocích akvária a následně opět pokračovala v plavání. Stádia zoea jsou průhledná s hnědými hrudními regiony, červený pigment je minimální a není zřejmý při běžném pozorování. Mladé krevetky mají bledé zbarvení (Bailey-Brock a Brock, 1993). Iwai Jr. (2005) ve svém experimentu použil 38 l akvárium, kde navršil sopečný štěr (1,3 -5 cm v průměru) k jednomu konci akvária se svažujícím sklonem asi 45°. Pro vzdušňování nebylo příliš silné, aby se zabránilo přílišnému míchání vody. Použitá brakická voda měla slanost 20 ‰. Teplota vody byla 25°C. Pro studii bylo použito 103 krevetek. Vzhledem k tomu, že po měsíci chovu nebyly pozorovány žádné samice s vajíčky, bylo instalováno 40 W osvětlení. Osvětlení simulovalo letní podmínky – 12 hodin světla a 12 hodin tmy. První samice se 2 vajíčky byla pozorována déle jak po dalším měsíci. Po čtyřech měsících bylo instalováno ještě 60 W osvětlení. Od tohoto dne bylo podáváno krmivo (*Spirulina*) každý třetí den. Barva vajíček byla hnědá, oranžová až po červenou. Průměrná plodnost byla $12,7 \pm 4,1$ vajíček, přičemž nejméně bylo pozorováno 5 vajíček na samici a nejvíce 21 vajíček. Při přemístování, resp. stresu, samice ztrácely vajíčka. Na konci embryonálního vývoje byly vidět oční body ve vajíčkách na pleopodách. Vejce,

kteřá byla odhozena pŕed ukonĉením vŕvoje se nelŕhla do ŕivotasĉopnĕ larvy. Pŕi ukonĉenŕi embryonálního vŕvoje byla vajiĉka buď odhozena, nebo se lŕhla pŕŕmo na pleopodech. Vŕechna vajiĉka byla vylŕhnuta bĕhem 1 - 5 dnŕ. Pŕŕmĕrnĕ pŕeŕitŕ zārodkŕ bylo $49,9 \pm 38,1$ %. Larvy v bentickĕm stādii majŕ nadāle dostatek ŕloutkovŕch zāsob (krmila se jedna z 22), nĕkterĕ se zaĉaly krmŕt aŕ ve druhĕm juvenilnŕm stādii. Prvnŕ krmenŕ bylo pozorovāno 31. – 41. den po lŕhnutŕi. Pārilo se pŕibliŕnĕ 23 % samic. Bylo pozorovāno, ŕe mladĕ krevetky zŕskāvajŕ potravu seŕkrabāvānŕm z podkladu pouze z mĕnĕ jak 5 %. Primārnmŕm zpŕsobem krmenŕ byla filtrace. Nebylo pozorovāno pārĕnŕ, pŕedpoklad: pārĕnŕ probŕhā v noci nebo v hypogealnŕm pŕstŕedŕi.

2.6 Zaloŕenŕ chovu a jeho nāroky

Jelŕnek (2011) uvādŕ, ŕe *Halocaridina rubra* je v Evropĕ chovāna velmi vzācnĕ. V Āeskĕ republice ani v Evropĕ nenŕ bĕŕnĕ nabŕzena k prodeji (Dvoŕāk, 2010). Jan TenBruggencate (2009) v rozhovoru s Scott R. Santos o nelegālnmŕm prodeji uvādŕ, ŕe existuje nĕkolik obĉodnŕkŕ s povolenŕm pro sbĕr a prodej krevetek na Havaji (Big Island). Nicmĕnĕ v obĉodnŕi sŕti se vyskytujŕ i krevetky z Maui – z ostrova, kde nikdo nemā licenci pro sbĕr. Pŕedpoklādā se, ŕe vĕtŕšina z obĉodovanŕch krevetek pochāzŕ z pŕŕrody, aĉkoliv existujŕ i chovatelĕ prodāvajŕcŕ vlastnŕ odchovy.

Chovnĕ akvārŕium by mĕlo mŕt objem nejmĕnĕ 20 litrŕ. Jako dno je vhodnĕ pouŕit drcenĕ korāly ĉi lāvu. Brakickā voda je pro chov nejvhodnĕjŕŕ. Pro vytvoŕenŕi brakickĕ vody nejlĕpe vyhovuje kvalitnŕ reefovā moŕskā sŕl. Salinita by mĕla odpovŕdat hodnotām cca 12 – 14 ‰ (Jelŕnek, 2011). Larvy ŕdajnĕ ŕpatnĕ snāŕŕ prudkĕ zmĕny slanosti. V akvārŕiu by mĕl bŕt dostatek ŕkrytŕ a stinnŕch mŕst. Topŕtko a osvĕtlenŕ nenŕ nutnĕ. V nepŕekrmovanĕ, dobŕe osvĕtlenĕ nādŕŕi pŕi pokojovĕ teplotĕ nenŕ filtr nutnŕ. Teplotu v chovu uvādŕ Jelŕnek (2011) 15 – 29 °C a k odchovu 22 – 26 °C. Dlouhodobou pĕĉŕ je pouze doplŕovānŕi odpaŕenĕ vody za vodu vodovodnŕi ĉi lĕpe za vodu demiralizovanou (Jelŕnek, 2011). Krevetky jsou odolnĕ vŕĉi rozdŕlnĕ teplotĕ, salinitĕ, množství dusŕkatŕch lātek, obsahu kyslŕku ve vodĕ, hladovĕnŕi a druhu pŕijŕmanĕ potravu (Dvoŕāk, 2010).

Dŕky svĕ odolnosti jsou ĉasto pro obĉodnŕ ŕĕĉely uzavŕrāny do tzv. ekosfĕr/biosfĕr. To jsou hermeticky uzavŕenĕ nādoby (prodāvānĕ jako suvenŕr ĉi stolnŕ doplnĕk). Dle

prodejců by to měl být samoudržitelný ekosystém – světlo podporuje růst řas, kterými se živí krevetky, krevetky produkují oxid uhličitý a odpadní látky, které jsou spotřebovávány řasami, řasy produkují kyslík, který spotřebovávají krevetky. Toto platí ale jen omezeně. Krevetky, které se jinak dožívají i přes 20 let takto dokáží přežít jen několik měsíců až let (Dvořák, 2010). Větší mezinárodní obchodní aktivita, ohledně *Halocaridina rubra*, zvýšila zájem o tyto krevetky i jako o jedinečný produkt s přidanou hodnotou „made in Hawaii“ (Iway Jr., 2005).

Poznámka: Prodej krevetek v uzavřených nádobách byl inspirován vesmírnou misí: Autonomní biologický systém (ABS) je soběstačný, samoudržitelný systém (po dobu až 18 měsíců). Obsahuje 3,6 litru. ABS byl speciálně zkonstruován pro využití ve vesmíru. Použitý byl na několika raketoplánech a na stanicích Mir a ISS (Mezinárodní vesmírná stanice) (NASA, 2013). ABS navržený firmou Paragon Space Development Corporation obsahující *Halocaridina rubra* byl 26. února 2001 z kazašského kosmodromu Bajkonur vynesena ruskou raketou Sojuz v rámci mezinárodního studentského programu Space Media Inc.'s global STARS program k ISS, ke které dorazil 1. března. Kosmonauti a astronauti sledovali po dobu tří měsíců přizpůsobení *Halocaridina rubra* na mikrogravitaci. Studenti na Zemi ve svých třídách postavili své vlastní biosféry a mohli tak porovnávat své pozorování se zařízením ABS nad jídelním stolem v servisním modulu Zvezda na ISS. Experiment byl navržen tak, aby prozkoumal udržitelnost (podporu) lidského života na jiných planetách a dlouhotrvajících vesmírných letech (Paragon, 2001).

3. METODIKA

3.1 Původ pokusných jedinců, podmínky a uspořádání pokusu

Experimentální část práce byla provedena v akvarijní místnosti a v chronobiologické laboratoři na Katedře biologických disciplín Zemědělské fakulty Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích. Experimentální chov probíhal tři měsíce, od 3. 11. 2014 do 3. 2. 2015. Akvária pro tento experiment byla založena 31. 10. 2014.

Do pokusu byly nasazeny dospělé krevetky původem z populace od Jana Dvořáka, který *Halocaridina rubra* chová od roku 2006. Populace těchto krevetek pochází z importu Martina Reitha z Německa, který je dovezl z Ocean Rider Kona Hawaii Tours & Seahorse Farm The Big Island (populace pochází ze západní oblasti ostrova Havaj).

Většině krevetek v tomto pokusu bylo na začátku pokusu zhruba deset měsíců. Krevetky byly naloveny v odpoledních hodinách 2. 11. 2014 ze soukromého chovu. Samice a samci byly drženy v oddělených sáčcích. Pro pokus byly vybrány samice s již viditelnými vajíčky ve vaječnicích. Ráno 3. 11. 2014 byl sáček se samicemi překontrolován a jedna samice byla vyřazena z pokusu, protože již nosila vajíčka (samice byla chycena předchozí den již se spermatoforem). Stejný den po převozu krevetek na Katedru biologických disciplín bylo 80 samic za pomoci akvarijní fajfky přeloveno do 8 akvárií (10 samic / 1 akvárium). Následující den bylo obdobně přeloveno 128 samců do 8 akvárií k samicím (16 samců / 1 akvárium). Celkem tedy bylo použito 208 krevetek, kdy v každém akváriu bylo 10 samic a 16 samců.

Pokus měl 4 varianty: na světle s úkrytem, na světle bez úkrytu, ve tmě s úkrytem a bez úkrytu. Jak v chronobiologické laboratoři (v úplné tmě) tak v akvarijní místnosti s osvětlením byla umístěna 4 akvária. Ve dvou akváriích v obou místnostech byly vytvořeny úkryty z větších lávových kamenů a z lávového štěrku (4 – 16 mm) nahnutého na roh akvária, zbylá dvě akvária byla bez úkrytů (obr. 6). Každá varianta měla tedy dvě opakování (akvária).



Obr. 6: Akvária v akvariijní místnosti s krevetkami (foto Homolka, 2014)

Objem akvárií, ve kterých byly krevetky po celou dobu chovány, byl 24 litrů. Voda byla použita vodovodní, do které bylo rozmícháno 390 g mořské reefové soli do 24 litrů (tj. $16,25 \text{ g l}^{-1}$). Použita byla mořská sůl Tropic Marin PRO-REEF. Sůl splňuje zvláštní požadavky pro útesová akvária. Tento produkt obsahuje všechny hlavní a vedlejší prvky v přesných poměrech, které kopírují složení tropické mořské vody. Všech 70 stopových prvků, které obsahuje, je zcela rozpustných (<http://www.tropic-marin.com/>, 2014). Akvária nebyla vybavena filtrací a nebyla po celou dobu pokusu ani nijak udržována (tj. čištěna, vyměňována voda apod.). Během pokusu se samovolně odpařilo z každého akvária přibližně 7 litrů vody. To v akváriích zapříčinilo zvýšení obsahu soli z 16 g l^{-1} na 23 g l^{-1} na konci pokusu. Teplota vody se po celou dobu pokusu pohybovala mezi 24 až 25°C v akváriích v akvariijní místnosti. Stejná teplota vody byla pomocí topných tělísek s termostatem udržována i v chronobiologické laboratoři. V akvariijní místnosti byl nastaven světelný režim na 12 h světlo : 12 hodin tma, přičemž tam bylo ještě malé boční okno, kterým pronikalo denní světlo. V chronobiologické laboratoři je při kontrole pokusu k dispozici temně červené osvětlení (příp. i baterka s červeným světlem), jinak je laboratoř oddělena dvěma dveřmi, aby se zamezilo světelnému znečištění prostoru místnosti.

Krevetky byly krmeny dvakrát týdně. Jako krmení byla v malém množství (na špičku špejle) předkládána sušená směs složená ze *Spirulina*, *Chlorella*, Aminovita – P a spařené kopřivy.

Data byla vyhodnocena v programu Statistica 12 pomocí χ^2 testu.

3.2 Zdokumentování reprodukce a jednotlivých fází vývoje

Krevetky byly kontrolovány jednou denně pět dnů v týdnu kromě vánočních svátků. To, že se spářily, bylo určeno dle sestouplých vajíček. Pozorování v chronobiologické laboratoři bylo prováděno pomocí červeného světla a probíhalo vždy přibližně pět až deset minut.

Souběžně (nezávisle na výše popsaném průběhu pokusu) jsem rozmnožovací chování příležitostně pozoroval od 25. 10. 2013 na 40 krevetkách (darovaných Janem Dvořákem) v mém soukromém chovu a později i na populaci z východní části ostrova Havaj z Opae Ula Farm & Aquarium. Pozorování bylo prováděno náhodně po celou dobu trvání práce. Pozorování procesu sestupu vajíček bylo prováděno náhodně po celou dobu pokusu. Při pozorování začátku sestupu vajíček byl celý proces nahrán na video záznam. Pro zdokumentování aktu páření byla v některých případech samice uspána (viz níže), aby se nebránila pokusům samců o páření.

Pro fotografování pod mikroskopem (Olympus CX 31) byla použita digitální zrcadlovka Olympus E410. Snímky byly zobrazovány programem QuickPHOTO MICRO 2.3. Larvální stádia, vajíčka a spermatofoxy byly vyfotografovány při zvětšení 100 x (10 x 10). Detail spermatoru při zvětšení 400 x (10 x 40). Juvenilní stádia byla již poměrně velká a nebylo možné je vyfotografovat tak detailně jako larvální stádia. Byla tedy vyfotografována při zvětšení 40 x (10 x 4).

Fotografování spermatorů - zaznamenaná receptivní samice byla uspána a po procesu, kdy několik samců nalepilo spermatofoxy na břišní stranu samice, byla samice se spermatofoxy vyfocena pod mikroskopem (obr. 15). Jelikož nebylo možné spermatofoxy od samice odlepit pro samostatnou fotografii, byla samice vrácena do akvária, kde se s ní spářilo tolik samců, až jednotlivé spermatofoxy nedokázali samci správně nalepit a sami od samice odpadávali. Odpadnuvší spermatofoxy byly následně vyfoceny (obr. 16 – 24).

Pro získání jedné fotografie bylo nutné skládat i více jak 60 jednotlivých snímků s různou hloubkou ostrosti, proto museli být focení jedinci uspáni (viz dále). Snímky byly složeny pomocí programu Combine ZM a upraveny v programu Zoner Photo Studio 16. Ostatní fotografie (bez mikroskopování) byly pořízeny fotoaparátem Panasonic FZ 50 s vestavěným bleskem.

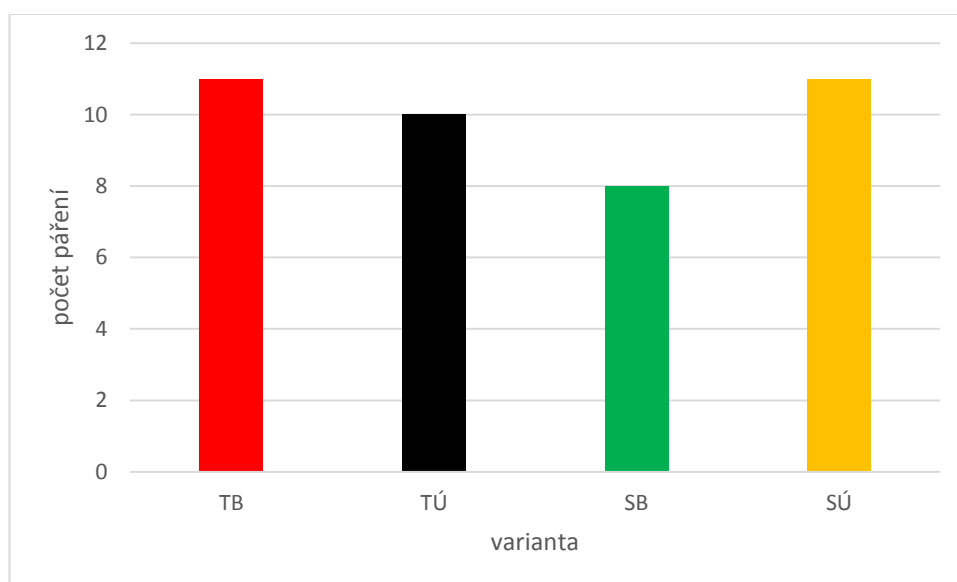
3.3 Anesteze: Znehybnovací proces

K znehybnění larev či krevetek v určitých částech pokusu byla použita látka eugenol (firma CerKamed - přípravek pouze k dentálnímu použití). Jedna kapka eugenolu byla rozmíchána v kelímku se 40 ml vody z akvária. Po řádném promíchání byl do kelímku vložen jedinec k uspání. Po několika málo minutách byl jedinec uspán a tedy i znehybněn.

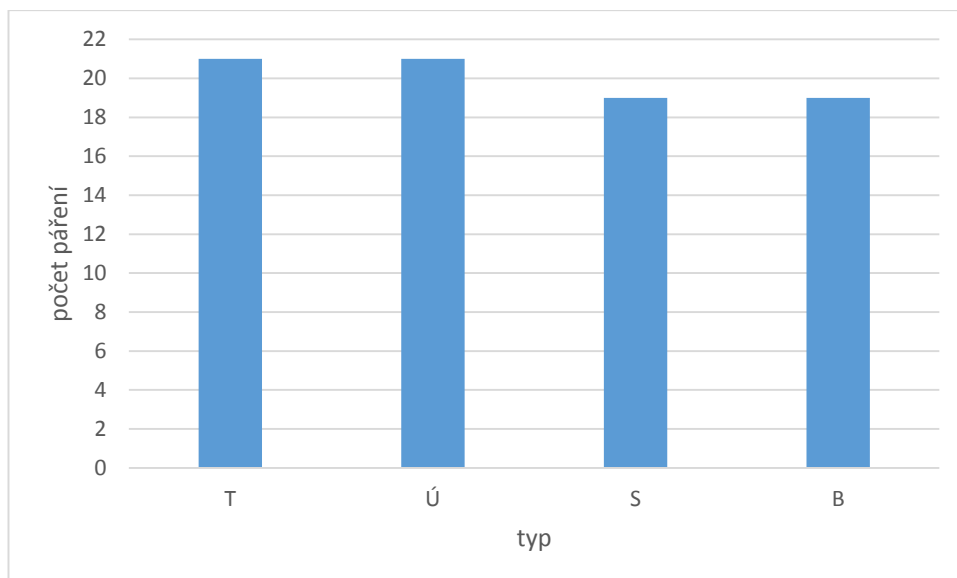
4. VÝSLEDKY

4.1 Ověření chronobiologického faktoru a vlivu úkrytů na počet páření

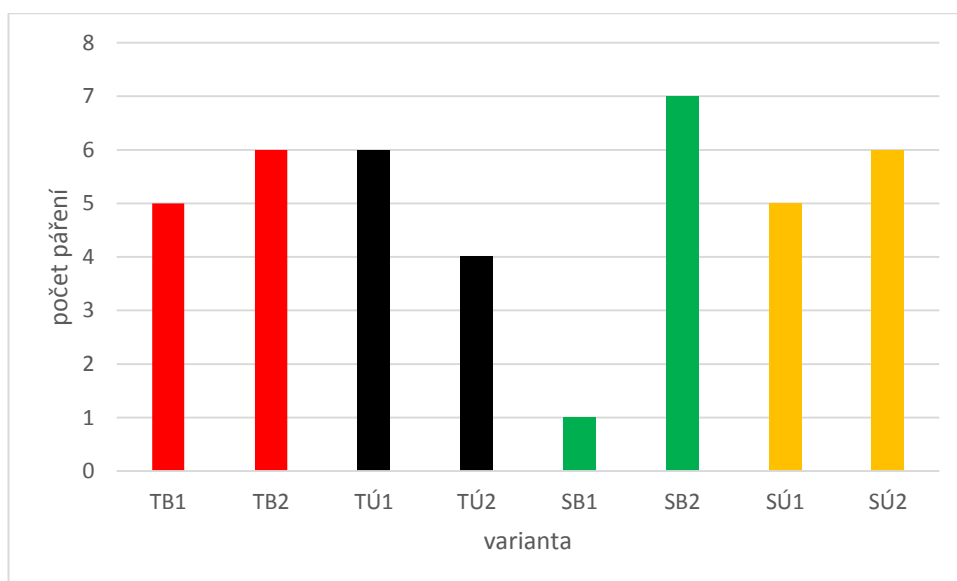
Během tříměsíčního experimentu se pářila polovina samic (tj. 40 samic z 80) nezávisle na variantě pokusu. Ze získaných dat vyplývá, že varianta pokusu neměla (statisticky významný) vliv na počet páření ($\chi^2 = 0,60$, sv = 3, p = 0,90) (graf 1). Významné rozdíly nejsou ani při srovnávání jednotlivých typů variant ($\chi^2 = 0,20$, sv = 3, p = 0,98) (graf 2). Počet páření se pohyboval od 1 – 7 páření v akváriu, nezávisle na variantě. V téže variantě: na světle bez úkrytu (SB) byl v jednom akváriu zaznamenán nejnižší a ve druhém nejvyšší počet páření (graf 3). Krevetky se pářily kontinuálně po celou dobu pokusu (graf 4), nicméně krevetky z varianty SB se pářily na začátku pokusu a posléze až v jeho závěrečné fázi.



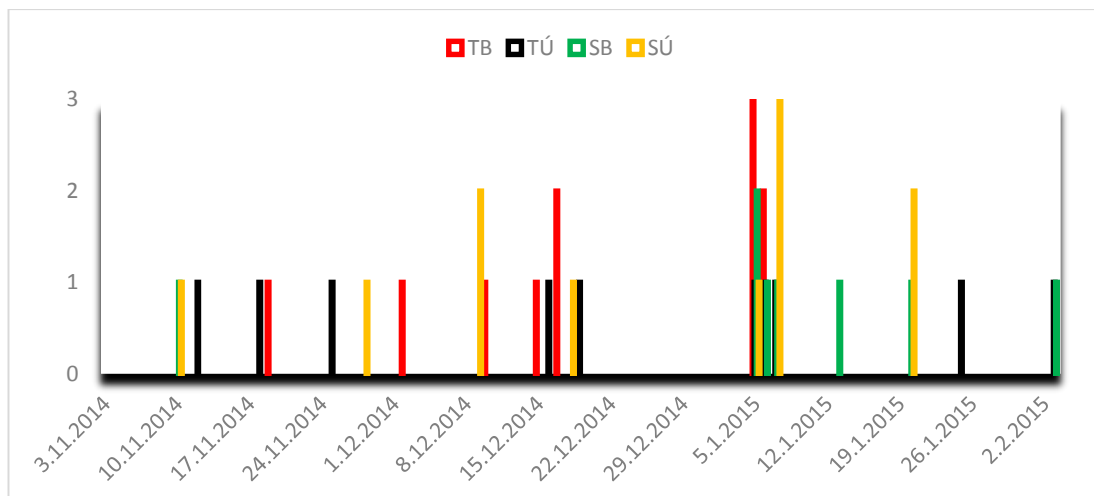
Graf 1: Celkový počet páření dle variant. Vysvětlivky: B – akvárium bez úkrytů, S – akvárium umístěné trvale v místnosti se střídáním dne a noci (akvarijní místnost), T – akvárium umístěné trvale ve tmě (v chronobiologické laboratoři) a Ú – akvárium s úkryty (lávové kameny a lávový štěrk).



Graf 2: Celkový počet páření dle typu. Vysvětlivky: B – akvárium bez úkrytů, S – akvárium umístěné trvale v místnosti se střídáním dne a noci (akvariijní místnost), T – akvárium umístěné trvale ve tmě (v chronobiologické laboratoři) a Ú – akvárium s úkryty (lávové kameny a lávový štěrk).



Graf 3: Celkový počet páření v jednotlivých akváriích pokusu. Vysvětlivky: B – akvárium bez úkrytů, S – akvárium umístěné trvale v místnosti se střídáním dne a noci (akvariijní místnost), T – akvárium umístěné trvale ve tmě (v chronobiologické laboratoři) a Ú – akvárium s úkryty (lávové kameny a lávový štěrk). Čísla 1 a 2 jsou čísla akvárií v dané variantě.



Graf 4: Počty páření v časovém horizontu. Vysvětlivky: B – akvárium bez úkrytů, S – akvárium umístěné trvale v místnosti se střídáním dne a noci (akvarijní místnost), T – akvárium umístěné trvale ve tmě (v chronobiologické laboratoři) a Ú – akvárium s úkryty (lávové kameny a lávový štěrk).

4.2 Fáze reprodukce

Obrázky 6 až 56 ukazují jednotlivé reprodukční fáze krevetky *Halocaridina rubra*. V podkapitole 4.2.1 je zdokumentován pohlavní dimorfismus, páření a sestup vajíček. Podkapitola 4.2.2 dokumentuje vývoj vajíček a líhnutí larev. V 4.2.3 je zaznamenán larvální vývoj čtyř fází typu zoea a stádium megalopa a v 4.2.4 dvě juvenilní stádia.

4.2.1 Pohlavní dimorfismus, páření a sestup vajíček

Zbarvení je variabilní jak u samců, tak samic, tj. barva není znakem pohlavního dimorfismu. Nicméně samci (obr. 7 a 8) nemají tak robustní dolní část těla jako starší samice. U světle zbarvených samců jsou navíc vidět chámovody. Na samicích (obr. 9, 10) jsou poměrně jasně vidět vyvíjející se vajíčka v ováriích. Starší samice mají robustnější spodní část těla (z důvodů nošení vajíček). V období před pářením jsou vajíčka ve vaječnicích obzvláště dobře viditelná.



Obr. 7 a 8: Dospělí samci havajské krevetky (*Halocaridina rubra*)



Obr. 9 a 10: Dospělé samice havajské krevetky (*Halocaridina rubra*)

Pokud byla vajíčka ve vaječnicích dostatečně vyvinuta, následuje proces svlékání (obr. 11 a 12). Pro krevetku je to poměrně náročný proces. Před svlékáním krevetka nepřijímá potravu a do svlékacího procesu tedy vstupuje s prázdnou trávicí soustavou. Krevetka nejprve uvolní hlavu z krunýře, pak nohy a následně i celé tělo prudkým trhnutím. Po tomto trhnutí *Halocaridina rubra* dle pozorování visí ještě několik vteřin za tykadla a snaží se vysvobodit. Po tom co se jí to po několika dalších trhnutí povede, přistane na nejbližším předmětu a odpočívá. Při odpočinku má končetiny nasměrované směrem k hlavě a pokouší se je rozhýbat. V tomto období se krunýř svlečeného jedince jeví jako „sametový“, podle toho je také možné rozpoznat svlečeného jedince od ostatních.



Obr. 11, 12: Svlékání havajské krevetky (*Halocaridina rubra*)

Pozoroval jsem, jak samec, který procházel kolem svlečky, přibližně 2 minuty po svlékání samice, zaznamenal feromony receptivní samice. Jedenkrát ve volné vodě zakroužil nad svlečkou a přímo zamířil za přibližně 10 cm vzdálenou samici. Samice v této chvíli stále ještě odpočívala. Jakmile samice zjistila přítomnost samce tykadly, udělala okamžitý přemet. Samec tento přemet následoval a na zlomek vteřiny se samice dotkl. V této chvíli jí předal spermatofor. Na samici dále doráželi i ostatní samci. Samci po zachycení feromonů receptivní samice proplouvají akváriem a hledají ji. Samice se již však pokaždé dokázala samcům včas vyhnout a nenechala je, aby se přiblížili. Pářící akt s obdobným průběhem byl pozorován ještě dvakrát. Na obrázcích 13, 14 a 15 je vyfotografovaná samice se spermatofory.



Obr. 13: Samice *Halocaridina rubra* se spermatoforem – ventrální pohled (šipka ukazuje na spermatofor)



Obr. 14: Samice *Halocaridina rubra* se spermatoforem (bílé kolečku uprostřed hlavohruďi) – ventrální pohled.



Obr. 15: Samice *Halocaridina rubra* se spermatoforem (laterální pohled)

Samice byla uspána, neboť z důvodu její obezřetnosti již nedocházelo k dalším pářením. Někteří páření chtivý samci na stále receptivní samici reagovali nejdříve se zájmem, ale po vyhodnocení situace, kdy se samice nehýbala, od předání dvojice spermatoforů upustili. Jiní samci situaci vyhodnotili jinak. Nehybnou samici si nastavili tak, aby měli přístup k břišní straně a dvojici spermatoforů na samici nalepili. Pářící akt byl zaznamenán na video záznam. Páření se spící samicí trvalo přibližně 2 až 3 vteřiny, což je déle než při standardním páření.

Receptivní samice, která byla uspána pouze částečně a mohla se tudíž trochu hýbat, byla po přidání do akvária k samcům pářena 3x v průběhu 30 vteřin. První páření proběhlo v 11:40 h a poslední v 16:50 h. V této době již většina samců neproplavávala akváriem a samici nehledala. Zdá se tedy, že páření schopná samice je receptivní přibližně 5 hodin po svlečení. Na obr. 16 je zaznamenána samice, která byla uspána a následně spářena s několika samci. Obrázky 17 až 21 vyobrazují spermatofory odpadnuvší z těla samice po několikanásobném páření.

Jiná samice, u které bylo zaznamenáno páření přibližně v 18:00 h, neměla v 0:30 h ještě sestoupená vajíčka. V ranních hodinách byla již vajíčka sestoupená.

Samici se spermatoforem, která byla přemístěna do samostatné menší nádoby, vajíčka pravděpodobně vlivem stresu nesestoupila. Samici, která byla několikanásobně pářena pod vlivem eugenolu (po uspání) a fotografována pod mikroskopem, vajíčka sice sestoupila, ale všechna poztrácela během několika málo hodin. Samice se po těchto procesech nemohla zcela postavit. Nicméně celý postup přežila a po několika dnech se chovala standardně.

Sestup vajíček ve dne byl zaznamenán na video záznam. Samice měla celkem 25 vajíček a ty sestupovaly na pleopody déle jak 20 minut. Při sestupu vajíček je samice mírně ohnutá a v krátkých nepravidelných intervalech se ohýbá a tlačí tak na vajíčka v hlavohrudí. Vajíčka byla ukládána na pleopody postupně od hlavohrudí směrem k zadní části těla.

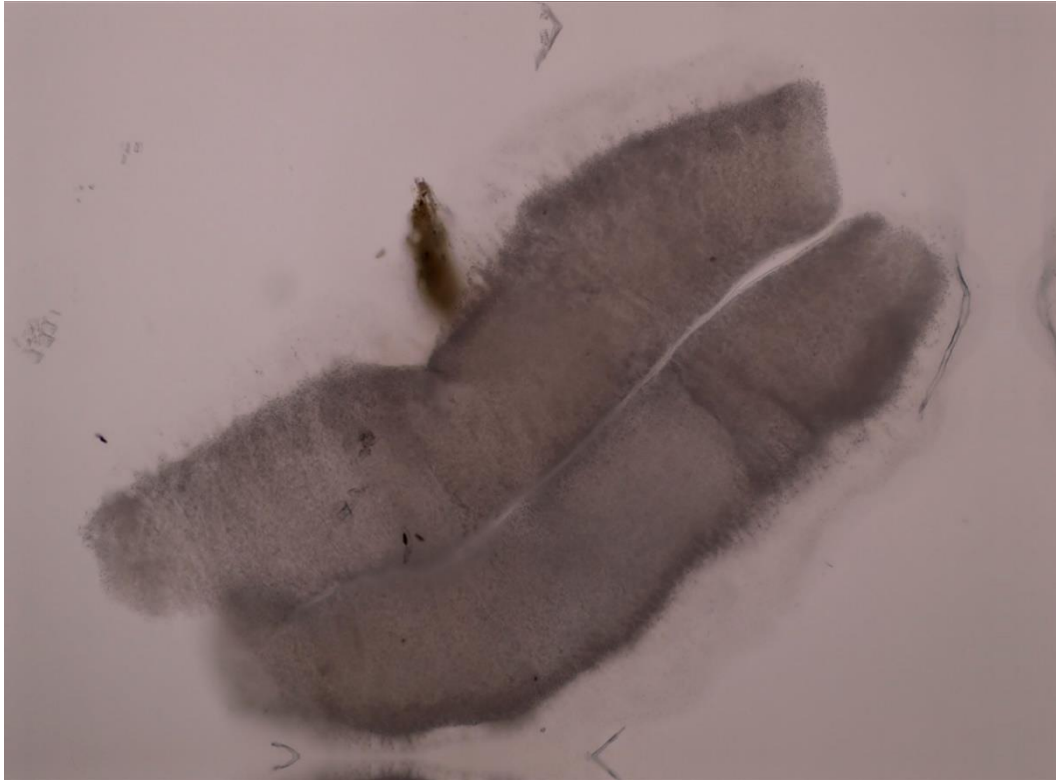
Při druhém pozorování sestupovala vajíčka 1 hodinu a 20 minut a opět jich bylo přibližně 25. Delší doba sestupu byla ovlivněna několika posledními vajíčky, která ze sebe samice nemohla dostat. Plynulý sestup (předchozích) vajíček trval přibližně

30 minut. Jelikož sestup vajíček trval delší dobu (pravděpodobně déle než je běžné) samice několikrát na místě poposkočila, čímž chtěla ze sebe poslední vajíčka dostat. Přesto jí tři vajíčka v těle zůstala.

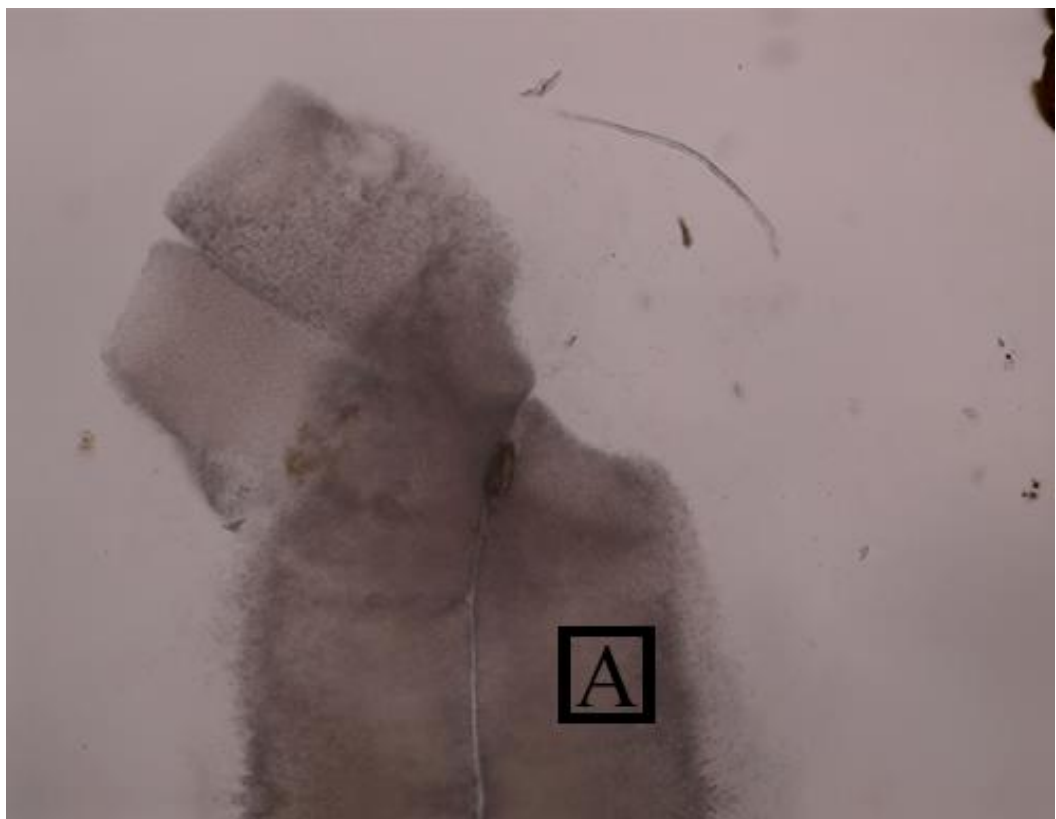
Samice v akváriích se na rozdíl od jedinců v přirozených stanovištích neskrývají a jsou v akváriu běžně pozorovány (obr. 22 - 24). Obrázek 23 ukazuje samici se zatím největším zaznamenaným počtem vajíček (cca 40) v rámci tohoto pozorování.



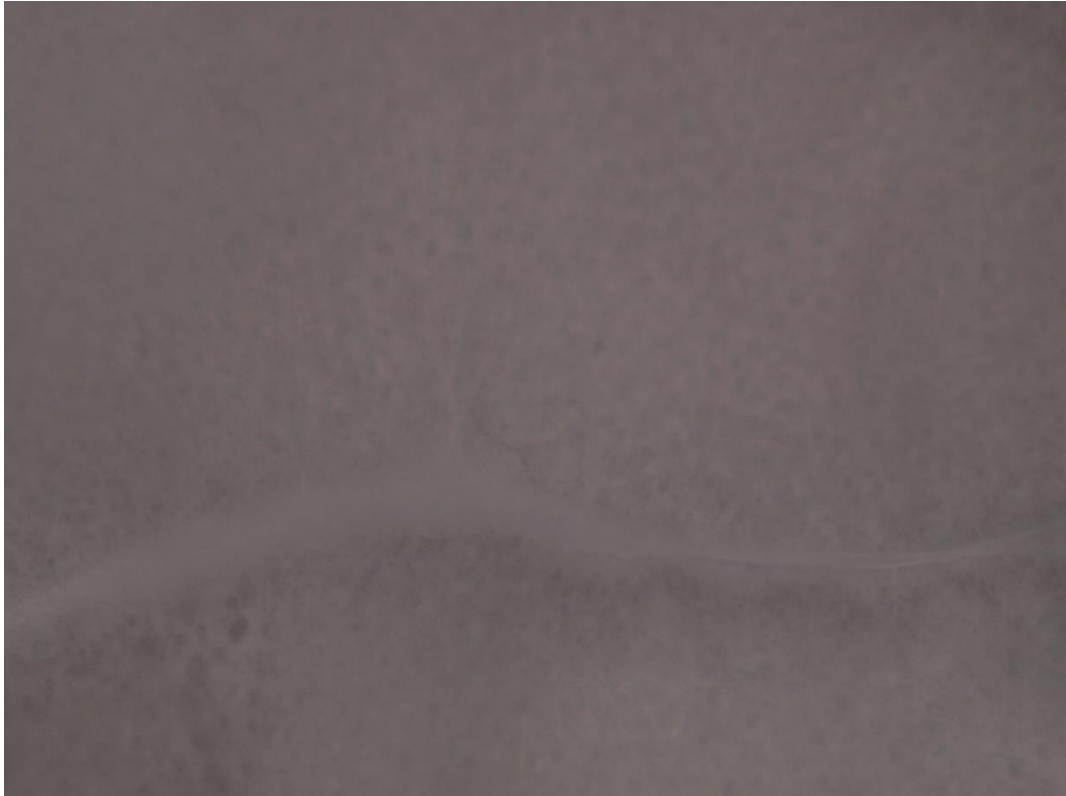
Obr. 16: Detailní záběr spermatoforů na břišní straně samice (laterální pohled, fotografováno při zvětšení 10 x 4)



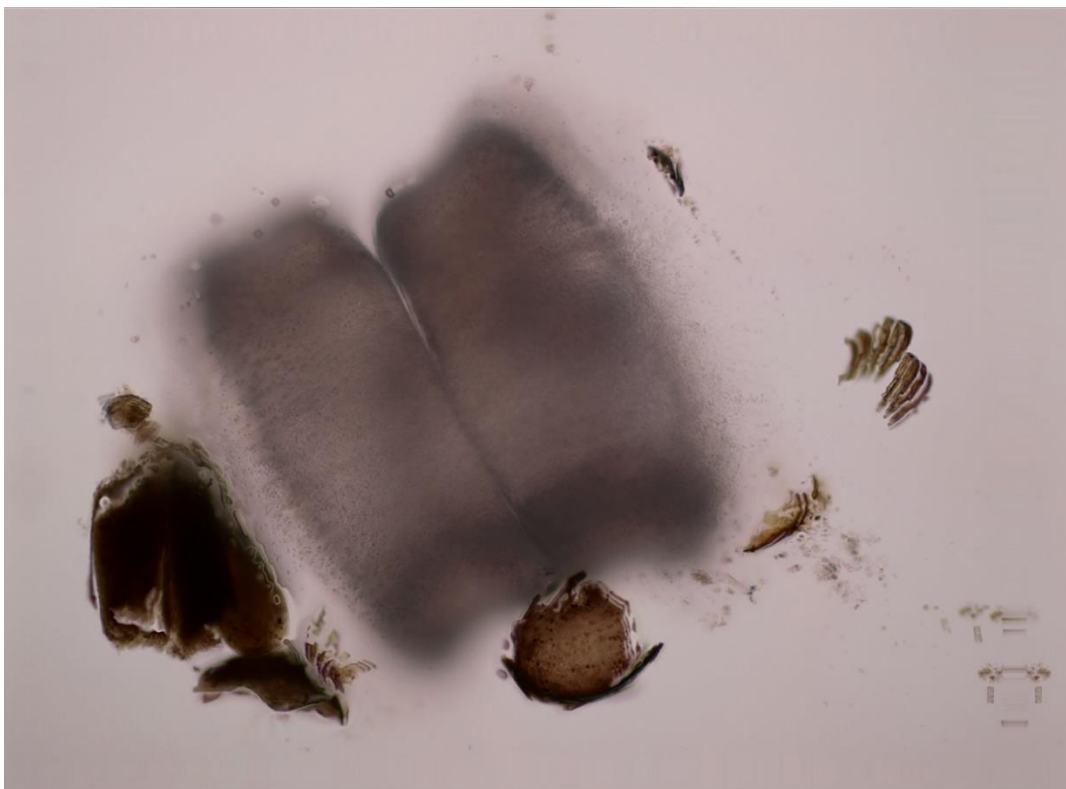
Obr. 17: Dvojice spermatoforů odpadlých od samice po několika pářeních (fotografováno při zvětšení 10 x 10)



Obr. 18: Dvojice spermatoforů odpadlých od samice po několika pářeních (fotografováno při zvětšení 10 x 10). Detail spermatoforu (oblast A) viz obr. 19.



Obr. 19: Bližší detail spermatoforu z označení „A“ v předchozí fotografii (obr. 18) (fotografováno při zvětšení 10 x 40)



Obr. 20: Dvojice spermatoforů po 4 hodinách po odložení. Změny ve struktuře okrajových částí (fotografováno při zvětšení 10 x 10)



Obr. 21: Dvojice spermatoforů po 4 hodinách po odložení. Změny ve struktuře okrajových částí (fotografováno při zvětšení 10 x 10)



Obr. 22: Samice *Halocaridina rubra* s vajíčky



Obr. 23: Samice *Halocaridina rubra* (z populace východní části Havaje) s mimořádně velkým počtem vajíček

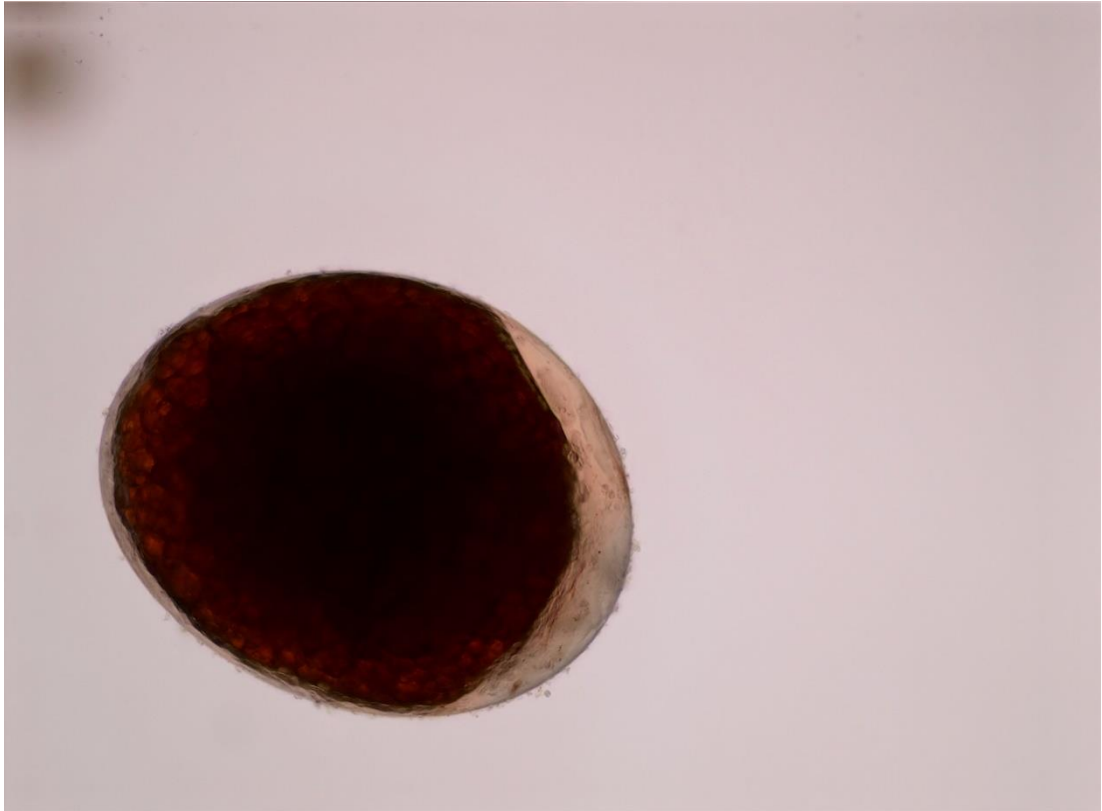


Obr. 24: Plavající samice *Halocaridina rubra* s vajíčky

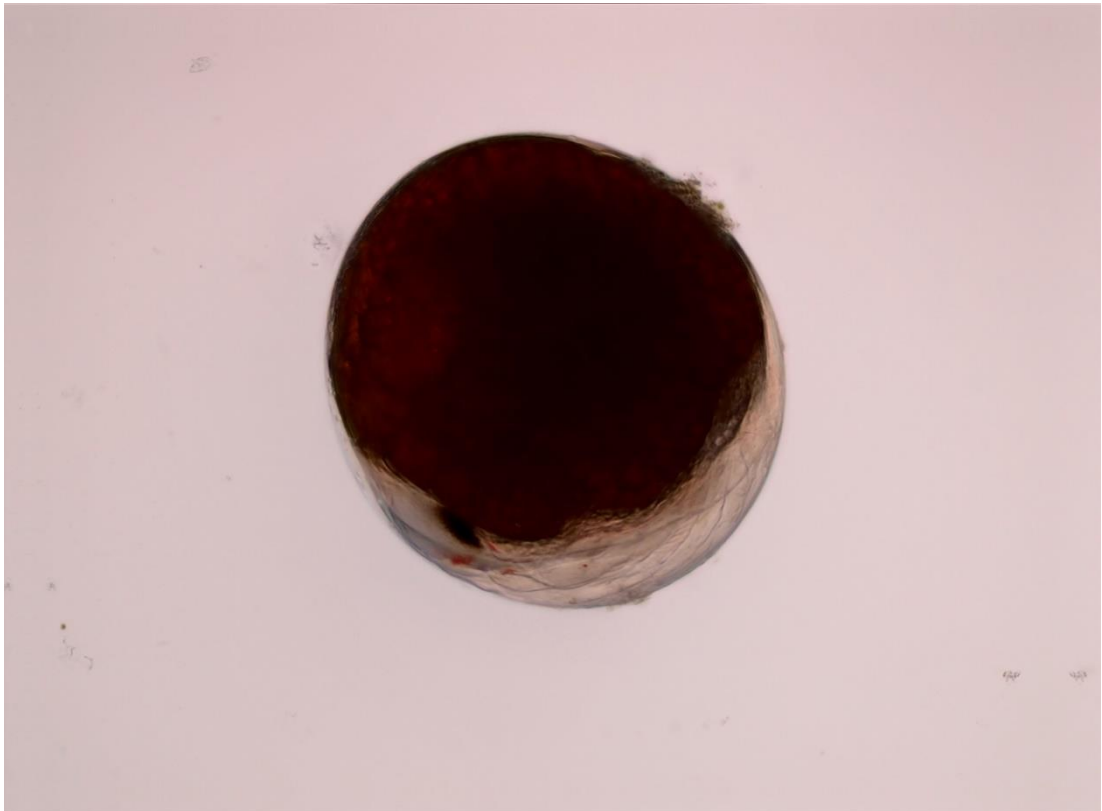
4.2.2 Vývoj vajíček a líhnutí larev

Následující obrázky (obr. 25 - 27) dokumentují vývoj vajíček *Halocaridina rubra*. Na obr. 26 je již dobře patrný oční bod. Na obr. 28 jsou vidět vajíčka v rozpoznatelně pozdější vývojové fázi než na obrázcích 22 - 24. Obr. 29 a 30 zobrazují již dobře viditelné líhnoucí se larvy na pleopodech. Na obr. 31 a 32 jsou zachycena vajíčka těsně před líhnutím larev.

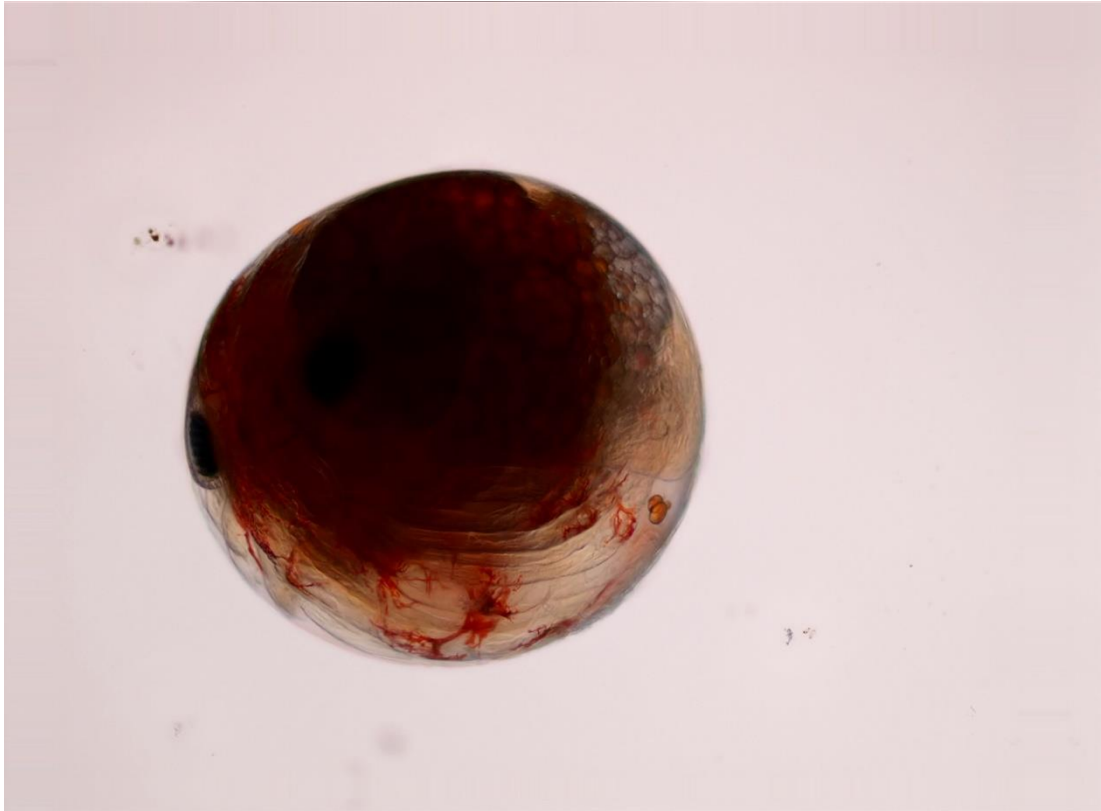
Obr. 33 - 35 znázorňují již vylíhlé larvy. Samice tyto larvy nosí ještě několik hodin na pleopodech. Obr. 36 zachycuje vypadávající larvu ze shluku ostatních larev, které jsou stále drženy na pleopodech. Na obr. 37 je již larva ve sloupci vody, volně se vznášející v typické poloze hlavou dolů.



Obr. 25: Vajíčko *Halocaridina rubra* v rané fázi vývoje (fotografováno při zvětšení 10 x 10)



Obr. 26: Vyvíjející se zárodek ve vajíčku s patrným očním bodem (fotografováno při zvětšení 10 x 10)



Obr. 27: Zárodek *Halocaridina rubra* v pozdější fázi vývoje (fotografováno při zvětšení 10 x 10)



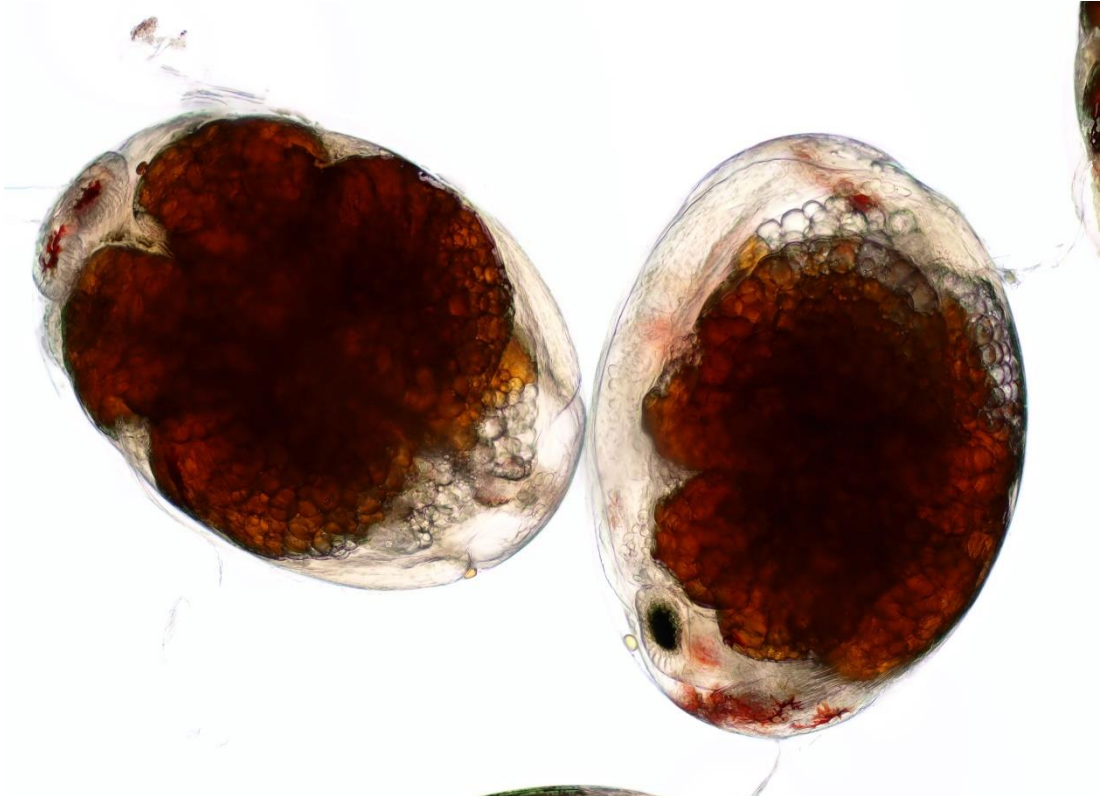
Obr. 28: Samice *Halocaridina rubra* s vajíčky v pozdější fázi vývoje



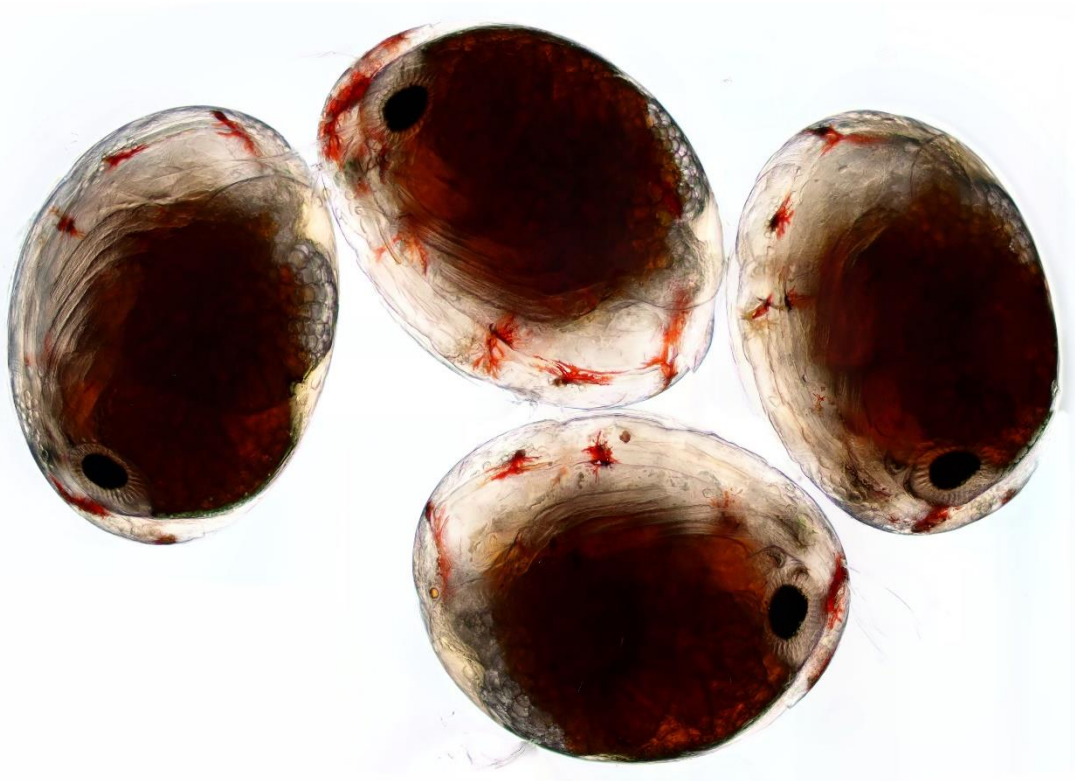
Obr. 29: Samice *Halocaridina rubra* s líhnoucími se larvami



Obr. 30: Samice *Halocaridina rubra* s líhnoucími se larvami. Na obr. 36 a 37 jsou zachycena vajíčka těsně před líhnutím larev.



Obr. 31: Vajíčka *Halocaridina rubra* pár minut před líhnutím (fotografováno při zvětšení 10 x 10)



Obr. 32: Vajíčka *Halocaridina rubra* pár minut před líhnutím (fotografováno při zvětšení 10 x 10)



Obr. 33: Samice *Halocaridina rubra* s již vylíhlými larvami



Obr. 34: Samice *Halocaridina rubra* s již vylíhlými larvami



Obr. 35: Samice *Halocaridina rubra* (dole) s již vylíhlými „plandajícími“ larvami. Nahoře samec.



Obr. 36: Právě vypadávající larva *Halocaridina rubra*



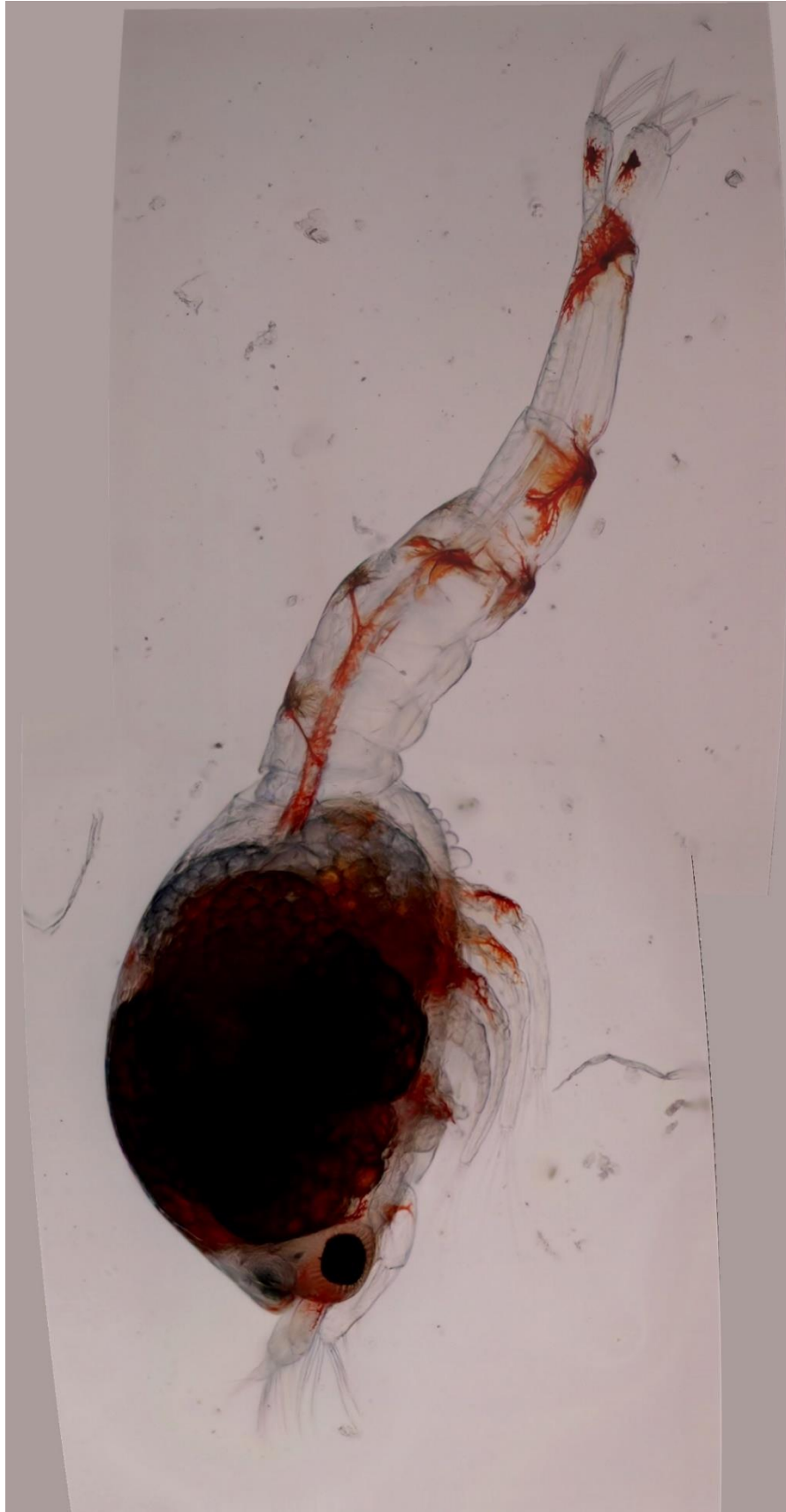
Obr. 37: Larva *Halocaridina rubra* vznášející se ve vodním sloupci

4.2.3 Larvální stádia

Obrázky 38 až 51 znázorňují vývoj jedinců od prvního larválního stádia až po druhé juvenilní stádium. Zoea 1. stupně (obr. 38 a 39): Žloutek je velký a vyplňuje celou hlavohruď. Antenula je ještě nesegmentovaná s náznakem zdvojení. Uropod při telsonu ještě není vyvinutý. Pleopody nejsou vyvinuty. Pupeny pereiopodů jsou směrem k zádi menší. U zoea 2. stupně (obr. 40 a 41) je žloutek velký a vyplňuje celou hlavohruď. Antenula je již segmentovaná a zdvojená. Uropod při telsonu není vyvinutý. Je vyvinuto pět pupenů pleopodů. Pereiopody se zvětšují. Zoea 3. stupně (obr. 42 a 43) má žloutek stále velký. Antenula je segmentovaná a zdvojená a uropod je vyvinutý. Pupeny pleopodů a pereiopody se zvětšují. Zoea 4. stupně (obr. 44 a 45) má žloutek stále velký. Antenula je segmentovaná a zdvojená, zdvojení jsou segmentovaná. Uropod při telsonu je vyvinutý a zvětšený. Pleopody začínají tvořit dvojité segmenty. Pereiopody se zvětšují. Stádium megalopa (obr. 46 a 47) má žloutek znatelně menší oproti předchozím stádiím. Antenula je segmentovaná a zdvojená, zdvojení jsou segmentovaná a zvětšená. Antena je větší než antenula. Pleopody jsou již dobře vyvinuty. Pereiopody jsou již poměrně dobře vyvinuty.



Obr. 38: Zoea 1. stupně *Halocaridina rubra*, stáří jedince: 1 den (dorzální pohled, fotografováno při zvětšení 10 x 10)



Obr. 39: Zoea 1. stupně *Halocaridina rubra*, stáří jedince: 1 den (laterální pohled, fotografováno při zvětšení 10 x 10)



Obr. 40: Zoea 2. stupně *Halocaridina rubra*, stáří jedince: 6 dní (dorzální pohled, fotografováno při zvětšení 10 x 10)



Obr. 41: Zoea 2. stupně *Halocaridina rubra*, stáří jedince: 6 dní (laterální pohled, fotografováno při zvětšení 10 x 10)



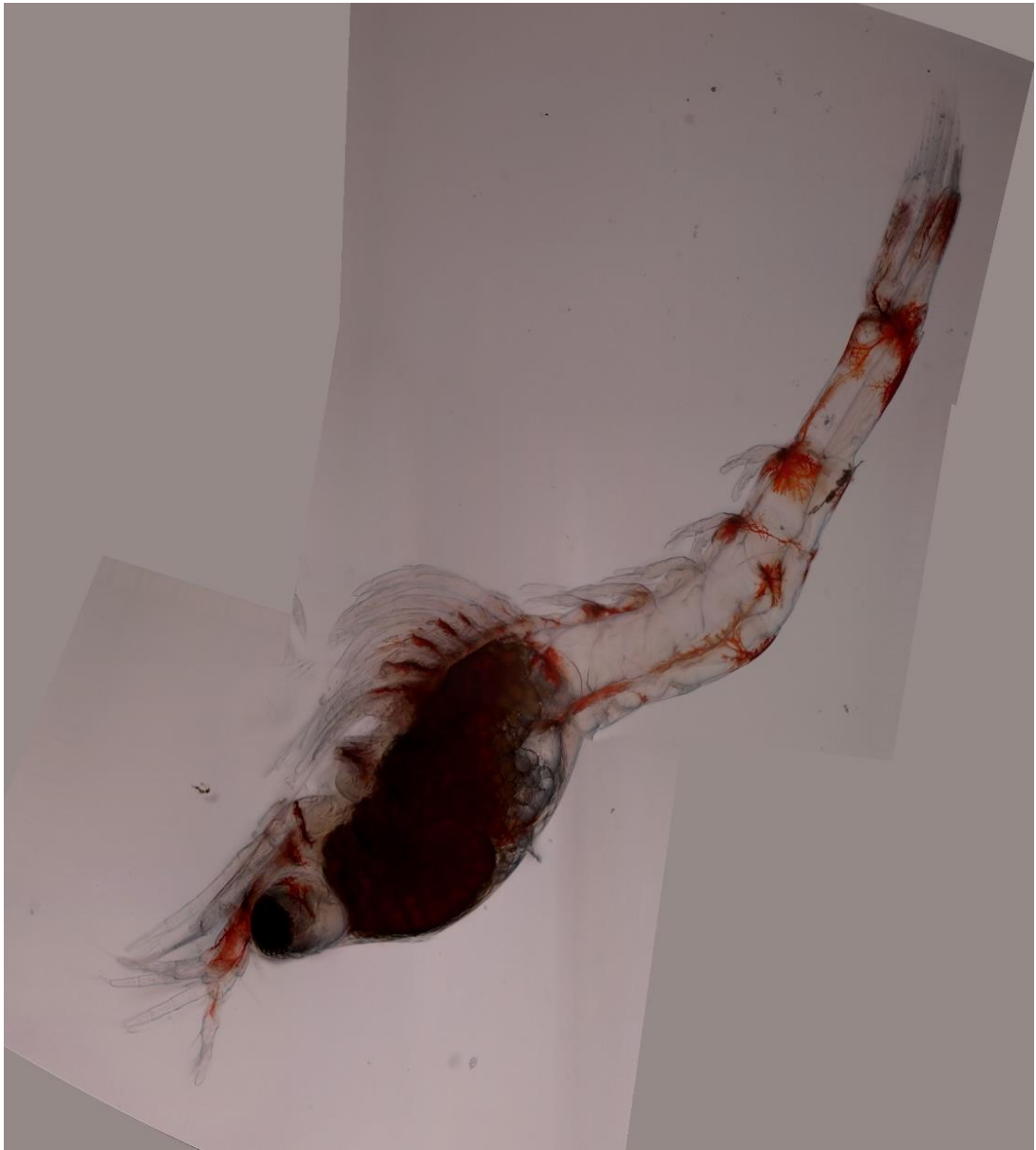
Obr. 42: Zoea 3. stupně *Halocaridina rubra*, stáří jedince: 10 dní (dorzální pohled, fotografováno při zvětšení 10 x 10)



Obr. 43: Zoea 3. stupně *Halocaridina rubra*, stáří jedince: 10 dní (laterální pohled, fotografováno při zvětšení 10 x 10)



Obr. 44: Zoea 4. stupně *Halocaridina rubra*, stáří jedince: 16 dní (dorzální pohled, fotografováno při zvětšení 10 x 10)



Obr. 45: Zoea 4. stupně *Halocaridina rubra*, stáří jedince: 16 dní (laterální pohled, fotografováno při zvětšení 10 x 10)



Obr. 46: Stádium megalopa *Halocaridina rubra*, stáří jedince: 21 dní (dorzální pohled, fotografováno při zvětšení 10 x 10)



Obr. 47: Stádium megalopa *Halocaridina rubra*, stáří jedince: 21 dní (laterální pohled, fotografováno při zvětšení 10 x 10)

4.2.4 Juvenilní stádia

Juvenil 1. stupně (obr. 48 a 49) má žloutek znatelně menší oproti předchozím stádiím. Antenula segmentovaná a zdvojená, zdvojení jsou segmentovaná a zvětšená. Antena je větší než antenula a výrazně zvětšená. Pleopody jsou již dobře vyvinuty. Pereiopody jsou již vyvinuty. Žloutek juvenila 2. stupně (obr. 50 a 51) je znatelně menší oproti předchozím stádiím, přítomen převážně při hlavové části. Antenula segmentovaná a zdvojená, zdvojení jsou segmentovaná a zvětšená. Antena je větší než antenula a výrazně zvětšená. Pleopody jsou vyvinuty. Pereiopody jsou již vyvinuty. Krevetky dospívají ve věku přibližně šesti měsíců.



Obr. 48: Juvenil 1. stupně *Halocaridina rubra*, stáří jedince: 32 dní (dorzální pohled, fotografováno při zvětšení 10 x 4)



Obr. 49: Juvenil 1. stupně *Halocaridina rubra*, stáří jedince: 32 dní (laterální pohled, fotografováno při zvětšení 10 x 4)



Obr. 50: Juvenil 2. stupně *Halocaridina rubra*, stáří jedince: 35 dní (dorzální pohled, fotografováno při zvětšení 10 x 4)



Obr. 51: Juvenil 2. stupně *Halocaridina rubra*, stáří jedince: 35 dní (laterální pohled, fotografováno při zvětšení 10 x 4)

4.3 Doporučení pro chov

Doporučení pro chov vyplývající z dvouroční zkušenosti s chovem a odchovem krevetky *Halocaridina rubra*:

Voda: brakická, přidáno přibližně 15 g l⁻¹ kvalitní mořské reefové soli, odpařovaná voda nahrazovaná destilovanou či vodovodní, výměna 50 % vody jednou za půl roku až rok

Teplota: pokojová, ideální okolo 24 °C

Osvětlení: 12 hodin denně

Filtrace: žádná, případně jen mírná

Substrát: ideální lávové kameny (sloužící i jako úkryty)

Krmení: minimální až žádné, případně krmiva zakládající se na rostlinném základě, dále živé nauplie artemie apod.

Podmínky pro odchov se od chovu v základě neliší. Obr. 52 zobrazuje fungující akvárium s krevetkami ve všech fázích vývoje.



Obr. 52: Akvárium – stabilní podmínky pro chov (odchov) krevetky havajské

5. DISKUZE

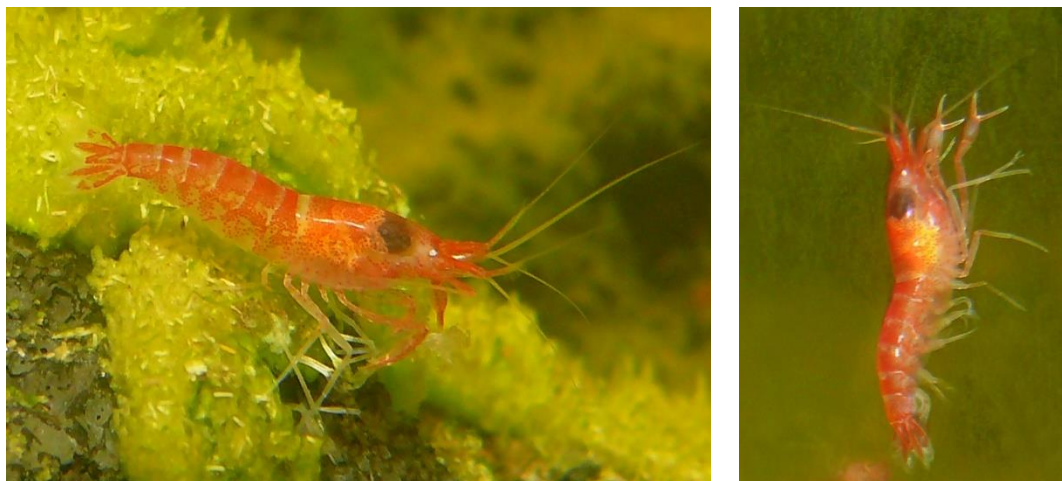
Tato práce jako první uceleně popisuje rozmnožování krevetky *Halocaridina rubra*. Samotný akt páření byl pozorován poprvé, stejně tak i zaznamenání spermatoforu a průběhu sestupu vajíček nebylo dříve pozorováno. Jedním z přínosů práce je i nastínění metody umělého uspávání krevet eugenolem. O tuto metodu projeví zájem i na univerzitě v Auburnu (Alabama), kde pracuje skupina vedená významným profesorem Scottem R. Santosem, který se zabývá havajskými krevetkami.

5.1 Úkryty a chronobiologické faktory reprodukce

Výsledky pokusu v akváriích bez úkrytů zpochybňují úvahy o tom, že krevetky potřebují k rozmnožování úkryty. Dále i pozorovaná páření vyloučila přímá páření pod kameny. Z jakých příčin tyto úvahy vznikly (např. od Couret a Wong, 1978; Bailey-Brock a Brock, 1993; Iwai Jr., 2005) není známo. Je ale možné, že páření v přírodě probíhají zejména v jeskynních systémech, dle možného předpokladu, že si krevetky vyhledávají pro svlékání bezpečné prostředí v podzemí.

Jak ukazují výsledky mého pokusu, světelné podmínky nemají na rozmnožování přímý vliv. To naznačuje, že mohou existovat i kolonie, které nemají ve svém podzemním systému přístup k hladině (ke světlu) – k příbřežním jezírkům, kde je dostatek potravy. To by mohl být důvod extrémní dlouhověkosti těchto krevet ve srovnání s jinými malými krevetami. V systémech bez příbřežních jezírek nemusí mít krevetky dostatek výživné potravy a jejich dlouhověkost by mohla souviset se schopností přežívat dlouhou dobu bez potravy. Otázkou zůstává, co se přesně děje se samicemi s vajíčky a larvami v přírodě. Lze se domnívat, že krevetky *Halocaridina rubra* vyvíjí svoji životní strategii s cílem minimalizovat vliv predátorů. Jak již bylo popsáno v rešerši, krevetky *Halocaridina rubra* jsou rozděleny do několika linií, které se mezi sebou nemísí. Lze se tedy přiklonit k názoru, že larvy nemigrují do moře. Pravděpodobně odlišnou strategii má kreveta *Metabetaeus lohena* (obr. 53 až 56) vyskytující se ve stejném prostředí jako *H. rubra*. U tohoto druhu jsou v přímořských jezírkách samice s vajíčky vidět, larvy ale nikoliv (Vaught, 2015, osobní sdělení). Jedinci tohoto druhu tvoří genetické linie a larvy jsou krmivé. U tohoto druhu lze tedy předpokládat, že larvy migrují do moře. Je možné, že *Halocaridina rubra*, a to zejména samice připravené se reprodukovat, migrují od moře, aby zamezily zanesení larev podzemními proudy do moře. Či jak uvádí Havird a kol. 2015: samice s vajíčky se drží

v podzemí, aby zamezily larvám dostat se k hladině s pro larvy méně příznivou nižší salinitou vody. Pak by osidlování nových míst bylo spíše náhodné. Přítomnost odlišných genetických linií tento fakt potvrzuje. Odlišnosti v rozmnožování mezi jednotlivými liniemi není známa.



Obr. 53 a 54: *Metabetaeus lohena* - pravděpodobně první jedinci tohoto druhu v ČR



Obr. 55: *Metabetaeus lohena* ve společném chovu s *Halocaridina rubra*



Obr. 56: Samice *Metabetaeus lohena* s vajíčky

5.2 Úspěšnost reprodukce

Do pokusu bylo celkem nasazeno 80 samic a 128 samců (poměr 10:16 na akvárium). Důvodem tohoto početního rozložení byl nedostatek většího počtu vhodných samic a usouzení, že 16 samců v akváriu je dostatečný počet k úspěšným páření. Během tří měsíců se spářila polovina samic, což se dá považovat za velký úspěch. Tento výsledek byl pravděpodobně ovlivněn správným odhadem při výběru samic schopných reprodukce ve věku zhruba 10 měsíců. V kolika měsících jsou krevetky pohlavně zralé nelze v literatuře dohledat. Dle mých zkušeností z chovu krevetky dospívají ve věku přibližně 6 měsíců. Dospívání však bude záviset na různých faktorech (jako je teplota vody, potrava, apod.). Není ojedinělé, že se krevetky prvně páří až po více jak roce svého života. Doposud však není jasné, co přesně způsobuje rozdíly v úspěšnosti chovů.

Jako základ úspěšnosti mohou být tyto faktory: kvalitní sůl (mořská reefová) v základním množství přibližně 15 g l⁻¹. Jelikož nebyla po celou dobu pokusu (ani po jeho skončení) dolévána voda (a voda z nádrží se neustále postupně odpařovala) lze se domnívat, že počet páření nezávisí na salinitě vody minimálně v rozmezí 15 až 40 ‰.

Osvětlení, které umožní růst řas, případně ojedinělé kvalitní různorodé krmení.

Klidné prostředí - krevetky by neměly být stresovány ať už jakýmkoliv faktory (např. přílišnou aktivní péčí – čištění, výměny vody, překrmování apod.). Krevetky dokáží přežít i v extrémních podmínkách a je tedy pravděpodobně lepší se o ně příliš nestarat a nechat zaběhlé (stabilizované) akvárium svému procesu.

Například v mém chovu, akvárium o obsahu 50 litrů, osvětlované přibližně 12 hodin denně, v kterém bylo na počátku přibližně 40 krevetek, nebylo celý rok filtrováno ani čištěno. Krevetky nepřijímaly zhruba půl roku krmivo. Podávané krmivo bylo přijímáno až po nedostatku přirozené potravy v akváriu. Odpařovaná voda byla nahrazována vodou vodovodní nebo destilovanou (po odparu asi 10 l). Po roce krevetky zhruba zdesetinásobily svůj počet. Ačkoliv nehrají úkryty při rozmnožování roli, mohou být velmi přínosné, mladé i dospělé krevetky se rády ukrývají.

Pravděpodobně chov v nově zařízených akváriích způsoboval velmi časté ztráty na snůškách v pokusu ověřování chronobiologického faktoru a vlivu úkrytů. Samice ztrácely velká množství vajíček a mnohdy ztratily úplně všechny, aniž by byly nějak vyrušovány nebo jinak stresovány. V průběhu pokusu se „ztrácely“ (nebylo možno nalézt) i larvy z neznámých příčin. Zejména v akváriích držných v naprosté tmě „mizely“ larvy jeden den po tom, co přešly do planktonní fáze. Z velkého potenciálu chovných akvárií tak bylo odchováno jen velmi málo jedinců. Tyto ztráty ustaly zhruba po třech měsících. Ve čtvrtém měsíci tohoto chovu larvy „nemizely“ a samice již poměrně zdařile odchovávaly vajíčka. U odchovu vajíček samicemi je možné, že zdařilý odchov vajíček, zde závisí spíše na době strávené samicemi v dané vodě než doba od uplynutí založení nádrže. Tento výsledek naznačuje porovnání se soukromou nádrží, která byla založena několik měsíců dopředu, a přesto samice v prvních třech měsících ztrácely velká množství vajíček.

Samici, se kterou bylo náročně a nevhodně zacházeno pod vlivem eugenolu za účelem neúspěšného pokusu o odebrání spermatoforu z těla, vajíčka sestoupila, zatímco samici se spermatoforem, která byla odebrána do malé nádoby, vajíčka nesestoupila.

Ačkoliv samice následně vajíčka poztrácela, zřejmě vinou poškození těla (samice se nemohla zcela postavit), svědčí tato dvě odlišná chování o tom, že vliv eugenolu nestresuje krevetky či, že krátkodobý stres nemá vliv na sestup vajíček – na rozdíl od dlouhodobého stresu. Mimořádně velké množství sestoupených vajíček (odhadováno okolo 40) vyfotografovaných na obr. 25 může být vůbec největší množství vajíček, které bylo u tohoto druhu zaznamenáno. Např. Iwai Jr. (2005) pozoroval průměrnou plodnost $12,7 \pm 4,1$, přičemž nejméně bylo pozorováno 5 vajíček na samici a nejvíce 21 vajíček.

5.3 Dokumentace larválních stádií a juvenilů

Larválním a juvenilním vývojem *Halocaridina rubra* se zabývali již Couret a Wong (1978), avšak detailní fotografie larev doposud chyběly. Jak bylo uvedeno na začátku diskuze, tato práce tak přináší ucelenou detailní dokumentaci všech stádií včetně jejich zbarvení a tělních struktur. Některé fotografie byly složeny i z více jak 60 jednotlivých fotografií a jejich skutečná velikost je i větší jak 1 m (na delší straně).

Bohužel se ale fotografování larválních stádií neobešlo bez komplikací. U některých opakovaně focených larev byla zjištěna deformace. U deformovaných jedinců se jednalo většinou o malou deformaci ostnů na telsonu (obr. 57) či antenuálním scaphoceritu, ojediněle o větší deformaci (obr. 58 a 59). Příčina těchto deformací nebyla zjištěna. Pravděpodobně mohlo dojít k problémům během fotografování, při kterém byly uspané larvy běžně i hodinu mimo nádrž s vodou. Mohlo se také jednat o nesprávně nastavené blíže neurčené podmínky, které s fotografováním nemusely souviset. Většina opakovaně focených larev žádnou deformaci netrpěla. Každopádně i larvy méně či více takto deformované nadále přežívaly.



Obr. 57: Deformace ostnů na telsonu larvy (fotografováno při zvětšení 10 x 10)



Obr. 58: Deformovaná larva při svleku (fotografováno při zvětšení 10 x 10)



Obr. 59: Závažně deformovaná larva (fotografováno při zvětšení 10 x 10)

5.4 *Halocaridina rubra* – perspektivní druh

Je možné předpokládat, že se díky svým nárokům a zbarvení stane tato krevetka populární i v Evropě. Prozatím je tato krevetka distribuována především z chovů na Havaji (obr. 60) a i z chovů M. Ucozlera (taktéž USA), který uvádí, že je jediným prodejcem *Halocaridina rubra* z vlastních akvarijských odchovů v komerčním měřítku. Celkově lze říci, že tyto krevetky se stávají, či se již staly, oblíbeným artiklem s přízviskem made in Hawaii. Vzhledem k velkému pokroku v oblasti výzkumu a zjištění velmi zajímavých skutečností o tomto druhu se dá předpokládat i zvyšující se zájem vědeckých pracovníků o tento druh.



Obr. 60: Chovné jezírko na Havaji (Dolena, 2014).

V chovu se ojediněle objevují i jedinci se zelenými vajíčky viz obr. 61. Důvody tohoto zbarvení nejsou ani po konzultaci s R.C. Vaught (2015) známy. Může se jednat o vliv prostředí či o novou barevnou mutaci (white supershrimp - jako u chovatele Mustafa Ucozler (<http://www.petshrimp.com/>, 2013). Ustálení mutace yellow supershrimp v chovu u Mustafa Ucozler by mohlo být prodejně velmi perspektivní.



Obr. 61: Samice *Halocaridina rubra* se zelenými vajíčky.

6. ZÁVĚR

1. Byly zkorigovány zastaralé informace a zdokumentovány nové poznatky o rozmnožování *Halocaridina rubra*.
2. Pro rozmnožování *Halocaridina rubra* nejsou významné světelné podmínky (střídání dne a noci, trvalá tma).
3. *Halocaridina rubra* nevyžaduje k rozmnožování ani úkryty.
4. Byla vypracována doporučení pro chov.
5. Uspávání krevet pomocí eugenolu je vhodná pomocná metoda při mikroskopování a následném focení larev, juvenilů i adultních jedinců. Dále i jako možnost usnadnění páření pro samce.

7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

Anchialine fact sheet (2010): Anchialine Pool Shrimp of Hawaii. *Halocaridina rubra*. Dostupné z <http://www.auburn.edu/>, verze (3/2010).

Bailey-Brock, J.H, Brock, R.E. (1993): Feeding, Reproduction, and Sense Organs of the Hawaiian Anchialine Shrimp *Halocaridina rubra* (Atyidae), *Pacific Science*, 47 (4), 338 - 355.

BioLib – Biological Library (2014): Profil taxonu. *Halocaridina rubra*. Dostupné z <http://www.biolib.cz/>, verze (12/2014).

Capps, K.A., Turner, C.B., Booth, M.T., Lombardozzi, D.L., McArt, S.H., Chai, D., Hairston Jr., N.G. (2009): Behavioral Responses of the Endemic Shrimp *Halocaridina rubra* (Malacostraca: Atyidae) to an Introduced Fish, *Gambusia affinis* (Actinopterygii: Poeciliidae) and Implications for the Trophic Structure of Hawaiian Anchialine Ponds, *Pacific Science*, 63(1), 27-38.

Carey, C.C., Ching, M.P., Collins, M.S., Early, A.M., Fetzer, W.W., Chai, D., Hairston Jr., N.G. (2010): Predator-dependent diel migration by *Halocaridina rubra* shrimp (Malacostraca: Atyidae) in Hawaiian anchialine pools, Springer Science + Business Media B.V., online

Couret, C.L., Wong, D.C.L. (1978): Larval development of *Halocaridina rubra* Holthuis (Decapoda, Atyidae), *Crustaceana*, 34 (3), 301–309.

Dolena, S.M. (2014): Fotografie, chovné jezírko.

Dvořák, J. (2007): Akvarijsní krevetky. *Neocaridina denticulata*. Dostupné z <http://www.akvakrevetky.wz.cz/>, verze (12/2007).

Dvořák, J. (2010): Akvarijsní krevetky. *Halocaridina rubra*. Dostupné z <http://www.akvakrevetky.wz.cz/>, verze (12/2010).

Fukumoto, D.W. (2011): Micro-lobster. The amazing hawaiian micro-lobster. Dostupné z <http://www.fukubonsai.com/>, verze (2011).

Gon III, S.M. (2012): Hawaiian High Islands Ecoregion. Anchialine Pools. Dostupné z <http://www.hawaiiecoregionplan.info/>, verze (8/2012).

Google (2014): Obrázky. *Halocaridina rubra* eggs. Dostupné z <https://www.google.com/>, verze (12/2014).

Havird, J.C., Santos, S.R., Henry, R.P. (2014): Osmoregulation in the Hawaiian anchialine shrimp *Halocaridina rubra* (Crustacea: Atyidae): expression of ion transporters, mitochondria-rich cell proliferation and hemolymph osmolality during salinity transfers, The Company of Biologists Ltd | The Journal of Experimental Biology, 217, 2309-2320.

Havird, J.C., Vaught, R.C., Weeks, J.R., Fujita, H., Hidaka M., Santos, S.R., Henry, R.P. (2014): Taking their breath away: Metabolic responses to low-oxygen levels in anchialine shrimps (Crustacea: Atyidae and Alpheidae), Comparative Biochemistry and Physiology, Part A, 178, 109–120

Havird, J.C., Vaught, R.C., Weese, D.A., Santos, S.R., (2015): Reproduction and Development in *Halocaridina rubra* Holthuis, 1963 (Crustacea: Atyidae) Clarifies Larval Ecology in the Hawaiian Anchialine Ecosystem, The Biological Bulletin, 229, 134-142.

Holthuis, L.B. (1963): On red coloured shrimps (Decapoda, Caridea) from tropical land-locked saltwater pools. *Zoologische mededelingen*, (16): 261 - 279.

Holthuis, L.B. (1973): Caridean shrimps found in land-locked saltwater pools at four indo-west pacific localities (Sinai peninsula, Funafuti atoll, Maui and Hawaii islands), with the description of one new genus and four new species, *Zoologische verhandelingen*, (128), 1 - 48.

ITIS - Integrated Taxonomic Information System (2014): Report. *Halocaridina rubra*. Dostupné z <http://www.itis.gov/>, verze (12/2014).

Ivey, J.L., Santos S.R. (2007): The complete mitochondrial genome of the Hawaiian anchialine shrimp *Halocaridina rubra* Holthuis, 1963 (Crustacea: Decapoda: Atyidae), *Gene*, 394, 35 – 44.

Iwai Jr., T.Y. (2005): Captive breeding of the endemic Hawaiian red shrimp, *Halocaridina rubra*, Part I: Reproduction, larval development, and first feeding. Division of Aquatic Resources, Hawaii Department of Land and Natural Resources, Honolulu, Hawaii, USA.

Jelínek, J. (2011): Atlas. *Halocaridina rubra*. Dostupné z <http://www.akvarista.cz/>, verze (4/2011).

Klotz, W., Miesen, W.F., Hüllen, S., Herder, F. (2013): Two Asian fresh water shrimp species found in a thermally polluted stream system in North Rhine-Westphalia, Germany, *Aquatic Invasions* 8 (3), 333–339

Libus, J. (2011): Atlas. *Neocaridina heteropoda*. Dostupné z <http://www.akvarista.cz/>, verze (6/2011).

Libus, J. (2011): Druh. *Neocaridina heteropoda*. Dostupné z <http://www.krevetkus.cz/>, verze (12/2011).

Linhoff, L.J. (2007): Analysis of *Halocaridina rubra* in an endogenously controlled closed ecosystem, Undergraduate Fellowship Reports, str. 45 – 50. Hawai'i Space Grant Consortium, Honolulu.

NASA (2013): Autonomous Biological System. ISS Science. Dostupné z <http://www.nasa.gov/>, verze (4/2013).

Paragon (2001): Paragon Space Development Corp. Biosphere Experiment on ISS, tisková zpráva. Dostupné z <http://www.prweb.com/>, verze (3, 2001).

Patoka, J., (2010): Krevety sladkovodní. nakl. Robimaus, Rudná u Prahy, 69 s.

Planetinverts (2007): Shrimp species. *Neocaridina heteropoda*. Dostupné z <http://www.planetinverts.com/>, verze (2013).

Protect Kaho'olawe 'Ohana (2013): Kaho'olawe. History. Dostupné z <http://www.protectkahoolaweohana.org/>, verze (2013).

Santos, S.R., Craft, J.D., Russ, A.D., Yamamoto, M.N., Iwai Jr., T.Y., Hau, S., Kahiapo, J., Chong, Ch.T., Ziegler-Chong, S., Muir, C., Fujita, Y., Polhemus, D.A., Kinzie III, R.A. (2008): Islands under islands: The phylogeography and evolution of *Halocaridina rubra* Holthuis, 1963 (Crustacean: Decapoda: Atyidae) in the Hawaiian archipelago, *Limnology and Oceanography*, 53(2), 675–689.

ScienceViews (2010): Islands. Wai'anapanapa State Park. Dostupné z <http://www.scienceviews.com/>, verze (2010).

TenBruggencate, J. (2009): Raising Islands--Hawai'i science and environment. Poaching a source of many 'ōpae 'ula sold as aquarium pets. Dostupné z <http://raisingislands.blogspot.cz/>, verze (2009).

Tropic-Marin (2014): Produkte. PRO-REEF Meersalz. Dostupné z <http://www.tropic-marin.com/>, verze (12/2014).

Ucozler, M. (2013): Discussion Forum. WHITE/YELLOW Supershrimp!!!. Dostupné z <http://www.petshrimp.com/>, verze (2/2013).

Vaught, R.C. (2015): osobní sdělení. Undergraduate Student. Department of Biological Sciences. Advisor: Scott R. Santos. Auburn University.

Vaught, R.C., Havird, J.C., Santos, S.R. (2014): Genetic lineage and environmental conditions as drivers of chromosome variation in the anchialine shrimp *Halocaridina rubra* Holthuis, 1963 (Caridea: Atyidae), *Journal of Crustacean biology*, 00(0), 1-11.

Wikipedia (2014): *Halocaridina rubra*. Aquaria. Dostupné z <http://en.wikipedia.org/>, verze (12/2014).

Wikipedians (2011): The United States of America. nakl. PediaPress GmbH, Bopstrasse 64, Mainz, Germany, 2624 s.