

**ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra zoologie a rybářství**



**Bakalářská práce**

**Axolotl mexický – frekvence nádechů vzdušného kyslíku  
v závislosti na teplotě a pohlaví**

**Autor práce: Eva Vozabulová**

**Vedoucí práce: Mgr. Oldřich Kopecký, Ph.D.**

---

**2012**

## Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma Axolotl mexický - frekvence nádechů vzdušného kyslíku v závislosti na teplotě a pohlaví vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v přiložené bibliografii.

V Praze dne.....

podpis autora práce

## SOUHRN

Obojživelníci, včetně axolotla mexického *Ambystoma mexicanum* jsou velmi citliví na okolní prostředí a jeho teplotu. Tato bakalářská práce se zabývá vlivem teploty a pohlaví na frekvenci vzdušných nádechů *A. mexicanum*. Samci a samice byli drženi v oddělených nádržích. Frekvence nádechů byla zaznamenávána vizuálně. Axolotlové byli umístěni nejdříve ve vodě s teplotou 20 °C a poté 11 °C. Podle výsledků získaných během těchto měření, byla prokázána závislost frekvence nádechů na teplotě a na pohlaví. Jedinci vykazovali výrazně vyšší frekvenci nádechů při teplotě 20 °C než při 11 °C. Tento rozdíl byl pravděpodobně důsledkem rychlejšího metabolismu a nižší rozpustnosti kyslíku v teplé vodě. Frekvence vzdušných nádechů samců byla vyšší než u samic. To mohlo být způsobeno vyšší aktivitou samců související s přípravou na páření.

Klíčová slova: *Ambystoma mexicanum*; nádechy vzdušného kyslíku; vliv teploty na exotermní živočichy; dýchání; vliv pohlaví

## SUMMARY

Amphibians, including the Mexican axolotl *Ambystoma mexicanum* are very sensitive to the surrounding environment and its temperature. This thesis examines the influence of temperature and sex on the frequency of air breaths *A. mexicanum*. Males and females were kept in separate tanks. The frequency of breaths were recorded visually. Axolotls were placed in water first at 20 °C and then at 11 °C. According to the results obtained during these measurements was demonstrated by the frequency of breaths dependence on temperature and on sex. Individuals showed a significantly higher frequency of breaths at 20 °C than at 11 °C. This difference was probably due to faster metabolism and a lower solubility of oxygen in warm water. The frequency of air breaths was higher in male than in females. It could be due to higher male activity associated with preparation for mating.

Keywords: *Ambystoma mexicanum*; air-breathing; breathing; the influence of temperature on ectotherms; the influence of sex

## Obsah

1	Úvod .....	1
2	Cíl práce .....	2
3	Literární rešerše .....	3
3.1	Taxonomie .....	3
3.2	Historie .....	3
3.3	Ohrožení .....	4
3.4	Morfologie .....	5
3.5	Rozmnožování .....	5
3.5.1	Pohlavní dospělost .....	5
3.5.2	Pohlavní dimorfismus .....	6
3.5.3	Etologie rozmnožování.....	6
3.6	Vývoj.....	6
3.7	Metamorfóza.....	7
3.8	Teplota.....	8
3.9	Kyslík a voda .....	12
3.10	Dýchání .....	12
3.10.1	Způsoby dýchání obojživelníků.....	12
3.10.2	Množství rozpuštěného kyslíku ve vodě a dýchání .....	13
3.11	Vliv teploty a jiných faktorů na dýchání.....	15
4	Materiál a metody.....	26
5	Výsledky .....	28
6	Diskuze .....	33
7	Závěr.....	36
8	Seznam literatury.....	37
9	Samostatné přílohy .....	40

# 1 Úvod

Tato bakalářská práce pojednává o obojživelníkovi řádu Ambystomatidae – axolotlovi mexickém *Ambystoma mexicanum* (Shaw and Nodder, 1798). Jedná se o druh žijící neotenicky (pohlavně dospívá, a množí se v larválním stadiu), zůstává tedy po celý život ve vodě (Burton et Burton, 1970; Kocourek et Modrý, 2000). Ačkoli jeho metamorfózu v terestrickou formu lze navodit uměle vytvořenými podmínkami, za přísunu hormonů štítné žlázy nebo jódu (Škarydová, 1957).

*A. mexicanum* využívá několik způsobů dýchání. Pomocí vnějších keříčkovitých žaber, difúze skrz pokožku a dýchání vzdušného kyslíku. Při aerickém nádechu vyplave jedinec k hladině a „lapne vzduch“. Ten pak putuje do nepříliš vyvinutých plic (Branche et Taylor, 1977; Griffiths et Thomas, 1992).

Faktorů, které ovlivňují metabolismus a spotřebu kyslíku, tudíž i dýchání obojživelníků, je hned několik. Mezi ně patří například teplota, množství kyslíku v prostředí, hmotnost, pohlaví, gravidita, nutriční stav atd. (Denöel et al., 2004; Griffiths et Thomas, 1992; Branche et Taylor, 1977; Gahlenbeck et Bartels, 1970; Degani et al., 1988; Finkler, 2006; Irwin et al., 1997).

Tato bakalářská práce se zabývá faktory ovlivňující frekvenci aerických nádechů u *A. mexicanum*. Vzhledem k tomu, že tento druh patří mezi ektotermní obratlovce, kteří jsou mnohem více citliví na teplotu okolního prostředí než endotermové, jako jeden z faktorů byla zvolena teplota. Zejména proto, že teplotní podmínky mají vliv na intenzitu využívání různých způsobů dýchání a na celkový běh metabolismu (Denöel et al., 2004; Whitford et Hutchison, 1965). Druhým, sledovaným faktorem je pohlaví. Samci a samice mohou mít různé metabolické nároky. Kombinace těchto dvou faktorů byla zvolena i na základě faktu, že teplotní podmínky mají vliv na reprodukční úspěšnost ektotermů, jako je *A. mexicanum*.

## **2 Cíl práce**

Cílem této bakalářské práce je zjistit vliv teploty a pohlaví na frekvenci aerických nádechů u axolotla mexického - *Ambystoma mexicanum* (Shaw and Nodder, 1798).

### 3 Literární rešerše

#### 3.1 Taxonomie

ŘÍŠE:	Animalia - živočichové
KMEN:	Chordata - strunatci
TŘÍDA:	Amphibia - obojživelníci
ŘÁD:	Caudata - ocasatí
ČELEĎ:	Ambystomatidae - axolotlovití
DRUH:	<i>Ambystoma mexicanum</i> (Shaw and Nodder, 1798) - axolotl mexický

#### 3.2 Historie

Jednu z prvních zmínek o tomto tvorovi najdeme za dob Francisca Cortéze (první polovina 16.stol). Frater Sahagún tehdy ve svých zprávách napsal: „V jezeře žije zvířátko zvané axolotl, které má hlavu jako úhoř a tělo také, má čtyři nohy a vousy na krku. Je velmi dobré k jídlu. Je to jídlo pánů.“(Griffiths et al., 2003). Francisco Hernandez (1651) se zmiňuje o axolotlovi jako o jistém druhu jezerní ryby s měkkou kůží a čtyřma nohama jako ještěrka. Oficiálně byl však poprvé popsán Cuvierem, který se k němu dostal díky Alexandru Humboldtovi, který dovezl dva exempláře z Mexika. Ten popsal axolotla jako dospělce – obojživelníka s trvalými žábami. Nicméně se zjistilo, že larva axolotla a jeho metamorfovaná forma jsou považováni nejen za dva rozdílné druhy a dokonce i rody. Starší název popisující larvu je *Siredon pisciformis*. Až v roce 1865 byl tento omyl objeven na výstavě obojživelníků a plazů v Botanické zahradě v Paříži. Axolotlové dovezení Dumérilem do Evropy nakladly vajíčka, ze kterých se vyvinuly larvy a čtyři z nich se později metamorfovaly na dospělé jedince (Plachý et Horáček, 1975; Škarydová, 1957). Ještě před příchodem evropanů se axolotlové lovíli pro chutné maso, které je prý podobné masu úhořů a na tržištích v Mexiku se objevovali až do 60. let 20. století (Škarydová, 1957).

### 3.3 Ohrožení

Jediným posledním přirozeným místem výskytu axolotla mexického *Ambystoma mexicanum* (Shaw and Nodder, 1798) je jezero Xochimilco a okolní kanály a mokřady (včetně mokřadů jezera Chalco) na hranici hlavního města Mexika, Mexico City. Již před 21 lety, byla situace axolotla mexického známa jako nepříznivá (Griffiths, 2003; Zambrano et al., 2010). Od roku 1986 do roku 1994 byl axolotl mexický - *Ambystoma mexicanum* veden na červené listině IUCN jako „vzácný“, mezi lety 1996 a 2004 byl považován za „zranitelného“ a od roku 2006 získal status „kriticky ohroženého“ živočicha (Zambrano et al., 2010).

Jezero Xochimilco je pozůstatkem kdysi rozsáhlé systému mokřadů zásobované hlavně sítí přírodních pramenů a dešťovou vodou. Mokřady byly využívány k zemědělství již Aztéky. Na jezeře začaly vznikat ostrůvky nánosů bahna známé jako „chinampas“, které jsou na něm rozprostřeny ještě dnes. Využívají se zejména na pěstování zeleniny, květin nebo jiných rostlin. Dnešní vodní plocha představuje pouhých 2,3 km<sup>2</sup>, což je důsledkem odklonu pramenů, které bránily rozšiřování hlavního města a zvyšování počtu obyvatel již před 100 lety. Jako pokus o zastavení mizení jezera Xochimilco bylo roku 1957 zahájeno vypouštění terciárního odpadu do jeho vod, díky čemuž se sice hladina jezera zvýšila, ale kvalita vody začala rapidně klesat. Začali se projevovat známky znečištění a eutrofizace. Navíc vodu v jezeře znečišťují i hnojiva a pesticidy používané na chinampas. V tělech axolotlů a ryb z jezera byly zjištěna přítomnost těžkých kovů (Griffiths, 2003).

Kromě znečištění je axolotl ohrožen i predací a potravní konkurencí ze strany introdukovaných druhů ryb. Zdá se, že axolotl byl hlavním predátorem v těchto vodách, jelikož drtivá většina původních ryb je menšího vzrůstu. Jeho dominantní pozici v potravním řetězci ohrozilo vysazení kapra obecného - *Cyprinus Carpio* Linnaeus, 1758 v druhé polovině 20. století. Kapr měl sloužit k obživě obyvatelstva. Axolotl mexický je všeobecně považován za lahůdku a navíc se tradují zvěsti o jeho léčivých schopnostech. „Axolotl sirup“ je stále vyráběn z jemu blízkce příbuzného druhu axolotla Dumérilova - *Ambystoma dumerilii* (Dugès, 1870), který je též neotenický. Tento sirup se již po staletí používá při léčbě kašle. Díky vzrůstající informovanosti veřejnosti o hladinách těžkých kovů obsažených v tělech fauny žijící v jezeře Xochimilco, se snižuje odlov těchto obojživelníků (Griffiths, 2003). Program na ochranu *A. mexicanum* je postaven na vzdělávání veřejnosti, ochraně přírody, usměrnění turistického ruchu, obnově přírodních stanovišť a bioremedikaci (proces, v němž jsou pomocí



živých organismů či enzymů přeměňovány toxické či rizikové látky na netoxické a nerizikové). Tento druh je mexickou vládou zařazen do kategorie Pr (zvlášť chráněný) a jedná se o jeho přeřazení do vyšší rizikové kategorie. *A. mexicanum* je zařazen v CITES příloze II. V současné době probíhají jednání v rámci programu „pravidelného přezkumu druhů zařazených v přílohách CITES“ (Zambrano et al., 2010).

### **3.4 Morfologie**

Axolotl mexický tráví celý život v larválním stádiu tzv. neoteni. Navzdory tomu, že je v larválním stadiu, pohlavně plně dospívá a je schopen se rozmnožovat. V zajetí dorůstá 10 - 25 cm, ale může dosáhnout délky až 40 cm. Dožívá se kolem 12 – ti až 20 – ti let (Burton et Burton, 1970; Kocourek et Modrý, 2000). Na předních nohou má 4 a na zadních 5 prstů. Jeho páteř je složena přibližně z 50 obratlů, z kterých kolem 70 % tvoří ocasní část (Clare, 2010). Na bocích válcovitého těla je 16 – 18 příčných kožních rýh. Za širokou plochou hlavou najdeme tři páry keříčkovitých žaber. K pohybu ve vodě mu dopomáhá ocasní lem, který začíná za hlavou a táhne se až ke konci ocasu. (Burton et Burton, 1970; Kocourek et Modrý, 2000). Oči nejsou příliš vyvinuté. Ačkoli se jedná o masožravce, zuby jsou malinké a zakulacené do kužele (Clare, 2010). Díky své neuvěřitelné regenerační schopnosti se stal *A. mexicanum* velmi zajímavým pro výzkum v oblasti regenerace buněk a následného využití v humánní medicíně. To vedlo i ke zvýšení počtu odchovaných jedinců v zajetí a tím k jeho rozšíření mezi drobné chovatele (Bartlett 2003; Indiviglio 2006).

Vyskytuje se několik barevných variant. Tmavě hnědí jedinci s černými tečkami jsou označováni jako přírodní forma. Albinotičtí jedinci jsou bílí s červenýma očima, leucističtí jsou také bílí, ale oči mají černé. Vyskytuje se i černobíle skvrnitá forma (Bartlett, 2003).

### **3.5 Rozmnožování**

Jedná se o druh s pohlavním dimorfismem. Rozmnožující se pohlavně pomocí spermatoforu (Burton et Burton 1970).

#### **3.5.1 Pohlavní dospělost**

Axolotl mexický - *A. mexicanum* dosahuje pohlavní dospělosti již v larválním stadiu, v němž zůstává celý život. Dospělosti dosahují larvy kolem jednoho až druhého roku života (Burton

et Burton, 1970; Bartlett, 2003). Znaky pohlavní dospělosti jsou velmi dobře patrné na albinotické formě, kdy dochází k mírnému zduření a změně zbarvení konečků prstů do tmavě hněda viz obr. 2 v příloze (Clare, 2010).

### 3.5.2 Pohlavní dimorfismus

Pohlaví lze odlišit díky velikosti kloaky, která je u samců velmi zduřelá. Pohlaví lze také rozlišit pomocí dalších znaků, např. samice je robustnější, samec štíhlejší s delší ocasní částí viz obr. 3 v příloze. (Clare, 2010)

### 3.5.3 Etologie rozmnožování

Jako u mnoha ocasatých obojživelníků i u axolotla mexického - *Ambystoma mexicanum* dochází k tzv. svatebním tancům. Namlouvací rituál probíhá ve vodě, kdy sameček vypouští feromony (Park, 2004), a pohyby ocasu a zadní části těla láká samičku, aby ho následovala při plavání. Pokud se mu samičku podaří přesvědčit, začne klást spermatofoxy na dno nádrže. Partnerka plující za ním nasává spermatofoxy kloakou a dochází k vnitřnímu oplození (Burton et Burton, 1970).

Pokud rozmnožovací rituály proběhnou úspěšně, samička začne po 24 hodinách až jednom týdnu (v závislosti na teplotě vody) klást 200 - 1 100 vajíček (v závislosti na velikosti a kondici samice). Vajíčka klade převážně na kameny a tuholisté vodní rostliny s širokými listy (Burton et Burton, 1970).

## 3.6 Vývoj

K vylíhnutí larev dochází po 8 – 10 dnech při teplotě vody 20 °C – 22 °C, nicméně při nižší teplotě, mezi 13 °C – 14 °C se doba prodlužuje až na 28 – 30 dní. Podrobný fotografický popis vývoje albinotických vajíček do vylíhnutí je k nahlédnutí v příloze (obr. 5 – 10). Larvy začnou přijímat potravu cca 24 hodin po vylíhnutí. Larvy přijímají larvy čeledi komárovitých Culicidae (Stephens, 1829), žábřonožky - *Artemie* spp. (Leach, 1819) nebo nítěnky - *Tubifex* spp. (Lamarck, 1816). Larvy mají kanibalistické sklony a při vyšší koncentraci jedinců v nádrži často dochází k vzájemnému požívání. Nutná je filtrace, saturace vody kyslíkem a pravidelná výměna vody u mladých larev (Kocourek et Modrý, 2000). Čerstvě vylíhnutá larva ještě nemá končetiny, nejprve ji vyrostou přední a poté zadní viz obr. 4 (Clare, 2010).

### 3.7 Metamorfóza

Za určitých podmínek lze neotenický stav změnit a jedince metamorfovat na terestrickou formu. Při této přeměně se jedinci postupně redukují vnější žábry až do úplného zmizení a žaberní štěrbiny se uzavírají. Stejně tak se zmenšuje a mizí i ocasní lem, který na souši již nebude potřeba. U metamorfovaných axolotlů lze také pozorovat menší tloušťku těla a silnější končetiny, které zvířeti ulehčují pohyb po zemi (Coleman et Hessler, 1997). Váha se rapidně snižuje (Gahlenbeck et Bartels, 1970). U tmavých, přírodních forem se po metamorfóze vyskytují nepravidelné žluté skvrny po těle, oči jsou vypoulené a posunuté k okrajům hlavy (Škarydová, 1957). Metamorfovaní jedinci dýchají pouze pomocí plic a kůže, která pomalu vysychá a stává se drsnější (Wallays, 2000). Celková spotřeba kyslíku je u metamorfovaných jedinců čtyřikrát vyšší, ačkoli ventilace plic je nižší ve srovnání s prokrvením žaber u neotenických forem. To je způsobeno vyšším obsahem kyslíku ve vzduchu oproti vodnímu prostředí. Vyšší koncentrace  $\text{CO}_2$  v krvi a tkáních musí být vyvážena vyšší emisí  $\text{CO}_2$ , aby tkáňová koncentrace  $\text{H}^+$  - iontů byla na stejné úrovni jak u pozemní tak u akvatické formy. Co se týče přenosu kyslíku v krvi, afinita kyslíku je u metamorfovaných jedinců nižší (Gahlenbeck et Bartels, 1970), což usnadňuje uvolnění kyslíku z hemoglobinu v periferních kapilárách. Vývojem plic, změnami jejich délky a objemu při uměle vyvolané metamorfóze pomocí thyroidové injekce se zabýval ve své práci Coleman et Hessler (1997). Pohlavně jsou schopny se rozmnožovat obě formy (Plachý et Horáček, 1975).

Pokusy s vyvoláním metamorfózy u neotenických forem v laboratorních podmínkách jako první prováděla Marie Chauvinová ve Freiburgu na popud biologa A. Weismanna již v letech 1883 – 1885. Využívala k tomu změny teplot a výšky hladiny vody. Dokonce se jí povedla u některých jedinců i přeměna zpětná, z terestrických forem zpět na akvatické, kdy axolotlům opět narostly žábry a začali jimi dýchat. Později, v roce 1913 Vilém Laufberger dokázal vyvolat metamorfózu pomocí krmení sušenou štítnou žlázou již u jedinců o velikosti 3 – 6 cm (Plachý et Horáček, 1975; Škarydová, 1957).

V roce 1924, Swingl vyslovil domněnku, že axolotl mexický není citlivý na sekrety své vlastní štítné žlázy, což naznačuje nízkou produkci hormonu tyroxinu nebo nedostatečný počet buněčných receptorů citlivých na tyroxin. Podle novějších výzkumů axolotl mexický zůstává neotenickým díky snížené sekreci TSH (thyreotropin – thyroid stimulating hormone), což zapříčiňuje nízkou hladinu tyroxinu v plazmě. Metamorfózu lze navodit uměle vpravením  $\text{T}_4$  (tyroxin) nebo  $\text{T}_3$  (3,3',5-triiodo-L-thyronine). Pokus byl proveden na juvenilních

jedincích ve stáří kolem 120 dní, kdy jim byla podána injekčně dávka  $T_3$ . Úplná metamorfóza proběhla do 14 dnů. U jednoho a půl roku starých jedinců se metamorfóza povedla za 20 dní, což je přibližně o 15 dní méně než při podání  $T_4$  (Coleman et Hessler, 1997). Page et al. (2008) zahájili metamorfózu u juvenilních jedinců pouze pomocí  $T_4$ . Byly jim aplikovány dávky v množství 5 nM  $T_4$  a 50 nM  $T_4$ . Při podávání dávky 50 nM  $T_4$  denně byly morfologické změny zahájeny dříve a metamorfóza byla dokončena 28. den po zahájení pokusu. Při podávání nižší dávky 5 nM  $T_4$  denně, metamorfóza započala později a žádný jedinec nedokončil metamorfózu do 28. dne od zahájení pokusu. Podle Škarydyové (1957) má zásadní vliv na délku metamorfózy jak množství štítné žlázy, která se dříve podávala místo injekčních dávek tyroxinu, tak i věk larev.

### 3.8 Teplota

Teplota, jako abiotický faktor má vliv na morfologii a fyziologii zvířat, zejména ektotermů. Ti mohou zažívat velké výkyvy tělesné teploty během životního cyklu i v rámci jediného dne. Míra fyziologických funkcí se snižuje s klesající teplotou (Denöel et al., 2004), což lze demonstrovat na pokusu Irwina et al. (1997), kdy jedna skupina juvenilních axolotlů hladověla při teplotě 15 °C a druhá při 25 °C. Hmotnost zvířat byla měřena na začátku a na konci pokusu. Rozdíl mezi těmito váženými byl méně výrazný u skupiny umístěné v 15 °C.

K prezentaci vlivu teploty na míru biologických procesů v organismu se používá koeficient  $Q_{10}$ . Ten je vyjádřen jako poměr rychlostí pozorovaného děje při dvou teplotách R1 a R2.

$$Q_{10} = (R2/R1)$$

R1 = rychlost pozorovaného děje při teplotě  $t + 10^\circ\text{C}$

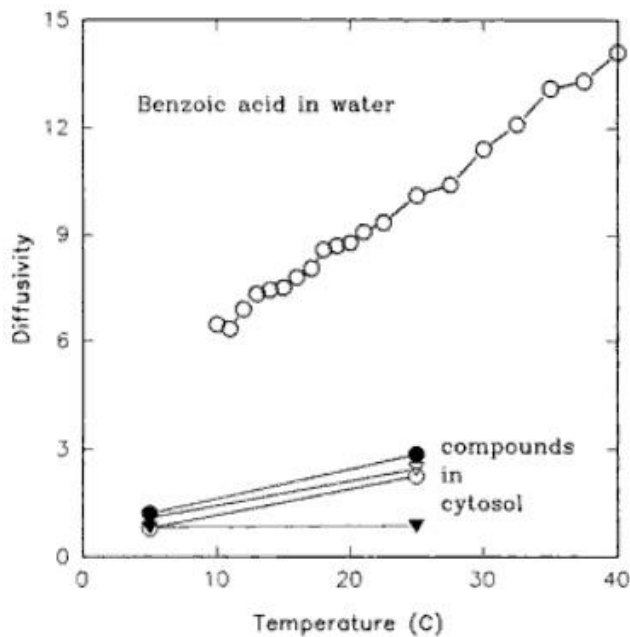
R2 = rychlost pozorovaného děje při teplotě  $t$

Hodnota  $Q_{10}$  u fyzikálních dějů se pohybuje v rozmezí do 1, 0 do 1, 5, zatímco u chemických a biologických procesů, kdy je objekt více citlivý na teplotu je hodnota vyšší – 1, 8 až 4.

Jedním z nejvýznamnějších jevů ovlivňujících fyziologické procesy v těle je difúze. Byl přezkoumáván vliv teploty na difúzi kyseliny benzoové skrz vodu. Kdy bylo zjištěno, že se rychlost difúze zvyšuje s rostoucí teplotou, viz Graf č. 1. Při teplotě 10 °C – 20 °C byl  $Q_{10}$  1, 41 a při 20 °C – 30 °C 1, 29. Tyto hodnoty naznačují, že v rozmezí teplot od 10 °C – 20 °C, je zvyšování rychlosti difúze intenzivnější než od 20 °C – 30 °C. Je prokázáno, že difúze skrz

cytosol je dvakrát až pětkrát pomalejší než skrz akvatický roztok. Difuzivita je nižší, z větší části kvůli tomu, že cytosol má vyšší kinematickou viskozitu. Toto je nejvíce patrné při nízkých teplotách. Je nutno podotknout, že s poklesem teploty se kinematická viskozita media zvyšuje.

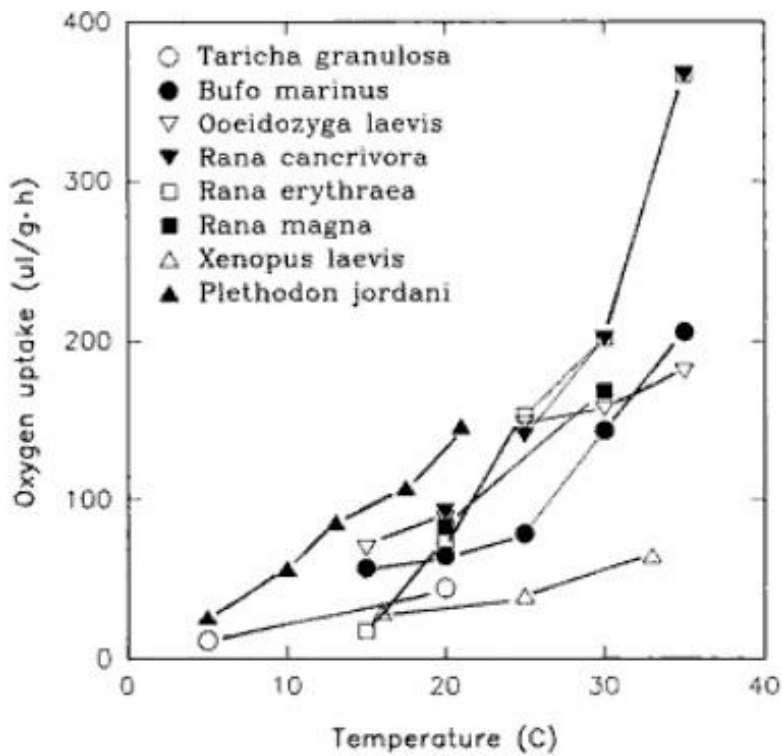
Graf č. 1: Vliv teploty na difúzi kyseliny benzoové skrz vodu ( $10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ) a jiných sloučenin skrz cytosol.



Zdroj: Rome et al. (1992)

Enzymatická aktivita a spotřeba kyslíku se zvyšuje s rostoucí teplotou (Fuhrman et Fuhrman, 1958; Rome et al., 1992). Na obojživelnících byl měřen vliv teploty na spotřebu kyslíku a srdeční rytmus. Například spotřeba kyslíku se obecně zvyšuje s rostoucí teplotou viz Graf č. 2, v němž je zhodnoceno několik různých druhů obojživelníků, z nichž za nejzajímavější z hlediska mé práce pokládám tarichu zrnitou - *Taricha granulosa* (Skilton, 1849) a mločika Jordanova - *Plethodon jordani* Blatchley, 1901.

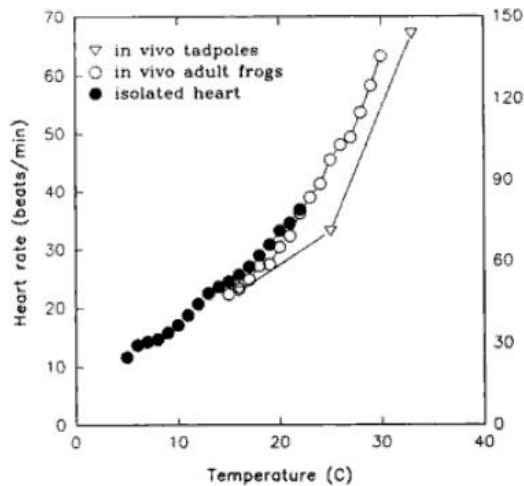
Graf č. 2: Vliv teploty na spotřebu kyslíku.



Zdroj: Rome et al. (1992)

Tepová frekvence byla měřena na skokanovi hnědém - *Rana temporaria* Linnaeus, 1758. K pokusu byli použiti dospělí jedinci a jejich larvy *in vivo*. Poté bylo srdce izolováno a měření proběhlo *in vitro*. Bylo zjištěno, že teplota má jasný vliv na činnost srdce. Ačkoli musíme brát v potaz, že srdeční frekvence závisí na propustnosti kardiostimulačních buněk pro ionty, a vliv teploty na srdeční frekvenci je částečně odrazem součtu jejího kombinovaného účinku na různé ionty. Graf č. 3

Graf č. 3: Vliv teploty na srdeční tep *in vivo* u žab a larev a *in vitro* u izolovaných žabích srdcí.  
Stupnice pro hodnoty larev je na pravé straně.



Zdroj: Rome et al. (1992)

Je zřejmé, že u jednodušších biologických reakcí se snadněji určuje závislost na teplotě a její intenzita. Biologické procesy ovlivňované teplotou můžeme rozdělit do několika kategorií podle časového měřítka. Krátkodobé, jako je například lokomoce nebo vokalizace, středně dlouhé, jako je trávení a procesy dlouhodobé, například růst a vývoj jedince (Rome et al., 1992). Při měření termálního efektu působícího na krátkodobé biologické procesy se můžeme pohybovat ve větším rozsahu teplot než při zkoumání vlivu teploty na dlouhodobé procesy, kdy se složitěji hodnotí širší souvislosti. Krátkodobé termální odpovědi mohou být důležité hlavně v rámci hodin a dnů, kdy obojživelníci využívají proměnlivosti teplot v jejich přirozeném prostředí. Tuto proměnlivost lze velmi přesně simulovat v laboratorních podmínkách, díky čemuž jsou vlivy těchto teplot dobře pozorovatelné. Dlouhodobé tepelné reakce se vyskytují většinou pod sezónním vlivem. Takovouto dlouhodobou tepelnou stálost vzácně nalezneme v některých experimentálních výzkumech. Mnoho výzkumů se zabývá více ekologickými otázkami v souvislosti s vlivem teplot. Je zkoumána například rychlost plavání nebo predční úspěšnost, což je v praxi přínosnější než mechanické analýzy nižších funkčních úrovní jako je vliv teploty na kontrakci svalů a podobně. Nicméně znalosti reakcí na nižší funkční úrovni na různé podněty jsou nedílnou součástí celkového pochopení odpovědi organismu.

Co se týče zkoumání vlivu teploty na složitější orgány, jako je například mozek, je nutné brát v potaz mnoho faktorů ovlivňujících jejich funkci, které mohou mít různé stupně závislosti na teplotě. Proto je velmi obtížné tyto závislosti detekovat.

Zpravidla se reakce organismu na teplotu okolního prostředí zkoumají od nejnižších teplot, po teploty nejvyšší, které způsobují smrt organismu. Rozsah mezi těmito dvěma teplotami lze nazývat teplotní tolerancí. Určení těchto minimálních a maximálních teplot, které organismus snese, může indikovat migrační schopnost, jejíž součástí je právě překonávání teplotních bariér. V tomto kontextu může rozsah teplot snesitelných pro druh určovat i jeho geografické rozšíření.

Typicky se intenzita projevu zkoumané funkce zvyšuje se zvyšující teplotou. Nakonec se dostaví prudké snížení při velmi vysokých teplotách, což často způsobí trvalé poškození chodu organismu (Rome et al., 1992).

### **3.9 Kyslík a voda**

Abychom si lépe ujasnili podmínky mého pokusu, je důležité seznámit se s některými fyzikálními faktory ve vztahu teploty a množství kyslíku rozpuštěného ve vodě. Množství rozpuštěného kyslíku ve vodě se zpravidla pohybuje mezi 1 až 10 ppm (parts per milion). Rybníky obvykle obsahují nejnižší hodnotu naopak potoky a řeky obsahují kyslíku nejvíce. Co se týče teploty vody, je dobré si uvědomit, že v chladné vodě je více rozpuštěného kyslíku než v teplé (Borland, 2000; Rome et al., 1992).

### **3.10 Dýchání**

#### **3.10.1 Způsoby dýchání obojživelníků**

Obojživelníci jsou ze všech obratlovců nejvíce přizpůsobiví a proměnliví co se týče využívání nejrůznějších strategií dýchání. Mezi nejvyužívanější způsoby dýchání patří dýchání pomocí žaber, plic nebo pokožky (Branche et Taylor, 1977). Plicní dýchání přes buccopharyngeální dutinu využívají hlavně žáby a například axolotl tygrovaný - *Ambystoma tigrinum* (Green, 1825). Při něm probíhá výměna plynů mezi dutinou ústní a hltanem za pomoci rychlých pulsů v hrdle. Vzduch je nasáván nozdrami a naplní buccopharyngeální dutinu. Pak dojde k hrdelní kontrakci a vzduch je vtlačen do plic. Ty vytlačí vzduch opět do hrdla.

*A. mexicanum* patří mezi druhy, které jsou schopny využívat žábry, pokožku a z menší části nepříliš vyvinuté plíce. Pomocí žaber a difúze skrz pokožku získává kyslík z vody. Při



získávání vzdušného kyslíku vyplave k hladině a lapne vzduch, který následně putuje do plic (Griffiths et Thomas, 1992).

### **3.10.2 Množství rozpuštěného kyslíku ve vodě a dýchání**

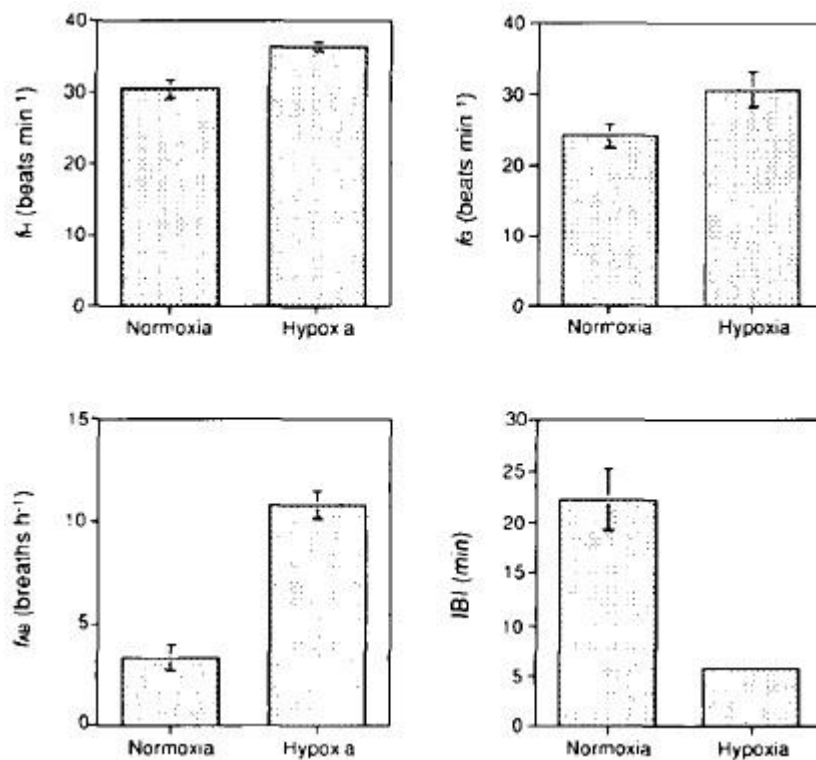
Způsob dýchání je ovlivňován parciálním tlakem kyslíku ve vodě. Množství kyslíku v okolním prostředí se dá definovat pomocí několika termínů, hyperoxie (prostředí nadměrně nasycené kyslíkem), normoxie (stav normálního množství kyslíku v prostředí) a hypoxie. V souvislosti s vlivem na metabolismus obojživelníků se využívá hlavně simulace hypoxie, která se dá definovat jako nízká hladina parciálního tlaku kyslíku v prostředí (Perry, 2011; Wood, 1980).

Je-li hladina kyslíku nízká, vyvolá to soubor reflexních reakcí, pomocí nichž se organismus snaží udržet vnitřní homeostázu (Perry, 2011). Obratlovci mají chemoreceptory reagující na hladinu kyslíku, tyto receptory řídí srdeční a ventilační činnost při hypoxii (McKenzie et Taylor, 1996). Následkem hypoxie u ryb je zvýšená ventilace pomocí žaber, což má za následek zvýšení průtoku vody kolem žaber a větší okysličení arteriální krve, která je díky hypoxii ochuzená. Nevýhodou tohoto způsobu udržování stability vnitřního prostředí v organismu je vysoká energetická nákladnost. Díky tomu někteří ektotermní obratlovci využívají dýchání vzdušného kyslíku z hladiny (Griffiths et Thomas, 1992; Perry, 2011). Neoteničtí ocasatí obojživelníci s plně rozvinutými žábami reagují na hypoxii tachykardií (zvýšený srdeční tep), zvýšenou frekvencí nádechů vzdušného kyslíku a změnami žaberní ventilace (McKenzie et Taylor, 1996).

McKenzie et Taylor (1996) se ve své studii zabývají reflexními odpověďmi vyvolanými chemoreceptory citlivými na kyslík. Byly měřeny žaberní nádechy, údery srdce, počet nádechů vzdušného kyslíku za hodinu a interval mezi nádechy (IBI). Při pokusu bylo měřeno EMG (měření elektrické aktivity svalu a nervu, který ho řídí) a EKG (záznam časové změny elektrického potenciálu způsobeného srdeční aktivitou). Vliv vnějšího prostředí na organismus axolotlů byl simulován pomocí hypoxického prostředí (parciální tlak  $O_2$   $3.0 \pm 0.1$  kPa), vytvořeného vzduchováním 100% dusíkem. Takto těžká hypoxie měla vyvolat u axolotlů dostatečně silné reflexní odpovědi. Zvířata byla do tohoto nepřírodního prostředí umístěna na dobu jedné hodiny, kdy posledních 30 minut byly měřeny srdeční a dýchací změny. U jedinců v klidové fázi normoxie byla naměřena rytmická žaberní ventilace prokládaná apnoí (nádech neproběhl déle než 20 sekund) a nádechy vzdušného kyslíku

s průměrným intervalem mezi vzduchovými nádechy  $20, 8 \pm 3, 0$  minut. S nástupem hypoxie se zvýšila frekvence ventilace pomocí žaber. Ventilace žaber se stala více rytmickou s nižším počtem apnoí a dostavila se tachykardie. Hypoxii provázelo rapidní zvýšení nádechů vzdušného kyslíku a snížení IBI viz Graf č. 4.

Graf č. 4 : Vliv hypoxie na srdeční tep ( $f_H$  – údery srdce/min), žaberní ventilaci ( $f_G$  – ventilace/min), nádech vzdušného kyslíku ( $f_{AB}$  – nádechy/hod), intervaly mezi nádechy (IBI v min).



Zdroj: McKenzie a Taylor (1996)

Reflexní odpovědi na vnitřní stimuly se pokoušely vyvolat aplikací několika látek, CaCN (toxický kyanid sodný, který narušuje vázání kyslíku dýchacími enzymy), atropinu (alkaloid způsobující tachykardii) a noradrenalinu (catecholamin stimulující srdeční tep), propranololu (sympatolitycký beta blokator využíváný hlavně k léčbě vysokého krevního tlaku) a jejich kombinacemi. Výsledky ukazují, že *A. mexicanum* disponuje chemoreceptory reagujícími na hladinu kyslíku z vnějšího i vnitřního prostředí. Reakce vyvolané chemoreceptory byly při podání CaCN stejné jako při hypoxii, což naznačuje, že hypoxické reflexy jsou kontrolovány těmito receptory. Po aplikaci CaCN se dostavila počáteční bradykardie (zpomalení tepové frekvence) následovaná tachykardií, která byla doprovázena zvýšenou ventilací žaber a zvýšenou frekvencí nádechů vzdušného kyslíku. Při vnitřní aplikaci CaCN byl pozdější nástup prvního vzdušného nádechu než u externího podání do vodního sloupce. Důsledkem toho se výrazná tachykardie nastupující vždy po prvním nádechu vzdušného kyslíku dostavila

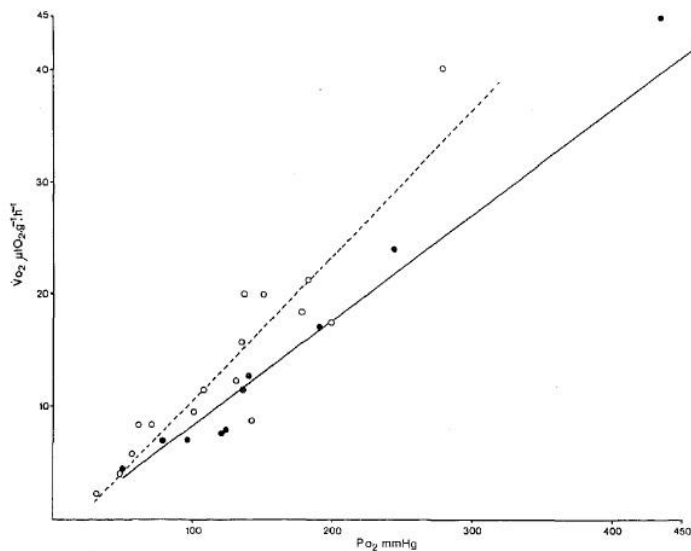
později. Atropinová infuze způsobila zvýšenou tepovou frekvenci, ale neměla žádný vliv na dýchání. Atropin podaný po CaCN zrušil bradykardii, ale opět nijak neovlivnil žaberní ventilaci ani nádechy vzduchu způsobené CaCN. Dávka noradrenalinu stimulovala srdeční tep a žaberní ventilaci, ale neměla žádný vliv na IBI. Propranolol snížil srdeční tep, nicméně neměl vliv na žaberní ventilaci ani IBI. Kombinace propranololu a noradrenalinu s dvouhodinovou pauzou, zkombinovala vliv propranololu, který stále udržoval sníženou tepovou frekvenci a noradrenalinu stimuloval tep i žaberní ventilaci. Propranolol neměl vliv na účinky vyvolané CaCN.

Práce se bohužel nepřináší přímou odpověď na otázku umístění chemoreceptorů citlivých na kyslík u axolotlů. Například žáby mají tyto chemoreceptory uloženy v oblasti truncus arteriosus (počáteční úsek ventrální aorty) a oblouku aorty, což by mohlo hypoteticky odpovídat i uložení receptorů pro vnímání vnitřního prostředí u axolotlů. Co se týče vnějších chemoreceptorů zaměřených na množství kyslíku a stimulující hyperventilaci při hypoxii, mohli bychom se inspirovat rybami, které taktéž využívají vzdušný kyslík k nádechům, ty mají tyto receptory situovány na žábrách (McKenzie et Taylor, 1996).

### **3.11 Vliv teploty a jiných faktorů na dýchání**

Griffiths et Thomas (1992) provedli pozorování dýchání axolotla mexického - *A. mexicanum* při různém tlaku kyslíku ve vodě a různých teplotách. Byla měřena spotřeba kyslíku, žaberní ventilace a nádechy vzdušného kyslíku. Dle výsledků byla spotřeba kyslíku v pozitivní korelaci s kyslíkovou tenzí. Při zvyšování parciálního tlaku kyslíku se zvyšovala i spotřeba kyslíku ve vodě viz Graf č. 5, kde je znázorněn i vztah mezi oběma teplotami.

Graf č. 5: Spotřeba kyslíku ve vodě při různých parciálních tlacích kyslíku ve 20 °C (přerušovaná čára a prázdná kolečka) a ve 30 °C (plná čára a plná kolečka).



Zdroj: Griffiths et Thomas (1992)

Jak je vidět na grafu, při vyšší teplotě je spotřeba kyslíku ve vodě nižší než při 20 °C. Ve 30 °C byla spotřeba kyslíku ve vodě 13,8 pl O<sub>2</sub> · g<sup>-1</sup> · h<sup>-1</sup> při parciálním tlaku kyslíku 152 mmHg, což je méně než se očekávalo a nepochybně odráží přechod na aerické dýchání. Zvýšení plicní ventilace v korelaci se snižováním tlaku kyslíku, můžeme vidět v Grafu č. 6. Současně se zvyšováním počtu nádechů vzdušného kyslíku, se snižoval počet žaberních ventilací.



hladině kyslíku se zvyšoval počet vzdušných nádechů. Také aktivita larev byla vyšší při 1,5 ppm (Branche et Taylor, 1977).

Podle Griffiths et Thomas (1992) *A. mexicanum* patří mezi takzvané „oxygen conformers“, což znamená, že není schopen kompenzovat externě snížený parciální tlak kyslíku při dýchání ve vodě. Branche et Taylor (1977) ve své práci demonstrují spotřebu kyslíku při různých stadiích metamorfózy *A. maculatum*. Stadia jsou rozdělena na premetamorfické (larvální), metamorfické (začíná redukce žaber) a postmetamorfické (dýchání plícemi bez žaber). Přičemž bylo zjištěno, že tolerance k nízkým hladinám kyslíku rozpuštěného ve vodě s pokročilejším stadiem metamorfózy klesá. Nicméně v metamorfickém a postmetamorfickém stadiu jsou zvířata schopna stát se „oxygen regulators“, kteří dokáží kompenzovat externě vyvolanou změnu tlaku kyslíku ve vodě zefektivněním procesu vstřebávání kyslíku. Surýn úhořovitý - *Siren lacertina* Linnaeus, 1766 je při kyslíkovém napětí pod 80 mmHg „oxygen conformer“, ale při hodnotách vyšších než je tato se stávají „oxygen regulators“ (Ultsch, 1973 in Griffiths et Thomas, 1992). Čolek horský - *Mesotriton alpestris* (Laurenti, 1768) je schopen pomocí změn v chování při sestupné fázi ponoru kompenzovat zvýšenou spotřebu vzduchu a energetické náklady na vyplavání k hladině při vyšších teplotách. Hlavně omezením plavání ve vodním sloupci a úhlem sestupu (Šamajová et Gvoždík, 2009).

V datech prezentovaných Griffiths et Thomas (1992) nenajdeme důkaz akvatické kyslíkové regulace u axolotla mexického, i přes širokou škálu různých napětí kyslíku ve vodě. Proto jsou jakékoli kompenzace hypoxie v přirozeném prostředí řešeny pomocí nádechů vzdušného kyslíku. Jako behaviorální odpověď na hypoxii by se možná dala považovat snaha o únik z pokusné nádrže, toto chování bylo pozorováno u několika jedinců během pokusu.

Pro pochopení vlivu teploty na fungování dýchání, nesmíme opomenout různorodost dýchacích taktik a intenzitu jejich využívání při různých podmínkách. Jak už je výše uvedeno, obojživelníci mohou dýchat pomocí hned několika způsobů, mezi které patří dýchání pokožkou. To obecně u ocasatých hraje důležitou roli, což je výrazné hlavně při nízkých teplotách. U mnoha druhů hraje významnější roli při vylučování oxidu uhličitého než při vstřebávání kyslíku. Co se týče teplot a dýchání u *Ambystoma maculatum* při vyšších teplotách se zvyšuje pulmonální příjem kyslíku, a při 5 a 15 °C se zvyšuje příjem kyslíku skrz pokožku. I u tohoto druhu se v malé míře využívá buccopharyngeální dýchání, ale ve srovnání s ostatními druhy využívajícími plíce, hraje tento způsob výměny plynů velmi malou roli. Ačkoli se srdeční rytmus a tím i rychlost průtoku krve kapilárami zvyšuje ve vyšších

teplotách, vazebná kapacita kyslíku na hemoglobin obojživelníků klesá. U axolotla mexického je podle Gahlenbeck et Bartel (1970) afinita kyslíku v krvi ovlivněna teplotou více u larválního stadia než u metamorfovaných jedinců.

Zvyšující se průtok krve kapilárami proti snižující se afinitě (slučitelnosti) hemoglobinu pro kyslík (usnadňuje uvolnění  $O_2$  do tkání) by mohl být částečnou odpovědí na relativně konstantní spotřebu kyslíku pokožkou u *Ambystoma tigrinum* a *Taricha granulosa*. Toto může být zapříčiněno také množstvím kyslíku ve venózních plicních a buccopharyngeálních kapilárách. Tento parametr pak bude určovat difúzní spád kyslíku mezi kožními kapilárami a okolním vzduchem. Při vyšších teplotách se zvyšuje dýchání pomocí plic a buccopharyngeální mukózy což vede k vyššímu množství kyslíku venózní krve vracející se z plicních a buccopharyngeálních kapilár, což může být odpověď na snížený koncentrační gradient mezi kožními kapilárami a vzduchem. Toto může mít za následek již výše zmíněnou relativně konstantní spotřebu kyslíku pokožkou při vyšších teplotách (Whitford et Hutchison, 1965).

Vysoké procento  $CO_2$  vylučovaného skrz kůži u obojživelníků je pravděpodobně zapříčiněno působením několika faktorů. Koncentrace  $CO_2$  v okolním vzduchu je velmi nízká oproti množství  $CO_2$  v kutánních cévách a tudíž může snadno difundovat skrz pokožku z kutánních kapilár do okolního prostředí jako odpověď na koncentrační gradient. Oxidace hemoglobinu na oxyhemoglobin, následkem čehož se snižuje pH, odpovídá za disociaci krevních bikarbonátů a uvolňování  $CO_2$  z krevního oběhu. Příznivý koncentrační gradient a změny pH spojené s oxidací hemoglobinu způsobují uvolňování relativně velkého množství  $CO_2$  pomocí pokožky. Díky těmto faktorům má krev vracející se do plic menší koncentraci  $CO_2$  než by tomu bylo bez dýchání pokožkou. Toto by mohlo být odpovědí na nízký koncentrační gradient  $CO_2$  mezi krví plicních a vzduchem v plicích a tudíž i snížené uvolňování  $CO_2$  přes pulmonální systém (Whitford et Hutchison, 1965).

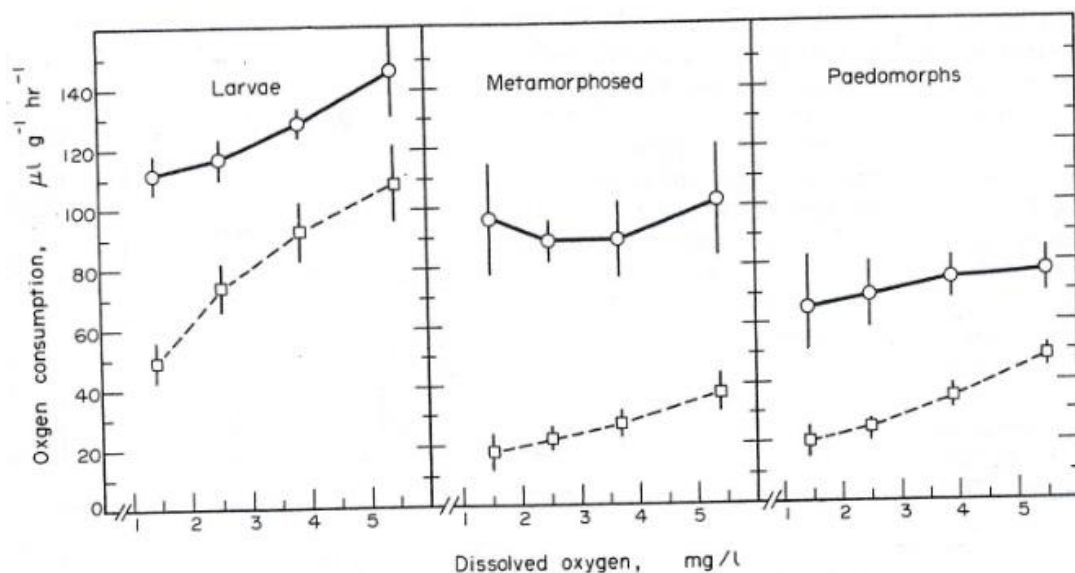
U ocasatých obojživelníků obdařených plícemi jako jsou *Ambystoma tigrinum* a *Taricha granulosa* byla tedy zjištěna spotřeba kyslíku plícemi lineárně s rostoucí teplotou, zatímco spotřeba kyslíku kůží byla víceméně na stejné hladině nezávisle na teplotě. Absorpce kůží představuje přibližně 50 % celkové spotřeby kyslíku u těchto salamandrů. Zatímco u semiakvatických plethodontidů bez plic, jako je mloček tmavobřichý - *Desmognathus quadramaculatus* (Holbrook, 1840) spotřeba kyslíku pokožkou lineárně vzrůstala s teplotou. Spotřeba kyslíku přes ústní dutinu tvořila pouze 15 % z celkové spotřeby kyslíku ve všech

teplotách. A u ostatních semiakvatických plethodontidů jako jsou např. mloček horský - *Desmognathus monticola* Dunn, 1916, mločík nachový - *Gyrinophilus porphyriticus* (Green, 1827) a mločík červený - *Pseudotriton ruber* (Latreille, 1801) dosahovala spotřeba kyslíku skrz kůži asi 85 % (Whitford et Hutchison, 1965).

Vlivem hypoxie a různých stupňů nasycení vody kyslíkem se u různých stadií *Ambystoma tigrinum* zabýval Heath (1976). Studoval respirační odpovědi u třech stadií – larev (dva roky staré), paedomorphů (neotenie) a metamorfovaných dospělců. Jedinci byli umístěni ve dvou odlišných podmínkách. V nádobě číslo 1 měli volný přístup ke vzdušnému kyslíku, kde mohli využívat kyslík z vody i ze vzduchu, metamorfovaní dospělci byli dokonce drženi v mělké vodě, aby mohli mít „čenic“ ven z vody. V nádobě číslo 2 byl zkoumaným zvířatům zamezen přístup vzdušného kyslíku, byla zcela ponořena pod vodu. Teplota vody byla  $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Pokud srovnáme celkovou spotřebu kyslíku v nádobě č. 1 s přístupem vzduchu a v nádobě č. 2 bez přístupu vzduchu, spotřeba kyslíku v nádobě č. 2 je u larev o 25 %, u paedomorfického stadia o 38 % a u metamorfovaných dospělců o celých 65 % nižší než v nádobě č. 1 viz Graf č. 7. Výrazná deprese ve spotřebě kyslíku v korelaci s množstvím kyslíku rozpuštěném ve vodě byla pozorována i u žab a sirenidae.

Graf č.7: Vliv množství kyslíku rozpuštěného ve vodě. Celková spotřeba kyslíku (kolečka, plná čára).

Spotřeba kyslíku plně ponořených *A.tigrinum* v nádobě č. 2. U všech tří foren, zleva, larvy( N =6), metamorfovaní dospělci (N=6) a paedomorphové (N=4).

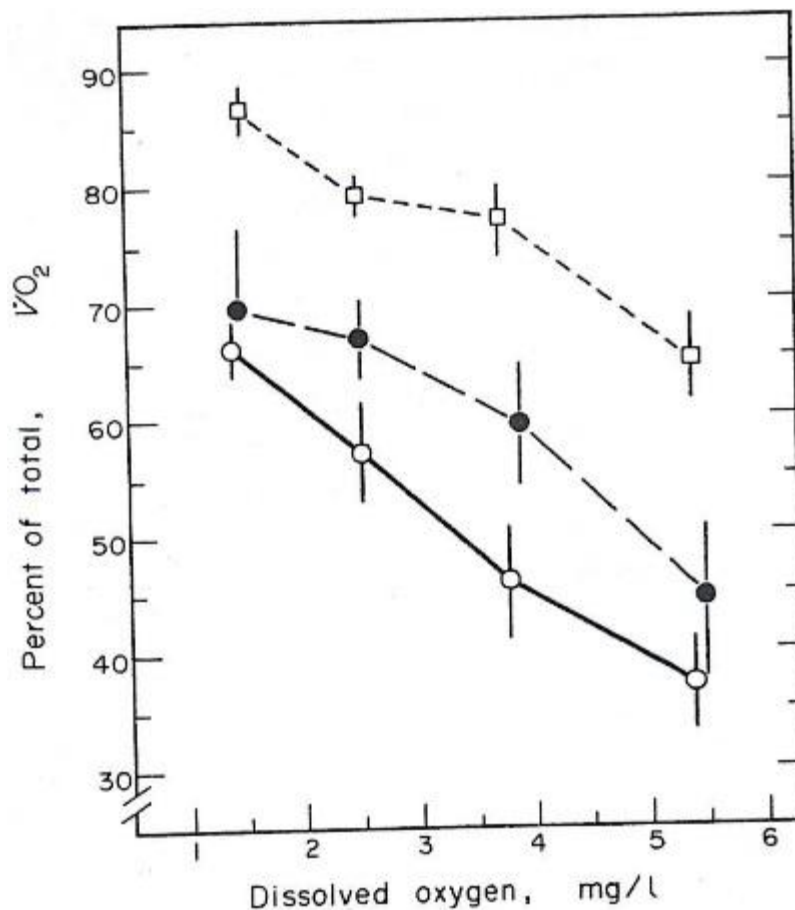


Zdroj: Heath (1976)



Snížení spotřeby kyslíku se snižující se saturací vody kyslíkem, bylo nejvýraznější u larev. Procentuelně vyjádřená spotřeba vzdušného kyslíku oproti celkové spotřebě u různých stadií v různém množství rozpuštěného kyslíku ve vodě je vyobrazena v Grafu č. 8. Při nejvyšším nasycení vody kyslíkem, použitém v této studii, vykazovali jedinci v larválním a paedomorphickém stadiu podobné hodnoty, 35 a 45 %, naproti tomu metamorfovaní dospělci využívali až z 65 % vzdušný kyslík. Se snižující se nasyceností vody kyslíkem se u všech tří forem zvyšovala spotřeba vzdušného kyslíku. Neoteničtí a metamorfovaní dospělci takto dosáhli metabolické regulace ve smyslu postupně se zvyšující závislosti na aerickém dýchání.

Graf č.8: Vliv množství kyslíku rozpuštěného ve vodě na spotřebu aerického kyslíku u larev (prázdná kolečka; N=6), metamorfovaných dospělců (čtverce; N=6) a paedomorphů (plná kolečka; N=4)

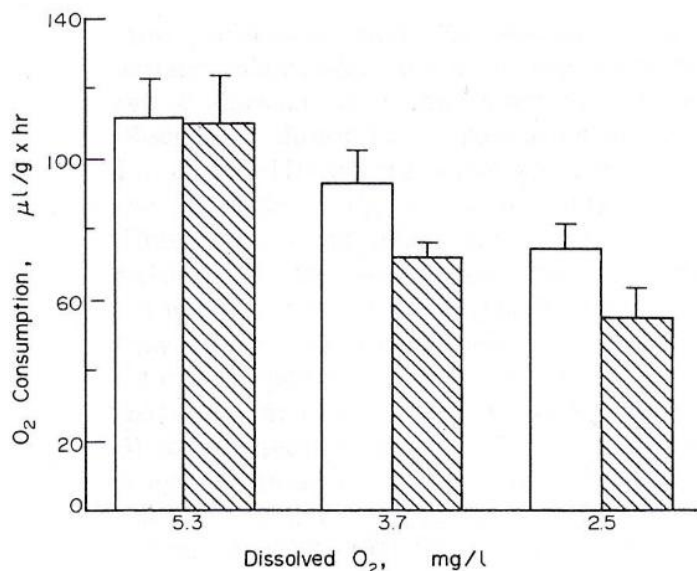


Zdroj: Heath (1976)

Při úplném potopení bez přístupu vzduchu v nádobě č. 2, všechny tři formy vykazovali snížení spotřeby kyslíku. Vytvořením těchto podmínek, paedomorphové a larvy využívali k získání kyslíku pokožku a žábry, kdežto metamorfovaní dospělci pouze pokožku. Ventilace žaberních štěrbin neoteničtých jedinců a larev byla prověřována pomocí barviva. Pozorování

neukázalo využívání jiných mechanismů. Ventilace žaberních štěrbin je tedy možná pouze pohyby těla. Význam příjmu kyslíku pomocí žaber byl zkoumán u larev, kterým byly podvázány žábry, a byli umístěni v nádobě č. 2. Spotřeba kyslíku byla stejná u jedinců s ligací (podvázáním) žaber i u jedinců bez ligace. Pouze při nízkých hladinách kyslíku se u zvířat s podvázanými žábry vyskytlo mírné snížení ve spotřebě kyslíku, viz Graf č. 9. Tato fakta naznačují, že žábry hrají svou primární roli v hypoxickém prostředí, a zdůrazňují důležitost dýchání pomocí pokožky (Heath, 1976). Paedomorphové *A. tigrinum* jsou pozoruhodně odolní vůči anoxii a jsou zřejmě schopné anaerobiózy (Rose et al., 1971 in Griffiths et Thomas, 1992).

Graf č. 9: Vliv množství kyslíku rozpuštěného ve vodě na spotřebu akvatického kyslíku v nádobě č. 2. U larev *A.tigrinum* s podvázanými žábry (N=5) a bez podvázání (šráfkování,N=5).



Zdroj: Heath (1976)

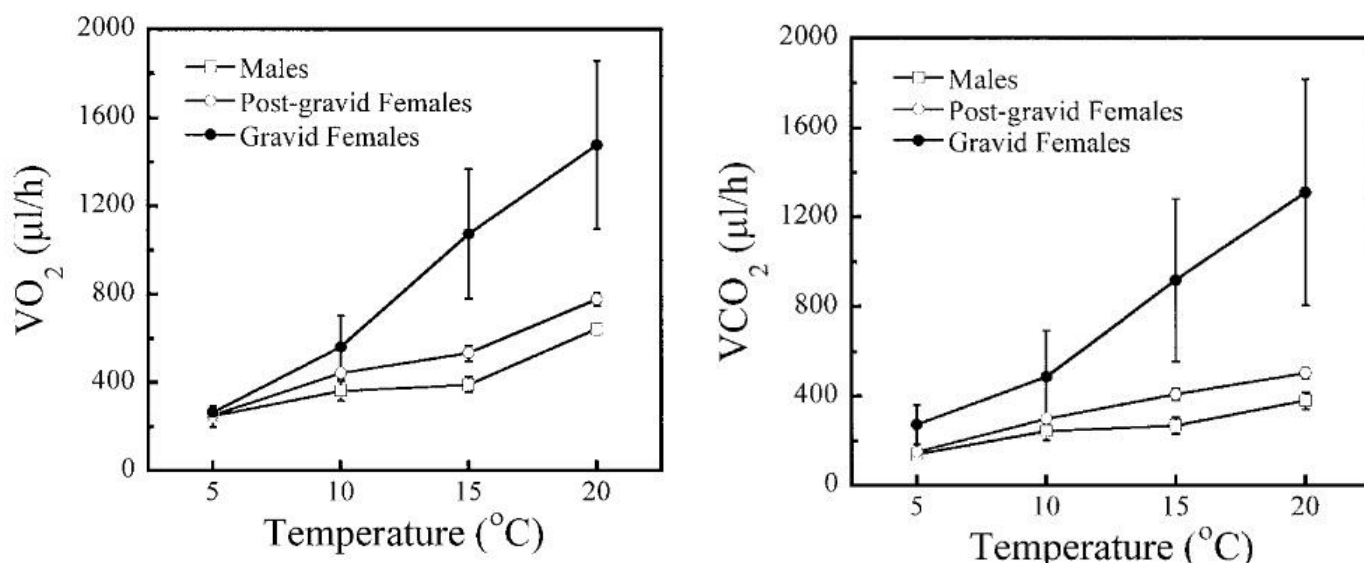
Irwin et al. (1997) se ve své práci zabýval vlivem teploty a nutričního stavu na spotřebu kyslíku u juvenilních *A. mexicanum*. K navození účinků nutričního stavu byla zvířata vystavena hladovění a normálnímu krmení po dobu tří týdnů ve stanovených teplotách – 15 °C, 20 °C a 25 °C. Hladovějící zvířata měla výrazně vyšší spotřebu kyslíku než zvířata krmená, ale pouze při 15 °C. Při 25 °C nebyl zaznamenán žádný rozdíl ve spotřebě kyslíku mezi hladovějícími a krmenými zvířaty. Tyto výsledky dokazují vliv hladovění na hospodaření s kyslíkem. Byla provedena měření dvou enzymů podílejících se na dýchání - CS, enzym oxidačního cyklu kyseliny citronové a COX, což je enzym elektronového oxidačního transportního řetězce. Specifická aktivita obou těchto enzymů vzrostla při hladovění, ačkoli aktivita COX se zvýšila zejména u hladovějících jedinců aklimatizovaných

ve studené vodě. Na základě korelace mezi zvýšenou aktivitou těchto enzymů a zvýšenou spotřebou kyslíku při hladovění ve studené vodě lze předpokládat, že *A. mexicanum* kompenzuje nedostatek potravy zefektňováním oxidačního metabolismu. Důvod rozdílné citlivosti CS a COX na teplotu je neznámý. Možná, že třítydenní doba určená pro průběh pokusu nebyla dostatečně dlouhá pro projev vyšší citlivosti na teplotu u CS. Současně se zkoumáním těchto enzymů byla monitorována aktivita enzymu glykolýzy LDH, ale nebyla zaznamenána žádná odpověď na sníženou teplotu nebo hladovění. Co se týče lipidů a mastných kyselin, byl zaznamenán výrazný úbytek, což potvrzuje význam lipidů při udržování metabolismu za snížených kalorických příjmů. Orientaci na využívání lipidů jako hlavního zdroje energie u postgravidních samic a samců příbuzného axolotla drobnoústého - *Ambystoma texanum* (Matthes, 1855) prezentuje ve své práci i Finkler (2006). Velká část zvýšené klidové spotřeby kyslíku tedy může být důsledkem oxidace lipidů zajišťujících udržení metabolismu (Irwin et al., 1997).

Finkler (2006) se zabýval vlivem teploty, pohlaví a gravidity na metabolismus *Ambystoma texanum*, který je blízce příbuzný *A. mexicanum*.

Rychlost a nároky metabolismu axolotlů pářících se na jaře může být rozdílné v závislosti na pohlaví a reprodukčním stavu (Finkler, 2006). Bylo prokázáno, že u gravidních samic mločka šedavého - *Desmognathus fuscus* (Green, 1818) se zvýšila spotřeba kyslíku oproti samcům při teplotě 15 °C než při 5 °C. Následně Finkler (2006) ve své práci srovnával vliv teploty, pohlaví a gravidity na metabolismus *Ambystoma texanum*. Byla měřena spotřeba kyslíku a produkce CO<sub>2</sub> při teplotách 5 °C, 10 °C, 15 °C a 20 °C ve třech pozorovaných skupinách – samci, post-gravidní samice a gravidní samice. U gravidních samic byl zjištěn výrazný rozdíl v metabolických nárocích oproti samcům a post-gravidním samicím. Jak je vidět na Grafu č. 10, spotřeba kyslíku a produkce CO<sub>2</sub> se u všech skupin zvyšuje se zvyšující se teplotou. Rapidní rozdíl mezi gravidními samicemi a ostatními dvěma skupinami je dobře patrný v 15 °C a 20 °C. Je zřejmé, že vliv gravidity na metabolismus klesá s klesající teplotou, zejména spotřeba kyslíku v 5 °C je pouze o 4 % vyšší než u post-gravidních samic.

Graf č. 10: Vliv teploty na spotřebu O<sub>2</sub> a produkci CO<sub>2</sub> u samců (čtverec), post-gravidních samic (prázdná kolečka) a gravidních samic (plná kolečka).



Zdroj: (Finkler, 2006)

Tento fakt naznačuje, že citlivost na teplotu je u gravidních samic mnohem vyšší než u samců a post-gravidních samic. Tato citlivost se odráží také v hodnotách Q<sub>10</sub>, které jsou u gravidních samic mnohem vyšší než u samic post-gravidních a samců, jejichž Q<sub>10</sub> odpovídá standardním hodnotám pro tyto obojživelníky.

Vliv teploty na metabolismus axolotlů Finkler (2006) prezentoval pomocí hodnot RQ (Respiratory quotient), který vychází z měření spotřeby O<sub>2</sub> a produkce CO<sub>2</sub> podle vzorce:

$$RQ = \text{CO}_2 \text{ produkovaný} / \text{O}_2 \text{ spotřebovaný}$$

RQ gravidních samic byl značně vyšší než kvocient obou ostatních skupin, viz Tab.č. 1. Obecně, pokud se hodnota RQ u metabolicky vyváženého organismu pohybuje od 1,0 výš, jsou více využívány sacharidy, pokud se hodnota pohybuje do 0,7, organismus více spoléhá na lipidy, jako na primární zdroj energie. To naznačuje, že gravidní samice využívají více sacharidy jako hnací látku pro jejich metabolismus, na rozdíl od samců a post-gravidních samic, kteří se více soustřeďují na využití lipidů. Tyto výsledky, byly v rozporu s Finklerovou předchozí prací (2002), kdy byly hodnoty RQ všech tří skupin kolem 0,9. Tento pokus byl ovšem realizován v pouhých dvou dnech na rozdíl od této studie, kdy bylo časové rozmezí prodlouženo na šest dní. Finkler (2006) se domnívá, že rozdílné výsledky mohly vzniknout díky vyšší endokrinní aktivitě samic nebo lepšímu návyku zvířat na manipulaci během měření a tím i snížení stresového faktoru. Další možností, která by mohla ovlivnit hodnoty RQ je

endokrinní aktivita. Jedná se především o vliv steroidního hormonu kortikosteron, který je produkován kůrou nadledvin. Tento hormon se podílí na hospodaření s glukosou a vyšší hladina kortikosteronu by mohla ovlivnit katabolismus glykogenu a bílkovin a tím i zvýšit RQ. Bylo zjištěno, že samice *Ambystoma maculatum* vstupující do chovného bazénu má vyšší obsah kortikosteronu v plazmě, ačkoli při opouštění bazénu byla hladina kortikosteronu stejně vysoká u obou pohlaví. Proto je možné, že kortikosteron může mít souvislost s vyšší RQ u gravidních samic (Homan et al., 2003 in Finkler, 2006).

Tab. č. 1 : RQ při různých teplotách u samců, post-gravidních samic a gravidních samic.

Group	5°C	10°C	15°C	20°C
Males	0.6	0.7	0.7	0.6
Postgravid females	0.6	0.7	0.8	0.6
Gravid females	1.0	0.9	0.9	0.9

Zdroj: Finkler (2006)

Tyto výsledky naznačují, že teplota může značně ovlivňovat rozdílné náklady samců a samic na reprodukci. Tento vliv může být indikován několika faktory jako je potřeba migrace, doba ukončení hibernace, riziko zmrznutí během migrace nebo zvýšené nároky na metabolismus, kvůli vývoji vajec u gravidních samic.

Další faktor ovlivňující spotřebu kyslíku ektotermů studoval Degani et al. (1988), který se zabýval vlivem hmotnosti na spotřebu kyslíku u úhoře říčního - *Anguilla anguilla* (Linnaeus, 1758). Podle jeho výsledků má hmotnost a velikost vliv na spotřebu kyslíku, kdy menší jedinci s nižší hmotností vykazovali nižší spotřebu kyslíku než větší a těžší subjekty.

## 4 Materiál a metody

V praktické části této bakalářské práce byli k pokusu použiti jedinci získaní od dvou českých chovatelů. Jedná se o 6 samců a 6 samic. Zvířata jsou pohlavně dospělá, po prvním páření, samice po první snůšce. Ke dni 10. 02. 2012 nejevili známky pokusů o páření, zduřelost samčích kloak je patrná. Jedinci byli rozděleni do dvou skupin, kdy první skupina A obsahuje 3 samce a 3 samice, kteří jsou během měření odděleně umístění ve dvou akváriích o rozměrech 55x34x28 cm a objemu 50 l, osvětlené zářivkami SUN GLO 61 cm, bez vzduchování. Ve skupině B je stejný počet jedinců držných ve stejných podmínkách jako ve skupině A. Váha a délka pokusných zvířat je uvedena v Tabulce č. 2.

Tab. č. 2: Hmotnost a délka těla pokusných *A. mexicanum*.

<b>SKUPINA A</b>	<b>samice</b>	váha v g	délka v cm	<b>samci</b>	váha v g	délka v cm
	<b>1.</b>	60	17	<b>1.</b>	70	18,5
	<b>2.</b>	70	19	<b>2.</b>	70	19,5
	<b>3.</b>	70	18,5	<b>3.</b>	65	19
<b>SKUPINA B</b>	<b>1.</b>	100	20	<b>1.</b>	50	18
	<b>2.</b>	85	20,5	<b>2.</b>	70	20,5
	<b>3.</b>	80	22	<b>3.</b>	70	20

V každém akváriu jsou tedy 3 zvířata, která si potravně nekonkurují a nenapadají se, čímž se zamezuje vedlejším vlivům, které by mohly pokus ovlivnit. Samci a samice jsou separováni, aby nedošlo k behaviorálním aktivitám, které jsou podle Park (2004) vyvolávány pachy vylučovanými jedinci opačného pohlaví do okolního prostředí. Tato aktivita se projevuje u samců a mohla by ovlivnit pozorování. Zvířata jsou udržována v akvatickém prostředí a během pokusu jim nebyly podávány žádné látky, které by způsobovalo jejich přeměnu v terestrické formy, ani krmivo tyto látky obsahující. K simulaci denního režimu je použit systém světlo/tma – 12/12 hodin (od 7:00 – 19:00 světlo, od 19:00 – 7:00 tma) a je regulován pomocí digitálního časovače (DH - 7). Jedná se o karanténní akvárium, bez dna, rostlin nebo dalších živočichů. Axolotlové jsou umístěni v pokusných podmínkách od 10. 02. 2012. Výměna vody, cca 1x týdně, krmení 2x - 3x týdně (mrtvé rybky, *Zophobas morio* (Kraatz, 1880), cvrček steplní - *Gryllus assimilis* (Fabricius, 1775), nítěnky *Tubifex* spp. (Lamarck, 1816), kuřecí maso, hovězí srdce, lisované krmivo Sera reptile Professional Carnivor). Ovšem po dobu pokusu byli všichni jedinci krmeni pouze hovězím srdcem v pravidelných

intervalech, večer před zahájením pokusu, po ukončení druhého měření a po ukončení třetího měření. Zvířata nehladověla, jelikož to podle Irwina et al. (1997) ovlivňuje spotřebu kyslíku ve studené vodě, což by mohlo mít vliv na frekvenci nádechů. Tímto je pro axolotla mexického *Ambystoma mexicanum* (Shaw and Nodder, 1798) vytvořeno prostředí, v němž uplatňuje dýchání vzdušného kyslíku (vyplavání k hladině a polknutí vzdušného kyslíku) (Griffiths et Thomas, 1992). Měření frekvence nádechů probíhá nejprve ve  $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  a poté v  $11\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Tyto teploty se všeobecně používají při chovu, teplota kolem  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  se považuje za ideální při chovu těchto obojživelníků (Kocourek et Modrý, 2000). Teplotu kolem  $11\text{ }^{\circ}\text{C}$  jsem zvolila jako kompromis mezi teplotami vhodnými k zazimování. Kocourek et Modrý (2000) uvádějí  $5\text{ }^{\circ}\text{C} - 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ , jiné zdroje uvádějí až  $12\text{ }^{\circ}\text{C} - 14\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Clare, 2010). Provedla jsem tři měření po třech hodinách u každé skupiny, tři v teplé a tři ve studené vodě. Měření probíhala obden, kolem poledne, což je období, při kterém se rychlost metabolismu nejvíce blíží klidovému stavu (Irwin et al., 1997) v rozmezí od 10:30 – 13:30 hodin. Vždy je zaznamenána přesná teplota při konkrétním měření. K měření nebyly použity žádné přístroje, prováděla jsem ho osobně, vizuálním pozorováním. Při každém nádechu vzdušného kyslíku jsem zaznamenala konkrétní čas u každého zvířete. Na jehož základě byl vypracován počet nádechů za hodinu. Žádné zvíře nezemřelo během tohoto pokusu.

## 5 Výsledky

Za frekvenci nádechů označujeme průměrný počet nádechů za hodinu.

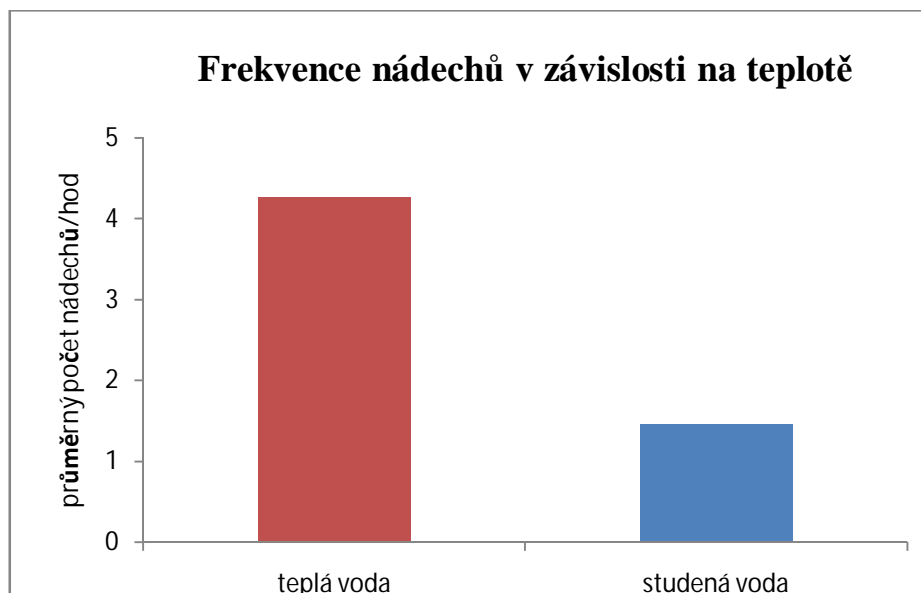
Výsledky měření byly zpracovány ve dvoufaktorovém programu ANOVA viz Tab. č. 4. Zde můžeme vidět, že teplota a pohlaví mají statisticky prokazatelný vliv na frekvenci aerických nádechů *A. mexicanum*. Přičemž vliv teploty je velmi výrazný. Nicméně, statistický vliv kombinace teploty a pohlaví není prokazatelný.

Tab. č. 3: Hladina významnosti počítaná metodou ANOVA.

<b>Faktor</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
teplo	18,730	0,000
pohlaví	7,729	0,007
teplo*pohlaví	2,763	0,101

Frekvence nádechů u zvířat aklimatizovaných v teplé vodě byla výrazně vyšší, než ve studené, viz Graf č. 11 a 12.

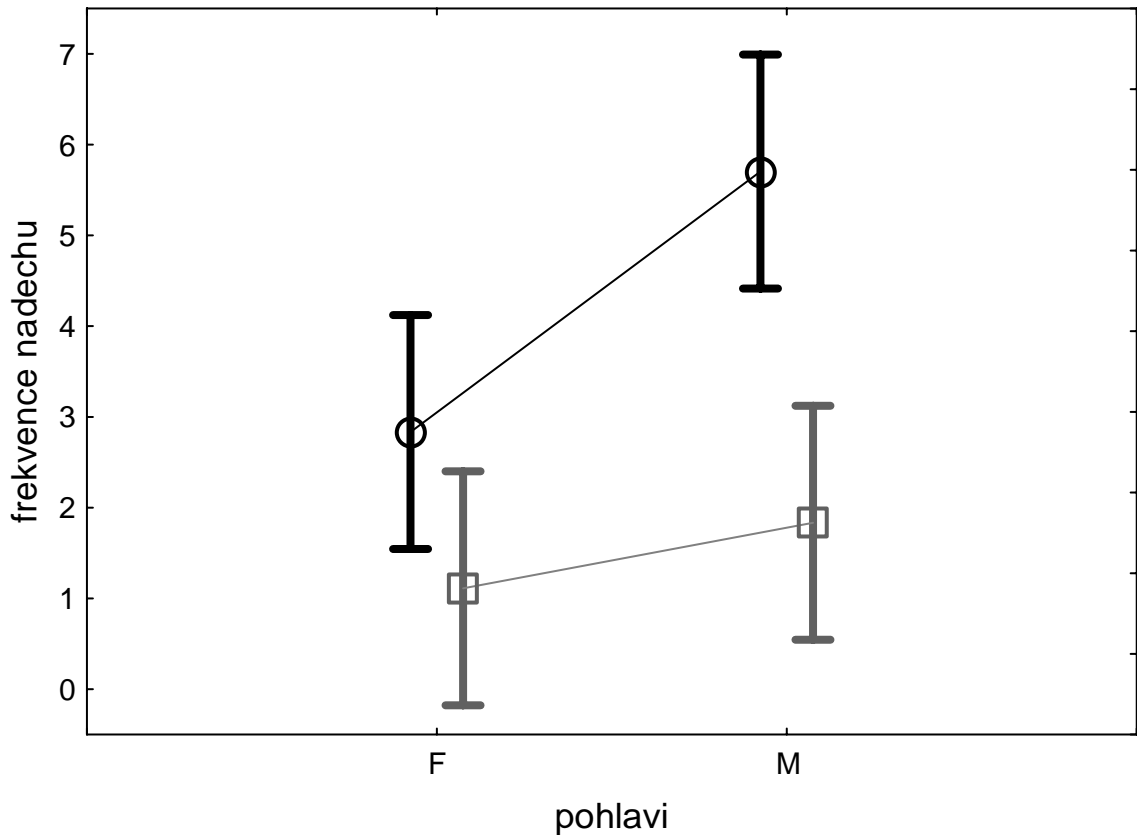
Graf č. 11: Frekvence nádechů v závislosti na teplotě.



Na Grafu č. 12 je patrná výrazná závislost frekvence nádechů na pohlaví .

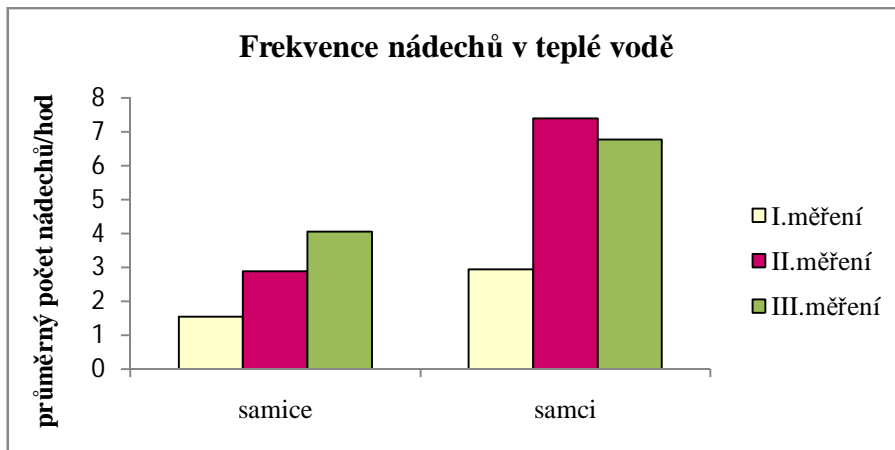


Graf č. 12: Graf závislosti frekvence nádechů na teplotě a pohlaví. F = samice, M = samci, teplá voda (kolečka), studená voda (čtverce).

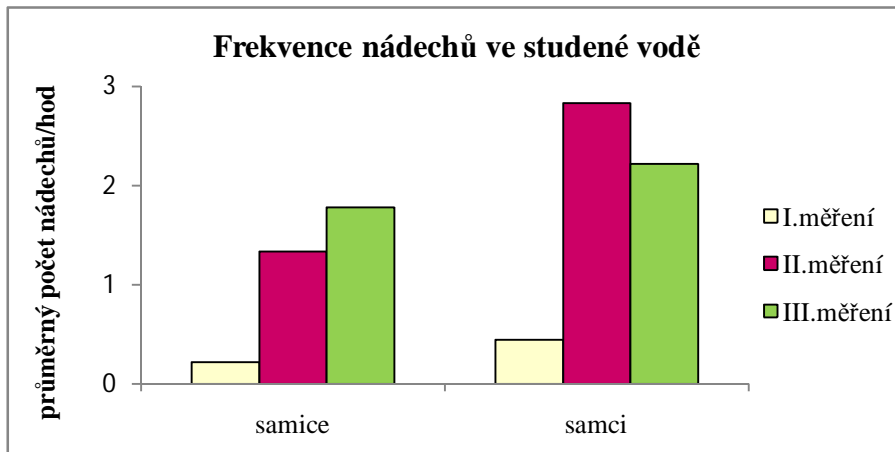


Také frekvence nádechů při měřeních se mění. U obou pohlaví je zřejmá nejnižší frekvence nádechů při prvním měření. Tento trend je zvláště výrazný u samců viz Graf č. 13 a 14. Rozdíl patrný mezi samicemi a samci je v druhém měření, kdy samci vykazují vyšší frekvenci nádechů než při třetím měření. Ale tyto rozdíly jsou nepatrné, zvláště v teplé vodě (Graf č. 13). Pro celkový nadhled byl vypracován Graf č. 15 z průměrného počtu nádechů všech zvířat při různých měřeních a teplotách. Zde je vidět markantní zvýšení počtu nádechů ve II. a III. měření oproti I. měření. Ve II. a III. měření je rozdíl minimální.

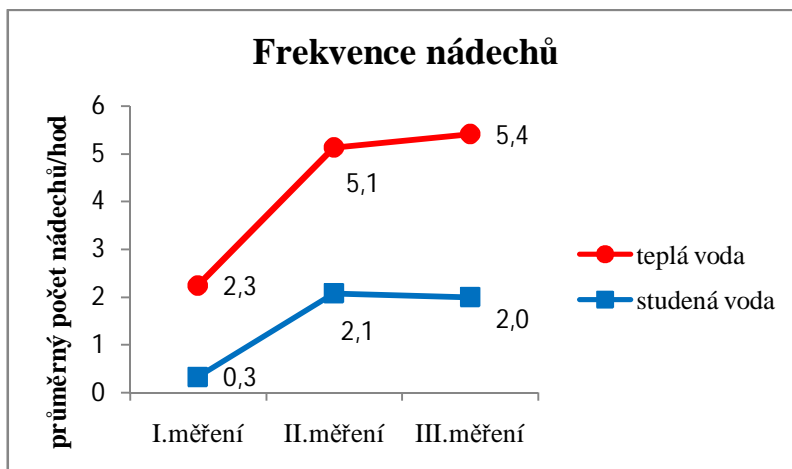
Graf č. 13: Frekvence nádechů v teplé vodě při různých měřeních u samic a samců.



Graf č. 14: Frekvence nádechů ve studené vodě při různých měřeních u samic a samců.

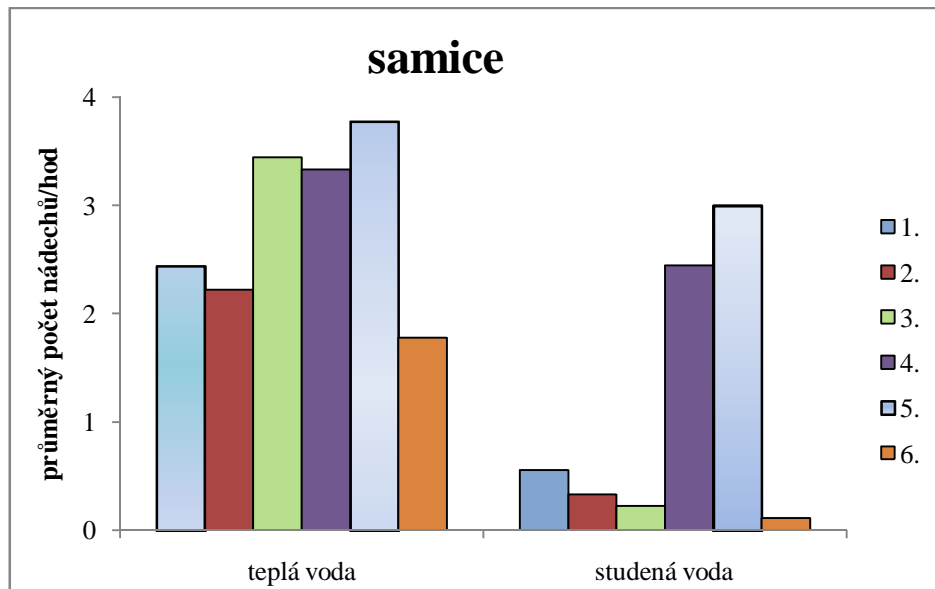


Graf č. 15: Frekvence nádechů při různých měřeních v obou teplotách.

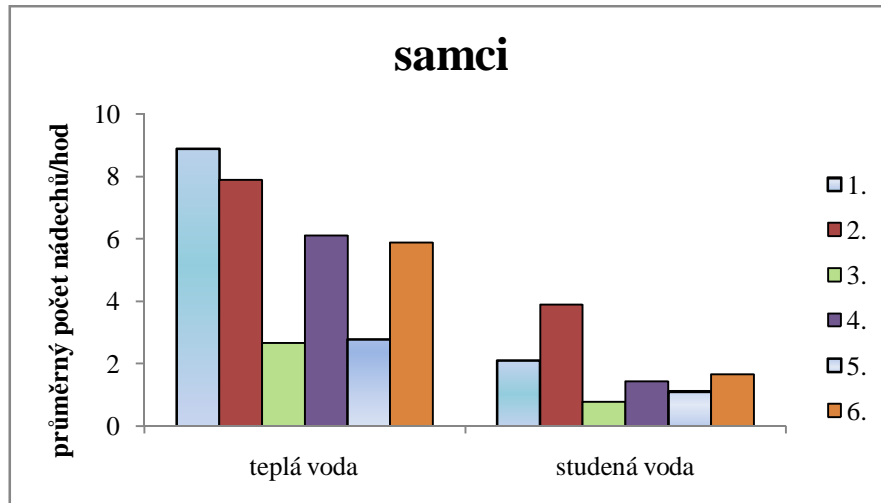


U některých samců byla pozorována nárazová vyšší aktivita, spojená s vyšší frekvencí aerických nádechů. Počet nádechů u jednotlivých zvířat byl velmi individuální viz Graf č. 16 a 17.

Graf č. 16: Frekvence nádechů jednotlivých samic v teplé a studené vodě.



Graf č. 17: Frekvence nádechů u jednotlivých samců teplé a studené vodě.



Počet nádechů a hmotnost pokusných zvířat naleznete v tab. č. 5 a 6.

Tab.č. 5: Počet nádechů/hod u obou pohlaví v teplé vodě  
a hmotnost.

teplá voda				teplá voda			
samice	váha (g)	počet nádechů/hod	přiřazení	samci	Váha (g)	počet nádechů/hod	přiřazení
1.	100	3,3	1B	1.	70	5,9	3B
2.	85	3,8	2B	2.	70	2,8	2B
3.	80	1,8	3B	3.	70	7,9	2A
4.	70	3,4	3A	4.	70	8,9	1A
5.	70	2,2	2A	5.	65	2,7	3A
6.	60	2,4	1A	6.	50	6,1	1B

Tab.č. 6: Počet nádechů/hod u obou pohlaví ve studené vodě

studená voda				studená voda			
samice	Váha (g)	počet nádechů/hod	přiřazení	samci	Váha (g)	počet nádechů/hod	přiřazení
1.	100	2,4	1B	1.	70	1,7	3B
2.	85	3,0	2B	2.	70	1,1	2B
3.	80	0,1	3B	3.	70	3,9	2A
4.	70	0,2	3A	4.	70	2,1	1A
5.	70	0,3	2A	5.	65	0,8	3A
6.	60	0,6	1A	6.	50	1,4	1B

## 6 Diskuze

V praktické části této bakalářské práce byla prokázána pozitivní korelace mezi teplotou a počtem aerických nádechů. Důvodů, které by mohly vysvětlovat vyšší frekvenci aerických nádechů v teplé vodě je hned několik. Mezi nejzákladnější patří fakt, že se zvyšující se teplotou vzrůstá rychlost metabolismu obojživelníků, což má za následek zvýšení enzymatické aktivity a spotřeby kyslíku (Fuhrman et Fuhrman, 1958; Rome et al., 1992). Při pokusu Griffithse et Thomase (1992) *A. mexicanum* vykazovala nižší spotřebu akvatického kyslíku při vyšší teplotě. Tento fakt může souviset s nižší dostupností akvatického kyslíku v teplé vodě, způsobenou nižší rozpustností kyslíku. Whitford et Hutchison (1965) zjistili měřením, že se zvyšující se teplotou roste podíl pulmonálního dýchání u *A. tigrinum* a *T. granulosa*.

Při pokusu v rámci této bakalářské práce byl patrný rozdíl ve frekvenci vzdušných nádechů v prvním měření, oproti ostatním. Tento rozdíl byl pravděpodobně způsoben snížením množství kyslíku rozpuštěného ve vodě v druhém a třetím měření. Zvýšení počtu aerických nádechů doprovázené nižší spotřebou kyslíku a nižší žaberní ventilací, při snižující se tenzi kyslíku ve vodě u *A. mexicanum* pozoruje ve své práci Griffiths et Thomas (1992). Pro srovnání jsou v této práci poskytnuta pouze data o pulmonálním dýchání. Nicméně při pokusu McKenzie et Taylor (1996), byli axolotlové umístěni v podobných podmínkách jako v této bakalářské práci při aklimatizaci v teplé vodě. Krom častějšího krmení, ale tento rozdíl by při této teplotě neměl mít výrazný vliv na spotřebu kyslíku a pravděpodobně i na počet vzdušných nádechů (Irwin et al., 1997). Počet nádechů při normoxii, které ve své práci prezentují McKenzie et Taylor (1996) jsou přibližně 3 nádechy/hod, výsledky této práce poskytují hodnotu 2 nádechů/hod v prvním měření. Při hypoxii ( $3,0 \pm 0,1$  kPa) McKenzie et Taylor (1996) naměřili asi 11 nádechů/hod, v této studii se průměrný počet nádechů ve druhém a třetím měření pohyboval mezi 5 a 6 nádechy/hod. Na základě těchto dat, se domnívám, že v prvním měření se parciální tlak pohyboval v normoxii. Možná bylo množství kyslíku o něco málo vyšší než u McKenzie et Taylor (1996). Počet nádechů kolem 5 ve druhém a třetím měření je shodný s výsledky Griffiths et Thomas (1992) při parciálním tlaku kyslíku 6 -7 kPa. Snížení množství  $O_2$  ve vodě, mohlo vzniknout na základě vyššího znečištění vody a spotřeby kyslíku zvířaty. Zvýšení frekvence aerického dýchání mohlo být částečně způsobeno i hromaděním  $CO_2$  produkovaného zvířaty. U některých bimodálně dýchajících ryb, hyperkarbie vedla k přechodu na plicní dýchání, důvodem této změny může

být vytvoření podmínek příznivějších pro aerickou výměnu CO<sub>2</sub> (Hughes et Singh, 1971 in Griffiths et Thomas, 1992). Nicméně, v tomto pokusu nejsou k dispozici data o množství CO<sub>2</sub> ve vodě, a tudíž je tato hypotéza neprokazatelná. K částečnému vyrovnání těchto nežádoucích vlivů došlo mezi druhým a třetím měřením při výměně poloviny vody, což vedlo k obohacení prostředí o kyslík a snížení množství CO<sub>2</sub> vyprodukovaného zvířaty.

Jedinci v tomto pokusu nevykazovali žádnou spojitost mezi hmotností na frekvenci aerického dýchání, bohužel toto tvrzení není statisticky podloženo. Podle Degani et al. (1988) má hmotnost vliv na spotřebu kyslíku u úhoře říčního - *Anguilla anguilla* (Linnaeus, 1758). S vyšší hmotností se snižuje spotřeba O<sub>2</sub>.

V této bakalářské práci byla naměřena prokazatelně rozdílná frekvence nádechů vzdušného kyslíku mezi samicemi a samci. Dle naměřených výsledků samci vykazovali vyšší frekvenci aerických nádechů než samice, patrnou zejména v teplé vodě. Pokus byl prováděn v časovém období, které je typické pro rozmnožování *A. mexicanum* v zajetí i ve volné přírodě. Tento druh se rozmnožuje v laboratorních podmínkách při teplotě kolem 20 °C, která odpovídá teplotě vody, ve které byl naměřen prokazatelný rozdíl mezi frekvencí nádechů. Během páření jsou samci aktivnější a lákají samici pohyby ocasu a plaváním (Clare, 2010). Vzhledem k tomu, že se jedná o pohlavně dospělá zvířata, mohly by tyto faktory sehrát určitou roli v naměřených výsledcích. Po skončení pokusu byla zvířata umístěna do společné nádrže, kde se začala množit. Podle informací od chovatele, který mi poskytl pokusná zvířata se ostatní, stejně staří *A. mexicanum*, které chová, začali množit v druhé polovině února 2012 (Roman Blažek, III. 2012, pers. comm.). Také samec, kterého jsem zakoupila u tohoto chovatele, se začal v tomto období pářit. Nicméně, tento samec neprodělal předchozí aklimatizaci ve studené vodě (zazimování), která by měla nastartovat rozmnožovací cyklus. Na základě tohoto faktu usuzuji, že samci a pravděpodobně i samice byli pohlavně připraveni k páření již při měření v teplé vodě. Domnívám se, že zvýšená frekvence nádechů u samců by mohla být zapříčiněna zvýšením aktivity a neklidem spojeným s připraveností na období páření. U samců byla také pozorována nárazová vyšší aktivita, spojená s vyšší frekvencí nádechů hlavně v teplé vodě. Spotřebou kyslíku v závislosti na pohlaví a graviditě se zabýval Finkler (2006), který prováděl pokusy na *A. texanum*.

Podle jeho výsledků byla spotřeba kyslíku u samců a post-gravidních samic stejná. Nicméně, prokazatelný rozdíl se vyskytl u gravidních samic, které vykazovaly vyšší spotřebu kyslíku i RQ (viz kap. Vliv teploty a jiných faktorů na dýchání) spojenou s vyšší citlivostí na teplotu.

Domnívám, že potenciál vytvořený touto bakalářskou prací by mohl dát impuls k podrobnějšímu prozkoumání spotřeby kyslíku u samců v období páření, samců mimo reprodukční sezonu, post-gravidních samic a gravidních samic v rozmezí různých teplot.

Jako teploty, ve kterých by mohla probíhat měření navrhuji 5 °C, 10 °C, 15 °C, 20 °C a 25 °C, jelikož pokrývají rozmezí teplot vhodných pro chov. Doporučuji delší aklimatizaci v těchto teplotách při konstantním množství kyslíku rozpuštěném ve vodě. Měření by měla být kratší a mělo by jich být více. Pokusným zvířatům by měl být umožněno využívání vzdušného kyslíku a měla by být v oddělených nádržích. Navrhuji změřit spotřebu kyslíku a produkci CO<sub>2</sub> u všech zvířat.

## 7 Závěr

Ze získaných výsledků lze vyvodit ty závěry:

- Frekvence aerických nádechů je závislá na teplotě. Při teplotě 11°C byla prokázána nižší frekvence nádechů než při 20 °C.
- Pohlaví má prokazatelný vliv na frekvenci aerických nádechů. Samci vykazují vyšší frekvenci nádechů než samice. Což je nový poznatek zjištěný u tohoto druhu.
- Kombinace dvou faktorů, pohlaví a teploty vody, neměla prokazatelný vliv na frekvenci aerických nádechů.



## 8 Seznam literatury

- BARTLETT P., 2003: Axolotl. In: Bartlett P. [ed.]: Reptiles et Amphibians For Dummies. – Wiley Publishing, Inc., Indianapolis, Indiana: 2 strany.
- BORLAND S., 2000: Practical Axolotl. - Axolotl Newsletter 28: 17 – 21.
- BRANCH L. C. et TAYLOR D. H., 1977: Physiological and behavioral responses of larval spotted salamanders (*Ambystoma maculatum*) to various concentrations of oxygen. - Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology 58/3, 269 – 274.
- BURTON M. et BURTON R., 1970: Axolotl. In: Burton M. et Burton R. [eds.]: The international wildlife encyclopedia. – Marshall Cavendish Corporation, Tarrytown, New York: Volume 1, 109 - 110
- COLEMAN C. M. et HESSLER A. C., 1997: Thyroxine Induced Metamorphosis in a Neotenic Axolotl (*Ambystoma mexicanum*): Gills, Lungs, and Capillaries. – Axolotl Newsletter 26, 4 – 10.
- DEGANI G., GALLAGHER M. L., MELTZER A., 1988: The influence of body size and temperature on oxygen consumption of the European eel, *Anguilla anguilla*. – J. Fish Biol. 34, 19-24.
- DENOËL M., MATHIEU M., PONCIN P., 2005: Effect of water temperature on the courtship behavior of the Alpine newt *Triturus alpestris*. – Behav Ecol Sociobiol 58, 121–127.
- FINKLER M. S., 2006: Effects of Temperature, Sex, and Gravidity on the Metabolism of Small-Mouthed Salamanders, *Ambystoma texanum*, during the Reproductive Season. - Journal of Herpetology 40/1, 103 – 106.
- FUHRMAN G. J. et FUHRMAN F. A., 1959: Oxygen consumption of animals and tissues as a function of temperature. – JGP 42/4, 715 – 722.
- GRIFFITHS H. et THOMAS D. H., 1992: Aquatic oxygen conformity in teh mexican axolotl, *Ambystoma mexicanum*. - Herpetological Journal 2, 1-4.

- GRIFFITHS R. A., GRAUE V., BRIDEL I. G., 2003: Axolotls of Lake Xochimilco: The Evolution of a Conservation Programme. – *Axolotl Newsletter* 30, 12 – 18.
- GAHLENBECK H. et BARTELS H., 1970: Blood gas transport properties in gill and lung forms of the axolotl (*Ambystoma mexicanum*). – *Respiration Physiology* 9/2, 175 – 182
- INDIVIGLIO F., 2006: Mexican axolotl (*Ambystoma mexicanum*). In: Indiviglio F.[ed.]: Everything aquarium book: All you need to build the aquarium your dreams. – F+W Publications, Inc., Avon, U.S.A: 177 - 178
- IRWIN L. N., TALENTINO K. A., CARUSO D. A., 1998: Effect of fasting and thermal acclimation on metabolism of juvenile axolotls (*Ambystoma mexicanum*). – *Experimental Biology Online* 3/1, 1 – 11.
- KOCOUREK I. et MODRÝ D., 2000: Obojživelníci v teráriích. – Ratio, Praha: 95, ISBN: 80-902312-6-8
- MCKENZIE D. J. et TAYLOR E. W., 1996: Cardioventilatory responses to hypoxia and NaCN in neotenus axolotl. – *Respiration Physiology* 106, 255 – 262
- PAGE R. B., VOSS S. R., SAMUELS A. K., SMITH J. J., PUTTA S., BEACHY CH. K., 2008: Effect of thyroid hormone concentration on the transcriptional response underlying induced metamorphosis in the Mexican axolotl (*Ambystoma*). – *BMC Genomics* 9.
- PARK D., MCGUIRE J. M., MAJCHRZAK A. L., ZIOBRO J. M., EISTHEN H. L., 2004: Discrimination of conspecific sex and reproductive condition using chemical cues in axolotls (*Ambystoma mexicanum*). – *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology* 190/5, 415 – 427.
- PERRY S. F., 2011: Respiratory Responses to Hypoxia in Fishes. In: Farrell A. P.[ed.]: Encyclopedia of Fish Physiology. – Elsevier Inc., 1751-1756, ISBN: 978-0-08-092323-9.
- PLACHÝ J. et HORÁČEK J., 1975: Dýchání larev axolotla mexického. – *Živa* 2, 71 – 73.

ROME L. C., STEVENS E. D., JOHN-ALDER H. B., 1992: The influence of temperature and thermal acclimation on physiological function. In: Feder M. E., Burggren W. W. [eds.]: Environmental physiology of the amphibians. – University of Chicago Press, Chicago, 183 – 205.

ŠKARYDOVÁ O., 1957: Axolotl a jeho metamorfosa v dospělé formu. – Živa 3, 111 – 114.

WALLAYS H., 2000: Raising Metamorphosed Juveniles . – Axolotl Newsletter 28, 10 – 16.

WHITFORD W. G. et HUTCHISON V. H., 1963: Gas exchange in salamanders. – Physiological Zoology 38/3, 228 – 242.

WOOD S. C., 1980: Adaption fo Red Blood Cell Function to Hypoxia and Temperature in Ectothermic Vertebrates. – American Zoologist 20/1, 163 – 172.

Online:

ZAMBRANO L., REIDL P. M., McKAY J., GRIFFITHS R., SHAFFER B., FLORES-VILLELA O., PARRA-OLEA G., WAKE D., 2010. *Ambystoma mexicanum*. [online] In: IUCN 2011. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.2. . [cit. 2012-03-29] Dostupné z <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>.

CLARE J. P. Axolotls. Axolotls [online]. 1999 – 2010.[cit. 2012-03-20]. Dostupné z <http://www.axolots.org>.

ZICHA O., HRB J., MAŇAS M., NOVÁK J. Systém. Biolib [online]. 1999 – 2011. [cit. 2012-03-28]. Dostupné z <http://www.biolib.cz>.

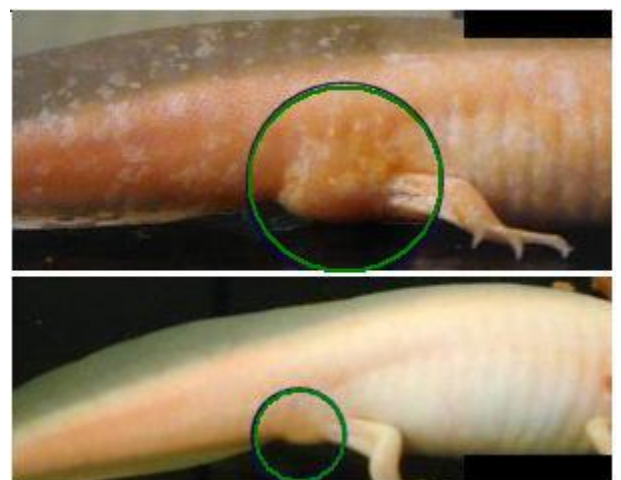
## 9 Samostatné přílohy



Obrázek 1 : Přírodní forma *A. mexicanum*.

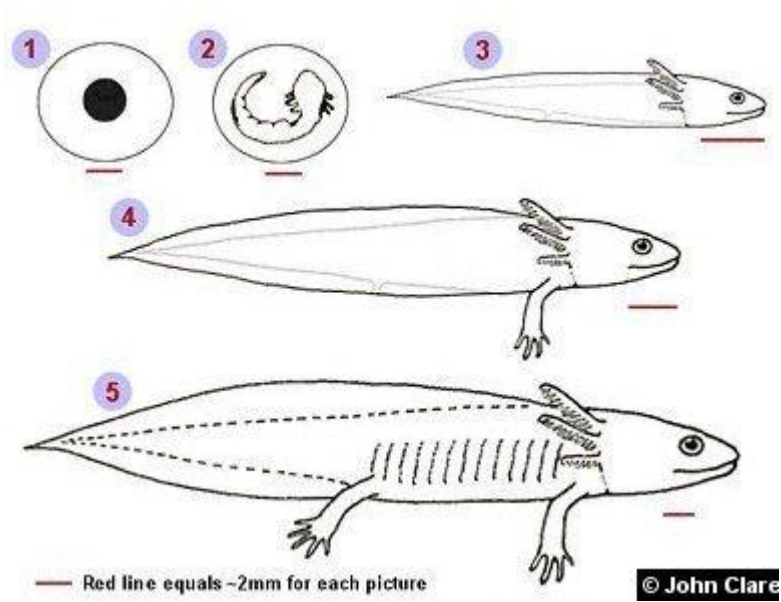


Obrázek 2: Znak pohlavní dospělosti.



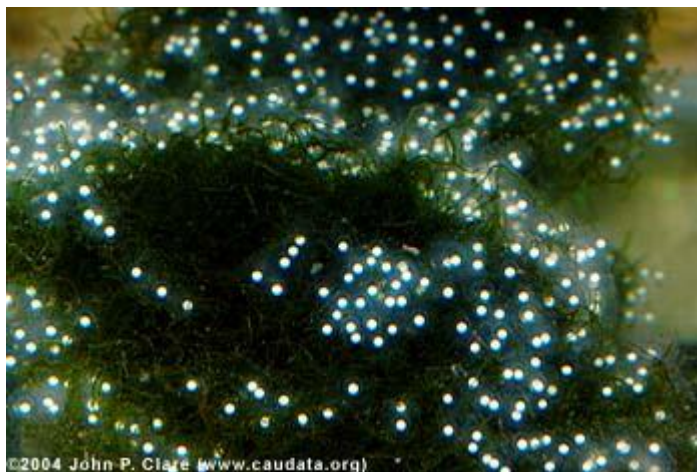
Obrázek 3: Pohlavní dimorfismus, nahoře samec.

Zdroj: <http://www.axolotl.org>



Obrázek 4: Ontologický vývoj *A. mexicanum*

Zdroj: <http://www.axolotl.org>



Obrázek 5: čerstvě nakladená vajíčka - bílá(albino)



Obrázek 6: 82 hodin po naklazení

Zdroj: <http://www.axolotl.org>



Obrázek 7: 107 hodin po naklazení

Zdroj: <http://www.axolotl.org>



Obrázek 8: 130 hodin po naklazení

Zdroj: <http://www.axolotl.org>



Obrázek 9: 178 hodin po naklazení

Zdroj: <http://www.axolotl.org>



Obrázek 10: 298 hodin po naklazení

Zdroj: <http://www.axolotl.org>



Obrázek 11: *A. mexicanum* po metamorfóze, albín

Zdroj: <http://www.osel.cz>