

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra zoologie a rybářství**



**Sociálně podmíněný stres u ryb**

**Bakalářská práce**

**Autor práce: Tereza Valchářová**

**Vedoucí práce: doc. Mgr. Ondřej Slavík, Ph.D.**

**© 2017 ČZU v Praze**

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci na téma "Sociálně podmíněný stres u ryb" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 16. 4. 2017

---

Tereza Valchářová

## **Poděkování**

Děkuji doc. Mgr. Ondřeji Slavíkovi, Ph.D. za laskavý přístup, cenné rady a čas, který mi věnoval. Dále děkuji Ing. Pavlovi Horkému, Ph.D. za pomoc s pokusem a statistické zpracování dat. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat svým rodičům za bezmeznou podporu a trpělivost.

# Sociálně podmíněný stres u ryb

## Souhrn

Stres je obranná reakce organismu na ohrožení homeostáze. Akutní stresová odpověď na podněty vyvolávající stres je nezbytnou součástí správného fungování organismu, avšak chronický stres může mít negativní dopad na welfare (životní pohodu) jedince. Faktory vyvolávající stresovou odpověď, tzv. stresory, mohou být sociálního i nesociálního původu. Literární rešerše BP byla především zaměřena na sociální stresory a jejich působení na rybovitě obratlovce. Literární údaje naznačují, že sociální stresory se u ryb běžně vyskytují a ovlivňují jejich chování. Experimentální část BP byla zaměřena na výzkum stresu u albinotických a normálně pigmentovaných jedinců sumce velkého *Silurus glanis* Linneaus, 1758. Experiment byl založen na hypotéze, že albíni vykazují vyšší hladiny stresu než normálně pigmentovaní jedinci. Tato hypotéza byla formulována na základě předešlých studií zabývajících se albinismem a jeho vlivem na chování u zvířat. K experimentu bylo použito 20 běžně pigmentovaných a 20 albinotických jedinců *S. glanis*. Každý z těchto jedinců byl vystaven stresové situaci a následně u něho byla změřena míra stresové reakce. Výsledky těchto měření pak prokázaly, že albinotičtí sumci vykazovali vyšší úroveň stresu než jejich pigmentovaní příbuzní.

**Klíčová slova:** Sociální vztahy ve skupině, stres, ryby, albinismus

# **Socially conditioned stress in fish**

## **Summary**

Stress is a defensive response to a threat of the homeostasis. An acute response to a stress-inducing stimulus is a necessary part of an usual organism functioning. However chronic stress can have a negative impact on the welfare of an individual. Factors inducing the stress response are referred as *stressors*, and can have social or non-social origin. My bachelor thesis focused primarily on the social stressors and their impact on fish. Available literature sources tended to show that social stressors commonly occur in fish and influence its behaviour. The experimental part of the work focused on the research of stress in albino and normally pigmented individuals of the European catfish *Silurus glanis* Linnaeus, 1758. The experiment was based on the hypothesis, that albinos show higher stress levels than normally pigmented individuals. The hypothesis was formulated in accordance with previous studies describing albinism and its influence on the animal behaviour. 20 normally pigmented and 20 albino individuals of *S. glanis* were used for the experiment. Individuals were exposed to stress and then the stress responses were observed. The results tended to showed higher stress level in albinos when compared with normally pigmented conspecifics.

**Key words:** social relationships in a group, stress, fish, albinism

# Obsah

1. Úvod.....	1
2. Cíl práce.....	4
3. Přehled literatury.....	5
3.1 Stres .....	5
3.1.1. Definice stresu .....	5
3.1.2. Odpovědi organismu na stres.....	7
3.1.3. Neuroendokrinologie stresu .....	8
3.2. Stresory .....	9
3.2.1. Nesociální stresory .....	9
3.2.2. Sociální stresory.....	10
3.2.2.1. Nesociální druhy zvířat .....	11
3.2.2.2. Sociální druhy zvířat .....	14
3.2.2.3. Coping styles.....	15
3.3. Pigmentace a stres.....	17
3.4. Albinismus a stres .....	17
3.5. Metody měření stresu.....	19
3.5.1 Hormony v krevní plasmě.....	19
3.5.2 Zbarvení očí .....	19
3.5.4. Jiné metody .....	20
4. Materiál a metody .....	21
4.1. Příprava experimentu, péče o ryby .....	21
4.2. Popis experimentu.....	21
4.3. Analýza dat .....	21

5. Výsledky .....	23
6. Diskuze .....	26
7. Závěr .....	29
8. Seznam literatury .....	30

# 1. Úvod

Předkládaná bakalářská práce se zaměřuje na stres způsobený vzájemnými sociálními interakcemi u rybovitých obratlovců. První kapitola shrnuje nejdůležitější obecné poznatky o stresu u zvířat, v dalších kapitolách se práce soustředí na stres způsobený sociálními stresory.

Stres lze chápat jako obrannou reakci organismu na ohrožení jeho homeostáze, která vyjadřuje stálost vnitřního prostředí organismu. Pokud je tato stálost prostředí ohrožena, spustí organismus obrannou stresovou reakci. Akutní stresová reakce může být pro organismus velmi prospěšná či v mnoha případech nezbytná, obzvláště jedná-li se o život ohrožující situace. Naopak chronický stres s sebou nese spoustu negativ, která mohou vést od snížené pohody zvířete až někdy i k předčasné smrti jedince. Jelikož se v současné době klade v chovech zvýšený důraz na welfare, tj. životní pohodu zvířete, zaměřuje se tak mnoho vědců na výzkum těchto stres vyvolávajících podnětů – stresorů, které mohou tuto pohodu narušit. Tato práce by měla shrnout nejdůležitější poznatky o sociálně podmíněných stresorech.

Stres způsobený sociálními interakcemi lze zkoumat u teritoriálních druhů i u zvířat žijících v hierarchicky uspořádaných sociálních skupinách.

Teritorialitu lze definovat jako využívání určitého území, které je aktivně ochraňováno před pronikáním jiných jedinců odlišného i shodného druhu (stejného či obojího pohlaví). K označení teritoria využívají živočichové vizuální, akustické, či chemické signály, které odrazují vetřelce a zároveň lákají jedince opačného pohlaví. U teritoriálních jedinců způsobuje stresovou reakci zejména střet s jiným jedincem stejného druhu. Důležitým faktorem je v tomto případě hustota populace. Pokud dojde k přílišnému nárůstu hustoty populace, dochází u většiny teritoriálních jedinců k častějším konfliktům, což vede k uvolnění stresových hormonů z kůry nadledvin. Kromě zvýšeného počtu agonistických interakcí může způsobovat stres i nedostatek potravy či vyšší zájem predátorů. Všechny tyto faktory mohou vyvolat u zvířete stresovou reakci, která může mít za následek omezení růstu, sníženou reprodukční schopnost i odolnost jedince (či celé populace) vůči nemocem.

Mnoho živočichů včetně ryb žije v sociálních skupinách s dominantní hierarchií. Vyšší postavení v hierarchickém žebříčku bývá často spojeno s přednostním přístupem k partnerům, jídlu a dalším zdrojům. Tyto zdroje pak mají pozitivní vliv na fitness jedince, z čehož může plynout, že výše postavení jedinci jsou méně stresováni než ti níže postavení, kteří mají k těmto



zdrojům částečně nebo úplně omezený přístup. Tento model ovšem nemusí být vždy platný. U živočišných druhů, kde si jedinec musí dominantní postavení vybojovat a dále ho bránit před ostatními jedinci, to může platit zcela opačně. Při boji o postavení bývají stresováni oba aktéři, přičemž poražený mívá větší stresovou hladinu než vítěz. Nicméně dominantní jedinec musí svádět boje mnohem častěji než jedinci subordinátní, a proto zůstává hladina jeho stresu na vysoké úrovni. To může vést nakonec k tomu, že dominantní jedinec je více stresován než jedinec s nižším sociálním postavením.

Nejmenší vliv sociálního postavení na stres je popisován u zvířat, kde se rozmnožuje pouze dominantní pár, a ostatní jedinci vychovávají potomstvo. Naopak u skupin, kde se mohou rozmnožovat i submisivní jedinci, bývají tyto jedinci napadáni a stresováni sociálně výše postavenými zvířaty.

V posledních letech se mnohé studie zaměřují na výzkum albinismu a změny v chování jím způsobené. Bylo prokázáno, že albinismus způsobuje četné fyziologické, behaviorální a sociální změny oproti normálně pigmentovaným jedincům. Albíni tak ve srovnání s pigmentovanými jedinci vykazují menší agresivitu, zauímají spíše níže postavené pozice ve skupině a drží se více stranou od ostatních jedinců. Na chování albinotických ryb je pak zaměřená i experimentální část této práce, kde je zkoumán rozdíl v míře stresové odpovědi u albinotických a normálně pigmentovaných sumců velkých.

V současnosti jsou využívány různé metody na měření míry stresu u živočichů. Nejpoužívanější metodou je určení míry stresu dle hladiny glukokortikoidů v krvi. Stresory působí na osu HPA (hypotalamo-hypofyzární osu), což vede k uvolnění stresových hormonů – glukokortikoidů z kůry nadledvin do krve. Nevýhodou této metody je skutečnost, že sám odběr vzorků může u ryb způsobovat stres, a proto se v dnešní době hledají neinvazivní metody, které tento problém vyřeší.

Jednou z těchto metod je určení míry stresu dle zbarvení oka. Tuto metodu lze použít ke zjištění stresu způsobeného jak sociálními, tak i nesociálními faktory, nevyžaduje žádné odborné vybavení a je zcela neinvazivní. Dle této metody mají ryby vystavené stresu více tmavou duhovku než jedinci, kteří stresu vystaveni nebyli. U některých druhů lze zjistit stres i podle zbarvení kůže, kdy v závislosti na druhové příslušnosti mohou být více pigmentovaní jedinci odolnější nebo naopak náchylnější ke stresu. Kromě výše popsaných metod existují ještě

další zahrnující např. rozbor vody a fekálií nebo určení stresu jedince na základě pozorování aktivity plavání.

## 2. Cíl práce

Obecným cílem mé bakalářské práce bylo shrnout dostupné informace o fyziologické podstatě stresu a uvést několik typických příkladů, kde stres ovlivňuje chování organismů. Jako příklad experimentální průkaznosti různé úrovně stresu, jsem si vybrala porovnání dvou skupin ryb, albinotických a normálně pigmentovaných sumců velkých *S. glanis*. Albinotičtí sumci vykazují méně průkazné sociální interakce (jsou méně agresivní a vykazují nižší tendenci shlukovat se do skupin). Protože u ryb může ztráta pigmentace znamenat nižší odolnost vůči stresu, testovala jsem hypotézu, že při shodné stresové zátěži budou albinotičtí jedinci stresovaní více než normálně pigmentovaní.

## 3. Přehled literatury

### 3.1 Stres

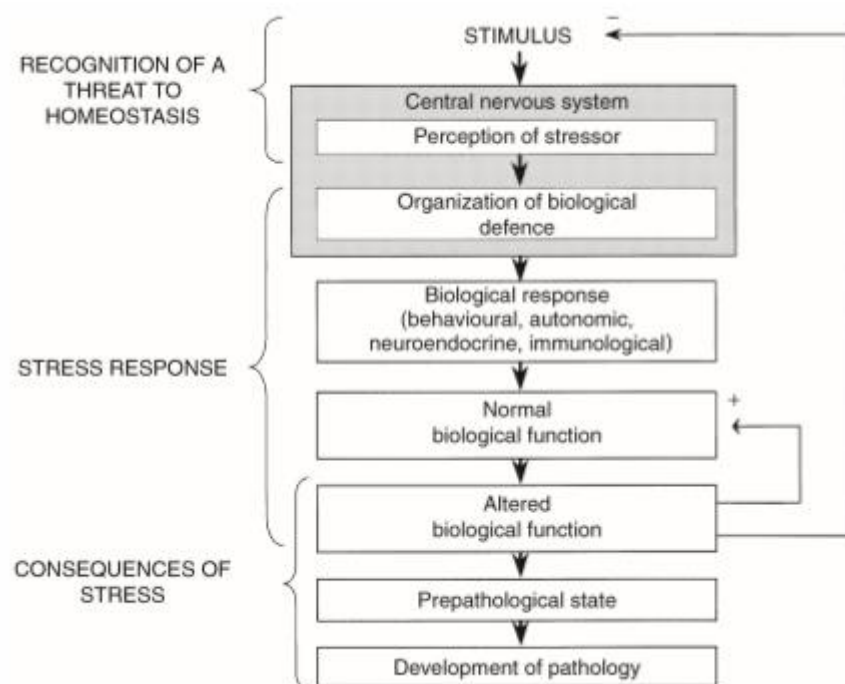
#### 3.1.1. Definice stresu

Přestože je stres v biologii často užívaným termínem, neexistuje pouze jediná uznávaná definice. Na rozdíl od většiny nemocí, nemá stres žádnou definovanou příčinu ani prognózu. Dle Seyleho (1950) je stres biologickou a většinou funkční odpovědí organismu na nároky prostředí. Moberg and Mench (2000) tuto definici ještě upřesňují. Popisují stres jako biologickou odpověď organismu vyvolanou situací, ve které si jedinec uvědomuje ohrožení jeho homeostáze, tedy rovnovážného, klidového stavu. Tímto ohrožením je tzv. *stressor*. Pokud stresová odpověď vážně narušuje fyziologickou nebo psychickou pohodu zvířete, pak dochází k tzv. *distresu*. Stres však není vždy vnímán pouze v negativním světle. Všichni živočichové si museli během evoluce vytvořit mechanismy, kterými se vypořádávají se stresory, které běžně potkávají ve svém každodenním životě. Proto známe i tzv. „dobrý stres“, obecně nazývaný *eustres*. Problém nastává, když stresová odpověď přetrvává příliš dlouho. Stejně jako lidé, tak i zvířata mohou trpět přílišným stresem a můžeme u nich pozorovat velmi podobné patologické projevy. Stres může mít negativní dopad na růst a reprodukci jedinců a může vést k závažným chorobám a celkovému oslabení. Na člověku pak spočívá úkol rozpoznat důležité stresory ohrožující welfare zvířete (Moberg, 1985). Jako tzv. *welfare* je označována dobrá tělesná kondice a psychická pohoda jedince (Huntingford et al., 2012). Stres je sám o sobě velmi komplikovaným jevem, na který lze pohlížet z různých hledisek, ať už psychologického, fyziologického či mnoha dalších. Na základě toho vzniklo několik různých modelů stresu.

Jeden z těch nejznámějších vytvořil Hans Selye (1936). Tento model je znám jako **obecný adaptační syndrom – general adaptation syndrom (GAS)**. Selye na základě svých experimentů, kdy vystavoval hlodavce různým nepříjemným až bolestivým zákrokům, zjistil, že stres lze rozdělit do tří různých fází. První, tzv. *poplachová* fáze, nastává v prvních 6-48 hodinách po zákroku a organismus při ní aktivuje své obranné mechanismy, díky nimž se snaží dostat stresovou situaci pod kontrolu. V této fázi dochází k aktivaci HPA osy a k produkci stresových hormonů adrenalinu a kortizolu. *Adaptační* fáze přichází po 48 hodinách od působení stresoru a střídá poplachovou fázi. Organismus se pomalu přizpůsobuje stresovým podmínkám. Pokud stresor nadále přetrvává, jedinec přestává jeho působení zvládat a dostává se do třetí, poslední fáze GAS. Tou je fáze *vyčerpání* organismu. Dochází k selhání všech

obraných mechanismů a organismus není schopen udržovat normální fyziologické funkce. V této fázi může dojít v krajním případě až k úplnému vyčerpání a následné smrti jedince.

Na obrázku č.1 lze vidět **Mobergův model stresu** (1999). Ten ve svém schématu rozděluje stres také na tři fáze: *Rozpoznání stresoru, biologickou obranu proti stresoru a důsledky stresové odpovědi*. Právě na výsledku poslední fáze závisí, zdali se jedinec s tímto stresem vyrovná bez dopadu na jeho životní pohodu, či zda bude trpět distresem (Moberg, 2000). Stresová odpověď začíná v okamžiku, kdy si centrální nervový systém uvědomí potencionální ohrožení homeostáze. Zdali je stimul vyvolávající tento efekt opravdu hrozbou, není podstatné. Důležité je uvědomění si možného ohrožení. V okamžiku, kdy CNS (centrální nervový systém, dále jen CNS) rozpozná potencionální hrozbu, spustí biologickou odpověď či obranu sestávající z kombinace čtyř možných základních biologických odpovědí: behaviorální odpovědi, odpovědi autonomního nervového systému, neuroendokrinní odpovědi a imunitní odpovědi (McEwen and Stellar, 1993).



OBRÁZEK 1 POPISUJÍCÍ MODEL STRESU (PŘEVZATO Z MOBERG 1985)

### 3.1.2. Odpovědi organismu na stres

#### Behaviorální odpověď

V případě mnoha stresorů je tou první a biologicky nejvíce ekonomickou reakcí *behaviorální* odpověď. Zvíře se může úspěšně vyhnout stresoru jednoduše přesunutím sebe sama od této hrozby. Např. může prchnout před predátorem či se za příliš horkého počasí přesunout do chladného stínu a vyhnout se tak hrozbě přehřátí (Bohus et al., 1987). Ryby mohou na stresor reagovat různě. Pokud se jedná např. o napadení jiným jedincem, může se ryba dát na útěk a před protivníkem se schovat, či může zaujmout submisivní postavení. Při napadení predátorem se ryby mohou bránit např. shlukováním nebo si mohou najít nějaký úkryt, kde budou před predátorem v bezpečí (Huntingford et al., 2006). Ne pro všechny stresory má však zvíře možnost využít behaviorální reakci, či je dokonce možné, že současná situace zvířeti neumožňuje využít tento elegantní způsob vyhnutí se stresoru. To může nastat v případě, kdy zvíře nemá např. možnost fyzického úniku od hrožícího nebezpečí, či kdy se při nepříznivě horkém počasí nenachází v blízkosti žádný stín, který by zamezil přehřátí zvířete. V této situaci musí organismus přistoupit k využití jiné stresové reakce, nebo ke kombinaci více různých stresových reakcí (Bohus et al., 1987).

#### Odpověď autonomního nervového systému

Druhým obranným stresovým mechanismem zvířete je tzv. *autonomní nervový systém* (dále jen ANS). Tento systém je základem Cannonova (1929) modelu „*fight or flight*“ (boj nebo útěk) stresové reakce. Během stresu nervový autonomní systém působí na různé množství biologických systémů zahrnujících kardiovaskulární systém, gastrointestinální systém, exokrinní žlázy a dřeň nadledvin. Výsledkem jsou změny v tepové frekvenci, krevním tlaku, gastrointestinální aktivitě a v jiných fyzických dějích spojených se stresem. Jelikož však autonomní odpověď působí na velmi specifické biologické systémy a biologický efekt má relativně krátké trvání, nemá aktivace ANS zásadní dopad na dlouhodobý welfare zvířete. Z hlediska zjišťování míry stresu u zvířete nemá monitorování aktivity ANS velký význam a to kvůli přílišné složitosti měření této aktivity, především při studiích prováděných mimo laboratoř.

#### Neuroendokrinní odpověď

V kontrastu s tímto krátkodobým efektem ANS hormony vylučované hypothalamo-hypofyzárním neuroendokrinním systémem mají dlouhotrvající účinky

na organismus jedince. Prakticky všechny biologické funkce, které jsou ovlivňovány stresem, zahrnující imunitu, reprodukci, metabolismus a chování, jsou regulovány hormony hypofýzy. Při stresu dochází, ať už přímo či nepřímo, ke změně v sekreci právě těchto hormonů (Matteri et al., 2000). Tyto stresem vyvolané změny v sekreci hypofyzárních hormonů byly průvodcem při selhání reprodukce (Moberg, 1987), změnách metabolismu (Elsasser et al., 2000), imunity (Blecha, 2000) a chování. Většina studií zabývajících se stresem využívá hypothalamo-hypofyzární (HPA) osu jako primární neuroendokrinní osu k monitorování. Nárůst cirkulace nadledvinových glukokortikoidů (kortizol a kortikosteron) je již dlouhou dobu spojován se stresem. Nicméně i sekrece prolaktinu a somatotropinu (růstového hormonu) vykazuje stejnou citlivost na stres. Rovněž tyreotropin a gonadotropiny (luteinizační a folikul-stimulující hormon) jsou přímo či nepřímo ovlivňovány stresem.

### **Imunitní odpověď**

Imunitní odpověď jedince na stres je velmi důležitá, neboť při život ohrožující situaci se musí organismus připravit na možné zranění a případné vniknutí infekčních agens do těla jedince. Stresem způsobené změny v imunitním systému tak umožňují urychlit reparaci poškozené tkáně a zabránit šíření infekce. Dlouhodobé působení stresoru však vede k oslabení imunity a větší náchylnosti k různým onemocněním. Segerstrom a Miller (2004) analyzovali přes 300 studií popisujících vztah mezi psychologickým stresem u lidí a parametry imunitního systému. Z jejich zprávy vyplývá, že akutní stresory (trvajících v rámci minut) byly spojeny s adaptivním nárůstem některých parametrů nespecifické imunity a se snížením funkce některých funkcí imunity specifické. Krátce působící stresory, např. zkouška, způsobily potlačení buněčné imunity při zachování té humorální. Při působení dlouhodobého stresu byly potlačeny obě tyto složky imunitního systému.

### **3.1.3. Neuroendokrinologie stresu**

Neuroendokrinologie může být definována jako věda zabývající se komunikací mezi centrální nervovou soustavou a endokrinními žlázami. Pojem "neuroendokrinní" obecně odkazuje na hormonální signalizaci zahrnující hypothalamus, hypofýzu a periferní systémy těla. Jedním z nejlépe prozkoumaných neuroendokrinních systémů aktivovaných během stresu je hypothalamo-hypofyzární osa (HPA), která zajišťuje sekreci steroidních hormonů z nadledvin. Při stresu dochází k aktivaci předního laloku hypofýzy, který je řízen neuroendokrinními hormony (Matteri et al., 2000). Saffran et al., (1955) poprvé popsali faktor uvolňující kortikotropin (CRF, corticotropin-releasing factor), který je dnes znám spíše jako

hormon kortikoliberin (CRH, corticotropin-releasing hormone), a který stimuluje syntézu a sekreci adrenokortikotropního hormonu (ACTH) v přední hypofýze. ACTH se následně dostává do krevního oběhu a odtud do kůry nadledvin, kde řídí produkci kortikosteroidních hormonů. Ty jsou obecně děleny na glukokortikoidy (např. kortizol, kortikosteron) a mineralokortikoidy (např. aldosteron). Neméně důležitý podíl na řízení organismu při stresu má též dřeň nadledvin. Jejími primárními hormony jsou katecholaminy epinefrin (adrenalin), norepinefrin (noradrenalin) a dopamin. Mineralokortikoidy jsou nezbytné pro udržování normální hladiny sodíku a objemu extracelulární tekutiny. Glukokortikoidy hrají důležitou roli v glukoneogenezi. Stimulují játra ke konverzi tuků a proteinů na glukózu. Také podporují tuto přeměnu zesílením syntézy adrenalinu, katecholaminu produkovaného dření nadledvin. Adrenalin stimuluje glukoneogenezi a lipolýzu, čímž mobilizuje energii na následnou reakci „boj nebo útěk“ (fight or flight). Zachování určité hladiny glukokortikoidů je nezbytné pro udržení homeostáze. Avšak chronicky zvýšená hladina těchto hormonů může vyústit v nadměrný katabolismus bílkovin, hyperglykémii, oslabení imunity, náchylnost k infekcím a depresi. McEwen and Sapolsky (1995) dále zjistili, že chronický nárůst kortikosteroidů negativně ovlivňuje též mentální výkonnost a objem hipokampu.

Kromě osy HPA existuje ještě několik dalších neuroendokrinních systémů a celá řada hormonů (somatotropin, prolaktin, gonadotropní hormony, hormony štítné žlázy aj.), které se podílejí na řízení stresové reakce, avšak není možné (a není to ani cílem) celou tuto problematiku v této práci obsáhnout.

## **3.2. Stresory**

### **3.2.1. Nesociální stresory**

Mezi nesociální stresory můžeme zařadit všechny abiotické faktory vnějšího prostředí, které u ryb zapříčiní spuštění stresové odpovědi. Ty mohou být buď fyzikálního nebo chemického charakteru. Z fyzikálních jsou těmito faktory především světlo a teplota. Chemické faktory zahrnují látky rozpuštěné ve vodě, zejména kyslík, dusíkaté sloučeniny, pH, salinitu a toxické a jiné znečišťující látky nacházející se ve vodním prostředí (Kestemont and Baras, 2001).

#### **Fyzikální**

Světlo je bezpochyby jedním z nejdůležitějších faktorů. Vnímání světla je podmíněno stimulací více orgánů, především sítnice a šišinky (epifýzy). To následně vede k stimulaci



hypofyzární osy a dále neuroendokrinního systému. Výrazný vliv na pohodu zvířete má délka fotoperiody, která přímo působí na produkci a sekreci somatotropinu, steroidních hormonů a hormonů štítné žlázy. Pro správné fungování organismu je též nezbytné dosáhnout optimálních hodnot intenzity světla a světelného spektra (Fry, 1971; Spieler, 1979) Dále je vhodné zde zmínit také hormon melatonin vylučovaný šišinkou, který na základě měnící se fotoperiody synchronizuje u ryb i jiných živočichů cirkadiánní a anuální rytmy (Falcón et al., 2007).

Až na vzácné výjimky (např. tuňáci) jsou ryby tzv. *poikiloternní* (ektotermní) organismy a nejsou schopny si samy regulovat tělesnou teplotu. Ta se mění v závislosti na teplotě okolního prostředí (s rozdílem cca 0,5 °C). Ryby bývají děleny na *chladnomilné* či *teplomilné* a *stenoternní* či *eurytermní* druhy. Stenoternní ryby mají velmi úzkou teplotní toleranci, zatímco eurytermní druhy tolerují větší teplotní rozsah. Pokud se teplota vody dostane nad nebo pod oblast teplotního optima, může ryba trpět tepelným stresem (Kestemont and Baras, 2001).

### Chemické

U ryb převažuje aerobní metabolismus, rozpuštěný kyslík je tak potenciálním limitujícím environmentálním faktorem (Fry, 1971), zejména při vyšší teplotě (Jobling, 1997). Nicméně existují ve volné přírodě určité ekosystémy, kde je kyslíku zdánlivý nedostatek, a přesto se zde ryby vyskytují (Carlson et al., 1974). Tyto ryby se přizpůsobily nízké koncentraci kyslíku např. vyšší afinitou hemoglobinu ke kyslíku, zvětšeným povrchem žaber či doplňkovým dýcháním vzdušného kyslíku použitím plynového měchýře, úst, žaludku či střeva jako dýchacího orgánu (Lewis, 1970; Braum and Junk, 1982). Vliv na životní pohodu ryb mají i jiné látky obsažené ve vodě. Např. těžké kovy způsobují ve vodě s nižším pH rozsáhlá poškození žaber, nicméně v zásaditých vodách nejsou pro zvířata toxická (Weder Meyer, 1997). Často se v těchto případech bohužel jedná o důsledky bezohledné lidské činnosti. Znečištění životního prostředí mají na svědomí jak industriální emise, tak i rozsáhlý pobřežní turismus (Huntingford et al., 2006).

### 3.2.2. Sociální stresory

Mezi sociální stresory můžeme zařadit všechny interakce mezi jedinci stejného druhu. Pro přehlednost je kapitola rozdělena na druhy žijící soliterně a na druhy žijící v hierarchicky uspořádaných společenstvích.

### 3.2.2.1. Nesociální druhy zvířat

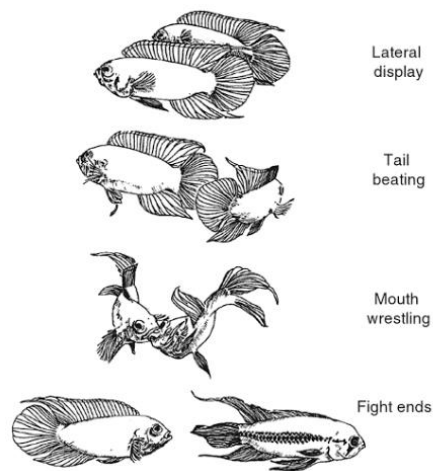
#### Teritorialita

Brown and Orians (1970) popisují teritorialitu jako využívání určitého území nebo aktivní bránění území před jedinci stejného druhu, přičemž jsou používány rozličné vizuální, akustické či chemické signály, které označují vlastnictví tohoto území. Tyto signály mají zamezit vniknutí jedincům stejného druhu a pohlaví (a někdy též obou pohlaví) a zároveň mohou přitahovat potenciální sexuální partnery.

Různé druhy zvířat vykazují také různý stupeň sociality. Některé druhy se chovají teritoriálně v průběhu celého roku a jiným jedincům dovolí vstup do svého teritoria pouze za účelem páření. Avšak mnoho druhů obratlovců vykazuje pouze sezónní teritorialitu (Creel et al., 2012). Např. u mnoha ptačích druhů můžeme pozorovat, jak si zřizují teritoria během pářicí sezony, zatímco mimo tuto sezonu se shlukují do velkých hejn (Nice, 1941).

#### Agrese

Agrese je obecně chápána jako chování, které poškozuje jiného jedince, či se o jeho poškození snaží. Toto chování je pro zvíře mechanismem, jak si získat a udržet přístup ke klíčovému zdroji, kterým může být např. potrava, úkryt či sexuální partner. U ryb je stejně jako u jiných zvířat agresivita rozšířená a závislá na druhové příslušnosti a dostupnosti zdrojů. Některé druhy podléhají agresivnímu chování ochotněji a jejich výpady mohou být též prudší a intenzivnější než u jiných ryb. Tato variabilita vznikla jako důsledek evoluce, kdy se různé druhy musely přizpůsobit odlišným podmínkám. Obecně lze říci, že pelagické druhy ryb nevázané na určité místo, jako je např. sled' *Clupea harengus* (Linnaeus, 1758), mají tendenci být neagresivní, zatímco druhy žijící na prostorově omezených územích (např. druhy obývající korálové útesy) bývají nečastěji agresivní. Souboje mezi rybami nezahrnují pouze přímé útoky, nýbrž i celou řadu hrozebných postojů a póz značících záměr zaútočit. Na obrázku č. 3 můžeme vidět dva jedince akarek zelených *Nannacara anomala* (Regan, 1905) v různých fázích souboje. Interakce mezi rybami začíná, když se jedna ryba podélně přiblíží k druhé se vztyčenými ploutvemi. Souboj dále pokračuje vzájemným bitím ocasey. Po čase stráveném tímto prudkým zápolem začne jedna ryba velmi svižně kroužit kolem svého soupeře a napadá ho rychlými kousavými výpady do boku. Na konci boje se méně úspěšný aktér vzdá, stáhne ploutve, často i změní svou barvu a zaujme submisivní pozici (Damsgård and Huntingford, 2012).



OBRÁZEK 2 ZNÁZORŇUJÍCÍ SOBOJ AKAREK ZELENÝCH (*NANNACARA ANOMALA*)  
(PŘEVZATO Z JAKOBBSOON ET AL. 1979)

### Hustota populace

U teritoriálních obratlovců je nejlépe zdokumentovaným sociálním spouštěčem stresu hustota populace. Vztah mezi populační hustotou a stresem je nejlépe znám ze studií mnoha savčích druhů, nicméně i ostatní obratlovci vykazují určitou spojitost mezi hustotou populace a funkcí osy HPA (Creel et al. 2012). Ryby jsou v akvakultuře nezdřídka chovány ve větších hustotách, než je tak tomu ve volné přírodě. Důvodem je především ekonomické hledisko, jelikož chov ve větší populační hustotě snižuje produkční náklady (van de Nieuwegiessen et al., 2008). Zde je však důležité uvědomit si rozdíly mezi různými druhy ryb. Vysoká hustota populace může mít negativní vliv na welfare určitých druhů, jako je např. losos, pstruh nebo pražma. (Ellis et al., 2002; Ewing and Ewing, 1995; Montero et al., 1999). Naopak u sívena se chov při vyšší hustotě ukázal jako pozitivní a byly zaznamenány rychlejší přírůstky (Jørgensen et al., 1993). Ne vždy jsou hustotně závislé projevy však tak jednoznačné. Studie zabývající se chovem keříčkovce *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) ukázaly, že při zvýšené hustotě došlo ke zvýšení pohybové aktivity a zároveň snížení agonistického chování a kortizolu v krevní plasmě. Zároveň však bylo u těchto ryb zaznamenáno zvýšené útěkové chování, které by mohlo značit stres (van de Nieuwegiessen et al., 2008).

### Winner a loser efekt (efekt vítěze a poraženého)

Při agresivním střetnutí dvou jedinců dochází u mnoha živočišných druhů k tzv. *winner* efektu. Pod tímto termínem si lze představit situaci, při které se u vítězného jedince zvýší šance na výhru v následujících soubojích právě v důsledku předchozí výhry (Hsu et al., 2006).

U poraženého jedince můžeme sledovat opačný jev, tzv. *loser* efekt, kvůli kterému se jeho šance na výhru v dalších soubojích zmenšuje. Navíc mají jedinci, kteří vyhráli, tendenci k agresivnějšímu chování, zatímco poražení bývají zpravidla submisivnější (Fuxjager and Marler, 2009). Tento děj je převážně zapříčiněn zvýšenou sekrecí určitých hormonů po boji. Jedná se především o androgeny, a to zejména o testosteron, ale i např. progesteron (Marler et al., 2005; Oliveira et al., 2009). Míra winner efektu je také u různých živočišných druhů různě velká a u některých se nemusí efekt projevit vůbec. Např. Fuxjager and Marler (2009) se ve své studii věnovali dvěma taxonomicky velmi blízkým druhům. Jedním z nich byl silně teritoriální křeček kalifornský *Peromyscus californicus* (Gambel, 1848), který vykazoval značný winner efekt, pokud vyhrál souboj na svém teritoriu. Pokud však vyhrál střetnutí na neznámém území, byl následný winner efekt znatelně menší. U jiného druhu, křečka bělonohého *Peromyscus leucopus* (Rafinesque, 1818), který se vyznačuje svojí promiskuitou a nízkou teritorialitou, nebyl zjištěn žádný winner efekt ani na cizím, ani v domácím prostředí a ani nevykazoval změněné hladiny testosteronu. Z toho plynou dva důležité poznatky. Zaprvé, winner efekt je silně ovlivněn teritorialitou druhu, a tudíž i velmi příbuzné druhy vykazují zcela rozdílnou míru winner efektu. Dále z tohoto výzkumu vyplývá, že velikost winner efektu závisí na vnějším prostředí a není to tudíž pouze vnitřní děj, jak se dříve myslelo.

Zvířata jsou často schopna využít informací získaných z předchozí zkušenosti ke změně svého následného chování. Zkušenost z boje, ať již dobrá, či špatná, tudíž zapříčiňuje změny v chování zvířat a může vést i ke změně strategie v boji. Jedinci, kteří mají zkušenost s nedávnou výhrou v boji, mají tendenci být agresivnější, zatímco poražení bývají více submisivní. U rivuluse mramorovaného *Kryptolebias marmoratus* (Poey, 1880) bylo zjištěno, že si jedinci, kteří prohráli předešlý souboj, uvědomují své zhoršené bojové schopnosti a dokáží s touto skutečností pracovat a pozměnit tak svou bojovou strategii (Lan and Hsu, 2011). Tato skutečnost není pouze behaviorální záležitostí, nýbrž má také svůj hormonální základ. Jedinci s nižší hladinou kortizolu, testosteronu a 11-ketotestosteronu jsou více vnímaví k výsledkům předešlého střetnutí, a to zejména k prohře a vliv výsledku střetnutí na ně působí déle. Ryby s touto nižší hladinou hormonů prokázaly silnější a déle trvající loser efekt. Zároveň však v této studii došli ještě k jednomu velmi zajímavému poznatku. U tohoto druhu ryby se po výhře či prohře nijak zásadně nemění hladiny kortizolu, testosteronu, ketotestosteronu či estradiolu. Projevil se u něho sice značný winner/loser efekt, nicméně hladiny těchto hormonů se u něj nijak zásadně nezměnily. Z toho plyne, že u tohoto druhu stojí za winner/loser efektem

pravděpodobně jiné fyziologické mechanismy, které však dosud nebyly zjištěny (Lan and Hsu, 2011).

### 3.2.2.2. Sociální druhy zvířat

Zvířata žijící v sociálních skupinách často tvoří hierarchii. Pozice jedince v rámci sociální hierarchie může mít silný vliv na jeho fitness, neboť tato pozice často souvisí s přístupem k partnerovi, potravě a jiným zdrojům. U mnoha sociálně žijících obratlovců, zejména u savců a ptáků, je rozmnožování výsadou dominantních jedinců, zatímco u subordinátních jedinců je šance na zplození vlastního potomstva téměř nulová. Z tohoto hlediska se může zdát, že subordinátní pozice v hierarchii je pro zvířata stresující (Creel et al., 2012). To potvrzují i některé studie zabývající se výzkumem obratlovců včetně ryb. Při soubojích různých savčích druhů byla naměřená zvýšená hladina glukokortikoidů jak u vítězů, tak i u poražených, nicméně u poražených byla tato hladina výjimečně vysoká (Bronson and Eleftheriou, 1964). Při vyšší četnosti soubojů však může nastat zcela opačný výsledek. Při prohře sice dochází k většímu nárůstu glukokortikoidů, a tudíž k většímu stresu než při výhře, nicméně dominantní jedinci musejí nezdědka bojovat mnohem častěji než ti submisivní, což v konečném důsledku vede k tomu, že mají nakonec vyšší hladiny glukokortikoidů právě oni. Tento stav byl prokázán např. u africké cichlidy pestřence zubatého *Neolamprologus pulcher* (Trewavas and Poll, 1952) (Mileva et al., 2010). Navíc udržování dominantní pozice zahrnuje neustálé sledování a usměrňování podřízených jedinců skrz agresi a agonistické chování. To jsou určité daně za výhody, které jinak těmto jedincům přináší vyšší postavení (Creel et al., 1997; Sands and Creel, 2004). Sapolsky (1992) přišel na základě svých předchozích studií na paviánech anubi *Papio anubi* (Lesson, 1827) na teorii, že souvislost mezi úrovní hladin glukokortikoidů a sociálním postavením je závislá na stabilitě sociální hierarchie. Ve stabilní hierarchii byla hladina glukokortikoidů vyšší u submisivních jedinců než u těch výše postavených, nicméně v době sociální nestability byl tento stav obrácený. Studie paviánů babuinů *Papio cynocephalus* (Linnaeus, 1766) přinesla další vhled do této problematiky. U sledované skupiny byla naměřena zvýšená hladina glukokortikoidů u nejvýše postaveného alfa samce. Jiní vysoce postavení samci, kteří nebyli alfa, však vykazovali nižší hladiny glukokortikoidů než jedinci na spodu hierarchického žebříčku (Gesquiere et al., 2011). Podobného výsledku, kdy mají vysoce postavení non-alfa jedinci nižší hladiny stresových hormonů než alfa i než subordinátní jedinci, se dobraly i jiné studie (např. u yellowstonských vlků; Sands and Creel, 2004). Dle Sapolskyho (2005) je u skupin, kde se postavení v hierarchii dědí, či kde jedinec získává dominantní pozici, když na něj přijde řada, nepravděpodobné,

aby mělo toto postavení vliv na glukokortikoidovou hladinu jedince. Z těchto studií tedy vyplývá, že to není samotná pozice v sociální hierarchii, ať už dominantní či submisivní, co způsobuje u zvířat stres, nýbrž způsob, jakým jedinec tuto pozici získá a jak si ji nadále udržuje (Creel et al., 2012).

Laboratorní experimenty ukázaly, že nepředvídatelné či nekontrolovatelné stresory (např. elektrické šoky) způsobují větší stresovou odpověď než ty samé stresory, pokud jsou předvídatelné a kontrolovatelné (Weiss, 1970). Je zřejmé, že krátké a intenzivní stresory, jako je např. bouřka, jsou pro organismus nepředvídatelnou zátěží, nicméně i sociální prostředí nabízí pro zvíře spoustu neočekávaných a nekontrolovatelných situací. U skupinově žijících zvířat se denně vyskytuje řada očekávatelných sociálních interakcí, a přestože mohou určité typy chování sezonně narůstat, zvířata mohou jejich výskyt přesto očekávat. Avšak pokud tato zvířata žijí v dominantní hierarchii, která určuje, kdo ve skupině bude mít výsadu se rozmnožovat, pak často dochází při změnách v této hierarchii k náhlým a někdy velmi agresivním střetnutím. Tyto náhlé potyčky mohou být méně předvídatelné (Creel and Creel, 2002).

Důležitým, často však zanedbávaným faktem je, že sociální prostředí pouze neprodukuje stres, nýbrž naopak může hladinu stresu i redukovat (Creel et al., 2012). Např. u pavíánů může sociální prostředí zastavit nárůst glukokortikoidových hladin (Sapolsky and Altmann, 1991). Podobně u hus *Anser anser* (Linnaeus, 1758) větší velikost rodiny vede ke snížení stresové odpovědi během soupeření o potravu s jinými členy hejna (Scheiber et al., 2005).

### 3.2.2.3. Coping styles

Koolhaas et al. (1999) definují tzv. „*coping styles*“ (styl/typ zvládání stresu) jako „ucelený soubor chování a fyziologických stresových odpovědí, které jsou konzistentní v čase, a které jsou charakteristické pro určitou skupinu jedinců.“ To znamená, že u zvířat včetně ryb existují určité typy chování, které se pojí se specifickou odpovědí na stresovou situaci. Jiní autoři používají pro tento koncept chování též pojem *plachost – statečnost* (Wilson et al., 1994), *behaviorální syndromy* (Sih et al., 2004), *osobnost* (Gosling, 2001) či *temperament* (Francis, 1990). Dle Koolhaas et al. (1999) je rozdíl především v tom, že pojem *coping styles* zahrnuje jak behaviorální, tak fyziologickou odpověď na nepříznivé podmínky a stres, zatímco behaviorální syndromy zahrnují pouze behaviorální rozdíly, a to ještě ne vždy nutně při stresových podmínkách. Pojem osobnost a temperament se používají především u člověka a zahrnují i emocionální reakce. Porozumět této problematice je důležité, jelikož díky „*coping*

styles“ může být to, co je pro některé jedince přijatelné naopak naprosto nepřijatelné až škodlivé pro jiné a může to mít vliv na jejich welfare, zdraví, výkon a odolnost vůči nemocem (Castanheira et al., 2015).

U ryb, stejně jako u jiných obratlovců, se vyskytují dva hlavní typy coping styles; reaktivní a proaktivní typ. Reaktivní typ je spíše nesmělý, neagresivní, při střetnutích s jinými jedinci mívají spíše nižší postavení, špatně si zvykají na nové podmínky a jsou velmi citliví vůči jakýmkoli stresorům. Proaktivní typ řeší stresovou situaci aktivně, ať už útekem nebo bojem. Jedinci tohoto typu jsou smělí, odolní, rychle se přizpůsobí po přemístění do nového prostředí a při nastolení nových podmínek, více riskují (MacKenzie et al., 2009; Millot et al., 2009), bývají agresivnější, mívají vysoké sociální postavení (Øverli et al., 2004) a vykazují nízkou citlivost jak vůči environmentálním, tak i sociálním stresorům a nemocem (Castanheira et al. 2015). Proaktivní jedinci navíc vykazují nižší aktivitu hypothalamo-hypofyzární osy (Silva et al., 2010), větší reaktivitu sympatiku a menší reaktivitu parasympatiku (Schjolden et al., 2006), větší spotřebu kyslíku při stresu (Killen et al., 2011), nižší myokardiální dysfunkci (Johansen et al., 2012) a lepší imunitu ve srovnání s reaktivními jedinci (Kittilsen et al., 2012).

Jako příklad studie zabývající se touto problematikou je možno uvést výzkum Pottingera and Carricka (2001). Ti ve své studii selektovali dvě různé linie pstruhů duhových *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). První linie byla selektována na základě výrazné reakce na stresor (linie HR – high-responding), zatímco reaktivita druhé linie vůči působení stresoru byla nízká (linie LR – low-responding). Linie se zároveň lišily i v množství kortizolu obsaženém v krevní plasmě během působení stresoru. Velmi podobné hladiny kortizolu jako u rodičů pak byly naměřeny i u následné F2 generace, jelikož tento znak vykazuje vysokou heritabilitu (dědivost) . Při pokusech pak spolu bojovali o dominantní pozici vždy dva jedinci stejné velikosti, přičemž jeden byl z linie LR a druhý z HR. Výsledky následně ukázaly, že ryby z linie LR získaly dominantní postavení ve značně více případech než ryby z HR linie. Zároveň tyto ryby vykazovaly vyšší agresivitu, lepší bojové vlastnosti a lepší schopnost při získávání potravy. Z této studie vyplývá, že dědičně daná hladina kortizolu při stresové reakci úzce souvisí s konkrétními povahovými vlastnostmi a schopností získat si dominantní postavení ve skupině.

### 3.3. Pigmentace a stres

Vzhled zvířete často signalizuje jeho stav či kondici (Hill, 2011). Pigmentace, zvláště ta melaninová, je u mnoha obratlovců včetně ryb důležitým indikátorem agresivity, dominance i odolnosti jedince vůči stresu. To je patrné jak u lososa obecného *Salmo salar* (Linnaeus, 1758), tak i u pstruha duhového *Oncorhynchus mykiss*, kde bylo dokázáno, že více skvrnití jedinci jsou odolnější vůči stresu (Kittilsen *et al.*, 2009). Naopak u sivena severního *Salvelinus alpinus* (Linnaeus, 1758) je znakem agresivity a stresové odolnosti pigmentace založená na karotenoidech. Sociálně stresovaní jedinci mají více karotenoidových skvrn než ti stresu odolnější. Tato zvýšená skvrnitost je u sivena spojena s nárůstem hladiny kortizolu v krvi a se změnou aktivity monoaminových neurotransmiterů, která je též chápána jako odpověď na stres. (Backström *et al.*, 2015)

### 3.4. Albinismus a stres

Albinismus většinou vzniká jako výsledek recesivně homozygotní mutace normálně pigmentovaných rodičů. U albinotických jedinců chybí enzym tyrozináza, který je zodpovědný za tvorbu melaninu. Ten se tak u albínů nemůže tvořit, což se navenek projeví ve světlém zbarvení chlupů a kůže a v červených očích (Van Grouw, 2006). Albinismus byl zaznamenán u rostlin, bezobratlých i obratlovců včetně člověka (Smith, 1977; Nakatani, 1999; DeFries, 1969; Carden *et al.*, 1998). V přírodě se albíni vyskytují velmi vzácně, ponejvíce v afotických ekosystémech, kde žijí skrytí v naprosté tmě (Protas *et al.*, 2006).

Zkoumání sociálních interakcí u albínů není jednoduché, a to především kvůli nedostatku kvalitního studijního materiálu. U speciálních albinotických kmenů hlodavců, kteří se používají pro rutinní laboratorní výzkum, není snadné rozlišit, kdy se na zkoumaném chování podílí albinismus a kdy jsou tyto vlastnosti zapříčiněny změnami při domestikaci (Himmler *et al.*, 2013; 2014). U jeskynních ryb je naopak problém, že se jejich sociální chování mění i kvůli adaptaci na život v naprosté temnotě (Slavík *et al.*, 2016).

Kromě světlé kůže a červeně zbarvené duhovky je existence albínů spojena s různými fyziologickými, behaviorálními i sociálními znevýhodněními. Světlé zbarvení albínů je spojeno s lepší detekcí predátory (Ellegren *et al.*, 1997). U očí albinotických hlodavců byla zjištěna snížená adaptace na světlo vedoucí k degradaci fotoreceptorů (Prusky *et al.*, 2002), což může v konečném důsledku vést až ke ztrátě zraku (Buhusi *et al.*, 2005), případně k akrofobii (strachu z výšek) a fotofobii (světloplachosti) (Abeelen and Kroes, 1967). Dále u nich byl



zjištěn horší čich (Keeler, 1942), vykazovali nižší aktivitu ve srovnání s pigmentovanými jedinci (Fuller, 1967; DeFries, 1969), jejich aktivita byla nižší za dne, zatímco vzrůstala během noci (Stryjek et al., 2013). Albinotičtí potkani měli také během spánku delší REM fáze (Benca et al., 1998) a v noci častěji spali mimo hnízda než jejich pigmentovaní příbuzní (Stryjek et al., 2013).

Vznik albinismu nemusí být vždy důsledkem homozygotní kombinace recesivních alel v rodičovské generaci, ale také evoluční adaptací na život v podmínkách trvalé tmy. V jeskynních systémech bez přístupu světla žijí tzv. *troglobionti*, tedy organismy s absencí pigmentu a často i zraku. Nejznámějším příkladem rybovitého troglobionta a i běžně chovanou akvarijní rybkou je slepá tetra mexická *Astyanax mexicanus* (De Filippi, 1853). Slepá *A. mexicanus* žijící v jeskyních má normálně vidícího a pigmentovaného předka žijícího trvale v povrchových vodách. Slepá *A. mexicanus* ve srovnání s vidoucí, pigmentovanou formou vykazuje fyziologické adaptace na život v podmínkách trvalé tmy, kde jen např. výrazně omezen přístup k potravním zdrojům. Byl u ní např. zjištěn větší počet chuťových pohárků (Yamamoto et al., 2009), mnohem citlivější senzory v postranní čáře (Yoshizawa et al., 2014), kratší doba spánku (Duboué et al., 2011), ztráta hejnového chování (Kowalko et al., 2013) a dominantní hierarchie i agresivity (Elipot et al., 2013). Zdá se však, že některé evoluční adaptace mohou být druhově specifické s vazbou např. na potravní zdroje. Pro rychle pohybliví se a aktivní tetry je klíčem pro získání potravy schopnost ojedinele potravu lokalizovat a ulovit. Protože ve tmě není spolupráce v hejnu efektivní, jedinec profituje z rozvoje sensorických vlastností a individuální schopnosti. Naopak např. albinotická anténovka Kroneova *Pimelodella kronei* (Miranda Ribeiro, 1907) je sumec s omezenou pohyblivostí, který žije více při dně jeskynních systémů a je více vázán na určitý typ prostředí. Proto anténovka vykazuje podobné hladiny agresivity jako její blízce příbuzná anténovka iguapeská *Pimelodella transitoria* (Miranda Ribeiro, 1907) (Trajano, 1991) z povrchových vod, kde také žije skrytým životem při dně.

Slavík et al. (2016) se zabývali albinotickými potomky normálně zbarvených rodičů a zkoumali agonistické chování u albinotických a normálně pigmentovaných juvenilních jedinců sumce velkého *Silurus glanis*. Ze studie vyplývá, že u albínů byl zaznamenán menší počet agresivních interakcí než u pigmentovaných jedinců. Zároveň se ukázalo, že albíni v porovnání s pigmentovanými sumci jeví menší tendenci shlukovat se a víc se separovali od stejně zbarvených jedinců stejného druhu. U albinotických sumců bylo také pozorováno

sociální vyloučení, při kterém nebyli přijímáni skupinou navzájem známých a normálně pigmentovaných jedinců (Slavík et al., 2015).

## **3.5. Metody měření stresu**

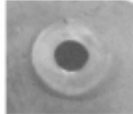

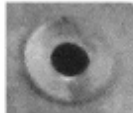

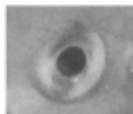

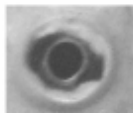

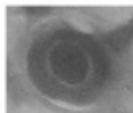

### **3.5.1 Hormony v krevní plasmě**

Jako odpověď na akutní i chronický stres syntetizují ryby kortikosteroidní hormony. Na základě koncentrace těchto hormonů, a to především kortizolu, v krevní plazmě ryby můžeme snadno změřit míru stresu jedince (Pickering, 1992; Jeney et al., 1992; Mommsen et al., 1999). I když je měření hladiny kortizolu v krvi v praxi nejběžněji používanou metodou, má určité nedostatky, kvůli nimž se hledají jiné, alternativní způsoby, jak měřit stres u ryb. Hlavním problémem této metody je skutečnost, že už samotný odběr krve je pro rybu stresující záležitostí a kortizol je možné v plasmě detekovat již po 30 s jako odpověď na akutní stres (Gerwick et al., 1999). Z toho plyne, že výsledné hladiny kortizolu v plasmě mohou být ovlivněny právě samotným odběrem. Navíc, přesunutí ryby z jejího obvyklého prostředí může zapříčinit zvýšení koncentrace kortizolu i u ostatních ryb v nádrži (Pickering et al., 1982; Laidley and Leatherland, 1988). To může způsobit, že tyto ryby už dále nebudou vhodné k použití v experimentu, a proto by každá ryba měla mít svou vlastní nádrž (Barton, 2000). A v neposlední řadě, odběr krve může mít pro rybu letální důsledek, ať už z důvodu nutného použití množství anestetik pro zmírnění stresové odpovědi na odběr krve (Laidley and Leatherland, 1988), či kvůli rozsáhlému krvácení způsobenému samotným odběrem (Oliveira et al., 1999).

### **3.5.2 Zbarvení očí**

Zjišťování stresu pomocí zbarvení očí je snadný, levný, neinvazivní způsob, který nevyžaduje žádné speciální vybavení. Freitas et al. (2014) zkoumali míru zbarvení oka jako odpověď na nesociální stres u tilápie nilské (*Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)). Velikost plochy oka, která byla tmavě zbarvená, přímo úměrně korelovala s mírou stresu jedince. U některých druhů je navíc jistá spojitost mezi tmavostí oka a sociálním postavením jedince. Dominantní ryby mívají světlejší oči než subordinátní jedinci. Tato souvislost mezi zbarvením oka a sociálním postavením může být signálem pro jiné jedince a má za úkol snížit agresi a ujasnit hierarchické vztahy ve skupině. Toto uvádí Volpato et al. (2003) ve své studii, kdy spolu ryby vzájemně bojovaly a poté byly rozděleny do dvou skupin na více útočící páry a málo

útočící páry. U málo útočících ryb se projevil hierarchický efekt, kdy nejdříve bylo zbarvení očí u obou ryb podobně tmavé, ale po několika minutách dominantním rybám oči zesvětlaly, zatímco těm submisivním ztmavly. U submisivních ryb bylo více než 80 % oka tmavé, zatímco u dominantních byla tmavá část do 25 %. U více útočících párů byl tento efekt jen velmi malý. Tento výsledek může být zapříčiněn tím, že u těchto párů není hierarchie zcela vyjasněná a přetrvává u nich agonistické chování. Kromě tilápie byl tento jev popsán i u lososovitých ryb (O'Connor et al., 2000; Suter et al., 2002)

Observation	Drawing	Calculation	TOTAL
		$(0 + 0.1 + 0 + 0 + 0 + 0 + 0 + 0) \times 12.5$	<b>1.3 %</b>
		$(0.8 + 0.6 + 0.3 + 0.2 + 0.7 + 0 + 0 + 0.2) \times 12.5$	<b>35.0 %</b>
		$(1 + 0.4 + 0.2 + 0.1 + 0.7 + 0.3 + 0.4 + 0.6) \times 12.5$	<b>42.5 %</b>
		$(0.6 + 0.5 + 0.9 + 0.4 + 0.4 + 0.6 + 1 + 0.7) \times 12.5$	<b>63.8 %</b>
		$(1 + 0.8 + 1 + 0.9 + 0.8 + 1 + 1 + 1) \times 12.5$	<b>93.8 %</b>

OBRÁZEK 3 ZNÁZORŇUJÍCÍ MÍRU ZABARVENÍ OKA U TILÁPIE (PŘEVZATO Z FREITAS ET AL. 2014)

### 3.5.4. Jiné metody

Kromě výše zmíněných metod existuje mnoho jiných alternativních způsobů, jak změřit stres u ryb a vývoj nových metod stále pokračuje. Jednou z těchto metod je například měření stresu dle kortizolu získaného z rybích exkrementů (Oliveira et al., 1999; Turner et al., 2003). Steroidní hormony jsou také uvolňovány skrz žábry do vodního prostředí. Tento jev byl zaznamenán jak u pstruha duhového *Oncorhynchus mykiss*, tak u karase zlatého *Carrassius auratus* (Linnaeus, 1758) (Vermeirssen and Scott, 1996; Sorensen et al., 2000). Ellis et al. (2004) ve své studii extrahovali volný kortizol a kortizon z nádrže, ve které byli chováni pstruzi duhová. Oba kortikosteroidní hormony jsou snadno detekovatelné pomocí radioimunoeseje. Jiné metody dále zahrnují měření stresu na základě pohybové aktivity (Øverli et al., 2006; Kittilsen et al., 2009) či frekvence dýchání (Barreto and Volpato, 2004; 2006).

## 4. Materiál a metody

### 4.1. Příprava experimentu, péče o ryby

K experimentu bylo celkem použito 40 (20 pigmentovaných a 20 albinotických) velikostně vyrovnaných jedinců sumce velkého *Silurus glanis*, ve věku cca 1, 5 roku. Ryby byly drženy ve dvou identických akváriích o objemu 300 litrů, do kterých byly rozdělené na základě barvy. Ryby byly dlouhodobě chované v laboratorních podmínkách za přirozeného světelného režimu a byly krmeny ad libitum komerčně dostupným granulovaným krmivem. Voda byla udržovaná při průměrné teplotě 20 °C vnější teplotě. Prokysličením vody bylo zajištěno kompresorem a její čištění externím akvarijním filtrem.

### 4.2. Popis experimentu

Celý experiment proběhl během jednoho dne. Test probíhal ve čtvercové nádrži o rozměru dna 40 x 40 cm, naplněné do výšky 10 cm vodou. Ryby byly do nádrže vkládány jednotlivě a ponechány zde po dobu 5 minut, během kterých bylo natáčeno jejich chování pomocí kamery (GoPro Hero) shora za účelem analýzy pohybu skřelí. Po dokončení pětiminutového testu bylo každému jedinci opakovaně vyfotografované oko pro účely analýzy rozšíření zornice. Následně byl každému jedinci odebrán vzorek krve, ve kterém byla s pomocí spolupracujícího pracoviště VURH JCU stanovena hladina kortizolu.

Má část práce v tomto experimentu spočívala v rozboru fotografií s očima zkoumaných sumců a videí zaznamenávajících pohyb skřelí. Analýzu fotografií jsem prováděla v programu ImageJ. Ke každému sumci jsem vybrala tři nejostřejší fotografie očí a u každé jsem změřila plochu celého oka a plochu zornice. Tyto parametry jsem pak zaznamenala do tabulky v programu Excel. Pro zpracování videí jsem použila program GoPro Studio. Každé pětiminutové video jsem si rozdělila do 30 desetisekundových úseků. Sledovala jsem vždy každý druhý úsek a zaznamenávala si počet pohybů skřelí v rámci těchto 10 s. Dále jsem každý sledovaný úsek ohodnotila číslicí od nuly do tří dle kvality obrazu na tomto úseku. Výsledky těchto pozorování jsem opět zapsala do Excelu.

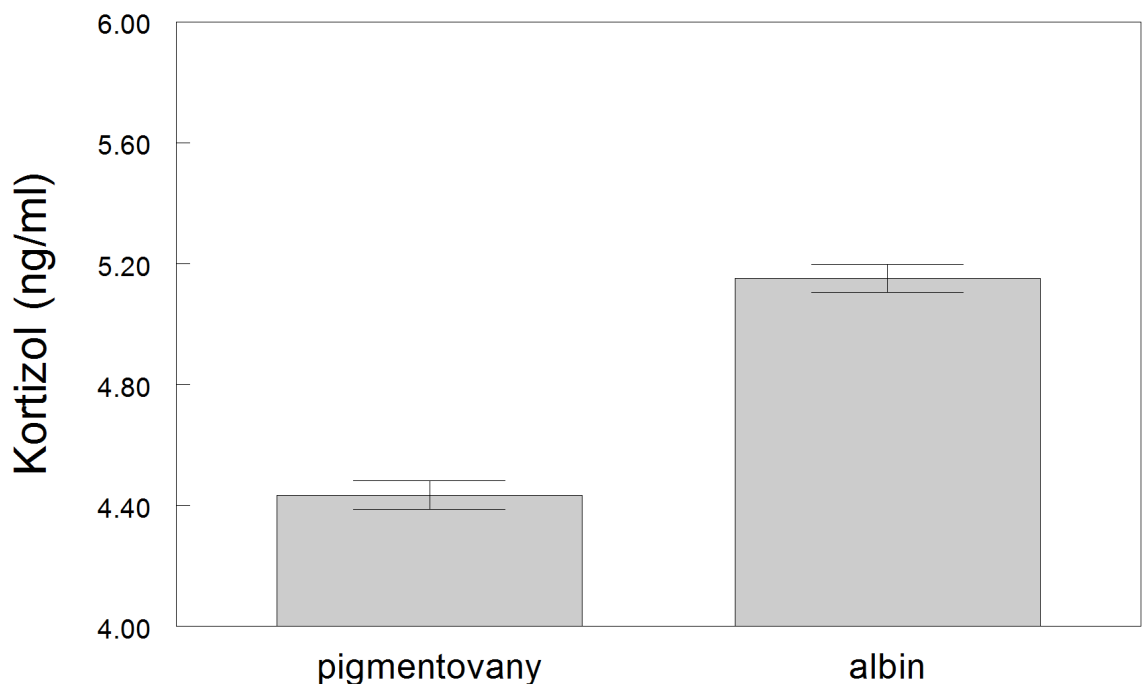
### 4.3. Analýza dat

Zpracování a analýza dat byly realizované pomocí programu SAS verze 9.4 (Statistical Analyses System; [www.sas.com](http://www.sas.com)). Každá závislá proměnná (hodnota kortizolu, pohyb skřelí, rozšíření zornice) byla hodnocená samostatným modelem s využitím procedur MIXED

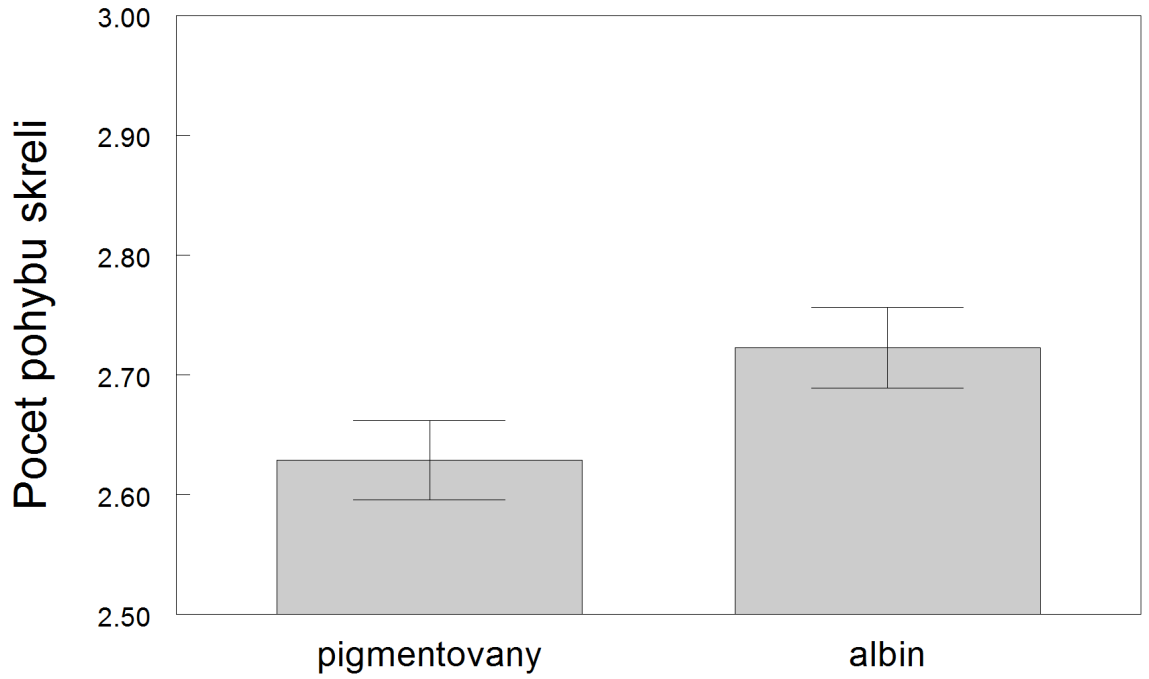
nebo GLIMMIX. V obou procedurách byly závislé proměnné modelované se započítáním náhodných faktorů identifikujících jedince v průběhu pokusu.

## 5. Výsledky

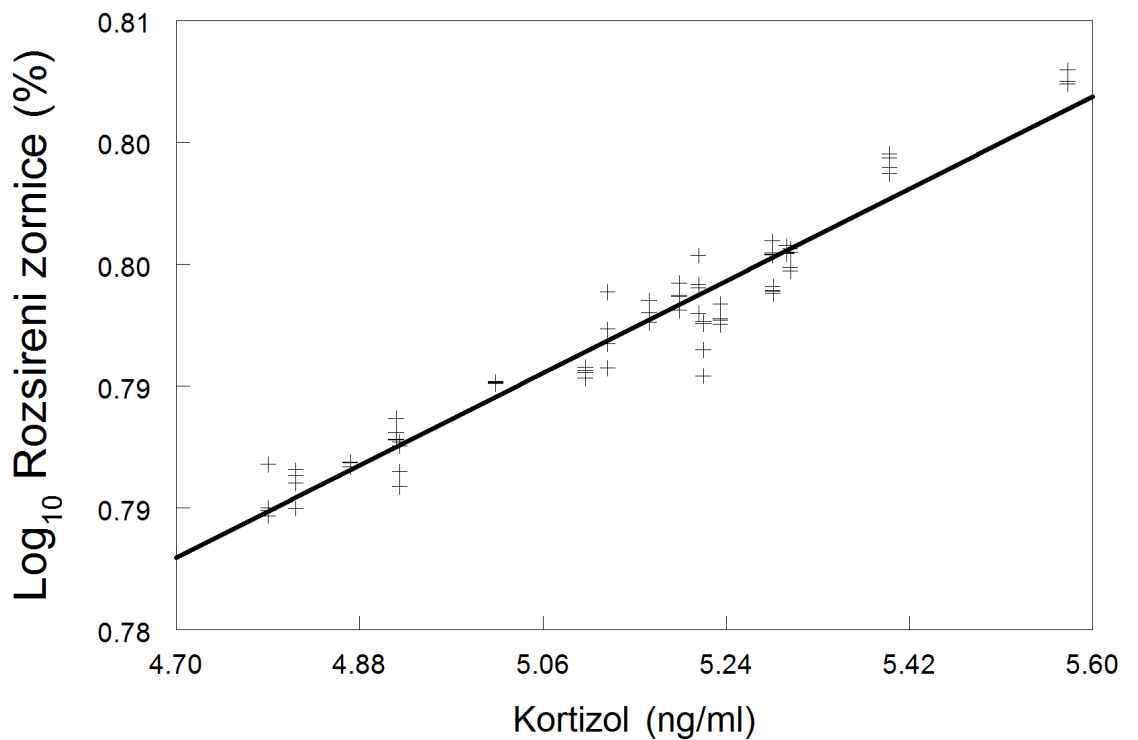
Při hodnocení různých parametrů stresové zátěže byly nalezené statisticky významné odlišnosti mezi albíny a pigmentovanými sumci. Albíni měli vyšší hodnoty kortizolu v krvi než pigmentovaní jedinci ( $F_1 = 14.32$ ,  $P < 0.0005$ ; Obr. 1). Vzhledem k tomu, že kortizol zvyšuje celkovou pohotovost organismu při zátěžových situacích, lze konstatovat, že albíni byli více stresováni. Zároveň měli albíni i vyšší frekvenci pohybu skřelí ( $F_{1, 428} = 12.48$ ,  $P < 0.0005$ ; Obr. 2). Jinými slovy u nich docházelo ke zrychlenému dýchání, tzv. hyperventilaci. Pro hyperventilaci je typické, že se objevuje jako reakce na stresovou zátěž organismu. Posledním parametrem, který se sledoval, bylo rozšíření zornice, u níž platí obecné pravidlo, že větší rozšíření indikuje stres. Rozšíření zornice albinotických i pigmentovaných sumců shodně reflektovalo hladinu kortizolu a tím stresovou zátěž ( $F_{2, 150} = 36.06$ ,  $P < 0.0001$ ; Obr. 3, 4), ale rozšířenější zornice byly nalezeny u pigmentovaných sumců ( $F_{1, 153} = 70.94$ ,  $P < 0.0001$ ; Obr. 5). Tento výsledek je možné dávat do souvislosti s odlišnou anatomií očí albinotických jedinců, v jejímž důsledku dochází ke sníženému rozsahu rozšíření zornice.



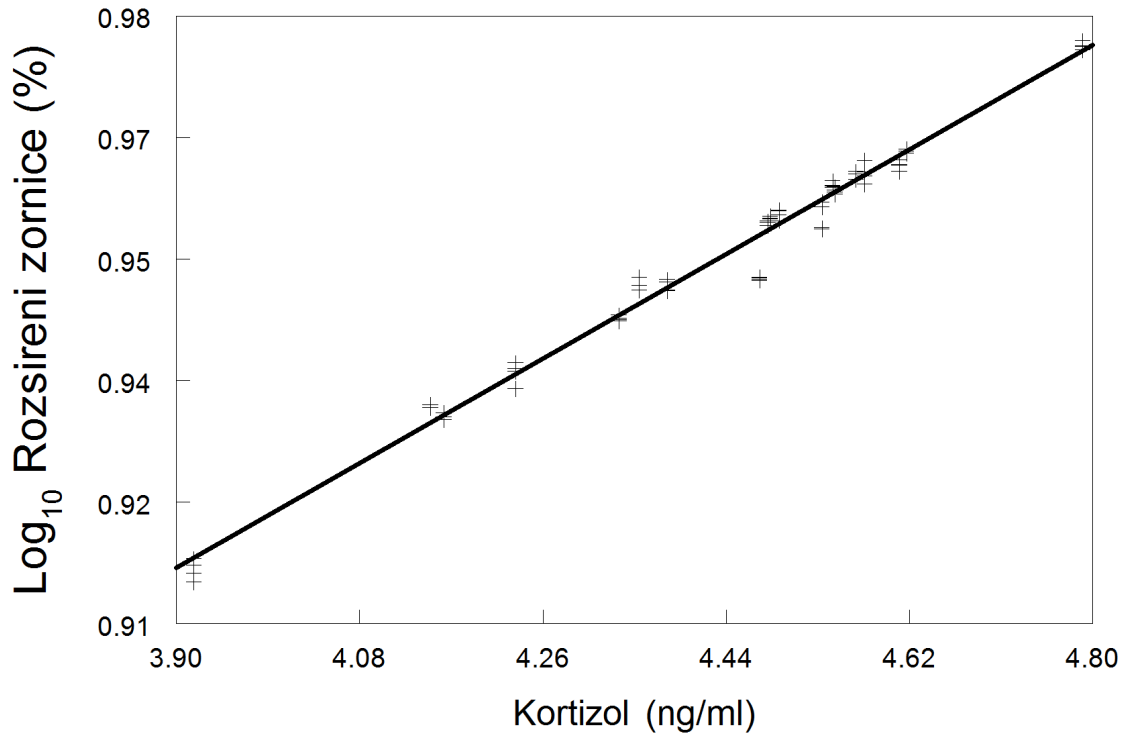
Graf. 1: Hodnota kortizolu v krvi pigmentovaných a albinotických jedinců.



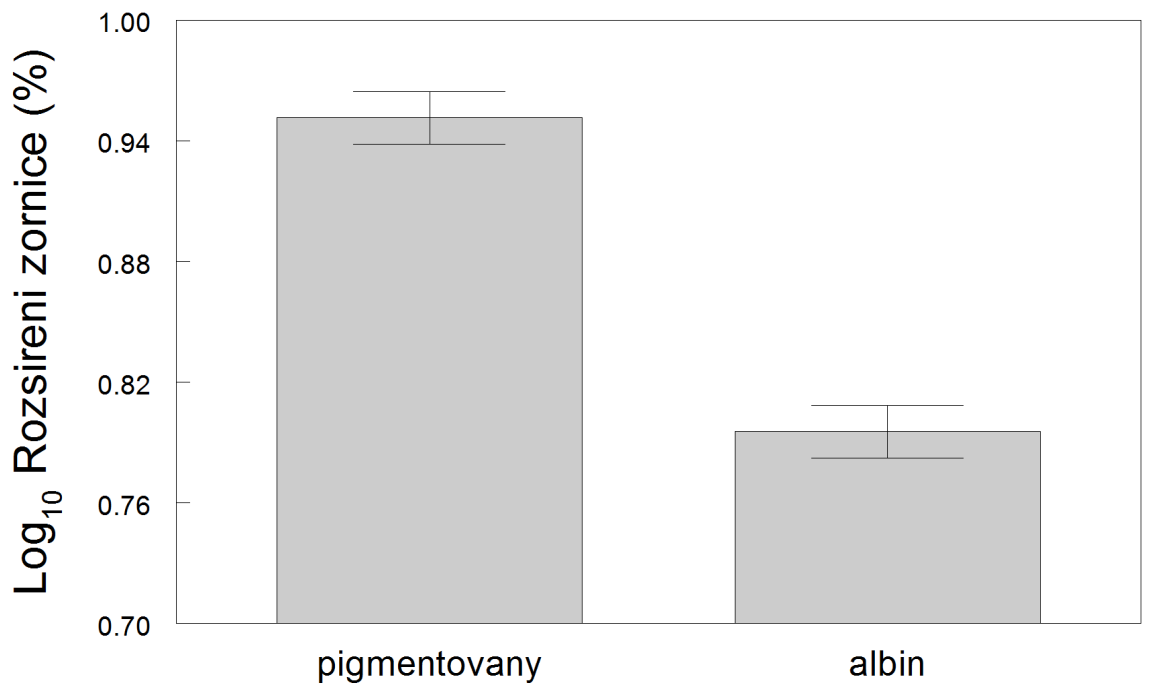
Graf. 2: Počet zaznamenaných pohybů skřelí pigmentovaných a albinotických jedinců.



Graf. 3: Vztah mezi rozšířením zornice a hodnotou kortizolu u albinotických jedinců.



Graf. 4: Vztah mezi rozšířením zornice a hodnotou kortizolu u pigmentovaných jedinců.



Graf. 5: Rozšíření zornice albinotických a pigmentovaných jedinců.



## 6. Diskuze

Cílem tohoto experimentu bylo zjistit, zda jsou albinotičtí jedinci druhu *Silurus glanis* více stresováni než normálně pigmentovaní jedinci stejného druhu. Výsledky měření různých parametrů tuto hypotézu potvrdily. Hypotéza vznikla na základě jiných studií zabývajících se odlišnostmi v míře stresové odpovědi u jedinců s různou mírou pigmentace. Dle Kittilsena et al. (2009) reagují více skvrnití pstruzi duhová *O. mykiss* a lososi *S. salar* na stresovou zátěž lépe než méně skvrnití jedinci těchto druhů. Souvislost mezi mírou pigmentace a hladinou stresu byla zaznamenána též u sivena arktického (Backström et al., 2015). K formulaci hypotézy vedly i studie zabývajících se korelací mezi změnami chování a albinismem. Např. Slavík et al. (2015) zaznamenali u albinotických sumců *S. glanis* menší počet agresivních interakcí než u jedinců s normální pigmentací. Elipot et al. (2013) zjistili ztrátu agresivity a dominantní hierarchie u slepé, albinotické jeskynní formy tetry mexické *A. mexicanus*.

Prvním sledovaným parametrem potvrzujícím skutečnost, že byli více stresováni albinotičtí sumci, je zvýšená hladina kortizolu u těchto jedinců. Hormon kortizol je při stresové zátěži uvolňován z kůry nadledvin do krve a je detekovatelný již po 30 s od začátku působení stresoru (Gerwick et al., 1999). Měření stresu na základě hladiny kortizolu v krevní plasmě je nejčastěji používanou metodou nejen u ryb, ale i u ostatních obratlovců (Möstl and Palme, 2002). Gilmour et al. (2005) naměřili zvýšené hladiny kortizolu u sobordinátních jedinců pstruha duhového *O. mykiss*. Tyto ryby projevovaly typické příznaky chronického stresu. V důsledku zvýšené hladiny kortizolu a jiných glukokortikoidů byly v horší tělesné kondici, měly menší přírůstky a trpěly imunosupresí. I v jiných studiích lososovitých ryb byl jako důkaz stresu měřen kortizol v krevní plasmě (*S. alpinus* – Backström et al., 2015; *O. mykiss* – Pottinger and Carrick, 2001; Øverli et al., 2004; *S. salar*. – Kittilsen et al., 2009) Dále byly hladiny kortizolu měřeny i u cichlid (*O. niloticus* – Barcellos et al., 1999; *Haplochromis Burtoni* – Fox et al., 1997), sumců (*C. gariepinus* – Pascal et al., 2008; 2009; Martins et al., 2005; 2006) či u druhu *K. marmoratus* z řádu halančíkoviců (Earley et al., 2013; Earley and Hsu, 2007). U lososovitých ryb byla zaznamenána spojitost mezi hladinou kortizolu v krvi a pigmentací jedince (Backström et al., 2015; Kittilsen et al., 2009). Většina studií získává data o hladině kortizolu přímo z krevní plasmy ryb. Tento způsob je však sám o sobě stresující a může výsledná data do jisté míry zkreslit. Ellis et al. (2004) ve své studii získávají kortizol neinvazivní cestou z vodního prostředí. Jak prokázali Oliveira et al. (1999) a Turner et al. (2003), kortizol se dá též vyextrahovat z rybích exkrementů.

Druhým parametrem, který byl u ryb sledován, byl pohyb skřelí, jakožto ukazatel frekvence dýchání sumců. Zrychlené dýchání (hyperventilace) se běžně projevuje při stresové zátěži. Sumci byli pro tento účel natáčeni shora na video a pohyby skřelí byly následně pečlivě zaznamenávány. U videí musela být kromě samotných pohybů skřelí ohodnocena též kvalita záběru, jelikož ne na všech videích byly pohyby patrné tak, aby je bylo později možno použít ke zpracování výsledků. Frekvenci dýchání jako ukazatel stresu popsali ve své studii Barreto and Volpato (2004) u tilápie nilské *O. niloticus*, kdy srovnávali frekvenci dýchání s hladinou kortizolu naměřenou vždy po střetnutí dvou jedinců. Ukázalo se, že ač zvýšené hladiny kortizolu přetrvávaly u ryb delší dobu než zrychlené pohyby skřelí, tak spolu tyto dva fyziologické projevy úzce souvisí. V další studii z roku 2006 tito stejní autoři testovali frekvenci dýchání u tilápie za použití několika různých stresorů. Tato metoda je zcela neinvazivní a výhodou jsou také nízké náklady. Nevýhodou u této metody je skutečnost, že sice můžeme přítomnost stresu prokázat, nicméně jeho intenzita je špatně zjištělná (Barreto and Volpato, 2006).

Posledním sledovaným parametrem v experimentu bylo rozšíření oční zornice. U každého sumce bylo v průběhu experimentu pořízeno několik fotografií očí, z nichž byl následně pomocí počítačového programu zjištěn počet pixelů, který na fotografii zabírá celé oko a počet pixelů, jež zabírá z oka pouze zornice. U každého jedince byl pak počet pixelů oka porovnán s počtem pixelů zornice. Tuto metodu již vyzkoušela ve své bakalářské práci Pojerová (2015). Freitas et al. (2014) použili ve své studii podobnou metodu založenou na míře zabarvení oka jedince. Z jejich výzkumu vyplývá, že oči stresovanějších jedinců mají větší část oka tmavou. Toto zbarvení se týká jak zornice, tak duhovky. Volpato et al (2003) došli ve své studii k závěru, že dominantní jedinci tilápie nilské *O. niloticus* mají světlejší oči než jedinci na spodu hierarchického žebříčku. Výsledky našeho experimentu byly založené na rozšíření zornice při stresu. Obě skupiny sumců měly po vystavení stresové situaci zornice značně rozšířené. Avšak u albinotických sumců nebyl tento jev tak výrazný jako u pigmentovaných jedinců. Mohlo by se tedy zdát, že na základě tohoto parametru byli více stresovaní pigmentovaní jedinci. Zde je však důležité vzít v potaz anatomická a fyziologická specifika albínů. U albinotických hlodavců byla zjištěna snížená adaptace na světlo vedoucí k degradaci fotoreceptorů a v krajním případě až ke ztrátě zraku (Buhusi et al., 2005), akrofobii či fotofobii (Abeelen and Kroes, 1967). Prusky et al. (2002) porovnávali ostrost vidění pigmentovaných kmenů potkana *Rattus norvegicus* (Berkenhout, 1769) s kmeny albinotickými. Z jejich výsledků vyplývá, že albinotické kmeny potkana (konkrétně Fisher-344, Sprague-Dawley,

Wistar) mají daleko menší ostrost vidění než divocí potkani a normálně pigmentované kmeny (Dark agouti, Long-Evans, Fisher-Norway). Na základě těchto studií je možné předpokládat, že se budou i u očí albinotických sumců vyskytovat jisté abnormality, a tak není možné bezpečně tvrdit, že jsou pigmentovaní jedinci dle výsledků této metody opravdu stresovanější než jedinci albinotičtí.

## 7. Závěr

Tato práce měla za cíl shrnout obecné informace o fyziologii stresu, o jeho důsledcích, a zejména o jeho příčinách, tj. stresorech. Větší prostor byl věnován stresu vznikajícím sociálními interakcemi mezi zvířaty, ať už se jednalo o jedince teritoriální, kteří musí bránit svá teritoria před vetřelci, či o členy skupin se sociální hierarchií, kteří se snaží získat a udržet si vysoké postavení představující pro jedince přednostní přístup ke klíčovým zdrojům. Studie, které byly použity v literární rešerši, řešily stresovou reakci především u ryb, nicméně pro úplnost tohoto tématu zde byly použity i studie zabývající se výzkumem stresu u jiných obratlovců. V práci byly zmíněny výzkumy, které zjistily větší stresovou odpověď u jedinců s nízkým sociálním postavením, ale i ty, které popsaly u konkrétních druhů zvířat opačnou situaci, tj. že stresovanější byli naopak jedinci na vrcholu hierarchického žebříčku. V souvislosti s tímto tématem byl zmíněn i jev, který se označuje jako winner a loser efekt, a dle kterého mají vítězové předešlého souboje větší šanci vyhrát souboj nadcházející. Další v práci analyzované téma byla korelace mezi zbarvením jedince, mírou stresu a případně i sociálním postavením ve skupině. Některé studie ukázaly, že spolu tyto tři věci úzce souvisí a na této skutečnosti byla postavena i experimentální část této práce. Poslední část literární rešerše byla věnována metodám, kterými lze míru stresu u ryb zjišťovat. Jako nejčastěji používaná metoda stále přetrvává měření hladiny hormonů z krve ryby, zejména kortizolu, nicméně v posledních letech se začínají testovat nové metody, které umožňují vědcům získat představu o míře stresu zkoumaného zvířete neinvazivní cestou.

Hypotéza testovaná v experimentu vycházela ze studií popsaných v literární části této práce, které se u ryb zabývaly stresem a změnami chování spojenými s nižší či někdy vyšší pigmentací jedince, anebo přímo se ztrátou pigmentu – albinismem. Konkrétně se experiment zabýval měřením stresu u normálně pigmentovaných a albinotických sumců, přičemž se předpokládalo, že ti albinotičtí budou při stejné stresové zátěži vykazovat vyšší stresovou odpověď než přirozeně pigmentovaní jedinci. Při pokusu bylo sledováno více parametrů, především hladina kortizolu v krvi, pohyby skřelí a zvětšení zornice. Výsledky měření hypotézu potvrdily.

## 8. Seznam literatury

- Backström, T., Heynen, M., Brännäs, E., Nilsson, J., Magnhagen, C. 2015. Dominance and stress signalling of carotenoid pigmentation in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*): Lateralization effects?. *Physiology & behavior*. 138. 52-57.
- Barreto, R. E., Volpato, G. L. 2004. Caution for using ventilatory frequency as an indicator of stress in fish. *Behavioural Processes*. 66 (1). 43-51.
- Barreto, R. E., Volpato, G. L. 2006. Ventilatory frequency of Nile tilapia subjected to different stressors. *Journal of Experimental Animal Science*. 43 (3). 189-196.
- Benca, R. M., Gilliland, M. A., Obermeyer, W. H. 1998. Effects of lighting conditions on sleep and wakefulness in albino Lewis and pigmented Brown Norway rats. *SLEEP-NEW YORK*. 21. 451-461.
- Blecha, F. 2000. Immune system response to stress. In: Moberg, G. P., Mench, J. A. (ed.). *The Biology of Animal Stress: basic principles and implications for animal welfare*. CAB International. New York. p. 111-123. ISBN: 0851993591.
- Bohus, B., Koolhaas, J. M., Nyakas, C., Steffens, A. B., Fokkema, D. S., Scheurink, A. J. W. 1987. Physiology of stress: a behavioral view. In: Wiepkema, P. R., van Adrichem, P. W. M. (ed.). *Biology of Stress in Farm Animals: An Integrative Approach*. Martinus Nijhoff Publishers. Boston. p. 57-70. ISBN: 9789400933392.
- Braum, E., Junk, W. J. 1982. Morphological adaptation of two Amazonian characoids (Pisces) for surviving in oxygen deficient waters. *Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie*. 67. 869-886.
- Bronson, F. H., Eleftheriou, B. E. 1964. Chronic physiological effects of fighting in mice. *General and Comparative Endocrinology*. 4 (1). 9-14.
- Brown, Jerram L., Gordon H. Orians. 1970. Spacing patterns in mobile animals. *Annual review of ecology and systematice*. 1 (1). 239-262.

- Buhusi, C. V., Perera, D., Meck, W. H. 2005. Memory for timing visual and auditory signals in albino and pigmented rats. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*. 31 (1). 18.
- Cannon, W.B. 1929. *Bodily Changes in Pain, Hunger, Fear and Rage: An Account of Recent Researches into the Function of Emotional Excitement*. Appleton.
- Carden, S. M., Boissy, R. E., Schoettker, P. J., Good, W. V. 1998. Albinism: modern molecular diagnosis. *British Journal of Ophthalmology*. 82 (2). 189-195.
- Carlson, A. R., Siefert, R. E., Herman, L. J. 1974. Effects of lowered dissolved oxygen concentrations on channel catfish (*Ictalurus punctatus*) embryos and larvae. *Transactions of the American Fisheries Society*. 103 (3). 623-626.
- Castanheira, M. F., Conceição, L. E., Millot, S., Rey, S., Bégout, M. L., DamsgAard, B., Martins, C. I. 2015. Coping styles in farmed fish: consequences for aquaculture. *Reviews in Aquaculture*. 7. 1-19.
- Creel, S., Creel, N. M. 2002. *The African wild dog: behavior, ecology, and conservation*. Princeton University Press. Princeton, New Jersey. p. 360. ISBN: 9780691016542.
- Creel, S., Creel, N. M., Mills, M. G., Monfort, S. L. 1997. Rank and reproduction in cooperatively breeding African wild dogs: behavioral and endocrine correlates. *Behavioral Ecology*. 8 (3). 298-306.
- Creel, S., Dantzer, B., Goymann, W., Rubenstein, D. R. 2013. The ecology of stress: effects of the social environment. *Functional Ecology*. 27 (1). 66-80.
- Damsgård, B., Huntingford, F. 2012. Fighting and aggression. In: Huntingford, F., Jobling, M., Kadri, S. (ed.). *Aquaculture and Behavior*. Wiley-Blackwell. West Sussex. p. 248-285. ISBN: 9781405130899.
- DeFries, J. C. 1969. Pleiotropic effects of albinism on open field behaviour in mice. *Nature*. 221 (5175) 65-66.
- Duboué, E. R., Keene, A. C., Borowsky, R. L. 2011. Evolutionary convergence on sleep loss in cavefish populations. *Current biology*. 21 (8). 671-676.

- Dunn, A. 1988. Nervous system–immune system interaction: an overview. *Journal of Receptor Research*. 8. (1-4). 589–607.
- Elipot, Y., Hinaux, H., Callebert, J., Rétaux, S. 2013. Evolutionary shift from fighting to foraging in blind cavefish through changes in the serotonin network. *Current Biology*. 23 (1). 1-10.
- Ellegren, H., Lindgren, G., Primmer, C. R., Møller, A. P. 1997. Fitness loss and germline mutations in barn swallows breeding in Chernobyl. *Nature*. 389 (6651). 593-596.
- Ellis, T., James, J. D., Stewart, C., Scott, A. P. 2004. A non-invasive stress assay based upon measurement of free cortisol released into the water by rainbow trout. *Journal of Fish Biology*. 65 (5). 1233-1252.
- Ellis, T., North, B., Scott, A. P., Bromage, N. R., Porter, M., Gadd, D. 2002. The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. *Journal of Fish Biology*. 61 (3). 493-531.
- Elsasser, T. H., Klasing, K. C., Filipov, N., Thompson, F. 2000. The metabolic consequences of stress: targets for stress and priorities of nutrient use. In: Moberg, G. P., Mench, J. A. (ed.). *The Biology of Animal Stress: basic principles and implications for animal welfare*. CAB International. New York. 77-110. ISBN: 0851993591.
- Ewing, R. D., Ewing, S. K. 1995. Review of the effects of rearing density on survival to adulthood for Pacific salmon. *The Progressive Fish-Culturist*. 57 (1). 1-25.
- Falcón, J., Besseau, L., Sauzet, S., Boeuf, G. 2007. Melatonin effects on the hypothalamo–pituitary axis in fish. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 18 (2). 81-88.
- Francis, R. C. 1990. Temperament in a fish: a longitudinal study of the development of individual differences in aggression and social rank in the Midas cichlid. *Ethology*. 86 (4). 311-325.
- Freitas, R. H., Negrão, C. A., Felício, A. K. C., Volpato, G. L. 2014. Eye darkening as a reliable, easy and inexpensive indicator of stress in fish. *Zoology*. 117 (3). 179-184.
- Fry, F. 1971. The effect of environmental factors on the physiology of fish. *Fish physiology* 6. 1-98.

- Fuller, J. L. 1967. Effects of the albino gene upon behaviour of mice. *Animal behaviour*. 15 (4). 467-470.
- Fuxjager, M. J., Marler, C. A. 2009. How and why the winner effect forms: influences of contest environment and species differences. *Behavioral Ecology*. 21 (1). 37-45.
- Gerwick, L., Demers, N. E., Bayne, C. J. 1999. Modulation of stress hormones in rainbow trout by means of anesthesia, sensory deprivation and receptor blockade. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 124 (3). 329-334.
- Gesquiere, L. R., Learn, N. H., Simao, M. C. M., Onyango, P. O., Alberts, S. C., Altmann, J. 2011. Life at the top: rank and stress in wild male baboons. *Science*. 333 (6040). 357-360.
- Gilmour, K. M., DiBattista, J. D., Thomas, J. B. 2005. Physiological causes and consequences of social status in salmonid fish. *Integrative and comparative biology*. 45 (2). 263-273.
- Gosling, S. D. 2001. From mice to men: what can we learn about personality from animal research? *Psychological bulletin*. 127 (1). 45.
- Hill, G. E. 2011. Condition-dependent traits as signals of the functionality of vital cellular processes. *Ecology Letters*. 14 (7). 625-634.
- Himmler, B. T., Stryjek, R., Modlinska, K., Derksen, S. M., Pisula, W., Pellis, S. M. 2013. How domestication modulates play behavior: A comparative analysis between wild rats and a laboratory strain of *Rattus norvegicus*. *Journal of Comparative Psychology*. 127 (4). 453.
- Himmler, S. M., Modlinska, K., Stryjek, R., Himmler, B. T., Pisula, W., Pellis, S. M. 2014. Domestication and diversification: A comparative analysis of the play fighting of the Brown Norway, Sprague-Dawley, and Wistar laboratory strains of (*Rattus norvegicus*). *Journal of Comparative Psychology*. 128 (3). 318.
- Hsu, Y., Earley, R. L., Wolf, L. L. 2006. Modulation of aggressive behaviour by fighting experience: mechanisms and contest outcomes. *Biological Reviews*. 81 (1). 33-74.
- Huntingford, F. A., Adams, C., Braithwaite, V. A., Kadri, S., Pottinger, T. G., Sandøe, P., Turnbull, J. F. 2006. Current issues in fish welfare. *Journal of fish biology*. 68 (2). 332-372.



- Jakobsson, S., Radesäter, T., Järvi, T. 1979. On the Fighting Behaviour of *Nannacara anomala* (Pisces, Cichlidae) ♂♂. *Ethology*. 49 (2). 210-220.
- Jeney, Z., Jeney, G., Maule, A. G. 1992. Cortisol measurements in fish. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Kaatari, S.L., Rowley, A.F. (ed.). *Techniques in Fish Immunology*. SOS Publications, New Jersey, p. 157-166. ISBN: 0962550507.
- Jobling, M. 1997. Temperature and growth: modulation of growth rate via temperature change. In: Wood, C. M., McDonald, D. G. (ed.). *Global Warming Implications for Freshwater and Marine Fish*. Cambridge University Press. Cambridge. p. 225-254. ISBN: 9780511983375.
- Johansen, I. B., Sørensen, C., Sandvik, G. K., Nilsson, G. E., Höglund, E., Bakken, M., Øverli, Ø. 2012. Neural plasticity is affected by stress and heritable variation in stress coping style. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*. 7 (2). 161-171.
- Jørgensen, E. H., Christiansen, J. S., Jobling, M. 1993. Effects of stocking density on food intake, growth performance and oxygen consumption in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Aquaculture*. 110 (2). 191-204.
- Keeler, C. E. 1942. The association of the black (non-agouti) gene with behavior in the Norway rat. *Journal of Heredity*. 33 (11). 371-384.
- Kestemont, P., Baras, E. 2001. Environmental factors and feed intake: mechanisms and interactions. In: Houlihan, D., Boujard, T., Jobling, M. (ed.). *Food intake in fish*. John Wiley & Sons. p. 131-156. ISBN: 0632055766
- Killen, S. S., Marras, S., McKenzie, D. J. 2011. Fuel, fasting, fear: routine metabolic rate and food deprivation exert synergistic effects on risk-taking in individual juvenile European sea bass. *Journal of Animal Ecology*. 80 (5). 1024-1033.
- Kittilsen, S., Johansen, I. B., Braastad, B. O., Øverli, Ø. 2012. Pigments, parasites and personality: towards a unifying role for steroid hormones?. *PloS one*. 7 (4), e34281.

- Kittilsen, S., Schjolden, J., Beitnes-Johansen, I., Shaw, J. C., Pottinger, T. G., Sørensen, C., Øverli, Ø. 2009. Melanin-based skin spots reflect stress responsiveness in salmonid fish. *Hormones and behavior*. 56 (3). 292-298.
- Koolhaas, J. M., Korte, S. M., De Boer, S. F., Van Der Vegt, B. J., Van Reenen, C. G., Hopster, H., Blokhuis, H. J. 1999. Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 23 (7). 925-935.
- Kowalko, J. E., Rohner, N., Rompani, S. B., Peterson, B. K., Linden, T. A., Yoshizawa, M., Borowsky, R. 2013. Loss of schooling behavior in cavefish through sight-dependent and sight-independent mechanisms. *Current Biology*. 23 (19). 1874-1883.
- Laidley, C. W., Leatherland, J. F. 1988. Cohort sampling, anaesthesia and stocking-density effects on plasma cortisol, thyroid hormone, metabolite and ion levels in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Biology*. 33 (1). 73-88.
- Lan, Y. T., Hsu, Y. 2011. Prior contest experience exerts a long-term influence on subsequent winner and loser effects. *Frontiers in zoology*. 8 (1). 28.
- Lewis Jr, W. M. 1970. Morphological adaptations of cyprinodontoids for inhabiting oxygen deficient waters. *Copeia*. 2 (1). 319-326.
- MacKenzie, S., Ribas, L., Pilarczyk, M., Capdevila, D. M., Kadri, S., Huntingford, F. A. 2009. Screening for coping style increases the power of gene expression studies. *PLoS One*. 4 (4), e5314.
- Marler, C. A., Oyegbile, T. O., Plavicki, J., Trainor, B. C. 2005. Response to Wingfield's commentary on "A continuing saga: The role of testosterone in aggression". *Hormones and Behavior*. 48 (3). 256-258.
- Matteri, R. L., Carroll, J. A., Dyer, C. J. 2000. Neuroendocrine responses to stress. In: Moberg, G. P., Mench, J. A. (ed.) *The Biology of Animal Stress: basic principles and implications for animal welfare*. CAB International. New York. p. 43-76. ISBN: 0851993591.
- McEwen, B., Stellar, E. 1993. Stress and the individual. *Archives of Internal Medicine*. 153 (18). 2093-2101.

- McEwen, B. S., Sapolsky, R. M. 1995. Stress and cognitive function. *Current Opinions in Neurobiology*. 5 (2). 205–216.
- Mileva, V. R., Gilmour, K. M., Balshine, S. 2011. Effects of maternal stress on egg characteristics in a cooperatively breeding fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 158 (1). 22-29.
- Millot, S., Bégout, M. L., Chatain, B. 2009. Risk-taking behaviour variation over time in sea bass *Dicentrarchus labrax*: effects of day–night alternation, fish phenotypic characteristics and selection for growth. *Journal of Fish Biology*. 75 (7). 1733-1749.
- Moberg, G. P. 1985. Biological response to stress: key to assessment of animal well-being? In: Moberg, G. P., Mench, J. A. (ed.). *The Biology of Animal Stress: basic principles and implications for animal welfare*. CAB International. New York. p. 27-49. ISBN: 0851993591.
- Moberg, G. P. 2000. Biological response to stress: implications for animal welfare. *Biological response to stress: implications for animal welfare*. In: Moberg, G. P., Mench, J. A. (ed.). *The Biology of Animal Stress: basic principles and implications for animal welfare*. CAB International. New York. p. 1-21. ISBN: 0851993591.
- Moberg, G. P. 1987. Influence of the adrenal axis upon the gonads. *Oxford reviews of reproductive biology*. 9. 456. Moberg, G.P. 1987. Influence of the adrenal axis upon the gonads. *Oxford Reviews of Reproductive Biology*. 9. 456.
- Moberg, G.P. 1999. When does stress become distress? *Laboratory Animals*. 28. 22–26.
- Moberg, G. P., Mench, J. A. 2000. *The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare*. CAB International. New York. p. 368. ISBN: 0851993591.
- Montero, D., Izquierdo, M. S., Tort, L., Robaina, L., Vergara, J. M. 1999. High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles. *Fish Physiology and Biochemistry*. 20 (1). 53-60.
- Möstl, E., Palme, R. 2002. Hormones as indicators of stress. *Domestic animal endocrinology*. 23 (1). 67-74.

- Nakatani, I. 1999. An albino of the crayfish *Procambarus clarkii* (Decapoda: Cambaridae) and its offspring. *Journal of Crustacean Biology*. 19. 380-383.
- Nice, M. M. 1941. The role of territory in bird life. *American Midland Naturalist*. 26 (3). 441-487.
- O'Connor, K. I., Metcalfe, N. B., Taylor, A. C. 2000. Familiarity influences body darkening in territorial disputes between juvenile salmon. *Animal Behaviour*. 59 (6). 1095-1101.
- Oliveira, R. F., Canario, A. V., Bshary, R. 1999. Hormones, behaviour and conservation of littoral fishes: current status and prospects for future research. In: Almada, V. C., Oliveira, R. F., Goncalves, E. J. *Behaviour and Conservation of littoral fishes*. ISPA. Lisbon. 149-178. ISBN: 9728400195
- Oliveira, R. F., Silva, A., Canário, A. V. 2009. Why do winners keep winning? Androgen mediation of winner but not loser effects in cichlid fish. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. 276 (1665). 2249-2256.
- Øverli, Ø., Korzan, W. J., Höglund, E., Winberg, S., Bollig, H., Watt, M., Summers, C. H. 2004. Stress coping style predicts aggression and social dominance in rainbow trout. *Hormones and Behavior*. 45 (4). 235-241.
- Øverli, Ø., Sørensen, C., Nilsson, G. E. 2006. Behavioral indicators of stress-coping style in rainbow trout: Do males and females react differently to novelty?. *Physiology & Behavior*. 87 (3). 506-512.
- Pickering, A. D. 1992. Rainbow trout husbandry: management of the stress response. *Aquaculture*. 100 (1-3). 125-139.
- Pickering, A. D., Pottinger, T. G., Christie, P. 1982. Recovery of the brown trout, *Salmo trutta* L., from acute handling stress: a time-course study. *Journal of Fish Biology*. 20 (2). 229-244.
- Pojerová, J. 2015. Sociální chování ve skupině: preference známých jedinců podle předchozí zkušenosti. Bakalářská práce. Česká zemědělská univerzita v Praze. Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů. Praha. 40 s.
- Pottinger, T. G., Carrick, T. R. 2001. Stress responsiveness affects dominant-subordinate relationships in rainbow trout. *Hormones and Behavior*. 40 (3). 419-427.

- Protas, M. E., Hersey, C., Kochanek, D., Zhou, Y., Wilkens, H., Jeffery, W. R., Tabin, C. J. 2006. Genetic analysis of cavefish reveals molecular convergence in the evolution of albinism. *Nature genetics*. 38 (1). 107-111.
- Prusky, G. T., Harker, K. T., Douglas, R. M., Whishaw, I. Q. 2002. Variation in visual acuity within pigmented, and between pigmented and albino rat strains. *Behavioural brain research*. 136 (2). 339-348.
- Saffran, M., Schally, A. Benfey, B. 1955. Stimulation of the release of corticotropin from the adrenohypophysis by a neurohypophyseal factor. *Endocrinology*. 57 (4). 439-444.
- Sands, J., Creel, S. 2004. Social dominance, aggression and faecal glucocorticoid levels in a wild population of wolves, *Canis lupus*. *Animal behaviour*. 67 (3). 387-396.
- Sapolsky, R. M. 1992. Cortisol concentrations and the social significance of rank instability among wild baboons. *Psychoneuroendocrinology*. 17 (6). 701-709.
- Sapolsky, R. M. 2005. The influence of social hierarchy on primate health. *Science*. 308 (5722). 648-652.
- Sapolsky, R. M., Altmann, J. 1991. Incidence of hypercortisolism and dexamethasone resistance increases with age among wild baboons. *Biological psychiatry*. 30 (10). 1008-1016.
- Seegerstrom, S. C., Miller, G. E. 2004. Psychological stress and the human immune system: a meta-analytic study of 30 years of inquiry. *Psychological bulletin*. 130 (4). 601.
- Selye, H. 1936. A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature*. 138 (3479). 32.
- Scheiber, I. B., Weiß, B. M., Frigerio, D., Kotrschal, K. 2005. Active and passive social support in families of greylag geese (*Anser anser*). *Behaviour*. 142 (11-12). 1535-1557.
- Schjolden, J., Pulman, K. G., Pottinger, T. G., Tottmar, O., Winberg, S. 2006. Serotonergic characteristics of rainbow trout divergent in stress responsiveness. *Physiology & behavior*. 87 (5). 938-947.
- Sih, A., Bell, A., Johnson, J. C. 2004. Behavioral syndromes: an ecological and evolutionary overview. *Trends in ecology & evolution*. 19 (7). 372-378.

- Silva, P. I. M., Martins, C. I., Engrola, S., Marino, G. Øverli, Ø., Conceição, L. E. 2010. Individual differences in cortisol levels and behaviour of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles: evidence for coping styles. *Applied Animal Behaviour Science*. 124 (1). 75-81.
- Slavík, O., Horký, P., Maciak, M. 2015. Ostracism of an albino individual by a group of pigmented catfish. *Plos one*. 10 (5). e0128279.
- Slavík, O., Horký, P., Wackermannová, M. 2016. How does agonistic behaviour differ in albino and pigmented fish?. *PeerJ*. 4, e1937.
- Smith, A. P. 1977. Albinism in relation to competition in bamboo *Phyllostachys bambusoides*. *Nature*. 266. 527–529.
- Sorensen, P. W., Scott, A. P., Kihlslinger, R. L. 2000. How common hormonal metabolites function as relatively specific pheromonal signals in the goldfish. In: Norberg, B. (ed.). *Proceedings of the Sixth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*. University of Bergen. Bergen. p. 125-128. ISBN: 8274610482
- Spieler, R. E. 1979. Diel rhythms of circulating prolactin, cortisol, thyroxine, and triiodothyronine levels in fishes: a review. *Revue Canadienne de Biologie* 38 (4). 301.
- Stryjek, R., Modlińska, K., Turlejski, K., Pisula, W. 2013. Circadian rhythm of outside-nest activity in wild (WWCPS), albino and pigmented laboratory rats. *PloS one*. 8 (6). e66055.
- Suter, H. C., Huntingford, F. A. 2002. Eye colour in juvenile Atlantic salmon: effects of social status, aggression and foraging success. *Journal of Fish Biology*. 61 (3). 606-614.
- Trajano, E. 1991. The agonistic behaviour of *Pimelodella kronei*, a troglobitic catfish from Southeastern Brazil (*Siluriformes, Pimelodidae*). *Behavioural processes*. 23 (2). 113-124.
- Turner, J. W., Nemeth, R., Rogers, C. 2003. Measurement of fecal glucocorticoids in parrotfishes to assess stress. *General and comparative endocrinology*. 133 (3). 341-352.
- Van Abeelen, J. H. F., Kroes, H. W. 1967. Albinism and mouse behaviour. *Genetica*. 38 (1). 419-429.

- van de Nieuwegiessen, P. G., Boerlage, A. S., Verreth, J. A., Schrama, J. W. 2008. Assessing the effects of a chronic stressor, stocking density, on welfare indicators of juvenile African catfish, *Clarias gariepinus* Burchell. *Applied Animal Behaviour Science*. 115 (3). 233-243.
- van Grouw, H. 2006. Not every white bird is an albino: sense and nonsense about colour aberrations in birds. *Dutch Birding*. 28 (2). 79-89.
- Vermeirssen, E. L., Scott, A. P. 1996. Excretion of free and conjugated steroids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): evidence for branchial excretion of the maturation-inducing steroid, 17, 20-dihydroxy-4-pregnen-3-one. *General and comparative endocrinology*. 101 (2). 180-194.
- Volpato, G. L., Luchiarri, A. C., Duarte, C. R. A., Barreto, R. E., Ramanzini, G. C. 2003. Eye color as an indicator of social rank in the fish Nile tilapia. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 36 (12). 1659-1663.
- Weiss, J. M. 1970. Somatic effects of predictable and unpredictable shock. *Psychosomatic Medicine*. 32 (4). 397-408.
- Wilson, D. S., Clark, A. B., Coleman, K., Dearstyne, T. 1994. Shyness and boldness in humans and other animals. *Trends in Ecology & Evolution*. 9 (11). 442-446.
- Yamamoto, Y., Byerly, M. S., Jackman, W. R., Jeffery, W. R. 2009. Pleiotropic functions of embryonic sonic hedgehog expression link jaw and taste bud amplification with eye loss during cavefish evolution. *Developmental biology*. 330 (1). 200-211.
- Yoshizawa, M., Jeffery, W. R., van Netten, S. M., McHenry, M. J. 2014. The sensitivity of lateral line receptors and their role in the behavior of Mexican blind cavefish (*Astyanax mexicanus*). *Journal of Experimental Biology*. 217 (6). 886-895.