

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: N4106 Zemědělská specializace

Studijní obor: Biologie a ochrana zájmových organismů

Katedra: Katedra biologických disciplín

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

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Tolstolobik bílý – řešení nadměrného rozvoje fytoplanktonu?

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

Autor: Bc. Sandra Maciarzová

České Budějovice, duben 2013

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě (v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zemědělskou fakultou JU) elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

26. 4. 2013

.....
Bc. Sandra Maciarzová

Poděkování

V prvé řadě patří mé velikánské díky Ireně Šetlíkové, za její lidský přístup, připomínky a návrhy k této práci, pomoc s veškerými útrapami v průběhu tvorby, dodávání optimismu v posledních chvílích dokončování a za mnoho dalších věcí, které ani nejde vyjmenovat, zkrátka veliké díky za vše.

Dále bych ráda poděkovala Jirkovi Šetlíkovi za pomoc při terénní části práce, cenné rady a připomínky, za pomoc při zpracování vzorků a jejich následných analýzách. Za pomoc v terénu patří mé díky i Martinu Bláhovi a Tomáši Policarovi, kterému vděčím i za poskytnutí ryb pro druhý pokus a za prostory pokusného rybníčku.

Děkuji také Tomáši Randákovi z Vodňan za možnost uskladnění vzorků, Jasonu Deanovi za pomoc při manipulaci s fluorescenčním mikroskopem a elektronickým counterem Apogee flow system a Martinu Lukešovi za pomoc při manipulaci s elektronickým counterem Beckman.

Michalu Šorfovi, Pavlu Rychteckému a Hanysovi velmi děkuji za určení druhů zooplanktonu a fytoplanktonu v potravě zkoumaných jedinců.

Velké poděkování patří Mikrobiologickému ústavu AV v Třeboni, Prof. RNDr. Ondřeji Prášilovi, Ph.D., za možnost využití vybavení a Povodí Vltavy, Ing. Janu Potužákovi, Ph.D., za umožnění fotografování na mikroskopu.

V neposlední řadě děkuji svým rodičům, prarodičům a přátelům za obrovskou podporu po celou dobu vzniku této práce i mimo ni, Kubovi Hubáčkovi velmi děkuji za pomoc s výsledným formátováním textu. Poslední (nikoli nejmenší) poděkování patří Milánkovi, za jeho trpělivost, povzbuzování a celkovou podporu.

Souhrn

V posledních desetiletích vedla zvýšená eutrofizace k nadměrnému rozvoji řas a sinic ve vodních nádržích. To výrazně snížilo jejich využití pro rekreační účely, či jako zdroje pitné vody. Mezi možnosti omezení nadměrného rozvoje fytoplanktonu patří využití fytoplanktonofágních ryb, tj. v našich podmínkách vysazení tolstolobika bílého (*Hypophthalmichthys molitrix* Valenciennes, 1844). V první části práce je zpracován literární přehled týkající se faktorů ovlivňujících účinnost použití tolstolobika bílého na redukci rozvoje fytoplanktonu ve vodních nádržích. Druhá část práce zahrnovala dva pokusy. Předmětem těchto pokusů bylo ověření příslušnosti k druhu na základě morfologie tolstolobiků, složení potravy jedinců t. bílých, životnost řas na začátku a konci trávicího traktu. Dále byl zkoumán i vliv extraktů částí trávicí soustavy na růst 2 druhů sinic – sladkovodní *Anabaena* a mořskou *Cyanothece* a sladkovodního druhu různobrvky – *Trachydiscus* v prvním pokusu. Ve druhém pokusu byl navíc zkoumán vliv různých frakcí enzymů (extracelulární, cytosolární a mikrosomální) a extraktu z jater na růst sinice *Cyanothece*. U 2-letých t. bílých bylo naměřeno průměrně 5x delší střevo než délka celého těla (TL), u asi 8-letých t. bílých ve 2. pokusu bylo střevo 4x delší než TL. Tento fakt poukazuje na adaptaci na rostlinnou potravu. Průměrná vzdálenost mezi žaberními tyčinkami byla 62 μm (u 2-letých t. bílých) a 250 μm (asi 8-leté ryby). Nicméně t. bílý je schopen filtrovat menší částice, než by se dalo očekávat na základě prostoru mezi tyčinkami, a to díky produkci hlenu, který malé částice spojuje dohromady. V potravě tolstolobiků převládá detritus (pokus 1 i 2). V prvním pokusu byli ze zooplanktonu přítomni vířníci (Rotatoria) a klanonožci (Copepoda), fytoplankton byl zastoupen zelenými řasami (Chlorophyta), rozsivkami (Bacillariophyceae) a sinicemi (Cyanobacteria). Ve druhém pokusu byla zaznamenána přítomnost perlooček (Cladocera), buchanek (Cyclopoida), lasturnatek (Ostracoda), vířníků (Rotifera) a nymf ploštic (Heteroptera), z fytoplanktonu převažovaly rozsivky (Bacillariophyceae), zelené řasy (Chlorophyta) a sinice (Cyanobacteria). Ani v jednom z pokusů neprokázal fluorescenční mikroskop rozdíly v životnosti řas v jednotlivých částech trávicího traktu. Počty buněk *Cyanothece* a vláken *Anabaena* byly sníženy při inkubaci *in vitro* se žlučí v prvním pokusu. Negativní efekt žluče na růst buněk *Cyanothece* byl potvrzen i ve druhém pokusu. V ostatních variantách pokusů (extrakty z různých částí trávicího traktu a jater) byl růst řas srovnatelný s růstem v kontrole.

Klíčová slova: biomanipulace, redukce fytoplanktonu, planktonofágní ryby, tolstolobik bílý

Abstract

Eutrophication led to an excessive development of algae and blue-green algae in water bodies in the last few decades. This process negatively influences their use for recreational purposes and as drinking water supplies. One of the possibilities how to control and excessive phytoplankton development is using phytoplanktivorous fish. Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Valenciennes, 1844) is one of the phytoplanktivorous fish however its stocking remains still controversial. The first part of this study reviewed factors which can influence efficiency of using silver carp in water reservoirs. The other part of the study consisted of two experiments. Both of them explored morphological determination of carp species, morphological adaptations for phytoplankton intake, food composition of silver carps, efficiency of digestion of algae in foregut and hindgut. The effect of extracts of different parts of intestine on growth of two species of cyanobacteria – freshwater *Anabaena* and seawater *Cyanothece* and one species of yellow-green algae *Trachydiscus* were examined in the first experiment. Furthermore effect of different fraction of enzymes (extracellular, cytosolic and microsomal) and extract of liver on cell abundance of *Cyanothece* were studied in the other experiment. Intestine was 5 times longer than total length (TL) in 2-years old silver carp while 4 times longer intestine than TL was recorded in older fish (approx. as 8-years old). This indicates an adaptation to plant food. Mean distance measured between gill rakers was 62 μm (2-years old silver carp) and 250 μm (approx. 8-years old). Nevertheless silver carp can ingest smaller particles than would be expected based on the spaces between their gill rakers, because of the production of mucus, which connects particles together. Detritus was the dominant food item in the intestinal tract of silver carp in both experiments. Rotifers and copepods represented zooplankton prey of silver carp in the first experiment. Green algae, diatoms and cyanobacteria were also present in the food of silver carp. Cladocerans, cyclopoids, ostracods, rotifers and nymph of heteropteran and diatoms, green algae and cyanobacteria were identified in the content of intestinal tract of silver carp in the other experiment. Fluorescence microscope did not show significant differences in the viability of algae in different parts of the gastrointestinal tract in any experiment. Bile reduced cell abundance of *Cyanothece* and abundance of filament in *Anabaena* when incubated *in vitro* in the first experiment. The negative effect of bile on cell growth of *Cyanothece* was confirmed also in the other experiment. Growth of algae in other experimental treatments (extracts from different parts of intestinal tract and liver) was similar with that observed in control.

Key words: biomanipulation; reduction of phytoplankton; planktonophagous fish; silver carp

OBSAH

1. ÚVOD	1
1.1. Cíle práce.....	2
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED	3
2.1. Popis druhu	3
2.1.1. Systematické zařazení	3
2.1.2. Morfologie tolstolobika bílého.....	3
2.1.3. Rozlišení tolstolobika bílého od tolstolobika pestrého	5
2.1.3.1. Délka břišního kýlu.....	5
2.1.3.2. Přesah prsních ploutví přes základ ploutví břišních	5
2.1.3.3. Poměr délky hlavy k celkové délce těla.....	6
2.1.3.4. Žáberní tyčinky.....	6
2.1.3.5. Plynový měchýř	7
2.1.3.6. Další morfologické determinační znaky (zbarvení těla a postavení očí).....	7
2.2. Potrava tolstolobika bílého.....	8
2.2.1. Detritus v potravě tolstolobika bílého	9
2.2.2. Fytoplankton v potravě tolstolobika bílého	9
2.2.3. Zooplankton v potravě tolstolobika bílého.....	10
2.3. Přizpůsobení tolstolobika bílého k příjmu fytoplanktonu	11
2.3.1. Morfologie trávicího traktu t. bílého	11
2.3.2. Filtrační aparát t. bílého.....	11
2.3.3. Trávení fytoplanktonu t. bílým.....	12
2.3.4. Odolnost tolstolobika bílého vůči toxinům sinic.....	13
2.4. Vliv tolstolobika bílého na společenstva fytoplanktonu (sinic) a zooplanktonu.....	14
2.4.1. Kvalitativní a kvantitativní změny fytoplanktonu.....	14
2.4.3. Kvalitativní a kvantitativní změny zooplanktonu	15
2.5. Faktory ovlivňující účinnost tolstolobika bílého při omezování nadměrného rozvoje fytoplanktonu	20
2.5.1. Hustota obsádky.....	20
2.5.2. Věk tolstolobiků bílých	21
2.5.3. Teplota vody (roční doba).....	21
2.5.4. Stupeň trofie vodní plochy	22
2.5.5. Velikost nádrže (pokusné plochy)	22

2.5.6.	Přítomnost sedimentu.....	23
2.5.7.	Délka pokusu.....	23
3.	MATERIÁL A METODIKA	24
3.1.	Charakteristika lokalit.....	24
3.2.	Fyzikálně-chemické podmínky.....	25
3.3.	Odběr fytoplanktonu a zooplanktonu.....	25
3.4.	Morfologie t. bílých.....	26
3.5.	Složení potravy t. bílých a životaschopnost řas v trávicím traktu.....	26
3.6.	Příprava vzorků k inkubaci <i>in vitro</i>	27
3.7.	Inkubace obsahu trávicího traktu.....	29
3.8.	Morfologie žaber a požírákových zubů.....	33
3.9.	Statistické zpracování dat.....	33
4.	VÝSLEDKY	34
4.1.	Morfologické ověření druhu a morfologické adaptace na příjem fytoplanktonu	34
4.2.	Druhov ^á nabídka prostředí.....	37
4.3.	Druhov ^é složení potravy.....	37
4.4.	Životnost řas v trávicím traktu t. bílého.....	42
4.5.	Inkubace <i>in vitro</i> s kulturami řas.....	46
5.	DISKUZE	52
6.	ZÁVĚR	55
7.	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	56

1. ÚVOD

Nadměrný přísun živin, tzv. eutrofizace je v současné době jedním z největších problémů postihujících vodní ekosystémy. Jedním z důsledků tohoto procesu je nadměrný rozvoj fytoplanktonu, který výrazně snižuje (znemožňuje) využití vody pro vodárenské a rekreační účely (Xiao a kol., 2010).

Pro zlepšení kvality vody se využívá různých tradičních biomanipulačních zásahů (Zhang a kol., 2008). Biomanipulace regulují potravní sítě, a to dvěma mechanismy – tzv. kontrole shora (top - down control), která závisí na predaci, a kontrole zdola (bottom - up control), která je založena na limitaci zdrojů (Benndorf, 1995; Benndorf a kol., 2002). Kvalita vody nepřímo závisí na kontrole shora (Benndorf, 1995). U tohoto mechanismu nemusí být jediným možným řešením tradiční pojetí - zvýšené množství zooplanktonu jako nástroj pro redukci fytoplanktonu, ale i využití fytoplanktonofágních ryb (Zhang a kol., 2008), které se v našich vodách jeví jako jedna z nejschůdnějších cest v boji proti nadměrnému rozvoji řas a sinic (Maršálek a kol., 1996).

Mezi takové ryby patří i tolstolobik bílý (*Hypophthalmichthys molitrix*, Valenciennes, 1844), jehož použití pro biologický boj proti nadměrnému množství fytoplanktonu je v současnosti podrobně ověřováno (např. Rai, 2000; Mueller a kol., 2004; Xiao a kol., 2010; Ma a kol., 2010). Jedná se totiž o druh, který ve své potravě mnohdy výrazně preferuje fytoplankton (Rai, 2000; Tang a kol., 2002; Zhao a kol., 2011) a to již od věku jednoho měsíce (cca 2 cm délka těla), k čemuž má vyvinutá různá fyziologická i morfologická přizpůsobení (Adámek a kol., 2010). Žere řasy i o velmi malé velikosti (v průměru o velikosti 20 μm) (Bitterlich, 1985a; Starling, 1993; Xiao a kol., 2010).

Většina doposud publikovaných prací se shoduje, že t. bílý účinně redukuje sinicové vodní květy, čímž pomáhá zlepšovat kvalitu vody (Starling a Rocha, 1990; Starling, 1993; Kopp a Heteša, 2000; Mueller a kol., 2004; Ke a kol., 2009; Xiao a kol., 2010; Ma a kol., 2010), v otázce účinnosti na redukci fytoplanktonu se výsledky rozcházejí. V některých případech přítomnost t. bílého vedla k poklesu fytoplanktonu v nádrži (Kajak a kol., 1975; Lieberman, 1996; Xiao a kol., 2010), někdy naopak přítomnost t. bílého růst řas naopak stimulovala (Opuszynski 1981; Radke a Kahl, 2002; Zhou a kol., 2011). Existuje několik důvodů, které zapříčiňují negativní efekt t. bílého při redukci biomasy fytoplanktonu. T. bílý se přikrmuje (kromě fytoplanktonu) i na herbivorním zooplanktonu, čímž mizí přirození predátoři fytoplanktonu a zároveň si s herbivorním zooplanktonem navíc konkuruje o zdroje potravy. Posledním důvodem negativního efektu t. bílého na fytoplankton je zvýšený přísun živin do prostředí,

tzv. ichtyoeutrofizace, způsobený výkaly t. bílého, jenž je pro růst řas rovněž stimulující (Lu a kol., 2002; Zhou a kol., 2011).

Tato práce se věnuje tolstolobiku bílému a jeho potenciálu pro redukci fytoplanktonu ve vodních ekosystémech. V rešeršní části jsem se zaměřila na doposud publikované studie ohledně účinnosti tolstolobika při biomanipulačních zásazích. Tyto studie jsou mnohdy v rozporu, tudíž jsem je vzájemně porovnála a vytvořila ucelený přehled získaných poznatků. V praktické části se zaměřuji na morfologická a fyziologická přizpůsobení tolstolobika k příjmu řas a sinic a posouzení účinnosti extraktů trávicího traktu na růst několika druhů řas a sinic (*in vitro*). Při této práci jsem se osobně účastnila veškerých terénních i laboratorních zpracování vzorků, kromě analýzy druhového spektra potravní nabídky a složek potravy u zkoumaných jedinců, za což velmi vděčím osobám uvedeným v kapitole poděkování.

1.1. Cíle práce

V následujících bodech jsou shrnuty hlavní cíle diplomové práce:

- specifikovat přizpůsobení tolstolobika bílého k příjmu fytoplanktonu včetně mechanismů, které mu umožňují odolávat toxinům sinic
- srovnat podmínky jeho použití (obsádka, chemismus vody, složení fytoplanktonu atd.), a tak posoudit účinnost jeho použití

2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1. Popis druhu

2.1.1. Systematické zařazení

Tolstolobik bílý - *Hypophthalmichthys molitrix* (Valenciennes in Cuvier and Valenciennes, 1844) patří mezi kaprovité ryby. Latinský název rodu lze doslova přeložit jako ryba se spodním postavením očí (*hypo* = spodní, *ophthalmos* = oko a *ichthys* = ryba – vše z řečtiny). Druhové jméno – *molitrix* (*molitor* = mlynář, z latiny) – se pravděpodobně vztahuje k jeho požerákovým zubům, které drtí potravu podobně jako mlýnek (Etnier a Starnes, 1993).

Taxonomie (dle Nelson, 1994)

kmen – Chordata (strunatci)

podkmen – Vertebrata (obratlovci)

nadtřída – Osteichthyes (ryby)

třída – Actinopterygii (paprskoploutvé ryby)

podtřída – Neopterygii (kostnaté ryby)

řád – Cypriniformes (máloostní)

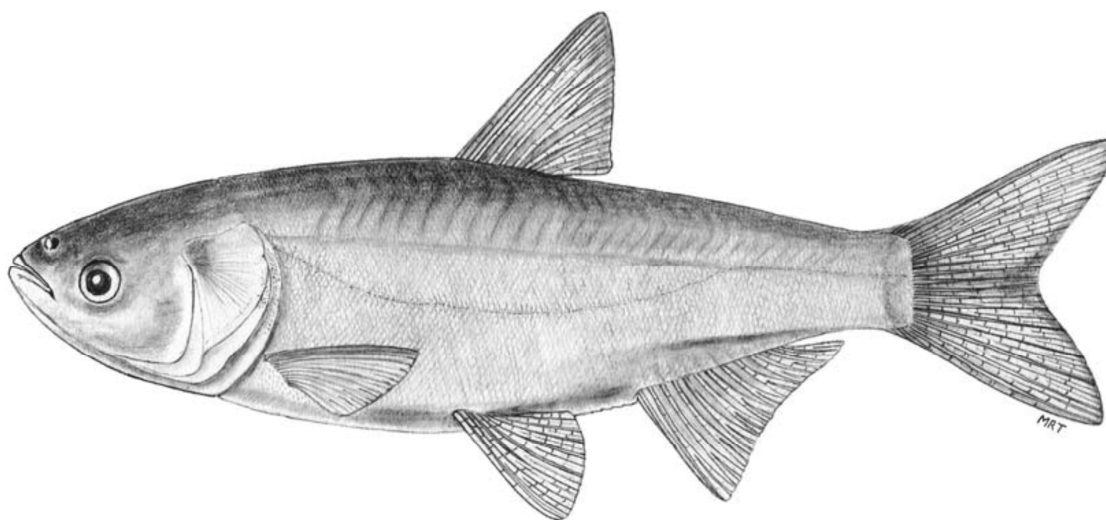
čeleď – Cyprinidae (kaprovití)

2.1.2. Morfologie tolstolobika bílého

Tolstolobik bílý má zavalité, robustní tělo s vysokým hřbetem, které je ze stran zploštělé (obr. 1) (Krupauer, 1989; Kolar a kol., 2005). Dorůstá do délky okolo jednoho metru (Pivnička a kol., 1987; Baruš a Oliva, 1995). Maximální naměřená hodnota celkové délky těla byla 120 centimetrů (Kolar a kol., 2005). Průměrná hmotnost t. bílého se pohybuje od 3 do 8 kg (Baruš a Oliva, 1995). Rekordní hodnoty až 50 kg uvádí Kolar a kol. (2005).

Tolstolobik bílý má tělo pokryto, podobně jako všechny kaprovité ryby, cykloidními šupinami. U t. bílého jsou tyto šupiny drobné (Krupauer, 1989). Počet šupin

v postranní čáře je poměrně variabilní: 85 – 108 (Kolar a kol., 2005), 109 – 120 (Krupauer, 1989), 110 – 129 (Lusk a kol., 1983; Pivnička a kol., 1987). Počet řad šupin nad postranní čárou a pod ní není tak proměnlivý, jako počet šupin v postranní čáře. Nad postranní čárou je udáván počet řad šupin 28-33 (Baruš a Oliva, 1995), 29-30 (Kolar a kol., 2005), pod postranní čárou je řad šupin méně: 16-28 (Baruš a Oliva, 1995), 16-17 (Kolar a kol., 2005).



Obr. 1: Celková stavba těla tolstolobika bílého, *Hypophthalmichthys molitrix*, jedinec dlouhý 29 cm (SL – standard length, délka bez ocasní ploutve), ilustrace Matt Thomas (zdroj: Kolar a kol., 2005).

Zbarvení hlavy a hřbetu dospělých jedinců je šedozelené, boky a břicho mají stříbřitou barvu (Krupauer, 1989). Ploutve jsou šedavé, řitní ploutev a párové ploutve mají někdy zlatavý nádech (Pivnička a kol., 1987).

Velká a široká hlava není výrazně oddělená, plynule přechází do hřbetní a břišní linie (Baruš a Oliva, 1995). Ústa mají horní postavení (Lusk a kol., 1983; Krupauer 1989) a jsou bezvousá. Spodní čelist přesahuje čelist horní a nachází se na ní výběžek, kterým zapadá do prohlubně v horní čelisti (Baruš a Oliva, 1995). Oči jsou umístěny v dolní polovině hlavy (Kolar a kol., 2005). Požerákové zuby jsou v jedné řadě (4-4) a jejich žvýkací plocha má hladký povrch (obr. 2), zatímco požerákové zuby t. pestrého jsou při zvětšení jemně rýhované. (Krupauer, 1989; Kolar a kol., 2005).



Obr. 2: Požerákové zuby t. bílého s hladkým povrchem žvýkací plochy. Požerákové zuby slouží k rozmělnění potravy (zdroj: Chytrý (2009): <http://www.biolib.cz/>).

2.1.3. Rozlišení tolstolobika bílého od tolstolobika pestrého

Z čeledi kaprovitých je tolstolobiku bílému nejvíce podobný tolstolobik pestrý (*Hypophthalmichthys nobilis* (Richardson, 1845)), se kterým je velmi často zaměňován (Kolar a kol., 2005). Tyto dva druhy se odlišují několika morfologickými znaky (Krupauer, 1989; Baruš a Oliva, 1995; Kolar a kol., 2005).

2.1.3.1. Délka břišního kýlu

Jedním z hlavních rozlišovacích znaků je délka břišního kýlu. U tolstolobika bílého je břišní kýl dlouhý, probíhá od hrdla po řitní otvor, přičemž výrazně patrný je za břišními ploutvemi. U tolstolobika pestrého je kýl vytvořen jen mezi břišními ploutvemi a řitním otvorem.

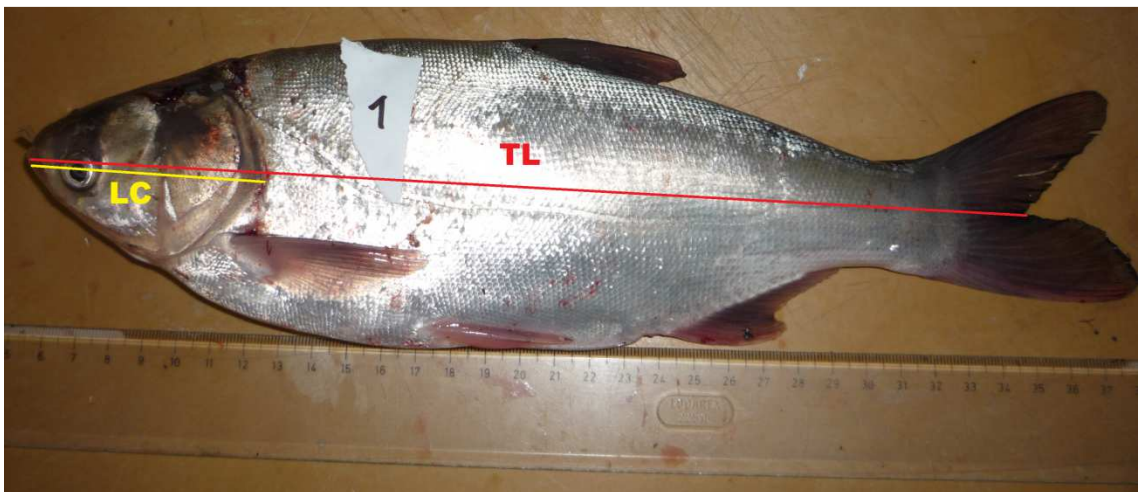
2.1.3.2. Přesah prsních ploutví přes základ ploutví břišních

Dalším charakteristickým znakem, odlišujícím tyto dva druhy, je délka prsních ploutví po přiložení k tělu. U tolstolobika bílého prsní ploutev buď vůbec nepřesahuje

základ ploutví břišních (Krupauer, 1989; Baruš a Oliva, 1995), nebo jej přesahuje maximálně o 10% celkové délky břišní ploutve (Kolar a kol., 2005). U tolstolobika pestrého přesahuje prsní ploutev o 16 - 42% základ břišních ploutví (Kolar a kol., 2005).

2.1.3.3. Poměr délky hlavy k celkové délce těla

Mezidruhové rozdíly mezi t. bílým a t. pestrým jsou také prokazatelné podle poměru délky hlavy k celkové délce těla (obr. 3). T. bílý má vzhledem k délce těla hlavu kratší, než t. pestrý. U obou druhů se celkový poměr s růstem zmenšuje. U t. bílého je udáváno rozmezí hodnot 22,6 - 25,6% (pro $n=6$, průměrná délka těla 598 mm). U t. pestrého je poměr délky hlavy k celkové délce těla vyšší, než u t. bílého. Hodnoty tohoto poměru se pohybují v rozmezí 26 - 38% (čtyřměsíční jedinci; Baruš a Oliva, 1995).



Obr. 3: Poměr mezi délkou hlavy (LC) a celkovou délkou těla (TL) je jedním z rozdílů mezi tolstolobikem bílým a tolstolobikem pestrým (Maciarzová, 2012).

2.1.3.4. Žaberní tyčinky

Významným determinačním znakem jsou žábry a žaberní tyčinky obou druhů. Hlavní rozdíl spočívá v jejich celkové struktuře. Tolstolobik pestrý se vyznačuje volnými, nepropojenými žaberními tyčinkami. Oproti tomu u tolstolobika bílého jsou žaberní tyčinky vzájemně propojené a tvoří hustou filtrační síť houbovitě struktury

(obr. 4 a 5). Krupauer (1989) uvádí, že u jedinců t. bílého o hmotnosti 5 - 8 gramů se na jeden mm žaber nachází 16 - 17 tyčinek.



Obr. 4 a 5: Žábry tolstolobika pestrého (vlevo) s volnými, nepropojenými žaberními tyčinkami a tolstolobika bílého (vpravo), kde je mezi žaberními tyčinkami typická houbovitá struktura (zdroj: Kolar a kol., 2005).

2.1.3.5. Plynový měchýř

Kaprovité ryby mají dvoukomorový plynový měchýř a délky jednotlivých částí jsou dalším odlišným znakem mezi oběma druhy tolstolobiků (Pivnička a kol., 1987). Tolstolobik bílý se od svého příbuzného tolstolobika pestrého liší rozměry předního a zadního oddílu plovacího měchýře. U t. bílého je přední část kratší, než část zadní, u t. pestrého je tomu naopak.

2.1.3.6. Další morfologické determinační znaky (zbarvení těla a postavení očí)

Kolar a kol. (2005) uvádí další možné determinační znaky. T. bílého lze od t. pestrého rozlišit i na základě rozdílnosti ve zbarvení a pomocí skvrn na boku těla, které se vyskytují jen u t. pestrého. U t. bílého najdeme uniformně stříbrné zbarvení po

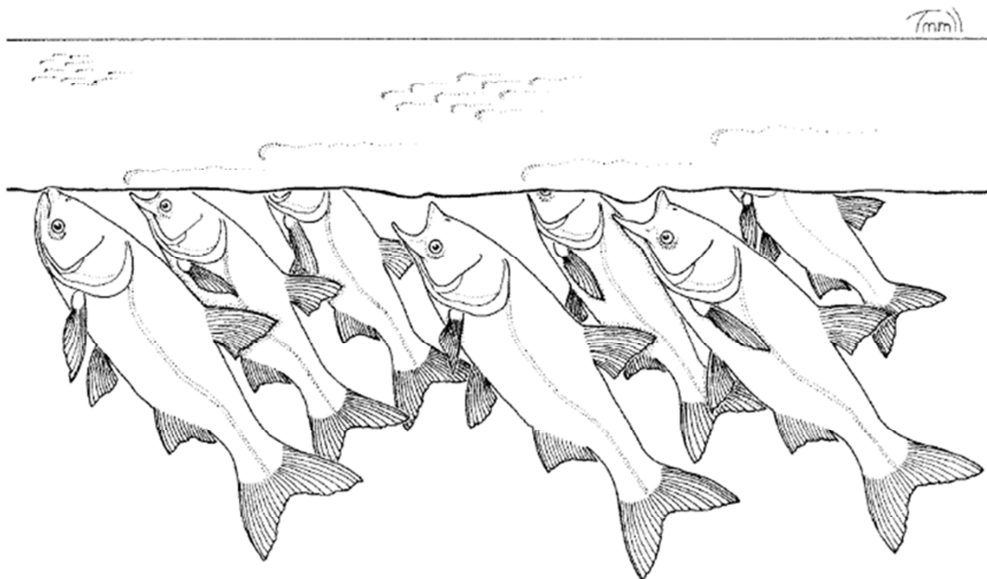
stranách těla. Rozdílnost spočívá i v umístění očí obou druhů. T. pestrý má oči orientované mnohem více ventrálně oproti t. bílému (obr. 6 a 7).



Obr. 6 a 7: Rozdíl v umístění očí u t. pestrého (vlevo) a t. bílého (vpravo) (zdroj: Kolar a kol., 2005).

2.2. Potrava tolstolobika bílého

Tolstolobik bílý je obligátní planktonofág (Lu a kol., 2002; Krupauer 1989; Baruš a Oliva, 1995), tj. filtruje plankton a jiné částice (Kolar a kol., 2005). Potrava není pravděpodobně náhodou zachytávána na žaberním aparátu při dýchání (Krupauer, 1989), ale t. bílý spíše využívá intenzivnější filtraci při příjmu potravy, způsobenou vyšší četností dechových pohybů skřelí (obr. 8) (Lu a Xie, 2001). Krupauer (1989) u plůdku t. bílého pozoroval změny chování při lovu potravy. Jedinci se sdružovali do hejna, které plavalo v kruhu, proti směru hodinových ručiček. Kruh postupně zužovali, čímž zřejmě zahušťovali potravu rozptýlenou ve vodě.



Obr. 8: Způsob, jakým tolstolobici bílí shromažďují potravu a efektivněji ji pak filtrují. Tímto způsobem filtrují potravu více ve volné vodě, než u hladiny (zdroj: Kolar a kol., 2005)

2.2.1. Detritus v potravě tolstolobika bílého

Významnou složkou potravy tolstolobika bílého, zejména při nedostatku fytoplanktonu, je detritus (Herodek a kol., 1989; Baruš a Oliva, 1995). Skládá se z odumřelých částí rostlin a amorfní organické hmoty tvořené heterotrofními a autotrofními mikroorganismy (Bitterlich, 1985a). Sirenko a kol. (1976) zjistili, že podíl množství detritu ve střevě dosahoval 90 až 99%. Opuzsynski (1981) také poukazuje na důležitost detritu v potravě t. bílého a uvádí, že detritus může tvořit více jak 90% potravy na jaře a 60-100% potravy na podzim.

2.2.2. Fytoplankton v potravě tolstolobika bílého

I přesto, že je t. bílý některými autory považován spíše za všežravého (Bitterlich, 1985a; Opuzsynski, 1981), mnoho autorů považuje fytoplankton za jeho primární zdroj potravy (Adámek, 1980; Cremer a Smitherman, 1980; Lazzaro, 1987; Krupauer, 1989; Lieberman, 1996; Xie, 1999; Williamson a Garvey, 2005; Calkins, 2010). Baruš a Oliva (1995) uvádí, že podíl fytoplanktonu v potravě t. bílého není nikdy menší než 95%. Z fytoplanktonu převládají v potravě t. bílého sinice (Cyanobacteria): zejména *Oscillatoria*, dále zelené řasy (Chlorophyta): především *Pediastrum*,

Scenedesmus (dnes některé druhy přeřazeny do rodu *Desmodesmus*) a v neposlední řadě rozsivky (Bacillariophyceae) (Krupauer, 1989). Rozsivky a zelené řasy jsou považovány za hlavní zdroj potravy t. bílého (Herodek a kol., 1989), zatímco rody *Euglena* a *Phacus* (Euglenophyta) dle Spataru (1977) nepřijímány. Sirenko a kol. (1976) uvádí jako hlavní zdroj potravy rozsivky, následované zelenými řasami, krásnoočkami (Euglenophyta) a sinicemi, především rody *Aphanizomenon*, *Oscillatoria*, *Anabaena* a *Microcystis*.

Rozporuplná je výběrovost fytoplanktonu v potravě. Cremer a Smitherman (1980) nezaznamenali selektivitu řas v trávicím traktu tolstolobika bílého. Podíl a druhy řas v přední části střeva odpovídali podílu jednotlivých druhů řas v okolním prostředí. Výběrovost fytoplanktonu naopak uvádí Ijgin (1966) a Savina (1966, oba in Krupauer, 1989), kteří sledovali značné rozdíly v druhové skladbě potravy oproti nádrži.

2.2.3. Zooplankton v potravě tolstolobika bílého

V rané fázi vývoje t. bílý preferuje v potravě zooplankton (Domaizon a kol., 2000). I později tvoří zooplankton významnou složku potravy, především když je koncentrace fytoplanktonu v prostředí nízká (Bitterlich, 1985a; Spataru a Gophen, 1985). Spataru a Gophen (1985) zjistili, že t. bílí (13 - 94 cm) v jezeře Kinneret v Izraeli konzumovali velké množství buchaneček, a že od září do ledna zooplankton v obsahu střeva zkoumaných jedinců převažoval nad fytoplanktonem, zatímco v létě se poměr obrátil ve prospěch fytoplanktonu před zooplanktonem. Sezónní konzumaci zooplanktonu pozoroval i Williamson (2004), který zkoumal 2-leté t. bílé o velikosti 60-80 cm. Domnívá se, že to bylo způsobeno změnou druhového složení zooplanktonu během ročního období. V létě převládali v prostředí klanonožci (Copepoda), zatímco v chladnějších obdobích vířníci (Rotifera).

Potravní výběrovost t. bílého vůči jednotlivým skupinám zooplanktonu je významně ovlivněna jejich nabídkou v prostředí, jak je patrné z následujících příkladů. Zhou a kol. (2011) a Radke a Kahl (2002) pozorovali největší predační tlak ze strany t. bílého na vířníky a klanonožce, zatímco perloočkám se t. bílí spíše vyhýbali. Naprosto odlišný výsledek pozorovali Domaizon a Dévaux (1999b), dle kterých byly nejvíce ovlivněny perloočky, zatímco vířníci a klanonožci téměř vůbec. Bukvič a kol. (1998) sledoval redukci perlooček a klanonožců, zatímco vířníci t. bílým nebyli ovlivněni. Tuto skutečnost přisuzuje spíše trofickým podmínkám v nádrži, než že by se t. bílý této skupině živočichů vyhýbal.

2.3. Přizpůsobení tolstolobika bílého k příjmu fytoplanktonu

2.3.1. Morfologie trávicího traktu t. bílého

Zažívací soustava tolstolobika začíná, stejně jako u jiných kostnatých ryb, ústním otvorem pokračujícím do ústní dutiny. Na ústní dutinu navazuje hltan, ze stran perforovaný žaberními oblouky (Pivnička a kol., 1987). Na 5. žaberní oblouku se nacházejí požerákové zuby, které napomáhají drtit potravu a slouží k narušení buněčných stěn řas a sinic, které jsou pak snáze stravitelné (Xie, 1999). Zažívací soustava pokračuje silně roztažitelným jícnem, v němž jsou roztroušeny buňky, které vylučují hlenovitou hmotu, a tím usnadňují postup sousta dále do žaludku. Tolstolobik bílý nemá, podobně jako všechny kaprovité ryby, morfologicky odlišitelný žaludek. Jícen pokračuje přímo do střeva (Pivnička a kol., 1987). Délka střeva se zvětšuje s růstem těla a v konečné fázi může být 3,5 - 7,3krát (Kolar a kol., 2005) či 6krát (Bitterlich, 1985a) delší než celé tělo. Délka trávicího traktu roste od masožravých po býložravé a detritivorní živočichy, u kterých může být délka střeva až 20krát delší než celková délka těla (Horn, 1989; Gerking, 1994). S narůstající délkou střeva se prodlužuje doba trávení u živočichů, u t. bílého je uváděna doba průchodu potravy trávicím traktem okolo 10 hodin (Bialokoz a Krzywosz, 1981).

2.3.2. Filtrační aparát t. bílého

Adaptivní strategií na chybějící žaludek u tolstolobika bílého je nepřetržitě přikrmování se na malých částicích, zahrnujících nejenom plankton, ale také množství organického detritu (Xie, 1999). K příjmu této drobné potravy je účinně přizpůsoben specializovaný filtrační aparát (Bitterlich, 1985a).

Filtrační aparát je tvořen filtrační sítí, která je tvořená vzájemně propojenými žaberními tyčinkami. Vzdálenost žaberních tyčinek je 6 - 25 μm (Krupauer, 1989), 20 μm (Bitterlich, 1985a), 12 - 26 μm (Hampl a kol., 1983; Lu a kol., 2002). Rozporuplnost se objevuje v otázce změn velikosti jednotlivých pórů filtračního síta v průběhu růstu t. bílého. Dle Hampla a kol. (1983) se vzdálenost mezi jednotlivými tyčinkami s věkem nemění. To vyvrací studie Liu (1981), zabývající se vzdáleností jednotlivých tyčinek v průběhu růstu. U 1,5 – 10 cm dlouhých jedinců odpovídala naměřená vzdálenost rozmezí hodnot 15 - 25 μm , u jedinců s délkou těla 34 - 47 cm se rozmezí změnilo na 34 - 41 μm .

T. bílý může efektivně filtrovat a konzumovat částice menší, než jsou vzdálenosti mezi jednotlivými žaberními tyčinkami (Xie, 1999; Kolar a kol., 2005), důležitou roli při spojování tak malých částic hraje epibranchiální rýha (tzv. endostyl), která spojuje částice produkcí velkého množství hlenu (Xie, 1999; Kolar a kol., 2005; Calkins, 2010). T. bílý je schopen konzumovat částice o velikosti 8 - 100 μm (Cremer a Smitherman, 1980). Ačkoliv Smith (1989a) nepřipouští existenci částic menších než 5,7 μm ve střevě a dle Lu a kol. (2002) t. bílý neúčinně tráví řasy menší než 10 μm , byla prokázána schopnost pozřít i menší částice, a to o velikosti 3,2 μm (De-Shang a Shuang-Li, 1996), 4 μm (Omarov, 1970) a 4,5-10 μm (Xie, 1999). Ačkoli je příjem takto malých částic možný, je podíl těchto částic v potravě poměrně malý, vždy závisí na potravní nabídce prostředí. Pokud v prostředí převládají větší zelené řasy, konzumují t. bílí především tuto potravu (Xie, 1999). Odstraňování nanoplanktonu a pikoplanktonu t. bílým z vodního ekosystému je považováno za neefektivní (Sieburth a kol., 1978; Fukushima a kol., 1999).

2.3.3. Trávení fytoplanktonu t. bílým

Příjem fytoplanktonu je u t. bílého často považován za primární zdroj živin, jeho stravitelnost však není doposud plně objasněna (Xie, 1999; Bitterlich, 1985b). Nutnou podmínkou pro získání živin z vnitřku buněk je narušení jejich celulóznic (nebo jiných polysacharidových) buněčných stěn (Bitterlich, 1985a). Narušení může být buď chemické (enzymatické trávení, nízké pH), nebo mechanické (Bitterlich, 1985b). Kvůli absenci žaludku není t. bílý schopen dosáhnout nízkého pH v trávicím traktu (obvyklé pH trávicích šťáv t. bílého je větší než 6) (Xie, 1999) a rozrušit tak celulózní buněčnou stěnu, jako je tomu například u rodu *Tilapia* (Moriarty a Moriarty, 1973). Bitterlich (1985a) zkoumal aktivitu trávicích enzymů (trypsinu a amylázy) v deseti různých částech střeva t. bílého a prokázal, že aktivita těchto enzymů se prudce snižovala od přední části směrem k zadní části trávicího traktu, což pokládá za důkaz účinného mechanismu reabsorpce. Optimální pH pro činnost trypsinu a amylázy se pohybuje okolo 8,3 – 7 pH. T. bílý má v přední části střeva pH nižší, než je toto optimum, což účinně kompenzuje vyšší koncentrací těchto enzymů. Chemické narušení buněčných stěn řas a sinic za pomoci celulázy či klasických lyzozomů (buněčná struktura obsahující enzymy štěpící organické látky), nebylo u t. bílého jasně prokázáno (Bitterlich, 1985a). U tilapie, schopné konzumovat fytoplankton, byla prokázána celulázová aktivita, ale u mikroorganismů v trávicím traktu (bakteriální flóra) (Bairagi a kol., 2002). Tyto mikroorganismy, které se vyskytují i v prostředí, nebyly ovšem u

t. bílého doposud prokázány. Jediným možným způsobem, kterým je t. bílý schopen narušit buněčné stěny řas a sinic je způsob mechanický, tj. za pomoci požerákových zubů. Přítomnost živých buněk na konci střeva nemusí nutně znamenat jejich nestravitelnost, ale spíše to poukazuje na skutečnost, že nebyly narušeny jejich stěny požerákovými zuby, obsahy buněk jsou pro t. bílého stravitelné (Xie, 1999; Xie, 2001). Výzkum obsahu střeva t. bílých z člověkem obhospodařovaných rybníků prokázal, že většina řas přítomných v přední části, zůstala nedotčená i v zadní části střeva (Spataru, 1977). Xie (1999) naopak prokázal, že 67% buněk rozsivky rodu *Cyclotella* bylo poškozeno příjmem a následným trávením, z čehož 52% proběhlo v jícnu a jen 15% v samotném střevě. Tyto výsledky tak nepřímo naznačují důležitost mechanického narušení buněčných stěn požerákovými zuby.

2.3.4. Odolnost tolstolobika bílého vůči toxinům sinic

Podobně jako u veškerého fytoplanktonu není stravitelnost sinic dokonalá. Sinice mohou projít trávicí trakt t. bílého zcela bez narušení (Krupauer, 1989), neboť slizové obaly na povrchu sinic jsou pro t. bílého prakticky nestravitelné (Kopp a Heteša, 2000). Díky mechanickému narušení slizových obalů je ale t. bílý schopen natrávit vnitřek buněk, obsahující množství toxinů. Za nejtoxičtější sinice v Evropě je považován rod *Microcystis*, který nejčastěji tvoří vodní květy (Kopp a Heteša, 2000). Sinice *Microcystis* mohou být pro ryby toxické nejen skrze jejich příjem v potravě, ale také přímou absorpcí toxinů z vody (Wiegand a kol., 1999). U tolstolobiků krmených výhradně sinicemi (*Microcystis aeruginosa* 90% a *Microcystis ichthyoblabe* 10%) byly zaznamenány vážné zdravotní problémy, signalizující příznaky anémie. Kopp a Heteša (2000) navíc tolstolobikům bílým intraperitoneálně aplikovali microcystin-LR a pozorovali významné snížení počtu leukocytů, lymfocytů, hodnot hematokritu, leukokritu, hemoglobinu, celkových bílkovin a výrazné zvýšení hodnot u jaterních enzymů.

Zvýšený příjem sinic v potravě znamená větší zasažení organismu toxinem. T. bílý na toto zasažení dokáže reagovat snížením příjmu sinicových buněk (Kopp a Heteša, 2000). Mechanismus, jakým t. bílý odolává toxinům sinic, není doposud plně objasněn. Odolnost vůči toxinům byla prokázána i u tilapie nilské (*Oreochromis niloticus*), která je schopna snížit koncentraci mikrocystinu, a to tím, že po období akumulace toxinu následuje období detoxikace a očištění (pravděpodobně nepřijímáním dalších sinic) (Jančula a kol., 2008). Nicméně toxiny u ryb pravděpodobně dál zůstávají v játrech a svalové tkáni (Smith a Haney, 2006).

U t. pestrého se pravděpodobně nacházejí nějaké mechanismy, které aktivně snižují nebo spojují microcystiny-LR dohromady ihned poté, co vstoupí do cévního systému. Jak takové mechanismy fungují, však není doposud objasněno (Li a kol., 2005). Při pokusech s t. bílým, kdy byly jedincům podávány živé buňky *Microcystis viridis*, se překvapivě prokázalo, že t. bílí pravděpodobně mají speciální mechanismus aktivního rozkladu microcystinu-LR ve střevě a inhibice transportu microcystinu-LR trávicím traktem, neboť microcystin-LR nebyl téměř vůbec nalezen v játrech jedinců (Xie a kol., 2004).

Obecně u ryb byla prokázána eliminace mikrocytinů následkem vyloučení žlučových kyselin. Tyto kyseliny přeměňují složky mikrocytinu na polárnější, čímž umožňují rozložení toxinů skrze přirozené biochemické reakce (Šetlíková a Wiegand, 2009).

2.4. Vliv tolstolobika bílého na společenstva fytoplanktonu (sinic) a zooplanktonu

2.4.1. Kvalitativní a kvantitativní změny fytoplanktonu

Téměř ve všech studiích zahrnutých v tab. 1 byla potvrzena redukce fytoplanktonu t. bílým (Kajak a kol., 1975; Lieberman, 1996; Vörös a kol., 1998; Starling a kol., 1998; Bukvić a kol., 1998; Fukushima a kol., 1999; Lu a kol., 2002; Tang a kol., 2002; Ma a kol., 2010; Xiao a kol., 2010). Některé studie naopak naznačují, že tolstolobik bílý může v některých případech růst řas stimulovat (Opuszynski, 1979; Vörös a kol., 1997). Existuje několik faktorů, které jsou zodpovědné za neúspěšný vliv t. bílého na redukci fytoplanktonu. Prvním faktorem je to, že t. bílý konzumuje navíc i zooplankton. Podle Xie a Yang (2000) t. bílí redukují herbivorní zooplankton mnohem více, než zooplankton dravý. Tak z prostředí mizí přirození konzumenti fytoplanktonu, kteří napomáhají k jeho redukci (Opuszynski 1979; Starling, 1993). Tolstolobik bílý zároveň s herbivorním zooplanktonem vstupuje do vzájemné kompetice o zdroje potravy (Burke a kol., 1986, Milstein a kol., 1985). T. bílý může růst fytoplanktonu i podporovat přísunem živinově bohatých výkalů do prostředí (tzv. ichtyoeutrofizace).

Pokud byl pozorován nárůst řas ve vodním prostředí za přítomnosti t. bílého ve studiích v tab. 1, jednalo se především o malé druhy řas, tj. menších než 30 μm (Radke a Kahl, 2002 – autoři navíc uvádějí, že 99% z této velikosti bylo menší než 10 μm ; Vörös a kol., 1998), 20 μm (Zhou a kol., 2011) či řas o velikosti 2,5 – 5 μm (Ma a kol., 2010) a drobného nanoplanktonu (Kajak a kol., 1975; Starling a kol., 1998), na něž

působí predační tlak t. bílého minimálně. Filtrace takto malých částic je jen nepatrná a nezpůsobuje jejich redukci (Ma a kol., 2010). V žádné studii nebyl pozorován nárůst velkých druhů řas pod vlivem t. bílého. Přítomnost t. bílého tedy vede k posunu druhového spektra směrem k menším druhům fytoplanktonu.

2.4.2. Kvalitativní a kvantitativní změny společenstva sinic

T. bílý je mnohdy považován za efektivní nástroj biologické kontroly růstu vodních květů (Starling, 1993; Fukushima a kol., 1999; Radke a Kahl, 2002). Ze všech druhů schopných konzumovat sinice (tolstolobik pestrý a dospělci rodu *Tilapia*) má nejmenší vliv na ichtyoeutrofizaci (Datta(Saha) a Jana, 1998). Všechny studie v tab. 1 shodně uvádějí redukci biomasy sinic za přítomnosti t. bílého (Kajak a kol., 1975; Datta(Saha) a Jana, 1998; Vörös a kol., 1998; Ke a kol., 2009; Ma a kol., 2010). Hustota obsádky nemá žádný vliv na efektivitu t. bílého při redukci sinic (Starling a kol., 1998).

2.4.3. Kvalitativní a kvantitativní změny zooplanktonu

Příjem potravy tolstolobikem bílým vede ke kvantitativním, ale i kvalitativním změnám společenstva zooplanktonu. Při přítomnosti t. bílých v nádrži převažoval menší zooplankton (Fukushima a kol., 1999). Kajak a kol., 1975; Lieberman, 1996; Bukvič a kol., 1998; Fukushima a kol., 1999; Lu a kol., 2002; Radke a Kahl, 2002; Ke a kol., 2009 pozorovali redukci zooplanktonu za přítomnosti t. bílého. S rostoucí hustotou obsádky se zároveň snižuje množství zooplanktonu v nádrži (Lu a kol., 2002; Tang a kol., 2002; Xiao kol., 2010). Přítomnost t. bílého vede, podobně jako u fytoplanktonu, k posunu společenstva zooplanktonu směrem k menším druhům. Fukushima a kol. (1999) pozoroval posun k malým druhům bez ohledu na hustotu rybí obsádky.

Tab. 1: Přehled studií zaměřujících se na použití t. bílého proti nadměrnému rozvoji fytoplanktonu:

Studie	Obsádka kg*ha ⁻¹ / g*m ⁻³	Věk/ hmotnost [g] // délka ryb [cm]	Teplota vody [°C]	Testované území [ha]	Stupeň trofie P /N [μg l ⁻¹]	Pokusná plocha [ha]/ hloubka [m]	Délka pokusů	Abundance [ind*m ⁻¹ /mg*l ⁻¹]		
								fytoplanktonu	sinic	zooplanktonu
Kajak a kol. (1975)	450 /-	-/-//12 → -/-//15	25→15	jezero (Polsko)	eutrofní	6,25*10 ⁻⁴ /1,5	2 měsíce a 8 dní (5.7.-13.9.)	↓(4,5x)	↓	↓ (4,5x)
	↑nanoplankton							↓ (16x)		
Lieberman (1996)	1,6/- + t. pestrý 4,5/-	-/70//60 → -/2830//600	21	rybník Jack B. Tomlinson (Colorado)	90 →143/ 220→1125	0,8/2	3 roky	↓ (192 → 105/-)	-	↓ (3100→555/-)
Datta(Saha) a Jana (1998)	-/480	3 měsíce/ 20 ± 2//-	22-28	jezero (Indie) 6	eutrofní	0,79*10 ⁻⁴ /1,3	1 měsíc (listopad- prosinec)	-	↓	-
Vörös a kol. (1998)	400-1400/- + t. pestrý 100-360/-	1+ rok/-//-	20 max.30	nádrž Marcali (Maďarsko) 400	hypertrofní	400/2	10 let (1984-1993)	↓ ↑ (<30 μm)	↓	-
Starling a kol. (1998)	-/0	-/40//-	-	nádrž Paranoá (Brazílie)	hypertrofní	80*10 ⁻⁴ /1,8	35 dní (říjen)	-	-	-
	-/10							x síťový - fytoplankton		
	-/20							x síťový- fytoplankton ↑nanoplankton	↓	x
	-/40									
	-/60							↓		↓

Studie	Obsádka kg*ha ⁻¹ / g*m ⁻³	Věk/ hmotnost [g] // délka ryb [cm]	Teplota vody [°C]	Testované území [ha]	Stupeň trofie P /N [μg l ⁻¹]	Pokusná plocha [ha]/ hloubka [m]	Délka pokusu	Abundance [ind*ml ⁻¹ /mg*l ⁻¹]		
								fytoplanktonu	sinic	zooplanktonu
Bukvić a kol. (1998)	68-131/- + t. pestrý 23-44/-	-	18-25	rybníky Sisčani (Chorvatsko)	eutrofní	2500*10 ⁻⁴ /2	2x6 měsíců (květen- říjen 1993+1994)	↓	-	↓
Fukushima a kol. (1999)	-/10-54	1 rok/- // 89 ± 10	27	jezero Kasumigaura (Japonsko)	eutrofní	25*10 ⁻⁴ /2,5	28 dní (červenec- srpen)	↓ >40 μm (o -/200*10 ³)	↓	↓
	-/3-15	1 rok/- // 111 ± 6	24	16 800			24 dní (srpen-září)	↑	-	-
Domaizon a Dévaux (1999)	-/0	-/22 ± 6 // 11 ± 1	18 ± 1	nádrž Villerest (Francie) 3 000	eutrofní 170/1 560	-	32 dní	-	-	↑
	-/4									↓
	-/8									↓
	-/16									↓
-/36	↓									
Xie a Yang (2000)	-/46-91	-	5 – 30			100/2,5	39 let (1957-1996)	-	-	↓ (více herbivorního)
Lu a kol. (2002)	0/-	-/109 ± 58 // 19 ± 3	22-31	jezero Donghu (Čína) 3 200	eutrofní 400/7 000	6,25*10 ⁻⁴ /3	2 měsíce (29.4.-26.6)	↓ (nejnižší)	-	-
	0,116*10 ⁻⁴ /-							↓		
	0,176*10 ⁻⁴ /-							↓ (s rostoucí obsádkou pokles)		
0,316*10 ⁻⁴ /-										

Studie	Obsádka kg*ha ⁻¹ / g*m ⁻³	Věk/ hmotnost [g] // délka ryb [cm]	Teplota vody [°C]	Testované území [ha]	Stupeň trofie P /N [μg l ⁻¹]	Pokusná plocha [ha]/ hloubka [m]	Délka pokusu	Abundance [ind*ml ⁻¹ /mg*I ⁻¹]		
								fytoplanktonu	sinic	zooplanktonu
Tang a kol. (2002)	0/-	1 rok/- // 19 ± 3	25	jezero Donghu (Čína) 3 200	eutrofní 400/7 000	6,25*10 ⁻⁴ /2	2 měsíce (29.4.-26.6)	↓ (nejnižší)	-	↑
	0,116*10 ⁻⁴ /-							↓ (s rostoucí obsádkou pokles)		↓ (s rostoucí obsádkou pokles)
	0,176*10 ⁻⁴ /-									
	0,316*10 ⁻⁴ /-									
Radke a Kahl (2002)	-/10	-/48 ± 7//-	17-20	nádrž Saidenbach (Německo) 146	mezotrofní 25→15/-	0,79 10 ⁻⁴ /12	24 dní (červen- červenec)	↑ <30 μm x ≥30 μm (1 den↓)	-	↓
Ke a kol. (2009)	-/35-70	-	20-29	jezero Taihu (Čína) 233 800	eutrofní 197/2 190	108/-	2 měsíce (9.5.-7.7)	x <i>Ulothrix</i> sp.	↓ (-/15→10)	↓ (-/4→2)
Ma a kol. (2010)	-/22 → -/67	-/120 ± 22// → -/355 ± 34 //-	-	nádrž Yuqiao (Čína)	eutrofní 20-70/-	17 200 10 ⁻⁴ /3,5	1 rok a 11 měsíců (květen- duben)	↓ >5 μm ↑ 2,5-5,0 μm	↓	-
Xiao a kol. (2010)	-/0	-/115 ± 37// 19 ± 2	26-31	nádrž Gancun (Čína) 200	eutrofní	100*10 ⁻⁴ /4,6	10 týdnů (9.10-14.12)	↓ (nejnižší)	-	↑
	-/16							↓ (s rostoucí obsádkou pokles)		↓ (s rostoucí obsádkou pokles)
	-/50									

Studie	Obsádka kg*ha ⁻¹ / g*m ⁻³	Věk/ hmotnost [g] // délka ryb [cm]	Teplota vody [°C]	Testované území [ha]	Stupeň trofie P /N [μg l ⁻¹]	Pokusná plocha [ha]/ hloubka [m]	Délka pokusu	Abundance [ind*ml ⁻¹ /mg*l ⁻¹]		
								fytoplanktonu	sinic	zooplanktonu
Zhou a kol. (2011)	-/85 ± 11	-/141 ± 19//-	17	přehrada Three- Georges (Čína)	eutrofní 153/1 290	2,25*10 ⁻⁴ /2,5	1 měsíc (2.4.-2.5.)	↑ <20 μm	-	x perloočky ↓ vířníci a klanonožci

Vysvětlivky: Studie jsou seřazeny od nejstarších po nejnovější, tabulka zahrnuje faktory, které mohou mít vliv na výsledný efekt t. bílého; x = žádný efekt, ↓ redukce růstu, ↑ stimulace růstu, - nebylo studováno. Někde je uvedena i velikost planktonu, která byla ovlivněna, případně ovlivněné druhy (pozn. síťový fytoplankton tj. fytoplankton zachytitelný planktonní sítí (velikost ok 50 μm (Strickland,1960)), někde uvedeny hodnoty před vysazením t. bílého → a po něm, za symbolem ± následuje směrodatná odchylka (S. D.).

2.5. Faktory ovlivňující účinnost tolstolobika bílého při omezování nadměrného rozvoje fytoplanktonu

Použití tolstolobika bílého jako biomanipulační nástroj pro kontrolu nadměrného růstu fytoplanktonu ve vodních ekosystémech je rozporuplné (Costa-Pierce 1992; Domaizon a Dévaux, 1999; Domaizon a kol. 2000; Radke a Kahl, 2002). Existuje několik faktorů, které se v rámci studií mění a pravděpodobně významně ovlivňují účinnost použití t. bílého. Mezi takové faktory patří například hustota obsádky, věk tolstolobiků bílých, teplota, stupeň trofie vody, velikost nádrže (pokusné plochy), přítomnost sedimentu a délka působení t. bílého (Spataru a Gophen, 1985; Sirenko a kol., 1976).

Pro maximalizaci biologické kontroly růstu fytoplanktonu pomocí fytoplanktonofágních ryb navrhuje Smith (1985) sérii nádrží, vzájemně propojených homogenním průtokem vody, ve které by se střídaly nádrže s t. bílým a t. pestrým a nádrže bez ryb, které by podporovaly růst populací herbivorního zooplanktonu. Tímto by se zkombinovaly účinky fytoplanktonofágních ryb na redukci velkých řas a sinic a účinky zooplanktonu na malé druhy řas (Smith, 1993).

2.5.1. Hustota obsádky

Několik studií se zabývalo vlivem hustoty obsádky t. bílého na společenstva fytoplanktonu či zooplanktonu (Kajak a kol., 1975; Starling a kol., 1998; Domaizon a Dévaux, 1999; Lu a kol., 2002; Tang a kol., 2002; Xiao a kol., 2010). Vyšší hustota obsádky zvyšuje predanční tlak na fytoplankton i zooplankton, naopak příliš nízká obsádka nemusí přinést požadovaný efekt. Ke a kol. (2009) přičítají neúspěch t. bílého při redukci zelené řasy *Ulothrix* sp. příliš nízké obsádce ($40 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$) a pro úspěšnou biomanipulaci navrhují obsádku alespoň $50 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$. Podobnou obsádku pro úspěšnou kontrolu vodních květů a zlepšení kvality vody navrhuje Zhang a kol. (2006), a to $55 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$ a Starling a kol. (1998) navrhují rozmezí $40\text{-}60 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$. Fukushima a kol. (1999) uvádí jako nejvýhodnější obsádku pro kontrolu vodních květů i zhruba 5x menší obsádku - $10 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$. Zatímco se u zooplanktonu téměř vždy setkáváme s tím, že se zvyšující se obsádkou ryb se snižuje jeho abundance v prostředí (např. Lu a kol., 2002; Domaizon a Dévaux, 1999), u fytoplanktonu není toto tvrzení vždy jednoznačné. Např. Kajak a kol. (1975) a Lu a kol. (2002) neprokázali efekt snižování početnosti fytoplanktonu v prostředí se stoupající hustotou obsádky t. bílého. V některých případech byla na konci pokusu nejnižší početnost fytoplanktonu zaznamenána v kontrolních plochách bez jakékoliv přítomnosti ryb (Laws a Weisburd, 1990; Lu a kol.,

2002; Tang a kol., 2002). To dokazuje, že vysazení tolstolobika bílého může za určitých podmínek rozvoj fytoplanktonu ještě stimulovat (viz. dříve uvedená ichtyoeutrofizace).

2.5.2. Věk tolstolobiků bílých

Aktivní příjem potravy nastává u tolstolobika bílého od délky těla 7 mm (Baruš a Oliva, 1995). Zpočátku tvoří potravu především vířníci (např. *Keratella*) a bičíkovci (*Euglena*, *Pandorina*, *Eudorina*). Trávicí trubice je v této době poměrně krátká, tvoří zhruba polovinu délky těla. S dalším růstem (délka těla 13 - 15 mm) se střevo prodlužuje, přesahuje již délku těla a v potravě převládají perloočky. Od délky těla 15,5 mm (Baruš a Oliva, 1995), případně 26 mm (Wang a kol., 1989) již délka střeva činí zhruba dvojnásobek délky těla a v potravě převažuje výhradně fytoplankton (Baruš a Oliva, 1995). T. bílý dokáže akumulovat vysoké koncentrace fytoplanktonu ve svém trávicím traktu, i v případě nízké koncentrace fytoplanktonu v okolním prostředí (Calkins, 2010). Většinou se pro omezování rozvoje fytoplanktonu nasazují jedinci o věku jednoho roku (Vörös a kol., 1998; Fukushima a kol., 1999) a rozměrech délky těla, které jsou větší, než hodnoty udávané literaturou pro přechod na rostlinnou potravu.

2.5.3. Teplota vody (roční doba)

Tolstolobik bílý přijímá potravu při teplotě vody od 10°C do 19°C, při poklesu teploty pod 15°C se příjem potravy snižuje, pod 8-10°C se zastavuje (Kolar a kol., 2005) a nastává celkový fyziologický útlum (Krupauer, 1989). Rai (2000) sledoval změny hmotnosti t. bílých v rozmezí teplot od 15 do 28 °C a potvrdil příjem potravy i při vyšších teplotách, než udává Kolar a kol. (2005). Krupauer (1989) uvádí podobně jako Kolar a kol. (2005), že snížením teploty pod 16 °C dochází k postupnému snižování hmotnosti ryb, což naznačuje zpomalení příjmu potravy. Devadesát procent veškeré potravní aktivity tak probíhá během nejteplejších měsíců roku (Bialokoz a Krzywosz, 1981; Xie a Yang, 2000). S teplotou vody koreluje i doba, po kterou potrava projde trávicím traktem t. bílého. Při 22,6°C trvá průchod trávicím traktem 10 hodin, při 4 °C až 108 hodin (Bialokoz a Krzywosz, 1981).

2.5.4. Stupeň trofie vodní plochy

Využití t. bílého se zdá být efektivní v eutrofních či hypertrofních vodních systémech (Lu a kol., 2002). Dle Liebermana (1996) jsou t. bílí efektivní pouze v malých rybnících, redukce fytoplanktonu t. bílým prokázána i v rybnících s obsádkou kapra obecného (*Cyprinus carpio*) (Bangxi a kol., 1993). Téměř všechny pokusy s nasazením t. bílého probíhaly v eutrofních vodách (tab. 1). Pouze jedna studie byla prováděna v mezotrofních vodách (nádrž Saidenbach, Německo) a na fytoplankton v takovém prostředí neměla přítomnost t. bílého žádný efekt (pouze jeden den z celého pokusu došlo k poklesu biomasy fytoplanktonu), naopak byl podporován nárůst malých druhů řas (<30 µm) (Radke a Kahl, 2002).

2.5.5. Velikost nádrže (pokusné plochy)

Vliv velikosti pokusné plochy na účinnost t. bílého je problematický. Při pokusech zahrnujících velké pokusné plochy, nejčastěji celé území zkoumaný jezer či vodních nádrží (např. Vörös a kol., 1998; Domaizon a Dévaux, 1999; Xie a Yang, 2000) se mohou vyskytovat i jiné limitující/stimulující faktory, které ovlivňují společenstvo fytoplanktonu. Velmi často se kromě t. bílého nachází ve velkých pokusných plochách zároveň i jiné druhy ryb (nejčastěji přítomnost t. pestrého, např. Kajak a kol., 1975; Lieberman, 1996; Vörös a kol., 1998 nebo rodu *Tilapia* např. Starling a kol., 1998), a efekt t. bílého (bez vlivu t. pestrého) na fytoplankton tak lze jen těžko odhadovat. Naopak v mesokosmových pokusech se často setkáváme s experimentálními problémy s uspořádáním (Pípalová, 2006) a výsledky těchto pokusů pak nelze aplikovat do praxe. Jedním z problémů je absence kontrolních pokusných ploch pro sledování vývoje fytoplanktonu bez přítomnosti t. bílého. Nelze pak oddělit změny společenstva fytoplanktonu způsobené např. charakterem vegetační sezóny od vlivu obsádky t. bílého. S nepřítomností kontrolní pokusných ploch se setkáváme např. ve studiích Lieberman (1996); Vörös a kol. (1998); Xie a Yang (2000); Ma a kol. (2010), naopak přítomny např. ve studiích Kajak a kol. (1975); Bukvič a kol. (1998); Starling a kol. (1998); Fukushima a kol. (1999); Domaizon a Dévaux, (1999); Radke a Kahl (2002); Lu a kol. (2002); Tang a kol. (2002); Xiao a kol. (2010). Někdy nelze, např. v případě velkých jezer, pozorovat 2 (alespoň) podobné nádrže, pak je pravděpodobně nejlepší zvolit delší časovou řadu.

2.5.6. Přítomnost sedimentu

Při sledování vlivu t. bílého je vhodná přítomnost sedimentu v pokusných nádržích, jelikož sediment je ve srovnání s vodou důležitějším zdrojem živin pro růst fytoplanktonu. Téměř ve všech studiích byl v pokusných plochách přítomen sediment. Buď byla pokusná nádrž zabořena do dna jezera (např. Kajak a kol., 1975; Datta(Saha) a Jana, 1998; Tang a kol., 2002), sediment byl dodán na dno pokusné nádrže (např. Starling a kol., 1998; Lu a kol., 2002) či bylo dno pokusné nádrže otevřené pro průchod sedimentu ze dna z okolního prostředí (Fukushima a kol., 1999; Xiao a kol., 2010). Sediment chyběl např. ve studiích (Domaizon a Dévaux, 1999; Zhou a kol., 2011). A téměř do všech pokusných nádrží (Fukushima a kol., 1999; Domaizon a Dévaux, 1999; Tang a kol., 2002; Lu a kol., 2002; Radke a Kahl, 2002; Xiao a kol., 2010; Ma a kol., 2010; Zhou a kol., 2011) byla přiváděna voda nacházející se v okolním vodním prostředí (jezero, nádrž, přehrada).

2.5.7. Délka pokusu

Délka působení t. bílých je další rozhodující faktor. Většina studií provádí pokusy po dobu maximálně dvou měsíců (Datta(Saha) a Jana, 1998; Fukushima a kol., 1999; Domaizon a Dévaux, 1999; Lu a kol., 2002; Tang a kol., 2002, Xiao a kol., 2010). Tato doba se však z celkového pohledu na účinnost t. bílého zdá nedostatečná. Krupauer (1989) specifikuje, že po tak krátké době mohou být výsledky nadhodnoceny a doporučuje sledovat změny minimálně do dalšího vegetačního období. Takové změny sledovali Ma a kol. (2010), kteří potvrdili redukci sinic a velkých druhů řas (>5 µm), ale zjistili nárůst řas o velikosti 2,5 – 5 µm. Lieberman provedl tří-letý pokus, ve kterém pozoroval vymizení zelené řasy *Rhizoclonium* sp., která byla nadměrně rozvinutá v pokusné nádrži. Dále byla prokázána redukce i zelené řasy *Chlamydomonas* sp. a sinice *Anabaena* sp.. Tyto druhy řas a sinice vymizeli až po 2 letech od vysazení t. bílého. Byly studovány i dlouhodobé změny ve společenstev fytoplanktonu a zooplanktonu za přítomnosti t. bílého v prostředí, a to období dlouhé 10 let (Vörös a kol., 1998) a 39 let (Xie a Yang, 2000). Výsledky těchto studií však mohou být zkreslené mnoha jinými faktory, než přítomností t. bílého.

3. MATERIÁL A METODIKA

Byly prováděny 2 pokusy, v prvním byli použiti 2-letí tolstolobici bílí (o m = 398 g) a ve druhém tolstolobici o hmotnosti 16 kg.

3.1. Charakteristika lokalit

Pro první pokus byli zkoumaní jedinci (n = 15) odebráni při výlovu na líhni Okrouhlice III (březen 2012). Tento rybník o rozloze 2 ha a hloubce 1,5 m (u výpusti) leží v Českobudějovické pánvi, severozápadně od obce Vodňany (49°9'19.811"N, 14°10'58.153"E) a sousedí s rybochovným rybníkem Velká Okrouhlice (obr. 9). Obě nádrže jsou od sebe odděleny boční hrází.



Obr. 9: Mapa s vyznačenými lokalitami. Zelená šipka vyznačuje lokalitu odběru tolstolobiků bílých, písmeno A lokalizuje sousední rybník Velká Okrouhlice.

Pro druhý pokus byli zkoumaní jedinci vyloveni z rybích sádek ve Štiptoni u Nových Hradů (červen), společnosti Rybářství Nové hrady s.r.o., v sousedství rybí líhně. Celkem bylo odebráno 15 jedinců, kteří byli převezeni ve 2 nádržích (2x400 m²) s kyslíkovaním do pokusného rybníčku o rozloze 0,08 ha a hloubce 1,56 m poblíž Horažďovic (obr. 10), kde byli ponecháni 14 dní.



Obr. 10: Pokusný rybníček (0,08 ha), do kterého byli zkoumaní jedinci umístěni (Maciarzová, 2012).

3.2. Fyzikálně-chemické podmínky

U výpusti nádrží byla v obou pokusech vždy změřena teplota vody, koncentrace kyslíku a pH vody (buďto jeden den před výlovem ryb nebo těsně před ním) přístrojem WTW – Multiline 3430. Teplota odebrané vody v nádrži v prvním pokusu byla 7,1°C a koncentrace kyslíku ve vodě 11,5 mg·l⁻¹. Ve druhém pokusu byly stejné parametry měřeny 10 cm pod hladinou a u dna pokusného rybníčku. Koncentrace kyslíku u hladiny byla 11,06 mg·l⁻¹ teplota vody 26,6°C, u dna byly hodnoty nižší, 10,8 mg·l⁻¹ a 25,3°C.

3.3. Odběr fytoplanktonu a zooplanktonu

Ve druhém pokuse byl před výlovem jedinců vždy u výpusti nádrže odebrán vzorek fytoplanktonu a zooplanktonu. Pomocí planktonní trubice bylo odebráno 10 l

z celého vodního sloupce a přefiltrováno přes planktonní síť s velikostí ok 200 μm . Přibližně 100 ml bylo fixováno Lugolovým roztokem dle Utermöhla pro pozdější vyhodnocení složení fytoplanktonu. Vzorek zooplanktonu byl rozdělen na 3 velikostní frakce: 40 – 80 μm , 80 - 200 μm a > 200 μm . Vzorky zooplanktonu byly fixovány 75 % ethanolem. Vzorky zooplanktonu i obsahu jednotlivých částí střeva byly kvantitativně vyhodnoceny pod mikroskopem (Olympus CX-31) v Sedwick-Rafterově komůrce (2 ml). Vzorek fytoplanktonu byl vyhodnocen semi-kvantitativně v komůrce Cyrus I.

3.4. Morfologie t. bílých

Jedinci v prvním pokusu byli ihned po vylovení usmrceni a převezeni na pracoviště Výzkumného ústavu rybářského a hydrobiologického ve Vodňanech, do Laboratoře vodní toxikologie a ichtyopatologie. Každý jedinec byl zvážen a byly změřeny následující morfometrické charakteristiky: celková délka těla (TL), délka těla (SL), délka hlavy (LC) a výška těla. Na základě několika morfologických parametrů (délka břišního kýlu, poměr délky hlavy k celkové délce těla) bylo určováno, zda se jedná o tolstolobiky bílé nebo t. pestré.

U jedinců ve druhém pokusu, pro který byli vyloveni tři jedinci z pokusného rybníčku, byly navíc měřeny následující morfometrické znaky (oproti pokusu 1) – přesah prsních ploutví přes základ břišních ploutví, délka jednotlivých částí plynového měchýře a dle annuálních přírůstků na šupinách byl zkoumán věk jedinců.

V prvním a druhém pokusu byl ihned po dokončení morfometrického měření odebrán trávicí trakt z tělní dutiny a byla změřena jeho délka. Od usmrcení byly ryby a následně jejich trávicí trakty v obou pokusech uchovávány a zpracovávány na ledě (při 4°C).

3.5. Složení potravy t. bílých a životaschopnost řas v trávicím traktu

Na Mikrobiologickém ústavu Akademie věd ČR v Třeboni, v Laboratoři fotosyntézy, proběhla analýza druhového složení potravy v trávicím traktu t. bílých. U obou pokusů bylo sledováno (vyfotografováno) složení potravy pod optickým mikroskopem (Olympus BX41) a zkoumány změny životaschopnosti v jednotlivých částech trávicího traktu pod fluorescenčním mikroskopem. Objekty nalezené v trávenině byly na fluorescenčním mikroskopu vyfotografovány pomocí programu ImageJ. Ve druhém pokusu byly navíc sledovány změny životaschopnosti v potravě

zachycené na žábrech a v potravě z trávicího traktu oproti životaschopnosti řas ve vodě z místa výlovu.

3.6. Příprava vzorků k inkubaci *in vitro*

Střevo jedinců v prvním pokusu bylo rozděleno na dvě části, přední a zadní. Přední část byla oddělena zhruba ve vzdálenosti 100 cm celé délky střeva. Z obou částí střeva byl získán jeho obsah profouknutím trávicí trubice (pomocí špičky od pipety). Poté byla každá část střeva propláchnuta 1-1,5 ml destilované vody, aby se podařilo získat veškerý obsah. Takto získané vzorky ze začátku a konce střeva, spolu se žlučí zkoumaných jedinců, byly dále zpracovávány pro přípravu k inkubaci *in vitro*. Žluč byla z důvodu přítomnosti zákalu přefiltrována přes GF/F filtr (glass microfibre filters, \varnothing 25 mm). Vzorky obsahu začátku a konce střeva ($n = 14$) jsme zcentrifugovali při 10 000 g na 10 minut (centrifuga 5 S04 R). Poté jsme z takto upravených vzorků odebrali supernatant, který jsme spolu s přefiltrovanou žlučí použili pro inkubaci s kulturami řas. Obsah přední části střeva byl ještě vizuálně rozdělen na světlou a tmavou skupinu (podle obsahu žluče).

Pro výzkum aktivity enzymů ve druhém pokusu bylo vycházeno ze Smithe (1989b). Ten uvádí, že zdrojem trávicích enzymů je hepatopankreas, žlučník, stěna střeva a jeho mikroflóra. Trávení probíhá (1) uvnitř trávicího traktu tzv. extracelulárně, (2) na povrchu buněčných membrán trávicího traktu (enzymy vázané na buněčné membrány – v této práci nazývány jako mikrosomální) nebo (3) intracelulárně (v této práci nazýváno jako cytosolární).

Zpracování vzorků trávicího traktu ve druhém pokusu proběhlo na Výzkumném ústavu rybářském a hydrobiologickém, v Laboratoři intenzivní akvakultury. Zde proběhla dekapitace ryb, pitva hlavy a základní zpracování orgánů trávicího traktu zkoumaných jedinců. Pitva hlavy spočívala v odebrání žaber zkoumaných jedinců a vyjmutí požerákových zubů, pro další morfologické analýzy. Z neporušených žlučníků byla žluč přímo přes žlučovod vytlačena do předem připravených kryo-zkumavek (Eppendorf). Ze zkoumaných jedinců byla odebrána i játra, která byla očištěna (zbavena tuku a jiných nečistot) a nakrájena na malé kousky (pro usnadnění homogenizace). Veškerá manipulace probíhala na ledu. Střevo zkoumaných jedinců, byla vzhledem k délce, rozdělena na tři části (přední, prostřední a zadní). U každého střeva byl odříznut jeden metr z každého konce (=přední a zadní část), zbytek střeva tvořil prostřední část. Obsah střeva byl získán stejným způsobem jako v pokusu č. 1. Každá část střeva byla propláchnuta 1 ml destilované vody pro získání veškerého

obsahu. Do kryo-zkumavky (Eppendorf) k obsahům střev navíc přidán 1 ml destilované vody pro zředění. K pokusům byla uložena i celá, vyprázdněná střeva. Vzorky jater a žlučníku byly ihned po ukončení zpracování zamrazeny v nádobě s tekutým dusíkem. Vzorky s obsahy střeva byly převezeny do Laboratoře vodní toxikologie a ichtyopatologie VÚRH. Pro extracelulární analýzu byly vzorky obsahu střev (cca 3-4 ml) doplněny do 10 ml destilovanou vodou. Vzorky byly následně promíchány na Vortexovém mixéru a zcentrifugovány při 4°C při rychlosti 10 000 g po dobu 10 min. (centrifuga Sigma 4-16K). Supernatant byl ihned po centrifugaci zamrazen v tekutém dusíku a uložen do hlubokomrazicího boxu o teplotě -70°C.

Zamrazené vzorky byly po třech týdnech převezeny na Mikrobiologický ústav AV, kde byly játra a tkáně střev zhomogenizovány. Pro homogenizaci byl připraven homogenizační pufr PBS (phosphate buffer saline: 137 mM NaCl, 10 mM fosfát, 2,7 mM KCl, pH 7,4), k pufru byla navíc přidána EDTA (0,292 g/l), která vyvazuje Ca^{2+} a Mg^{2+} ionty. Pro usnadnění homogenizace byla játra nastříhávána nůžkami na drobné kousky, tuhé střevo rozmělněno ve třecí misce a poté byly vzorky vloženy do homogenizátoru dle Pottera a Elvehjema. Homogenizátor se skládá z teflonového pístu a silnostěnné zkumavky, která byla po dobu manipulace chlazena v kádince s ledem, základní zpracování tkání jater a střeva probíhalo rovněž na ledu. Do silnostěnné zkumavky byl přidán vzorek a homogenizační pufr v poměru 1:3. Po ukončení homogenizace byly vzorky zcentrifugovány pro oddělení zhomogenizované a nezhomogenizované tkáně. Centrifugace probíhala po dobu 10 minut, při 10 000 g ve 4°C. Supernatant jater byl přelit do kryo-zkumavek, zamrazen v tekutém dusíku a vložen do hlubokomrazicího boxu (-70°C). Supernatant z homogenizované tkáně střev byl přelit, případně odsán Pasteurovou pipetkou do ultracentrifugačních tub, které byly použity k druhé centrifugaci (pro oddělení cytosolární a mikrosomální frakce buněk). Vzorky byly centrifugovány v ultracentrifuze (Ultracentrifuge Beckman) po dobu 30 minut při 34 000 g a teplotě 4°C (upraveno dle Kvale a kol., 2007). Supernatant s obsahem cytosolární frakce byl přelit do kryo-zkumavky (Eppendorf). Sediment s obsahem mikrosomální frakce byl rozpuštěn v 1 ml homogenizačního pufru, do kterého byl navíc přidán glycerol (stabilizuje membrány). Vzorek byl následně opět přelit do kryo-zkumavky (Eppendorf). Cytosolární a mikrosomální frakce zamrazeny v tekutém dusíku a uloženy do hlubokomrazicího boxu (-70°C).

3.7. Inkubace obsahu trávicího traktu

V prvním pokusu byly pro inkubaci použity 2 druhy sinic: *Anabaena* (vláknitá sladkovodní) a *Cyanothece* (jednobuněčná mořská) a sladkovodní druh různobrvky (Xanthophyceae) – *Trachydiscus*. K jednotlivým řasám byl použit vhodný druh živného média – BG 11 pro *Anabaena* (Rippka a kol., 1979), ASP II pro *Cyanothece* (Provasoli a kol., 1957) a živné médium Z pro *Trachydiscus* (Zachleder a Šetlík, 1982). Kultury řas byly naředěny živnými roztoky, tak aby počáteční počet živých buněk byl pod 1 milion buněk ml⁻¹. Do 4 kultivačních destiček (4 x 6 komůrek), bylo postupně napipetováno 0,2/0,02 ml žluče a obsahu přední a zadní části střeva a 1,8 ml roztoku (kultura řasy a živné médium), tak aby výsledná koncentrace odpovídala 1%, resp. 10% obsahu střeva/žluče na roztok řas v komůrce kultivační destičky. Každý vzorek (žluč, světlý a tmavý obsah přední části střeva, obsah zadní části střeva) měl 3 opakování a svou kontrolu (tab. 2). Pipetování bylo prováděno v laminárním flowboxu s vertikálním prouděním vzduchu. Kultivační destičky byly na závěr překryty parafilmem. Suspenze byly kultivovány při standardním osvětlení (10 mikromol m⁻² s⁻¹ PhAR) a konstantní teplotě 21°C po dobu 7 dní. Poté byl u každého vzorku počítán počet buněk. Kulovité buňky řas *Trachydiscus* a *Cyanothece* byly spočteny elektronicky, v counteru (Beckman Coulter, Multisizer 3). Počet buněk u *Anabaena* byl počítán v počítačící komůrce Cyrus I.

Tab. 2: Uspořádání jednotlivých variant a jejich kontrol v kultivačních destičkách použitých při prvním pokusu.

TK	ŽL	ŽL	ŽL	<i>Trachydiscus</i>	
ŽH	TK	ŽH	ŽH		
ZSL	ZSL	TK	ZSL x		
ZSH	ZSH	ZSH	TK		
TK	ZTL	ZTL	ZTL		
ZTH	TK	ZTH	ZTH		
KL	KL	TK	KL		
KH	KH	KH	TK		
CK	ŽL	ŽL	ŽL		<i>Cyanothece</i>
ŽH	CK	ŽH	ŽH		
ZSL	ZSL	CK	ZSL		
ZSH	ZSH	ZSH	CK		
CK	ZTL	ZTL	ZTL		
ZTH	CK	ZTH	ZTH		
KL	KL	CK	KL		
KH	KH	KH	CK		
AK	ŽL	ŽL	ŽL	<i>Anabaena</i>	
AK	AK	AK	AK		
ZSL	ZSL	AK	ZSL		
ZSH	ZSH*	AK	AK		
AK	ZTL	ZTL	ZTL		
ZTHx	AK	ZTH	ZTH		
KL	KL	AK	KL		
KH	KH	KH	AK		

Vysvětlivky: AK: Anabaena kontrola, CK: Cyanothece kontrola, TK: Trachydiscus kontrola, ŽL: žluč low (1%), ŽH: žluč high (10%), ZSL: začátek (střevo) světlý low (1%), ZSH: začátek (střevo) světlý high (10%); ZTL: začátek (střevo) tmavý low (1%), ZTH: začátek (střevo) tmavý high (10%), KL: konec (střevo) low (1%), KH: konec (střevo) high (10%), x chyba při pipetování, * jen 0,1 ml místo 0,2 ml extraktu.

Inkubace ve druhém pokusu proběhla stejným způsobem, jako u pokusu č. 1, pouze s těmito rozdíly: K inkubaci byla použita mořská sinice *Cyanothece*, při počáteční koncentraci cca $5 \cdot 10^6$ buněk/ml. Počáteční koncentrace byla naměřena elektronicky, na Beckman counter, Multisize 4. *Cyanothece* byla kultivována na živném médiu ASP II (Provasoli a kol., 1957). K *Cyanothece* byly přidávány extrakty z trávicího traktu (extracelulárních enzymů), žluče, jater a tkáně střeva (intracelulárních enzymů – cytosolární a mikrosomální frakce). Extracelulární vzorky s obsahy střev byly z důvodu velkého znečištění zcentrifugovány při 3000 g, ve 4°C po dobu 10 min. (Eppendorf-Centrifuge 5804R). Po centrifugaci se na vrchní vrstvě vzorků vytvořila vrstva tuku, která byla odsána, a zbylý supernatant byl slit do nových, čistých zkumavek. Řasy s médiem byly poté napipetovány ve flowboxu s laminárním prouděním vzduchu do jednotlivých komůrek kultivační destičky (celkem použito 5 destiček). Do každé komůrky byl přidán extrakt ze žluče, homogenizovaných jater a střeva (cytosolární a mikrosomální), jejich vzájemná kombinace a extrakt obsahu střev o dvou koncentracích (nízká – 2% extraktu, vysoká 30% extraktu). Koncentrace byly určeny pro přiblížení fyziologickému rozpětí žlučových kyselin uvolňovaných do střeva (Denstadli a kol., 2006). Každý extrakt měl dvě opakování a jednu kontrolu, obsahující pouze řasy a živné médium (tab. 3). Kultivační destičky byly na 5 dní uloženy do inkubátoru (teplota a světlo stejné jako v prvním pokusu).

Po pěti dnech inkubace byl počítán výsledný počet buněk pod vlivem extraktů. Buňky byly počítány elektronicky (počítán počet buněk o velikosti 2-5 μm , odpovídající velikostní rozmezí buněk *Cyanothece*) na Apogee flow systems, v programu Apogee flow cytometer. Výsledný počet buněk byl počítán pouze u variant s nízkými (2%) koncentracemi extraktů.

Tab. 3: Uspořádání jednotlivých variant a jejich kontrol v kulturačních destičkách použitých při druhém pokusu.

K ₁	J _L	J _L	J _L	destička 1	intracelulární
J _H	K ₂	J _H	J _H		
Z _L	Z _L	K ₃	Z _L		
Z _H	Z _H	Z _H	K ₄		
Z _L	Z _L	K ₅	Z _L		
Z _H	K ₆	Z _H	Z _H		
K ₇	P _L	P _L	P _L	destička 2	
P _H	K ₈	P _H	P _H		
K _L	K _L	K ₉	K _L		
K _H	K _H	K _H	K ₁₀		
12 _L	12 _L	K ₁₁	12 _L		
12 _H	K ₁₂	12 _H	12 _H		
K ₁₃	13 _L	13 _L	13 _L	destička 3	
13 _H	K ₁₄	13 _H	13 _H		
14 _L	14 _L	K ₁₅	14 _L		
14 _H	14 _H	14 _H	K ₁₆		
15 _L	15 _L	K ₁₇	15 _L		
15 _H	K ₁₈	15 _H	15 _H		
K	EZ _L	EZ _L	EZ _L	destička 4	extracelulární
EZ _H	K	EZ _H	EZ _H		
EP _L	EP _L	K	EP _L		
EP _H	EP _H	EP _H	K		
EK _L	EK _L	K	EK _L		
EK _H	K	EK _H	EK _H		
K	MZ _L	MZ _L	MZ _L	destička 5	mikrosomální
MZ _H	K	MZ _H	MZ _H		
MP _L	MP _L	K	MP _L		
MP _H	MP _H	MP _H	K		
MK _L	MK _L	K	MK _L		
MK _H	K	MK _H	MK _H		

Vysvětlivky: JL: játra low, JH: játra high, ŽL: žluč low, ŽH: žluč high, ZL: začátek cytosolární low, ZH: začátek cytosolární high, PL: prostředek cytosolární low, PH: prostředek cytosolární high, KL: konec cytosolární low, KH: konec cytosolární high, 12L: játra a žluč low, 12H: játra a žluč high, 13L: játra, žluč a začátek low, 13H: játra, žluč a začátek high, 14L: játra, žluč, začátek a prostředek low, 14H: játra, žluč, začátek a prostředek high, 15L: játra, žluč, začátek, prostředek a konec low, 15H: játra, žluč, začátek, prostředek a konec high, EZL: začátek střeva obsah low, EZH: začátek střeva obsah high, EPL: prostředek střeva obsah low, EPH: prostředek střeva obsah high, EKL: konec střeva obsah low, EKH: konec střeva obsah high, MZL: začátek střeva mikrosomální low, MZH: začátek střeva mikrosomální high, MPL: prostředek střeva mikrosomální low, MPH: prostředek střeva mikrosomální high, MKL: konec střeva mikrosomální low, MKH: konec střeva mikrosomální high, low – 2%, high – 30%, K: kontrola.

3.8. Morfologie žaber a požerákových zubů

Z hlav zkoumaných jedinců byly vypitvány žábry a požerákové zuby u obou pokusů. Struktura žaber a povrch požerákových zubů z prvního pokusu byl vyfotografován pod binokulární lupou na Povodí Vltavy v Českých Budějovicích. Pod mikroskopem (Olympus CX 31) na Zemědělské fakultě JU, katedře Biologických disciplín, byla změřena vzdálenost žaberních tyčinek a následně vypočten jejich počet na 1 mm žaberního oblouku. Ve druhém pokusu byla struktura žaber zkoumaných jedinců a povrch žvýkací plochy požerákových zubů vyfotografován pod binokulární lupou na Katedře biologických disciplín ZF.

3.9. Statistické zpracování dat

Výsledky byly vyhodnoceny v programu Statistica (10.0). Z důvodu velkých odchylek při rozdělení a nemožnosti normalizovat data v prvním pokusu byla použita neparametrická obdoba jedno-cestné ANOVA, Kruskal-Wallisův test.

V případě normality dat ve druhém pokusu byla použita jednofaktorová ANOVA a Tukey test mnohonásobného porovnání. Varianty s extracelulárními a mikrosomálními extrakty nebylo nutné transformovat, měli normální rozdělení. Zbylé varianty (extrakty žluče, jater, cytosolární obsahy střev a jejich kombinace) bylo nutné normalizovat, pro transformaci za účelem normalizace byl použit dekadický logaritmus.

Rozdíly mezi jednotlivými variantami byly považovány za statisticky průkazné u obou pokusů při $p < 0,05$.

4. VÝSLEDKY

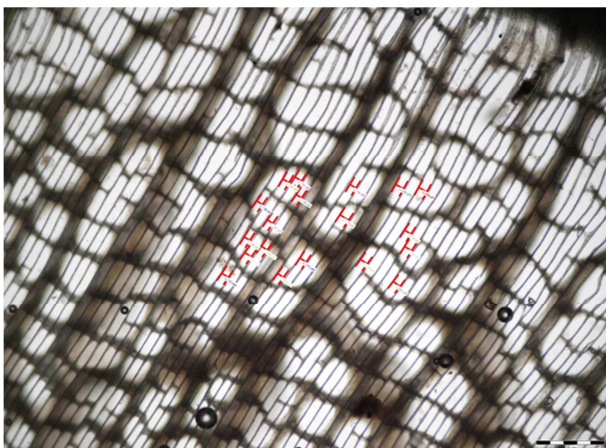
4.1. Morfologické ověření druhu a morfologické adaptace na příjem fytoplanktonu

Pokus č. 1: Dvouletí tolstolobici bílí

Průměrná hmotnost zkoumaných jedinců byla 398 ± 43 g ($n=15$), a celková délka těla (TL) 32 ± 1 cm. Břišní kýl vedl od řitního otvoru až k hrdlu u všech ryb. Délka hlavy představovala v průměru 20 ± 1 % z celkové délky těla. Struktura žaber u jedinců byla houbovitého charakteru (obr. 11 a 12), žaberní tyčinky byly vzájemně propojené. Průměrná vzdálenost tyčinek (obr. 13) od sebe byla 62 ± 9 μm , tj. průměrný počet tyčinek na 1 mm žaber odpovídá 17 ± 2 . Struktura požerákových zubů, s rýhováním na žvýkací ploše zubů, je zobrazena na obr. 14. Střevo zkoumaných jedinců bylo průměrně 4,7x delší než délka celého těla.



Obr. 11 a 12: Žaberní oblouk tolstolobika bílého (*Hypophthalmichthys molitrix*). Žaberní lístky jsou zobrazeny na vnějším okraji oblouku (nahore u obou obrázků), vnitřní okraj je tvořený vzájemně propojenými žaberními tyčinkami, připomínajícími houbovitou strukturu. Na obr. 2. (vpravo) je patrné, že vnitřní okraj žaberního oblouku je rozvětven na dvě části. Zvětšení – 10 x 63.



Obr. 13: Měření vzdálenosti mezi jednotlivými žaberními tyčinkami tvořících filtrační aparát tolstolobika bílého. Husté filtrační sítko slouží k zachycení i mikroskopických objektů z vody. Zvětšení 10 x 4.

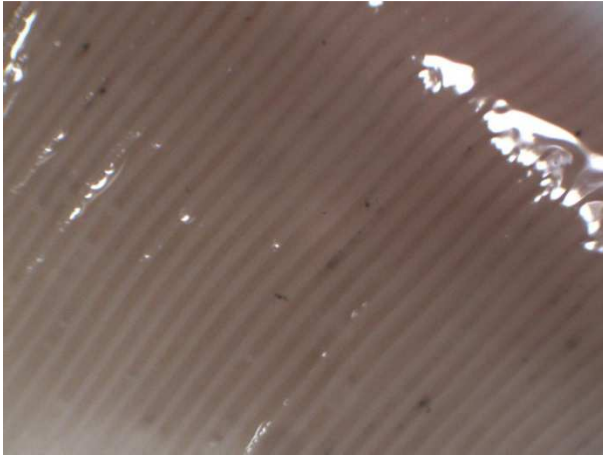


Obr. 14: Požerákové zuby zkoumaných jedinců vyrůstají na 5. žaberním oblouku a slouží k drcení potravy. Zvětšení 10 x 25.

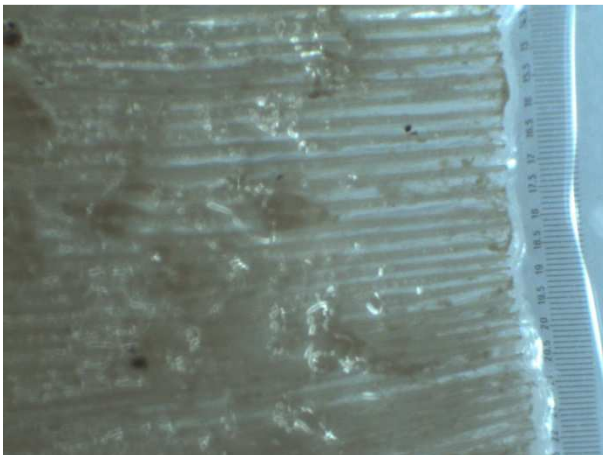
Pokus č. 2: Asi 21-letí (informace ze sádek, dle šupin 8-letí) tolstolobici bílí

Průměrná hmotnost zkoumaných jedinců byla $15,8 \pm 0,9$ kg ($n=3$), a celková délka těla (TL) 108 ± 1 cm. Dle informací ze sádek se jednalo zhruba o 21-leté jedince (18 let ponechání v rybníku, kam byla nasazena 3-letá násada), dle analýzy annuálních přírůstků na šupinách věk odhadován na 8 let. Břišní kýl vedl od břišních ploutví po řitní ploutev. Délka hlavy představovala v průměru $27 \pm 0,5$ % z celkové délky těla. Struktura žaber je zobrazena na obr. 15. Žaberní tyčinky byly volné, bez houbovité struktury, ale propojené homogenní blánou, vnitřní okraj žaberního oblouku byl

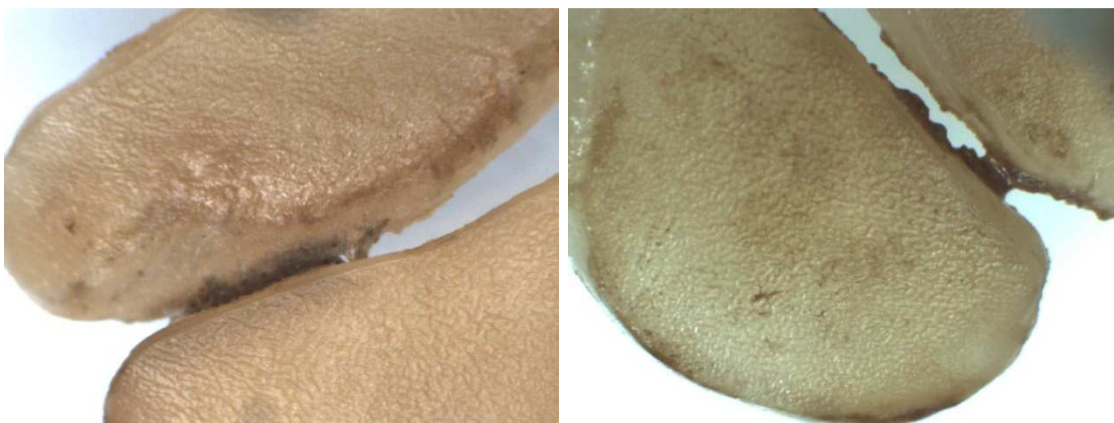
rozdvojen, stejně jako v prvním pokusu. Průměrná vzdálenost tyčinek (obr. 16) od sebe byla 250 μm a průměrný počet tyčinek na 1 mm žaber odpovídá 4. Struktura požerákových zubů, jejichž žvýkací plocha byla hladká, je zobrazena na obr. 17 a 18. Přesah prsní ploutve přes základ ploutve břišní nebyl zaznamenán u jedince číslo 1, u jedinců 2 a 3 přesahovala prsní ploutev o 0,5 a 3 cm základ břišních ploutví. U jedinců č. 1 a 3 byla přední část plynového měchýře kratší, než jeho zadní část, u jedince č. 2 tomu bylo naopak. Střevo zkoumaných jedinců bylo 4,3krát delší než délka celého těla.



Obr. 15: Struktura žaber zkoumaných jedinců pod binokulární lupou. Z obrázku je patrné, že žaberní tyčinky byly volné, bez příčných přepážek a houbovitě struktury, ale propojené homogenní blánou bez jakýchkoliv pórů. Zvětšení 10 x 0,7.



Obr. 16: Měření vzdálenosti mezi jednotlivými žaberními tyčinkami. Zvětšení 10 x 0,7.



Obr. 17 a 18: Požerákové zuby zkoumaných jedinců s hladkým povrchem žvýkací plochy. Zvětšení 10 x 0,7.

4.2. Druhá nabídka prostředí

Druhá nabídka prostředí byla zkoumána jen ve druhém pokusu. Z fytoplanktonu převládaly v prostředí odlovu zelené řasy (*Scenedesmus*, *Desmodesmus*, *Ankistrodesmus*, *Koliella*, *Monoraphidium*, *Pediastrum*, *Schroederia*) a rozsivky (*Aulacoseira*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Synedra*). Sinice v prostředí zastoupeny jen velmi málo (např. *Planktothrix agardhii*). Ze zooplanktonu převažovali vířníci (*Keratella*, *Polyarthra vulgaris*, *Brachionus rubens*, *Brachionus angularis*), dále přítomny z klanonožců *Acanthocyclops trajani* a kopepoditová stádia buchanek. V malém množství přítomny i perloočky (*Bosmina longirostris*, *Scapholeberis*).

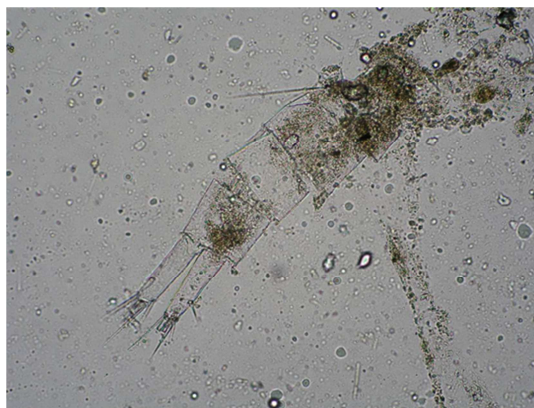
4.3. Druhé složení potravy

Pokus č. 1:

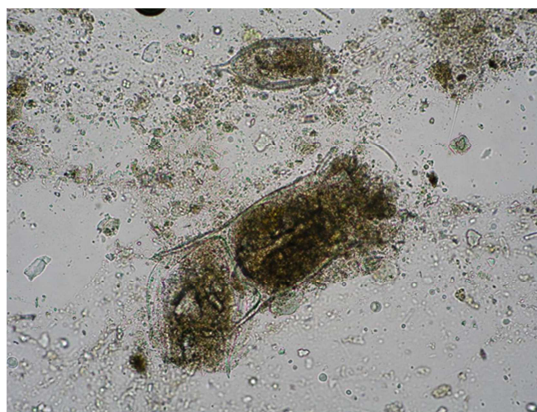
V trávicí trubici naprosto převládal detritus, dále byly přítomny živé i mrtvé části řas, rozsivek a sinic (na začátku i konci střeva), zbytky i celá těla vířníků (Rotifera) a klanonožců (Copepoda). Ze zooplanktonu (tab. 4) byla zaznamenána přítomnost vířníků (r. *Keratella*, *Notholca*) a buchanek. Fytoplankton (tab. 5) byl zastoupen zelenými řasami (r. *Desmodesmus*, *Scenedesmus*, *Pediastrum tetras*), rozsivkami (*Nitzschia*, *Gomphonema* – výskyt v detritu a planktonní *Aulacoseira*), krásivkami (*Closterium*), krásnoočkami (*Euglena*) a sinicemi (*Aphanizomenon* a *Oscillatoria limosa*).

Tab. 4: Zooplankton nalezený v trávicím traktu tolstolobika bílého v pokusu č. 1.:

kopepoditové stádium
buchanky (Cyclopoida)



vířníci
Keratella cochlearis
(nahore),
Keratella quadrata (dole)

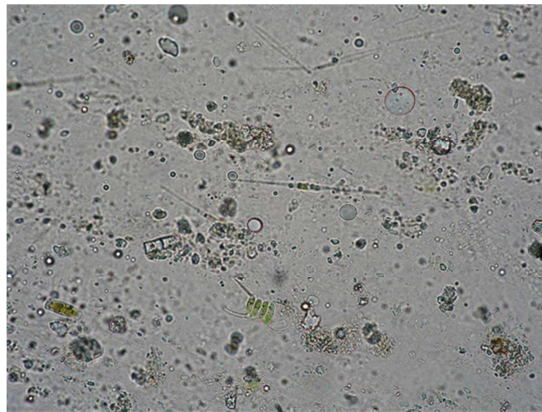


vířník
Notholca sp.

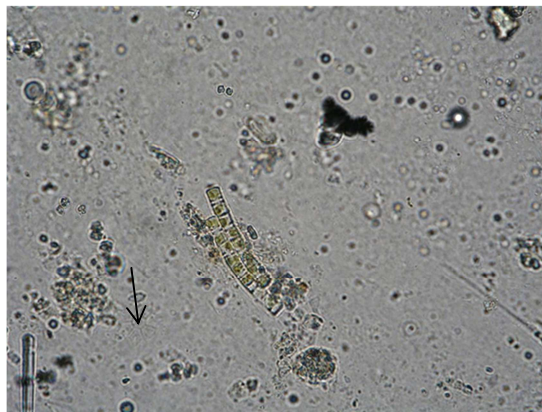


Tab. 5: Fytoplankton nalezený v trávicím traktu tolstolobika bílého v pokusu č. 1.:

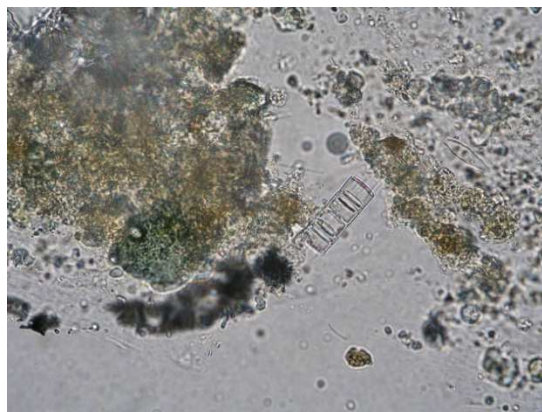
rozsivky r. *Nitzschia* –
tyčinkovité schránky
zelená řasa *Desmodesmus*
–
(uprostřed dole)
schránka (živé) rozsivky –
(v levém dolním rohu)



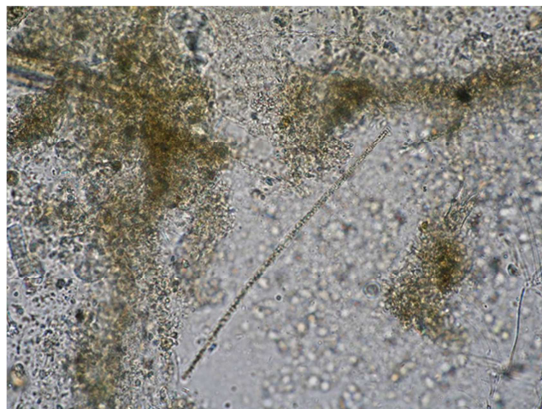
zelená řasa
Pediastrum tetras
(pozici ukazuje šipka), jen
sporopoleninová stěna,
mrtvá buňka;
rozsivka *Aulacoseira*
(uprostřed)



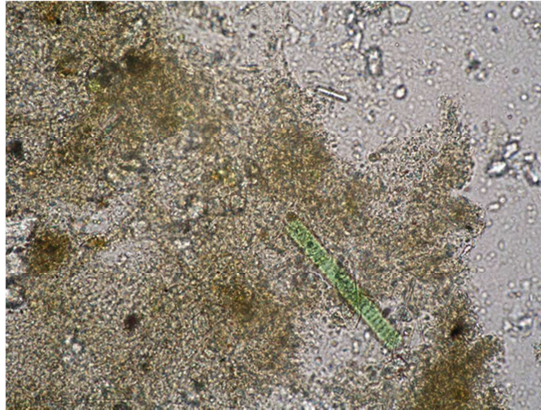
rozsivka *Aulacoseira*
(uprostřed)
rozsivka *Gomphonema*
(vpravo)



sinice r. *Aphanizomenon*



sinice *Oscillatoria limosa*

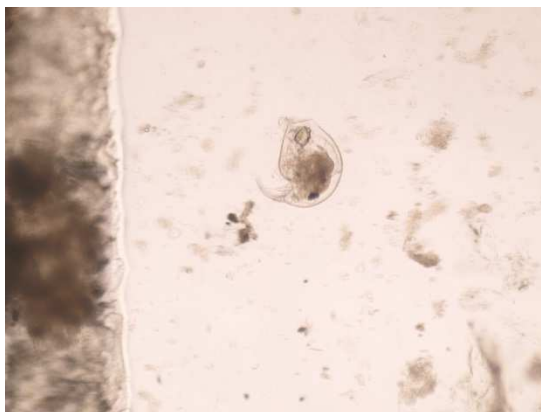


Pokus č. 2:

Podobně jako v prvním pokusu převládal v trávicím traktu zkoumaných jedinců detritus. Místy byl přítomen zooplankton (tab. 6), ale v menším zastoupení, než v pokusu č. 1. Nalezeny perloočky (Cladocera, r. *Daphnia* a *Bosmina*), buchanky (Cyclopoida, r. *Acanthocyclops*), lasturnatky (Ostracoda), vířníci (Rotatoria, r. *Brachionus*) a nymfy ploštic (Heteroptera). Fytoplankton zastoupen převážně rozsivkami (*Gomphonema* a *Navicula*) a zelenými řasami (*Desmodesmus*), v malém množství nalezeny i sinice (*Woronichia*).

Tab. 6: Zooplankton nalezený v trávicím traktu tolstolobika bílého v pokusu č. 2.:

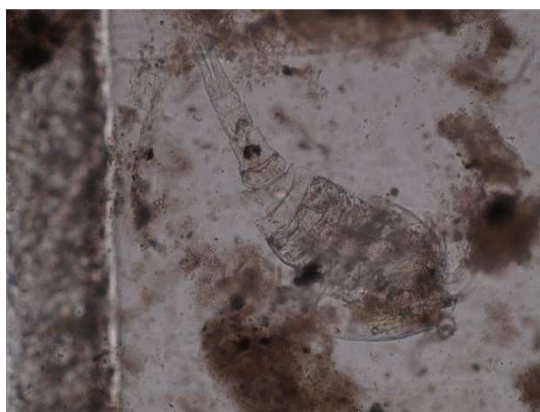
perloočka
Bosmina longirostris



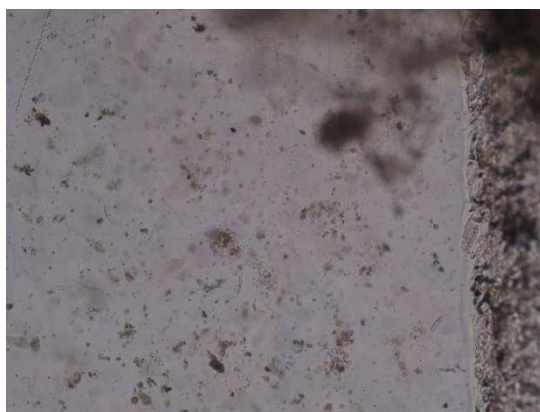
buchanka
Acanthocyclops trajani



buchanka
Acanthocyclops sp.



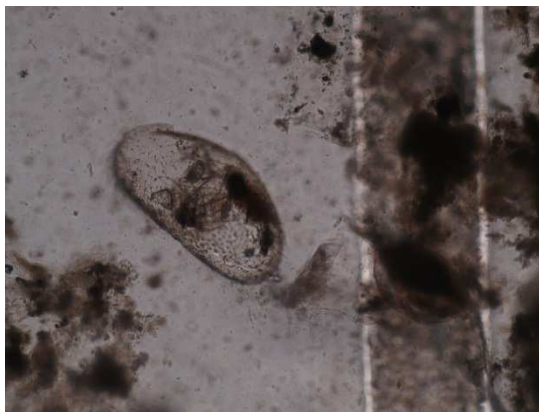
vířník
Brachionus angularis



nymfa ploštica
Heteroptera



lasturnatka (Ostracoda)



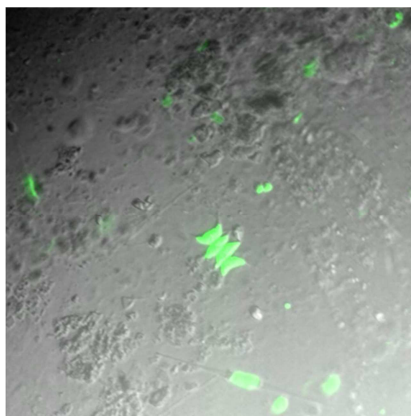
4.4. Životnost řas v trávicím traktu t. bílého

Pokus č. 1:

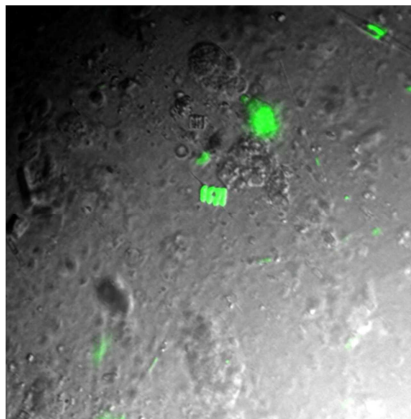
Pod fluorescenčním mikroskopem byly nalezeny zelené kokální řasy, zelené řasy (*Desmodesmus opoliensis*, *Scenedesmus acutus* a krásivka *Closterium*), rozsivky (*Nitzschia*, *Aulacoseira*, *Gyrosigma*, *Cymbella*), *Euglena* sp. a sinice (*Planktothrix agardhi*). Z těchto druhů byly přítomny živé i mrtvé buňky v obou částech trávicího traktu (přední i zadní) (tab. 7).

Tab. 7: Mrtvé a živé buňky řas a sinic v trávicím traktu t. bílého v pokusu č. 1:

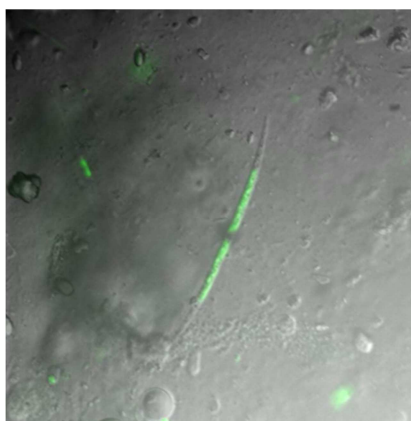
zelená řasa
Scenedesmus acutus,
rozsivka *Nitzschia* (dole)



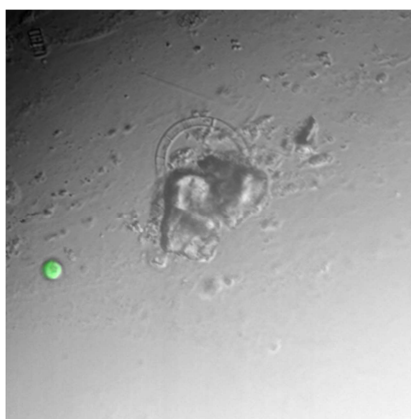
zelená řasa
Desmodesmus opoliensis
(uprostřed)
blíže neurčená rozsivka z
boku (vpravo nahoře)



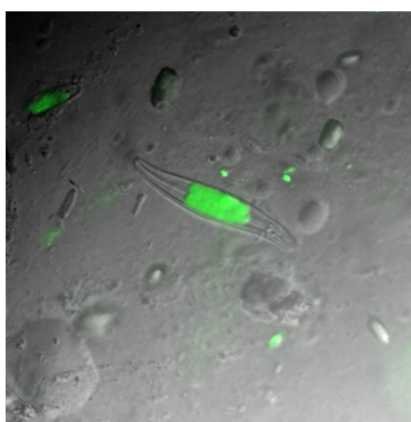
krásivka *Closterium*



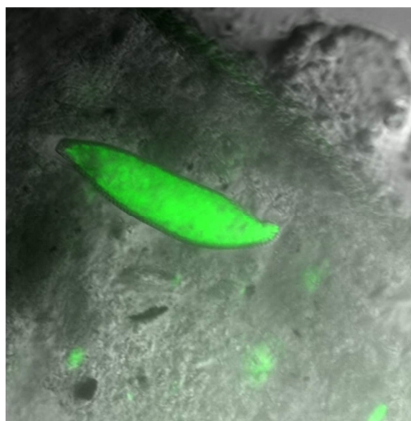
rozsivka *Aulacoseira* - mrtvá
(uprostřed i v levém horním
rohu)



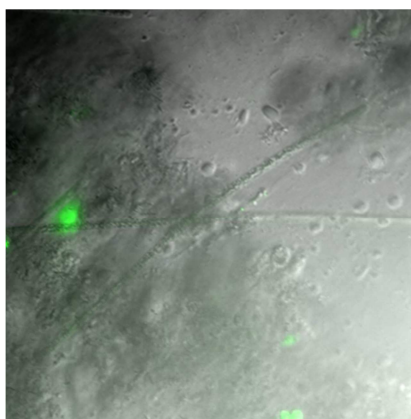
rozsivky -
Gyrosigma (uprostřed)
a *Cymbella* (vlevo nahoře)



Euglena sp.



vláknitá sinice
Planktothrix agardhii

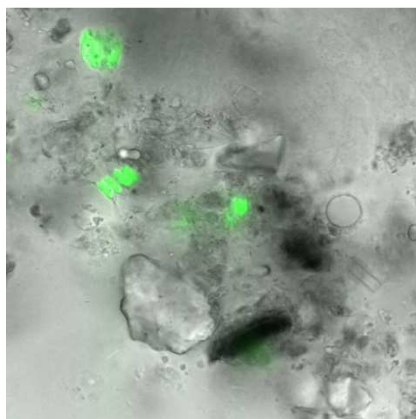


Pokus č. 2:

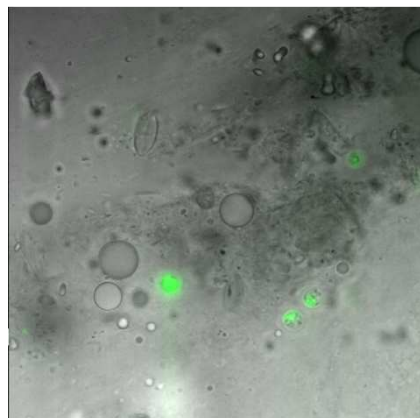
Ani ve druhém pokusu nebyl pozorován rozdíl v životnosti řas a střeva mezi jednotlivými částmi střeva (přední, prostřední a zadní). Živé i mrtvé buňky byly přítomny ve stejných intervalech ve všech částech střeva (tab. 8). Nebyl prokázán rozdíl v životnosti řas ani mezi prostředím a trávícím traktem/žábrech jedinců. Ve fluorescenčním mikroskopu nalezeny zelené kokální řasy, zelené řasy rodu *Desmodesmus*, rozsivky (r. *Gomphonema*, *Navicula*) a sinice (*Woronichia naegliana*).

Tab. 8: Mrtvé a živé buňky řas a sinic v trávicím traktu t. bílého v pokusu č. 2:

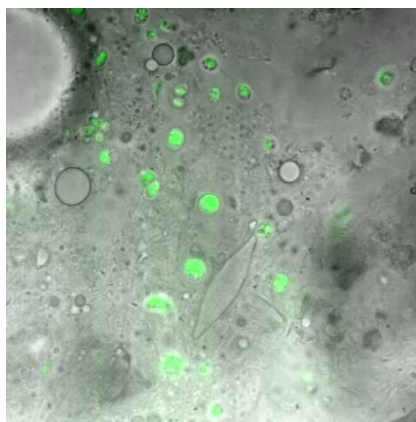
zelená řasa
Desmodesmus



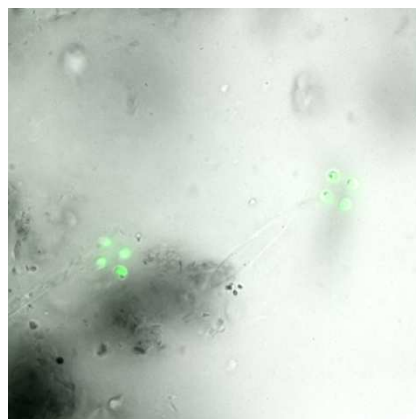
rozsivka *Gomphonema*
(mrtvá, horní polovina
obrázku, spíše vlevo)
a zelené kokální řasy



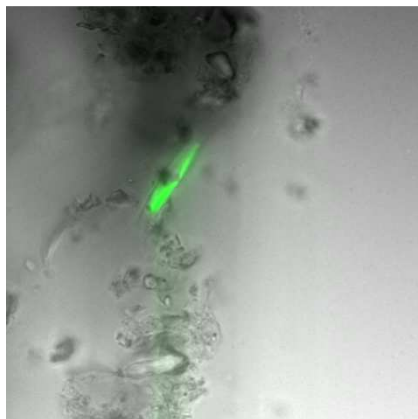
rozsivka (c.f. *Navicula*)
a zelené kokální řasy



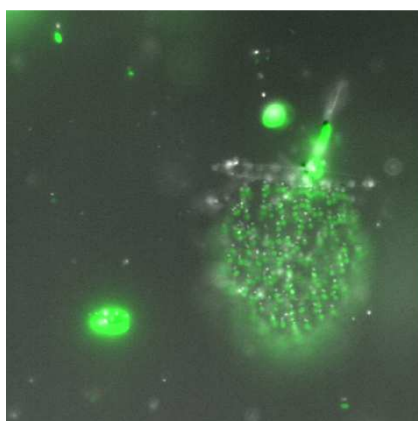
rozsivka *Navicula* (mrtvá)



rozsivka *Nitzschia*



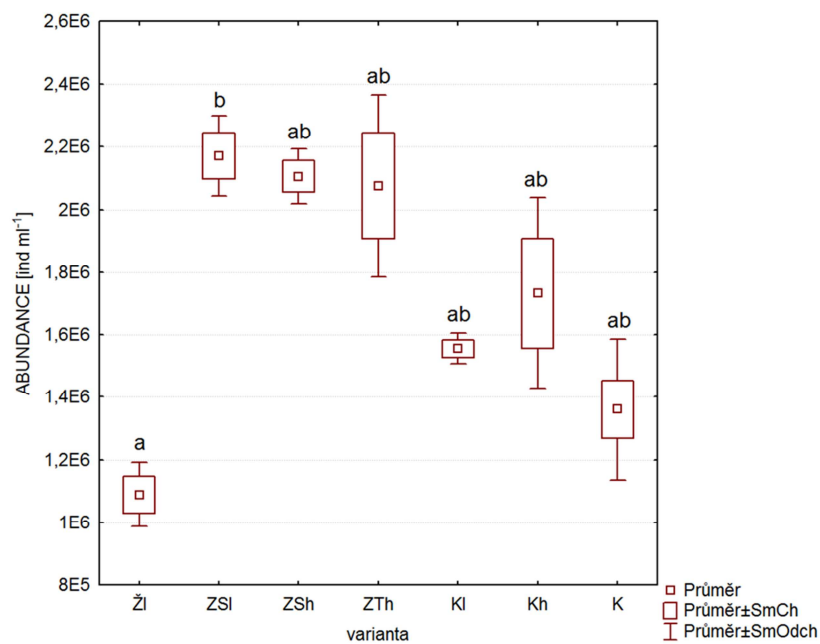
sinice
Woronichia naegliana



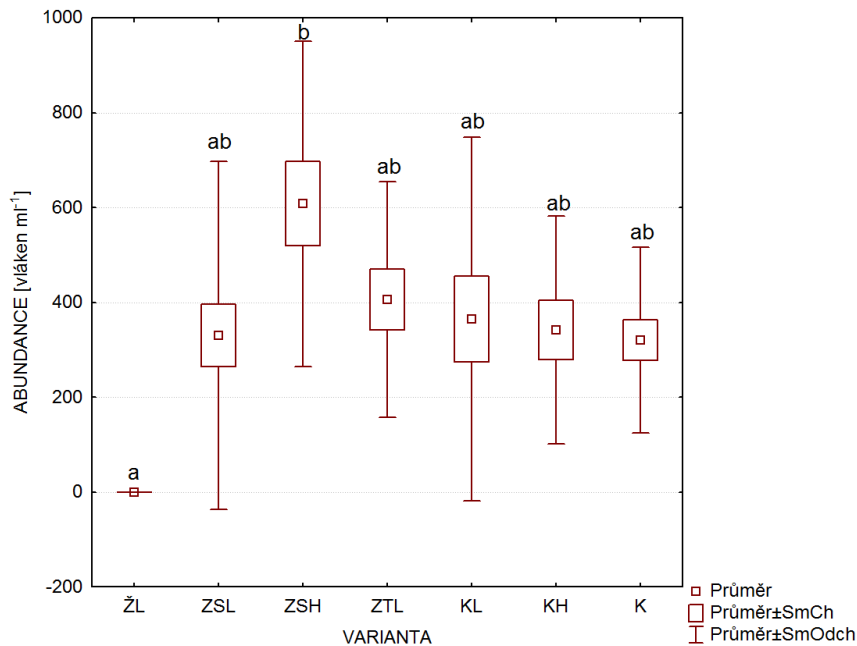
4.5. Inkubace *in vitro* s kulturami řas

Pokus č. 1:

Počty buněk sinice *Cyanothece* a počty vláken *Anabaena* se při inkubaci se žlučí a s obsahem začátku a konce trávicího traktu tolstolobika bílého mezi jednotlivými variantami statisticky průkazně lišily (pro *Cyanothece* $H(6, N = 24) = 18,4, p = 0,005$, pro *Anabaena* $H(6, N = 118) = 17,3, p = 0,008$). Nejméně buněk/vláken bylo po 7-denní inkubaci zaznamenáno ve variantě se žlučí. Většina ostatních variant se od sebe nelišila (Grafy 1 a 2). Počty buněk řasy rodu *Trachydiscus* a počty buněk *Anabaena* nebyly přítomností obsahu střeva ani žluče tolstolobika bílého statisticky průkazně ovlivněny.



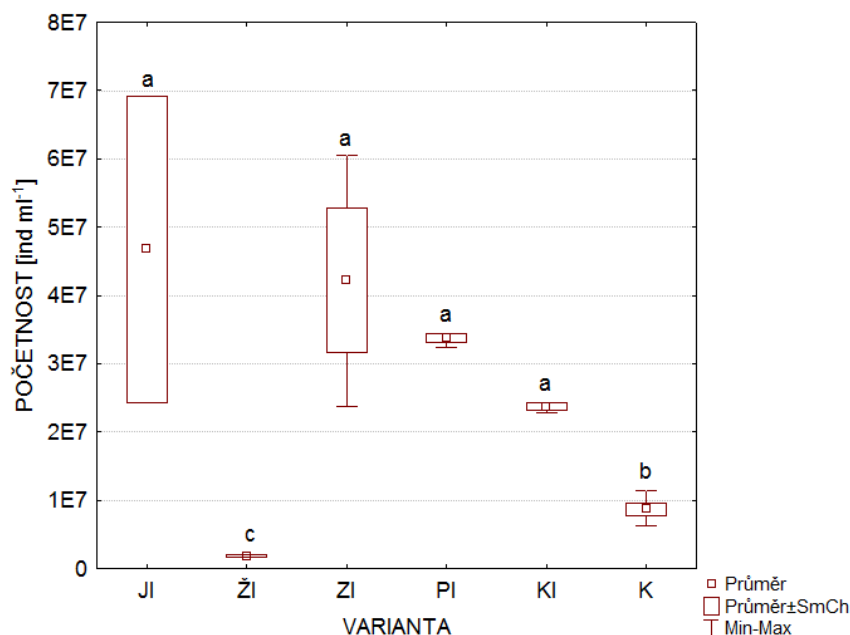
Graf 1: Počty buněk sinice *Cyanothece* [ind ml⁻¹] v jednotlivých variantách. Vysvětlivky: Žl – nízká koncentrace žluče (1%), ZSI – nízká koncentrace extraktu ze začátku střeva s malým obsahem rozptýlené žluče (1%), ZSh -vyšší koncentrace extraktu ze začátku střeva s malým obsahem rozptýlené žluče (10%), ZTh – vyšší koncentrace extraktu ze začátku střeva s vyšším obsahem žluče (10%), KI – nízká koncentrace extraktu z konce střeva (1%), Kh – vyšší koncentrace extraktu z konce střeva (10%), K – kontrola; písmena a, b ve variantách označují statisticky významnou odlišnost, případně se varianty statisticky neliší (ab).



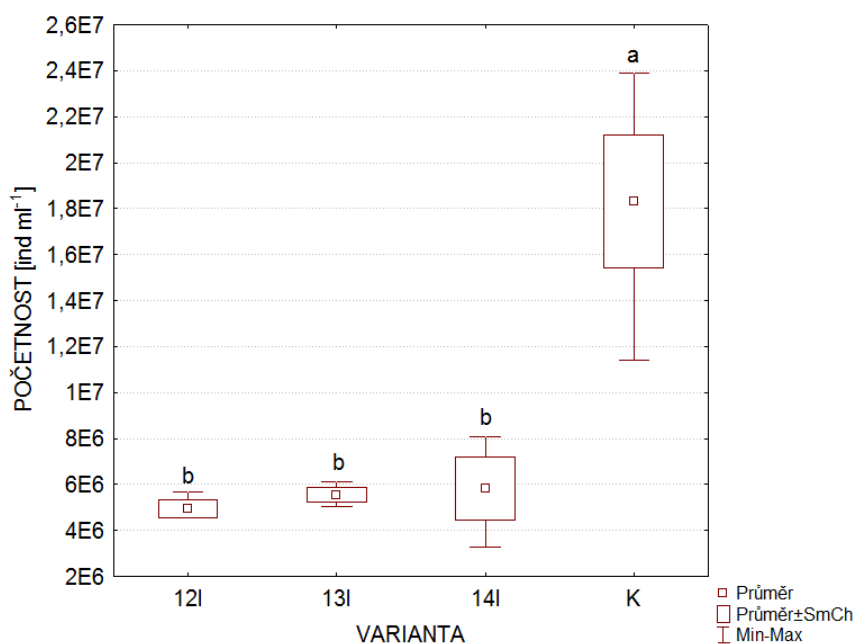
Graf 2: Počty vláken *Anabaena* [vlákno ml⁻¹] v jednotlivých variantách. Vysvětlivky: ŽL – nízká koncentrace žluče (1%), ZSL – nízká koncentrace extraktu ze začátku střeva s malým obsahem rozptýlené žluče (1%), ZSH -vyšší koncentrace extraktu ze začátku střeva s malým obsahem rozptýlené žluče (10%), ZTL – nízká koncentrace extraktu ze začátku střeva s vyšším obsahem žluče (1%), KL – nízká koncentrace extraktu z konce střeva (1%), KH – vyšší koncentrace extraktu z konce střeva (10%), K – kontrola; písmena a, b ve variantách označují statisticky signifikantní odlišnost, případně se varianty statisticky neliší (ab).

Pokus č. 2:

Počty buněk sinice *Cyanothece* se při inkubaci statisticky průkazně lišily ve všech pokusných variantách. Pro varianty s extrakty ze žluče, jater a cytosolárních částí střeva (začátek, prostředek, konec) $F = 46,1$; $p = 10^{-6}$, pro vzájemné kombinace žluče, jater a cytosolárních extraktů $F = 14,7$; $p = 0,001$, pro extracelulární obsahy částí střeva $F = 7,6$; $p = 0,001$ a pro mikrosomální extrakty částí střeva $F = 28,5$; $p = 0,0001$. Nejméně buněk bylo po 5-denní inkubaci zaznamenáno ve variantách se žlučí, většina ostatních variant se od sebe nelišila. Bez přítomnosti žluče (mikrosomální a extracelulární pokusy) nárůst počet buněk ve variantách oproti kontrole, varianty s extrakty se od sebe vzájemně nelišily (Grafy 3-6).

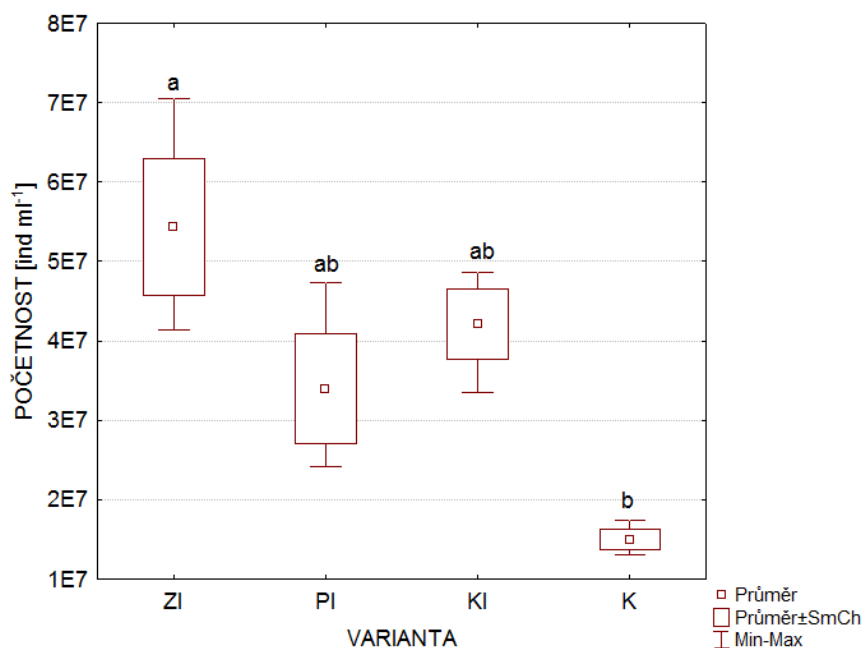


Graf 3: Počty buněk *Cyanobacte* [ind ml⁻¹] v jednotlivých variantách. Vysvětlivky: JI – nízká koncentrace jater (2%), ŽI – nízká koncentrace žluče (2%), ZI – nízká koncentrace cytosolárního extraktu ze začátku střeva (2%), PI – nízká koncentrace cytosolárního extraktu z prostředku střeva (2%), KI – nízká koncentrace cytosolárního extraktu z konce střeva (2%), K – kontrola; písmena a, b, c ve variantách označují statisticky signifikantní odlišnost, případně se varianty statisticky neliší (a).

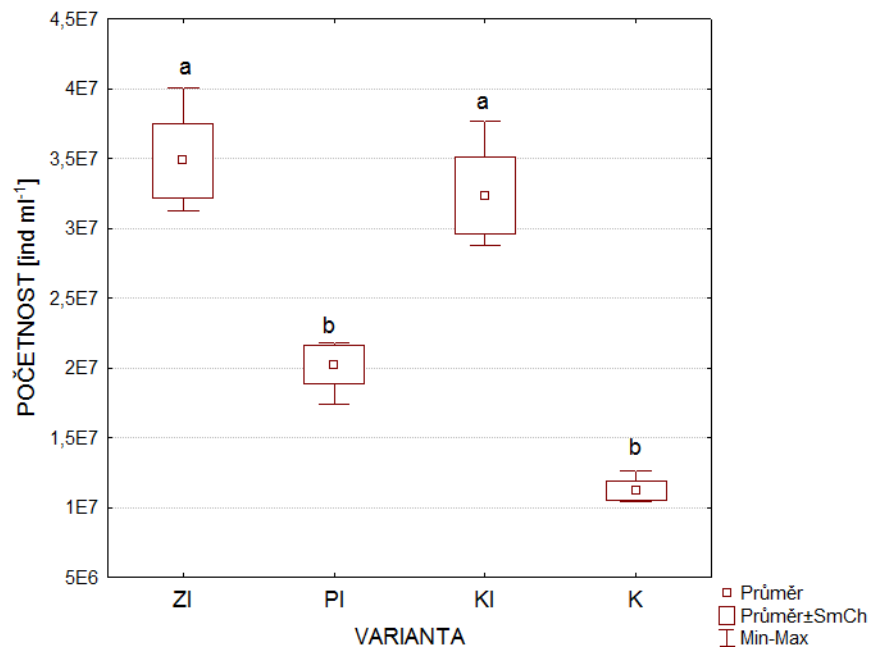


Graf 4: Počty buněk *Cyanobacte* [ind ml⁻¹] v jednotlivých variantách. Vysvětlivky: 12I – nízká koncentrace jater a žluče (2%), 13I – nízká koncentrace jater, žluče a

cytosolárního extraktu ze začátku střeva (2%), 14I – nízká koncentrace jater, žluče, cytosolárního extraktu ze začátku a prostředku střeva (2%), K – kontrola; písmena a, b ve variantách označují statisticky signifikantní odlišnost, případně se varianty statisticky neliší (b).



Graf 5: Počty buněk *Cyanobacte* [ind ml⁻¹] v jednotlivých variantách. Vysvětlivky: ZI – nízká koncentrace obsahu začáteční části střeva (2%), PI – nízká koncentrace obsahu prostřední části střeva (2%), KI – nízká koncentrace obsahu koncové části střeva (2%), K – kontrola; písmena a, b ve variantách označují statisticky signifikantní odlišnost, případně se varianty statisticky neliší (ab).



Graf 6: Počty buněk *Cyanothece* [ind ml⁻¹] v jednotlivých variantách. Vysvětlivky: ZI – nízká koncentrace mikrosomálního extraktu ze začátku střeva (2%), PI – nízká koncentrace mikrosomálního extraktu z prostředku střeva (2%), KI – nízká koncentrace mikrosomálního extraktu z konce střeva (2%), K – kontrola; písmena a, b ve variantách označují statisticky signifikantní odlišnost, případně se varianty statisticky neliší (a, b).

5. DISKUZE

Morfologické ověření příslušnosti tolstolobika k druhu bylo prováděno z důvodu velmi časté hybridizace t. bílého s blízkým příbuzným z čeledi kaprovitých, tolstolobikem pestrým (*Hypophthalmichthys nobilis* (Richardson, 1845)). Pro tuto práci bylo morfologické ověření zkoumaných jedinců nezbytné, neboť se oba druhy liší preferencí potravy, tudíž by pro naše účely byl t. pestrý, preferující výrazně zooplankton, nevhodný. Většina morfometrických znaků zjištěných v prvním pokusu (délka břišního kýlu, poměr hlavy z celkové délky těla, struktura žaber, počet žaberních tyčinek na 1 mm žaber) souhlasila s údaji uváděnými pro t. bílého. Jen struktura požerákových zubů u jedinců z prvního pokusu odpovídala t. pestrému. Při druhém pokusu naopak u zkoumaných jedinců převažovaly znaky typické pro t. pestrého (krátký břišní kýl struktura žaber, poměr délky hlavy vůči celkové délce těla), nicméně byly přítomny i znaky odpovídající t. bílému (přesah prsních ploutví přes základ břišních ploutví, rozměry jednotlivých částí plovacího měchýře, struktura požerákových zubů). V obou pokusech byli zřejmě použiti kříženci obou druhů. Nicméně všichni zkoumaní jedinci měli v trávicím traktu fytoplankton, čímž byla prokázána jejich schopnost jej na žaberních tyčinkách zachytit.

Délka střeva u jedinců v prvním pokusu byla v průměru 5x, ve druhém 4x větší, než délka celého těla. Tento znak prokazuje adaptaci na rostlinnou potravu, neboť u živočichů koreluje délka střeva s charakterem potravy, tj. vzrůstá od striktně masožravých, až po typicky rostlinnožravé druhy (Bitterlich, 1985a). Průměrná vzdálenost žaberních tyčinek u 2-letých tolstolobiků bílých byla $62 \pm 9 \mu\text{m}$. Starší tolstolobici měli tyčinky od sebe vzdálené průměrně $250 \mu\text{m}$. Tento výsledek poukazuje na možnost změn vzdálenosti během růstu t. bílých, podobně jako studie Liu (1981). Naopak je v rozporu se studií Hampla a kol. (1983), kteří změny ve vzdálenosti v průběhu růstu vyvracejí, u t. bílých ve věku jednoho roku sledovali průměrnou vzdálenost žaberních tyčinek $31,4 \mu\text{m}$ a u dvouletých vzdálenost $36,1 \mu\text{m}$. Přítomnost i velmi malých druhů řas (kokální zelené řasy) a zooplanktonu (vířníci a perloočky rodu *Bosmina*) v trávicím traktu zkoumaných jedinců potvrzuje, že t. bílý je schopen filtrovat i menší částice, než jsou póry v žaberním sítku. Kolar a kol. (2005), Calkins (2010) a Xie (1999) přisuzují příjem malých částic produkci velkého množství hlenu, jenž tyto částice spojuje dohromady, a umožňuje tak jejich zachycení. Ačkoli je příjem takto malých částic možný, je poměrně malý a vždy závisí na potravní nabídce prostředí. Pokud v prostředí převládají větší zelené řasy, preferují t. bílí především tuto potravu (Xie, 1999). I přesto, že odstraňování malých řas t. bílým je neefektivní a účinnost je

velmi malá, neznamena to, že by tyto řasy byly pro t. bílého zcela nestravitelné, jak uvádí např. Smith (1989a) a Starling (1993).

Celkové množství potravy v trávicím traktu bylo nízké, u některých druhů z prvního pokusu byl nalezen trávicí trakt téměř prázdný. Důvodem této skutečnosti v prvním pokusu mohla být nízká teplota vody (7,1 °C), při které je potravní aktivita t. bílého značně utlumena (Fukushima a kol., 1999; Rai, 2000). V potravě zkoumaných jedinců z prvního i druhého pokusu převládal detritus, stejně jako u jiných autorů (Sirenko a kol., 1976 a Opuzsynski, 1981). Převaha detritu v trávicím traktu může být výrazně podpořena charakterem odlovu, než přímým důkazem preference tohoto typu potravy. T. bílý patří mezi obtížně lovitelné druhy ryb z volné vody, takže se při jejich odlovu musí rybník vypustit nebo alespoň musí být výrazně snížena hladina vody. Vždy dochází ke zviření detritu ze dna, čímž se velmi snadno může dostat do trávicího traktu t. bílého. Charakter i velikost potravy nalezené v trávicím traktu zkoumaných jedinců v prvním i druhém pokusu odpovídal potravní nabídce prostředí. Nicméně potravní preference jednotlivých typů potravy nebyly vyhodnoceny, neboť např. u prvního pokusu chyběly menší velikostní frakce zooplanktonu, které ale v potravě zachyceny byly.

Fluorescence fytoplanktonu neprokázala významné rozdíly v životnosti fytoplanktonu po průchodu trávicím traktem t. bílých. Podíl živých a mrtvých buněk ve vodě (a zachycených na žábřácích) byl srovnatelný s podílem nalezeným v jednotlivých částech střeva. Nicméně vyhodnocení intenzity fluorescence není možné provést kvantitativně. Tento výsledek může být velmi ovlivněn převahou rozsivek v potravě. Rozsivky mají křemičitou schránku, která je vysoce odolná (i proti nízkému pH, kromě kyseliny fluorovodíkové). Rozdílnost životnosti po průchodu trávicím traktem neprokázal ani Jančula a kol. (2008), který naopak pozoroval stimulaci fotosyntetické aktivity sinic po průchodu trávicím traktem t. bílého.

Při inkubaci *in vitro* byly v prvním pokusu použity řasy *Trachydiscus* a sinice *Cyanothece* a *Anabaena*, ve druhém pokusu pouze *Cyanothece*. Výběr druhů řas odrážel jejich aktuální dostupnosti na Mikrobiologickém ústavu AV v Třeboni. Ke kultivaci těchto druhů řas jsou zde již rutinně využívány jednotlivá životní stádia. Zvolení posuzování růstu řas získaných přímo z trávicích traktů tolstolobiků by mohlo přinést problémy s kultivací těchto druhů.

Růst různobrvky *Trachydiscus* při inkubaci s extrakty z přední a zadní části trávicího traktu a žluče při prvním pokusu se statisticky nelišil od kontroly. Vliv trávicích tekutin na životaschopnost této řasy nebyl prokázán. Odlišný výsledek byl pozorován při inkubaci sinic rodu *Cyanothece* a *Anabaena*. U sinice rodu *Cyanothece* byl potvrzen negativní vliv žluče (při 1% koncentraci) na její růst. Ačkoliv se od sebe zbylé varianty

statisticky neodlišují, lze pozorovat mírný nárůst buněk oproti kontrole ve zbylých pokusných variantách, s extrakty z přední a zadní části trávicího traktu. Tento nárůst mohl být způsoben rozkladem obšů střev, které tak mohly sloužit jako zdroj živin. U sinice rodu *Anabaena* byl statisticky průkazný výsledek pozorován pouze u počtu vláken ml⁻¹. Počet buněk ml⁻¹ tohoto druhu sinice se statisticky průkazně v jednotlivých variantách nelišil. To je pravděpodobně způsobeno tím, že během inkubace výrazně vzrostl počet vláken, nikoli však buněk (vlákna byla krátká, s malým počtem buněk). Nárůst vláken sinice *Anabaena* byl, podobně jako u *Cyanothece*, průkazně limitován žlučí. Varianty s extrakty přední a zadní části trávicího traktu se od kontroly téměř nelišily.

Při druhém pokusu byla vyhodnocena u všech extraktů pouze nižší, tj. 2% koncentrace. Testován byl i vliv vyšší koncentrace (30%). Nicméně během 5-denní inkubace se v pokusných variantách vytvořil zákal, pravděpodobně následkem rozkladu. V těchto variantách tak nemohl být elektronicky změřen počet buněk, došlo by k ucpání counteru. Doporučuji tak provést analýzu za kratší dobu, nejlépe druhý den po aplikaci extraktů, aby ještě nedošlo k nežádoucímu rozkladu. U nižší koncentrace byl, podobně jako v prvním pokuse, potvrzen negativní efekt žluče na růst *Cyanothece*. Nebyl prokázán vliv extracelulárních (obsah střev), cytosolárních, ani mikrosomálních frakcí enzymů z tkáně střeva nebo jater na růst *Cyanothece*. Ve všech případech byl pozorován spíše mírný nárůst počtu buněk oproti kontrole. Řasy by ve skutečných podmínkách trávicího traktu nerostly, zde byl jejich růst umožněn světlem i teplotou v inkubátoru.

Z pokusů vyplývá, že t. bílý může růst sinic redukovat. To bylo pozorováno v mnoha studiích v přírodních podmínkách (např. Kopp a Heteša, 2000; Starling a Rocha, 1990; Starling, 1993). Zatímco růst různobrvky rodu *Trachydiscus* nebyl ani žlučí redukován. Tento fakt pravděpodobně může souviset s charakterem buněčných stěn. U sinic je buněčná stěna složena ze dvou vrstev, vnější lipoproteinové a vnitřní vrstvy tvořené peptidoglykanem. U různobrvky je buněčná stěna celulózní, s pektiny. Trávicí šťávy t. bílého nejsou schopny rozrušit celulózní schránku různobrvky kvůli absenci celulázy a klasických lyzozomů (Bitterlich, 1985a), což naše výsledky nepřímo potvrzují. Nicméně celulózní stěny různobrvky mohou být narušeny mechanicky požerákovými zuby, čímž se obsah buňky zpřístupní pro trávení Xie (1999), Xie (2001).

6. ZÁVĚR

Z literatury vyplývá, že použití t. bílého se zdá být efektivní při nadměrném rozvoji sinic a velkých druhů fytoplanktonu. Pro redukci malých druhů fytoplanktonu (<10 µm) se zdá být efektivnější použití tradičních biomanipulačních metod (nasazení zooplanktonu).

Výsledky této práce poukazují na důležitost mechanického narušení buněčných stěn při trávení. Byl prokázán negativní efekt žluče na růst sinic, enzymatické trávení prokázáno nebylo.

Správné pochopení účinnosti trávení t. bílého na druhy řas a sinic vyžaduje obsáhlejší studie, zahrnující efekt i na jiné druhy řas a sinic a výzkum aktivity různých enzymů v trávicím traktu t. bílého.

7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- **Adámek, Z.** (1980). Potravní nároky býložravých druhů ryb. *Československé rybníkářství* 3: 9-10.
- **Adámek, Z.; Helešic, J.; Maršálek, B.; Rulík, M.** (2010). Aplikovaná hydrobiologie. *Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Fakulta rybářství a ochrany vod*. 350 pp.
- **Bairagi, A.; Ghosh, K. S.; Kumar, S.; Sen, S. K.; Ray, A. K.** (2002). Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts. *Aquaculture International* 10: 109-121.
- **Bangxi, X.; DeShang, L.; Qi, L.; Jimin, C.** (1993). The impact of filter-feeding fish on the carrying capacity of reservoirs for feeding-cage-culture of fish. *Acta Hydrobiologica Sinica* 17: 131-144. (čínsky, s anglickým abstraktem).
- **Baruš, V. a Oliva, O. (eds.)** (1995). Mihulovci *Petromyzontes* a ryby *Osteichthyes* (2). *Academia*. Praha. 698 pp.
- **Benndorf, J.** (1995). Possibilities and limits for controlling eutrophication by biomanipulation. *International Review of Hydrobiology* 4: 519-534.
- **Benndorf, J.; Böing, W.; Koop, J.; Neubauer, I.** (2002). Top-down control of phytoplankton: the role of time scale, lake depth and trophic state. *Freshwater Biology* 47: 2282-2295.
- **Bialokoz, W. a Krzywosz, T.** (1981). Feeding intensity of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.) from the Paproteckie lake in the annual cycle. *Ekologia Polska* 29 (1): 53-61.
- **Bitterlich, G.** (1985a). Digestive enzyme pattern of two stomachless filter feeders, silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix* Val., and bighead carp, *Aristichthys nobilis* Rich. *Journal of Fish Biology* 27: 103-112.
- **Bitterlich, G.** (1985b). The nutrition of stomachless phytoplanktivorous fish in comparison with Tilapia. *Hydrobiologia* 121: 173-179.
- **Bukvić, I.; Kerovec, M.; Plenković, A.; Mrakovčić, M.** (1998). Impact of silver and bighead carp (Cyprinidae) on plankton and water quality in fish ponds. *Biologia (Bratislava)* 53: 145-157.
- **Burke, J. S.; Bayne, D. R.; Rea, H.** (1986). Impact of silver and bighead carps on plankton communities of channel catfish ponds. *Aquaculture* 55: 59-68.

- **Calkins, H. A.** (2010). Linking silver carp habitat selection to phytoplankton consumption in the Mississippi river. *Master's Thesis*. Department of Zoology. Southern Illinois University. Carbondale. Illinois. 40 pp.
- **Costa-Pierce, B. A.** (1992). Review of the spawning requirements and feeding ecology of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and reevaluation of its use in fisheries and aquaculture. *Reviews in Aquatic Sciences* 6: 257-273.
- **Cremer, M. C. a Smitherman, R. Q.** (1980). Food habits and growth of silver and bighead carp in cages and ponds. *Aquaculture* 1: 57-64.
- **Datta(Saha), S. a Jana, B. B.** (1998). Control of bloom in a tropical lake: grazing efficiency of some herbivorous fishes. *Journal of Fish Biology* 53: 12-24.
- **Denstadli, V.; Skrede A.; Krogdahl Å.; Sahlstrøm, S.; Storebakken, T.** (2006). Feed intake, growth, feed conversion, digestibility, enzyme activities and intestinal structure in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed graded levels of phytic acid. *Aquaculture* 256: 365–376.
- **De-Shang, L. a Shuang-Lin, D.** (1996). The structure and function of the filtering apparatus of silver carp and bighead carp. *Acta Zoologica Sinica* (42): 10-14. (čínsky, s anglickým abstraktem).
- **Domaizon, I. a Dévaux, J.** (1999). Impact of moderate silver carp biomass gradient on zooplankton communities in a eutrophic reservoir. Consequences for the use of silver carp in biomanipulation. *Sciences de la vie/ Life Sciences* 322: 621-628.
- **Domaizon, I.; Desvillettes, C.; Debroad, D.; Bourdier, G.** (2000). Influence of zooplankton and phytoplankton on the fatty acid composition of digesta and tissue lipids of silver carp: mesocosm experiment. *Journal of Fish Biology* 57: 417-432.
- **Etnier, D. A. a Starnes, W. C.** (1993). The fishes of Tennessee. *The University of Tennessee Press*. Knoxville. Tennessee. USA. 689 pp.
- **Fukushima, M.; Takamura, N.; Sun, L.; Nakagawa, M.; Matsushige, K.; Xie, P.** (1999). Changes in the plankton community following introduction of filter-feeding planktivorous fish. *Freshwater Biology* 42: 719-735.
- **Gerking, S. D.** (1994). Feeding ecology of fish. *Academic press*. San Diego. 1994.
- **HAMPL, A.; Jirásek, J.; Sirotek, D.** (1983). Growth morphology of the filtering apparatus of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) II. Microscopic anatomy. *Aquaculture* 31: 153-158.

- **Herodek, S.; Tátrai, I.; Oláh, J.; Vörös, L.** (1989). Feeding experiments with silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.) Fry. *Aquaculture* 83: 331-344.
- **Horn, M. H.** (1989). Biology of marine herbivorous fishes. *Oceanography and Marine Biology* 27: 167-272.
- **Iljin, V. M.** (1966). Biotechnika vyraščivanija trechletkov rastitel nojadnych ryb v meste s karpom. Tr. Vniiprch 14: 275-301. (in Krupauer, V. (1989). Býložravé ryby. Ministerstvo zemědělství a výživy ČSR a Český rybářský svaz. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 116 pp.)
- **Jančula, D.; Míkovcová, M.; Adámek, Z.; Maršálek, B.** (2008). Changes in the photosynthetic activity of *Microcystis* colonies after gut passage through Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Aquaculture Research* 39: 311-314.
- **Kajak, Z.; Rybak, J. I.; Spodniewska, I.; Godlewska-Lipowa, W. A.** (1975). Influence of the planktonivorous fish *Hypophthalmichthys molitrix* (Val.) on the plankton and benthos of the eutrophic lake. *Polskie Archiwum Hydrobiologii* 22 (2): 301-310.
- **Ke, Z-X.; Xie, P.; Guo, L-G.** (2009). Impacts of two biomanipulation fishes stocked in a large pen on the plankton abundance and water quality during a period of phytoplankton seasonal succession. *Ecological Engineering* 35: 1610-1618.
- **Kolar, C. S.; Chapman, D. C.; Courtenay, W. R.; Housel, C. M.; Williams, J. D.; Jennings, D. P.** (2005). Asian carps of the genus *Hypophthalmichthys* (Pisces, Cyprinidae): a biological synopsis and environmental risk assessment. US Geological Survey. *Report to US Fish and Wildlife Service per Interagency Agreement*. 94400-3-0128. 183 pp.
- **Kopp, R. a Heteša, J.** (2000). Změny vybraných hematologických ukazatelů tolstolobika bílého (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.) pod vlivem přírodních populací vodních květů sinic. *Sborník Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně* 48 (5): 35-39.
- **Krupauer, V.** (1989). Býložravé ryby. Ministerstvo zemědělství a výživy ČSR a Český rybářský svaz. *Státní zemědělské nakladatelství*. Praha. 116 pp.
- **Kvale, A.; Mangor-Jensen, A.; Moren, M.; Espe, M.; Hamre, K.** (2007). Development and characterisation of some intestinal enzymes in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) and Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) larvae. *Aquaculture* 264: 457-468.

- **Laws, E. A. a Weisburd, R. S. J.** (1990). Use of silver carp to control algal biomass in aquaculture ponds. *The Progressive Fish- Culturist* 52 (1): 1-8.
- **Lazzaro, X.** (1987). A review of planktivorous fishes: Their evolution, feeding behaviours, selectivities, and impacts. *Hydrobiologia* 146 (2): 97-167.
- **Li, L.; Xie, P. a Chen, J.** (2005). In vivo studies on toxin accumulation in liver and ultrastructural changes of hepatocytes of the phytoplanktivorous bighead carp i.p.-injected with extracted microcystins. *Toxicon* 46: 533-545.
- **Lieberman, D. M.** (1996). Use of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and bighead carp (*Aristichthys nobilis*) for algae control in a small pond: Changes in water quality. *Journal of Freshwater Ecology* 11 (4): 391-397.
- **Liu, H. L.** (1981). The apparatus of filtering and feeding of silver carp and bighead carp. *Journal Dalian Fisheries College* 1: 13-33.
- **Lu, M. a Xie, P.** (2001). Impacts of filter-feeding fishes on the long-term changes in crustacean zooplankton in a eutrophic subtropical Chinese lake. *Journal of Freshwater Ecology* 16: 219-228.
- **Lu, M.; Xie, P.; Tang, H., Shao, Z.; Xie, L.** (2002). Experimental study of trophic cascade effects of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) in a subtropical lake, Lake Donghu: On plankton community and underlying mechanisms of changes of crustacean community. *Hydrobiologia* 487: 19-31.
- **Lusk, S.; Baruš, V.; Vostradovský, J.** (1983). Ryby v našich vodách. *Academia*. Praha. 208 pp.
- **Ma, H.; Cui, F.; Liu, Z.; Fan, Z.; He, W; Yin, P.** (2010). Effect of filter-feeding fish silver carp on phytoplankton species and size distribution in surface water: A field study in water works. *Journal of Environmental Sciences* 22 (2): 161-167.
- **Maršálek, B.; Keršner, V.; Marvan, P.** (1996). Vodní květy sinic. *Nadatio flos-aquae*. Brno. 141 pp.
- **Milstein, A.; Hopher, B.; Teltsch, B.** (1985). Principal components analysis of interactions between fish species and the ecological conditions in fish ponds. II. Zooplankton. *Aquaculture and Fisheries Management* 16: 319-330.
- **Moriarty, Ch. M. a Moriarty, D. J. W.** (1973). Quantitative estimation of the daily ingestion of phytoplankton by *Tilapia nilotica* and *Haplochromis nigripinnis* in Lake George, Uganda. *Journal of Zoology* 171 (1): 15-23.

- **Mueller, CH. R.; Eversole, A. G.; Turker, H.; Brune, D. E.** (2004). Effect of silver carp *Hypophthalmichthys molitrix* and freshwater mussel *Elliptio complanata* filtration on the phytoplankton community of partitioned aquaculture system units. *Journal of the World Aquaculture Society* 35 (3): 372-382.
- **Nelson, J. S.** (1994). Fishes of the world. Third edition. *John Wiley & Sons, Inc.* New York. 600 pp.
- **Omarov, M. O.** (1970). The daily food consumption of the silver carp *Hypophthalmichthys molitrix* (Val.). *Journal of Ichthyology* 10 (3): 425-426.
- **Opuszynski, K.** (1979). Silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix* (Val.), in carp ponds III. Influence on ecosystem. *Ekologia Polska* 27 (1): 117-133.
- **Opuzsynski, K.** (1981). Comparison of the usefulness of the silver carp and the bighead carp as additional fish in carp ponds. *Aquaculture* 25 (2-3): 223-233.
- **Pípalová, I.** (2006). A review of grass carp use for aquatic weed control and its impact on water bodies. *Journal of Aquatic Plant Management* 44: 1-12.
- **Provasoli, L.; McLaughlin, J. J. A.; Droop, M. R.** (1957). The development of artificial media for marine algae. *Arch Mikrobiol* 25: 392–428.
- **Radke, R. J. a Kahl, U.** (2002). Effects of a filter-feeding fish [silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix* (Val.)] on phyto- and zooplankton in a mesotrophic reservoir: results from an enclosure experiment. *Freshwater Biology* 47: 2337–2344.
- **Rai, A. K.** (2000). Evaluation of natural food for planktivorous fish in Lakes Phewa, Begnas and Rupa in Pokhara Valley, Nepal. *Limnology* 1: 81-89.
- **Rippka, R.; Deruelles, J.; Waterbury, J. B.; Herdman, M.; Stanier, R. Y.** (1979). Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *Journal of General Microbiology* 111: 1–61.
- **Savina, R. A.** (1966). Pitanie belogo tolstolobika. Rybochoz. osvoen. rastitel nojadnych ryb. Moskva. 67-70. (in Krupauer, V. (1989). Býložravé ryby. Ministerstvo zemědělství a výživy ČSR a Český rybářský svaz. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 116 pp.)
- **Sieburth, J. M. N.; Smetacek, V.; Lenz, J.** (1978). Pelagic ecosystem structure: heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions. *Limnology and Oceanography* 23: 1256-1623.
- **Sirenko, L. A.; Vovk, P. S.; Malyarevskaya, A. YA.; Birger, T. I.** (1976). Control of eutrophication of the Dnieper reservoirs by algae removal and herbivorous fishes introduction. *Limnologica* (Berlin) 10 (2): 603-606.

- **Smith, D. W.** (1985). Biological control of excessive phytoplankton growth and the enhancement of aquacultural production. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 42: 1940-1945.
- **Smith, D. W.** (1989a). The feeding selectivity of silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix* Val. . *Journal of Fish Biology* 34: 819-828.
- **Smith, L. S.** (1989b). Digestive functions in Teleost Fishes. In Halver, J. E. (ed.). *Fish nutrition*. 2nd edition. Academic Press. p.385.
- **Smith, D. W.** (1993). Wastewater treatment with complementary filter feeders: a new method to control excessive suspended solids and nutrients in stabilization ponds. *Water Environment Research* 65: 650-654.
- **Smith, J. L. a Haney, J. F.** (2006). Foodweb transfer, accumulation, and depuration of microcystins, a cyanobacterial toxin in pumpkinseed sunfish (*Lepomis gibbosus*). *Toxicon* 48: 580-589.
- **Spataru, P.** (1977). Gut contents of silver carp — *Hypophthalmichthys molitrix* (Val.) — and some trophic relations to other fish species in a polyculture systém. *Aquaculture* 11 (2): 137-146.
- **Spataru, P. a Gophen, M.** (1985). Feeding behaviour of silver carp *Hypophthalmichthys molitrix* Val. and its impact on the food web in Lake Kinneret, Israel. *Hydrobiologia* 120 (1): 53-61.
- **Starling, F. L. R. M.** (1993). Control of eutrophication by silver carp (*Hypophthalmus molitrix*) in the tropical Paranoá Reservoir (Brasília, Brazil): a mesocosm experiment. *Hydrobiologia* 257: 143–152.
- **Starling, F. L. R. M. a Rocha, A. J. A.** (1990). Experimental study of the impacts of planktivorous fishes on plankton community and eutrophication of a tropical Brazilian reservoir. *Hydrobiologia* 200/201: 581-591.
- **Starling, F.; Beveridge, M.; Lazzaro, X.; Baird, D.** (1998). Silver carp biomass effects on the plankton community in Paranoá reservoir (Brazil) and an assessment of its potential for improving water quality in lacustrine environments. *International Review of Hydrobiology* 83: 499-508.
- **Strickland, J. D. H.** (1960). Measuring the production of marine phytoplankton. Fisheries Research Board of Canada Pacific Oceanographic Group. Nanaimo. B.C. *Bulletin* no. 122.
- **Šetlíková, I. a Wiegand, C.** (2009). Hepatic and branchial glutathione S-transferases of two fish species: Substrate specificity and biotransformation of microcystin-LR. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C* 149: 515-523.

- **Tang, H.; Xie, P.; Lu, M.; Xie, L.; Wang, J.** (2002). Studies on the effects of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) on the phytoplankton in a shallow hypereutrophic lake through an enclosure experiment. *International Review of Hydrobiology* 87 (1): 107-119.
- **Vörös, L.; Oldal, I.; Présing, M.; Balogh K. V.** (1997). Size-selective filtration and taxon-specific digestion of plankton algae by silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.). *Hydrobiologia* 342/343: 223-228.
- **Vörös, L.; Présing, M.; Balogh, K-V.; Oldal, I.** (1998). Nutrient removal efficiency of a pollution control reservoir. *International Review of Hydrobiology* 83: 665-672.
- **Wang, J-Q.; Flickinger, S. A.; Be, K.; Liu, Y.; Xu, H.** (1989). Daily food consumption and feeding rhythm of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during fry to fingerling period. *Aquaculture* 83: 73-79.
- **Wiegand, C.; Pflugmacher, S.; Oberemm, S.; Meems, A.; Beattie, N.; Steinberg, C. E. W.; Codd, G. A.** (1999). Uptake and effects of microcystin-LR on detoxification enzymes of early life stages of the zebra fish (*Danio rerio*). *Environmental Toxicology* 14: 89-95.
- **Williamson, Ch. J.** (2004). Population characteristics and seasonal foraging preference of silver carp in the middle Mississippi River. *Master's Thesis*. Department of Zoology. Southern Illinois University. Carbondale. Illinois. 46 pp.
- **Williamson, Ch. J. a Garvey, J. E.** (2005). Growth, fecundity, and diets of newly established silver carp in the middle Mississippi River. *Transactions of the American Fisheries Society* 134: 1423-1430.
- **Xiao, L.; Ouyang, H.; Li, H.; Chen, M.; Lin, Q.; Han, B-P.** (2010). Enclosure study on phytoplankton response to stocking of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) in a eutrophic tropical reservoir in south China. *International Review of Hydrobiology* 95 (4-5): 428-439.
- **Xie, P.** (1999). Gut contents of silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix*, and the disruption of a centric diatom, *Cyclotella*, on passage through the esophagus and intestine. *Aquaculture* 180: 295–305.
- **Xie, P.** (2001). Gut contents of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) and the processing and digestion of algal cells in the alimentary canal. *Aquaculture* 195: 149–161.

- **Xie, P. a Yang, Y.** (2000). Long-term changes of Copepoda community (1957–1996) in a subtropical Chinese lake stocked densely with planktivorous filter-feeding silver and bighead carp. *Journal of Plankton Research* 22 (9): 1757-1778.
- **Xie, L. Q.; Xie, P.; Ozawa, K.; Honma, T.; Yokoyama, A.; Park, H. D.** (2004). Dynamics of microcystins-LR and -RR in the phytoplanktivorous silver carp in a sub-chronic toxicity experiment. *Environmental Pollution* 127: 431–439.
- **Zachleder, V. a Šetlík, I.** (1982). Effect of irradiance on the course of RNA synthesis in the cell cycle of *Scenedesmus quadricauda*. *Biologia Plantarum* 24: 341–353.
- **Zhang, X.; Xie, P.; Hao, L.; Guo, N. C.; Gon, Y. G.; Hu, X. L.; Chen, J.; Liang, G. D.** (2006). Effects of the phytoplanktivorous silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) on plankton and the hepatotoxic microcystins in an enclosure experiment in a eutrophic lake, Lake Shichahai in Beijing. *Aquaculture* 257: 173-186.
- **Zhang, X.; Xie, P.; Huang, X.** (2008). A review of nontraditional biomanipulation. *The Scientific World Journal* 8: 1184-1196.
- **Zhao, Z.; Dong, S.; Wang, F.; Tian, X.; Gao, Q.** (2011). The measurements of filtering parameters under breathing and feeding of filter-feeding silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.). *Aquaculture* 319: 178-183.
- **Zhou, G.; Zhao, X.; Bi, Y.; Hu, Z.** (2011). Effects of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) on spring phytoplankton community structure of Three-Gorges Reservoir (China): result from an enclosure experiment. *Journal of Limnology* 70 (1): 26-32.

Internetové zdroje:

- **Pivnička, K.; Černý, K.; Hýsek, K.** (1987). Sladkovodní a mořské ryby Evropy. 302 pp. Publikace dostupná na internetové stránce <http://web.natur.cuni.cz/uzp/data/RybyEvr1.doc>, staženo dne 15. 10. 2012.
- **Chytrý, M.** (2009). obrázek dostupný na internetové stránce <http://www.biolib.cz/en/taxonimage/id151983/?taxonid=15625>, staženo dne 15. 4. 2013.