

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: Zemědělská specializace (N4106)

Studijní obor: Biologie a ochrana zájmových organismů

Katedra: Katedra biologických disciplín

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

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Citlivost tetry jeskynní (*Astyanax mexicanus*) k magnetickému poli

Vedoucí diplomové práce: prof. RNDr. František Sedláček, CSc.

Konzultant diplomové práce: doc. RNDr. Ing. Josef Rajchard, Ph.D.

Autor diplomové práce: Bc. Patrik Janda

České Budějovice, 2018

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Patrik JANDA**
Osobní číslo: **Z16328**
Studijní program: **N4106 Zemědělská specializace**
Studijní obor: **Biologie a ochrana zájmových organismů**
Název tématu: **Citlivost tetry jeskynní (*Astyanax mexicanus*) k magnetickému poli**
Zadávací katedra: **Katedra biologických disciplin**

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

Cílem práce je prověřit u slepé tetry jeskynní citlivost k magnetickému poli jako možnému zdroji informací pro orientaci v prostoru a čase.

- 1) Vypracovat rešerši na téma orientace a navigace u slepých ryb
- 2) Seznámit se s metodikou vytvoření umělého magnetického pole a měření magnetického pole Země
- 3) V "Plus-labyrintu" za přirozeného geomagnetického pole otestovat preferenci ramen orientovaných na sever, jih, západ a východ.
- 4) V "Plus-labyrintu" za o 90° otočeného magnetického pole otestovat preferenci ramen orientovaných na sever, jih, západ a východ.

Rozsah grafických prací: dle potřeby
Rozsah pracovní zprávy: 50
Forma zpracování diplomové práce: tištěná/elektronická
Seznam odborné literatury:

Beale, A. et al. 2013: Circadian rhythms in Mexican blind cavefish *Astyanax mexicanus* in the lab and in the field. *Nat. Commun.* 4:2769. doi: 10.1038/ncomms3769.


Moran D, Softley R, Warrant EJ 2014: Eyeless Mexican Cavefish Save Energy by Eliminating the Circadian Rhythm in Metabolism. *PLoS ONE* 9(9): e107877. doi:10.1371/journal.pone.0107877

Osipova EA, Pavlova VV, Nepomnyashchikh VA, Krylov VV 2016: Influence of magnetic field on zebrafish activity and orientation in a plus maze. *Behavioural Processes* 122: 80-86.


Vedoucí diplomové práce: prof. RNDr. František Sedláček, CSc.
Katedra zoologie

Datum zadání diplomové práce: 22. března 2018

Termín odevzdání diplomové práce: 15. dubna 2018


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

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentská 1898, 370 05 České Budějovice


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

V Českých Budějovicích dne 22. března 2018

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

V Českých Budějovicích dne

.....

Bc. Patrik Janda

Poděkování

Rád bych poděkoval prof. Františku Sedláčkovi za veškerou pomoc a cenné rady při psaní této práce, za pomoc při zpracování výsledků, za jeho ochotu, pochopení a především za čas, který se mnou strávil. V neposlední řadě chci poděkovat také své rodině, která za mnou vždy stála a ve všech situacích mě podpořila.

Abstrakt

Tato práce je zaměřena na zjištění vnímání magnetického pole u jeskynního druhu ryby - tetry jeskynní (*Astyanax mexicanus*). Experimenty byly prováděny v křížovém labyrintu, kde byla sledována preference směrů v jednotlivých ramenech tohoto labyrintu, jak v přirozeném magnetickém poli Země, tak v pozměněném, otočením severo-jihní osy o 90° pomocí magnetů. Byly také sledovány reakce jedinců na umístění silného magnetu těsně za konec západního a později i východního ramene křížového labyrintu. Bylo průkazně zjištěno, že tetry jeskynní preferují severo-jihní osu. Po otočení magnetického pole o 90° však neproběhla u jedinců preference nové severo-jihní osy, jak jsme očekávali.

Ačkoliv některé zde provedené testy ukazují na vnímavost magnetického pole tetrami jeskynními a jejich preferenci severo-jihní osy, jiné testy ale formulované hypotézy vyvracejí. Měly by proto být stanoveny jiné nové hypotézy k vnímavosti magnetického pole, aby nemohly být vyvráceny ani v jednom případě. Tato práce tak posloužila jako odrazový můstek pro další bádání v oblasti magnetorecepce u jeskynních druhů ryb.

Klíčová slova: tetra jeskynní (*Astyanax mexicanus*), křížový (plusový labyrint), magnetorecepce

Abstract

This thesis deals with the detection of magnetic field perception of cavefishes – the Mexican tetra (*Astyanax mexicanus*). The experiments were carried out in a plus-shaped maze where the direction preference in the individual arms of this maze was studied both in the natural Earth's magnetic field and in the modified one by using magnets and turning the north-south axis by 90°. The reactions of the specimen on placing a strong magnet close behind the end of the western and later also the eastern arm of the plus-shaped maze were also monitored. It was conclusively found that the Mexican tetra prefer north-south axis. However, after turning the magnetic field by 90° there was no preference of the specimen for the new north-south axis as we expected.

Although some of the tests performed here show the perceptiveness of magnetic field of the Mexican tetra and their preference for the north-south axis, other tests disprove the formulated hypothesis. That is why other new hypotheses about the perceptiveness of the magnetic field should be created so that they could not be disproved in either case. This thesis has served as a stepping stone for further research in the field of magnetoreception of cavefishes.

Keywords: the Mexican tetra (*Astyanax mexicanus*), plus-shaped maze, magnetoreception

Obsah

1. Úvod	9
2. Troglobionti mezi rybami	10
3. Ekologie smyslového vnímání ryb – temné prostředí	11
3.1 Fotorecepce.....	11
3.2 Mechanorecepce	12
3.2.1 Postranní čára.....	12
3.2.2 Vnitřní ucho	13
3.3 Chemorecepce.....	14
3.4 Elektorecepce	14
3.5 Magnetorecepce	15
3.5.1 Magnetické pole Země	15
3.5.2 Struktura geomagnetického pole	15
3.5.3 Geomagnetické pole jako zdroj informací	15
3.5.4 Vnímání magnetického pole – magnetorecepce	16
3.5.5 Orientace v geomagnetickém poli	17
3.5.6 Mechanismy magnetorecepce	18
3.5.6 Cíle práce	21
4. Materiál a metodika	22
5. Výsledky	29
6. Diskuse	45
7. Závěr	50
8. Literatura	51

1. Úvod

Existuje mnoho nejrůznějších mechanismů, pomocí kterých se ryby dokáží orientovat v prostoru. Ryby žijící v povrchových vodách využívají především vizuální mechanismy. Jeskynní druhy byly nuceny se adaptovat na temné biotopy, ve kterých nemohou světelné záření využívat. U těchto ryb tak došlo k zesílení nevizuálních mechanismů nebo k vytvoření nových. Díky nim se dokázaly v prostoru orientovat, a které jim tak zajistily přežití v těchto extrémních podmínkách.

Jeden z mechanismů orientace jeskynních druhů ryb by mohl být založen na magnetoreceptci – vnímání magnetického pole Země. Je známo, že nejrůznější živočichové využívají k orientaci své vlastní vnitřní senzory a kompas, které jim poskytují informace o geografické poloze nebo alespoň orientační vodítko při směřování k určitému cíli. Magnetorecepce by tak mohla být jedním z mechanismů, pomocí kterého se jeskynní ryby mohou orientovat v prostoru. Navíc by mohly díky kolísání intenzity magnetického pole během dne a noci orientovat se také v čase.

Nejjednodušší směrovou reakcí na geomagnetické pole, na kterou mohou ryby reagovat, je magnetický alignment neboli poziční chování. Od magnetického kompasu živočichů se liší tím, že je to spontánní, fixní směrová odpověď. Při této reakci mají živočichové tendenci orientovat své tělo podél nebo někdy i kolmo ke geomagnetické ose. Většina studií týkajících se magnetického alignmentu ukazuje, že i když živočichové odpočívají, spí nebo loví, jsou schopni vnímat magnetické pole a mají tendenci orientovat svá těla paralelně se severo-jihní geomagnetickou osou. Toto chování bylo zjištěno např. u kapra obecného (*Cyprinus carpio*) v kádích při vánočním prodeji (Hart et al., 2012).

Pro pochopení pohybu a chování jeskynních druhů ryb byla vypracována následující teoretická část zabývající se základními mechanismy pro orientaci v prostoru s důrazem na magnetoreceptci, které se tato práce týká především. Je nutné zde uvést stěžejní publikované poznatky o těchto mechanismech, aby bylo zřejmé, jaké informace a jakým způsobem je ryby dokáží k orientaci využívat.

2. Troglobionti mezi rybami

U mnoha skupin obratlovců i bezobratlých se vyskytují druhy, které žijí trvale v naprosté tmě. Je tomu tak i u ryb. Celkově se živočichové žijící v trvalé tmě označují jako troglobionti. Mezi ně patří i tetra jeskynní (*Astyanax mexicanus jordanii*) – také označovaná jako tetra slepá (Keene et al., 2015). Po celém světě je známo 107 typických troglobiontních ryb. Z tohoto celkového počtu se z cca poloviny jedná o ryby z řádu máloostní (Cipriniformes) a z cca jedné čtvrtiny o ryby z řádu sumci (Siluriformes). Troglobionti se vyskytují převážně v jihovýchodní Asii a ve střední a jižní Americe, kde nalezneme 75% doposud objevených druhů. V Číně žije několik druhově bohatých rodů. Jedná se především o rody *Sinocyclocheilus* a *Triplophysa* (Yahui, 2006).

Troglobiontní ryby se musely daným podmínkám značně přizpůsobit. Vzhledem k tomu, že do míst kde tyto ryby žijí, nedopadá žádné sluneční záření, stal se zrak nepotřebným. Došlo tudíž k redukci očí, ale tyto živočichové si vyvinuli nové mechanismy nebo došlo k zesílení jiných stávajících na úkor zraku. Poskytují orientaci a zajišťují těmto živočichům přežití v podmínkách naprosté tmy. Pro tyto druhy je také typická ztráta pigmentace (Keene et al., 2015).

Jedním z nejvíce prozkoumaných druhů z uvedeného prostředí je tetra jeskynní (*Astyanax mexicanus*). Tetra jeskynní je nevidomou jeskynní formou tetry pruhované mexické (*Astyanax fasciatus mexicanus*). Zajímavostí je, že potěr má pouhým okem rozpoznatelné černé oči. Růst oční koule však přestává ve velikosti přibližně 0,2 mm. Oči zůstávají na spodu zvětšující se očnice a postupně jsou překrývány tukovým polštářkem. Z bělimy se následně tvoří chrupavčitá schránka, která pevně uzavírá celé oko (Keene et al., 2015).

Astyanax mexicanus obývá krasové a vápencové jeskyně se značně tvrdou vodou a vysokou alkalitou (vysokým pH). Hlavními oblastmi, kde se tato slepá forma vyskytuje, jsou pohoří Sierra de El Abra, Sierra de Guatemala, region Micos a údolí ležící mezi těmito vápencovými hřebeny ve státech Tamaulipas a San Luis Potosí (Culver et al., 2009; Keene et al., 2015).

Dnes je známo mnoho forem tetry jeskynní (*Astyanax mexicanus*) s různým stupněm specializace na podzemní či jeskynní prostředí. Lze u nich nalézt odlišné morfologické změny, jako jsou např. různé stupně redukce zraku jako hlavního orgánu pro optickou orientaci. Výzkumy naznačují, že předchůdci těchto populací se do jeskynní museli dostat dříve, než došlo k izolaci jeskynních prostor. V důsledku

této izolace v extrémních podmínkách došlo k postupnému vzniku morfologických a fyziologických adaptací. V některých jeskynních systémech však docházelo k tomu, že izolace byla narušena a populace získaly opět přístup k vnějšímu prostředí. Tímto způsobem tak došlo ke vzniku mnoha populací s rozdílnými mozaikami morfologických a fyziologických adaptací (Mitchell et al., 1997).

3. Ekologie smyslového vnímání ryb – temné prostředí

Živočichové mají nejrůznější morfologické a fyziologické adaptace. U některých z nich probíhala evoluční změna podstatně rychleji v důsledku extrémních prostředí, ve kterých žijí. Selekcční tlak v takových prostředích pracuje nekompromisně a „rozpozná“ sebemenší výhodu (Gould, 1972).

Jeskynní druhy ryb reprezentují živočichy, kteří se dostali pod silný selekcční tlak. Po osídlení prostředí, kde je naprostá tma, museli jedinci a s nimi celé populace řešit mnoho problémů, jako jsou např. lovení potravy nebo orientace v temných prostorech atd. Kvůli přežití muselo dojít k vyvinutí nových nebo zesílení stávajících sensorických modalit založených na nevizuálním vnímání (Poulson et al., 1969; Culver, 1982; Culver et al., 2009; Soares et al., 2013).

Senzorické systémy poskytují rybám informace o prostředí kolem sebe. Mohou tak reagovat na měnící se podmínky. Tyto informace musí být nejdříve zachyceny receptory, které pak následně převádějí zachycenou mechanickou, termální, chemickou nebo radiační energii na nervové impulzy vedoucí aferentně do centrální nervové soustavy (Dvořák et al., 2014). U ryb lze rozlišit několik sensorických systémů. Ryby využívají k orientaci fotorecepci, mechanorecepci, chemorecepci a elektrorecepci. Některé druhy i magnetorecepci (Helfman et al., 2009).

3.1 Fotorecepce

Pro orientaci ryb žijících v trvalé tmě není tento systém získávání informací o okolním prostředí až tak důležitý. Nicméně zrak je bezpochyby jedním z nejdůležitějších smyslů, díky kterému se většina živočichů včetně většiny druhů ryb dokáže orientovat a vnímat prostředí kolem sebe (Helfman et al., 2009).

Zrakový systém slouží k přijímání světelných informací ze svého okolí, transportu do primárních a nadřazených center a následnému vytvoření zrakového vjemu. Vlastní oko je tvořeno oční koulí se světločivnými buňkami a optickým

akomodačním aparátem. Oči mají ryby umístěny po stranách hlavy, takže vytvářejí binokulární zorné pole, které je dosti široké. Mnoho druhů ryb navíc může nezávisle pohybovat očima, čímž se jejich zorné pole ještě zvětšuje (Dvořák et al., 2014).

Velikost oka je ovlivněna způsobem života a typem potravní specializace. Obecně platí, že čím větší má ryba oči, tím lepší má zrak, nicméně najdou se i výjimky. Ryby s převážně denní aktivitou mají oči velké, protože potravu registrují převážně vizuálně. Druhy s noční aktivitou se v temných prostředích orientují převážně jinými smysly než zrakem. Pro tyto druhy není tedy zrak až tak důležitý, proto mají tyto druhy oči malé. U druhů žijících v trvalé tmě došlo k úplné redukci očí (Dvořák et al., 2014).

Ryby dobře rozlišují tvary předmětů. Jsou schopny dobře registrovat pohyb a spolehlivě rozeznávat barvy. Vidí i část infračerveného a ultrafialového spektra a dokonce jsou schopny vidět i odstíny jedné barvy. Kvalita zraku je však druhově specifická (Dvořák et al., 2014).

3.2 Mechanorecepce

Ve vodním prostředí jsou ryby vystaveny nejrůznějším fyzikálním vlivům, jako jsou např. změna teploty, tlaku a také mechanickým podnětům. Tyto signály jsou přijímány pomocí receptorů v kůži (Helfman et al., 2009). U ryb jsou těmito receptory zejména volná dostředivá nervová vlákna (dendrity), jejichž senzitivní jádra jsou umístěna na dorsálních kořenech spinálních nervů (Dvořák et al., 2014).

U ryb nalezneme ještě přímo hmatové kožní receptory reagující na dotyk a registrující především tvrdá tělesa. Ty jsou umístěny zejména na vousech, pyscích a v ústní dutině (Dvořák et al., 2014). Kromě toho ryby mají ještě dva specializované mechanosenzorické systémy. Jedním z nich je postranní čára a druhým je vnitřní ucho (Helfman et al., 2009).

3.2.1 Postranní čára

Postranní čára je smyslový orgán, který umožňuje rybám vnímat proudění a vlnění vody způsobené pohybem jiných objektů a překážkami. Lze ho nalézt mimo ryb také u larválních stádií obojživelníků. Pomocí postranní čáry jsou schopny registrovat zejména nízkofrekvenční vlny do 25 Hz s výjimkou několika druhů, které dokáží vnímat postranní čárou frekvenci až do 200 Hz (Montgomery et al., 2013).

Anatomicky je postranní čára složena z mnoha smyslových buněk nazývaných neuromasty. Ty jsou uloženy volně v kůži (např. u rodu *Misgurnus*) nebo ve zvláštním kanálku (*canalis lateralis*), který je umístěn na bocích ryb od hlavy až k ocasu. Kanálek postranní čáry je vyplněn řídkým slizem. Při změnách tlaku a chvění vody je pohyb slizu v kanálku citlivě registrován neuromasty, které jsou nahloučeny na dně kanálku a jsou inervovány bloudivým nervem (Dvořák et al., 2014).

Zajímavostí může být, že jeskynní formy rodu *Astyanax* mají mnohem více neuromastů než jiní zástupci tohoto rodu žijící v povrchových vodách (Sharma et al., 2009). Mají také oproti druhům žijícím v povrchových vodách větší neuromasty na povrchu těla s delšími kupolemi, které umožňují detekci kořisti na delší vzdálenost (Patton et al., 2010). U jeskynních forem se navíc vyvinulo adaptivní chování, které zvyšuje mechanosenzorickou citlivost postranní čáry (Sharma et al., 2009). Rod *Astyanax* využívá zvláštního plaveckého stylu, tzv. kick-and-glide. Díky tomuto stylu si jedinec vytváří poměrně stabilní signál dipólového průtoku a dokáže si tak vykreslit blízké překážky (Patton et al., 2010).

3.2.2 Vnitřní ucho

Je známo, že ve vodním prostředí se šíří zvuk lépe než ve vzduchu. Vodní živočichové tak mohou slyšet na větší vzdálenosti než živočichové žijící mimo vodní prostředí. Statoakustické ústrojí je u ryb tvořeno jednoduchým párovým orgánem tzv. blanitým labyrintem, který je prakticky redukován na vnitřní ucho. Rybám slouží tento orgán k udržování rovnováhy, určování polohy těla ve vodním prostředí a k registraci zvukových vln. Blanitý labyrint je během embryonálního vývoje spojen s vnějším prostředím. Je tvořen dvěma vzájemně propojenými částmi – *pars superior* (horní) a *pars inferior* (dolní), které jsou vyplněny endolymfou. Pohyb endolymfy při pohybu ryby registrují smyslové útvary ve výdutí kanálku. Během pohybu se také mění poloha a tlak statolitů na smyslové buňky. Citlivost zvukového orgánu je u různých druhů různá (Rogers et al., 2008). Pomocí vnitřního ucha jsou ryby schopny vnímat vlny v kmitočtovém rozsahu 16 -13 000 Hz (Dvořák et al., 2014).

Astyanax mexicanus stejně jako mnoho jiných druhů ryb (nadřád Ostariophysi) má vyvinutý tzv. Weberův aparát. Ten spojuje sluchové ústrojí s plynovým měchýřem. Plynový měchýř má pak funkci rezonátoru a vibrace jsou tak jeho prostřednictvím přenášeny až do vnitřního ucha - až 7 000 Hz

(Popper, 1971; Nakatani et al., 2011). Bylo zjištěno, že sluch jeskynních druhů ryb a těch žijících v povrchových vodách se nijak výrazně neliší, nicméně lze pozorovat mezi jeskynními druhy ryb a těmi žijícími v povrchových vodách mírně odlišnou morfolgickou stavbu Weberova aparátu (Popper, 1971).

3.3 Chemorecepce

Chemorecepce neboli vnímání čichových a chuťových podnětů hraje důležitou roli v mnoha aspektech života jeskynních ryb, jako jsou např. detekce omezených zdrojů potravy, únik před predátory, ale i pro samotnou orientaci (vycítí umístění dalších jedinců kolem sebe). Signály z chemoreceptorů jsou zpracovávány ve velké části v koncovém mozku. Jeskynní ryby rodu *Astyanax* vykazují zvětšení této části mozku o 40% oproti podobným druhům žijícím na povrchu (Peters et al., 1993). U tohoto rodu bylo navíc zjištěno, že vnímá chuť mnohem výrazněji než jeho příbuzní, žijící v povrchových vodách (Schemmel, 1967; Menuet et al., 2007; Bibliowicz et al., 2013). Je to díky zvýšenému počtu chuťových pohárků a to až sedminásobně. Chuťové pohárky obsahují mnohem více receptorových buněk, jsou inervovány více axony a mají zvýšenou rychlost vývoje (Wilkens et al., 2003; Varatharasan et al., 2009; Yamamoto et al., 2009).

U jeskynní ryby *Phreatichthys andruzzii* výzkumy ukázaly, že může rozlišovat různé prostorové oblasti prostřednictvím vnímání endogenních a exogenních zápachů. Rozpoznání vlastního zápachu od ostatních chemických podnětů v prostředí jsou pravděpodobně adaptací na život v jeskyních. Jeskynní druhy minimalizují riziko opětovného zkoumání již zkoumaného prostředí. Mohou tak investovat více času a energie do jiných činností a oblastí (Ceccolini et al., 2010).

3.4 Elektorecepce

Dalším mechanismem pro orientaci ryb v prostoru je elektorecepce. Pomocí elektorecepce jsou ryby schopny detekovat slabá elektrická pole, která se vyskytují v jejich okolí. Schopnost detekovat objekty vyskytující se kolem ryby se nazývá elektrolokace. Ta může být pasivní nebo aktivní. Při aktivní elektrolokaci si ryba sama produkuje elektrické pole. Elektorecepce může být navíc také využita k vnitrodruhové komunikaci a lze podle ní tak i rozlišit jednotlivé jedince (Helfman et al., 2009).

Elektorecepce bývá součástí tzv. systému postranní čáry, který je složen z mechanorecepční a elektorecepční části. Elektoreceptory mají s receptory

mechanorecepce (neuromasty) mnoho společných vlastností a rysů. Dokonce jsou oba typy receptorů vyvinuty ze společného základu ektodermálních plakod, které následně migrují do příslušných míst po těle ryb (Smith, 2004). Citlivost elektroreceptorů je druhově specifická. Elektrosenzitivita se pohybuje v rozpětí několika nanovoltů až po několik mikrovoltů na centimetr (Helfman et al., 2009).

3.5 Magnetorecepce

3.5.1 Magnetické pole Země

K pochopení vnímání magnetického pole živočichy je nutné si nejprve uvést, jaký typ informace může geomagnetické pole poskytnout, než může být tato informace následně živočichy použita k orientaci v prostoru.

3.5.2 Struktura geomagnetického pole

Elektricky nabitě částice pohybující se v tekutém vnějším jádru Země generují magnetické pole. Zemi si tak můžeme představit jako cívku, ve které pohybující se nabitě částice vytvářejí magnetické pole. Vzniklé siločáry vystupují z jižního magnetického pólu Země kolmo k zemskému povrchu. Tyto siločáry opět vstupují do Země na severním magnetickém pólu (Johnsen et al., 2005).

Z dlouhodobých výzkumů vyplývá, že severní magnetický pól Země se přesouvá blíže k severu, přičemž se jeho pohyb odklání na západ. S touto změnou polohy pólů souvisí také změna intenzity magnetického pole Země. Za posledních 100 let se severní magnetický pól Země přesunul přibližně o 1100 km a intenzita geomagnetického pole poklesla téměř o 10%. V důsledku těchto přesunů dochází až k přepólování zemského magnetického pole tedy k záměně severního a jižního magnetického pólu Země. Předpokládá se, že k přepólování dochází přibližně jednou za 700 tisíc let. Tyto změny jsou však tak pozvolné, že pravděpodobně nemají na magnetorepceci vliv (Johnsen et al., 2005).

3.5.3 Geomagnetické pole jako zdroj informací

Geomagnetické pole má oproti ostatním směrovým vodítkům výhodu, že je ho možné zachytit na kterémkoliv místě. Informaci o směru nebo poloze tedy poskytuje neustále (Wiltschko et al., 2006).

Jsou rozlišovány dva typy informací. První informací, kterou může geomagnetické pole poskytnout, je směr, který je odvozován od magnetického

vektoru. Tuto informaci mohou živočichové použít jako magnetický kompas. Další, kterou může magnetické pole Země poskytnout, je změna celkové intenzity a úhel inklinace, které popisují gradienty mezi magnetickými póly a magnetickým rovníkem. Dají se označit za poziční informaci o magnetických podmínkách určité oblasti na Zemi nebo dokonce za celou navigační mapu. Je možné, že pro každý z uvedených typů informací mají živočichové dva samostatné magnetosenzorické systémy. Každý z nich by mohl být založen na receptorech s různými biofyzikálními mechanismy (Johnsen et al., 2005).

Geomagnetické pole může být lokálně deformováno geologickými anomáliemi, tedy přítomností hornin s různě velkým obsahem magnetizovaných hornin v zemské kůře. Tyto anomálie se projevují zejména změnami intenzity pole. V místech, kde se takovéto anomálie vyskytují, může docházet k dezorientaci živočichů. Magnetické anomálie však mohou přispět i k určení polohy nebo směru pohybu. Živočichové jsou schopni si tato místa zapamatovat a mohou je tak využívat k orientaci (Johnsen et al., 2005).

Důsledkem procesů uvnitř Země, na Slunci nebo poruch v atmosféře, ale i při střídání dne a noci, dochází ke změnám parametrů geomagnetického pole. To může mít na orientaci živočichů také podstatný vliv. Např. v noci je geomagnetické pole více stabilní, než je tomu během dne, kdy se vyskytují časté výkyvy (Phillips et al., 1997).

Pravidelné kolísání intenzity magnetického pole Země mezi dnem a nocí by mohlo zprostředkovávat živočichům žijícím v trvalé tmě informaci o čase. Takovýto časový podnět by mohl hrát roli v synchronizaci cirkadiánních rytmů. K detekci této informace by mohl být využit stejný smyslový aparát, který detekuje prostorové změny (Phillips et al., 1997).

3.5.4 Vnímání magnetického pole – magnetorecepce

Nejdříve je nutno si definovat, co to magnetorecepce je. Jedná se o schopnost živočichů využívat informace, které poskytuje magnetické pole Země. Parametry magnetického pole jsou vnímány receptory, které je převádějí na frekvence akčních potenciálů (elektrický signál). Ty jsou vedeny dostředivými drahami do centrální nervové soustavy, kde jsou následně interpretovány (Johnsen et al., 2005).

Receptory na vnímání magnetického pole u živočichů zajišťují tzv. magnetoreceptory. Magnetické pole prostupuje zcela volně přes biologické

tkáně. Magnetoreceptor nemusí mít přímý přístup k vnějšímu prostředí, ale může být umístěn kdekoli v těle živočicha (Johnsen et al., 2005).

Magnetoreceptory mohou být drobné a nacházet se v celé řadě tkání (Johnsen et al., 2005). Informace o magnetickém poli může být také přenesena řadou chemických reakcí (Ritz et al., 2000). Nemusí existovat žádný specializovaný orgán nebo struktura s funkcí magnetorecepce. Většina výzkumů týkající se magnetorecepce byla zaměřena spíše na behaviorální hledisko. V poslední době je možno zaznamenat enormní nárůst studií biochemických, neurobiologických či genetických (Gegear et al., 2010). Jako modelové organismy při nich slouží živočichové s jednodušším behaviorálním projevem. Např. některé druhy hmyzu (Johnsen et al., 2005; Gegear et al., 2010) nebo ryb, jako je danio pruhované (*Danio rerio*) (Johnsen et al., 2005, Osipova et al., 2016).

Více druhů obratlovců, včetně ryb, se orientuje pomocí magnetického pole Země. Žádné studie však zatím neprokázaly, že také jeskynní druhy ryb se mohou orientovat podle magnetického pole. U evropských vodních mloků žijících v jeskyních již tato schopnost prokázána byla. Není tedy vyloučené, že u některých jeskynních druhů ryb se v budoucnu prokáže stejná schopnost (Půžová, 2007).

3.5.5 Orientace v geomagnetickém poli

Magnetickou kompasovou orientaci lze nalézt u mnoha živočichů. Díky magnetickému kompasu dokáže řada živočichů určit směr. Je využívána několika skupinami bezobratlých, především měkkýši, korýši, hmyzem, ale také mnoha druhy obratlovců, především ji lze nalézt u ptáků (Wiltschko et al., 2006). Orientace je fylogeneticky velice rozšířena a je též nejlépe zdokumentovaným případem využití geomagnetického pole v prostorové orientaci živočichů (Phillips et al., 1997).

Na základě chování byly u živočichů popsány dva typy magnetického kompasu. Prvním je tzv. polaritní kompas, který funguje na podobném principu jako klasický technický kompas. Z polarity horizontální složky pole rozpozná živočich sever. Stanovením úhlu mezi směrem jeho trasy a severo-j jižní magnetickou osou dokáže živočicha navést na cíl. Tento typ byl zjištěn např. u lososů. Druhým typem je tzv. inklinanční kompas. Polaritu odvozuje z inklinace. Není tak schopen určit ji přímo. Pomocí tohoto typu kompasu dokáže živočich určit, kde je inklinace nejvyšší (směrem k zemskému pólu), a kde je inklinace nulová (rovník). Živočich rozliší severo-j jižní směr osy, ale její polaritu odvozuje ze znaménka inklinace, tedy sklonu celkového vektoru k zemi. Tento typ kompasu byl zjištěn u všech dosud

zkoumaných druhů ptáků a mořských želv. Zajímavostí je, že některé druhy čolků využívají oba dva typy kompasů (Johnsen et al., 2005).

Důležité je, že magnetorecepční systém ptáků je nastaven na celkovou intenzitu okolního pole. Posun intenzity o 20-30% vede k dezorientaci. Bylo zjištěno, že se ptáci na posun dokáží adaptovat, pokud jsou těmito vyšším nebo nižším intenzitám vystaveni během delší doby. Není vyloučeno, že by tento mechanismus mohl fungovat podobně i u ryb (Wiltschko et al., 2006).

3.5.6 Mechanismy magnetorecepce

Existují dva typy kompasů – polaritní a inkliniční. Jim také odpovídají rozdílné mechanismy magnetorecepce - na světle závislé a na světle nezávislé (Johnsen et al., 2005).

3.5.6.1 Na světle závislé mechanismy

Na světle závislé mechanismy se od těch nezávislých liší v tom, že vyžadují přítomnost světla jako zdroje energie. Tyto mechanismy mohou být ovlivněny intenzitou nebo vlnovou délkou světla. Jeden z těchto mechanismů vysvětluje teorie radikálových párů. Tento model zprostředkovává nejspíše směrovou informaci. Mohl by tak být využíván živočichy, kteří podnikají dlouhé migrační cesty (Mouritsen et al., 2005; Wiltschko et al., 2005).

Teorie radikálových párů je postavena na představě, že chemické magnetoreceptory by mohly být zároveň fotoreceptory. Funkci magnetoreceptorů by mohly vykonávat pigmenty rodopsin a kryptochromy v tyčinkách v sítnici a/nebo pineální žláze. Radikálové páry vznikají nejčastěji u organismů ve specializovaných ftopigmentech reagujících na světlo, jako je např. retinal. Ten po absorpci světla podstupuje konformační změnu a spouští reakční kaskádu, která je základem fotorecepce. Akceptorová i donorová molekula radikálového páru se vyskytuje obvykle v tzv. singletovém stavu. Tento se však může samovolně přeměňovat na tzv. tripletový stav. Vnitřní interakce a vnější magnetické pole mohou měnit jejich dynamiku a přesouvat rovnováhu reakce ve prospěch singletových nebo tripletových produktů. Síla magnetického pole je schopna zvýšit množství tripletových produktů až o 25 %. Vznik těchto produktů závisí na prostorovém uspořádání makromolekul vůči magnetickému poli. Takto by mohlo docházet k přenosu informace o magnetickém směru (Ritz et al., 2000).

Při behaviorálních testech bylo pozorováno, že testovaní živočichové s inklináčním kompasem nereagovali na změnu polarity, ani na malou změnu v magnetické intenzitě (< 10% geomagnetického pole). Předpokládá se, že právě tyto reakce by mohly odpovídat uvedenému mechanismu „chemického kompasu“ (viz např. Půžová, 2007).

3.5.6.2 Na světle nezávislé mechanismy

Mezi nejvíce diskutovanými mechanismy nezávislými na světle se objevují elektromagnetická indukce a točivý moment magnetitu. Právě tyto magnetorecepční mechanismy umožňují živočichům vnímat magnetické parametry v noci nebo v prostředích, kde není žádné světlo, jako je tomu v jeskynních komplexech nebo podzemních norách (viz např. Půžová, 2007).

Elektromagnetická indukce

Elektroreceptory živočichů, např. Lorenziniho ampule u žraloků, mohou zachycovat změny elektromagnetického napětí, které je indukováno jejich pohybem v geomagnetickém poli. Ve vodním prostředí, které si představme jako nehybné vodivé médium, se uplatňují Lorenziniho ampule jako pohybující se vodiče. Indukuje se napětí, které je detekováno těmito elektroreceptory. Tento mechanismus by mohl být základem i kompasového smyslu. Pro využití však musejí být splněny některé podmínky, jako jsou např. poměrně velká citlivost elektroreceptorů nebo výskyt vodivého média, např. mořské vody.

Když se živočich pohybuje v horizontálním směru, tvoří se v Lorenziniho ampulích, které jsou v těle orientovány dorzo ventrálním směrem, napěťový gradient. Velikost gradientu je úměrná rychlosti, kterou se jedinec pohybuje a sinem úhlu mezi směrem pohybu a magnetickým vektorem. Pokud plave živočich v severo-j jižním směru, indukované napětí je nulové. Ve směru západ – východ je indukované napětí maximální (Půžová, 2007).

V tomto modelu lze ale najít několik slabín. Jedinec například vnímá stejné receptorové napětí v severovýchodním i v jihovýchodním směru. Živočich by mohl řešit tento problém tím, že se odchýlí od směru, kterým se pohyboval, a porovná změnu orientace s aktuální změnou receptorového napětí. Další slabinou, kterou v tomto modelu můžeme nalézt, je hybnost vody v přírodních podmínkách. Ta není v přírodních podmínkách pro živočichy, kteří se v ní pohybují, nehybná. Můžeme si

také uvést příklad s mořskými proudy, které jsou také vodiči pohybujícími se v magnetickém poli Země a vytvářejícími tak elektrická pole. Živočichové využívající elektromagnetickou indukci k určování směru tedy musí být schopni rozlišit, zda je aktuálně ovlivňuje magnetické pole vytvořené pohybem vody nebo vzniklé jejich vlastním pohybem (Johnsen et al., 2005). Je pochopitelné, že se zatím nenašel přímý důkaz toho, že živočichové využívají elektromagnetické indukce k detekci směru magnetického pole Země (Johnsen et al., 2005).

Magnetitová hypotéza

Tato hypotéza je založena na existenci krystalů magnetitu v tkáních živočichů, které se chovají jako malé magnety a jsou schopny reagovat na okolní magnetické pole. Takovéto receptory by mohly být schopny zachytit velice malé změny v intenzitě pole. Receptory založené na magnetitu plní svoji funkci i v naprosté tmě. Zdá se, že takovýto typ receptoru dokáže rozlišit polaritu magnetického pole a je tedy pravděpodobně i vlastní živočichům s polárním magnetickým kompasem (Wiltschko et al., 2006).

Poprvé byly krystaly magnetitu popsány u bakterií rodů *Aquaspirillum* a *Biolo-phoccus* v 70. letech 20. století (Johnsen et al., 2005). U těchto magnetotaktických bakterií lze nalézt řetězce magnetitových krystalů (magnetozomů). Ty fungují jako magnety a přiklání svůj magnetický moment ke směru indukčních čar okolního geomagnetického pole. S jejich pomocí se bakterie pasivně natáčejí k indukčním čarám. Nezpracovávají tedy vlastní magnetickou informaci, ale využívají přímo magnetickou sílu (Wiltschko et al., 2006). Krystaly magnetitu nebyly objeveny pouze u již zmíněných bakterií. Magnetické krystaly lze nalézt také u některých jednobuněčných řas a u mnoha dalších organismů. Orientují se pomocí magnetického pole Země (Johnsen et al., 2005).

U lososovitých ryb byly objeveny magnetitové krystaly v buňkách čichových lamel (Johnsen et al., 2005). U pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) jsou magnetitové částice v bazální vrstvě mezi čichovými lamelami seřazeny do řetízků o velikosti 1 μm . To je dostatečné pro zajištění interakce s geomagnetickým polem (Wiltschko et al., 2005).

V testech lososovitých ryb na magnetickou orientaci bylo zjištěno, že změna směru magnetického pole nevyvolává u nich žádnou reakci. Buňky, které obsahují magnetitové krystaly, tedy slouží pravděpodobně jako magnetometry, které vnímají

intenzitu magnetického pole. Tato informace vyvolaná mechanickou silou je následně přenesena přes trojklaný nerv do mozku (Mouritsen et al., 2005). U ptáků byly zaznamenány podobné reakce na změny v intenzitách magnetického pole (Wiltschko et al., 2006).

3.5.6 Cíle práce

Z výše naznačených poznatků mimo jiné vyplývá, že prokázání magnetorecepce a potažmo magnetické orientace je vždy spojeno s prověřováním různých metodik a koncepcí, než určitá adekvátní vede k úspěšnému výsledku. Tato práce je první, která se snaží prokázat magnetorepenci u slepých jeskynních ryb. Je koncipována tak, že se snaží vyvrátit či podpořit hypotézy (viz metodika), které byly formulovány na základě dosavadních poznatků či teorií, přičemž byly modifikovány pro behaviorální testy v křížovém labyrintu. Ten je běžným nástrojem v uvedené oblasti bádání.

4. Materiál a metodika

Ryby a podmínky chovu

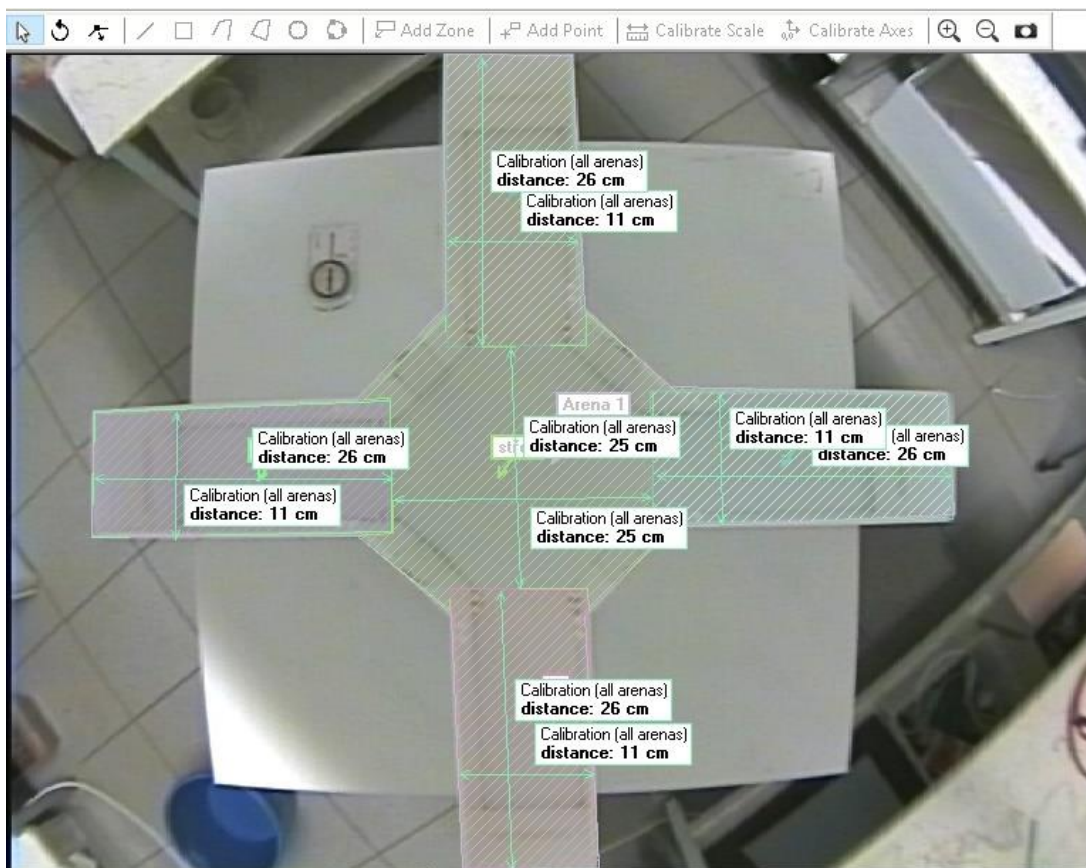
K experimentu byly použity v zajetí odchované tetry jeskynní (*Astyanax mexicanus*), které byly zakoupeny od akvaristy-chovatele Vladimíra Kalaby (Čankovice 51, Hrochův Týnec 538 62, <http://www.kalaba.eu/>). Zakoupeno bylo 35 kusů těchto teter.

K jejich přechovávání jsem měl k dispozici 35 desetilitrových akvárií. V každém desetilitrovém akváriu byl chován jeden jedinec tetry jeskynní. Ryby byly chovány odděleně především z důvodu snadné identifikace jedince, a také proto, aby nedocházelo k unifikaci chování - k ovlivnění chování ryby ostatními jedinci. Do každého akvária byl zaveden vzduchovací kamínek, který byl napojen pomocí vzduchovacích hadiček na vzduchovací pumpu EHAIM air pump 200, která má výkon 50-200 litrů vzduchu za hodinu. Byl to dostatečný přísun vzduchu, aby nedošlo k vyčerpání kyslíku ve vodě. Takto bylo zařízeno všech 35 akvárií. Všechna tato akvária byla umístěna ve stojanech. V chovné místnosti se udržovala teplota 21°C, stejnou teplotu měla tedy i voda, ve které byli chováni. V místnosti byl nastavený dvanáctihodinový světelný režim.

Experimentální část

Ryby byly testovány v křížovém labyrintu umístěném v laboratoři sousedící s chovnou místností. Ke snímání pohybu v křížovém labyrintu byla použita kamera (Panasonic WV-CP500) a program EthoVision XT (Noldus), který dokáže zaznamenávat a vyhodnocovat mnoho nejrůznějších parametrů pohybu najednou. Křížový labyrint byl vodotěsně slepen z mléčného plexiskla, ve kterém, délka jednoho ramene byla 26 cm a šířka ramene byla 11 cm (výška 20 cm) – viz obr. 1. Do labyrintu bylo nalito 10 litrů vody. Toto množství poskytlo dostatečnou hloubku pro pohyb ryb. Každý jedinec byl snímán po dobu 3 minut. Po každém nasnímaném jedinci byla provedena výměna vody. Tato výměna vody byla prováděna z důvodu vyloučení faktoru chemické stopy po předešlém snímaném jedinci (Ceccolini et al., 2010).

Při testech byl každý měřený jedinec vložen do středu křížového labyrintu. Okamžitě po vložení započalo snímání pohybu vložené ryby ve vymezeném prostoru. Aby testy nebyly bezprostředně ovlivněny testem předchozím byly mezi jednotlivé testy vloženy dvoutýdenní klidové intervaly.



Obr. 1: Křížový labyrint použitý k experimentům

Vlastní jednotlivé testy

Ze studií o alignmentu (viz Begall et al. 2008, 2013, atd.) jsme převzali jednu z hlavních myšlenek, podle které zvířata zauímají spontánní výchozí pozici v S-J směru.

V prvním testu jsme ověřovali hypotézu: H_1 : Ryby v novém prostoru začnou průzkum na severojižní ose. Tato hypotéza byla rozpracována do následujících pracovních verzí:

$H_{1,1}$: Ryby začnou průzkum od severo-jížní osy a delší dobu stráví v severo-jížním směru než v západo-východní. Také naplavou delší dráhu v S-J ose než Z-V.

$H_{1,2}$: Z centrálního prostoru vstoupí nejdříve do severního nebo jižního ramene, tedy nejkratší latence vstupu bude u severního nebo jižního ramene.

H_{1.3}: U parametru „mean heading“ budou v S-J ramenech průkazně převládat S-J úhly, zatímco v ramenech Z-V směru nebude zaznamenán převládající směr (vyrovnané směry).

H_{1.4}: U parametru „rotation“, který by měl být výrazem hledání orientačních bodů a polí, se rotace objeví nejdříve (nejkratší latence) v ramenech V-Z.

V prvním testu jsem zjišťoval u tetér jeskynních jejich spontánní preferenci ramen orientovaných na sever, jih, západ a východ v přirozeném geomagnetickém poli (viz obr. 1 a 2a). Před zahájením experimentu jsem změřil intenzitu magnetického pole v každém ramenu používaného labyrintu. V ramenu, které směřovalo na sever, jsem zaznamenal hodnotu 0,120 A/cm, v ramenu směřujícím na jih -0,148 A/cm, v ramenu směřujícím na západ -0,005 A/cm a v ramenu směřujícím na východ -0,027 A/cm. Po naměření těchto parametrů jsem započal se snímáním pohybu ryb.

V druhém testu jsme ryby testovali v modifikovaném magnetickém poli vložení lokálního pole horizontálně otočeného o 90° a ověřovali jsme hypotézu: H₂: Ryby začnou opět průzkum na nové severojižní ose. Tato hypotéza byla rozpracována do následujících pracovních verzí:

H_{2.1}: Začnou od nové lokální severo-jihní osy a delší dobu stráví v novém severo-jihním směru než v západo-východní. Také naplavou delší dráhu v nové S-J ose než v nové Z-V.

H_{2.2}: Z centrálního prostoru vstoupí nejdříve do nového severního nebo jižního ramene, tedy nejkratší latence vstupu bude u nového severního nebo jižního ramene.

H_{2.3}: U parametru „mean heading“ budou v nových S-J ramenech průkazně převládat S-J úhly, zatímco v nových ramenech Z-V směru nebude zaznamenán převládající směr (vyrovnané směry).

H_{2.4}: U parametru „rotation“, který by měl být výrazem hledání orientačních bodů a polí, se rotace objeví nejdříve (nejkratší latence) v nových ramenech V-Z.

Ve druhém experimentu jsem pomocí dvou magnetů otočil magnetické pole v křížovém labyrintu o 90° (viz obr. 2b). Došlo tak k posunutí geografického severu ze severního ramene labyrintu do západního ramene. Stejně tak byl posunut

geografický západ do jižního ramene, geografický jih do východního ramene a geografický východ do severního ramene. Magnety byly natočeny tak, aby intenzita magnetického pole přibližně odpovídala naměřeným hodnotám v jednotlivých ramenech z předešlého experimentu. V ramenu, které směřuje na magnetický sever, jsem naměřil hodnotu 0,128 A/cm, v ramenu s magnetickým jihem hodnotu -0,141 A/cm, v ramenu s magnetickým západem hodnotu -0,008 A/cm a v ramenu s magnetickým východem hodnotu -0,029 A/cm. Po naměření těchto parametrů jsem stejně jako v předešlém experimentu započal třiminutová snímání ryb v labyrintu.

Ve třetím testu byl přiložen těsně za koncovou stěnu západního ramene pevný magnet a byla ověřována hypotéza: H_3 : Podle nejnovější studie (Malewski et al., 2018) by měly ryby tuto anomálii prozkoumávat déle, aby ji mohly využít k následující orientaci. Tato hypotéza byla rozpracována do následujících pracovních verzí:

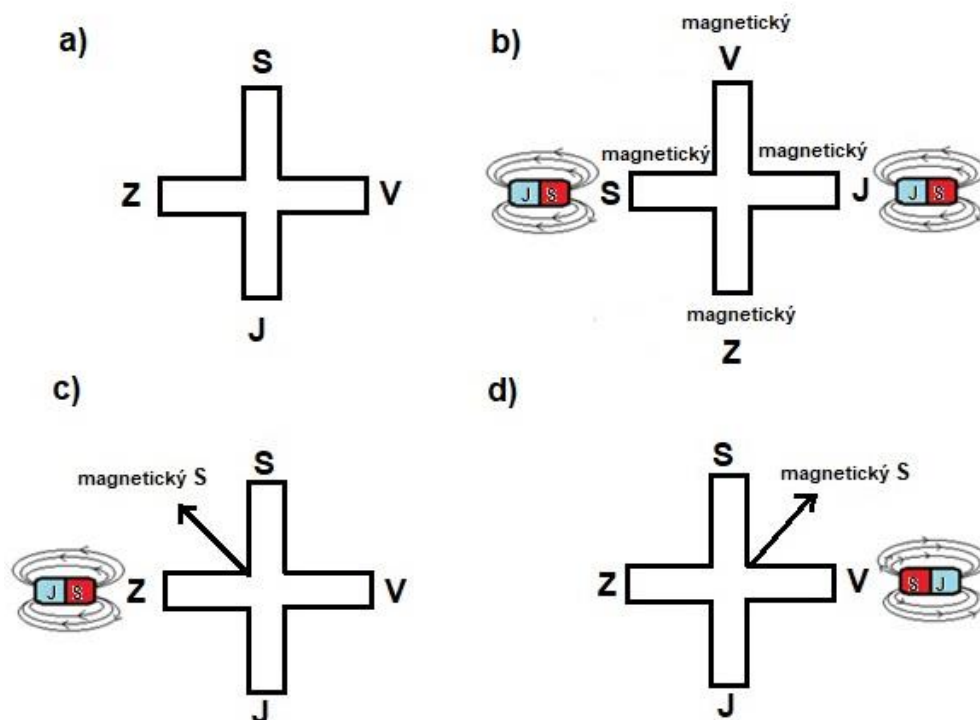
H_{3-1} : V Z ramenu stráví delší dobu a naplavou zde delší dráhu než v ostatních ramenech.

H_{3-2} : Začnou průzkum od Z ramene a z centrálního prostoru vstoupí nejdříve do Z ramene, tedy nejkratší latence vstupu bude u Z ramene.

H_{3-3} : U parametru „mean heading“ bude v Z ramenu nejvýraznější vektor směřovat západně. V ostatních ramenech nebude zaznamenán převládající směr (vyrovnané směry).

H_{3-4} : U parametru „rotation“, který by měl být výrazem hledání orientačních bodů a polí, se rotace objeví dříve (kratší latence) v ostatních ramenech než v západním.

Ve třetím experimentu jsem testoval reakce teter jeskynních na silný magnet umístěný z vnější strany na konci ramene směřujícího ke geografickému západu (viz obr. 2c). Severní část magnetu směřovala dovnitř ramene. Došlo tak ke značnému lokálnímu zesílení intenzity magnetického pole. V ramenu směřujícím ke geografickému severu jsem naměřil intenzitu magnetického pole 0,087 A/cm, v ramenu směřujícím ke geografickému jihu -0,170 A/cm, v ramenu směřujícím ke geografickému západu 0,331 A/cm a v ramenu směřujícím ke geografickému východu -0,215 A/cm. Magnetický sever byl posunut severozápadním směrem o 45°.



Obr. 2: Znázornění geografických a magnetických směrů v jednotlivých ramenech křížového labyrintu v průběhu experimentů.

Ve čtvrtém testu byly zachovány podmínky z prvního testu a byla ověřována hypotéza: H_4 : Ryby se budou pohybovat ve známém prostředí, ve kterém zaniká preference směrů. Tato hypotéza byla rozpracována do následujících pracovních verzí:

$H_{4.1}$: Ryby stráví v severo-j jižním směru stejnou dobu jako ve směru západovýchodním. Také naplavou stejnou dráhu v S-J i v Z-V ose.

$H_{4.2}$: V latenci vstupu nebude mezi jednotlivými rameny žádný rozdíl.

$H_{4.3}$: U parametru „mean heading“ nebude v žádném směru zaznamenán průkazný vektor v určitém směru.

$H_{4.4}$: U parametru „rotation“, který by měl být výrazem hledání orientačních bodů a polí, se neprojeví v ramenech žádné rozdíly.

Ve čtvrtém testu jsem tedy u teter jeskynních zjišťoval jejich spontánní preferenci ramen orientovaných na sever, jih, západ a východ tentokrát za stejných podmínek jako v prvním testu. Bylo možné předpokládat, že pro ryby to bude ve

známém přirozeném geomagnetickém poli (viz obr. 1 a 2a). Před zahájením experimentu jsem změřil intenzitu magnetického pole v každém ramenu používaného labyrintu. V ramenu, které směřovalo na sever, jsem zaznamenal hodnotu 0,120 A/cm, v ramenu směřujícím na jih -0,148 A/cm, v ramenu směřujícím na západ -0,005 A/cm a v ramenu směřujícím na východ -0,027 A/cm. Po naměření těchto parametrů jsem započal se snímáním pohybu ryb.

V pátém testu byl přiložen těsně za koncovou stěnu východního ramene pevný magnet a byla ověřována hypotéza: H₅: Podle nejnovější studie (Malewski et al. 2018) by měly ryby tuto anomálii prozkoumávat déle, aby ji mohly využít k následující orientaci. Tato hypotéza byla rozpracována do následujících pracovních verzí:

H₅₋₁: Ve východním ramenu stráví delší dobu a naplavou zde delší dráhu než v ostatních ramenech.

H₅₋₂: Začnou průzkum od východního ramene a z centrálního prostoru vstoupí nejdříve do východního ramene, tedy nejkratší latence vstupu bude do východního ramene.

H₅₋₃: U parametru „mean heading“ bude ve východním ramenu nejvýraznější vektor směřovat východně. V ostatních ramenech nebude zaznamenán převládající směr (vyrovnané směry).

H₅₋₄: U parametru „rotation“, který by měl být výrazem hledání orientačních bodů a polí, se rotace objeví dříve (kratší latence) v ostatních ramenech než ve východním.

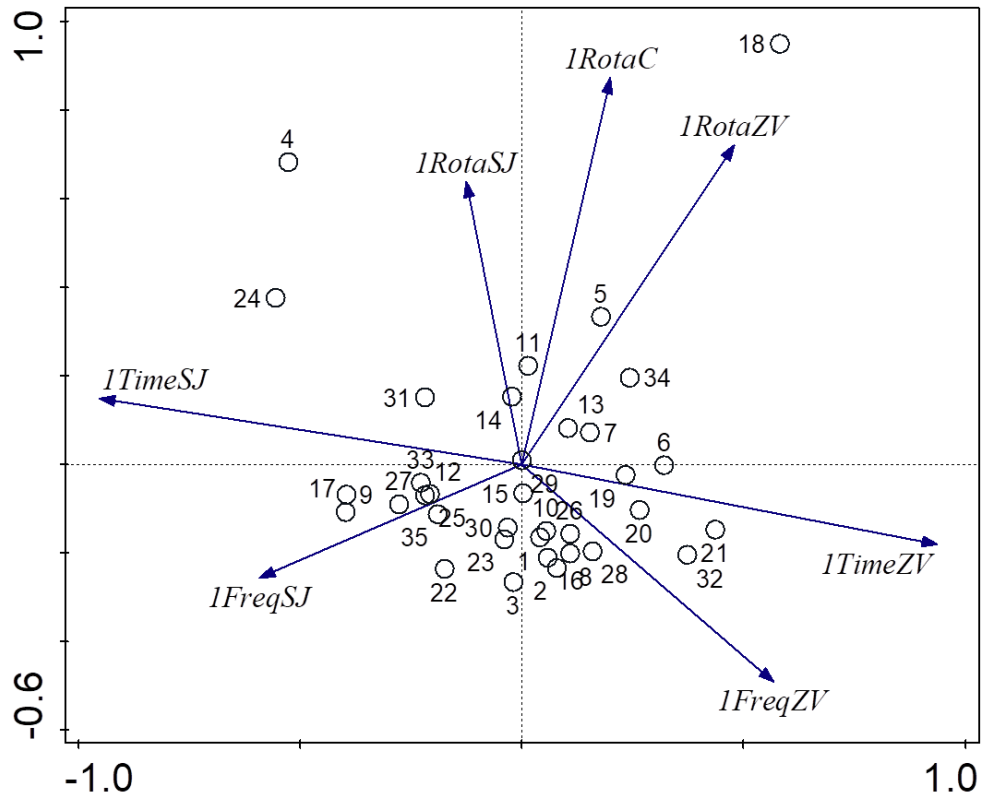
V pátém testu jsem silný tyčový magnet umístil z vnější strany na konec ramene směřujícího ke geografickému východu (viz obr. 2d). Severní část magnetu opět směřovala dovnitř ramene. Za těchto podmínek byla naměřena intenzita magnetického pole v ramenu směřujícím ke geografickému severu 0,065 A/cm, v ramenu směřujícím ke geografickému jihu -0,171 A/cm, v ramenu směřujícím ke geografickému západu -0,187 A/cm a v ramenu směřujícím ke geografickému východu 0,310 A/cm. Magnetický sever byl posunut severovýchodním směrem opět o 45°.

Statistické zpracování

Získaná data byla podrobena testu pro normalitu a pak zpracována jednocestnou analýzou variance (ANOVA), ve které sledovaný parametr byl závislou proměnnou a kompartmenty proměnnou nezávislou. Statistické výpočty byly provedeny v programu STATISTICA 12.

5. Výsledky

Pomocí analýzy PCA (analýzy hlavních komponent) byla hledána korelace mezi jednotlivými testovanými faktory (rotace, časový faktor a frekvence vstupů do jednotlivých segmentů křížového labyrintu). Na obr. 3 lze vidět rozdílnost a individualitu testovaných jedinců. Lze si také všimnout korelace mezi frekvencemi a časovou složkou. Rotace s frekvence vstupů spolu nikterak nekorelují.



Obr. 3: Analýza PCA, znázorňující rozdílnost jednotlivých testovaných faktorů u prvního experimentu.

V prvním testu jsme ověřovali hypotézu: H_1 : Ryby v novém prostoru začnou průzkum na severojižní ose. Tato hypotéza byla rozpracována do následujících pracovních verzí:

H_{1-1} : Ryby začnou průzkum od severo-j jižní osy a delší dobu (případně dráhu) stráví v severo-j jižním směru než v západovýchodním.

Byla analyzována doba strávená v jednotlivých segmentech křížového labyrintu. Ryby mírně preferovaly severo-j jižní směr, ale toto statistické vyhodnocení nebylo průkazné ($F(1, 68) = 0.11169$; $p > 0,05$)).

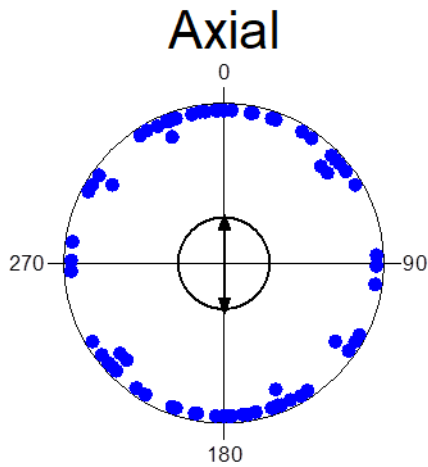
H_{1-2} : Z centrálního prostoru vstoupí nejdříve do severního nebo jižního ramene, tedy nejkratší latence vstupu bude u severního nebo jižního ramene.

Byla analyzována doba latence vstupu v jednotlivých segmentech křížového labyrintu. Nejkratší latence vstupu byla v jižním ramenu. V celkovém výčtu byla latence vstupu u severo-j jižního segmentu v průměru o 10,6 sekund kratší, než tomu bylo u západovýchodního segmentu. Ale statistické zhodnocení se ukázalo jako neprůkazné ($F(1, 68) = 0,60072$; $p > 0,05$)).

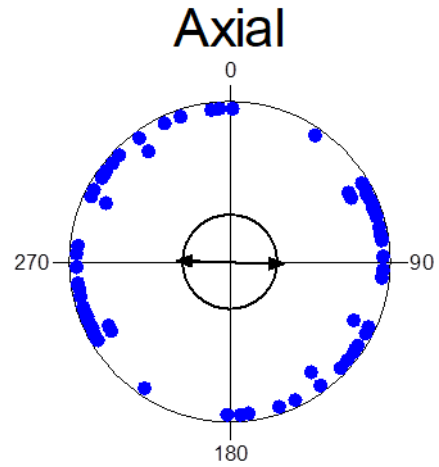
H_{1-3} : U parametru „mean heading“ budou v S-J ramenech průkazně převládat S-J úhly, zatímco v ramenech Z-V směru nebude zaznamenán převládající směr (vyrovnané směry).

Byl analyzován parametr „mean heading“, poukazující na to, které směry byly v jednotlivých segmentech preferovány. V severo-j jižním segmentu křížového labyrintu byla preferována severo-j jižní osa s hladinou významnosti $p = 0,039$ (viz obr. 4A) a v západovýchodním segmentu převládala preference západovýchodní osy s hladinou významnosti $p = 0,021$ (viz obr. 4B).

A



B



Obr. 4: Preference severo-jížní osy v severo-jížním segmentu křížového labyrintu (A) a západo-východní osy v západo-východním segmentu křížového labyrintu (B).

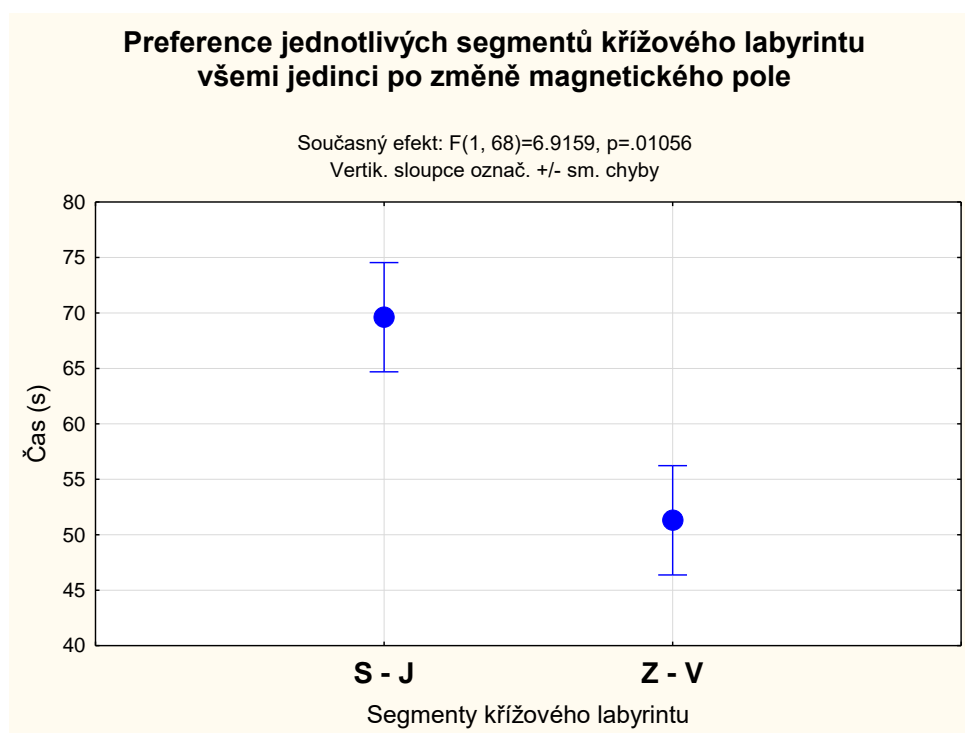
H₁₋₄: Vzhledem k velké variabilitě ve výskytu horizontální rotace při pohybu ryb je možno předpokládat její dopad na výsledek orientace. Jedinci bez rotace projeví jasnější preferenci S-J ramen.

Byla analyzována horizontální rotace při pohybu ryb v jednotlivých segmentech křížového labyrintu. Všichni jedinci byli rozděleni na nerotující či málo rotující (0-1 rotace) a na jedince často rotující (2 a více rotací). Následně byla vyhodnocena preference rozdělených jedinců pomocí času, který strávili v jednotlivých ramenech křížového labyrintu. U nerotujících a málo rotujících jedinců se projevila mírná preference severo-jížní osy. Statistické zhodnocení se ale ukázalo jako neprůkazné ($F(1, 30) = 0,67567$; $p > 0,05$).

V druhém testu jsme ryby testovali v modifikovaném magnetickém poli vložení lokálního pole horizontálně otočeného o 90° a ověřovali jsme hypotézu: H_2 : Ryby začnou opět průzkum na nové severojižní ose. Tato hypotéza byla rozpracována do následujících pracovních verzí:

H_{2-1} : Ryby začnou od nové lokální severo-jížní osy a delší dobu (případně dráhu) stráví v novém severo-jížním směru než v západovýchodním.

Byla analyzována doba strávená v jednotlivých segmentech křížového labyrintu (v novém severo-jížním a západovýchodním směru). Tukeyův test ukázal rozdíl mezi dobou strávenou v novém severo-jížním segmentu (geogr. západovýchodní osa) a dobou strávenou v západovýchodním segmentu (geogr. severo-jížní osa) s hladinou významnosti $p = 0,011$ – viz obr. 5. Preferovaný směr tedy zůstal stejný jako v nezměněném magnetickém poli.



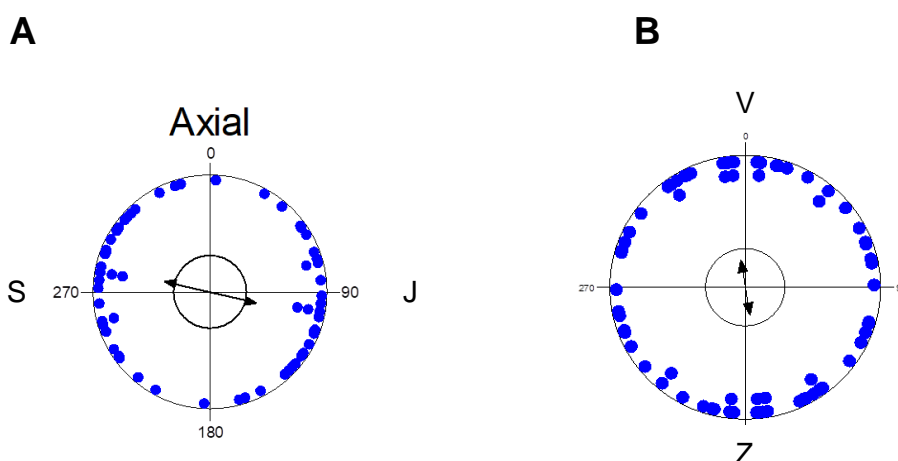
Obr. 5: Preference geografického severo-jížního (magnetického západovýchodního směru) a geografického západovýchodního směru (magnetického severo-jížního) testovanými jedinci v křížovém labyrintu. Post Hoc test ukázal rozdíl mezi dobou strávenou v severo-jížním segmentu a dobou strávenou v západovýchodním segmentu ($p = 0,011$).

H_{2.2}: Z centrálního prostoru vstoupí nejdříve do nového severního nebo jižního ramene, tedy nejkratší latence vstupu bude u nového severního nebo jižního ramene.

Byla analyzována doba latence v jednotlivých segmentech křížového labyrintu. Nejkratší latence vstupu byla v novém severním rameni (geografickém západě). V celkovém výčtu byla doba latence vstupu u nového severo-j jižního segmentu (geogr. západovýchodní osy) v průměru o 1,8 sekundy delší, než tomu bylo u nového západovýchodního segmentu (geogr. severo-j jižní osy). Statistické zhodnocení se ale ukázalo jako neprůkazné ($F(1, 68) = 0,01492$; $p > 0,05$)).

H_{2.3}: U parametru „mean heading“ budou v nových S-J ramenech průkazně převládat S-J úhly, zatímco v nových ramenech Z-V směru nebude zaznamenán převládající směr (vyrovnané směry).

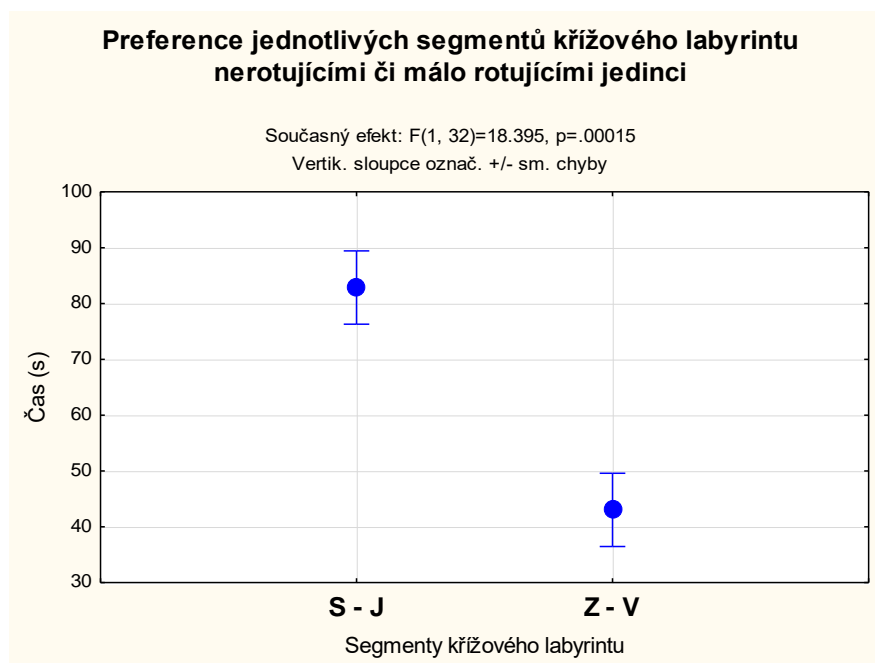
Byl analyzován parametr „mean heading“, poukazující na to, které směry byly v jednotlivých segmentech preferovány. V novém severo-j jižním segmentu (geografické západovýchodní ose) křížového labyrintu byla preferována severo-j jižní osa s hladinou významnosti $p = 0,007$ – viz obr. 6A a v novém západovýchodním segmentu (geografické severo-j jižní ose) převládala západovýchodní osa s hladinou významnosti $p > 0,05$ – viz obr. 6B. Lze tak konstatovat, že v novém západovýchodním segmentu nebyl preferován žádný směr.



Obr. 6: Preference severo-j jižní osy v novém severo-j jižním segmentu křížového labyrintu (A) a západovýchodní osy v novém západovýchodním segmentu křížového labyrintu (B).

H_{2.4}: Vzhledem k velké variabilitě ve výskytu horizontální rotace při pohybu ryb je možno předpokládat její dopad na výsledek orientace. Jedinci bez rotace projeví jasnější preferenci nových S-J ramen.

Byla analyzována horizontální rotace při pohybu ryb v jednotlivých segmentech křížového labyrintu. Všichni jedinci byli rozděleni na nerotující či málo rotující (0-1 rotace) a na jedince často rotující (2 a více rotací). Následně byla vyhodnocena preference rozdělených jedinců pomocí času, který strávili v jednotlivých ramenech křížového labyrintu. Post Hoc test ukázal průkazný rozdíl mezi dobou strávenou v severo-j jižním segmentu (nové západovýchodní ose) a dobou strávenou v západovýchodním segmentu (nové severo-j jižní ose) s hladinou významnosti $p = 0,0002$ u nerotujících či málo rotujících jedinců - viz obr. 7. U často rotujících jedinců nebyla preference severo-j jižní osy tak výrazná jako u nerotujících či málo rotujících jedinců a nebyla ani statisticky průkazná.



Obr. 7: Preference severo-j jižní osy (nové Z - V osy) a západovýchodní osy (nové S - J osy) v křížovém labyrintu nerotujícími či málo rotujícími jedinci. Post Hoc test ukázal rozdíl mezi dobou strávenou v severo-j jižním segmentu a dobou strávenou v západovýchodním segmentu ($p = 0,0002$).

Ve třetím testu byl přiložen těsně za koncovou stěnu západního ramene pevný magnet a byla ověřována hypotéza: H_3 : Podle nejnovější studie (Malewski et al. 2018) by měly ryby tuto anomálii prozkoumávat déle, aby ji mohly využít k následující orientaci. Tato hypotéza byla rozpracována do následujících pracovních verzí:

H_{3-1} : V Z ramenu stráví delší dobu, případně naplavou zde delší dráhu než v ostatních ramenech.

Byla analyzována doba i uplavaná dráha v jednotlivých segmentech křížového labyrintu. Nejméně času trávili všichni jedinci v západním ramenu. Nejvíce času trávili všichni jedinci ve východním ramenu. Průměrný čas strávený v severním a jižním ramenu byl přibližně stejný. Tato hypotéza ale nebyla statisticky průkazná ($F(3, 136) = 3253; p > 0,05$). Nejdelší dráha byla všemi jedinci uplavána ve východním rameni, následována dráhou uplavanou všemi jedinci v západním rameni. Byla tedy zřejmá mírná preference západo-východní osy, před osou severo-j jižní. Statistické zhodnocení však také nebylo průkazné ($F(1, 68) = 1,2145; p > 0,05$).

H_{3-2} : Začnou průzkum od Z ramene a z centrálního prostoru vstoupí nejdříve do Z ramene, tedy nejkratší latence vstupu bude u Z ramene.

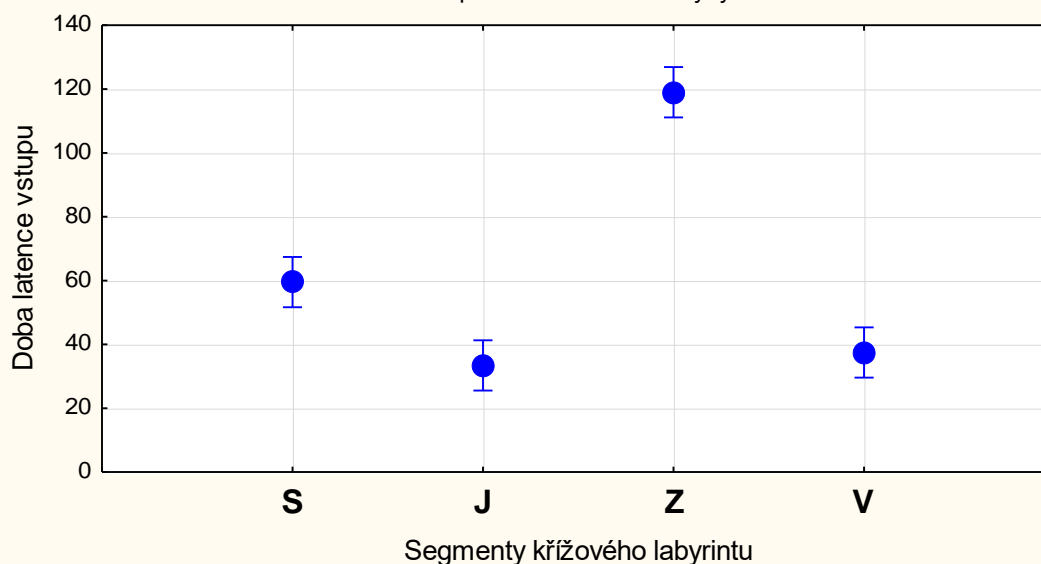
Byla analyzována doba latence vstupu do jednotlivých segmentů křížového labyrintu. V západním rameni byla latence vstupu z centrálního prostoru nejdelší. Nejkratší latence vstupu byla v jižním rameni. Tukeyův test ukázal rozdíl mezi dobou latence v západním segmentu a ostatními segmenty křížového labyrintu ($p = 0,000008$) – viz obr. 8.

Doba latence vstupu do jednotlivých segmentů křížového labyrintu

Současný efekt: $F(3, 136)=25.129, p=.00000$

Tukeyův test: Z - S, J, V = 0,000008

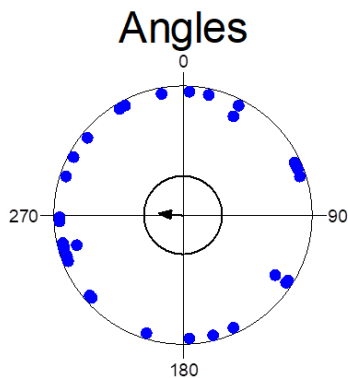
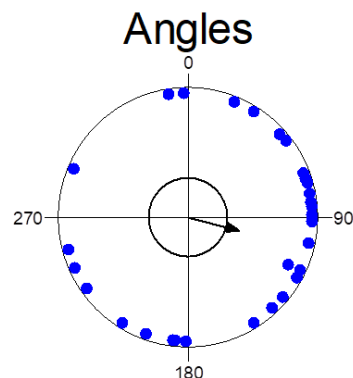
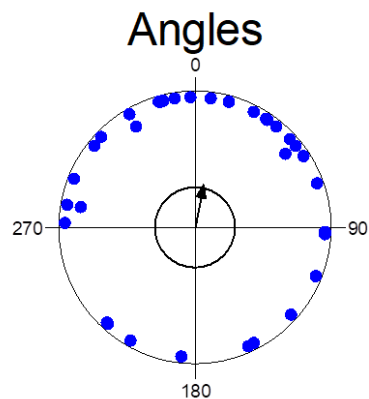
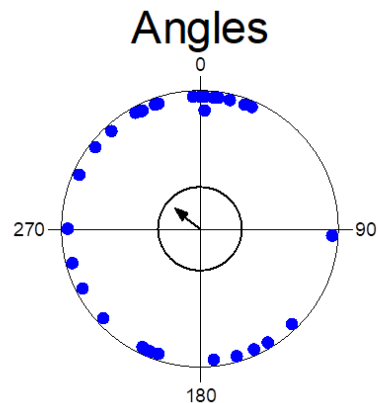
Vertik. sloupce označ. +/- sm. chyby



Obr. 8: Doba latence vstupu do jednotlivých segmentů křížového labyrintu. Post Hoc test ukázal rozdíl mezi dobou latence v západním segmentu a ostatními segmenty křížového labyrintu ($p = 0,000008$).

H₃₋₃: U parametru „mean heading“ bude v Z ramenu nejvýraznější vektor směřovat západně. V ostatních ramenech nebude zaznamenán převládající směr (vyrovnané směry).

Byl analyzován parametr „mean heading“, poukazující na to, které směry byly v jednotlivých segmentech preferovány. Bylo zjištěno, že v západním ramenu směřoval vektor západním směrem pod úhlem 274° ($p > 0,05$) – viz obr.9A. Ve východním ramenu směřoval vektor východním směrem pod úhlem 104° ($p = 0,006$) – viz obr. 9B, v severním ramenu směřoval vektor severním směrem pod úhlem 10° ($p = 0,033$) – viz obr. 9C a v jižním ramenu směřoval vektor severo-západním směrem pod úhlem 309° ($p > 0,05$) – viz obr. 9D.

A**B****C****D**

Obr. 9: Preference směru v západním ramenu (A), ve východním ramenu (B), v severním ramenu (C) a v jižním ramenu (D).

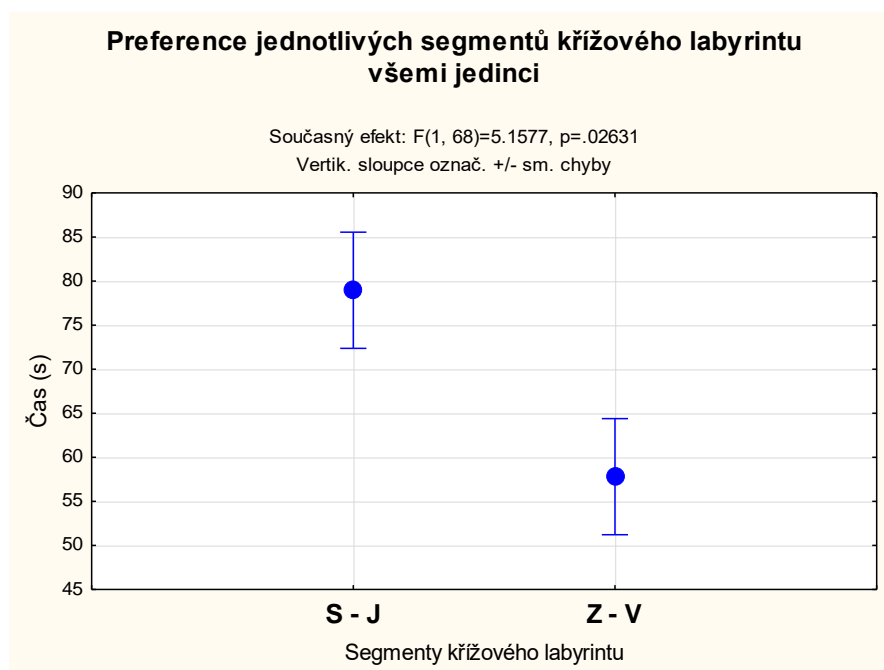
H₃₋₄: Vzhledem k velké variabilitě ve výskytu horizontální rotace při pohybu ryb je možno předpokládat její dopad na výsledek orientace. Jedinci bez rotace projeví jasnější preferenci Z ramene.

Byla analyzována horizontální rotace při pohybu ryb v jednotlivých segmentech křížového labyrintu. Všichni jedinci byli rozděleni na nerotující či málo rotující (0-1 rotace) a na jedince často rotující (2 a více rotací). Následně byla vyhodnocena preference rozdělených jedinců pomocí času, který strávili v jednotlivých ramenech křížového labyrintu. Nerotující či málo rotující jedinci trávili v západním rameni nejméně času. Nejvíce času trávili tito jedinci v jižním rameni. Často rotující jedinci trávili nejvíce času ve východním rameni a nejméně v severním rameni. Statistické zhodnocení však ukázalo, že tyto preference nebyly průkazné ($p > 0,05$).

Ve čtvrtém testu byly zachovány podmínky z prvního testu a byla ověřována hypotéza: H_4 : Ryby se budou pohybovat ve známém prostředí, ve kterém zaniká preference směrů. Tato hypotéza byla rozpracována do následujících pracovních verzí:

H_{4-1} : Ryby stráví v severo-j jižním směru stejnou dobu (případně uplavou stejnou dráhu) jako ve směru západovýchodním.

Byla analyzována doba strávená v jednotlivých segmentech křížového labyrintu (severo-j jižním a západovýchodním směru). Podobně jako u ostatních provedených experimentů se projevila preference severo-j jižního směru. Tukeyův test ukázal rozdíl mezi dobou strávenou v severo-j jižním segmentu a dobou strávenou v západovýchodním segmentu ($p = 0,026$) – viz obr. 10.



Obr. 10: Preference severo-j jižního a západovýchodního směru testovanými jedinci v křížovém labyrintu. Post Hoc test ukázal rozdíl mezi dobou strávenou v severo-j jižním segmentu a dobou strávenou v západovýchodním segmentu ($p = 0,026$).

H₄₋₂: V latenci vstupu nebude mezi jednotlivými rameny žádný rozdíl.

Byla analyzována doba latence vstupu všech jedinců do jednotlivých segmentů křížového labyrintu. Mezi jednotlivými rameny se žádná preference neprojevila ($p > 0.05$). Byla také analyzována frekvence vstupu jedinců do jednotlivých segmentů. Do každého z jednotlivých ramen vstoupil každý jedinec přibližně dvakrát.

H₄₋₃: U parametru „mean heading“ nebude v žádném směru zaznamenán průkazný vektor v určitém směru.

Byl analyzován parametr „mean heading“, poukazující na to, které směry byly v jednotlivých segmentech preferovány. Statisticky nebyla prokázána preference žádného ze směrů ($p > 0,05$).

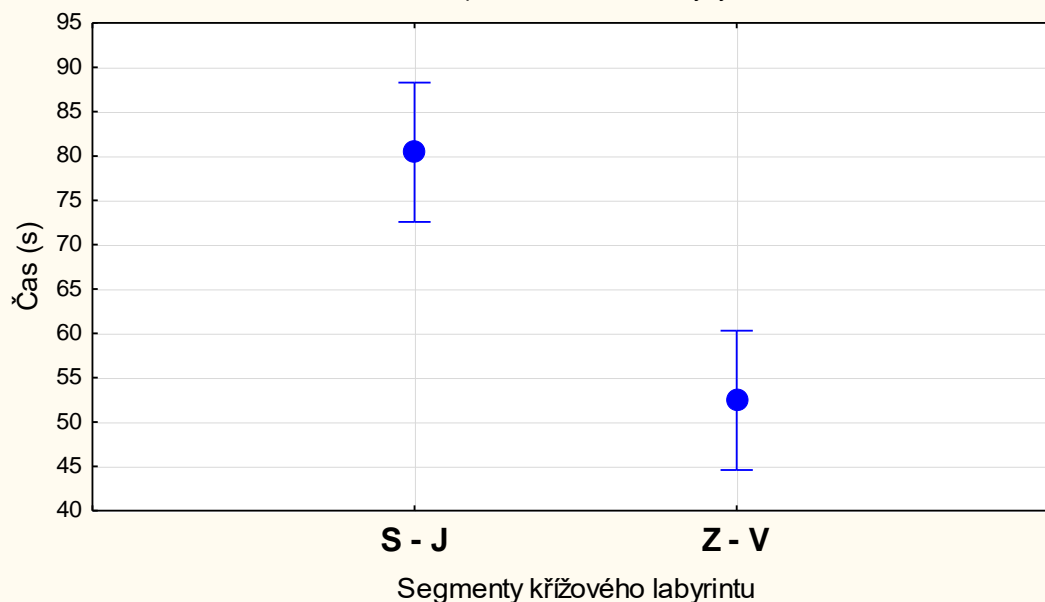
H₄₋₄: Vzhledem k velké variabilitě ve výskytu horizontální rotace při pohybu ryb je možno předpokládat její dopad na výsledek orientace. Jedinci bez rotace projeví v tomto případě pouze mírnou preferenci S-J směru.

Byla analyzována horizontální rotace při pohybu ryb v jednotlivých segmentech křížového labyrintu. Všichni jedinci byli rozděleni na nerotující či málo rotující (0-1 rotace) a na jedince často rotující (2 a více rotací). Následně byla vyhodnocena preference rozdělených jedinců pomocí času, který strávili v jednotlivých ramenech křížového labyrintu. Post Hoc test ukázal rozdíl mezi dobou strávenou v severo-jžním segmentu a dobou strávenou v západo-východním segmentu u nerotujících či málo rotujících jedinců ($p = 0,016$) – viz obr. 11. U často rotujících jedinců se projevila také mírná preference severo-jžní osy, ale nebyla tak výrazná jako u nerotujících a málo rotujících jedinců a její statistické vyhodnocení nebylo průkazné.

Preference jednotlivých segmentů křížového labyrintu nerotujících či málo rotujících jedinců

Současný efekt: $F(1, 40)=6.3417, p=.01590$

Vertik. sloupce označ. +/- sm. chyby



Obr. 11: Preference severo-jížního (S – J) a západovýchodního (Z – V) směru v křížovém labyrintu nerotujícími či málo rotujícími jedinci. Post Hoc test ukázal rozdíl mezi dobou strávenou v severo-jížním segmentu a dobou strávenou v západovýchodním segmentu ($p = 0,016$).

V pátém testu byl přiložen těsně za koncovou stěnu východního ramene pevný magnet a byla ověřována hypotéza: H_5 : Podle nejnovější studie (Malewski et al., 2018) by měly ryby tuto anomálii prozkoumávat déle, aby ji mohly využít k následující orientaci. Tato hypotéza byla rozpracována do následujících pracovních verzí:

H_{5-1} : Ve východním ramenu stráví delší dobu (případně naplavou delší dráhu) než v ostatních ramenech.

Byla analyzována doba i uplavaná dráha v jednotlivých segmentech křížového labyrintu. Nejvíce času i nejdelší vzdálenost uplavali jedinci v severním ramenu. Nejméně času pak jedinci trávili v jižním ramenu, kde také uplavali nejmenší vzdálenost. Uplavaná dráha i čas strávený v západním a východním

ramenu se pohyboval v přibližně stejném rozmezí hodnot. Statistické zhodnocení však nebylo průkazné ($p > 0,05$).

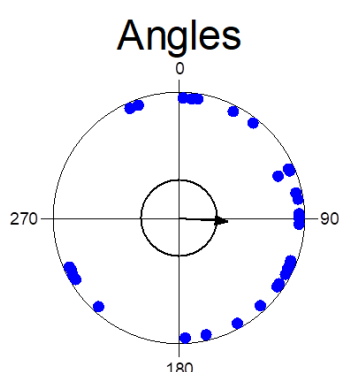
H₅₋₂: Začnou průzkum od východního ramene a z centrálního prostoru vstoupí nejdříve do východního ramene, tedy nejkratší latence vstupu bude do východního ramene.

Byla analyzována doba latence vstupu z centrálního prostoru do jednotlivých segmentů křížového labyrintu. Nejkratší doba latence vstupu byla v severním ramenu a nejdelší doba latence vstupu byla v jižním ramenu. Doba latence vstupu do východního a západního ramene dosahovala přibližně stejných hodnot. Statistické zhodnocení však nebylo průkazné ($p > 0,05$).

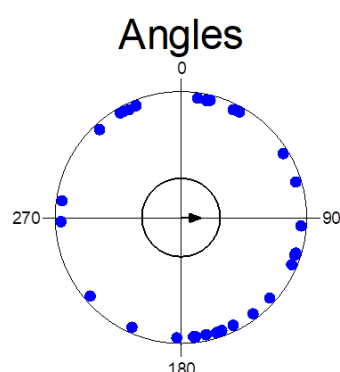
H₅₋₃: U parametru „mean heading“ bude ve východním ramenu nejvýraznější vektor směřovat východně. V ostatních ramenech nebude zaznamenán převládající směr (vyrovnané směry).

Byl analyzován parametr „mean heading“, poukazující na to, které směry byly v jednotlivých segmentech preferovány. Ve východním ramenu směřoval skutečně tento vektor východním směrem ($p = 0,009$) – viz obr.12A. V západním ramenu pak tento vektor směřoval západním směrem, v severním ramenu směřoval vektor severním směrem a zajímavostí je, že v jižním ramenu směřoval vektor východním směrem – viz obr. 12B. Statistické zhodnocení ale u těchto ostatních ramen nebyla průkazná ($p > 0,05$).

A



B



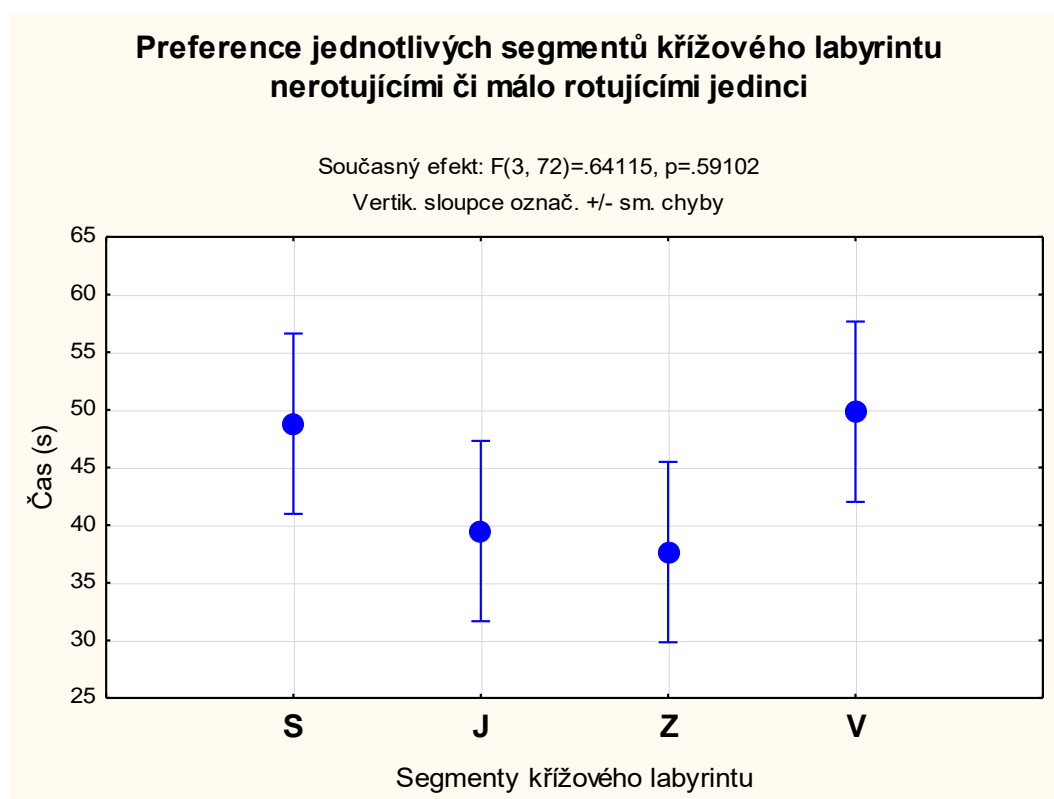
Obr. 12: Preference východního směru ve východním segmentu křížového labyrintu (A) a preference stejného směru v jižním segmentu křížového labyrintu.

H₅₋₄: Vzhledem k velké variabilitě ve výskytu horizontální rotace při pohybu ryb je možno předpokládat její dopad na výsledek orientace. Jedinci bez rotace projeví jasnější preferenci V ramene.

Byla analyzována horizontální rotace při pohybu ryb v jednotlivých segmentech křížového labyrintu. Všichni jedinci byli rozděleni na nerotující či málo rotující (0-1 rotace) a na jedince často rotující (2 a více rotací). Následně byla vyhodnocena preference rozdělených jedinců pomocí času, který strávili v jednotlivých ramenech křížového labyrintu.

U nerotujících či málo rotujících jedinců se vyskytla preference východního ramene, ve kterém trávili nejvíce času. Nejméně času pak trávili v západním rameni křížového labyrintu – viz obr. 13. U často rotujících jedinců se vyskytla preference západního ramene. Nejméně času trávili tito jedinci ve východním rameni – viz obr. 14. Statistické vyhodnocení však bylo v obou případech neprůkazné ($p > 0,05$).

Celkový přehled výsledků všech stanovených hypotéz je znázorněn v souhrnné tabulce – viz tab. 1.

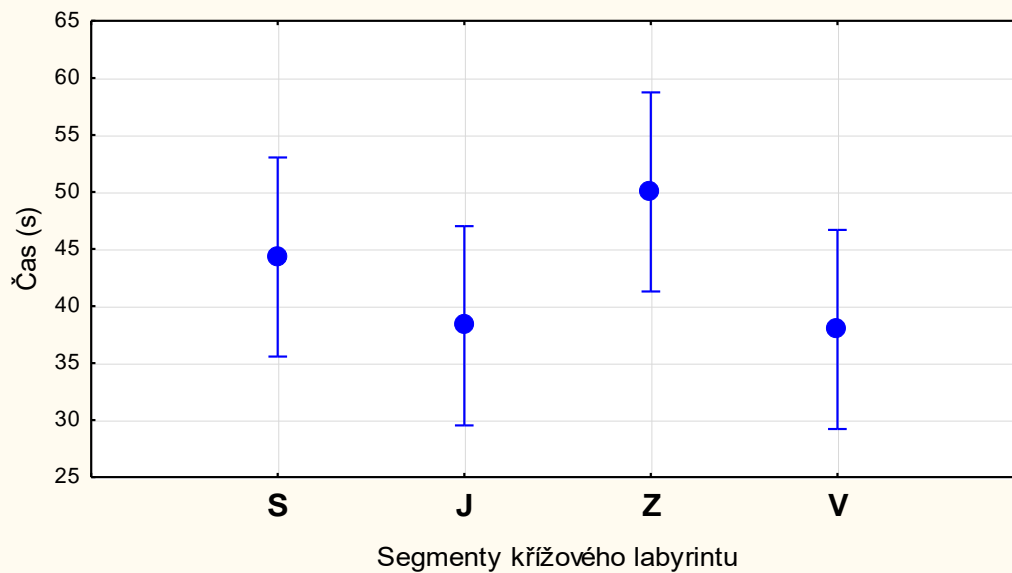


Obr. 13: Preference jednotlivých segmentů křížového labyrintu nerotujícími či málo rotujícími jedinci.

Preference jednotlivých segmentů křížového labyrintu často rotujícími jedinci

Současný efekt: $F(3, 60) = .42930$, $p = .73274$

Vertik. sloupce označ. +/- sm. chyby



Obr. 14: Preference jednotlivých segmentů křížového labyrintu často rotujícími jedinci.

Tab. 1 Celkový přehled výsledků všech stanovených hypotéz

Číslo pokusu, hypotéza	Stručný výsledek	Podpora hypotézy naznačena	Odmítnutí hypotézy naznačeno	Hypotéza průkazně podložena	Hypotéza průkazně vvrácena
1-1	Více v S-J než Z-V	X			
1-2	Nejdříve do J a S-J	X			
1-3	Průkazný S-J směr, a také Z-V			X	
1-4	Nerotující déle v S-J než v Z-V	X			
2-1	Průkazně více v S-J než Z-V			X	
2-2	Nejdříve do mag. S ,	X			
2-3	Průkazný S-J směr, Z-V neprůkazný			X	
2-4	Nerotující průkazně více v mag. S-J , než v V-Z			X	
3-1	Neprůkazně v Z nejméně, ve V nejdéle, tedy nikoliv u magnetu		X		
3-2	Nejdříve k J , nikoliv k magnetu, k Z průkazně nejdéle				X
3-3	Neprůkazný směr k magnetu, průkazný k S a V	X			
3-4	Nerotující nejméně v Z , nejvíce v J		X		
4-1	Průkazně více v S-J než Z-V			X	
4-2	Bez průkazné latence				
4-3	Bez průkazného směru				
4-4	Nerotující průkazně déle v S-J než ve Z-V			X	
5-1	Nejvíce v S , nikoliv u magnetu		X		
5-2	Nejdříve k S , nikoliv k magnetu		X		
5-3	Průkazný směr k magnetu			X	
5-4	Nerotující déle ve V než rotující	X			

6. Diskuse

Experiment 1

U kaprů obecných (*Cyprinus carpio*), u kterých byla zjištěna statisticky průkazná preference severo-j jižního osy v geomagnetickém poli, by detekce severo-j jižní osy mohla pomoci při synchronizaci směru pohybu jednotlivých ryb v hejnu (Hart et al., 2012). Podobné výsledky byly získány i v dřívějších experimentech na úhoři evropském (*Anguilla anguilla*) nebo na karasu zlatém (*Carassius auratus*) (Wiltschko et al., 1995).

Předpokládali jsme, že tetry jeskynní (*Astyanax mexicanus*), zvláště když jsou slepé, by také mohly projevit tuto preferenci severo-j jižní osy. V prvním testu byly tetry testovány, zda preferují severo-j jižní osu. Ačkoliv nebyla tato preference severoj jižní osy v prvním experimentu průkazně podpořena, jisté náznaky preference této osy byly pozorovatelné. Stejně tak tomu bylo i v případě hypotézy H_{1-4} , kde byli testovaní jedinci rozdělení na nerotující či málo rotující (0-1 rotace) a na jedince často rotující (2 a více rotací). Předpokládali jsme, že jedinci bez rotace budou magnetické pole vnímat silněji než váhaví a často rotující jedinci, a projeví tak jasnější preferenci severo-j jižní osy. Určitá preference se u málo rotujících jedinců skutečně projevila, ale nebyla statisticky průkazná. U hypotézy H_{1-3} , v rámci níž byl testován parametr „mean heading“, byla průkazně podpořena preference severo-j jižní osy v severo-j jižním segmentu a západo-východní osy v západo-východním segmentu křížového labyrintu. Jedinci však byli velmi pravděpodobně ovlivněni větší délkou ramen v poměru k šířce ramen křížového labyrintu.

Experiment 2

Ve druhém experimentu byli ti samí jedinci testováni v rámci stejných hypotéz jako v předešlém experimentu s tím rozdílem, že magnetické pole bylo pomocí magnetů horizontálně otočeno o 90° . V hypotéze H_{2-1} jsme předpokládali, že testovaní jedinci budou preferovat novou severo-j jižní osu (z geografického hlediska osu západo-východní) před novou západo-východní osou (geogr. severo-j jižní osa). Zjištěno ovšem bylo, že jedinci preferovali nový západo-východní směr. Preferovaný směr tedy zůstal stejný jako v předchozím přirozeném magnetickém poli. V podobné studii testující magnetismus u dánií pruhovaných (*Danio rerio*) byla zjištěna preference západo-východního směru v přirozeném magnetickém poli. Po

horizontálním otočení magnetického pole o 90° preferovala dánía opět západo-východní osu tedy původní geografickou severo-jihní osu (Osipova et al., 2016). V tomto srovnání jsou tak obě studie ohledně preferované osy v rozporu. Musíme vzít ale v úvahu, že srovnáváme vidoucí ryby žijící v povrchových vodách s rybami slepými, žijícími v naprosté tmě. Mohou se tak mezi těmito odlišnými systémy vnímání okolí vyskytnout rozdíly. Navíc nemáme žádné údaje o natočení chovných akvárií s dáníi a o dalších důležitých podmínkách v chovech (železné regály, elektronické komunikační sítě apod.).

V případě ověřování hypotézy H_{2-2} byla zjištěna nejkratší doba latence u nové západo-východní osy (geogr. severo-jihní osa), avšak ani toto statistické zhodnocení nebylo průkazné. U testovaného parametru „mean heading“ byla opět zjištěna průkazná preference nové severo-jihní osy v novém severo-jihním segmentu. V novém západo-východním segmentu byla patrná mírná preference nové západo-východní osy, nebyla však statisticky průkazná. V uvedeném segmentu tak mohlo dojít ke zmatení jedinců vytvořením nové severo-jihní osy. Při změně intenzity magnetického pole může docházet ke zmatení jedinců (viz např. Painter et al., 2013). V případě hypotézy H_{2-4} byla u málo rotujících jedinců statisticky prokázána preference nové západo-východní osy (geogr. severo-jihní osy). U často rotujících jedinců se projevila také mírná preference nové západo-východní osy (geogr. S – J osy), nicméně byla slabá, statisticky zcela nevýznamná.

Experiment 3

Ve třetím experimentu byl těsně za koncovou stěnu západního ramene křížového labyrintu umístěn pevný magnet. Podle nejnovější studie (Malewski et al., 2018) jsme předpokládali, že ryby zachytí silné magnetické pole a budou tuto anomálii prozkoumávat déle, aby ji mohli využít k následující orientaci.

V hypotéze H_{3-1} jsme předpokládali, že ryby budou trávit nejvíce času či naplavou nejdelší dráhu v západním rameni, kde byl magnet umístěn. Nejvíce času však trávili jedinci v protilehlém východním rameni křížového labyrintu. Ryby tak tedy mohly být silným magnetickým polem v západním rameni spíše odpuzovány. Celkově se projevila mírná preference západo-východní osy, ale statistické vyhodnocení bylo neprůkazné. Preference západního ramene se neprojevila ani po rozdělení jedinců na málo rotující a často rotující, což je tedy vše zcela v rozporu s výsledky studie na téměř slepých podzemních hlodavcích – rypoších (Malewski et al., 2018). Největší metodický rozdíl je možno vidět v tom, že v naší

studii byl magnet umístěn těsně za stěnou vně labyrintu, aniž se ryba mohla dostat s tímto magnetem do kontaktu. Ve srovnávané studii měli rypoši možnost se dostat do přímého kontaktu s objektem magnetickým, tak i na opačné straně identickým objektem odmagnetizovaným. V takto uspořádaném pokusu ovšem nemůže být zaručen jediný rozdíl v přítomnosti magnetického pole. Z tohoto hlediska se naše umístění magnetu za stěnou jeví jako metodicky čistší.

Z následujícího ověření hypotézy H_{3-2} , podle níž byla testována doba latence vstupu do jednotlivých segmentů křížového labyrintu je zřejmé, že ryby byly silným magnetickým polem v západním ramenu spíše odpuzovány – viz obr. 8. Svědčí o tom výrazně delší latence vstupu do západního ramene oproti vstupům do ostatních ramen křížového labyrintu. Ke stejnému výsledku bylo docíleno v nedávné studii (Ernst et al., 2018) prováděné na langustách karibských (*Panulirus argus*). Na langustách bylo testováno, zda budou trávit více času u silného tyčového magnetu nebo u nemagnetické kontroly. Langusty preferovali právě nemagnetickou kontrolu před silným tyčovým magnetem. Podzemní hlodavci rypoši reagovali opačně, tedy plně magnetický objekt prozkoumávali delší dobu. Nicméně důležité je, že na magnetický objekt reagovali ve srovnání s kontrolou, identickým odmagnetizovaným objektem, rozdílně (Malewski et al., 2018). Námi zaznamenané chování tetery by tak bylo v souladu s těmito studiemi.

V rámci hypotézy H_{3-3} byla testována preference směrů v jednotlivých segmentech křížového labyrintu. Očekávali jsme, že v západním ramenu bude průkazný vektor směřovat západně a v ostatních ramenech nebude zaznamenán žádný převládající směr (žádný průkazný vektor). V západním ramenu byl skutečně zaznamenán převládající západní směr, avšak nebyl statisticky průkazný. Ve východním segmentu byl vektor vychýlen mírně jižním směrem a v jižním segmentu směřoval vektor severo-západním směrem - viz obr. 9. Tento jev mohl být zapříčiněn deformací severo-jížní osy magnetem, kde přirozený (magnetický a geografický) sever byl odkloněn severozápadním směrem. Nebyl tak preferován magnet bodově, ale zřejmě byla spíše vnímána deformace celého magnetického pole. Schlegel et al. (2008) také naznačují, že v testovacích prostorech, jako je např. právě křížový labyrint bez orientačních bodů, může docházet k ovlivnění směrové preference délkou stěn nádob. Tetery tak mohly být při sledování preference směrů v jednotlivých segmentech křížového labyrintu ovlivněny větší délkou ramen v poměru k šířce ramen našeho labyrintu.

Experiment 4

Ve čtvrtém experimentu byly zachovány stejné podmínky jako v prvním experimentu. Sledovali jsme opět, stejně jako v prvním pokusu, jak se ryby budou pohybovat ve známém prostředí s přirozeným magnetickým polem Země.

V tomto kontextu je třeba opět připomenout studii zabývající se magnetickou orientací u kaprů obecných (*Cyprinus carpio*), ve které byla stanovena průkazná preference severo-jihní magnetické osy (Hart et al., 2012). Podobné výsledky byly získány i v dřívějších experimentech na úhoři evropském (*Anguilla anguilla*) nebo na karasu zlatém (*Carassius auratus*) (Wiltschko et al., 1995). V případě prověřované hypotézy H_{4-1} byla také prokázána preference severo-jihního směru tetrami jeskynními (*Astyanax mexicanus*) před západovýchodním směrem – viz obr. 10. Po rozdělení jedinců na málo a často rotující bylo prokázáno, že málo rotující jedinci preferují severo-jihní směr výrazněji než často rotující jedinci. Tito často rotující jedinci tak mohou mít méně vyvinutý detekční systém k zachycení magnetického pole. U latence vstupu do jednotlivých segmentů křížového labyrintu ani u sledovaného parametru „mean heading“ se však preference žádného ze směrů neprojevila.

Experiment 5

Pátý experiment se podobal třetímu experimentu s tím rozdílem, že v tomto experimentu byl silný magnet umístěn těsně za koncovou stěnu východního ramene. Opět v soulase s Malewskou et al. (2018) jsme předpokládali, že ryby zachytí silné magnetické pole a budou tuto anomálii prozkoumávat déle, aby ji mohli využít k následující orientaci.

Na základě ověření hypotézy H_{5-1} nebyla statisticky prokázána preference žádného ze směrů. Stejně tomu bylo u hypotézy H_{5-2} , kde jsme předpokládali, že jedinci budou nejdříve vstupovat z centrálního prostoru do východního ramene křížového labyrintu. Ani zde se neprojevila žádná průkazná preference. U sledovaného parametru „mean heading“ byla zjištěna průkazná preference východního směru ve východním segmentu křížového labyrintu. V západním segmentu směřoval vektor západním směrem, v severním segmentu severním směrem a v jižním rameni, se projevila preference opět východního směru, avšak neprůkazně – viz obr. 12. Po rozdělení jedinců na málo a často rotující nebyla stanovena preference žádného ze směrů. Zde je třeba opět, jako ve třetím pokusu,

připomenout studii Painterera et al. (2013), který uvádí, že při změně přirozeného magnetického pole (oslabení či zesílení) dochází ke ztrátě preference směru a jedinci se tak chovají zmateně, bezcílně. Je velmi pravděpodobné, že silný magnet umístěný těsně za koncem východního ramene způsobil změnu intenzity a směru magnetického pole a následně i zapříčinil zmatení jedinců a zánik preference směrů v jednotlivých segmentech křížového labyrintu.

7. Závěr

Po experimentálním ověřování sestavených hypotéz je možno s určitou opatrností konstatovat, že byla zaznamenána u tetry jeskynní (*Astyanax mexicanus*) v geomagnetickém poli preference severo-jihní osy. Asi nejdůležitějším poznatkem ale bylo zjištění, že u málo horizontálně rotujících jedinců se projevila jasnější preference severo-jihní osy oproti jedincům často rotujícím, kde tato preference severo-jihní osy nebyla tak výrazná.

Byla také testována reakce ryb na silný magnet umístěný nejdříve těsně za západní rameno a v dalším experimentu těsně za východní rameno křížového labyrintu. Očekávali jsme, že ryby budou tuto anomálii prozkoumávat a budou tak nejvíce času trávit v rameni, za kterým byl magnet umístěn. Doba pobytu v západním rameni byla však u všech jedinců nejmenší. Doba latence vstupu byla v západním rameni nejdelší. Tato zjištění tedy ukazují, že tetry jeskynní reagovali na silný magnet umístěný těsně za koncovou stěnu západního ramene spíše odpudivě. Reakce na magnet umístěný těsně za konec východního ramene byly dosti zmatečné a doby strávené v jednotlivých ramenech byly přibližně stejně dlouhé.

Vzhledem k tomu, že tato práce je první, která sleduje magnetickou orientaci u jeskynních druhů ryb, tak odhad, jak by se mohly tyto ryby chovat v mag. poli, nebyl až tak špatný. Mnoho rozdílů je dokonce průkazných a jen jeden to vyvrací, což je ale bohužel podle teorie vědy rozhodující (viz Popper, 1997). Svědčí to o tom, že by měly být formulovány nové hypotézy, kterým by odpovídaly všechny nálezy, což ale bude velmi nepravděpodobné, protože ani použitý křížový labyrint, manipulace s magnetickými poli a hodnocené chování nepůjdou schopnostem magnetorecepce u slepých teter zcela přesně vstříc.

8. Literatura

- BEGALL**, Sabine, et al. Magnetic alignment in grazing and resting cattle and deer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2008, 105.36: 13451-13455.
- BEGALL**, Sabine, et al. Magnetic alignment in mammals and other animals. *Mammalian Biology-Zeitschrift für Säugetierkunde*, 2013, 78.1: 10-20.
- BIBLIOWICZ**, Jonathan, et al. Differences in chemosensory response between eyed and eyeless *Astyanax mexicanus* of the Rio Subterráneo cave. *EvoDevo*, 2013, 4.1: 25.
- CECCOLINI**, F., et al. Can chemical cues act as landmarks in the orientation of the cave fish *Phreatichthys andruzzii*?. *Canadian journal of zoology*, 2010, 88.9: 884-888.
- CULVER**, David C. *Evolution and ecology*. Cambridge, Mass., Harvard University Press, 1982.
- CULVER**, David C.; **PIPAN**, Tanja. *The biology of caves and other subterranean habitats*. OUP Oxford, 2009.
- DVOŘÁK**, Petr. Anatomie a fyziologie ryb. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, 2014. ISBN 978-80-87437-80-3.
- ERNST**, David A.; **LOHMANN**, Kenneth J. Size-dependent avoidance of a strong magnetic anomaly in Caribbean spiny lobsters. *Journal of Experimental Biology*, 2018, jeb. 172205.
- GEGEAR**, Robert J., et al. Animal cryptochromes mediate magnetoreception by an unconventional photochemical mechanism. *Nature*, 2010, 463.7282: 804.
- GOULD**, Niles Eldredge-Stephen Jay. Punctuated equilibria: an alternative to phyletic gradualism. 1972.
- HART**, Vlastimil, et al. Magnetic alignment in carps: evidence from the Czech Christmas fish market. *PLoS One*, 2012, 7.12: e51100.

- HELFMAN**, Gene, et al. *The diversity of fishes: biology, evolution, and ecology*. John Wiley & Sons, 2009.
- JOHNSEN**, Sönke; **LOHMANN**, Kenneth J. The physics and neurobiology of magnetoreception. *Nature Reviews Neuroscience*, 2005, 6.9: 703.
- KEENE**, Alex; **YOSHIZAWA**, Masato; **MCGAUGH**, Suzanne Elaine. *Biology and evolution of the Mexican cavefish*. Academic Press, 2015.
- MALEWSKI**, Sandra, et al. Attracted by a magnet: Exploration behaviour of rodents in the presence of magnetic objects. *Behavioural processes*, 2018, 151: 11-15.
- MENUET**, Arnaud, et al. Expanded expression of Sonic Hedgehog in *Astyanax* cavefish: multiple consequences on forebrain development and evolution. *Development*, 2007, 134.5: 845-855.
- MITCHELL**, Robert Wetsel; **ELLIOTT**, William R.; **RUSSELL**, William H. *Mexican eyeless characin fishes, genus *Astyanax*: environment, distribution, and evolution*. Texas Tech Press, 1977.
- MONTGOMERY**, John; **BLECKMANN**, Horst; **COOMBS**, Sheryl. Sensory ecology and neuroethology of the lateral line. In: *The Lateral Line System*. Springer, New York, NY, 2013. p. 121-150.
- MOURITSEN**, Henrik; **RITZ**, Thorsten. Magnetoreception and its use in bird navigation. *Current opinion in neurobiology*, 2005, 15.4: 406-414.
- NAKATANI**, Masanori, et al. Evolutionary history of Otophysi (Teleostei), a major clade of the modern freshwater fishes: Pangaeian origin and Mesozoic radiation. *BMC evolutionary biology*, 2011, 11.1: 177.
- OSIPOVA**, Elena A., et al. Influence of magnetic field on zebrafish activity and orientation in a plus maze. *Behavioural processes*, 2016, 122: 80-86.
- PAINTER**, Michael S., et al. Spontaneous magnetic orientation in larval *Drosophila* shares properties with learned magnetic compass responses in adult flies and mice. *Journal of Experimental Biology*, 2013, 216.7: 1307-1316.

- PATTON**, Paul; **WINDSOR**, Shane; **COOMBS**, Sheryl. Active wall following by Mexican blind cavefish (*Astyanax mexicanus*). *Journal of Comparative Physiology A*, 2010, 196.11: 853-867.
- PETERS**, von N., et al. Gehirnproportionen und Ausprägungsgrad der Sinnesorgane von *Astyanax mexicanus* (Pisces Characinidae): ein Vergleich zwischen dem Flussfisch und seinen Höhlenderivaten «*Anoptichthys*». *Zeitschrift für Zoologische Systematik und Evolutionsforschung*, 1993, 31.2: 144-159.
- PHILLIPS**, J. B.; **DEUTSCHLANDER**, M. E. Magnetoreception in terrestrial vertebrates: implications for possible mechanisms of EMF interaction with biological systems. *The Melatonin hypothesis: electric power and the risk of breast cancer*, 1997, 111-172.
- POPPER**, Karl R.: Logika vědeckého bádání, Praha 1997, [ISBN 80-86005-45-3](#).
- POPPER**, Arthur N. The morphology of the Weberian ossicles of two species of the genus *Astyanax* (ostariophysi: characidae). *Journal of morphology*, 1971, 133.2: 179-188.
- POULSON**, Thomas L.; **WHITE**, William B. The cave environment. *Science*, 1969, 165.3897: 971-981.
- PŮŽOVÁ**, Tereza. *Vliv světla na magnetorecepční chování potemníka moučného (*Tenebrio molitor*)*. 2007. PhD Thesis. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta.
- RITZ**, Thorsten; **ADEM**, Salih; **SCHULTEN**, Klaus. A model for photoreceptor-based magnetoreception in birds. *Biophysical journal*, 2000, 78.2: 707-718.
- ROGERS**, Peter H.; **ZEDDIES**, David G. Multipole mechanisms for directional hearing in fish. In: *Fish bioacoustics*. Springer New York, 2008. p. 233-252.
- SHARMA**, Saurabh, et al. The function of wall-following behaviors in the Mexican blind cavefish and a sighted relative, the Mexican tetra (*Astyanax*). *Journal of Comparative Physiology A*, 2009, 195.3: 225-240.
- SCHEMME**L, Christian. Vergleichende Untersuchungen an den Hautsinnesorganen ober- und unterirdisch lebender *Astyanax*-Formen. *Zeitschrift für Morphologie der Tiere*, 1967, 61.2: 255-316.

- SCHLEGEL**, Peter A. Magnetic and other non-visual orientation mechanisms in some cave and surface urodeles. *Journal of Ethology*, 2008, 26.3: 347-359.
- SMITH**, STEVEN C. Pattern formation in the urodele mechanoreceptive lateral line: what features can be exploited for the study of development and evolution?. *International Journal of Developmental Biology*, 2004, 40.4: 727-733.
- SOARES**, Daphne; NIEMILLER, Matthew L. Sensory adaptations of fishes to subterranean environments. *Bioscience*, 2013, 63.4: 274-283.
- VARATHARASAN**, Nirupa; CROLL, Roger P.; FRANZ-ODENDAAL, Tamara. Taste bud development and patterning in sighted and blind morphs of *Astyanax mexicanus*. *Developmental Dynamics*, 2009, 238.12: 3056-3064.
- WILKENS**, Horst; STRECKER, Ulrike. Convergent evolution of the cavefish *Astyanax* (Characidae, Teleostei): genetic evidence from reduced eye-size and pigmentation. *Biological Journal of the Linnean Society*, 2003, 80.4: 545-554.
- WILTSCHKO**, W.; WILTSCHKO, R. Migratory orientation of European robins is affected by the wavelength of light as well as by a magnetic pulse. *Journal of Comparative Physiology A*, 1995, 177.3: 363-369.
- WILTSCHKO**, Roswitha, et al. Two different types of light-dependent responses to magnetic fields in birds. *Current Biology*, 2005, 15.16: 1518-1523.
- WILTSCHKO**, Roswitha; WILTSCHKO, Wolfgang. Magnetoreception. *Bioessays*, 2006, 28.2: 157-168.
- YAHUI**, Zhao; CHUNGUANG, Zhang. Cavefishes: concept, diversity and research progress. *Chinese Biodiversity*, 2006, 14.5: 451-460.
- YAMAMOTO**, Yoshiyuki, et al. Pleiotropic functions of embryonic sonic hedgehog expression link jaw and taste bud amplification with eye loss during cavefish evolution. *Developmental biology*, 2009, 330.1: 200-211.