

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Fakulta rybářství a ochrany vod

Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

## Bakalářská práce

**Indukce a optimalizace mimosezónního výtěru generačních ryb  
candáta obecného (*Sander lucioperca*)**

**Autor:** Jakub Vlček

**Vedoucí bakalářské práce:** doc. Ing. Tomáš Polícar, Ph.D.

**Konzultant bakalářské práce:** Ing. Miroslav Blecha

**Studijní program a obor:** Zootechnika, Rybářství

**Forma studia:** Prezenční

**Ročník:** 3.

**Místo a rok odevzdání:** České Budějovice, 2015

#### Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem 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 bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě, případně v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných FROV JU. Zveřejnění probíhá 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 do 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 na Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

Datum: 4. 5. 2015

Podpis studenta

.....

## **Poděkování**

Jako prvním bych chtěl poděkovat doc. Ing. Tomáši Polícarovi, Ph.D. za profesionální vedení mé bakalářské práce a za užitečné rady nad rámec.

Další člověk, kterému dlužím velké díky především za praktické vedení pokusů a ochotu je Ing. Miroslav Blecha.

Bez morální i finanční podpory mých rodičů si vůbec nedokážu představit to, že bych se někdy dopracoval k odevzdání této bakalářské práce, proto jim patří obrovské poděkování.

Děkuji i všem báječným lidem, které jsem měl možnost poznat v průběhu studií jak v odborné sféře, tak v řadách přátel.

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Jakub VLČEK**  
Osobní číslo: **V11B029P**  
Studijní program: **B4103 Zootechnika**  
Studijní obor: **Rybářství**  
Název tématu: **Indukce a optimalizace mimosezónního výtěru generačních ryb candáta obecného (*Sander lucioperca*)**  
Zadávací katedra: **Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický**

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

Candát obecný (*Sander lucioperca* L.) je v současné době označován za perspektivní hospodářsky významný druh ryby, která je vhodná pro intenzivní akvakulturu realizovanou v recirkulačním akvakulturním systému (RAS). Candát obecný je proto v průběhu posledních 10ti let zaváděn do intenzivní akvakultury v Nizozemí, Francii, Belgii a Německu, kde se stává velmi oblíbeným objektem intenzivních chovů. Česká republika je tradičním a významným evropským producentem candáta obecného, který se u nás chová především v rybniční akvakultuře. Ovšem v posledních letech se také tento trend začíná v ČR měnit, kdy některé rybářské podniky začínají zavádět do praxe intenzivní chov candáta obecného využívající RAS.

Tato praxe však vyžaduje změnit tradiční management chovu candáta obecného v ČR, kdy je nutné více využívat řízený produkční cyklus tohoto rybního druhu. Významným požadavkem intenzivního chovu candáta je produkovat několikrát ročně v průběhu více výtěrových období kvalitní larvy, které budou moci být nasazeny právě do intenzivního chovu využívající RAS. Tento chovatelský prvek umožní lépe a efektivněji využít kapacitu RAS a dále kontinuálně produkovat tržní ryby candáta obecného, čímž se výrazně zvýší ekonomická efektivita a konkurenceschopnost daného chovu candáta obecného.

Cílem práce je experimentálně otestovat možnost indukce mimosezónního výtěru generačních ryb candáta obecného pocházejících z rybničních podmínek. Snahou bude řízeným teplotním a světelným režimem získat alespoň dva mimosezónní termíny výtěru, které budou konfrontovány s tradičním termínově přirozeným výtěrem candáta obecného v ČR. V rámci jednotlivých výtěrů bude hodnocena plodnost ryb, synchronizace a úspěšnost výtěru, oplozenost jiker, líhivost, kvalita a celková produkce larev. Na závěr práce budou vyhodnoceny jednotlivé parametry výtěrů generačních ryb v rámci jednotlivých termínů výtěru. Současně v práci bude zohledněno využití larev získaných v jednotlivých termínech výtěru a výhodnost této produkce larev pro dalších chov candáta obecného.

Rozsah grafických prací: **podle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy: **30 - 40 stran**

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Müller-Belecke, A., Zienert, S. (2008). Out-of-season spawning of pike perch (*Sander lucioperca* L.) without the need for hormonal treatments. *Aquac. Res.* 39: 1279-1285.

Policar, T., Stejskal, V., Kristan, J., Podhorec, P., Svinger, V., Blaha, M. (2012). The effect of fish size and stocking density on the weaning success of pond-cultured pikeperch *Sander lucioperca* L. juveniles. *Aquaculture International*. DOI: 10.1007/s10499-012-9563-z.

Policar, T., Bláha, M., Křišťan, J., Stejskal, V. (2011). Kvalitní a vyrovnaná produkce rychleného plůdku candáta obecného (*Sander lucioperca*) v rybnících. *Edice Metodik (Technologická řada)*, FROV Vodňany, č. 110: 46s.

Policar, T., Stejskal, V., Bláha, M., Alavi, S.M.H., Kouřil, J. (2009).

Technologie intenzivního chovu okouna říčního (*Perca fluviatilis* L.). *Edice metodik (Technologická řada)*, FROV JU Vodňany 89: 51 s.

Ronyai, A. (2007). Induced out-of-season and seasonal tank spawning and stripping of pike perch (*Sander lucioperca* L.). *Aquac. Res.* 38: 1144-1151.

Zakes, Z., Szczepkowski, M. (2004). Induction of out-of-season spawning of pikeperch, *Sander lucioperca* (L.). *Aquac. Int.* 12: 11-18.

Zakes, Z. (2007). Out-of-season spawning of cultured pikeperch *Sander lucioperca* (L.). *Aquac. Res.* 38: 1419-1427.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Tomáš Policar, Ph.D.**


Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Konzultant bakalářské práce: **Ing. Miroslav Blecha**


Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Datum zadání bakalářské práce: **7. prosince 2012**

Termín odevzdání bakalářské práce: **30. dubna 2014**

  
prof. Ing. Otomar Línhart, DrSc.  
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA  
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
FAKULTA RYBÁŘSTVÍ A OCHRANY VOD  
Zátiší 728/II  
389 25 Vodňany (2)

  
doc. Ing. Pavel Kozák, Ph.D.  
ředitel

V Českých Budějovicích dne 14. února 2013

## Obsah

1. Úvod.....	8
2. Literární přehled.....	9
2.1. Systematické zařazení .....	9
2.2. Výskyt candáta obecného .....	9
2.3. Popis a stavba těla .....	9
2.4. Nároky na prostředí .....	10
2.5. Potrava.....	10
2.6. Rychlost růstu.....	11
2.7. Hospodářský význam .....	11
2.8. Rozmnožování.....	11
2.9. Vývoj jiker a embryonální perioda.....	12
2.10. Manipulace s rybami a používané přípravky.....	14
2.10.1. Anestezie .....	14
2.10.2. Hormonální přípravky .....	16
2.10.3. Dezinfekční přípravky .....	18
2.11. Způsoby výtěru.....	18
2.11.1. Získání generačních ryb pro výtěr .....	18
2.11.2. Přirozený výtěr .....	18
2.11.3. Poloumělý výtěr bez nebo s použitím hormonální stimulace .....	18
2.11.4. Umělý výtěr.....	20
2.11.4.1. Kontrola ovulace .....	20
2.11.4.2. Výtěr mlíčáků .....	21
2.11.4.3. Výtěr jikernaček .....	21
2.11.4.4. Osemenění a odlepkování jiker .....	21
2.11.4.5. Povýtěrová mortalita generačních ryb.....	22
2.12. Hodnocení spermatu.....	22
2.13. Mimosezónní výtěr.....	22
2.13.1. Význam mimosezónního výtěru.....	22
2.13.2. Faktory ovlivňující úspěšnost výtěru / mimosezónního výtěru .....	23
2.13.3. Kontrola vývoje ovocytů .....	23
2.13.4. Pokusy s mimosezónním výtěrem .....	24
3. Materiál a metodika.....	27
3.1. Materiál .....	27
3.1.1. Místo a termín uskutečnění pokusu .....	27
3.1.2. Dezinfekční přípravky .....	27

3.1.3. Anestetikum.....	28
3.1.4. Hormonální přípravek .....	28
3.1.5. Použité nářadí a pomůcky .....	28
3.1.6. Výtěrová hnízda .....	28
3.1.7. Líhňářská kolíbka pro odlov larev.....	28
3.2. Metodika.....	29
3.2.1. Organizace pokusu .....	29
3.2.2. Zajištění generačních ryb .....	30
3.2.3. Studená perioda (SP).....	30
3.2.4. Preventivní koupele.....	32
3.2.5. Fotoperioda při SP.....	32
3.2.6. Časný výtěr – SP 122 dní .....	33
3.2.6.1. Přesun ryb do RAS .....	33
3.2.6.2. Fototermální perioda .....	33
3.2.6.4. Injikace generačních ryb.....	34
3.2.6.5. Výtěr ryb.....	34
3.2.6.6. Oplozenost a líhňivost jiker.....	35
3.2.6.7. Inkubace jiker .....	36
3.2.6.8. Stanovení počtu rozplavaných larev.....	36
3.2.6.9. Povýtěrová mortalita generačních ryb.....	36
3.2.7. Běžný výtěr – SP 149 dní .....	37
3.2.7.1. Fototermální perioda .....	37
3.2.7.2. Injikace generačních ryb.....	37
3.2.7.3. Výtěr ryb.....	37
3.2.7.4. Inkubace jiker .....	37
3.2.8. Pozdní výtěr – SP 223 dní .....	38
3.2.8.1. Přesunutí ryb k pokusu .....	38
3.2.8.2. Fototermální perioda .....	38
3.2.8.3. Injikace generačních ryb.....	38
3.2.8.4. Přehled průběhu teplot – SP 223 dní .....	39
3.2.8.5. Oplozenost a líhňivost .....	39
3.2.9. Hodnocení spermatu.....	39
3.2.10. Stanovování velikosti jiker a larev .....	39
3.2.11. Zpracování výsledků .....	40
4. Výsledky .....	40
4.1. Úspěšnost výtěrů a kvalita oplozených hnízd.....	40

4.2. Oplozenost jiker .....	40
4.3. Líhivost jiker .....	41
4.4. Délka inkubační doby.....	42
4.5. Velikost jiker / larev 0 / larev 2.....	42
4.6. Množství larev získaných od jedné jikernačky.....	43
4.7. Výsledky pozorování spermatu .....	44
4.8. Srovnání doby motility a podílu pohyblivých spermií v závislosti na délce studené periody....	44
4.9. Mortalita generačních ryb po výtěru .....	45
5. Diskuze.....	46
6. Závěr .....	49
7. Seznam použité literatury.....	50



## 1. Úvod

Candát obecný - *Sander lucioperca* (Lineatus, 1758), je jeden z nejperspektivnějších druhů ryb moderní sladkovodní akvakultury především v Evropě (Zarski a kol., 2012). Z ekonomického hlediska je chov candáta v řízených podmínkách velmi zajímavý (Hilge a Steffens, 1996). Candát je ceněný hlavně pro své velice kvalitní a chutné maso (Zakes, 2009). V roce 1950 byla produkce v euroasijském vnitrozemí 48 800 t, poté došlo k lineárnímu propadu až na 14 100 t v roce 2005. V roce 2009 bylo v akvakultuře vyprodukováno celkem 653 t tržních ryb a výlověk z volných vod činil 14 739 t. Většina tržních ryb, které jsou dodávány na trh, pochází především z volných vod Ruska, Polska, Švédska, Finska a Ukrajiny. Antropogenními vlivy a nadměrným lovem se výlovky každoročně snižují (FAO, 2015). Candáti jsou většinou loveni tenaty, ve kterých často bohužel uvízne i násadový materiál (Van Densen, 1987; Turunen, 1996). Pro uspokojení aktuální poptávky na trhu je třeba produkovat v akvakultuře stále větší množství tržních ryb. Daná situace však vyžaduje modernizaci produkčního chovu. Základem pro zvýšení množství na trh dodávaných tržních ryb, je zvládnutá technologie kontrolované reprodukce. Mimosezónní výtěr generačních ryb candáta obecného je jednou z možných cest jak docílit produkce dostatečného množství kvalitních násad v průběhu celého roku (Rónyai, 2007). Okounovité ryby a především candát patří mezi druhy ryb, u kterých byla v poslední době ověřována možnost mimosezónního výtěru za pomoci hormonální indukce ovulace (Dabrowski a kol., 1994; Barry a kol., 1995; Malison a Held, 1996; Kestemont a Melard, 2000; Zakes a Demska-Zakes, 2005). Základ mimosezónního výtěru je optimalizace termínu výtěru pomocí ovlivňování fototermální periody (Müller-Belecke, 2008). Larvy získané z mimosezónního výtěru je potom možné odchovat v podmínkách recirkulačních akvakulturních systémů (RAS) za pomoci krmení artemií (*Artemia salina*) a následně vhodným suchým krmivem (Hilge a Steffens, 1996; Schlumberger a Proteau, 1996; Zakes, 1999; Demska-Zakes a Zakes, 2002; Ljunggren a kol., 2003; Zienert a Heidrich, 2005; Szkudlarek a Zakes, 2007; Kestemont a kol., 2007). Za konstantní teploty 22 – 24 °C je možné v podmínkách RAS již za 13 měsíců dosáhnout kusové hmotnosti tržních ryb až 900g (Zienert a Heidrich, 2005).

## 2. Literární přehled

### 2.1. Systematické zařazení

Říše : *Animalia* - živočichové

Kmen : *Chordata* – strunatci

Podkmen : *Vertebrata* – obratlovci

Třída : *Osteichties* – ryby

Nadřád : *Teleostei* – kostnatí

Řád : *Perciformes* – ostnoploutví

Čeleď : *Percidae* – okounovití

Podčeleď : *Luciopercindae* - candáti

Rod : *Sander* – candát

Druh : *Sander lucioperca* – candát obecný (*Sander Lucioperca*)

### 2.2. Výskyt candáta obecného

Wilson (1999) konstatuje, že původní domovinou candáta obecného bylo povodí Dunaje a severních evropských řek. Dnes se candát obecný vyskytuje téměř ve všech státech Evropy (Pospíšil, 1998). Díky umělému vysazování je candát rozšířen po celé ČR (Dungel a Řehák, 2005). Candátů je 5 druhů včetně candáta obecného. Jeho nejbližší příbuzný je candát východní (*Sander volgense*), který se vyskytuje v severních přítocích Kaspického a Černého moře. Na území ČR je možné ho spatřit v Dyji a Moravě (Lusk a kol., 1983). Další jsou candát severoamerický (*S. vitreum*), candát kanadský (*S. canadense*) a candát mořský (*S. marinus*), (Wilson a kol., 1999).

### 2.3. Popis a stavba těla

Candát má protáhlé vřetenovité tělo, pokryté ktenoidními šupinami (Čítek, 1998). Výrazná široká tlama je vybavena takzvanými „psími“ zuby (Pospíšil, 1998). Na rozdíl od štiky (*Esox lucius*) nemá na jazyku zoubky (Durantel, 1999). V přední části hlavy candáta jsou umístěny výrazné lesklé oči. Skřelová víčka jsou částečně pokrytá šupinami (Dubský, 2003). Wilson (1999) uvádí, že hřbet je olivový a boky přecházejí v bílé břicho. Na bocích se nachází 8 - 12 černozeleňých pruhů, které postupně přecházejí směrem dolů v nepravidelné skvrnky (Hanel a Lusk, 2005). Hřbetní ploutev je rozdělena na 2 části, první hřbetní ploutev má 12 - 15 tvrdých paprsků a druhá hřbetní ploutev má 1 - 3 tvrdé a 19 - 24 měkkých paprsků. Prsní ploutev má 1 tvrdý a 14 - 15 měkkých paprsků, břišní ploutev má 1 tvrdý a 15 - 25 měkkých paprsků, řitní ploutev má 1 - 3 tvrdé a 9 - 14 měkkých paprsků. Ocasní ploutev je vykrojená a má 17 měkkých paprsků (Pospíšil,

1998). Durantel (1999) poukazuje na skutečnost, že břišní ploutev se nachází blízko prsní, což je charakteristickým znakem čeledi okounovitých.

## 2.4. Nároky na prostředí

Candát obecný preferuje spodní úseky řek a hluboké vodní nádrže (Dungel a Řehák, 2005). Běžně obývá jak vnitrozemská jezera, tak i brakické vody (Balon a kol., 1977). Dokonce je schopen trvale žít i ve slané vodě, jeho populace se vyskytují například ve Finském zálivu, či dokonce v Azovském a Černém moři (Baruš a Oliva, 1995). Čítek a kol. (1998) poukazují na skutečnost, že candát vyhledává zejména místa s písčítým či štěrko-písčítým tvrdým dnem a kvalitní vodou. Za fyziologicky optimální teplotu pro candáta lze podle Zakese (2009) považovat teplotu 22 – 27 °C, letální je hranice 37 °C. Candát je druh náročný na množství rozpuštěného kyslíku ve vodě, je ovšem schopný krátkodobě přestát hodnoty okolo 3,5 mg.l<sup>-1</sup>. Snáší pH v rozmezí 5 - 9 (Füllner a kol., 2007). Zejména váčkový plůdek je citlivý k vyšším hodnotám pH (Dubský, 1998). Nesnáší často zakalené vody (Dubský a kol, 2003). Je přizpůsobený životu ve větších hloubkách. Dobře se orientuje v neprosvětlených prostorách díky velkému množství tyčinek na sítnici oka (Hanel a Lusk, 2005). Candát se soustředí stejně jako většina okounovitých ryb do hejn složených z jedinců stejné velikosti. Jedinci větší než 4 - 5 kg jsou převážně samotářští (Durantel, 1996). Candát je oproti štice vhodnější rybou pro podmínky rybníčních intenzivních chovů s nedostatkem úkrytů (Adámek a Opačák, 2005).

## 2.5. Potrava

Candát přechází na příjem exogenní potravy 6. až 9. den po vylíhnutí. V této době ale stále využívá energetických zásob ze žloutkového váčku. K jeho úplnému vstřebání dochází 12. až 14. den po vylíhnutí (Čítek a kol., 1998; Dubský, 1998). Dubský a kol. (2003) uvádí, že larvy začínají přijímat potravu už před naplněním plynového měchýře. Candát se v první fázi živí podobně jako většina druhů ryb v raných vývojových stádiích, a to nejjemnějším zooplanktonem (Reiser a kol., 1983). Musil a Kouřil (2006) konstatují, že hlavní složku potravy tvoří vířníci (*Rotifera*) společně s nauplii a kopepoditovými stádii klanonožců. Jak plůdek odrůstá, je schopný lovit i větší zástupce zooplanktonu – převážně buchanky a perločky (Polícar a kol., 2011a). Později se na seznam potravy celkem často dostávají i larvy pakomárů a další benthická potrava (Musil Kouřil, 2006). Hlavní složkou potravy plůdku candáta jsou larvální stadia ostatních druhů ryb - plotice obecná (*Rutilus rutilus*), slunka obecná (*Leucaspius delineatus*), ouklej obecná (*Alburnus alburnus*) a perlín ostrobřichý (*Scardinius erythrophthalmus*) (Hanel a lusk, 2005). Je nutné

poznámenat, že ne všichni jedinci přecházejí v prvním roce na dravý způsob výživy (os. sděl. Regenda, 2013). V dospělosti se candát živí převážně drobnějšími rybami od 50 do 100mm (Durantel, 1996). V rámci intenzivní akvakultury je možné candáta krmit suchým krmivem, a to už při jeho počátečním rozkrmu, nebo při konverzi rychleného plůdku na suché krmivo a následným odchovem do tržní velikosti (Polícar a kol., 2014). Navzdory tomu, že má candát poměrně krátký a málo roztažitelný žaludek (Dyk, 1952), bylo ověřeno, že roček je schopen požít ryby ve velikosti až 37% délky svého těla, u štiky je to 51% (Adámek a Opačák, 2005). Candát má podobně jako štika sklony ke kanibalismu, který se projevuje hlavně při nedostatku potravy. Kanibalismus byl pozorován již ve velikosti 12 mm (Baruš a Oliva, 1995; Hanel a Lusk, 2005; Horváth a kol., 2002).

## **2.6. Rychlost růstu**

Rychlost růstu candáta je ovlivněna zejména dostatkem potravy a kvalitou prostředí (Hartman a Regenda, 2014). V běžných podmínkách dosahuje v 1. roce života délky 63 - 200 mm (10-60g), ve druhém roce 130 - 300 mm, ve 3. roce délky 188 - 350 mm. Každým dalším rokem přirůstá průměrně 0,5 - 1 kg (Baruš a Oliva, 1995; Dubský a kol., 2003; Dyk, 1952; Lusk a kol., 1992; Stráňai, 2000). V optimálních podmínkách může růst podstatně rychleji (Dubský a kol., 2003). Bylo prokázáno, že jikernačky rostou o 10 - 15% rychleji než mlíčáci (Kostomarov, 1958; Podubský a Štědranský, 1967; Füllner a kol., 2007).

## **2.7. Hospodářský význam**

Candát obecný je jednou z našich nejcennějších ryb jak v rámci akvakultury, tak i ve volných vodách (Pokorný a kol., 2004). Již za éry významného rybníkářského průkopníka Josefa Šusty málokdy zaostávalo množství vyprodukovaného candáta za štikou obecnou (Šusta, 1898). Candát je oblíbeným předmětem chovu i lovu hlavně díky svému vysoce kvalitnímu masu (Caligiani, 2001). Jeho pozitivní vliv ve vodních ekosystémech spočívá také ve vyvíjení predčního tlaku na menší kaprovité ryby, a tím zlepšení kvalitativních parametrů vody (Dörner a kol., 1999).

## **2.8. Rozmnožování**

Candát pohlavně dospívá později než štika obecná, a to nejčastěji mezi 3. – 5. rokem života. Mlíčáci zpravidla o rok dříve než jikernačky (Durantel, 1999). Zakes a Demska-Zakes (1996) uvádí, že oogeneze začíná u jikernaček o celkové délce (TL) - 79 mm a u stejně velkých mlíčáků byly nalezeny spermatogonie. Raikova-Petrova a Zivkov (1998) pozorovali candáty v jezeru Ovcharitsa (Bulharsko), kteří byli schopni výtěru

v nečekaných velikostech, a to jikernačky o TL – 278 mm a hmotnosti 230 g; mlíčáci TL 213 mm a hmotnosti 110 g. Výtěrové období candáta na severní polokouli začíná koncem dubna a končí na začátku června (Hanel a Lusk, 2005). Termín výtěru candáta lze spojit s obdobím kvetení třešně (Baruš a Oliva, 1995). V některých lokalitách candát migruje, jedná se především o větší jezera a významnější vodní toky. Migrace začíná většinou jeden měsíc před datem výtěru (Virbickas a kol., 1974; Lehtonen a Toivonen, 1981; Koed a kol., 2000). Faktory, které ovlivňují migraci, jsou pravděpodobně teplota vody, struktura dna a výtěrový substrát (Hokanson, 1977). V brakických vodách má důležitou roli salinita (Wootton, 1990). Většinou se délka migrace pohybuje do 35 km. Ovšem byly pozorovány i migrace delší než 250 km (Lehtonen, 1982; Lehtonen a Toivonen, 1987). Například populace candátů žijící v brakických vodách Černého moře se vytírá v řece Dněpr a to několik set kilometrů ve vnitrozemí (Erm, 1981). Výtěr probíhá v přirozených podmínkách nejčastěji při teplotě 8 - 16 °C (Reiser a kol., 1983; Tesch, 1959; Gaygalas a Gyarulaytis 1974; Virbickas a kol., 1974; Sarmasik a Timur, 1994; Ruuhijärvi a Hyvärinen, 1996). Mlíčák obsazuje jako první vhodné výtěrové místo a připravuje jej na výtěr (Horváth a kol., 2002). Výtěr je litofilní, to znamená, že generační ryby vyhledávají písčité nebo štěrkovité dno, které je v ideálním případě porostlé kořínky a to v hloubce 1 - 3 metry (Dubský a kol., 2003; Lappalainen a kol., 2003). Ovšem v severských jezerech byl pozorován výtěr i v hloubce kolem 8 m (Svärdson a Molin, 1973). Erm (1981) konstatuje, že mlíčák je na trdlišti jako první, ploutvemi ho upraví a vyčistí od sedimentu. Mlíčák je v průběhu výtěru agresivní, hlídá hnízdo a ploutvemi přivádí k jikrám čerstvou vodu. Hnízdo má většinou v průměru okolo 500 mm (Erm, 1981; Hanel a Lusk, 2005). Samotný výtěr trvá 10 – 15 minut. Nejčastěji k výtěru dochází pozdě v noci, či v ranních hodinách (Deelder a Willemsen, 1964; Salojärvi a kol., 1986; Schlumberger a Proteau, 1996).

## **2.9. Vývoj jiker a embryonální perioda**

Jikry jsou lepivé a přichytávají se na výtěrovém substrátu či okolních rostlinách (Botsjarnikova, 1952). Jikry mají žlutozelenou až šedo zelenou barvu (Podubský a Štědranský, 1967; Musil a Kouřil, 2006). Teplota při inkubaci jiker se v přirozených podmínkách pohybuje mezi 11,5 – 20 °C (Muntyan, 1977), optimální teplota je 12 – 16 °C (Kokurewicz, 1969). Na délku inkubace má vliv především teplota vody. Vývoj jiker trvá po dobu 80 - 150 °D nejčastěji ovšem 110 – 120 °D (Pokorný a kol., 2003; Mareš a Burleová, 1983; Musil a Kouřil, 2006; Zakes, 2009). Relativní plodnost je zahraničními autory často udávána v počtu jiker na 1 g hmotnosti jikernačky. Do jisté míry je relativní

plodnost závislá na TL a hmotnosti jikernačky. Obecně se dá říci, že čím starší a větší jsou generační ryby, tím je i vyšší relativní plodnost stejně jako velikost jiker a následně larev. Relativní plodnost se pohybuje v mezích od 48 do 467 ks.g<sup>-1</sup> hmotnosti jikernačky (Erm, 1961; Gaygalas a Gyarulaytis, 1974). Nejčastěji pozorovanou hodnotou bylo 110-400 ks jiker.g<sup>-1</sup> hmotnosti jikernačky (Čítek a kol, 1998; Erm, 1961; Gaygalas a Gyarulaytis, 1974; Ilenkova, 1974; Willemsen, 1977; Winkler a kol., 1989; Kosior a Wandzel, 2001). GSI u jikernaček je nejčastěji od 7 do 22 % (Musil a Kouřil, 2006; Zakeš, 2009). Gonado somatický index (GSI) u mlíčáků se pohybuje okolo 1 % (Zainuri, 1989). Velikost nenabobtnalých jiker se pohybuje od 0,6 do 1,4 mm s průměrnou hodnotou 0,9 mm a nabobtnalé jikry jsou velké od 0,9 do 1,6 mm (Erm 1961; Gaygalas a Gyarulaytis, 1974; Ilenkova, 1974; ON 46 6835, 1987; Demirkalp, 1992; Zakes, 2009). Ve většině publikací včetně Čítek a kol. (1998), je uváděno, že se oční body objevují, po uplynutí přibližně třetiny inkubační doby. Vylíhnutá larva nemá vyvinuté oči, oční pigment viditelně vybarví oči až 3. den po vykulení (os. sděl. Blecha, 2013). Na obr. č. 1 je vidět čerstvě vykulená larva candáta, která ještě nemá viditelný oční pigment.



obr. č. 1 – právě vylíhlá larva candáta.

Vykulené larvy jsou velké 4,5 - 5,5 mm (Dubský a kol., 2003; Schlumberger a Proteau, 1996), ovšem Unger (1938) pozoroval larvy velké i 7 mm. Objem žloutkového vaku po vykulení se pohybuje na úrovni okolo 0,25 - 0,30 mm<sup>3</sup> (Stenfeld a kol., 2011). Přechod na exogenní způsob výživy začíná ještě před naplněním plynového měchýře a to již 3. - 4. den po vykulení ve velikosti 6 - 8 mm (Bastl, 1978; Dubský a kol., 2003; Ljunggren, 2002;

Musil a Peterka, 2005). Pohyb je usnadněný tukovou kapénkou, která ho nadlehčuje a umožňuje mu tak vznášení se ve vodním sloupci. Candát 6. - 8. den po vykulení opakovaně plave k hladině a polyká vzduchovou bublinu (Dubský a kol., 2003; os. sděl. Blecha, 2013). Na obr. č. 2 je larva s naplněným plynovým měchýřem.



obr. č. 2 – larva candáta ve stáří 15 dnů

## 2.10. Manipulace s rybami a používané přípravky

### 2.10.1. Anestezie

Anestezie je fyziologický stav organismu, který je u ryb charakterizován sníženou vnímavostí k vnějším podnětům, doprovázený výrazným snížením fyziologických funkcí. Provádí se z důvodu usnadnění manipulace s rybami, zejména při injekční aplikaci preparátů a umělých výtěrech. Anestezie také zamezuje nekontrolovaným pohybům ryb a tak i jejich případnému poškození při práci s nimi. Provádí se formou koupelí nebo nástříkem přípravku na žábry (Pokorný a kol., 2003).

Průběh anestezie se skládá ze 4 fází:

1. fáze: **klidné chování** - ryba je ve fyziologické poloze, má pravidelné dýchací pohyby, bez potíží se vyhýbá překážkám.

2. fáze: **excitace** – ryba je ve fyziologické poloze, neklidné chování, rychlé dýchací pohyby, naráží do překážek.

3a. fáze: **celkové povrchní znečitlivění** (sedace a imobilizace) – ryba vykazuje sníženou aktivitu, pomalu se naklání na bok, dýchací pohyby jsou klidné, pravidelné a zpomalují se.

3b. fáze: **celkové úplné znecitlivění** (stav odpovídá celkové narkóze) – ryba je na boku, má naprostou ztrátu pohyblivosti, dýchací pohyby jsou klidné, hluboké, pomalé.

4. fáze – **hraniční mez hluboké narkózy** - dýchací pohyby jsou zastavené nebo jen povrchní, ryba je na boku, ztráta obraných reflexů včetně akustického.

Všechny fáze anestezie na sebe plynule navazují. Zotavení probíhá v opačném pořadí, přechody mezi fázemi už nejsou tolik výrazné. Anestezii ryb lze řídit koncentrací a délkou koupele. Významný vliv má také teplota vody (Kolářová a kol., 2007).

### **Používané anestetické přípravky**

- Hřebíčkový olej

Je jedním z nejčastěji používaných anestetik v ČR. Jedná se o hnědavu kapalinu s charakteristickou vůní, používanou v humánní medicíně jako analgetikum. Účinnou složkou hřebíčkového oleje je eugenol. Pro použití při práci s rybami je velice vhodný, protože má rychlý nástup účinku a je poměrně bezpečný (Pokorný a kol., 2003). Jako účinná dávka se používá koncentrace  $0,03 \text{ ml/l}^{-1}$  (Policar a kol., 2011a). Přípravek je možné aplikovat na předpis veterinárního lékaře a má stanovenou ochrannou lhůtu 500 denních stupňů (Kolářová a kol., 2007).

- 2-phenoxyethanol

Chemické složení je přesně specifikované jako ethylen glycol monophenyl ether. Je to bezbarvá kapalina s rychlým nástupem účinku (1 - 2 min.). Používá se v koncentraci  $0,025 - 0,5 \text{ ml/l}^{-1}$  (Pokorný a kol., 2003). Protože tento přípravek nemá stanoven maximální limit reziduí (MLR) není registrován, a jeho použití je možné realizovat pouze na předpis veterinárního lékaře. Ochranná lhůta je 500 °D (Kolářová a kol., 2007).

- MS 222 (Sandoz)

Je méně známý přípravek, který je k dostání ve formě bílého prášku (Pokorný a kol., 2003). MS 222 neboli triacin methanosulfonat je dobře rozpustný ve vodě a pro okounovité ryby se používá koncentrace  $8 - 100 \text{ mg/l}^{-1}$ . MS 222 lze v ČR použít jako



registrovaný léčivý přípravek pro ryby. Ochranná lhůta při použití přípravku je potom 70 °D (Kolářová a kol., 2007).

- **Quinaldine**

Roztok hnědé barvy s rychlým nástupem účinku. Používá se v koncentracích 0,01 - 0,02 ml/l<sup>-1</sup>. Účinek nastupuje za 1 - 2 minuty a rekonvalescence trvá 2 - 3 minuty (Pokorný a kol., 2003).

- **Menocain**

Účinnou látkou je 3-ethoxycarbonylfenyl. Je to žlutobílá krystalická látka dobře rozpustná ve vodě. Koncentrace by měla být od 0,067 - 0,1 g/l<sup>-1</sup>. Optimální expoziční doba po vložení ryb do lázně je 10 minut. Ochranná lhůta je stanovena na 3 dny (Kráal a Svobodová, 1990)

Další možnou alternativou jsou přípravky jako Propoxate R7464 a další. V praxi je odzkoušena široká škála anestetik, avšak jejich skladování nebo aplikace bývá složitější, a proto se tak často nepoužívají. (Pokorný a kol., 2003).

### **2.10.2. Hormonální přípravky**

Používání hormonálních přípravků se stává v líhňařské praxi běžným postupem pro indukci a synchronizaci ovulace generačních ryb (Zohar and Mylonas, 2001). Aplikace hormonálních přípravků se provádí zpravidla injekčně. Homogenizovaný roztok vpravujeme do těla ryby třemi základními způsoby:

- aplikací do hřbetní svaloviny
- aplikací do dutiny tělní, mezi střední kličky v místě jamky prsní ploutve
- perikardiální aplikací – k srdci (Čítek a kol., 1998; Kouřil a kol., 2011).

#### **Nejčastěji používanými hormonálními přípravky v chovu ryb jsou:**

- **Supergestran**

Je čirý bezbarvý roztok s účinnou látkou Lecirelinem obsahující GnRHa (Policar a kol., 2011b). Přípravek je registrován a distribuován prostřednictvím sítě lékáren. Tento preparát je využíván hlavně pro synchronizaci říje u některých teplotokrevných zvířat. Podává se v dávce 25 - 50 µg GnRHa.kg<sup>-1</sup>. Za předpokladu použití kvalitních generačních ryb a správné aplikace přípravku Supergestran lze dosáhnout 80 - 100 %

vytřených jikernaček při relativní hmotnosti vytřených jiker 12 - 15 %. To znamená, že můžeme počítat s pracovní plodností od 150 do 250 tis. ks jiker. kg<sup>-1</sup> živé hmotnosti jikernačky. Nižší dávky pod 10 µg.kg<sup>-1</sup>, se prokázaly jako nedostatečně účinné, oproti tomu vyšší dávky než 100 µg.kg<sup>-1</sup> neměly pozitivní vliv na zvýšenou produkci jiker (Kouřil a Hamáčková, 2005).

- **Chorulon**

S účinnou látkou HCG (humánní choriogonadotropin) je úspěšně používán v Polsku. Metoda se zakládá na jednorázové injekční aplikaci preparátu do těla ryby (Zakes a Demska-Zakes, 1999). Pomocí HCG je možné spouštět ovulaci i u méně zralých jikernaček (Musil a Kouřil, 2006). Nejčastěji se tento preparát aplikuje v množství od 400 IU.kg<sup>-1</sup> do 500 IU.kg<sup>-1</sup> živé hmotnosti ryby (Policar a kol., 2011a; Zakes a Demska-Zakes (1999). Použití je nutné konzultovat s veterinářem a také získat výjimku pro dovoz a použití od státní veterinární správy (Policar a kol., 2011a).

- **Ovopel**

Je přípravek pocházející z Maďarska, obsahující funkční analog GnRH a dopaminergní inhibitor (Musil a Kouřil, 2006). Je dodáván v peletách, které obsahují 18 - 20 µg mGnRH a 8 - 10 mg dopaminergního inhibitoru – metoclopramidu (Kaminski a kol., 2004).

- **Kapří hypofýza**

Hlavním zdrojem kapřích hypofýz jsou zpracovny ryb, ve kterých se při zimním zpracování ryb hypofýzy odebírají. Poté se dehydratují pomocí acetonu. Hlavním hormonem obsaženým v kapří hypofýze je gonadotropin (Kouřil a Hamáčková, 1999). Ověřená dávka je 3 – 4 mg.kg<sup>-1</sup>. Podává se jednorázově do hřbetní svaloviny pomocí injekční stříkačky. Tato metoda je rozšířená zejména v Česku, Německu, Maďarsku, ale i jinde (Musil a Kouřil, 2006).

- **Dagin**

Je komerčně dostupný analog GnRH vyvinutý v Izraeli. Obsahuje vysoce účinný analog lososího GnRH, dopaminergní inhibitor Metoclopromid a jako konzervant je obsažen inertní cukr manitol. Velkou výhodou při použití tohoto přípravku je jeho vysoká rozpustnost ve vodě oproti jiným (Křišťan, 2009)

### **2.10.3. Dezinfekční přípravky**

Čítek a kol. (1998) poukazuje na skutečnost, že generační candáti jsou nesmírně náchylní na napadení parazitickými plísněmi. Vstupní bránou pro plísně jsou i malé oděrky, které ryby utrpí při manipulaci a při výtěru, proto se s nimi musí zacházet velice opatrně (Dungel a Řehák, 2005). Po hormonální stimulaci či po umělém výtěru je vhodné ryby podrobit dezinfekční koupeli. Často se používá roztok manganistanu draselného o koncentraci  $0,1 \text{ g.l}^{-1}$  (Policar a kol., 2011a).

## **2.11. Způsoby výtěru**

### **2.11.1. Získání generačních ryb pro výtěr**

Nejčastěji se používají pro výtěr ryby od 1 do 2 kg. Jikernačky o této hmotnosti produkují 50 - 300 tis. ks. jiker (Čítek a kol., 1998). Pro umělý nebo poloumělý výtěr se nejčastěji používají ryby získané při jarních či podzimních výlovech 1 - 3 měsíce před datem přirozeného výtěru (Zakes a Szczepkowski, 2004; os. sděl. Blecha, 2012). Pohlavní dimorfismus není kromě období výtěru zvlášť výrazný. Mlíčáci mají menší párové ploutve než jikernačky. Jikernačky mají světlejší a oválnější břicho, oproti tomu mlíčáci jsou v břišních partiích tmavší a nemají tak výrazně zvětšenou tělní dutinu (Dubský a kol., 2003).

### **2.11.2 Přirozený výtěr**

Nejméně používanou metodou reprodukce candáta je přirozený výtěr ve výtažnicích nebo hlavních rybnících (Čítek a kol., 1998). Tento způsob výtěru je sice nejjednodušší, ale také nejméně spolehlivý (Musil a Kouřil, 2006). Rybníky do rozlohy 20 ha se nasazují jedním párem generačních ryb na 2 ha. Rybníky s výměrou nad 20 ha nasazujeme jedním párem generačních ryb na 3 ha (Čítek a kol., 1998). Výtěr začíná při zvýšení teploty na 10 - 15°C (CEMAGREF, 1990; Horvath a kol., 1984). Roqueplo (1986) uvádí, že výtěr často nastává po snížení atmosférického tlaku. Podle Čítka a kol. (1998) je možné od jedné jikernačky  $\text{Ca}_g$  získat až 5 tis.ks. ročka candáta. V ideálním případě je vhodné  $\text{Ca}_1$  lovit pod hrází, odděleně od obsádky kapra a generačních ryb, které se loví v lovišti (Kouřil a Hamáčková, 2005).

### **2.11.3. Poloumělý výtěr bez nebo s použitím hormonální stimulace**

O vývoj poloumělého výtěru se zasloužil zejména Josef Šusta, který se zabýval chovem a kontrolovanou reprodukcí candáta již od roku 1784 (Hanel a Lusk, 2005). Šustova metoda se zakládá na principu výtěru generačních ryb většinou v sádkách s písčitém dnem na předem připravená výtěrová hnízda. V praxi bylo odzkoušeno několik modifikací

poloumělého výtěru (Kouřil a Hamáčková, 2005). Základem je výtěrové hnízdo. Původně byla hnízda vyrobena ze 4 – 5 cm silných plátů nařezaných ostřicových kopců. V současnosti jsou používány častěji trvanlivější materiály, zejména polyamidová stříž, umělý trávník, sisalová vlákna, vyřazené rybářské sítě apod. (Čítek a kol., 1998; Hartman a Regenda, 2014). Zpravidla se používají hnízda o velikosti 50 x 50 cm až 100 x 100 cm. Připevňují se k armovacímu železu, aby neplavala. V případě, že jsou hnízda umísťována například do sádky, je třeba nechat mezi nimi rozestup 2-3 metry. Hnízda se umísťují do hloubky v rozmezí od 70 do 150 cm (Fülner a kol., 2007; Policar a kol., 2011a; os. sděl. Průcha, 2014). Do sádek či nádrží se vysazují páry generačních ryb, ideálně vždy o jeden pár méně než je počet hnízd. Větší nabídka hnízd umožňuje vytvoření kvalitních párů (Mareš a Burleová, 1983; os. sděl. Průcha, 2013; Policar a kol., 2011a). Výtěrová hnízda je možné umísťovat do manipulačních rybníků s tvrdým dnem, do zemních a betonových sádek, také do údolních nádrží a do betonových či plastových odchovných nádrží situovaných do hal nebo ve venkovních podmínkách (Musil a Kouřil, 2006; ON 46 6835, 1987). Poloumělý výtěr je také možné provádět v zemních či příkopových rybníčcích (Lusk a Krčál, 1988). Další významnou modifikací poloumělého výtěru, je výtěr v klecích, které jsou umísťovány do jezer či sádek. Například v Polsku je úspěšně prováděn výtěr v klecích o rozměru 2 x 2 x 2 m a velikostí ok 6 – 10 mm do kterých se nasazují 2 - 3 páry generačních candátů (Zakes, 2009). V Rusku se používají klece o velikosti 6 x 2 x 1,4 m a jsou rozdělené na tři části. Do každé sekce se potom umísťuje jeden pár generačních ryb. Klece jsou umísťovány asi 30 cm nade dnem a 50 cm pod hladinou. Konstrukce klecí je kovová nebo dřevěná, potažená hustou sítovinou. Na dno se umísťují výtěrové podložky. V Německu se používají menší klece (120 x 60 x 80 cm) pro jednu jikernačku a 1 - 2 mličáky (Čítek a kol., 1998). Dnes se čím dál častěji provádí výtěr v různě situovaných nádržích recirkulačních či průtočných systémů. Pro tento účel jsou využity nádrže o objemu okolo 1 m<sup>3</sup> do, kterých jsou umístěna hnízda a jeden pár generačních ryb (M'Hetli, 2011). Dříve se různé modifikace Šustovy metody prováděly bez hormonální stimulace. Ryby se sice vytřeli, ovšem výtěr trval delší dobu a nebyl synchronizovaný (Hartman a Regenda, 2014). V současnosti je v důsledku intenzifikace často praktikována stimulace a synchronizace výtěru injekčním podáním exogenních hormonálních přípravků jikernačkám (Chorulon, Supergestran apod.). Hormonální stimulace mličáků se zpravidla neprovádí, protože se vytírají poměrně spolehlivě a ochotně i bez podání hormonů (Musil a Kouřil, 2006). Hnízda je třeba kontrolovat a zapisovat si datum a čas výtěru. Při výtěru jednoho páru se dá počítat

s umístěním (50) 100 - 300 tis. ks. jiker na plochu 1 m<sup>2</sup> hnízda v závislosti na velikosti a kondici generačních ryb (ON 46 6835, 1987; Dubský, 1998). Oplozenost při poloumělém výtěru dosahuje až 95% (Füllner a kol., 2007). Hartman a Regenda (2014) uvádějí, že nejvhodnější teplota pro inkubaci jiker je v rozmezí 12 – 15 °C. Vyšší teplota dobu inkubace zkrátí a nižší naopak prodlouží - tím je i zvýšené riziko napadení nahloučených jiker plísní rodu *Saprolegnia sp.* Podle ON 46 6835 (1987) jsou ztráty v průběhu inkubace v závislosti na oplození, teplotě, kvalitě vody a navrstvení jiker v rozmezí od 20 - 45 (80) %.

### **Transport výtěrových hnízd s jikrami**

Hartman a Regenda (2014) uvádějí, že transport hnízd je možný ve fázi očních bodů, tj. přibližně po uplynutí 46 - 56 D°, nejčastěji 4 - 5 dní po výtěru. V této fázi nejsou jikry tolik náchylné vůči manipulaci a hlavně otřesům. Na krátké vzdálenosti se hnízda převážejí v koších, překrytých vlhkým mechem. Pokud transport trvá delší dobu, vkládají se hnízda do speciálních termo-izolačních beden s rámečky pokrytými ledem, a takto zajištěné a jikry se distribuují. Po adaptaci na teplotu vody se hnízda opatrně vysazují do předem připravených výtažníků či jiných odchovných nádrží (Čítek a kol., 1998).

#### **2.11.4. Umělý výtěr**

Candát je jedním z posledních hospodářsky významných druhů ryb, u kterého byla metoda umělého výtěru ověřena. Pro uskutečnění umělého výtěru je nutné použít hormonální přípravky pro stimulaci ovulace jikernaček – (viz. kapitola 2.10.2. Používané hormonální přípravky). Ideální je umisťovat generační ryby do menších, rychle napustitelných nádrží (většinou v halách). Mlíčáky odděleně od jikernaček po menších skupinách cca 5 - 10 ks (Musil a Kouřil, 2006). Pro výtěr a samotnou ovulaci jiker je nejvhodnější teplota v rozmezí 14 – 16 °C. Důležitý je také světelný režim, který by měl být podle Kucharczyka a kol. (2007) 12hL / 12hD.

##### **2.11.4.1 Kontrola ovulace**

Délka latence (délka období od aplikace hormonálního přípravku po vlastní výtěr generačních ryb) pohybuje od 24 - 120 hod. a to v závislosti především na teplotě vody, druhu přípravku a stupni zralosti ryb (Kouřil a kol., 2011; Křišťan a kol., 2012; Polícar a kol., 2011b; Zakes a Szczepkowski, 2004). Po injekci je nutno kontrolovat nástup ovulace jkernaček ve 2 – 3 hodinových intervalech. Kontrola se provádí posouzením stavu močopohlavní papily a lehkým tlakem na břišní dutinu. Pokud je močopohlavní papila prokrvená a vystouplá, lze ovulaci očekávat již v blízké době. V případě, že při stisku

břišní dutiny dochází k uvolňování jiker, je třeba ihned přistoupit k vlastnímu výtěru (Kouřil a Hamáčková, 2005).

#### **2.11.4.2. Výtěr mlíčáků**

Sperma od předem vybraných mlíčáků se odebírá do injekčních stříkaček o objemu 5 – 10 ml. Odběr se provádí masáží břišní dutiny a současným odsáváním uvolněného spermatu do injekční stříkačky. Je třeba dbát na to, aby nedošlo ke zhodnocení spermatu močí, krví, nebo vodou. Takto odebrané sperma lze krátkodobě uskladňovat v lednici při teplotě 4 – 6 °C (Policar a kol., 2011b). Od jednoho mlíčáka lze získat 0,5 – 5 ml spermatu, koncentrace se pohybuje od 16 do 26 mld.ml<sup>-1</sup> a doba motility je nejčastěji 30 – 40 s (Linhart a kol., 2011; Zakes, 2009)

#### **2.11.4.3. Výtěr jikernaček**

Při zjištění ovulace jikernaček se ryby vloží do lázně s anestetikem, kvůli snadnějšímu a šetrnějšímu výtěru (Policar a kol., 2011b). Po zklidnění jikernačky a otření močopohlavní papily se jikry vytlačí z těla masáží břišní dutiny do suché misky (Pokorný a kol., 2003; Policar a kol., 2011b). Hmotnost jedné jikry je 0,65 mg, z toho vychází přepočtem, že v jednom kilogramu suchých jiker je 1 540 000 ks (Musil a Kouřil, 2006).

#### **2.11.4.4. Osemenění a odlepkování jiker**

Vytřené jikry se osemení předem odebraným spermatem, a to v dávce 1 ml spermatu na 200 g jiker. Na jikry jedné jikernačky se vždy použije sperma od 3 mlíčáků. Poté se jikry se spermatem důkladně promíchají suchou plastovou stěrkou a přidá se 20 - 40 ml vody z líhne na 200 g jiker. Po důsledném promíchání trvajícím asi 30 s se směs jiker, mlíčí a vody nechá 1 - 1,5 minuty odstát. Pak následuje proces umělého odlepkování oplozených jiker (Lepič a kol., 2007). Odlepkování jiker je možné provádět pomocí suspenze jílu, talku, mlékem, modifikovanou Woinarichovou metodou nebo samotným taninem (Steffens a kol., 1996). Pro inkubaci jiker se používají Zugské lahve o objemu 9 l (Randák a kol. 2013, Roniay, 2007). Policar a kol. (2011b) uvádí, že při umělém výtěru bývá dosahováno oplozenosti 72,5 – 75,5 %. Líhnivost se pohybuje v rozmezí 60 – 80 % z množství oplozených jiker (Musil a Kouřil, 2006; Policar a kol., 2011b). Metoda umělého výtěru je prozatím prováděna jen v několika málo zemích, představuje perspektivní způsob řízeného rozmnožování candáta (Musil a Kouřil, 2006).

#### **2.11.4.5. Povýtěrová mortalita generačních ryb**

Blecha (2012) uvádí, že úmrtnost jikernaček po umělém výtěru dosahovala 100% všech generačních ryb v období od výtěru do 14 dnů po výtěru. Policar a kol. (2011b) uvádí mortalitu generačních ryb po uplatnění poloumělého a umělého výtěru na úrovni 37,5-100 % a to v období od výtěru až do 14 dnů po výtěru.

#### **2.12. Hodnocení spermatu**

Sperma ryb je možné hodnotit makroskopicky a mikroskopicky.

Makroskopicky je možné hodnotit:

- a) objem spermatu (ml)
- b) hustotu a konzistenci
- c) barvu přimíseniny
- d) aktivitu spermií

Mikroskopicky se hodnotí

- a) % pohyblivosti (0 - 100)
- b) doba motility (s)
- c) koncentraci spermií ( $\text{mld.ml.}^{-1}$ ) (Linhart a kol., 2011)

#### **2.13. Mimosezónní výtěr**

##### **2.13.1. Význam mimosezónního výtěru**

Okounovité ryby a především candát patří mezi druhy, u kterých byla v poslední době ověřována možnost mimosezónního výtěru za pomoci hormonální indukce ovulace (Dabrowski a kol., 1994; Barry a kol., 1995; Malison a Held, 1996; Kestemont a Melard, 2000; Zakes a Demska-Zakes, 2005). Časný, nebo pozdní výtěr candáta byl již v praxi úspěšně aplikován. Umožňuje chovateli dodávat na trh více plůdku v požadovanou dobu, a také produkci větších ročků a násad (Rónyai, 2007). Svůj potenciál nachází mimosezónní výtěr především v recirkulačních systémech (RAS). U candáta již byla zvládnuta také technologie odchovu ranných stadií (Zakes a kol., 2000). Zvládnutím problematiky řízené reprodukce včetně mimosezónního výtěru a odchovu byla úplně popsána a realizována kompletní technologie chovu candáta v kontrolovaných podmínkách (Zakes, 2007). Navzdory tomu, že je dnes v několika produkčních podnicích mimosezónní výtěr úspěšně využíván, bylo o něm publikováno velmi málo informací. Každý z chovatelů používá rozdílné fototermální periody a rozdílného druhu / dávky hormonálního přípravku

pro indukci ovulace (Zakes a Szczepkowski, 2004; Ronyai, 2007; Zakes, 2007). Okounovité ryby potřebují pro dozrání gonád projít chladnou periodou (pod 10°C) a to v době trvání minimálně 160 dní (Hokanson, 1977).

### **2.13.2. Faktory ovlivňující úspěšnost výtěru / mimosezónního výtěru**

Vliv na úspěšnost výtěru má několik faktorů. Především kondice generačních ryb, druh použitých hormonálních přípravků, podávaná dávka a načasování injekce (Bieniarz a Epler, 1991; Izquierdo a kol., 2001; Zohar a Mylonas, 2001). Hartman a Regenda (2014) upozorňují, že vliv na kvalitu generačních ryb (potažmo gonád) má především kvalita a dostupnost potravních ryb v průběhu zimy. Vliv na úspěšnost mimosezónního výtěru má především teplotní a světelný režim (Zakes a Demska-Zakes, 2009). Mlíčáci jsou často pohlavně připraveni i bez podání hormonálních přípravků, indukce ovulace jikernaček je ovšem komplikovanější (Bieniarz a Epler, 1991). Zakes a Szczepkowski (2004) uvádějí, že pro úspěšný výtěr 3 měsíce před datem běžného výtěru má klíčovou roli podání hormonálního přípravku.

### **2.13.3. Kontrola vývoje ovocytů**

Pro stanovení fáze vývoje jiker je nutné odebrat jejich vzorek. Vzorky jiker mohou být odebírány pomocí injekční stříkačky a vhodné jehly přes tělní stěnu (Bieniarz a Epler, 1991). Další metoda, která byla původně vyvinuta pro kapra (*Cyprinus carpio*), je nastrčení kanily do močopohlavní papily (pohlavního vývodu) a odběr jiker pomocí injekční stříkačky (Rothbard a Yaron, 1995). Odebrané jikry jsou následně podrobeny koupeli v Sérrově roztoku. Ten se skládá ze 6 dílů ethanolu, 3 dílů formaldehydu a 1 dílu kyseliny octové. U candáta je doba expozice v roztoku 20 – 170 sekund v závislosti na zralosti pohlavních buněk (Zakes a Demska-Zakes, 2001). Poté jsou jikry pozorovány pod mikroskopem. Tato metoda je praktikována především u jeseterovitých ryb. Navzdory tomu, že se jedná o invazivní metodu, je to jediný postup, pomocí kterého lze spolehlivě určit, ve které fázi se jikry v dané jikernačce nacházejí (Kolman, 2006).

**I.fáze** – Jádro buňky se nachází v jejím středu a lipidové kapénky jsou rozptýlené v celé buňce.

**II. fáze** – Jádro buňky se přesouvá k okraji a dochází k soustředění lipidových kapének do shluků.

**III. fáze** – jádro se nachází u buněčné membrány a lipidové kapénky tvoří jeden útvar.



**IV. fáze** – dochází k destrukci jádra buňky a rozptýlení lipidových kapének. (Zakes a Demska-Zakes, 2009)

#### **2.13.4 Pokusy s mimosezónním výtěrem**

**Zakes a Szczepkowski (2004)** provedli pokus o mimosezónní výtěr candáta po úpravě režimu fototermální periody a po následné hormonální indukci ovulace. Pokus byl zaměřen na zjištění vlivu podané dávky humánního choriogonadotropinu (hCG) na úspěšnost mimosezónního výtěru.

Generační ryby byly v říjnu získány z podzimních výlovů rybníků a také odloveny z jezer. V prosinci byly umístěny do laminátových nádrží recirkulačního systému o rozměru 1,1 x 1,1 x 0,65m s chladicí jednotkou. V průběhu studené periody (pod 10°C) byla nastavena fotoperioda 8hL / 16hD. Po celou dobu měly generační ryby k dispozici dostatek potravních ryb. Následovalo postupné zvýšení teploty vody na 12°C a prodlužování světelného dne na výsledný poměr 14hL / 10hD. Kontrola zralosti jiker byla prováděna každých 24 hodin a to odběrem kanylou přes močopohlavní papulu dle (Brzuska a Bieniarz, 1977). Generační ryby byly injikovány, když byly jikry v III. fázi.

Tři skupiny jikernaček byly injikovány různými dávkami hCG. Dávky byly v rozmezí 200 - 800 IU.kg<sup>-1</sup>. Ryby byly injikovány jednou, dvakrát, i dokonce třikrát vždy po 24 hodinách. Mlčáci byli injikováni jednotnou dávkou 200 IU.kg<sup>-1</sup>. Kontrolní skupina byla injikována roztokem NaCl o koncentraci 0,9 %. Doba latence byla 66 - 71 hodin. Výtěr proběhl u všech hormonálně ošetřených ryb. Ryby v kontrolní skupině se nevytřely. Oplozenost jiker byla stanovována ve fázi očních bodů a dosáhla hodnot 71,5 - 77,5 %. GSI dosahoval průměrně hodnoty 9,53. Nebyl zjištěn průkazný rozdíl v množství a načasování podaného hCG.

Pokus ověřil, že je možné úspěšně candáta vytříit již 3 měsíce před přirozeným datem výtěru.

**Roniay (2007)** uskutečnil pokus o provedení mimosezónního výtěru za použití různých hormonálních přípravků a rozdílných dávek. Ryby pro pokus byly zajištěny na podzim při výloveh rybníků a také odlovem z jezer a do konce roku byly drženy v zemních rybníčcích o výměře 400 m<sup>2</sup> společně s potravními rybami. Kusová hmotnost generačních ryb byla od 0,6 do 3 kg. Samotný výtěr ryb probíhal od ledna do května. Vždy bylo do líhně převezeno 16 - 20 párů ryb. Pokusné nádrže o objemu 3 m<sup>3</sup> byly rozděleny na sekce o ploše 1 m<sup>2</sup>. Teplota vody byla pozvolna zvyšována na 15-16°C. Fotoperioda byla nastavena na 12hL / 12hD. Nasycení vody kyslíkem bylo optimalizováno na 90 %.

Kontrola připravenosti jiker byla prováděna 2,7 mm kanylou podle (Brzuska a Bieniarz, 1977).

Generační ryby byly injikovány přípravky – kapří hypofýza, hCG, ovopel, MTC, ovurelin. Kontrolní skupina (vždy 3 - 4 páry) byla injikována solným roztokem o koncentraci 0,65 %. Kontrola jikernaček probíhala každé 3 hodiny. Doba latence při 15 °C byla  $78 \pm 11$  h a při 18 °C jen  $63 \pm 9$ h. Při mimosezónním výtěru se vytřelo 93 % ryb a v běžném termínu 91 % ryb. Většina ryb byla vytřena uměle (suchou metodou). Na jednu jikernačku bylo vždy použito sperma od dvou mlíčáků. Oplozené jikry byly odlepkovány nejdříve pomocí roztoku 0,4 % NaCl + 0,3 % močovinou a následně hodinovou koupelí v 0,05 % roztoku taninnu. Inkubace jiker probíhala v Zugských 8 litrových lahvích. Už po 16 - 18 hodinách bylo možné rozeznat oplozené a neoplozené jikry. GSI v tomto pokusu dosahoval průměrně  $10,2 \pm 3$  %. U kontrolní skupiny ryb nedošlo k výtěru.

Tento pokus ověřil, že je možné candáta uměle vytřít již 3 měsíce před běžným termínem výtěru. Mezi použitými hormonálními přípravky byl zjištěn rozdíl. Jako nejlepší se při tomto pokusu jevil hCG, poněvadž po jeho použití se vytřelo největší množství ryb a také vykazoval nejkratší dobu latence.

**Mimosezónní výtěr Zakes (2007).** Cílem pokusu bylo ověřit, zda je možné mimosezónně vytřít candáta odchovaného v podmínkách RAS (nádrže 800 litrů). Ryby použité pro výtěr byly již od larválního stadia krmeny suchým krmivem. Generační ryby byly krmeny granulovaným krmivem Aller Aqua, Christiansfeld, Dánsko (proteiny 53 %, tuk 14 %, uhlohydráty 15 %, popeloviny 9 %, vláknina 1 %). Ryby byly celoročně drženy v optimalizovaných podmínkách chovu při teplotě 18 - 20°C. Před výtěrem byla použita studená perioda a teplota vody byla snížena na 4 – 8 °C. Následně byla teplota vody zvýšena na 12 °C. Autor neuvádí, jaký režim fotoperiody byl použit. První výtěr byl plánován na začátek února. Fáze zralosti jiker byla kontrolována pomocí odběru vzorku 30 jiker kanylou a následným mikroskopováním podle (Brzuska a Bieniarz, 1977). Ryby byly injikovány ve třetí fázi zralosti oocytů pomocí hCG, a to v dávce  $200 \text{ IU.kg}^{-1}$ ,  $400 \text{ IU.kg}^{-1}$  a kontrolní skupina 0,9 % NaCl. Průměrná hmotnost ryb byla 1,56 kg. Doba latence byla 96,5 h při teplotě 12 °C.

U skupiny injikované dávkou  $200 \text{ IU.kg}^{-1}$  bylo úspěšně vytřeno 80 % ryb. Ryby ve skupině injikované dávkou  $400 \text{ IU.kg}^{-1}$  byly vytřeny ze 100 %. U kontrolní skupiny nedošlo k výtěru. U skupiny injikované dávkou  $200 \text{ IU.kg}^{-1}$  byl zjištěn GSI na úrovni 11,5 a životaschopnost jiker do fáze očních bodů 65,9 %. Skupina injikovaná dávkou  $400 \text{ IU.kg}^{-1}$  vykazovala GSI 12,5 % a přežití jiker 68,7 %.

Tento pokus potvrdil, že generační ryby odchované v recirkulačním systému je možné vytřít po usměrnění foto termální periody a za předpokladu podání hormonálního přípravku úspěšně již 3 měsíce před běžným termínem výtěru.

**Müller-Belecke a Zienert (2008)** provedli v letech 2006 a 2007 pokus o mimosezónní výtěr candáta. Účelem bylo zjistit, zda je možné candáta vytřít 2 měsíce před běžným termínem výtěru a stejně tak jako posunout výtěrové období do pozdějších termínů.

Generační ryby byly po dobu 1 roku odchovávány v recirkulačním systému a krmeny suchým krmivem, následně byly převezeny do klecové odchovny na jezeře Sacrow. Hustota obsádky  $Ca_{1g}$  v síťových klecích byla maximálně  $6 \text{ kg} \cdot \text{m}^3$ . Na začátku pokusu byly ryby přemístěny do RAS (kruhové nádrže 800 litrů). Ryby byly v RAS při teplotě vody pod  $10 \text{ }^\circ\text{C}$  po dobu 31 - 61 dní a krmení probíhalo čerstvě rozmraženými rybami v množství 1 - 1,5 % denně. Fotoperioda v této fázi byla nastavena na 8hL / 16hD při intenzitě 20 – 40 luxů na vodní hladinu. Následovalo zvýšení teploty vody tempem  $2 \text{ }^\circ\text{C}$  denně na výsledných  $15 \pm 1^\circ\text{C}$  a prodlužování světelného dne na 16hL / 8hD. Ryby byly ve vodě o teplotě  $15 \pm 1^\circ\text{C}$  po dobu 44 – 68 dní.

Kontrola ovulace jikernaček byla prováděna odběrem vzorku jiker pomocí kanyly o průměru 2,5mm, která byla nastrčena do pohlavního vývodu cca 4 cm hluboko. Následovala lázeň v Sérrově roztoku, mikroskopování (zvětšení 40 x) a stanovení fáze vývoje jiker.

U skupin ryb, u kterých byla reprodukce plánovaná už na měsíc únor, byl výtěr úspěšný. Průměrná hodnota GSI u časného výtěru byla 17,9 % a přežití jiker 72 hodin po oplození bylo 57,6 %.

Skupina ryb s plánovaným výtěrem na červen se vytřela, ovšem oplozenost byla nulová. Pokusem bylo zjištěno, že je možné candáta vytřít 2 měsíce před přirozeným datem výtěru za výše popsaných podmínek. Pozdní výtěr úspěšný nebyl.

### 3. Materiál a metodika

#### 3.1. Materiál

##### 3.1.1. Místo a termín uskutečnění pokusu

Všechny pokusy a pozorování byly uskutečněny v areálu výzkumného ústavu rybářského a hydrobiologického (VÚRH) ve Vodňanech. Pokus byl zahájen na podzim roku 2012 umístěním generačních ryb do odchovného komplexu VÚRH ve Vodňanech a ukončen třetím mimo sezónním výtěrem dne 16.6. 2013.

##### 3.1.2. Dezinfekční přípravky

Pro minimalizaci rizika rozšíření a přenosu především plísňových a parazitálních onemocnění byly chovaným pokusným rybám aplikovány dezinfekční přípravky. Jako nejvhodnější se jeví metoda preventivních koupelí. Nejvýznamnějším patogenem v průběhu výtěru candáta je plíseň rodu *Saprolegnia sp.* S generačními candáty je v průběhu výtěru několikrát manipulováno. V důsledku možných drobných povrchových oděrek, setření ochranné slizové vrstvy a také stresu je zvýšené riziko napadení patogeny. Je proto vhodné používat především následující preventivní preparáty: manganistan draselný, persteril, formaldehyd a kuchyňská sůl.

Přípravek	Popis	Použití	Účinná dávka a doba použití
Kuchyňská sůl	Běžná kuchyňská sůl	Aplikace do nádrže s gen. rybami	3 kg.m <sup>-3</sup> po dobu 30 min
Formaldehyd (formalín)	Čirá kapalina	Aplikace do rec. systému	0,15 ml.m <sup>3</sup> po dobu 24 hodin
Manganistan draselný	Prášek řepové barvy	Individuální koupel po injekci	0,1 g.l <sup>-1</sup> po dobu 2 minut
Persteril 35%	Čirá kapalina	Aplikace do nádrže s gen. rybami	2,8 ml.m <sup>-3</sup> po dobu 24 hodin

(Polícar a kol., 2014, Zusková a kol., 2011)

### **3.1.3. Anestetikum**

Kvůli snížení rizika poranění generačních ryb při manipulaci byla použita lázeň hřebíčkového oleje o koncentraci  $0,03 \text{ ml.l}^{-1}$  (Kolářová a kol., 2007).

### **3.1.4. Hormonální přípravek**

Pro hormonální indukci ovulace jikernaček byl použit preparát Chorulon s účinnou látkou HCG. Pro všechny ryby byla použita dávka  $500 \text{ IU.kg}^{-1}$  (Polícar a kol., 2011a).

### **3.1.5. Použité nářadí a pomůcky**

Pro manipulaci s rybami byly použity jemné saky a vhodné plastové vaničky, neboť šetrná manipulace s generačními rybami je velice důležitá. Vážení generačních ryb probíhalo váhou zn. Torrey L – EQ 8, měření rozpuštěného kyslíku a teploty vody probíhalo přístrojem OXYGUARD - Denmark, velikost jiker a larev byla stanovována pomocí binolupy zn. Nikon SMZ745T, následně byly fotografie zpracovány programem pro měření a úpravu fotografií - Quick PHOTO MICRO 3. Larvy byly váženy citlivou váhou zn. Kern, ABT220-5DM.

### **3.1.6. Výtěrová hnízda**

Výtěrová hnízda byla zhotovena z kobercového umělého trávníku (délka umělé trávy 5 cm), který byl vystřižen podle dna nádrže tak, aby hnízdo zakrývalo celé dno. Pro fixaci ke dnu nádrže byla použita rozměrově upravená ocelová kari síť.

### **3.1.7. Lihňářská kolíbka pro odlov larev**

Jedná se o speciálně nádobu, do které se přeplaví rozplavané larvy z výtěrové nádrže. Tato bedna o objemu cca 50 l je vyrobena z plastu a v přední části je umístěna nerezová mřížka o velké ploše, která umožní odtékání vody a zamezí vyplavování larev z bedny. Toto důmyslné zařízení jde vidět na obr. č. 3. Když jsou larvy přemístěny do bedny, je možné objemovou metodou stanovit získané množství larev.



obr. č. 3 – líhňářská kolíbká pro odlov rozplavaných larev

## 3.2. Metodika

### 3.2.1. Organizace pokusu

Cílem pokusu bylo získat alespoň dva mimosezónní termíny výtěru. Náplánovány byly celkem 3 výtěrové termíny. První „časný“ výtěr – 11. března, druhý v „běžném“ datu výtěru – 26. dubna a třetí „pozdní“ výtěr 13. června. Pro účel pokusu byly generační ryby později rozděleny do tří skupin. Každá ze skupin čítala 7 párů vhodných generačních ryb. V průběhu celého pokusu byl zajištěn dostatečný přítok vody a byly 3 x denně sledovány základní fyzikálně chemické parametry vody jako teplota vody a množství rozpuštěného kyslíku v  $\text{mg.l}^{-1}$ . Tyto hodnoty byly vždy v rámci jednoho dne zprůměrovány a zapsány jako denní údaj. Pro pokus byly využity dva oddělené rybochovné systémy. Prvním z nich je průtočný systém, který je napájen filtrovanou vodou z řeky Blanice. Průtočný systém sloužil k uchování a stimulaci generačních ryb, zaručoval spermiogenezi a oogenezi. Skládá se z krychlových sklolaminátových nádrží o objemu 800 l. Odchovné nádrže mají šedivou barvu a jsou vybaveny vzduchovacími kameny, vrchním přítokem a spodním odtokem vody. Druhý je uzavřený recirkulační systém, který se skládá z 9 kruhových nádrží, každá z nich má objem 300 litrů. Tento recirkulační systém je vybaven jednotkou pro ohřev/chlazení vody a mechanickou a biologickou filtrací vody.

Generační ryby byly od 7.11. roku 2012 umístěny v průtočném systému. Pro výtěr bylo vždy přemístěno patřičné množství generačních ryb do recirkulačního systému.

### **3.2.2. Zajištění generačních ryb**

Na přelomu října a listopadu byly generační ryby postupně nakupovány a dováženy z výlovů. Ryby byly převáženy v přepravních bednách, přičemž voda byla sycena kyslíkem tak, aby koncentrace kyslíku neklesala pod  $7 \text{ mg.l}^{-1}$ . Generační ryby byly umístovány do nádrží průtočného systému po 20 - 40 ks/nádrž. Teplota vody při vysazení ryb byla průměrně  $3,76 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . Do každé nádrže bylo přisazeno několik desítek kusů potravních ryb o TL = 50 - 80mm. Jako potravní ryby posloužili – plotice obecná (*Rutilus rutilus*), perlín ostrobřichý (*Scardinius erythrophthalmus*) a stěvlička východní (*Pseudorasbora parva*). Potravní ryby byly denně doplňovány.

### **3.2.3. Studená perioda (SP)**

Studená perioda trvá v přirozených podmínkách ČR 120 – 200 dní. U skupiny časného výtěru byla délka SP optimalizována na délku 122 dní. U skupiny běžného výtěru byla délka SP 149 dní a u skupiny pozdního výtěru trvala SP po dobu 223 dní. Generační ryby pro všechny tři termíny plánovaných výtěrů byly umístěny společně v průtočném systému. Pro účel každé z fází pokusů bylo odloveno požadované množství generačních ryb. Vždy se jednalo o 7 vhodných párů, které byly přemístěny do recirkulačního systému. Výjimku tvořila pouze 3. skupina. Poněvadž se teplota přítokové vody do průtočného systému den ode dne zvyšovala, bylo nutné generační ryby 18.4. z průtočného systému přemístit do recirkulačního systému. RAS disponuje také chladicí jednotkou, a tak bylo možné úspěšně pokračovat v simulaci SP. Průběh teplot a činností spojených s umístěním ryb v průtočném systému je podrobně zaznamenán v tabulce níže.

Přehled teplot v průběhu SP

Datum	°C	Činnost	Datum	°C	Činnost	Datum	°C	Činnost
7.11.	6,7	Nasazení ryb	22.12.	2,2	Koupel persteril	5.2.	2,3	
8.11.	6,5	Koupel NaCl	23.12.	2,3		6.2.	2,3	
9.11.	6,7		24.12.	3,9		7.2.	2,3	Koupel persteril
10.11.	6,5	Koupel NaCl	25.12.	3,9		8.2.	2,3	
11.11.	6		26.12.	3,9	Koupel pesteril	9.2.	2,5	
12.11.	6,5	Koupel Persteril	27.12.	4,2		10.2.	2,5	
13.11.	7,2		28.12.	4,6		11.2.	2,5	Koupel Persteril
14.11.	6,8	Koupel Persteril	29.12.	3,3		12.2.	2,5	
15.11.	6,1		30.12.	2,9	Koupel persteril	13.2.	2,5	
16.11.	5,6	Koupel Persteril	31.12.	2,9		14.2.	2,5	
17.11.	5,5		1.1.	2,9		15.2.	2,4	Koupel persteril
18.11.	5,4		2.1.	2,8		16.2.	2,4	
19.11.	5	Koupel NaCl	3.1.	3		17.2.	2,5	
20.11.	5,1		4.1.	4,2	Koupel Persteril	18.2.	2,5	Koupel Persteril
21.11.	5,7	Koupel Persteril	5.1.	6		19.2.	2,4	
22.11.	5,9		6.1.	6,2		20.2.	2,6	
23.11.	5,8	Koupel Persteril	7.1.	5,5	Koupel NaCl	21.2.	2,6	
24.11.	5,7		8.1.	5		22.2.	2,6	Koupel persteril
25.11.	5,4		9.1.	5,2		23.2.	2,7	
26.11.	5,7	Koupel NaCl	10.1.	5,2		24.2.	2,8	
27.11.	6,1		11.1.	4	Koupel persteril	25.2.	2,4	
28.11.	6,7	Koupel persteril	12.1.	2,4		26.2.	2,4	Koupel persteril
29.11.	6,7		13.1.	1,2		27.2.	2,5	
30.11.	5,5		14.1.	1,3	Koupel Persteril	28.2.	2,6	
1.12.	4,2		15.1.	1,2		1.3.	2,7	
2.12.	3,6	Koupel persteril	16.1.	1	Koupel Persteril	2.3.	3,2	Koupel persteril
3.12.	3		17.1.	0,9		3.3.	3,2	
4.12.	2,8		18.1.	0,9		4.3.	3,4	
5.12.	3,2		19.1.	0,9		5.3.	3,4	
6.12.	3,2	Koupel persteril	20.1.	1,9	Přesunutí 1. sk.	6.3.	3,5	Koupel persteril
7.12.	1,6		21.1.	1,9	Koupel NaCl	7.3.	3,5	
8.12.	1		22.1.	2		8.3.	3,6	
9.12.	1		23.1.	2		9.3.	3,6	
10.12.	1	Koupel persteril	24.1.	2,1		10.3.	3,7	Koupel persteril
11.12.	1,1		25.1.	2,1	Koupel persteril	11.3.	3,8	
12.12.	1,1	Koupel Persteril	26.1.	2,1	Koupel persteril	12.3.	3,5	
13.12.	0,9		27.1.	2,1	Koupel persteril	13.3.	3,7	
14.12.	1		28.1.	2,1		14.3.	3,8	Koupel persteril
15.12.	1		29.1.	2,2		15.3.	3,9	
16.12.	0,9	Koupel persteril	30.1.	2,2	Koupel persteril	16.3.	4	
17.12.	1		31.1.	2,2		17.3.	4	
18.12.	1,1		1.2.	2,2		18.3.	4,1	Koupel persteril
19.12.	1,4	Koupel persteril	2.2.	2,3		19.3.	4,1	
20.12.	2,7		3.2.	2,2	Koupel persteril	20.3.	4,2	
21.12.	2,5		4.2.	2,2		21.3.	4,3	Koupel persteril



Datum	°C	Činnost	Datum	°C	Činnost	Datum	°C	Činnost
22.3.	4,2		13.4.	5	Koupel persteril	5.5.	5,5	Koupel persteril
23.3.	4,3		14.4.	5,1		6.5.	5,6	
24.3.	4,5		15.4.	4,8		7.5.	5,6	
25.3.	4,6	Koupel persteril	16.4.	5,4		8.5.	5,4	Koupel persteril
26.3.	4,7		17.4.	5,9	Koupel persteril	9.5.	5,8	
27.3.	4,7		18.4.	6,5	Přesun do RAS	10.5.	5,6	
28.3.	4,8		19.4.	5,2		11.5.	5,6	
29.3.	4,9	Koupel persteril	20.4.	5,5		12.5.	5,8	Koupel persteril
30.3.	5		21.4.	5,6	Koupel persteril	13.5.	5,8	
31.3.	5,1		22.4.	5,7		14.5.	5,8	
1.4.	5,2		23.4.	5,5		15.5.	6	
2.4.	5,8	Koupel persteril	24.4.	5,7		16.5.	5,7	Koupel persteril
3.4.	4,9		25.4.	5,7	Koupel persteril	17.5.	6	
4.4.	4,3		26.4.	5,6		18.5.	5,5	
5.4.	3,5	Koupel persteril	27.4.	5,8		19.5.	5,5	
6.4.	3,4		28.4.	5,8		20.5.	5,5	Koupel persteril
7.4.	4,3		29.4.	5,8	Koupel persteril	21.5.	5,6	
8.4.	4,7		30.4.	6		22.5.	5,6	
9.4.	5,5	Koupel persteril	1.5.	5,8		23.5.	5,7	
10.4.	4,8		2.5.	5,9		24.5.	5,6	Koupel persteril
11.4.	4,8		3.5.	6	Koupel persteril	25.5.	5,6	
12.4.	4,9	Přesun 2. sk.	4.5.	5,8		26.5.	5,6	

tab. č. 1 – přehled teplot při SP

### 3.2.4. Preventivní koupele

V průběhu celého pokusu byly aplikovány desinfekční přípravky. Jednalo se zejména o přípravky Persteril v dávce 2 ml / nádrž (Zusková a kol., 2011) až dvakrát týdně, kuchyňskou sůl NaCl 3 kg / nádrž / 30min jednou týdně a manganistan draselný v dávce 0,1 g.l<sup>-1</sup> při manipulaci s rybami ( Policar a kol., 2014).

### 3.2.5. Fotoperioda při SP

Pro rozmnožování ryb je důležitá také délka světelného dne a intenzita světla. V pokusu nebyla ovlivňována délka světelného dne, ale jen intenzita záření. U skupiny časného výtěru byl poměr 9hL / 15hD, u skupiny běžného výtěru 9,5hL / 14,5hD a u pozdního výtěru 10hL / 14 hD. Intenzita světla byla 30 luxů – snížená intenzita světla měla simulovat pokrytí vodní hladiny ledem a tím snížený prostup světla do vodního sloupce.

### 3.2.6. Časný výtěr – SP 122 dní

#### 3.2.6.1. Přesun ryb do RAS

Datum injikace generačních ryb bylo naplánováno na 7.3. 2013. a termín výtěru v závislosti na délce latence 3 – 4 dny po injikaci. Přesun ryb do RAS proběhl dne 20.1. Teplota vody v RAS byla shodná, aby byl minimalizován stres a riziko teplotního šoku.

#### 3.2.6.2. Fototermální perioda

Z vybraných ryb byly sestaveny páry a ty byly umístěny do nádrží. Kontrola pohlaví byla provedena při anestezii ryb v lázni hřebíčkového oleje o koncentraci 0,03 ml/l (Kolářová a kol., 2007). Na obr. č. 4 je srovnání mlíčáka a jikernačky. Od 20.1. byla postupně zvyšována teplota vody v recirkulačním systému. Teplota byla zvyšována maximálně o 1 - 2 °C denně a to až na výtěrové optimum 13 – 15 °C. Na začátku procesu zvyšování teploty byla do nádrží vložena také výtěrová hnízda, aby si ryby zvykaly na nové prostředí. Světelné podmínky byly v průběhu zvyšování teploty a výtěru 11hL / 13hD. Intenzita záření dopadajícího na vodní hladinu byla na úrovni 100 luxů. Zvýšená intenzita světla měla za význam napodobit přirozené podmínky a stimulovat tak ryby k výtěru.



Obr. č. 4. – porovnání jikernačky a mlíčáka.

### 3.2.6.3. Přehled průběhu teplot u časného výtěru

Datum	°C	Činnost	Datum	°C	Činnost	Datum	°C	Činnost
20.1.	1,6	Období zvýš. (t)	9.2.	5,8	Koupel Persteril	1.3.	13,1	Výtěrová t
21.1.	2,2		10.2.	6,8		2.3.	14,4	
22.1.	2,2		11.2.	6,7	Koupel Formalin	3.3.	14,2	Koupel NaCl
23.1.	3,3		12.2.	7,3		4.3.	12,5	
24.1.	3,7	Koupel Persteril	13.2.	7,5		5.3.	13,5	
25.1.	3,2		14.2.	8,7		6.3.	14,7	Koupel Persteril
26.1.	3		15.2.	7,2	Koupel Persteril	7.3.	15,6	Injikace ryb
27.1.	3,2		16.2.	8,3		8.3.	15,6	
28.1.	3,3		17.2.	8,7		9.3.	14	Koupel Persteril
29.1.	3,3	Koupel NaCl	18.2.	8,9	Koupel NaCl	10.3.	15,5	
30.1.	4,3		19.2.	9		11.3.	15,6	Výtěr
31.1.	3,9		20.2.	10,7		12.3.	14,9	
1.2.	4,4		21.2.	11		13.3.	14,6	
2.2.	4,4	Koupel Persteril	22.2.	10,8	Koupel Persteril	14.3.	14,6	
3.2.	4,2		23.2.	11		15.3.	14,2	
4.2.	4,1		24.2.	10		16.3.	14,4	Líhnutí larev
5.2.	5,2		25.2.	10,8	Koupel NaCl	17.3.	14,7	
6.2.	6,1	Koupel NaCl	26.2.	10,9		18.3.	15,9	
7.2.	6,3		27.2.	11,3	Koupel Persteril	19.3.	16,2	Ukončení pokusu
8.2.	6,5	Koupel Persteril	28.2.	12,2				

tab. č. 2 – přehled teplot po SP u časného výtěru

### 3.2.6.4. Injikace generačních ryb

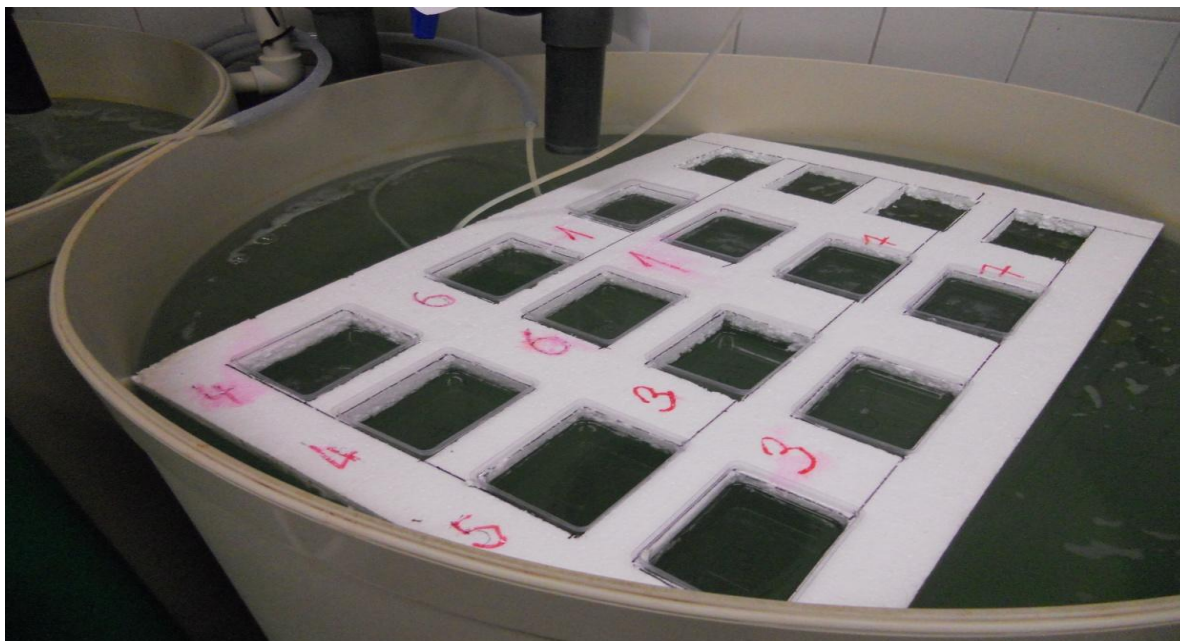
V období od počátku teplotního výtěrového optima  $14 \pm 1$  °C až po injikaci byl průměr teplot 14 °C. Hormonální stimulace byla provedena dne 7.3. v 9:00. Nejprve byla připravena lázeň s anestetickým roztokem ve vaničce o objemu 20 litrů. Použit byl hřebíčkový olej v koncentraci  $0,03 \text{ ml.l}^{-1}$  (Kolářová a kol., 2007). Uspané ryby (jikernačky i mličáci) byly vždy zváženy a podle hmotnosti jim bylo podáno injekčně do hřbetní svaloviny příslušné množství hormonálního přípravku Chorulon s účinnou látkou HCG v dávce  $500 \text{ IU.kg}^{-1}$ . Hmotnosti a rozměry ryb byly podrobně zaznamenávány. Průměrná hmotnost / TL jikernaček – 1002g / 458 mm a mličáků – 726g / 438mm. Každá ryba byla po zákroku ponechána v desinfekční koupeli manganistanu draselného o koncentraci  $0,1 \text{ g.l}^{-1}$  po dobu 2 minut.

### 3.2.6.5. Výtěr ryb

Po injikaci byly ryby v RAS kontrolovány v tříhodinových intervalech. Kontrola byla prováděna plastovým průhledítkem nebo zvednutím výtěrového hnízda a následnou optickou kontrolou. K výtěru všech ryb časného výtěru došlo dne 11.3. od 7:00 – 13:00. Při každém úspěšném výtěru byla zapsána doba latence (doba od injikace až po výtěr).

### 3.2.6.6. Oplozenost a líhivost jiker

Pro stanovení těchto základních výtěrových ukazatelů byl použit pozorovací aparát viz. obr. č. 5. Jedná se o polystyrenovou desku, do které jsou přesně vyřezané otvory pro vložení plastových misek o objemu 300 ml. Před vložení jiker byly misky naplněny cca 200ml vody. Do každé misky byl odebrán vzorek jiker z oplozeného hnízda. Z jednoho hnízda byly odebrány vždy 4 vzorky po 200 jikrách. Deska s miskami a jikrami byla později umístěna na hladinu jedné z nádrží tak, aby byly nastoleny stejné teplotní podmínky pro inkubaci jiker jako u jiker inkubovaných v nádržích na umělých hnízdech. Už po několika hodinách po odebrání vzorku jiker bylo možné rozeznat oplozené – číré a neoplozené – zakalené jikry. Pro výpočet oplozenosti byly použity dvě misky a pro stanovení líhivosti následující dvě misky. Nejprve byl stanoven počet jiker a poté % oplozených jiker či % vylíhlých larev. Výpočet oplozenosti a líhivosti jiker probíhal následujícím způsobem. Nejprve bylo do každé misky odebráno ihned po výtěru přesně 200 jiker pomocí drobné plastové stěrky. Vzorek jiker musel být odebrán z celé plochy hnízda tak, aby byl výsledek reprezentativní. Po 24 hodinách byl v první misce stanoven počet oplozených jiker z celkového počtu. Neoplozené jikry mají matnou barvu oproti čířým oplozeným jikrák. Pokud bylo například zjištěno, že v misce je 150 ks oplozených jiker z celkového počtu 200 ks, bylo trojčlenkou vypočteno ( $100 \times 150 / 200 = 75$ ), že oplozenost jiker v daném vzorku je 75 %. Pro stanovení líhivosti byl podobný postup. Po vylíhnutí larev byl stanoven počet vylíhlých larev z celkového počtu 200 jiker a trojčlenkou obdobně stanoveno % líhivosti.



obr. č. 5 – aparát pro stanovení oplozenosti a líhivosti.

### **3.2.6.7. Inkubace jiker**

Po výtěru byly z nádrží odloveny jikernačky. Mlíčáci byli v nádržích ponecháni, protože i v přirozených podmínkách střeží hnízda, ploutvemi k jikrám přivádí čerstvou vodu a zabraňují tak usazování kalu na jikrách. Po uplynutí 70 °D inkubační doby ve fázi očních bodů byli odebráni také mlíčáci a zastaven přítok vody aby nedošlo k vyplavování larev do filtrů daného RAS. Dostatečná dotace kyslíku do vody byla zajištěna jedním vzduchovacím kamenem v každé nádrži.

### **3.2.6.8. Stanovení počtu rozplavaných larev**

Jakmile byly larvy rozplavané, měli částečně strávený žlutkový váček. Cca 5. den po vylíhnutí bylo nutné larvy spočítat a přemístit k dalšímu chovu. K odlovení larev byla použita líhňářská kolíbka popsaná v předchozím textu. Voda s larvami byla vypouštěna odtokovou rourou příslušné nádrže do líhňářské kolíčky viz. obr. č. 3. Odtok vody z výtěrové nádrže bylo nutné usměrňovat, aby nedošlo k mechanickému poškození larev. Kdyby byla voda vypouštěna příliš rychle, mohli by se larvy umačkat na odtokové mřížce dané kolíčky. Když byly všechny larvy přepuštěny do kolíčky, bylo nutné stanovit jejich počet. Nejčastěji praktikovanou metodou pro počítání je objemová metoda. Obsah vody líhňářské kolíčky byl zredukován a přelit do kulaté vaničky s ryskou na obvodu značící přesně objem 10 litrů. Objem vody byl přesně upraven na objem 10 litrů. Následně bylo nutné rovnoměrně rozptýlit larvy v nádobě, potom byly odebrány 3 vzorky vhodnou měrkou o objemu 20 ml. Tyto vzorky byly přelity do 3 počítacích misek a následně stanoven počet larev. Ze zjištěných hodnot byl zjištěn průměr a následně larvy přepočítány na objem 10 litrů. Např. ve 20 ml byl počítáno 125 ks; 162 ks; 103 ks, průměrná hodnota ve 20 ml byla 130 ks. V 1 litru je tedy 6500 ks. Ve vaničce bylo celkem 10 litrů vody, tudíž je ve vaničce (50 x 130 x 10) 65 tis. ks larev.

### **3.2.6.9. Povýtěrová mortalita generačních ryb**

Generační ryby po výtěru byly ve všech skupinách pozorovány po dobu 14 dnů umístěny pohromadě v nádrži recirkulačního systému. Po výtěru bylo ke generačním rybám přisazeno také několik desítek kusů potravních ryb. Údaje o úhynech byly zaznamenávány a nakonec porovnávány.

### **3.2.7. Běžný výtěr – SP 149 dní**

#### **3.2.7.1. Fototermální perioda**

U skupiny s běžným datem výtěru byl v průběhu studené periody poměr L/D oproti časnému výtěru rozdílný v závislosti na době umístění ryb v průtočném systému. Po ukončení studené periody a přemístění ryb do RAS byla délka světelného dne 13hL / 11hD a intenzita záření na úrovni 100 luxů. Ryby byly umístěny do recirkulačního systému dne 12.4. 2013. Z průtočného systému bylo vybráno stejně jako v prvním výtěru 7 párů kvalitních generačních ryb. Ryby v párech byly umístěny do nádrží RAS, do kterých už byla vložena výtěrová hnízda, aby si zvykly na změnu prostředí. Průměrná hmotnost / TL jikernaček byla – 1405 g / 532 mm a mlíčáků 1268 g / 516 mm. Od 12.4. byla zvyšována teplota tempem 2-3 °C / den. Dne 16.4. bylo dosaženo teplotního výtěrového optima  $14 \pm 1$  °C. V období před injekcí od 16.4. do 23.4. byla průměrná teplota 14,13 °C.

#### **3.2.7.2. Injekce generačních ryb**

Před injekcí byla opět připravena lázeň s anestetikem (hřebíčkový olej 0,03 ml/l), lázeň s desinfekcí (manganistan draselný), hormonální přípravek Chorulon, injekční stříkačka a váha. Ryby byly injikovány 23.4. v 10:00 stejným postupem jako při předešlé fázi pokusu dávkou 500 IU.kg<sup>-1</sup> do hřbetní svaloviny. Po injekci byly po dobu 2 min ponechány v dezinfekční lázni. Po zákroku byly ryby umístěny zpět do nádrží.

#### **3.2.7.3. Výtěr ryb**

Ryby byly po podání hormonů kontrolovány v tříhodinových intervalech. Kontroly bylo nutné provádět tak, aby ryby nebyly příliš rušeny. Z každého hnízda byly odebrány vzorky jiker do misek pro stanovení oplozenosti a líhivosti jako u časného výtěru.

#### **3.2.7.4. Inkubace jiker**

Jikry byly inkubovány na hnízdech stejně jako při předchozím pokusu za přítomnosti mlíčáků do 70 °D. Inkubace jiker trvala po dobu 90,4 °D při průměrné teplotě vody 15,09 °C. Také byl zastaven přítok vody a nádrž byla při líhnutí larev aerována pouze vzduchem.

### 3.2.7.5. Přehled průběhu teplot u běžného výtěru

Datum	°C	Činnost	Datum	°C	Činnost
12.4.	5,8	Období zvýšené (t)	23.4.	13,2	injikace
13.4.	7,1		24.4.	15	
14.4.	10,9	Koupel NaCl	25.4.	14,2	Koupel Persteril
15.4.	11,8		26.4.	15,1	Výtěr
16.4.	14,4	Výtěrová (t)	27.4.	13,9	Výtěr
17.4.	15,2		28.4.	13,8	
18.4.	14,9		29.4.	15	
19.4.	14,3	Koupel Persteril	30.4.	14,9	Líhnutí larev
20.4.	13,7		1.5.	15	Líhnutí larev
21.4.	13,7		2.5.	17,3	
22.4.	13,9	Koupel Persteril			

tab. č. 3 – přehled teplot po SP u běžného výtěru

### 3.2.8. Pozdní výtěr – SP 223 dní

#### 3.2.8.1. Přesunutí ryb k pokusu

Generační ryby byly přemístěny do RAS už dne 18.4. kvůli zvyšující se teplotě vody v průtočném systému ovšem až do 26.5. byly drženy v režimu SP 26.5. Výtěr této skupiny ryb byl plánovaný až na polovinu června, tudíž bylo nutné výrazně prodloužit studenou periodu. Ryby byly drženy ve vodě o průměrné teplotě  $3,99 \pm 1,72$  °C až do 26.5.2013.

#### 3.2.8.2. Fototermální perioda

Před zvyšováním teploty bylo vybráno pro pokus 7 párů vhodných ryb tak jako v předchozích výtěrech. Průměrná hmotnost / TL jikernaček byla 1164 g / 511 mm a mlíčáků 1024 g / 485 mm. byla délka světelného dne postupně prodlužována, a to až na výsledný poměr 15hL / 9hD při intenzitě 100 luxů. Na začátku procesu zvyšování teploty byla do nádrží k rybám umístěna výtěrová hnízda. Od 26.5. do 3.6. byla pozvolna zvyšována teplota vody v recirkulačním systému až na výtěrové optimum. Průměr teplot od začátku období zvýšené teploty až po injikaci byl 14,54 °C.

#### 3.2.8.3. Injikace generačních ryb

Hormonální stimulace jikernaček i mlíčáků byla uskutečněna stejným postupem jako u prvních dvou skupin. Injikace proběhla 10.6. v 9:00 při teplotě vody 14,52 °C. Jikernačkám byl podán hormonální preparát Chorulon v dávce  $500 \text{ IU.kg}^{-1}$  do hřbetní svaloviny. Injikováno bylo pouze 6 ze 7 párů ryb, poněvadž došlo ke spontánnímu výtěru u jednoho z párů už dne 9.6. Ryby po injikaci byly kontrolovány v tříhodinových intervalech.

#### 3.2.8.4. Přehled průběhu teplot – SP 223 dní

Datum	°C	Činnost	Datum	°C	Činnost
26.5.	5,6	Období zvýš. (t)	6.6.	15	
27.5.	8,6	Koupel Persteril	7.6.	14,5	
28.5.	11,5		8.6.	14,5	
29.5.	11,6		9.6.	14,6	
30.5.	12,1	Koupel Persteril	10.6.	14,5	Injikace
31.5.	12,4		11.6.	14,6	
1.6.	12,6		12.6.	14,8	
2.6.	12,9	Koupel NaCl	13.6.	14,8	Výtěr
3.6.	14,4	Výtěrová (t)	14.6.	14,7	
4.6.	13,9		15.6.	14,9	
5.6.	14,9		16.6.	14,7	Konec experimentu

tab. č. 4 – přehled teplot po SP u časného výtěru

#### 3.2.8.5. Oplozenost a líhivost

Po výtěru byly odebrány vzorky jiker stejným způsobem jako u časného a běžného výtěru. Třetí fáze experimentu byla ukončena dne 16.6.2013.

#### 3.2.9. Hodnocení spermatu

Generačních ryb bylo v každé skupině nadbytek, aby bylo možné vybrat vhodné ryby, a také aby se dala hodnotit například kvalita mlíčáků. U mlíčáků byly po výtěru hodnoceny parametry, jako je objem spermatu, doba motility, množství pohyblivých spermií a koncentrace spermií. Základem bylo vždy odebrání spermatu. Po uspání mlíčáků bylo uměle vyřeno a odebráno mlíčí do injekční stříkačky a změřen objem spermatu. Následně byl vzorek mlíčí kápnut na podložní sklíčko a to bylo vloženo na stůl mikroskopu. Poté byl mikroskop zaostřen na spermie. Spermie byly aktivovány přidáním kapky vody. Pak byla stanovována doba motility a také % pohyblivosti v závislosti na čase. Koncentrace spermií ve spermatu byla stanovována za pomoci Bürkerovy počítací komůrky používané například také k počítání krvinek.

#### 3.2.10. Stanovování velikosti jiker a larev

Měření jiker a TL larev bylo provedeno pomocí binolupy a speciálního počítačového programu pro měření objektů na fotografiích. Vzorky jiker byly odebrány 4 hodiny po výtěru do Petriho misky s vodou a ihned přeneseny do laboratoře. Jikry byly po jedné vkládány na pozorovací plochu binolupy a postupně měřeny. Vždy bylo měřeno z každého oplozeného hnízda 10 ks jiker. Ze zjištěných hodnot byl vypočítán průměr. Při měření larev byl postup podobný. Nejprve byly odebrány vzorky čerstvě vylíhlých larev, u kterých



byla stanovena TL a později 2 dny starých larev. Aby byly vzorky reprezentativní, bylo vždy měřeno 10 ks jiker či larev od každého páru generačních ryb.

### 3.2.11. Zpracování výsledků

V průběhu realizace pokusů byla podrobně zaznamenávána veškerá data. Jednalo se hlavně o teploty vody, nasycení vody kyslíkem, hmotnosti ryb, hodnoty oplozenosti a líhivosti a několik dalších parametrů. Tyto údaje pak byly zpracovány a vyhodnoceny v programech Microsoft Excel 2007 a Statistica 12 – Statsoft Inc. Byla použita statistická analýza t-test pro nezávislé vzorky dle proměnných na základě průkaznosti nižší než  $p = <0,05$ .

## 4. Výsledky

### 4.1. Úspěšnost výtěrů a kvalita oplozených hnízd

V tabulce č. 1 je možné porovnat napříč skupinami dobu latence, úspěšnost jednotlivých mimosezónních výtěrů a počet oplozených hnízd. Doba latence je uváděna v hodinách. U skupiny časného výtěru byla teplota v průběhu latence  $14,42 \pm 0,83$  °C, u skupiny běžného výtěru  $15,37 \pm 1,1$  °C a u skupiny pozdního výtěru  $14,73 \pm 0,11$  °C. Po ověření t-testem bylo zjištěno, že mezi jednotlivými skupinami je v době latence jasně průkazný rozdíl.

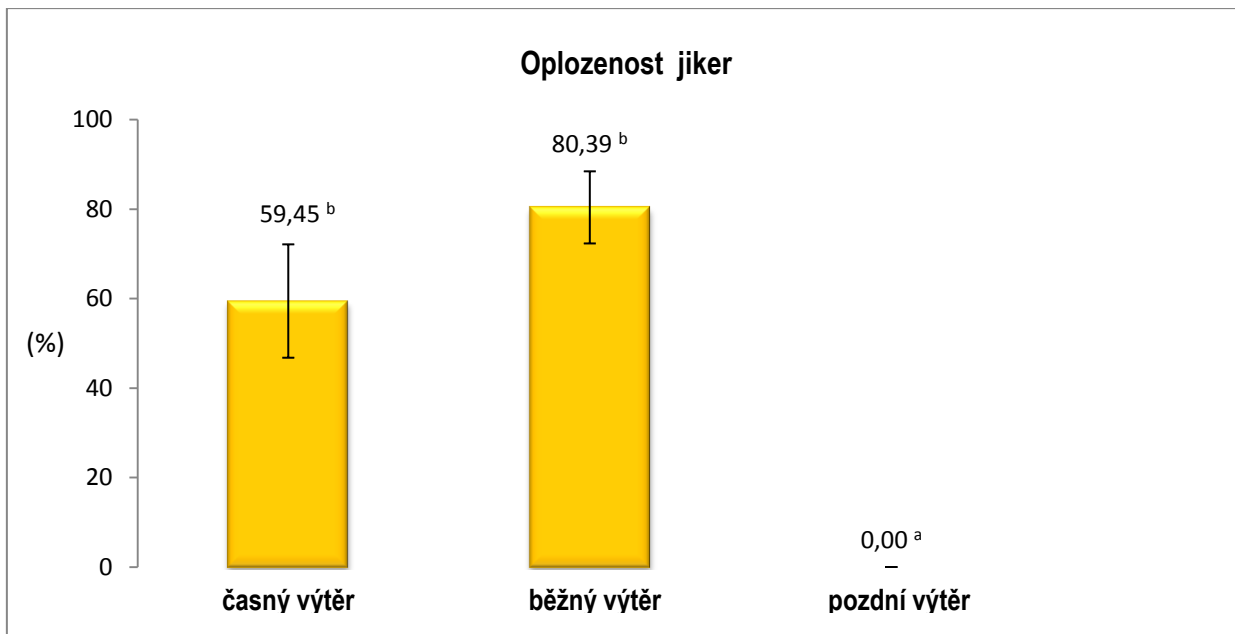
Výtěrová skupina	Délka SP	Délka latence	Výtěr dne	Počet vytřených párů	Oplozených hnízd
Časný výtěr	122 dní	61,51±4,84 <sup>b</sup>	11.3.	100 %	57,1 %
Běžný výtěr	149 dní	70,71±5,01 <sup>c</sup>	26.4.	100 %	71,4 %
Pozdní výtěr	223 dní	43,90±0 <sup>a</sup>	13.6.	42,9 %	0 %

tab. č. 5. Přehled úspěšnosti výtěrů

### 4.2. Oplozenost jiker

Na grafu č. 1 je srovnání oplozenosti jiker při jednotlivých výtěrech. Nejvyšší oplozenost jiker vykazovala skupina ryb vytíraná v běžném termínu výtěru s délkou SP 149 dní. Ve třetím mimosezónním výtěru se generační ryby se vytřely, ovšem oplozenost byla nulová, tudíž nebyly odebírány vzorky pro stanovení dalších parametrů. Mezi jednotlivými

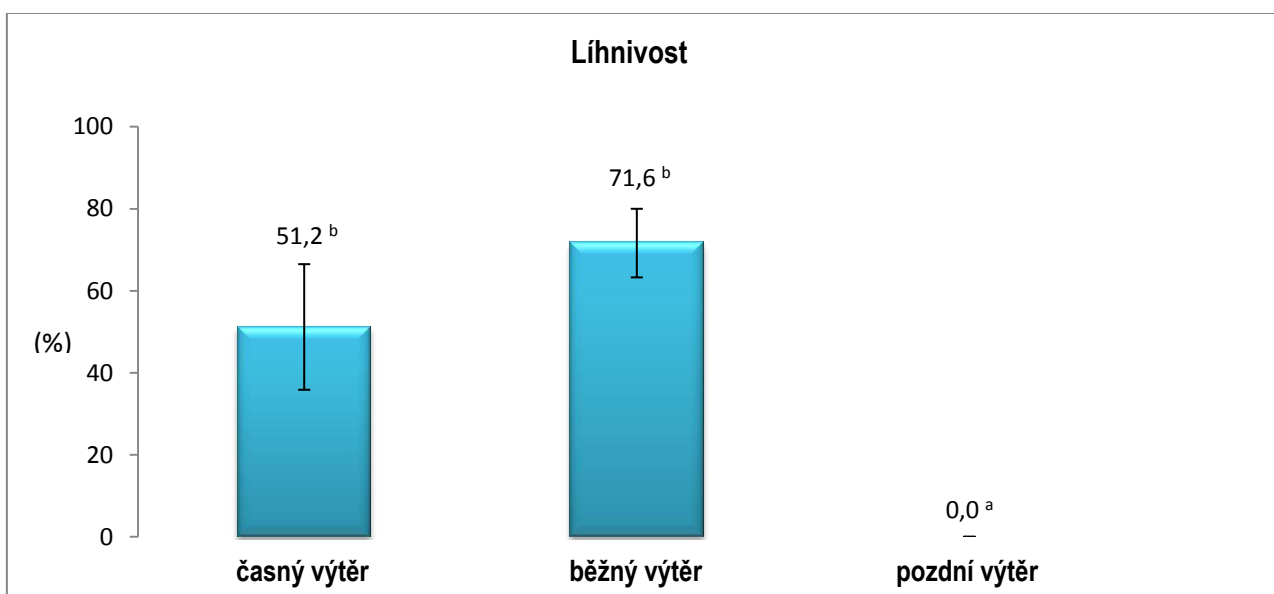
skupinami byl zjištěn statisticky neprůkazný rozdíl mezi časným a běžným výtěrem, ovšem s hodnotou na hranici průkaznosti  $p = 0,0542$ .



graf č. 1 - oplozenost jiker

### 4.3. Líhivost jiker

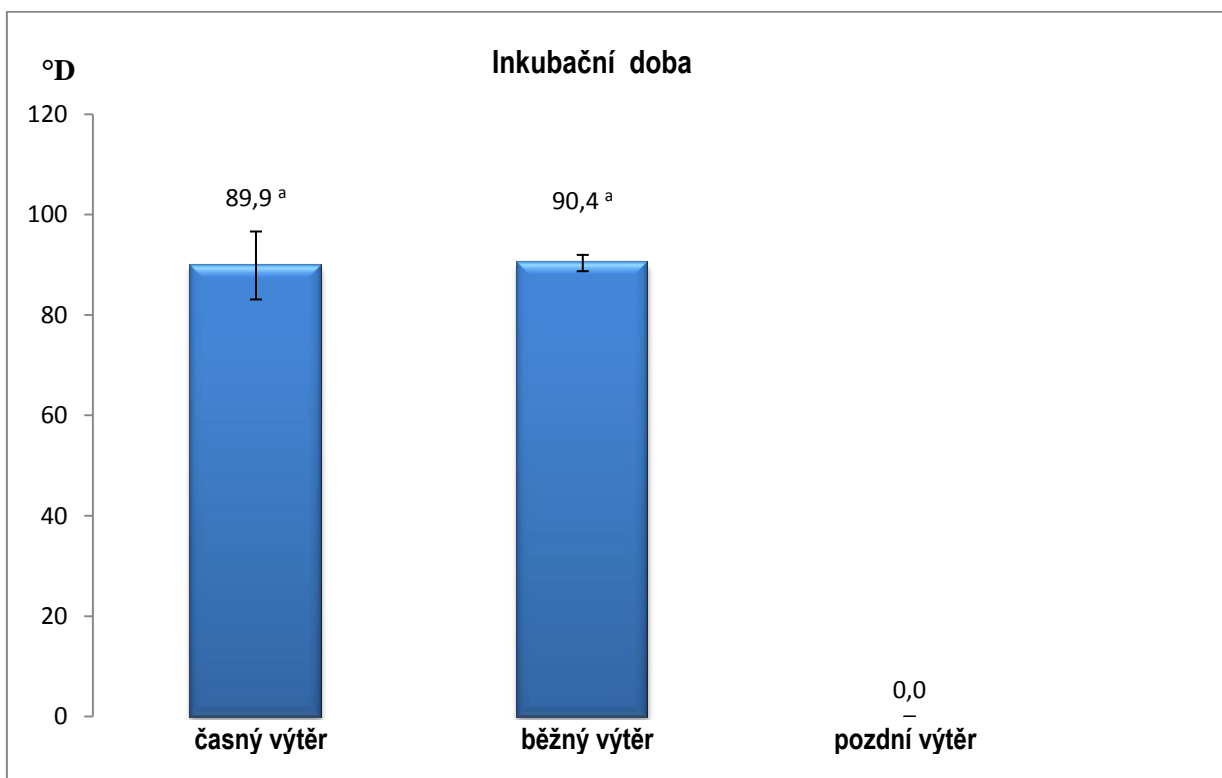
Graf č. 2 vyjadřuje líhivost v %. Nejlepší líhivost vykázala skupina, která byla vytírána v běžném datu výtěru. U skupiny s pozdním termínem výtěru nebyla stanovena líhivost, protože jikry po výtěru nebyly oplozené. Mezi skupinami časného a běžného výtěru byl i v případě líhivosti zjištěn neprůkazný rozdíl na hranici průkaznosti  $p = 0,0549$ .



graf č. 2 - srovnání líhivosti

#### 4.4. Délka inkubační doby

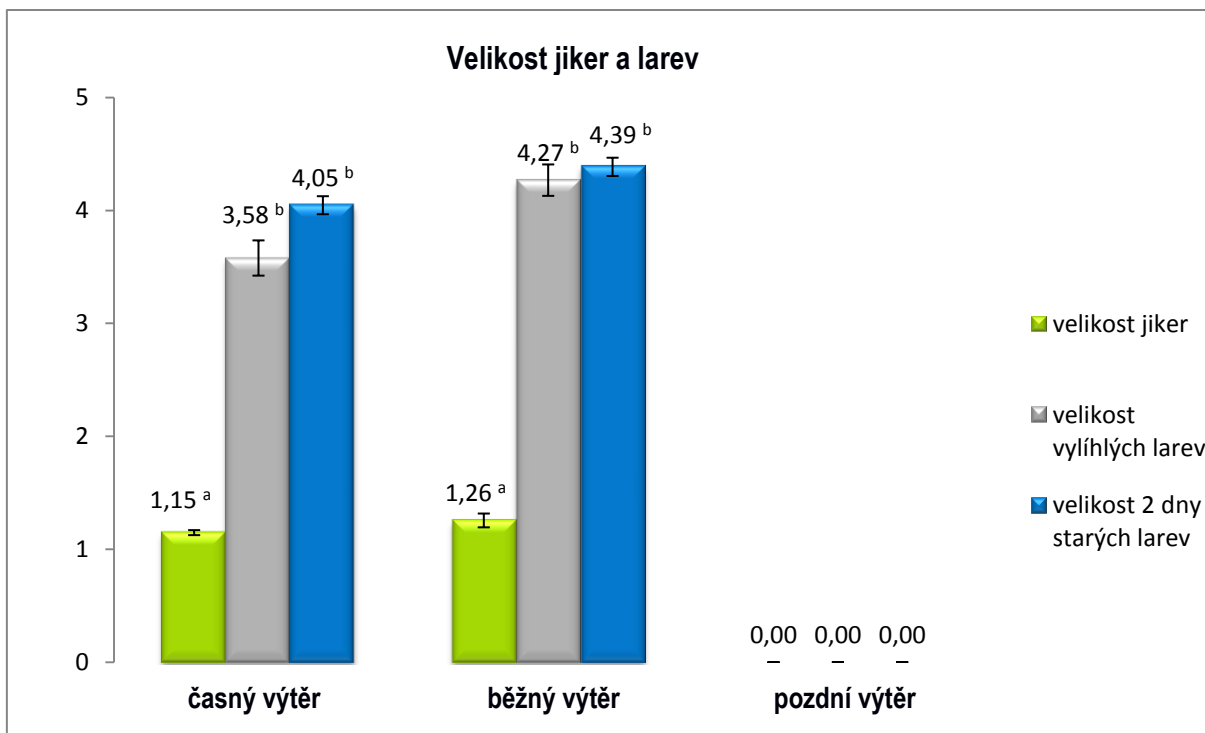
Na grafu č. 3 je porovnání délky inkubační doby v jednotlivých skupinách. U skupiny s pozdním termínem výtěru nebylo opět možné tento ukazatel zhodnotit. Při srovnání skupin časného a běžného výtěru je rozdíl zřetelně neprůkazný.



graf č. 3 - porovnání délky inkubační doby jiker

#### 4.5. Velikost jiker / larev 0 / larev 2

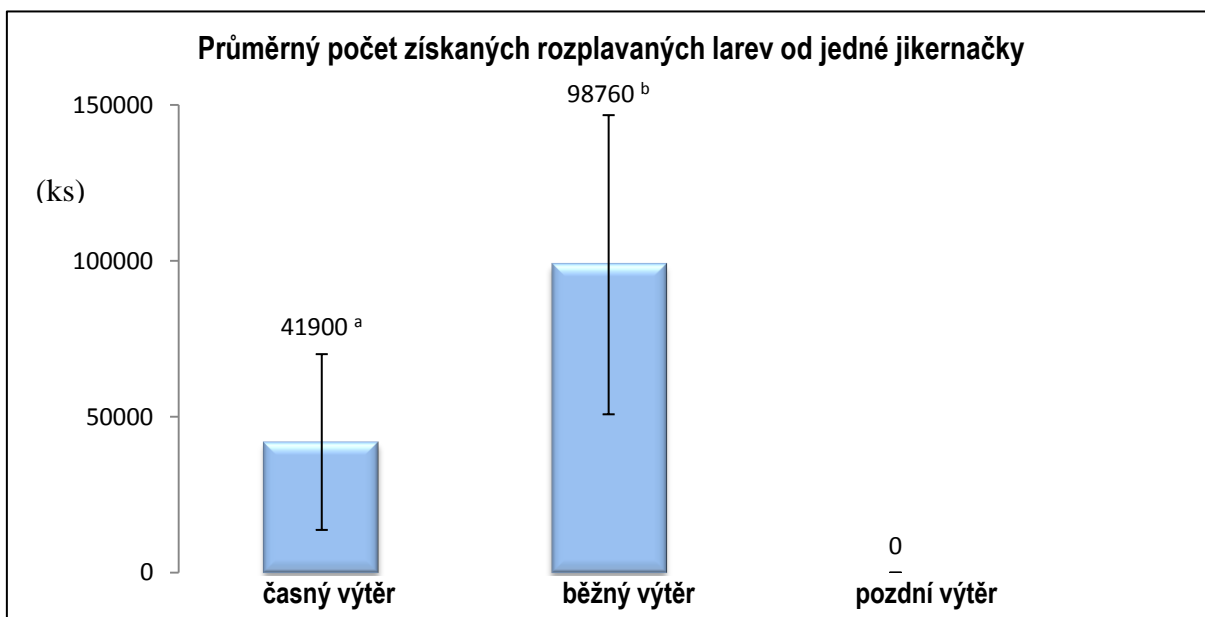
Graf č. 4 znázorňuje porovnání velikosti nabobtnalých jiker 4 hodiny po výtěru (zelené sloupce), velikost larev ihned po vykulení (šedé sloupce), velikost larev starých 2 dny (modré sloupce). Pro třetí skupinu opět nebylo možné stanovit potřebné parametry. Mezi velikostmi jiker byl neprůkazný rozdíl mezi skupinami časného a běžného výtěru. Při srovnání velikosti larev a to ať už zrovna vykulených či ve stáří dvou dnů byl jasně průkazný rozdíl mezi oběmi zmíněnými skupinami s hodnotami  $p = 0,0004$  a  $p = 0,0008$ .



graf č. 4 - porovnání velikosti jiker a larev v jednotlivých výtěrech

#### 4.6. Množství larev získaných od jedné jikernačky

Na grafu č. 5 je možné srovnat množství larev získaných průměrně od jedné jikernačky. Je nutné zmínit, že průměrná kusová hmotnost jikernaček ve skupině běžného výtěru byla o více než 400 g vyšší. Ovšem mezi skupinami časného a běžného výtěru je i při vyšší kusové hmotnosti jikernaček ve druhé skupině statisticky průkazný rozdíl. Od jikernaček ze skupiny běžného výtěru bylo získáno více než dvojnásobné množství larev.



graf č. 5 - průměrné množství získaných larev od jedné jikernačky.

#### 4.7. Výsledky pozorování spermatu

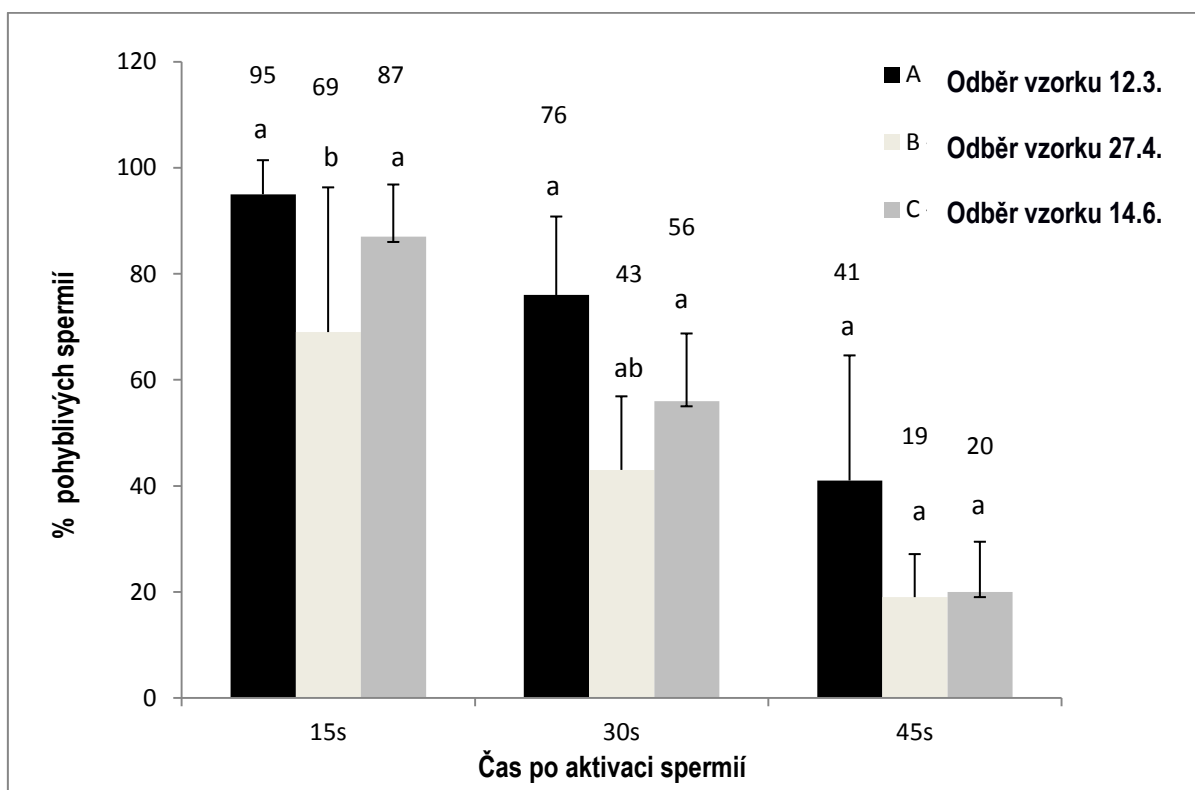
Mličáci ve všech výtěrových skupinách byli podrobena několika pozorováním. Bylo zjištěno, že délka studené periody měla vliv na objem a motilitu spermatu/spermii. Výrazně vyšší objem spermatu vykazovaly ryby s nejdelší SP. Doba motility spermii byla vyšší u skupiny časného výtěru, než u následujících dvou skupin.

Pozorovaná skupina	SP 122 dní	SP 149 dní	SP 223 dní
Objem spermatu ml <sup>-1</sup>	0,64 ± 0,26 <sup>a</sup>	1,07 ± 0,53 <sup>b</sup>	1,8 ± 0,2 <sup>c</sup>
Koncentrace ml/ml <sup>-1</sup>	19,34 ± 3,87 <sup>b</sup>	15,73 ± 2,68 <sup>a</sup>	16,47 ± 2,29 <sup>a</sup>
Doba motility	89,93 ± 10,2 <sup>a</sup>	55,18 ± 10,46 <sup>b</sup>	59,5 ± 8,69 <sup>c</sup>

tab. č. 6 - porovnání kvality mličáků v závislosti na délce SP.

#### 4.8. Srovnání doby motility a podílu pohyblivých spermii v závislosti na délce studené periody.

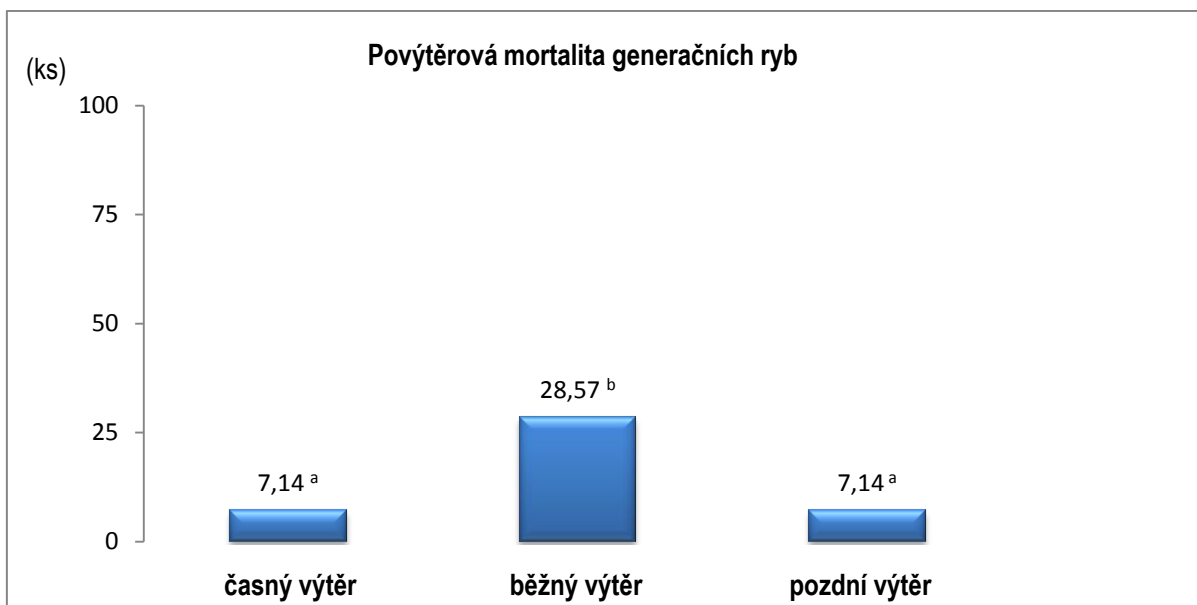
Největší podíl oplození-schopných spermii byl pozorován ve skupině ryb časného výtěru. Nejnížší kvalita spermii byla pozorována ve skupině běžného výtěru.



graf č. 6 - porovnání podílu oplození-schopných spermii mezi skupinami

#### 4.9. Mortalita generačních ryb po výtěru

V grafu č. 7 je znázorněna mortalita generačních ryb v průběhu dvou týdnů po výtěru. Každá skupina mimosezónního výtěru čítala 14 kusů ryb, v grafu každý ze sloupců říká, kolik % ryb z tohoto množství uhynulo. Nejvyšší ztráty byly zaznamenány při běžném výtěru a to 28,57 % ryb.



graf č. 7 - povýtěrová mortalita generačních ryb

## 5. Diskuze

Dubský a kol. (2003) popisuje dobře rozlišitelný pohlavní dimorfismus generačních ryb ve výtěrovém období. Není pravidlem, že je mezi pohlavími zřejmý rozdíl ve zbarvení břicha. Jikernačky mají sice často světlejší břicho a mlíčáci tmavší nebo mramorované, ovšem nelze se na tento znak ze 100% spolehnout. Spolehlivou metodou vyplývající z praxe je, že mlíčáci jsou zpravidla hubenější a po mírné masáži břišní dutiny uvolňují sperma. Jikernačky jsou výrazně zavalitější v oblasti břišní dutiny a mají vypouklou močopohlavní papilu.

Při pokusu byli injikováni také mlíčáci, ačkoliv autoři Musil a Kouřil (2006) uvádí, že je to zbytečné. Souběžně s mimosezonním výtěrem probíhal také pokus na hodnocení mlíčáků. Blecha a kol. (2015) zjistili, že injikovaný mlíčák v období mimosezonního výtěru je schopen z těla uvolnit výrazně větší množství spermatu. Injikace tak neměla vliv na kvalitu ale na kvantitu. Větší množství spermatu zajistilo vyšší oplozenost jiker.

Polícar a kol. (2011) uvádí, že doba latence u candáta se pohybuje od 79 hod do 120 hod. Já jsem zaznamenal výtěr generačních ryb v rozmezí od 43,9 hod do 72,9 hod. Nejnižší hodnotu vykazovala skupina s pozdním termínem výtěru. Pro generační ryby je délka SP 223 dní nenormální a velmi dlouhá, proto došlo k rychlé reakci a rychlému nástupu ovulace oocytů a vlastnímu výtěru ryb.

Úspěšnost byla u skupiny časného i běžného výtěru výborná. V obou případech se vytřelo 100 % ryb, ovšem rozdíly byly v počtech oplozených hnízd. Pro zvýšení úspěšnosti by jistě bylo vhodné provádět kontrolu zralosti oocytů pomocí odběru jiker kanylou, aby byly ryby injikované a vytřené ve správný moment. Kvalita samce v páru rozhoduje o míře oplození snůšky. Mimosezonní výtěr je materiálně i energeticky náročnou záležitostí, proto je pro uplatnění v praxi požadavek na co nejvyšší úspěšnost. Pro zvýšení úspěšnosti by bylo vhodné provádět kontrolu kvality generačních mlíčáků. Stanovení doby motility a % pohyblivých spermií by měly být základními selekčními kritérii. U skupiny pozdního výtěru, i když se dva páry ryb vytřely, bylo oplození nulové. Bylo tedy zjištěno, že SP o délce 223dnů je nadměrná a po vytření generačních ryb (pokud k němu dojde) jsou snůšky jiker neoplozené, poněvadž generační ryby nejsou schopny poskytovat kvalitní gamety.

Tvrzení Hokansona (1977), že okounovité ryby potřebují pro dozrání gonád projít chladnou periodou (pod 10°C) a to po dobu minimálně 160 dní není pravdivé. V mém pokusu se úspěšně vytřely, ryby, které prošly kratší studenou periodou. Výtěrová skupina s časným termínem výtěru – 122 dní a skupina s běžným datem výtěru – 149dní.

Oplozenost jiker i líhnivost larev byla nejlepší ve skupině, která byla vytírána v běžném

termínu výtěru. Skupina časného výtěru vykazovala o něco nižší hodnoty, ovšem hodnota oplozenosti na úrovni téměř 60 % a líhivost více než 51 % se dá u mimosezonního výtěru považovat za úspěch. Produkční využití metody časného výtěru by vyžadovalo větší množství generačních ryb či hlubší propracování samotné metody.

Velikost jiker a velikost larev byla vyšší v běžném výtěru než v časném výtěru. Kusová hmotnost jikernaček byla v běžném výtěru podstatně vyšší. To bude pravděpodobně důvod, proč byl rozdíl ve velikosti jiker a larev. Nutné je také říci, že velikost jiker neměla vliv na životaschopnost larev. Erm (1961) stejně jako Gaygalas a Gyarulaytis (1974) také uvádějí, že velikost generačních ryb má vliv na velikost jiker a larev.

Velikost vykulených larev je dle autorů Schlumberger & Proteau (1996) 4,5-5,5 mm. Já jsem zjistil nejmenší velikost larev po vykulení již od 3,35 mm a to konkrétně v časném výtěru. V této skupině byla průměrná velikost larev 3,58 mm a to poukazuje na to, že velikost larev pod 4 mm nebyla v dané skupině výjimkou. Velikost vykulených larev neměla vliv na jejich životaschopnost.

Množství získaných larev od jedné jikernačky bylo závislé především na hmotnosti jikernaček v jednotlivých skupinách. Největší množství larev bylo získáno při běžném termínu výtěru. V časném výtěru bylo získáno průměrně jen poloviční množství larev, ovšem hmotnost jikernaček v této skupině byla podstatně nižší, takže téměř 50 tis. ks. larev na jednu jikernačku lze jistě považovat při mimosezonním výtěru za úspěch.

Podle Zakeše (2009) je možné od jednoho mlíčáka získat 0,5 - 5 ml spermatu. Koncentrace spermatozoí se pohybuje od 16 do 26 mld.ml<sup>-1</sup> a doba motility v rozmezí 30 - 40 s. Zjištěné hodnoty korelují se zjištěním Zakeše (2009) až na dobu motility. Ta dosahovala průměrně dokonce 68,2 s. Od jednoho mlíčáka bylo získáno průměrně 1,17 ml spermatu. Koncentrace spermií byla 17,18 mld.ml<sup>-1</sup>.

Pozorování spermií a doby motility v závislosti na délce studené periody neprokazuje, že délka studené má vliv na kvalitu mlíčáků. Předpokládalo se, že s rostoucí délkou SP se bude úměrně zhoršovat kvalita mlíčáků. Mlíčáci jsou tedy i po nepřírodně dlouhé studené periodě schopni poskytnout kvalitní sperma.

Podle Zakese a Szczepkowského (2004) je nutné pro indukci a synchronizaci ovulace generačních ryb při mimosezonním výtěru podat generačním rybám hormonální přípravek. Toto tvrzení mohu po provedení našeho pokusu s celkem vysokou úspěšností potvrdit. Do momentu, než byl rybám podán hormonální přípravek došlo k výtěru pouze u jednoho ze 14 párů, které byly vytírány mimosezonně. Procentuální část vytřených párů bez podání hormonálního přípravku je pouze 7,1 %. Tudíž je pro úspěšnost mimosezonního výtěru



klíčové použití hormonu.

Bieniarz & Epler (1991) a Musil a Kouřil, 2006 konstatují, že mličáci často uvolňují sperma i bez podání hormonálního přípravku. Ve svém pokusu jsem si ověřil, že je tomu skutečně tak. Dokonce se uvolnění malého množství spermatu při masáži břišní dutiny používá ke stanovení pohlaví při rozdělení ryb do párů.

V našem pokusu jsme úspěšně vytřeli candáta 2 měsíce před datem běžného výtěru stejně tak jako Müller-Belecke a Zienert (2008). U candáta je tedy možné regulací fototermální periody uspíšit termín výtěru. Ovšem u skupiny s pozdním termínem výtěru bylo zjištěno, že SP o délce 223 dnů je nadměrná. Po vytření generačních ryb (pokud k němu dojde) jsou snůšky jiker neoplozené díky mličákům i jikernačkám, které nejsou schopny poskytnout kvalitní reprodukční materiál.

Důležitým zjištěním byla míra mortality generačních ryb po výtěru. Blecha (2012) a Policar a kol., (2011) uvádí mortalitu generačních ryb od výtěru do doby 14 dní po výtěru na úrovni 37,5-100 %, kdy úhyn všech ryb nebyl výjimkou. V uskutečněném pokusu bylo pro samotný výtěr použito 42 ryb a celková mortalita do 14 dnů po výtěru byla pouze 14,3 %. Uvedení autoři použili pro pokusy ryby dovezené z jarních výlovů pouze několik málo dní či týdnů před výtěrem. Myslím si, že výrazný vliv na povýtěrovou mortalitu má především dlouhodobé umístění generačních ryb do kontrolovaných podmínek. Ryby se tak postupně aklimatizují na stresové faktory jako je častá manipulace, nestálý světelný režim, pohyp personálu apod. Ve výtěrovém období proto veškerý stres snáší lépe a vykazují nižší povýtěrovou mortalitu.

Larvy získané předčasně mimo sezonním výtěrem jsou využitelné několika způsoby. V uskutečněném pokusu byly první larvy připraveny k nasazení ve druhé polovině března. Tyto larvy by byly nasazeny do rybníků. Bohužel přežití bylo nulové, poněvadž v průběhu března je ještě chladno a teplota vody pod 8 °C působí na candátí larvy letálně. Myslím si, že by bylo candátí larvy možné úspěšně odchovat v rybníčních podmínkách zejména v teplejších oblastech ČR. Například na jižní Moravě či ve Středočeském kraji, kde jsou rybníky v nižší nadmořské výšce. Za předpokladu odchovu do stadia rychleného candáta (3 - 4 cm) by bylo možné uskutečnit na jednom rybníku dva výrobní cykly, které by tak zvýšily výrobní kapacitu a konkurenceschopnost daného výrobního subjektu. Dalším možným využitím larev v je jejich nasazení a následný odchov v podmínkách RAS. Tyto larvy je možné krmit suchým krmivem a odchovat je jako násadu pro další intenzivní chov či dokonce do tržní velikosti.

## **6. Závěr**

Mimosezónní výtěr je jistě perspektivní metodou pro zvýšení produkce násadového a potažmo i tržního candáta v intenzivní akvakultuře. Pokusem bylo ověřeno, že termín výtěru candáta je možné více či méně ovlivňovat regulací fototermálního režimu. Myslím si, že pro mimosezónní výtěr by byly vhodnější generační ryby odchované v recirkulačním systému. Ryby z podmínek RAS jsou odolnější vůči stresovým faktorům i manipulaci, a proto jsou vhodnější. Troufám si říci, že s generačním hejnem, které by bylo chováno celoročně v podmínkách intenzivního chovu, by bylo možné plánovat výtěr na jakékoliv datum v průběhu celého roku. Hlavní vliv na úspěšnost výtěru a získání kvalitního potomstva má speciální fototermální režim. Bylo by nutné dlouhodobě ovlivňovat nastavení nejen studené ale i teplé termální periody. Pochopitelně je třeba tomuto režimu přizpůsobit i příslušné nastavení světelných podmínek. Věřím, že postupem času bude tato metoda uplatňována i v podmínkách českých produkčních rybářských podniků.

## 7. Seznam použité literatury

- Adámek, Z., Opačák, A., 2005. Prey selectivity in pike (*Essox lucius*) zander (*Sander lucioperca*) and perch (*Perca fluviatilis*) under experimental conditions. *Biologia*. 60(5): 567-570.
- Balon, E.K., Momot, W.T., Regier, H.A., 1977. Reproductive guilds of percids: results of the paleogeographical history and ecological succession. *Journal of the Fisheries Research. Board of Canada* 34: 1910-1921.
- Barry T.P., Malison J.A., Lapp A.F., 1995. Effects of selected hormones and male cohorts on final oocyte maturation, ovulation, and steroid production in Halibut (*Stizostedion vitreum*). *Procarione L.S. Aquaculture* 138: 331-347.
- Baruš, V., Oliva, O., 1995. Mihulovci – Petromyzontes a Ryby – Osteichthyes (2). *Academia, Praha*, 704.
- Bastl, I., 1978. Raný vývoj zubáča obyčejného – *Stizostedion lucioperca* (Linnaeus, 1758) v podmienkach Oravskej údolnej nádrže. *Biologické práce* 24 (3): 99-179.
- Bieniarz, K., Epler, P., 1991. In vivo methods for determining female maturity prior to hormonally stimulated spawning. In: *Fish Reproduction* (ed. by K. Bieniarz & P. Epler), Wyd. LETTRA, Cracow, Poland. 157-160.
- Blecha, M., 2012. Optimalizace umělého výtěru candáta obecného (*Sander lucioperca*) pomocí HCG a nové způsoby umělého odlepkování vytřených jiker před jejich inkubací. *FROV JU v Českých Budějovicích*, 23-50.
- Blecha, M., Křišťan, J., Polícar, T., 2015. Způsoby výtěru a výhody hormonálního ošetření generačních ryb při výtěru candáta. *Rybníkářství* 21: 6-8.
- Botsjarnikova, A.W., 1952. Dannye no biologii razmnozheniya i razvitiya kubanskogo sudako. *Zoologeskij žurnal* (in Russian), 31: 122.
- Brzuska, E., Bieniarz, K., 1977. A method of *in vivo* designating oocytes maturation of carp females with connection of injection with common carp pituitary extract. *The Stanisław Sakowicz Inland Fisheries Institute, Olsztyn*, No. 105: 27.
- Caligiani, A., 2001. *Angeln*. Euromedia Group, 122.

- CEMAGREF, 1990. Diversification de la production en pisciculture d'étang production de juveniles de sandre (*Stizostedion lucioperca*). Comptendu des expérimentations réalisées á la stacion de Lavalette, saisons 1988 – 1990. Cemagref Montpellier, 28.
- Čítek, J., Krupauer, V., Kubů, F., 1998. Rybníkářství, Informatorium, Praha, 123-126.
- Dabrowski K., Ciereszko A., Ramseyer L., Culver D., Kestemont P., 1994. Effects of hormonal treatment on induced spermatation and ovulation in the yellow perch (*Perca Lavescens*). Aquaculture 120: 171-180.
- Deelder, C.L., Willemsen, J., 1964. Synopsis of biological data on the pike-perch, *Lucioperca lucioperca* (Linnaeus), 1958. FAO Fisheries Synopsis 28: 1–60.
- Demirkalp, F.Y., 1992. The reproduction biology of *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758, *Mugil cephalus* Linnaeus, 1758, *Stizostedion lucioperca* Linnaeus, 1758, in Bafra Balik Lakes (Balikgölü - Uzungöl). Turkish Journal of Zoology 16: 311–322.
- Demska-Zakes, K., Zakes, Z., (2002) Controlled spawning of pikeperch, *Stizostedion lucioperca* (L.) in lake cages. Czech Journal of Animal Science 47: 230-238.
- Dörner, H., Wagner, A., Benndorf, J., 1999. Predation by piscivours fish on age, spatital and temporal variability in a biomanipulated lake (Bautzen reservoir, Germany), Hydrobiologia 408-409: 39-46.
- Dubský, K., 1998. Základy chovu vedlejších druhů ryb. Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství v Praze, 35.
- Dubský, K., Kouřil, J., Šrámek, V., 2003. Obecné rybářství, informatorium, Praha, 215-217.
- Dungel, J., Řehák, Z., 2005. Atlas ryb, obojživelníků a plazů České a Slovenské republiky, AKADEMIE VĚD ČESKÉ REPUBLIKY, Praha, 92.
- Durantel, P., 1999. Příručka rybáře, Příroda a.s., Bratislava, 154-156.
- Dyk, V., 1952. Naše ryby. 3. Vydání. Zdravotnické nakladatelství, Praha, 336.
- Erm, V. 1961. Eesti riim ja megevete kohade bioloogilistest ja morfoloogilistest erinevustest. Hüdrobioloogilised Uurimused 2, In Estonian, 289–342.
- Erm, V., 1981. Koha. Tallinn: Valgus, in Estonian, 128.

- Fülner, G., Pfeifer, M., Langer, N., 2007. Karpfenteichwirtschaft, Bewirtschaftung von Karpenteichen, Gute fachliche Praxis. Sächsische Landesanstalt für Landwirtschaft, Dresden, Germany, 129.
- Gaygalas, K.S., Gyarulaytis, A.B., 1974. The ecology of the pike-perch (*Lucioperca lucioperca*) in the Kurshyu Mares basin, the state of its stocks and fishery regulation measures. Journal of Ichthyology 14: 514–525.
- Hanel, L., Lusk, S., 2005. Ryby a mihule České republiky, Český svaz ochránců přírody Vlašim, Vlašim, 350-351.
- Hartman, P., Regenda, J., Praktika v rybníkářství, 2014. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. 286-315.
- Hilge, V., Steffens, W., 1996. Aquaculture of fry and fingerling of pikeperch (*Stizostedion lucioperca* L.). A short review. Journal of Applied Ichthyology 12: 167-170.
- Hokanson, K.E.F., 1977. Temperature requirements of some percids and adaptations to the seasonal temperature cycle. Journal of the Fisheries Research, Board of Canada 34: 1524 – 1550.
- Horváth, L., Tamás, G., Seagrave, Ch., 2002. Carp and Pond Fish Culture, Blackwell Science, Cornwall, 129-131.
- Horvath, L., Tamas, G., Tölg, I., 1984. Special methods in pondfish husbandry, Seattle. J.E. Halver Corporation, 147.
- Ilenkova, S.A. 1974. Fecundity of the pikeperch in the eastern part of the Gulf of Finland. Izvestija Gosniorh 92, 37–44.
- Izquierdo, M.S., Fernández-Palacios, H., Tacon, A.G.J., 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. Aquaculture 197: 25-42.
- Kaminski, R., Kuszniar, J., Myszkowski, L., Wolnicki, J., 2004. The first attempt to artificially reproduce the endangered cyprinid lake minnow *Eupallasella peremurus* (Pallas), Aquaculture International, 12: 3-10
- Kestemont, P., Melard, C., 2000. Aquaculture. In: Percid Fishes, Systematics, Ecology and Exploitation (ed. by J.F. Craig), Blackwell Science, Oxford, UK, 191-224.
- Kestemont, P., Xueliang, X., Hamza, N., Maboudou, J., Toko, I.I., 2007. Effect of weaning age and diet on pikeperch larviculture. Aquaculture, 264: 197-204.

- Koed, A., Mejlhede, P., Balleby, K., Aarestrup, K., 2000. Annual movement and migration of adult pikeperch in a lowland river. *Journal of Fish Biology*, 57: 1266–1279.
- Kolářová, J., Velišek, J., Nepejchalová, L., Svobodová, Z., Kouřil, J., Hamáčková, J., Máchová, J., Piačková, V., Hajšlová, J., Holadová, K., Kocourek, V., Klimánková, E., Modrá, H., Dobšíková, R., Groch, L., Novotný, L., 2007. Anestetika pro ryby, Edice metodik, VÚRH JU Vodňany, č.77, 4-7.
- Kolman, R., 2006. Sturgeon. Rearing and Cultivation. A Guidebook for Breeders. Wyd. IRS, Olsztyn, Poland, 117.
- Kokurewicz, B., 1969. The influence of temperature on the embryonic development of the perch, *Perca fluviatilis* L. and *Lucioperca lucioperca* (L.). *Zoologica Poloniae* 19: 47– 67.
- Kosior, M., Wandzel, T., 2001. Comparison of fecundity of pikeperch (*Stizostedion lucioperca* (L.)) in three lagoons in the southern Baltic Sea. *Bulletin of the Sea Fisheries Institute* 154: 3-27.
- Kostomarov, B., 1958. Rybářství. Československá akademie zemědělských věd, Praha, 356.
- Kouřil, J., Barth, T., 1981. Artificial induction of ovulation by LH-RH in tench (*Tinca tinca* L.) (in Czech). *Bulletin of Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology, Vodňany* 17: 13–18.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., 1999. Hormonální indukce ovulace u kapra pomocí čištěného extraktu kapří hypofýzy, VÚRH JČU ve Vodňanech, Edice metodik č. 61: 2-3.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., 2005. Metody poloumělé a umělé reprodukce candáta obecného (*Sander lucioperca*) a odchov jeho plůdku v rybnících, Buletin VÚRH Vodňany 41: 122-125.
- Kouřil, J., Podhorec, P., Stejskal, V., Policar, T., Křišťan, J., Drozd, B., 2011. Optimalizace metod hormonálně indukované ovulace při řízené reprodukci vybraných hospodářsky významných teplomilných druhů ryb, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích FROV. Edice metodik č.120: 7-14.
- Král, J., Svobodová, Z., 1990. Menocain: ČS anestetikum pro ryby, VÚRH Vodňany, Edice metodik č. 37: 3-7.
- Křišťan, J., 2009. Umělý a poloumělý výtěr candáta obecného (*Sander lucioperca*), JCU v Českých Budějovicích. 8-39.

- Křišťan, J., Alavi S.M.H., Stejskal, V., Policar, T., 2012. Hormonal induction of ovulation in pikeperch (*Sander lucioperca* L.) using human chorionic gonadotropin (hCG) and mammalian GnRH analogue. *Aquacult Int.* This article is published with open access at Springerlink.com.
- Kucharczyk, D., Targońska, K., Kwiatkowski, M., Krejszeff, S., Lutzyn J.M., Szkudlarek, M., Szczerbowski, A., Kujawa R., Mamcarz, A., Gomulka, P., Kestemont, P., 2007. Artificial reproduction of pikeperch, EC project (Luciopercimprove, COOP-CT 2005- 17646). The printing of the manual was founded by the Polish Ministry of Science (project No. 403/6PR UE/2007/7).
- Lappalainen, J., Dörner, H., Wysujack, K., 2003. Reproduction biology of pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)) – a review. *Ecology of Freshwater Fish.* Blackwell Munksgaard, 12: 95– 106.
- Lehtonen, H., Toivonen, J., 1981. Fresh-water fishes. In: Voipio, A., ed. *The Baltic Sea.* Amsterdam: Elsevier Scientific Publications Co., 333–341.
- Lehtonen, H., 1982. Kuhan kotipaikkaukollisuus. Suomen Kalastuslehti, in Finnish, 5: 124–127.
- Lehtonen, H., Toivonen, J., 1987. Migration of pike-perch, *Stizostedion lucioperca* (L.), in different coastal waters in the Baltic Sea. *Finnish Fisheries Research* 7: 24–30.
- Lepič, P., Hamáčková, J., Kouřil, J., Lepičová, A., Barth, T., 2005. Hormonálně indukovaný výtěr jikernaček candáta obecného (*Sander lucioperca* (L.)), - Spurný, P. (ed.), *Sborník VIII. České ichtiologické konference, MZLU Brno*, 215-219.
- Linhart, O., Rodina, M., Boryshpolets, S., 2011. Hodnocení čerstvého spermatu ryb, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. *Edice metodik* 114: 13- 21.
- Ljungren, L., 2002. Feeding ecology of young-of-the-year pikeperch (*Stizostedion lucioperca*) implications for recruit and aquaculture. Doctoral thesis. Swedish university of Agricultural Sciences, Umea.
- Ljunggren, L., Staffan, F., Falk, S., Linden, B., Mendes, J., 2003. Weaning of juvenile pikeperch, *Stizostedion lucioperca* L., and perch, *Perca fluviatilis* L., to formulated feed. *Aquaculture Research* 34: 281-287.

- Lusk, S., Baruš, V., Vostradovský, J., 1983. Ryby v našich vodách. Nakladatelství ČSAV, Academia, Praha, 248.
- Lusk, S., Baruš, V., Vostradovský, J., 1992. Ryby v našich vodách. 2. vydání. Nakladatelství ČSAV Academia, Praha, 248.
- Lusk, S., Krčál, J., 1988. Příkopové rybníčky. Edice Metodik, VÚRH, Vodňany, č. 28: 16.
- Mareš, J., Burleová, J., 1983. Rybářská technologie II. Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství v Praze, 256.
- Malison, J.A., Held, J.A., 1996. Reproduction and spawning in walleye (*Stizostedion vitreum*). Journal of Applied Ichthyology 12: 153-156.
- M'Hetli, M., 2011. Le sandre *Stizostedion lucioperca* (Linnaeus, 1758), (Teleosté'en Percidae) poisson allochtone e'tude biologique et essai d'optimisation des crite`res de le levage. Thése de doctorat, Universite' de Tunis El Manar
- Muntyan, S.P., 1977. Effect of constant incubation temperatures on hatching and the morphological characteristics of pike perch embryos. In Karzinkin G. S., ed. Metabolism and biochemistry of fishes. New Delhi: Indian National Scientific Documentation Centre, 214–221.
- Musil, J., Kouřil, J., 2006. Řízená reprodukce candáta obecného a odchov jeho plůdku v rybnících, Edice metodik (Technologická řada) FROV JU Vodňany, č. 76: 8-14.
- Musil, J., Peterka, J., 2005. Potrava 0+ okouna a candáta – Některé aspekty přechodu od planktivorie k piscivorii. Bulletin VÚRH Vodňany 41 (3): 99-106.
- Müller-Belecke, A., Zienert, S., 2008. Out-of-season spawning of pike perch (*Sander lucioperca* L.) without the need for hormonal treatments. Aquaculture Research, 39: 1279-1285.
- ON 46 6835, 1987. Chov candáta. Vydavatelství ÚNM, Praha, 12s
- Podubský, V., Štědranský, E., 1967. Pstruhařství a umělý chov ryb. Státní zemědělské nakladatelství Praha, 250.
- Pokorný, J., Adámek, Z., Šrámek, V., Dvořák, J., 2003. Pstruhařství, Iformatorium, Praha, 101.
- Pokorný, J., Lucký, Z., Lusk, S., Pohunek, M., Jurák., Štědranský, E., Prášil, O., 2004. Velký encyklopedický rybářský slovník, Fraus, Plzeň, 47.



- Polícar, T., Alavi, S.M.H., Stejskal, V., Křišťan, J., Kouřil, J., 2011a. Umělý a poloumělý výtěr okouna říčního (*Perca fluviatilis*) používaný k masové produkci embryí, Edice metodik (Technologická řada) FROV JU Vodňany, č. 117: 17-19.
- Polícar, T., Bláha, M., Křišťan, J., Stejskal, V., 2011b. Kvalitní a vyrovnaná produkce rychleného plůdku candáta obecného (*Sander lucioperca*) v rybnících, Edice metodik (Technologická řada) FROV JU Vodňany, č. 110: 7-28.
- Polícar, T., Blecha, M., Křišťan, J., 2014. Masový poloumělý výtěr candáta obecného (*Sander lucioperca* L.) s použitím recirkulačního akvakulturního systému (RAS). Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, FROV, Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz, 4 – 6.
- Pospíšil, O., 1998. Svět ryb, Ottovo nakladatelství, Praha, 141.
- Raikova-Petrova, G., Zivkov, M., 1998. Maturity, spawning and sex ratio of pike perch, *Stizostedion lucioperca* (L.), in two Bulgarian reservoirs as compared to other European habitats. J. Applied. Ichthyology 14 (1-2): 31-35.
- Randák, T., Slavík, O., Kubečka, J., Adámek, Z., Horký, P., Turek, J., Vostradovský, J., Hladík, M., Peterka, J., Musil, J., Prchalová, M., Jůza, T., Kratochvíl, M., Boukal, D., Vašek, M., Andreji, J., Dvořák, P., 2013. Rybářství ve volných vodách, JU FROV, České Budějovice, 225-226.
- Reiser, F., Kubů, F., Vostradovský, J., 1983. Rybářství- součást zemědělské výroby, Ministerstvo zemědělství a výživy ČSR, SZN Praha, 52-54.
- Rónyai, A., 2007. Induced out-of-season and seasonal tank spawning and stripping of pike perch (*Sander lucioperca* L.), Aquaculture Research 38: 1144-1151.
- Roqueplo, C., 1986. La reproduction des sandres dans le lac de Cazaux-Sanguinet (Landes), Bordeaux. CEMAGREF, 12.
- Rothbard, S., Yaron, Z., 1995. Carps (*Cyprinidae*). In: Broodstock Management and Egg and Larval Quality (ed. by Bromage, N. R., Roberts, R. J.) Blackwell Science, Oxford, UK, 321-352.
- Ruuhijärvi, J., Hyvärinen, P., 1996., The status of pikeperch culture in Finland. Journal of Applied Ichthyology 12: 185–188.
- Salojärvi, K., Salminen, M., Ruuhijärvi, J., Ahonen, M., Nurmio, T., Aarnio, M., Honkanen, M., 1986. Kuhaviljely Kalatalouden Keskusliitto. In Finnish, no. 84: 1–21.

- Sarmasik, A., Timur, M., 1994. A study on seasonal development of gonad and determination of sexual maturity age of pike-perch (*Stizostedion lucioperca*, Linnaeus, 1758) in Lake Egirdir. Turkish Journal of Biology 18: 9–26.
- Schlumberger, O., Proteau, J.P., 1996. Reproduction of pike-perch (*Stizostedion lucioperca*) in captivity. Journal of Applied Ichthyology 12: 149–152.
- Steffens, W., Geldhauser, F., Gerstner, P., Hilge, V., 1996. German experience in propagation and rearing of fingerling pikeperch (*Stizostedion lucioperca*). Anales Zoologici Fenici 33: 627-634.
- Steenfeldt, S., Lund, I., Höglund, E., 2011. Is bath variability in hatching time related to size heterogeneity and cannibalism in pikeperch (*Sander lucioperca*). Aquaculture Research, 42, 727- 732.
- Stráňai, I., 2000. Chov rýb. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 195.
- Šusta, J., 1898. Pět století rybníčního hospodářství v Třeboni. Botanický ustav AV ČR, Třeboň, 186.
- Svärdson, G., Molin, G., 1973. The impact of climate on Scandinavian populations of the sander, *Stizostedion lucioperca* (L.). Report of the Institute of Freshwater Research, Drottningholm 53: 112–139 .
- Szkudlarek, M., Zakes, Z., 2007. Effect of stocking density on survival and growth performance of pikeperch. *Sander lucioperca* (L.), larvae under controlled conditions. Aquaculture International 15, 67–81.
- Tesch, F.W., 1959. Die Zanderlaichverhältnisse (*Lucioperca lucioperca* L.) auf Grund von Laichnestkontrollen im Müggelsee. Zeitschrift für Fischerei VIII (N.F.) 587–596 (in German).
- Turunen, T., 1996. The effects of twine thickness on the catchability of gillnets for pikeperch (*Stizostedion lucioperca* (L.)). Annales Zoologici Fennici 33: 621–625.
- Unger, E. 1938. Über die Zanderzucht in Karpfenteichwirtschaften. Allgemeine Fischerei-Zeitung 63: 81–85 (in German).
- Van Densen, W.L.T., 1987. Gillnet selectivity to pikeperch, *Stizostedion lucioperca* (L), and perch, *Perca fluviatilis* L., caught mainly wedged. Aquaculture and Fisheries Management 18: 95–106.

- Virbickas, J., Gerulaitis, A., Misi Niene, D., Sineviciene, D., 1974. Biology and Fishery of the Pike-Perch in the Water Bodies of Lithuania. Vilnius: State publishing house 'Mintis', 277 (in Russian).
- Willemsen, J., 1977. Populations dynamics of percids in Lake IJssel and some smaller lakes in the Netherlands. Journal of the Fisheries Research Board of Canada 34: 1710–1719.
- Wilson, J., Olegsby, A., Housby, T., Millman, M., Gathercole, P., 1999. The complete Book of Fishing, Nakladatelství Vašut, Tottpan Čína, 124, 125.
- Wilson, J., 1999. Z anglického originálu „The Dorling Kindersley Encyklopedia of Fishing přeložil Cibulka, J., Ottovo nakladatelství, Praha, 148-149.
- Winkler, H.M., Klinkhardt, M., Buuk, B., 1989. Zur Fruchtbarkeit und Reifeentwicklung Am Zander (*Stizostedion Lucioperca* (L.) aus Brackgewässern der südlichen Ostsee. Wissenschaftliche Zeitschrift der Universität Rostock 38 (N-Reihe): 31–37 (in German).
- Wootton, R.J., 1990. Ecology of teleostei fishes. New York: Chapman & Hall Ltd, 404.
- Zainuri, M., 1989. Age, croissance et reproduction d'une population de sandre (*S. lucioperca*) en Camargue. USTL Montpellier, Mémoire DEA. 58.
- Zakes, Z., Demska-Zakes, K., 1996. Effect of diets on growth and reproductive development of juvenile pikeperch, *Stizostedion lucioperca* (L.), reared under intensive culture conditions. Aquaculture Research 27: 841–845.
- Zakes, Z., Demska-Zakes, K., 1999. Some practical aspects of controlled pikeperch reproduction, Rybactwo Jeziorowe, The Stanislaw Sakowicz Inland Fisheries Institute, Olsztyn, 3-98.
- Zakes, Z., Demska-Zakes, K., 2001. Pikeperch reproduction in lake cages – Wyd. IRS, Olsztyn, No. 183, 24 (in Polish).
- Zakes, Z., Demska-Zakes K., 2005. Artificial spawning of pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)) stimulated with human chorionic gonadotropin (hCG) and mammalian GnRH analogue with dopamine inhibitor. Archives of Polish Fisheries 13: 63-75.
- Zakes, Z., Demska-Zakes, K., 2009. Controlled reproduction of pikeperch *Sander lucioperca* (L.): a review, ©Inland Fisheries Institute in Olsztyn. 1-18.

- Zakes, Z., 1999. The effect of body size and water temperature on the results of intensive rearing of pike-perch, *Sander lucioperca* L. fry under controlled conditions. Archives of Polish Fisheries 7: 187-199.
- Zakes, Z., Szczepkowski, M., 2004. Induction of out-of-season spawning of pikeperch, *Sander lucioperca* (L.) – Aquaculture International, 12: 11-18. Zakes, Z., 2007. Out-of-season spawning of cultured pikeperch *Sander lucioperca* (L.). Aquaculture Research 38: 1419-1427.
- Zakes, Z., 2009. Sandacz chór i hodila. Poradnikhodowcy, IRS, Olsztyn, Poland, 203.
- Zakes Z., Szczepkowski, M., Szkudlarek, M., 2000. Production of pikeperch, *Stizostedion lucioperca* (L.) to market size in water recirculation systems. In: Freshwater Aquaculture in Central and Eastern Europe: Achievements and Perspectives (ed. By Ginzevskij, M. V.), Institute of Fisheries Management, Kiev, Ukraine. 214-216.
- Zarski, D., Targonska, K., Kestemont, P., Fontaine, P., Krejszeff, S., Kupren, K., Kucharczyk, D., 2012. Effect of different commercial spawning agents and regime on the effectiveness of pikeperch, *Sander lucioperca* (L.), reproduction under controlled conditions. Aquaculture International, 325: 10-957
- Zienert, S., Heidrich, S., 2005. Aufzucht von Zandern in der Aquakultur. Schriften des Instituts für Binnenfischerei e.V. Potsdam-Sacrow 18: 1-60.
- Zohar, Y., Mylonas, C.C., 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. Aquaculture 197: 99–136.
- Zusková, E., Máchová, J., Velíšek, J., Gela, D., 2011. Možnosti využití kyseliny peroctové v rybářské praxi. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. Edice metodik 109: 6-23.

**Zdroje online:**

Cultured Aquatic Species Information. (online). FAO © 2015. [cit. 2015-3-18]. Dostupné z ≤ [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sander\\_luciperca/en#tcNA00EA](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sander_luciperca/en#tcNA00EA)≥

## Abstrakt

V průběhu dvou mimosezonních a jednoho sezonního výtěru candáta obecného bylo celkem použito 21 párů generačních ryb, které byly rozděleny do třech skupin odlišujících se pouze délkou studené periody (SP) a datem výtěru. Skupina časného výtěru (A) – SP = 122 dnů, Skupina běžného výtěru (B) – SP = 149 dnů, Skupina pozdního výtěru (C) – SP = 223 dnů. Termíny výtěrů byly: A – 11.3., B – 26.4., C – 13.6). U jednotlivých skupin generačních ryb byly sledovány základní produkční ukazatele (délka latence, úspěšnost výtěru, oplozenost jiker, líhivost larev atd.) a kvalita spermatu mlíčáků, kteří byly vzorkováni jeden den po pozorovaném poloumělém výtěru. U skupiny A a B bylo dosaženo 100 % úspěšnosti výtěru, oplozenost jiker se pohybovala na úrovni 59,4 % (Skupina A) a 80,3 % (Skupina B). Horších výsledků bylo dosaženo u Skupiny C, kde se vytřelo pouze 42,9 % ryb s nulovou oplozeností jiker. Z analýzy kvality spermatu bylo zjištěno, že délka SP neměla vliv na kvalitativní ukazatele spermatu u jednotlivých skupin a za nulovou oplozeností jiker ve Skupině C tedy zřejmě stála nízká kvalita jiker. Hlavním zjištěním této práce je, že candáta obecného lze úspěšně polouměle mimosezonně vytřít v časném jarním období s výsledkem výtěru srovnatelným s obdobím normálního sezonního výtěru. Ovšem pro dosažení kvalitního pozdního výtěru je nutné generační jikernačky stimulovat jiným způsobem, který by vedl k zlepšené kvalitě jiker a následně pak i vyšší oplozenosti.

**Klíčová slova:** reprodukce, candát obecný, jikernačky, mlíčáci, studená perioda, mimosezoní výtěr

## **Abstract**

In total, 21 pairs of pikeperch brood stock were divided into three groups and used during two out-of-season and one seasonal semi-artificial spawning. The only differences among these three groups were the length of cold water period (CWP) and spawning date. Group of earlier spawning (A) – CWP = 122 days, Group of normal spawning (B) – CWP = 149 days, Group of late spawning (C) – CWP = 223 days). Dates of spawnings A – 11.3., B – 26.4., C – 13.6). There were observed and assessed the main production parameters such as latency, successful spawning, fertilisation and hatching rate etc. in each group and spermatozoa quality (sampled one day after the observed spawning). In Group A and B, 100 % of fish successfully spawned. Fertilisation rate was 59.4 % (Group A) and 80.3 % (Group B). Much worse results were obtained in Group C. Only 42.9 % of fish spawned and the fertilisation rate was zero. There was no difference among the three groups in spermatozoa quality parameters. It means that the poor fertilisation rate in Group C was caused by low egg quality. According to our results we can say that it is possible to successfully spawn pikeperch earlier (before the main spawning season) with comparable result to the natural spawning season. However, it is necessary to find some better way for female stimulation to provide higher egg quality and subsequently higher fertilisation rate.

**Key words:** reproduction, pikeperch, females, males, cold water period, out-of-season spawning