

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**  
**Fakulta rybářství a ochrany vod**  
**Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický**

**Diplomová práce**

Optimalizace umělé inkubace jiker a embryí u štiky  
obecné (*Esox lucius* L.) v kontrolovaných  
podmínkách

**Autor:** Bc. Jan Hampl

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

**Konzultant diplomové práce:** Ing. Volodymyr Bondarenko, Ph.D.

**Studijní program a obor:** N4103 Zootechnika, Rybářství

**Forma studia:** Kombinovaná

**Ročník:** 2.

České Budějovice, 2015

Prohlašuji, že svoji diplomovou 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 diplomové 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 této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

Datum:

Bc. Jan Hampl

Děkuji svému vedoucímu práce doc. Ing. Tomáši Policarovi, Ph.D., za metodické vedení, odbornou pomoc, poskytnuté rady a cenné připomínky při vypracování této diplomové práce. Dále bych chtěl poděkovat MSc. Volodymyru Bondarenkovi, Ph.D., Ing. Miroslavu Blechovi a MSc. Marii Uzhytchak, kteří se podíleli na výtěrech, nasazení jiker štiky obecné do inkubátorů a na následných experimentech, čímž mi umožnili vypracování této diplomové práce. Moc díky všem!

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE (PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Jan HAMPL**  
Osobní číslo: **V13N006K**  
Studijní program: **N4103 Zootechnika**  
Studijní obor: **Rybářství**  
Název tématu: **Optimalizace umělé inkubace jiker a embryí u štiky obecné (*Esox lucius* L.) v kontrolovaných podmínkách**  
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 :

Štika obecná (*Esox lucius* L.) produkuje vysoce kvalitní svalovinu, která má nepatrnou příchutř ryby a je vysoce dietní a lehce stravitelná. Z tohoto důvodu je štika hospodářsky oblíbeným dravým druhem ryby, který se využívá především v rámci rybničního polykulturního chovu k eliminaci drobných, méně cenných kaprovitých ryb. Štika je v současnosti také testována v rámci intenzivního chovu ryb v recirkulačních akvakulturních systémech pro kontinuální a vyrovnanou produkci juvenilních ryb (tzv. rychleného plůdku) určených na vysazení do volných vod či rybníků. Štika je velmi oblíbená v rámci sportovního rybolovu, kdy při lovu na udici tento druh díky své bojovnosti a vytrvalosti způsobuje zajímavý lov. Ve vodárenských nádržích se štika využívá jako tzv. meliorační druh, který je do nádrží vysazován s cílem eliminovat drobné kaprovité ryby a na druhé straně podporovat výskyt hrubého zooplanktonu. Tímto způsobem je možné v nádržích udržovat dobrou kvalitu vody.

Je patrné, že štika má velmi široké uplatnění jak v rybářské, tak i ve vodohospodářské praxi. Z tohoto důvodu je velmi důležité u tohoto druhu ryby zajistit kvalitní a vyrovnanou produkci násadového materiálu. Základním předpokladem této produkce je: zajištění kvalitních generačních ryb, realizace úspěšné reprodukce ryb a kvalitní provedení inkubace oplozených jiker a embryí v kontrolovaných podmínkách s cílem získat vysoké procento kvalitních larev. Kvalitní generační štiky jsou získávány v ČR z produkčních rybníků. K indukci jejich reprodukce se používá hormonální injekce obou pohlaví kapří hypofýzou (dávka 3-4 mg.kg<sup>-1</sup> živé hmotnosti) či jen teplotní stimulace v průběhu března. Oplozené jikry se inkubují v upravených Zugských či Chaseových a McDonaldových lahvích při teplotě vody 6-16 °C. Teplota vody při inkubaci významně ovlivňuje délku inkubace jiker a termín líhnutí larev. Díky rozdílné teplotě vody při inkubaci jiker lze dosáhnout různého termínu líhnutí larev a tím i různých termínů jejich odchovu, čímž lze velmi efektivně rozložit chov štiky v rámci daného produkčního chovu.

Získané oplozené jikry štiky se vyznačují velkou citlivostí k otřesům, rozkolísaným teplotám vody a nadměrné manipulaci. Z tohoto důvodu bude cílem diplomové práce optimalizovat inkubaci jiker štiky obecné pomocí teploty vody a minimalizace otřesů či manipulace u inkubovaných jiker. V průběhu řešení diplomové práce bude popsána optimální teplota vody pro inkubaci štičích jiker, vliv teploty vody na délku inkubace jiker a termín líhnutí larev. Negativní vliv manipulace s jikrami v průběhu jejich inkubace při konstantních podmínkách prostředí na líhivost larev bude také sledován a vyhodnocován v rámci této diplomové práce.


Rozsah grafických prací: **podle potřeby**  
Rozsah pracovní zprávy: **40-50 stran**  
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**  
Seznam odborné literatury:

- Billard, R., 1996. **Reproduction of Pike: gametogenesis, gamete biology and early Development.** In: Craig, J.E. (Ed.), **Pike: Biology and exploitation.** Chapman and Hall, London, 13-43 s.
- Lusk, S., Krčál, J., 1982. **Štika obecná.** Vyd. Naše vojsko, Praha, 83 s.
- Policar T., 2012 **Ověření technologie zaručující kvalitní a vyrovnanou produkci násadového materiálu štiky obecné.** Technická zpráva z pilotního projektu č. CZ.1.25/3.4.00/11.00397, 37 s.
- Policar T., 2012. **Vývoj technologie potravní adaptace larev štiky obecné na peletované krmivo a intenzivní chov v RAS.** Technická zpráva z pilotního projektu č. CZ.1.25/3.1.00/11.00271, 25 s.
- Švinger, V. W., Bondarenko, V., Kallert, D. M., Policar, T., 2013. **Vliv dvou metod hypofyzace na kvalitu jiker u štiky obecné (*Esox lucius*).** Bulletin VÚRH Vodňany, 49: 20-46 s.
- Szabó, T., 2001. **Hormonally induced ovulation of Northern pike via sustained-release vehicles.** North American Journal of Aquaculture, 63: 137-143 s.
- Szabó, T., 2003. **Ovulation induction in Northern pike *Esox lucius* L. using different GnRH analogues, Ovaprim, Dagin and carp pituitary.** Aquaculture Research, 34: 479-486 s.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Tomáš Policar, Ph.D.**  
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Konzultant diplomové práce: **MSc. Volodymyr Bondarenko**  
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Datum zadání diplomové práce: **14. února 2014**  
Termín odevzdání diplomové práce: **30. dubna 2015**

  
prof. Ing. Otomar Linhart, DrSc.  
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA  
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
Fakulta rybářství a ochrany vod  
Zatiší 728/II  
389 25 Vodňany (2)

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

V Českých Budějovicích dne 14. února 2014

# Obsah:

1.	Úvod.....	8
2.	Literární rešerše .....	10
2.1	Biologie štiky obecné (Esox lucius).....	10
2.1.1	Systematické zařazení.....	10
2.1.2	Popis.....	11
2.1.3	Rozšíření štiky obecné ve světě .....	12
2.1.4	Stanoviště.....	13
2.1.5	Chování.....	14
2.1.6	Potrava v přirozených podmínkách .....	14
2.1.7	Růst v přirozených podmínkách .....	16
2.1.8	Obecná reprodukční charakteristika .....	16
2.2	Reprodukce a odchov larev štiky obecné.....	18
2.2.1	Získání generačních ryb.....	18
2.2.2	Stimulace jikernaček k výtěru.....	19
2.2.3	Stimulace mlíčáků k výtěru .....	19
2.2.4	Výtěr jikernaček.....	20
2.2.5	Výtěr mlíčáků .....	20
2.2.6	Plodnost jikernaček a mlíčáků .....	21
2.2.7	Umělé oplození jiker s možností použití aktivačních roztoků.....	21
2.2.8	Odstranění lepivosti jiker.....	22
2.2.9	Inkubace a kulení váčkového plůdku.....	23
2.2.10	Chov váčkového plůdku po vykulení .....	25
3.	Materiál a metodika .....	26
3.1	Experimenty a jejich cíle.....	26
3.2	Použité přístroje a výpočty.....	26
3.3	Generační ryby .....	27
3.4	Umělý výtěr jikernaček .....	28
3.5	Umělý výtěr mlíčáků.....	30
3.6	Vliv oplozovacích roztoků na úspěšnost inkubace jiker a embryí štiky obecné 31	
3.6.1	Osemenění, oplození a odlepkování jiker.....	31
3.6.2	Popis experimentu.....	32
3.6.3	Nasazení jiker k inkubaci.....	33
3.6.4	Kontrola kvality embryí, larev a podmínek v průběhu inkubace .....	34
3.7	Vliv manipulace na úspěšnost inkubace jiker a embryí štiky obecné.....	35
3.7.1	Osemenění, oplození a odlepkování jiker.....	35
3.7.2	Sestavení experimentálních skupin.....	36
3.7.3	Nasazení jiker k inkubaci.....	37
3.7.4	Proces manipulace .....	37
3.7.5	Kontrola kvality embryí, larev a podmínek v průběhu inkubace .....	38
3.8	Vliv teploty vody na délku inkubace jiker a embryí štiky obecné.....	39
3.8.1	Osemenění, oplození a odlepkování jiker.....	39
3.8.2	Popis experimentu.....	39
3.8.3	Nasazení jiker k inkubaci.....	40
3.8.4	Přežití jiker a embryí a sledování synchronizace líhnutí .....	40
3.8.5	Hodnocení kvality a biometrika larev.....	40
3.9	Statistické zpracování jednotlivých experimentů.....	41
4.	Výsledky .....	42

4.1	Vliv oplozovacích roztoků na úspěšnost inkubace jiker a embryí štiky obecné	42
4.1.1	Přežití jiker a embryí na konci inkubace .....	42
4.1.2	Vývojové abnormality .....	42
4.1.3	Biometrika larev .....	44
4.2	Vliv manipulace na úspěšnost inkubace jiker a embryí štiky obecné .....	46
4.2.1	Přežití jiker a embryí.....	46
4.2.2	Vývojové abnormality .....	47
4.2.3	Biometrika larev .....	49
4.3	Vliv teploty vody na délku inkubace jiker a embryí štiky obecné.....	50
4.3.1	Sledování synchronizace líhnutí a přežití larev .....	50
4.3.2	Vývojové abnormality .....	51
4.3.3	Biometrika larev .....	52
5.	Diskuze .....	54
6.	Závěr .....	58
7.	Seznam literatury .....	59
8.	Abstrakt.....	63
9.	Abstract.....	64

# 1. Úvod

Štika obecná (*Esox lucius* L.) se těší velké popularitě nejen mezi sportovními rybáři, kterými je vyhledávána především kvůli své houževnatosti a bojovnosti při ulovení na udici (Policar, 2012a), ale je také považována za nejznámější a hospodářsky nejvýznamnější dravou rybu na evropském kontinentu (Craig, 2008). V rybníčních chovech se využívá jejích melioračních schopností, kdy je chována především v polykulturách s kaprem obecným (*Cyprinus carpio* L.), jejímž cílem je potlačení výskytu velikostně malých a méně hospodářsky cenných druhů ryb v rybnících. Tím zvyšuje produkci chovu kapra obecného (Hamáčková a kol., 1977). Melioračních schopností štiky se využívá i ve vodárenských nádržích, kde jsou štikou eliminovány drobné kaprovité ryby, čímž se podporuje rozvoj zooplanktonu, což má velmi pozitivní dopad na kvalitu vody (Hamáčková a Kouřil, 1978; Kouřil a Hamáčková, 1978).

Pokud pomineme meliorační význam štiky obecné v chovu ryb a provozu vodárenských nádrží je štika obecná ve velké míře vyhledávána konzumenty ryb, kteří preferují její kvalitní rybí svalovinu bez kostí a s malým obsahem tuku (Policar, 2012a). Maso štiky obecné je nízkokalorické. Kalorie ve 100 g štičího masa dosahují hodnot pouze 372 kJ (89 kcal). Pro srovnání 100 g úhoře říční (*Anguilla anguilla*) má 1249 kJ (299 kcal), pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*) 418 kJ (100 kcal) a kapr obecný 522 kJ (125 kcal).

Produkce štiky obecné v ČR pochází především z rybníčního chovu, kde se chová v malých koncentracích, ve kterých dokonale využívá potravní nabídky daného rybníku a současně reguluje rozvoj méně hospodářsky významných druhů ryb (Hamáčková a kol., 1977). Produkce štiky obecné v rámci celé Evropy je velmi proměnlivá a nedostatečná (Policar, 2012a). Jako příčina nedostatečné produkce se uvádí nedokonale zvládnutá umělá reprodukce generačních ryb, neefektivní inkubace jiker, odchov larev a juvenilů v rybnících do stádia rychleného plůdku a málo efektivní uplatnění rychleného plůdku v následném chovu (Craig, 2008). Všechny tyto aspekty způsobují její absenci na trhu s rybami a vysokou prodejní cenu. V současné době se tržní ryby do zemí západní a střední Evropy importují z post-sovětských a skandinávských zemí, kde odlov ryb probíhá nejčastěji z velkých řek a jezer (Policar, 2012a).



Podle Hartmana a Regendy (2014), je možné trh se štikou rozdělit na dva segmenty. Jako první je obchod s ročkem a rychleným plůdkem, které se využívají k zarybňování jak rybníků, tak i volných vod, druhou část tvoří tržní ryba. Odchov rychleného plůdku v rámci ČR probíhá nejčastěji v dubnu až květnu. V tomto období je možné rychlený plůdek nakupovat i prodávat. Zakázky je však nutné s chovatelem domlouvat předem s ohledem na proměnlivé množství odchovaných ryb. Nutností je osobní odběr ryb zákazníkem.

Hmotnost tržních ryb se pohybuje v rozmezí 0,7 – 1,0 kg, kterou štika obecná obvykle dosahuje ve druhém až třetím roce. Největším zdrojem tržních ryb jsou bezesporu výlovy hlavních rybníků, proto se štika objevuje na trhu především na podzim a také v menším množství na jaře.

Největším producentem štiky obecné v ČR je Rybářství Třeboň a.s. s celkovou produkcí 22 tun, následují Rybářství Kardašova Řečice s.r.o. 8,1 t, Rybářství Hluboká s.r.o. 4,8 t, Rybářství Mariánské lázně s.r.o. 4,6 t a Rybářství Chlumeck nad Cidlinou a.s. 4,2 t. Uvedená data jsou z roku 2011 (Bondarenko a kol., 2013a).

S ohledem na způsob života štiky se její produkce v dohledné době v ČR významným způsobem nezmění. Produkce štiky v recirkulačních akvakulturních systémech je stále problémem a to z důvodu masivního kanibalismu, který se rozvíjí u larev již ve velikosti 30 mm (Polícar, 2012b).

Cílem této diplomové práce bylo vyhodnocení vlivu tří různých oplozovacích roztoků na úspěšnost inkubace jiker a embryí štiky obecné, dále pak vliv manipulace na úspěšnost inkubace jiker a embryí štiky obecné a jako posledním experimentem bylo sledování vlivu teploty vody na délku inkubace jiker a embryí štiky obecné. Hodnotilo se přežití larev na konci inkubace, synchronizace líhnutí, vývojové abnormality a biometrika. Vše probíhalo v prostorách experimentálního rybochovného zařízení FROV JU v období mezi 15.3.2013 – 24.3.2013.

## 2. Literární rešerše

### 2.1 Biologie štiky obecné (*Esox lucius*)

#### 2.1.1 Systematické zařazení

- třída **Ryby** (*Osteichthyes*)

Původně vyhraněně sladkovodní čelistnatci, kteří dnes žijí ve všech typech vod včetně slaných a brakických. Mají torpédovitý nebo doutníkový tvar těla, který však vykazuje řadu odchylek – úhořovitý, diskovitý, silně z boků zploštělý, dorzoventrálně zploštělý. Jejich končetiny jsou ploutve. Mají postranní čáru (Baruš a Oliva, 1995).

- podtřída **Paprsoploutví** (*Actinopterygii*)

Typické ploutve vyztužené kostěnými paprsky (Baruš a Oliva, 1995).

- nadřád **Kostnatí** (*Teleostei*)

Kostra je zkostnatělá. V ploutvích jsou přítomny paprsky tvrdé nerozvětvené a měkké rozvětvené (Baruš a Oliva, 1995).

- řád **Štikotvární** (*Esociformes*)

Jedná se o malou skupinu paprsoploutvých ryb, která obsahuje dvě čeledi *Umbridae* a *Esocidae* (Baruš a Oliva, 1995).

- čeleď **Štikovití** (*Esocidae*)

Silně protažený a zploštělý rypec. Na čelistech, především na spodní, jsou mezi normálními i zvětšené tzv. psí zuby, které se vyskytují především u candáta. Ocasní ploutev je vykrojena. Chybí tuková ploutev. Hřbetní a řitní ploutev je posunuta k zadní části těla. Plynový měchýř je spojen se střevem kanálkem. Pylorické přívěsky žaludku se nevyskytují. Čeleď obsahuje jediný rod *Esox* s celkem 5 druhy (Baruš a Oliva, 1995).

- rod **Štika** (*Esox*)

Charakteristika rodu je shodná s charakteristikou čeledi. Na českém území se vyskytuje pouze jediný druh (Baruš a Oliva, 1995).

- druh **Štika obecná** (*Esox lucius* L.).

### 2.1.2 Popis

Štika obecná (Obr.1) má válcovitě protáhlé tělo. Hlava a především její přední část, je nápadně shora zploštělá. Hřbetní a řitní ploutev je posazena zhruba do  $\frac{3}{4}$  délky jejího těla směrem k ocasu, což jí dodává nápadného tvaru, který je nezaměnitelný s ostatními našimi sladkovodními rybami. Prsní ploutve jsou naopak umístěny těsně při začátku hrdla. Délka hlavy u juvenilních jedinců zabírá 31 – 34 % celkové délky těla a se stářím se poměr zmenšuje. Výška těla je v poměru 16 – 17 % celkové délky těla. Má velké oči, jejichž velikost je nejvíce nápadná hlavně u juvenilních jedinců a u adultních jedinců se zmenšují. Jejich nápadná velikost je způsobena tím, že štika je rybou denní aktivity, která primárně lokalizuje potravu vizuálně (Dvořák a kol., 2014). Ústa štiky jsou široce rozevíratelná s ozubenou dolní čelistí, kde se zuby nacházejí jen v jedné řadě. Horní čelist ozubená není, avšak na mezičelistech jsou dozadu směřující zuby, vypadající jako drobné štětinky. Kostí patrové jsou rovněž posety zuby, jsou umístěny ve více řadách, mající otočené vrcholky ke středu stropu patra. Zuby se nacházejí i na kosti radličné, dále pak na nepárových kostěných člancích spodní strany žaberních oblouků. Tělo štiky obecné je chráněno cykloidními šupinami, které místy vyrůstají i ze škáry, na některých částech hlavy. Postranní čára bývá velmi často přerušovaná, dá se říci, že je tvořena krátkými segmenty, probíhajícími po celém boku těla. I slepá štika je schopna díky postranní čáře lokalizovat kořist (Dvořák a kol., 2014). Podle Baruše a Olivy (1995) si u štiky obecné lze všimnout jamek postranní čáry na dolní čelisti. Počet jamek má u evropských štik v průměru hodnotu 9,89, zatímco u amerických štik je tento počet vyšší a to 9,94.

Zbarvení štiky je velmi proměnlivé a značně závislé na okolním prostředí a stavu ryby. Tmavé zbarvení se vyskytuje u jedinců z čistých nebo silně zastíněných vod, zatímco světlé zbarvení mívají jedinci ze zakalených vod, případně ze šterkopískoven. Hlavními barvami jsou zelená, žlutá a černá, jež na bocích vzájemně splývají v obvyklý

žlutozelený odstín s mnoha skvrnami. Juvenilní jedinci bývají nejčastěji žihovaní. Břicho štiky je bílé se světle šedými skvrnami. Barva cykloidních šupin má zlatožlutý nádech. Nepárové ploutve jsou pokryty četnými skvrnami uspořádanými do řad. Párové ploutve jsou žlutobílé občas i načervenalé. Mladší jedinci mívají vybledlé zbarvení oproti starším kusům, jejichž kresba bývá velice výrazná.



Obr.1 – Štika obecná *Esox lucius*

Ploutevní vzorec je dle Luska a Krčála (1982) následující: D III-VI, 10 – 16; A IV – VII, 10 – 13; P I, 11 – 16; V I – II, 7 – 11. Počet šupin nacházejících se v postranní čáře je 110 – 144, nad ní je 14 – 17 řad a pod ní je 12 – 15 řad. Podle Dubského a kol. (2003) je ploutevní vzorec D III – X, 10 – 16; P I, 11 – 16; V I – II, 7 – 12; A III – VIII, 10 – 13, O 19 a vzorec šupin činí 14 – 17 (110 – 144) 12 – 15.

### 2.1.3 Rozšíření štiky obecné ve světě

Přirozená oblast výskytu štiky obecné je na Zemi cirkumpolárně mezi 40° až 75° severní šířky. V Evropě se lze s ní setkat v Irsku, Anglii, Francii, až k řece Tibeře ve střední Itálii. Její výskyt v jižní Evropě lze ohraničit Černým mořem (Baruš a Oliva, 1995). Původně se nevyskytovala v Řecku a na Pyrenejském polostrově, kde byla ale uměle vysazena ve Španělsku a odtud se dostala až do Portugalska. V těchto „teplejších“ zemích je však plně odkázána na umělé vysazování, jelikož teplota vod zde nedosahuje tak nízkých hodnot vhodných k její přirozené reprodukci (Calderon-Andreu, 1955). V severní Evropě se vyskytuje v pobaltských státech, ve Finsku, Švédsku a Norsku. V těchto oblastech Evropy je možné se se štikou setkat i

v příbřežních oblastech Severního moře, kde se stává často vyhledávaným objektem sportovního rybolovu, protože zde dosahuje úctyhodných rozměrů.

Na východě je hranice výskytu štiky obecné tvořena řekami Ural, Volha, Kura až po Amu-darju. Žije také v jezeře Bajkal, Balchaš a na východ až k Čukotskému poloostrovu (Baruš a Oliva, 1995).

V Severní Americe se vyskytuje na Aljašce, v povodí Velkých jezer, v řece Mississippi. V Kanadě se s ní lze setkat od Labradoru až k zátocě Mugaba. V omezené míře je přítomna i v řece Yukon (Baruš a Oliva, 1995).

Fakt, že se štika obecná vyskytuje jak v nearktické tak palearktické oblasti, nabádá ke srovnání populací s obou přerušovaných areálů. Podle Čihaře (1955) není mezi oběma oddělenými populacemi výraznějších rozdílů, až na počet podpurných paprsků žaberní blány, jejichž počet činil u evropských štik průměrně 27,19 (n = 115), zatímco u severoamerických štik 29,64 (n = 50) (Black a Williamson, 1946). Délka rypce se u evropských štik s růstem zmenšuje, zatímco u amerických nikoliv. Šířka rypce je u evropských štik relativně menší (Baruš a Oliva, 1995).

V České republice se štika obecná vyskytuje ve všech rybích pásmech, avšak její přítomnost v pstruhových vodách je nežádoucí, neboť je nejen konkurencí, ale i predátorem lososovitých ryb.

#### **2.1.4 Stanoviště**

Štiku obecnou lze nalézt všude tam, kde voda příliš neproudí, kde je členité dno i okolní břehové partie. Vyhledává místa s bujnou vegetací vodních porostů, potopené kmeny, keře, balvany apod. V případě, že vyplouvá i do proudných pstruhových vod, vyhledává úkryty u větších kamenů a v zátočinách, kde se rychlost proudu zpomaluje. Jako útočiště slouží štice i postranní ramena, která jsou trvale nebo dočasně spojena s tokem (Baruš a Oliva, 1995). Pokud má možnost vyhledává teplejší vodu, ve které má větší přírůstky. Nejraději se zdržuje v okolí výskytu drobných kaprovitých ryb (ouklej obecná *Alburnus alburnus* L., plotice obecná *Rutilus rutilus* L., apod.), které slouží jako její potrava. Jelikož štika je stanovištní ryba, tak její pohyb v okruhu stanoviště je velice malý, co se do okolí týče. V rozlehlejších vodách, nejčastěji v hlubokých nádržích, její pohyb kopíruje příbřežní partie (Lusk a Krčál, 1982). Snáší eutrofní vody, tudíž nevyžaduje vysoký obsah kyslíku (Dubský a kol., 2003).

Odhad biomasy ryb ve volných vodách včetně štiky prováděl Oliva (1955) v polabských tůních a Holčík (1970) ve vodárenské nádrži Klíčava. Oba se shodli na velice nízké početnosti štiky obecné, která nepřesahovala  $2,5 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  a v roční produkci  $0,8 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ .

### 2.1.5 Chování

Štika obecná je stanovištní rybou, která se během dne a noci vyskytuje v nejbližším okolí svého úkrytu, odkud pozoruje okolí a popřípadě vyráží útokem na kořist (Lusk a Krčál, 1982). Stanoviště opouští jen velmi výjimečně a mnohdy je ani během let nemění. Je aktivní během dne, nikoliv v noci, protože k detekci kořisti využívá nejvíce zrak. Na svou kořist útočí velice rychlým výpadem a polyká ji hlavou napřed. Pokud ji netrefí, nepronásleduje ji na delší vzdálenost. V případě, že se utkají o jedno stanoviště dvě štiky, většinou vítězí ta větší, která svého soka zažene a nebo ta, která jednoduše dokáže více otevřít tlamu a svého soka pozřít. V tomto případě štika tráví stejně velký kus postupně a je možné vidět zvítězivší kus, jež má z čelistí vyčnívající kaudální část těla štiky, jež souboj o stanoviště prohrála. Jsou známy případy z rybářských závodů přívlači, kdy je možno jednou ulovenou štikou opakovaně ulovit i třikrát po sobě. Tohoto faktu jsou si závodníci velice dobře vědomi a věnují úsilí jejímu opakovanému ulovení, z důvodu zisku dalších cenných bodů (Činčera, osobní sdělení 2012).

### 2.1.6 Potrava v přirozených podmínkách

Štika obecná je dravec, jejíž potravu v dospělosti tvoří téměř výlučně ryby. V dřívějších dobách byla považována za škůdce, který snižuje početnost ušlechtilých ryb, a proto byla pronásledována. Vylíhlý plůdek štiky začíná přijímat jako první potravu drobný zooplankton, později larvy a jiný vodní hmyz (Baruš a Oliva, 1995). Štědronský (1953), Čihař (1956) a Smíšek (1966, 1968), se zabývali hodnocením potravy plůdku štiky a zjistili, že štika přechází na exogenní výživu v době, když ještě není zcela stráven žlutkový váček. Obvykle se jedná o celkovou délku těla  $TL = 11 \text{ mm}$ . Plůdek ve velikosti  $20 - 40 \text{ mm}$  zkonzumuje denně  $300 - 400$  nauplií buchanek (*Cyclopoida*), což odpovídá  $30 - 40 \%$  hmotnosti ryby. Později jsou její hlavní potravou velké pelroočky např. *Daphnia magna*. Od celkové délky těla  $TL = 50 - 100 \text{ mm}$  se

začíná živit i dravým způsobem. Bondarenko a kol. (2013a) uvádějí, že ryby o délce TL = 10 – 12 mm přijímají především středně velký zooplankton (*Diaphanosoma*, *Eurycercus*, *Daphnia* a *Cyclops*), ryby o délce TL = 12 – 20 mm se orientují na hrubší zooplankton a larvy *Chironomidae*. Ryby o délce TL = 20 – 50 mm přijímají potravu selektivně tak, že se zvětšující velikostí těla ryb preferují větší potravní organismy, jako je hrubý zooplankton (*Daphnia*) a bentické organismy, například různé druhy larev (*Chironomidae*, *Trichoptera*, *Ephemeroptera* a *Diptera*). U ryb o délce TL = 25 – 30 mm se začínají objevovat první známky kanibalismu. Baruš a Oliva (1995) zjistili v údolní nádrži Lipno, že v potravě štičího plůdku do délky TL = 100 mm převládaly larvy vodního hmyzu a jiné menší organismy. Avšak u 24 % ze zkoumaných ryb byly obsahem žaludků také plůdky různých druhů ryb s nejvyšším početným zastoupením okouna říčního (*Perca fluviatilis* L.), který se již od července v litorálním pásmu údolní nádrže vyskytuje v hojnosti (Vostradovský, 1971). Štíky od celkové délky těla TL = 200 mm již měly přítomny v zažívacím traktu pouze výhradně plůdek jiných druhů ryb a to nejvíce okouna říčního a plotice obecné. Vostradovský (1971) prozkoumal obsah žaludku u 941 štik z Lipenské údolní nádrže a zjistil, že podíl okouna říčního v potravě činil 49 % a plotice obecné 31 %. Zbytek připadal na dalších 12 druhů ryb. Vostradovská (1978) srovnala složení potravy štik v nádržích Želivka, Hubenov, Lipno a také zjistila, že štika preferuje okouna říčního před ploticí obecnou, což má přímou souvislost s početností těchto ryb v podobném typu vod. Podle charakteru biotopu mohou být zjišťovány značné rozdíly ve složení potravy. V litorálním pásmu nádrží Opatovice a Mostišť byla nejhojnější rybou v zažívacích traktech ryb plotice obecná, i když zde bylo zastoupení i jiných druhů (Kokeš, 1977). Rostoucí početnost jednoho druhu však může souviset s postupným úbytkem štik a je tedy určována vzájemnými vztahy mezi nedravými a dravými druhy ryb (Wajdowicz, 1961). Ve srovnání s jinými druhy ryb, okounem říčním a candátem obecným (*Sander lucioperca* L.), má štika mnohem širší potravní spektrum (Vostradovský, 1977). V údolní nádrži Lipno bylo zjištěno, že štika konzumovala 14 druhů ryb, což v té době bylo 48 % ze všech zde se vyskytujících druhů. V potravě štik z Lipna byly zjištěny ryby o celkové délce TL = 17 - 500 mm, z toho okoun říční TL = 17 - 179 mm, plotice obecná TL = 48 - 266 mm, cejn velký (*Abramis brama* L.) TL = 99 - 267 mm, kapr obecný TL = 43 - 213 mm, štika obecná TL = 99 - 267 mm a ježdík obecný (*Gymnocephalus cernuus* L.) TL = 45

– 50 mm (Baruš a Oliva, 1995). S rostoucí délkou štiky se snižuje počet druhů a množství ryb v trávicím traktu, ale vzrůstá délka kořisti.

Vysoká početnost hospodářsky nevýznamných druhů ryb v potravě štiky dokládá její význam pro obhospodařování tekoucích vod a údolních nádrží.

### **2.1.7 Růst v přirozených podmínkách**

Štika obecná patří, podle mnoha autorů, mezi nejrychleji rostoucí druhy ryb. Vyznačuje se velkou žravostí (Lusk a kol., 1992). Její délkové přírůstky jsou velmi rychlé, především v prvním roce života, kdy v závislosti na potravní nabídce dorůstá délky 160 – 250 mm, v ideálních podmínkách to může být až 400 mm (Hartman a Regenda, 2014). Většinou se dožívá 3 – 5 let, zřídka i 8 – 10 let, výjimečně pak 25 let. Bývá tedy nazývána rybou středního stáří (Baruš a Oliva, 1995).

Štiky se stejnou potravní nabídkou se začínají velikostně rozrůstat již ve velikosti 30 – 35 mm. Rychlený plůdek dosahuje 50 mm ve věku 4 týdnů (Čítek a kol., 1998). Samci rostou pomaleji než samice (Baruš a Oliva, 1995). Podle Luska a kol. (1992) jsou roční přírůstky větších štik v hmotnosti 2 – 3 kg kolem 1 – 3kg, v závislosti na teplotních podmínkách a potravní nabídce. V Čechách se nejčastěji loví jedinci ve věku 4 let. Většího věku se obecně dožívají jikernačky (Baruš a Oliva, 1995).

### **2.1.8 Obecná reprodukční charakteristika**

K přirozenému výtěru štiky obecné dochází časně z jara. Obykle období výtěru začíná v březnu a končí během dubna. Štika patří mezi fytofilní druh, který své oplozené jikry klade na ponořenou makrovegetaci, zejména na jemnolistá vodní makrofyta. Přirozeným prostředím pro její výtěr jsou mělké a prohřáté úseky rybníků a řek, které mohou být i periodicky zaplavované. Jikry jsou lepkavé, a tak na rostlinný podklad pevně přilnou (Bondarenko a kol., 2013a).

Dyk (1946) uvádí, že štika obecná vyhledává zvýšenou vodou zatopené travnaté okraje luk, přitom však není důležité, zda se jedná o vodní toky či údolní nádrže. Většinou jsou tyto jarní záplavy příbřežních pásem způsobeny vodou z tajícího sněhu. Tyto litorální úseky jsou zatopeny vodou v hloubce mezi 15 – 30 cm a musí být bohatě zarostlé rostlinami. V brzkém jaru štika vyplouvá i vysoko po proudu do pstruhových



úseků vodních toků. Problémem přirozeného výtěru je bezesporu kolísání hladiny vody, což se týká nejčastěji údolních nádrží a také stabilně nízká hladina či absence výtěrového substrátu. Samci mají dozrálé gonády mnohem dříve než samice. Již během ledna je možné odlovit samce, který po mírném tlaku na břišní dutinu vypouští mlíčí (Baruš a Oliva, 1995).

Vlastní výtěr štiky probíhá jednofázově při teplotě vody 7 – 10 °C, jsou však známé výtěry i při nižších teplotách od 1,5 °C (Hartman a Regenda, 2014). Výtěrové období je ukončeno v době, kdy teplota vody trvale dosahuje 14 °C (Lusk a Krčál, 1982).

Podle Korzyneka (1956) se začátku tření nejdříve účastní jedinci menších rozměrů, zatímco větší ryby připlouvají na trdliště později. Již delší dobu před třením lze pozorovat zvýšenou aktivitu samců, která se projevuje vyšší přítomností ryb na místech, kde se během roku běžně nevyskytují, proplouváním jednotlivých exemplářů nebo i jejich skupin kolem budoucích trdlišť. Uvádí se také, že jedna samice je často doprovázena více samci, ale později se poměr pohlaví vyrovnává. Výtěr štik na jedné lokalitě trvá 2 – 3 týdny (Lusk a kol., 1992; Baruš a Oliva, 1995; Dubský a kol., 2003). Výtěr probíhá nejčastěji během slunných dní, kdy se voda dostatečně prohřívá, tedy mezi polednem a večerem. Průběh bývá velmi bouřlivý a trvá několik hodin (Baruš a Oliva, 1995; Dubský a kol., 2003). Pokud nenastanou vhodné podmínky k výtěru jikernaček, dochází k resorpci jiker, což může vést až k úhynu ryb (Čítek a kol., 1998). Štiky dosahují pohlavní dospělosti velmi brzy. V českých zemích je většina mlíčáků pohlavně zralá již na konci prvního roku života, u jikernaček to bývá mnohem menší podíl z populace. Hartman a Regenda (2014) uvádějí velikost pohlavně dospělých jedinců u samců od 110 mm a u samic od 140 mm. Zbylá část populace dosahuje pohlavní zralosti ve druhém až třetím roce života při délce 310 – 450 mm. Populace vyskytující se v severních, chladnějších oblastech dosahují pohlavní zralosti v pátém až šestém roce života. V populaci mladých jedinců je poměr pohlaví v podstatě vyrovnaný s mírnou převahou mlíčáků. Od čtvrtého roku pak začíná převažovat pohlaví samičí (Baruš a Oliva, 1995).

Pohlavní dimorfismus není v období tření ryb příliš výrazný. Samice mají ve výtěrovém období obecně větší objem břicha, což je způsobeno velkým množstvím zralých gonád (Dubský a kol., 2003). Pohlaví lze rozpoznat také podle tvaru močopohlavní papily (Casselmann, 1974; Billard, 1983). Močopohlavní papila má u

samců tvar příčného švu - není výrazná, zatímco u samic je tvar okrouhlý, je intenzivně prokrvena a zarudlá (Bondarenko a kol., 2013a).

Sperma mličáků štik je bílé barvy. Během začátku výtěrového období má hustou konzistenci, později bývá řidší. Mlíčí se uvolňuje postupně, takže je možné použít samce k výtěru opakovaně (Baruš a Oliva, 1995; Čítek a kol., 1998). Mlíčáci produkují jen velmi malé množství mlíčí v rozmezí 0,1 – 1,2 ml, obvykle však pouze do 0,5 ml. Zajímavostí je, že množství jednorázového odběru mlíčí se s velikostí ryb nezvyšuje. Běžně se k umělému výtěru používají jedinci v hmotnosti 0,7 – 1,5 kg (Linhart, 1985; Čítek a kol., 1998).

Jikry štiky jsou bledě žluté barvy (Dubský a kol., 2003). Jejich celkové množství se zvyšuje s rostoucí hmotností, avšak jejich relativní počet na kilogram se snižuje. Velikost nenabobtnalých jiker je 1,5 – 2,0 mm a po nabobtnání měří 2,5 – 3 mm. Mikropyle jikry se po styku s vodou uzavírá do 30 – 60 sekund a po 3 – 4 minutách se jikry stávají lepivými (Baruš a Oliva, 1995; Füllner a kol., 2007; Randák, 2013). Za neměnné a ideální teploty 10 °C se jikry po oplození inkubují 12 dní (120 d°). Stádium očních bodů nastává v ideálních podmínkách sedmý den po oplození (Čítek a kol., 1998).

## **2.2 Reprodukce a odchov larev štiky obecné**

### **2.2.1 Získání generačních ryb**

Generační ryby určené k výtěru jsou chovány přes zimní období v komorových rybnících, kde musí být zajištěna dostatečná nabídka potravních ryb. Jedná se především o menší druhy kaprovitých ryb. Na jeden kilogram nasazených štik je třeba nasadit jeden až pět kilogramů ryb potravních (Bondarenko a kol., 2013a). Na jaře, kdy se teplota vody blíží 4 – 6 °C, se ryby připravují k přirozenému výtěru a proto je nutné rybníky s generačními rybami co nejdříve slovit (Dubský, 1998). Hartman a Regenda (2014) doporučují odlovovat generační ryby prubními ploty na plné vodě postupně, podle toho jak se objevují v příbřežních partiích. Tímto postupem je možno získávat generační štiky kontinuálně, v závislosti na optimální pohlavní zralosti. Po odlovení ryb připravených k výtěru se dále nasazují do mělkých příkopových rybníčků a nebo do vhodných nádrží na rybí líhni. Podle Bondarenka a kol. (2013a) je nutné po počáteční

teplotní stimulaci v rybí líhni použití hormonálních přípravků, jež zajistí finální dozrání oocytů a jejich následnou ovulaci. Preferovány jsou tři až čtyřleté jikernačky dosahující hmotnosti 2 – 3 kg a mlíčáci mladší věkové kategorie o váze 0,5 – 2 kg (Čítek a kol., 1998). Takto velké ryby jsou ideální k manipulaci a dosahují nejlepších reprodukčních parametrů (Hartman a Regenda, 2014). Generační štiky je nutné před vlastní manipulací uspat. K tomuto účelu slouží celá řada preparátů. Na FROV JU se běžně pracuje s 2-phenoxyethanolem v ředění 0,4 ml.l<sup>-1</sup> a hřebíčkovým olejem v ředění 0,04 ml.l<sup>-1</sup>.

### **2.2.2 Stimulace jikernaček k výtěru**

Stimulovat jikernačky k ovulaci jiker lze hormonálně s použitím různých hormonálních přípravků. V kontrolovaných podmínkách rybářských líhní byla v minulosti řešena nejčastěji hypofyzací pomocí dehydrovaných kapřích hypofýz v dávce 3 – 4 mg.kg<sup>-1</sup> živé hmotnosti jikernaček (Billard, 1996; Policar, 2012a, Švinger a kol., 2012; Bondarenko a kol., 2013b). Szabó (2001, 2003, 2008) uvádí tuto metodu za jedinou spolehlivě využitelnou v rybářských provozech k dosažení masové indukce ovulace jiker u tohoto druhu. K hormonální stimulaci ovulace lze použít i jiných syntetických hormonálních přípravků jako GnRH<sub>a</sub> (Gonadotropin Releasing Hormone analogue) nebo kombinaci GnRH<sub>a</sub> s dopaminergními inhibitory (metloclopramid a pimozid). Tato hormonální indukce ovulace je ovšem oproti použití kapří hypofýzi značně podprůměrná.

Stimulaci jikernaček je možné provádět i změnou fyzikálních parametrů vody či světelných podmínek. Jedná se zejména o úpravu teploty vody v kombinaci s prodlužující se fotoperiodou. Snahou je používat především ryby v optimální zralosti oocytů.

### **2.2.3 Stimulace mlíčáků k výtěru**

Hormonální stimulace se na rybích líhních u mlíčáků obvykle neprovádí. Výjimkou může být potřeba zisku většího množství spermatu (Bondarenko a kol., 2013a). V průběhu výtěrového období je možné běžně získat samce, kteří samovolně uvolňují mlíčí. Pokud máme nedostatek mlíčáků samovolně uvolňujících mlíčí nebo nízkou produkci spermatu, lze nepřipravené kusy hormonálně stimulovat. Nejčastěji se

používá jednorázová injekční aplikace kapří hypofýzy. K odběru spermatu se přistupuje po 24 – 48 hodinách od aplikace. Pokud nám především časové možnosti nedovolují použití výše uvedených způsobů, je možné k osemenění jiker použití testikulárního spermatu. V tomto případě je nutné samce usmrtit, z břišní dutiny vyjmout gonády, které se protlačí přes jemný uhelon (velikost ok 300  $\mu\text{m}$ ) a takto získané pohlavní produkty můžeme použít k osemenění jiker (Bondarenko a kol., 2013a).

#### **2.2.4 Výtěr jikernaček**

Po anestezii jikernaček je nutné rybu šetrně vylovit, důkladně osušit břišní partie, řitní a ocasní ploutev. Poté jsou jikry vytlačovány ze samic pomocí břišní palpace do suchých misek. Bondarenko a kol. (2012) doporučuje odstranit první a poslední část jikrné snůšky dané jikernačky z důvodu vysoké mortality těchto jiker při jejich následné inkubaci (60 – 70 %).

Štičí jikry jsou velice citlivé na otřesy, je tedy nutno provádět výtěr velice opatrně a jikry nenechat padat z výšky do misky, ale snažit se o to, aby stékaly po okraji misky do středu. Aby byla zajištěna pozdější maximální oplozenost, uvádí se jako limit litr nebo kilogram jiker v jedné misce (Hartman a Regenda, 2014). Získané jikry je možno uchovávat v chladu překryté vlhkým hadrem po dobu až několika hodin.

#### **2.2.5 Výtěr mlíčáků**

Po anestezii mlíčáků je nutné rybu šetrně vylovit, důkladně osušit břišní partie, řitní a ocasní ploutev. Než přistoupíme k vlastnímu odběru spermatu mlíčáků štik, je třeba si uvědomit, že samci uvolňují na začátku odběru moč, která by mohla kontaminovat sperma. Je tudíž nezbytné nejdříve vyprázdnit mlíčákům močový měchýř, aby nedošlo k nechtěné motilitě spermií (Policar, 2012a). Tetno úkon se provádí pomocí masáže břišních partií samce. Jakmile je močový měchýř vyprázdněn můžeme přistoupit k vlastnímu odběru spermatu. Sperma mlíčáků štik se odebírá z močopohlavní papily do injekční stříkačky, palpací břišní dutiny. Odebrané sperma použijeme co nejdříve.

Pokud samci sperma samovolně neuvolňují je možné použití testikulárního spermatu jak bylo psáno výše.

## 2.2.6 Plodnost jikernaček a mlíčáků

Absolutní pracovní plodnost jikernaček značně kolísá v závislosti na jejich stáří, velikosti, i na lokalitě, kde se štiky vyskytují (Kouřil a Hamáčková, 1975; Billard, 1996; Hubenova a Zaikov, 2007). Absolutní plodnost jikernaček se zvyšuje se zvyšující se hmotností  $W$  a celkovou délkou těla  $TL$  (Billard, 1996). Křišťan a kol. (2013) uvádějí, že absolutní plodnost se pohybuje v rozmezí 65 000 – 141 000 kusů jiker a relativní plodnost (počet jiker na kilogram hmotnosti) v rozmezí 20 857 – 31 887 jiker. Průměrně tedy 26 372 ks.kg<sup>-1</sup>.

Skutečná plodnost mlíčáků, kteří samovolně uvolňují sperma, je daná hlavně koncentrací spermií v jednom ml a objemem odebraného spermatu. Plodnost mlíčáků, stejně tak jako u jikernaček, výrazně kolísá v závislosti na jejich stáří, velikosti, ale také době, kdy je sperma odebíráno. Obecně lze říci, že nejméně spermatu lze odebrat na začátku a na konci výtěrového období. Jako optimální se tedy pro odběr jeví střední výtěrové období. Maximální množství získaného spermatu se pohybuje kolem 1,35 ml.kg<sup>-1</sup> (Bondarenko a kol., 2013a). Absolutní a relativní plodnost mlíčáků hodnotil Linhart (1984), který zjistil u 38 jedinců ( $TL = 355 - 540$  mm) absolutní plodnost v rozmezí  $3,2 - 25,2 \times 10^9$  spermií na jednoho mlíčáka. Relativní plodnost dosahovala hodnot  $1,4 - 36 \times 10^9$  spermií na 1 kg hmotnosti mlíčáka.

## 2.2.7 Umělé oplození jiker s možností použití aktivačních roztoků

Optimální teplota pro oplozování jiker je 8 – 10 °C, pH 6 – 8 (Čítek a kol., 1998). K osetí jiker se přistupuje okamžitě po odběru vytlačovaného spermatu v poměru 3 – 4 ml.kg<sup>-1</sup> jiker (Bondarenko a kol., 2013a). Sperma by mělo být odebráno odděleně alespoň od 3 mlíčáků štik (Billard, 1996; Křišťan a kol., 2013). Jakmile nanese sperma na jikry je vhodné směs jiker a spermií důkladně, avšak jemně promíchat. Jikry jsou v tento okamžik velmi náchylné na jakékoliv otřesy a manipulaci. Poté je nezbytné směs jiker a mlíčí zalít aktivačním roztokem v poměru 0,5 litru.kg<sup>-1</sup> jiker a mlíčí. Jako nejjednodušší aktivační roztok se používá voda z rybí líhně, kde je výtěr prováděn. Bondarenko a kol. (2013a) doporučují při umělém osetí používat roztok soli (NaCl) v koncentraci 7 g.l<sup>-1</sup>, který podporuje lepší a delší pohyblivost spermií. Jiní autoři (Dyk, 1940; Berka a Hamáčková, 1980; Alavi a kol., 2009; Křišťan, osobní

sdělení) doporučují použití dalších různých aktivačních roztoků, které mohou zvýšit procento oplozenosti jiker

- Ringerův roztok obsahující: 6 g.l<sup>-1</sup> NaCl, 0,075 g.l<sup>-1</sup> KCl, 0,15 g.l<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O a 0,1 g.l<sup>-1</sup> NaHCO<sub>3</sub> (Dyk, 1940),
- roztok připravený smícháním 15 g močoviny v 1 litru vody (Berka a Hamáčková, 1980)
- roztok NaCl upravený 20 mM Trisem s osmolalitou 288 mOsmol.kg<sup>-1</sup> a pH 8,5 (Alavi a kol., 2009).
- roztok 5,52 g NaCl; 3,75 g glycinu a 2,42 g Trisu rozpuštěného v 1 litru vody (Křišťan, osobní sdělení 2013).

Průměrná oplozenost jiker štiky obecné se po umělém výtěru a oplození v rybářských provozech běžně pohybuje na úrovni 40 – 70 %. Vyšší oplozenosti jiker můžeme dosáhnout použitím některého z výše zmíněných aktivačních roztoků na úroveň 75 – 80 % (Bondarenko a kol., 2013a).

Následně po aktivaci spermií se směs spermatu, jiker a aktivačního roztoku jemně promíchá a nechá na 5 – 10 minut odstát (Billard, 1996; Policar, 2012a). Poté se směs jiker a spermií několikrát propláchně vodou z dané líhny a oplozené jikry zbavené zbytků spermatu se tak připraví na tzv. odlepkování (odstranění lepivosti jiker).

### 2.2.8 Odstranění lepivosti jiker

Jikry štiky obecné jsou po oplození lepkivé. Tato tzv. lepkivost umožňuje štikám v přirozených podmínkách naklást jikry na zatopené porosty, ke kterým se jikra přilepí, a tím je chráněna před odplavením proudem vody (Hamáčková, 1987).

Odlepkování je proces míchání oplozených jiker v roztoku za účelem odstranění lepivosti jiker (Hamáčková, 1987).

Epitel oplozených jiker štiky obecné začíná lepit během několika minut (4 – 5 min) po přidání vody (Bondarenko a kol., 2013a). Lepivost jiker při umělé inkubaci je nežádoucí, neboť by způsobovala shluky jiker v líhňářských aparátech, což by se negativně projevilo na přežití jiker a následném líhnutí larev.

K odlepkování jiker se používá několik dobře známých a ověřených roztoků. Nejčastěji používaným a dobře dostupným roztokem je použití plnotučného mléka

s 3,5 % obsahem tuku. Doba odlepkování je mezi 60 – 90 minutami (Hamáčková, 1987).

Dále je možné použít roztoku jílu pocházejícího z rybníku nebo jílu využívaného k výrobě keramiky. Zde se doba odlepkování pohybuje v rozmezí 30 – 40 minut (Dubský, 1998; Polícar, 2012a).

Dalším vhodným oplozovacím roztokem je směs 100 g talku (mastku) a 20 – 25 g kuchyňské soli (NaCl) v jednom litru vody. V tomto případě je doba odlepkování jiker 20 – 30 minut (Hamáčková, 1987).

Tyto odlepkovací roztoky se používají nejčastěji v poměru 1 díl jiker a 2 díly roztoku. Po odstranění lepivosti jiker se začnou jednotlivé jikry od sebe oddělovat, a tímto je proces u konce. Jako poslední krok je nezbytné jikry propláchnout vodou z dané líhně, aby došlo k alespoň částečnému odstranění odlepkovacího roztoku. Všechny zmíněné postupy je nutné provádět se zvýšenou opatrností, jelikož oplozené jikry jsou velmi citlivé na manipulaci (Bondarenko a kol., 2013a).

## **2.2.9 Inkubace a kulení váčkového plůdku**

K inkubaci jiker štiky obecné se v Evropě nejčastěji používají Chaseovy lahve, ale zcela běžné je i použití lahví Zugských, které nacházejí využití především k inkubaci jiker kapra obecného. V případě použití Zugských lahví je nutné upravit přítok vody tak, že na dně Zugské lahve instalujeme děrovaný trychtýř, přes který se přitékající voda zpomalí. V inkubačních lahvích je nezbytné držet jikry v neustálém, ale jen mírném pohybu, pomocí regulace přítokové vody. Velmi silný průtok vody může způsobit nadměrný pohyb jiker a tím zvýšit jejich mortalitu. Průtok vody Chaseovými lahvemi o objemu 5 l nastavujeme v rozmezí 3 – 6 l.min<sup>-1</sup>. U desetilitrových Zugských lahví nastavujeme průtok v rozmezí 4 – 8 l.min<sup>-1</sup>. Na začátku inkubace jiker se využívá nižšího průtoku a na konci inkubace naopak vyššího (Bondarenko a kol., 2013a).

Do Zugských lahví nasazujeme maximálně 2 litry jiker. Musí se počítat s jejich nabobtnáním, kdy zvětší svůj objem až na trojnásobek. Při plném nasazení nabobtnalé jikry zabírají 2/3 objemu lahve. Obsah rozpuštěného kyslíku (O<sub>2</sub>) v přítokové vodě do inkubační lahve by měl mít hodnotu v rozmezí 7 – 9 mg.l<sup>-1</sup>. Voda použitá k inkubaci štikových jiker by měla být kvalitou srovnatelná s pstruhovými líhněmi a prostá jakýchkoliv mechanických nečistot.

Nejvhodnější teplota pro inkubaci jiker štik je v rozmezí 8 – 14 °C (Bondarenko a kol., 2013a). Chladnější voda nejen prodlužuje inkubaci, ale vede i ke zvýšeným ztrátám (Hartman a Regenda, 2014). Naopak vyšší teplota vody společně s delší fotoperiodou urychluje vývoj jiker, avšak zhoršuje kvalitu vykuleného plůdku (Füllner a kol., 2007). Na začátku inkubace se používá většinou voda chladnější 8 – 10 °C a nakonci inkubace se teplota vody zvyšuje až na hodnotu 12 – 14 °C. Jako optimální inkubační teplota se uvádí 9 °C (Swift, 1965). Lillelund (1967) inkuboval jikry při teplotě vody 5,8 °C s líhivostí larev na úrovni 70 %, avšak zjistil, že u jiker inkubovaných při tak nízké teplotě dochází k vysoké mortalitě již první den po jejich vykulení. Tento autor dále popisuje výrazné snížení mortality larev, jestliže je pro vylíhnutý plůdek ihned po vykulení postupně zvyšována teplota vody na hodnotu 9 – 18 °C.

Bondarenko a kol. (2013a) uvádějí, že v průběhu prvních 30 – 40 °d je nutné se vyvarovat jakékoliv manipulaci s vyvíjejícími se zárodky. Nadměrná manipulace vede ke zvýšení ztrát až o 20 – 25 %.

Během celé inkubace odstraňujeme odumřelé jikry, které jsou proudem vody vynášeny do vrchní vrstvy inkubovaných jiker. Odborná literatura (Füllner a kol., 2007; Bondarenko a kol., 2013a) doporučuje po dosažení stadia očních bodů aplikovat koupele jiker v 11 – 13 % roztoku kuchyňské soli (NaCl) k oddělení živých a mrtvých jiker. Živé jikry klesají ke dnu inkubační lahve, zatímco mrtvé jikry z důvodu nižší hmotnosti vyplavou k hladině (Hartman a Regenda, 2014). Tato koupel nemá trvat déle než jednu minutu a má i preventivní antimykotické účinky především proti plísním rodů *Saprolegnia* a *Achlya*.

Ve stadiu očních bodů nebo na začátku období líhnutí je vhodné embrya přesadit do horizontálních líhňářských aparátů k dolíhnutí. Nejzašším termínem je objevení prvních kulíček se štíček. Při přesazování je nutné nejdříve zastavit přítok vody do inkubačních lahví, poté embrya bez výrazných otřesů jemně odsát do připravených vhodných nádob, jejichž pomocí se odebraná embrya nasadí na u nás nejčastěji používané Rückel-Vackovy (horizontální) aparáty nebo kolíčky s velikostí ok 2 – 3 mm na jejich dně či stěnách. Na plochu 500 x 400 mm nasazujeme maximálně 20 tis. ks jiker. Výška vodního sloupce by neměla být vyšší než 300 mm. Vlastní kulení jiker trvá několik hodin až 2 dny, v závislosti na teplotě vody a množství rozpuštěných kulíček enzymů. V průběhu procesu kulení provádíme pravidelné odsávání jikerných obalů a případných



uhynulých embryí. Kulení váčkového plůdka štiky obecné probíhá ocasem napřed. Pokud plůdek z jikry uvolní nejprve hlavu má pak problém s uvolněním žloutkového váčku. Kulení štik lze urychlit a synchronizovat tak, že embrya umístíme na 30 – 60 minut do igelitového pytle s kyslíkovou atmosférou na stinné místo. V uzavřeném igelitovém pytli se zvyšuje množství kulících enzymů a tím dochází k rychlému kulení jiker (Hartman a Regenda, 2014).

Čerstvě vylíhnuté larvy štik mají průměrnou velikost v rozmezí 8,5 – 9 mm s průměrnou hmotností 10 – 11 mg (Billard, 1996).

### **2.2.10 Chov váčkového plůdka po vykulení**

Po krátké klidové fázi se váčkový plůdek „zavěšuje“, proto je nezbytné zajistit larvám štiky obecné v horizontálních aparátech nebo kolíbkách vhodná média k tomuto účelu. Běžně se používají větve jehličnanů, břízy, umělohmotné síťoviny s velikostí ok 1 – 5 mm, perforované plechové přepážky apod. (Hamáčková, 1987; Billard, 1996; Čítek a kol., 1998; Füllner a kol., 2007). Larvy se začínají vertikálně zavěšovat na tato média pomocí adhezivní papily, která se u nich vyvine do několika hodin po vykulení. Takto zavěšeny spočívají larvy štiky po dobu 130 °d, kdy se začíná adhezivní papila vstřebávat. Následně plavou larvy k hladině, kde si nasátím atmosférického vzduchu ústy naplní plynový měchýř, začínají se rozplavávat a tráví žloutkový váček (Bondarenko a kol., 2013a). K proříznutí úst dochází 2. – 4. den po vykulení a řiť je plně vyvinuta 4. – 5. den po vykulení (Balvay, 1983). Ještě před úplnou resorbci žloutkového váčku přibližně 150 – 160 °d, začínají larvy přijímat první exogenní výživu. K úplné resorbci žloutkového váčku dojde přibližně za 160 – 180 °d od vykulení larev, kdy dosahují velikosti 12 – 15 mm a hmotnosti 12 mg (Bondarenko a kol., 2013a).

## **3. Materiál a metodika**

### **3.1 Experimenty a jejich cíle**

V rámci této diplomové práce byly provedeny celkem tři experimenty. V prvním experimentu byl zkoumán vliv různých oplozovacích roztoků na úspěšnost inkubace jiker a embryí štiky obecné. Ve druhém experimentu byl zkoumán vliv manipulace na úspěšnost inkubace jiker a embryí štiky obecné. A v posledním třetím experimentu byl zkoumán vliv teploty na líhnivost a délku inkubace jiker a embryí štiky obecné.

### **3.2 Použité přístroje a výpočty**

K měření teploty vody ve °C a množství rozpuštěného kyslíku v  $\text{mg.l}^{-1}$  byl použit oximetr WTW Oxi3205. Měření pomocí oximetru probíhalo tak, že sonda přístroje byla ponořena do vody a po dobu zhruba 15 vteřin s ní bylo pod hladinou pohybováno sem a tam, aby došlo k uvolnění případných nežádoucích vzduchových bublin a díky tomu změřené hodnoty odpovídaly realitě. K odlepkování jiker a k řízené manipulaci s jikrami byla použita třepačka Heidolph Unimax 1010 (Obr.2), která umožňuje plynulé nastavení rotace a času, kterých bylo využíváno v experimentu vyhodnocující vliv manipulace na úspěšnost inkubace jiker a embryí štiky obecné. Nastavení rotace se uvádí v jednotkách rpm (revolutions per minute).

Biometrika larev byla prováděna měřením celkové délky těla (TL) a hmotnosti (W), jež představovaly vzorek z každé skupiny inkubovaných larev. Larvy byly z inkubátorů jemně nasávány do plastové pipety a následně vloženy na petriho misku, na které bylo prováděno vážení a získávání digitálních fotografií. K získání celkové délky těla (TL) bylo použito mikroskopu Nikon SMZ 745T, kde bylo pomocí fotografického aparátu Canon 1100D pořízeno několik digitálních fotografií larev, které byly následně zpracovány a přeměněny počítačovým programem QuickPHOTO MICRO 3.0 ve zvětšení 2×. K získání hmotnosti (W) larev byly použity stolní váhy KERN ABT 220-5DM s přesností 0,01 mg.

K ochlazení vody při inkubaci sloužilo termostatické chladicí zařízení DELTON H120, Sinop CB a.s., Česká republika, s přesností 0,1 °C, které umožňuje nastavení požadované teploty na digitálním displeji. K ohřevu vody při inkubaci sloužilo

termostatické zařízení T-Computer Set, AB Aqua Medic, Germany, s přesností 0,1 °C. K cirkulaci vody chladicím zařízením a žlabem bylo použito dvou malých akvarijních čerpadel IDRA s průtokem 1600 l.h<sup>-1</sup>.



Obr.2 – Třepačka Heidolph Unimax 1010

### 3.3 Generační ryby

K realizaci všech tří experimentů byly použity pohlavní produkty ze 2 jikernaček a 3 mlíčáků (Obr.3) o průměrné hmotnosti  $W = 1114 \pm 132,15$  g a celkové délce  $TL = 542 \pm 21,35$  mm.

Generační ryby byly odloveny při jarním výlovu z rybníku „Velký ústavní“ patřícího do majetku FROV JU dne 12.3.2014. V tuto dobu již ryby spontánně uvolňovaly jikry i mlíčí. Byly vystimulovány přirozenou teplotou vody, prodlužujícím se světlem a přítomností ponořené makrovegetace v rybníku.

Generační ryby byly po výlovu převezeny do areálu experimentálního rybochovného zařízení FROV JU ve Vodňanech. Zde byly nasazeny do 2 průtočných žlabů, samci a samice odděleně. V těchto žlabech byly uchovány po dobu 2 dnů. Jako

zdroj vody k průtoku systémem byla použita voda z náhonu řeky Blanice ve Vodňanech. Vlastní umělý výtěr probíhal dne 14.3.2014 od 8:00.



Obr.3 – Mličáci připravení k výtěru

### 3.4 Umělý výtěr jikernaček

Z důvodu zralosti jikernaček nebyla použita žádná hormonální stimulace ryb. Každý pracovník, který v průběhu umělého výtěru manipuloval s rybami, měl na rukou gumové rukavice, aby se eliminovala možnost poranění ryby.

Prvním krokem byl umělý výtěr jikernaček. Ovulující ryby byly odloveny z průtočných žlabů do manipulační vaničky o objemu 40 litrů. Vaničky byly napuštěny vodou o celkovém objemu 20 litrů. Do těchto vaniček bylo s cílem zklidnění ryb, přidáno anestetikum. Jako vhodné anestetiku byl zvolen hřebíčkový olej v koncentraci  $0,04 \text{ ml.l}^{-1}$ . V tomto roztoku byly ryby uchovány po nezbytnou dobu, než začalo anestetikum účinkovat. Tento okamžik nastal, když se obě jikernačky začaly otáčet břichem k hladině a nereagovaly na vnější podněty. Během této doby bylo připraveno několik vhodných misek o objemu 100 – 300 ml k odběru jiker. Misky byly před výtěrem přesně zváženy a označeny. Tento postup je nutný, neboť následná hmotnost

vytřených jiker je zjištěna přesně a hlavně rychle. Po zklidnění byla jikernačka vždy zabalena do vlhké tkaniny. Před vlastním výtěrem byla osušena břišní partie a řitní ploutev jikernačky, aby nedošlo ke kontaminaci jiker vodou a tím k uzavření mikropile jikry. Umělý výtěr byl proveden postupným masírováním břišní partie ryby směrem od frontální ke kaudální části těla ryby. Jikry byly vytírány přímo do čistých a předem zvážených misek (Obr.4). Pro každou rybu byla použita jedna nádoba. Dbalo se na to, aby vytírané jikry stékaly po straně nádoby do jejího středu. Tím jsme se snažili předejít zbytečným otřesům, které způsobují zvýšenou mortalitu jiker a embryí při jejich inkubaci. Celkem bylo výtěrem získáno 75 g jiker což odpovídá průměrné hmotnosti jiker 37,5 g na jednu vytíranou jikernačku. Vytírané jikernačky byly vloženy do vaniček s vodou ve které byl rozpuštěný manganistan draselný ( $KMnO_4$ ), který má antimykotické účinky.

Po výtěru byly misky s jikrami uloženy na lože s šupinkovým ledem a překryty vlhkým hadrem. Takto je možno čerstvě vytírané jikry uchovávat po dobu až několika hodin.



Obr.4 – Umělý výtěr jikernačky

### 3.5 Umělý výtěr mlíčáků

Z důvodu zralosti mlíčáků nebylo třeba přistoupit k jejich usmrcení a použití testikulárního spermatu.

Celkem 3 samci byli odloveni do stejného typu vaniček se zhruba podobným objemem vody jako samice. Následně došlo k jejich zklidnění použitím anestetika v podobě hřebíčkového oleje. Množství použitého anestetika bylo shodné s množstvím použitým při anestezii jikernaček. Poté co mlíčáci reagovali na anestetikum změnou polohy svého těla, bylo přistoupeno k vlastnímu výtěru. Ryby byly zabaleny do vlhké tkaniny, byla jim důkladně osušena břišní partie včetně řitní ploutve, aby nedošlo k nechtěné aktivaci spermií. Před odběrem spermatu bylo provedeno vyprázdnění močového měchýře samců ze stejného důvodu. Jakmile se moč přestala objevovat, přistoupili jsme k vlastnímu odběru spermatu. Jako odběrný prostředek bylo použito injekční stříkačky o objemu 5 mililitrů, která byla napojena na gumovou kapiláru o délce cca 300 mm. Konec kapiláry byl vsunut do močopohlavní papily mlíčáků a pomocí masáže břicha a postupného vytahování pístu injekční stříkačky bylo docíleno kýženého odběru spermatu (Obr.5). Průměrné množství získaného spermatu bylo 1,5 ml na jednoho mlíčáka. Čerstvé sperma od všech tří samců bylo použito přímo z odběrných injekčních stříkaček k o semenění jiker.

Vytření mlíčáci byly vloženy do vaniček s rozpuštěným manganistanem draselným ( $\text{KMnO}_4$ ), který má antimykotické účinky.





Obr.5 – Odběr spermatu

### **3.6 Vliv oplozovacích roztoků na úspěšnost inkubace jiker a embryí štiky obecné**

#### **3.6.1 Osemenění, oplození a odlepkování jiker**

V rámci experimentu vlivu oplozovacích roztoků na úspěšnost inkubace embryí štiky obecné bylo odváženo 30 g jiker od obou vytřených jikernaček. Tyto jikry byly rozděleny do 3 misek v množství 10 g na jednu misku. K osemenění bylo celkem použito 1,8 ml spermatu, konkrétně 0,6 ml od každého mlíčáka. Pro každou misku bylo použito 0,2 ml spermatu od jednoho mlíčáka, celkem tedy 0,6 ml na 10 g jiker. Mlčí bylo aplikováno na jikry přímo z injekčních stříkaček v poměru 1 ml spermatu na 16,7 g jiker. Čas osemenění byl 9:50 h. Poté co bylo sperma aplikováno na jikry, byla směs spermatu a jiker jemně promíchána. Následně byla první miska s osemeněnými jikrami zalita oplozovacím roztokem glycinu, druhá skupina oplozovacím roztokem močoviny a třetí oplozovacím roztokem vody.

Aby se předešlo slepování oplozených jiker, tvorbě shluků a tím možnému zaplísnění jiker v průběhu inkubace, bylo nutné jikry zbavit lepivosti (odlepkovat). K tomuto účelu posloužilo plnotučné mléko od jihočeské společnosti Madeta s 3,5 % obsahem tuku. Plnotučným mlékem byly zality oplozené jikry a po dobu 2 minut jemně ručně míchány. Nakonec byla miska se směsí oplozených jiker a mléka vložena na třepačku Heidolph Unimax 1010 na dobu 80 minut. Tento přístroj pracuje na principu krouživého pohybu svrchní desky v horizontální rovině, na kterou je možno vložit vhodný materiál. Rychlost pohybu je regulovatelná. V našem případě byla rychlost krouživého pohybu nastavena na hodnotu 103 rpm. Během této doby tukové částice mléka obušovaly lepkavý povrch jiker a tím došlo k odstranění lepivosti jiker.

### **3.6.2 Popis experimentu**

Oplozené jikry byly rozděleny do tří skupin ve třech opakováních, celkem bylo tedy nasazeno 9 inkubátorů.

Pro první skupinu jiker bylo použito 100 ml oplozovacího roztoku ve složení 5,52 g NaCl; 3,75 g glycinu (Glycine ReagentPlus®,  $\geq 99\%$ , SIGMA® Life Science) a 2,42 g Trisu (Tris(hydroxymethyl)amino-methane ACS reagent,  $\geq 99,8\%$ , SIGMA-ALDRICH®) rozpuštěného v 1 litru vody. Tímto roztokem bylo aktivováno oplození 10 g jiker osemeněných 3 x 0,2 ml spermatu. Jednalo se o sperma třech různých samců. Pro druhou skupinu jiker bylo použito stejného množství oplozovacího roztoku jako u první skupiny a to ve složení voda + chemická krystalická močovina (Urea BioXtra, pH 7,5 – 9,5 (20 °C, 5 M in H<sub>2</sub>O) SIGMA® Life Science) v koncentraci 1 ml močoviny na 70 ml vody. Tímto roztokem bylo aktivováno oplození také 10 g jiker osemeněných 3 x 0,2 ml spermatu. Stejně i v tomto případě se jednalo o sperma třech různých samců. Pro třetí skupinu bylo použito také stejného množství oplozovacího roztoku jako u první skupiny a jednalo se o vodu z líhně. I v tomto případě bylo zvoleno stejné množství jiker a spermatu jako v předešlých dvou skupin. U všech tří skupin byly sledovány následující parametry. Přežití embryí a larev v %, % abnormalit, ať už se jednalo o skoliózy, syndrom malých očních bodů nebo jiné abnormality a dále byla prováděna biometrika larev na konci inkubace.

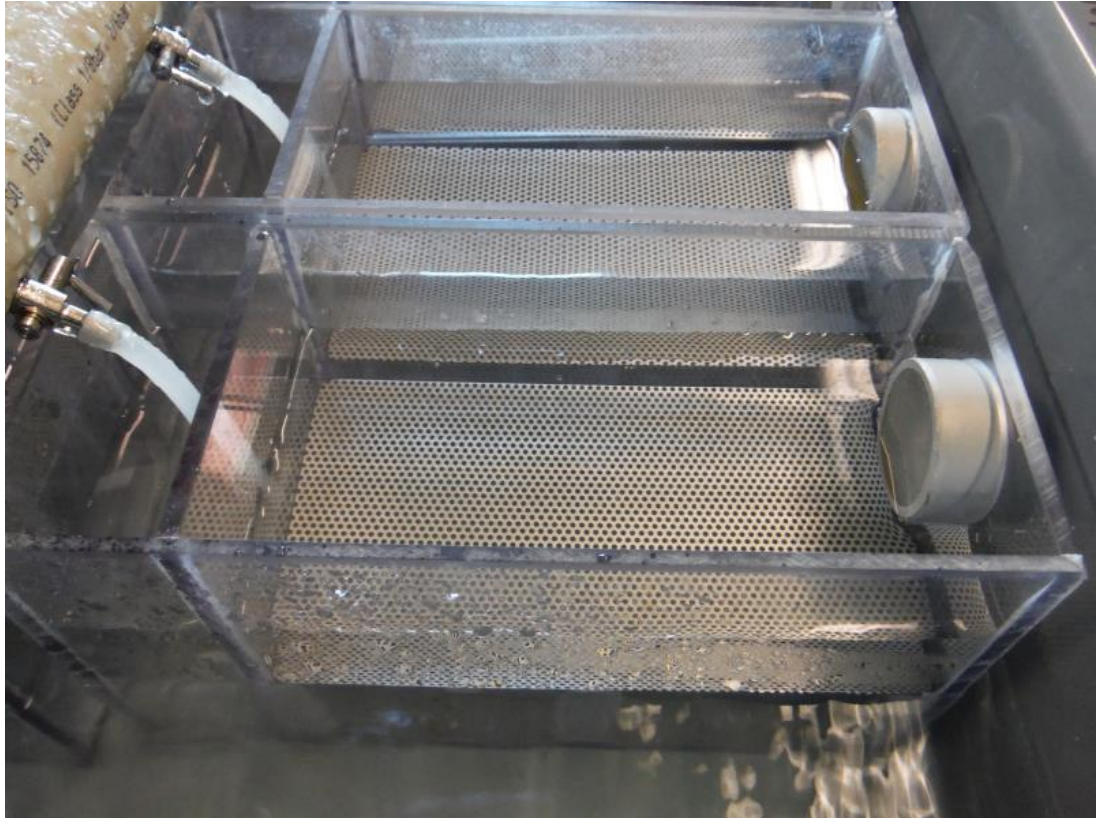
Cílem experimentu bylo vyhodnocení vlivu oplozovacích roztoků z hlediska vhodnosti použití pro aktivaci spermií.



### 3.6.3 Nasazení jiker k inkubaci

K nasazení jiker k inkubaci bylo použito celkem 9 kusů průtočných inkubátorů z lepeného akrylátového skla (Obr.6). Použité inkubátory byly o velikosti  $L = 230$  mm,  $W = 100$  mm a  $H = 140$  mm s podélnou přepážkou z perforovaného plechu ve výšce cca 60 mm od dna inkubátoru a příčnou přepážkou v 1/5 délky, kde byl umístěn přívod vody. Voda protékala skrz mřížku odspoda nahoru. Na opačné straně než byla příčná přepážka, se nacházel výpustní otvor kruhového tvaru o průměru 40 mm, který byl vyplněn jemnou nerezovou síťovinou (velikost ok 300  $\mu\text{m}$ ), aby nedošlo k odplavení inkubujících se jiker nebo později larev. Jikry byly nasazeny přímo na perforovaný nerezový plech v množství 100 ks na jeden inkubátor. Celkem bylo v rámci tohoto experimentu nasazeno 900 ks jiker.

Všech 9 inkubátorů bylo vloženo do PP žlabu s recirkulací vody o rozměrech  $L = 3650$  mm,  $W = 400$  mm a  $H = 180$  mm, nad jehož středem byla podélně vedena přítoková plastová trubka a na jeho konci byl odtok vody. Nad každým inkubátorem vycházela z přítokové trubky plastová hadička, běžně využívaná ke vzduchování akvárií, která přiváděla cirkulující vodu ke každému inkubátoru. Množství přítokové vody bylo možno regulovat ventilem pro každý inkubátor zvlášť. Průtok vody každým inkubátorem byl nastaven na stejnou hodnotu  $0,69$   $\text{litrů} \cdot \text{min}^{-1}$ . Pod žlabem s inkubátory byla zásobní nádrž se dvěma čerpadly výrobní značky IDRA. Jedno čerpadlo hnalo vodu do chladicího zařízení, které mělo možnost regulace teploty, zatímco druhé napájelo podélnou přítokovou plastovou trubku a tím i každý z inkubátorů. V rámci tohoto v podstatě recirkulačního systému nebyla použita žádná filtrace vody. Voda byla v zásobní nádrži denně vyměňována, z k tomuto účelu připravené nádrže ve formě 250 l plastového sudu. Během výměny vody bylo zároveň denně rozpuštěno 100 g soli a smícháno s vodou v zásobní nádrži. Tento postup byl prováděn z důvodu potlačení výskytu především plísní, které by mohly snadno napadnout inkubující se jikry. Voda použitá k inkubaci embryí pocházela z vodovodního řadu města Vodňany a zásobní plastový sud sloužil především k jejímu odstátí.



Obr.6 – Použité inkubátory

### **3.6.4 Kontrola kvality embryí, larev a podmínek v průběhu inkubace**

Kontrola embryí a larev při inkubaci byla prováděna vizuálně, kdy uhynulé inkubující se embrya byly dvakrát denně vyřazovány, zatímco u larev byla sledována hlavně jejich morfologie a biometrika. V tomto případě byly měřeny TL, W a kontrolovány především různé deformace a vývojové vady.

Teplota vody a množství rozpuštěného  $O_2$  byly sledovány dvakrát denně, data jsou uvedeny v Tab. č. 1.

Tab. č. 1 – Teplota vody a množství rozpuštěného kyslíku pro první dva experimenty

Datum	Teplota °C		Kyslík mg.l <sup>-1</sup>		Výměna vody	Sůl (g)
	8:00	15:00	8:00	15:00	12:00	12:00
14.3.2014	-	10,5	-	10,8	-	100
15.3.2014	10,5	11,5	10,7	11,1	Ano	100
16.3.2014	10,5		10,8		Ano	100
17.3.2014	10,5	10,8	10,9	12	Ano	100
18.3.2014	10,6	10,3	11,2	11,1	Ano	100
19.3.2014	9,8	10,9	11,5	9,7	Ano	100
20.3.2014	10,9	11,4	11	10,7	Ano	100
21.3.2014	10,6	11	11	11,1	Ano	100
22.3.2014	10,6	11,3	11,7		Ano	100
23.3.2014	10,9	11,1	10,7		Ano	100
24.3.2014	10,8	13,5	10,8		Ano	100

### 3.7 Vliv manipulace na úspěšnost inkubace jiker a embryí štiky obecné

#### 3.7.1 Osemenění, oplození a odlepkování jiker

V rámci experimentu vlivu manipulace na úspěšnost inkubace jiker a embryí štiky obecné bylo odváženo 45 g jiker od obou jikernaček. Tyto jikry byly smíchány do jedné misky. K osemenění bylo celkem použito 2,7 ml spermatu, konkrétně 0,9 ml od každého mlíčáka. Mlíčí bylo aplikováno na jikry přímo z injekčních stříkaček v poměru 1 ml spermatu na 16,7 g jiker (Obr.7).



Obr.7 – Osemenění jiker

Tento postup byl zvolen proto, aby se eliminovala možnost osemenění jiker jen jedním samcem, který může mít nízkou kvalitu spermatu, především malou nebo nulovou motilitu spermií. Čas osemenění byl 9:50 h. Poté co bylo sperma aplikováno na jikry, byla směs spermatu a jiker jemně promíchána. Jikry byly oplozeny spermatem po zalití směsi vodou z líhně, která aktivovala spermie k pohybu. Následně byla směs jiker, mlíčí a vody promíchávána po dobu 2 minut, aby bylo zajištěno, že spermie aktivují vývoj co největšího počtu jiker. Po uplynutí této doby, byly pohlavní produkty ponechány v klidu v délce 10 minut. Odlepkování probíhalo stejným způsobem jako u prvního experimentu.

### **3.7.2 Sestavení experimentálních skupin**

Oplozené jikry byly rozděleny do deseti skupin ve třech opakováních, celkem bylo tedy nasazeno 30 inkubátorů. První skupina sloužila jako kontrola a nebylo s ní nijak

manipulováno. S druhou skupinou bylo manipulováno 3 hodiny po oplození jiker. Třetí skupina se podrobila manipulaci 6 hodin po oplození, čtvrtá skupina 12 hodin po oplození, pátá skupina byla podrobena manipulaci 24 hodin (1 den) po oplození, šestá skupina 48 hodin (2 dny) po oplození, sedmá skupina 72 hodin (3 dny) po oplození, osmá skupina 96 hodin (4 dny) po oplození, devátá skupina 120 hodin (5 dní) po oplození a nakonec desátá skupina byla podrobena manipulaci 144 hodin (6 dní) po oplození. U všech skupin bylo sledováno přežití embryí v průběhu inkubace a % líhnutí larev, % abnormalit, ať už se jednalo o skoliózy, syndrom malých očních bodů nebo jiné abnormality a dále byla prováděna biometrika larev na konci inkubace.

Cílem experimentu bylo vyhodnocení dat a určení, v jakém období embryonálního vývoje je manipulace s embryi absolutně nežádoucí.

### **3.7.3 Nasazení jiker k inkubaci**

K nasazení jiker k inkubaci bylo použito celkem 30 kusů průtočných inkubátorů z lepeného akrylátového skla. Použité inkubátory byly stejné jako v případě prvního experimentu. Jikry byly nasazeny přímo na perforovaný nerezový plech v množství 100 ks na jeden inkubátor. Celkem bylo tedy nasazeno 3000 ks jiker.

Všech 30 inkubátorů bylo ve dvou řadách vloženo do stejného žlabu s recirkulací vody jako v případě prvního experimentu.

### **3.7.4 Proces manipulace**

Každý inkubátor byl popsán číslem a hodinou či dnem manipulace. Jelikož k oplození došlo 14.3.2014 v 9:50 hodin, byla frekvence třepání s jikrami následující:

Inkubátory č. 2, 12, 22 – po 3 h od oplození ve 12:50 h

Inkubátory č. 3, 13, 23 – po 6 h od oplození v 15:50 h

Inkubátory č. 4, 14, 24 – po 12 h od oplození ve 21:50 h

Inkubátory č. 5, 15, 25 – po 24 h (1 den) od oplození v 9:50 h

Inkubátory č. 6, 16, 26 – po 48 h (2 dny) od oplození v 9:50 h

Inkubátory č. 7, 17, 27 – po 72 h (3 dnech) od oplození v 9:50 h

Inkubátory č. 8, 18, 28 – po 96 h (4 dnech) od oplození v 9:50 h

Inkubátory č. 9, 19, 29 – po 120 h (5 dnech) od oplození v 9:50 h

Inkubátory č. 10, 20, 30 – po 144 h (6 dnech) od oplození v 9:50 h

K manipulaci s jikrami byla použita třepačka Heidolph Unimax 1010, na jejíž pohyblivou desku byly umístěny vždy tři inkubátory, u nichž byla redukována výška vodního sloupce na hodnotu 10 mm nad inkubovanými jikrami, aby se zabránilo nežádoucímu stříkání vody z inkubátorů vlivem pohybu třepacího přístroje. Rychlost pohybu zařízení byla vždy nastavena na hodnotu 100 rpm a manipulace probíhala po dobu 30 minut. Po manipulaci byly inkubátory vloženy zpět do žlabu s cirkulující vodou.

### **3.7.5 Kontrola kvality embryí, larev a podmínek v průběhu inkubace**

Kontrola embryí a larev při inkubaci byla prováděna vizuálně, kdy uhynulé inkubující se embrya byly dvakrát denně vyřazovány, zatímco u larev byla sledována hlavně morfologie těla. V tomto případě byly kontrolovány různé deformace a vývojové vady. Jednalo se především o skoliózy a syndrom malých očních bodů (Obr.8).

Teplota vody a množství rozpuštěného O<sub>2</sub> byly sledovány taktéž dvakrát denně jako u prvního experimentu, data jsou uvedeny v Tab. č. 1 u prvního experimentu.



Obr.8 – Larva štiky obecné s kombinací skoliózy a syndromu malých očních bodů

### **3.8 Vliv teploty vody na délku inkubace jiker a embryí štiky obecné**

#### **3.8.1 Osemenění, oplození a odlepkování jiker**

Během experimentu vlivu teploty vody na délku inkubace jiker a embryí štiky obecné byly použity oplozené jikry, které zbyly z druhého experimentu. Osemenění, oplození a odlepkování jiker probíhalo tedy stejně a je popsáno v kapitole 3.7.

#### **3.8.2 Popis experimentu**

V rámci experimentu vlivu teploty vody na délku inkubace štiky obecné bylo použito 25 inkubátorů, které byly rozděleny do 5 skupin. U první skupiny A byly jikry inkubovány při teplotě 3 °C, u druhé skupiny B byly jikry inkubovány při teplotě 6 °C, u třetí skupiny C byly jikry inkubovány při teplotě 10 °C, u čtvrté skupiny D byly jikry inkubovány při teplotě 14 °C a u páté skupiny E byly jikry inkubovány při teplotě 18 °C. Pro každou teplotu byl použit vlastní recirkulační systém stejného typu jako u

prvních dvou experimentů, kde byla teplota vody regulována pomocí termostatického chladicího zařízení nebo termostatického zařízení k ohřevu vody.

### **3.8.3 Nasazení jiker k inkubaci**

K nasazení jiker k inkubaci bylo použito celkem 25 kusů průtočných inkubátorů z lepeného akrylátového skla. Použité inkubátory byly stejné jako v případě prvního experimentu. Jikry byly nasazeny přímo na perforovaný nerezový plech v množství 300 ks na jeden inkubátor. Celkem bylo v rámci tohoto experimentu nasazeno 7500 ks jiker.

Každá skupina tj. 5 inkubátorů bylo vloženo do stejného typu žlabu s recirkulací vody jako v případě obou předchozích experimentů, avšak každá ze skupin měla nastavenou jinou teplotu vody. Množství přítokové vody bylo možno regulovat ventilem pro každý inkubátor zvlášť. Průtok vody každým inkubátorem byl nastaven na stejnou hodnotu  $0,69 \text{ litrů} \cdot \text{min}^{-1}$ . V průběhu inkubace nedocházelo k žádným manipulacím s inkubujícími se jikrami.

### **3.8.4 Přežití jiker a embryí a sledování synchronizace líhnutí**

Přežití jiker a embryí bylo denně kontrolována pro každou teplotní skupinu. Bílé jikry byly odstraňovány pomocí plastové pipety.

Během inkubace jiker a embryí byly sledovány čtyři klíčové skutečnosti, % přežití larev na konci inkubace, % deformací, začátek líhnutí (L5), kdy bylo vylíhnuto 5 % larev a konec líhnutí L(95), kdy bylo vylíhnuto 95 % larev. Pro celkovou dobu líhnutí byl zvolen interval mezi L(5) a L(95).

### **3.8.5 Hodnocení kvality a biometrika larev**

Hodnocení kvality larev probíhalo vizuálně a získaná data byla statisticky zpracována. Z každé teplotní skupiny bylo zvoleno 150 larev, u kterých byla zjišťována biometrika TL a W. Biometrika byla prováděna stejným způsobem jako u předcházejících experimentů. Zároveň bylo sledováno % abnormalit u každé ze skupin. Získaná data byla statisticky zpracována.



### **3.9 Statistické zpracování jednotlivých experimentů**

Ke zpracování získaných dat byl použit software společnosti Microsoft Office a to Microsoft Excel 2010. Zde byly počítány aritmetické průměry, směrodatné odchylky a tvořeny tabulky. Získaná data ze všech tří experimentů byla statisticky zpracována a porovnána mezi skupinami jednofaktoriální Anovou a Tuckeyho post-hock testem (ANOVA, Statistica 12, StatSoft, Inc.), s hladinou významnosti  $P < 0,05$ .

## 4. Výsledky

### 4.1 Vliv oplozovacích roztoků na úspěšnost inkubace jiker a embryí štiky obecné

#### 4.1.1 Přežití jiker a embryí na konci inkubace

V rámci vlivu oplozovacích roztoků na úspěšnost inkubace jiker a embryí štiky obecné bylo pozorováno nejvyšší celkové přežití ( $65,00 \pm 8,60$  %) na konci inkubace u skupiny, kde bylo použito oplozovacího roztoku ve složení voda + chemická krystalická močovina. Naopak nejnižších hodnot celkového přežití ( $56,67 \pm 3,68$  %) na konci inkubace bylo pozorováno u skupiny, kde bylo použito oplozovacího roztoku vody z líhně. Pozorované hodnoty byly u všech tří skupin statisticky stejné.

Získaná data o celkovém přežití na konci inkubace pro všechny tři skupiny byla statisticky stejná a jsou uvedena v Tab. č. 2.

Tab. č. 2 – Přežití larev na konci inkubace

Oplozovací roztok	Přežití v ks	Přežití celkem v %
G	$180 \pm 6,38$	$60,00 \pm 6,38$ a
M	$195 \pm 8,60$	$65,00 \pm 8,60$ a
V	$170 \pm 3,68$	$56,67 \pm 3,68$ a

Rozdílná písmena u přežití larev znamenají statistický rozdíl mezi jednotlivými skupinami použitými k experimentu (ANOVA  $P < 0,05$ ).

#### 4.1.2 Vývojové abnormality

Údaje o vývojových abnormalitách byly vyhodnocovány na konci experimentu dne 25. 3. 2014.

Nejčastějšími vývojovými vadami byly skoliózy následované syndromem malých očních bodů. V jednom případě byl zjištěn výskyt larvy se dvěma hlavami (siamská dvojčata) (Obr.9.).



Obr.9 – Larva štiky obecné s se dvěma hlavami

Nejvyšší procento skolióz u vykulených larev (13,33 %) bylo pozorováno u skupiny, kde bylo použito oplozovacího roztoku glycinu. Naopak nejnižší procento skolióz (2,94 %) bylo pozorováno při použití oplozovacího roztoku vody.

Syndrom malých očních bodů byl nejčastěji pozorován také při použití oplozovacího roztoku glycinu a to celkem v 9 případech což odpovídá 5 % vylíhnutých larev. Nejnižší výskyt syndromu malých očních bodů (0,59 %) byl pozorován u vylíhnutých larev, kde bylo použito k oplození jiker oplozovacího roztoku vody.

Nejvyšších hodnot všech typů deformací u vylíhnutých larev bylo dosaženo u oplozovacího roztoku glycinu a to průměrně  $18,89 \pm 0,78$  %. Naopak nejnižší hodnoty všech typů deformací u vylíhnutých larev dosáhla skupina, kde bylo použito k oplození jiker oplozovacího roztoku vody a to průměrně  $3,53 \pm 0,27$  %. U skolióz byly u všech skupin hodnoty statisticky rozdílné. Syndrom malých očních bodů dosáhl statisticky shodných hodnot u oplozovacích roztoků M (voda + chemická krystalická močovina) a

V (voda). Pozorované hodnoty syndromu malých očních bodů u skupin M a V byly statisticky shodné, zatímco hodnoty skoliózy byly u všech tří skupin statisticky rozdílné.

Získaná data o všech typech deformací celkem pro všechny 3 skupiny jsou uvedena v Tab. č. 3.

Tab. č. 3 – Vývojové abnormality larev na konci inkubace

Oplozovací roztok	Počet larev s vývojovou vadou		Abnormality v %
	Syndrom malých očních bodů	Skoliózy	
G	9 ± 0,82 a	24 ± 0,82 a	18,89 ± 0,78
M	2 ± 0,94 b	13 ± 2,62 b	7,69 ± 1,82
V	1 ± 0,47 b	5 ± 0,47 c	3,53 ± 0,27

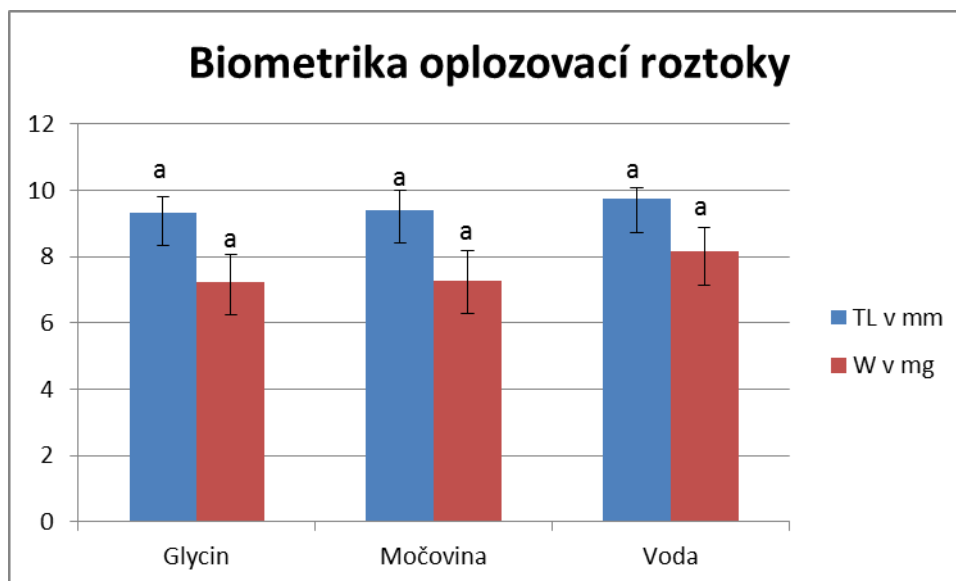
Rozdílná písmena u abnormalit larev znamenají statistický rozdíl mezi jednotlivými skupinami použitými k experimentu (ANOVA  $P < 0,05$ ).

#### 4.1.3 Biometrika larev

Nejnižší hodnota TL larev byla zjištěna u skupiny G, jejíž hodnota byla průměrně  $9,33 \pm 0,46$  mm. Nejvyšší hodnoty naopak dosáhla skupina V, kde byla zjištěna průměrná TL larev  $9,74 \pm 0,32$  mm. Hmotnost larev W dosáhla nejnižších hodnot u skupiny G a to v průměru  $7,24 \pm 0,82$  mg, zatímco nejvyšších hodnot dosáhla skupina V a to v průměru  $8,15 \pm 0,74$  mg. Hodnoty TL a W byly u všech skupin statisticky shodné.

Grafické znázornění získaných dat je uvedeno v Grafu č. 2.

Detailní informace ohledně TL a W jsou uvedeny v Tab. č. 4.



Graf 2 – Biometrika ze všech skupin experimentu

Tab. č. 4 – Biometrika larev na konci inkubace

Oplozovací roztok	Biometrika	
	TL v mm	W v mg
G	9,33 ± 0,46 a	7,24 ± 0,82 a
M	9,40 ± 0,61 a	7,28 ± 0,88 a
V	9,74 ± 0,32 a	8,15 ± 0,74 a

Rozdílná písmena u TL a W larev znamenají statistický rozdíl mezi jednotlivými skupinami použitými k experimentu (ANOVA  $P < 0,05$ ).

## 4.2 Vliv manipulace na úspěšnost inkubace jiker a embryí štiky obecné

### 4.2.1 Přežití jiker a embryí

Během manipulací s oplozenými jikrami v různých fázích embryonálního vývoje byly získávány cenné údaje o denní mortalitě jiker a embryí.

V rámci vlivu manipulace na úspěšnost inkubace jiker a embryí štiky obecné bylo pozorováno přežití v očních bodech u všech skupin velmi podobné s nejvyšší hodnotou u deváté skupiny (5d) a to  $78,00 \pm 2,16$  %, zatímco nejnižších hodnot přežití embryí v očních bodech dosáhla druhá skupina (3d) a to  $69,33 \pm 3,40$  %. Nejvyšší celkové přežití na konci experimentu bylo u první skupiny (bez)  $61,67 \pm 4,19$  % a u osmé skupiny (4d) a to  $62,33 \pm 2,49$  %. Nejnižší hodnoty byly naopak pozorovány u třetí skupiny (6h) a to  $33,33 \pm 16,05$  %. Skupiny 3h ( $48,33 \pm 4,50$  %), 12h ( $49,67 \pm 8,73$  %), 24h ( $58,67 \pm 5,44$  %), 2d ( $55,33 \pm 8,99$  %), 3d ( $56,33 \pm 1,89$  %), 5d ( $56,33 \pm 9,74$  %) a 6d ( $54,67 \pm 4,99$  %) měli líhivost statisticky stejnou. Skupiny bez a 4d ( $62,33 \pm 2,49$  %) měli líhivost nejvyšší a statisticky stejnou.

Celkové přežití je uvedeno v Tab. č. 5.

Tab. č. 5 – Přežití jiker a embryí v průběhu inkubace

Čas manipulace po oplození	Přežití celkem v ks	Přežití v očních bodech v %	Přežití celkem v %
bez	185 ± 4,19	77,67 ± 1,25	61,67 ± 4,19 a
3h	145 ± 4,50	69,33 ± 3,40	48,33 ± 4,50 b
6h	100 ± 16,05	74,00 ± 9,42	33,33 ± 16,05 c
12h	149 ± 8,73	70,33 ± 6,02	49,67 ± 8,73 b
24h	176 ± 5,44	74,67 ± 6,18	58,67 ± 5,44 b
2d	166 ± 8,99	76,00 ± 5,72	55,33 ± 8,99 b
3d	169 ± 1,89	75,33 ± 3,09	56,33 ± 1,89 b
4d	187 ± 2,49	76,00 ± 4,32	62,33 ± 2,49 a
5d	169 ± 9,74	78,00 ± 2,16	56,33 ± 9,74 b
6d	164 ± 4,99	75,33 ± 1,70	54,67 ± 4,99 b

Rozdílná písmena u přežití larev znamenají statistický rozdíl mezi jednotlivými skupinami použitými k experimentu (ANOVA  $P < 0,05$ ).

#### 4.2.2 Vývojové abnormality

Údaje o vývojových abnormalitách byly vyhodnocovány na konci experimentu dne 25. 3. 2014.

Nejčastějšími vývojovými vadami byly skoliózy následované syndromem malých očních bodů. V jednom případě byl zjištěn výskyt vylíhlé larvy bez hlavy.

Nejvyšší procento skolióz u vykulených larev (12,00 %) bylo pozorováno u skupiny 6h, naopak nejnižší procento skolióz (4,73 %) bylo pozorováno u skupiny 5d.

Syndrom malých očních bodů byl nejčastěji pozorován u skupiny 12h a to 0,00 %, zatímco nejvyšších hodnot bylo dosaženo u skupiny 3h a to 4,83 %.

Nejvyšších hodnot všech typů deformací u vylíhnutých larev bylo dosaženo u skupiny 6h a to průměrně  $22,00 \pm 22,74$  %, zatímco nejnižší průměrné hodnoty všech typů deformací u vylíhnutých larev dosáhla skupina 12h a to  $6,04 \pm 5,19$  %. U skolióz

byly u všech skupin hodnoty statisticky shodné, stejně tak i v případě syndromu malých očních bodů.

Získaná data o všech typech deformací celkem pro všech 10 skupin jsou uvedena v Tab. č. 6.

Tab. č. 6 – Vývojové abnormality larev na konci inkubace

Čas manipulace po oplození	Počet larev s vývojovou vadou		Abnormality celkem v %
	Syndrom malých očních bodů	Skoliózy	
bez	4 ± 1,25 a	10 ± 2,05 a	7,57 ± 2,71
3h	7 ± 1,70 a	13 ± 0,94 a	13,79 ± 4,01
6h	9 ± 2,45 a	12 ± 2,45 a	22,00 ± 22,74
12h	0 ± 0 a	9 ± 2,83 a	6,04 ± 5,19
24h	6 ± 2,16 a	15 ± 3,74 a	11,93 ± 8,84
2d	4 ± 0,47 a	10 ± 0,47 a	8,43 ± 1,09
3d	1 ± 0,47 a	10 ± 2,62 a	6,51 ± 4,35
4d	4 ± 0,94 a	9 ± 1,41 a	6,95 ± 0,56
5d	3 ± 0,82 a	8 ± 0,47 a	6,51 ± 1,59
6d	3 ± 1,41 a	12 ± 2,94 a	9,15 ± 6,99

Písmena u deformací znamenají statistický rozdíl mezi jednotlivými skupinami použitými k experimentu (ANOVA  $P < 0,05$ ).

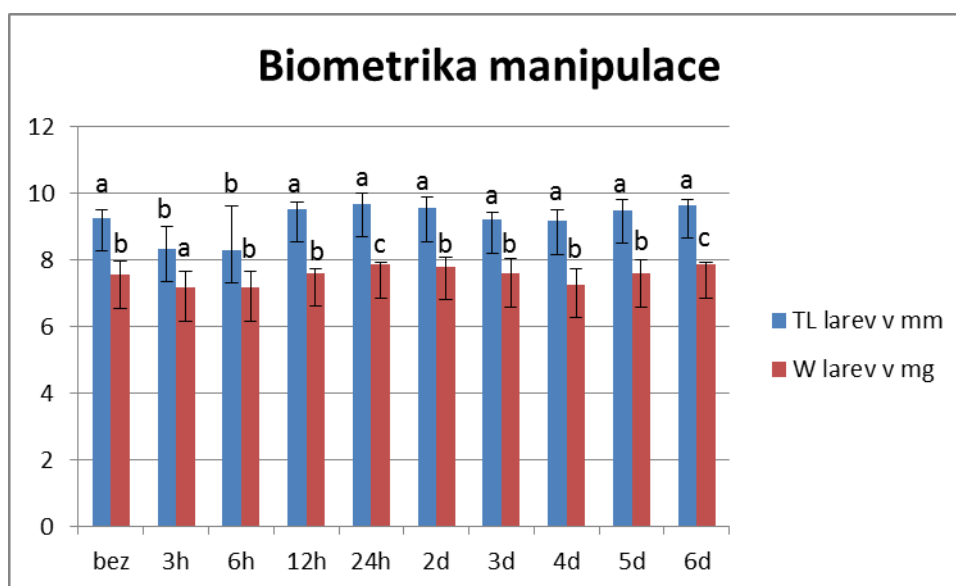


### 4.2.3 Biometrika larev

Nejnižší průměrné hodnoty TL larev byly zjištěny u skupin 6h ( $8,31 \pm 1,30$  mm) a 3h ( $8,34 \pm 0,68$  mm). Nejvyšší hodnoty naopak dosáhla skupina 24h a to v průměru  $9,69 \pm 0,33$  mm. Hmotnost larev W dosáhla nejnižších průměrných hodnot u skupin 3h ( $7,16 \pm 0,48$  mg) a 6h ( $7,17 \pm 0,47$  mg), zatímco nejvyšších průměrných hodnot dosáhly skupiny 24h ( $7,85 \pm 0,09$  mg) a 6d ( $7,85 \pm 0,07$  mg). Hodnoty TL byly vyšší a statisticky shodné u skupin bez ( $9,26 \pm 0,26$  mm), 12h ( $9,54 \pm 0,19$  mm), 24h, 2d ( $9,55 \pm 0,33$  mm), 3d ( $9,21 \pm 0,21$  mm), 4d ( $9,17 \pm 0,32$  mm), 5d ( $9,49 \pm 0,33$  mm) a 6d ( $9,64 \pm 0,17$  mm). Nižší statisticky shodné hodnoty TL byly pozorovány u skupin 3h a 6h. Nejnižší hmotnost W u skupiny 3h byla statisticky rozdílná oproti zbylým skupinám. Vyšší hmotnosti W, které vykazovali stejné statistické hodnoty byly pozorovány u skupin bez ( $7,56 \pm 0,41$  mg), 6h ( $7,17 \pm 0,47$  mg), 12h ( $7,60 \pm 0,11$  mg), 2d ( $7,81 \pm 0,25$  mg), 3d ( $7,58 \pm 0,46$  mg), 4d ( $7,25 \pm 0,48$  mg) a 5d ( $7,58 \pm 0,41$  mg). Nejvyšších statisticky shodných hodnot hmotností W dosáhly skupiny 24h ( $7,85 \pm 0,09$  mg) a 6d ( $7,85 \pm 0,07$  mg.)

Grafické znázornění získaných dat je uvedeno v Grafu č. 1.

Získaná data o biometrice larev jsou uvedeny v Tab. č. 7.



Graf 1 – Biometrika ze všech skupin experimentu

Tab. č. 7 – Biometrika larev na konci inkubace

Čas manipulace po oplození	TL larev v mm	W larev v mg
bez	9,26 ± 0,26 a	7,56 ± 0,41 b
3h	8,34 ± 0,68 b	7,16 ± 0,48 a
6h	8,31 ± 1,30 b	7,17 ± 0,47 b
12h	9,54 ± 0,19 a	7,60 ± 0,11 b
24h	9,69 ± 0,33 a	7,85 ± 0,09 c
2d	9,55 ± 0,33 a	7,81 ± 0,25 b
3d	9,21 ± 0,21 a	7,58 ± 0,46 b
4d	9,17 ± 0,32 a	7,25 ± 0,48 b
5d	9,49 ± 0,33 a	7,58 ± 0,41 b
6d	9,64 ± 0,17 a	7,85 ± 0,07 c

Rozdílná písmena u biometriky larev znamenají statistický rozdíl mezi jednotlivými skupinami použitými k experimentu (ANOVA  $P < 0,05$ ).

### 4.3 Vliv teploty vody na délku inkubace jiker a embryí štiky obecné

#### 4.3.1 Sledování synchronizace líhnutí a přežití larev

Synchronizace líhnutí byla nepřímo úměrná teplotě a lišila se následovně. Nejdélší interval líhnutí měla skupina A, kdy hodnota  $L(5)$  dosáhla  $38 \pm 0,33$  dní ( $120 \pm 1,03$  °d) a hodnota  $L(95)$  byla  $46 \pm 0,42$  dní ( $144 \pm 1,31$  °d). Nejkratší interval líhnutí měla naopak skupina E, kdy hodnota  $L(5)$  dosáhla  $2,5 \pm 0,08$  dní ( $44,67 \pm 1,42$  °d) a hodnota  $L(95)$  byla  $3,42 \pm 0,06$  dní ( $61,11 \pm 1,07$  °d). Celkový interval líhnutí byl nejdélší u

skupiny A, kde dosáhl hodnoty  $8 \pm 0,3$  dní ( $25,12 \pm 0,92$  °d) a nejkratší u skupiny E, kde dosáhl hodnoty  $0,92 \pm 0,06$  dní ( $16,4 \pm 1,07$  °d). Nejnižší líhivost larev byla zjištěna u skupiny A ( $18,26 \pm 2,25$  %). Skupiny E ( $47,4 \pm 2,55$  %) a D ( $52,3 \pm 4,47$  %) měli líhivost vyšší a statisticky stejnou. Skupina B ( $56,2 \pm 3,21$  %) měla statisticky stejnou líhivost se skupinami E, D a i se skupinou C, která vykázala nejvyšší líhivost ( $65,5 \pm 5,41$  %). Detailní informace ohledně přežití, začátku líhnutí L(5), konce líhnutí L(95) a celkové doby líhnutí pro všech 5 skupin jsou uvedeny v Tab. č. 8.

Tab. č. 8 – Přežití larev a inkubační doba jiker a embryí

Inkubační interval							
Skupina	Celkové přežití vylíhnutých larev v %	Začátek líhnutí (L5)		Konec líhnutí (L95)		Celková doba líhnutí	
		Počet dní	°d	Počet dní	°d	Počet dní	°d
A	18,26 a	$38 \pm 0,33$	$120 \pm 1,03$	$46 \pm 0,42$	$144 \pm 1,31$	$8 \pm 0,3$	$25,12 \pm 0,92$
B	56,2 bc	$19 \pm 0,25$	$117 \pm 1,55$	$23 \pm 0,2$	$142,6 \pm 1,24$	$4 \pm 0,23$	$24,8 \pm 1,42$
C	65,5 c	$11 \pm 0,17$	$115 \pm 1,77$	$13 \pm 0,15$	$136 \pm 1,56$	$2 \pm 0,15$	$21 \pm 0,15$
D	52,3 b	$4 \pm 0,15$	$56,7 \pm 2,12$	$6 \pm 0,08$	$85 \pm 1,13$	$2 \pm 0,13$	$28,34 \pm 1,8$
E	47,4 b	$2,5 \pm 0,08$	$44,7 \pm 1,42$	$3,42 \pm 0,06$	$61,11 \pm 1,07$	$0,92 \pm 0,06$	$16,4 \pm 1,07$

Rozdílná písmena u celkového přežití larev znamenají statistický rozdíl mezi jednotlivými skupinami použitými k experimentu (ANOVA  $P < 0,05$ ).

#### 4.3.2 Vývojové abnormality

Údaje o vývojových abnormalitách byly vyhodnocovány na konci experimentu. Nejčastějšími vývojovými vadami byly skoliózy následované syndromem malých očních bodů. Nejvyšší hodnoty abnormalit u vylíhnutých larev dosáhla skupina A a to průměrně  $76,2 \pm 3,18$  %, zatímco nejmenší množství abnormalit bylo zjištěno u skupiny C a to průměrně  $6,2 \pm 2,36$  %.

Skupina B ( $10,3 \pm 1,93$  %) měla statisticky shodné hodnoty abnormalit se skupinou C. Statisticky shodné údaje byly také pozorovány u skupin D ( $18,2 \pm 3,47$  %) a E ( $12,9 \pm 1,84$  %).

Detailní informace ohledně abnormalit jsou uvedeny v Tab. č. 9.

Tab. č. 9 – Vývojové abnormality larev na konci inkubace

Oplozovací roztok	Abnormality v %
A	$76,2 \pm 3,18$ c
B	$10,3 \pm 1,93$ a
C	$6,2 \pm 2,36$ a
D	$18,2 \pm 3,47$ b
E	$12,9 \pm 1,84$ b

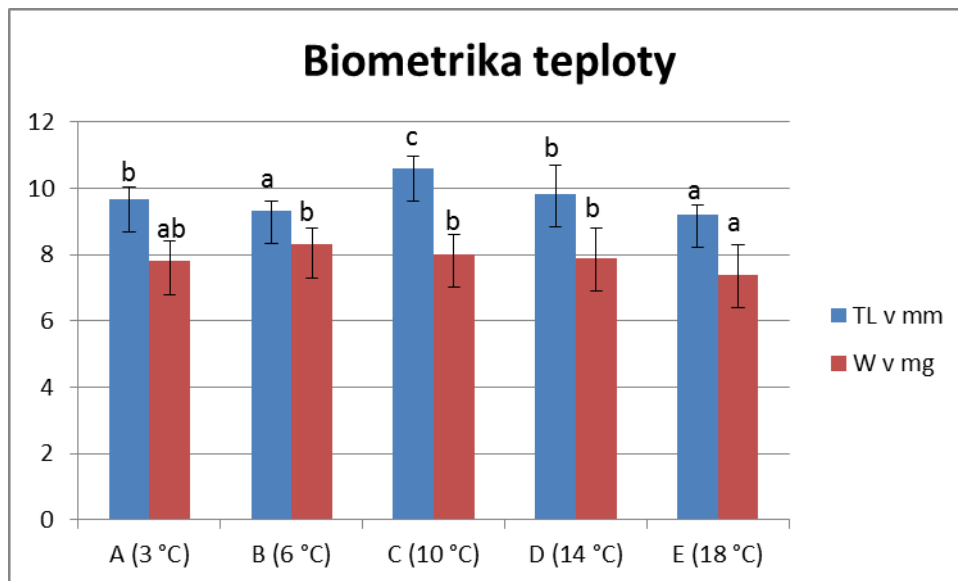
Rozdílná písmena u abnormalit larev znamenají statistický rozdíl mezi jednotlivými skupinami použitými k experimentu (ANOVA  $P < 0,05$ ).

#### 4.3.3 Biometrika larev

Nejnižší hodnota TL larev byla zjištěna u skupiny B, jejíž hodnota byla průměrně  $9,33 \pm 0,28$  mm a u skupiny E, jejíž hodnota byla průměrně  $9,21 \pm 0,29$  mm. Nejvyšší hodnoty naopak dosáhla skupina C, kde byla zjištěna průměrná TL larev  $10,61 \pm 0,37$  mm. Hmotnost larev W dosáhla nejnižších hodnot u skupiny E a to v průměru  $7,4 \pm 0,9$  mg, naopak nejvyšších hodnot dosáhly skupiny B, C a D a to v průměru od  $8,3 \pm 0,5$  mg do  $7,9 \pm 0,9$  mg.

Grafické znázornění získaných dat je uvedeno v Grafu č. 3.

Detailní informace ohledně TL a W jsou uvedeny v Tab. č. 10.



Graf 3 – Biometrika ze všech skupin experimentu

Tab. č. 10 – Biometrika larev na konci inkubace

Skupina	TL v mm	W v mg
A	9,67 ± 0,36 b	7,8 ± 0,6 ab
B	9,33 ± 0,28 a	8,3 ± 0,5 b
C	10,61 ± 0,37 c	8,0 ± 0,6 b
D	9,83 ± 0,86 b	7,9 ± 0,9 b
E	9,21 ± 0,29 a	7,4 ± 0,9 a

Rozdílná písmena u TL, W znamenají statistický rozdíl mezi jednotlivými skupinami použitými k experimentu (ANOVA  $P < 0,05$ ).

## 5. Diskuze

Cílem této diplomové práce bylo optimalizovat inkubaci jiker a embryí štiky obecné minimalizováním otřesů či manipulacemi, dále pak použitím třech různých oplozovacích roztoků a pomocí rozdílných teplot vody.

Pro všechny 3 experimenty byly použity pohlavní produkty od 5 generačních štik, které byly po oplození nasazeny do inkubačních aparátů.

V rámci prvního experimentu byl sledován vliv oplozovacích roztoků na inkubaci jiker a embryí štiky obecné. Oplozenými jikrami bylo nasazeno 9 inkubátorů ve třech opakováních, celkem tedy tři skupiny, pro něž bylo použito stejného množství spermatu i jiker. Pro první skupinu bylo použito oplozovacího roztoku ve složení 5,52 g NaCl; 3,75 g glycinu (Glycine ReagentPlus®, ≥ 99%, SIGMA® Life Science) a 2,42 g Trisu (Tris(hydroxymethyl)amino-methane ACS reagent, ≥ 99,8 %, SIGMA-ALDRICH®) rozpuštěného v 1 litru vody. Pro druhou skupinu jiker byl zvolen oplozovací roztok ve složení voda + chemická krystalická močovina (Urea BioXtra, pH 7,5 – 9,5 (20 °C, 5 M in H<sub>2</sub>O) SIGMA® Life Science) v koncentraci 1 ml močoviny na 70 ml vody. Pro třetí skupinu byla použita jako oplozovací roztok voda z líhně. Nejvyšší přežití bylo pozorováno u druhé skupiny a to průměrně  $65,00 \pm 8,60$  % a nejmenší u třetí skupiny  $56,67 \pm 3,68$  %. Nejvíce vývojových abnormalit u vykulených larev bylo pozorováno u první skupiny a to  $18,89 \pm 0,78$  % a nejméně u třetí skupiny  $3,53 \pm 0,27$  %. Celková délka TL a hmotnost W larev nebyla v rámci tohoto experimentu statisticky rozdílná.

Linhart (1985) a Bondarenko a kol. (2013a) uvádějí jako výhodu různých oplozovacích roztoků vyšší procento oplozených jiker (70 – 80 %) ve srovnání s vodou (40 – 60 %). Dle mého zjištění mělo použití oplozovacích roztoků glycinu a močoviny vliv na vyšší procento líhivosti larev ve srovnání s použitím vody. Nicméně při použití oplozovacích roztoků glycinu a močoviny jsem také pozoroval vyšší procento deformací ve srovnání s oplozovacím roztokem vody. Podle Policara (2012a) má vliv na vyšší procento oplozenosti jiker (58 – 65 %) a líhivost larev (48 – 60 %) i použití většího množství spermií ku jedné jikře v množství 500 000 až 1 500 000 spermií, tudíž použití většího objemu spermatu na 1 kg jiker. Bondarenko a kol. (2013a) doporučuje pro lepší a delší pohyblivost spermií využít roztok soli v koncentraci 7 g.l<sup>-1</sup>, což může také pozitivně ovlivnit procento oplozených jiker. Dle získaných výsledků se domnívám, že nejlepší variantou k oplození jiker je oplozovací roztok ve složení 15 ml

chemické krystalické močoviny na 1 litr vody, pokud bereme v úvahu celou inkubační periodu. Na konci inkubační doby získáme relativně dobré přežití larev s malým množstvím abnormalit oproti roztoku glycinu a vody.

V rámci druhého experimentu, který zkoumal vliv manipulace na úspěšnost inkubace jiker a embryí štiky obecné, bylo nasazeno 30 inkubátorů ve 3 opakováních, celkem tedy 10 skupin. První skupina (bez manipulace) sloužila jako kontrola a zbylých devět skupin bylo použito k manipulaci v daných časových intervalech. Sledovalo se přežití jiker a embryí v průběhu a na konci inkubace, abnormality larev po vykulení a následně biometrika vylíhnutých larev. Přežití vykulených larev dosáhlo nejvyšších průměrných hodnot u osmé skupiny (manipulace 4 dny po oplození) a to  $62,33 \pm 2,49$  % následované první skupinou (bez manipulace) s průměrnou hodnotou  $61,67 \pm 4,19$  %. Naopak nejnižších hodnot přežití vykulených larev dosáhla třetí skupina (manipulace 6 hodin po oplození) a to průměrně  $33,33 \pm 16,05$  % následovaná druhou skupinou (manipulace 3 hodiny po oplození) s průměrnou hodnotou přežití larev  $48,33 \pm 4,50$  % a nakonec čtvrtou skupinou (manipulace 12 hodin po oplození) s průměrným přežitím larev  $49,67 \pm 8,73$  %. Abnormality larev po vykulení byly nejvíce patrné u třetí skupiny (manipulace 6 hodin po oplození) a to průměrně  $22,00 \pm 22,74$  %. Následovaly druhá (manipulace 3 hodiny po oplození) a pátá (manipulace 24 hodin po oplození) skupina s průměrnými hodnotami  $13,79 \pm 4,01$  % respektive  $11,93 \pm 8,84$  %.

Nejnižších hodnot abnormalit bylo dosaženo u čtvrté skupiny (manipulace 12 hodin po oplození) s průměrnou hodnotou  $6,04 \pm 5,19$  %. V tomto případě se domnívám, že abnormality u čtvrté skupiny byly natolik fatální, proto většina takto deformovaných embryí uhynula ještě před začátkem líhnutí. Abnormality u ostatních skupin byly víceméně vyrovnané. Z těchto získaných dat jasně vyplývá, že inkubující se embrya jsou nejvíce náchylná k manipulaci v rané fázi vývoje do 24 hodin po oplození.

Nejmenší celkové délky TL a hmotnosti W bylo dosaženo u druhé ( $8,34 \pm 0,68$  mm a  $7,16 \pm 0,48$  mg) respektive třetí ( $8,31 \pm 1,30$  mm a  $7,17 \pm 0,47$ mg) skupiny vykulených larev. Celková průměrná hodnota TL larev byla 9,22 mm a hmotnost W dosahovala průměrné hodnoty 7,54 mg. Billard (1996) uvádí jako optimální hodnoty TL = 8,5 – 9 mm a W = 10 – 11 mg. Vyšší hodnoty hmotnosti W jím uváděné se během experimentu nepodařilo dosáhnout. Řekl bych, že je to způsobeno použitím generačních ryb z jiných populací, než bylo použito v rámci jeho experimentu. Celkově je tedy patrné, že manipulace s jikrami na začátku embryonálního vývoje má obrovský vliv

nejen na přežití, abnormality, ale i celkovou délku těla TL a hmotnost W larev. Dle Policara (osobní sdělení, 2014) je možné zvýšit procento líhnivosti larev už tím, že při vlastním výtěru jikernaček dbáme na to, aby vytřené jikry nepadaly do výtěrové misky z výšky, ale pomalu stékaly po její hraně ke dnu. Tento postup byl uplatněn během výtěru. Trabelsi a kol. (2013) uvádějí možnost převozu inkubujících se jiker v igelitových pytlích pod kyslíkovou atmosférou ihned po oplození, dle mých zjištění musím tuto možnost vyvrátit jako zcela nevhodnou, pokud chceme zabránit většímu množství ztrát na konci inkubace. V tuto dobu (do 24 hodin po oplození) by inkubující se embrya měly být ponechána v klidu bez jakéhokoliv vnějšího zásahu.

V rámci třetího experimentu byl zkoumán vliv teploty vody na délku inkubace jiker a embryí štiky obecné, líhnivost a na deformity u vylíhnutých larev. Dřívější studie uvádějí, že k optimálnímu vývoji larev dochází při teplotě vody nižší než 12 °C (Cooper, 2000; Farrel a kol., 2006). Literatura (Bondarenko a kol., 2013c; Dubský a kol., 2003; Hartman a Regenda, 2014) uvádí jako nejvhodnější teplotu pro inkubaci jiker a embryí rozmezí 8 – 14 °C, kdy inkubační doba činí 120 °d. Bylo zjištěno, že ideální teplota vhodná k inkubaci jiker a embryí je v rozmezí 6 – 10 °C, což je méně než bylo zjištěno v dřívějších studiích, avšak toto zjištění plně koresponduje s teplotou vody v přirozených podmínkách během výtěrového období štiky obecné.

Při těchto hodnotách (6 °C a 10 °C) bylo statisticky průkazné nejvyšší přežití 56,2 (6°C) – 65,5 (10 °C) %. Pokud vezmeme v úvahu i délku inkubace a synchronizaci líhnutí larev, je vhodnější použít vyšší teploty 10 °C, protože oproti teplotě vody 6 °C, je délka inkubace o 10 dní kratší, konkrétně 130 °d a synchronizace líhnutí larev je o 2 dny kratší ( $11 \pm 0,17 - 13 \pm 0,15$  dní) při 10 °C oproti ( $19 \pm 0,25 - 23 \pm 0,2$  dní) při teplotě 6 °C. Celková délka inkubace při teplotě 10 °C byla  $13 \pm 0,15$  dní ( $136 \pm 1,56$  °d). Bonisławska a kol. (2011) uvádí kratší celkovou délku inkubace při teplotě 10 °C a to 100 °d. Těchto hodnot se nepodařilo dosáhnout. Bylo by jistě zajímavé porovnat mikrobiologické, biologické, fyzikální a chemické ukazatele kvality vody, která byla použita v rámci obou experimentů. Domnívám se, že i tyto ukazatele mohou mít vliv na celkovou délku inkubace jiker a embryí štiky obecné.

Zajímavá je i volba teploty vody 18 °C, kdy sice dochází k vyšším ztrátám v průběhu inkubace, ale výrazně se zkrátí délka inkubace a to oproti 10 °C o více než polovinu. Ve srovnání s teplotou vody 6 °C se zkrátí délka inkubace více než 2×. Teplota vody 3 °C je pro inkubaci jiker a embryí zcela nevhodná, neboť dochází



k obrovským ztrátám, kdy hodnoty přežití vylíhnutých larev dosahují pouze kolem 20 % a velkému procentu abnormalit až 75 % u vylíhnutých larev. Nevyšších hodnot TL dosáhla skupina inkubovaná při teplotě 10 °C a to průměrně  $10,61 \pm 0,37$  mm. Nevyšších hodnot W dosáhla skupina inkubovaná při teplotě 6 °C a to průměrně  $8,3 \pm 0,5$  mg. Nejnižší hodnoty byly naopak pozorovány u skupiny inkubované při teplotě 18 °C a to konkrétně  $TL = 9,21 \pm 0,29$  respektive  $W = 7,4 \pm 0,9$  mg.

Správně zvolená teplota vody, oplozovací roztok a absence jakékoliv manipulace s jikrami a později embryi je základem dokonalé optimalizace inkubace jiker a embryí štiky obecné.

Po skončení experimentů pokračovali přeživší larvy v inkubaci v rámci FROV JU.

## 6. Závěr

Produkce štiky obecné, která patří mezi nejvýznamnější hospodářsky využívané dravé druhy ryb, je velmi rozkolísaná a nedostatečná. Příčinou této nedostatečné produkce je obecně nedostatečně zvládnutá umělá reprodukce generačních ryb a následná málo efektivní inkubace jiker a embryí. Je tedy nutné najít optimální podmínky pro produkci váčkového plůdku, aby finální množství získaných larev bylo co největší.

V průběhu této diplomové práce bylo zjištěno, že na umělou inkubaci jiker a embryí a na následné líhnutí larev má vliv více faktorů. Jedná se zejména o použití vhodného oplozovacího roztoku. Dle získaných výsledků se domnívám, že nejlepší variantou k oplození jiker je oplozovací roztok ve složení 15 ml chemické krystalické močoviny na 1 litr vody, kdy na konci inkubace dosáhneme dobrého přežití larev s malým množstvím abnormalit. Dalším sledovaným faktorem byla manipulace s jikrami a embryi štiky obecné. V tomto případě bylo zjištěno, že je nutné se vyvarovat jakékoliv manipulace s jikrami a později embryi a to již od vlastního výtěru jiker až do doby 24 hodin po oplození. V průběhu tohoto období jsou jikry nejnáchylnější a dochází k velkým ztrátám v průběhu inkubace. Vysoké procento larev se líhne s různými abnormalitami, nejčastěji skoliózami a syndromem malých očních bodů. Tyto larvy jsou pak k dalšímu chovu nevhodné. Posledním sledovaným faktorem, který umožní získat vyšší počet vylíhnutých larev s malým množstvím deformací byla i volba vhodné teploty vody během inkubace jiker a embryí. V rámci tohoto experimentu bylo pozorováno, že jako optimální volbou teploty, která je vhodná k inkubaci jiker a embryí štiky obecné, se jeví rozmezí 6 – 10 °C. Při těchto hodnotách bylo statisticky průkazné nejvyšší přežití 56,2 (6°C) – 65,5 (10 °C) %. Synchronizace líhnutí larev je v případě použití vyšší teploty 10 °C o dva dny kratší než při teplotě 6 °C. Pokud zvažujeme i časovou úsporu a máme možnost volby teploty vody, pak doporučuji jako nejvíce vhodnou teplotu vody k inkubaci jiker a embryí štiky obecné 10 °C.

Na závěr je třeba říci, že je nutné věnovat úsilí k ještě lepšímu zvládnutí postupů umělého oplození a inkubace jiker a embryí štiky obecné. Zvládnutí všech těchto postupů uvedených v této práci je základem pro vyrovnanou produkci larev štiky obecné, které dokáže rybářským podnikům v ČR přinést zajímavé finanční zhodnocení konečného produktu na trzích jak v ČR tak i v rámci celé Evropy.

## 7. Seznam literatury

- Alavi S. M. H., Rodina M., Gela D., Linhart O. (2009): Morfologie spermií, složení seminální plazmy, motilita a parametry zvlnění bičíku spermie u štiky obecné (*Esox lucius*). Bulletin VÚRH Vodňany 45: 3 - 9.
- Balvay G. (1983): L'alimentation naturelle des alevins de brochet (*Esox lucius* L.) durant leur premier mois de vie. In: Billard, R. (Ed.), Le Brochet: gestion dans le milieu naturel et élevage. INRA, Paris, FR, pp. 179–198.
- Baruš V., Oliva, O. (1995): Mihulovci a ryby. Academia., Praha. (1): 559- 576.
- Berka R., Hamáčková J. (1980): Chov štiky a candáta. Studijní zpráva, Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Živočišná výroba 2, 79s.
- Billard R. (1983): Le brochet: gestion dans le milieu naturel et élevage. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris, FR, 371 pp.
- Billard R. (1996): Reproduction of Pike: gametogenesis, gamete biology and early development. In: Craig J. E. (Ed.), Pike - Biology and exploitation. Chapman and Hall, London, UK, 13 - 67.
- Black J. D., Williamson L. O. (1946): Artificial hybrids between muskellunge and northern pike. Trans. Wiscon. Ac. Sci. Arts and Letters, Madison Wisconsin, 38 : 239 - 341.
- Bondarenko V., Křišťan J., Švinger V., Policar T. (2013a): Reprodukce a odchov rychleného plůdku štiky obecné (*Esox lucius* L.). 1. vyd. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, 53 s. ISBN 978-80-87437-81-0.
- Bondarenko V., Podhorec P., Švinger V., Policar T. (2013b): Evaluation of hormonal preparations for stimulation of ovulation in northern pike (*Esox lucius* L.). In: Pšenička M., Němcová I., Dvořáková Z., Kovaříková K. (Eds), Diversification in Inland Finfish Aquaculture II (DIFA II), Book of Abstracts, September 24 - 26, Vodňany, Czech Republic, 102.
- Bondarenko V., Drozd B., Podhorec P., Křišťan J., Policar T. (2013c): Effect of various temperature regimes on early life history in northern pike (*Esox lucius* L.). In: Aquaculture Europe 2013, USB of Abstracts, August 10 – 12, Trondheim, Norway. Pp. 78 – 79.
- Bonislawska M., Formicki K., Smaruj I., Szulc J. (2011): Total suspended solids in surface waters versus embryonic development of pike (*Esox lucius* L.). EJPAU. 14, 01 – 07.
- Calderon-Andreu E. G. (1955): Acclimatation du brochet en Espagne. Vehr. int. Ver. theor. angew. Limnol., 12 : 536 - 542.
- Casselman J. M. (1974): External sex determination of Northern pike, *Esox lucius* Linnaeus. Trans. Am. Fish. Soc., 103 (2): 343 - 347.

- Cooper, J. (2000): Comparative development and ecology of northern pike *Esox lucius* and muskellunge *E. masquinongy* eggs and larvae in the upper St. Lawrence River and the implications of changes in historical spawning habitat. Syracuse, NY, USA, State University of New York, College of Environmental Science and Forestry.
- Čihař J. (1955): Systematické a biologické poznámky o štice (*Esox lucius* L.). Acta. Univ. Carolinae, Biologica, 1 (1) : 1 - 18.
- Čihař J. (1956): Příspěvek k poznání ranného vývoje štiky (*Esox lucius* L.). Acta. Univ. Carolinae, Biologica, 2 (1) : 1 - 12.
- Čítek J., Krupauer V., Kubů F. (1998): Rybníkářství. 3. vyd. Informatorium, Praha, 309 s.
- Craig J.F. (2008): A short review of pike ecology - Hydrobiologia 601: 5 - 16.
- Dubský K. (1998): Chov štiky. In: Dubský K. (Ed), Základy chovu vedlejších druhů ryb. Institut výchovy a vzdělávání Mze, Praha, s. 13 - 15.
- Dubský K., Kouřil J., Šrámek V. (2003): Obecné rybářství. Informatorium, Praha: 164 - 166.
- Dvořák P., Pyszko M., Velišek J., Dořáková Lišková Z., Andreji J. (2014): Anatomie a fyziologie ryb. s. 143 - 153.
- Dyk V. (1940): K biologii štičího spermatu. Sb. České akademie zeměděln., 15 (3): 269 - 271.
- Dyk V. (1946): Příspěvky k biologii střevle. Sb. ČAZ, 19: 138 - 140.
- Farrell J. M., Mead J. V., Murry B. A. (2006): Protracted spawning of St. Lawrence River northern pike (*Esox lucius*): simulated effects on survival, growth, and production. Ecol. Freshw. Fish. 15, 169–179.
- Füllner G., Pfeifer M., Langer N. (2007): Karpfenteichwirtschaft, Bewirtschaftung von Karpenteichen, Gute fachliche Praxis. Sächsische Landesanstalt für Landwirtschaft, Dresden, Germany, 129 s.
- Hamáčková J. (1987): Chov štiky. Oborová norma 46 6836. ÚNM, Praha, 1987, 12 s.
- Hamáčková J., Kouřil J. (1978): Speciální zařízení pro odchov rychleného plůdku štiky. Rybářství, 1: 3.
- Hamáčková J., Kouřil J., Chábera S. (1977): Přehled metod odchovu plůdku štiky obecné (*Esox lucius* L.) Bul. VÚRH Vodňany, 13(2): 25 - 31.
- Hartman P., Regenda J. (2014): Praktika v rybníkářství. Vyd. 1. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, 375 s. ISBN 978-80-7514-009-8.
- Holčík J. (1970): The Klíčava reservoir ( an ichthyological study). Biol. práce SAV, Bratislava, 15 (3): 1 - 94.
- Hubenova T., Zaikov A. (2007): Investigation on fecundity, follicles and free embryo size of pond-reared pike (*Esox lucius* L.) of different age and size. Aquaculture International 15: 235 - 240.

- Kokeš J. (1977): Příspěvek ke studiu potravy štiky obecné. Vertebrat. zprávy, ÚVO ČSAV, Brno, 1977, pp. 26 - 28.
- Korzynek W. (1956): O tarle szczupaka glebinowego. Gospodarka Rybna, 3: 23 - 24.
- Kouřil J., Hamáčková J. (1975): Plodnost štiky obecné (*Esox lucius*) z rybníčního chovu. Živočišná Výroba 20 (11): 841 - 849.
- Kouřil J., Hamáčková J. (1978): Odchov plůdku štiky obecné (*Esox lucius* L.) v rybnících. Rybářství, 2: 27.
- Křišťan J., Bouchet D., Policar T. (2013): Reproductive characteristics and optimization of egg fertilization in Northern pike (*Esox lucius* L.). In: Aquaculture Europe 2013, USB of Abstracts, August 10 - 12, Trondheim, Norway, p. 134.
- Lillelund K. (1967): Versuche zur Erbrütung der Eier vom Hecht, *Esox lucius* L., in Abhängigkeit von Temperatur und Licht. Arch. Fischereiwiss., 17: 95 - 113.
- Linhart O. (1984): Hodnocení spermatu štiky obecné a sumce velkého. Bulletin VÚRH Vodňany 20 22 - 33.
- Linhart O. (1985): Použití oplozovacích roztoků při výtěru ryb. Edice Metodik, VÚRH, Vodňany, č. 17, 13 s.
- Lusk S., Baruš V., Vostradovský J. (1992): Ryby v našich vodách. 2. vydání. Nakladatelství ČSAV Academia, Praha, 248 s.
- Lusk S., Krčál J. (1982): Štika obecná. Vyd. Naše vojsko, Praha, 54 s.
- Oliva O. (1955): Složení rybích populací a množství biomasy ryb ve třech polabských tůních. Univ. Carolina, Biologica, 1 (1) : 61 - 74.
- Policar T. (2012a): Ověření technologie zaručující kvalitní a vyrovnanou produkci násadového materiálu štiky obecné. Technická zpráva z pilotního projektu č. CZ.1.25/3.4.00/11.00397, 37 s.
- Policar T. (2012b): Vývoj technologie adaptace larev štiky obecné na peletované krmivo a intenzivní chov v RAS. Technická zpráva z pilotního projektu č. CZ.1.25/3.1.00/11.00271, 25 s.
- Randák T. (2013): Rybářství ve volných vodách. 1. vyd. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, 434 s. ISBN 978-80-87437-49-0.
- Smíšek J. (1966): Odchov štičího plůdku. Živoč. Výroba, 11: 703 - 714.
- Smíšek J. (1968): Intenzita přijímání potravy u štičího plůdku během 24 h. Bul. VÚRH Vodňany, 1968 (3): 1 - 5.
- Štědronský E. (1953): Potrava plůdku štiky obecné (*Esox lucius* L.) po ztrátě žloutkového váčku. Sb. ČSAZV, 26 (1 - 2): 71 - 78.
- Švinger V. W., Bondarenko V., Kallert D. M., Policar T. (2012): Vliv dvou metod hypofizace na kvalitu jiker u štiky obecné (*Esox lucius*). Bulletin VÚRH Vodňany 49: 21 - 33.

- Swift D. R. (1965): Effect of temperature on mortality and rate of development of the eggs of the pike (*Esox lucius* L.) and the perch (*Perca fluviatilis* L.). Nature, London, No 206: 528.
- Szabó T. (2001): Hormonally induced ovulation of northern pike via sustained release vehicles. N. A. Jour. of Aqua. 63: 137 - 143.
- Szabó T. (2003): Ovulation induction in northern pike *Esox lucius* L. Using different GnRH analogues, Ovaprim, Dagin and carp pituitary: Aquaculture Research 34: 479 - 486.
- Szabó T. (2008): Use of Carbopol resin for carp pituitary administration improves the fertilization percentage of northern pike (*Esox lucius* L.) eggs in commercial hatcheries. Hydrobiologia 601: 91 - 97.
- Trabelsi A., Gardeur J.N., Teletchea F., Brun-Bellut J., Fontaine P. (2013): Hatching time effect on the intra-spawning larval morphology and growth in Northern pike (*Esox lucius* L.): Aquaculture Research 44: 657 – 666.
- Vostradovská M. (1978): K potravní biologii štiky obecné ve vodárenských nádržích Želivka a Hubenov. Vertebrat. zprávy, ÚVO ČSAV Brno, 1978: 74 - 80.
- Vostradovský J. (1971): Potrava štiky obecné (*Esox lucius* L.) v údolní nádrži Lipno. Práce VÚRH Vodňany, 1971 (9): 159 - 189.
- Vostradovský J. (1977): The age and growth of pike (*Esox lucius* L.) in the artificial reservoir Lipno. Práce VÚRH Vodňany, 1977 (10): 21 - 46.
- Wajdowicz Z. (1961): Zbiornik Goczalkowicki jak obiekt gospodarki rybackiej. III. Dalsze Formowanie sie stada ryb. Acta Hydrobiol., 3 (4): 225 - 239.

## 8. Abstrakt

V rámci této diplomové práce jsem řešil možnosti optimalizace umělé inkubace jiker a embryí štiky obecné (*Esox lucius* L.) v kontrolovaných podmínkách během 3 různých experimentů.

V prvním experimentu se sledoval vliv tří různých oplozovacích roztoků na úspěšnost inkubace jiker a embryí štiky obecné. Sledovalo se přežití jiker a embryí, líhnivost larev, abnormality a biometrika larev. Bylo zjištěno, že celkově nejlepších výsledků dosáhl oplozovací roztok ve složení 15 ml chemické krystalické močoviny na 1 litr vody, s přiměřeným množstvím abnormalit a nejvyšším přežitím larev.

Ve druhém experimentu byly prováděny manipulace s inkubujícími se jikrami v daných časových intervalech po oplození jiker. Sledovalo se přežití jiker a embryí, abnormality a biometrika vylíhnutých larev. Bylo zjištěno, že nejnižší přežití, nejvíce abnormalit a nejmenší TL a W bylo dosaženo, když bylo s oplozenými jikrami manipulováno do 24 hodin po oplození.

Ve třetím experimentu byl sledován vliv teploty vody na délku inkubace jiker a embryí štiky obecné. S ohledem na celkové přežití, líhnivost larev, abnormality a velikost larev, dosáhly nejlepších výsledků skupiny inkubované v teplotách vody 6 a 10 °C. Naopak zcela nevhodná je k inkubaci teplota 3 °C (nízké přežití, líhnivost a velké množství deformovaných larev). Rozdílné inkubační teploty rovněž potvrdily vliv teploty vody na biometriku vylíhnutých larev.

Klíčová slova: štika obecná, inkubace, manipulace, oplozovací roztok, teplota, přežití

## 9. Abstract

Within my diploma thesis I have been trying to resolve the possibilities of optimization of artificial incubation of eggs and embryos in northern pike (*Esox Lucius* L.) in controlled conditions during three different experiments.

In the first experiment was investigated the effect of three different semination solutions to the success of incubation of eggs and embryos in northern pike. I watched the survival of eggs and embryos, larvae hatching abnormalities and biometrics of larvae. It was found that the best overall results were achieved with semination solution composed of 15 ml of chemical crystallic urea per 1 liter of water, with an appropriate amount of abnormalities and highest larvae survival.

In the second experiment were performed manipulation with developing eggs at given time intervals after fertilization of eggs. I watched the survival of eggs and embryos, abnormality and biometrics of hatched larvae. It was found that the lowest survival, abnormalities, and smallest TL and W were reached during manipulations within 24 hours after fertilization.

In the third experiment was investigated the effect of water temperature on the length of the incubation of eggs and embryos in northern pike. With regard to the overall survival, larvae hatching, abnormalities and size of larvae achieved the best results temperatures 6 and 10 ° C. Conversely, it is entirely unsuitable for incubation temperature of 3 ° C (lowest survival, large amounts deformities). Different incubation temperatures have also confirmed the effect of water temperature on biometrics of hatched larvae.

Keywords: northern pike, incubation, manipulation, semination solution, temperature, survival