

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Fakulta rybářství a ochrany vod

Ústav akvakultury a ochrany vod

Diplomová práce

**Vliv teploty na schopnost oplození a líhivosti při
krátkodobém skladování neoplozených jiker síha
peledě (*Coregonus peled*)**

Autor: Bc. Jan Rytíř

Vedoucí diplomové práce: prof. Ing. Jan Kouřil, Ph.D.

Studijní program a obor: N4106 Zemědělská specializace, Rybářství a ochrana vod

Forma studia: Prezenční

Ročník: 2.

České Budějovice, 2021

Prohlášení

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. 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.

V Českých Budějovicích

Podpis:

Poděkování

Děkuji svému vedoucímu diplomové práce prof. Ing. Janu Kouřilovi, Ph.D, za odborné vedení a pomoc při vypracování této práce a za trpělivost a ochotu, kterou mi v průběhu zpracování diplomové práce věnoval. Dále bych rád poděkoval Ing. Radku Luhanovi, za cenné praktické rady, a hlavně za poskytnutí prostorů a nezbytných pomůcek k provedení pokusu.

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Fakulta rybářství a ochrany vod

Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Bc. Jan RYTÍŘ
Osobní číslo: V19N006P
Studijní program: N4106 Zemědělská specializace
Studijní obor: Rybářství a ochrana vod
Téma práce: Vliv teploty na schopnost oplození a líhnivosti při krátkodobém skladování neoplozených jiker síha peledě (*Coregonus peled*).
Zadávající katedra: Ústav akvakultury a ochrany vod

Zásady pro vypracování

Cílem práce je ověřit možnost krátkodobého skladování (uchovávání) uměle vyřetěných neoplozených jiker síha peledě v závislosti na teplotě prostředí před jejich oseměněním, oplozením a umělou inkubací s cílem získání vykuleného váčkového plůdku.

Metodický postup práce spočívá ve vypracování literárního přehledu a uskutečnění experimentu. Literární přehled bude zahrnovat biologii a problematiku umělé reprodukce síha peledě, včetně metody hormonálně indukované synchronizace ovulace, inkubace jiker a dále informace o vlivu teploty na schopnost oplození a líhnivosti při přechovávání neoplozených jiker u jiných druhů ryb, zejména lososovitých. Experimentální část bude spočívat v rozdělení neosemeněných jiker bezprostředně po jejich hormonálně indukovaném umělém výtěru do samostatných izotermických kontejnerů, v nichž je udržována teplota 2,5; 5; 7,5; 10 a 12,5 °C. Z nich budou v určených termínech (1; 4; 12; 24; 36; 48; 60 a 72 hodin) odebrány malé vzorky jiker (cca 100-200 kusů), tyto budou odděleně oseměněny a aktivovány vodou z líhně. K oseměnění bude využito čerstvě odebrané sperma od více samců, popřípadě předem odebrané sperma, uchovávané v chladničce. Po oseměnění/oplození a propláchnutí vodu (s cílem odstranění spermií a lepivosti), budou jikry podle skupin odděleně nasazeny k inkubaci do malých inkubačních přístrojů s přítokem vody, instalovaných na rybí líhni. V průběhu inkubace jiker bude zaznamenávána teplota vody a dosažení očních bodů a líhnutí embryí. Vyhodnoceno bude % oplozených a neoplozených jiker, % živých embryí v očních bodech, % vylíhnutých embryí a případně % vykulených deformovaných embryí (v případě jejich výskytu). Neoplozené, resp. odumřelé jikry budou při kontrolách průběžně odstraňovány. Všechny sledované parametry budou statisticky vyhodnoceny.

Rozsah pracovní zprávy: 50-70 stran
Rozsah grafických prací: 8 grafů
Forma zpracování diplomové práce: tištěná

Seznam doporučené literatury:

Hochman, L., Kopečný, Z. Inkubace jiker marény *Coregonus lavaretus maraena* (Bloch) v různých typech líhňových přístrojů. Univ. Agric. Brno, ser. A 16(3): 529-535.

Kouřil, J., Švinger, V., Mikodina, E.V., Sedova, M.A., Pavlišta, R., Hamáčková, J. 2010. Induced and synchronized ovulation and other improvements of artificial reproduction in northern whitefish (*Coregonus peled*) using hormonal stimulation and anaesthesia. In: A.I. Litvinenko a Yu.S. Reshetnikov (eds). Biology, Biotechnology of Breeding and Condition of Whitefish Stocks, VII. International Scientific and Practical Workshop, Tyumen (Russia) s. 219-222.
Let, M. 2016. Vliv teploty při krátkodobém uchovávání jiker jesetera malého, *Acipenser ruthenus*, in vitro. České Budějovice, Bakalářská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod.

Peňáz M., Hochman, L., Jirásek, J. 1971. Síh peled, *Coregonus peled* (Gmelin, 1788) – nově introdukovaný druh v rybnících Českomoravské vrchoviny.

- Prokeš, M. 1975. Hand-stripping and embryonic development of *Coregonus peled* (Gmelin, 1786). *Folia Zoologica* 24(2): 185-196.
- Samarin, A.M., Policar, T., Lahnsteiner, F. 2015. Fish oocyte ageing and its effect on egg quality. *Reviews in Fisheries Science and Aquaculture*. 23: 302-314.
- Samarin, A. M., Ahmadi, M. R., Azuma, T., Rafiee, G. R., Mojazi Amiri, B., Naghavi, M.R. 2008. Influence of the time to egg stripping on eyeing and hatching rates in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* under cold temperatures. *Aquaculture*, 278: 195-198.
- Švinger, W., Kouřil, J. 2012. Hormonálně řízená reprodukce lososovitých ryb. *Edice metodik*, č. 123, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Vodňany. 50 s.
- Svinger, V. W., Kouril, J., 2013. Synchronization of ovulation in cultured northern whitefish (*Coregonus peled*, Gmelin 1788) using [D-Arg6Pro9Net]-sGnRH analogue and its effect on egg quality. *Aquaculture Research*, 45: 834-847.

Vedoucí diplomové práce: **prof. Ing. Jan Kouřil, Ph.D.**
Ústav akvakultury a ochrany vod

Konzultanti diplomové práce: **doc. Ing. Tomáš Policar, Ph.D.**
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický
Mgr. Peter Podhorec, Ph.D.
Ústav akvakultury a ochrany vod

Datum zadání diplomové práce: **18. února 2020**
Termín odevzdání diplomové práce: **3. května 2021**



prof. Ing. Pavel Kozák, Ph.D.
děkan

LS.



Ing. Jan Kašpar
ředitel

OBSAH

1	Úvod	8
2	Literární přehled	10
2.1	Biologie síha peledě (<i>Coregonus peled</i>)	10
2.1.1	Popis a znaky	10
2.1.2	Geografické rozšíření.....	11
2.1.3	Historie chovu a produkce síha peledě	12
2.1.4	Projevy chování	14
2.1.5	Nároky na prostředí	15
2.1.6	Potravní nároky.....	15
2.1.7	Ontogenetický vývoj a růstové vlastnosti.....	16
2.1.8	Pohlavní dimorfismus	17
2.1.9	Reprodukční charakteristika a přirozený výtěr	17
2.2	Umělý výtěr	18
2.2.1	Příprava generačních ryb na výtěr	18
2.2.2	Výtěr jikernaček.....	19
2.2.3	Výtěr mlíčáků	20
2.2.4	Hormonální indukce a synchronizace ovulace	20
2.2.5	Hormonálně řízený umělý výtěr	22
2.2.6	Délka intervalu latence	23
2.2.7	Osemenění, aktivace a oplození jiker	24
2.2.8	Odlepkování jiker	25
2.2.9	Inkubace a kulení váčkového plůdku.....	25
2.3	Uchování neoplozených jiker	26
2.3.1	Možnosti krátkodobého uchování jiker	26
2.3.2	Faktory ovlivňující krátkodobé uchování jiker.....	27
2.3.3	Optimalizace krátkodobého uchování jiker	28
2.3.4	Krátkodobé uchování jiker u lososovitých ryb	29
3	Materiál a metodika	32
3.1	Materiál	32
3.1.1	Generační ryby.....	32
3.1.2	Prostory	32
3.1.3	Anestetikum	32

3.1.4	Hormonální přípravek.....	33
3.1.5	Izolační termoboxy	33
3.1.6	Inkubační aparáty.....	34
3.1.7	Teplota vody	35
3.2	Metodika	36
3.2.1	Manipulace a příprava generačních ryb	36
3.2.2	Hormonální injekce ryb	36
3.2.3	Příprava termoboxů.....	38
3.2.4	Kontrola ryb po hormonálním ošetření.....	38
3.2.5	Umělý výtěr jikernaček.....	39
3.2.6	Příprava jiker.....	40
3.2.7	Umělý výtěr mlíčáků	40
3.2.8	Osemenění a oplození jiker.....	41
3.2.9	Nasazení jiker do inkubačních aparátů	41
3.2.10	Počítání jiker	42
3.2.11	Kontrola průběhu inkubace.....	43
4	Výsledky	45
4.1	Oplozenost jiker	45
4.2	Přežití do stádia očních bodů	48
4.3	Líhivost.....	52
4.4	Souhrn optimálních hodnot.....	56
5	Diskuze	59
5.1	Umělý výtěr.....	60
5.2	Oplozenost.....	60
5.3	Přežití do stádia očních bodů	62
5.4	Líhivost.....	64
6	Závěr	66
7	Přehled použité literatury.....	67
8	Přílohy	73
9	Abstrakt.....	78
10	Abstract	79

1 Úvod

Síh peleď *Coregonus peled* (Gmelin, 1788), je nepůvodním druhem naší ichtyofauny, jehož původním areálem výskytu je široká oblast, zejména severní části Ruska, patřící do povodí Severního ledového oceánu. Přírodním habitatem peledě jsou chladná, hluboká jezera a velké sibiřské toky. Od druhé poloviny 20. století byl peleď pro své velmi chutné maso a dobré růstové schopnosti druhotně rozšířen po celé oblasti Ruska a značné části východní, severní a střední Evropy. Do České republiky byl introdukován v roce 1970, a to hlavně za účelem rozšíření druhové pestrosti chovaných ryb. Peleď, navíc oproti síhovi maréně, jejíž chov na našem území má více než stoletou tradici, vyniká lepšími produkčními vlastnostmi v polykulturním chovu s kaprem, a vyšší odolností vůči nejrůznějším biotickým a abiotickým faktorům. Díky tomu se stal chov peledě poměrně oblíbeným u řady rybářských podniků. Pro její chov jsou nejvhodnější hluboké rybníky s čistou a chladnou vodou ve vyšších nadmořských výškách. V současné době se však chov síhů v České republice vyznačuje výrazně snižujícím se trendem. Ten je způsoben nekontrolovanou mezidruhovou hybridizací, zvyšující se eutrofizací vhodných lokalit k chovu, a především pak predací rybožravými predátory, kterým jednoznačně dominuje kormorán velký. I proto stále častěji vstupuje do popředí poměrně inovativní způsob intenzivního chovu peledě v recirkulačních akvakulturních systémech.

Síh peleď je zástupcem polopelagofilního druhu ryb, jehož přirozený, hejnový výtěr probíhá v zimním období. V našich podmínkách je úspěšná přirozená reprodukce peledě zaznamenána pouze výjimečně, a proto je budoucnost chovu tohoto druhu závislá pouze na umělé reprodukci. Z tohoto důvodu je důležité, zabývat se optimalizací a zefektivňováním umělého výtěru. Pro optimalizaci výtěru a jeho lepší načasování, je podle poměrně nových poznatků možné využít hormonální indukci ovulace jiker, kterou je možné provést například pomocí injekční aplikace přípravku Supergestran. Ten obsahuje analogy gonadotropních spouštěcích hormonů, které v hypofýze stimulují tvorbu gonadotropních hormonů. Ty jsou pak zodpovědné za dozrávání oocytů. Přínosem této práce by měla být další optimalizace umělé reprodukce síha peledě, konkrétně optimalizace krátkodobého skladování neoplozených jiker. Ve výjimečných případech může při organizaci umělého výtěru dojít k různým nepředvídatelným situacím, které neumožní okamžité oplození jiker. Ačkoliv k takovýmto situacím dochází jen zřídka kdy, je dobré být na ně připravený, a znát

nejefektivnější způsoby a možnosti krátkodobého přechovávání neoplozených jiker, které způsobí co nejmenší ztráty na oplozenosti a líhnivosti jiker.

2 Literární přehled

2.1 Biologie síha peledě (*Coregonus peled*)

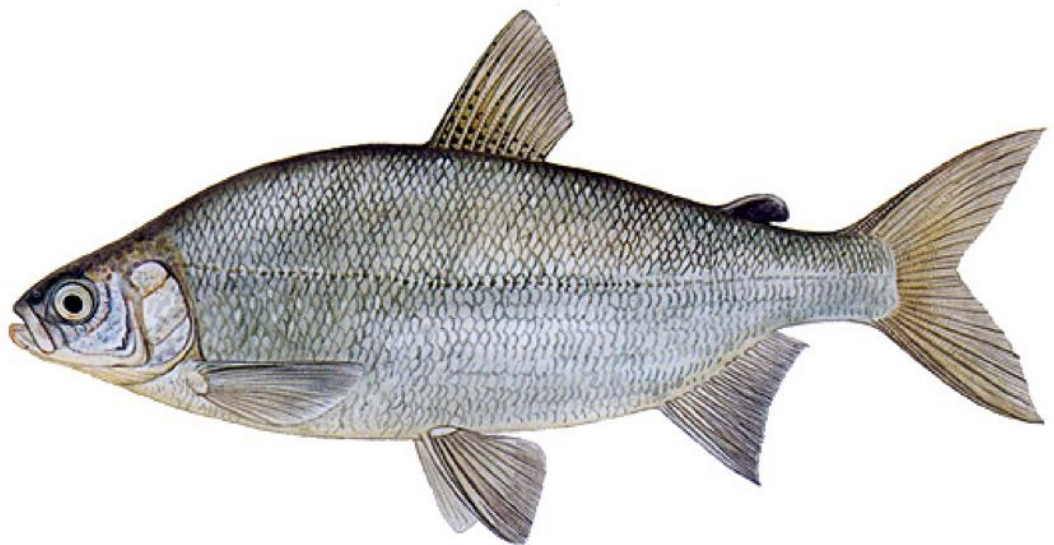
Třída: Paprskoploutví (*Actinopterygii*)

Řád: Lososotvární (*Salmoniformes*)

Čeleď: Síhovití (*Coregonidae*)

Rod: Síh (*Coregonus*)

Druh: Síh peled' *Coregonus peled* (Gmelin, 1788)



Obrázek 1. Síh peled' *Coregonus peled* (Autor: ČRS).

2.1.1 Popis a znaky

Dle Dubského a kol. (2003) a Luska a kol. (1992) je tělo síha peledě (Obrázek 1.) protáhlé a z boků zploštělé. Je podobné tělu síha marény, ale s podstatně vyšším tělesným rámcem. U větších jedinců se můžeme setkat s od hlavy obloukovitě vyvýšeným hřbetem. Hlava je krátká s malými, bezzubými ústy. Ústa jsou středního postavení s mírně přesahující spodní čelistí. Barva těla přechází z tmavě šedozeleného hřbetu přes stříbřité boky až k bělavému břichu. Cykloidní, lehce opadavé šupiny jsou na okrajích i jejich bázích tmavě pigmentované. Ploutve jsou tmavě šedé. Vysoká, avšak krátká hřbetní ploutev je navíc poseta nápadnými černými skvrnami, které zpravidla tvoří několik řad. Prsní a břišní ploutve jsou menší, normálního postavení. Peled' se také vyznačuje pro síhy

typickou tukovou ploutvičkou, poměrně dlouhou řitní a hluboce vykrojenou homocerkní ocasní ploutví.

Síh peleď je krátkověkou rybou – dožívá se 8 let (Hanel, 2001), maximálně 13 let (Kottelat a Freyhof, 2007). Dorůstá běžné velikosti do 55 cm a dosahuje hmotnosti 2 – 2,5 kg (Hanel a Lusk, 2005). Dubský a kol. (2003) uvádí, že tento druh ryby může vzácně dosáhnout délky 70 až 80 cm a hmotnosti až 7 kg.

Meristické znaky síha peledě dle Hanela (2001) a Luska a kol. (1992):

- Ploutevní vzorec: H II – V, 7 – 13; P I, 14 – 17; B I – II, 9 – 14; Ř III – V, 12 – 16; O 19.
- Šupinový vzorec: 11 – 12 (76 – 104) 9 – 11.
- Počet žaberních tyčinek prvního žaberního oblouku: 48 – 68 (49 – 69).
- Počet pylorických přívěsků: 64 – 139.

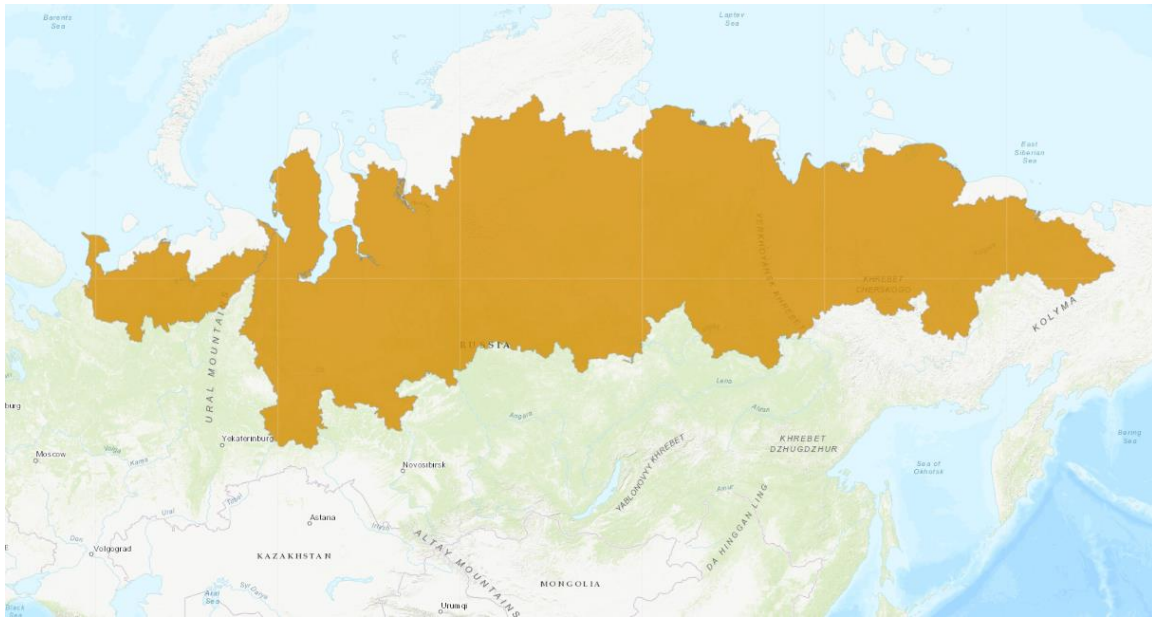
2.1.2 Geografické rozšíření

Síh peleď není původní rybí druh naší ichtyofauny (Hochman, 1987). Jeho domovinou jsou severní jezera a řeky Ruska v povodí Severního ledového oceánu od východosibiřské řeky Kolymy až na západ po řeku Mezeň (Obrázek 2.) (Kottelat a Freyhof, 2007). Ve druhé polovině 20. století byl peleď druhotně rozšířen po celé oblasti Ruska a východní Evropy, především na Ukrajině a Moldávii (Baruš a Oliva, 1995). Introdukce peledě, hlavně kvůli jejímu chutnému masu a dobrým produkčním vlastnostem (Hochman, 1987) dále pokračovala, a to do severní Evropy (Finsko, Švédsko), střední Evropy (Německo, Polsko, Maďarsko, Česká republika) a také na Balkán (Bulharsko, Rumunsko, Srbsko, Černá hora) (Jobling a kol., 2010).

U nás je peleď v rybníkářských oblastech ve vyšších nadmořských výškách, zejména v jižních Čechách a na Českomoravské vysočině (Hartman a Regenda, 2014). V minulosti byla také vysazována sportovními rybáři do údolních přehrad (Lipno, Mostiště, Podhora, Želivka, Rozkoš, Žlutice, Jesenice), kde byla i vzácně pozorována přirozená reprodukce (Hanel, 2001; Hanel a Lusk, 2005).

Dlouhodobá existence tohoto druhu je však závislá na umělé reprodukci (Lusk a kol., 2010). Vzhledem ke skutečnosti posledních dvou desítek let, kdy je peleď jen velmi omezeně uměle rozmnožován na několika málo rybích líhních, pouze pro potřeby nasazování do vybraných rybníků několika málo produkčních rybářských podniků a již

vůbec ne do volných vod, vyskytuje se ve volných vodách (údolních nádržích) již jen zcela ojediněle.



Obrázek 2. Mapa původního areálu rozšíření síha peledě *Coregonus peled* (Freyhof a Kottelat, 2008).

2.1.3 Historie chovu a produkce síha peledě

Chov síhů má v České republice dlouhou historii. V roce 1882 byl pro účely chovu a rozšíření druhové pestrosti chovaných ryb dovezen Josefem Šustou síh maréna (*Coregonus maraena*) (Dubský a kol., 2003). Maréna se vyznačuje dobrými růstovými vlastnostmi. V podmínkách průměrného zastoupení zooplanktonu a zoobentosu je schopna dosáhnout tržní velikosti ve druhém až třetím roce (Kouřil a kol., 2008). Je však citlivá na teplotu vody (neměla by překročit 22 °C) a na vyšší hustotu obsádky kapra, při které značně zpomaluje svůj růst (Dubský, 2014).

O necelých sto let později v roce 1970 byl na území České republiky dovezen i blízce příbuzný síh peled' (Prokeš, 1975). O expedici váčkového plůdku síha peledě do tehdejšího Československa, našel Kouřil (osobní sdělení) záznam z roku 1970 v kronice rybí líhně v Tobolsku (severně od města Tjumeň, jihozápadní Sibiř, Ruská federace), specializované na umělou reprodukci několika druhů sibiřských síhů. Peled' je stejně jako maréna vhodnou rybou k chovu v hlubších rybnících s chladnější vodou (Hochman, 1987). Ve srovnání s marénou však vyniká vyšší ekologickou valencí. Daleko lépe snáší

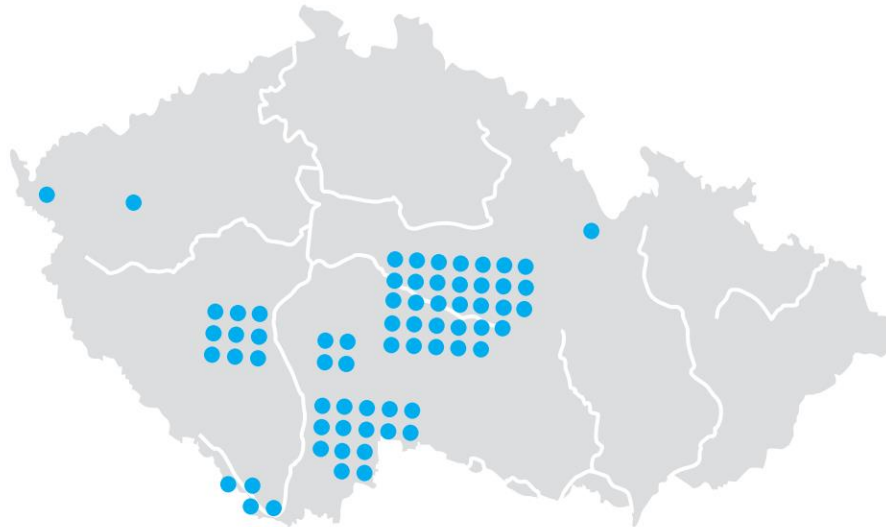
vyšší teploty (až 28 °C), ale také vysoké hustotní obsádky kapra, při kterých si na rozdíl od marény dokáže udržet dobrý růst (Kouřil a kol., 2008).

Pro odchov plůdku a násad síha peledě je tradičně využívaný monokulturní chov v sádkách či plůdkových výtažnicích. Tržní ryby jsou chované v polokulturních obsádkách v hlavních rybnících, a to především s kaprem obecným *Cyprinus carpio* (Hochman, 1987). Pro produkci lehčích tržních ryb o hmotnosti nad 250 – 300 g je využíváno tzv. dvouletého cyklu, kdy je plůdek nasazován do jednohorkových rybníků na 1 rok. A tzv. tříletého cyklu, kdy je plůdek nasazován do dvouhorkových rybníků na 2 roky pro produkci těžších tržních ryb o hmotnosti nad 500 g (Dubský a kol., 2014).

V minulosti byla produkce tržních ryb stabilní a vysoká. Mezi roky 1975 až 1987 se na území Československa celková produkce tržních síhů pohybovala mezi 243 až 429 tunami za rok (Stejskal a kol., 2017). Výlovky tržních ryb se však začaly rapidně snižovat. Na počátku nového tisíciletí již dosahovala produkce tržních ryb pouze řádů desítek tun ročně (Ministerstvo zemědělství, 2009) a v roce 2019 byly zaznamenány už jen 3 tuny vyprodukovaných tržních síhů (Ministerstvo zemědělství, 2020). Podle Kouřila (osobní sdělení), je v posledních několika letech síh peled' pravidelně každoročně uměle rozmnožován pouze na rybí líhni ve Žďáře nad Sázavou a je pravidelně chován v některých rybnících na Vysočině a jen ojediněle v jižních a západních Čechách, takže mapa výskytu síha peledě v České republice (Obrázek 3.), zachycující situaci před přibližně 20 roky, je v současnosti již neaktuální. Tento velmi rychle klesající trend produkce je způsobený hlavně predací rybožravými predátory, zejména kormoránem velkým (*Phalacrocorax carbo*) (Suter, 1997). Dle Kortana a Adámka (2010) jsou rybníky s obsádkami síhů, napadány kormorány více, než rybníky s monokulturními nebo polykulturními obsádkami jiných druhů ryb. Síhové jsou totiž díky svému pelagickému způsobu života a stříbrnému zbarvení těla pro kormorány snadno ulovitelnou a velmi atraktivní kořistí. Snižování výlovků a přežití ryb je ale také zapříčiněno nekontrolovatelnou umělou mezidruhovou hybridizací, především se síhem marénou (Luczynski a kol., 1999) a změnou prostředí – zvyšování eutrofizace, znečišťování chovných rybníků vhodných pro chov síhů a zvyšování teploty vody (Veneranta a kol., 2013).

V současné době se pro eliminaci výše popsaných negativních aspektů chovu a zvýšení produkce využívá technologie chovu síhů v kontrolovaných podmínkách recirkulačních akvakulturních systémů (RAS) (Stejskal a kol., 2019).

Peleď je zde chován nejčastěji do stáří 1 – 2 let (v otevřených systémech nejvíce předované věkové kategorie), a poté nasazen ke klasickému odchovu v hlavních rybnících. Hlavním cílem tohoto způsobu chovu je navýšení produkce tohoto žádaného doplňkového druhu ryby nebo možnost diverzifikace produkce a zvýšení flexibility výroby rybářského podniku (Stejskal a kol., 2017).



Obrázek 3. Významné oblasti chovu a výskytu síha peledě *Coregonus peled* na území České republiky před dvěma desetiletími (Mlíkovský a Stýblo, 2006).

2.1.4 Projevy chování

Síh peleď je charakteristická svým hejnovým způsobem života (Lusk a kol., 1992). Hejna, žijící v jednotlivých oblastech řek, jezer nebo rybníků se v průběhu dne i noci pohybují po těchto lokalitách, a to především kvůli vyhledávání a příjmu potravy. Během vegetační sezóny a teplejších částí roku se zdržují v hlubších, dostatečně prokysličených a chladnějších partiích volného pelagiálu (Baruš a oliva, 1995). Ve výtěrovém období naopak vyhledávají mělké příbřežní partie, ve kterých dochází k výtěru na písčitém substrátu (Reshetnikov a Bogdanov, 2011).

Dle Baruše a Olivy (1995) se síh peleď vyskytuje ve dvou ekologických formách, odlišujících se od sebe migračním chováním. Kottelat a Freyhof (2007) rozlišují dokonce čtyři různé populace síha peledě. Ty se odlišují habitatem, ve kterém žijí, reprodukčními vlastnostmi, ale také velikostí. Výskyt těchto populací může být i částečně sympatrický. První populací je říční populace (tažná), která žije a přirozeně se vytírá v řekách,

konkrétně v oblastech od povodí řeky Mezeň až po estuár řeky Jenisej. Druhá je tzv. jezeroříční populace (částečně tažná), vyskytující se ve stejných povodích říčních a jezerních systémů, mimo povodí řeky Ob. Poslední dvě populace peledě jsou čistě jezerní populace (netažné), které trvale žijí v jezerech a pouze v době tření vytahují ke břehům (Holčík, 1998). Jedna je nazývána jako populace velké jezerní peledě, u které ryby dosahují velikosti až do 50 cm. A poslední, čtvrtá, je označována jako zakrslá (trpasličí) jezerní populace, pro kterou jsou typické ryby s maximálním věkem do 25 cm a nízkým tělesným rámcem (Kottelat a Freyhof, 2007). Podle informací Kouřila (osobní sdělení) je v současnosti na Sibiři v Rusku poměrně důsledně dodržováno vysazování váčkového plůdku původem z rybích líhní zpětně do lokalit podle původu rodičů, včetně rozlišování říčních a jezerních populací.

2.1.5 Nároky na prostředí

Peled' je oproti maréně lépe adaptabilnější na podmínky prostředí a jejich změny. Je tolerantnější k vyšším teplotám vody, nižšímu obsahu rozpuštěného kyslíku ve vodě a poměrně dobře snáší husté obsádky kapra (Lusk a kol., 1992). Příliš dobře ale neprospívá ve znečištěném prostředí s vysokým zákalem vody a podobně jako maréna je citlivá na nešetrné zacházení při výlovu, či jiné manipulaci (Hanel a Lusk, 2005).

Teplotní optimum síha peledě je 14 – 20 °C, nicméně plůdek i starší věkové kategorie tolerují a dobře snáší i teploty vody až do 28°C (Pokorný a kol., 1992; Kouřil a kol., 2008). Ideální nasycení vody kyslíkem pro peledě je v rozsahu 80 – 95 % (Stejskal a kol., 2017). V zimě, při teplotách vody okolo 0,2 – 0,3 °C dokáže snést krátkodobý pokles i pod úroveň 2 mg/l rozpuštěného kyslíku ve vodě. Během vegetační sezony toleruje 4 – 5 mg/l (Dubský, 2014; Hartman a Regenda, 2014). Hodnoty pH by neměly klesat pod 6,3 a překračovat 9. Letální podmínky pro peledě jsou teploty nad 28 °C a nízké nasycení vody kyslíkem na úrovni pod 15 % (Baruš a Oliva, 1995).

2.1.6 Potravní nároky

Přechod z endogenního způsobu výživy na exogenní výživu je obvykle sledován týden až dva týdny po vykulení (Baruš a oliva, 1995) Stejskal a kol. (2017) uvádějí, že plůdek síha peledě je schopný přijímat potravu již od 3. dne od vykulení.

První potravou vykuleného plůdku jsou především vířníci (Rotifera), naupliová stádia klanonožců (Copepoda). Později začíná plůdek přijímat i větší potravu v podobě perlooček (Cladocera), nebo dokonce i larev pakomárů (Chironomidae) (Hakkari a kol., 1982). Po ukončení juvenilní periody mohou část potravy peledě tvořit i tzv. pleustonní organismy, které jsou vázány na vodní hladinu, jako například ploštice (Heteroptera, Hemiptera), náletový hmyz nebo různé druhy larev vodního hmyzu (Lusk a kol., 1992). Velmi často se v potravě vyskytuje také hrubý organický detrit, bentos a větší jedinci mohou příležitostně konzumovat i drobné rybky, stejně tak i jikry nebo měkkýše (Hanel a Lusk, 2005; Sidorov, 2010). Fluchter (1980) upozorňuje také na možnost kanibalizmu, který se může objevovat u plůdku. Kanibalismus však není tak výrazný a je spíše problémem v intenzivních chovech

Peleď je ale hlavně filtrátor a převážnou většinu své potravy přijímá filtrací. Díky svým anatomicky výhodně postaveným koncovým ústům a velkým množstvím blízce postavených žaberních tyčinek je lepším a efektivnějším filtrátorem než maréna a díky možnosti filtrace i drobnějších forem zooplanktonu i rychleji roste (Hartman a Regenda, 2014). Je potravně aktivní i v zimním období (Hanel, 2001).

2.1.7 Ontogenetický vývoj a růstové vlastnosti

Raný ontogenetický vývoj (v průběhu embryonální periody života) u peledě popsal Prokeš (1975). V klimatických podmínkách České republiky jsou růstové schopnosti peledě dobré a poměrně rychlé (Baruš a Oliva, 1995). Vykulený plůdek průměrně měří 9,2 mm a po 4 – 5 týdnech 20 – 25 mm. Tři měsíce staré ryby mohou narůst až 70 mm a 3 g (Hochman 1987). Dle Luska a kol. (1992), Pokorného a kol. (1992) a Baruš a Olivy (1995) dosahuje peleď v prvním roce života velikosti 85 – 250 mm a hmotnosti 80 – 250 g. Ve druhém roce dorůstá délky 300 – 450 mm a hmotnosti 275 – 865 g. Ve třetím roce běžně nabývá velikosti 400 – 500 mm a hmotnosti 938 – 1450 g. Čtvrtým rokem mohou mlíčáci vážit až 1240 g a jikernačky až 2130 g.

Peleď roste obecně rychleji než maréna, a to hlavně díky své nepatrně nižší náročnosti na prostředí. Dokáže si udržet obstojnou rychlost růstu i v polokulturních obsádkách s vyšším podílem kapra, i když velmi často na úkor sníženého přírůstku kapra (Hochman 1987). Jelikož přijímá potravu i v zimě, roste prakticky neustále. Brož a kol. (1972) dokonce zjistili až zdvojnásobení hmotnosti plůdku, právě přes zimní období.

2.1.8 Pohlavní dimorfismus

V mimovýtěrovém období roku je pohlavní dimorfismus u síha peledě velmi málo výrazný. Provozně nelze v tomto období pohlaví rozeznat. V době tření se objevuje u mlíčáků výrazná třecí vyrážka, která je pohmatem velmi dobře znatelná po celém těle ryb. Při jemném tlaku na dutinu břišní uvolňují samci mlíčí (Hartman a Regenda, 2014). Velmi zřídka mohou mít třecí vyrážku také jikernačky (Baruš a Oliva, 1995). Obecně je ale u jikernaček ve výtěrovém období velmi dobře patrné zvětšení objemu břišní dutiny. Břícho je měkké a při tlaku mohou být uvolňovány jikry (Hochman, 1987).

2.1.9 Reprodukční charakteristika a přirozený výtěr

Síhovití (Coregonidae) se od lososovitých (Salmonidae) a ostatních lososotvárních (Salmoniformes) liší několika reprodukčními znaky. Výtěr síhů probíhá od pozdního podzimu až do zimy (i pod ledem) a jikry nejsou nijak chráněny. Z důvodů časté predace jiker, nedostatku kyslíku, zamrznutí výtěrových ploch nebo díky různým patogenům přežití jiker nebývá příliš velké (0 – 93%). Vysoká mortalita jiker je však kompenzována vysokou plodností jikernaček (Reshetnikov a Bogdanov, 2011).

Nástup pohlavní dospělosti je u síha peledě závislý především na oblasti výskytu a na potravní nabídce (Baruš a Oliva, 1995). Ve své domovině v chladné oblasti Ruska pohlavně dospívá ve 3-7 letech (Reshetnikov a Muchachev, 1989). Ve vhodných podmínkách evropských vod se můžeme setkat s pohlavně dozralými jedinci již v 1. roce života (Baruš a Oliva, 1995). Většina jikernaček (až 80 %) a mlíčáků (až 95 %) však pohlavně dospívají ve druhém roce života (Lusk a kol., 1992, Reshetnikov a Bogdanov, 2011).

Ve svém přirozeném areálu rozšíření se peled', s ohledem na polohu výskytu, vytírá od září až do ledna, při teplotě vody 0 – 8 °C (Hanel, 2001).

K samotné reprodukci vytahují ryby v hejnech do příbřežních partií, kde se hromadně a jednorázově vytírají do vodního sloupce, na porosty vodní vegetace nebo na šterkové a písčité dno. Během období tření, které trvá zpravidla 2 -3 týdny, generační ryby nepřijímají potravu (Hartman a Regenda, 2014).

Relativní plodnost jikernaček se pohybuje v rozmezí 50 až 80 tis. ks jiker/kg. Jikry jsou žluté až oranžové a mírně lepivé. Průměrná velikost jiker je 1,5 – 2 mm před nabobtnáním a 2 – 2,5 mm po nabobtnání (Lusk a kol., 1992).

Mlčiči je sytě bílé, smetanovité konzistence. Na kilogram živé hmotnosti mlčičák jednorázově uvolní průměrně okolo 1,8 ml s celkovou koncentrací spermií 4 – 16 mil. v mm³ (Linhart a Pokorný, 1984). Spermie se pohybují dvě minuty, ale už po padesáti vteřinách ztrácejí schopnost oplodnit jikry (Baruš a Oliva, 1995).

Kulení plůdku, které trvá zpravidla několik dní (maximálně dva týdny) nastává při teplotě vody 1,1 – 1,6 °C po 120 – 150 dnech. To odpovídá inkubační době 160 – 180 (200) °d. Vykulený plůdek ihned plave (Dubský a kol., 2003).

2.2 Umělý výtěr

Síh peled' se v našich podmínkách, až na výjimky, přirozeně nerozmnožuje, a proto je pro její reprodukci a následný chov nutné využít umělý výtěr (Prokeš, 1975). Prvního úspěšného umělého výtěru síha peledě bylo dosaženo již rok po umělé introdukci tohoto druhu na naše území. V prosinci 1971 byla první umělá reprodukce provedena ve Studenci v Ústavu pro výzkum obratlovců Československé akademie věd a v Lipnici v líhních Státního rybářství Telč (Baruš a Oliva, 1995).

2.2.1 Příprava generačních ryb na výtěr

Pro umělý výtěr bývají většinou využívány přirozeně dozrálé generační ryby, které je nutné šetrně vylovit z rybníků nejpozději do konce listopadu, respektive ještě před začátkem výtěrového období (Kouřil a kol., 2008). Vylovené generační ryby je vhodné do výtěru přechovávat v sádkách nebo menších manipulačních nádržích, kdy obzvlášť vhodné jsou nádrže s výskytem zimního zooplanktonu, který pozitivně ovlivňuje kvalitu pohlavních produktů (Hartman a Regenda, 2014). Ryby obou pohlaví mohou být v nádržích drženy společně, nebo dle pohlaví rozděleně. Za vhodný poměr mezi pohlavími je považován 1 : 1,5, a to ve prospěch mlčičáků (Hochman, 1987).

V oblasti České republiky jsou dle polohy generační ryby peledě připraveny k výtěru již od poloviny listopadu až do poloviny ledna, s maximálním podílem ovulujících jikernaček 10. 12. - 5. 1. (Hartman a Regenda, 2014). Dozrávání gonád je stimulováno náhlým snížením teploty vody. Ke spermiaci u mlčičáků dochází již při 6 °C a trvá 6 – 8 týdnů. Ovulace jiker je pak zahájena při poklesu teploty vody na 2 – 3 °C a trvá po dobu dvou až tří týdnů (Baruš a Oliva, 1995). Během tohoto období je nutné provádět pravidelnou kontrolu zralosti generačních ryb, zejména jikernaček,

v maximálním intervalu dvou dnů (Kouřil a kol., 2014). Při zjištění zralosti a uvolňování jiker, je nutné provést okamžitý umělý výtěr ryb. Nedojde-li k okamžitému vytření pohlavních produktů u zralých jikernaček, hrozí hlavně při náhlém ochlazení vody a přítomnosti samců předčasně samovolné vypuzení jiker do vodního prostředí (Hochman, 1987). Drobné uvolnění jiker bývá však dle Dubského (2014) normální a je naopak impulsem k okamžitému zahájení umělého výtěru. Vlivem stresu, způsobeným nešetrnou manipulací či náhlým zvýšením teploty vody během přechovávání ryb před výtěrem, může naopak dojít k resorpčním procesům jiker. Tyto jikry (netypicky zbarvené s mléčným zákalem) jsou po umělém výtěru pro potřeby umělé reprodukce nepoužitelné (Mamcarz a Nowak, 1986; Hochman, 1987). Hliwa a kol., (2011) udávají, že výše zmíněné stresory mají též vliv i na kvalitu mlíčí.

2.2.2 Výtěr jikernaček

Po kontrole a roztřídění generačních ryb, jsou k samotnému výtěru použity pouze zralé a ovulující jikernačky. Samice, které při masáži břišní partie neuvolňují jikry, jsou vráceny do manipulační nádrže k pozdějšímu výtěru (Hartman a Regenda, 2014). Výtěr se většinou odehrává přímo uvnitř spuštěné sádky, ve které jsou uchovávány generační ryby. Při venkovních teplotách pod bodem mrazu je vhodné přesunout generační ryby k výtěru do vnitřních prostorů líhně nebo jiných, provizorních objektů poblíž sádky, kde jsou ryby dočasně umístěny v bazénech nebo kádích (Dubský, 2014). V těchto objektech je zabezpečeno optimální prostředí pro ryby i personál a eliminuje se tak riziko vnějších faktorů (déšť, vítr, sněžení, mráz, sluneční paprsky), které by mohly negativně ovlivnit úspěšnost výtěru (Pokorný a kol., 1998).

Pro eliminaci nechtěného znehodnocení jiker a poranění ryb, je při samotném výtěru vhodné použití anestezie, kdy jsou ryby uspány dávkou 0,033 ml/l hřebíčkového oleje nebo 0,4 ml/l 2-phenoxyethanolu (Kolářová a kol., 2007). Po vyjmutí uspané ryby z anestetické koupele je nutné důkladně osušit utěrkou břišní část vytírané ryby, řitní ploutev, ocasní násadec, a hlavně okolí močopohlavní papily tak, aby se k vytíraným jikrám nedostala ani kapka vody (Kouřil a kol., 2008). Klasický výtěr peledě je schopný provést jeden pracovník, který levou rukou uchopí rybu za hřbetní část ocasního násadce, přitlačí si ji k tělu a směrem k močopohlavní papile provádí pravou rukou masáž břišní dutiny. Vytírané jikry jsou směřovány šikmo dolů a co nejnižší do předem připravené,

suché misky. Aby se zamezilo vysoké zátěži jikernaček při následné resorpci jiker, je nutné důkladně dovytříť všechny ovulované jikry (Pokorný a kol., 1998, Příhoda, 2006).

Pro získání jiker lze využít i tzv. pneumatický výtěr, který u tohoto druhu ryby zdokumentovali Kowalski a kol. (2020). Po anestezii a osušení ryb, je do tělní dutiny pod prsními ploutvemi aplikována jehla, která je napojena na přívod plynu (kyslík, dusík, vzduchu), který je postupně vháněn do břišní dutiny a vytlačuje jikry ven z těla (Cejko a kol., 2016). Tento způsob výtěru snižuje poškození ryb a jiker, ke kterému dochází právě vlivem masáže břišní dutiny při klasickém výtěru, a významně tím může přispět k vyšší oplozenosti a líhnivosti jiker (Dietrich a kol., 2007; Kowalski a kol., 2018). Po získání jiker je vždy vhodné provést jejich vizuální kontrolu a případné nekvalitní jikry odstranit a nepoužívat k oplození (Bobe a Labbé, 2010).

2.2.3 Výtěr mlíčáků

Počátek uvolňování mlíčí u samců bývá pozorováno již s dvoutýdenním předstihem před první ovulací jikernaček. Vrchol spermiace nastává souběžně s maximální ovulací jikernaček a postupně doznívá další dva až tři týdny po výtěru (Hochman, 1987).

Výtěr mlíčáků probíhá obdobným způsobem jako výtěr jikernaček. Po anestezii je však velmi důležité klást důraz na pečlivé osušení břišní části ryby, zejména pak řitní ploutve, po které vytírané mlíčí obvykle stéká (Pokorný a kol., 1998). Mlíčí je vytírané buďto přímo na vytřené jikry v misce, nebo je pod tlakem odsáváno pomocí injekčních stříkaček nebo epruvet (Kouřil a kol., 2008). Tímto způsobem odběru spermatu je možné výrazně eliminovat riziko přítomnosti nežádoucích znečišťujících příměsí, a taktéž je možné mlíčí krátkodobě uchovat pro pozdější osemenění a oplození jiker (Linhart a kol., 2020). Pokud je mlíčáků peledě nedostatek, je možné v intervalech 4 – 6 dní provádět opakovaný výtěr již vytřelých jedinců, a to celkem 3 – 5krát (Hochman, 1987).

2.2.4 Hormonální indukce a synchronizace ovulace

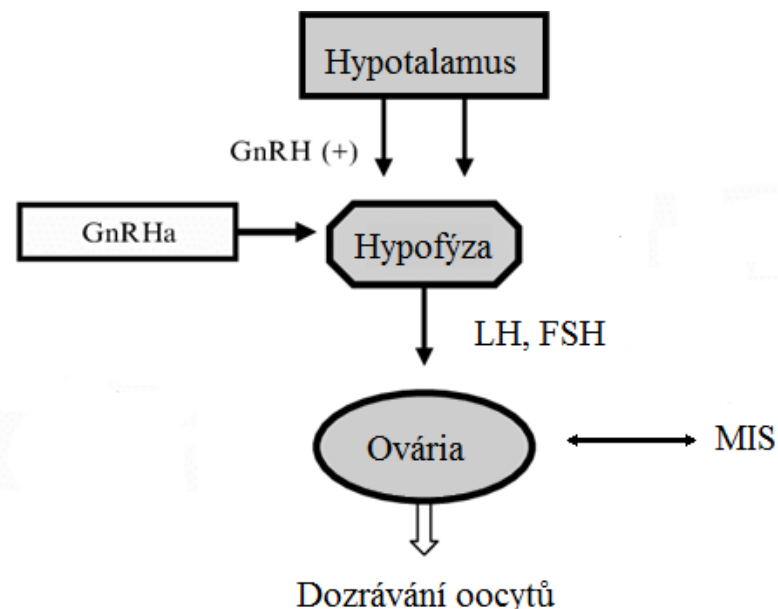
Reprodukční cyklus ryb je z hlediska endokrinologického působení řízen tzv. hormonální osou „mozek – hypofýza – gonády“ (Švinger a kol., 2012). První látka, která vstupuje do tohoto procesu řízení a zahajuje ho je tzv. Hormon uvolňující gonadotropin z angl. *gonadotropin-releasing hormone* (GnRH). Jedná se o látku ze skupiny neurodekapetidů, patřící mezi neurotransmitery, která se nachází v mozku ryb

(hypotalamu). U lososovitých ryb jsou známi dva molekulární typy GnRH – lososí sGnRH a slepičí cGnRH-II (Amano, 2010).

Právě forma sGnRH působí na hypofýzu, díky čemuž zde probíhá syntéza a uvolňování gonadotropních hormonů (GtH). Folikuly stimulujícího hormonu (FHS), dříve též GtH-I, důležitého během folikulárního růstu oocytů v období vitelogeneze (Nagahama a Yamashita, 2008) a luteinizačního hormonu (LH), dříve též GtH-II, důležitého pro tvorbu $17\alpha 20\beta$ -**di**hydroxy-4-**p**regnen-3-one (DHP) a následnou ovulaci (Peter a Yu, 1997). Ve výtěrovém období sGnRH stimuluje syntézu LH, už ne ale tvorbu FSH. Tvorba FSH je naopak indukována v předvýtěrovém období a během vitelogeneze, kdy zase naopak nedochází k produkci LH (Ando a kol., 2004).

Tento DHP neboli zrání indukující steroid z angl. *maturation inducing steroid* (MIS) indukovaný luteinizačním hormonem již přímo působí na gonády a podporuje finální dozrávání oocytů, které se projevuje migrací jádra k animálnímu pólu a dokončením prvního meiotického dělení s nástupem do metafáze druhého meiotického cyklu. Pak dochází k prasknutí folikulární vrstvy a vypuzení oocytů - ovulace (Peter a Yu, 1997; Nagahama a Yamashita, 2008).

Dozrávání oocytů může být ale i zpomalen, a to dopaminem, který potlačuje sekreci GnRH z hypotalamu a LH z hypofýzy (Peter a Yu, 1997).



Obrázek 4. Schéma přirozeného neurohormonálního řízení ovulace ryb s možností umělé hormonální indukce (upraveno dle Mylonas a Zohar, 2007).

2.2.5 Hormonálně řízený umělý výtěr

Hormonální indukce a synchronizace ovulace generačních ryb síha peledě, se jak u jikernaček, tak u mlíčáků většinou nepoužívá, a to hlavně kvůli dobré přirozené připravenosti ryb k výtěru (Hartman a kol., 2014). Dozrávání gamet je ovlivňováno vnitřními faktory organismu, například zdravotním stavem, kondicí nebo potravou a vnějšími faktory prostředí. Právě faktory prostředí, jako jsou například teplota, fotoperioda, přítomnost výtěrového substrátu či opačného pohlaví výrazně stimulují tvorbu GnRH, který ovlivňuje produkci GtH a díky tomu pak i následný nástup ovulace (Kouřil a kol., 2009). Dle (Hartman a kol., 2014) je právě pokles teploty vody (pod 2 °C) nejvýznamnějším faktorem pro dozrání pohlavních produktů peledě. Toto tvrzení podporuje i skutečnost, že po náhlém a silném ochlazení, bývá pozorována hromadná ovulace u většiny jikernaček, a to ve velmi krátkém období (Hochman, 1987).

Pro přesnější načasování a synchronizaci ovulace, je i u generačních ryb síha peledě možné využít umělou hormonální stimulaci. S tou je vhodné začít už od druhé poloviny listopadu až začátku prosince, tedy zhruba 1 měsíc před nástupem hlavního výtěrového období, které obvykle trvá dva až čtyři týdny (Taranger a kol., 1992; Švinger a Kouřil, 2012). Hormonální stimulaci lze provést několika způsoby. Velmi častou metodou je podání funkčních analogů hormonů uvolňujících gonadotropin. Tyto analogy je možné dávkovat akutně nebo s protahovaným uvolňováním GnRHa. Samotná aplikace těchto hormonů se pak provádí po anestezii injekčním vpravením roztoku nebo drobného implantátu s obsahem GnRHa do hřbetní svaloviny (intramuskulárně) nebo do dutiny břišní (intraperitoneálně) (Mylonas a Zohar, 2007).

Akutní hormonální zásah je založený na aplikaci čistého syntetického analogu GnRHa, který je předem naředěn 0,7 – 0,9% roztokem chloridu sodného na koncentraci v jednotkách µg/ml. Tento hormonální zásah lze aplikovat jednorázově nebo ve více dávkách. Jednorázová dávka GnRHa však většinou dokáže vyvolat synchronizovanou ovulaci pouze u 10 – 50% jikernaček (Mylonas a kol., 1992; Taranger a kol., 1992). Švinger a Kouřil (2014) uvádí, že akutní jednorázová dávka syntetického analogu GnRHa s účinnou látkou [D-Arg⁶-Pro⁹NEt] v koncentraci 25µg/kg živé hmotnosti jikernaček (ŽH) dokáže spolehlivě synchronizovat a načasovat ovulaci peledí pouze při teplotě vody pod 2 °C, tzn. ryby, které jsou fyziologicky nejbliže termínu svého přirozeného výtěru (Gillet a kol., 2011). Pro účinnější načasování ovulace (i při vyšších teplotách vody) je

nutné aplikovat druhou akutní dávku, a to nejlépe po 2 – 3 dnech od první dávky hormonů. Švinger a Kouřil (2014) také zjistili, že velmi účinným zásahem je také dvojitá akutní dávka syntetického peptidu [D-Tle⁶-Pro⁹NET]-mGnRHa, a to v rozmezí koncentrací 5 – 25 µg/kg ŽH. I když je tato metoda dvou po sobě jdoucích dávek GnRH efektivnější, vyžaduje další manipulaci s rybami, což u choulostivé ryby jako je peled' zvyšuje riziko poranění nebo úhynu (Mylonas a Zohar, 2001; Švinger a Kouřil, 2012).

Aby byla manipulace s rybami omezena na minimum, byly vyvinuty technologie s protahovaným kontinuálním uvolňováním syntetických analogů. Funkční mechanismus uvolňování těchto účinných látek je založen na tzv. doručovacích systémech GnRHa z angl. *GnRHa-delivery systems*. Tato funkce je zabezpečena drobnými implantáty ve formě malých peletek, které obsahují cholesterol s celulózou a práškový GnRHa. Tyto peletky jsou pak pomocí speciálních aplikátorů intramuskulárně, nebo intraperitoneálně implantovány do těla ryb, kde je pak hormon postupně uvolňován po dobu několika dnů až týdnů (Mylonas a Zohar, 2001). Tato metoda je však díky tlustým implementačním jehlám pro drobnější generační ryby nepříliš vhodná (Švinger a Kouřil, 2012). Jako velmi slibným doručovacím systémem GnRHa pro síha peledě se dle Švingera a Kouřila (2014) jeví využití metody emulsifikace GnRHa za pomoci Freudova inkompletního adjuvancia (FIA). Rozpuštěný GnRHa ve fyziologickém roztoku se smísí s FIA za vzniku vodnato olejnaté emulze. FIA zde slouží jako nosič GnRHa, který je v emulzi „uvězněn“ a je z ní po klasické injekční aplikaci (jako u akutního zásahu) postupně uvolňován, čímž je zajištěn požadovaný kontinuální protahovaný účinek. Pro synchronizaci ovulace peledě, je i při vyšších teplotách vhodná aplikace syntetického peptidu [D-Arg⁶-Pro⁹NET]-sGnRHa-FIA, a to v množství 25 µg/kg ŽH.

2.2.6 Délka intervalu latence

Jako doba latence se označuje interval od první aplikace hormonálního přípravku až do nástupu ovulace (Švinger a Kouřil, 2012). Tuto dobu je však nutné co nejpřesněji odhadnout a provádět během ní pravidelné kontroly ovulace. Pokud jikry nejsou co nejdříve po jejich ovulaci vytřeny, klesá jejich kvalita, a tudíž i jejich schopnost oplození (Mylonas a Zohar, 2007). Délka latence se odvíjí od stádia vývoje a zralosti jiker v době aplikace hormonu, teploty vody, a také typu a dávky hormonu (Pankhurst a Thomas, 1998; Chen, 2005). Z výsledků Švingera a Kouřila (2014) vyplývá, že delší doba latence má u síha peledě pozitivní vliv na přežití a líhivost jiker.

Délka intervalu latence jikernaček síha peledě se pohybuje mezi 11 – 15 dny. S hromadným umělým výtěrem je vhodné začít 12 – 15. den po první injekci GnRH α , kdy 15. den bývá docíleno až 100% ovulace u všech hormonálně stimulovaných jikernaček (Švinger a Kouřil, 2012).

Hormonální stimulace s sebou ale nese také negativa, a to hlavně v podobě nižšího oplození a přežití jiker, pocházejících od hormony ošetřených jikernaček (Taranger a kol., 1992). Švinger a Kouřil (2014) zjistili, že přežití jiker do stádia očních bodů je u takto ošetřených jikernaček peledě o 5 – 20% nižší, než u přirozeně dozrálých generačních ryb. Oproti jiným lososotvarým rybám má však peled' několikanásobně vyšší plodnost, která dokáže tuto uměle indukovanou mortalitu jiker poměrně dobře vykompenzovat (Dubský a kol., 2003; Reshetnikov a Bogdanov, 2011).

Švinger a Kouřil (2014) také přišli na to, že jikry od hormonálně indukovaných jikernaček jsou o 0,06 – 0,07 mm menší, než jikry přirozeně dozrálých ryb. Vztah mezi zvýšenou mortalitou těchto jiker a jejich menší velikostí však prokázáný nebyl.

2.2.7 Osemenění, aktivace a oplození jiker

Proces oplozování jiker je možný provést mnoha způsoby. První umělé výtěry ryb tzv. mokré metody, napodobovaly přirozený výtěr. Pohlavní produkty ryb byly současně vytírány do vody, nebo byly ryby přímo vytírány pod vodou. Oplozenost při použití mokrých metod byla však velmi nízká (20 – 40 %), a proto se postupem času nahradily suchými metodami, kterými lze dosáhnout oplození na úrovni 75 – 95 % (Pokorný a kol., 1998). Při suchých metodách výtěru nesmí vytřené pohlavní produkty přijít do styku s vodou. Jikry se vytírají po vzoru Německé metody do suché misky i s ovariální tekutinou nebo dle Ruské metody na sítko, skrze které se nechá ovariální tekutina odkapat (Kouřil a kol., 2008). Na jeden litr takto vytřených jiker síha peledě je pro osemenění nejvhodnější přidat 10 – 15 ml spermatu (Linhart, 1985). Pohlavní produkty se jemně a rovnoměrně promíchají suchou gumovou stěrkou. V této fázi jsou jikry osemeněné, ale stále ještě neoplozené. K oplození dojde po přidání vody, která pohlavní produkty aktivuje. Po opětovném promíchání se jikry s mlíčem nechají po dobu 2 – 3 minut v klidu. Během této doby vnikají spermie do jiker a dochází tak k oplození (Pokorný a kol., 1998). Aby nedošlo k přílišnému naředění spermatu, a tudíž i vyššímu riziku nižší oplozenosti jiker, nalije se voda pouze 1 – 2 cm nad jikry (Hartman a Regenda, 2014). V případě malého množství odebraného spermatu, je pro aktivaci pohlavních produktů vhodné

využit aktivačních roztoků, které prodlužují dobu pohybu spermií, a to 2 – 3krát (Kouřil a kol., 2008). V tomto případě pro osemenění a následné oplození stačí 4 – 6 ml mlíčí na litr vytřených jiker (Anderle, 1970). Jako aktivační roztoky pro síha peledě se nejvíce osvědčily Dilluer 532, č. 752 a Ringerův nebo Hamorův roztok. Tyto roztoky dokážou zvýšit procento oplozenosti o 10 – 25 % (Pokorný a kol., 1998)

2.2.8 Odlepkování jiker

Po aktivaci jiker peledě se kromě mírného nabobtnání začne projevovat i slabá lepivost jiker (Lusk a kol., 1992). Ta však u peledě nepředstavuje pro následnou inkubaci výrazný problém. Oplozené jikry většinou stačí několikrát propláchnout čistou vodou a mírná lepivost je spolu se zbytky mlíčí a dalších případných nečistot odstraněna (Kouřil a kol., 2008). Dle Hochmana (1987) se lze této slabé lepivosti vyvarovat umělou úpravou pH vody. Lepivost jiker peledě se totiž vyvíjí v zásadité vodě, a právě úpravou hodnoty pH lehce pod neutrální reakci, lze tomuto jevu zabránit.

2.2.9 Inkubace a kulení váčkového plůdku

Inkubace jiker síha peledě se v současné době nejčastěji provádí v Zugských nebo Kannengieterových inkubačních lahvích o objemu 8 – 10 litrů. Do jedné inkubační lahve se paušálně nasazuje 2 – 5 litrů nabobtnalých oplozených jiker, což u síha peledě představuje až 600 000 ks jiker (Pokorný a kol., 1998). Čerstvá voda je do inkubačního přístroje přiváděna zdola nahoru středem lahve v rychlosti 0,8 – 4 l/min. Průtok vody musí být seřízen tak, aby všechny jikry byly ve vznosu a stálém mírném pohybu. Příliš rychlý pohyb jiker způsobuje intenzivní nárazy, které vedou k poškození a zvýšenému úhynu jiker (Hochman, 1987). Během inkubace je nutné pravidelně odstraňovat odumřelé a zaplísňené jikry, které jsou proudem vody vyplavovány do vrchních částí inkubačních lahví. V případě potřeby lze jikry ošetřit také protiplísňovou koupelí (Hartman a Regenda, 2014).

Plůdek se kulí v únoru až březnu po uplynutí 160 – 200 °d (70 – 150 dní) (Pokorný a kol., 1998). Vylíhlý váčkový plůdek je díky tukové kapénce ve žloutkovém váčku ihned schopný plavat (Dubský a kol., 2003). Po pěti až sedmi dnech a strávení poloviny žloutkového váčku začíná postupně přecházet na exogenní výživu (Pokorný a kol., 1998). Pro zajištění následného rychlého růstu je výhodné inkubovat jikry v co nejchladnější

vodě, a tím co nejvíce prodloužit celkovou délku inkubace. Ke kulení váčkového plůdku pak dochází v přívětivějších jarních podmínkách, které zabezpečují dostatečné množství přirozené potravy v rybnících (Hochman, 1987). Vývoj jiker můžeme naopak zvýšením teploty vody urychlit, což je výhodné pro následný chov v kontrolovaných podmínkách (Hartman a Regenda, 2014).

2.3 Uchování neoplozených jiker

Jakmile jsou jikry uvolněny z vaječníků, dochází k tzv. post-ovulačnímu stárnutí jiker, které je častěji označováno jako „přezrávání jiker.“ Toto přezrávání způsobuje snižování kvality jiker, které vede k poklesu oplozenosti a následného úspěšného embryonálního vývoje. Podle druhu ryby může být pokles kvality pohlavních produktů sledován v rozmezí několika hodin až dnů (Aegerter a Jalabert, 2004). Lososovité ryby obecně nejsou příliš citlivé k přezrávání jiker. Bez významného snížení kvality jiker dokážou udržet pohlavní produkty v těle, dokonce i po dobu jednoho týdne. To je způsobeno teplotou, která je hlavním determinačním faktorem post-ovulačního stárnutí jiker. Vysoká teplota vody zvyšuje rychlost přezrávání oocytů v těle jikernačky, což má zejména u chladnomilných druhů ryb negativní dopady na kvalitu jiker (Bobe a Labbe, 2008).

Pro eliminaci rizika přezrávání oocytů, je v některých případech vhodné provést umělý výtěr co nejdříve po ovulaci a vytřené jikry následně krátkodobě skladovat. Uchování pohlavních produktů ryb obecně, má značný význam zejména při provádění plemenářské práce (Pokorný a kol., 1998). Jikry lze však na rozdíl od mlíčí přechovávat pouze krátkodobě (Linhart a kol., 2015), a to v závislosti na dvou klíčových faktorech, kterými jsou doba a teplota skladování (Cabrita a kol., 2008).

2.3.1 Možnosti krátkodobého uchování jiker

Jikry mohou být ve výjimečných případech krátkodobě uchovány i přímo v těle jikernačky, po jejím usmrcení. Takto skladované jikry si však dokážou udržet schopnost oplození pouze několik málo hodin (Billard a kol., 1981). Tuto dobu je možné prodloužit až na 12 hodin, a to při skladování mrtvých jikernaček při 4 °C. Za těchto podmínek je možné docílit oplozenosti až na úrovni 90 % (Cabrita a kol., 2008). I když se tento způsob

přechování jiker v praxi nepoužívá, může být prospěšný například při náhlém úhynu generačních ryb v předvýtěrovém období, kdy jikry z těla těchto ryb lze v krajním případě využít pro oplození (Pokorný a kol., 1998).

V provozních podmínkách se využívá způsob uchování uměle vytřených, neoplozených jiker. Jikry mohou být skladovány „na sucho“ tzn. bez ovariální tekutiny, anebo s ovariální tekutinou, tzv. „mokrý skladování.“ Při skladování jiker lososovitých ryb do 2 hodin, není mezi těmito způsoby z hlediska oplozenosti, následného přežití a kulení jiker významný rozdíl. Při delším skladování je však mnohem efektivnější uchovávat jikry i s ovariální tekutinou (Lahnsteiner a Weismann, 1999). Vytřené jikry z těla ryb, jsou tedy i s ovariální tekutinou uloženy v misce, nebo ve vhodné izotermické nádobě. Tyto nádoby musí být překryty vlhkými utěrkami, ze kterých ovšem nesmí kapat voda, a uloženy na chladné a zastíněné místo. Překryté jikry je též možné přechovávat v chladničce při stabilní teplotě 0 – 4 °C, a to i po dobu několika dní (Kouřil a kol., 2008). Příhoda (2006) také doporučuje uchovávat jikry v nádobách, které jsou po odsátí vzduchu zavařeny folií. Takto upravené misky s jikrami jsou umístěny do termoizolačních boxů a obloženy ledem, který pomáhá udržovat teplotu okolo 2 °C.

Vyšší teplota při uchovávání jiker, zkracuje možnost efektivního skladování pouze jen na několik hodin (Bonnet a kol., 2003; Aegerter a Jalabert, 2004).

2.3.2 Faktory ovlivňující krátkodobé uchování jiker

Krátkodobé uchovávání jiker je ovlivňováno řadou faktorů. Nejvýznamnějším z nich je biologická kvalita jiker, kterou lze definovat jako schopnost oplození jiker a následného úspěšného vývoje životaschopného jedince. Oplozenost jiker však nelze před oplozením jednoznačně stanovit. Kvalitu jiker je tedy možné pouze předběžně odhadnout, a to na základě některých parametrů (Bobe a Labbé, 2010). Při kvalitativním odhadu jiker je vhodné se zaměřit zejména na typický vzhled a barvu jiker pro daný druh, velikost jiker, pH ovariální tekutiny a různé nežádoucí příměsi ve vytřených jikrách (Bromage a kol., 1992; Aegerter a Jalabert, 2004). Tento faktor lze ovlivnit zejména prostředím, ve kterém generační ryby chováme a jeho podmínkami (potrava, fotoperioda nebo teplota vody) (Mylonas a Zohar, 2007).

Dalším významným faktorem ovlivňujícím krátkodobého uchování jiker je teplota (Linhart a kol., 2015). Vhodná teplota při skladování jiker musí být však vztažena

k teplotnímu optimu daného druhu ryby. Jikry teplomilných druhů ryb například vykazují nižší toleranci k nižším teplotám, než jikry studenomilných ryb a naopak (Rizzo a kol., 2003; Sanches a kol., 2014). Jikry lososovitých ryb si dokážou při 2 – 4 °C udržet vysokou schopnost oplození, a to i po dobu několika dní (Holcomb a kol., 2005). Jikry teplomilných druhů ryb je pro dosažení podobného efektu zase nutné držet v maximálně o 4 °C chladnějším prostředí, než je jejich výtěrová teplota (Sanches a kol., 2014). Obecně lze říci, že vhodné teploty pro krátkodobé skladování jiker jsou takové, které se pohybují co nejbližší teplotnímu optimu pro přirozený výtěr daného druhu (Niksirat a kol., 2007a). Výhoda teploty prostředí, jakožto veličiny významně ovlivňující délku uchovávání jiker spočívá především v její snadné kontrole a jednoduché úpravě (Aegerter a Jalabert, 2004).

Mezi faktory, které taktéž ovlivňují krátkodobé uchovávání jiker, můžeme zařadit i pH ovariální tekutiny. Změna hodnot tohoto parametru mimo přirozené hodnoty pro daný druh ryby, může negativně ovlivnit oplozenost a přežití jiker (Hajirezaee a Niksirat, 2009). Lahnsteiner a kol. (1999) uvádějí, že výkyvy pH ovariální plazmy u pstruha obecného (*Salmo trutta morpha lacustris*), mimo hodnoty 8,44 – 8,57 (≥ 80 % oplozenost), výrazně snižují schopnost oplození a přežití jiker, které může při extrémních hodnotách dosáhnout až 0 %.

Výše popsané faktory ovlivňující uchování jiker spolu velmi úzce souvisí. Pokud dojde k vychýlení z optimální hladiny hodnot alespoň u jednoho z těchto faktorů, nastává výrazné snižování biologické kvality jiker, které má za následek snížení plodnosti a zvýšení mortality během vývoje (Hajirezaee a Niksirat, 2009).

2.3.3 Optimalizace krátkodobého uchování jiker

Prodloužení doby skladování jiker lze kromě teploty ovlivnit také médiem, ve kterém jsou jikry skladovány (Holcomb a kol., 2005). Obecně je nejvhodnější uchovávat jikry i s ovariální tekutinou, která u lososovitých ryb udržuje jikry ve vhodném prostředí s hodnotami pH okolo 8,5 (Cabrita a kol., 2008). Jikernou tekutinu lze uměle obohatit látkami s antibiotickými účinky, které potlačují rozvoj bakterií a zvyšují tak přežití jiker. Tento zásah tedy také může pozitivně ovlivnit délku skladování jiker (Holcomb a kol., 2005).

Jikernou tekutinu je ale také možné zcela nahradit umělými médii. U lososovitých ryb je velmi často používaným umělým médiem pro skladování jiker modifikovaný

Cortlendův roztok (124 mM NaCl, 5,1 mM KCl, 1 mM MgSO₄ · 7H₂O, 1,6 mM CaCl₂ · 2H₂O a 5,6 mM glukóza), který je pufovaný 20mM HEPES (C₈H₁₈N₂O₄S) nebo 20mM Tris-HCl (C₄CH₁₁NO₃-HCl) na hodnoty pH 8,5 (Niksirat a kol., 2007a; Goetz a Coffman, 2000). Toto médium udržuje stálé pH, což je při skladování jiker zásadní (Lahnsteiner a kol., 1999; Dietrich a kol., 2007). Umělá média pro uchovávání jiker je účinné použít při skladování neoplozených jiker do 2 – 3 dnů při vyšších teplotách okolo 10 – 12 °C. Při déletrvajícím skladování jiker je vhodné toto médium obohatit o antibiotika (Bobe a Labbe, 2008).

Kvalitu jiker, a tudíž i možnost delšího skladování jiker je také možné podpořit oxygenací atmosféry, ve které jsou jikry uchovávány. Oxygenace se ukazuje jako významný faktor při skladování jiker, zejména u teplomilných druhů ryb (Cabrita a kol., 2008). Oxygenaci je vhodné využít také při delším uchovávání jiker a při vyšších teplotách. Tato metoda se navíc také osvědčila při přechovávání většího objemu jiker, které lze skladovat v PVC pytlích v kyslíkové atmosféře (Bobe a Labbe, 2008).

2.3.4 Krátkodobé uchování jiker u lososovitých ryb

Řada pokusů na toto téma proběhla u lososovitých ryb rodu *Oncorhynchus* již počátkem 60. - 80. let. Vědecké práce na toto téma postupně přibývali i u jiných druhů ryb a jsou i nadále předmětem mnoha výzkumů. Autoři se zabývali zejména možnou délkou uchovávání neoplozených jiker v závislosti na teplotě přechovávání, a samotnou výší teploty, jakožto hlavního faktoru při skladování, který nejvíce ovlivňuje oplozenost a přežití jiker. Jako hodnotící kritérium bylo v převážné většině studií definováno stanovení oplozenosti jiker do stádia očních bodů a líhnivost (Jensen a Alderdice, 1984; Holcomb a kol., 2005; Bobe a Labbe, 2008).

Jensen a Alderdice (1984) se ve své studii zabývali vlivem teploty a délky skladování na oplozenost jiker lososa keta (*Oncorhynchus keta*). Jikry v tomto pokusu byly přechovávány při teplotách 3, 6, 9, 12 a 15 °C a postupně oplozovány v jedenácti časových intervalech, které byly definovány pro každou teplotu zvlášť. Minimální doba skladování se pohybovala od 37 h při 3 °C a 2 h při 15 °C a maximální do 460 h při 3 °C a 63h při 15 °C. Při 3 °C bylo v průměru dosaženo 90 % oplozenosti i po 137 h skladování a 50 % oplozenosti po 258 h. Se zvyšující se teplotou se však začala výrazně snižovat délka možnosti skladování, při které si ještě jikry byly schopny udržet požadovanou schopnost

oplození. Při teplotě 15 °C byla již efektivní doba skladování pro 90 % oplozenost pouze 20 h, respektive 44 h pro 50 % oplozenost.

Withler a Morley (1968) zkoušeli optimalizovat délku přechování neoplozených jiker lososa nerky (*Oncorhynchus nerca*) a lososa gorbuši (*Oncorhynchus gorbuscha*). Jikry těchto druhů je obecně možné držet v přirozených podmínkách při teplotě 8 – 9 °C bez ztráty oplozenosti, a to až po dobu 8 – 12 h. Uchováváním neoplozených jiker lososa nerky při 2,9 °C, však autoři dokázali prodloužit dobu jejich skladování s více než 90 % oplozeností až na 70 h. Po této době oplozenost jiker postupně klesala, až na 12 % po 14denním skladování. Jikry lososa gorbuši si při teplotě 3,2 °C udrželi 85 % oplozenost až do 46 h od výtěru. Po této době oplozenost klesá obdobně jako u předchozího druhu.

Niksirat a kol. (2007a) sledovali míru přežití jiker pstruha obecného kaspického (*Salmo trutta caspius*) do stádia očních bodů při skladování jiker v lednici při teplotě 2 – 3 °C, po dobu 48, 72 a 120 hodin. Tento pokus opět poukázal na pozvolné snižování oplozenosti a přežití jiker do stádia očních bodů, z 91 % po 48 h, až na 77 % po 120 h skladování. K podobným závěrům došli i Billard a kol. (1981) u pstruha obecného potočního (*Salmo trutta morpha fario*). Jikry tohoto druhu lze s dobrou mírou oplozeníschopnosti (až 90 %), uchovávat při 4 °C po dobu 72 hodin. Rapidní pokles oplozenosti jiker pstruha obecného po krátkodobém přechování nastává, nezávisle na délce doby skladování, při teplotě 12 °C (Bonnet a kol., 2003). Radikální snížení oplozenosti u jiker skladovaných při vysokých teplotách dokládají také pokusy Billarda a Bretona (1981). Při teplotě 15 °C dosáhly jikry jen minimální oplozenosti, a to pouze do 30 % po 28 hodinách skladování a následně celkové mortality po 76 hodinách skladování.

Niksirat a kol. (2007b) prováděli obdobný pokus u pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*), u kterého zjistili, že při teplotě 2 - 3 °C, je možné uchovávat jikry s průměrnou oplozeností 77,5 % a líhnivostí 67 % až po dobu 9 dnů. Bonnet a kol. (2003) zkoušeli naopak, jaký vliv na oplozenost tohoto druhu má vyšší teplota 12 °C, která je blíže jeho přirozeným výtěrovým preferencím (8 – 10 °C). Z této studie jasně vyplynulo, že jikry pstruha duhového jsou schopny si udržet téměř stoprocentní oplozenost, dokonce i po 3 dnech jejich skladování. Dále autoři zjistili, že i při této teplotě mohou jikry dosáhnout oplozenosti na úrovni až 67,5 % (průměrně 50 %), a to i po 9 dnech skladování. Nebezpečí při těchto parametrech skladování představovali zejména bakterie, které v tomto případě znehodnotily tři z pěti vzorků jiker, které vůbec nebylo možné oplozovat. Úplnou ztrátu

oplozenosti jiker pstruha duhového zaznamenali ve své práci Billard a Gillet (1981), ke které došlo již po 24 hodinách skladování při 19 °C.

Pro účelné krátkodobé skladování jiker lososovitých ryb jsou obecně vhodné nízké teploty prostředí, zhruba do 4 °C, při kterých lze jikry efektivně přechovávat i po dobu několika dní (Pokorný a kol., 1998). Z výše uvedených pokusů vyplývá, že každý druh lososovitých ryb dokáže lépe či hůře snášet rozdílné, zejména vyšší teploty při uchovávání jiker. Z těchto prací je ale rovněž patrné, že i v extrémních případech vyšších teplot, lze po velmi omezenou dobu poměrně úspěšně uchovávat samičí pohlavní produkty s přijatelnou oplozeností.

3 Materiál a metodika

3.1 Materiál

3.1.1 Generační ryby

Pro účely experimentu diplomové práce bylo využito celkem 12 kusů generačních ryb síha peledě. Celkem 4 mlíčáci a 8 jikernaček ve věkové kategorii od 2 do 3 let s hmotností 250 - 865 g. Generační ryby byly získány od rybářské společnosti Kinský Žďár, a.s. a společnosti BaHa s.r.o.

Ryby ze Žďáru nad Sázavou, pocházející z extenzivního rybničního chovu, byly 3. 12. 2020 v odpoledních hodinách převezeny v přepravní bedně s kyslíkovou atmosférou do líhně v Mydlovarech. Generační ryby poskytnuté od společnosti BaHa s.r.o., chované v prostorách líhně v kruhových nádržích o objemu 12000 l, byly ve stejný den odloveny a společně s dovezenými rybami umístěny do odchovného žlabu typu Ewos o objemu 1500 l. Zde byly drženy ryby obou pohlaví, a to až do začátku experimentu. Teplota vody v nádrži se pohybovala v rozmezí 6,7 - 6,9 °C. Během celé přípravné fáze nebyla rybám podávána potrava.

3.1.2 Prostory

Samotný experiment probíhal od 3. 12. 2020 až do 30. 3. 2021 v prostorách rybí líhně Mydlovary, která je spravovaná společností BaHa s.r.o. Pro účely tohoto pokusu byly vyhrazeny dva odchovné žlaby typu Ewos o objemech 1000 litrů v prostoru líhně a dva mělké odchovné žlaby o objemu 150 litrů v prostorách odchovny.

3.1.3 Anestetikum

Pro snadnější manipulaci s rybami během experimentu a pro eliminaci jejich nadměrného stresování, bylo využito anestezie. Jako anestetikum byl použit hřebíčkový olej v dávce 0,03 ml/l podle Kolářové a kol. (2007). Anestetická lázeň s danou koncentrací anestetika byla připravena v laminátové vaně o objemu 100 l, kde probíhalo uspávání ryb.

3.1.4 Hormonální přípravek

K hormonální indukci ovulace jikernaček síha peledě byl využit český přípravek Supergestran[®], jehož účinnou látkou je savčí analog GnRH [D-Tle⁶-Pro⁹NEt]-mGnRHa Lecirelin. Tento přípravek je dodáván již ve formě roztoku, a to ve 2 ml skleněných ampulích s obsahem 25 µg/ml GnRHa.

Nesporná výhoda v tomto balení a formě preparátu je ta, že přípravek lze ihned využít pro injekční aplikaci generačním rybám. Koncentrace účinné látky, ve které je přípravek dodáván (25 µg/ml GnRHa), je navíc přímo doporučenou dávkou pro hormonální indukci generačních jikernaček lososovitých ryb. Na 1 kg živé hmotnosti jikernaček je tedy injekčně aplikován 1 ml neředěného hormonálního přípravku (Švinger a Kouřil, 2012).

3.1.5 Izolační termoboxy

Pro dosažení a udržování požadovaných teplot při krátkodobém uchovávání jiker bylo nutné použít termoizolační boxy. Pro udržení výrazně odlišných teplot od okolního prostředí (2,5 °C, 7,5 °C, 10 °C, 12,5 °C) byly použity termoizolační boxy, speciálně konstruované pro co nejefektivnější udržování vnitřního prostředí o stálé teplotě. Pro uchování teploty (5 °C), která byla nejméně rozdílná od okolní teploty prostředí (která se pohybovala v rozpětí 5 – 6 °C), byl použit klasický polystyrenový potravinový box.

Pro docílení a udržování požadovaných teplot, stanovených designem experimentu, bylo celkem použito 5 termoboxů (Obrázek 5.), které byly náležitě označeny a umístěny do vnitřních prostorů líhně.

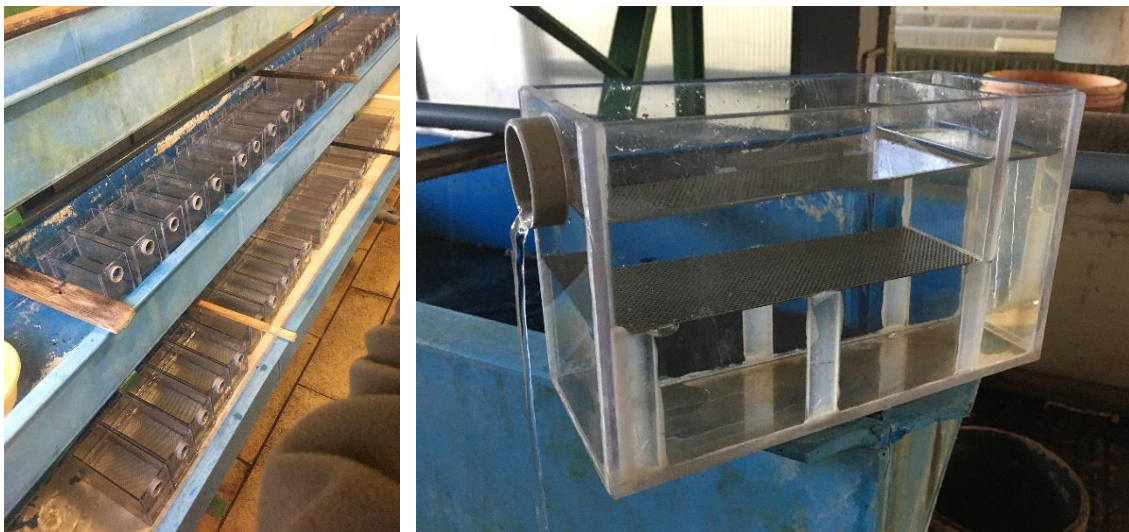


Obrázek 5. Termoboxy pro krátkodobé skladování jiker (Foto: J. Rytíř).

3.1.6 Inkubační aparáty

Pro inkubaci oplozených jiker byly použity na zakázku speciálně vyrobené inkubační aparáty. Tyto inkubátory o délce 20 cm, šířce 10 cm, výšce 15 cm a objemu 2 litry jsou vyrobené z odolného plexiskla, se zabroušenými hranami. Zhruba v polovině výšky aparátů je vodorovně umístěná kovová mřížka s velmi jemným perforováním, které zabraňuje propadávání jiker a zároveň umožňuje jejich kontinuální omývání čerstvou, okysličenou vodou. Ta přitéká do úzkého zahrazeného prostoru v přední části aparátu, ze kterého je dále distribuována do prostoru pod mřížku. Z této části protéká směrem nahoru, skrze mříž s jikrami, odkud pak v horní části čelní stěny odtéká skrze odtokové okno s jemným kovovým sítem, které zabraňuje úniku následně vykulených ryb.

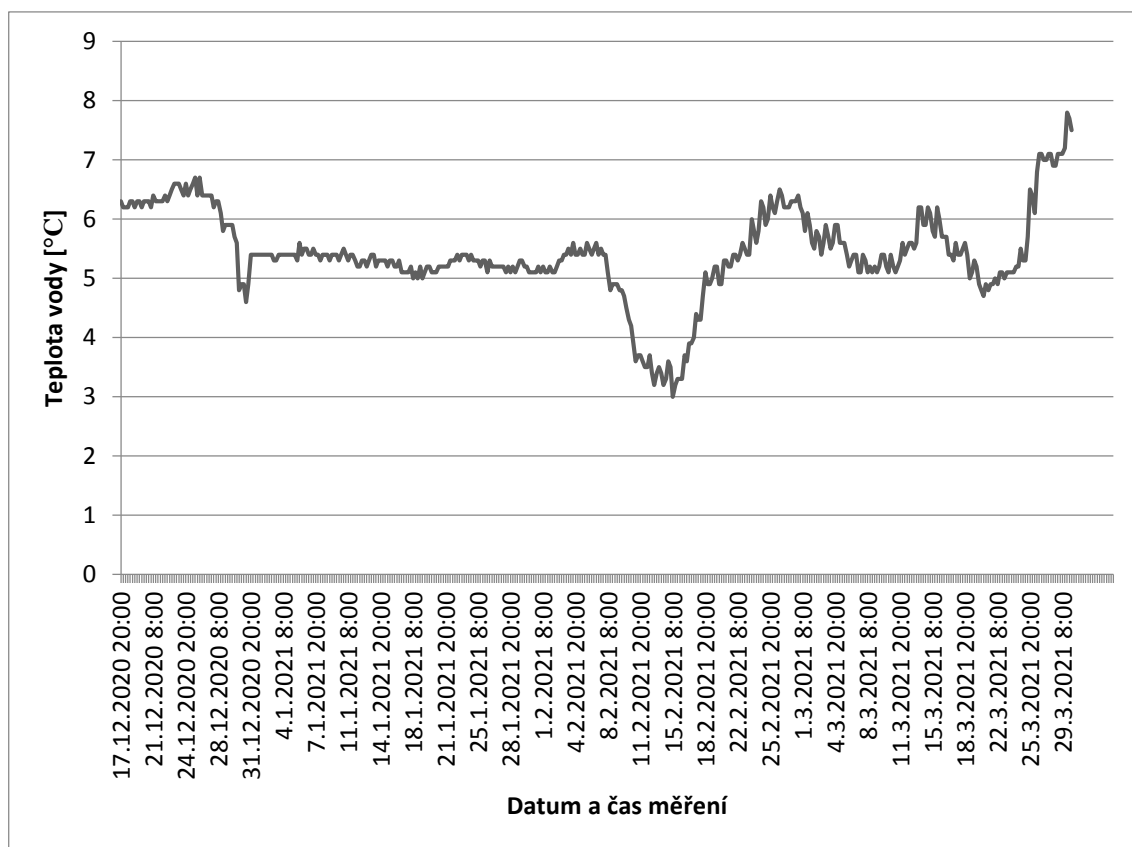
Tyto aparáty byly rozmístěny ve dvou mělkých odkulovacích žlabech, po dvaceti kusech v každém žlabu. Pro eliminaci chyb a následnou kontrolu jiker, byly inkubátory z čelní strany označeny tmavým, nesmazatelným fixem, a to konkrétně časem a teplotou, při kterých byly neoplozené jikry krátkodobě skladovány. Přítok vody do aparátů byl zabezpečený dvěma dlouhými plastovými trubkami o průměru 4 cm, napojenými na přítokové systémy žlabů. Do každé, na konci zaslepené trubky, bylo v jedné řadě vyvrtáno množství drobných otvorů o průměru 3 mm tak, aby vždy na jeden inkubační aparát vycházely dva otvory. Tyto dvě rozvodné trubky pak byly nainstalovány 10 cm nad inkubátory tak, aby vytékající voda z vyvrtaných otvorů přesně směřovala do zahrazené přítokové části aparátů, a zabezpečovaly tak kontinuální přísun čerstvé vody.



Obrázek 6. a 7. Připravené a rozestavené inkubační aparáty a detailní pohled na aparát (Foto: J. Rytíř).

3.1.7 Teplota vody

V průběhu experimentu, byl do přítokové části rybí líhně nainstalován speciální teploměr s automatickým záznamem dat. Teploměr byl aktivován těsně před zahájením inkubace jiker, tedy 17. 12. 2020 v 8:00 hodin. Ten v pravidelných intervalech (po osmi hodinách) zaznamenával a ukládal naměřené hodnoty teploty vody, která napájela inkubační aparáty s jikrami. Po ukončení experimentu, tedy 30. 3. 2021, byl teploměr odstraněn. Uložená data z teploměru byla stažena do počítače, kde byla v programu Microsoft Excel vyhodnocena a vizualizována do grafu 1, který popisuje průběh teploty v průběhu experimentu.



Graf 1. Průběh teploty vody, která byla použita k inkubaci nasazených jiker síha peledě.

3.2 Metodika

3.2.1 Manipulace a příprava generačních ryb

Ryby ze Žďáru nad Sázavou byly 1. 12. 2020 sloveny z rybníka a v přepravních bednách s aerací převezeny na sádky společnosti Kinský Žďár, a.s. Ze sádky byly 3. 12. 2020 vyloveni a vybráni jedinci, kteří již vykazovali předvýtěrové znaky (třecí vyrážka u mlíčáků a zvětšená dutina břišní u jikernaček). Takto vytříděné ryby se bez prodlení naložily do přepravní bedny s vodou, která napájí sádky a kyslíkovou atmosférou, a byly co nejdříve dopraveny na rybí líheň v Mydlovarech.

Po úspěšném transportu generačních peledí do Mydlovar (v odpoledních hodinách téhož dne), se ryby ihned přemístily do předem připravené, prázdné kruhové nádrže o objemu 12000 l, ve které byla intenzivně provzdušňovaná voda o teplotě $6,8 \pm 1$ °C. Zde jsme nechali ryby po dobu tří dnů aklimatizovat.

7. 12. 2020 v ranních hodinách jsme generační peledě za pomoci saků s jemnou sakovinou opatrně odlovili z kruhové nádrže a ve vaničkách s vodou přemístili do žlabu o objemu 1500 l. Ryby jsme zde umístili z důvodu následné snazší a šetrnější manipulace, zejména při pravidelných kontrolách ovulace.

3.2.2 Hormonální injikace ryb

Z důvodu vyšší teploty vody na líhni, která negativně ovlivňuje rychlost dozrávání pohlavních produktů síha peledě, jsme se rozhodli indukovat hormonální synchronizaci ovulace u jikernaček, a to pomocí dvojité akutní aplikace GnRH analogu [D-Tle⁶-Pro⁹NET]-mGnRHa v přípravku Supergestran[®]. U mlíčáků nebylo nutné provádět hormonální stimulaci, protože při jemné masáži břišní dutiny, již touto dobou ochotně uvolňovali mlíčí.

Abychom předešli zbytečnému stresování ryb a zároveň jsme co nejvíce minimalizovali riziko jejich poranění, tak jsme před každou hormonální injikací ryby uspali. Vylovené jikernačky z manipulačního žlabu jsme přemístili do vaničky s anestetickou lázní s hřebíčkovým olejem, kde se ryby působením anestetika o koncentraci 0,03ml/l uspaly. Zhruba po 2 – 4 minutách, kdy jikernačky ztrácely únikový

reflex a zaujaly polohu s otočením na bok, bylo možné přistoupit k samotné injekci hormonálního preparátu.

Uspané a vylovené ryby z anestetické lázně byly jedna po druhé zváženy na vytárované digitální váze a umístěny na vlhkou látkovou utěrku na pracovní stůl. Podle přepočtu kusové hmotnosti, byla každé rybě aplikována individuální dávka přípravku, která vždy odpovídala množství 25 µg Supergestranu/kg živé hmotnosti jikernaček (1 ml Supergestranu/ kg ryby). Do injekční stříkačky s jehlou o objemu 3 ml se podtlakem vždy nasál potřebný objem roztoku Supergestranu, který byl ihned poté injekčně aplikován intraperitoneálně do jamky břišní ploutve (Obrázek 8.). Aby po aplikaci přípravku nedošlo k jeho úniku, bylo místo vpichu krátce přidrženo a jemně promasírováno prstem (Obrázek 9.). První injekce byla provedena 7. 12. 2020 v 11:00 hodin. Po zákroku byly ryby vráceny zpět do manipulačního žlabu s čerstvou, okysličenou vodou, kde se do pár minut probraly z anestezie.

Ke druhé dávce hormonálního přípravku se přistoupilo o 3 dny později, tedy 10. 12. 2020 v 11:00 hodin. Technika a postup provedení druhé akutní dávky hormonálního preparátu byli naprosto shodné s první injekcí, viz výše.

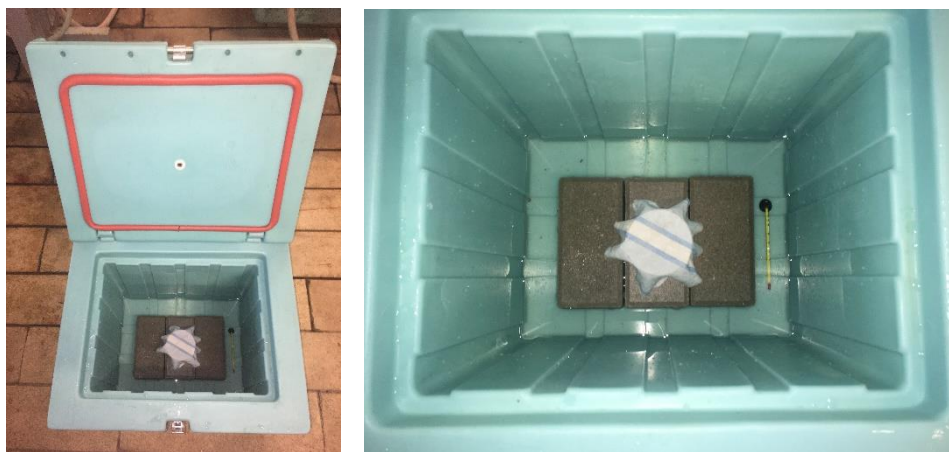


Obrázek 8. a 9. Injekce jikernačky hormonálním přípravkem Supergestran® a následná masáž místa vpichu injekční jehly (Foto: J. Rytíř).

3.2.3 Příprava termoboxů

Speciální termoboxy sloužící k udržování stálého teplotního režimu, byly den před zahájením výtěru (16. 12. 2020) připraveny a vytemperovány pomocí oteplené vody a šupinkového ledu na požadované teploty (2,5 °C; 5 °C; 7,5 °C; 10 °C; 12,5 °C). Pro udržování teploty 5 °C, která se nejvíce blížila okolní teplotě vzduchu na líně (6 °C) byl využit potravinový polystyrenový box, který vykazoval nižší izolační schopnosti. Všechny boxy byly z boku náležitě a viditelně označeny jednotlivými teplotami.

Každý termobox byl vybaven třemi betonovými dlažebními kostkami, které napomáhali udržovat teplotu v boxu a zároveň sloužili jako podstavec pro misky s jikrami. Voda, popřípadě voda s ledem, potřebná pro temperaci vnitřního prostředí termoboxu, dosahovala maximálně do poloviny výšky betonových cihliček. Pro kontrolu vnitřní teploty prostředí byly do každého boxu nainstalovány lihové akvariijní teploměry. Z důvodu snížení rizika oschnutí jiker a jejich kontaminace zkondenzovanou vodou, která tvořila na víku boxů drobné kapičky, byly misky s jikrami překryty vlhkými utěrkami. Bavlněné utěrky se navíc upravily tak, aby se nedotýkaly podstavce nebo vody, a nedošlo tak k jejímu vzlínání, které by mohlo vést k nechtěnému znehodnocení jiker.



Obrázek 10. a 11. Detailní pohled do připraveného termoboxu (Foto: J. Rytíř).

3.2.4 Kontrola ryb po hormonálním ošetření

Po aplikaci druhé dávky hormonálního přípravku, probíhala každodenní pravidelná kontrola ovulace jikernaček. Ryby se jedna po druhé šetrně odchytily do saku, ve kterém se jemným tlakem ruky na břišní dutinu zjišťovalo, zda již nedochází

k vypouštění ovulovaných jiker. Jakmile jsme zaznamenali bezproblémové uvolňování jiker, bez prodlení jsme přistoupili k umělému výtěru.

3.2.5 Umělý výtěr jikernaček

První jikernačku jsme byli nuceni po náhlém a nečekaném uvolňování jiker vytříít provozním způsobem již 14. 12. 2020, tedy 7 dní po první injikaci hormonálním přípravkem. Oplozené jikry byly nasazeny do inkubační Zugské lahve a využity pro potřeby odchovu společnosti BaHa s.r.o.

K plánovanému výtěru se přistoupilo po očekávaném uvolňování jiker u ostatních jikernaček 17. 12. 2020 v 10:30 hodin. Ovulované jikernačky se postupně odlovily a jedna po druhé se umístily do vaničky s anestetickou lázní, kde došlo po 2 – 3 minutách k jejich uspání. Uspaná ryba, která již nevykazovala únikové a obrané reflexy, se vyjmula z anestetické koupele a přesunula se na pracovní stůl, kde byla zabalena do předem připravené, vlhké utěrky. Aby se eliminovalo riziko vniknutí vody na jikry, tak se vlhkým hadrem osušila břišní partie těla ryby. Velký důraz byl kladen na důkladné osušení zejména v okolí močopohlavní papily a řitní a ocasní ploutve.

Jikernačka se uchopila jednou rukou za hřbetní část ocasního násadce. Hlava ryby se podepřela zápěstím druhé ruky. Volnou dlaní se prováděla jemná, pomalá masáž břišní dutiny, čímž bylo docíleno soustředěného proudu vytékajících jiker. Vypouštěné jikry byly z co nejmenší výšky zachytávány do suché misky, která byla ihned po dovytření ryby překryta vlhkou utěrkou. Pro pozdější vyhodnocení pracovní plodnosti byla zjištěna hmotnost vytřených jiker. Taktéž byl nabrán vzorek jiker do předem navážené epruvety, pro pozdější výpočet průměrné hmotnosti nenabobtnaných jiker.



Obrázek 12. a 13. Anestetická koupel a umělý výtěr jikernaček (Foto: J. Rytíř).

3.2.6 Příprava jiker

Jikry byly po výtěru vizuálně zkontrolovány a zváženy. Pro účely experimentu byly vybrány vizuálně nejkvalitnější jikry pouze od jedné samice. Jikry se ve stejném poměru rozdělili do pěti různých skleněných kádinek (podle následné teploty skladování). Kádinky s jikrami byly popsány a vloženy do předem připravených termoboxů (vytemperovaných na příslušnou teplotu), překryty vlhkými utěrkami a uzavřeny v boxech. Aby nebyl narušen časový plán experimentu, musela práce s přípravami a uložením jiker do boxů proběhnout poměrně rychle.

Během celé části pokusu, při které byly neoplozené jikry skladovány v termoizolačních boxech, se prováděly v pravidelných tříhodinových intervalech kontroly vnitřní teploty prostředí. Pro jemné zvýšení teploty bylo do boxu přidáno malé množství teplé vodovodní vody, a pro mírné ochlazení byl do boxu přidán šupinkový led.

3.2.7 Umělý výtěr mlíčáků

Jednu hodinu před uplynutím požadované doby skladování jiker se přistoupilo k umělému výtěru mlíčáků. Vylovení samci se vložili do anestetické koupele, kde byli působením hřebíčkového oleje o koncentraci 0,03 ml/l uspáni. Uspaná ryba se zabalila do vlhké utěrky a její břišní část těla se důkladně osušila. Zabalená ryba se jednou rukou zapřela o tělo vytírajícího tak, aby měl vytírající stále volnou dlaň, s kterou protisměrným tlakem palce a ukazováku prováděl směrem k močopohlavní papile masáž dutiny břišní. Druhou rukou bylo za pomoci injekční stříkačky vytírané mlíčí odsáváno (Obrázek 10. a 11.). Pro získání čerstvého spermatu, byli mlíčáci vytíráni opakovaně, vždy před následnou aktivací uchovávaných jiker.



Obrázek 14. a 15. Detailní pohled na odběr mlíčí (Foto: J. Rytíř).

3.2.8 Osemenění a oplození jiker

Po uplynutí naplánované doby, která byla definována po intervalech 1 hod., 4 hod., 12 hod., 24 hod., 36 hod., 48 hod., 60 hod. a 72 hodin skladování jiker, v teplotách 2,5 °C, 5 °C, 7,5°C, 10 °C a 12,5 °C, se postupně přistoupilo k osemenění a aktivaci pohlavních produktů. Po jedné hodině doby skladování se v co nejkratším čase vyjmuly ze všech termoboxů popsané misky se skladovanými jikrami. Z každé misky se za pomoci speciální měrky odebral vzorek zhruba 200 jiker. Tento vzorek se umístil do suché, příslušným časem a teplotou označené skleněné misky. Pro osemenění jiker v těchto miskách byly použity dvě kapky polyspermatu od čtyř mlíčáků, dávkované pomocí injekční stříkačky. Pro aktivaci pohlavních produktů bylo použito 10 ml vody z líhně. Aby došlo k oplození gamet, nechal se obsah misky 3 minuty odstát. Po této době, nutné k oplození jiker, se voda se spermatem slila a jikry se několikrát důkladně propláchnly čistou vodou z líhně. Stejným způsobem se postupovalo i při oplozování ostatních vzorků v dalších, výše uvedených intervalech.



Obrázek 16. a 17. Osemenění a oplození jiker (Foto: J. Rytíř).

3.2.9 Nasazení jiker do inkubačních aparátů

Abychom se po oplození jiker zbavili jejich mírné lepivosti, znovu se několikrát promyly čistou vodou. Nakonec se skleněná miska naplnila do poloviny výšky vodou a jikry se pomocí gumové stěrky a jemného krouživého pohybu s miskou rovnoměrně rozmístily po dně misky. Takto připravené vzorky jiker dané časové řady se pro jejich

pozdější počítání fotograficky zdokumentovali a přenesly se k předem připraveným inkubačním aparátům. Jikry byly opatrně přelity do příslušných, nesmazatelným fixem označených inkubačních aparátů tak, aby se co nejvíce rozptýlily po celé ploše inkubátoru a nevznikaly přílišné shluky jiker, které by mohly zvyšovat riziko jejich udušení a následné zaplísnění. Takto bylo oplozenými jikrami nasazeno všech 40 inkubačních aparátů.

Do každého inkubátoru (o objemu 2 l) byl přivedený přítok čerstvé, okysličené vody (4,14 ml/s), který zabezpečil výměnu vody v aparátu $7,5 \times$ za 1 hodinu. Odtok vody se nacházel v horní části inkubačního přístroje, a proti úniku následně vykulených rybek byl chráněný jemnou sítkou. Všechny inkubátory byly nastaveny na spodní tok.



Obrázek 18. Soustava inkubačních aparátů s nasazenými jikrami (Foto: J. Rytíř).

3.2.10 Počítání jiker

Po nasazení oplozených jiker na aparáty se postupně ve všech 40 inkubačních přístrojích spočítalo přesné kusové množství jiker. Hodnoty pak byly zaznamenány do tabulky počítačového programu Microsoft Excel, kde posloužily k následnému vyhodnocování dat a tvorbě grafů. Ke statistickému vyhodnocení byla využita jednofaktorová ANOVA. Významnost rozptylů byla následně zkontrolována za pomoci Fisherova testu.

3.2.11 Kontrola průběhu inkubace

V průběhu inkubace byla prováděna pravidelná kontrola oplozenosti jiker, přechodu jiker do stádia očních bodů a následně i líhnivosti. Při každé kontrole bylo také provedeno potřebné čištění líhňářských aparátů. Z každého aparátu byly pomocí pinzety při každé kontrole vyjmuty odumřelé a zaplísňené jikry, jejichž přesný počet byl zapsán do zápisníku a později přepsán do počítačového programu Microsoft Excel. Pro zabezpečení stálého přítoku vody, se preventivně pročišťovaly drobné otvory v přítokovém potrubí, které se zanášely nečistotami přicházejícími s přítokovou vodou. Jemným kartáčkem byla také vždy vyčištěna jemná odtoková síta, která se rovněž postupně zanášela nečistotami, které zase naopak znemožňovaly odtok vody. Na závěr každé kontroly, byly pomocí gumové hadičky, která byla zakončena skleněnou trubičkou, v rámci možností odsávány případné nečistoty a voda z okolí odstraněných zaplísňených jiker.



Obrázek 19. Pohled na oplozené a neoplozené jikry (Foto: J. Rytíř).

3.2.11.1 Stanovení oplozenosti

Oplozenost jiker ve všech inkubačních aparátech byla stanovena 29. 12. 2020, tedy 12 dní od umělého výtěru. Během této doby, bylo celkem třikrát provedeno odstranění odumřelých a zaplísňených jiker (Obrázek 19.) a odsátí případných nečistot ve všech inkubačních aparátech. Přesné kusové množství těchto odstraněných jiker bylo náležitě zaznamenáno a dále využito ke stanovení parametru oplozenosti.

Dále je tedy nutno podotknout, že pod termínem oplozenost je vlastně zahrnuta nejen samotná oplozenost jiker, ale i jejich následné přežití, respektive mortalita

oplozeného embrya v období raného ontogenetického vývoje do časového momentu posouzení jeho stavu (živý, vyvíjející se/neživý, nevyvíjející se).

3.2.11.2 Stanovení přežití do stádia očních bodů

Počátek přechodu jiker do stádia očních bodů, které bylo při jejich přímém nasvícení svítilnou možné bezpečně stanovit, byl pozorován 15. 1. 2021 u skupin jiker, které byly oplozené po 1, 4 a 12 hodinách skladování. Přechod do tohoto stádia u ostatních skupin, oplozených po 24, 36 a 48 hodinách, byl pozorován 16. a 17. 1. 2021. U posledních dvou časových intervalů skladování (60 a 72 hodin) byl přechod do tohoto stádia u všech jedinců zaznamenán až další den ráno.

K přesnému a jednoznačnému stanovení přežití jiker do stádia očních bodů, bylo tedy přistoupeno 18. 1. 2021, kdy již všechny živé, dále se vyvíjející jikry prokazatelně dosáhly tohoto stádia.

3.2.11.3 Stanovení líhnivosti

První dva vykulení jedinci, byli zpozorováni 5. 3. 2021, a to u skupin jiker skladovaných 4 a 12 hodin po výtěru při 2,5 °C. V průběhu následujících čtrnácti dnů bylo zaznamenáváno další sporadické líhnutí jedinců, v průměrném množství 4,6 vykulených jedinců/aparát. Zjištěné množství vykulených jedinců bylo počítáno a zapisováno při každé kontrole, při které byly následně v rámci možností odstraňovány nečistoty a jikerné obaly. K masivnímu kulení došlo 25. 3. 2021, kdy byl zjištěný nejvyšší nárůst líhnivosti (průměrně 25,1 vykulených jedinců/aparát).

Vzhledem k malému množství ještě nevykulených, stále živých jiker, se k finálnímu stanovení líhnivosti přistoupeno až 30. 3. 2021, kdy proběhla poslední celková sumarizace vylíhlého váčkového plůdku.

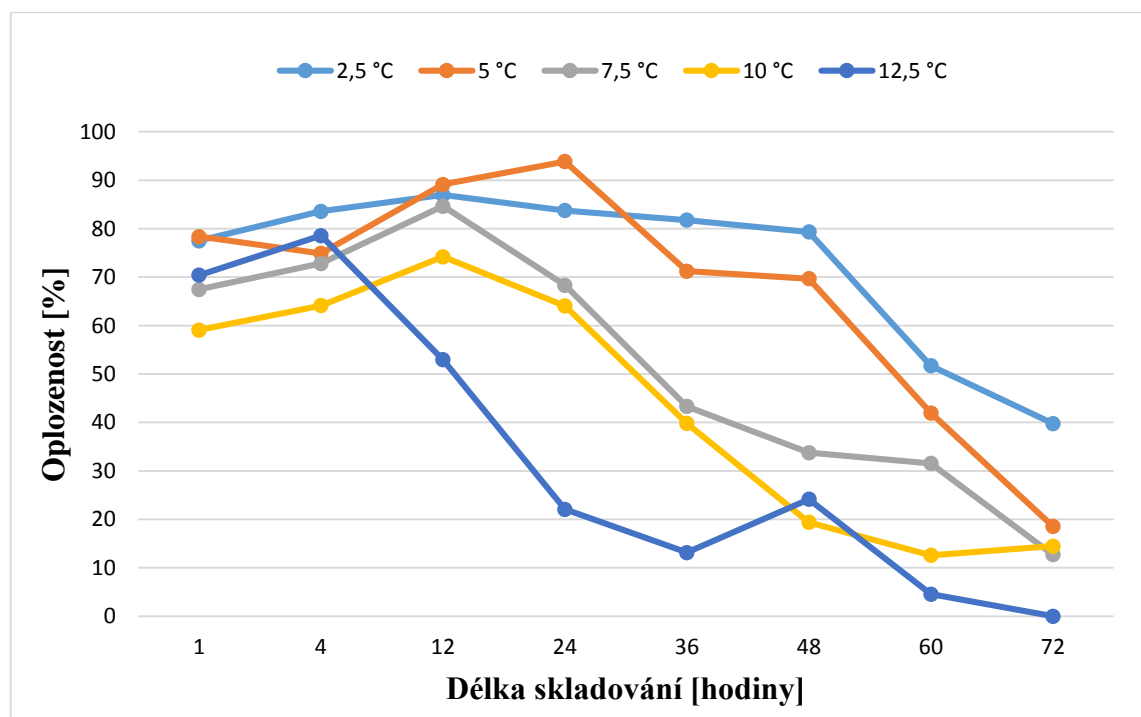


Obrázek 20. Vykulený jedince síha peledě (Foto: J. Rytíř).

4 Výsledky

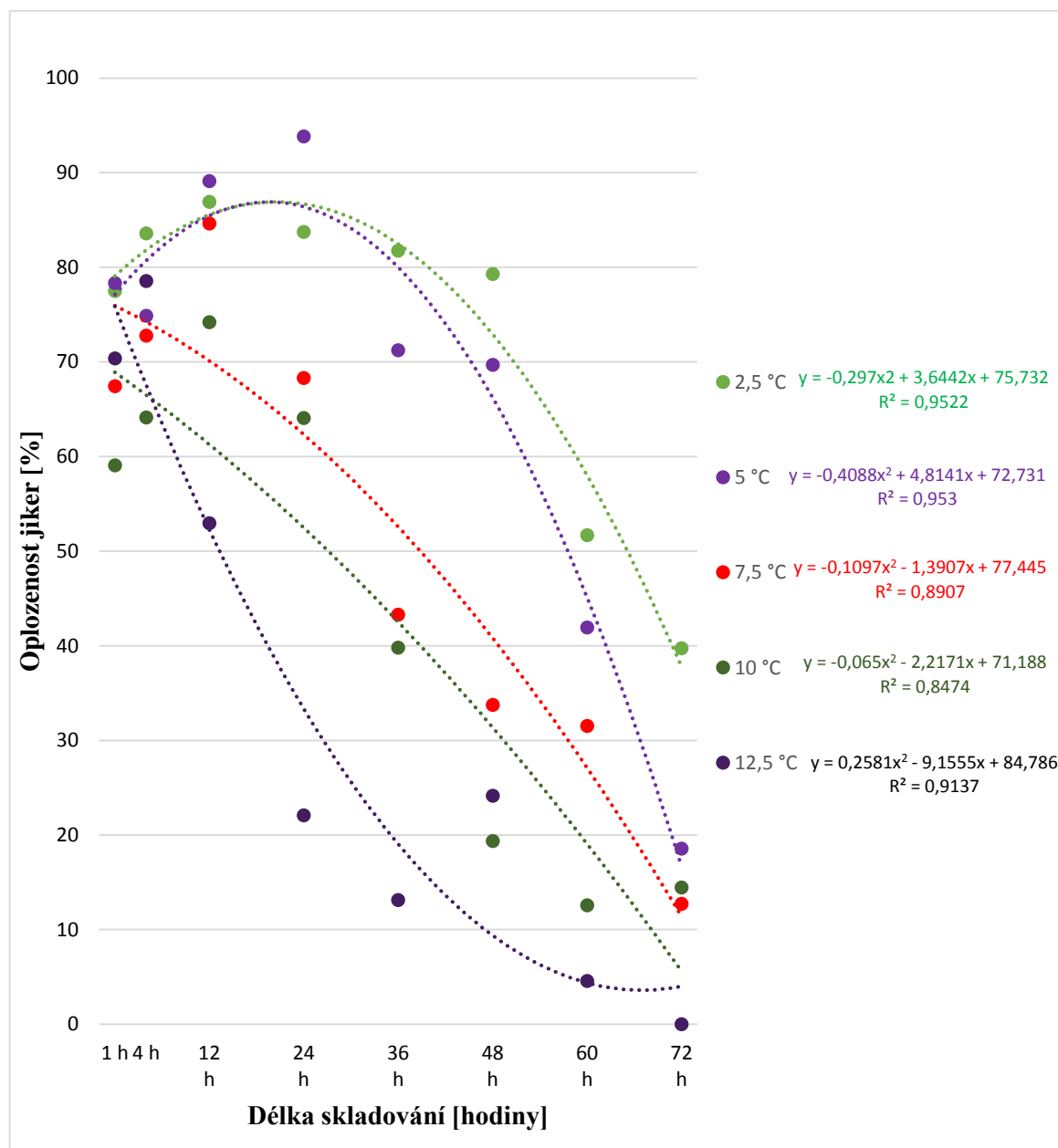
4.1 Oplozenost jiker

Graf 2 znázorňuje průměrné procentuální hodnoty oplozenosti jiker síha peledě v závislosti na době jejich skladování v neoplozeném stavu a také teplotě, při které byly neoplozené jikry uchovávány. Z grafu je zřejmé, že bez ohledu na teplotu uchovávání neoplozených jiker, dosahuje oplozenost u jiker oplozených v časovém horizontu do 12 hodin od výtěru více než 50 %. Nejlepších hodnot oplozenosti v tomto časovém intervalu (89,1 %), bylo dosaženo u skupiny jiker, oplozených právě po 12 hodinách, a to při teplotě skladování 5 °C. Nejhorší hodnota oplozenosti pro tento časový úsek byla zjištěna rovněž po 12 hodinách uchovávání, a to při nejvyšší teplotě skladování 12,5 °C. Výraznější snižování oplozenosti je patrné až po 24 hodinách skladování, a to zejména u skupin jiker skladovaných při vyšších teplotách (5 °C, 7,5 °C, 10 °C, 12,5 °C). Nejnižší trend snižování oplozenosti v závislosti na délce uchovávání, byl pozorován při teplotě 2,5 °C, kdy oplozenost jiker i po třech dnech skladování dosahovala hodnoty 39,7 %. Naopak u nejvyšší teploty 12,5 °C, byla po 72 hodinách pozorována nulová oplozenost.



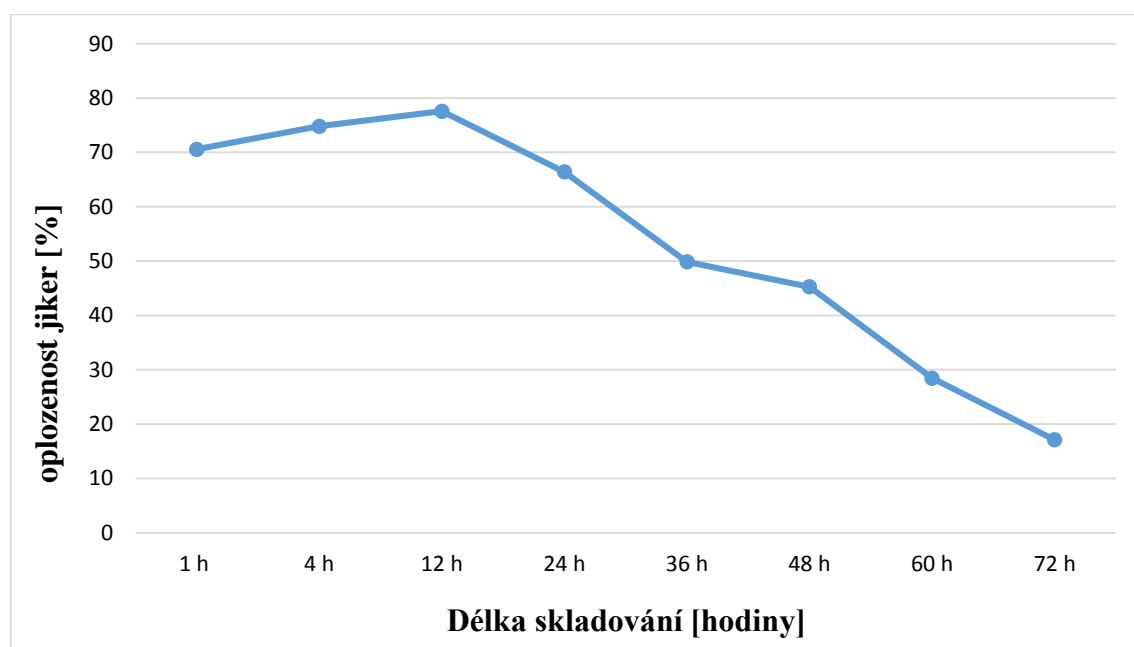
Graf 2. Průměrná oplozenost jiker síha peledě po jejich skladování při různých teplotách (v % z celkového množství nasazených jiker).

Graf 3 rovněž znázorňuje průměrné procentuální hodnoty oplozenosti jiker v závislosti na době jejich skladování v neoplozeném stavu a také teplotě, při které byly neoplozené jikry uchovávány. Vynesené body v tomto grafu jsou proloženy křivkou, která znázorňuje chování časové řady a tendenci vývoje oplozenosti jiker při různých teplotách skladování.



Graf 3. Průměrné hodnoty oplozenosti jiker síha peledě po jejich skladování při různých teplotách. Chování časové řady je znázorněno proloženými křivkami s vypočtenými koeficienty determinace, které udávají přesnost a spolehlivost výsledných hodnot.

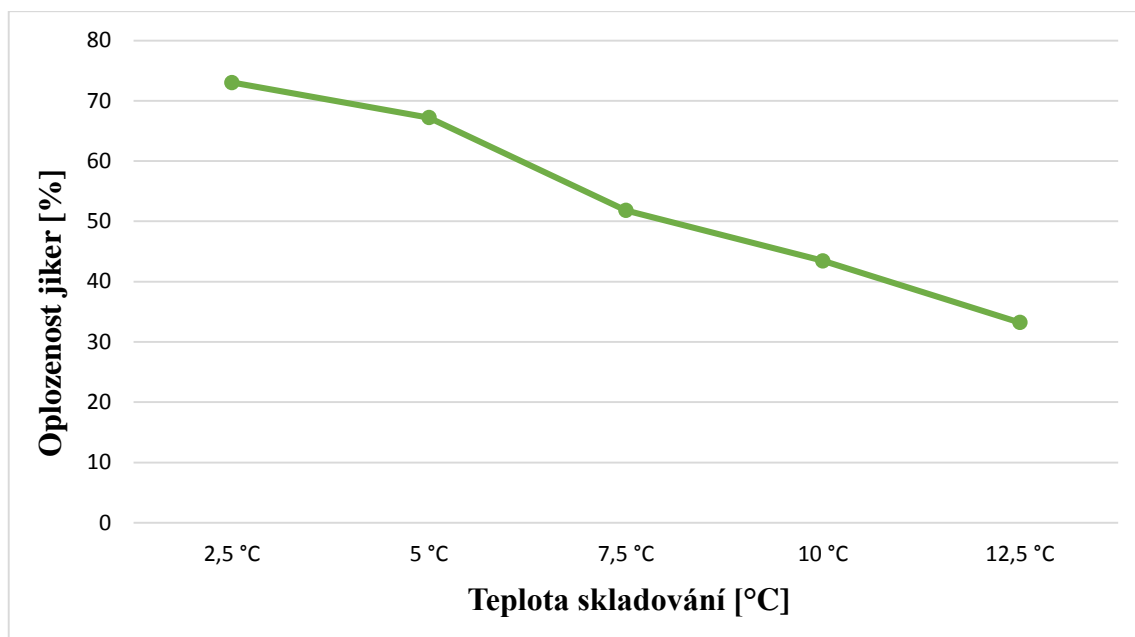
Graf 4 znázorňuje jednotlivé průměrné hodnoty oplozenosti jiker síha peledě z osmi časových skupin, bez započtení vlivu teploty jejich skladování. Z grafu lze usoudit, že nejlepších výsledků oplozenosti bylo dosaženo po 4 a 12 hodinách skladování, a to konkrétně 74,8 % a 77,6 %. Při době skladování 1 a 24 hodin byly průměrné hodnoty oplozenosti 70,6 % a 66,4 %. Nejlepších výsledků oplozenosti bylo tedy dosaženo ve třech časových rovinách, a to konkrétně po 4, 12 a 24 hodinách. Významný pokles hodnoty oplozenosti se projevil po 36 hodinách skladování, kdy oplozenost klesla pod hranici 50 %. Statisticky významný pokles oplozenosti (45,3 %), na hladině významnosti ($\alpha = 0,05$), byl zaznamenán po 48 hodinách skladování. Další statisticky významný pokles na hodnotu 28,5 % byl zaznamenán po 60 hodinách uchovávání. Hodnota oplozenosti 17,1 % ($p = 0,001$) při délce skladování 72 hodin se ukázala jako nejnižší.



Graf 4. Průměrná oplozenost jiker ovlivněná délkou jejich skladování před oplozením, bez započtení vlivu teploty.

Graf 5 zobrazuje průměrné procentuální hodnoty oplozenosti jednotlivých skupin, ve kterých délka jejich skladování nehrála žádnou roli. Hodnoty jsou zde vyhodnoceny pouze jako oplozenost v závislosti na teplotě skladování jiker. Nejvyšší oplozenost byla pozorována při teplotách skladování 2,5 °C a 5 °C, kdy hodnoty oplozenosti dosahovaly 73 % a 67,2 %. Při krátkodobém skladování, si jikry dokázaly udržet více než 50 % oplozenischnost i při teplotě 7,5 °C. Při 10 °C statisticky významně ($p = 0,016$) klesla

oplozenost na 43,5 %. Signifikantně nejnižších hodnot oplozenosti 33,2 %, pak bylo dosaženo při teplotě 12,5 °C.



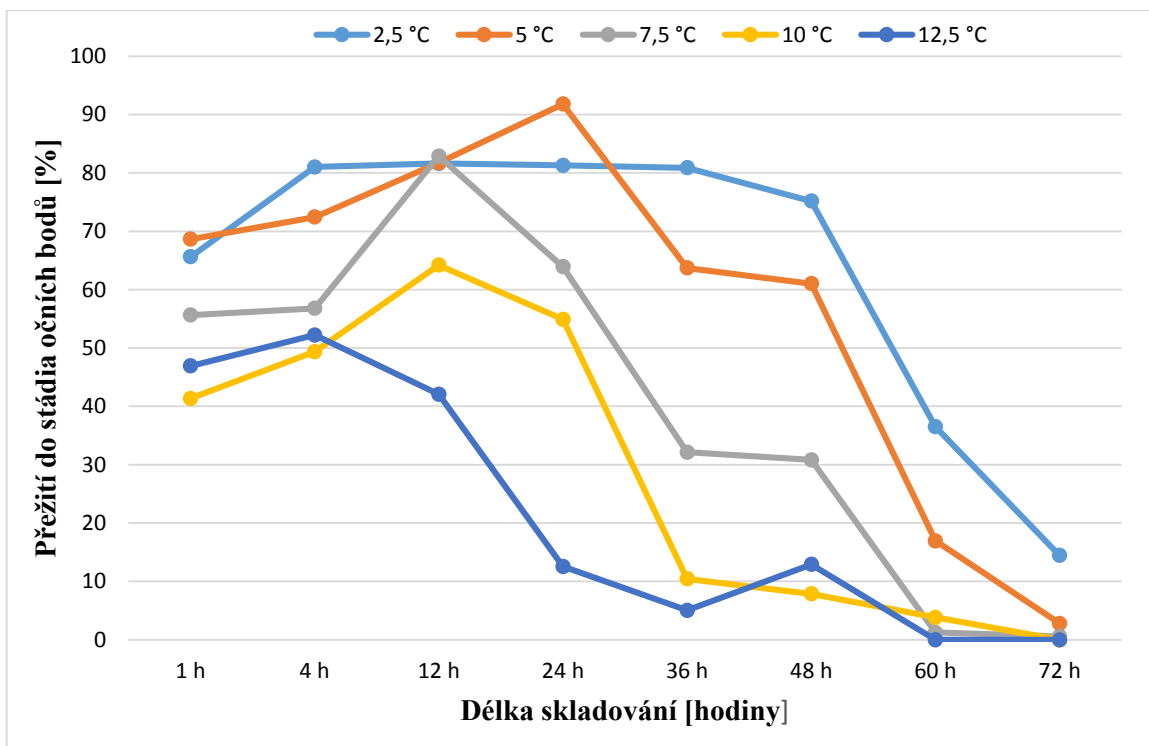
Graf 5. Průměrná oplozenost jiker ovlivněná teplotou jejich skladování před oplozením, bez započtení vlivu délky skladování.

4.2 Přežití do stádia očních bodů

Přechod do stádia očních bodů byl nejprve pozorován u skupin jiker, které byly oplozeny po kratších časových intervalech skladování (1 h, 4 h, 12 h), a to konkrétně 12. 1. 2021. U dalších skupin jiker, skladovaných po delší časové období byl přechod do tohoto stádia zaznamenán v následujících 2 – 3 dnech.

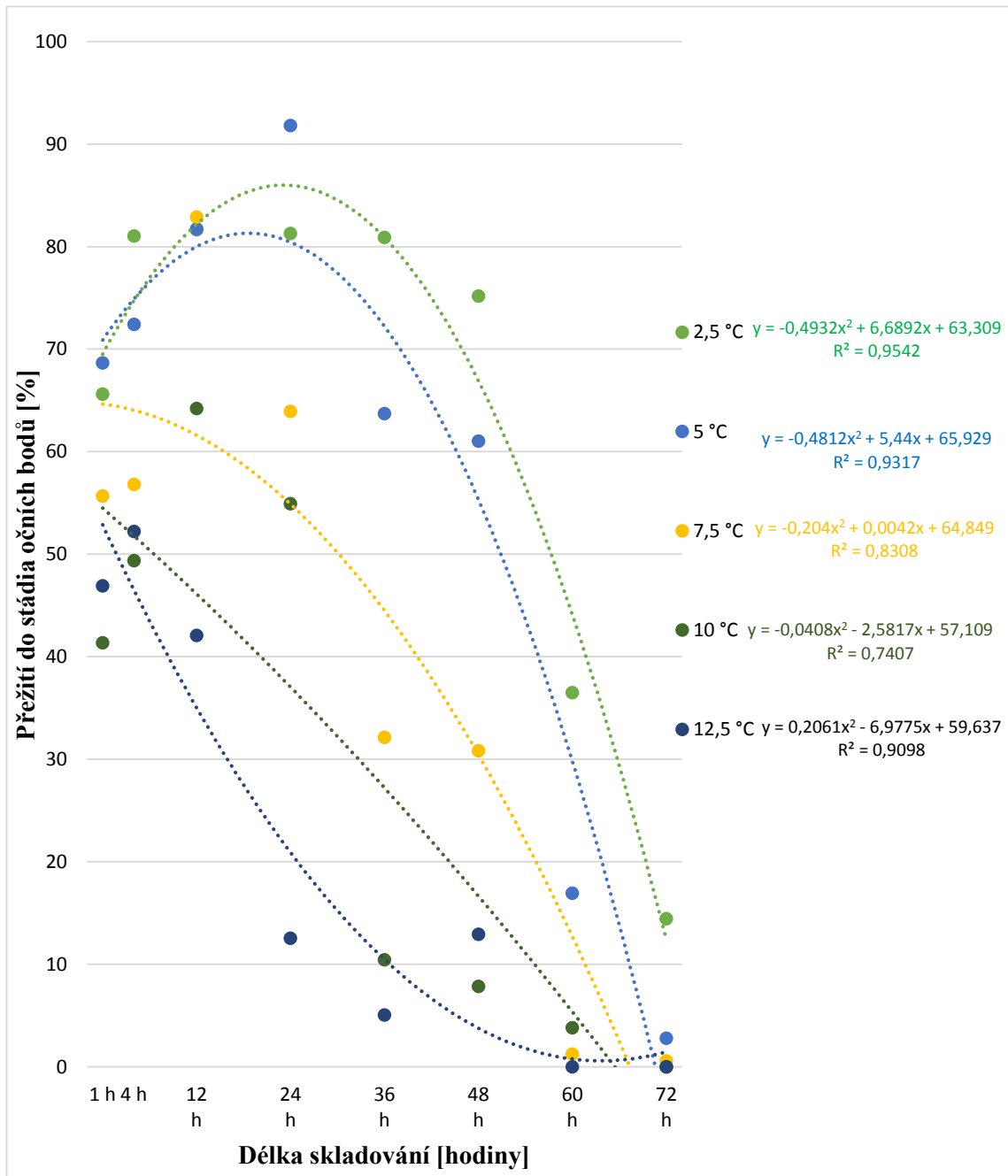
Graf 6 znázorňuje jednotlivá procentuální množství jiker, které přirozeně dosáhly tohoto stádia. Procentuální hodnoty tohoto kritéria byly pro každou časovou a teplotní skupinu jiker (skladovaných při daných délkách a teplotách) vypočítány z kusového množství jiker ve stádiu očních bodů, které bylo vztažené k příslušnému počtu nasazených jiker. Z grafu lze konstatovat, že nejlepších hodnot přežití do stádia očních bodů, bylo dosaženo u skupin jiker, které byly oplozeny do dvanácti hodin po jejich umělém výtěru. V tomto časovém horizontu bylo dosaženo průměrně nejlepších výsledků přežití do stádia očních bodů ($82 \pm 0,57$ %) u jiker skladovaných při teplotách 2,5 °C, 5 °C a 7,5 °C. U jiker uchovávaných 4 hodiny od výtěru, bylo u všech teplotních skupin

minimální přežití téměř poloviční (49 %). Nejlepší ojedinělá hodnota přežití, 91,8 % byla zaznamenána dokonce až po 24 hodinách skladování. K významnému poklesu přežití došlo po 36 hodinách skladování, a to zejména u teplot 5 °C, 7,5 °C a 10 °C, kdy hodnoty přežití dosahovaly 63,7 %, 32,1 % a 10,4 %. Další významný pokles přežití byl zaznamenán po 60 hodinách přechovávání, a to už i u třech nejnižších teplot 2,5 °C, 5 °C a 7,5 °C, kdy přežití bylo na úrovni 36,5 %, 16,9 % a 1,2 %. V tomto časovém intervalu bylo dosaženo nulového přežití u skupiny jiker skladovaných při teplotě 12,5 °C. Nejhorší výsledky jsou patrné po 72 hodinách přechovávání u všech teplotních skupin, kdy přežití dosahovalo maximálně 14,5 % pro teplotu skladování 2,5 °C, 2,8 % pro 5 °C a 0,6 % pro 7,5 °C. Obě nejvyšší teploty 10 °C a 12,5 °C pak po 72 hodinách působily na jikry letálně.



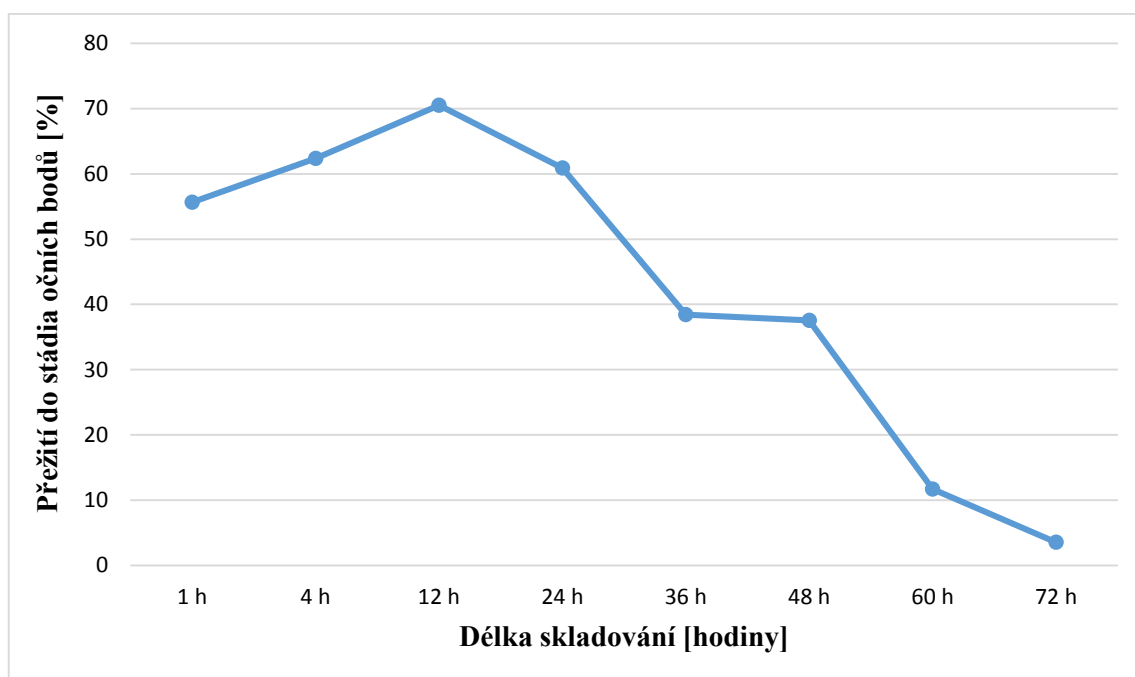
Graf 6. Vliv délky a teploty skladování neoplozených jiker na jejich přežití do stádia očních bodů (v % z celkového množství nasazených jiker).

Graf 7 rovněž znázorňuje průměrné procentuální hodnoty přežití do stádia očních bodů v závislosti na době jejich skladování v neoplozeném stavu a také teplotě, při které byly neoplozené jikry uchovávány. Vynesené body v tomto grafu jsou proloženy křivkou, která znázorňuje chování časové řady a tendenci vývoje oplozenosti jiker při různých teplotách skladování.



Graf 7. Průměrné hodnoty přežití do stádia očních bodů po skladování jiker při různých teplotách. Chování časové řady je znázorněno proloženými křivkami s vypočtenými koeficienty determinace, které udávají přesnost a spolehlivost výsledných hodnot.

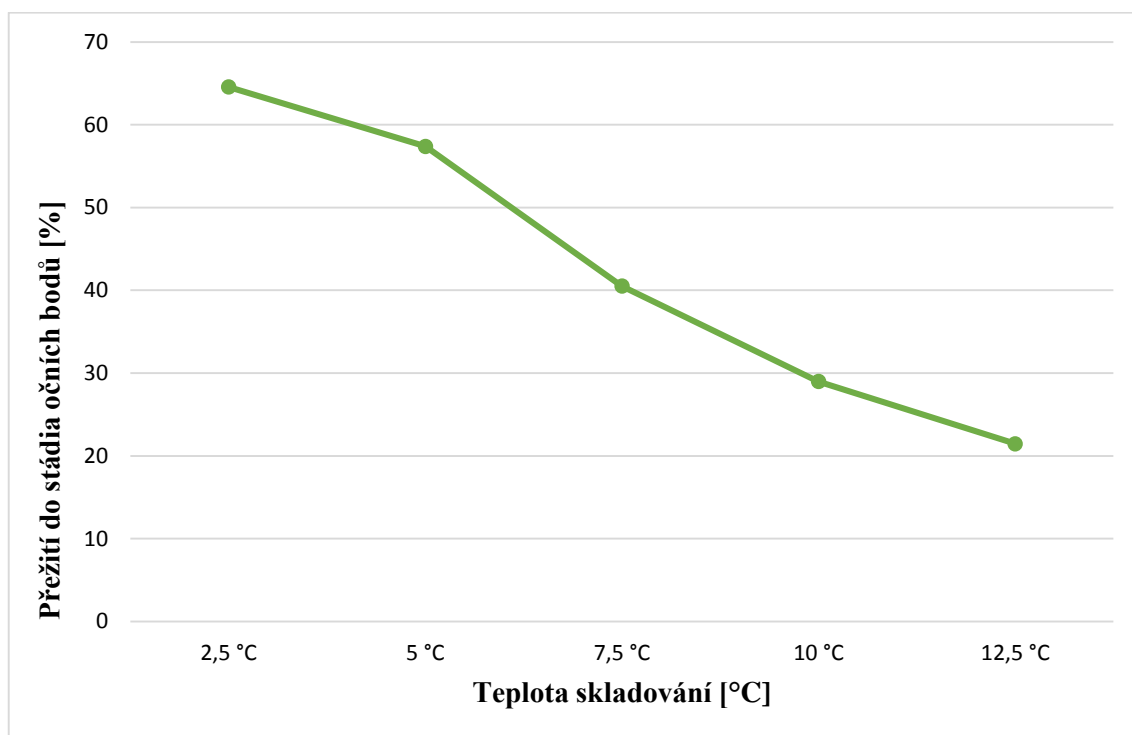
Graf 8 znázorňuje průměrné procentuální hodnoty přežití jiker do stádia očních bodů z osmi časových řad skladování. V grafu je zohledněn pouze vliv délky přechovávání neoplozených jiker, bez započtení vlivu teploty. Z grafu můžeme odvodit, že nejlepších výsledků přežití do stádia očních bodů bylo dosaženo po časových intervalech skladování 4 a 12 hodin, a to na úrovni 62,4 % a 70,5 %. Při délce přechovávání po jedné a čtyřiaadvacáté hodině byly hodnoty přežití 55,6 % a 60,9 %. Třech nejlepších hodnot bylo tedy dosaženo v časových intervalech po 4, 12 a 24 hodinách skladování neoplozených jiker. První statisticky významný pokles přežití (na hladině významnosti $\alpha = 0,05$) byl zaznamenán po 36 hodinách skladování na úroveň 38,4 %. Další významný pokles přežití následoval po 60 hodinách skladování, a to na 11,7 %. Nejnižší hodnota přežití do stádia očních bodů 3,6 % byla pozorována u nejdélejší doby skladování, tedy 72 hodin.



Graf 8. Vliv délky skladování neoplozených jiker na jejich přežití do stádia očních bodů, bez vlivu teploty uchování. Jednotlivé hodnoty v grafu reprezentují průměrné hodnoty přežití do stádia očních bodů ze všech teplotních skupin daného časového intervalu.

Graf 9 zobrazuje průměrné procentuální hodnoty přežití do stádia očních bodů jednotlivých skupin, skladovaných v přesně definovaných teplotách prostředí. Jednotlivé výsledky přežití v různých časových intervalech skladování (pro každou teplotu) byly

zprůměrovány a vyneseny v tomto grafu. Hodnoty jsou zde tedy vyhodnoceny pouze jako přežití jiker do stádia očních bodů v závislosti na teplotě skladování jiker, kde délka přechovávání nehrála podstatnou roli. Nejvyšší přežití bylo pozorováno při nejnižších teplotách skladování, tedy při 2,5 °C a 5 °C, kdy hodnoty přežití dosahovaly 64,5 % a 57,4 %. Při krátkodobém skladování při teplotě 7,5 °C a vyšších, již jikry nevykazovali ani poloviční přežití do tohoto stádia. Statisticky významně nejnižší přežití na úrovni 29 % a 21,4 % bylo pozorováno při dvou nejvyšších teplotách uchovávání 10 °C a 12,5 °C.



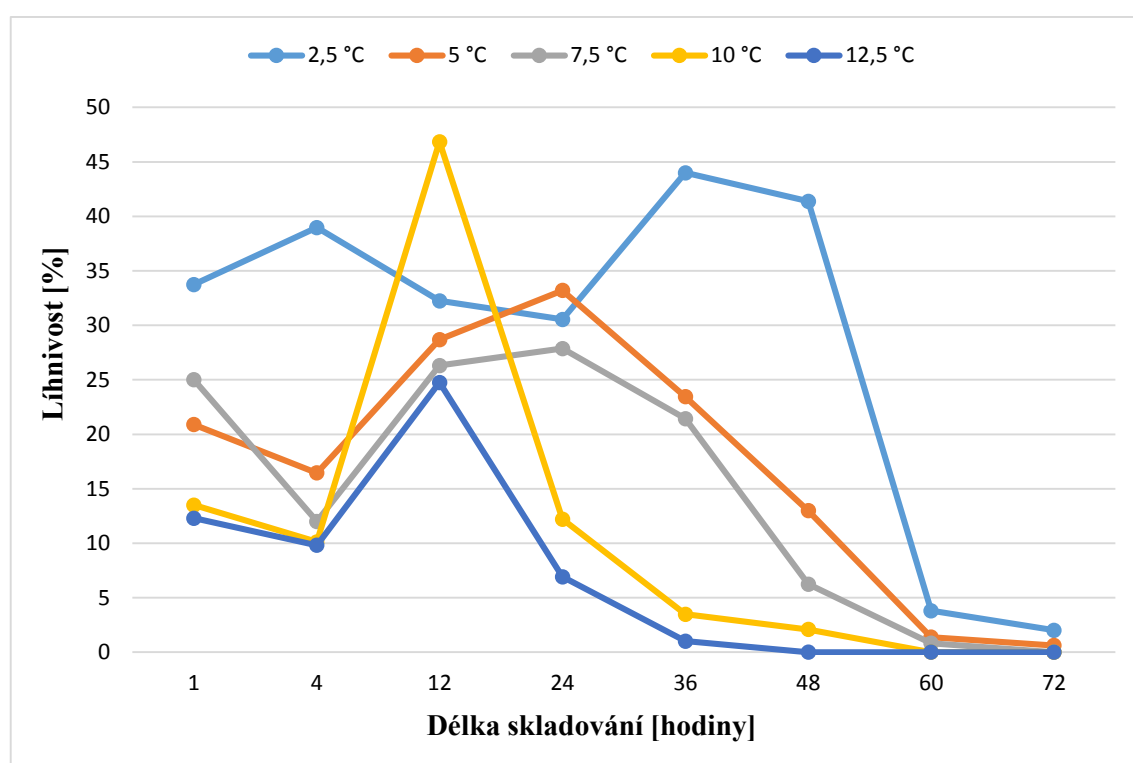
Graf 9. Vliv teploty skladování neoplozených jiker síha peledě na jejich přežití do stádia očních bodů, bez vlivu časového intervalu skladování. Jednotlivé výsledné hodnoty vynesené v tomto grafu jsou průměrnými hodnotami přežití pro dané teploty skladování při všech časových intervalech přechovávání.

4.3 Líhnivost

Graf 10 znázorňuje jednotlivé procentuální hodnoty úspěšně vykultovaných jedinců (v %) z celkového množství nasazených, tedy oplozených i neoplozených jiker. Vynesené hodnoty v tomto grafu vykazují závislost na délce skladování a zároveň i na teplotě, při které byly jikry před oplozením krátkodobě přechovávány. Z grafu lze konstatovat, že

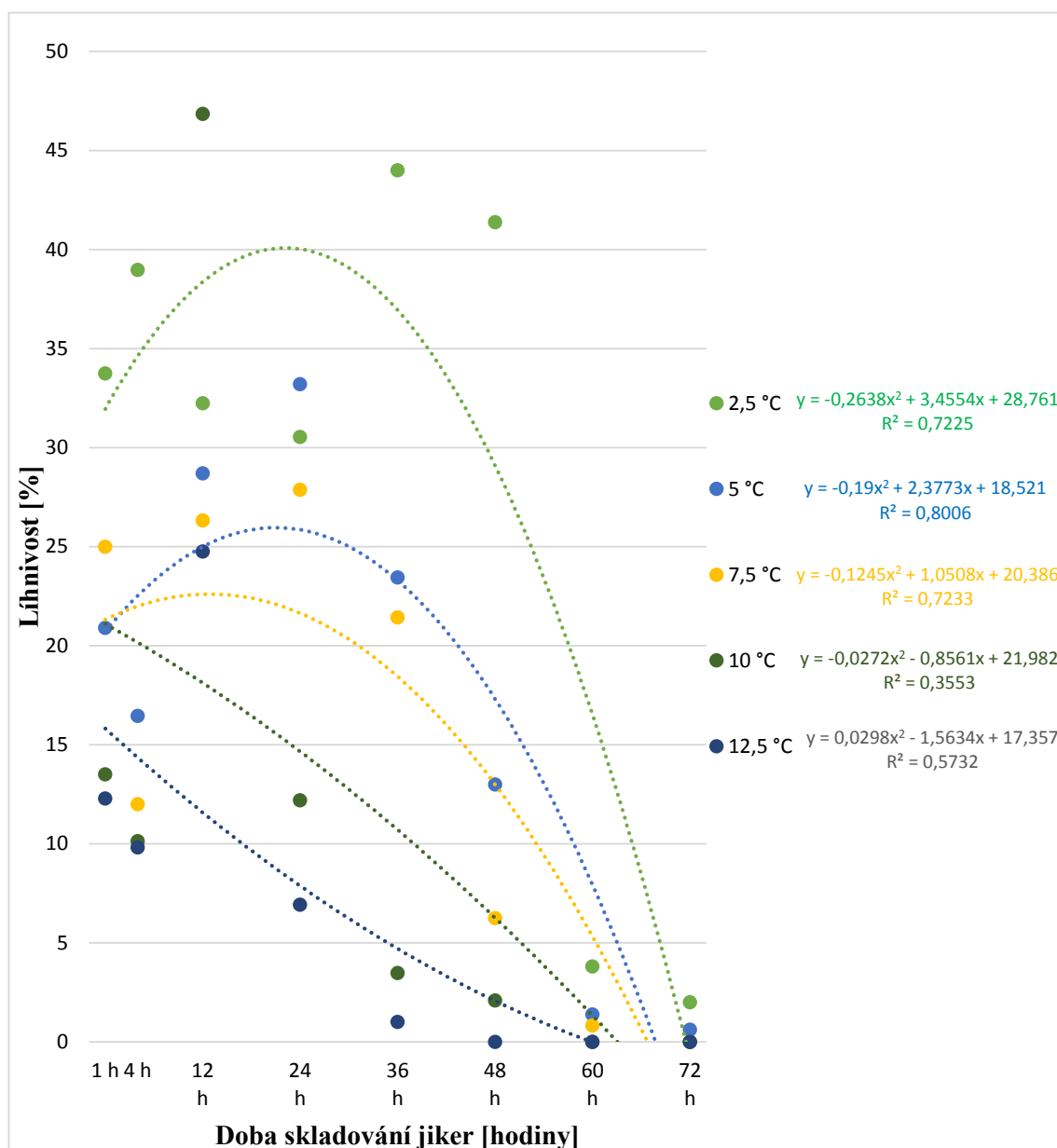
nejlepších výsledků líhivosti bylo dosaženo u skupin jiker, které byly skladovány a následně oplodněny do dvanácti hodin od umělého výtěru. V tomto časovém úseku bylo dosaženo nejvyšší hodnoty líhivosti 46,8 % při skladování neoplozených jiker v 10 °C a po 12 hodinách. Druhá nejvyšší hodnota líhivosti na úrovni 38,9 % byla zjištěna při skladování ve 2,5 °C a oplození po 4 hodinách. Při této teplotě pak byla pozorována i třetí nejvyšší líhivost, která se projevila na úrovni 33,8 % již po první hodině skladování.

Nejhorší hodnoty líhivosti byly naopak zjištěny při oplození jiker po 72 hodinách přechovávání, kdy při 2,5 °C a 5 °C dosahovala líhivost pouze zanedbatelná 2 % a 0,6 %. Podobně nízké výsledky byly zaznamenány i po 60 hodinách skladování při teplotách 2,5 °C, 5 °C a 7,5 °C, kdy se vykulo pouze 3,8 %, 1,4 % a 0,8 % jedinců. Jak nejvyšší teplota (12,5 °C), tak nejvyšší délka skladování (72 h) měli nejmarkantnější vliv na procento vykuleného plůdku. Při kombinaci těchto dvou extrémních hodnot, nebyl zaznamenán ani jeden vykulený jedinec. Nulová líhivost byla pozorována i při teplotách 7,5 °C a 10 °C a 72 hodinách skladování, stejně tak při 10 °C a 12,5 °C a 60 hodinách. K vykulení pak rovněž nedošlo ani po 48 hodinách skladování při 12,5 °C.



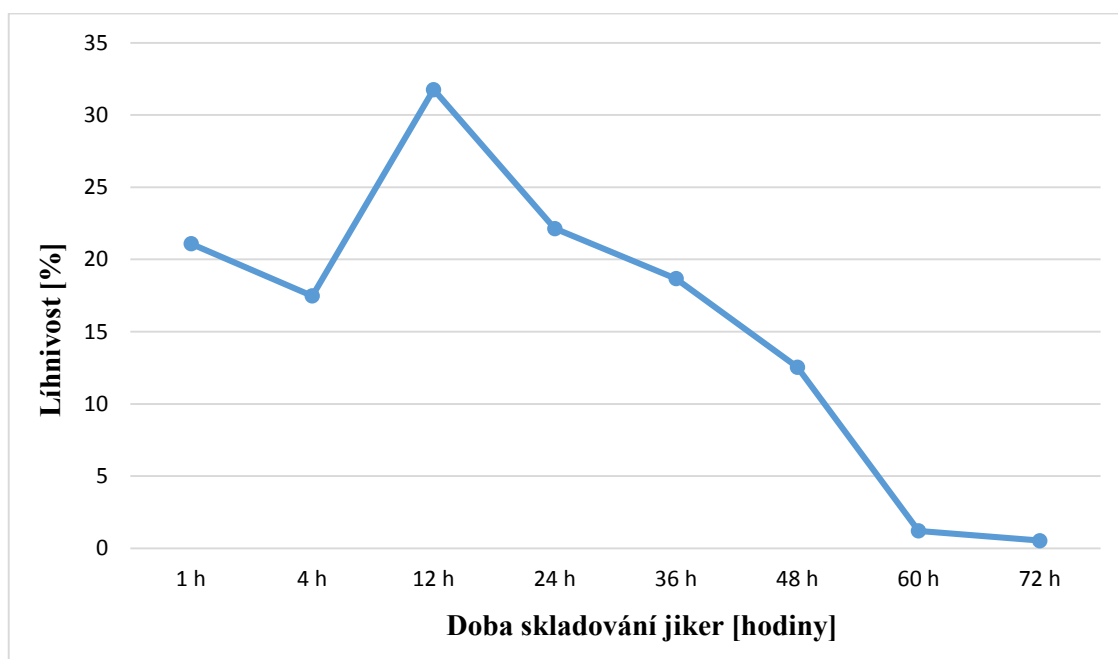
Graf 10. Vliv délky a teploty skladování neoplozených jiker na jejich líhivost (v % z celkového množství nasazených jiker).

Graf 7 rovněž znázorňuje průměrné procentuální hodnoty oplozenosti jiker v závislosti na době jejich skladování v neoplozeném stavu a také teplotě, při které byly neoplozené jikry uchovávány. Vynesené body v tomto grafu jsou proloženy křivkou, která znázorňuje chování časové řady a tendenci vývoje oplozenosti jiker při různých teplotách skladování.



Graf 11. Průměrné hodnoty líhivosti po skladování jiker při různých teplotách. Chování časové řady je znázorněno proloženými křivkami s vypočtenými koeficienty determinace, které udávají přesnost a spolehlivost výsledných hodnot.

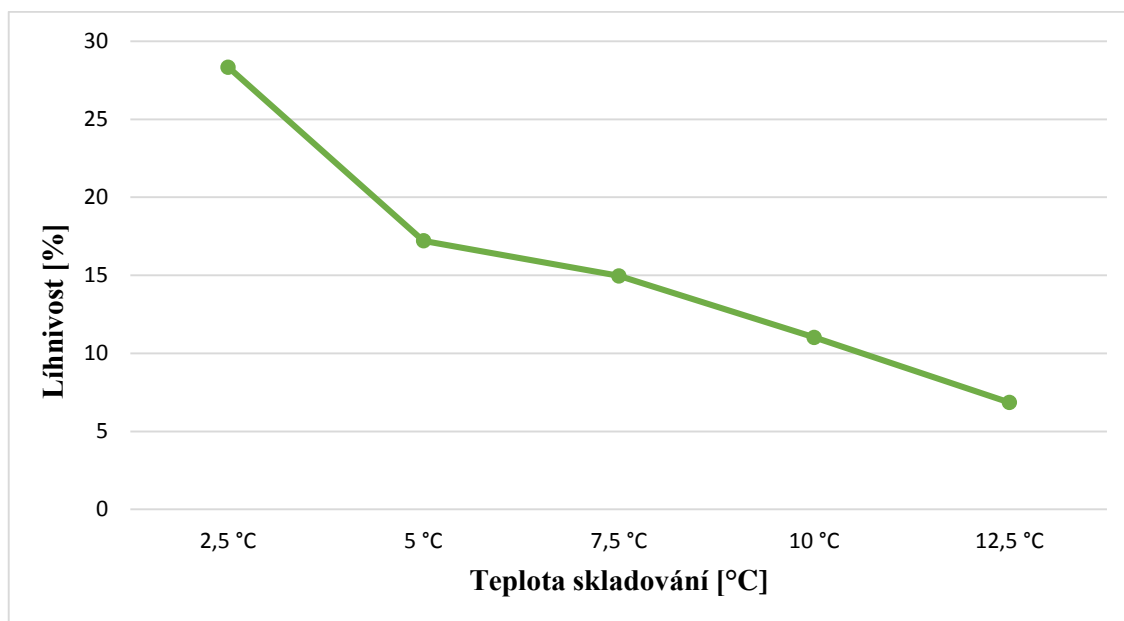
Graf 12 znázorňuje jednotlivé průměrné hodnoty líhivosti jiker síha peledě z osmi časových skupin, bez započtení vlivu teploty jejich skladování (jednotlivé teploty skladování pro dané časy jsou zprůměrovány v hodnoty vynesené v tomto grafu). V tomto grafickém znázornění je tedy zohledněn pouze vliv délky přechovávání neoplozených jiker. Z grafu můžeme konstatovat, že nejvyšší líhivosti bylo dosaženo po 12 hodinách skladování, a to konkrétně 31,8 %. Minimálně 20 % líhivosti bylo dosaženo po délce přechovávání jiker 1 a 24 hodin od výtěru, konkrétně 21 % a 22,1 %. Statisticky výrazný pokles líhivosti ($p = < 0,001$) se projevil po 60 hodinách skladování, kdy oplozenost klesla na hranici 1,2 %. Nejhorší líhivost byla zaznamenána po 72 hodinách skladování, kdy podíl vykuleného váčkového plůdku bylo pouze 0,5 %.



Graf 12. Vliv délky skladování neoplozených jiker na jejich líhivost (bez vlivu teploty uchování). Jednotlivé hodnoty v grafu reprezentují průměrné hodnoty líhivosti ze všech teplotních skupin daného časového intervalu

Graf 13 zobrazuje průměrné procentuální hodnoty líhivosti jednotlivých skupin, skladovaných v pěti přesně definovaných teplotách prostředí. Jednotlivé výsledky líhivosti v různých časových intervalech skladování (pro každou teplotu) byly zprůměrovány a vyneseny v tomto grafu. Hodnoty jsou zde tedy vyhodnoceny pouze jako

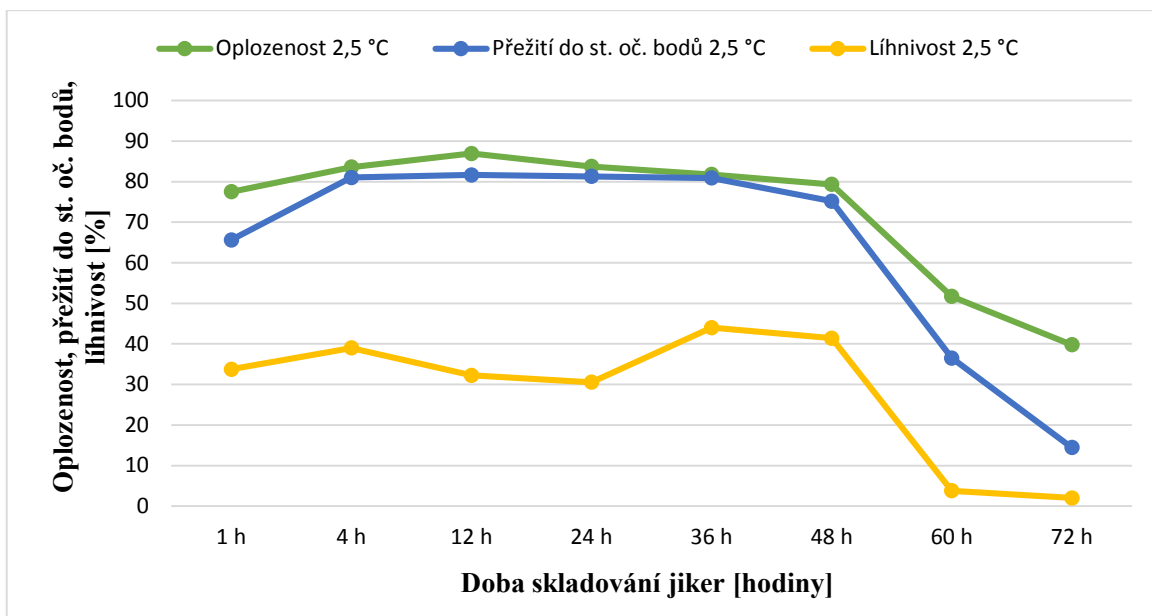
líhivost v závislosti na teplotě skladování jiker, kde délka přechovávání nehrála důležitou roli. Nejvyšší líhivost byla zaznamenána při nejnižší teplotě skladování, tedy při 2,5 °C, kdy hodnota líhivosti dosáhla 28,3 %. Při krátkodobém skladování při teplotách 5 °C a 7,5 °C se vykulo 17,2 % jedinců, respektive 15 %. Statisticky významný pokles byl zaznamenán při 12,5 °C, kdy bylo pozorováno nejméně vykulených jedinců a průměrná líhivost dosahovala pouze 6,8 %.



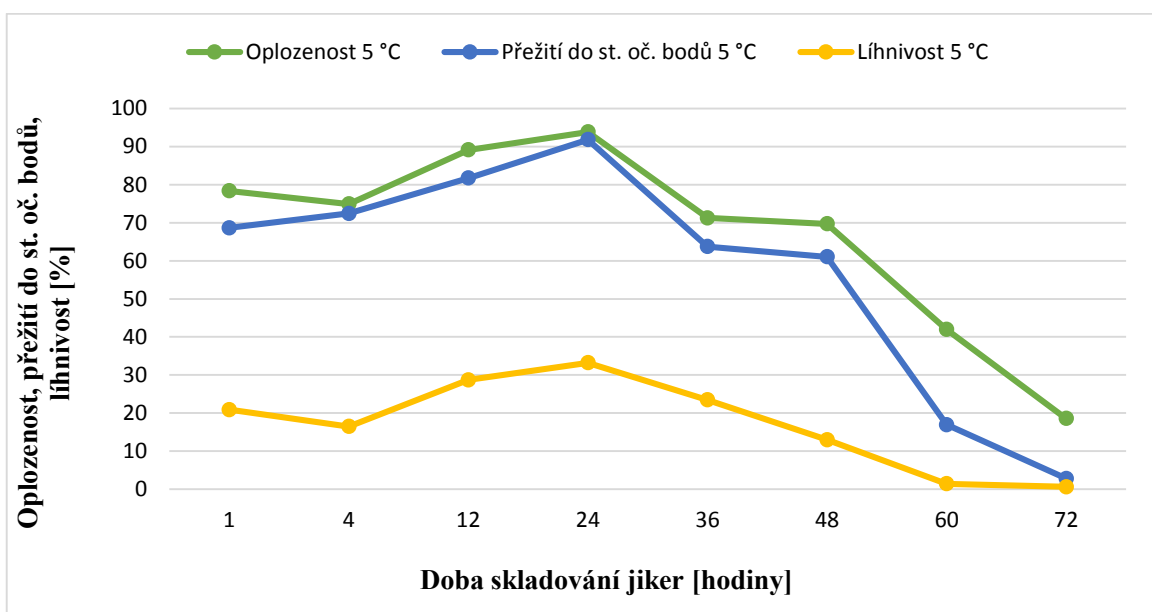
Graf 13. Vliv teploty skladování neoplozených jiker síha peledě na jejich líhivost, bez vlivu časového intervalu skladování. Jednotlivé výsledné hodnoty vynesené v tomto grafu jsou průměrnými hodnotami líhivosti pro dané teploty skladování, při všech časových intervalech přechovávání.

4.4 Souhrn optimálních hodnot

V grafech 14 a 15 jsou pro dvě teplotní skupiny skladování s neoptimálnějšími výsledky (2,5 °C a 5 °C), současně zobrazeny všechny sledované parametry, které zahrnují: průměrné hodnoty oplozenosti, přežití do stádia očních bodů a líhivosti. Veškeré průměrné hodnoty jsou vztažené k celkovému počtu nasazených jiker, tedy oplozených i neoplozených, a to s ohledem na délku skladování jiker před jejich oplozením.

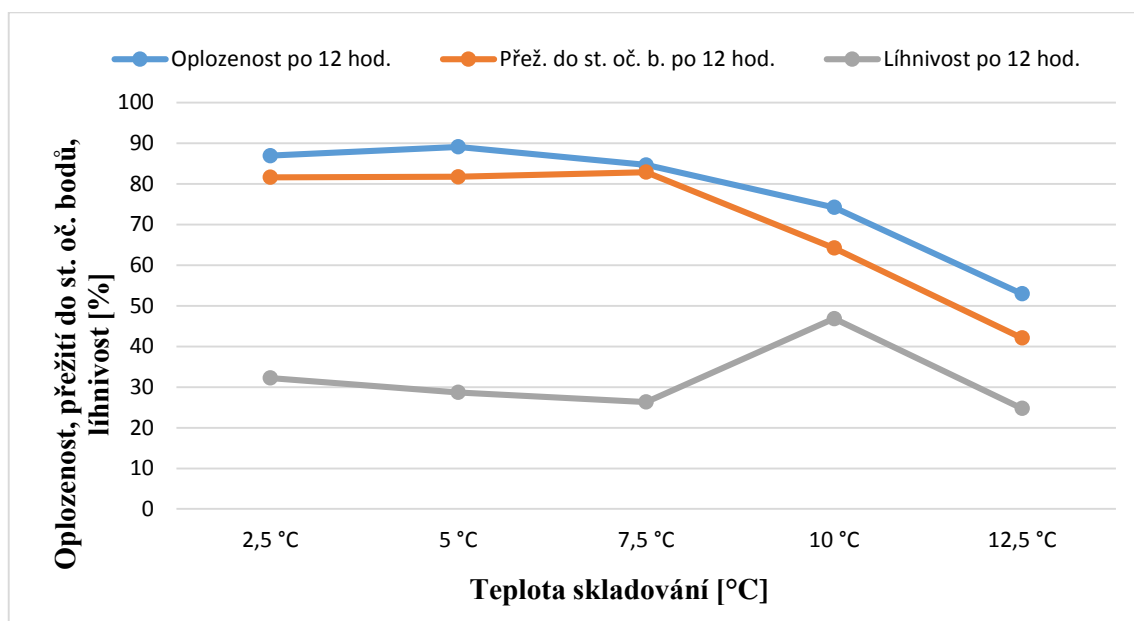


Graf 14. Souhrn oplozenosti, přežití do stádia očních bodů a líhivosti při teplotě 2,5 °C, v závislosti na délce skladování.



Graf 15. Souhrn oplozenosti, přežití do stádia očních bodů a líhivosti při teplotě 5 °C, v závislosti na délce skladování neoplozených jiker.

Graf 16 znázorňuje všechny sledované parametry (průměrné hodnoty oplozenosti, přežití do stádia očních bodů a líhnivosti), a to pro časový profil oplození po 12 hodinách od výtěru, který se vyznačuje celkově nejvyššími výsledky pro všechny tyto parametry. Veškeré průměrné hodnoty jsou vztažené k celkovému počtu nasazených jiker (oplozených i neoplozených), a to s ohledem na teplotu skladování jiker před jejich oplozením.



Graf 16. Souhrn oplozenosti, přežití do stádia očních bodů a líhnivosti při délce skladování 12 hodin, v závislosti na teplotě přechovávání neoplozených jiker.

5 Diskuze

Po vzoru chovu a umělé reprodukce ostatních lososovitých druhů ryb, je i síha peled' v současné světové akvakultuře i tradičních rybníkářských chovech rozmnožován umělým výtěrem, a to zejména suchou metodou, která je pro tento druh ryby rovněž velmi vhodná. Stejně jako při umělém výtěru většiny lososovitých ryb, se i u síha peledě běžně nepoužívá umělá hormonální stimulace ovulace jiker. Díky působení nejrůznějších biotických a abiotických faktorů, které ovlivňují synchronizaci a dozrávání pohlavních produktů, může být úspěšnost dozrávání v předem vytipované době v některých případech poměrně nejistá. Pro úspěšné načasování a stimulaci umělého výtěru, se zejména v posledních letech začínají využívat hormonální přípravky, které dokážou do určité míry tyto negativní vlivy eliminovat. Jelikož je ale umělý výtěr a jeho výše popsaná příprava z hlediska časového a manuálního rozvržení prací poměrně náročná, je nutné mít vše potřebné předem připravené a důkladně naplánované. Z důvodu eliminace možného nežádoucího poklesu oplozenosti nebo pohyblivosti spermií, se v běžné rybářské praxi při umělém výtěru postupuje tak, že se získané jikry a mlíčí co nejdříve a bez zbytečných proluk smísí a aktivují (oplodní). Tato zažitá praxe však nemusí vždy zaručit ty nejlepší výsledky. Tento rychlý postup může vést k nižší pečlivosti a tvorbě technologických chyb, které naopak mohou výrazně snížit reprodukční ukazatele (např. kontaminace gamet vodou, krví, močí...). Ve výjimečných případech může také dojít k nemožnosti okamžitého osemenění a následného oplození (např. při nemožnosti získání spermatu nebo nutném okamžitém převozu jiker z terénu na líheň) a je nutné vytřené jikry krátkodobě skladovat.

Cílem této práce bylo posoudit vliv délky skladování neoplozených jiker síha peledě při různých teplotách na oplozenost, přežití do stádia očních bodů a následnou líhivost tak, abychom mohli prokázat, zda je nutné dodržovat tradiční postupy umělého výtěru s okamžitým oplodněním jiker, nebo jestli je možné tento interval při dodržení určitých pravidel prodloužit. Popřípadě jakou dobu a při jaké teplotě můžeme neefektivněji převážet neoplozené jikry, např. při náhlých a nepředvídatelných situacích.

5.1 Umělý výtěr

K hormonální indukci ovulace jikernaček síha peledě byl využit český přípravek Supergestran®, který spolehlivě zabezpečil potřebnou stimulaci dozrávání oocytů a synchronizoval tak umělý výtěr všech jikernaček. Hormonální indukce ovulace síha peledě není příliš běžná, ale byla již několikrát v minulosti úspěšně vyzkoušena a použita (Švinger a Kouřil, 2013; Švinger a Kouřil, 2014). Vzhledem k malému množství generačních ryb a z důvodu zvýšení pravděpodobnosti načasování ovulace jikernaček jsme využili tento způsob indukce ovulace i u tohoto experimentu, a to konkrétně dle metodiky Švingera a Kouřila (2012). Ovulace u všech jikernaček bylo dosaženo po 7 - 12 dnech (14. – 19. 12.) od injekční aplikace první dávky přípravku, při počáteční teplotě 6,9 °C a následné konečné teplotě 6,7 °C (68 – 81,6 °D při průměrné teplotě vody 6,8 °C), což zhruba odpovídá i výsledkům experimentu Kouřila a kol. (2010), kde byl pozorován průměrný interval latence v rozmezí 10 – 12 dní (50 – 60 °D při průměrné teplotě vody 5 °C). Při samotném umělém výtěru pak bylo dosaženo standardních výsledků plodnosti jikernaček (relativní plodnost) udávaných literaturou (Hochman, 1987; Reshetnikov a Bogdanov, 2011), a to v průměru 71143 ± 5685 ks jiker/kg živé hmotnosti jikernaček.

5.2 Oplozenost

Ze získaných a vyhodnocených výsledků můžeme jednoznačně konstatovat, že teplota, při které jsou jikry před oplozením skladovány (2,5 °C, 5 °C, 7,5 °C, 10 °C, 12,5 °C), ovlivňuje jejich procento oplozenosti. Klesající trend oplozenosti při vyšších teplotách je pak rovněž umocňován delší dobou skladování jiker.

Nejen tedy teplota, ale i délka intervalu přechovávání má dle výsledků značný vliv na oplozenost jiker, a je možné tento parametr rovněž označit za jeden z hlavních faktorů ovlivňující výši oplozenosti. Pokusy s přechováváním neoplozených jiker v závislosti na teplotě nebo délce jejich skladování, byly bodem zájmu mnoha studií, a to u teplomilných i studenomilných druhů ryb. Žádná z nich se však nevěnovala této problematice u síha peledě. Námi získané výsledky tedy budou porovnány s ostatními příbuznými lososovitými druhy ryb.

Poznatky získané z dřívějších umělých výtěrů síha peledě ukazují, že výsledky oplozenosti v praxi jsou velmi variabilní, a to zejména v závislosti na kvalitě samotných jiker, spermatu použitého k oplození, pečlivosti a správnosti postupu při samotném umělém výtěru. Oplozenost se pak v pracovních podmínkách při využití suchých metod běžně pohybuje na úrovni 75 – 95 % (Pokorný a kol., 1998). Jelikož se kvalita jiker se zvyšující se délkou a teplotou skladování snižuje, snižuje se přirozeně rovněž schopnost oplozenosti. Při krátkodobém přechovávání je tedy úbytek míry oplozenosti naprosto normálním a běžným jevem. Úspěšnost skladování jiker je však možno při výběru vhodné teploty a délky skladování do určité míry optimalizovat. Withler a Morley (1968) již před mnoha lety ve své studii zjistili, že neoplozené jikry lososa nerky je možné při přirozené teplotě vody 8 – 9 °C úspěšně skladovat bez ztráty oplozenosti, ale jen po omezenou dobu (maximálně 12 hodin). Tuto dobu však dokázali prodloužit až na 70 hodin, a to snížením teploty prostředí na 2,9 °C. Dokázali tedy, že délku přechování neoplozených jiker za účelem co nejvyšší oplozenosti lze poměrně jednoduše optimalizovat, a to prostým snížením skladovací teploty. Obdobných výsledků bylo dosaženo i v našem experimentu, kdy při teplotách 10 °C až 12,5 °C bylo možné přechovávat jikry síha peledě po dobu 12 hodin s hodnotami oplozenosti 74,2 %, respektive 53 %. Tyto teploty jsou však pro tento druh ryby z hlediska výtěru extrémní a nevytře se při nich ani uměle, natož přirozeně. Nejvyšší hodnoty oplozenosti byly zjištěny při 5 °C po 24 hodinách skladování jiker, a to na úrovni 93,9 % a při stejné teplotě po 12 hodinách na úrovni 89,1 %. Nejvyšší výsledek oplozenosti z průměrných hodnot všech teplotních skupin činil 77,6 % po 12 hodinách skladování. Nejvyšší výsledek oplozenosti, vztažený pouze k teplotě skladování, se u síha peledě projevil průměrnou hodnotou 73 % při 2,5 °C. Nejlepších výsledků oplozenosti docílili Niksirat a kol. (2007a) stejně tak u jiker pstruha obecného, které byly skladovány rovněž při nižší teplotě 2 – 3 °C. Tato teplota skladování nijakým způsobem neovlivnila oplozenost, a to až do 48 hodin od výtěru. Toto dokládají i výsledky práce Billarda a kol. (1981), kteří rovněž u pstruha obecného dosáhli nejvyšších hodnot tohoto parametru (90 %) při uchovávání ve 4 °C, a to dokonce po 72 hodinách skladování. Nepatrně vyšších hodnot oplozenosti u obou výše uvedených studií, bylo dosaženo po okamžitém oplodnění jiker. Z námi zjištěných výsledků však vyplývá, že nejlepších hodnot oplozenosti nebylo kupodivu dosaženo po nejkratší době skladování 60 minut, což je běžná manipulační doba, po kterou bývají jikry před oplozením v rybářské praxi běžně uchovávány v podmínkách líhně, ale naopak po delších časových intervalech skladování

(4, 12 a 24 h). Tento fenomén zaznamenal např. Andoniu (2018) u lína obecného, kdy s ohledem na to, že se nejedná o studenomilný druh ryby (efektivní délka skladování neoplozených jiker je podstatně kratší), rovněž nebyla nejvyšší hodnota oplozenosti zaznamenána po bezprostředním oplození vytřených jiker, ale až po 1 – 1,5 h od jejich získání. Vždy však velmi záleží na kvalitě pohlavních produktů, které jsou pro oplození použity. Otázkou tedy také je, jaké faktory a vlivy prostředí jsou pro jejich kvalitu rozhodující a nejvíce jí ovlivňují.

Na základě námi získaných výsledků oplozenosti pro rozdílné teploty skladování lze pro praktické využití s co nejlepšími výsledky doporučit skladování jiker při 2,5 °C a 5 °C, a to při délkách skladování až do 48 hodin. Nejdelší vhodná délka skladování jiker, je pro všechny teploty, kromě nejvyšší (12,5 °C), 12 hodin.

5.3 Přežití do stádia očních bodů

Stádium očních bodů je pro kontrolu vývoje jiker lososovitých ryb důležitým mezníkem, který lze velmi jasně a jednoduše stanovit. Vzhledem k poměrně nízkým teplotám vody, při kterých jsou inkubovány jikry většiny lososovitých ryb, trvá jejich vývoj dle teploty i několik měsíců. Tato teplotní inhibice biologických procesů se rovněž negativně projevuje v rozpoznání oplozenosti jiker, kterou je krátce po aktivaci pohlavních produktů v provozních podmínkách jen velmi obtížné bezpečně stanovit. Neoplozené jikry se pak postupně (v horizontu i několika týdnů) projevují svým zbledáním a později i zaplísňením. Proto se v rybářské praxi velmi často používá místo hodnotícího kritéria oplozenosti hodnotící znak přežití do stádia očních bodů.

Výsledné hodnoty přežití do stádia očních bodů jsou s oplozeností úzce spojeny, neboť je logické, že do tohoto stádia může dospět pouze živá a vyvíjející se jikra. Z výše uvedených výsledků kritéria oplozenosti a vzájemné souvislosti s přežitím do stádia očních bodů je patrné, že i hodnota tohoto parametru přežití značně kolísá vlivem teploty a délky skladování. Dřívější studie u lososovitých ryb na toto téma například zjistily, že skladování jiker při nízkých teplotách je možné i po dobu několika dní, zatímco při vysokých teplotách (pro daný druh) je délka skladování zkrácena jen na několik hodin. To potvrzuje například výzkum Jensena a Alderdice (1984), kdy si skladované jikry lososa kety udrželi 90 % hladinu přežití po skladování při 3 °C po dobu 130 hodin. Při 12 °C již klesla doba skladování při zachování stejného procenta přežití na pouhých

33 hodin. Po 82 hodinách při stejné teplotě již přežilo pouze 28 % jiker. Při podobně vysoké teplotě, 12,5 °C jsme u síha peledě v našem pokusu zaznamenali nulové přežití, které bylo sledováno po 60 a 72 hodinách a dále po 72 hodinách při teplotě skladování 10 °C. Hodnoty mortality jiker zaznamenal při velmi podobných podmínkách také Billard a Gillet (1981) u pstruha duhového, a to přesněji po jejich 24 hodinovém skladování při 19 °C a po 52 hodinách při 10 °C. Výše popsané letální veličiny naopak vyvrací výsledky experimentu Goetze a Coffmana (2000), kdy u jiker pstruha duhového nebylo při 12 °C pozorováno výrazné snížení přežití, a to až po dobu 3 dnů. Tyto výsledky u pstruha duhového potvrdila i studie Bonneta a kol. (2003), která dospěla ke stejnému výsledku. Navíc bylo také zjištěno, že jikry pstruha duhového si dokážou při 12 °C udržet 50 % přežití do stádia očních bodů i po 9 dnech skladování. Naproti tomu jikry síha peledě si tuto hladinu přežití 50 % dokázaly udržet pouze po dobu 4 hodin skladování. Nejvyšších výsledků přežití do stádia očních bodů u síha peledě bylo dosaženo při 5 °C a 24 hodinách skladování. I když se tato délka skladování projevuje dvěma extrémními hodnotami, lze ji považovat ještě za vhodnou, zejména při teplotě 5 °C a 2,5 °C. Nejlepších průměrných výsledků přežití jiker u síha peledě v našem experimentu, bylo bez ohledu na délku uchovávání jednoznačně dosaženo při nejnižší teplotě skladování 2,5 °C na úrovni 64,6 %. Podobně nízká teplota (2 – 3 °C) se ukázala vhodná nejen při přechovávání jiker lososa kety viz výše (Jensen a Alderdice, 1984), ale i při skladování jiker pstruha obecného a lipana podhorního, které vykazovaly průměrné hodnoty přežití do stádia očních bodů na úrovni 75,3 %, respektive 72,3 % (Lahnstein a Weismann, 1999). Nejlepší průměrné hodnoty přežití jiker peledě bez ohledu na teplotu skladování byly sledovány u skupin jiker, které byly skladovány 12 hodin od výtěru, a to na úrovni 77,6 %. Jako nejlepší kombinace délky a teploty skladování se následně jeví uchovávání jiker po dobu 12 hodin při 2,5 °C, 5 °C a 7,5 °C, což konkrétně představovalo přežití na úrovni $82,1 \pm 0,57$ %. Dále se jako nejvhodnější pro rybářskou praxi opět jeví případné skladování jiker při teplotách 2,5 °C a 5 °C. Stejně jako u oplozenosti, tak i u parametru přežití do stádia očních bodů, nebyla pozorována nejvyšší procentuální hodnota oplozenosti všech teplotních skupin v nejkratším intervalu po výtěru, ale až po 4 hodinách skladování.

Na konec je nutno připomenout práci Švingera a Kouřila (2014), která upozorňuje na nižší přežití jiker síha peledě do stádia očních bodů, a to o 5 – 20 % při hormonálním zásahu jikernaček. Jelikož jsme i my v této práci využili aplikaci hormonálního přípravku

(Supergestran), může tedy tato skutečnost vysvětlovat některé nižší hodnoty přežití oproti ostatním, výše popsaným druhům.

5.4 Líhivost

Líhivost jiker, je obecně rovněž velmi úzce spojena s oplozeností a přežitím do stádia očních bodů. Důležité pro tento ukazatel je, jaký podíl z parametru oplozenosti (u teplomilných druhů ryb) nebo častěji z parametru přežití do očních bodů u lososovitých, připadne na výsledné hodnoty líhivosti. Vzhledem k výše diskutovaným výsledkům oplozenosti a přežití, které vykazují značnou variabilitu vzhledem k teplotě a délce skladování neoplozených jiker, se tedy budeme rovněž i u líhivosti potýkat s obdobnými závislostmi, které se přirozeně odvíjí od původních hodnot oplozenosti, respektive přežití jiker do stádia očních bodů. Z praktických (produkčních) důvodů, jsou výsledky tohoto parametru nejdůležitější, přímo zcela zásadní, neboť ukazují skutečné relativní množství vylíhnutého plůdku z původního množství vytřených, osemeněných a k inkubaci nasazených jiker.

Líhivost v tomto pokusu, byla stejně jako v experimentech se pstruhem duhovým (Lahnsteiner a Weismann, 1999; Bonnet a kol., 2003; Niksirat a kol., 2007b), pstruhem obecným (Niksirat a kol., 2007a), nebo i teplomilným sumečkem africkým (Borůvka, 2017), vypočítána z celkového počtu jiker, které byly nasazeny k inkubaci (tedy z oplozených i neoplozených jiker). Oproti tomu Andoniu (2019) při obdobném pokusu s línem obecným vypočítával procento líhivosti pouze z již oplozených, živých jiker, a to z důvodu zkreslování (snižování) výsledné úrovně oplozenosti. Touto metodou lze získat přesnější výsledky vlivu teploty a délky skladování na samotnou líhivost. Pro praxi je ale tato metoda z důvodu větší složitosti a zdlouhavého postupu méně vhodná, a to i proto, že v praxi je vždy důležitější spíše celkový výsledek.

Niksirat a kol. (2007b) sledovali líhivost krátkodobě skladovaných neoplozených jiker pstruha duhového při 2 – 3 °C. Zjistili, že jikry tohoto druhu vykazují i po 48 hodinách skladování průměrnou líhivost na úrovni 80,2 % a 67 % po devíti dnech skladování. Líhivostí skladovaných jiker u pstruha duhového se zabýval Holcom a kol. (2005). Ve své studii zjistili výrazné snížení líhivosti na úroveň pod 10 %, a to při skladování neoplozených jiker po 7 dnech, jen při nepatrně vyšší teplotě 4 °C. Při obdobné teplotě skladování (2,5 °C), bylo v našem pokusu u jiker síha peledě dosaženo

po stejné době skladování (48 hodin), zhruba o polovinu nižší líhivosti (44 %), než u pokusu Niksirata a kol. (2007b) se pstruhem duhovým. V případě nejdelší doby přechovávání (72 hodin), bylo oproti výsledkům obou výše diskutovaných prací (s ještě delší dobou skladování), dosaženo při podobně nízkých teplotách 2,5 °C a 5 °C, líhivosti pouze na úrovni pod 2 %. Celkové průměrné hodnoty líhivosti bez ohledu na teplotu skladování, jsou při této, pro jikry síha peledě extrémní hodnotě, na zanedbatelné úrovni 0,5 %. Oproti parametrům oplozenosti a přežití do stádia očních bodů, kdy byly pozorovány vyšší hodnoty těchto parametrů až po 4 hodinách skladování, se projevuje v tomto intervalu (oproti 1. hodině) nepatrné snížení líhivosti. Dále se pak prodlužuje interval nejefektivnějšího skladování na 12 hodin od výtěru, s průměrnou líhivosti 31,7 %. Při teplotě 12,5 °C, nebyl pozorován žádný vykulený jedinec již po 48 a více hodinách, dále rovněž po 60 a více hodinách při teplotě 10 °C, a po 72 hodinách při 7,5 °C. Stejný výsledek je patrný i z práce Billarda a Gilleta (1981), kdy rovněž po 60 hodinách při 10 °C nezaznamenali žádného vykuleného jedince pstruha duhového.

Námi získané výsledky líhivosti u jiker síha peledě, byly poměrně variabilní, ale opět zde jednoznačně nejlepších výsledků dosahují skupiny jiker, skladované při nejnižších teplotách 2,5 °C a 5 °C, které lze pro krátkodobé skladování jiker peledě považovat za nejvhodnější. Vyzdvihnout pak musíme teplotu 2,5 °C, která se na základě výsledků líhivosti, ukázala pro zisk co největšího možného počtu vykulených jedinců jako nejefektivnější. Z velmi vysokým úspěchem líhivosti lze skladovat jikry peledě při této teplotě až po dobu 48 hodin. S nepatrně nižšími hodnotami líhivosti lze do 24 hodin použít i teplotu 7,5 °C. Delší skladování než 12 hodin při nejvyšších teplotách 10 °C a 12,5 °C pak z praktického hlediska postrádá jakýkoli význam.

6 Závěr

Hlavním cílem této diplomové práce bylo osvětlit možnosti skladování vytřených a neoplozených jiker síha peledě s dosažením, pokud možno co nejvyšších výsledků oplozenosti, přežití do stádia očních bodů a zejména líhnivosti. Pro tento pokus bylo klíčové správné stanovení teplotních a časových intervalů skladování. Vzhledem k tomu, že podobný experiment u síha peledě ještě nikdo před tím neprováděl, byly tyto hodnoty stanoveny dle zkušeností získaných z předchozích experimentů s různými lososovitými rybami. Pro tento experiment byly tedy zvoleny následující teploty skladování jiker: 2,5 °C, 5 °C, 7,5 °C, 10 °C a 12,5 °C a tyto časové intervaly oplozování: 1, 4, 12, 24, 36, 48, 60, 72 hodin po umělém výtěru.

Oplozenost jiker byla zaznamenána u všech časových i teplotních intervalů skladování. Jako nejvhodnější varianta pro možnost krátkodobého skladování neoplozených jiker, se ukázala teplota 2,5 °C a 5 °C. V závislosti pouze na časovém intervalu skladování nebylo kupodivu dosahováno nejlepších očekávaných výsledků v nejkratším intervalu 1 hodiny, ale naopak až v časech 4 a 12 hodin.

Přechod do stádia očních bodů byl pozorovaný u všech časových i teplotních intervalů skladování. Tento parametr (s mírným navýšením mortality) víceméně kopíroval v daných časech a teplotách přechovávání výsledkové trendy oplozenosti. Pokles přežití byl pak nejmarkantnější při 60 a 72 hodinách skladování. Tyto dva nejdelší intervaly přechovávání v kombinaci s dvěma nejvyššími teplotami skladování pak již působili na jikry letálně, a proto u nich nemohl být pozorován přechod do tohoto stádia.

Líhnutí bylo rovněž zaznamenáno u všech časových i teplotních intervalů skladování. Nejvyšších hodnot bylo opět dosaženo při 2,5 °C a 5 °C. V závislosti na délce přechovávání je zjevné, že nejlepších výsledků tohoto parametru pak bylo dosaženo při oplodnění jiker po 1 a 12 hodinách od výtěru.

Pro získávání kvalitního a životaschopného plůdku v rybářské praxi, můžeme s ohledem na všechny dosažené parametry (oplozenost, přežití do stádia očních bodů a líhnivost), doporučit skladování neoplozených jiker při 2,5 °C a 5 °C, a to až do 48 hodin od umělého výtěru. Vzhledem ke zjištěným výsledkům je rovněž možné konstatovat, že bez ohledu na teplotu skladování, je nejvhodnější přechovávat neoplozené jikry peledě až do 12 hodin od výtěru. Na základě výsledků je tedy z chovatelského hlediska možné doporučit oplozovat jikry až po 12 hodinách od umělého výtěru.

7 Přehled použité literatury

- Aegerter, S., Jalabert, B. (2004). Effects of post-ovulatory oocyte ageing and temperature on egg quality and on the occurrence of triploid fry in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 231(1-4), 59-71.
- Amano, M. (2010). *Reproductive biology of salmoniform and pleuronectiform fishes with special reference to gonadotropin-releasing hormone (GnRH)*. Aqua-BioScience Monographs, 3(2), 39-72.
- Anderle, V. (1970). Některé zkušenosti z umělého odchovu síha marény v oblasti Státního rybářství ve Velkém Meziříčí. *Vertebratologické zprávy* (2): 81-82.
- Ando, H., Swanson, P., Kitani, T., Koide, N., Okada, H., Ueda, H., Urano, A. (2004). Synergistic effects of salmon gonadotropin-releasing hormone and estradiol-17 β on gonadotropin subunit gene expression and release in masu salmon pituitary cells in vitro. *General and Comparative Endocrinology*, 137(1), 109-121.
- Andoniu, A. (2019). Vliv teploty na udržení schopnosti oplození a líhnivosti při přechovávání neoplozených jiker u lína obecného. Diplomová práce, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. 92s.
- Baruš, V., Oliva, O. (1995). *Mihulovci - Petromyzontes a ryby – Osteichthyes*. Praha: Academia, 674 s.
- Billard, R., Breton, B. (1981). Vieillessement des ovules et potentialisation par la température des effets des micropolluants du milieu aqueux sur les gamètes chez la truite. *Cahiers du Laboratoire d'hydrobiologie de Montereau*, 12, 35-42.
- Billard, R., Marcel, J., Matei, D. (1981). Survie in vitro et post mortem des gametes de truite fario (*Salmo trutta fario*). *Canadian Journal of Zoology*, 59(1), 29-33.
- Bobe, J., Labbe, C. (2008). CHILLED STORAGE OF SPERM AND EGGS. *Methods in reproductive aquaculture: marine and freshwater species*, 219.
- Bobe, J., Labbé, C. (2010). Egg and sperm quality in fish. *General and comparative endocrinology*, 165(3), 535-548.
- Bonnet, É., JalaBert, B., BoBe, J. (2003). A 3-Day in vitro storage of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* unfertilised eggs in coelomic fluid at 12 C does not affect development success. *Cybium*, 27(1), 47-51.
- Borůvka, V. (2017). Vliv teploty na udržení schopnosti oplození a líhnivosti při přechovávání neoplozených jiker u keříčkovce červenolemého (*Clarias gariepinus*). Diplomová práce, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. 95s.

- Bromage, N., Jones, J., Randall, C., Thrush, M., Davies, B., Springate, J., Barker, G. (1992). *Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)*. *Aquaculture*, 100(1-3), 141–166.
- Brož, J., Hochman, L., Souček, K. (1972). Experiments with *Coregonus peled* culture in Telč State Fishery Farm. *Československo Rybníkářství* 3, 133-135.
- Cabrita, E., Robles, V., Herráez, P. (2008). *Methods in reproductive aquaculture: marine and freshwater species*. CRC press. 568s.
- Cejko, B. I., Sarosiek, B., Krejszeff, S., Judycka, S., Szczepkowski, M., Szczepkowska, B., Kowalski, R. K. (2016). Effects of different stripping methods of female and activation medium on fertilization success in northern pike (*Esox lucius*). *Czech Journal of Animal Science*, 61(10), 481-486.
- Dietrich, G. J., Wojtczak, M., Słowińska, M., Dobosz, S., Kuźmiński, H., Ciereszko, A. (2007). Broken eggs decrease pH of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) ovarian fluid. *Aquaculture*, 273(4), 748-751.
- Dubský, K. (2014). Chov ryb v rybnících: pro stavební zaměření. Vodňany: Střední rybářská škola a Vyšší odborná škola vodního hospodářství a ekologie, 194s.
- Dubský, K., Kouřil, J., Šrámek, V. (2003). *Obecné rybářství*. Praha: Informatorium, 308s.
- Fluchter, J. (1980). Review of the present knowledge of rearing whitefish (*Coregonidae*) larvae. *Aquaculture*, 19: 191-208.
- Freyhof, J., Kottelat, M. (2008). *Coregonus peled*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2008*
- Gillet, C., Breton, B., Mikolajczyk, T., Bodinier, P., Fostier, A. (2011). Disruption of the secretion and action of 17, 20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one in response to a rise in temperature in the Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. Consequences on oocyte maturation and ovulation. *General and Comparative Endocrinology*, 172(3), 392-399.
- Goetz, F. W., Coffman, M. A. (2000). Storage of unfertilized eggs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in artificial media. *Aquaculture*, 184(3-4), 267-276.
- Hajirezaee, S., Niksirat, H. (2009). In vitro storage of ova of Persian sturgeon, *Acipenser persicus* in ovarian fluid: the changes in the pH and osmolality of the ovarian fluid, fertilization and hatching rates. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(4), 3438-3442.
- Hakkari, L., Selin, P., Westman, K., & Mielonen, M. (1982). The food of the native whitefish (*Coregonus muksun* (Pallas)) and the introduced whitefish (*C. peled* (Gmelin)) stocked in the same small forest lakes in southern Finland. In *Documents presented at the symposium on stock enhancement in the management of freshwater fish*.
- Hanel, L. (2001). *Naše ryby a rybaření*. Brázda, Praha, 288s.

- Hanel, L., Lusk, S. (2005). *Ryby a mihule České republiky: rošíření a ochrana = Fishes and lampreys of the Czech Republic : distribution and conservation*. Vlašim: Český svaz ochránců přírody Vlašim, 448s.
- Hliwa, P., Demska-Zakes, K., Martyniak, A., Krol, J., Dietrich, G., Ciereszko, A. (2011). Regularities and anomalies in the structure of gonads in coregonid fishes. *Polish Journal of Natural Sciences*, 26(1).
- Hochman, L., (1987). Chov síhů. Vodňany: Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický ve Vodňanech, č. 1, s. 16.
- Holcomb, M., Cloud, J. G., Ingermann, R. L. (2005). Impact of bacteria on short-term storage of salmonid eggs. *Aquaculture Research*, 36(15), 1555–1561.
- Holčík, J. (1998). *Ichtyológia. Příroda*, Bratislava, 315s.
- Chen, Y. F. (2005). Induced ovulation and embryonic development of ocellated puffer, *Takifugu ocellatus*. *Journal of Applied Ichthyology*, 21(2), 136-140.
- Jensen, J. O. T., Alderdice, D. F. (1984). *Effect of temperature on short-term storage of eggs and sperm of chum salmon (Oncorhynchus keta)*. *Aquaculture*, 37(3), 251–265
- Jobling, M., Arnesen, A. M., Befey, T., Carter, C., Hardy, R., LeFrancois, N., O'Keefe, R., Koskela, J., Lamarre, S. (2010). The salmonids (family: Salmonidae). *Finfish aquaculture diversification*, 234-288.
- Kolářová, J., Velíšek, J., Nepejchalová, L., Svobodová, Z., Kouřil, J., Hamáčková, J., Máchová, J., Piačková, V., Hajšlová, J., Holadová, K., Kocourek, V., Klimánková, E., Modrá, H., Dobšíková, R., Groch, L., Novotný, L. (2012). *Anestetika pro ryby. Aktualiz. vyd. z r. 2007*. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, 28 s.
- Kortan J., Adámek Z. (2010). Determinace poranění ryb kormoránem velkým a ostatními rybožravými ptáky. *Edice metodik, FROV JU, Vodňany*, č. 100, 26 s.
- Kottelat, M., Freyhof, J. (2007). *Handbook of European freshwater fishes*. Publications Kottelat.
- Kouřil, J., Podhorec, P., Švinger, V. (2009). Hormonálně indukovaná umělá reprodukce ryb. 60 let výuky rybářské specializace na MZLU v Brně, 66-70.
- Kouřil, J., Švinger, V., Mikodina, E.V., Sedova, M.A., Pavlišta, R., Hamáčková, J. (2010). Induced and synchronized ovulation and other improvements of artificial reproduction in northern whitefish (*Coregonus peled*) using hormonal stimulation and anaesthesia. In: A.I. Litvinenko a Yu.S. Reshetnikov (eds). *Biology, Biotechnology of Breeding and Condition of Whitefish Stocks, VII. International Scientific and Practical Workshop, Tyumen (Russia)* s. 219—222.

- Kowalski, R. K., Cejko, B. I., Grudniewska, J., Dobosz, S., Szczepkowski, M., Sarosiek, B. (2020). A Comparison of Pneumatic and Hand Stripping of Whitefish (*Coregonus lavaretus*) Eggs for Artificial Reproduction. *Animals*, 10(1), 97.
- Kowalski, R. K., Sarosiek, B., Judycka, S., Dryl, K., Grudniewska, J., Dobosz, S., Cejko, B. I. (2018). Effectiveness of the air stripping in two salmonid fish, rainbow trout (*Oncorhynchus Mykiss*) and brown trout (*Salmo trutta Morpha fario*). *Journal of visualized experiments: JoVE*, (139).
- Lahnsteiner, F., Weismann, T. (1999). *Changes in Eggs of Brown Trout, Rainbow Trout, and Grayling during Short-Term Storage*. *North American Journal of Aquaculture*, 61(3), 213–219.
- Linhart, O. (1985). Použití oplozovacích roztoků při výtěru ryb. Edice metodik, VÚRH, Vodňany, č. 17, 13s.
- Linhart, O., Cheng, Y., Rodina, M., Gela, D., Tučková, V., Shelton, W. L., Xin, M. (2020). AQUA_2020_1080: Sperm management of European catfish (*Silurus glanis* L.) for effective reproduction and genetic conservation. *Aquaculture*, 529, 735620.
- Linhart, O., Pokorný, J. (1984). Hodnocení čerstvého spermatu ryb. Edice metodik, VÚRH, Vodňany, š. 14, 13 s.
- Linhart, O., Shelton, W., Tučková, V., Rodina, M., Siddique, M. (2015). *Effects of Temperature on In Vitro Short-Term Storage of Sterlet Sturgeon (Acipenser Ruthenus) Ova. Reproduction in Domestic Animals*, 51(1), 165–170.
- Luczynski, M., Mamcarz, A., Brzuzan, P., Demska-Zakes, K. (1999). Introgressive hybridization of the introduced peled (*Coregonus peled*) with the native whitefish (*Coregonus lavaretus*) threatens indigenous coregonid populations: a case study. *Genetics in sustainable fisheries management.*, 188-205.
- Lusk, S., Baruš, V., Vostradovský, J. (1992). *Ryby v našich vodách*. 2. vydání. Praha: Academia, 248 s.
- Lusk, S., Lusková, V. a Hanzel, L. (2010). Alien fish species in the Czech Republic and their impact on the native fish fauna. *Folia Zoologica*, 59(1), 57-72
- Mamcarz, A., Nowak, M. (1986). Rearing of coregonid fishes (*Coregonidae*) in illuminated lake cages: VI. Characteristics of the spawners of whitefish (*Coregonus lavaretus* L.) and peled (*Coregonus peled* Gmel.) from cage culture. *Aquaculture*, 55(1), 51-58.
- Ministerstvo zemědělství, (2009). *Situační a výhledová zpráva ryby*. 48s.
- Ministerstvo zemědělství, (2020). *Situační a výhledová zpráva ryby*. 47s.
- Mlíkovský, J., Stýblo, P. (2006). *Nepůvodní druhy fauny a flóry České republiky*. Praha: ČSOP, 496 s.

- Mylonas, C. C., Hinshaw, J. M., Sullivan, C. V. (1992). GnRHa-induced ovulation of brown trout (*Salmo trutta*) and its effects on egg quality. *Aquaculture*, 106(3-4), 379-392.
- Mylonas, C. C., Zohar, Y. (2007). Promoting oocyte maturation, ovulation and spawning in farmed fish. In *The Fish Oocyte*. Springer, Dordrecht. (pp. 437-474).
- Mylonas, C.C., Zohar, Y. (2001). Use of GnRHa-delivery systems for the control of reproduction in fish. *Reviews in fish biology and fisheries*, 10(4), 463-491.
- Nagahama, Y., Yamashita, M. (2008). Regulation of oocyte maturation in fish. *Development, growth & differentiation*, 50, 195-219.
- Niksirat, H., Sarvi, K., Amiri, B. M., Karami, M., Hatef, A. (2007a). In vitro storage of unfertilized ova of endangered Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*) in artificial media. *Animal reproduction science*, 100(3-4), 356-363.
- Niksirat, H., Sarvi, K., Mojazi Amiri, B., Hatef, A. (2007b). *Effects of storage duration and storage media on initial and post-eyeing mortality of stored ova of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss**. *Aquaculture*, 262(2-4), 528–531.
- Pankhurst, N. W., Thomas, P. M. (1998). Maintenance at elevated temperature delays the steroidogenic and ovulatory responsiveness of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* to luteinizing hormone releasing hormone analogue. *Aquaculture*, 166(1-2), 163-177.
- Peter, R. E., Yu, K. L. (1997). Neuroendocrine regulation of ovulation in fishes: basic and applied aspects. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 7(2), 173-197.
- Pokorný, J., Adámek, Z., Dvořák, J., Šrámek, V. (1998). Pstruhařství. *Informatorium, Praha*, 242 s.
- Pokorný, J., Dvořák, J., Šrámek, V. 1992. Umělý chov ryb. *Informatorium, Praha*, 271 s.
- Prokeš, M. (1975). Hand-stripping and embryonic development of *Coregonus peled* (Gmelin, 1788). *Zoologicke Listy*.
- Přihoda, J. (2006). Chov lososovitých ryb. *Style*. 209s.
- Reshetnikov, J. S., Muchachev, I. S. (1989). Maturity and reproduction of the peled. *The Peled *Coregonus Peled* (Gmelin, 1788 (Pisces: Coregonidae), Izd. Nauka, Moskva, pp 160–202.*
- Reshetnikov, Y. S. (2004). Coregonid fishes in Arctic waters. — *Ann. Zool. Fennici* 41: 3-11
- Reshetnikov, Y. S., Bogdanov, V. D. (2011). Features of reproduction of whitefishes. *Journal of Ichthyology*, 51(6), 432-456.
- Rizzo, E., Godinho, H. P., Sato, Y. (2003). Short-term storage of oocytes from the neotropical teleost fish *Prochilodus marginatus*. *Theriogenology*, 60(6), 1059-1070.
- Sanches, E. A., Okawara, R. Y., Caneppele, D., Neumann, G., Bombardelli, R. A., Romagosa, E. (2014). Storage of *Steindachneridion parahybae* oocytes at different temperatures. *Animal reproduction science*, 151(3-4), 262-268.

- Sidorov, G. P. (2010). Feeding of peled *Coregonus peled* (Coregonidae) in lakes of Bol'shezemel'skaya tundra. *Journal of Ichthyology*, 50(1), 89-99.
- Stejskal, V., Matousek, J., Podhorec, P., Prokesova, M., Zajic, T., Mraz, J. (2019). The Effect of Culture System on Proximate Composition and Amino and Fatty Acid Profiles of Peled *Coregonus peled* Fillets. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 28(9), 933-943.
- Stejskal, V., Matoušek, J., Prokešová, M., Kouřil, J. (2017). Vybrané aspekty odchovu síha peledě (*Coregonus peled* Gmelin) v intenzivních podmínkách recirkulačních systémů. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 165, 25 s.
- Suter, W. (1997). Roach rules: shoaling fish are a constant factor in the diet of cormorants *Phalacrocorax carbo* in Switzerland. *Ardea*, 85(1), 9-27.
- Szczerbowski, J. A., Mamcarz, A. (1984). Rearing of coregonid fishes (Coregonidae) in illuminated lake cages: II. Environmental conditions during fish rearing. *Aquaculture*, 40(2), 147-161.
- Švinger, V. W., Kouřil, J. (2012). *Hormonálně řízená reprodukce lososovitých ryb*. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod.
- Švinger, V. W., Kouřil, J. (2014). Synchronization of ovulation in cultured northern whitefish (*Coregonus peled*, Gmelin 1788) using [D-Arg6Pro9Net]-sGnRH analogue and its effect on egg quality. *Aquaculture Research*, 45(5), 834-847.
- Taranger, G. L., Stefansson, S. O., Hansen, T. (1992). Advancement and synchronization of ovulation in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) following injections of LHRH analogue. *Aquaculture*, 102(1-2), 169-175.
- Veneranta, L., Hudd, R., & Vanhatalo, J. (2013). Reproduction areas of sea-spawning coregonids reflect the environment in shallow coastal waters. *Marine Ecology Progress Series*, 477, 231-250.
- Withler, F. C., Morley, R. B. (1968). *Effects of Chilled Storage on Viability of Stored Ova and Sperm of Sockeye and Pink Salmon*. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 25(12), 2695-2699.

8 Přílohy

Tabulka 1. Celkové kusové množství nasazených jiker v jednotlivých inkubačních aparátech.

Teplota Čas	2,5 °C	5 °C	7,5 °C	10 °C	12,5 °C
1 hod.	160	268	212	237	179
4 hod.	195	243	250	237	224
12 hod.	245	230	228	190	202
24 hod.	203	244	183	295	231
36 hod.	225	226	224	201	198
48 hod.	145	254	240	191	178
60 hod.	263	360	241	183	241
72 hod.	249	323	173	159	203

Tabulka 2. Celkové kusové množství oplozených jiker.

Teplota Čas	2,5 °C	5 °C	7,5 °C	10 °C	12,5 °C
1 hod.	124	210	143	140	126
4 hod.	163	182	182	152	176
12 hod.	213	205	193	141	107
24 hod.	170	229	125	189	51
36 hod.	184	161	97	80	26
48 hod.	115	177	81	37	43
60 hod.	136	151	76	23	11
72 hod.	99	60	22	23	0

Tabulka 3. Celková oplozenosti jiker (v %).

Teplota Čas	2,5 °C	5 °C	7,5 °C	10 °C	12,5 °C
1 hod.	77,5	78,3582	67,4528	59,0717	70,3911
4 hod.	83,5897	74,8971	72,8	64,135	78,5714
12 hod.	86,9388	89,1304	84,6491	74,2105	52,9703
24 hod.	83,7438	93,8525	68,306	64,0678	22,0779
36 hod.	81,7778	71,2389	43,3036	39,801	13,1313
48 hod.	79,3103	69,685	33,75	19,3717	24,1573
60 hod.	51,711	41,9444	31,5353	12,5683	4,56432
72 hod.	39,759	18,5759	12,7168	14,4654	0

Tabulka 4. Celkové kusové množství přeživších jiker do stádia očných bodů.

Teplota Čas	2,5 °C	5 °C	7,5 °C	10 °C	12,5 °C
1 hod.	105	184	118	98	84
4 hod.	158	176	142	117	117
12 hod.	200	188	189	122	85
24 hod.	165	224	117	162	29
36 hod.	182	144	72	21	10
48 hod.	109	155	74	15	23
60 hod.	96	61	3	7	0
72 hod.	36	9	1	0	0

Tabulka 5. Celkové přežití jiker do stádia očných bodů (v %).

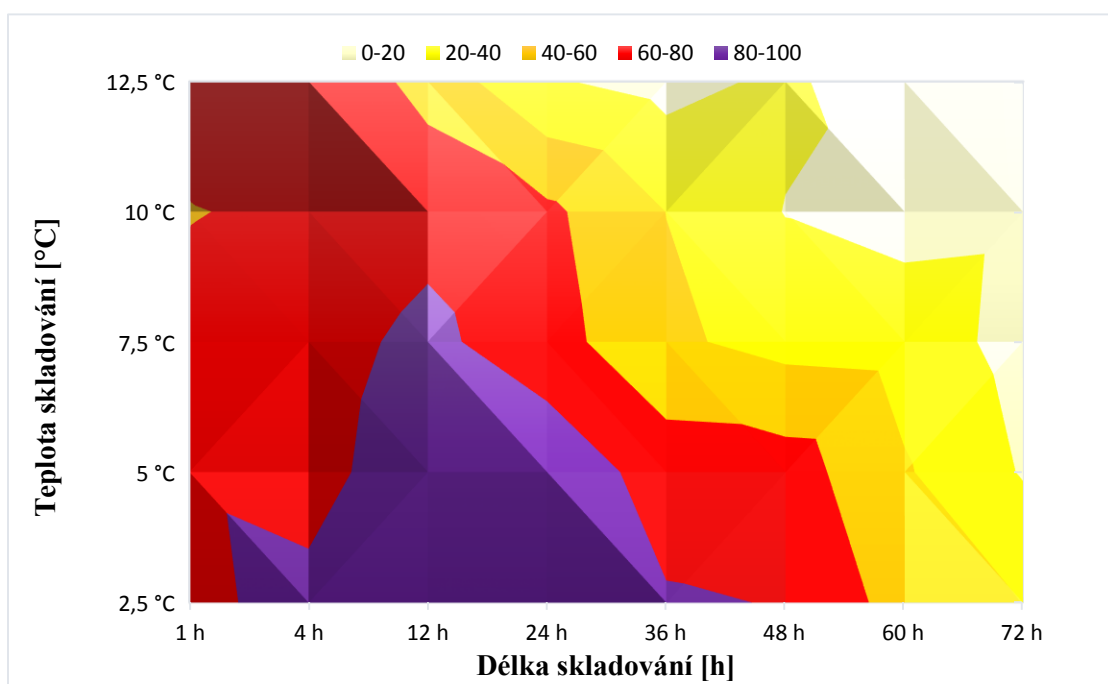
Teplota Čas	2,5 °C	5 °C	7,5 °C	10 °C	12,5 °C
1 hod.	65,625	68,6567	55,6604	41,3502	46,9274
4 hod.	81,0256	72,428	56,8	49,3671	52,2321
12 hod.	81,6327	81,7391	82,8947	64,2105	42,0792
24 hod.	81,2808	91,8033	63,9344	54,9153	12,5541
36 hod.	80,8889	63,7168	32,1429	10,4478	5,05051
48 hod.	75,1724	61,0236	30,8333	7,8534	12,9213
60 hod.	36,5019	16,9444	1,24481	3,82514	0
72 hod.	14,4578	2,78638	0,57803	0	0

Tabulka 6. Celkové kusové množství vykulených jedinců.

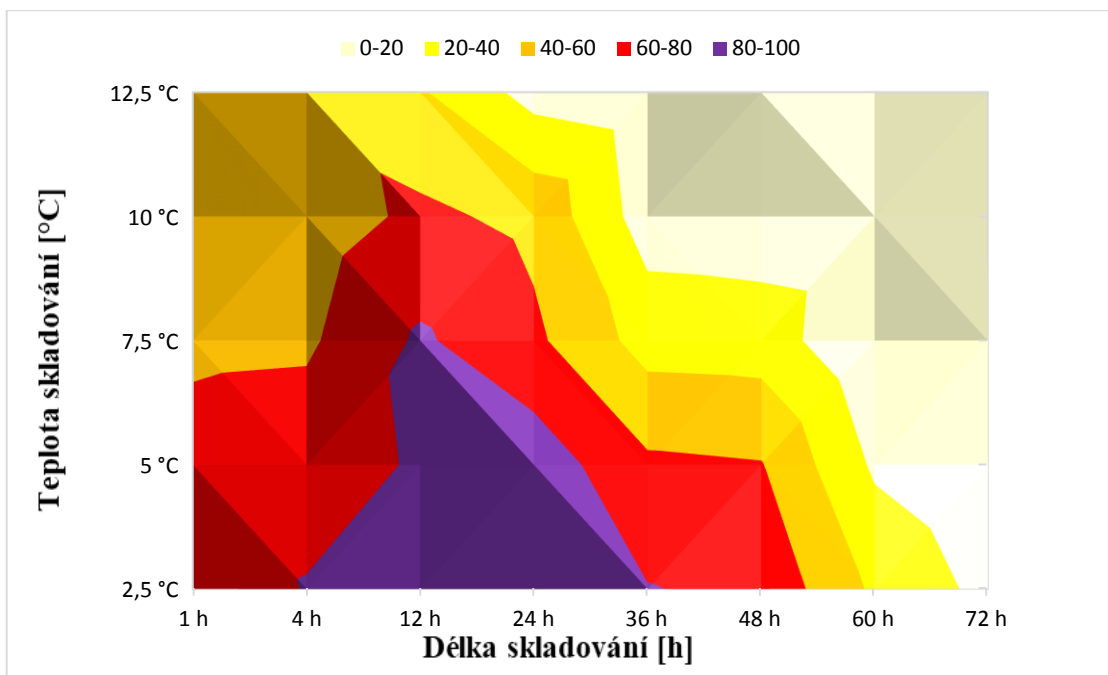
Teplota Čas	2,5 °C	5 °C	7,5 °C	10 °C	12,5 °C
1 hod.	54	56	53	32	22
4 hod.	76	40	30	24	22
12 hod.	79	66	60	89	50
24 hod.	62	81	51	36	16
36 hod.	99	53	48	7	2
48 hod.	60	33	15	4	0
60 hod.	10	5	2	0	0
72 hod.	5	2	0	0	0

Tabulka 7. Celková líhnivost (v %).

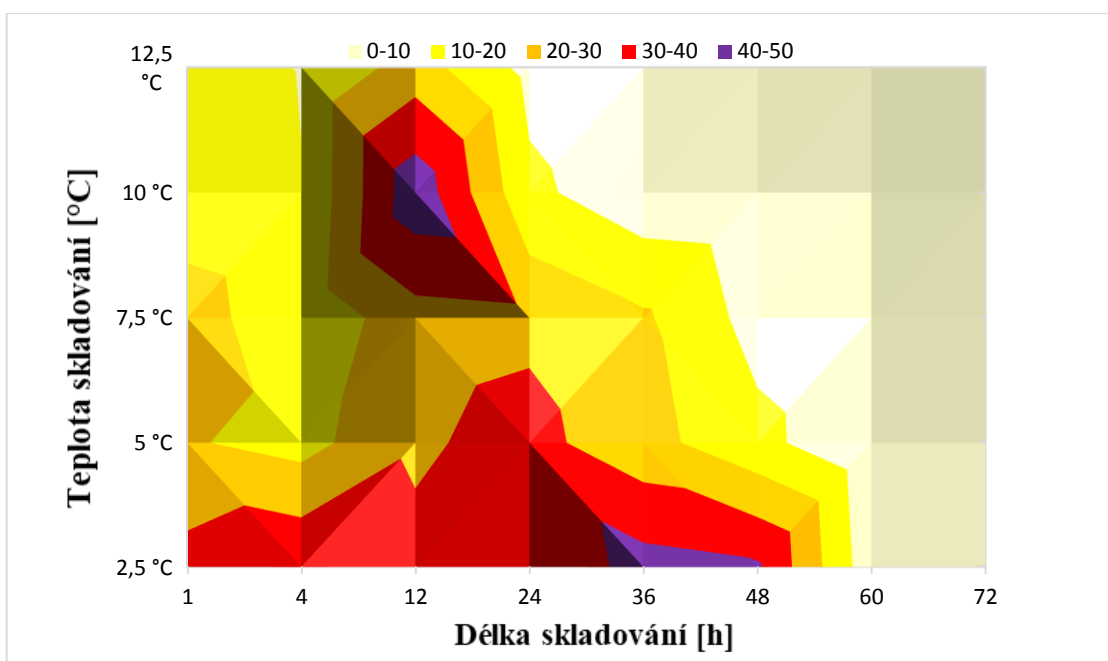
Teplota Čas	2,5 °C	5 °C	7,5 °C	10 °C	12,5 °C
1 hod.	33,75	20,8955	25	13,5021	12,2905
4 hod.	38,9744	16,4609	12	10,1266	9,82143
12 hod.	32,2449	28,6957	26,3158	46,8421	24,7525
24 hod.	30,5419	33,1967	27,8689	12,2034	6,92641
36 hod.	44	23,4513	21,4286	3,48259	1,0101
48 hod.	41,3793	12,9921	6,25	2,09424	0
60 hod.	3,80228	1,38889	0,82988	0	0
72 hod.	2,00803	0,6192	0	0	0



Graf 17. Lépe graficky znázorňuje podstatu grafu 2, tedy vliv konkrétních teplotních a časových úseků skladování na oplozenost jiker síha peledě, vyobrazený v procentuální škále v intervalech 20 %. Nejlepší a nejhorší výsledky jsou vykresleny nejtmaší, respektive nejsvětější barvou.



Graf 18. Lépe graficky znázorňuje podstatu grafu 6, tedy vliv konkrétních teplotních a časových úseků skladování na přežití jiker síha peledě do stádia očných bodů, vyobrazený v procentuální škále v intervalech 20 %. Nejlepší a nejhorší výsledky jsou vykresleny nejtmaší, respektive nejsvětější barvou.



Graf 19. Lépe graficky znázorňuje podstatu grafu 10, tedy vliv konkrétních teplotních a časových úseků skladování na líhivost jiker síha peledě, vyobrazený v procentuální škále v intervalech 10 %. Nejlepší a nejhorší výsledky jsou vykresleny nejtmaší, respektive nejsvětější barvou.

9 Abstrakt

Vliv teploty na schopnost oplození a líhnivosti při krátkodobém skladování neoplozených jiker síha peledě (*Coregonus peled*).

Síh peled' *Coregonus peled* (Gmelin, 1788), původem z Ruska, byl pro své chutné maso a dobré růstové schopnosti, v roce 1970 introdukován i do České republiky. Chov tohoto druhu byl v minulosti velmi oblíbený. Dnes ale zejména díky rybožravým predátorům, chovaných síhů v rybníkářství rapidně ubývá. Cílem této diplomové práce bylo shrnutí dostupných informací z oblasti biologie síha peledě, umělé reprodukce a dále také informace o vlivu teploty na schopnost oplození a líhnivosti při krátkodobém skladování neoplozených jiker u ostatních lososovitých druhů ryb. V praktické části pak bylo sledováno, jaký vliv mají teplota a délka skladování uměle vytřených, neoplozených jiker peledě na oplozenost, přežití do stádia očních bodů a líhnivost. Neoplozené jikry byly po výtěru rozděleny do pěti misek a uloženy do termoizolačních boxů, které byly vytemperovány na teploty 2,5; 5; 7,5; 10 a 12,5 °C. Po časových intervalech 1, 4, 12, 24, 36, 48, 60 a 72 hodin, bylo z každého termoboxu odebráno cca 100 – 200 jiker, které byly osemeněny čerstvě odebraným spermatem od více mlíčáků a aktivovány vodou z líhně. Oplozené a pročištěné jikry byly nasazeny do inkubačních přístrojů s přítokem čisté vody. Odumřelé jikry byly odstraňovány a zaznamenávány. Následně se stanovila oplozenost, přežití do stádia očních bodů a líhnivost. Výsledné hodnoty těchto parametrů byly vyjádřeny v procentech z celkového množství nasazených jiker. Vysoké úrovně oplozenosti a přežití do stádia očních bodů, bylo dosahováno při skladování do 1 dne od výtěru u všech teplot, kromě nejvyšší teploty 12,5 °C. S postupným prodlužováním intervalu se také snižovaly parametry oplozenosti a přežití, a to nejzřetelněji u teplot 7,5 a 10 °C. Pro získání co největšího množství plůdku v rybářské praxi, lze doporučit skladování jiker při 2,5 a 5 °C, a to až do 48 hodin od umělého výtěru. Při vyšších teplotách se efektivní doba skladování zkracuje na 12 hodin. Skladování jiker po delší dobu než 48 hodin, již z praktického hlediska nemá smysl. Současně bylo zjištěno, že při výše uvedených optimálních teplotách pro skladování jiker (2,5 a 5 °C) je nejlepšími výsledky líhnivosti dosaženo při skladování uměle vytřených jiker v délce 12 hodin. Nejen při delších, ale i při kratších délkách skladování byly hodnoty tohoto parametru nižší.

Klíčová slova: Síh peled', umělý výtěr, skladování jiker, oplozenost, přežití, líhnivost.

10 Abstract

Influence of temperature on the ability of fertilization and hatching during short-term storage of unfertilized eggs of northern whitefish (*Coregonus peled*).

The northern whitefish *Coregonus peled* (Gmelin, 1788), originally from Russia, was introduced to the Czech Republic in 1970 for its tasty meat and good growth ability. Breeding of this species has been very popular in the past. Currently, thanks to the fish-eating predators, traditional breeding of this species is on decline. The aim of this M. Sc. Thesis was to summarize the available information in the field of peled biology, artificial propagation and also information about effect of temperature on the ability of fertilization and hatching for short-term of unfertilized eggs in other salmonid species. In the practical part, the influence of temperature and length of storage of stripped, unfertilized eggs of peled on fertilization, survival to eyed eggs and hatching were observed. Unfertilized eggs were divided into five bowls and deposited in thermo boxes, which were tempered to 2.5, 5, 7.5, 10 and 12.5 °C. After time intervals of 1, 4, 12, 24, 36, 48, 60 and 72 hours, approximately 100 – 200 eggs were taken from each thermobox, which were fertilized with fresh sperm (collected from several males) and water from the hatchery. The fertilized and purified eggs were moved to the incubators with continuously inflow of fresh water. Dead eggs were removed and recorded. Subsequently, fertilization, eyed eggs and hatching eggs were determined. The resulting values of these parameters were expressed as a percentage of the total number of used eggs. High levels of fertilization and survival to eyed eggs were achieved when stored within 1 day from eggs stripping at all temperatures except the highest temperature of 12.5 °C. As the interval gradually lengthened, the fertilization and survival parameters also decreased, most notably at 7.5 and 10 °C. To obtain the largest possible amount of fry in fishing practice, it is recommended to store eggs at 2.5 and 5 °C, up to 48 hours after ova stripping. At higher temperatures, the effective storage time is reduced to 12 hours. Storing eggs for longer than 48 hours, in practical terms has no meaning. At the same time, it was found that at the above-mentioned optimal temperatures for storing eggs (2.5 and 5 °C), the best hatching results were obtained when storing stripped eggs for 12 hours. Not only for longer, but also for shorter storage lengths, the values of this parameter were lower.

Keywords: Northern whitefish, artificial propagation, ova storage, fertilization, eyed eggs, hatching.