

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**

**Fakulta rybářství a ochrany vod**

**Ústav akvakultury a ochrany vod**

Diplomová práce

**Vliv teploty na udržení schopnosti oplození a líhnivosti při  
přechovávání neoplozených jiker u lína obecného**

**Autor:** Bc. Andreas Andoniu

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

**Konzultant diplomové práce:** Mgr. Peter Podhorec, Ph.D.

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

**Forma studia:** Prezenční

**Ročník studia:** 2.

České Budějovice, 2019

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že, v souladu s § 47 b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění, souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě, případně v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných FROV JU. Zveřejnění probíhá elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce.

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

Dne 3. 5. 2019

Podpis studenta: \_\_\_\_\_

## **Poděkování**

Děkuji vedoucímu své diplomové práce prof. Ing. Janu Kouřilovi, Ph.D., za jeho ochotu, odbornou pomoc, metodické vedení a poskytnuté rady jak během experimentu, tak i při vytváření této diplomové práce. Taktéž bych rád poděkoval Ing. Petru Císařovi Ph.D., za pomoc při statistickém vyhodnocení dat. Dále bych chtěl poděkovat Ing. Radku Luhanovi za poskytnutí zázemí, prostor a generačních ryb k provedení experimentu. Velký dík také patří Ing. Jakobovi Starému za pomoc během experimentu. V neposlední řadě bych rád poděkoval své rodině za podporu při studiu a psaní této diplomové práce.

# JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Fakulta rybářství a ochrany vod

Akademický rok: 2018/2019

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Andreas ANDONIU**  
Osobní číslo: **V17N002P**  
Studijní program: **N4106 Zemědělská specializace**  
Studijní obor: **Rybářství a ochrana vod**  
Téma práce: **Vliv teploty na udržení schopnosti oplození a líhivosti při přechovávání neoplozených jiker u lína obecného (*Tinca tinca*)**  
Zadávací katedra: **Ústav akvakultury a ochrany vod**

### Zásady pro vypracování

Cílem práce je ověřit možnost krátkodobého uchování uměle vytřených neoplozených jiker lína obecného v závislosti na teplotě prostředí před jejich osetím, 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 problematiku řízení reprodukce lína obecného, včetně metod polomělého a hormonálně indukovaného umělého výtěru, imobilizace spermií, odlepkování a inkubace jiker a dále informace o vlivu teploty na schopnost oplození a líhivosti při přechovávání neoplozených jiker u jiných druhů ryb.

Experimentální část bude spočívat v rozdělení neosemeněných jiker bezprostředně po jejich hormonálně indukovaném umělém výtěru do samostatných izotermických kontejnerů, v nichž je udržována teplota 5; 10; 15; 20; 25 a 30 °C. Z nich budou v určených termínech (0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4; 6; 8 hodin) odebrány malé vzorky jiker (odhadem kolem 50 kusů) a nasazovány bezprostředně před jejich osetím a aktivací vodou, bez jejich odlepkování. K pokusu bude využita směs jiker 3 současně uměle vytřených jikernaček. K osetí bude využito imobilizovaných spermií. Všechny kombinace délek přechovávání neoplozených jiker a teploty budou 3krát opakovány. Po osetí/oplození a propláchnutí vodou (s cílem odstranění spermií) inkubovány při optimální teplotě v miskách s vodou. V průběhu inkubace bude v miskách několikrát denně měněna voda.

Vyhodnoceno bude % oplozených a neoplozených jiker, % celkem vykulených embryí a % vykulených deformovaných embryí. Všechny sledované parametry budou statisticky vyhodnoceny a bude testována průkaznost dosažených rozdílů.

Rozsah pracovní zprávy: **50-70 stran**  
Rozsah grafických prací: **dle potřeby (do 20 stran)**  
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

#### Seznam doporučené literatury:

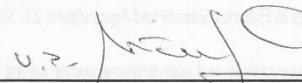
- Borůvka, V. 2017. Vliv teploty na udržení schopnosti oplození a líhivosti při přechovávání neoplozených jiker u keříčkovce červenolehmého. Diplomová práce, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, 95 s.
- Kouřil, J., Podhorec, P., Stejskal, V., Polícar, T., Kříšťan, J., Drozd, B. 2011. Optimalizace metod hormonálně indukované ovulace při řízené reprodukci vybraných hospodářsky významných teplomilných druhů ryb, Edice Metodik 120, 26 s.
- Let, M. 2016. Vliv teploty při krátkodobém uchování jiker jesetera malého, *Acipenser ruthenus*, in vitro. České Budějovice, Bakalářská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod.
- Peňáz M., Wohlgemuth E., Hamáčková J., Kouřil J., 1981. Early ontogeny of the tench, *Tinca tinca* L. Embryonic period. Folia Zool. 30 (2), 165-176.
- Samarin, A.M., Polícar, 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., Blecha, M., Uzhytchak, M., Bytyutsky, D., Žarski, D., Flajshans M., Polícar, T. 2016. Post-ovulatory and post-stripping oocyte ageing in northern pike, *Esox lucius* (Linnaeus, 1758), and its effect on egg viability rates and the occurrence of larval malformations and ploidy anomalies. Aquaculture 450: 431-438.
- 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.  
Samarin, A., Blecha, M., Bytyutskyy, D., Policar, T. 2015. Post-ovulatory oocyte ageing in pikeperch (*Sander lucioperca* L.) and its effect on egg viability rates and the occurrence of larval malformations and ploidy anomalies. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 15: 435-441.  
Samarin, A., Gela, D., Bytyutskyy, D., Policar, T. 2015. Determination of the best post-ovulatory stripping time for the common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758). *Journal of Applied Ichthyology*, 31(Suppl. 2): 51-55.  
Samarin, A.M., Žarski, D., Palińska-Zarska, K., Krejszeff, S., Blecha, M., Kucharczyk, D., T. Policar, T., 2017. *In vitro* storage of unfertilized eggs of the Eurasian perch and its effect on egg viability rates and the occurrence of larval malformations. *Animal*, 11(1): 78-83.

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

Datum zadání diplomové práce: **29. března 2019**  
Termín odevzdání diplomové práce: **3. května 2019**

V Českých Budějovicích dne 1. dubna 2019

  
prof. Ing. Pavel Kozák, Ph.D.  
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA  
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
FAKULTA RYBÁŘSTVÍ A OCHRANY VOD  
Zátiší 15, II  
389 25 Vodňany (2)

  
Ing. Jan Kašpar  
ředitel

# Obsah

<b>1. Úvod .....</b>	<b>9</b>
<b>2. Literární přehled.....</b>	<b>11</b>
2.1. Biologie lína obecného ( <i>Tinca tinca</i> ).....	11
2.1.1. Systematické zařazení a geografické rozšíření.....	11
2.1.2. Historie chovu a produkce lína obecného ( <i>Tinca tinca</i> ).....	12
2.1.3. Morfologie a popis těla.....	13
2.1.4. Projevy chování .....	13
2.1.5. Potravní nároky .....	14
2.1.6. Pohlavní dimorfismus u lína obecného ( <i>Tinca tinca</i> ).....	14
2.1.7. Reprodukční charakteristika a přirozený výtěr.....	15
2.1.8. Poloumělý výtěr.....	16
2.2. Umělý výtěr.....	17
2.2.1. Působení hormonů a hormonální řízení.....	17
2.2.2. Hormonálně řízený umělý výtěr lína obecného ( <i>Tinca tinca</i> ).....	19
2.2.3. Délka intervalu latence .....	20
2.2.4. Osemenění, aktivace a oplození jiker .....	21
2.2.5. Odlepkování jiker .....	22
2.2.6. Inkubace a kulení váčkového plůdku .....	23
2.3. Pokusy s uchováním neoplozených jiker .....	23
2.3.1. Dřívější pokusy na krátkodobé uchování neoplozených jiker.....	24
<b>3. Materiál a metodika.....</b>	<b>27</b>
3.1. Materiál .....	27
3.1.1. Generační ryby .....	27
3.1.2. Prostory.....	27
3.1.3. Hormonální přípravek .....	27

3.1.4. Anestetikum.....	28
3.1.5. Imobilizační roztok.....	28
3.1.6. Izolační termoboxy .....	28
3.1.7. Žábronožka ( <i>r. Artemia</i> ) .....	29
3.2. Metodika .....	29
3.2.1. Převoz a příprava generačních ryb .....	29
3.2.2. Příprava na injekci hormonu .....	30
3.2.3. Hormonální injekce ryb .....	31
3.2.4. Příprava termoboxů .....	31
3.2.5. Kontrola ryb po hormonální injekci .....	32
3.2.6. Umělý výtěr mlíčáků .....	33
3.2.7. Umělý výtěr jikernaček .....	33
3.2.8. Příprava jiker .....	34
3.2.9. Osemenění a oplození jiker .....	35
3.2.10. Počítání jiker ve vzorcích .....	36
3.2.11. Počítání oplozených jiker a výměna vody.....	37
3.2.12. Stanovení líhnivosti a přežití .....	37
3.2.13. Stanovení přeživších jedinců v dalších dnech .....	38
3.2.14. Příprava nauplií žábronožky ( <i>r. Artemia</i> ).....	38
3.2.15. Nakrmení a stanovení příjmu potravy u larev lína obecného.....	39
3.2.16. Zpracování dat .....	39
<b>4. Výsledky.....</b>	<b>41</b>
4.1. Interval latence .....	41
4.2. Umělý výtěr.....	41
4.3. Oplozenost.....	44
4.4. Líhnivost (oplozených jiker) .....	48
4.5. Přežití vykulených jedinců z oplozených jiker .....	52

4.6. Přežití vykultovaných jedinců z celkového počtu nasazených jiker .....	56
4.7. Zahájení příjmu potravy u vykultovaných jedinců .....	60
4.8. Příjem potravy u plůdku, vztažený na celkový počet nasazených jiker.....	64
<b>5. Diskuse .....</b>	<b>68</b>
5.1. Umělý výtěr.....	68
5.2. Oplozenost jiker .....	69
5.3. Líhnivost jedinců.....	70
5.4. Přežití plůdku .....	72
5.5. Zahájení příjmu potravy u plůdku.....	73
<b>6. Závěr .....</b>	<b>75</b>
<b>7. Seznam použité literatury .....</b>	<b>77</b>
<b>8. Přílohy .....</b>	<b>83</b>
<b>9. Seznam zkratk .....</b>	<b>89</b>
<b>10. Abstrakt .....</b>	<b>90</b>
<b>11. Abstract.....</b>	<b>91</b>



## 1. Úvod

Lín obecný (*Tinca tinca* L., 1758) je původním druhem rybí ichtyofauny v České republice. Jedná se o fytofilní druh z čeledi kaprovitých (Cyprinidae). Vyskytuje se na většině vodách v Evropě a i v některých částech Asie. Je významnou součástí polykulturních (Česká republika) a monokulturních (Španělsko, Itálie) obsádek. Jeho chov a šlechtění má v ČR dlouholetou a významnou tradici. Lín obecný představuje v současné době významný druh v našich rybnících, a to především pro jeho chutné, bílé a poněkud tučnější maso. Přirozený výtěr lína obecného probíhá v našich podmínkách ve třech dílčích dávkách od května do července, při teplotě vody nad 19 °C s optimálním rozmezím 20-23 °C (Pokorný, 1974). Z hlediska produkce v akvakultuře je jeho přirozený výtěr v rybnících velice obtížně plánovatelný a značně nespolehlivý, zejména kvůli vysoké variabilitě ve velikostech plůdku a jeho množství. Umělý řízený výtěr lína obecného je cestou k produkci odpovídajícího počtu násadového materiálu od známých rodičů v evidovaném množství a optimálním čase.

Hlavním problémem při řízené reprodukci u lína obecného je jeho neschopnost dosáhnout spontánní ovulace v kontrolovaných podmínkách líhně. Příčina této reprodukční dysfunkce je v některých environmentálních faktorech, například absence výtěrového substrátu (Kubů a kol., 1985). Tyto faktory jsou nezbytné pro pozitivní stimulaci neuroendokrinní regulace finálních stádií při gametogenezi (Yaron a kol., 2009). Za účelem toho je při umělém výtěru přistupováno k hormonální stimulaci ovulace a spermiace. Ta se provádí například za pomoci aplikace syntetického analogu spouštěcího hormonu gonadotropinu (GnRHa), nejčastěji se jedná o přípravek Supergestran dále pak Dagin či maďarský přípravek Ovopel. Předpokladem pro zabezpečení dostatečného množství násadových ryb a následné produkce tržních jedinců lína obecného je zvládnutí technologie umělého výtěru a její optimalizace, a také odchovu raných stádií v kontrolovaných podmínkách a tím potlačení negativních vlivů jako je kolísání pH, teploty vody, obsahu kyslíku a dalších rozpuštěných plynů ve vodě. Následkem toho můžeme vysazovat rychlený plůdek, který je ve větších velikostech a je odolnější vůči vnějším vlivům a nemocem a tím dosahuje většího přežití. K lepšímu zvládnutí technologie chovu a celkové produkci lína obecného je využíváno dalších aspektů jako je například gynogeneze a indukce triploidie. Ty se nemalou částí podílejí na zvyšování produkce a přežití této ryby.

Jedním z dalších problémů při umělé reprodukci v provozních podmínkách řízeného chovu je doba skladování neoplozených, ovulovaných jiker, a to po dobu, než se přistoupí k osemenění a oplození (aktivaci) jiker. V tomto aspektu hraje také důležitý význam teplota a způsob skladování vytřených jiker.

Tato diplomová práce se zabývá délkou skladovatelnosti vytřených jiker lína obecného při různých teplotách a následným vlivem na jejich schopnost oplození, líhivost a přežití plůdku. V nedávné minulosti již byly provedeny pokusy Flokovičem (2011) nebo Borůvkou (2017) s krátkodobým uchováním neoplozených jiker keříčkovce červenolemého (*Clarias gariepinus*). Problematikou krátkodobého uchování jiker se zabývala také (Samarin a kol., 2016a, 2016b) u okouna říčního (*Perca fluviatilis*) a štiky obecné (*Exos lucius*), včetně vyhodnocení množství malformací a ploidních anomálií u larev ryb. Z jeseterovitých ryb (Acipenseridae) byl taktéž zkoumán vliv teploty na krátkodobé uchování ovulovaných jiker u jesetera malého (*Acipenser ruthenus*) s ohledem především na líhivost a mortalitu (Let, 2016).

## 2. Literární přehled

### 2.1. Biologie lína obecného (*Tinca tinca*)

#### 2.1.1. Systematické zařazení a geografické rozšíření

Nadtrída: Ryby kostnaté (*Osteichthyes*)

Třída: Paprskoploutví (*Actinopterygii*)

Nadřád: Kostnatí (*Teleostei*)

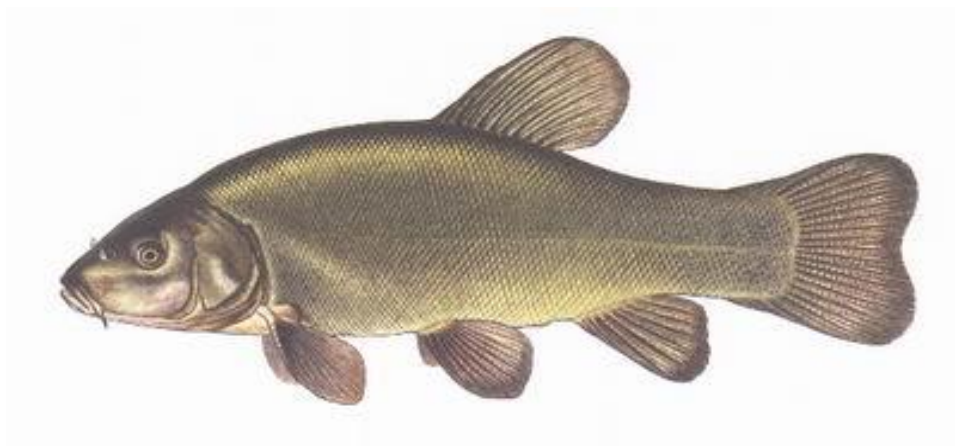
Řád: Máloostní (*Cypriniformes*)

Podřád: Kaprovci (*Cyprinoidei*)

Čeleď: Kaprovití (*Cyprinidae*)

Rod: Lín (*Tinca* (Cuvier, 1817))

Druh: Lín obecný (znázorněn na Obr. 1) (*Tinca tinca* (Linnaeus, 1758)), dle Baruš a kol., (1995).



Obr. 1 Lín obecný (*Tinca tinca*). Autor ČRS.

Lín obecný (*Tinca tinca*) zobrazen na Obr. 1 je zástupcem čeledi kaprovitých (*Cyprinidae*), tato největší čeleď ze všech čeledí sladkovodních ryb zahrnuje 194 rodů a 2070 druhů. Lín obecný je rozšířen téměř po celé Evropě vyjma Skandinávie a severního Skotska, chybí taktéž na západním pobřeží Balkánského poloostrova a na Krymu (Lusk a kol., 1992). V pohoří Alp se nachází až do výšky 1600 metrů nad mořem (Baruš a Oliva, 1995).

V České republice je rozšířen po celém území, obývá střední a dolní toky řek, rybníky, údolní nádrže a další vhodné lokality. V místech jeho výskytu vyhledává mělké, dobře prohráté partie s bohatým pobřežním prostorem (litorálem) a bahnitým substrátem na dně. Velice rád obývá zarostlé tůně a rybníky rákosem obecným (*Phragmites australis*), stolístekem klasnatým (*Myriophyllum spicatum*), nebo například růžkatcem ostnitým (*Ceratophyllum demersum*). Velice dobře snáší kyslíkové deficity a přežívá i v kyselých rašeliništních vodách (Hanel, 2001). V letních měsících snáší přechodně i vodu s obsahem kyslíku 1,5 mg na 1 litr vody, v zimě pak s obsahem 1 mg kyslíku na 1 litr vody (Reiser a kol., 1983).

### **2.1.2. Historie chovu a produkce lína obecného (*Tinca tinca*)**

První prameny zmiňující se o chovu lína obecného pocházejí již ze 16. století. V průběhu 18. století získával lín obecný pevnější postavení v rybníčních obsádkách. Stabilní a relativně velká produkce se objevuje až v 19. století, kdy na některých rybnících dosahovala i více jak 7 % (až 5,8 kg. ha<sup>-1</sup>). Jeho produkce však byla závislá na poptávce, především v Německu (Sasku) a s poklesem poptávky na trhu klesala i jeho cena a tím pádem i jeho celková produkce (Steffens, 1995).

V roce 1937 za první Československé republiky dosahovala produkce tržních ryb 141 tun a násada tvořila 73 tun. Za zhruba deset let byla v roce 1956 produkce již 180 tun tržních ryb. Do roku 1963 pak došlo k poklesu na 125 tun ročně. V polovině 60. let docházelo k pozvolnému nárůstu produkce lína obecného na 251 tun (rok 1969). V 70. letech došlo k dynamickému nárůstu produkce až na 500-600 tun ročně, následně v letech 80. a 90. došlo k poklesu a rozkolísání jeho produkce na 200-390 tun ročně, například v roce 1982 pouze 211 tun. Produkce lína obecného je v České republice okolo 244 tun (rok 2008) (Hartman a kol., 2014). Jeho produkce však neustále klesá, v roce 2016 tvořila již pouze 157 tun (E-agri, 2016). Tato situace je způsobena zvyšováním intenzifikace chovu kapra. Celková světová produkce je okolo 1276 tun (FAO Fishery Statistic 2018).

### **2.1.3. Morfologie a popis těla**

Lín obecný dosahuje většinou velikostí do 35 cm a 1 kg váhy, je však schopen dorůst až do velikosti 60 cm a hmotnosti přes 3,5 kg. Oproti jiným kaprovitým druhům má krátké a zavalité tělo s drobnými šupinami ve tvaru elipsy, které jsou pevně uchyceny ve škáře, dále silnou kůži a velké množství slizu. Jeho ústa jsou koncová (terminální) se dvěma vousky v koutcích (Dubský a kol., 2003). Má malé, poměrně slabozraké kulaté oko s oranžovou u starších jedinců červenou duhovkou. Potravu vyhledává za pomoci hmatu (Bayley, 1998).

Všechny jeho ploutve jsou zaoblené s měkkými, rozvětvenými paprsky. Kromě prvních tvrdých paprsků ploutví, ty jsou nerozvětveny. Ocasní ploutev je slabě vykrojená a na koncích zaoblená. Zbarvení záleží na biotopu (lokalitě) ve kterém se nachází a je velice variabilní. Nejčastěji má tmavozelený hřbet a boky jsou světlejší olivově zelené se zlatavým leskem. Jeho spodní břišní partie jsou světlé u hlavy až žlutobílé barvy. Někdy je zbarvení jeho těla do žlutého až žlutohnědého nádechu. Ploutve jsou šedočerné až hnědozelené. Lín obecný vytváří mnoho barevných mutací jako například zlatou nebo modrou formu (Baruš a Oliva, 1995).

U lína obecného existuje pohlavní dimorfismus, ten je patrný po zhruba 15 měsících věku. Jedná se o velikost a délku břišních ploutví, které jsou u samců delší, robustnější a širší, takže po přiložení k tělu zcela překrývají řitní otvor. U jikernaček jsou břišní ploutve kratší a méně robustnější a nepřekrývají řitní otvor (Dubský a kol., 2003).

Jeho požerákové zuby jsou jednořadé (vzorec 4-5, 5-4, 5-5 nebo 4-4) silné, kapkovitého tvaru, na jejich koncích jsou mírně vyduté a zahnuté do tvaru háčků. Meristické znaky u lína obecného: počet měkkých a tvrdých paprsků v ploutvích D III – IV, (6)7-9; A III – IV, (5)6-7(8); VII, 8-9; P I, 13-19; C 13-21, v postranní čáře se nachází 89-112 šupin; počet žaberních tyčinek (poměrně dlouhých) 12-19 (Hanel, 2001).

### **2.1.4. Projevy chování**

Lín obecný je typickou rybou obývajícím dna nadržů, je to stanovištní ryba, která většinu života žije samotářským způsobem (Vostradovský, 1968). Do hejn se seskupuje pouze při poklesu teploty vody nejčastěji začátkem listopadu, nebo naopak v době tření (Dyk, 1956). Jeho zimoviště se nacházejí na nejhlubších místech nadržů či řek, kde těsně

nad dnem vytváří hejna. Někteří jedinci se dokonce mohou zavrtávat do jílu či bahna. Zimoviště poté opouští v průběhu března až dubna se stoupající teplotou vody a následně začíná aktivně vyhledávat a přijímat potravu až do doby před výtěrem (Penjaz a kol., 1973). Do podobného klidového režimu jako při zimování upadá i při rapidním oteplení vody v letních měsících, kdy se může zavrtávat do substrátu dna (Oliva a kol., 1968).

### **2.1.5. Potravní nároky**

Na počátku exogenní výživy slouží jako potrava pro larvy lína obecného jemný zooplankton. To jsou například vířníci (Rotatoria) nebo nauplia buchanek (Cyclopoida) (Dubský a kol., 2003). Jelikož je lín obecný rybou dna vyhledává zde i potravu, a to hlavně larvy vodního hmyzu, nebo hrubší zooplankton jako jsou perloočky (Cladocera). Nepohrdne však ani naplavenou suchozemskou potravou jako jsou červi, rousnice, slimáci či brouci. Nejpočetnější složkou přirozené potravy obsaženou v žaludcích línů obecných jsou zástupci pakomárovitých (Chironomidae) dle Krupauera (1967). Součástí potravy u starších jedinců bývají i měkké vodní rostliny a také vodní měkkýši, především bahnivky (Bithynia). Při velkém výskytu měkkýšů v recipientu dosahují líni obecní údajně vyšších přírůstků (Dyk, 1952). Nejlepší přírůstky byly zjištěny u línů z rybníků, kde mají možnost přijímat i ostatní předkládané druhy potravy jako jsou například granulovaná krmiva (KP 1, KP 2), nebo pšenice a triticales. Naopak ve volných vodách je růst výrazně pomalejší (Dyk, 1956). Z těchto poznatků lze konstatovat, že lín obecný je více adaptabilní na aktuální potravní nabídku, než je tomu například u kapra obecného (*Cyprinus carpio*), ale vždy vyžaduje nutričně bohatou potravu (Kubů a Kouřil, 1985).

Lín obecný je vhodným druhem polokulturních obsádek zároveň s kaprem, při méně intenzivním přikrmování. Nejvhodnější rybníky pro produkci línů jsou založeny na dostatku přirozené potravy. Případné přikrmování kapra směřujeme do ranních hodin, neboť lín obecný vyhledává potravu především navečer a v noci (Hartman a kol., 2014). Před výtěrem je velice aktivní v příjmu potravy, po něm už přijímá potravu méně (Dyk, 1952).

### **2.1.6. Pohlavní dimorfismus u lína obecného (*Tinca tinca*)**

U lína obecného můžeme pozorovat výrazný pohlavní dimorfismus, ten se nejvíce projevuje na velikosti a tvaru břišních ploutví. V druhém roce života samců zhruba ve

stáří 15 měsíců dochází k tomu, že druhý tvrdý paprsek břišních ploutví výrazně zbytní a zesílí. Břišní ploutve u samců jsou velké a vějířovitého tvaru. Jejich velikost je taková, že se dotýkají nebo zcela překrývají řitní otvor. U samic jsou břišní ploutve menší a jemnější a nedosahují velikosti k překrytí řitního otvoru (Matěnová a Pivnička, 1980).

Tento znak pohlavního dimorfismu nám umožňuje rozpoznat pohlaví u lína obecného, u ryb starších 15 měsíců je pozorovatelný po celý rok (Linhart a kol., 1995). U ryb mladších jak 15 měsíců je určování pohlaví, podle tohoto znaku nemožné a nepřesné (Čítek a kol., 1998).

### 2.1.7. Reprodukční charakteristika a přirozený výtěr

Tab. 1 Reprodukční parametry u lína obecného (*Tinca tinca* L.) podle Linhart a kol., (2000).

<b>Pohlavní dospělost</b>	Samice 3-5 rok, Samec 2-3 rok
<b>Počet jiker v jednom litru</b>	1,5-2,1 (mil. ks.)
<b>Relativní plodnost</b>	100-200 (tis. ks. kg <sup>-1</sup> )
<b>Pracovní plodnost</b>	60-170 (tis. ks. kg <sup>-1</sup> )
<b>Výtěrová teplota</b>	18-22 (°C)
<b>Průměr jiker nenabobtnalých</b>	0,4-1 (mm)
<b>Průměr jiker nabobtnalých</b>	1,1-1,3 (mm)
<b>Délka inkubace</b>	60-65 (d°)

Lín obecný je fytofilním druhem, který se rozmnožuje a lepí své jikry na ponořenou makrovegetaci nebo na zatopené suchozemské rostlinstvo. V našich podmínkách se nejčastěji vytírá od konce května do půlky července, při teplotě vody nad 18 °C s optimálním rozmezím 20-22 °C (Čítek a kol., 1998). Pohlavní dospělost u samic je 3-4 rokem života, u samců o něco dříve, 2-3 rokem (Baruš a Oliva, 1995). Před výtěrem mají jedinci tendenci shlukovat se do skupin a vytvářet málopočetná hejna po několika kusech, nejčastěji 3-5 generačních ryb a následně se vytírat v hloubkách okolo 0,5 -1 metru. V období tření jedinci ztrácejí svou plachost (Dyk, 1956).

Lín obecný je druhem s takzvaným porcovým neboli dávkovým výtěrem, to znamená, že se vytírá po malých dávkách (Linhart a kol., 1992). V průběhu sezóny se vytírá dvakrát až třikrát, a to v intervalech 9-13 dní (Bayley, 1998). Relativní plodnost u lína je 100-200 tisíc kusů jiker na kilogram, pracovní plodnost se pak pohybuje okolo 60-170 tisíc kusů na kilogram (Dubský a kol., 2003)

Jikry mají olivově zelenou barvu a jsou silně lepivé, po výtěru před nabobtnáním je jejich velikost 0,4-1,0 mm a po nabobtnání 1,1-1,3 mm. Inkubační doba je 60-65, denních stupňů (Kouřil a Chábera, 1976). Vykulený plůdek je velmi malý ve velikosti 3,9-4,3 mm. Na exogenní výživu přechází 6-8 den po vykulení.

V dnešní době je plně využíván umělý výtěr generačních ryb lína obecného a v některých případech i následné genetické manipulace jako například triploidizace, které se používají i u jiných druhů ryb jako například pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) a sumce velkého (*Silurus glanis*). Tohoto stavu může být dosaženo za pomoci fyzikálních či chemických zásahů, nebo za určitých okolností můžeme mluvit o takzvané spontánní triploidizaci, ke které dochází samovolně. Výsledkem toho jsou triploidní jedinci s retardovanými gonádami, což má za následek akcelerovaný růst somatických buněk oproti diploidním jedincům v době pohlavního dozrávání. Energie získaná z potravy je totiž významně využívána k somatickému růstu (Flajšhans a Linhart, 2000).

### **2.1.8. Poloumělý výtěr**

Tento způsob výtěru se většinou prováděl v malých rybnících s vhodnou hloubkou 50-80 cm. Za pomoci dřevěných tyček zatlučených do dna na ploše 8-10 m<sup>2</sup> se zhotoví trdliště. To je tvořeno ponořenými větvemi jehličnanů jako například smrk ztepilý (*Picea abies*), nebo jalovec obecný (*Juniperus communis*), popřípadě listnatých stromů například bříza bělokorá (*Betula pendula*), které jsou za pomoci provázku připevněny k tyčkám. Po výtěru je možné vytřené a oplozené jikry nalepené na větvích přenést do jiného předem připraveného rybníku pro vykulení a k dalšímu odchovu (Kostomarov, 1955).

Další metodou užívanou v minulosti je výtěr v Dubraviových rybníčcích s dostatečně zarostlým dnem kde se nasazuje 5-10 kusů generačních ryb nejčastěji v poměru 1:1 nebo 1:2 ve prospěch mlíčáků na 80-100 m<sup>2</sup> (Čítek a kol., 1998). Při tomto způsobu výtěru se



mohou generační ryby injikovat hormonálními přípravky jako je roztok kapří hypofýzy. Jejich použití však nepřineslo nijak průkazně lepší výsledky (Pokorný, 1974).

Na maďarské farmě Szahalombatta byla v 80. letech vyzkoušena i metoda poloumělého výtěru lína obecného. Generační ryby byly injikovány kapří hypofýzou a následně umístěny do malých laminátových nádrží s absencí výtěrového substrátu, oplozené jikry se následně v těchto nádržích inkubovaly (Kouřil a Tamás, nepublikováno.)

## **2.2. Umělý výtěr**

### ***2.2.1. Působení hormonů a hormonální řízení***

Pohlavní orgány neboli gonády jsou bifunkční orgány, jejichž úkolem je produkovat pohlavní hormony a zárodečné buňky. Mezi těmito funkcemi existuje velmi úzký vztah, protože pro vývoj a tvorbu zárodečných buněk je potřeba poměrně velká koncentrace pohlavních hormonů. Vaječníky neboli ovária, produkují pohlavní hormony progesteron, estrogen a také ovocyty. Varlata (testes) mají funkci produkovat sperma a testosteron (Murray a kol., 1998).

Při využití hormonálně řízené reprodukce, dochází k působení vnitřních a vnějších faktorů. Vnitřní faktory jsou například zdravotní stav ryb, její kondice, zoohygiena, způsob chovu a samozřejmě i výživa generačních ryb. Mezi vnější faktory patří hlavně světelný, teplotní režim a přítomnost výtěrového substrátu. Nejde však jen o aktuální stav faktoru, ale hlavně o tendenci změny. Příkladem je snížení nebo zvýšení teploty, prodlužování nebo zkracování světelného denního režimu. Například pro ryby lososovité je důležitější spíše světelný režim, oproti kaprovitým, kde rozhoduje teplota vody. Dalšími významnými vnějšími faktory jsou například obsah metabolických produktů zvláště pak amoniaku, obsah rozpuštěného kyslíku a další. Významný faktor je také přítomnost opačného pohlaví, nebo vytváření skupin (hejn). Všechny tyto informace jsou přijímány a následně vyhodnocovány centrální nervovou soustavou. Tyto vztahy a souvislosti zkoumal van der Kraak (1983).

Při přirozeném endokrinním řízení toto probíhá v ose hypotalamus-hypofýza-gonády. Hypotalamus za pomoci gonadotropních releasing hormonů (GnRH) ovlivňuje hypofýzu, ta poté ovlivňuje gonády za pomoci gonadotropních hormonů (GtH). Gonády následně produkují steroidní hormony (Pankhurst, 1998). V pars distalis hypofýzy jsou

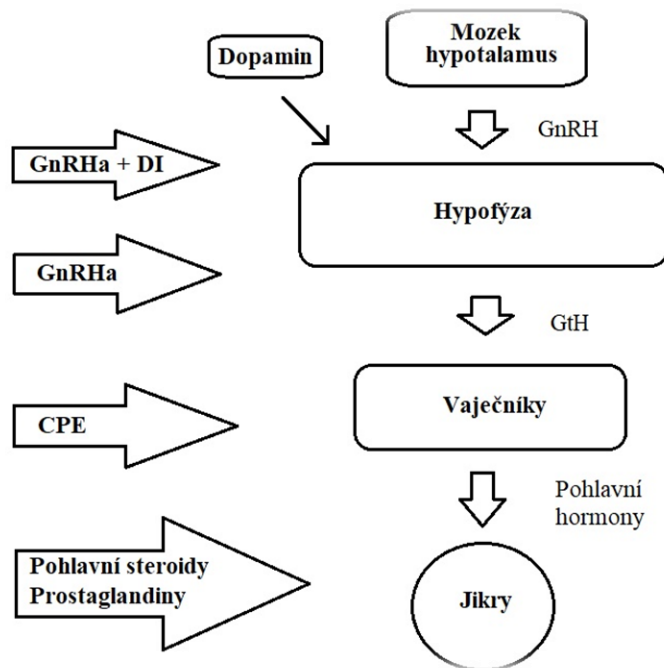
syntetizovány gonadotropní hormony (GtH), tvorba gonadotropních hormonů je inhibována dopaminem (DA) a stimulována za pomoci účinků spouštěcího hormonu gonadotropinu (GnRH<sub>a</sub>). U některých druhů ryb však dopamin (DA) nemá inhibiční efekt na produkci gonadotropinu (GnRH<sub>a</sub>). Kyselina gama-aminobutyrová a serotonin zde mají modulační efekt (Khan a Thomas, 1992). Tento způsob neuroendokrinního řízení spouštěním gonadotropinu (GtH) se však vyskytuje pouze u velmi malého počtu kostnatých ryb.

Hypofýza produkuje dva gonadotropní hormony (GtH) respektive GtH-I a GtH-II. Tyto gonadotropní hormony jsou účinné při stimulaci DNA v gonádách a také u biosyntézy steroidů (Swanson, 1991). Uvolňování gonadotropních hormonů (GtH-I a GtH-II) do krevní plazmy je časově odděleno. Gonadotropin GtH-I se podílí na průběhu vývoje raných stadií ryb, kdežto gonadotropní hormon GtH-II je spojen s fází dozrávání. Gonadotropní hormony se také výrazně podílejí při syntetizaci pohlavních steroidů (van der Kraak a Wade, 1994). Při vitelogenezi a gametogenezi vaječníky odpovídají na stimulaci gonadotropinem (GtH) a produkují 17 $\beta$ -estradiol a testosteron (Pankhurst a Carragher, 1991). Estradiol poté stimuluje syntézu vitelogeninu v játrech, ten je následně distribuován do zvětšujících se oocytů za pomoci GtH. Testosteron zde nemá hlavní řídicí roli, jeho množství v plazmě se pohybuje na základě vyváženosti syntetizovaného testosteronu a množství přeměněného na 17 $\beta$ -estradiol (Specker a Sullivan, 1994).

Při finálním dozrávání oocytů dochází ke snížení hladiny 17 $\beta$ -estradiolu a následně je produkován testosteron, díky kterému dochází k vysoké produkci dozrávacího indukujícího hormonu 17 $\alpha$ , 20 $\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one nebo u některých druhů 17 $\alpha$ ,20 $\beta$ ,21 – trihydroxy-4-pregnen-3-one, oba tyto steroidy zapřičiňují finální dozrávání oocytů (Thomas, 1994). Ve většině případů se u testovaných ryb objevují prostaglandiny, které jsou produkovány ve folikulech z důvodu odpovědi na gonadotropin, respektive GtH-II. Dozrávací steroidy hrají roli při modulaci aktivity prostaglandinů, nebo v souvislosti s ovulací jiker řídí ochabnutí vejcovodů (Kobayashi a Stacey, 1993).

Steroidní hormony u ryb také řídí činnost jater a vaječnicků. Testosteron a estrogen stimuluje syntézu GtH u většiny ryb (Kobayashi a kol., 1989; Linard a kol., 1995). To je hlavní ideou hypofýzy, kdy za pomoci předovulačního GtH-II stimuluje finální dozrávání. Mlčící mají nízkou aktivitu aromatázy, nebo se u nich nevyskytuje vůbec.

Hlavní produkty v průběhu gametogeneze jsou například testosteron a jeho derivát 11-keto testosteron, ten stimuluje vývoj druhotných pohlavních znaků a následkem toho jsou různé projevy reprodukčního chování (Pankhurst, 1995). Indukce výtěru za pomoci syntetických, nebo přírodních hormonů je tedy iniciací těchto procesů (Tyler a kol., 1990).



Obr. 2. Schéma neurohormonálního řízení ovulace u ryb a možnosti hormonální indukce umělého výtěru (podle Kouřila a kol., 1999).

### 2.2.2. Hormonálně řízený umělý výtěr lína obecného (*Tinca tinca*)

Umělý a poloumělý výtěr ryb s využitím hormonální indukce spermiace a ovulace je v současné době běžně využívaná metoda řízeného rozmnožování, zvláště pak u hospodářsky významných, okrasných, akvarijních, sportovních a také ohrožených druhů ryb (Kouřil a kol., 1999; Kouřil a Podhorec, 2011). V Československu jako první provedl úspěšný hormonálně stimulovaný výtěr s využitím kapří hypofýzy Pokorný (1974). Za pomoci kapří hypofýzy popisuje umělý výtěr i Kouřil a Chábera (1976). Další uměle stimulovaný výtěr popisuje Horváth (1977), Hamáčková a kol. (1978) nebo Kouřil a Podhorec (2011). Ve všech těchto případech bylo použito vysokých dávek kapří hypofýzy 5-15 někdy dokonce až 30 mg.kg<sup>-1</sup>, které byly intramuskulárně v podobě roztoku aplikovány v jedné, nebo ve dvou dávkách. Postupy založené na hormonální

stimulaci za pomoci kapří hypofýzy se ne vždy ukázaly jako vhodné, protože množství ovulovaných jikernaček bylo malé - 50 % (někdy i méně) a taktéž množství vytřených jiker nebylo vždy uspokojivé (Kouřil, 2013). Naopak aplikace syntetických GnRH analogů (GnRHa) umožňuje gonadotropní buňky stimulovat přímo k sekreci luteinizačního hormonu (LH). GnRH také umožňuje komplexnější nápravu reprodukčních dysfunkcí, a to nejen sekreci LH, ale i prolaktinu, růstového hormonu, nebo thyroidních hormonů (Zohar a Mylonas, 2001).

První prokázali účinnost přípravků GnRHa při umělé stimulaci ovulace u lína obecného Kouřil a kol. (1986), kdy i při malých dávkách 1-10  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  dosáhli ovulace u většiny jikernaček. U lína obecného byl zjištěn rozdíl v biochemickém profilu krevního séra, a to od injekce přípravku po dosažení ovulace a také rozdílnost hladiny LH při použití různých hormonálních přípravků. Bylo zjištěno, že při hormonální indukci ovulace za pomoci GnRH se zvýšil počet vytřených jiker oproti použití kapří hypofýzy (Kouřil a kol., 1981). Výhodou při používání superaktivních analogů GnRH při umělém výtěru lína obecného je užití minimálních dávek hormonu na úrovni 1-20  $\mu\text{g.kg}^{-1}$ , čímž dochází ke zlevnění procesu. Další nespornou výhodou je následné vyšší množství ovulovaných jikernaček (Kouřil, 1998).

Pro umělý výtěr a hormonální indukci ovulace jsou v případě lína obecného vhodné ryby ve stáří minimálně 2-3 let, optimálně však 4-6 let. U starších jedinců nad 4 roky je při umělé reprodukci dosahováno lepších výsledků (Hamáčková a kol., 2007). Injekci generačních ryb provádíme zpravidla intramuskulárně do hřbetní svaloviny mezi hlavou a hřbetní ploutví, nebo i intraperitonálně pod báze břišních ploutví (Kouřil a kol., 2011). Samce a samice můžeme po hormonální injekci uchovávat společně, lepší variantou je však ryby držet odděleně dle pohlaví pro lepší kontrolu a manipulaci před výtěrem.

Touto problematikou hormonálně řízeného výtěru generačních ryb lína obecného se ve své disertační práci zabíral Kouřil (2001). Při následném pokusu Kouřilem a kol. (2011) bylo dosaženo nejvyššího počtu vytřených jikernaček při podání přípravků Ovipel (86 %), Dagin (83 %), Supergestran (68 %) a nejhůře dopadla kapří hypofýza (40 %).

### **2.2.3. Délka intervalu latence**

Interval latence je čas od hormonální injekce po dosažení ovulace. Je závislý především na druhu podaného hormonálního přípravku a na teplotě vody během tohoto

procesu. Při injikaci generačních ryb lína obecného suspenzí kapří hypofýzy je dosahováno kratší doby latence 22,5-26,9 hodin při teplotě vody 21,7 °C. Interval latence při použití komerčního, syntetického přípravku Ovopel dosahoval při teplotě vody 21,7 °C, 31,9-36,7 hodin. Dále při použití hormonálního přípravku Supergestranu s účinnou látkou Lecirelin byla doba latence při stejné teplotě vody jako v předchozích případech 33,8-35,6 hodin. Při teplotě vody 19,9 °C byla délka doby latence při využití kapří hypofýzy 30,4 hodin, v případě Ovopelu 38,9 hodin a Supergestran měl interval latence 36,5 hodiny (Kouřil a kol., 2011).

Po uplynutí délky intervalu latence jsou generační ryby kontrolovány, kdy pozorujeme, zda při mírném tlaku na břišní dutinu snadno vylučují ovulované jikry. Pokud ano, je přistoupeno k umělému výtěru jikernaček (Tkáč, 2011). Ty jsou nejčastěji anestetizovány za pomoci hřebíčkového oleje v dávce 0,06-0,10 ml.l<sup>-1</sup> nebo 2-fenoxyethanolu, v koncentraci 0,3-0,5 ml.l<sup>-1</sup> (Hamáčková a kol., 2007). Výtěr následně probíhá tak, že osušíme rybě břišní partii a močopohlavní papilu a následným tlakem na břišní dutinu směrem od hlavy k řitnímu otvoru provádíme výtěr. Jikry jsou následně jímány do suchých a čistých misek, jejich barva je olivově zelená až hnědozelená (Kouřil a kol., 2011).

#### ***2.2.4. Osemenění, aktivace a oplození jiker***

Osemenění je prováděno přidáním malého množství spermatu, většinou se jedná o množství 3-5 ml na 200-300 gramů jiker, sperma je použito od více mlíčáků a následně je homogenizováno pro dosažení lepších výsledků oplození. Koncentrace spermií u lína obecného je v jednom mililitru čistého spermatu až 24 miliard kusů, v praxi ovšem bývá často sperma kontaminováno močí a ejakulátem a počet je tak 4-12 miliard kusů.ml<sup>-1</sup> (Podhorec, 2011).

Po důkladné homogenizaci jiker a spermatu se provádí jejich aktivace. Ta spočívá v přilítí vody do homogenní směsi jiker a spermií, kdy produkty po zalití vodou necháváme alespoň dvě minuty v klidu pro úspěšné docílení oplození (Hamáčková a kol., 2007). Pro aktivaci jiker u lína obecného lze také použít aktivační roztok jako je Ringerův a Hamorův roztok (Pokorný a kol., 2003). Kouřil a kol. (2003) uvádí, že u lína obecného je v průměru dosahováno 60-85 % oplození jiker.

Při pokusech Flokoviče (2011), Kouřila a kol. (2013) a Borůvky (2017) byla sledována oplozenost jiker při různé délce skladování v závislosti na rozdílných teplotách při jejich uchování. Nejlepších hodnot u pokusu s keříčkovcem červenolekým (*Clarias gariepinus*) bylo dosaženo při skladování jiker v teplotě 15-25 °C před následným oplozením. Při uchování jiker v těchto teplotách dosahovala úroveň oplozenosti 68-75 %, a to i po 6 hodinách jejich skladování (Borůvka, 2017). U tohoto druhu jsou však běžné hodnoty oplození okolo 50-60 % (Hamáčková a kol., 2007).

Ve všech třech pokusech bylo při teplotách 15-25 °C dosaženo oplozenosti okolo 80 %, a to po půl hodině skladování. Jako nevhodné vzhledem k oplozenosti jiker (méně než 50 %) byly teploty 5 °C při skladování déle jak dvě hodiny a dále jako krajně nevhodné se ukázalo skladování jiker při teplotě 30 °C a déle jak tři hodiny.

### **2.2.5. Odlepkování jiker**

Lín obecný má silně lepivé jikry a pokud neeliminujeme lepivost oplozených jiker, dochází k jejich vzájemnému slepení. Shluk jiker pak zabraňuje dostatečnému okysličování a proplachování jednotlivých jiker v inkubačním zařízení, což vede k úhynu zárodků v jikrách a následně dochází k masivnímu zaplísnění (Gela a kol., 2009). Pro odlepkování jiker se nejčastěji používá roztok enzymu Alkalázy (Alcalase, Merc EC 3.4.21.14). Tento roztok se připraví předem a to tak, že smícháme 1,5 ml čistého enzymu s 998,5 ml vody. Jikry odlepkujeme v poměru 1:1 tedy jeden litr roztoku na jedno kilo jiker, a to přesně po dobu dvou minut při stálém a šetrném promíchávání. Po uplynutí této doby jikry řádně alespoň 3x propláchneme od zbytků enzymatického roztoku. Následně je možné jikry vložit do inkubačních Zugských lahví o objemu 9 l. Tato metoda se u lína obecného užívá nejčastěji (Linhart a kol., 2000; Linhart a kol., 2001; Hartman a kol., 2014).

Dříve používané metody odlepkování jiker lína jsou zdlouhavé, a především podstatně méně účinné (Kouřil, osobní sdělení), proto se v současnosti v praxi již většinou nepoužívají. Patří mezi ně odlepkování jiker za pomoci plnotučného kravského mléka ředěného v poměru 1 díl mléka a 5-10 litrů vody z líhně. Tato metoda je však zdlouhavá, za stálého míchání po dobu 40 minut odlepkováváme jikry (Rodina a kol., 2004). Přitom je nutné stále roztok obměňovat, aby nedošlo u jiker ke kyslíkovému deficitu. Tento proces si můžeme usnadnit mírným probubláváním jiker a roztoku mléka

na Zugských lahvích. Po 40 minutách míchání jikry důkladně proplachujeme od zbytků roztoku (Kubů a Kouřil, 1985), (Gela a kol., 2009).

Méně častou metodou odlepkování je použití talku (mastku). Jeho suspenzi připravíme ze 100 g talku na 20-24 g NaCl na 10 l vody. Jako alternativu za mastek lze použít i jíl o správné kvalitě. Jikry mícháme s roztokem v poměru 1:1, po dobu 30-40 minut za stálého promíchávání (Regenda, ústní sdělení). Tato metoda však není vhodná (Kouřil, ústní sdělení).

### ***2.2.6. Inkubace a kulení váčkového plůdku***

K inkubaci jiker lina obecného zpravidla používáme Zugské láhve (9 l), ty se plní jikrami do jedné třetiny. Půl až jeden a půl litru jiker je zhruba 0,3-1,0 mil. ks. V průběhu inkubace by měla být teplota vody okolo 18-23 °C, vyšší teploty jsou nežádoucí, neboť vedou k rychlejšímu ontogenetickému vývoji a tím k tvorbě malformit a celkovému snižování životaschopnosti embryí (Kouřil a kol., 2011).

Bezpečný průtok vody v inkubačních lahvích by měl být takový, aby se jikry jen lehce nadnášely a promývaly vodou. Taktéž by průtok měl zajišťovat optimální kyslíkové poměry a nároky. Při nástupu kulení je vhodné omezit průtok vody, což vede k synchronizaci masového kulení, díky zvýšené koncentraci enzymů líhnutí (Adámek, 1994). Váčkový plůdek lina obecného následně pozvolna přeplouvá za pomoci límce na láhvi do předem připravené uhelonové kolébky (oka max. 0,4 mm), která je umístěna ve žlabu. Plůdek často uléhá na dno a tím hrozí jeho zadušení, proto se doporučuje mít v kolébce horní i dolní střik. Dále je také možné do kolébky umístit například březové větve na kterých se snadno zachytí (Čítek a kol., 1998).

Další možností je převedení váčkového plůdku do velkokapacitních inkubačních nádob typu Dněpr a Amur, které mají spodní, krouživý přítok a tím brání k uléhání plůdku na dno. Váčkový plůdek je po rozplavání a nadechnutí možné vysadit do rybníků (Hartman a kol., 2014).

### **2.3. Pokusy s uchováním neoplozených jiker**

V minulosti bylo provedeno několik experimentů na základě krátkodobého uchování jiker u různých druhů ryb, které již byly publikovány. Při několika pokusech byly zjišťovány stejné, ale i jiné parametry jako u této diplomové práce. Nutno také

poznámenat, že řada z nich byla postavena na stejném principu, avšak s menšími nároky na počet opakování, teplotní rozmezí skladování jiker nebo na časovou periodicitu oplozování.

Řada z těchto prací byla přímo sestavena a uzpůsobena na určitý rybí druh jako je například teplomilný keříčkovec červenolemý (*Clarias gariepinus*), takový experiment ve svých pracích provedli Flokovič (2011) a Borůvka (2017). Jejich práce byla založena na podobném principu jako tato diplomová práce.

### **2.3.1. Dřívější pokusy na krátkodobé uchování neoplozených jiker**

Tyto pokusy byly například prováděny u kaprovitých ryb autory jako Lahnsteiner a kol. (2001). Tito autoři prováděli experiment, při kterém skladovali vytřené, neoplozené jikry kapra obecného (*Cyprinus carpio*) a amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*). Při tomto pokusu byl zjištěn statisticky významný pokles hodnot při skladování jiker v teplotě 4 °C a uchování jiker po dobu 4 hodin. V takovém případě činila oplozenost jiker pouze 15-35 %. Dále pak Žlábek a kol. (1987) provedl pokus se stejnými druhy ryb, kdy jikry kapra obecného skladoval při teplotě 3 °C a 15 °C a v případě amura bílého jikry uchovával při teplotě 9 °C a 22 °C. Následně se také zabýval krátkodobým uchováním jiker tolstolobika bílého (*Hypophthalmichthys molitrix*) při teplotách 10 °C a 22,5 °C. V závislosti na čím dál delší době skladování jiker (3-6 hodin) docházelo k pozvolnému snižování počtu oplozených jiker. Signifikantní pokles se projevil zejména u amura bílého a tolstolobika bílého, a to po délce skladování 5 hodin, s přibývajícím časem se pak jednalo o jednotky procent. U kapra obecného byl pokles oplozenosti zaznamenán o něco později zhruba po 6 hodinách skladování a následně docházelo k obdobnému poklesu na hodnoty jednotek procent.

Další autorkou zabývající se touto problematikou byla Samarin a kol., (2016a), která testovala schopnost líhnivosti a oplození u jiker štiky obecné (*Esox lucius*). Jikry byly před oplozením uchovávány při teplotě 10 °C, následně byly oplozovány, a to v časech 0 hodin a dále po každých 12 hodinách až do doby 96 hodin od výtěru. Nejlepších hodnot líhnivosti a oplozenosti (60 %) dosahovaly jikry oplozené těsně po výtěru s minimální časovou prodlevou. Následně po 24 hodinách byly hodnoty okolo 30 % a po 36-72 hodinách po výtěru byly hodnoty 5-10 %. Samarin a kol., (2016 b) také provedla podobnou studii na okounovi říčním (*Perca fluviatilis*), avšak při jiných teplotních



parametrech. Tyto skladovací teploty byly při 4, 8 a 12 °C, také časový harmonogram byl změněn, kdy se započalo s oplozováním jiker v čase 0 hodin a následně každých 6 hodin až do doby 72 hodin po výtěru jiker. Nejlepších hodnot líhnivosti a oplozenosti v tomto případě bylo dosaženo opět těsně po výtěru (60 %), dále se hodnoty snižovaly s postupem času, zejména při skladování jiker v teplotách 8 a 12 °C. V případě nejdelšího časového úseku 72 hodin po výtěru byla zaznamenána malá hodnota 3 % oplození pouze při skladování jiker při teplotě 4 °C v ostatních případech byla oplozenost nulová.

Také Let (2016) měl svoji diplomovou práci zaměřenou na uchování neoplozených jiker u jesetera malého (*Acipenser ruthenus*). V tomto experimentu sledoval hodnoty oplození a líhnivosti. Jikry uchovával při teplotách 7, 11, 15 a 19 °C a následně oplozoval v pěti časových intervalech, a to v časech 0 hod., 2,5 hod., 5 hod., 7,5 hod. a 10 hodin po výtěru. Statisticky signifikantního rozdílu v poklesu líhnivosti bylo dosaženo až při délce skladování 7,5 hod. při teplotě 19 °C a následně v čase 10 hod. při teplotě skladování 15 a 19 °C.

Při skladování jiker u jesetera perského (*Acipenser persicus*) Hajirezaeem a Niksiratem (2009) nebyl zjištěn statisticky významný pokles v oplozenosti a líhnivosti jiker při jejich skladování do tří hodin po výtěru. Také Gisbert a Willot (2002) se při uchování jiker zaměřili na jesetery (*Acipenseriformes*), u kterých prováděli osemenění a následné oplození skladovaných jiker u jesetera sibiřského (*Acipenser baerii*) a jesetera malého (*Acipenser ruthenus*). Jikry obou druhů skladovali při 15 °C a posléze oplozovali v časech 0, 2, 4, 6, 9 a 12 hodin. Následným zpracováním výsledků došli k závěru, že v případě jesetera malého bylo dosaženo po 2-4 hodinách po výtěru, hodnoty oplozenosti jiker okolo 43,8-83,6 %, kdežto u jesetera sibiřského bylo ve stejném časovém rozmezí dosaženo pouze 21,8-55,6 % oplozenosti. V intervalu 4-6 hodin po výtěru pak bylo u jesetera sibiřského dosaženo signifikantního poklesu hodnoty oplozenosti na úroveň 20,3-38,0 % a po 12 hodinách byla hodnota 19,5-35,6 %. U jesetera malého byla oplozenost po 12 hodinách 35-61 %. Nejlepších výsledků oplozenosti dosahovaly jikry oplozené těsně po výtěru v čase 0 hodin nebo maximálně do 4 hodin, a to na úroveň 28,6-64,9 % u jesetera malého a u jesetera sibiřského byla hodnota 16,7-26,3 % (Gisbert a Willot, 2002). Tito autoři se také ve své práci zabývali množstvím malformit vznikajících u embryí.

Takovéto pokusy založené na sledování vytřených a neoplozených jiker při různých teplotách, nejsou vždy cíleně zaměřeny na získání nejdelší možné doby uchování jiker s relativně dobrou oplozeností a líhivostí. Některé z nich slouží k optimalizaci jiných údajů jako je například zjištění ploidních úrovní. Tím se zabýval ve své práci na línovi obecném Flajšhans a kol. (2007).

## **3. Materiál a metodika**

### **3.1. Materiál**

#### ***3.1.1. Generační ryby***

Generační ryby lína obecného potřebné k realizaci experimentu, byly přivezeny z Rybníkářství Hluboká nad Vltavou s.r.o., zde byly zakoupeny Ing. Radkem Luhanem, který spravuje líheň Mydlovary pod záštitou firmy BaHa s.r.o.

Jednalo se celkem o 200 kg lína obecného v rovnoměrném zastoupení jikernaček a mlíčáků ve věkových kategoriích od 3 do 5 let o hmotnosti 250-450 gramů. Ryby byly během transportu na líheň v dostatečně kyslíkem saturované vodě. Při jejich převozu se do vody rozmíchala jedlá kuchyňská sůl zhruba 0,5 kg na transportní bednu, pro zamezení stresových faktorů. Ryby byly na líhni protříděny dle jejich pohlaví a jikernačky dle velikosti břišních partií.

#### ***3.1.2. Prostory***

Experiment proběhl začátkem července roku 2018 na rybí líhni Mydlovary, spravovanou firmou BaHa s.r.o.

#### ***3.1.3. Hormonální přípravek***

K indukci hormonální stimulace u lína obecného byl použit přípravek Supergestran. Jde o český veterinární přípravek, který obsahuje účinnou látku (GnRHa) Lecirelin (*des Gly<sup>10</sup> D-Tle<sup>6</sup>, Pro<sup>9</sup>-NH<sub>2</sub>-mGnRH*). Je dodáván ve formě roztoku v malých skleněných lahvičkách o objemu 2ml o koncentraci GnRHa 25  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ .

Přípravek se používá k indukci ovulace u různých druhů ryb v dávce 1-100  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  v závislosti na daném druhu ryby. Lahvičky jsou dodávány po deseti kusech uložených v krabici z papíru. Před aplikací se ampulce ulomí hlavička a roztok se přímo v původní koncentraci aplikuje nebo se naředí fyziologickým roztokem do požadované koncentrace, která se injekčně vpraví do těla ryby. U lína obecného byla použita dávka 10  $\mu\text{g}/\text{kg}^{-1}$  Supergestranu s účinnou látkou GnRHa Lecirelin (*des Gly<sup>10</sup> D-Tle<sup>6</sup>, Pro<sup>9</sup>-NH<sub>2</sub>-mGnRH*) dle Linhart a kol., (2000).

### ***3.1.4. Anestetikum***

Před umělým výtěrem a během manipulace s rybami byl použit hřebíčkový olej jako anestetikum, pro zmírnění stresu a snadnější manipulaci s rybami v dávce 0,06 – 0,10 ml.l<sup>-1</sup> podle Hamáčkové. (Hamáčková a kol., 2006). Vlastní anestézie probíhala ve větší vaně o objemu zhruba 100-150 litrů, do které bylo aplikováno potřebné množství anestetika.

### ***3.1.5. Imobilizační roztok***

U toho experimentu jsme pro odběr spermatu z mlíčáků využívali imobilizačního roztoku pro následnou lepší motilitu a oplození schopnosti spermií. Bylo použito speciálního imobilizačního roztoku v poměru jeden díl spermatu a dva díly imobilizačního roztoku (180 mmol NaCl, 2,7 mmol KCl, 1,4 mmol CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, 2,4mmol NaHCO<sub>3</sub>) podle doporučení Rodiny (osobní sdělení). Před samotným odběrem spermatu z mlíčáků jsme naplnili jednorázové 10 ml injekční stříkačky do poloviny objemu imobilizačním roztokem a do nich jsme následně jímali sperma.

### ***3.1.6. Izolační termoboxy***

Pro dosažení a uchování teplot během experimentu bylo nezbytné použít speciálních termoizolačních boxů. Pro dosažení požadovaných extrémních teplot (5 °C, 25 °C a 30 °C) jsme použili speciálně konstruované termoboxy. Pro méně rozdílné teploty (10 °C, 15 °C a 20 °C) od okolní teploty vzduchu byly použity normální polystyrenové boxy pro uchování potravin.

Celkem tedy bylo použito 6 termoboxů (znázorněno na Obr. 3 a 4) pro optimální nastavení různých požadovaných teplot.



Obr. 3 a 4. Termoizolační a polystyrénové boxy pro uchování jiker. Foto A. Andoniu.

### 3.1.7. Žábronožka (*r. Artemia*)

Žábronožka je slanovodní organismus žijící v slaných jezerech. Je velice dobře adaptována na život ve vysychavých jezerech a na velké výkyvy salinity vody. Ve sladké vodě po chvíli hyne. V akvakultuře se žábronožka používá pro rozkrm raných stádií ryb, a to v podobě například dekapsulovaných cyst, živých nauplií artémie nebo bioenkapsulovaných nauplií. V některých případech se používá pro rozkrm plůdku lína obecného pro její snadné líhnutí, nenáročnost a zdravotní nezávadnost.

## 3.2. Metodika

### 3.2.1. Převoz a příprava generačních ryb

Při samotném výlovu i následném transportu ryb z Rybářství Hluboká nad Vltavou s.r.o. na rybí líheň v Mydlovarech byly v co největší možné míře eliminovány stresové faktory jako například nadbytečná manipulace, přidušení během přepravy nebo jejich samotné poškození. Těm se předcházelo například aplikací NaCl (kuchyňské soli) do přepravní nádrže v poměru 0,5 kg na 450 litrů rybníční čisté vody, nebo dostatečným provzdušněním vody v přepravní bedně.

Po transportu ryb na líheň (1. 6. 2018) byly ryby rozděleny dle délky břišních ploutví na jikernačky a mlíčáky (znázorněno na Obr. 5 a 6). Jikernačky byly následně přetříděny a selektovány podle připravenosti k výtěru na základě posouzení velikosti a měkkosti jejich břišních partií, tedy naplněnosti jikrami. Vytříděny byly výjimečně jikernačky, u kterých byla zjištěna spontánní ovulace nebo nedostatečná připravenost k výtěru, jejich

umělý výtěr a následné osemenění jiker zpravidla vede k neúspěchu a zkrusilo by samostatný experiment s ohledem na velmi krátkou schopnost oplození u ovulovaných jiker.

K experimentu byly použity pouze jikernačky posouzené jako kvalitní a připravené k výtěru. Ryby vhodné k výtěru byly přechovávány v nádržích odděleně dle pohlaví při teplotě vody 16,5-18 °C s pozvolným vytemperováním teploty vody až na 20 °C během 7 dní. V této době se teplota vzduchu na líhni pohybovala mezi 19 °C v ranních hodinách a 21,5 °C v pozdních odpoledních hodinách.



Obr. 5 a 6. Generační ryby lína obecného. Foto A. Andoniu.

### **3.2.2. Příprava na injikaci hormonu**

Ryby byly hormonálně stimulovány za pomoci výše zmíněného přípravku Supergestran, v účinné dávce 10  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  Supergestranu s účinnou látkou GnRHa Lecirelin (*des Gly*<sup>10</sup> *D-Tle*<sup>6</sup>, *Pro*<sup>9</sup>-NHET-*mGnRH*) dle Linhart a kol., (2000).

Po ulomení hlavičky z 2 ml ampulky byl roztok nabrán za pomoci injekční jehly do stříkaček o objemu 5 ml. Při přepočtu účinné dávky GnRHa bylo aplikováno 0,8 ml roztoku na jedno kilo ryby. Za pomoci dostatečně dlouhé jehly a injekční stříkačky byl posléze hormon aplikován intramuskulárně do hřbetní části ryby.

### **3.2.3. Hormonální injekce ryb**

Intramuskulární injekci hormonu Supergestranu, jsme aplikovali dne 8. 6. 2018 v 01:00 hodin při teplotě vody 20,5 °C z důvodu dobrého naplánování výtěru po ovulaci jiker, tedy na 9. 6. 2018 v 07:00 až 09:00. Injekci jsme prováděli pouze u jikernaček, mlíčáci z předchozí manipulace jasně a viditelně vypouštěli mlíčí samovolně, a tak nebylo nutné zbytečně plýtvat Supergestran i ostatní materiál, a to i z důvodu toho, že jsme jich měli k dispozici velké množství (30-50 ks).

Jikernačky lína obecného, které byly připuštěny k výtěru dle jejich kondice a naplněnosti jikrami jsme nejprve anestezovali za pomoci hřebíčkového oleje v dávce 4 ml na 100 litrů vody z líhně. Ve větší vaně o objemu 150 l jsme rozmíchali hřebíčkový olej a postupně po 4-6 kusech jsme ryby uspali, aby byla manipulace s rybami snadnější a nedocházelo k zbytečnému stresování ryb. Po zhruba 3-5 minutách ryby ztrácely oční reflex, otáčely se na bok a bylo tak jasné, že jsou dostatečně uspány k injekční aplikaci hormonu.

Ryby byly vyjmuty z roztoku anestezie a přesunuty na vlhký molitanový podklad. Následně jsme za pomoci injekční jehly a stříkačky rybám jednorázově aplikovali hormon v účinné dávce 10 µg.kg<sup>-1</sup> GnRHa. Vpich jsme provedli v hřbetní části těla ryby mezi hlavou a hřbetní ploutví a poté aplikovali potřebnou dávku dle jejich specifické hmotnosti u každé z ryb. Po vyjmutí injekční jehly z těla ryby jsme vždy prstem přidrželi vpich a jemnou masáží hormon vmasírovali do svaloviny. Tímto způsobem bylo postupováno i u dalších ryb. K výtěru i injekci bylo celkem použito 14 jikernaček, pro následný experiment bylo posléze vybráno 6 jikernaček.

Po zdárné injekci jsme ryby vrátili zpět do nádrží o teplotě vody 20,5 °C a následně jsme teplotu zvyšovali za pomoci topítek až na 23 °C s předpokládanou ovulací za 28-34 hodin.

### **3.2.4. Příprava termoboxů**

Pro úspěch experimentu bylo nezbytné důkladně připravit termoboxy tak, aby bylo docíleno požadovaných šesti vnitřních teplot, tedy konkrétně 5 °C, 10 °C, 15 °C, 20 °C, 25 °C a 30 °C. Jednotlivé teploty byly zapsány lihovým fixem a víko boxů. Pro dosažení stabilních požadovaných teplot byl použit podchlazený šupinkový led pro teploty nižší

jak 20 °C (vyobrazeno na Obr. 8), nebo akvaristická topítka (zobrazeno na Obr. 7) nastavena na určitou teplotu tak, aby temperovaly prostor v boxu na vyšší teploty než 20 °C.

Jednotlivé boxy byly postaveny vedle sebe daleko od vody, aby nedošlo k předčasné aktivaci jiker. Do všech termoboxů byl umístěn lihový akvaristický teploměr, který byl ponořen ve vodě pro kontrolu teploty a dvě dlažební betonové kostky na kterých stála miska s jikrami překrytá vlhkou utěrkou. Do zhruba poloviny výšky dlažební kostky umístěné v boxu byla nalita voda. Teplota vnitřního prostoru boxu byla důkladně a s předstihem nastavena na požadované teploty, aby po výtěru bylo možné co nejrychleji jikry v miskách přenést do potřebných teplot v jednotlivých boxech.



Obr. 7 a 8. Připravené termoboxy nalevo s topítkem, napravo s ledem. Foto A. Andoniu.

### ***3.2.5. Kontrola ryb po hormonální injekci***

Po injekční aplikaci hormonu byly jikernačky od doby přibližně 4-5 hodin před očekávaným umělým výtěrem v pravidelných intervalech kontrolovány z důvodu blížící se doby ovulace. Tato kontrola byla realizována každou půl hodinu tak, že se rukou projely strany nádrže a hmatem se zjišťovaly nalepené ovulované jikry na jejím obvodu. Po nahmatání prvních přilepených jiker se jikernačky vyjmuly a následně jsme pozorovali, zda již uvolňují ovulované jikry. Pokud ano, bylo přistoupeno k umělému výtěru ryb.



### 3.2.6. Umělý výtěr mlíčáků

Sperma mlíčáků bylo odebíráno dne 9. 6. 2018 v 07:00. K výtěru mlíčáků bylo přistoupeno těsně před výtěrem jikernaček z důvodu dobré kvality a motility spermií. Při výtěru mlíčáku byl použit speciální imobilizační roztok (180 mmol NaCl, 2,7 mmol KCl, 1,4 mmol CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, 2,4 mmol NaHCO<sub>3</sub>) v poměru dva díly imobilizačního roztoku a jeden díl spermatu z důvodu možné kontaminace a následné aktivace spermií močí vypouštěné zároveň se spermatem při masáži břišní dutiny tedy i močového měchýře.

Mlíčáci se vyňali z nádrže, důkladně osušili hadříkem a následnou masáží břišní partie bylo uvolňováno sperma, nejprve jsme se snažili zbavit se moči. Sperma bylo jímáno do injekční stříkačky o objemu 10-20 ml s imobilizačním roztokem a následným protřepáním stříkačky bylo důkladně zředěno (znázorněno na Obr. 9). Takto bylo postupováno u všech mlíčáků do doby, než bylo množství spermatu dostatečné pro osemnění jiker. Poté se veškeré sperma homogenizovalo v jedné kádince a následně bylo zpět nabráno do stříkaček. Do zbytku volného místa ve stříkačkách se nabral vzduch, aby se spermie nezadusili. Stříkačky byly uloženy do lednice při stálé teplotě 4 °C ve vodorovné poloze (zobrazeno na Obr. 10).



Obr. 9 a 10. Sperma uchované v imobilizačním roztoku v injekčních stříkačkách. Foto A. Andoniu.

### 3.2.7. Umělý výtěr jikernaček

Před předpokládaným výtěrem (ovulací) jikernaček, byla každou hodinu prováděna jejich kontrola tak, že pohmatem ponořené ruky jsme nahmatávali na stěnách nádrže nalepené jikry. Také u některých ryb byla provedena jemná masáž břišní partie břichem

nahoru a pozorovalo se, zda již povolna vypouští jikry, tedy ovuluje. V případě objevení ovulující jikernačky se provedla kontrola i u všech ostatních ryb. Teplota vody během čekání na ovulaci jikernaček byla 21-21,5 °C. K výtěru došlo dne 9. 6. 2018 v 09:30 ráno, jikernačky jsme postupně vkládali do anestezie, kterou tvořila voda s hřebíčkovým olejem v poměru 4ml na 100 litrů vody. Dostatečně anestetizovanou jikernačku jsme zabalili do vlhké hadry, rybu jsme v utěrce jednou rukou přidrželi za ocasní násadec a její hlavu opřeli o předloktí druhé ruky. Následovalo osušení a otření močopohlavní papily a řitní ploutve, prsty jsme stlačovali břišní partie jikernačky kaudálním směrem tak, aby docházelo k výtoku jiker do předem připravené suché a čisté misky umístěné těsně pod vytíranou rybou (zobrazeno na Obr. 11 a 12). Během výtěru byl kladen důraz na místo anestezie, aby bylo dostatečně vzdáleno od výtěrového stolu, aby nehrozila kontaminace jiker nebo jednotlivých misek připravených na použití při výtěru. U všech šesti jikernaček použitých pro experiment byla zvážena a zapsána hmotnost vytřených jiker pro následné vypočítání pracovní plodnosti a taktéž váha jedné nenabobtnané jikry. Těsně po výtěru, bylo do šesti misek uloženo malé množství jiker (zhruba 10-15 g), ty byly zakryty navlhčenou a řádně vyždímanou utěrkou, aby nedošlo k jejich osychání, a i možné kontaminaci vodou. Takto nachystané misky byly uloženy do jednotlivých termoboxů.



Obr. 11 a 12. Výtěr jikernaček lína obecného. Foto A. Andoni.

### **3.2.8. Příprava jiker**

Po výtěru jikernaček byly jikry zváženy a vizuálně zkontrolovány. Na základě toho byly použity jikry od 6 jikernaček pro jejich nejlepší kvalitu. Jikry se následovně slily do jedné misky a homogenizovaly se promícháním. Po jejich homogenizaci byly

rovnoměrně rozděleny na 6 porcí a ty byly umístěny do menších umělohmotných a řádně popsaných misek. Jednotlivé misky jsme uložili do připravených termoboxů o příslušné teplotě a přikryli navlhčenou utěrkou. Tato příprava a rozdělení jiker proběhlo velice rychle, aby co nejdříve bylo dosaženo požadovaných teplot pro jednotlivé uchování jiker a také, aby nebyl narušen časový harmonogram jednotlivých dob oplození.

### ***3.2.9. Osemenění a oplození jiker***

Osemenění a oplození jednotlivých vzorků jiker probíhalo těsně po jejich vyjmutí z termoboxů, a to podle jasně stanovených časů dne 9. 6. 2018. Časové intervaly byly za 0,5 hod., 1 hod., 1,5 hod., 2 hod., 3 hod., 4 hod., 6 hod., 8 hod. a 10 hodin po výtěru. Po 30 minutách doby skladování jiker v termoboxech byly postupně vyjmuty z různých teplot. Ze směsi jiker (homogenizovaných) od šesti jikernaček, bylo odebráno malé množství jiker zhruba 50-100 kusů, které bylo umístěno do předem připravených a řádně popsaných skleněných kádinek o objemu 300ml značky Simax CZ (zobrazeno na Obr. 14), na kterých byl zaznačen čas uchování, teplota uchování, písmeno A, B, C (příklad: 0,5 - 5 - A). Při tomto pokusu jsme využili lepivosti jiker k jejich rovnoměrnému rozprostření ve skleněných kádinkách. Následně byl při teplotě vody 19,5 °C (noc) a 20 °C (den) nasazen test kontroly, a to tří vzorků, u kterých byla poté stanovena oplozenost na úrovni minimálně 60 %.

Vzorek z každé misky byl vždy odebrán třikrát pro opakování. To tedy znamená, že po prvním odebrání vzorků jiker jsme měli celkem 18 skleněných kádinek v každé po 50-100 jikrách připravených na osemenění. Po vrácení misek s jikrami do příslušných termoboxů jsme přistoupili k osemenění. Do každé skleněné kádinky bylo za pomoci plastového kapátka nakapáno 5 kapek spermatu (vyobrazeno na Obr. 13). K aktivaci jiker i spermii, bylo použito zhruba 30ml čisté pitné a dostatečně odstáté vody, aby se předešlo zaplísnění jiker. Po nalití vody jsme aktivované jikry opatrně rozprostřeli na dno kádinky a nechali asi 1,5 minuty odstát v klidu. Dále jsme vodu opatrně slili a jikry třikrát důkladně propláchli od zbytku spermatu. Tímto způsobem byly jikry oplozeny. Stejným principem probíhalo osemenění a následné oplození v dalších časových intervalech, které jsou uvedeny výše. Znamená to, že na konci oplozovacího procesu, po všech časových intervalech skladování a oplozování jiker, jsme celkem měli 162 skleněných kádinek s přibližně 50-100 kusy jiker v každé z nich (zobrazeno na Obr. 15 a 16).

Po dokončení práce byla v každé kádince vyměněna voda tak, aby hladina byla zhruba do 1/3 kádinky. Intervaly výměny vody během inkubace jiker byly zhruba po 8 hodinách, den po oplození, po celou dobu inkubace jiker. Voda na výměnu byla pitná, čistá a řádně odstátá.



Obr. 13 a 14. Aplikace spermatu (osemenění) a oplození. Foto A. Andoniu.



Obr 15 a 16. Celkový počet 162 skleněných kádinek se vzorky jiker. Foto A. Andoniu.

### ***3.2.10. Počítání jiker ve vzorcích***

V časových intervalech mezi jednotlivými oplozeními jsme postupně spočítali jikry ve všech 162 kádinkách a tyto údaje zapisovali do tabulky v programu Microsoft Excel. Kde tyto údaje posloužili k dalším krokům při pokusu a samotném vyhodnocení dat.



### **3.2.11. Počítání oplozených jiker a výměna vody**

V každé kádince byly postupně zhruba po 48 hodinách po oplození spočítány oplozené (zelené) a neoplozené (bílé) jikry (zobrazeno na Obr. 17 a 18) během jednoho dne (11. 6. 2018). Teplota vody při inkubaci jiker byla přes den 20-20,5 °C a v noci 19-19,5 °C. Neoplozené bílé jikry byly za pomoci zastříhnutého kapátka odsávány pryč z kádinek, aby nedocházelo k zaplísnění oplozených jiker. Po odsátí neoplozených jiker byla vždy v kádince vyměněna voda.



Obr. 17 a 18. Pohled na oplozené a neoplozené jikry. Foto A. Andoniu.

### **3.2.12. Stanovení líhivosti a přežití**

Líhnutí probíhalo pozvolna po uplynutí inkubační doby ve dnech 13-14. 6. 2018 (zobrazeno na Obr. 19). V tuto dobu byla opatrně prováděna výměna vody a probíhalo čištění od jikerných obalů za pomoci kapátka. K počítání vykulených přeživších jedinců se přistoupilo dne 14. 6. 2018 v odpoledních hodinách zhruba 5 dní po oplození, kdy měli dostatek času na vykulení. Byli spočtení vykulení žijící jedinci (zobrazeno na Obr. 20) a také mrtví jedinci. Uhynulé jikry byly odsáty pryč za pomoci kapátka a následovalo dolití čisté a provzdušněné pitné vody.



Obr. 19 a 20. Pohled na kulící se a vykulené živé jedince. Foto A. Andoniu.

### **3.2.13. Stanovení přeživších jedinců v dalších dnech**

Podobným způsobem jako při stanovení líhivosti byli v dalších dnech 14. 6 a 15. 6. 2018 spočtení vykulení žijící a mrtví jedinci a tyto hodnoty byly zapsány jako mortalita a přežití jedinců po 48 a 72 hodinách po vykulení. Jednalo se celkem o 127 kádinek ve kterých se plůdek vykulil a přežil, u ostatních vzorků došlo k absolutní mortalitě vlivem extrémních a tím pádem i letálních teplot experimentálního uchování jiker. I nadále docházelo v pravidelných intervalech k opatrnému odlévání a dolévání čisté okysličené vody, a to nejméně 2x za den.

### **3.2.14. Příprava nauplií žábřonožky (*r. Artemia*)**

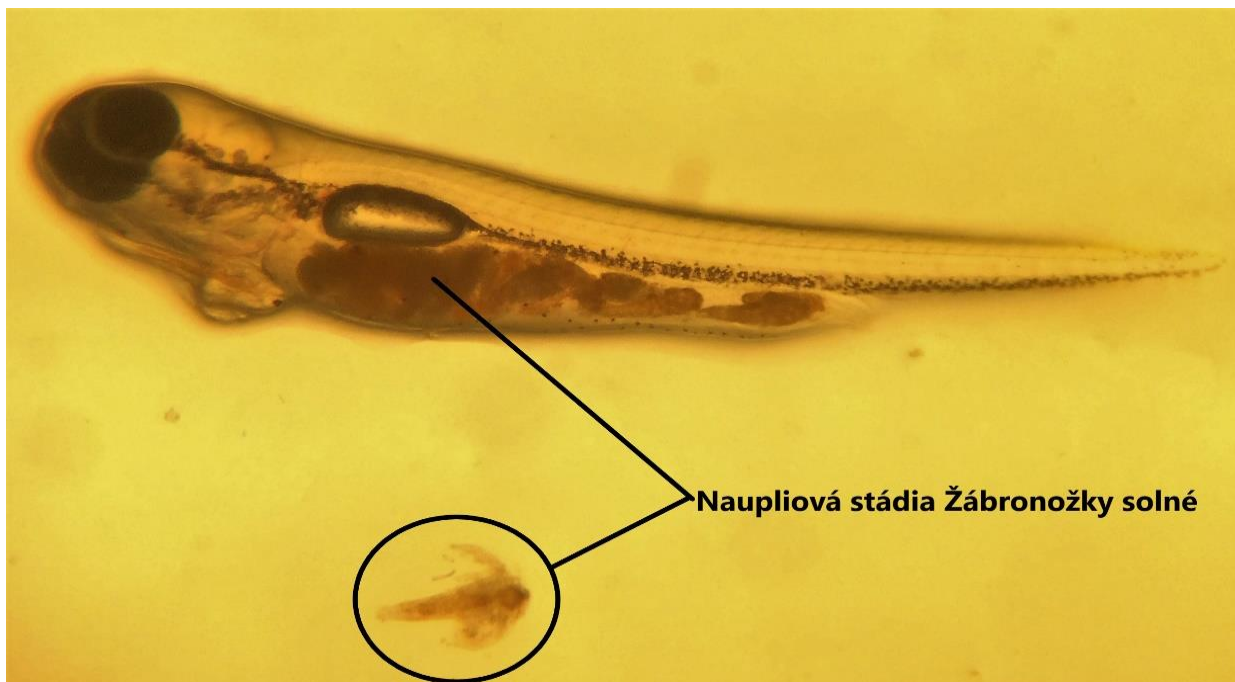
Dne 19. 6. 2018 se přistoupilo k přípravě živých nauplií žábřonožky solné, byly použity komerčně dodávané cysty značky Easy fish. K inkubaci nauplií byla použita Zugská láhev, do které bylo umístěno vzduchování a akvaristické topítko a její spodní část byla utěsněna tmelem. Tato láhev byla zhruba do půlky naplněna odstátou pitnou vodou, při dosažení teploty 28-29 °C bylo do vody přidáno 80-100 gramů kuchyňské soli na 6 litrů vody a následně také dvě kávové lžičky suchých cyst artémií. Po 20-28 hodinách stále aerace a svícení došlo k líhnutí nauplií artémií. Po uplynutí této doby došlo k zastavení aerace a k následnému vyplavení obalů cyst na hladinu a oranžová živá nauplia se přepustila do odměrného válce. Následně byla použita pro plůdek lína obecného, aby bylo možné zjistit příjem potravy a zohlednit jej ve výsledcích.

### ***3.2.15. Nakrmení a stanovení příjmu potravy u larev lína obecného.***

Následujícího dne 20. 6. 2018 v 07:00 hodin ráno, po strávení žloutkového vřáku u plůdku, bylo přistoupeno k nakrmení přeživších jedinců živými naupliemi artémie při teplotě vody ve vzorcích 19,9 °C. Nauplia byla nabrána do kapátka a do všech 127 vzorků bylo přidáno malé množství zhruba 1 ml (150-200 ks nauplií). Následně jsme mohli pozorovat zájem plůdku o potravu či naopak nikoliv. Vzorky byly následně ponechány v klidu po dobu tří hodin tak, aby plůdek měl dostatek času pro příjem nabízené exogenní potravy. Po uplynutí této doby byl plůdek ve všech vzorcích usmrcen a zároveň zafixován za pomoci přidání 95 % alkoholu do kádinky. Následně bylo spočteno pod binokulárním mikroskopem množství nakrmených živých a nenakrmených mrtvých larev lína obecného. Byly pořízeny fotografie larev a počty byly zapsány do tabulky v programu Microsoft Excel, kdy jedinci označení jako A (artemia) přijímali předkládanou potravu a jedinci M (mortality) uhynuli tedy potravu nepřijímali (zobrazeno na Obr. 22). Většina životaschopných jedinců spolehlivě přijímala předkládanou potravu, což bylo patrné při pozdějším pozorování jejich trávicího traktu pod binokulárním mikroskopem (vyobrazeno na Obr. 21) značky Intraco micro s. r. o.

### ***3.2.16. Zpracování dat***

Data, která jsem získal v průběhu experimentu, byla zapsána do tabulek v programu Microsoft Office Excel 2016, které tvořily podklad pro následnou statistickou analýzu dat. Z těchto tabulek byly vypočteny průměry z daných opakování a ke každému z nich byla přiřazena směrodatná odchylka. Dále byl použit program Statistica 13 (Stat Soft ČR), kde bylo využito dvou faktorové ANOVY s opakováním, data byla vyhodnocena na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . Finální data, byla následně zanesena do jednotlivých grafů. Normalita dat byla ověřena Shapiro-Wilkovým testem v programu Statistica 13.



Obr. 21. Nakrmená larva lína obecného. Foto A. Andoniu.



Obr. 22. Nenakrmená larva lína obecného. Foto A. Andoniu.



## 4. Výsledky

### 4.1. Interval latence

Při uměle indukovaném výtěru, bylo dosaženo ovulace u všech šesti jikernaček lina obecného injikovaných přípravkem Supergestran. Z důvodu poměrně malé velikosti jikernaček (241-326 gramů) a i jejich břišních partií bylo množství vytřených jiker malé (15-32 gramů), avšak plně dostačující pro tento experiment.

Pro výsledky a zpracování údajů byly použity jikry všech šesti jikernaček. Ovulace u vybraných jikernaček proběhla po 32 hodinách. Interval latence při teplotě 20,5 °C s následným zvýšením na 23 °C byl přesně 32,5 hodin. Teplota vzduchu na líhni byla v tyto dny (8 a 9. 6. 2019) přes den 21-22,5 °C a v noci 19,5-20,5 °C.

### 4.2. Umělý výtěr

V Tab. 2 jsou uvedeny jednotlivé hmotnosti jikernaček použitých při experimentu. Dále hmotnosti vytřených jiker a hodnoty pseudogonadosomatického indexu pGSI, které odpovídají danému číslu ryby. Z těchto údajů lze konstatovat, že největší množství jiker (32 g) při umělém výtěru bylo získáno od nejtěžší jikernačky (č. 5), která vážila 306 gramů. Naopak nejmenšího množství (15 g) získaných jiker bylo dosaženo u nejlehčí jikernačky (č. 4) o hmotnosti 241 gramů.

Při pohledu na výsledky pGSI (pseudogonadosomatický index) je ovšem patné, že nejvyšší hodnoty 9,8 % bylo dosaženo u jikernačky č. 6 s ohledem na její velikost (287 g) oproti ostatním rybám, kdy hmotnost jiker činila 28 gramů. Nejvyššího pGSI indexu (10,6 %), bylo dosaženo u jikernačky č. 5, která byla nejtěžší rybou (306 g) použitou pro umělý výtěr v tomto experimentu. Nejnižšího indexu pGSI (6,3 %), bylo dosaženo u jikernačky č. 1 o váze 286 gramů.

Tab. 2. Výsledky umělého výtěru za pomoci hormonální stimulace při použití přípravku Supergestran.

Jikernačka číslo	1	2	3	4	5	6
Hmotnost jikernačky (g)	286	281	293	241	306	287
Hmotnost jiker (g)	18	26	28	15	32	28
pGSI jikernačky (%)	6,3	9,3	9,6	6,2	10,6	9,8

Tabulka 3 zobrazuje absolutní a relativní plodnosti jikernaček a hmotnost jedné nenabobtnané jikry od každé jikernačky. Hodnoty absolutních a relativních plodností zde odpovídají hodnotám pseudogonadosomatického indexu (pGSI) z předešlé tabulky. Nejvyšší hodnota absolutní pracovní plodnosti byla u jikernačky č.5, kdy tvořila 64 000 ks.ks<sup>-1</sup>, jednalo se zároveň o nejtěžší jikernačku (306 g) použitou pro experiment. Druhé nejvyšší hodnoty absolutní pracovní plodnosti, bylo dosaženo u jikernačky č. 6 - 54 902 ks.ks<sup>-1</sup>, následně u jikernačky č. 3 - 53 846 ks.ks<sup>-1</sup>. Nejnižší hodnota absolutní pracovní plodnosti byla zaznamenána u nejlehčí (241 g) jikernačky č. 4, kdy konkrétně tvořila 30 612 ks.ks<sup>-1</sup>. Další velice nízká hodnota absolutní pracovní plodnosti byla u jikernačky č. 1 kdy vzhledem k své hmotnosti 286 g byla na úrovni pouze 34 615 ks.ks<sup>-1</sup>.

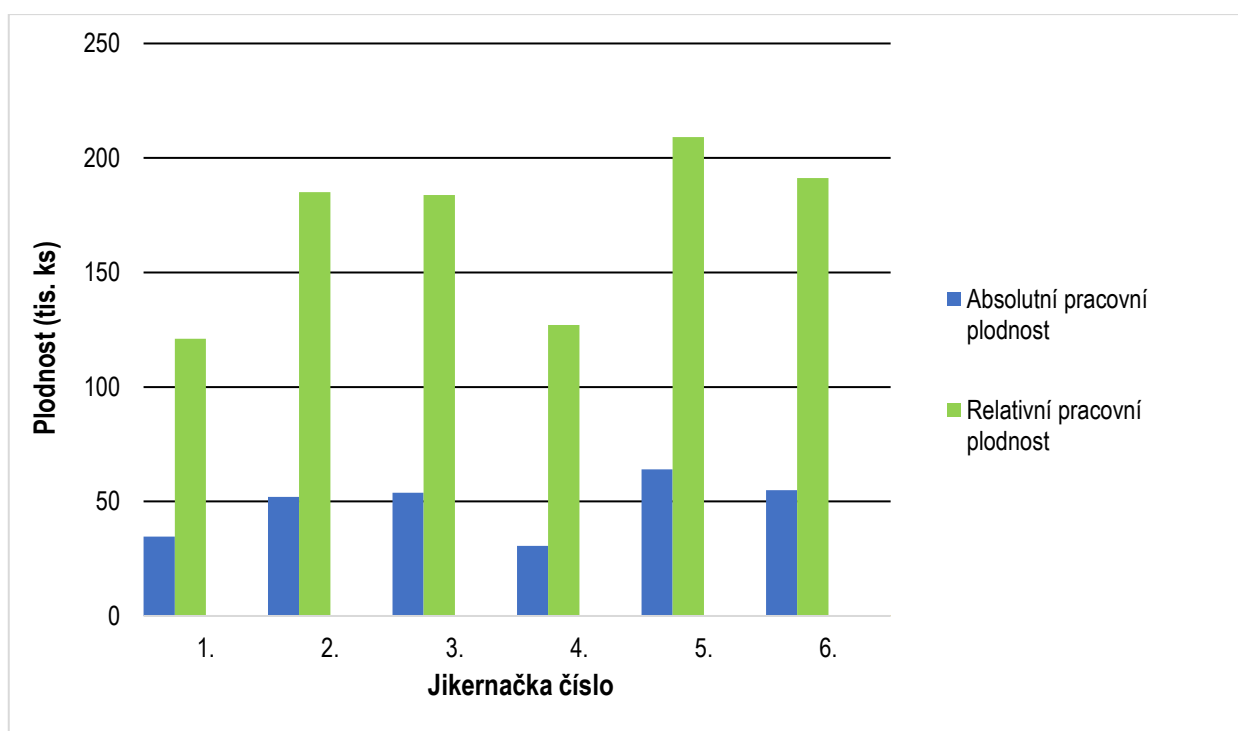
Při pohledu na dosažené relativní pracovní plodnosti (přepočtené na jeden kilogram váhy ryby), byla nejvyšší hodnota zaznamenána u nejtěžší (306 g) jikernačky č. 5 a to 209 150 ks.kg<sup>-1</sup>, dále pak u ryby č. 6, kdy hodnota byla 191 296 ks.kg<sup>-1</sup> a u jikernačky č. 2 byla relativní pracovní plodnost 185 053 ks.kg<sup>-1</sup>. Nejnižší hodnotu relativní pracovní plodnosti 121 033 ks.kg<sup>-1</sup> dosáhla jikernačka č. 1 s váhou 286 g, za ní s váhou 241 g jikernačka č. 4 s hodnotou 127 022 ks.kg<sup>-1</sup>.

Jako poslední sledovaný parametr uvedený v Tab. 2 je hmotnost jedné vlhké nenabobtnané jikry. Nejvyšší hmotnost jedné jikry 0,52 mg byla naměřena u dvou jikernaček použitých v experimentu u ryby č. 1 s váhou 286 g a u jikernačky č. 3 s hmotností těla 293 g. Nejlehčí jikernačka č. 4 s váhou 241 g měla jikru o váze 0,49 mg což byla i nejnižší naměřená hodnota jedné jikry. Dále pak u nejtěžší 306 g jikernačky č. 5 byla hmotnost jedné jikry 0,50 mg, tato hmotnost byla naměřena i u ryby č. 2 s váhou těla 281 g. Jikernačka č. 6 s váhou 287 g měla pak jikru o váze 0,51 mg.

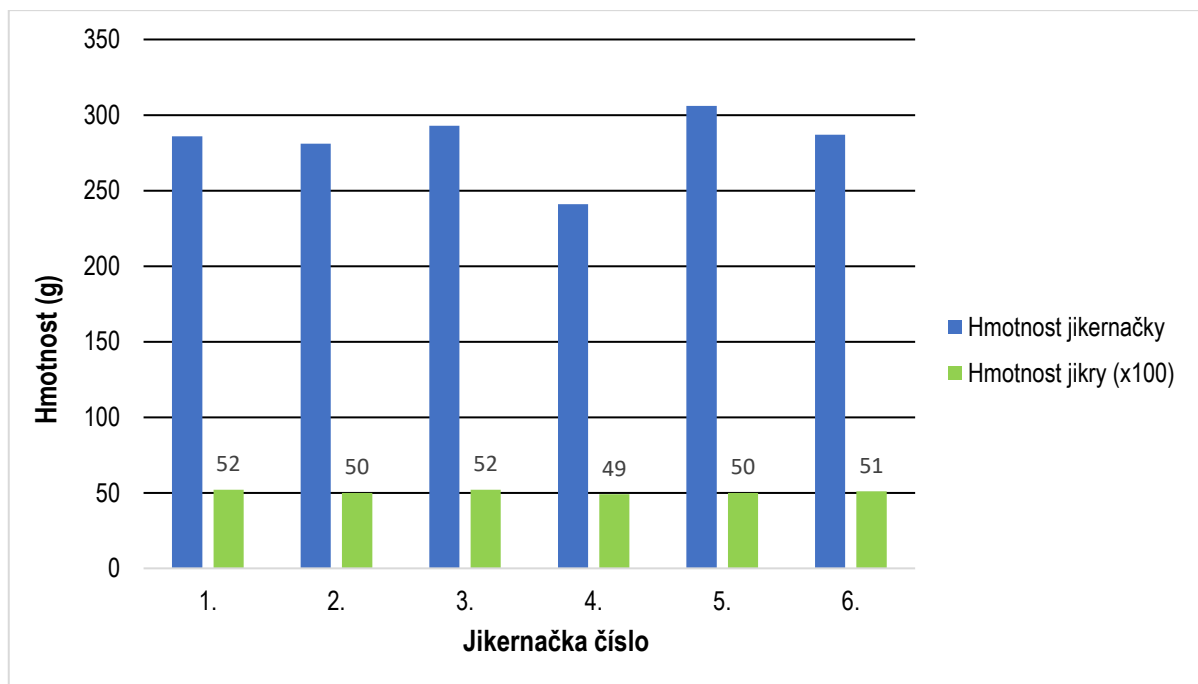
V Grafu 1 jsou znázorněny hodnoty absolutní a relativní pracovní plodnosti u vybraných jikernaček v tomto experimentu. V Grafu 2 jsou pak zobrazeny hmotnosti jednotlivých jikernaček použitých v experimentu a také příslušné hmotnosti jejich jiker vynásobené stem.

Tab. 3. Plodnosti jikernaček použitých při experimentu a váha jedné vlhké nenabotnané jikry.

Jikernačka číslo	1	2	3	4	5	6
<b>Absolutní pracovní plodnost (ks.ks<sup>-1</sup>)</b>	34 615	52 000	53 846	30 612	64 000	54 902
<b>Relativní pracovní plodnost (ks.kg<sup>-1</sup>)</b>	121 033	185 053	183 775	127 022	209 150	191 296
<b>Vlhká hmotnost jedné nenabotnané jikry (mg)</b>	0,52	0,50	0,52	0,49	0,50	0,51



Graf 1. Absolutní a relativní pracovní plodnosti jikernaček použitých v experimentu.



Graf 2. Hmotnosti jikernaček znázorněné společně s jednotlivými hmotnostmi jejich jiker v nenabobtnaném stavu vynásobené stem.

### 4.3. Oplozenost

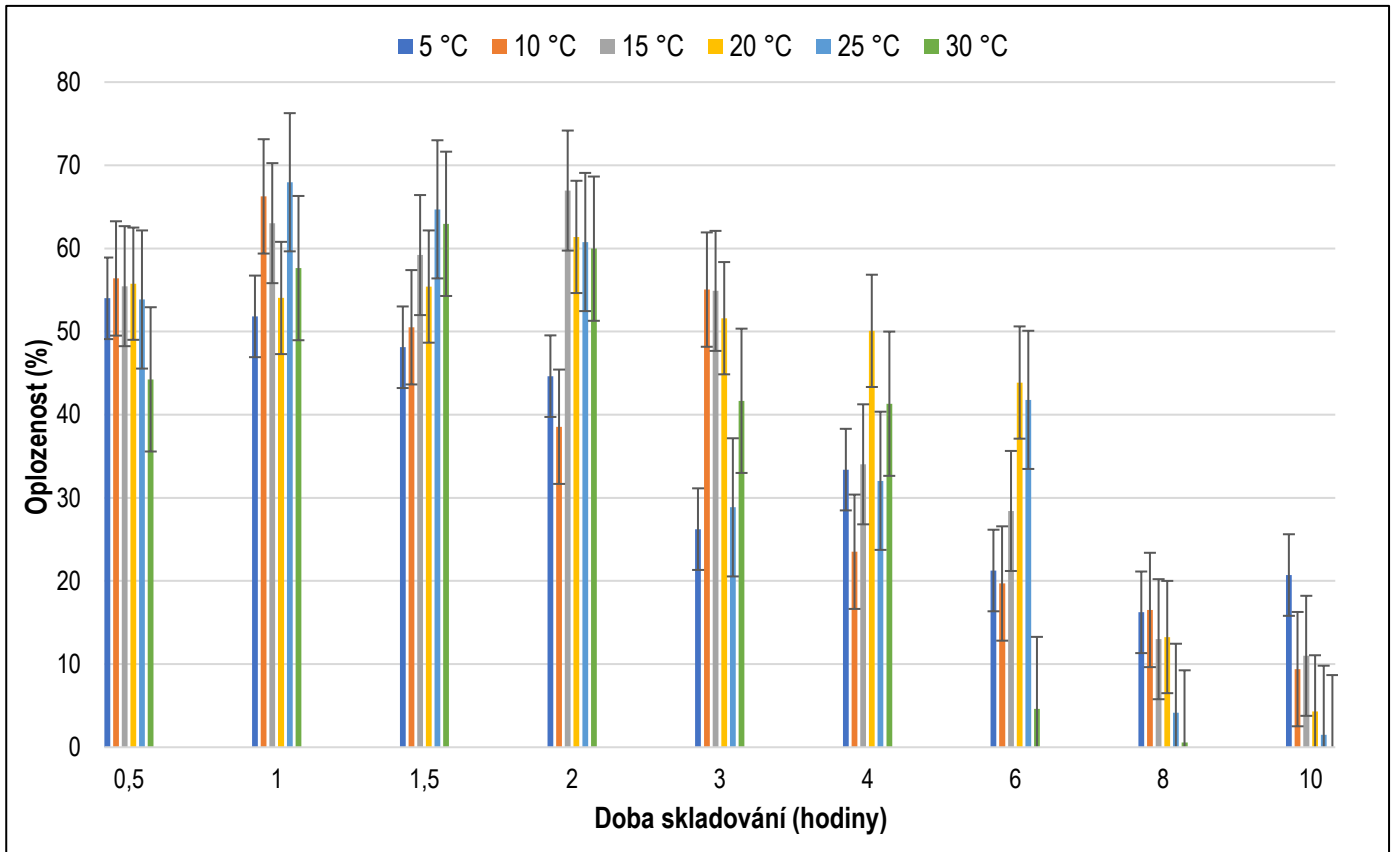
V Grafu 3 jsou uvedeny jednotlivé průměrné hodnoty oplozenosti jiker (v %) u lina obecného. Tento průměr byl vypočítán vždy ze tří po sobě jdoucích opakování, dle daného času a teploty skladování. Z Grafu 3 je patrné, že nejlepších hodnot oplozenosti jiker bylo dosaženo v časových intervalech 1-2 hodin skladování jiker, bez ohledu na teplotu skladování. Samozřejmě extrémní teploty skladování jako 5 nebo 10 °C mají hodnoty značně kolísavé v rozmezí od 38,5 - 66,3 %. Nejlepší hodnoty z celkové oplozenosti jiker bylo dosaženo právě po 1 hodině skladování jiker, při teplotě 25 °C, kdy hodnota dosahovala 68,1 %, následovala hodnota 67,1 %, které byla naměřena při oplození po 2 hodinách při teplotě skladování 15 °C. Třetí nejlepší hodnota oplozenosti 66,3 %, byla pozorována při skladování jiker v 10 °C (1 hodina skladování). Při oplození po 1-2 hodinách skladování jiker bylo dosaženo nejlepších čtyř hodnot oplozenosti v rozmezí 64,7 % (25 °C a 1,5 hod. skladování) až 68,1 % (25 °C po 1 hodině skladování).

Oplození jiker po půl hodině skladování bylo u všech šesti teplot v minimálním rozmezí, od 44,3 - 56,4 %, nejlepší hodnoty v tomto časovém intervalu bylo dosaženo při skladování jiker v 10 °C - 56,4 % a nejhorší hodnota byla zaznamenána při 30 °C - 44,3 %.

Nejhorší hodnoty naměřené oplozenosti byly zaznamenány při skladování jiker po dobu 10 hodin při teplotě 30 °C, kdy tvořily 0 %. Naopak nejlepší hodnota při stejném časovém intervalu skladování jiker 10 hodin, byla pozorována při teplotě skladování 5 °C na úrovni 20,7 %.

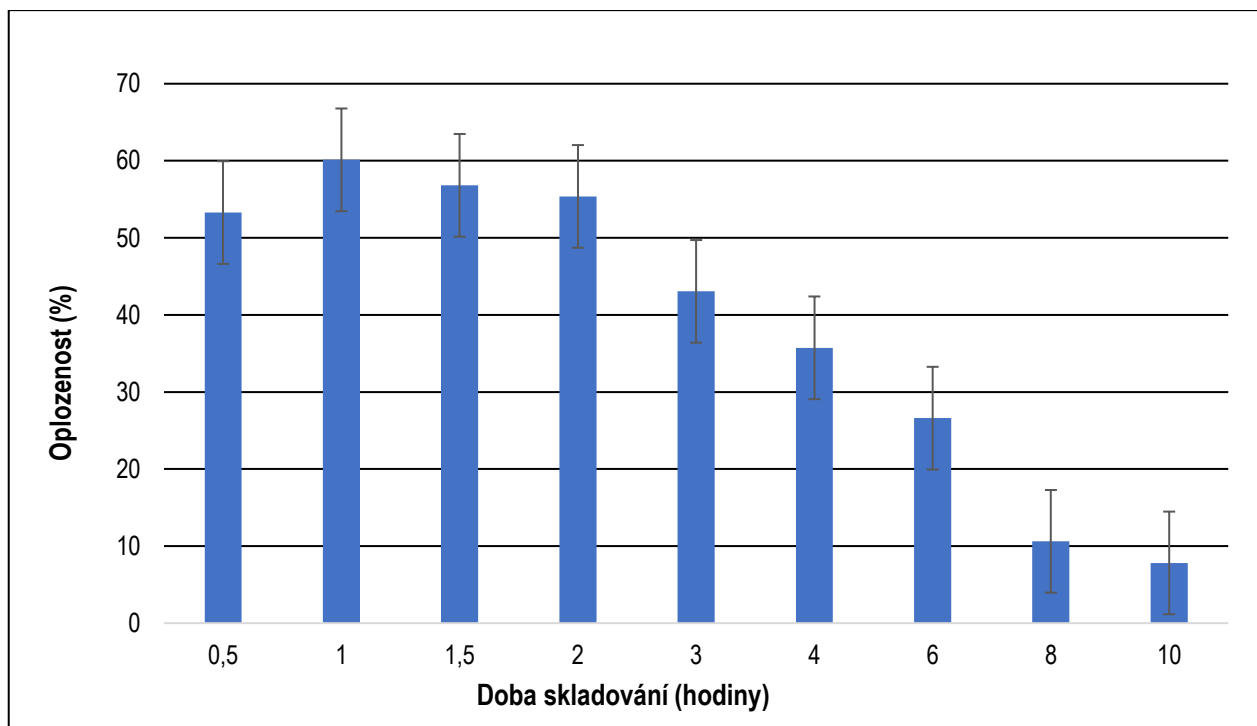
Pokud se podíváme na Graf 3, můžeme konstatovat, že vyšších úbytků v hodnotách oplozenosti, bylo dosaženo po době skladování více jak dvou hodin, a zvláště pak u extrémních teplot 5 a 30 °C. Při statistickém vyhodnocení dat za pomoci Anovy (dvou faktorové s opakováním) bylo následně zjištěno, že podobné hodnoty vykazují teploty 15 a 20 °C, následně pak 10 a 25 °C a jako poslední teploty 5 a 30 °C. Na hladině významnosti ( $\alpha = 0,05$ ) byla určena p-hodnota 0,0262, na základě toho můžeme potvrdit tvrzení, že teplota skladování má vliv na hodnotu oplozenosti u jiker. Taktéž při statistickém porovnání hodnot v závislosti na čase oplození můžeme potvrdit, že čas oplození má značný vliv na oplozenost jiker ( $p=0,0000$ ). V tomto případě lze posoudit jednotlivé skupiny časových intervalů jako sobě podobné, konkrétně 0,5-2 hodiny, 3-6 a 8-10 hodin. Tyto tři jednotlivé skupiny intervalů vykazují statisticky podobné hodnoty, ale navzájem se všechny 3 skupiny mezi sebou liší.

V dosažených hodnotách při teplotě skladování 5 °C byl na hladině významnosti ( $\alpha = 0,05$ ) zaznamenán první statisticky signifikantní pokles při oplození po 4 hodinách. Pro teplotu 10 °C byl statisticky významný pokles oplozenosti zjištěn po 3 hodinách skladování jiker. Pro teplotu 15 °C byl pozorován statisticky významný pokles po 6 hodinách skladování. Následně při teplotách 20 a 25 °C byl signifikantní statistický pokles hodnot po 2 hodinách skladování. Pro teplotu 20 °C byl první významný pokles po 2 hodinách a následně druhý signifikantní statisticky průkazný pokles hodnot po 6 hodinách skladovací doby. Při teplotě 30 °C byl statisticky významný první pokles pozorován po době skladování dvou hodin a druhý významnější pokles pak po 6 hodinách.



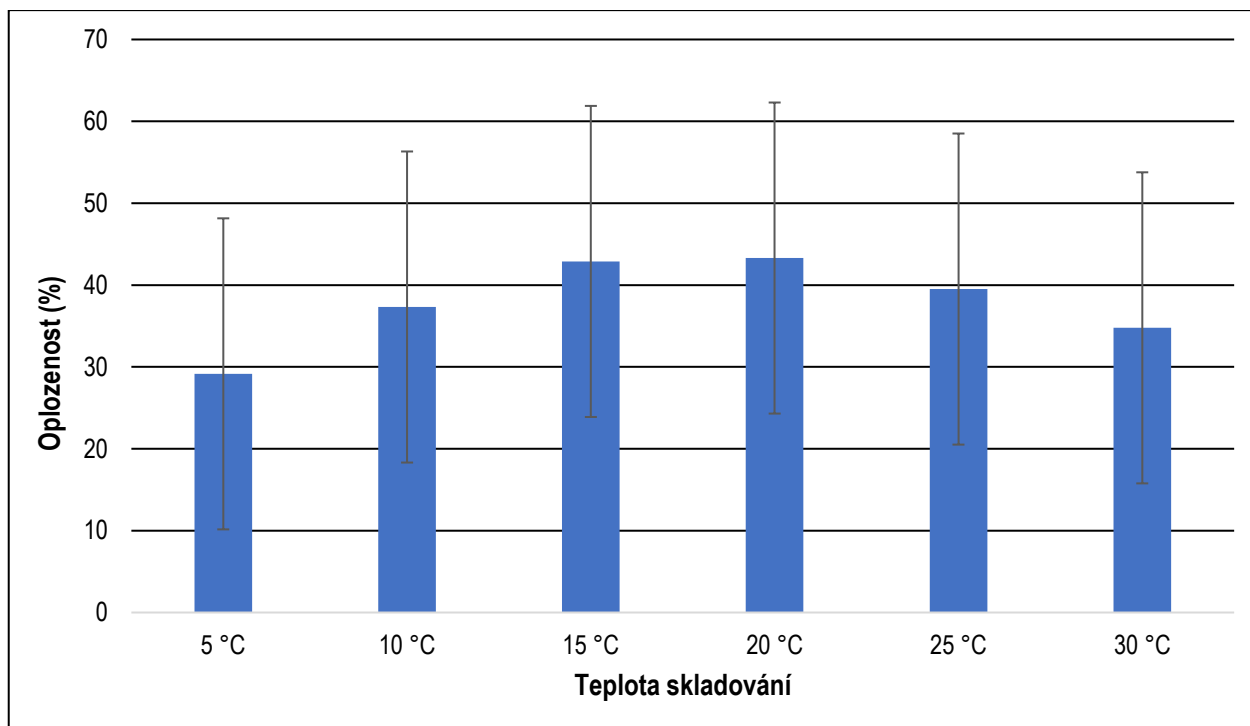
Graf 3. Vliv teploty a délky skladování jiker před oplozením na jejich oplozenost stanovenou po 48 hodinách po jejich oplození (v % z celkového počtu jiker).

V Grafu 4 jsou vyobrazeny průměrné hodnoty oplozenosti jiker z devíti časových intervalů (skupin), bez ohledu na teplotu skladování jiker. Tento graf popisuje průměrné hodnoty oplozenosti v závislosti na času oplození (skladování jiker). Z tohoto grafu můžeme usoudit, že nejlepších průměrných hodnot bylo dosaženo po dobách skladování 1 a 1,5 hodiny, na úrovni 60,1 % a 56,8 %. Při délce skladování 0,5 a 2 hodiny byly hodnoty 53,3 % a 55,4 %. Nejlepších hodnot tedy bylo dosaženo ve třech časových intervalech, a to přesněji po 1, 1,5 a 2 hodinách skladování jiker. Významnější statistický pokles hodnot oplozenosti na hladině významnosti ( $\alpha = 0,05$ ), byl zaznamenán po době skladování 3 hodin na úroveň 43,1 %, následný druhý signifikantní pokles byl pozorován po délce uchování 8 hodin 10,6 %. Nejnižší hodnota oplozenosti 7,8 %, byla zjištěna u skladovací doby 10 hodin.



Graf 4. Oplozenost jiker u lína obecného v závislosti na délce skladování (před oplozením) bez ohledu na teplotu uchování jiker. (Jednotlivé hodnoty představují průměrné hodnoty oplození z různých teplotních skupin dle daného časového intervalu).

V Grafu 5 jsou vyobrazeny průměrné hodnoty oplozenosti v rámci jednotlivých skupin v závislosti na teplotě skladování bez ohledu na časový interval oplození (skladování). Nejlepší hodnoty oplozenosti byly pozorovány při skladování jiker při teplotách 15 a 20 °C, při těchto skladovacích teplotách bylo dosaženo oplození na úrovni více jak 40 %, konkrétněji při 15 °C bylo oplození 42,9 % a při 20 °C 43,3 %. Dále u tří teplot skladování 10, 25 a 30 °C byla hodnota oplozenosti více jak 30 %, u teploty 10 °C tvořila oplozenost 37,3 %, u 25 °C pak 39,5 % a u teploty 30 °C byla 34,8 %. Nejnižší oplozenost byla pozorována při teplotě 5 °C, a to na úrovni 29,2 %. V Grafu 5 nebyl zjištěn na hladině významnosti ( $\alpha = 0,05$ ) žádný statisticky signifikantní rozdíl v průměrných hodnotách oplozenosti.



Graf 5. Oplozenost jiker lína obecného v závislosti na teplotě skladování, bez ohledu na časový interval skladování (oplozování). (Jednotlivé skupiny hodnot odpovídají průměrným hodnotám oplozenosti pro danou teplotu skladování při různých časových intervalech).

#### 4.4. Líhivost (oplozených jiker)

V Grafu 6 jsou vyobrazeny jednotlivé průměry hodnot vykultivovaných jedinců vždy ze tří po sobě jdoucích opakování (v %). Tato líhivost byla vypočítána z oplozených jiker (hodnoty neoplozených jiker nebyly do výpočtu použity) v závislosti na teplotě skladování a časovém intervalu oplozování (délce skladování). Z tohoto grafu můžeme konstatovat, že nejlepší hodnoty líhivosti jiker bylo dosaženo u skupin, které byly oplozeny (skladovány) do tří hodin po umělém výtěru. V tomto časovém intervalu bylo dosaženo nejlepší hodnoty líhivosti 90,8 % při uchování jiker v 10 °C a po půl hodině skladování, druhá nejlepší hodnota 88,9 %, byla pozorována při skladování v 5 °C a oplození po 3 hodinách, třetí nejlepší líhivosti bylo dosaženo po 1,5 hodině skladování při 10 °C, a to na úrovni 83,7 %.

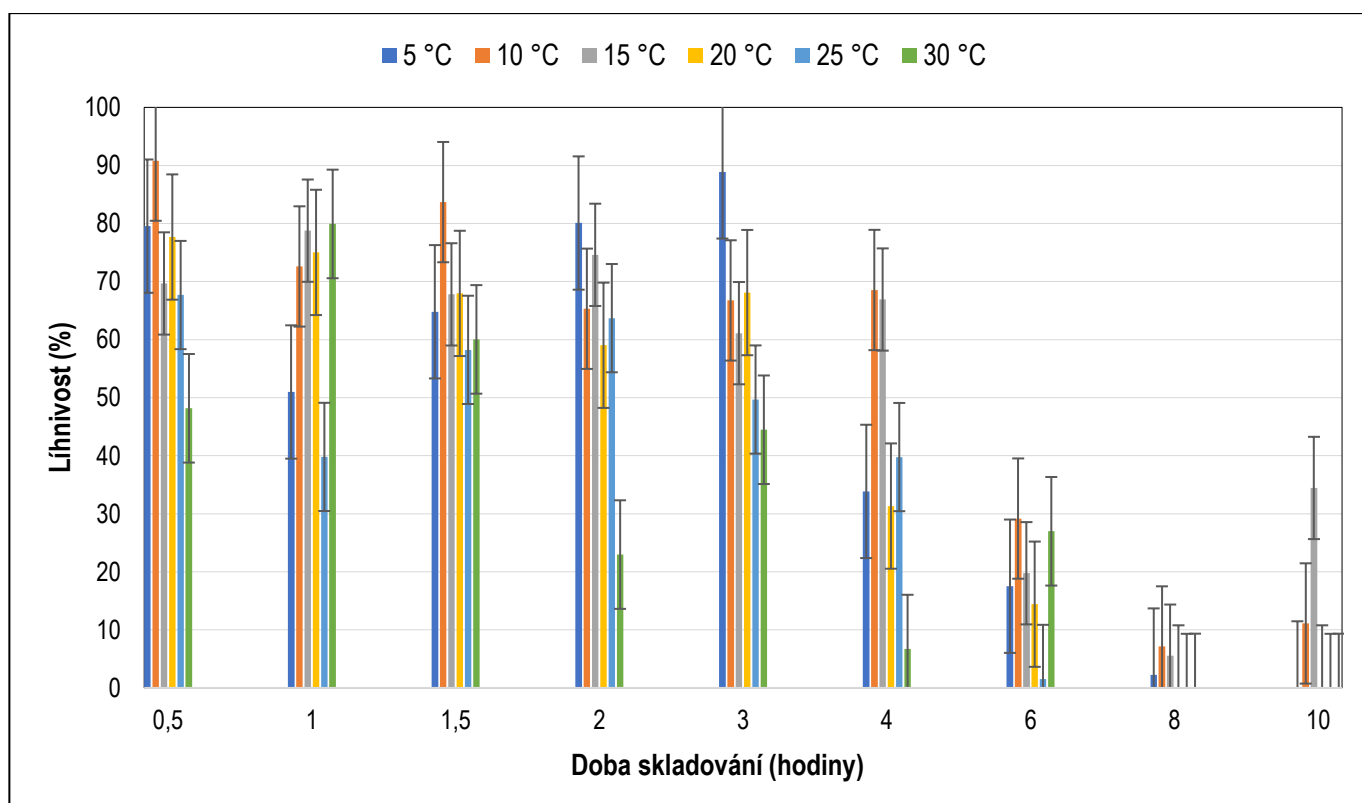
Nejhorší líhivosti bylo dosaženo při oplození po 8 hodinách skladování, a to při teplotách 20, 25 a 30 °C, kdy líhivost byla 0 %. Dále pak při oplození po 10 hodinách při teplotě skladování jiker 5, 20, 25 a 30 °C, kdy tvořila také 0 % líhivost. Nejnížší zaznamenané minimální hodnoty pak byly při skladování v 25 °C a oplození po 6 hodinách, kdy hodnota oplození byla 1,6 % a také při 5 °C po 8 hodinách skladování



kdy hodnota byla 2,2 %. Klesající tendence líhnivosti se projevila po 4 hodinách skladování a nejvíce pak u teplot 5, 20 a 30 °C naopak nejlepších hodnot v časovém intervalu 4-10 hodin bylo dosaženo při teplotách 10 a 15 °C. Při pohledu na časový interval oplození 10 hodin byly výsledky líhnivosti nejlepší u teploty 15 °C, kdy líhnivost tvořila 34,4 %, ostatní teplotní rozmezí byla s velmi malou nebo nulovou líhnivostí.

Při statistickém vyhodnocení jednotlivých skupin na hladině významnosti ( $\alpha = 0,05$ ), byla P-hodnota na úrovni 0,000, to znamená, že čas oplození má vliv na líhnivost. Konkrétněji časové skupiny 0,5-3 hodiny vykazují podobné výsledky a taktéž je tomu u skupin 8-10 hodin. Také při statistickém porovnání hodnot při rozdílné teplotě můžeme usoudit, že tento parametr má vliv na líhnivost jedinců, kdy hodnota P byla 0,0003. Z tohoto výpočtu opět můžeme usoudit, že některé skupiny jako například 10, 15, 20 °C nebo 25-30 °C vykazují podobné hodnoty, a tedy statisticky paří k sobě, avšak navzájem se tyto dvě skupiny mezi sebou liší.

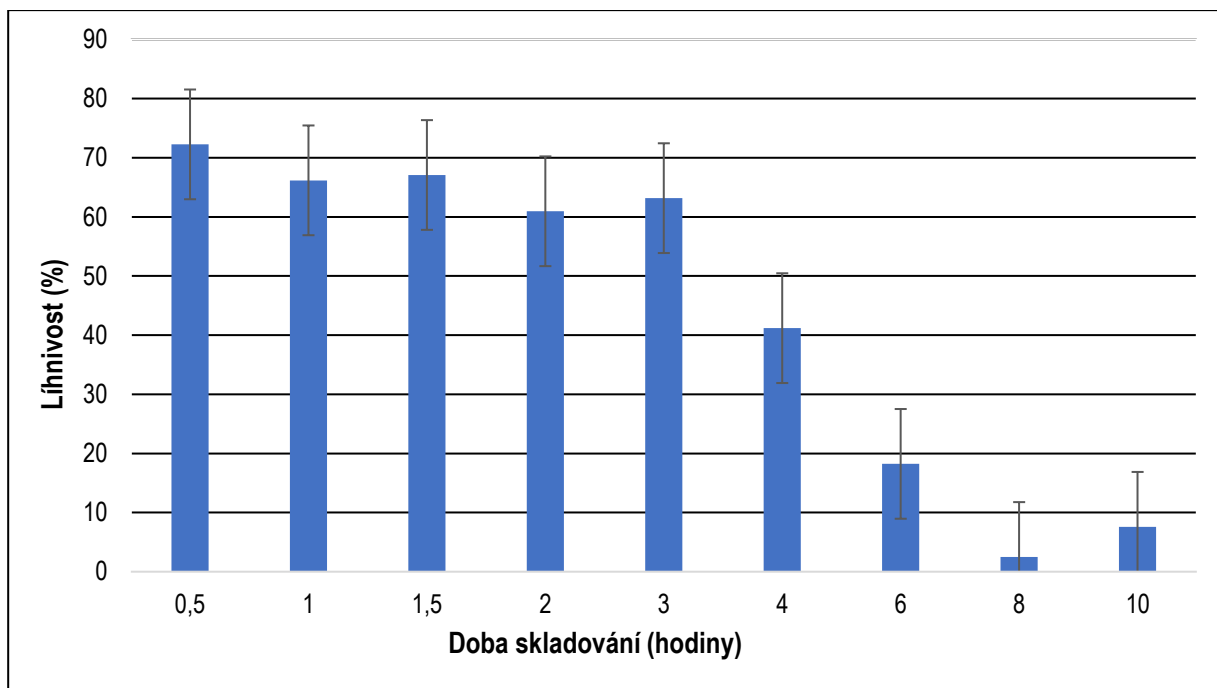
Mezi hodnotami pro teplotu 5 °C došlo k prvnímu statisticky signifikantnímu poklesu na hladině významnosti ( $\alpha = 0,05$ ) již po 1 hodině skladování, ale rapidní zvýšení líhnivosti následovalo v intervalu 2-3 hodin oplození, až k nejvyšším hodnotám (3 hodiny skladování, líhnivost 88,9 %). Dále pak při teplotách 10-15 °C došlo k prvnímu významnějšímu poklesu líhnivosti po 6 hodinách skladování (oplození) jiker. Pro teploty 20, 25 a 30 °C byl zjištěn statistický pokles hodnot při oplození po 4 hodinách. Při oplození jiker po délce skladování 8-10 hodin byla při těchto teplotách (20, 25 a 30 °C) líhnivost na 0 % úrovni.



Graf 6. Vliv teploty a délky skladování jiker před oplozením na jejich líhivost stanovenou po 48 h od začátku kulení (v % z oplozených jiker).

V Grafu 7 jsou vyobrazeny průměrné hodnoty líhivosti pro jednotlivé skupiny vykulených jedinců, dle jejich času oplození bez ohledu na teplotu skladování jiker. Z grafu jasně vyplývá, že nejlepších průměrných hodnot líhivosti bylo dosaženo při oplození po půl hodině, a to na úrovni 72,3 %, dále pak při oplození po 2 hodinách (67 %) a následoval časový interval 1 hodiny skladování jiker kdy líhivost byla 66,2 %.

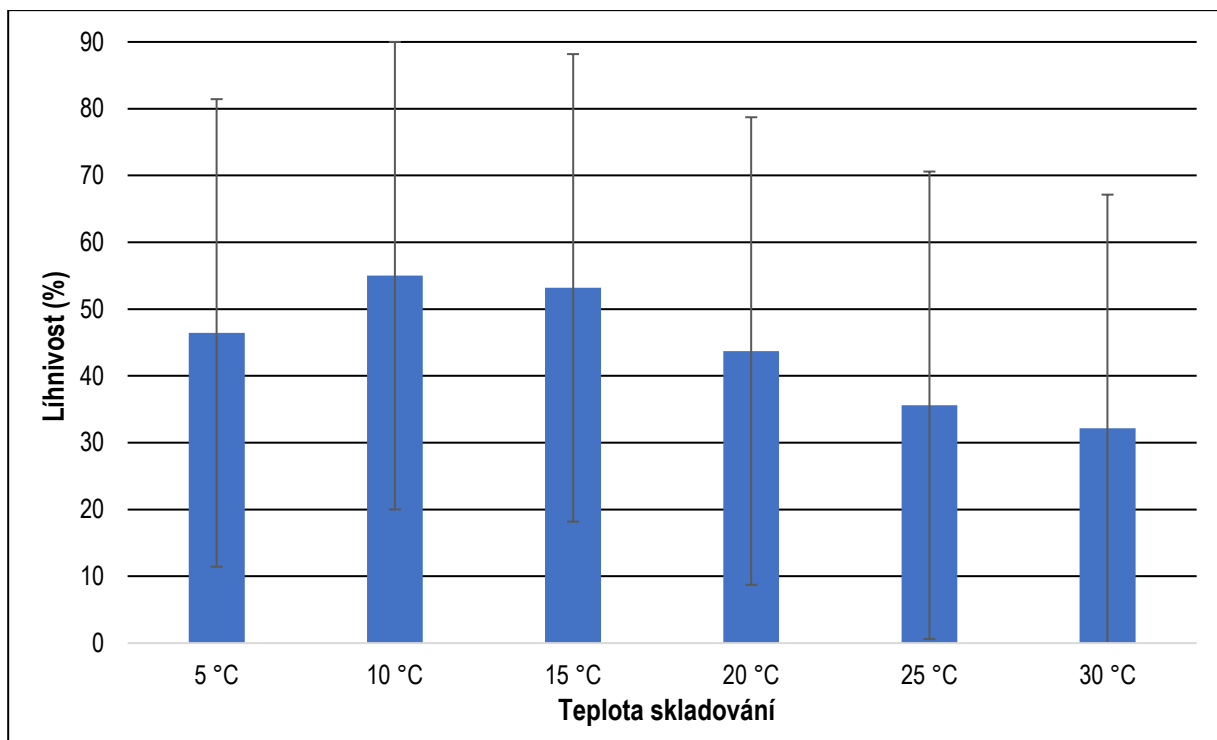
Nejhorší úroveň líhivosti (2,5 %) byla pozorována při oplození po 8 hodinách, následně druhá nejhorší líhivost byla po délce skladování 10 hodin, na úrovni 7,6 %, jako třetí nejhorší byl pak vyhodnocen časový úsek oplození po 6 hodinách (18,2 %). V Grafu 6 byl zaznamenán na hladině významnosti ( $\alpha = 0,05$ ) první statisticky signifikantní pokles líhivosti při oplození po 4 hodinách.



Graf 7. Hodnoty líhivosti v závislosti na délce skladování jiker (před oplozením) bez ohledu na teplotu uchování. (Hodnoty jednotlivých skupin odpovídají průměrné hodnotě líhivosti při rozdílných teplotách skladování).

V Grafu 8 jsou znázorněny průměrné hodnoty (líhivosti) jednotlivých skupin s ohledem na teplotu uchování jiker a bez ohledu na časový interval skladování (oplozování) jiker. Z grafu je patrné, že nejlepších hodnot líhivosti jiker bylo dosaženo při teplotách skladování 10 a 15 °C, konkrétně 55 % a 53,2 %. Dále pak teploty 5 a 20 °C vykazovaly hodnoty líhivosti vyšší než 40 %, přesněji 46,4 % (5 °C) a 43,8 % (20 °C).

Nejhorších výsledků bylo dosaženo u skladování jiker při teplotách 25 a 30 °C, na úrovni líhivosti 35,5 % a 32,1 %. V tomto grafu při hladině významnosti ( $\alpha = 0,05$ ) nebyl pozorován žádný statisticky významný rozdíl v hodnotách líhivosti.



Graf 8. Líhivost jiker lína obecného v závislosti na teplotě skladování, bez ohledu na časový interval skladování (oplozování). (Jednotlivé skupiny hodnot odpovídají průměrným hodnotám líhivosti pro danou teplotu skladování při různých časových intervalech).

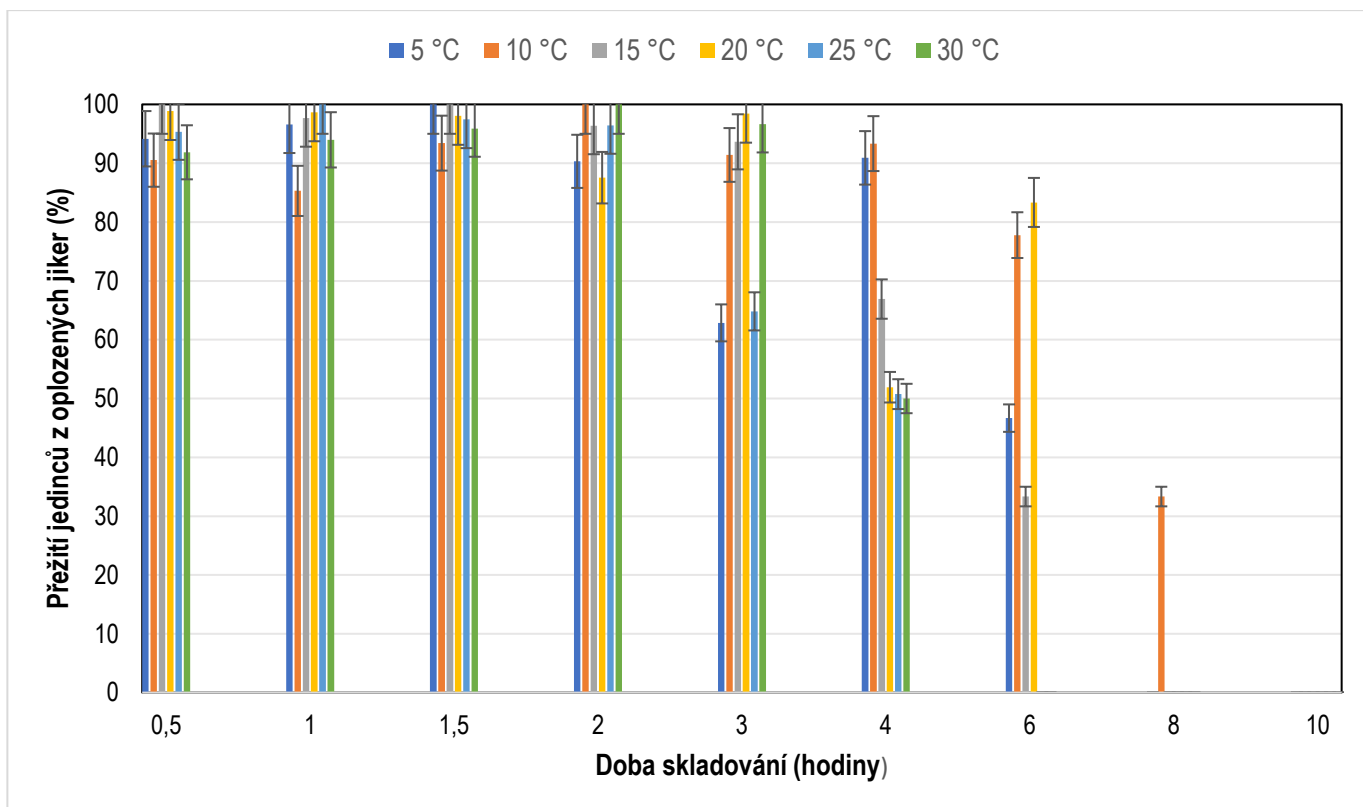
#### 4.5. Přežití vykulených jedinců z oplozených jiker

V Grafu 9 jsou zobrazeny jednotlivé průměry hodnot přeživších jedinců pouze z oplozených jiker. Tyto průměry jsou vypočítány ze tří po sobě jdoucích oplození (v %), vždy v závislosti pro daný interval oplození a teplotu skladování. Dle tohoto grafu lze konstatovat, že nejlepších hodnot přežití bylo dosaženo při oplození jiker po 0,5 a 1,5 hodině skladování při teplotě 15 °C, dále při 25 °C po 1 hodině skladování a následně při teplotě 10 a 30 °C při oplození po 2 hodinách. Všechny tyto varianty (skupiny) tvořily přežití jedinců na úrovni 100 %. Lze tedy konstatovat, že v intervalu oplození 0,5-2 hodiny dosahovaly hodnoty přežití až na drobné výjimky (10 °C po 1 hodině, přežití 85,3 %) 90 % výši přežití plůdku.

Nejhorších hodnot přežití vykulených jedinců pak bylo dosaženo při oplození jiker po 10 hodinách skladování, a to při všech šesti daných teplotách kdy přežití bylo 0 %. Následně při delší skladování jiker po dobu 8 hodin bylo při 10 °C přežití na úrovni 33,3 % u ostatních teplot ve stejném časovém intervalu bylo pak 0 %.

Za pomoci statistického vyhodnocení na hladině významnosti ( $\alpha = 0,05$ ), kdy P hodnota byla pro časové intervaly 0,0000, lze usoudit, že i v tomto případě mají jednotlivé časy oplození jiker jasný a prokazatelný vliv na následující přežití plůdku. Při tomto výpočtu bylo také zjištěno, že některé časové úseky vykazují podobné hodnoty jako například intervaly 0,5-3 hodiny nebo 8-10 hodin. Tyto skupiny intervalů mají mezi sebou statistický rozdíl, avšak v rámci jedné skupiny vykazují podobné hodnoty. To znamená, že intervaly 0,5; 1; 1,5; 2; 3 (0,5-3 hodiny) mají podobné statistické hodnoty přežití. Ovšem při porovnání těchto dvou skupin 0,5-3 a 8-10 hodin jsou jejich hodnoty odlišné. Vliv na přežití plůdku má také nesporně teplota skladování, kdy při statistickém testování na hladině významnosti ( $\alpha = 0,05$ ), byla P hodnota 0,0316 což zamítá nulovou hypotézu, tedy to, že by teplota neměla vliv na přežití. I v tomto případě můžeme pozorovat některé skupiny vykazující statisticky podobné hodnoty, jako například teploty 5-20 °C nebo 25-30 °C. Tyto teploty 5, 10, 15 a 20 °C tedy statisticky patří k sobě, ale při porovnání se skupinou teplot 25 a 30 °C se liší.

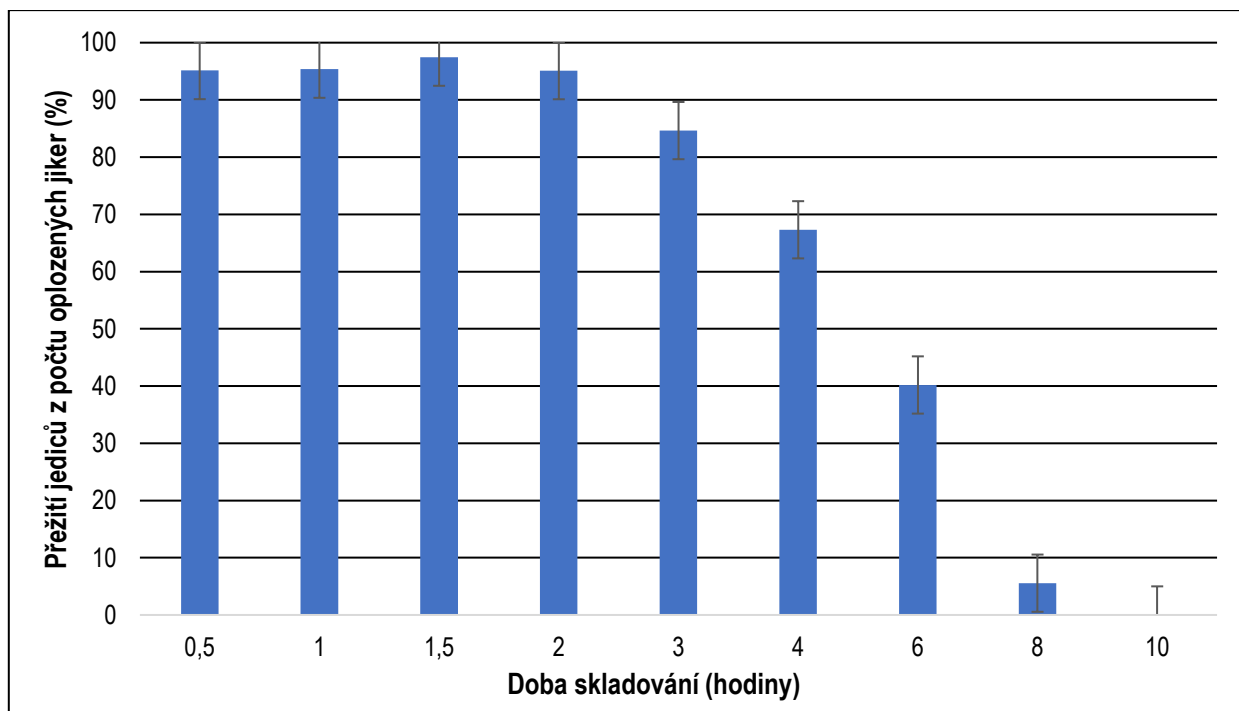
V hodnotách přežití plůdku z oplozených jiker došlo při teplotě 5 a 25 °C k prvnímu statisticky signifikantnímu poklesu na hladině významnosti ( $\alpha = 0,05$ ) při oplození po 3 hodinách skladování jiker. Dále pak u teploty 10 °C došlo k prvnímu poklesu hodnot až po 8 hodinách skladování jiker. U teploty 15 °C následně došlo k poklesu hodnot již po 3 hodinách skladování jiker a u teploty 20 °C následoval statisticky průkazný pokles přežití plůdku při oplození jiker po 6 hodinách délky jejich skladování.



Graf 9. Vliv teploty a délky skladování jiker před oplozením na jejich přežití do přechodu z embryonální do larvální periody (v % z oplozených jiker).

V Grafu 10 jsou zobrazeny průměrné hodnoty (z jednotlivých opakování) přežití plůdku, které jsou vypočteny pouze z oplozených jiker. Tyto hodnoty jsou v závislosti na čase oplození (skladování), bez ohledu na teplotu uchování jiker. Z grafu je pozorovatelné, že nejlepší průměrné hodnoty přežití byly zaznamenány při oplození jiker po 1,5 hodině, na úrovni 97,5 % dále pak při skladování 1 hodinu (95,4 %) a následovalo oplození po 0,5 hodině uchování jiker ve výši přežití 95,1 %.

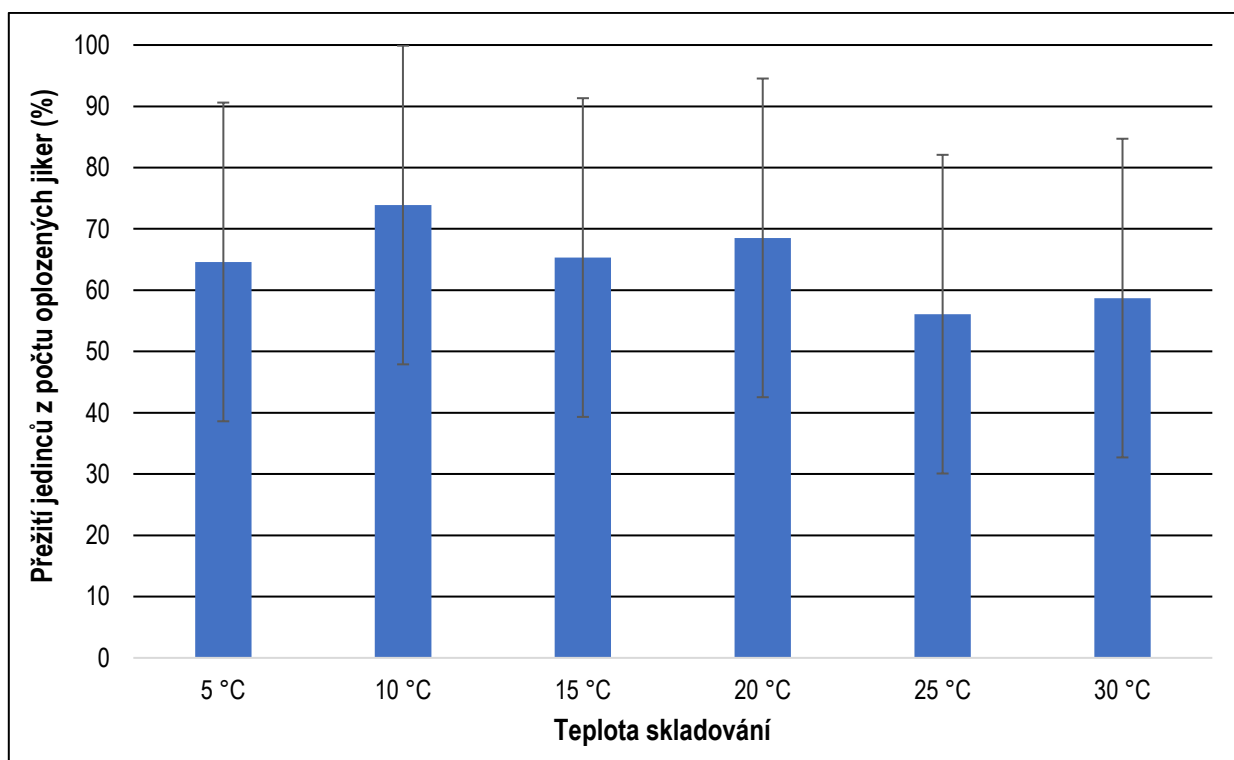
Nejhorší výsledky přežití plůdku byly zaznamenány při oplození jiker po 10 hodinách, kdy tato úroveň byla 0 % (100 % mortalita plůdku). Následovalo skladování a následné oplození jiker po 8 hodinách kdy přežití bylo minimální na hodnotě 5,6 %. V Grafu 10 byl zaznamenán na hladině významnosti ( $\alpha = 0,05$ ) první statisticky signifikantní pokles přežití plůdku při oplození po 3 hodinách.



Graf 10. Průměrné hodnoty přežití jedinců vypočítané z počtu oplozených jiker dle jednotlivých opakování, s ohledem pouze na dobu skladování jiker (teplota nebyla do tohoto grafu zanesena).

V Grafu 11 jsou uvedeny průměrné hodnoty přežití plůdku vypočtené z oplozených jiker. Tyto hodnoty jsou spočteny v závislosti na teplotě skladování jiker, bez ohledu na časové intervaly oplozování. Z grafu je patrné, že nejlepších zaznamenaných hodnot bylo dosaženo při uchování jiker v 10 °C, a to na úrovni 73,9 % následovala teplota skladování 20 °C, kdy přežití plůdku bylo 68,5 %.

Nejhůře dopadlo přežití jedinců při skladování jiker před oplozením při teplotě 25 °C (56,1 %) a dále pak na teplotě 30 °C kdy průměrná hodnota přeživších jedinců byla 58,7 % mezi průměrnými dosaženými hodnotami. V Grafu 11 na hladině významnosti ( $\alpha = 0,05$ ) byl pozorován statisticky průkazný rozdíl v jednotlivých skupinách teplot. Tento rozdíl byl zjištěn pouze u sdružených skupin teplot 5-20 °C a následně 25-30 °C. Mezi těmito skupinami byl statistický rozdíl, ale při porovnání jednotlivých teplot se o statisticky porovnatelný rozdíl nejednalo.



Graf 11. Přežití plůdku v závislosti na teplotě uskladnění jiker bez ohledu na dobu oplození. (Jednotlivé hodnoty jsou vypočítány z průměrných hodnot přežití jedinců z oplozených jiker, dle dané teploty skladování).

#### 4.6. Přežití vykulených jedinců z celkového počtu nasazených jiker

V Grafu 12 jsou vyobrazeny jednotlivé průměry hodnot přeživších jedinců z celkového počtu nasazených jiker v jednotlivých skupinách. Tyto průměry jsou vypočítány ze tří po sobě jdoucích opakování (v %), vždy v závislosti pro daný interval oplození a teplotu skladování. Dle tohoto grafu lze konstatovat, že nejlepších hodnot přežití z celkového počtu nasazených jiker bylo dosaženo při oplození jiker po 1 hodině, při teplotě skladování 15 °C kdy hodnota přežití byla 49 %, dále pak při stejné teplotě při oplození jiker po 2 hodinách na úrovni 47,2 %. Třetí nejlepší hodnota přežití (46,6 %), byla pak při skladování v 10 °C a při oplození po půl hodině skladování.

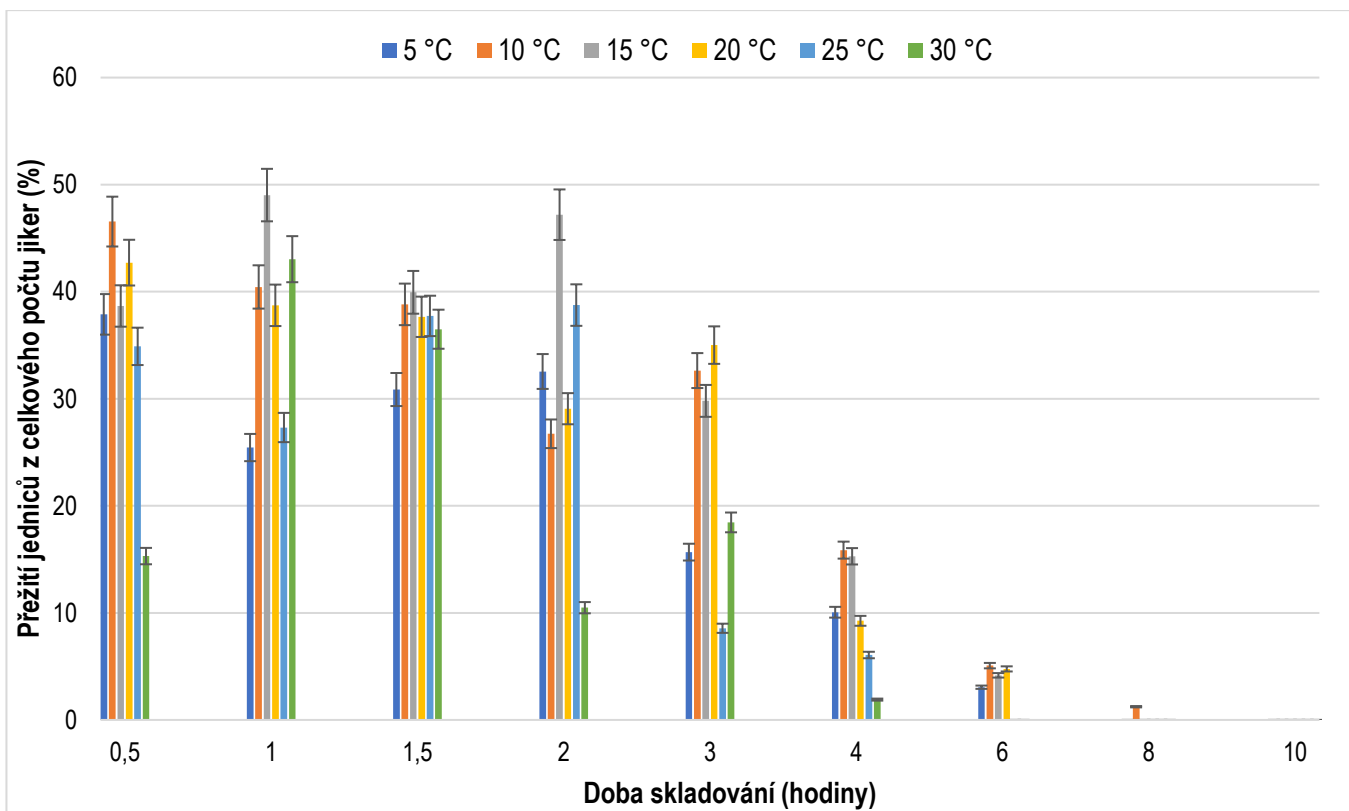
Nejhorších výsledků bylo dosaženo při skladování jiker po dobu 10 hodin, kdy při všech teplotních stavech tvořilo přežití plůdku 0 %. Následně pak také při uchování jiker po dobu 8 hodin bylo zaznamenáno 0 % přežití plůdku u všech teplot až na výjimku při teplotě 10 °C, kdy hodnota byla minimální na úrovni 1,2 %.



Při statistické vyhodnocení dat na hladině významnosti ( $\alpha = 0,05$ ), kdy P hodnota pro časové intervaly byla 0,0000, z tohoto výsledku lze jasně posoudit, že čas oplození jiker (skladování) má prokazatelný vliv na přežití plůdku. Při tomto výpočtu bylo také zjištěno, že některé časové úseky vykazují podobné hodnoty jako například intervaly 0,5-2 hodiny nebo 6-10 hodin. Tyto skupiny intervalů mají mezi sebou statistický rozdíl, avšak v rámci jedné skupiny vykazují podobné hodnoty. Znamená to že intervaly 0,5; 1; 1,5; 2 jsou si svými hodnotami a výsledky podobné. Taktéž je tomu pak při skupině intervalů 6; 8 a 10 hodin, kdy i v této skupině můžeme pozorovat podobné hodnoty přežití. Navzájem mezi sebou se pak statisticky tyto dvě skupiny liší v nabytých hodnotách.

Vliv na přežití plůdku má také nesporně teplota skladování, kdy při statistickém testování na hladině významnosti ( $\alpha = 0,05$ ), byla P hodnota 0,0024 což nám opět zamítá nulovou hypotézu, tedy to že by teplota neměla vliv na přežití. I v tomto případě můžeme pozorovat některé skupiny vykazující statisticky podobné hodnoty jako například teploty 10-20 °C nebo 25-30 °C. Tyto teploty 10, 15 a 20 °C tedy statisticky patří k sobě, ale při porovnání se skupinou teplot 25 a 30 °C se liší.

Při statistickém porovnání dat z Grafu 12 můžeme říci, že při teplotě 15 °C došlo k prvnímu signifikantnímu poklesu hodnot (na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ ) při oplození po 4 hodinách délky skladování. Dále pak u teploty 10 °C byl první významný pokles pozorován taktéž až po 4 hodinách uchování jiker při této teplotě a při stejném časovém intervalu byl pokles zaznamenán u teploty 20 °C. Při skladování v extrémní teplotě 30 °C pak došlo k poklesu přežití již po 2 hodinách skladování jiker.

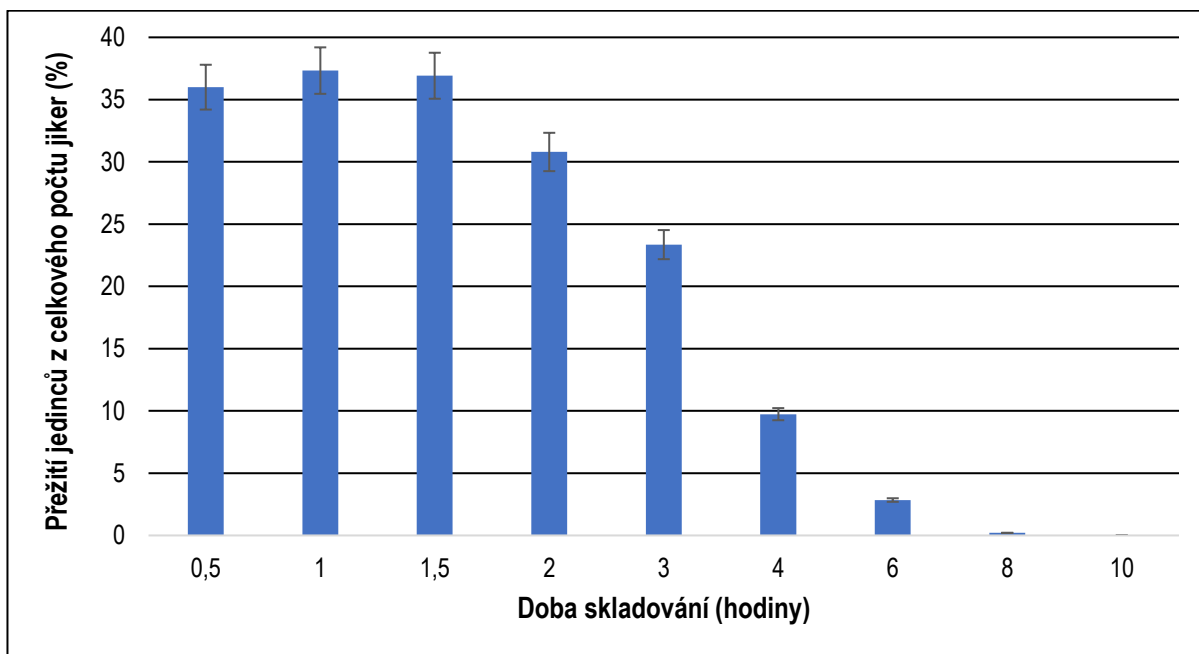


Graf 12. Vliv teploty a délky skladování jiker před oplozením na jejich přežití do přechodu z embryonální do larvální periody (v % z celkového počtu jiker).

V Grafu 13 jsou zobrazeny průměrné hodnoty (z jednotlivých opakování) přežití plůdku, které jsou vypočteny z celkového počtu nasazených jiker, tedy oplozených i neoplozených. Tyto hodnoty jsou vypočteny v závislosti na čase oplození (skladování) bez ohledu na teploty, při kterých byly uchovávány. Z grafu je na první pohled patrné, že nejlepších výsledků průměrného přežití bylo dosaženo při oplození jiker po 1 hodině, a to na úrovni 37,3 %, dále pak při délce skladování 1,5 hodiny tvořilo přežití 36,9 %, jako třetí nejlepší čas oplození byl po půl hodině skladování, kdy průměrná hodnota oplození byla 36 %.

Nejhorších hodnot přežití plůdku vykazovaly časové intervaly 10 hodin, kdy úroveň oplození byla 0 % a dále pak při oplození jiker po 8 hodinách, kdy průměrné oplození tvořilo pouze 0,2 %. Můžeme tedy konstatovat, že delší doba skladování jiker lina obecného před oplozením je nevhodná pro následující přežití plůdku i celkovou oplozenost (jak je patrné v Grafu 13 a 4.)

V Grafu 13 byl zaznamenán na hladině významnosti ( $\alpha = 0,05$ ) první statisticky signifikantní pokles přežití plůdku z celkového počtu nasazených jiker při oplození po 4 hodinách

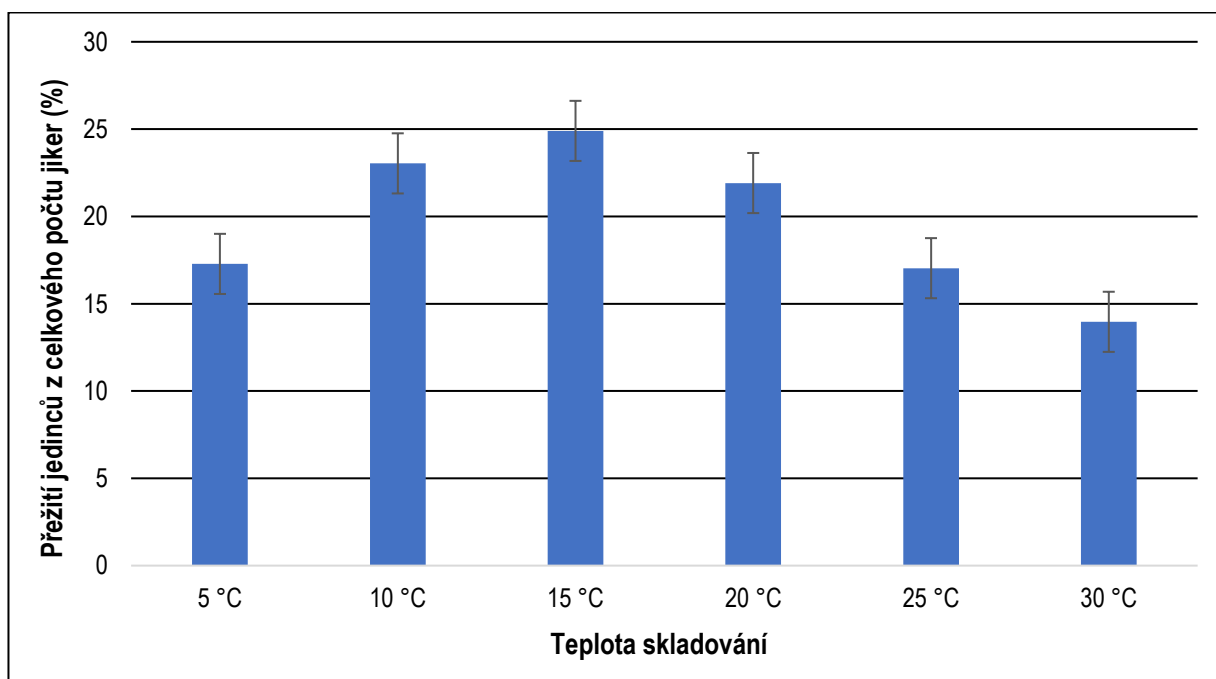


Graf 13. Průměrné hodnoty přežití jedinců vypočítané z celkového počtu použitých jiker dle jednotlivých opakování, s ohledem pouze na dobu skladování jiker (teplota nebyla do tohoto grafu zanesena).

V Grafu 14 jsou uvedeny průměrné hodnoty přežití plůdku vypočtené z celkového počtu jiker, tedy z oplozených i neoplozených. Tyto hodnoty jsou spočteny v závislosti na teplotě skladování jiker, bez ohledu na časové intervaly oplozování. Z grafu můžeme usoudit, že nejlepších hodnot bylo dosaženo při skladování jiker v teplotě 15 °C (24,9 %), následovala teplota 10 °C kdy úroveň oplození byla 23 %. Třetí nejlepší přežití bylo pak zaznamenáno při teplotě uchování jiker 20 °C, ve výši 21,9 %.

Nejhorší přežití plůdku z celkového počtu jiker pak bylo vypočteno pro teplotu skladování 30 °C, kdy přežití tvořilo 14 %, následně pak při teplotě 25 °C, kdy bylo na úrovni 17 % a jako třetí nejhorší přežití bylo při teplotě skladování 5 °C, kdy tvořilo 17,3 %.

V Grafu 14 na hladině významnosti ( $\alpha = 0,05$ ) byl pozorován statisticky průkazný rozdíl v jednotlivých skupinách teplot. Tento rozdíl byl zjištěn pouze u sdružených skupin teplot 10-20 °C a následně 25-30 °C, mezi těmito skupinami byl statistický rozdíl, ale při porovnání jednotlivých teplot se o statisticky porovnatelný rozdíl nejednalo.



Graf 14. Přežití plůdku v závislosti na teplotě uskladnění jiker bez ohledu na dobu oplození. (Jednotlivé hodnoty jsou vypočítány z průměrných hodnot přežití jedinců z celkového počtu jiker, dle dané teploty skladování).

#### 4.7. Zahájení příjmu potravy u vykulených jedinců

V Grafu 15 jsou zobrazeny jednotlivé průměry hodnot z příjmu potravy (nauplií artémie) vykulených jedinců. Tyto průměry jsou vypočteny pouze z vykulených přeživších jedinců, a to ze tří po sobě jdoucích opakování (v %), tyto hodnoty jsou vztaženy na interval oplození (skladování) jiker a na teplotu, při které byly jikry přechovávány. Z tohoto grafu je patrné, že nejlepších výsledků při příjmu potravy (rozkrmu) bylo dosaženo u jedinců, jejichž jikry byly oplozeny do dvou hodin po umělém výtěru. Například při skladování jiker půl hodiny při teplotě 15 °C bylo dosaženo 100 % příjmu potravy u všech jedinců. Při teplotě skladování 25 °C a oplození po 1 hodině bylo dosaženo taktéž 100 % příjmu potravy, následně pak také při délce skladování 1,5 hodiny

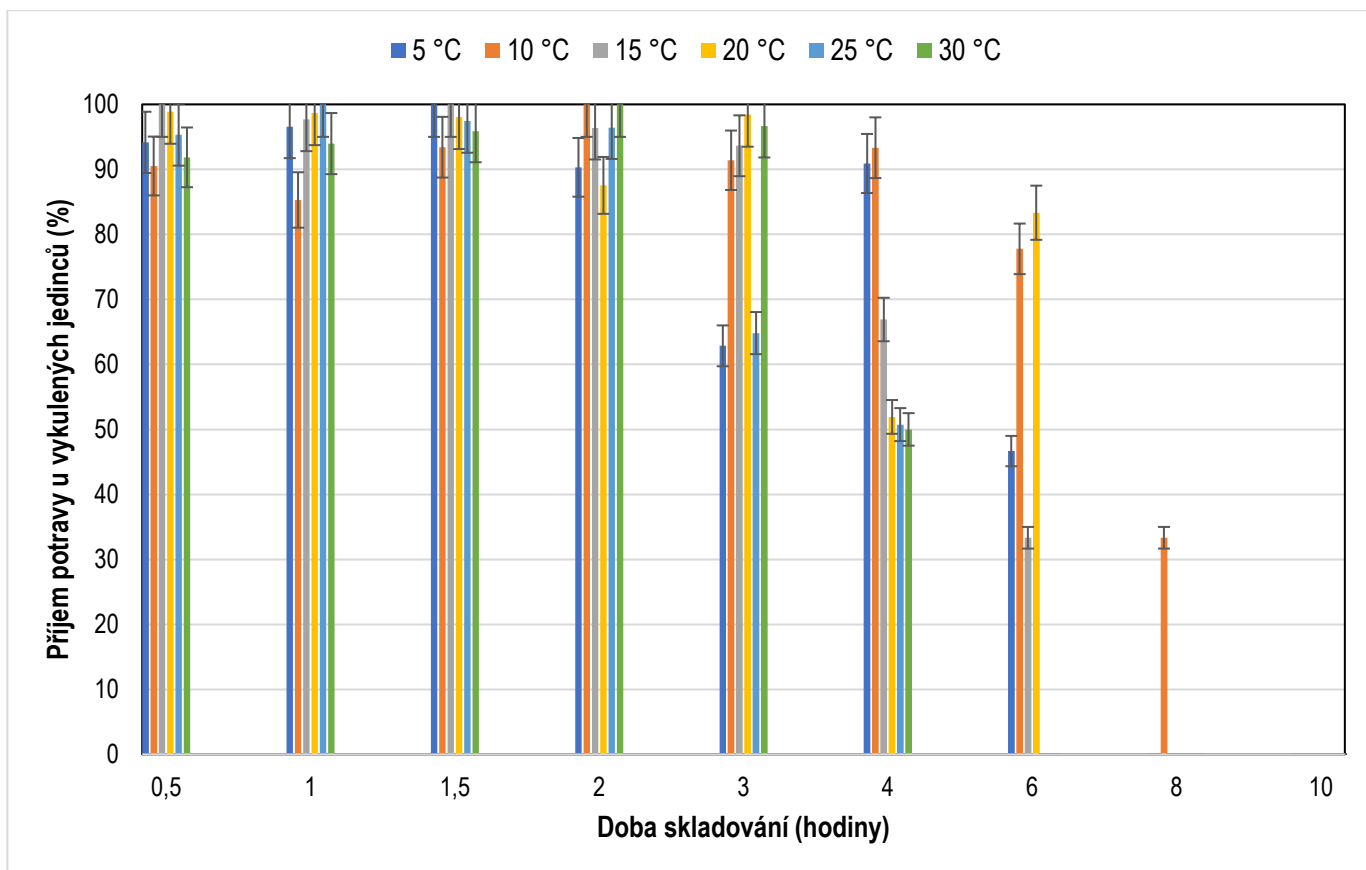
při 5 a 15 °C byl příjem potravy na 100 % hodnotě. Tedy všichni jedinci přijímali bez problémů předkládanou potravu (při těchto parametrech). Poslední 100 % příjem potravy byl zaznamenán při uchování jiker v teplotě 10 a 30 °C, při skladování po dobu 2 hodin.

Nejhorší výsledky na úrovni 0 % (příjmu potravy) byly pozorovány při teplotě 5 °C, v intervalu oplození po 8 a 10 hodinách, dále pak u teploty 10 °C po době uchování jiker 10 hodin. Taktéž u teplot 15 a 20 °C byl zaznamenán 0 % příjem potravy v intervalech oplození jiker 8-10 hodin. Posledních nejhorších výsledků bylo dosaženo u teplot skladování 25 a 30 °C, kdy v intervalech 6, 8 a 10 hodin byl příjem potravy taktéž na 0 % hodnotě.

V závislosti na statistickém vyhodnocení těchto dat na hladině významnosti ( $\alpha = 0,05$ ), kdy hodnota P byla 0,0000 můžeme usoudit, že časové intervaly oplozování jiker mají vliv na následný příjem exogenní potravy nebo na celkovou mortalitu plůdku. Bylo také prokázáno, že některé časové úseky vykazují vzájemné spojitosti v dosažených hodnotách. Bylo tomu tak například u intervalů 0,5; 1; 1,5; 2 a 3 hodin, všechny tyto časové úseky vykazovaly podobné hodnoty. Také u intervalů 8 a 10 hodin byla vzájemná spojitost v dosažených výsledcích.

Při statistickém testování na hladině významnosti ( $\alpha = 0,05$ ), byla P hodnota na úrovni 0,0316 což potvrzuje, že teplota skladování jiker má následný vliv na přežití plůdku. I v tomto případě lze pozorovat některé teplotní skupiny, které vykazují podobné hodnoty jako je tomu u teplot 5-20 °C nebo 25-30 °C. Tyto dvě skupiny se mezi sebou v hodnotách statisticky liší, ale pokud se podíváme na každou z nich, tak poté u 5, 10, 15 a 20 °C jsou hodnoty ve stejné úrovni a stejně je tomu i tak u skupiny 25-30 °C.

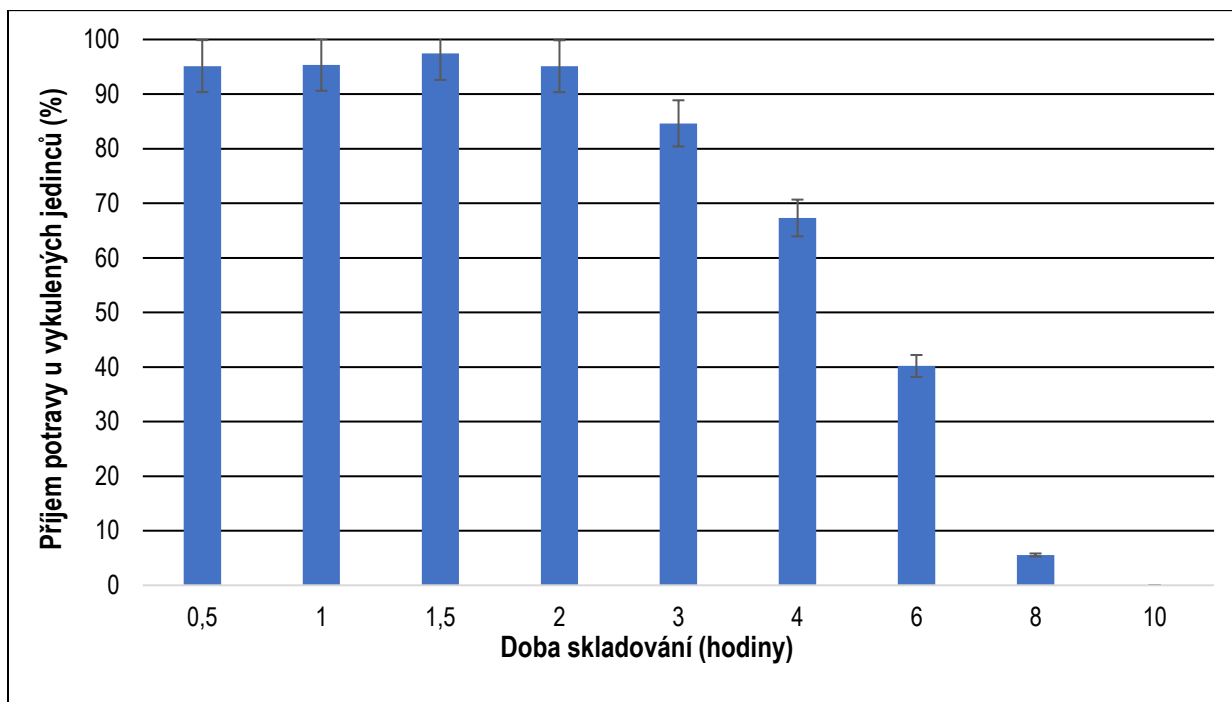
V rámci statistického porovnání dat pak také můžeme pozorovat, že první statisticky významný pokles hodnot byl zaznamenán při oplození jiker po 4 hodinách, a to u skoro všech teplot vyjma teplot 5 a 10 °C, které si držely hodnotu příjmu potravy na 90,9 % a 93,3 %.



Graf 15. Průměrné naměřené hodnoty (z jednotlivých opakování) příjmu potravy u vykulených přeživších jedinců.

V Grafu 16 jsou znázorněny průměrné hodnoty (z jednotlivých opakování) příjmu potravy plůdku, které jsou vypočteny pouze z vykulených, přeživších jedinců. Hodnoty v tomto grafu jsou vztaženy pouze na čas oplozování (skladování), bez ohledu na teplotu, při které byly jikry skladovány. Z grafu je patrné, že nejlepších hodnot bylo dosaženo u intervalů skladování jiker po dobu 1,5 hodiny na úrovni 97,5 %, následně pak při délce uchování jiker po dobu 1 hodiny (95,1 %). Další vysoké hodnoty při příjmu potravy byly u intervalů 0,5 a 2 hodiny, na úrovních 95,1 % a 95,1 %.

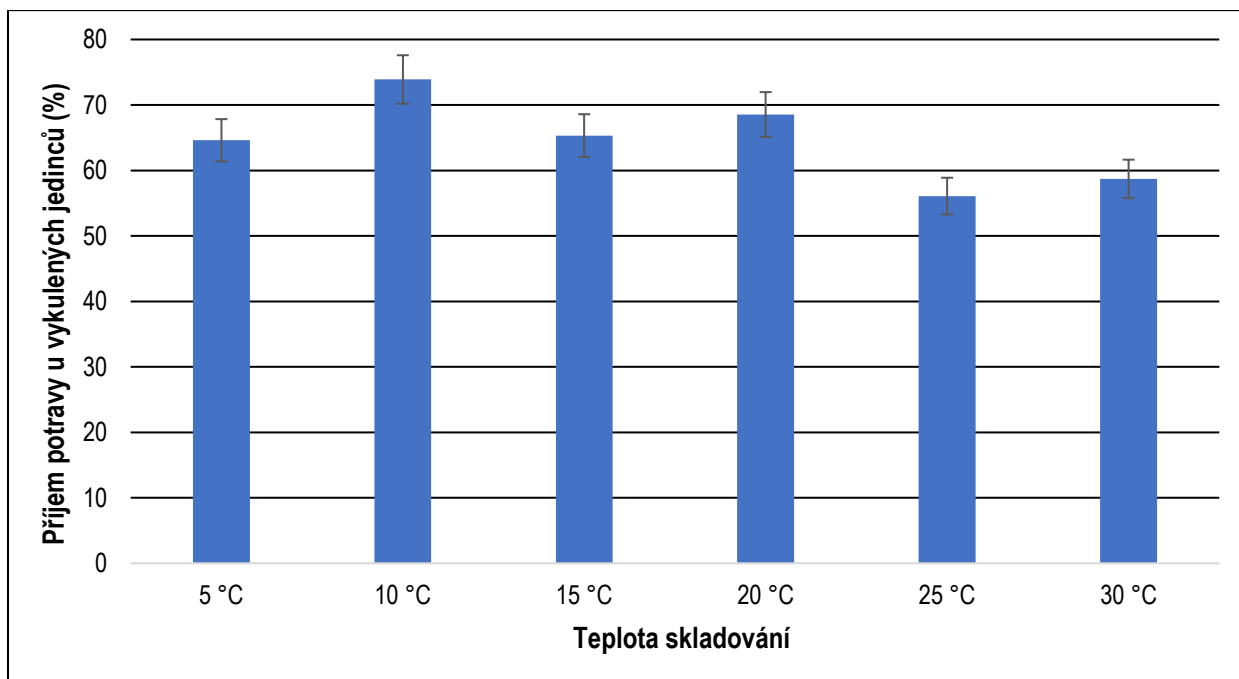
Patříčně nejhorší výsledky u příjmu potravy pak jsou pozorovatelné u intervalu 10 hodin skladování, kdy byly na úrovni 0 %. Následně pak při délce skladování jiker po dobu 8 hodin byl výsledek příjmu potravy 5,6 %. Třetí nejhorší výsledek (40,2 %) byl při uchování jiker po dobu 6 hodin.



Graf 16. Průměrné hodnoty příjmu potravy u vykulených jedinců, s ohledem pouze na dobu skladování jiker (teplota nebyla do tohoto grafu zanesena).

V Grafu 17 jsou uvedeny (průměrné) hodnoty příjmu potravy u plůdku, které jsou vztaženy pouze na teplotu skladování jiker, bez ohledu na časové intervaly oplozování. Na základě hodnot v grafu můžeme konstatovat, že nejlepších výsledků při rozkrmu plůdku bylo dosaženo při teplotě skladování jiker v 10 °C, a to na úrovni 73,9 %, následně pak při teplotě 20 °C (68,5 %) a jako třetí nejlepší teplota pro uchování jiker byla 15 °C, kdy příjem potravy byl zaznamenán na úrovni 65,3 %.

Nejhorší výsledky byly zaznamenány u teplot 25 °C a 30 °C, kdy hodnoty příjmu potravy byly na úrovni 56,1 % a 58,7 %. V Grafu 17 nebyl zjištěn na hladině významnosti ( $\alpha = 0,05$ ) žádný statisticky průkazný rozdíl v dosažených hodnotách. Při všech teplotách bylo dosaženo příjmu potravy u plůdku na úrovni více jak 55 %.



Graf 17. Příjem potravy u plůdku v závislosti na teplotě uskladnění jiker bez ohledu na dobu oplození. (Jednotlivé hodnoty jsou vypočítány z průměrných hodnot vykulených (přeživších) jedinců, dle dané teploty skladování).

#### 4.8. Příjem potravy u plůdku, vztažený na celkový počet nasazených jiker

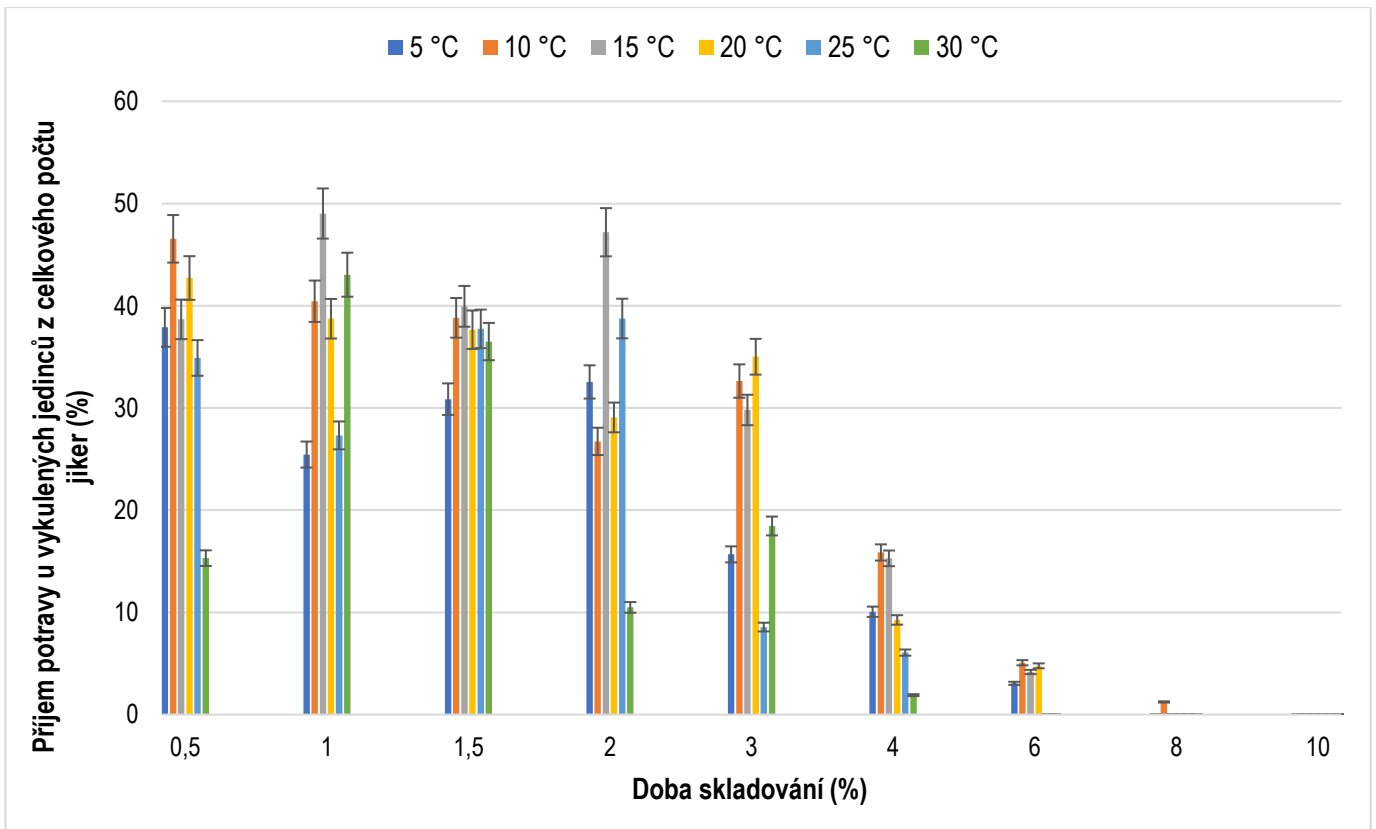
V Grafu 18 jsou vyobrazeny jednotlivé průměry hodnot z příjmu potravy u plůdku lína obecného, které jsou vztaženy na celkový počet nasazených jiker v tomto experimentu. Tyto hodnoty (v %) jsou v závislosti na teplotě skladování a intervalu oplozování jiker. Z grafu můžeme usoudit, že nejlepších hodnot bylo dosaženo při oplození jiker do 3 hodin jejich skladování při různých teplotách. Nejlépe pak dopadly teploty skladování 10, 15 a 20 °C, které vykazovaly nejlepší průměrný příjem potravy. Například při teplotě 15 °C bylo dosaženo nejlepšího průměru příjmu potravy na úrovni 49 %, při oplození po 1 hodině, dále pak u stejné teploty při délce skladování jiker 2 hodiny byl příjem potravy na 47,2 %. U teploty 10 °C pak při skladování 0,5 a 1 hodiny bylo dosaženo výsledků na úrovni 46,6 % a 40,4 %. Jako poslední nejlepší teplota byla 20 °C, kdy po 0,5 a 1,5 hodině byl průměrný příjem potravy 42,7 % a 37,7 %.

Naopak nejhorších výsledků bylo dosaženo při intervalu oplození 10 hodin po výtěru, kdy při všech teplotách byla úroveň rozkrmu na 0 % (100 % mortalita plůdku). Dále pak u času 8 hodin bylo při všech teplotách zaznamenáno 0 % příjem potravy vyjma 10 °C, kdy předkládanou potravu přijímal plůdek v úrovni 1,2 %, tato hodnota byla v rámci



časového intervalu oplození 8 hodin, posledním zaznamenaným příjmem potravy u plůdku.

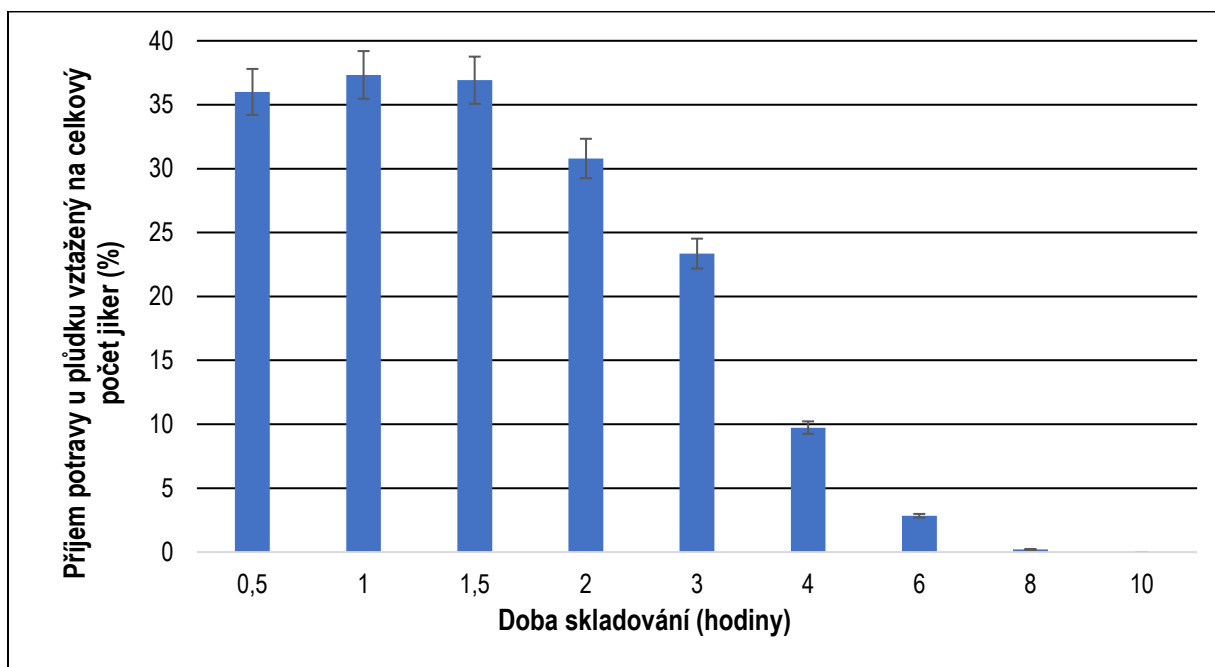
Při následném statistickém vyhodnocení dat na hladině významnosti ( $\alpha = 0,05$ ), můžeme potvrdit, že čas oplození jiker má jasný následný vliv na příjem potravy u plůdku (P-hodnota 0,0000) a taktéž je tomu u teploty skladování, která má také značný vliv na příjem potravy (P-hodnota 0,0024).



Graf 18. Příjem potravy u plůdku vztažený na celkový počet jiker použitých v experimentu, v závislosti na teplotě i času oplození (hodnoty jsou průměrné dle jednotlivých opakování).

V Grafu 19 jsou zobrazeny průměrné hodnoty (z jednotlivých opakování) příjmu potravy plůdku vzhledem k celkovému počtu nasazených jiker. Tyto hodnoty jsou pouze v závislosti na časovém intervalu oplození jiker, bez ohledu na jejich teplotu uchování. Z grafu můžeme pozorovat, že nejlepší hodnoty při příjmu potravy byly při oplození jiker po délce skladování 1 hodiny (37,3 %), dále pak 1,5 hodiny (36,9 %) a jako třetí nejlepší časový interval byl půl hodiny po oplození, kdy hodnota byla 36 %. Nejhorších

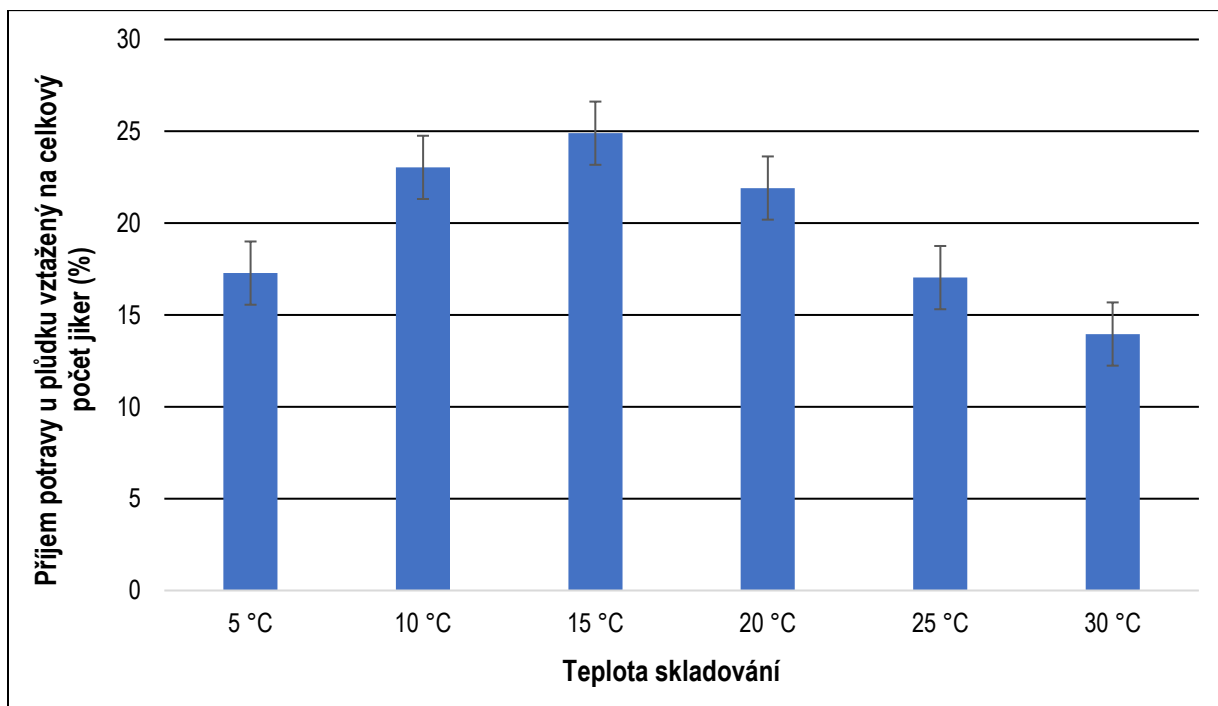
předpokládaných výsledků (0 %) bylo dosaženo u časového intervalu oplození 10 hodin, následovalo oplození po 8 hodinách, kdy byla hodnota minimální a tvořila pouze 0,2 %.



Graf 19. Průměrné hodnoty příjmu potravy (z celkového počtu jiker), s ohledem pouze na dobu skladování jiker (teplota nebyla do tohoto grafu zanesena).

V posledním Grafu 20 jsou uvedeny (průměrné) hodnoty příjmu potravy u plůdku (z celkového počtu jiker), které jsou vztaženy pouze na teplotu skladování jiker, bez ohledu na časové intervaly oplození. Z tohoto grafu můžeme jasně pozorovat, že nejlépe dopadl příjem potravy při skladování jiker v teplotách 15, 10 a 20 °C, kdy hodnoty byly více jak 20 %. U teploty 15 °C byla úroveň příjmu potravy na 24,9 %, dále pak při 10 °C (23 %) a jako třetí nejlepší hodnota 21,9 % byla při skladování v 20 °C.

Nejhůře pak dopadly hodnoty u teplot 30, 25 a 5 °C, kdy při skladování v 30 °C byl příjem potravy 14 %. U teploty 25 °C pak byla úroveň příjmu na 17 % a při 5 °C pak 17,3 %. V Grafu 20 nebyl zjištěn na hladině významnosti ( $\alpha = 0,05$ ) žádný statisticky průkazný rozdíl v dosažených hodnotách. Teploty 10, 15 a 20 °C vykazovaly příjem potravy nad úroveň 20 % a při teplotách 5, 25 a 30 °C byla hodnota více jak 13 %.



Graf 20. Příjem potravy u plůdku v závislosti na teplotě uskladnění jiker bez ohledu na časový interval oplození. (Jednotlivé hodnoty jsou vypočítány z celkového počtu jiker, dle dané teploty skladování).

## 5. Diskuse

V současné době se u lína obecného ve světové akvakultuře, ale i v tradičním rybníkářství využívá, umělého výtěru za pomoci hormonálních preparátů pro získání kvalitního a životaschopného potomstva. Pro časovou i manuální náročnost umělého výtěru, je důležité dobře rozvrhnout časový plán a postup práce. Z praktického hlediska se na rybích líhních postupuje tak, aby co nejrychleji po získání pohlavních produktů došlo k osemenění a následovnému oplození (aktivaci) z důvodu možného poklesu oplozenosti nebo motility spermií. Ovšem v některých případech nemusí rychlé využití (osemenění, oplození) pohlavních produktů zaručit, že dosažené výsledky budou nejlepší. Naopak to může vést k možným chybám, které vzniknou například špatnou manipulací s pohlavními produkty (vniknutí vody nebo krve do jiker či spermatu), ty poté mohou negativně ovlivňovat reprodukční ukazatele jako je například oplozenost.

Cílem této diplomové práce bylo posoudit, zda různá teplota skladování jiker či rozdílné časové intervaly oplozování mají vliv na následnou oplozenost, líhivost, přežití nebo dokonce na příjem exogenní potravy u jedinců lína obecného. Dalším cílem bylo zhodnotit, zda tyto parametry (teplota a čas oplození) mohou prokázat, že není nutné přistupovat k oplozování jiker v co nejrychlejší době po získání pohlavních produktů a také, zda je možné prodloužit interval oplození bez negativních následků na reprodukční ukazatele.

### 5.1. Umělý výtěr

Za pomoci hormonální stimulace přípravkem Supergestran, došlo k ovulaci a následnému výtěru u všech šesti jikernaček lína obecného. Tento veterinární preparát byl několikrát v minulosti s úspěchem využíván při umělém výtěru lína obecného (Kouřil a kol., 2001; Kouřil a Podhorec, 2011) a na základě toho byl také použit při tomto experimentu. Při umělém výtěru bylo vzhledem k hmotnosti jikernaček (241 až 306 gramů) dosaženo standardních hodnot relativní plodnosti, a to na úrovni 121 033 ks.kg<sup>-1</sup> až 209 150 ks.kg<sup>-1</sup> u šesti vybraných jikernaček. Jejich směs jiker, byla následně využita pro tento experiment. U intervalu doby latence bylo dosaženo ovulace u všech ryb po 32-32,5 hodinách po podání hormonálního přípravku Supergestran a to při počáteční teplotě 20,5 °C s následným postupným zvýšením až na 23 °C, což odpovídá i dosaženým výsledkům publikovaných Kouřilem a kol. (2001) a Kouřilem a Podhorecem. (2011).

## 5.2. Oplozenost jiker

Z dosažených a statisticky vyhodnocených výsledků můžeme jasně konstatovat že různá teplota jejich skladování (5 °C, 10 °C, 15 °C, 20 °C, 25 °C, 30 °C) má vliv na jejich následnou oplozenost a zvláště pak pokud jsou jikry uchovávány po delší dobu (časový interval).

Nejen teplota, ale také délka intervalu skladování má výrazný vliv na výsledky oplozenosti a dalo by se říci, že je jedním z rozhodujících faktorů pro vysokou hodnotu oplozenosti jiker. Podle dřívějších poznatků z umělého výtěru lína obecného se ukazuje, že v praxi je hodnota oplozenosti velmi variabilní, v závislosti na kvalitě pohlavních produktů a také na správném metodickém postupu při výtěru samotném. Tyto hodnoty pak mohou kolísat na úrovni 30-40 % při špatné oplozenosti (Kouřil; ústní sdělení). Například Kouřil a Podhorec (2011) udávají, že hodnoty oplozenosti při oplození jiker lína obecného, těsně po získání pohlavních produktů se pohybují v rozmezí 60-85 %. U jejich pokusu, byly jikernačky hormonálně stimulovány za pomoci přípravku Supergestran obsahující GnRHa. Při dalších pokusech Kouřila a kol. (2001) na jikrách lína obecného, kdy využíval různé hormonální přípravky, byla hodnota oplozenosti při použití Supergestranu 55-78 %. U Mráze (2007) při použití Supergestranu k stimulaci výtěru lína obecného, dosahovala následující oplozenost 48-83 %.

Dřívější pokusy (Kouřila a Mrkvana, 1986; Kouřila a kol., 2003) při použití kapří hypofýzy a GnRHa (Supergestran), potvrdily, že při použití hypofýzy je oplozenost zpravidla kolem 50-80 %, ale při aplikaci přípravků obsahující GnRHa byla úroveň oplozenosti 70-90 %. Co se týká počtu vytřených generačních ryb, vyzněly výsledky jednoznačně lépe při použití Supergestranu oproti kapří hypofýze.

Ve své práci také Homola (2016) udává malou úroveň oplozenosti (u lína obecného) při použití kapří hypofýzy na úrovni 52-57 %, kdy jikry oplozoval těsně po umělém výtěru ryb. V našem případě při použití Supergestranu dosahovaly hodnoty po půl hodině skladování jiker 44,3 - 56,4 % což zhruba odpovídá i výsledků prezentovaných v jeho práci, při použití stejného přípravku. Pokud se v tomto pokusu podíváme na delší časové úseky (oplozování po 1 a více hodinách), zjistíme, že právě u těchto intervalů bylo dosahováno nejlepších hodnot. Z výše prezentovaných Grafů 3 a 4 je zřejmé, že nejlepších dosažených hodnot oplozenosti bylo docíleno při skladování jiker 1-2 hodiny, a to při různých teplotách. Samozřejmě u stejných intervalů, při teplotách 5 °C a 10 °C

byla oplozenost kolísavá v rozmezí 38,5 - 66,3 %. Tyto teploty jsou však extrémní, protože ani při umělém výtěru, ani ve volné přírodě se lín obecný za těchto teplot nevytře.

Nejlepší oplozenost byla v našem pokusu při skladování jiker v 25 °C po dobu 1 hodiny, a to na úrovni 68,1 %, dále pak při uchování jiker po dobu 2 hodin v teplotě 15 °C na úrovni 67,1 % oplozenosti. Z tohoto výsledku lze usuzovat, že při době skladování jiker (1-2 hodiny) jsou hodnoty oplození vyšší než při oplození těsně po umělém výtěru ryb. Samozřejmě je podstatné, v jaké kvalitě získáme pohlavní produkty (jikry a sperma) na následné oplození. Proto otázkou stále zůstává, jaké faktory rozhodují právě o kvalitě pohlavních produktů a jaké jsou rozhodující vlivy (biotop, potrava, teplota vody) na jejich kvalitu. Na základě získaných výsledků i statistických ukazatelů oplozenosti, lze doporučit při skladování jiker v různých teplotách oplozovat jikry do 2 hodin po umělém výtěru ryb, a to při teplotách 10 °C, 15 °C, 20 °C a 25 °C. Skladovací teploty 5 °C a 30 °C jsou méně vhodné. Při pohledu na nejdelší skladovací dobu v tomto pokusu (10 hodin), vyšly výsledky oplozenosti 20,7 % při skladování v 5 °C, což je nejlepší výsledek při takto dlouhém (10 hodin) časovém intervalu skladování. U ostatních teplot při intervalu 10 hodin byla hodnota oplozenosti 0-10 %.

U podobných pokusů s keříčkovcem červenolekým provedených Flokovičem (2011) a Borůvkou (2017) bylo nejlepších hodnot oplozenosti dosaženo při oplození jiker do intervalu 3 hodin po výtěru, a to v úrovních 46-80 %. Nejlépe pak dopadla oplozenost právě při oplození jiker v intervalu 1-3 hodin, a to až v úrovni 70-80 %, což potvrzuje tvrzení, že není vždy dosahováno nejlepších hodnot oplozenosti, pokud jikry oplodníme těsně po výtěru.

### **5.3. Líhivost jedinců**

Výsledky líhivosti jedinců jsou samozřejmě úzce spojené s úrovní oplozenosti jiker. V našem případě byla líhivost vypočítána pouze z oplozených jiker, neboť je logické, že z neoplozených jiker bude 0 % líhivost, a tedy tyto hodnoty by zkreslovaly úroveň líhivosti. Z předchozích výsledků oplozenosti je patrné, že tato hodnota značně kolísá v závislosti na teplotě skladování a časovém intervalu oplozování, tomu je tak i v případě líhivosti jedinců. Z dřívějších umělých výtěrů lína obecného provedené Kouřilem a kol. (2001), nebo Kouřilem a Podhorcem (2011) dosahovala hodnota líhivosti jedinců podobných hodnot v úrovni 50-80 %. Tyto jikry byly ovšem oplodněny těsně po získání pohlavních produktů a ve stabilní teplotě 20-21 °C. Taktéž Mráz (2007) ve své práci

(u lína obecného) uvádí hodnoty líhivosti při použití hormonálního přípravku Supergestran na úrovni 60 %, kdy využíval několika hormonálních stimulantů (Ovopel, Supergestran, Hypofýza a Dagin) k docílení ovulace jikernaček. V našem případě byly nejlepší průměrné hodnoty líhivosti (zhruba 60-80 %) při teplotách 5 °C a 10 °C, a to v intervalu 0,5-3 hodin po oplození jiker. Borůvka (2017) při podobném pokusu u keříčkovce červenolemého zaznamenal líhivost jiker na úrovni 30-50 % v jeho případě však počítal líhivost ze všech nasazených jiker (oplozené i neoplozené) v pokusu. Nicméně jeho variabilita hodnot líhivosti byla podobná při stejných intervalech a teplotách skladování jiker jako v tomto experimentu. Oproti tomu Flokovič (2011) popisuje ve své práci, na podobném pokusu s uchováním jiker u keříčkovce červenolemého, hodnoty líhivosti v celém průběhu testu (skladování 1-8 hodin) na podobné úrovni. Kdy skoro totožných hodnot dosahoval i po délce skladování 8 hodin. Tyto výsledky jsou zarážející a značně nepředpokladatelné, protože v našem případě byl zaznamenán výrazný pokles po tak dlouhém časovém intervalu (8 hodin skladování jiker) od kratších dob skladování (0,5-3 hodiny). Borůvka (2017) uvádí, že zaznamenal hodnoty líhivosti podobné a ve stejném průběhu jako u této práce, což znamená, že po 3 hodinách oplození jiker došlo v líhivosti jedinců ke značnému poklesu a v intervalech 8-10 hodin uvádí hodnoty velmi malé nebo žádné. V našem experimentu byl tento průběh skoro totožný, kdy po 8-10 hodinách délky skladování, byla líhivost v průměru 0-6 %. Flokovič (2011) však uvádí hodnoty oplozenosti jiker a líhivosti jedinců v průběhu celého experimentu, podobné, někdy i ve stejné hodnotě. Dále také Let (2016) zkoumal oplozenost u jesetera malého (*Acipenser ruthenus*), kdy při delších intervalech skladování (3 a více hodin), zaznamenal lepší hodnoty oplození, než je tomu při takové délce skladování u jiker lína obecného.

Naše výsledky líhivosti byly vypočteny pouze z oplozených jiker, jak je uvedeno výše. Statisticky prokazatelný pokles v líhivosti jedinců nastal v době 3 hodin oplozování. Nejlepší dvě hodnoty líhivosti byly zaznamenány v časovém intervalu 0,5 hodiny a při 10 °C (90,8 %) a dále pak v délce 3 hodin skladování při teplotě 5 °C (88,8 %). Z pohledu nejdelšího možného uchování jiker, v našem případě po dobu 10 hodin, dopadla nejlépe teplota 15 °C s úrovní líhivosti 34,4 % a jako druhá nejlepší byla teplota 5 °C (11,1 %). Ostatní hodnoty v tomto časovém intervalu byly na 0 % úrovni. Z těchto dosažených výsledků, lze z praktického hlediska konstatovat, že oplozenost a líhivost jedinců mají mezi sebou blízkou spojitost. Je ovšem stále otázkou,

jestli při použití nejkvalitnějších možných pohlavních produktů, by bylo dosaženo lepší oplozenosti a následné líhivosti i po delších časových intervalech oplozování jako je 6, 8 a 10 hodin. Z praktického hlediska lze říci, že na základě našich výsledků je skladování jiker, při jakékoliv teplotě po dobu delší jak 4 a více hodin nevhodné a s malou procentuální oplozeností a líhivostí. Naopak pokud jikry oplozujeme 0,5-3 hodiny po umělém výtěru ryb jsou vhodné teploty skladování 5 °C, 10 °C, 15 °C a 20 °C. S menšími hodnotami líhivosti pak lze počítat při skladování jiker v 25 °C a 30 °C.

#### 5.4. Přežití plůdku

Jako u líhivosti, tak samozřejmě i u přežití jedinců je hodnota oplozenosti a líhivosti úzce spjata s následným přežitím plůdku. Je logické, že čím vyšší hodnoty těchto reprodukčních parametrů, tím bude i vyšší procento přežití plůdku. Přežití plůdku v tomto experimentu bylo sledováno v intervalu přechodu z embryonální do larvální periody a následně stanoveno z oplozených jiker, ale i z celkového počtu nasazených jiker v pokusu. Tyto dvě hodnoty přežití se mezi sebou samozřejmě liší, ale jejich tendence a vývoj je velmi podobný. Také můžeme usoudit, že na výši přežití bude mít vliv i samotná kvalita pohlavních produktů, zvláště pak u jiker a tím pádem by měl být vždy kladen důraz na kvalitu generačních ryb použitých v umělém výtěru. S tímto tvrzením se můžeme setkat i v podobné práci Leta (2016), který zkoumal krátkodobé uchování jiker při různých teplotách u jesetera malého (*Acipenser ruthenus*), nebo u Borůvky (2017), který sledoval přežití u keříčkovce červenolemého (*Clarias gariepinus*), po dobu 48 a 72 hodin.

V tomto případě budou diskutovány výsledky přežití, vypočtené z oplozených jiker. Na přežití samotné má v přírodě samozřejmě velký vliv teplota vody. V tomto pokusu byla teplota vody jak pro inkubaci jiker, tak i pro následné životní projevy plůdku (kulení, přežití, příjem exogenní potravy) přes den 20-20,5 °C a v noci 19-19,5 °C. V podobném pokusu se Kouřil a kol. (2013) zabýval přežitím plůdku u keříčkovce červenolemého v intervalu mezi vykulením až do přechodu na vnější potravu. Interval přechodu z embryonální do larvální periody, se v přirozených podmínkách mění v závislosti na teplotě vody. Čím vyšší je daná teplota vody, tím kratší je přechod na exogenní výživu (Prchal, 2011). V našem případě při teplotě vody 19-20,5 °C byl tento přechod přibližně po 5 dnech a následně bylo spočteno množství přeživších jedinců v kádinkách. U pokusu Mráze (2007) bylo přežití jedinců u lína obecného do příjmu exogenní potravy v úrovni



60-75 %, tyto hodnoty byly stanoveny pouze z oplozených jiker. V našem případě pak hodnoty přežití byly v průměru na hodnotě 64,5 %, kdy nejlépe dopadlo přežití jedinců při skladování jiker v délce do 3 hodin po získání pohlavních produktů, následný interval 4 hodin pak zaznamenal značný statistický pokles. Můžeme tedy konstatovat, že při oplození jiker do 3 hodin délky jejich uchování, jsou hodnoty přežití plůdku ve stejné (podobné) hladině, a to u všech teplot. Co se týče dlouhodobého skladování jiker, tak zde dopadla nejlépe teplota 10 °C, kdy i při uchování jiker v délce 8 hodin bylo zaznamenáno přežití na úrovni 33,3 %, ovšem ostatní hodnoty v tomto intervalu byly nulové (0 %). Při těchto výsledcích lze usoudit, že pro zachování co možná největšího množství přeživších a životaschopných jedinců je dobré oplozovat jikry do délky maximálně 3 hodin po umělém výtěru, ale spíše optimální bude časový interval do 2 hodin. Z hlediska potřeby delšího časového skladování jiker více jak 3 hodiny po umělém výtěru, lze doporučit teplotu 10 °C.

## 5.5. Zahájení příjmu potravy u plůdku

Příjem exogenní potravy u plůdku lína obecného po strávení žlutkového váčku, byl posledním sledovaným parametrem v této práci. Zhruba po 5-6 dnech po vykulení jedinců bylo do jednotlivých kádinek přidáno malé množství (přibližně 200 kusů) žábřonožky solné (*Artemia salina*) ve stádiu živých nauplií. Vzhledem k velmi malé velikosti plůdku lína (LT 4-6 mm) byla zvolena i co možná nejmenší velikost nauplií 430 µm, tak aby se předešlo problémům s nepřijímáním potravy. Tento počáteční rozkrm za pomoci žábřonožky popisuje mnoho autorů jako například Boňko (2017), který sledoval příjem potravy (obohacené žábřonožky) u lína obecného. V jeho výsledcích je zaznamenán poměrně velký a bezproblémový příjem (88-95 %) artémie. Stejně tomu je i u našich výsledků, kdy u přeživších jedinců byl pozorovatelný bezproblémový příjem artémie, a to i v počtech několika desítek kusů. Hodnoty příjmu potravy u plůdku, byl u jiker, které byly oplozeny do 2 hodin v úrovni 90-100 % a to u všech teplot, následoval statisticky průkazný pokles hodnot při oplození jiker po 3 hodinách skladování. Nejhůře pak dopadl příjem potravy při oplození jiker po délce skladování 8 hodin a více, kdy jediná zaznamenaná hodnota v těchto intervalech byla při 10 °C, a to na úrovni 33,3 %.

Vzhledem k dosaženým výsledkům lze konstatovat, že pokud se jikry oplodní do intervalu 2 hodin je příjem exogenní potravy bezproblémový až 100 %. Pokud ovšem jikry oplodníme po intervalu skladování 3 hodin bude tato hladina výrazně klesat, zvláště

pak u extrémních teplot jako jsou 5 °C a 30 °C. Po delších intervalech oplozování (8 a 10 hodin) je poté příjem potravy zanedbatelný a minimální, i s ohledem na to, že většina jedinců v těchto intervalech skladování uhynie nebo vůbec nedojde k jejich vykulení. Bohužel při tomto sledovaném parametru, nemáme ani s jedním z výše uvedených autorů srovnání. Podobné pokusy většinou byly ukončeny po vykulení jedinců, kteří byli následně usmrceni (předávkováním anestetikem dle ČSN) nebo dále použiti pro nasazení do rybníka.

Pokud se ovšem podíváme na sledované reprodukční parametry v tomto experimentu je i samotný vývoj v příjmu potravy podobný, tedy lze doporučit oplozovat jikry do 2 hodin po umělém výtěru ryb pro získání kvalitního a životaschopného plůdku. Delší intervaly oplozování (3 a více hodin) jsou pro následný příjem potravy, ale i oplozenost a líhivost u jedinců lína obecného nevhodné a s velmi malou úspěšností.

Jako nejvhodnější se tedy jeví oplozovat jikry do 2 hodin po umělém výtěru a při teplotách skladování 15-25 °C. Při tomto časovém intervalu (oplozování) a teplotě skladování je u lína obecného dosahováno nejvyšších procentuálních hodnot v reprodukčních parametrech (oplozenosti a líhivosti), ale i v následném přežití a příjmu potravy u plůdku. Jako nevhodné jsou pak délky skladování jiker 3 a více hodin při teplotách 5 °C a 30 °C, kdy po oplození takto skladovaných jiker je procento oplozenosti i líhivosti malé.

Výše uvedení autoři například Let (2016) nebo Borůvka (2017) zabývající se podobným pokusem na krátkodobé uchování jiker, však zakončují svou práci vyhodnocením oplozenosti a líhivosti (popřípadě přežitím plůdku). Ovšem dále pak již do své práce nezařazují příjem potravy, tedy dobu, kdy plůdek přechází z embryonální do larvální periody a následně je schopný přijímat předkládanou potravu. V tomto ohledu je tato práce více komplexnější a propracovanější, neboť nejdůležitější je samozřejmě to, jestli plůdek přežije a bude přijímat potravu (tedy růst a vyvíjet se).

## 6. Závěr

Hlavním cílem u této práce bylo objasnit možnosti skladování neoplozených vytřených jiker lína obecného s dosažením co možná nejlepších výsledků v sledovaných parametrech jako je oplozenost, líhivost, přežití a příjem potravy u plůdku. Klíčové rozhodnutí u tohoto pokusu bylo správně stanovit skladovací teploty a časové intervaly oplozování. Z předchozích experimentů na keříčkovci čevenolemém, provedené Borůvkou (2017), byly zvoleny teploty skladování jiker 5, 10, 15, 20, 25 a 30 °C i pro tento pokus u jiker lína obecného. Časové intervaly oplozování jiker byly také dle zkušeností z minulých pokusů stanoveny v rozpětí 0,5 – 10 hodin po výtěru, přesněji pak 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4; 6; 8; 10 (hodin).

Oplozenost jiker byla dosažena ve všech časových intervalech. S ohledem na dosažené výsledky v tomto experimentu lze pro nejlepší oplozenost, doporučit intervaly oplozování do 2 hodin po získání pohlavních produktů. Při bližším zkoumání pak je pozoruhodné, že nejlepších výsledků není dosahováno v prvním intervalu tedy 0,5 hodiny skladování jiker, ale naopak v časech 1, 1,5 a 2 hodin. V čase 0,5 hodiny skladování je pak samozřejmě meších oplozeností dosahováno u teplot 5 °C a 30 °C což považuji za teplotu extrémní, neboť v přirozených podmínkách se v době výtěru lín obecný s takovou teplotou nesetká. Pro dlouhodobé uchování neoplozených jiker se nejlépe jevila varianta skladování při teplotě 5 °C, 10 °C a 15 °C. Skladování jiker při těchto teplotách v intervalu až 10 hodin po umělém výtěru je sice s velmi nízkou oplozeností (1,5-20,7 %), ale z praktického hlediska při potřebě uchovávat jikry po tak dlouhou dobu je možné je doporučit.

Pro získání životaschopného plůdku, můžeme doporučit s ohledem na ostatní parametry (líhivost, přežití a příjem potravy) využívat pouze kratších dob skladování, a to při všech teplotách v tomto pokusu, do 2 hodin maximálně do 3 hodin po výtěru. V praxi na líhních, kdy je reprodukován lín obecný je teplota vzduchu (na různých místech) 15-25 °C, což umožňuje více variant skladování jiker, při různé teplotě. Zároveň při těchto teplotách 15-25 °C, které jsou běžnější při výtěru lína obecného, se v praxi (na líhních) běžně dosahuje velmi kvalitního, a hlavně životaschopného potomstva.

Při použití lepších inkubačních aparátů (průtočné lahve), lze předpokládat, že výsledky u parametrů, které jsou sledovány v tomto pokusu, budou vykazovat vyšší hodnoty, z důvodu dobrého okysličení vody a promíchávání (odlepkovaných) jiker. Tento

fakt by pro dané teploty 15-25 °C měl být vyzkoušen v praxi, neboť v klimatických podmínkách v České republice, je při umělém výtěru lína obecného zaznamenáme nejčastěji. Z této práce však jasně vyplívá, že oplození jiker do 2 hodin po výtěru ryb, bude nejlepší ve všech reprodukčních parametrech, a tedy i v teplotách (20-25 °C), kdy se lín obecný přirozeně vytírá v našich vodách.

## 7. Seznam použité literatury

Adámek, J., 1994. Rozród, podchów suma afrykanskiego *Clarias gariepinus* (Burchell 1822)., Czesc II – Komunikaty Rybackie. 1: 11-13.

Baruš V., & Oliva O., 1995. Fauna ČR a SR: Mihulovci (Petromyzontes) a ryby (Osteichthyes) 2. Academia Praha, 698 pp.

Baruš, V., Oliva, O., (EDS), 1995. Mihulovci a ryby, I. díl. Academia Praha, 623 s.

Baruš, V., Oliva, O., 1995. Mihulovci a ryby, II. díl. Academia Praha, 698 s.

Bayley, J., 1998. John Bayley's Freshwater fishing, Dorling Kindersley Ltd., London, 192 s.

Boňko, D., 2017. Odkrm plůdku lína obecného (*Tinca tinca*) s využitím obohacených nauplií žábbronožek (*Artemia salina*). Bakalářská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. 59 s.

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. 95 s.

Čítek, J., Krupauer, V., Kubů, F., 1998. Rybníkářství. Informatorium Praha. Druhé přepracované vydání, 306 s.

Čítek, J., Krupauer, V., Kubů, F., 1998. Rybníkářství 3. vydání. Informatorium Praha, 309 s.

Dubský, K., Kouřil, J., Šrámek, V., 2003. Obecné rybářství. Informatorium, Praha, 308 s.

Dyk, V., Podubský, V., Štedronský, E., 1956. Základy našeho rybářství. Státní zemědělské nakladatelství, Praha 521 s.

FAO Fishery Statistics 2018. Species Fact Sheets *Tinca tinca*, [online]. [cit. 25. 04. 2019]. Dostupné na WWW: <http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso/czechrepublic/en#tcN900C5>.

Flajšhans, M., Kohlmann, K., Rab, P., 2007. Autotriploid tench *Tinca tinca* (L.) larvae obtained by fertilization of eggs previously subjected to postovulatory ageing in vitro and in vivo. *Journal of Fish Biology* 71: 868-876.

Flajšhans, M., Linhart, O., 2000. Produkce triploidních línů. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický ve Vodňanech. Metodika č. 62: 14 s.

Flokovič, M., 2011. Krátkodobé uchování neoplozených jiker sumečka afrického (*Clarias gariepinus*). České Budějovice, 2011. Bakalářská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. 72 s.

Gela, D., Kocour, M., Rodina, M., Flajšhans, M., Beránková, P., Linhart, O., 2009. Technologie řízené reprodukce kapra obecného (*Cyprinus carpio* L.). Edice metodik (technologická řada), FROV JU, Vodňany, č. 99, 43 s.

Gisbert, E., a Williot, P., 2002. Influence of storage duration of ovulated eggs prior to fertilization on the early ontogenesis of Sterlet, *Acipenser ruthenus*, and Siberian sturgeon, *A. Baeri*. International Review of Hydrobiology 87: 605-612.

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 science 3 (4): 3438-3442.

Hamáčková, J., Kouřil, J., Kozák, P., Stupka, Z., 2006. Clove oil as an anaesthetic for different freshwater fish species. Bulgarian Journal of Agricultural Science 12: 185-194.

Hamáčková, J., Kouřil, J., Masár, J., Turanský, R. 2007. Technologie Chovu keříčkovce jihoafrického – sumečka afrického (*Clarias gariepinus*). Edice metodik, VÚRH JU Vodňany, č. 79, 19 s.

Hanel, L., 2001. Naše ryby a rybaření. Nakladatelství Brázda s.r.o. Praha, 286 s.

Hartman, P., Regenda, J., 2014. Praktika v rybníkářství. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Fakulta rybářství a ochrany vod. ISBN 978-80-7514-009-8, 375 s.

Horváth, L., Szabó, T., Burke, J., 1997. Hatchery testing of GnRH analogue-containing pellets on ovulation in four cyprinid species. Polskie Archiwum Hydrobiologii n. 44: 221-226.

Khan, I.A., Thomas, P., 1992. Stimulatory effects of serotonin on maturational gonadotropin release in the Atlantic croaker, *Micropogonias undulatus*. Gen.Comp.Endocrinol., 88:388-396.

Kobayashi., M., Aida, K., Hanyu, I., 1989. Induction of of gonadotropin surge by stero-id hormone implantation in ovariectomized and sexually regressed female gold-fish. *Gen.Comp.Endocrinol.*, 73(3):469-476.

Kostomarov, B., 1955. Rozmnožování a plemenitba ryb. Praha, s. 51-53.

Kouřil, J., 2001. Hormonálně indukovaný umělý výtěr jikernaček lína obecného (*Tinca tinca*). Disertační práce. ČZU Praha, 42 s.

Kouřil, J., Barth, T., 1981. Docílení ovulace jiker pomocí LH-RH při umělém výtěru lína obecného (*Tinca tinca* L.). *Bul. VÚRH Vodňany*, 17 (1):13-18.

Kouřil, J., Drozd, B., Prokešová, M., Stejskal, V., 2013. Intenzivní chov keříčkovce jihoafrického – sumečka afrického (*Clarias gariepinus*). Edice metodik, FROV JU Vodňany, č. 138, 60 s.

Kouřil, J., Hamáčková, J., Hulová, I., Bartlová, J., 1999. Hormonální indukce ovulace u kapra pomocí čištěného extraktu kapří hypofýzy. Edice metodik, VÚRH JU Vodňany, č. 61, 4 s.

Kouřil, J., Chábera, S., 1976. Umělý výtěr lína obecného (*Tinca tinca* L.). *Bul. VÚRH Vodňany*, 12, 4:7-13.

Kouřil, J., Mrkvan, L., 1986. Provozní ověření účinku analogu LH-RH k dosažení indukovaného umělého výtěru jikernaček lína na rybí líhni Státního rybářství, o. z. Přerov v Hodoníně. *Čs. Rybníkářství (České Budějovice)*, 3:102-104.

Kouřil, J., Podhorec, P., 2011. Umělý výtěr lína obecného (*Tinca tinca*), VÚRH JU, Vodňany, edice metodik č. 113, 26 s.

Kouřil, J., Podhorec, P., Stejskal, V., Polícar, T., Kříšťan, J., Drozd, B., 2011. Optimalizace metod hormonálně indukované ovulace při řízené reprodukci vybraných hospodářsky významných teplomilných druhů ryb. Edice metodik, FROV JU Vodňany, č. 120, 34 s.

Kouřil, J., Vachta, R., Barth, T., 2003. Hormonálně indukovaný umělý výtěr jikernaček lína obecného *Tinca tinca* pomocí kombinovaných přípravků obsahujících ana-log GnRH a dopaminergní inhibitor. *Sb. ref. VI. Česká ichtyologická konferen-ce, Praha, Česká zemědělská univerzita*, s. 41-48.

Krupauer, V., 1967. Několik poznámek ke kombinovanému chovu kapra s línem. *Čs. rybářství*, 1967 (4):50-51.

- Kubů, F., Kouřil, J., 1895. Lín obecný (*Tinca tinca*). Praha, ČRS, 100 s.
- Lahnsteiner, F., Urbanyi, B., Horváth, A., Weismann, T., 2001. Bio-markers for egg quality determination in cyprinid fish. *Aquaculture* 195: 33-352.
- Let, M., 2016. Vliv teploty při krátkodobém uchování jiker jesetera malého, *Acipenser ruthenus*, in vitro. České Budějovice, 2016. Bakalářská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. 53 s.
- Linhart, O. a Billard, R., 1995. Biology of gametes and artificial reproduction in common tench, *Tinca tinca* (L.). A review. *Pol. Arch. Hydrobiol.*, 42:37-56.
- Linhart, O., Gela, D., Flajšhans, M., Rodina, M., 2000. Umělý výtěr lína obecného s využitím enzymu při odlepkování jiker. *Edice Metodik, VÚRH JU, Vodňany*, č. 63, 14 s.
- Linhart, O., Gela, D., Rodina, M., 2000. Umělý výtěr sumce velkého s využitím enzymu při odlepkování jiker. *VÚRH JU, Vodňany*, edice Metodik č. 64, 15 s.
- Linhart, O., Gela, D., Rodina, M., 2001. Umělý výtěr sumce velkého s využitím enzymu při odlepkování jiker, *VÚRH JU, Vodňany*, edice Metodik č. 70, 16 s.
- Linhart, O., Kvasnička P., 1992. Artificial insemination in tench (*Tinca tinca* L.). *Aquaculture and Fisheries Management*, 23, s. 125–130.
- Linhart, O., Kvasnička P., Flajšhans, M., Kasal, A., Ráb, P., Paleček, J., Šlechta, V., Hamáčková, J., Prokeš, M., 1995. Genetic studies with tench *Tinca tinca* L.: induces meiotic gynogenesis and sex reversal. *Aquaculture* 132, 239–251.
- Lusk, S., Baruš, V., Vostradovský, J., 1992. *Ryby v našich vodách*. Academia nakladatelství Československé akademie věd. Praha, 239 s.
- Matěnová, V., Pivnička, K., 1980. Beitrag zur geographischen Variabilität der Schlere (*Tinca tinca* L., Pisces: Cyprinidae), *Věst. Čs. Společ. Zool*, 44 (1): 53-56.
- Ministerstvo zemědělství České Republiky 2017. Situační a výhledová zpráva-Ryby. [online]. [cit.20.04.2019]. Dostupné na WWW: [http://eagri.cz/public/web/file/570123/SVZ\\_Ryby\\_2017\\_A4\\_V.pdf](http://eagri.cz/public/web/file/570123/SVZ_Ryby_2017_A4_V.pdf).
- Mráz, J., 2007. Hormonálně indukovaný výtěr jikernaček lína obecného. Diplomová práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. 72 s.



Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwell, V.W., 1998. Harperova bio-chemie. Jihočany, H&H, s. 568-583.

Oliva, O., Hrabě S., Lác J., 1968. Stavovce Slovenska I. Ryby, obojživelníky a plazy. Ryby pp. 16227. Vyd. SAV. Bratislava, 389 s.

Pankhurst, N.W., 1995. Hormones and reproductive behavior in male damselfish. Bull. Marin.Sci., 57: 569-581.

Pankhurst, N.W., 1998. Reproduction. In: Biology of farmed fish (d. Black, K. D, Pickering, A. D). Academy Press, Sheffield, s. 1-26.

Penjaz, V.S., Ševcova, T.M., Nechajeva, T.I., 1973. Biologia ryb vodojemov belo-russkogo Polesja. Izd. Nauka i tehnika. Minsk, 238 s.

Podhorec, P., 2011. Umělá reprodukce lína obecného (*Tinca tinca*) s důrazem kladeným na hormonální indukci ovulace. Disertační práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. 78 s.

Pokorný, J., 1974. Nedoceněná ryba. Výtěr lína a odchov plůdku. Rybářství 12:268-270.

Pokorný, J., 1974. Příspěvek k uplatnění intezifikačních metod v chovu lína v podmínkách Státního rybářství. Disertační práce, VŠZ Brno. 98 s.

Pokorný, J., Adámek, Z., Šrámek, V., Dvořák, J., 2003. Pstruhařství. Praha Informatorium: Res. 101.

Prchal, M., 2011. Porovnání růstu a přežití u vybraných plemen lína obecného. Bakalářská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod. 61 s.

Reiser, F., Kubů, F., Vostradovský, J., 1983. Rybářství součást zemědělské výroby. Účelová publikace MZV ČS. SZN. Praha, 102 s.

Rodina, M., Cosson, J., Gela, D., Linhart, O., 2004. Kurokura solution as immobilizing medium for spermatozoa of tench (*Tinca tinca* L.) Aquaculture International 12, s. 119–131.

Samarin, A.M., Blecha, M., Uzhytchak, M., Bytyutskyy, D., Zarski, D., Flajshans, M., Policar, T., 2016 b: Post – ovulatory and post – stripping oocyte ageing in northern pike, *Esox lucius* (Linnaeus, 1758), and its effect on egg viability rates and the occurrence of larval malformations and ploidy anomalies. Aquaculture 450: 431-438.

Samarin, A.M., Zarski, D., Palińska-Zarska, K., Krejszef, S., Blecha, M., Kucharczyk, D., Policar, T., 2016 a. In vitro storage of unfertilized eggs of the Eurasian perch and its effect on egg viability rates and the occurrence of larval malformations. *Animal* 11 (1): 78-83.

Specker, J.L., Sullivan, C.V., 1994. Vitellogenesis in fishes: Status and perspectives. In: *Perspectives in Comparative Endocrinology* (eds. Davey, K. G., Peter, E. E., Tobe, S. S.), Nat. Res. Counc. Can., Ottawa, s. 304-315.

Steffens, W., 1995. The tench (*Tinca tinca* L.) a neglected pond fish species. *Pol. Arch. Hydrobiol.*, 42:161-180.

Swanson, P., 1991. Salmon gonadotropins: reconciling old and new ideas. In: *Reproductive Physiology of Fish* (eds. Scott, A.P., Sumpter, J.P., Kime, D.E., Rolfe, M.S.), Fish Symp 91, Sheffield, s. 2-7.

Thomas, P., 1994. Hormonal control of final oocyte maturation in scianid fishes. In: *Perspectives in Comparative Endocrinology* (ed. Davey, K.G., Peter, R.E., Tobe, S.S.), Nat. Res. Counc. Can., s. 619-625.

Tkáč, M., 2011. Odchov raných stádií lina obecného (*Tinca tinca*) v kontrolovaných podmínkách. Diplomová práce Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství. AF: MENDELU v Brně. 65 s.

Tyler, C.R., Sumpter, J.P., Whittames, P.R., 1990. The dynamics of oocyte growth during vitellogenesis in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Biology of Reproduction*, 43:202-209.

Van der Kraak, G.A., Wade, M.G., 1994. A comparison of signal transduction pathways mediating gonadotropin action in vertebrates. *Nat. Res. Counc. Can., Ottawa*, s. 59-63.

Vostradovský, J., 1968. Výsledky značkování *Abramis brama*, *Tinca tinca*, *Perca fluviatilis* a dalších v Lipenské údolní nádrži. *Práce VÚRH Vodňany*, 1968 (8):149-163.

Yaron, Z., Sivan, B., Drodi, S., Kulikovski, Z., 2009. Spawning induction in cyprinids: hypophyseal and hypothalamic approaches. *Bulletin VÚRH Vodňany* 38:62-74.

Zohar, Y., Mylonas, C.C. (2001). Endocrine manipulations of spawning cultured fish: from hormones to genes – *Aquaculture* 197: 99-136.

Žlábek, A., Linhart, O., 1987. Krátkodobé uchování neosemeněných jiker kapra obecného, amura bílého a tolstolobika bílého. *Buletin VÚRH Vodňany* (4): 3-11.

## 8. Přílohy

Tab. 4. Celkový počet nasazených jiker v jednotlivých kádinkách (vzorcích).

Teplota	5 °C			10 °C			15 °C			20 °C			25 °C			30 °C		
Vzorek	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
0,5 hod.	73	103	111	78	74	87	58	72	63	64	73	58	67	62	82	86	58	91
1 hod.	98	89	126	96	54	66	73	51	57	64	86	72	76	81	56	49	80	75
1,5 hod.	51	83	62	57	61	35	58	64	56	86	82	64	71	60	85	56	73	54
2 hod.	67	34	42	41	32	53	61	72	57	58	108	77	74	81	61	69	68	84
3 hod.	40	43	38	39	31	42	71	55	53	88	42	56	53	64	70	59	51	54
4 hod.	71	73	88	58	45	54	65	71	51	73	49	61	52	94	68	49	82	97
6 hod.	62	41	108	61	73	56	62	64	50	86	76	57	111	97	106	90	55	84
8 hod.	65	92	79	81	51	49	41	52	71	78	101	72	69	77	58	59	40	58
10 hod.	67	81	86	64	53	48	45	38	39	64	89	103	89	64	47	56	41	31

Tab. 5. Přehled průměrných hodnot oplozenosti, vždy ze tří jednotlivých opakování (v %).

Teplota	5 °C	10 °C	15 °C	20 °C	25 °C	30 °C
<b>Průměr ze tří po sobě jdoucích opakování (%)</b>	Průměr ± SD	Průměr ± SD	Průměr ± SD	Průměr ± SD	Průměr ± SD	Průměr ± SD
0,5 hod.	54,00 ± 11,23	56,39 ± 3,67	55,46 ± 6,29	55,75 ± 3,14	53,85 ± 1,64	44,25 ± 25,98
1 hod.	51,82 ± 6,02	66,2 ± 8,16	63,04 ± 3,96	54,04 ± 9,44	67,96 ± 3,13	57,63 ± 3,86
1,5 hod.	44,63 ± 5,85	50,52 ± 12,80	59,20 ± 3,94	55,41 ± 2,29	64,70 ± 11,39	62,96 ± 7,14
2 hod.	26,23 ± 7,93	38,55 ± 12,45	66,96 ± 6,41	61,38 ± 9,44	60,77 ± 11,37	59,97 ± 26,28
3 hod.	33,39 ± 2,45	55,05 ± 4,69	54,89 ± 9,19	51,61 ± 5,69	28,85 ± 0,60	41,67 ± 18,94
4 hod.	21,26 ± 2,63	23,51 ± 7,08	34,03 ± 2,56	50,08 ± 6,90	32,05 ± 3,30	41,32 ± 4,72
6 hod.	16,23 ± 2,85	19,69 ± 7,72	28,42 ± 7,58	43,87 ± 2,60	41,78 ± 2,31	4,60 ± 3,46
8 hod.	20,71 ± 6,36	16,51 ± 5,19	12,99 ± 4,35	13,26 ± 1,53	4,14 ± 3,05	0,57 ± 0,81
10 hod.	20,71 ± 6,36	9,39 ± 2,55	11,00 ± 4,72	4,31 ± 2,60	1,50 ± 2,12	0,00

Tab. 6. Přehled průměrných hodnot líhivosti (z oplozených jiker), vždy ze tří jednotlivých opakování (v %).

Teplota	5 °C	10 °C	15 °C	20 °C	25 °C	30 °C
Průměr ze tří po sobě jdoucích opakování (%)	Průměr ± SD	Průměr ± SD	Průměr ± SD	Průměr ± SD	Průměr ± SD	Průměr ± SD
0,5 hod.	79,55 ± 23,88	90,83 ± 6,28	69,67 ± 5,62	77,67 ± 5,22	67,68 ± 14,54	48,17 ± 18,77
1 hod.	50,98 ± 3,22	72,60 ± 7,75	78,77 ± 10,40	75,02 ± 15,62	39,79 ± 10,49	79,92 ± 7,71
1,5 hod.	64,80 ± 21,70	83,69 ± 2,54	67,79 ± 7,43	67,96 ± 17,39	58,23 ± 27,83	60,04 ± 26,38
2 hod.	80,08 ± 7,87	65,31 ± 12,53	74,60 ± 19,18	59,02 ± 30,28	63,70 ± 22,06	22,97 ± 12,54
3 hod.	88,89 ± 7,86	66,75 ± 16,88	61,11 ± 17,51	68,10 ± 20,24	49,68 ± 13,03	44,48 ± 30,15
4 hod.	33,86 ± 6,70	68,55 ± 14,11	66,91 ± 30,07	31,33 ± 8,01	39,77 ± 9,11	6,70 ± 4,94
6 hod.	17,52 ± 13,66	29,17 ± 5,37	19,76 ± 14,10	14,42 ± 6,13	1,55 ± 2,19	26,98 ± 28,66
8 hod.	2,22 ± 3,14	7,14 ± 10,10	5,56 ± 7,86	0,00	0,00	0,00
10 hod.	0,00	11,11 ± 15,71	34,44 ± 12,27	0,00	0,00	0,00

Tab. 7. Přehled průměrných hodnot přežití (z celkového počtu jiker) z jednotlivých opakování (v %).

Teplota	5 °C	10 °C	15 °C	20 °C	25 °C	30 °C
Průměr ze tří po sobě jdoucích opakování (%)	Průměr ± SD	Průměr ± SD	Průměr ± SD	Průměr ± SD	Průměr ± SD	Průměr ± SD
0,5 hod.	37,88 ± 5,74	46,56 ± 6,38	38,67 ± 5,69	42,71 ± 2,30	34,89 ± 8,10	15,30 ± 3,57
1 hod.	25,44 ± 2,89	40,44 ± 1,98	49,02 ± 9,81	38,37 ± 4,98	27,31 ± 8,36	43,04 ± 3,06
1,5 hod.	30,86 ± 9,26	38,32 ± 6,96	39,94 ± 3,45	37,66 ± 12,22	37,74 ± 20,85	36,49 ± 16,15
2 hod.	32,54 ± 7,47	26,73 ± 13,95	47,19 ± 10,48	29,07 ± 10,41	38,74 ± 17,91	10,48 ± 1,97
3 hod.	16,67 ± 8,50	32,63 ± 3,93	29,80 ± 2,96	35,01 ± 12,54	8,56 ± 1,65	18,45 ± 13,09
4 hod.	10,06 ± 1,49	15,86 ± 8,34	15,28 ± 7,50	9,26 ± 7,25	6,06 ± 3,34	1,80 ± 1,50
6 hod.	3,06 ± 3,11	5,07 ± 3,09	4,17 ± 5,89	4,77 ± 1,79	0,00	0,00
8 hod.	0,00	1,23 ± 1,75	0,00	0,00	0,00	0,00
10 hod.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tab. 8. Přehled průměrných hodnot přežití (z oplozených jiker) z jednotlivých opakování (v %).

Teplota	5 °C	10 °C	15 °C	20 °C	25 °C	30 °C
<b>Průměr ze tří po sobě jdoucích opakování (%)</b>	Průměr ± SD	Průměr ± SD	Průměr ± SD	Průměr ± SD	Průměr ± SD	Průměr ± SD
0,5 hod.	37,88 ± 5,74	46,55 ± 6,38	38,67 ± 5,69	42,71 ± 2,30	34,89 ± 8,10	15,30 ± 3,57
1 hod.	25,44 ± 2,89	40,44 ± 1,98	49,02 ± 9,81	38,73 ± 4,98	27,31 ± 8,35	43,04 ± 3,02
1,5 hod.	30,86 ± 9,26	38,82 ± 6,96	39,94 ± 3,45	37,66 ± 12,22	37,74 ± 20,85	36,49 ± 16,15
2 hod.	32,55 ± 7,47	26,73 ± 13,95	47,19 ± 10,48	29,07 ± 10,41	38,75 ± 17,91	10,48 ± 1,97
3 hod.	15,67 ± 8,50	32,63 ± 3,93	29,80 ± 2,97	35,01 ± 12,54	8,56 ± 1,65	18,45 ± 13,09
4 hod.	10,06 ± 1,49	15,86 ± 8,34	15,28 ± 7,50	9,26 ± 7,25	6,06 ± 3,34	1,90 ± 1,50
6 hod.	3,06 ± 3,11	5,07 ± 3,09	4,17 ± 5,89	4,77 ± 1,79	0,00	0,00
8 hod.	0,00	1,23 ± 1,74	0,00	0,00	0,00	0,00
10 hod.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tab. 9. Přehled průměrných hodnot příjmu potravy (vztažený na celkový počet jiker v pokusu) z jednotlivých opakování (v %).

Teplota	5 °C	10 °C	15 °C	20 °C	25 °C	30 °C
<b>Průměr ze tří po sobě jdoucích opakování (%)</b>	Průměr ± SD	Průměr ± SD	Průměr ± SD	Průměr ± SD	Průměr ± SD	Průměr ± SD
0,5 hod.	94,16 ± 2,18	90,52 ± 4,02	100,00 ± 0,00	98,89 ± 1,57	95,34 ± 4,38	91,86 ± 7,54
1 hod.	96,56 ± 3,19	85,30 ± 5,16	97,69 ± 1,64	98,67 ± 1,89	100,00 ± 0,00	93,97 ± 5,26
1,5 hod.	100 ± 0,00	93,41 ± 6,26	100,00 ± 0,00	98,03 ± 8,38	97,44 ± 3,63	95,89 ± 3,76
2 hod.	90,32 ± 7,78	100,00 ± 0,00	96,35 ± 3,48	87,54 ± 5,58	96,43 ± 5,05	100,00 ± 0,00
3 hod.	62,86 ± 11,84	91,40 ± 6,52	93,64 ± 4,52	98,41 ± 2,24	64,81 ± 24,98	96,67 ± 4,71
4 hod.	90,91 ± 12,86	93,33 ± 9,43	66,90 ± 3,21	51,92 ± 34,08	50,74 ± 34,98	50,00 ± 40,83
6 hod.	46,67 ± 41,10	77,78 ± 20,79	33,33 ± 47,14	83,33 ± 23,57	0,00	0,00
8 hod.	0,00	33,33 ± 47,14	0,00	0,00	0,00	0,00
10 hod.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00



## 9. Seznam zkratek

hod.- hodina

kg-kilogram

g-gram

ml-mililitr

l-litr

LT-celková délka těla ryby (*longitudo totalis*)

LH-luteinizační hormon

GnRHa-gonadotropin uvolňující releasing hormon

## 10. Abstrakt

V této práci byla sledována délka skladování uměle vytřených jiker lína obecného (*Tinca tinca*) při různých teplotách v období před jejich osemeněním a aktivací na oplozenost, líhnivost a následné přežití plůdku do přechodu z embryonální do larvální periody života (zahájení aktivního příjmu potravy). K experimentu byla použita homogenní směs jiker získaná při hormonálně indukovaném umělém výtěru ze 6 jikernaček. Vzorčky jiker byly bezprostředně po umělém výtěru dány do plastových misek a zakryty. Ty byly následně umístěny do temperovaných termoizolačních nádob s teplotami 5, 10, 15, 20, 25 a 30°C. V časových intervalech 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4; 6; 8 a 10 hodin bylo z každé teploty odebráno malé množství jiker (v počtu odhadem 50-100 kusů) do suchých skleněných kádinek (ve 3 opakováních v každé kombinaci teploty a délky přechovávání). Následně bylo provedeno jejich osemenění směsí spermatu od 6 mlíčáků a provedena aktivace vodou. Inkubace probíhala v neodlepkaném stavu. V průběhu inkubace, resp. následného přechovávání embryí při teplotě 19-20,5 °C, byla denně vyměňována voda. Oplozenost byla vyhodnocena za 48 hodin po oplození. Líhnivost byla stanovena po 48 hodinách po začátku kulení prvních jedinců. Po přechodu z embryonální do larvální periody ontogenetického vývoje, byla plůdku nabídnuta živá potrava (nauplia žábbronožky). Poté bylo spočteno množství plůdku s naplněným střevem. Zjištěné hodnoty byly vyjádřeny procentuálně jak z celkového počtu nasazených jiker, tak z oplozených jiker s využitím statistických metod (dvoufaktorové Anovy s opakováním). Nejvyšší úrovně (při statistickém vyhodnocení na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ ) oplozenosti jiker bylo dosaženo při kombinaci délky přechovávání a teploty 1 hodina/25 °C ( $68,0 \pm 3,1$  %). Vysoká úroveň oplozenosti se udržovala u jiker skladovaných po dobu 2 hodin, poté byl evidován postupný pokles hodnoty. Podobně tomu bylo i u parametru líhnivosti, kdy bylo vysokých úrovní dosaženo u jiker přechovávaných po dobu do 3 hodin (vyjma teploty 30 °C), poté se líhnivost snižovala. Sledované parametry přežití a příjmu potravy u plůdku (z hlediska praktické využitelnosti nejdůležitější) potvrdily výše uvedené tendence. Vysoká líhnivost z nasazených jiker se udržovala po dobu 1,5-3 hodin (vyjma 30 °C), poté došlo k jejímu postupnému poklesu. V čase 8 hodin (teploty 5-20 °C) bylo zjištěno přežití kolem  $1,2 \pm 1,8$  %, u ostatních teplot bylo přežití nulové.

**Klíčová slova:** Oplozenost, líhnivost, přežití, příjem potravy, lín obecný, teplota, jikry.

## 11. Abstract

This thesis deals with the storage length of artificially spawned hard roes of Tench (*Tinca tinca*) during different temperatures at the time before the semen discharging and activation to fertilization, hatching and consequent survival of fish hatchery throughout changeover from the embryonic to larval life period (beginning of active food intake). Homogeneous assortment of hard roes obtained from hormonally induced artificial hatching of 6 spawners has been used for this experiment. Samples of hard roes were put into plastic bowls and covered, immediately after artificial hatching. Subsequently, they were placed into tempered, thermo-isolating containers with temperatures of 5, 10, 15, 20, 25 and 30 °C. In time intervals of 0.5; 1; 1.5; 2; 3; 4; 6; 8 and 10 hours, a small amount of hard roes were taken away from each temperature (estimated 50 -100 pieces) and put into dry, glass beakers (in 3 repetitions in each temperature combination and length of storage). Subsequently, the semen discharging from 6 milers was carried out and activation by water was performed. Incubation took place in non-sticking environment. During the incubation, or more precisely during the consequent storage of embryos through temperatures between 19-20.5 °C, water was changed daily. Fertilization was evaluated 48 hours after fertilizing. Hatchery was determined 48 hours after beginning of hatching of first specimen. After changeover from embryonic to larval period of ontogenetic development, living food was offered to hatching fish (*artemia sp.*). Thereafter, the amount of hatched fish with filled intestines was counted. Ascertained values were depicted as a percentage from the total number of seeded hard roes as well as fertilized hard roes with the use of statistic methods (two factors Anovy with the repetition). The highest level (in statistic evaluation on the importance level  $\alpha = 0.05$ ) of hard roe hatchery was accomplished throughout the length of possession and temperature 1 hour/ 25 °C ( $68.0 \pm 3.1$  %). The high level of hatchery was maintained by hard roes stored for 2 hours, afterwards a gradual value decrease was registered. Similarly, that was achieved with hatching parameter, where the high level of hatching was achieved with hard roes possessed for the period of 3 hours (except temperature of 30 °C), afterwards the hatchery was decreased. Pursued survival and food intake parameters of hatched fish (from the practical point of view) confirmed above stated dispositions. The high hatchery from placed hard roes was maintained for 1.5 – 3 hours (except 30 °C), thereafter there was its gradual decrease. In the time of 8 hours (temperatures 5 - 20 °C), the survival of  $1.2 \pm 1.8$  %, was found out, with the rest, the survival was nearly zero.

**Key words:** fertilization, hatching, survival, food intake, tench, temperature, storage, hard roes.