

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Fakulta rybnářství a ochrany vod

Výzkumný ústav rybnářský a hydrobiologický

Diplomová práce

Optimalizace umělého výtěru candáta obecného (*Sander lucioperca*) pomocí HCG a nové způsoby umělého odlepkování vytřených jiker před jejich inkubací.

Autor: Bc. Miroslav Blecha

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

Konzultant diplomové práce: Ing. Jiří Křišťan

Místo a rok odevzdání: České Budějovice, 2012

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě, případně v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných FROV JU. Zveřejnění probíhá elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích 20. 4. 2012

Bc. Miroslav Blecha

.....

Tímto bych chtěl poděkovat doc. Ing. Tomáši Polícarovi, Ph.D. za odborné vedení mé diplomové práce.

Dále také děkuji všem pracovníkům VÚRH Vodňany, kteří mi vypomáhali při provádění pokusů souvisejících s mou diplomovou prací. Zejména bych chtěl poděkovat svému konzultantovi Jiřímu Křišťanovi, který mi velmi pomohl při přípravě a v průběhu umělého výtěru generačních ryb.

V neposlední řadě bych chtěl poděkovat také mým rodičům, kteří mě v průběhu mého studia na vysoké škole velmi významně podporovali. Za to si zaslouží mé velké poděkování.

Závěrem bych zde chtěl poděkovat Jirkovi Hajíčkoví. Nemusím psát za co, protože on to moc dobře ví.

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

Jméno a příjmení: Bc. Miroslav BLECHA
Osobní číslo: V10N000P
Studijní program: N4103 Zootechnika
Studijní obor: Rybářství
Název tématu: Optimalizace umělého výtěru candáta obecného (*Sander lucioperca*) pomocí HCG a nové způsoby umělého odlepkování vytřených jiker před jejich inkubací.
Zadávací katedra: Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

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

Candát obecný (*Sander lucioperca*) se řadí mezi nejcennější hospodářsky využívané druhy ryb v Evropě. Produkce tržních ryb u candáta obecného je v současnosti nedostatečná a realizovaná především odlovy z jezer, rybníků a ostatních lokalit volných vod. Snahou je současnou tržní produkci candáta obecného více intenzifikovat a dosáhnout kvalitativně a kvantitativně vyrovnané produkce tržních ryb tohoto druhu po celý rok. Z tohoto důvodu již v západní Evropě (především v Nizozemí, Francii, Dánsku a Německu) vzniklo několik produkčních farem, které chovají candáta obecného v recirkulačních akvakulturních systémech (RAS). Tento systém využívá plně domestikované formy candáta obecného a dále realizuje mimo sezónní výtěry, hormonálně stimulované výtěry, umělé odlepkování jiker, umělou inkubaci jiker a následně odchov larev, juvenilů a starší kategorií ryb v RAS s využitím umělých peletovaných krmiv. Tyto farmy využívají vysokých hustot odchovávaných ryb, optimální podmínky chovu (teplota vody kolem 23 °C, obsah rozpuštěného kyslíku kolem 100 % nasycení) a rychlého růstu chovaných ryb.

Cílem diplomové práce je experimentálně najít nejvhodnější způsob umělého výtěru candáta obecného pomocí hormonální stimulace ovulace jikernaček hormonálními preparáty obsahující HCG. Po výtěrech generačních ryb a po umělém oplození získaných jiker experimentálně otestovat nové způsoby umělého odlepkování jiker a následně vyhodnotit úspěšnost inkubace uměle vytřených, oplodněných a odlepkovaných jiker u candáta obecného.

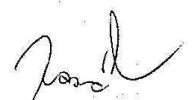
Rozsah grafických prací: podle potřeby
Rozsah pracovní zprávy: 40 - 50 stran
Forma zpracování diplomové práce: tištěná
Seznam odborné literatury: viz příloha

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Tomáš Polícar, Ph.D.**
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický
Konzultant diplomové práce: **Ing. Jiří Kříšťan**
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Datum zadání diplomové práce: **30. listopadu 2010**
Termín odevzdání diplomové práce: **30. dubna 2012**


prof. Ing. Otomar Linhart, DrSc.
děkan

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


doc. Ing. Pavel Kozák, Ph.D.
ředitel

V Českých Budějovicích dne 14. ledna 2011

Příloha zadání diplomové práce

Seznam odborné literatury:

- Kouřil, J., Klimeš, J. 2001: Poloumělý výtěr candáta s pomocí hypofyzace a odchov jeho rychleného plůdku v monokultuře v rybnících. Bull. VÚRH JU Vodňany, 4:153-158.
- Kucharczyk, D., Kestemont, P., Mamcarz, A. , 2007: Artificial reproduction of pikeperch. Handbook, Olsztyn, 80pp.
- Lepič, P., Hamáčková, J., Kouřil, J., Lepičová, A., Barth, T. 2005: Hormonálně indukovaný umělý výtěr jikernaček candáta obecného (*Sander lucioperca*). In: Spurný, P. (red.): Sb. VIII. Česká ichtyologická konference (Brno 14.-15. září 2005), MZLU Brno: 215-219.
- Linhart, O., Gela, D., Flajšhans, M., Rodina, M., 2003: Proteolytic enzyme treatment: an improved method for elimination of egg stickiness in tench, *Tinca tinca* L. in aquaculture. Journal of Appl. Ichtyol., 19: 134-137.
- Linhart, O., Rodina, M., Gela, D., Flajšhans, M. and Kocour, M., 2003: Enzyme treatment for elimination of egg stickiness in tench (*Tinca tinca* L.), european catfish (*Silurus glanis* L.) and common carp (*Cyprinus carpio* L.). Fish Physiology and Biochemistry, 28: 507-508.
- Musil, J., Kouřil, J. 2006. Řízená reprodukce candáta obecného a odchov jeho plůdku v rybnících. Edice Metodik (Technologická řada), VÚRH JU Vodňany: 16 s.
- Ronyai, A., 2007: Induced out-off-season and seasonal tank spawning and stripping of pike perch (*Sander lucioperca* L.). Aquaculture Research: 1-8.
- Wojda R., Sliwinski J., Ciesla M., 1994: Natural spawning of pikeperch in carp ponds. Komunikaty Rybackie, 2: 13-16.
- Zakes, Z., Demska-Zakes, K., 2005: Artificial spawning of pikeperch (*Sander lucioperca* (l.)) stimulated with human chorionic gonadotropin (HCG) and mammalian GnRH analogue with a dopamine inhibitor. Arch. Pol. Fish., 13: 63-75.

Obsah

1. Úvod.....	10
2. Literární rešerše	11
2.1 Hospodářský a sportovní význam v ČR.....	11
2.1.1 Hospodářský význam	11
2.1.2 Sportovní význam.....	11
2.2 Systematické zařazení	11
2.3 Rozšíření	12
2.4 Popis a stavba těla	12
2.5 Biologie	12
2.6 Růst a potrava.....	13
2.7 Pohlavní dimorfismus	14
2.8 Rozmnožování.....	14
2.9 Vhodné generační ryb	15
2.10 Možnosti výtěru candáta obecného.....	15
2.10.1 Přirozený výtěr	15
2.10.2 Poloumělý výtěr	16
2.10.2.1 Poloumělý výtěr tzv. Šustova metoda	16
2.10.2.2 Poloumělý výtěr s použitím nebo bez použití hormonální stimulace.	16
2.10.3 Umělý výtěr s použitím hormonální stimulace	17
2.10.4 Mimosézónní výtěr.....	18
2.11 Anestezie a anestetické přípravky.....	18
2.11.1 Anestezie	18
2.11.2 Anestetické přípravky.....	19
2.12 Biopsie oocytů a stádia jejich zralosti.....	20
2.12.1 Biopsie oocytů	20
2.12.2 Stádia zralosti oocytů	20
2.13 Hormonální stimulace generačních ryb	21
2.13.1 Druhy hormonálních přípravků	22
2.13.2 Doporučená množství hormonálních přípravků používaných při umělé reprodukci generačních ryb candáta obecného	24
2.13.3 Postup při injekční aplikaci přípravků.....	24
2.14 Umělý výtěr jiker a mlíčí, krátkodobé uchování pohlavních produktů a umělé osemenění jiker	25
2.14.1 Umělý výtěr jiker a mlíčí.....	25
2.14.2 Krátkodobé uchování jiker	25
2.14.3 Umělé osemeněné jiker	25
2.15 Eliminace lepivosti jiker	25
2.15.1 Druhy odlepkovacích roztoků	26
2.15.1.1 Enzymatické metody odlepkování jiker	26
2.15.1.2 Odlepkování jiker bez využití enzymů.....	27
2.16 Inkubace jiker.....	27
2.17 Líhnutí embryí.....	28
3. Materiál a metodika	29
3.1 Materiál	29
3.1.1 Místo pokusu	29
3.1.2 Generační ryby	29
3.1.3 Anestetický roztok.....	29

3.1.4	Dezinfekce generačních ryb	29
3.1.5	Hormonální přípravek	30
3.2	Metodika	30
3.2.1	Výběr generačních ryb	30
3.2.2	Hormonální stimulace jikernaček, rozdělení ryb do pokusu a provedení injikace	31
3.2.2.1	Experiment s různými dávkami HCG.....	31
3.2.2.2	Hormonální injikace generačních ryb candáta obecného pro poloprovozní masový výtěr	32
3.2.2.3	Samotné provedení hormonální injikace	32
3.2.3	Umístění do nádrží	32
3.2.4	Experiment testující možnost omezit výskyt samovolných výtěrů	33
3.2.5	Kontrola ovulace jikernaček.....	34
3.2.6	Umělý výtěr	34
3.2.6.1	Umělý výtěr mlíčáků	34
3.2.6.2	Umělý výtěr jikernaček.....	34
3.2.6.3	Umělý výtěr jikernaček se zašitou močopohlavní papilou	35
3.2.7	Odběr vzorků jiker pro měření jejich velikosti a množství.....	36
3.2.8	Osemenění jiker a aktivace spermií.....	36
3.2.9	Odlepkování jiker	36
3.2.9.1	Odlepkování jiker pouhým promýváním vodou.....	37
3.2.9.2	Odlepkování jiker směsí masku a sušeného mléka	37
3.2.9.3	Odlepkování jiker alkalázou	38
3.2.10	Odběr vzorků jiker pro možnost zjištění jejich oplozenosti a líhnivosti....	39
3.2.11	Inkubace jiker	39
3.2.12	Líhnutí a počítání embryí	40
3.2.13	Zjišťování velikosti vytřených jiker, počet jiker v jednom g a mm	40
3.2.14	Zjišťování oplozenosti a líhnivosti vytřených jiker.....	40
3.2.15	Statistické vyhodnocení.....	41
4.	Výsledky	42
4.1	Výsledky experimentu sledujícího vliv odlišných dávek hormonálního přípravku na různé reprodukční ukazatele.....	42
4.1.1	Vliv množství hormonálního přípravku na délku latence	42
4.1.2	Vliv množství hormonálního přípravku na úspěšnost výtěru a množství samovolných výtěrů	42
4.1.3	Vliv množství hormonálního přípravku na velikost vytřených jiker, počet jiker v jednom gramu a mililitru jiker	43
4.1.4	Vliv množství hormonálního přípravku na absolutní a relativní plodnost generačních ryb	43
4.1.5	Vliv množství hormonálního přípravku na líhnivost jiker	43
4.1.6	Porovnání výsledků získaných od všech skupin generačních ryb ošetřených různou dávkou hormonálního přípravku	44
4.2	Výsledky dosažené při poloprovozním masovém výtěru generačních ryb candáta obecného	44
4.2.1	Délka latence	44
4.2.2	Úspěšnost výtěru	44
4.2.3	Množství získaných jiker a rozměry jiker	45
4.2.4	Absolutní a relativní plodnost jikernaček při poloprovozním masovém výtěru.....	45
4.2.5	Oplozenost a líhnivost jiker a délka inkubace jiker	45

4.2.6 Množství embryí získané při poloprovozním masovém	45
4.3 Výsledky dosažené experimentem, který porovnával různé způsoby a druhy odlepkovacích roztoků	45
4.3.1 Technická náročnost jednotlivých způsobů odlepkování jiker	45
4.3.2 Vliv odlepkovacích roztoků na oplozenost jiker	46
4.3.3 Vliv odlepkovacích roztoků na líhnivost jiker	47
4.3.4 Vliv koncentrace a druhu odlepkovacího roztoku na délku inkubace jiker ..	48
4.3.5 Porovnání výsledků získaných použitím různých odlepkovacích roztoků ..	49
4.4 Výsledky získané při experimentu sledujícím jeden z možných způsobů zamezení samovolného výtěru generačních ryb.....	49
4.4.1 Kvalita jiker u ryb se zašitou močopohlavní papilou	49
4.4.2 Inkubace, oplozenost a líhnivost jiker získaných od jikernaček se zašitou močopohlavní papilou	49
4.5 Porovnání výsledků získaných při poloprovozním masovém výtěru generačních ryb a výtěrem generačních ryb se zašitou močopohlavní papilou	50
4.6 Mortalita generačních ryb v průběhu a po ukončení umělého výtěru.....	50
5. Diskuze	51
6. Závěr	55
7. Seznam literatury	56

1. Úvod

Candát obecný (*Sander lucioperca* L.) je v Evropě velmi ceněným druhem ryby, zejména díky jeho velmi chutnému masu (Dil, 2008). V posledních padesáti letech se ale drasticky snížily jeho úlovky ve volných vodách a to asi čtyřikrát (FAO, 2007). Tento druh je také velmi populární mezi sportovními rybáři (Bninska a Wolos, 2001). Jeho roční výlov se v České republice pohybuje v rozmezí 160 – 190 tun, z čehož přibližně 47 tun zaujímá výroba z produkčního rybářství. Zbývajících 120 – 150 tun je vyloveno sportovními rybáři ve volných vodách. Výroba z produkčního rybářství ani výlov z volných vod neprodělavá výrazné meziroční výkyvy a je dlouhodobě ustálený (Ženíšková a Gall, 2007). Poptávka po candátech se neustále zvyšuje. Jde jak o ryby z volných vod, tak o ryby chované v intenzivní akvakultuře. Candát je v současné době chován v několika evropských rybích farmách v recirkulačních systémech, pomocí komerčních krmiv (Philipsen, 2008). Chov candáta byl a je doménou zejména zemí střední Evropy (Německo, Rakousko, Česká republika) a Finska. Zde je do současnosti nejčastěji chován v rybniční akvakultuře (Steffens a kol., 1996).

V současné době je v celé Evropě produkováno nedostatečné množství kvalitního rychleného či letního plůdku candáta obecného (celková délka ryb kolem 40 – 80 mm), který se následně používá jako násadový materiál pro intenzivní chovy využívající recirkulační systémy, pro rybniční chovy a pro zarybňování sportovních revírů, především v ČR (Policar, 2010). Rostoucí poptávka po candátu obecném vede k používání co nejúčinnějších metod umělého výtěru tak, aby se zvýšila produkce jeho larev (Zakes a Zakes-Demska, 2009).

2. Literární rešerše

2.1 Hospodářský a sportovní význam v ČR

2.1.1 Hospodářský význam

Candát je v rybnících chován jako doplňkový druh, chov má převážně extenzivní charakter a jeho hlavní význam je zejména v potlačování drobných kaprovitých ryb, které by v rybnících potravně konkurovaly hlavním chovaným druhům ryb. V poslední době je úspěšně využíván k požívání invazních druhů ryb, zejména střevličky východní (*Pseudorasbora parva*) (Dvořák, 2009). Ve vodárenských nádržích představuje základní složku účelových rybích obsádek (Dubský a kol., 2003).

2.1.2 Sportovní význam

Vzhledem k vysoké kvalitě a konzumní hodnotě masa je candát obecný vyhledávaným objektem sportovních rybářů (Lusk a kol., 1992; Dubský a kol., 2003).

2.2 Systematické zařazení

Systematické zařazení candáta obecného je:

- Říše : *Animalia* – živičichové
- Kmen : *Chordata* – strunatci
- Podkmen : *Vertebrata* – obratlovci
- Třída : *Osteichties* – ryby
- Nadřád : *Teleostei* – kostnatí
- Řád : *Perciformes* – ostnopolutví

Do řádu ostnoploutvích ryb lze zařadit přibližně 6880 druhů, které náleží do 180 – 200 různých čeledí (Baruš a Oliva, 1995).

- Čeleď : *Percidae* – okounovití
- Podčeleď : *Luciopercinae* – candáti
- Rod : *Stizostedion* (*Sander*) – candát
- Druh : *Stizostedion lucioperca* (*Sander lucioperca*) – candát obecný

2.3 Rozšíření

Původní areál rozšíření candáta obecného byl v západní Evropě ohraničen povodím Labe a Dunaje. V severní Evropě tuto hranici tvořilo úmoří Baltského moře a jižní části Finska a Švédska. Na východě Evropy se candát obecný vyskytuje v povodí řeky Volhy. Lze se s ním také setkat v řekách tekoucích do Černého či Kaspického moře a Aralského jezera. V západní a jižní Evropě a také na Balkánském poloostrově se původně nevyskytoval (Luska a kol., 1992; Bruš a Oliva, 1995). Postupem času byl candát obecný intordukován do vod celé Evropy, včetně Velké Británie (Baruš a Oliva, 1995). V České republice je candát obecný původním druhem. Vyskytuje se ve většině stojatých i tekoucích vodách (Dubský a kol., 2003).

2.4 Popis a stavba těla

Candát obecný je naší největší rybou z čeledi okounovitých (Lusk a kol., 1992). Má protáhlé vřetenovité tělo, z boků mírně zploštělé. Hlava je úzká a klínovitá. Ústa jsou velká a široce rozeklaná. Drobné zuby lze nalézt na spodní i horní čelisti. Vpředu jsou velké, tzv. „psí zuby“. Oči jsou umístěny v přední části hlavy a jsou poměrně velké. Šupiny má candát středně velké, hřebenité, na povrchu drsné, pokrývající celé tělo včetně části hlavy a skřelových kostí (Dubský a kol., 2003).

Dvě hřbetní ploutve jsou rozděleny mezerou. Břišní ploutve jsou posunuty dopředu, do blízkosti prsních ploutví (Lusk a kol., 1992). Ocasní ploutev je jen mírně vykrojená (Dubský a kol., 2003).

Ploutevní vzorec je: D_1 XII-XV; D_2 I-III, 19-23; A I-III, 9-12; P 15; V I, 5 (Baruš a Oliva, 1995). Podle Volfa (1928) je v páteři 46 obratlů.

Karyotyp candáta obecného je $2n = 48$. Karyotyp je složen z 1 páru m, 15 párů sm, 5 párů st a 3 páry 6k chromozomů. $NF = 78$. Jeden pár sm chromozomů nese na kratším raménku achromatickou oblast. Jedinci získaní v Dunaji a Sázavě měli stejný karyotyp (Ráb, 1982; Ráb a kol., 1987).

Základní zbarvení těla je šedozelené nebo do modra, na bocích je přítomno 8 – 12 černohnědých pruhů přecházejících ve skvrny. Břicho je bílé nebo lehce nažloutlé (Lusk a kol., 1992).

2.5 Biologie

Candát obecný je poměrně náročný na kvalitu a čistotu vody. Vyhovují mu rozsáhlé vodní plochy s písčito-hlinitým dnem, kde žije v menších hejnech (Lusk a kol., 1992).

Je typickým dravcem a na dravý způsob života přechází po dosažení velikosti 30 – 50 mm (Lusk a kol., 1992). Podle Dubského a kol. (2003) piscivorie u candáta začíná od velikosti 40 – 60 mm. Své stanoviště si candáti vyhledávají v hlubší vodě (4 – 12 m), odkud vyjíždějí do mělčin na lov drobných rybek (Baruš a Oliva, 1995).

V údolní nádrži Lipno bylo pokusem se značkovánými candáty zjištěno, že je zde candát stanovištní rybou, která se pouze v období výtěru vydává na migraci do vhodných lokalit v nádrži. Na místech kde se rozmnožuje je na dně písek, štěrk a kořeny trav a keřů (Vostradovská, 1974).

U candáta se lze setkat i s kanibalismem, který ovšem není tak výrazný jako například u štiky obecné (*Esox lucius*) (Dubský a kol., 2003). Kanibalismus se u candáta projevuje především při nedostatku ryb o vhodné potravní velikosti. V nádržích, kde potravní ryby chybí a kde se hejno skládá z jedinců téměř shodné velikosti, se kanibalismus nemusí příliš neprojevit a v takovém případě využívají candáti bezobratlé organismy (Dvořák, 2009).

2.6 Růst a potrava

Rychlost růstu candáta je podmíněna zejména množstvím potravy a délkou vegetačního období. V prvním roce života tvoří jeho hlavní potravní složku zooplankton, plůdek ryb a drobní bezobratlí (Baruš a Oliva, 1995). V pozdějším období požívá drobné potravní ryby (Dubský a kol., 2003). Nejintenzivněji přijímá potravu při teplotě 15 – 22 °C (Dvořák, 2009). Příjem dostatečného množství potravy v letním období má zásadní vliv na pozdější tvorbu kvalitních spermií. Největší vliv na jejich tvorbu má obsah vytvořeného tuku v tkáních candátů (Teletchea a kol., 2009).

V normálních podmínkách rybníčního chovu dorůstá candát obecný v 1. roce TL= 100 – 200 mm, v 2. roce TL= 150 – 300 mm, ve 3. roce TL= 250 – 300 mm, ve 4. roce TL= 300 – 450 mm, v 5. roce TL= 350 – 520 mm, v 6. TL= roce 400 – 550 mm a v 7. roce TL= 450 – 650 mm (Lusk a kol., 1992).

V přírodních podmínkách je častým problémem v chovu candáta obecného nedostatek vhodné přirozené potravy, což má neblahý vliv na rychlost jeho růstu. Intenzivní chovy ovšem umožňují vytvořit pro candáta ideální podmínky v podobě kvalitní vody a vhodně sestavené umělé diety. Tyto podmínky dovolují candátovi rychlý růst. V jednom z pokusů, který byl zaměřen na rychlost růstu candátů v intenzivních podmínkách chovu, bylo dosaženo velikosti candáta 200 mm ve stáří 4,5 měsíce (Dvořák, 2009).

2.7 Pohlavní dimorfismus

Není v období mezi rozmnožováním patrný. Mlíčáci mají o něco delší párové ploutve než jikernačky (Vladykov, 1931; Oliva, 1953). U jikernaček je v období tření v důsledku většího objemu gonád břicho zvětšené a vypouklejší než u mlíčáků. Ve stejném období jsou mlíčáci tmavě zbarveni, zejména břicho bývá šedé až černé nebo modré až mourovaté, kdežto u samic je bílé (Dyk, 1956). Baruš a Oliva (1995) udávají, že tyto znaky nemusejí být zcela vždy spolehlivé.

2.8 Rozmnožování

Candát obecný v našich vodách pohlavně dospívá ve věku 3 – 5 let, přičemž mlíčáci dospívají z pravidla o rok dříve než jikernačky (Dubský a kol., 2003). V údolní nádrži Lipno dosahuje pohlavní dospělosti ve věku 4 let při hmotnosti 0,5 – 0,7 kg (Krupauer a Pekař, 1967). Podle Volfa (1928) dospívá candát ve třech letech při TL 350 mm. Také Dyk (1956) udává, že v příznivých životních podmínkách umožňujících rychlý růst dospívá candát již ve 3. roce života. Ojedinele byl u samců pozorován nástup pohlavní dospělosti již v 2. roce života (Baruš a Oliva, 1995).

Výtěr candáta obecného v našich podmínkách probíhá od konce dubna až do června při teplotě vody od 10 do 16°C (Krupauer a Pekař, 1967; Bastl, 1969; Dubský a kol., 2003). Candáta lze společně s okounem říčním (*Perca fluviatilis*) a s řadou dalších ryb zařadit do skupiny ryb vytírajících se po studené periodě, kdy postupně dochází k oteplení vody a prodlužování fotoperiody. Období tření candáta obecného probíhá obvykle několik dní. Ve větších nádržích (např. Orava) se může protáhnout až na jeden měsíc (Bastl, 1969). Jako trdlišť vyhledává nezabahněná místa s písčitém, šterkovitým či hlinitým dnem, případně s vodními porosty v hloubce vody obvykle 0,5 – 2 m. Bastl (1969) uvádí, že v Oravské nádrži se vytírá i ve větších hloubkách (1,5 – 7,4 m). Z hlediska ekologických nároků je candát obecný druh indiferentní, ochraňující po vytření jikry. Mlíčák před třením buduje hnízdo tím, že očistí písčité nebo šterkovité dno či kořínky rostlin od nánosů. Na tomto místě setrvává až do výtěru. Vlastní výtěr probíhá v párech (Baruš a Oliva, 1995). Podle Dyka (1956) převažují na trdlišťích samci nad samicemi. Samec vytřené jikry hlídá a zbavuje je nánosů a kalu a to až do jejich vylíhnutí. Bastl (1970) uvádí, že u candátů vytřených v Oravské nádrži se vyskytují pouze stejně velké jikry. Z toho vyplývá, že se candát obecný vytírá pouze jednorázově. Velikost oplozených jiker zde dosahovala v průměru 0,84 – 1,08 mm. Velikost jiker po nabobtnání je 1 – 1,5 mm (Dubský a kol., 2003).

2.9 Vhodné generační ryb

K chovným účelům se používají generační ryby o hmotnosti 1 – 2 kg. Jikernačky produkují 50 – 300 tisíc jiker (relativní plodnost je 110 – 120 tisíc kusů jiker na kilogram hmotnosti jikernačky) (Čítek a kol., 1998). Inkubační doba je dlouhá 120 – 150 °D (Dubský a kol., 2003). Candátí mlíčí obsahuje v průměru 19,8 milionu spermií v jednom ml spermatu. Pohyblivost spermií se obvykle pohybuje v rozmezí od 50 do 90 % (Zakes a Demska-Zakes, 2005). Pohyblivost spermií je ovlivňována například koncentrací iontů a hladinou osmoalitu (Alavi a kol., 2007). Jedním z faktorů, který negativně ovlivňuje kvalitu spermatu, je moč. Ta se může se spermatem dostat do kontaktu v průběhu jeho odběru a může ho značně znehodnotit a ovlivnit tak výrazně jeho kvalitu (Perchec a kol., 1995; Linhart a kol., 2003).

2.10 Možnosti výtěru candáta obecného

2.10.1 Přirozený výtěr

Přirozený výtěr bez hormonální stimulace je sice nejjednodušší, ale také nejméně spolehlivou metodou (Musil a Kouřil, 2006). Generační ryby se vysazují do vhodných výtěžníků nebo hlavních rybníků. V rybnících do výměry 20 ha se nasazuje na každé 2 ha jeden pár generačních candátů, do větších pak jeden pár na 3 ha (Čítek a kol., 1998). V těchto rybnících se doporučuje spíše řidší obsádka (K_1 nebo K_2) nebo bez obsádky jiných druhů. Generační ryby se vysazují na jaře a před výtěrem nejsou hormonálně stimulovány. Uměle připravená výtěrová hnízda se do vody zpravidla nedávají (Kouřil a Hamáčková, 2005). Vykulení jedinci jsou drženi ve výtěrovém rybníku až do výlovu, který probíhá v létě (v průměru po pěti-šesti týdnech od výtěru) (Korycki, 1976), nebo jsou vyloveni ve velikosti $TL = 77 - 200$ mm, v závislosti na počáteční hustotě vysazených ryb a velikosti použitého rybníka. Tento výlov probíhá na podzim (Raaf, 1991; Steffens a kol., 1996). Výhodné je, pokud je to možné, provádět odlov plůdku candáta pod hrází (odděleně od generačních ryb a obsádky kapra, případně dalších druhů ryb, které se vyloví klasickým způsobem v lovišti (Kouřil a Hamáčková, 2005). Za vhodných podmínek (při nepřítomnosti jiných dravých ryb, při dostatku přirozené potravy v průběhu celého odchovu) je možné od jedné jikernačky odchovat až 5000 juvenilních ryb candáta obecného (Čítek a kol., 1998).

2.10.2 Poloumělý výtěr

2.10.2.1 Poloumělý výtěr tzv. Šustova metoda

Šusta začal s cíleným chovem candáta v rybnících na třeboňsku v roce 1881. S výsledky jeho práce je spjat poloumělý výtěr, který je v naší rybářské praxi uplatňován až do současnosti. Při tomto způsobu výtěru se v sádce nebo malém rybníčku připraví z podložek umělé výtěrové hnízdo o ploše 1x1 m (0,7x0,7m), které je upevněno na dně kovovou mřížkou nebo dřevěnými kolíky. Těchto hnízd je připraveno vždy nejméně tolik, kolik je v nádrži vysazeno párů generačních ryb. Počítá se s jedním hnízdem na 10 m² plochy dna. Pro přípravu výtěrového hnízda se používá kořenových drnů trav, zejména ostřic, také však kořenů keřů (vrby, olše), případně i chvojí Jehličnatých stromů. V poslední době se pro hnízda používají různé umělé hmoty, především umělých trávníků. Do sádky se napouští voda do výše 0,6 – 1 m a v párech se vypouštějí generační ryby. Vytřené jikry se většinou ve stádiu očních bodů expedují a vysazují v ochranných koších či kolébkách do určených nádrží či rybníků k odchovu embryí a juvenilních ryb (Baruš a Oliva, 1995).

2.10.2.2 Poloumělý výtěr s použitím nebo bez použití hormonální stimulace

Poloumělý výtěr na hnízda s využitím nebo bez použití hormonální stimulace ovulace lze provádět v celé řadě různých modifikací (Kouřil a Hamáčková, 2005). Ty spočívají jednak v materiálu, z něhož jsou zhotovena výtěrová hnízda, jednak v umístění výtěrových podložek. Ty mohou být umístěny například v manipulačních rybnících s tvrdým dnem, zemních nebo betonových sádkách s tvrdým dnem, v údolních nádržích, případně v betonových nebo plastových nádržích umístěných v odchovných halách či venkovních podmínkách. Poloumělý výtěr v nádržích umístěných v hale se obvykle současně kombinuje s teplotní manipulací, spočívající v zavedení přítoku vody o vyšší teplotě vody, při které je nádrž s generačními rybami candáta obecného napájena přítokem vody o 2 – 3 °C vyšší než je teplota vody, ze které byly generační ryby vyloveny. Tato manipulace umožňuje synchronizaci termínu ovulace a vlastního výtěru. Dříve se tento způsob výtěru prováděl bez použití hormonální stimulace, v současnosti je často praktikována stimulace a synchronizace výtěru pomocí injekčního podání exogenních hormonálních přípravků jikernačkám. U mlíčáků je stimulace pomocí exogenních hormonů zbytečná, vytírají se poměrně spolehlivě bez jejího použití (Musil a Kouřil, 2006).

Candáta lze stimulovat například pomocí extraktu kapří hypofýzy (CPE), humánního

choriogonadotropinu (HCG) a luteinizačního hormonu (LH-RH), nebo pomocí superaktivních analogů (LH-RHA) (Kucharczyk a kol., 2001; Demska-Zakes a Zakes, 2002; Ronyai, 2007; Sosiński, 2007).

Dalším možným místem provedení poloumělého výtěru candáta obecného jsou klece. Tato metoda je podle svého původu nazývána švédskou metodou. U nás se používá jen výjimečně, ale je úspěšně praktikována např. ve Finsku, Polsku, Německu nebo Rusku (Čítek a kol., 1998; Kouřil a Musil, 2006). V Rusku mají tyto klece rozměry 6x2x1,4 m a jsou rozděleny do třech částí, každá pro jeden pár generačních ryb. V Německu se pro výtěr candáta obecného používají menší klece (1,2x0,6x0,8 m), pro jednu jikernačku a jednoho až dva mlíčáky. Klece jsou zakotveny asi 30 cm nade dnem a ponořeny půl metru pod hladinou. Jejich kostra je dřevěná nebo kovová a je potažena hustou síťovinou. Na dně klece je připevněna výtěrová podložka, která se po výtěru vyndá a převezde do inkubátorů nebo do místa vysazení embryí (Čítek a kol., 1998).

2.10.3 Umělý výtěr s použitím hormonální stimulace

Candát obecný patří mezi hospodářsky významný druh, u kterého byla tato metoda v posledních dvou desetiletích ověřena (Musil a Kouřil, 2006). Podle Kucharczyka a kol. (2007) je umělý výtěr nejspolehlivější metodou pro získání vysokého počtu embryí candáta obecného. Podmínkou jejího uplatnění je použití hormonální stimulace jikernaček (Musil a Kouřil, 2006; Ronyai, 2007), možnost odděleného umístění ryb podle pohlaví v menších skupinách (po cca 5 – 10 kusech) v dobře slovitelných a napustitelných nádržích (z pravidla umístěných v hale). Dalším předpokladem úspěšného umělého výtěru je možnost využívat regulovanou teplotu vody, která se pohybuje na úrovni 13 – 15 °C. Nezbytnou součástí technologie je včasné vytlačení jiker z těla jikernačky, umělé osemenění pomocí předem odebraných spermií a odlepkování jiker před nasazením do inkubačních lahví (Musil a Kouřil, 2006).

Úspěšná a efektivní hormonální indukce ovulace byla u candáta obecného úspěšně odzkoušena s několika různými přípravky (Kouřil a Hamáčková, 2005). Nejprve byla ověřena účinnost široce rozšířeného extraktu kapří hypofýzy s účinnou látkou gonadotropinem (GtH). Tento způsob je používán především v Maďarsku, České republice a Německu. V Polsku je s úspěchem používán humánní choriogonadotropin (HCG) (Zakes a Demska-Zakes, 1999). Dále je využíváno aplikace funkčních analogů spouštěcích hormonů gonadotropinu, především účinné látky Lecirelin, která je součástí

přípravku Supegestran. Byly také realizovány pokusy s kombinovaným preparátem Ovipel, obsahující funkční analog GnRH a dopaminergní inhibitor (Kouřil a Hamáčková, 2005).

2.10.4 Mimosezónní výtěr

Výsledky mnoha pokusů dokazují, že candáta lze úspěšně vytřít až o 3 měsíce před přirozeným obdobím výtěru. Tento postup umožňuje dodávat na trh více plůdku, anebo produkovat mnohem větší ročky (Rónyai, 2007).

Podle Müller-Belecke a Zienerta (2008) lze minosezónního výtěru docílit tímto postupem. Ryby chované celoročně v recirkulačním systému (teplota vody 22 – 24 °C) se umístí na 43 – 60 dní do nádrže s vodou o teplotě 10 °C. Poté se generační ryby přesunou do nádrže, kde jim je během 44 – 68 dnů postupně oteplována voda na 15 °C. Fotoperioda je v tomto období 16 hodin světlo a 8 hodin tma. Před umělým výtěrem jsou generační ryby stimulovány humáním choriogonadotropinem (HCG) a úspěšnost výtěru je až 91 %.

2.11 Anestezie a anestetické přípravky

2.11.1 Anestezie

Anestezie je fyziologický stav organismu, který je u ryb charakterizován sníženou vnímavostí k vnějším podnětům, spojený s výrazným poklesem fyziologických funkcí organismu (Pokorný a kol., 2003). Anestetika jsou používána především ke krátkodobému znehybnění generačních ryb při přípravě na umělý výtěr a v jeho průběhu. V menší míře je anestezie využívána při značkování ryb, biometrických stanoveních nebo veterinárních zákrocích (Král a Svobodová, 1990).

V průběhu anestezie rozeznáváme čtyři základní fáze:

- I. fáze – zvýšená aktivita, neklid, zrychlené plavání, nepravidelné dýchací pohyby.
 - II. fáze – snížená aktivita, náznaky ztrát rovnováhy, zpomalování dýchacích pohybů.
 - III. fáze – boční poloha, ztráta pohyblivosti, pomalé dýchací pohyby, bez ochranných reflexů (kromě akustického).
 - IV. fáze – dýchací pohyby zanikají, až se zastavují, bez obranných reflexů (včetně akustického), nelze vizuálně odlišit ryby anesteziované od uhynulých.
- (Král a Svobodová, 1990; Pokorný a kol., 2003).



Obr. č.1. Různá stádia reakce na anestetický roztok

Při zastavení dýchacích pohybů ve čtvrté fázi je třeba ponechání ryby v anestezii zkrátit nebo ukončit. Zákrok, pro který bylo třeba anestezii použít, je třeba provést bez zbytečného prodlení a rybu vrátit na zotavení do čisté a dostatečně prokysličené vody. Probouzení a návrat do přirozeného stavu probíhá v opačném pořadí a rovněž doba rekonvalescence je přibližně stejně dlouhá (Pokorný a kol., 2003).

2.11.2 Anestetické přípravky

- **Qualdine** – kapalina hnědé barvy s rychlým účinkem. Používá se v koncentracích $0,01 - 0,02 \text{ ml.l}^{-1}$. Anestezie je dosaženo za 1 – 2 minuty a rekonvalescence trvá asi 2 – 3 minuty (Pokorný a kol., 2003).
- **2-phenoxyethanol** – bezbarvá kapalina s rychlým účinkem v koncentraci $0,025 - 0,5 \text{ ml.l}^{-1}$. Potřebného účinku je dosaženo za 2 – 3 minuty, k návratu do původního stavu v čerstvé vodě dojde za 3 minuty (Pokorný a kol., 2003). Vyšší použité koncentrace mohou vést ke zvýšené mortalitě generačních ryb (Kouřil a Hamáková, 2005).
- **Menocain** – drobnozrnný granulát, používaný k anestezii v koncentracích

0,067 g.l⁻¹ nebo 0,1 g.l⁻¹. Optimální expoziční doba je 10 minut a doba zotavení trvá zhruba 3 minuty (Kráal a Svobodová, 1990). Není povolen v EU (Policar, 2011, osobní sdělení).

- **Hřebíčkový olej** – hnědá kapalina, charakteristické vůně, používaná v humánní medicíně jako analgetikum. Pro použití v manipulaci s rybami je velmi vhodné, protože má rychlý účinek a pro ryby je ve srovnání s ostatními anestetiky poměrně bezpečný (Pokorný a kol., 2003). Účinné množství je 0,03 ml.l⁻¹ (Kouřil a Hamáčková, 2005).

Velíšek a kol. (2009) uvádí možnost využití dalších přípravků, jako například MS 222, benzokain nebo methomidate.

2.12 Biopsie oocytů a stádia jejich zralosti

2.12.1 Biopsie oocytů

Zavedení kontroly zralosti oocytů u jikernaček candáta je dalším způsobem, jak je možné zvýšit úspěšnost umělé reprodukce candáta obecného. Jedná se o relativně neinvazivní metodu, při které se používá katetr, kterým se přes pohlavní otvor odebere vzorek oocytů (Rothbard a Yaron, 1995). Tato metoda byla vyvinuta původně pro kapra obecného (*Cyprinus carpio*), ale může být úspěšně použita k určení fáze zralosti oocytů i jiných druhů ryb, včetně candáta obecného (Steffens a kol., 1996; Demska-Zakes a Zakes 2002; Zakes a Szczepkowski 2004; Müller-Belecke a Zienert, 2008). Vzorek odebraných oocytů je umístěn do zkumavky se Sérovým roztokem (Brzuska a Bieniarz, 1977). Složení Sérova roztoku je 6 dílů ethanolu, 3 díly formaldehydu a 1 díl kyseliny octové. U candáta je doba expozice v roztoku 20 – 170 sekund v závislosti na zralosti pohlavních buněk (Zakes a Demska-Zakes, 2001). Poté se zjišťuje zralost oocytů pod mikroskopem. Hlavními hodnotícími kritérii jsou umístění jádra a míra rozptýlení tukových kapének. V průběhu odebírání vzorku oocytů může být jikernačka v narkóze (Kazun a Siwicki, 2001). Stanovení zralosti oocytů umožňuje stanovit poměrně přesný odhad, jak jsou generační ryby připraveny k výtěru (Demska-Zakes a Zakes, 2002).

2.12.2 Stádia zralosti oocytů

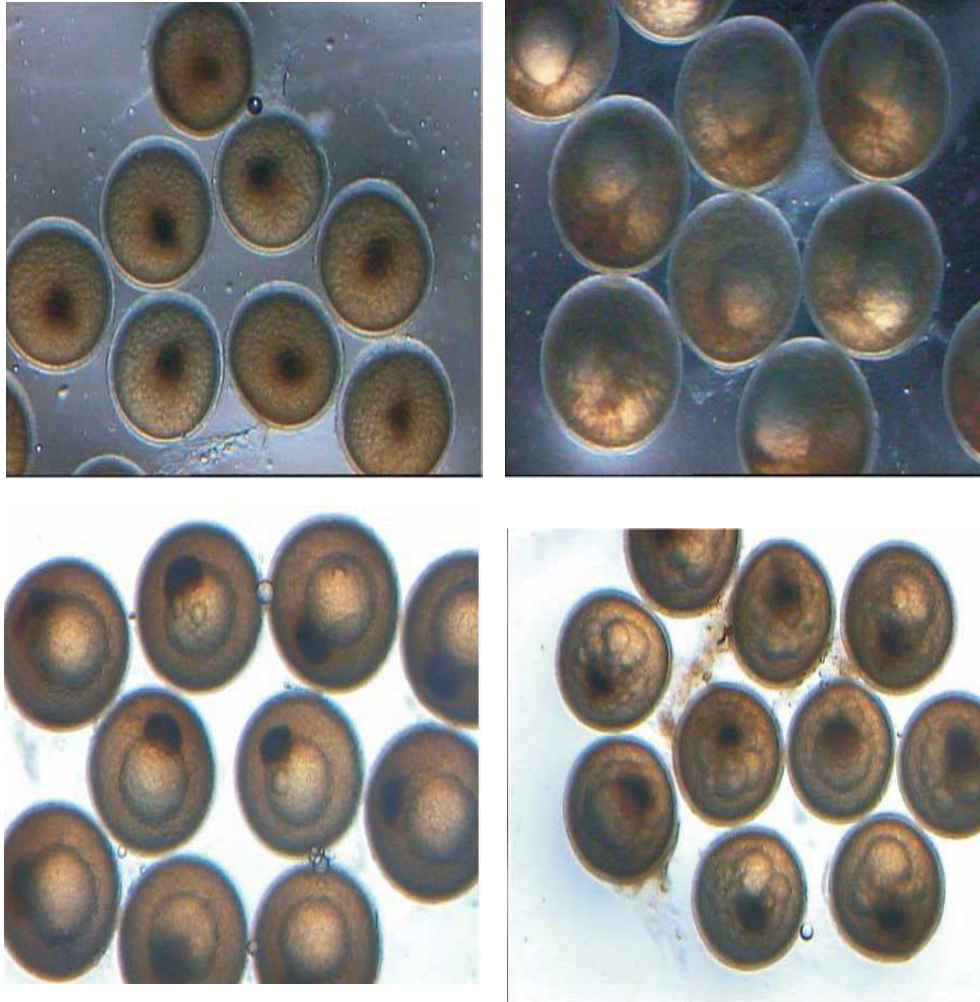
Jsou rozlišovány čtyři stádia zralosti oocytů candáta obecného:

I. fáze – jádro je ve středu buňky, lipidové kapénky jsou rozptýlené

II. fáze – jádro migruje k okraji, lipidy se vyskytují v několika větších kapénkách

III. fáze – jádro je posunuto na periferii, lipidy jsou seskupeny do jednoho útvaru

IV. fáze – rozpad jádra (Zakes a Demska-Zakes, 2009)



Obr. č. 2. Stádia zralosti oocytů (Zakes a Demska-Zakes, 2009).

2.13 Hormonální stimulace generačních ryb

Hormonálně indukovaná ovulace a spermiace je založena na znalosti neurohumorálního řízení procesu reprodukce. Mezi vnější faktory (vlivy prostředí) patří zejména teplota (nejen aktuální stav, ale i tendence její změny), světelný režim (především změny délky dne a noci), hydrochemické vlastnosti vodního prostředí (proudění vody, výška vodního sloupce, obsah rozpuštěného kyslíku, koncentrace solí a dalších specificky účinných látek, pH atd.), přítomnost ryb druhého pohlaví či výtěrového hejna, přítomnost výtěrového substrátu aj. Vnitřní faktory představují zejména stav reprodukčních orgánů, výživný a zdravotní stav ryb. Vnější a vnitřní

faktory jsou analyzovány centrální nervovou soustavou a pomocí žlázy s vnitřní sekrecí hypotalamu (Kouřil a kol., 1996). Mnoho autorů uvádí, že hormonálně nestimulované jikernačky obvykle při umělém výtěru neovulují (Zakes a Szczepkowski, 2004; Sosiński, 2007).

2.13.1 Druhy hormonálních přípravků

- **Hormonální indukce ovulace pomocí hypofýzy**

Kapří hypofýza je jedním z nejvíce používaných hormonálních přípravků v akvakultuře (Zohar a Mylonas, 2001). Výhodou je, že naše nejběžněji chovaná ryba, kapr obecný, je relativně univerzálním donorem gonadotropinu. To znamená, že kapří hypofýzu lze použít k vyvolání ovulace a spermiace u řady druhů ryb (Kouřil a kol., 1996).

- **Hormonální indukce ovulace pomocí purifikované kapří hypofýzy**

Jedná se o postup, při kterém je rybám podáván téměř čistý hormonální přípravek s výrazně sníženým obsahem doprovodných balastních látek, které mohou být, spolu s nehygienickým způsobem injekčního podání hypofýzy, příčinou zánětů a následných úmrtí generačních ryb (Kouřil a kol., 1996).

- **Přípravek Supergestran s účinnou látkou Lecirelin**

V souvislosti je všeobecnou snahou nahradit kapří hypofýzu syntetickými hormony. Hlavním cílem je zejména zpřesnit dávkování a nepoužívat živočišné produkty k ošetření zvířat. Opakovaně byla úspěšně ověřena metoda jednorázové injekční aplikace funkčních analogů spouštěcích hormonů gonadotropinu, především účinné látky Lecirelin $[(D-Tle)^6 \text{ ProNHEt}^9 \text{ mGnRH}]$. Tato látka je součástí přípravku Supergestran, který je distribuován prostřednictvím lékáren jako registrovaný preparát pro synchronizaci říje u některých teplokrevných hospodářských zvířat (Musil a Kouřil, 2006).

- **Přípravek Chorulon obsahující humánní choriogonadotropin (HCG)**

Tento přípravek je s úspěchem používán při reprodukci ryb (Zakes a Demska-Zakes, 1999 a 2009). Musil a Kouřil (2006) uvádí, že HCG může úspěšně indukovat ovulaci i u méně zralých jikernaček. Je nutné zdůraznit, že v České republice není tento přípravek povolen k běžnému využívání v chovu zvířat. O výjimku je nutné

požádat státní veterinární správu (Policar, 2012, osobní sdělení).

- **Dagin**

Dagin je komerčně dostupný analog GnRH vyvinutý v Izraeli. Obsahuje vysoce účinný analog lososího GnRH, dopaminergní inhibitor Metoclopromid a jako konzervant inertní cukr manitol. Předností tohoto inhibitoru je jeho vysoká rozpustnost ve vodě (Křišťan, 2009).

- **Ovopel**

Jedná se o maďarský přípravek obsahující funkční analog GnRH a dopaminergní inhibitor (Musil a Kouřil, 2006). Ovopel je dodáván v peletách o hmotnosti přibližně 25 mg (Horváth a kol., 1997). Tyto pelety obsahují 18 – 20 µg D-Ala⁶, Pro⁹NEt-mGnRH a 8 – 10 mg dopaminergního inhibitoru, metoclopramid (Kaminski a kol., 2004).

- **Čistý analog GnRH**

Základní savčí spouštěcí hormon gonadotropinu (označovaný zkratkou GnRH_a) je dekaeptid o chemické struktuře : pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-GlyNH₂. K hormonální indukci ovulace a spermiace lze mimo jiné s výhodou používat některé synteticky vyrobené analogy. Jako jeden z nejuniverzálnějších a nejdostupnějších přípravků se dlouhodobě osvědčil analog savčího GnRH označovaný jako : [D-Ala⁶] GnRHProNH₂Et. Analog GnRH je dodáván obvykle ve formě bílého až žlutavého prášku v suchém stavu v ampulkách. Chemická syntéza GnRH eliminuje riziko přenosu infekčních onemocnění a také umožňuje aplikovat velmi přesnou dávku GnRH. Dalším důležitým faktorem je vysoký stupeň podobnosti GnRH peptidů mezi různými druhy, což umožňuje použít jeden přípravek pro více druhů ryb (Podhorec a Kouřil, 2009). Přirozené peptidy GnRH byly nahrazeny umělými, protože pro použití přírodních peptidů je charakteristická nutnost aplikace vysokých dávek GnRH a relativně nízká míra úspěšnosti ovulace (Kouřil a Barth, 1981).

2.13.2 Doporučená množství hormonálních přípravků používaných při umělé reprodukci generačních ryb candáta obecného

Účinná dávka Supergestranu je 20 – 50 µg GnRH na kilogram hmotnosti jikernačky. Nižší a vyšší dávky se ukázaly jako nedostatečně účinné (Kouřil a Hamáčková, 2005). Vhodná dávka hypofýzy podávaná injekčně generačním rybám candáta obecného se pohybuje v rozmezí 2 – 6 mg na kilogram hmotnosti jikernačky (Kouřil a kol., 1996; Musil a Kouřil, 2006). Aplikuje se jednorázová injekční dávka, protože podání hypofýzy ve dvou dílčích dávkách nezvyšuje účinnost hormonálního ošetření Musil a Kouřil, 2006.

Humánní choriogonadotropin je jikernačkám podáván v rozdílných dávkách, v závislosti na autorovi. Salminen a kol., (1992) uvádí jako účinnou dávku 400 – 600 IU na kilogram jikernačky. Podobnou dávku, tedy 400 IU na kilogram uvádí např., Zakes a Demska-Zakes (1999). Tento přípravek je možné jikernačkám podat také ve dvou dávkách. První dávka 200 IU HCG na kilogram tělesné hmotnosti a druhá dávka po 24 h, 300 – 400 IU HCG na kilogram tělesné hmotnosti (Zakes a Demska-Zakes, 2001; Zakes a kol., 2001).

U přípravku Ovopel jsou udávány jako účinné dávky 1,2 – 2 pelety na kilogram hmotnosti generační ryby (Zakes a Demska-Zakes, 2005; Sosiński, 2007).

U čistého analogu GnRH doporučují Schlumberger a Proteau (1996) použít dávku 100 µg GnRHa na kilogram hmotnosti jikernačky.

2.13.3 Postup při injekční aplikaci přípravků

Na základě zjištěné hmotnosti generačních ryb se vypočítá přesná potřebná dávka přípravku. Po naředění ve fyziologickém roztoku se hormonální přípravek aplikuje generačním rybám (Kouřil a kol., 1996). Injikaci roztoků je možno provádět dvěma způsoby. Buď do hřbetní svaloviny nebo do osrdečníku (vpichem do jamky v bázi prsní ploutve). V případě vpichu do svaloviny se provádí masáž okolí místa vpichu při současném přitisknutí otvoru po vpichu prstem za účelem zabránění výtoku injikovaného roztoku a dosažení jeho vstřebání. Při injikaci do osrdečníku se masáž ani přitisknutí místa vpichu neprovádí (Kouřil a kol., 1986). Před hormonální injikací generačních ryb je vhodné je umístit do anestetického roztoku (Kouřil a Hamáčková, 2005).

2.14 Umělý výtěr jiker a mlíčí, krátkodobé uchování pohlavních produktů a umělé osemenění jiker

2.14.1 Umělý výtěr jiker a mlíčí

Při umělém výtěru se musí dodržet několik důležitých zásad :

- 1) před výtěrem se musí otřít celá ryba nebo břišní partie ryby, aby se voda z povrchu těla nedostala do nádoby s pohlavními produkty,
- 2) ryba se musí držet ve vlhké utěrce a s citem,
- 3) ryby se vytírají vždy do suché a čisté misky,
- 4) generační ryby se drží nízko nad miskou, protože jikry se pádem z velké výšky mohou poškodit (Pokorný a kol., 2003).

Mlíčí je vhodné při výtěru odebírat do injekčních stříkaček (Steffens a kol., 1996; Zakes a Demska-Zakes, 2005).

2.14.2 Krátkodobé uchování jiker

Uchování vytřených jiker v ovariální plazmě je nejvhodnějším způsobem pro jejich krátkodobé uchování. Jikry by měly být ve vlhkém aerobním prostředí v dostatečně velké misce přikryté vlhkým hadrem. K uchovávání jsou nevhodné jikry znečištěné močí, výkaly nebo krví. Důležitou podmínkou je zabránit styku jiker s vodou při výtěru (Pokorný a kol., 2003).

2.14.3 Umělé osemeněné jiker

Velmi vhodná je tzv. německá (švýcarská) metoda, při které se jikry vytírají do čisté a suché misky i s ovariální plazmou. Na uměle vytřené jikry umístěné v misce se přidává mlíčí. Potom se pohlavní produkty promíchají a přilije se na ně voda nebo aktivační roztok. Ovariální plazma u jiker s optimální zralostí prodlužuje pohyblivost spermií. Mezi používané aktivační roztoky patří Dilluer 532, Ringerův a Hamorův roztok (Pokorný a kol., 2003).

2.15 Eliminace lepivosti jiker

V případě, že není eliminována lepivost uměle vytřených a osemeněných jiker, dojde k jejich vzájemnému slepení. Vytvořený shluk zabraňuje dokonalému omývání jednotlivých inkubovaných jiker vodou (není zabezpečen přísun životně nezbytného kyslíku), což vede k tomu, že vyvíjející se zárodek v jikrách brzy uhynie. Následně může dojít k zaplísnění inkubovaných jiker (Čítek a kol., 1998). Současné metody

odlepkování lze rozdělit podle způsobu inaktivace lepkivé vrstvy jiker na fyzikální, chemické a enzymatické (Pokorný a kol., 2003).

2.15.1 Druhy odlepkovacích roztoků

2.15.1.1 Enzymatické metody odlepkování jiker

- **Odlepkování jiker alkalázou**

Pro odlepkování jiker lína se doporučuje smíchání 5 – 7,5 ml enzymu alkalázy s 995 – 992,5 ml vody s rozpuštěným NaCl (na 1000 ml destilované vody 1 g NaCl) (Linhart a kol., 2000). V případě sumce je doporučována koncentrace 20 ml enzymu alkalázy a 980 ml vody z líhně (Linhart a kol., 2001).

Samotné odlepkování začíná u lína 3 minuty a u sumce 5 minut od aktivace gamet, kdy se na 100 ml jiker přidá 100 ml roztoku enzymu, který se nalije do misky s jikrami, z nichž byla předem slita voda. Odlepkování se provádí opatrným mícháním jiker s enzymem po dobu 2 minut. Těsně před ukončením odlepkování se enzym slije a přesně v druhé minutě od začátku odlepkování se jikry 3x za sebou propláchnou čistou vodou z líhně. V případě, že inkubační lahve nejsou napojeny na recirkulační okruh, se jikry přímo nalijí do alespoň 3x většího objemu vody v inkubační lahvi a velkým průtokem vody v láhvi se enzym odstraní (Linhart a kol., 2000; Linhart a kol., 2001).

- **Odlepkování jiker hyaluronidázou**

Základní roztok se získá dvouhodinovým vyloužením rozemletých čerstvých varlat býka nebo kance v dvojnásobném objemu fyziologického roztoku. Získaný extrakt se pečlivě přefiltruje a je možné ho uchovat po dobu 1 – 3 dnů při teplotě 3 °C. Pokud je zmražen, může být uchován až po dobu 3 týdnů. Před vlastním použitím se roztok hyaluronidázy zředí čistou rybníční vodou v poměru 1:5 nebo 1:10. Oplozené jikry se zalijí tímto zředěným roztokem v množství odpovídajícímu 1/3 objemu jiker. Po důkladném promíchání se nechá obsah nádoby v klidu po dobu 5 minut. Potom se přilije asi trojnásobek odlepkovacího roztoku než činný roztok jiker a pomalu se promíchává asi 30 – 40 minut (Čítek a kol., 1998).

- **Odlepkování jiker proteázou**

Jikry candáta mohou být také zbaveny lepivostí vodním roztokem proteázy.

Doporučená koncentrace je 0,5 % (5 ml proteázy na 1 l vody). Délka odlepkování je 2 minuty (Zakes a kol., 2006).

2.15.1.2 Odlepkování jiker bez využití enzymů

Podle Musila a Kouřila (2006) je při umělém výtěru candáta vhodnou metodou odlepkování jiker použití suspenze jílu nebo talku. K suspenzi talku nebo jílu lze také přidat mléko (obsah tuku 3,5 %). Délka odlepkování je 50 až 60 minut.

Lepivost může být z jiker odstraněna také směsí mastku a roztok chloridu sodného (100 g mastku, 25 g soli a 10 litrů vody) po dobu 45 až 60 minut (Schlumpberger a Schmidt, 1980).

Odstranění lepivosti taninem je mnohem rychlejší než předchozí způsob a může být provedeno roztokem o koncentraci 0,5 – 1 g taninu na 1 litr vody. Odlepkování trvá 5 minut (Demska-Zakes a kol., 2005).

U druhů ryb s malou lepivostí jiker jako je parma obecná (*Barbus barbus*), je možné zbavit jikry lepivosti jejich několikanásobným propláchnutím vodou (Pokorný a kol., 2003).

2.16 Inkubace jiker

Jikry candáta obecného se inkubují ve standardních Zugských lahvích (Musil a Kouřil, 2006) při doporučené teplotě vody 16 – 17 °C (Steffens a kol., 1996). Kokurewicz (1969) píše, že vývoj probíhá nejlépe, když jsou jikry inkubovány při teplotě vody 12 – 16 °C. Čítek a kol., (1998) uvádí, že pro optimální inkubaci jiker je nutné zabezpečit ustálenou teplotu 15 °C a 6 – 7 mg O₂.l⁻¹. V Maďarsku je také praktikována inkubace v mlžných komorách, s dolíhnutím a kulením plůdku v akváriích nebo žlabech. Do Zugských lahví o objemu 7 l se dává 0,5 – 5 l jiker (Zakes a Demska-Zakes, 2009). Doporučený průtok vody je 0,5 l za minutu na začátku inkubace a 4 – 5 litrů za minutu v pozdějších obdobích (Steffens a kol., 1996). Během inkubace mohou být prováděny preventivní protiplísňové formaldehydové koupele (100 ppm formaldehydu po dobu 5 minut) (Rónyai, 2007).

Lappalainen a kol., (2003) nabízí vzorec, podle kterého lze vypočítat inkubační dobu jiker (od oplodnění do vylíhnutí embryí):

$$DD = 1255 T^{-1.07}, \text{ nebo } I = 30124 T^{-2.07}$$

kde: DD nebo I je inkubační doba v hodinách a T teplota vody ve °C.

2.17 Líhnutí embryí

Po zahájení procesu líhnutí je vhodné zvýšit obsah kyslíku ve vodě (Steffens a kol., 1996). V průběhu kulení je dobré, aby byly inkubační lahve osvětleny, protože nedostatek světla při kulení má za následek to, že embrya polehávají na dně lahve a nechtějí plavat (Proteau, 1996).

Na průběh líhnutí má také vliv odlepkovací přípravek. Například při použití enzymu alkalázy se embrya líhnou rychle a bez větších potíží. V případě odlepkování jiker taninem se embrya líhnou s obtížemi. Jikerný obal je velmi pevný (Steffens a kol., 1996).

3. Materiál a metodika

3.1 Materiál

3.1.1 Místo pokusu

Všechny pokusy byly uskutečněny v experimentálním areálu FROV JU VÚRH ve Vodňanech, ve dnech 22. 4. 2011 až 3. 5. 2011. Zde byly využity venkovní sádky a žlaby a po přemístění ryb do experimentálního objektu byly využity laminátové nádrže napojené na místní recykulační systém.

3.1.2 Generační ryby

Generační ryby byly získány z jarních výlovů v rybnících Rybářství Nové Hrady s.r.o. a Rybářství Třeboň a.s..

Generační ryby (obě pohlaví) byly v před výtěrovém období přechovávány v jedné ze sádek FROV JU ve Vodňanech. Zde měly po celou dobu zajištěn neustálý vrchní přítok čerstvé a dostatečně okysličené vody a také potravní ryby v podobě jelce jesena (*Leuciscus idus*), plotice obecné (*Rutilus rutilus*) a střevličky východní (*Pseuborasbora parva*).

3.1.3 Anestetický roztok

Před každou dlouhodobější manipulací (např. hormonální injekce, umělý výtěr) byly generační ryby umístěny do anestetického roztoku hřebíčkového oleje, který měl koncentraci $0,03 \text{ ml.l}^{-1}$.

3.1.4 Dezinfekce generačních ryb

K dezinfekci a ochraně ryb proti zaplísnění vlivem časté manipulace byl použit roztok manganistanu draselného o koncentraci 2 g na jeden litr vodní lázně.



Obr. č. 3. Generační ryby umístěné v dezinfekčním roztoku manganistanu draselného.

3.1.5 Hormonální přípravek

K hormonální stimulaci jikernaček byl použit přípravek Chorulon, obsahující účinnou látku HCG.



Obr. č. 4. Použitý hormonální přípravek.

3.2 Metodika

3.2.1 Výběr generačních ryb

V den zahájení pokusu byly generační ryby umístěné v sádce vyloveny. Ze všech ryb byly vybrány pouze ryby vhodné k umělému výtěru. U jikernaček byla zohledněna

zejména velikost (naplněnost) břišní partie (vybírány byly ryby s tlustým a měkkým břichem, naopak byly vyřazovány ryby s břichem plochým a na pohmat tvrdým). U mlíčáků bylo pomocí jemného tlaku na břišní partii kontrolováno, zda vypouští sperma. Ti mlíčáci, kteří sperma vypouštěli, byli zařazeni do pokusu.

Jikernačky vybrané k umělému výtěru byly po skupinách (3 – 4 ks) umísťovány do anestetického roztoku, kde byly uspány a následně mohly být změřeny a zváženy. Za pomoci metru s přesností na 1 mm byla zjišťována jejich TL (celková délka) a BL (délka těla) v milimetrech. Po měření byly generační ryb také zváženy na digitální váze s přesností na jednu desetinu gramu.

Průměrné rozměry a hmotnost vybraných jikernaček byly – TL $500,83 \pm 29,61$ mm, BL $446,33 \pm 26,68$ mm a hmotnost $1219,91 \pm 232,03$ gramu.

Zjištění individuální TL a BL bylo nutné provést z důvodu pozdější snadnější identifikace vytřených ryb (viz dále u umělého výtěru).

U mlíčáků vybraných k umělému výtěru nebylo měření a vážení prováděno, protože tyto údaje nebyly v pokusu nijak používány ani vyhodnocovány.

3.2.2 Hormonální stimulace jikernaček, rozdělení ryb do pokusu a provedení injikace

Vybrané jikernačky byly rozděleny do 4 experimentů. První experiment spočíval v injikaci různého množství hormonálního přípravku a jeho účelem bylo pozorovat vliv množství hormonálního přípravku na různé reprodukční ukazatele (délka latence, úspěšnost výtěru, synchronizace výtěru, vliv na oplozenost a líhivost jiker). V druhém experimentu bylo generačním rybám podáno jednotné množství hormonálního přípravku a jeho cílem bylo vyzkoušení poloprovozního masového výtěru candáta obecného. Ve třetím experimentu byl pozorován vliv různých odlepkovacích roztoků na oplozenost a líhivost jiker. V posledním čtvrtém experimentu byla generačním rybám zašita močopohlavní papila a touto metodou byla zkoušena možnost zamezení samovolného výtěru generačních ryb.

3.2.2.1 Experiment s různými dávkami HCG

Pro tento pokus byly generační ryby rozděleny do 5 skupin po 7 generačních rybách. V každé ze 4 skupin bylo všem sedmi generačním rybám injikováno stejné množství hormonálního přípravku. Pátá skupina ryb byla skupinou kontrolní, která nebyla injikována hormonálním přípravkem, ale pouze fyziologickým roztokem. Injikovaná množství hormonálního přípravku byla 250; 500; 750 a 1000 IU HCG na kilogram

hmotnosti generační ryby.

3.2.2.2 Hormonální injekce generačních ryb candáta obecného pro poloprovozní masový výtěr

Pro poloprovozní masový výtěr bylo vybráno 50 generačních ryb a každé z nich bylo injikováno 500 IU HCG na jeden kilogram hmotnosti jejího těla. Na těchto rybách byl prováděn také experiment s různými druhy odlepkovacích roztoků.

3.2.2.3 Samotné provedení hormonální injekce

Hormonální injekci prováděli dva lidé. Jeden držel rybu ve vlhkém hadru za hlavu a za ocasní násadec a druhý prováděl samotnou injekci. Hormonální přípravek byl všem generačním rybám vpraven do dvou míst ve hřbetní svalovině. Po vstříknutí hormonálního přípravku do svaloviny bylo nutné na místě vpichu krátkou dobu přidržet prst, aby z otvoru po jehle nevytekl podaný hormonální přípravek ven.

Hormonální přípravek byl podán pouze jikernačkám a to 22.4. 2011 v době od 8:00 do 10:30.



Obr. č. 5. Injekce hormonálního přípravku.

3.2.3 Umístění do nádrží

Po hormonální injekci byly ryby umístěny na cca 2 minuty do dezinfekčního roztoku manganistanu draselného a následně přeneseny do sklolaminátových nádrží (1x1x0,8 m) umístěných uvnitř pokusného zařízení FROV JU. V experimentu s různými dávkami hormonálního přípravku byly generační ryby umístěny v závislosti na množství hormonálního přípravku do 5 nádrží po 7 rybách.

V případě experimentu s masovým výtěrem byly generační ryby rozděleny do 6 nádrží (2 nádrže po 9 a 4 nádrže po 8 rybách).

Do všech nádrží byl po celou dobu všech pokusů zajištěn vrchní přítok vody pocházející z velké recirkulace a navíc byla každá nádrž vybavena dvěma přívody vzduchování, pro dokonalé okysličení vody. V těchto nádržích byla pravidelně dvakrát denně měřena digitálním oxymetrem (MultiLine P4, WTW) teplota vody a množství rozpuštěného kyslíku. Průměrná teplota vody v nádržích byla v průběhu pokusu $15 \pm 0,5$ °C a koncentrace rozpuštěného kyslíku odpovídala $80,4 \pm 3,1\%$.

Mlčáci, kteří byli vybráni k umělému výtěru, byli rovnou po výběru přeneseni do dvou venkovních žlabů, kde měli po celou dobu výtěru zajištěn neustálý přítok čerstvé a dostatečně prokysličené vody.

3.2.4 Experiment testující možnost omezit výskyt samovolných výtěrů

K tomuto pokusu byl použit přístroj, který je běžně využíván v humánní medicíně k uzavírání řezných ran nebo je používán veterináři v podobě jakési „mechanické antikoncepce“ například pro samice psů nebo koček (obr. č. 6). K uzavření močopohlavní papily a zabránění předčasného samovolného výtěru byla použita jedna sponka, která jikernačce sepnula močopohlavní papilu. Tato sponka byla umístěna kolmo na podélnou osu těla generační ryby.

Takto byla čtyřem jikernačkám zašita (uzavřena) močopohlavní papila. Tyto ryby byly následně vysazeny do haly do jedné sklolaminátové nádrže. V nádrži byly zajištěny stejné podmínky jako u obou dvou souběžně prováděných pokusů. Všem čtyřem jikernačkám použitým k tomuto experimentu bylo podáno 500 IU HCG na kilogram hmotnosti těla.



Obr. č. 6. Strojek použitý k zašití močopohlavní papily.

3.2.5 Kontrola ovulace jikernaček

Druhý den (24 hodin) od injekce hormonálního přípravku byla zahájena pravidelná kontrola ovulace jikernaček. V intervalu 1,5 hodiny byly ryby postupně odlovovány z nádrže do vaničky a jemnou masáží břicha byla prováděna kontrola, zda jsou již ryby připraveny k výtěru a ovulují jikry. V případě zjištění ovulace, byla jikernačka přenesena na 2 – 3 minuty do anestetického roztoku hřebíčkového oleje. Po zklidnění generační ryby následoval její umělý výtěr.

3.2.6 Umělý výtěr

3.2.6.1 Umělý výtěr mlíčáků

V případě potřeby spermatu pro umělé osemenění jiker, bylo mlíčákům sperma odebíráno do injekčních stříkaček. Odběr byl prováděn tak, že jeden pracovník držel mlíčáka zabaleného ve vlhkém hadru a mačkal mu na břicho v blízkosti močopohlavní papily a druhý pomocí stříkačky odsával vytékající sperma. Po odebrání spermatu byli mlíčáci vráceni zpět do žlabu, aby mohli být použiti k dalšímu odběru spermatu. Mlíčáci nebyli před odběrem spermatu uspávaní.

3.2.6.2 Umělý výtěr jikernaček

Umělý výtěr prováděli většinou dva pracovníci a to tak, že jeden uchopil rybu

do vlhkého hadru za hlavu a za ocasní násadec a druhý ji suchým hadrem důkladně otřel břicho a řitní ploutev, aby z ryby nekapala žádná voda, která by mohla znehodnotit vytřené jikry. Po osušení z jikernačky plynulým a citlivým tlakem na břišní dutinu vytlačil do suché a předem zvážené misky většinu ovulovaných jiker. Vytřené jikry byly zváženy a použity k následnému osemenění a odlepkování.

Vytřené jikernačky byla změřena TL a podle ní a čísla nádrže, ze které byla ryba vylovena, bylo možné rybu identifikovat a zapsat získané údaje o výtěru do výtěrového listu. Tento list obsahoval např.: číslo nádrže, rozměry ryby (TL a BL), hmotnost ryby, den a čas hormonální injekce, hmotnost vytřených jiker, datum a čas začátku inkubace jiker.

Nakonec byla vytřená jikernačka umístěna na 5-10 minut do vaničky s roztokem manganistanu draselného a po té přenesena ven do sádky, kde byla až do ukončení celého experimentu.



Obr. č. 7. Umělý výtěr jikernačky candáta obecného.

3.2.6.3 Umělý výtěr jikernaček se zašitou močopohlavní papilou

Před otevíráním ocelové sponky byly všechny čtyři generační ryby uspány v anestetickém roztoku hřebíčkového oleje. Sponka uzavírající močopohlavní papilu byla otevírána tenkými špičatými nůžkami a to tak, že se zavřené (neroztažené) nůžky zasunuly pod drátěnou sponku a po té se rozevřely. Při rozevření nůžek se sponka roztáhla a bylo ji možné rukou odstranit (Obr. č. 9). Po odstranění této sponky byl

prováděn umělý výtěr stejným způsobem jako je posáno výše.



Obr. č. 8. Jikernačka se zašitou
močopohlavní papilou

Obr. č. 9. Odstraňování sponky

3.2.7 Odběr vzorků jiker pro měření jejich velikosti a množství

Z každé porce vytřených a ještě neosemeněných jiker (jikry získané od jedné jikernačky) byly do předem zvážených epruvet odebrány 2 vzorky jiker (hmotnost odebraných jiker byla cca 0,5 g). Dále byly z těchto jiker injekční stříkačkou odsáty 2 vzorky jiker o objemu 1 ml. Tyto odebrané jikry byly použity k pozdějšímu měření jejich průměrné velikosti, počítání množství jiker v jednom gramu a jednom mililitru.

3.2.8 Osemenění jiker a aktivace spermií

Do vytřených jiker bylo ze stříkačky nakapáno sperma a následně vše důkladně promíchalo suchou a čistou gumovou stěrkou. K osemenění jiker od jedné jikernačky bylo vždy použito sperma od 3 – 4 mlíčáků. Od každého mlíčáka se odebrané množství pohybovalo okolo 2 ml. Po promíchání jiker a spermatu se k nim nalilo dvojnásobné množství vody z líhně, vše se promíchalo a ponechalo 2 minuty v klidu. Poté se voda z jiker slila a následovalo odlepkování jiker.

3.2.9 Odlepkování jiker

K odlepkování jiker bylo vyzkoušeno několik různých metod. Byla sledována jejich účinnost, pracovní náročnost, délka doby odlepkování a vliv odlepkovacího roztoku na oplozenost a líhnivost jiker.

3.2.9.1 Odlepkování jiker pouhým promýváním vodou

Jikry připravené k odlepkování se nalily do Zugské lahve, ve které byl přítok vody nastaven tak, aby se jikry zpočátku odlepkování vířily a nedocházelo k jejich usazování ve spodní části lahve. Asi po dvou hodinách odlepkování byl postupně snižován přítok vody do lahve, aby se pohyb jiker zpomalil.

3.2.9.2 Odlepkování jiker směsí mastku a sušeného mléka

Odlepkovací roztok mastku se skládal ze 100 g mastku a 10 l vody. Roztok mléka vznikl smícháním 150 g sušeného mléka s 1 l vody z líhně. Tyto odlepkovací roztoky byly přilévány k jikrám v poměru 1 díl mastku a 1 díl mléka. K promíchávání roztoku jiker a odlepkovacího roztoku byla použita laboratorní třepačka (Obr. č. 10).

Odlepkování jiker touto metodou probíhalo 60 minut a bylo nutné v jeho průběhu postupně přilévat další roztok mastku a mléka, protože jikry vlivem bobtnání zvětšovaly svůj objem. Dále bylo potřeba průběžně upravovat intenzitu otáček třepačky, protože s měnícím se objemem jiker a odlepkovacího roztoku v misce se měnila i potřeba na aktivitu třepačky.

Po ukončení odlepkování se jikry nalily na jemné sítko a několikrát se propláchnuly vodou z líhně. Tímto procesem byl z jiker vyplaven použitý odlepkovací roztok a jikry byly navíc zbaveny i nečistot (krev, roznáčkuté jikry a větší kousky odlepkovacího roztoku, zejména mastku). Nakonec byly odlepkované a popláchnuté jikry nasazeny do Zugské lahve k inkubaci.



Obr. č.10. Odlepkování jiker směsí mastku a sušeného mléka a jejich míchání pomocí laboratorní třepačky

3.2.9.3 Odlepkování jiker alkalázou

K odlepkování jiker byly použity roztoky alkalázy vzniklé smícháním 0,5; 1; 1,5; 2 a 5 ml alkalázy s destilovanou vodou do celkového objemu 1000 ml (např. 0,5 ml alkalázy a 999,5 ml destilované vody).

Samotné odlepkování probíhalo tak, že do malé plastové nádoby (cca 50 ml) bylo naváženo 5 g jiker, které byly osemeněny 1 ml spermatu. Do těchto osemeněných jiker bylo přidáno 2,5 ml vody z líhně. Obsah nádoby byl krouživým pohybem ruky promíchán a nechán 2 minuty aktivovat. Po aktivaci bylo k jikrám přilito 5 ml předem připraveného roztoku alkalázy a vše se přesně 2 minuty míchalo na laboratorní třepačce. Těsně před uplynutím dvou minut byla nádoba s odlepkovávanými jakrami z třepačky sundána a přesně v okamžiku uplynutí dvou minut od zahájení odlepkování byly jikry několikrát propláchnuty vodou z líhně na jemném sítku. Takto odlepkované jikry byly nasazeny k inkubaci do Zugských lahví o objemu 0,5 l (Obr. č. 11).



Obr. č.11. Inkubace jiker odlepkovaných alkalázou

3.2.10 Odběr vzorků jiker pro možnost zjištění jejich oplozenosti a líhivosti

Vždy před umístěním odlepkovaných jiker do inkubační lahve byly z těchto jiker odebrány 2 vzorky 200 – 300 kusů jiker, které byly umístěny do misek o objemu 100 ml. V těchto miskách byla pravidelně 2x denně vyměňována voda. K tomuto účelu sloužila voda z líhně, která byla po dobu inkubace jiker umístěna ve vědru ve stejné místnosti jako probíhala inkubace jiker. Tímto postupem byla zajištěna stejná teplota vody ve vědru jako v miskách.

3.2.11 Inkubace jiker

Kromě jiker odlepkovávaných alkalázou byly všechny ostatní vytřené jikry inkubovány v 10 l Zugských lahvích. Po vysazení jiker do lahve bylo nutné na prvních 60 minut inkubace nastavit průtok vody tak, aby byly jikry proudem vody nadnášeny zhruba do dvou třetin lahve. Bylo tím dosaženo jejich úplného „doodlepkování“ a také se z vysazených jiker vyplavily nečistoty v podobě zbytků odlepkovávacího roztoku a rozmačkaných nebo poškozených jiker. Poté byl přítok do lahve postupně snižován tak, aby inkubované jikry klesly na dno lahve a vlivem přitékající vody se o sebe jen lehce otíraly a promíchávaly se. Lahve byly plněny maximálně do jedné třetiny svého objemu. Na každou z lahví byl napsán den a přesný čas nasazení jiker k inkubaci. Pravidelně dvakrát denně byla v lahvích měřena rtuťovým teploměrem teplota vody.

3.2.12 Líhnutí a počítání embryí

V průběhu inkubace jiker byla na odtok z každé lahve připevněna hadice, která odváděla odtékající vodu do plastové kolíbkky (0,6x0,3x0,35 mm) umístěné pod lahví. Tato kolíbkka měla na odtoku uhelon (velikost ok 0,3 mm), který působil jako zábrana proti úniku vylíhnutých candátích embryí.

V období líhnutí byla vylíhnutá embrya odnášena odtékající vodou do předem připravené kolíbkky. Po přeplavení všech vylíhnutých embryí je bylo nutné spočítat.

Počítání bylo prováděno tak, že se do vaničky nalil přesný objem vody s embryi. Embrya byla zamícháním vody ve vaničce zhomogenizována. Ze zhomogenizované směsi vody a embryí bylo odebráno 3x po 50 ml vody i s embryi. Ve všech třech odebraných 50 ml vody bylo spočítáno množství embryí. Z těchto tří vzorků bylo vypočítáno průměrné množství embryí v 50 ml a toto množství bylo přepočítáno na celkový objem vody ve vaničce.

3.2.13 Zjišťování velikosti vytřených jiker, počet jiker v jednom g a mm

Tato měření byla prováděna ze vzorků jiker odebraných po výtěru. Měření průměrné velikosti vytřených jiker bylo prováděno za pomoci fotoaparátu Olympus E-510 digital camera, který byl připojen binoculárnímu mikroskopu Olympus BX51. Získaná data byla vyhodnocena v programu Quick PHOTO CAMERA 2.2 software (Olympus, Hamburg, Germany). Měření bylo prováděno s přesností na jednu setinu milimetru.

Na analytické váze (přesnost vážení na 0,0001 g) bylo zjišťováno množství jiker v jednom gramu jiker. To se dělalo tak, že se zvažila epruveta s jikrami a odečetla se hmotnost prázdné epruvety od hmotnosti epruvety s jikrami. Takto byla zjištěna hmotnost odebraného vzorku jiker. Zvážené jikry se na skleněné misce počítaly a jejich počet se převedl na množství jiker v jednom gramu.

Množství jiker v 1 ml se zjistilo tak, že se počítalo množství jiker v odebraném mililitru jiker.

3.2.14 Zjišťování oplozenosti a líhivosti vytřených jiker

Zjišťování oplozenosti a líhivosti vytřených jiker bylo prováděno s jikrami, které byly po odlepkování umístěny do 100 ml misek.

Přibližně po 24 hodinách od umístění odlepkovaných jiker do misky bylo počítáno množství oplozených jiker v misce (oplozené jikry měly viditelné kulaté jádro, zatímco jikry neoplozené neměly jádro vidět vůbec nebo byly bílé). K procentu oplozenosti se došlo následujícím způsobem. Počet oplodněných jiker se vydělil celkovým počtem

jiker v misce a výsledek se vynásobil stem. Po vylíhnutí všech embryí byl spočítán jejich počet a následně zjištěno i procento líhivosti. Líhivost byla spočítána tak, že počet vylíhnutých embryí se vydělil původním počtem jiker v misce a výsledek se vynásobil stem.

3.2.15 Statistické vyhodnocení

Statistické vyhodnocení bylo provedeno analýzou variance ANOVA. Předpoklad pro ANOVU byl dělán Cochran testem. Získaná data byla vyhodnocena pomocí arcsinové transformace. Rozdíly hodnot byly zpracovány Tukeyho testem a znázorněny pomocí symbolů v grafech zpracovaných v programu Excel.

4. Výsledky

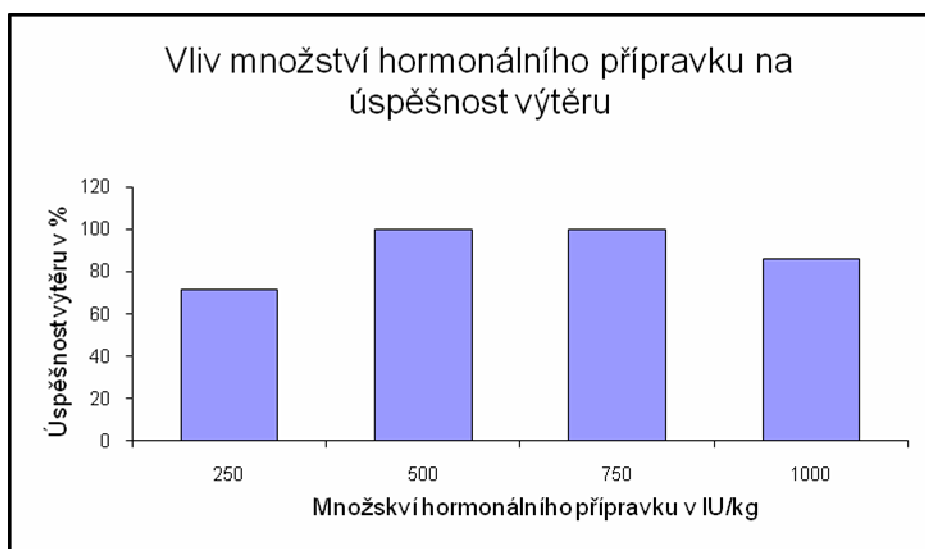
4.1 Výsledky experimentu sledujícího vliv odlišných dávek hormonálního přípravku na různé reprodukční ukazatele

4.1.1 Vliv množství hormonálního přípravku na délku latence

Průměrná délka latence generačních ryb se pohybovala od $78,05 \pm 6,93$ hodin u skupiny ryb s dávkou 500 IU HCG až po $88,0 \pm 12,05$ hodiny u skupiny ryb s 1000 IU HCG. Rozdíl mezi průměrnými délkami latence skupin ryb s nejkratší a nejdelší dobou latence je tedy bezmála 10 hodin.

4.1.2 Vliv množství hormonálního přípravku na úspěšnost výtěru a množství samovolných výtěrů

Nejlepších výsledků bylo dosaženo výtěrem ryb s 500 a 750 IU HCG na kilogram hmotnosti těla. U těchto dvou skupin ryb byla zaznamenána 100 % úspěšnost výtěru generačních ryb. Zatímco u skupiny ryb s 250 IU HCG na kilogram hmotnosti těla byla dosažena úspěšnost umělého výtěru pouhých 71,5 % (zbylých 28,5 % činily samovolné výtěry). Podobných hodnot bylo dosaženo i u skupiny ryb s nejvyšší dávkou HCG (1000 IU), kde byla úspěšnost umělého výtěru na úrovni 85,8 %. Samovolný výtěr zde byl na úrovni 14,2 %. U ryb v kontrolní skupině nebyl zaznamenán žádný samovolný výtěr a nebyl proveden ani žádný umělý výtěr.



Graf č. 1. Vliv množství hormonálního přípravku na úspěšnost výtěru

4.1.3 Vliv množství hormonálního přípravku na velikost vytřených jiker, počet jiker v jednom gramu a mililitru jiker

Množství hormonálního přípravku nemělo žádný vliv na jednotlivé měřené hodnoty, protože rozdíly hodnot mezi jednotlivými rybami byly minimální.

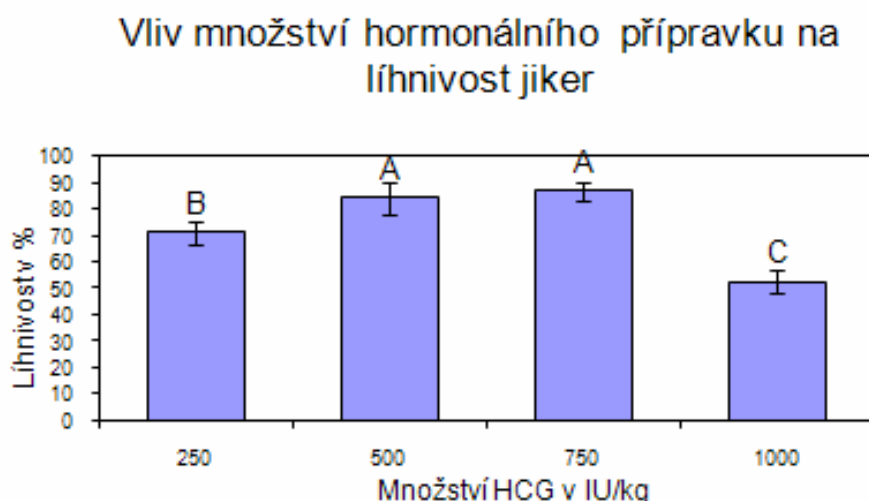
Průměrná velikost uměle vytřených jiker byla $0,97 \pm 0,019$ mm. Průměrný počet jiker v jednom gramu vytřených jiker byl 1049 ± 391 kusů a průměrný počet jiker v jednom mililitru vytřených jiker bylo 187 ± 36 kusů.

4.1.4 Vliv množství hormonálního přípravku na absolutní a relativní plodnost generačních ryb

Průměrná absolutní plodnost generačních ryb činila $180\,080 \pm 5\,640$ kusů jiker a rozdíly mezi jednotlivými skupinami generačních ryb (s ohledem na množství hormonálního přípravku) byly velmi malé. Stejně tomu bylo i u vlivu množství hormonálního přípravku na relativní plodnosti, kde byla průměrná hodnota $103\,200 \pm 8\,200$ kusů jiker na kilogram hmotnosti generační ryby.

4.1.5 Vliv množství hormonálního přípravku na líhivost jiker

Nejlepší líhivost byla zaznamenána u dávky 750 IU HCG na kilogram, která zde dosáhla hodnoty $86,8 \pm 3,8$ %. Nejnižší líhivost byla naopak zaznamenána u skupiny ryb s 1000 IU HCG na kilogram, kde byla líhivost pouhých $52,5 \pm 4,5$ %.



Graf č.2. Vliv množství hormonálního přípravku na líhivost jiker

4.1.6 Porovnání výsledků získaných od všech skupin generačních ryb ošetřených různou dávkou hormonálního přípravku

Ze získaných výsledků vyplývá, že množství hormonálního přípravku nemělo v řadě případů vliv na naměřené hodnoty a nebo bylo výrazně lepší množství 500 a 750 IU HCG na kilogram.

4.2 Výsledky dosažené při poloprovozním masovém výtěru generačních ryb candáta obecného

4.2.1 Délka latence

První ovulace byla zaznamenána již po uplynutí 48 hodin od podání hormonálního přípravku a poslední ovulace a tedy i umělý výtěr proběhl po 84,5 hodinách latence. Průměrná délka latence činila $62,58 \pm 3,85$ hodiny.

4.2.2 Úspěšnost výtěru

Z celkového počtu 50 generačních jikernaček použitých k pokusu se podařilo úspěšně uměle vytříť 27 ryb, což odpovídá 54 % ryb v pokusu, 17 generačních ryb se vytřelo spontánně v období mezi jednotlivými kontrolami ovulace. Tento počet odpovídá 34 % ryb. Celkem 6 ryb se nepodařilo vytříť vůbec.

Z tab. č.1. a č.2. lze vyzorovat, že s přibývajícím časem od injekce hormonálního přípravku klesalo množství úspěšně uměle vytřených generačních ryb, ale počet samovolně vytřených ryb se nijak výrazně neměnil.

Tab. č.1. Kumulativní procento uměle vytřených generačních ryb

Kumulativní procento uměle vytřených ryb

Dny	22.4.2011	23.4.2011	24.4.2011		25.4.2011			
Časová rozmezí			8:00-16:00	16:01-24:00	0:01-8:00	8:01-16:00	16:01-24:00	Celkem
Počet vytřených ryb	0	0	9	7	5	5	1	27
Kumulativní procento vytř. ryb	0,00%	0,00%	18,00%	32,00%	42,00%	52,00%	54,00%	54,00%

Tab. č.2. Kumulativní procento samovolně vytřených generačních ryb

Kumulativní procento samovolně vytřených ryb

Dny	22.4.2011	23.4.2011	24.4.2011		25.4.2011			
Časová rozmezí			8:00-16:00	16:01-24:00	0:01-8:00	8:01-16:00	16:01-24:00	Celkem
Počet vytřených ryb	0	0	3	4	6	4	0	17
Kumulativní procento vytř ryb	0,00%	0,00%	5,56%	12,97%	24,08%	30,00%	30,00%	30,00%

4.2.3 Množství získaných jiker a rozměry jiker

Celkem se od 27 uměle vytřených jikernaček podařilo získat 2696 g jiker. Z toho vyplývá, že v průměru bylo od jedné jikernačky získáno $99,85 \pm 36,98$ g jiker. Průměrný počet jiker v jednom gramu jiker byl $1114 \pm 278,8$ ks a průměrný počet jiker v jednom mililitru byl 206 ± 49 ks jiker. Průměrná velikost jedné jikry před nabobtnáním činila $0,84 \pm 0,045$ mm a po nabobtnání $1,38 \pm 0,029$ mm.

4.2.4 Absolutní a relativní plodnost jikernaček při poloprovozním masovém výtěru

Absolutní plodnost přepočtená na počet jiker se pohybovala od 5 570 do 228 370 ks. Průměrná absolutní plodnost byla $111\ 234 \pm 41\ 195$ ks jiker. Relativní plodnost jikernaček se pohybovala od 6 545 do 146 885 ks jiker. Průměrná relativní plodnost jikernaček byla $92\ 772 \pm 33\ 409$ ks jiker na kilogram hmotnosti generační ryby.

4.2.5 Oplozenost a líhivost jiker a délka inkubace jiker

Průměrná oplozenost jiker byla $89,96 \pm 0,23$ % a průměrná líhivost jiker byla $61,27 \pm 3,43$ %.

Průměrná délka inkubace jiker byla $126,4 \pm 1,76$ °D.

4.2.6 Množství embryí získané při poloprovozním masovém výtěru

V experimentu, který simuloval možnost masového umělého hormonálně stimulovaného výtěru generačních ryb candáta obecného, bylo získáno přibližně 1,5 milionu kusů embryí candáta obecného.

4.3 Výsledky dosažené experimentem, který porovnával různé způsoby a druhy odlepkovacích roztoků

4.3.1 Technická náročnost jednotlivých způsobů odlepkování jiker

Nejsnasší na provedení a uskutečnění bylo odlepkování uměle vytřených a

osemeněných jiker pouhým promýváním vodou v inkubační lahvi. Zásadní nevýhodou této metody pro odlepkování jiker candáta obecného je to, že i při maximálním přítoku vody do inkubační lahve není tento proud vody dostatečný na odlepkování všech jiker a nedokáže tak zabránit jejich slepení. V prvních dvou až dvou a půl hodinách odlepkování jiker byl proud vody dostatečný a jikry byly od sebe velmi dobře oddělené. V pozdějším období se na sebe ale jikry začaly lepit. Nepomohlo ani opětovné rozmíchání slepených jiker dumovou stěrkou, protože takto oddělené jikry se během několika minut opět spojily dohromady.

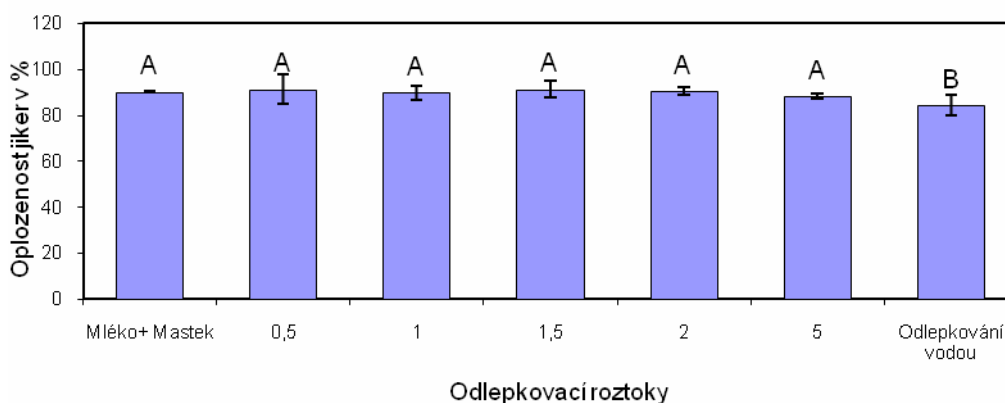
Odlepkování jiker roztokem mastku a sušeného mléka je poměrně náročné, pokud se odlepkovávané jikry musejí míchat ručně za pomoci gumové stěrky, protože doba nutná k odstranění lepivosti jiker je 60 minut. K zjednodušení odlepkování jiker pomocí mastku a mléka byla v pokusu využita laboratorní třepačka, která svým pohybem dokonale nahradila ruční míchání odlepkovávaných jiker.

Třetí metodou vyzkoušenou pro odlepkování jiker candáta obecného bylo použití roztoku alkalázy. Odlepkování touto metodou je časově nejméně náročné, protože trvá pouhé 2 minuty. I takto krátká doba byla dostačující k úplnému zbavení lepivosti všech jiker.

4.3.2 Vliv odlepkovacích roztoků na oplozenost jiker

Nejnižší oplozenost byla zaznamenána u jiker odlepkovávaných pouhým proudem vody. Zde byla oplozenost na úrovni $84,37 \pm 4,29$ %. Nejvyšší oplozenosti bylo dosaženo u roztoku alkalázy o koncentraci 0,5 ml, kde byla průměrná oplozenost $91,21 \pm 6,29$ %. Ze zjištěných výsledků lze usoudit, že vliv odlepkovacího roztoku na oplozenost jiker byl velmi malý.

Vliv odlepkovacího roztoku na oplozenost jiker

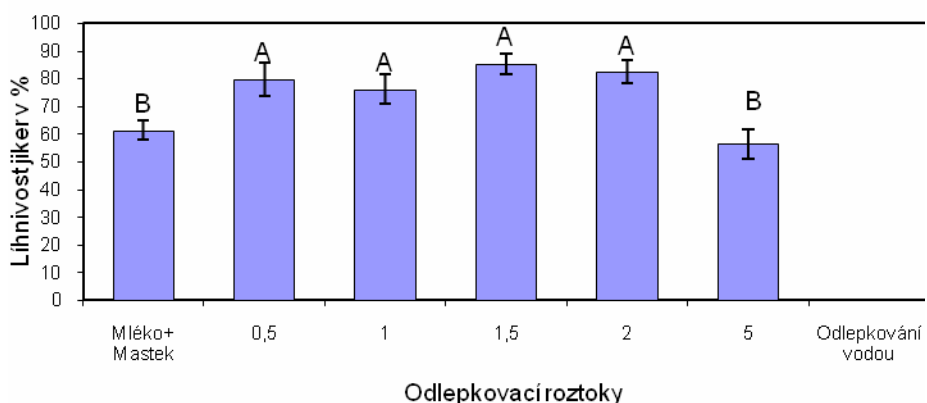


Graf č. 2. Vliv odlepkovacího roztoku na oplozenost jiker.

4.3.3 Vliv odlepkovacích roztoků na líhivost jiker

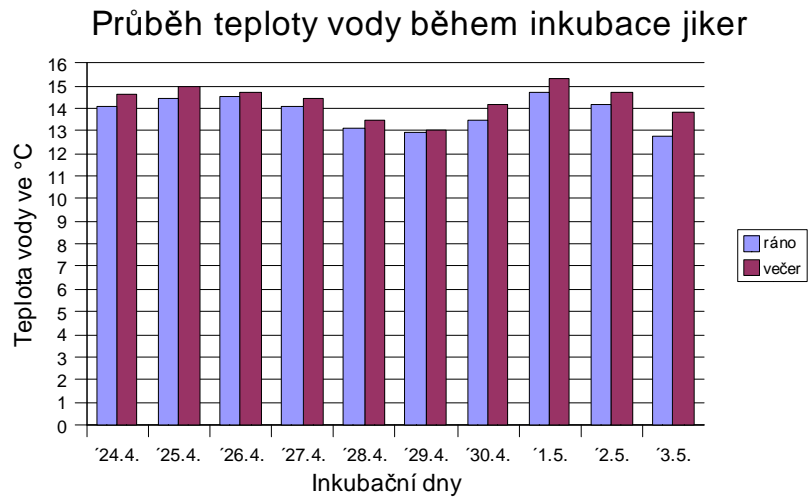
U jiker odlepkovávaných pouhým proudem vody byla líhivost nulová, protože došlo v průběhu inkubace ke slepení jiker, jehož výsledkem byl nedostatečný přísun kyslíku k vyvíjejícím se zárodkům, které postupně odumřely. Naopak nejvyšší úroveň líhivosti byla zaznamenána u alkalázy o koncentraci 1,5 ml, kde byla průměrná líhivost $85,4 \pm 3,7$ %. Jestliže byl vliv odlepkovacího roztoku na oplozenost jiker velmi malý, tak u líhivosti byl velmi významný. O tom svědčí rozdíl mezi nejlepší a nejhorší metodou, který je 85,4 %.

Vliv odlepkovacího roztoku na líhivost jiker



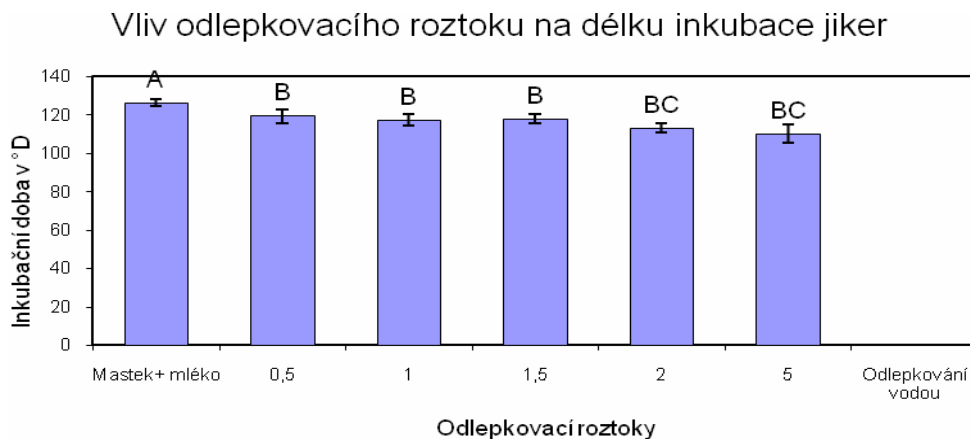
Graf č.3. Vliv odlepkovacího roztoku na líhivost jiker

4.3.4 Vliv koncentrace a druhu odlepkovacího roztoku na délku inkubace jiker



Graf č.4. Průběh teploty vody během inkubace jiker

Při porovnání délky inkubační doby v závislosti na druhu odlepkovacího roztoku byla nejdelší inkubace zaznamenána u jiker odlepkovávaných pomocí směsi mastku a mléka a činila $126,4 \pm 1,76$ °D. Naopak nejkratší inkubační doba byla pozorována u jiker odlepkovávaných roztokem alkalázy o koncentraci 5 ml enzymu a činila $110,16 \pm 4,83$ °D. Z grafu č.5 lze vypočítat závislost délky inkubační doby na koncentraci roztoku alkalázy, kdy se stoupající koncentrací klesá délka inkubační doby. U jiker odlepkovávaných vodou je nulová inkubační doba, protože jikry byly z inkubační lahve vyndány ještě před možným ukončením inkubace (nedošlo k odlepkování nasazených jiker a ty postupně všechny uhynuly).



Graf č.5. Závislost délky inkubační doby na druhu a koncentraci odlepkovacího roztoku.

4.3.5 Porovnání výsledků získaných použitím různých odlepkovacích roztoků

Nejhorších výsledků při odlepkování jiker bylo dosaženo u pouhého promývání jiker vodou. Tento způsob se ukázal jako zcela nevhodný, protože líhivost během tohoto pokusu byla na úrovni 0 %. Oproti tomu nejlepších výsledků bylo dosaženo použitím roztoků alkalázy o koncentracích 1,5 a 2 ml, které vykazovaly velmi vysoké a stabilní výsledky.

4.4 Výsledky získané při experimentu sledujícím jeden z možných způsobů zamezení samovolného výtěru generačních ryb

Jikernačkám se zašitou močopohlavní papilou byla 25. 4. 2011 v 9:00 odstraněna drátěná sponka z močopohlavní papily, aby mohly být tyto ryby uměle vytřeny. Délka latence činila 72 hodin.

4.4.1 Kvalita jiker u ryb se zašitou močopohlavní papilou

Již při samotném umělém výtěru bylo patrné, že vytírané jikry jsou přezrálé a jejich množství, i přes na pohled velkou a plnou břišní dutinu jikernaček, je velmi malé. Z každé jikernačky se podařilo v průměru vytříít pouze $20,0 \pm 7,5$ g jiker. Průměrná absolutní plodnost těchto ryb byla 9520 ± 3570 ks a celkem se podařilo vytříít 80 g jiker. Tyto jikry obsahovaly velké množství tekutiny (průhledná, bezbarvá tekutina) a také bílých odumřelých jiker. Průměrná velikost těchto jiker před nabobtnáním byla $0,91 \pm 0,052$ mm a po nabobtnání $1,44 \pm 0,027$ mm, což je srovnatelné s velikostí u ostatních generačních ryb bez zašité močopohlavní papily. Zásadní rozdíl byl ale v počtu jiker v jednom gramu a mililitru vytřených jiker, který byl z důvodu velkého množství tekutiny obsažené v jikrách, několikanásobně menší. Průměrný počet jiker v jednom gramu jiker byl 476 ± 191 ks a průměrné množství jiker v jednom mililitru jiker bylo 71 ± 18 ks.

4.4.2 Inkubace, oplozenost a líhivost jiker získaných od jikernaček se zašitou močopohlavní papilou

Vytřené a o semeněné jikry byly odlepkovány směsí mastku a sušeného mléka. Z takto odlepkovaných jiker byly odebrány dva vzorky (cca 300 kusů jiker) jiker od každé jikernačky a byly umístěny do skleněných misek k inkubaci. Průměrná inkubační doba byla $117 \pm 5,29$ °D.

Průměrná oplozenost jiker byla $61,28 \pm 3,44$ % a průměrná líhivost jiker byla $33,16 \pm 7,33$ %.

4.5 Porovnání výsledků získaných při poloprovozním masovém výtěru generačních ryb a výtěrem generačních ryb se zašitou močopohlavní papilou

V podstatě lze říci, že běžným výtěrem bylo dosaženo mnohem lepších výsledků. Jedinou výhodou, kterou má zašití močopohlavní papily je ta, že nedojde k samovolnému výtěru jikernaček.

Tab. č. 3. Porovnání výsledků získaných normálním výtěrem a výtěrem ryb se zašitou močopohlavní papilou

Průměrné hodnoty	Normální výtěr	Zašité ryb
Latence v °D	37,86 ± 3,21	45,3
Hmotnost vytřených jiker v g/rybu	99,85 ± 36,98	20,0 ± 7,5
Absolutní plodnost v ks	111 234,96 ± 41 195,08	9520 ± 3570
Počet jiker v gramu jiker	1114 ± 278,8	476 ± 191
Počet jiker v mililitru jiker	206 ± 49	71 ± 18
Velikost jiker před nabobtnáním	0,84 ± 0,045	0,91 ± 0,052
Velikost jiker po nabobtnání	1,38 ± 0,029	1,44 ± 0,027
Oplozenost v %	89,66 ± 0,23	61,28 ± 3,44
Líhivost v %	61,27 ± 3,43	33,13 ± 7,33
Inkubační doba v °D	126,4 ± 1,76	117 ± 5,29
Počet embryí na 1 rybu	74000	1900

4.6 Mortalita generačních ryb v průběhu a po ukončení umělého výtěru

Od injekce hormonálního přípravku po ovulaci jiker neuhynula žádná generační ryba ani nemusela být žádná z ryb vyřazena z pokusu např. z důvodu špatného zdravotního stavu. Ovšem do dvou týdnů od umělého výtěru došlo k úhynu všech generačních ryb (mlíčáků i jikernaček) použitých k umělému výtěru.

5. Diskuze

V průběhu experimentů s umělým hormonálně stimulovaným výtěrem candáta obecného bylo potvrzeno, že candáta lze za pomoci hormonální stimulace, mechanického či enzymatického odlepkování jiker a inkubace jiker v Zugských lahvích, úspěšně uměle vytříit (Zakes a Demska-Zakes, 1999; Musil a Kouřil, 2006; Ronyai, 2007). Během tohoto umělého výtěru candáta obecného byla provedena řada experimentů, z nichž vyplynuly výsledky dopředu očekávané, ale i velmi překvapivé.

Při výběru vhodných generačních ryb pro umělý výtěr se potvrdilo tvrzení autorů Baruše a Olivy (1995), že u candáta obecného nemusí být pohlavní dimorfismus v před výtěrovém a výtěrovém období vždy jednoznačný. Mezi generačními rybami se vyskytlo hned několik na první pohled jikernaček (zvětšená a bílá břišní dutina), které ovšem při mírné masáži břišní dutiny ochotně vypouštěly mlíčí.

Jikernačky vybrané pro umělý výtěr byly před každou déle trvající manipulací (měření a vážení, hormonální injikace, umělý výtěr) zklidněny v roztoku hřebíčkového oleje o koncentraci 0,03 ml/l (Kouřil a Hamáčková, 2005).

K dezinfekci povrchu těla ryb po hormonální injikaci a umělém výtěru byl použit roztok manganistanu draselného o koncentraci 2 g na jeden litr vody (Policar, 2010).

Všem jikernačkám byl injekčně podán hormonální přípravek Chorulon, který obsahuje účinnou látku HCG. V případě poloprovozního masového výtěru bylo stanoveno množství HCG na 500 IU na jeden kilogram hmotnosti generační ryby. Se stejným množstvím ve svém pokusu pracoval např. Policar (2010). Podobnou dávku použil i Salminen a kol. (1992), který uvádí jako účinnou dávku 400 – 600 IU na kilogram hmotnosti generační ryby. Hormonální přípravek byl jikernačkám podán v jedné dávce, ale do dvou míst ve hřbetní svalovině (Kouřil a kol., 1997). Injikace hormonálního přípravku do osrdečníku (Kouřil a kol., 1986) nebyla v toto pokusu praktikována jako příliš riziková pro generační ryby.

Generační ryby byly rozděleny do několika skupin po 4 – 9 rybách, byly umístěny do sklolaminátových nádrží v hale, kam byl zajištěn nepřetržitý přítok čerstvé a dostatečně okysličené vody (Musil a Kouřil, 2006).

Latence u ryb s 500 IU HCG trvala při průměrné teplotě vody v nádržích $15 \pm 0,5$ °C od 2 do 3,5 dne. Policar (2010) ve svém pokusu dosáhl při průměrné teplotě vody $13,0 \pm 2,0$ °C latence trvající od 3,3 do 3,5 dne. V mém pokusu došlo k dřívějšímu nástupu výtěru, ale jeho ukončení bylo i přes vyšší teplotu vody ve stejnou dobu jako

u Policara (2010). Takto delší období latence si lze vysvětlit tím, že ryby použité k umělému výtěru, pocházely ze dvou různých oblastí (Novohradské hory a Třeboňsko), a proto mohly být jejich oocyty před hormonální stimulací v různém stádiu vývoje. Tedy ryby z relativně teplejší oblasti Třeboňska byly vytírány a dřívějším období latence a ryby z chladnější oblasti Novohradských hor následovaly déle. Ovšem je to jen domněnka. Tato teorie by se dala například potvrdit držáním ryb z obou oblastí v průběhu celého umělého výtěru odděleně nebo označením ryb tak, aby se od sebe daly rozpoznat ryby z jedné či druhé oblasti.

K osemenění vytřených jiker bylo použito mlíčí, které bylo předem odebráno do injekční stříkačky (Steffens a kol., 1996; Zakes a Demska-Zakes, 2005). Myslím si, že využití injekční stříkačky pro odběr mlíčí, pro následné osemenění jiker, je velmi vhodné. Mlíčáci candátů sice vypouští mlíčí ochotně a opakovaně i několikrát během jednoho dne, ale jeho množství je poměrně malé (2 - 4 ml). Při klasickém umělém výtěru mlíčí (z ryby přímo na jikry) zůstává nemalé množství spermatu na řitní ploutvi mlíčáka. Použitím injekční stříkačky tak nedochází k těmto, podle mého názoru, zbytečným ztrátám.

Celkem bylo v průběhu poloprovozního masového umělého výtěru zaznamenáno 17 spontánních výtěrů (17 ryb odpovídá 34 %) při kontrole ovulace každou hodinu a půl. Na druhou stranu v experimentu s různými dávkami hormonálních přípravků nebyl zaznamenán u ryb s 500 IU HCG na kilogram hmotnosti žádný spontánní výtěr. Policar (2010) zaznamenal 25 % spontánních výtěrů při kontrole ovulace každých 30 minut a stejné dávce hormonálního přípravku. V případě mého pokusu nebylo možné dělat kontrolu ovulace v kratších intervalech než 1,5 hodiny, protože to nebylo z důvodu velkého počtu vytíraných ryb možné provést. Jak ale ukazují výsledky Policara (2010), nemusí ani častější kontrola ovulace jikernaček znamenat nulový výskyt spontánních výtěrů.

U ryb se zašitou močopohlavní papilou lze říci, že se jejich výtěr nezdařil, protože jikry vytřené touto metodou byly velmi nekvalitní a měly nízkou oplozenost i líhivost. Nevýhodou tohoto způsobu výtěru je, že je nutné znát absolutně přesně délku latence, jako je tomu např. u umělého výtěru kapra obecného (Čítek a kol., 1998).

Průměrná velikost vytřených jiker a velikost jiker po nabobtnání byla v rozmezí, která uvádí Dubský a kol. (2003).

Odlepkování osemeněných jiker bylo prováděno třemi různými metodami. Pouhé promývání jiker vodou, jak je tomu běžné například u lososovitých ryb (Pokorný a kol.,

2003), se ukázalo jako zcela neúčinné a pro praktické využití nevhodné. U jiker odlepkovávaných směsí mastku a sušeného mléka (Musil a Kouřil, 2006) byla pro míchání použita laboratorní třepačka (Policar, 2010). Použití třepačky oproti míchání gumovou stěrkou je výhodnější, protože nevyžaduje trvalou přítomnost pracovníka po celou dobu odlepkování a také proto, že při ručním míchání stěrkou může dojít, i při větší opatrnosti, k poškození nebo rozmačkání jiker o stěnu misky. Lze říci, že i přes poměrně dlouhou dobu odlepkování je tato metoda pro odlepkování jiker candáta obecně vhodná. Třetí metodou odlepkování jiker, která byla v pokusu vyzkoušena, bylo použití roztoku alkalázy (Linhart a kol., 2000; Linhart a kol., 2001). Policar (2010) ve svém pokusu u koncentrace 5 ml alkalázy na 995 ml vody zaznamenal 0% oplozenost i líhivost. V tomto experimentu byla u stejné koncentrace alkalázy zjištěna sice nejnižší hodnota oplozenosti a líhivosti (v porovnání s jinými koncentracemi alkalázy použitými v tomto experimentu), ale i přesto dosáhla hodnot $88,16 \pm 0,95$ % u oplozenosti a $56,43 \pm 5,27$ % u líhivosti, což je poměrně velký rozdíl.

Odlepkované jikry byly inkubovány v Zugských lahvích (Musil a Kouřil, 2006). Doporučený průtok vody v inkubační lahvi je podle Steffense a kol. (1996) 0,5 litru za minutu na začátku inkubace a 4 – 5 litrů za minutu v pozdějším období. Podle mých zkušeností je na začátku inkubace naopak zapotřebí průtok vody mnohem větší než v pozdějším období, protože v tuto dobu ještě může doznívat lepivost jiker, která se dá větším průtokem vody dobře eliminovat. Dále je rozhodující i množství jiker nasazených v inkubačních lahvích, které má také vliv na množství přitékající vody. Proto se podle mne nedá jednoznačně stanovit množství přitékající vody do inkubační lahve.

Na průběh líhnutí jiker má také vliv druh odlepkovacího přípravku. Například při použití enzymu alkalázy se embrya líhnou rychleji a bez větších potíží (Steffens a kol., 1996). Tento poznatek se potvrdil i v tomto experimentu, kdy byla u jiker odlepkovávaných roztokem alkalázy zaznamenána vyšší průměrná líhivost jiker oproti jikrám odlepkovávaným pouhým proudem vody nebo směsí mastku a mléka. Také bylo potvrzeno rychlejší líhnutí embryí, o kterém Steffens píše. Ukázalo se, že se stoupající koncentrací roztoku alkalázy klesá délka inkubační doby.

Mortalita všech generačních ryb (jikernaček i mlíčáků) dosáhla do 14 dnů od ukončení umělého výtěru 100 %. Policar (2010) zaznamenal mortalitu generačních ryb na úrovni 37 % u jikernaček a 50 % u mlíčáků. Takto nízké mortality bylo zřejmě dosažené díky velké synchronizaci umělého výtěru, protože v jeho případě byly

všechny ryby uměle vytřeny v průběhu 16 hodin. Kdežto v mém pokusu byly například v experimentu s masovým výtěrem generačních ryb ryby vytírány po dobu 36 hodin. Delší doba trvání umělého výtěru znamenala mnohem větší počet kontrol ovulace a s nimi spojenou častější manipulaci s generační rybami, která zřejmě vedla k tak vysoké po výtěrové mortalitě generačních ryb.

Pokud bych se rozhodl uskutečnit svůj vlastní umělý výtěr candáta obecného, na základě toho pokusu bych použil dávku 500 – 750 IU HCG na kilogram hmotnosti generační ryby a jikry bych odlepkovával roztokem alkalázy o koncentraci 1,5 ml.

6. Závěr

V průběhu hormonálně indukovaného umělého výtěru candáta obecného byla provedena řada pokusů, jejichž výsledky jednak potvrdily již dříve získané informace, ale také mohou být odrazovým můstkem pro uskutečnění dalších pokusů.

Jedním z problémů, spojených s umělým výtěrem candáta obecného, je poměrně větší počet samovolně vytřených ryb, které tak snižují úspěšnost výtěru a také ho prodražují. Proto jsme ve snaze o zamezení samovolného výtěru vyzkoušeli vybraným jikernačkám zašít močopohlavní papilu. Sice se nám podařilo u vybraných generačních ryb zabránit samovolnému výtěru, ale nežádoucím účinkem bylo přezrání jiker. K přezrání jiker došlo z důvodu špatného odhadu délky latence. Myslím si, že je tato metoda pro zamezení samovolného výtěru vhodná, ale je dále zapotřebí věnovat v dalších pokusech pozornost v naleznutí ideální délky latence.

K dosažení stejné délky latence by nejspíš bylo třeba použít k pokusu pouze ryby ze stejného rybníka a ve stejném stáří, protože u těchto ryb by nejspíš byla dosažena i co možná nejlepší synchronizace výtěru.

Dále jsme v pokusu vyzkoušeli k odlepkování jiker roztok alkalázy. Velkou výhodou této metody je výrazné zkrácení doby, po kterou jsou jikry odlepkovávány. Dosažené výsledky byly podle mého názoru více než uspokojivé a myslím si, že je možné roztok alkalázy pro odlepkování jiker candáta obecného vřele doporučit.

Jakousi temnou stránkou umělého výtěru candáta obecného je velmi vysoká povýtěrová mortalita, která brání dalšímu využití těchto ryb. Snad jen v případě mlíčáku (nejsou hormonálně injikovány) by se daly tyto ryby využít ke konzumaci.

V současné době je již umělý výtěr candáta obecného na velmi vysoké úrovni a je možné ho bez obav prakticky využívat a dosahovat tak stejných a možná i lepších výsledků, než kterých bylo dosaženo v těchto experimentech.

7. Seznam literatury

ALAVI, S.M.H., RODINA, M., POLICAR, T., COSSON, J., KOZÁK, P., PŠENIČÁK, M., LINHART, O., (2008). Physiology and behavior of stripped and testicular sperm in *Perca fluviatilis* L. 1758. *Cybium* 32(2): 162-163.

BASTL, I. (1969). Spawning of pikeperch (*Stizostedion lucioperca* (Linneaus, 1758)) in bottoms nests in condition of the Orava reservoir (Northern Slovakia). *Práce Labor. rybářstva SAV*, 2: 159-184.

BARUŠ, V., OLIVA, O. (1995). *Mihulovci a ryby*. Academia., Praha.

BNINSKA, M., WOLOS, A. (2001). Management of selected Polish commercial and recreational lake fisheries activities – *Fish. Manage. Ecol.* 8: 333-343.

BRZUSKA, E., BIENIARZ, K. (1977). An *in vivo* method for determining oocyte maturation in carp females after an injection of common carp pituitary extract – *Wyd. IRS*, Olsztyn, No. 105, 27 p. (in Polish).

ČÍTEK, J., KRUPAUER, V., KUBŮ, F. (1998). *Rybníkářství*. 2. aktualiz. vyd. Praha: Informatorium:123-126.

DEMSKA-ZAKES, K., ZAKES, Z. (2002). Controlled spawning of pikeperch, *Stizostedion lucioperca* (L.), in lake cages. *Czech J. Anim. Sci.*, 47(6): 230-238.

DEMSKA-ZAKES, K., ZAKES, Z., ROSZUK, J. (2005). The use of tannic acid to remove adhesiveness from pikeperch, *Sander lucioperca*, eggs – *Aquacult. Res.* 36: 1458-1464.

DIL, H. (2008). The European market of the pikeperch for human consumption – In: *Percid fish culture, from research to production* (Eds) P. Fontaine, P. Kestemont, F. Teletchea, N. Wang, Presses Universitaires de Namur, Namur, Belgium: 15-16.

DUBSKÝ, K., KOUŘIL, J., ŠRÁMEK, V. (2003). *Obecné rybářství*. Praha:

Informatorium: 215-217.

DVOŘÁK, J. (2009). Odchov ročka candáta obecného (*Sander lucioperca*) v podmínkách intenzivního chovu a možnost jeho kombinace s rybničním chovem. Diplomová práce, Agronomická fakulta MENDELU. 108s.

FAO. (2007) – Fishery information, data and statistics unit – Fishstat Plus: universal software for fishery statistical time series. Version 2.3.2000. Capture production: quantities 1950-2005.

HORVÁTH, L., SZABÓ, T., BURKE, J. (1997). Hatchery testing of GnRH analogue-containing pellets on ovulation in four cyprinid species. Polish Archives of Hydrobiology 44: 221–226.

KAMINSKI, R., KUSZNIERZ, J., MYSZKOWSKI, L., WOLNICKI, J. (2004). The first attempt to artificially reproduce the endangered cyprinid lake minnow *Eupallasella perenurus* (Pallas). *Aquaculture International* 12: 3–10.

KORYCKY, A. (1976). Pikeperch (in Polish). PWRiL, Warszawa, 164 pp.

KOUŘIL, J., BARTH, T. (1981). Artificiall induction of ovulation by LH-RH in tench (*Tinca tinca* L.) (in Czech). Bulletin of Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology, Vodňany, 17, 13–18.

KOUŘIL, J., BARTH, T., HAMÁČKOVÁ, J. (1986). Indukovaný výtěr jikernaček lína pomocí analogů LH-RH. VÚRH JU, Vodňany, edice Metodik č. 20.

KOUŘIL, J., HAMÁČKOVÁ, J. (2005). Metody poloumělé a umělé reprodukce candáta obecného (*Sander lucioperca*) a odchov jeho plůdku v rybnících. Bull. VÚRH Vodňany, 41(3): 122-127.

KOUŘIL, J., HAMÁČKOVÁ, J., BÁRTH, T. (1997). Hormonální indukce umělého výtěru jikernaček některých druhů ryb. VÚRH JU, edice Metodik č. 54.

KOUŘIL, J., HAMÁČKOVÁ, J., HULOVÁ, I., BARTHOVÁ, J. (1999). Hormonální indukce ovulace u kapra pomocí čištěného extraktu kapří hypofýzy. VÚRH JU, edice Metodik č. 61, 4s.

KRÁL, J., SVOBODOVÁ, Z. (1990). Menocain: ČS. anestetikum pro ryby. VÚRH JU, edice Metodik č. 37, 7s.

KRUPAUER, V., PEKAŘ, Č. (1967). Přirozené rozmnožování hospodářsky významných druhů ryb v Lipenské údolní nádrži. II. Dravé druhy. Práce VÚRH Vodňany, 1967, (7): 91-116.

KŘIŠŤAN, J. (2009). Umělý a poloumělý výtěr candáta obecného (*Stizostedion lucioperca*). Diplomová práce, Zemědělská fakulta JCU. 59s.

KUCHARCZYK, D., KUJAWA, R., MACARZ, A., SKRZYPCZAK, A., WYSZOMIRSKA, E. (1996). Induced spawning in perch, *Perca fluviatilis* L., using carp pituitary extract and HCG. Aquacult. Res. 27: 847-852.

KUCHARCZYK, D., KUJAWA, R., MACARZ, A., SKRZYPCZAK, A., WYSZOMIRSKA, E. (1998). Induced spawning in perch, *Perca fluviatilis* L., using FSH + LH with pimozide or metoclopramide. Aquacult. Res. 29: 131-136.

KUCHARCZYK, D., SZCZERBOWSKI, A., LUCZYNSKI, M.J., KUJAWA, R., MAMCZARZ, A., WYSZOMIRSKA, E., SZABO, T., RATAJSKI, S., (2001). Artificial spawning of Eurasian perch, *Perca fluviatilis* L., using ovopel. Arch. Ryb. Pol. 9: 39-49.

LAPPALAINEN, J., DÖRNER, H., WYSUJACK, K. (2003). Reproduction biology of pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)) – a review – Ecol. Freshwat. Fish 12: 95-106.

LINHART, O., GELA, D., RODINA, M., FLAJŠHANS, M. (2000). Umělý výtěr lína obecného s využitím enzymu při odlepkování jiker. VÚRH JU, Vodňany, edice Metodik č. 64, 15s.

LINHART, O., GELA, D., RODINA, M. (2001). Umělý výtěr sumce velkého s využitím enzymu při odlepkování jiker. VÚRH JU, Vodňany, edice Metodik č. 70, 16s.

LINHART, O., RODINA, M., BASTL, J., COSSON, J. (2003). Urinary bladder, ionic composition of seminal fluid and urine with characterization of sperm motility in tench (*Tinca tinca* L.). J. Appl. Ichthyol. 19, 177–181.

LUKS, S., BARUŠ, V., VOSTRADOVSKÝ, J., (1992). Ryby našich vod. Praha: Academia: 202-204.

MUSIL, J., KOUŘIL, J. (2006). Řízená reprodukce candáta obecného a odchov jeho plůdku v rybnících. VÚRH JU, edice Metodik č. 76, 16s.

MÜLLER-BELECKE, A., ZIENERT, S. (2008). Out-of-season spawning of pike perch (*Sander lucioperca* L.) without the need for hormonal treatments – Aquacult. Res. 39: 1279-1285.

OLIVA, O. (1953). K systematice našich okounovitých ryb (*Percidae*). Věst. Král. čes. spol. nauk, tř. mat. - přír., 8: 1-13.

PERCHEC, G., JUELIN, C., COSSON, J., ANDRE, F., BILLARD, R. (1995). Relationship between sperm ATP content and motility of carp spermatozoa. J. Cell Sci. 108, 747–753.

PHILIPSEN, A. (2008). Excellence fish: production of pikeperch in recirculating system – In: Percid fish culture, from research to production (Eds) P. Fontaine, P. Kestemont, F. Teletchea, N. Wang, Presses Universitaires de Namur, Namur, Belgium, p. 67.

PODHOREC, P., KOUŘIL, J. (2009). Induction of final oocyte maturation in Cyprinidae fish by hypothalamic factors: a review. Veterinarni medicina 54 (3): 97-110.

POKORNÝ, J., ADÁMEK, Z., ŠRÁMEK, V., DVOŘÁK, J. (2003). Pstruhařství, Praha Informatorium: Res. 101.

POLICAR, T. (2010). Technická zpráva pilotního projektu- Vyrovnaná produkce plůdku candáta obecného (*Sander lucioperca*) dosažená inovací jeho chovu, Vodňany.

PROTEAU, J.P., SCHLUMBERGER, O. (1996). Reproduction of pike-perch (*Stizostedion lucioperca*) in captivity. *Journal of Applied Ichthyology* 12: 149–152. pp. 42–47.

RÁB, P. (1982). Karyotype of six species of European percid fishes (*Percidae, Pisces*). Abstr. IV. Europ. Ichtyol. Congr., No 243, Hamburg.

RÁB, P., ROTH, P., MAYR, B. (1987). Karyotype study of eight species of European percid fishes (*Pisces, Percidae*). *Caryologia*, 40: 307-318.

RAAT, J.P., (1991). Production, growth, condition and angling vulnerability of zander, *Stizostedion lucioperca* (L.), in relation to the availability of prey fish in ponds. *Aquaculture and Fisheries Management*, 22: 93-104.

RÓNYAI, A. (2007). Induced out-off-season and seasonal tank spawning and stripping of pikeperch (*Sander lucioperca* L.). *Aquacult. Res.* 1-8.

ROTHBARD, S., YARON, Z. (1995). Carps (*Cyprinidae*) – In: Broodstock management and egg and larval quality (Eds) N.R. Bromage, R.J. Roberts, Blackwell Science, UK: 321-352.

SALMINEN, M., RUUHIJÄRVI, J., AHLFORS, P. (1992). Spawning of wild zander (*Stizostedion lucioperca* (L.)) in cages – In: Proceedings of the scientific conference Fish Reproduction '92 (Eds) Z. Adamek, M. Flajshans, Vodnany, Czechoslovakia: 42-47.

SCHLUMBERGER, W., SCHMIDT, K. (1980). Vorläufiger Stand der Technologie zur Aufzucht von vorgestreckt Zandern (*Stizostedion lucioperca* (L.)) – Z. Binnenfisch.

DDR 27 : 284-286.

SOSINSKI, M. (2007). The application of Ovaprim in artificial reproduction of pikeperch. MSc thesis, UWM Olsztyn, 30 pp (In polish with English summary).

STEFFENS, W., GELHAUSER, F., GERSTNER, P., HILGE, V. (1996). German experiences in the propagation and rearing fingerling pikeperch (*Stizostedion lucioperca*). *Annales Zoologici Fennici* 33: 627-634.

TELETCHEA, F., GARDEUR, J.N., PŠENIČKA, M., KAŠPAR, V., DORÉ, Y.L., LINHART, O., FONTAINE, P. (2009). Effects of four factors on the quality of male reproductive cycle in pikeperch *Sander lucioperca*. *Aquaculture* 291: 217–223.

VELÍŠEK, J., STEJSKAL, V., KOUŘIL, J., SVOBODOVÁ, Z. (2009). Comparison of the effects of four anaesthetics on biochemical blood profiles of perch. *Aquaculture Research* 40 (3): 354-361.

VLADYKOV, V. (1931). Les poissons de la Russie Sous-Carpattique (Tchécoslovaquie). *Mém. Soc. Zool. France*, 29 (4): 217-374.

VOLF, F. (1928). Biologie a hospodářský význam candáta obecného. *Zprávy výzk. ústavů zemědělských*, Praha, 35, 68 pp.

VOSTRADOVSKÁ, M. (1974). Výsledky individuálního značkování cejna (*Abramis brama* L.), lína (*Tinca tinca* L.), okouna (*Perca fluviatilis* L.) a candáta (*Stizostedion lucioperca* L.) v údolní nádrži Lipno. *Živoč. výroba*, 19 (9): 641-650.

WOJDA, R., CIESLA, M., SLIWINSKI, J. (1995). Rearing of pikeperch, *Stizostedion lucioperca* (L.), fingerlings in carp ponds. *Roczniki Naukowe PZW*, 8: 75-93 (In Polish with English summary).

ZAKES, Z., DEMSKA-ZAKES, K. (1999). Some practical aspects of controlled pikeperch reproduction. In: *Rybactwo Jeziorowe, The Stanislaw Sakowicz Inland*

Fisheries Institute, Olsztyn, s. 3-98.

ZAKES, Z., DEMSKA-ZAKES, K. (2001). Pikeperch reproduction in lake cages – Wyd. IRS, Olsztyn, No. 183, 24 p. (in Polish).

ZAKES, Z., DEMSKA-ZAKES, K. (2009). Controlled reproduction of pikeperch *Sander lucioperca* (L.): a review, ©Inland Fisheries Institute in Olsztyn. s 1-18.

ZAKES, Z., DEMSKA-ZAKES, K., MUCHA, M., JELONEK, Z. (2001). Effectiveness of hormonal stimulation in the controlled reproduction of pikeperch in lake cages – In: Selected issues in fisheries in 2000 (Ed.) A. Woźos, Wyd. IRS, Olsztyn: 65-72 (in Polish).

ZAKES, Z., DEMSKA-ZAKES, K., ROSZUK, K., KOWALSKA, A. (2006). Removing adhesiveness from pikeperch eggs using tannin and protease – In: Reproduction, rearing and prophylactics of cyprinid fish and other species (Eds) Z. Zakêoe, K. Demska-Zakêoe, J. Wolnicki, Wyd. IRS, Olsztyn: 239-249 (in Polish).

ZAKES, Z., SZCZEPKOWSKI, M. (2004). *Induction of out-of-season* spawning of pikeperch, *Sander lucioperca* (L.) – Aquacult. Int. 12: 11-18.

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

ŽENÍŠKOVÁ, H., GALL, V. (2007). Situační a výhledová zpráva - Ryby 2007, Odbor rybářství, myslivosti a včelařství MZe, str. 16-17.

Abstrakt

Cílem diplomové práce bylo experimentálně najít nejvhodnější způsob umělého výtěru candáta obecného pomocí hormonální stimulace ovulace jikernaček hormonálními preparáty obsahující HCG. Po výtěrech generačních ryb a po umělém oplození získaných jiker experimentálně otestovat nové způsoby umělého odlepkování jiker a následně vyhodnotit úspěšnost inkubace uměle vytřených, oplodněných a odlepkovaných jiker u candáta obecného.

V prvním experimentu byl pozorován vliv různých dávek hormonálního přípravku Chorulon, obsahující účinnou látku HCG, na základní reprodukční ukazatele jikernaček. Hodnocena byla např. synchronizace výtěru, úspěšnost výtěru, množství samovolných výtěrů, plodnost jikernaček, oplozenost a líhivost jiker. Použité dávky HCG byly 250, 500, 700 a 1000 IU na kilogram hmotnosti generační ryby. Všechny uměle vytřené jikry byly odlepkovány směsí mastku a mléka.

V druhém experimentu bylo provedeno porovnání různých druhů odlepkovacích roztoků, u kterých byla vyhodnocována zejména časová a pracovní náročnost a vliv jednotlivých odlepkovacích roztoků na oplozenost a líhivost jiker. V tomto pokusu bylo všem generačním jikernačkám candáta obecného injikováno stejné množství hormonálního přípravku HCG a to 500 IU na kilogram hmotnosti těla generační ryby. Testovanými odlepkovávacími roztoky byla směs mastku a mléka, pouhé promývání jiker vodou a roztok alkalázy o různých koncentracích. Použité množství alkalázy bylo 0,5; 1; 1,5; 2; a 5 ml, které bylo smícháno s destilovanou vodou, tak aby celkový objem roztoku byl 1000 ml.

Třetí experiment simuloval poloprovozní masový výtěr generačních ryb candáta obecného. Všem jikernačkám bylo podáno stejné množství hormonálního přípravku a to 500 IU HCG na kilogram hmotnosti generační ryby. Jikry získané při tomto pokusu byly odlepkovávány směsí mastku a mléka.

V posledním experimentu byla vyzkoušena jedna z metod, kterou by bylo možné omezit počet samovolných výtěrů v průběhu umělého výtěru candáta obecného. Pro zamezení samovolného výtěru byly vybraným jikernačkám (všem bylo injikováno 500 IU HCG na kilogram hmotnosti těla) zašity močopohlavní papily veterinárním sponkovacím strojkem. Jikry získané při tomto pokusu byly odlepkovávány směsí mastku a mléka.

Klíčová slova: candát obecný, HCG, odlepkování jiker, alkaláza, mastek, Zugské lahve.

Abstract

The object of the thesis is to experimentally find the most suitable method of artificial spawning of pikeperch, using hormonal stimulation of ovulation in females hormonal medication containing HCG. After scraping of the broodstock and after artificial fertilization of eggs obtained experimentally test new methods of artificial stickiness removing of eggs and then evaluate the success of artificial incubation of stripped, fertilized and unstickness eggs of pikeperch.

Experiments that are part of the thesis have been divided into several sub-experiments.

In the first experiment was observed effect of different doses of hormonal Chorulon, containing the active substance HCG, the basic indicators of reproductive females. Was evaluated as spawning synchronization, spawning success, the number of spontaneous spawnings, fertility of females and hatching rate of eggs. The used HCG doses were 250, 500, 700 and 1000 IU per kilogram of body weight. All eggs were deprived of stickiness using a mixture of talc and milk.

In the second experiment was carried out comparing different types of removes stickiness solutions. Here was evaluated especially time and labor intensity and the influence of various solutions on fertilization and hatching rate of eggs. In this trial was all pikeperch females injected the same amount of HCG hormone 500 IU per kilogram of body weight. Tested solutions was a mixture of talc and milk, just eggs wash water and the solution of various concentrations alkalase. The amount alkalase was 0.5; 1; 1.5; 2 and 5 ml, which are mixed with distilled water, so that the total volume of the solution was 1000 ml.

The third experiment was supposed to simulate the pilot plant mass propagation of pikeperch females. All females received the same amount of hormone 500 IU of HCG per kilogram of body weight. All eggs were deprived of stickiness using a mixture of talc and milk.

In the last experiment was one of the methods tested, which could limit the number of spontaneous spawning during the artificial spawning of pikeperch. To prevent spontaneous spawning were selected females (all were injected with 500 IU of HCG per kilogram of body weight) sewing genitourinary papilla.

Keywords: pikeperch, HCG, stickiness removing, alkalase, talc, Zugské bottle.