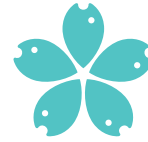




Fakulta rybnářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice



Fakulta rybnářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

Optimalizace reprodukce a chovu plůdku štiky obecné (*Esox lucius* L.) pro vysazování do volných vod

T. Polícar, J. Křišťan, V. Bondarenko, T. Pěnka



ISBN 978-80-7514-141-5





Fakulta rybnářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

Optimalizace reprodukce a chovu plůdku štiky obecné (*Esox lucius* L.) pro vysazování do volných vod

T. Polícar, J. Kříšťan, V. Bondarenko, T. Pěnka

Vodňany



MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ

Publikace vznikla za finanční podpory:

Projektu MZe „Optimalizace dlouhodobě udržitelné a efektivní produkce násad cenných druhů ryb určené k následnému vysazení do volných vod a do vodárenských nádrží“ realizovaného podle smlouvy MZe y:561-2018-15121.



č. 195

ISBN 978-80-7514-141-5

OBSAH

1.	ÚVOD	7
2.	CÍL	9
3.	MÍSTO OVĚŘENÍ TECHNOLOGIE	10
4.	POPIS TECHNOLOGIE	10
4.1.	Použití hormonálních syntetických analogů a kapří hypofýzy k vyvolání a synchronizaci ovulace samic	10
4.2.	Optimalizace umělého oplození jiker	24
4.3.	Masový výtěr generačních ryb pomocí kapří hypofýzy s použitím uměle vytřené spermatu	35
4.4.	Inkubace jiker štiky obecné při různé teplotě vody	38
4.5.	Masová inkubace jiker při optimální teplotě vody	43
4.6.	Odchov larev v rybnících do stadia rychleného plůdku	45
4.7.	Využití rychleného plůdku při odchovu kapří násady v rybnících do konce 1. vegetačního období	52
4.8.	Intenzivní chov larev a juvenilních ryb v RAS do stadia rychleného plůdku určeného pro vysazení do volných vod	56
4.9.	Příprava a vysazení odchovaných ryb do volných vod	64
5.	EKONOMICKÝ PŘÍNOS	64
6.	UPLATNĚNÍ TECHNOLOGIE V PRAXI	65
7.	SEZNAM LITERATURY	65

1. ÚVOD

Štika obecná (*Esox lucius* L.) (Obr. 1) obývá různé přírodní biotopy, jako jsou: jezera s hojnou přibřežní vegetací, mělké a hlubší údolní nádrže, rybníky s členitými břehy, klidné tůně větších potoků či malých až velkých říčních toků (Crossman 1996; Bondarenko a kol., 2013). Může však žít i v brakických vodách. Štika je silně teritoriální druh, který obvykle vede samotářský život (Crossman, 1996). Dospělí jedinci se živí hlavně rybami, ale občas loví žáby či větší bezobratlé živočichy, jako jsou raci. Vnitrodruhový kanibalismus je u tohoto druhu běžný. V arktických jezerech, kde je štika někdy jediným vyskytujícím se druhem na dané lokalitě, je vnitrodruhový kanibalismus běžně pozorován nejen u starších ryb, ale i mezi larvami a juvenilními rybami. Na jiných lokalitách se larvy a juvenilní ryby živí hlavně hrubým zooplanktonem, většími vodními bezobratlými nebo jejich larvami a drobnými rybami jiných druhů (Raaf, 1989). Větší a starší jedinci se živí výhradně dravě (Lusk a Krčál, 1982; Kottelat a Freyhof, 2007). Z uvedených důvodů se ostatní ryby vyhýbají štičím exkrementům, protože obsahují tzv. poplašné feromony. Především dospělé štiky ukládají exkrementy na určitá místa, která jsou vzdálená od míst, kde loví (Kottelat a Freyhof, 2007). Štika nemigruje na příliš velkou vzdálenost (několik set metrů až kilometrů), přesto je přizpůsobena pro dlouhotrvající a relativně rychlý pohyb (Craig, 1996).

Štika obecná je cenným hospodářským druhem, který je oblíbený mezi sportovními a produkčními rybáři (Mann, 1996). Hlavním důvodem této obliby je poptávka konzumentů ryb po její vysoce kvalitní svalovině. Nicméně svalovina štiky má typické aroma, což některé konzumenty od její konzumace naopak odrazuje. Štika se v českém produkčním rybářství chová a produkuje extenzivním způsobem v hlavních produkčních rybnících v hustotě menší než $1 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$. Její roční produkce v ČR mezi lety 2016–2019 dosahovala v produkčním rybářství 79 až 94 tun. Vedle toho sportovním rybolovem bylo ve stejném období na udici ročně uloveno 110–135 tun štiky obecné (Mořický a kol., 2020).

V rybničním chovu štika působí jako vrcholový predátor a dravec polykulturních obsádek, kde je hlavním druhem kapr obecný (*Cyprinus carpio*). Štika v těchto podmínkách potlačuje výskyt drobných a méně hospodářsky významných druhů (hlavně kaprovitých) ryb, což snižuje potravní konkurenci kaprovi a umožňuje mu dosáhnout vyšších přírůstků a zefektivňuje tak celkovou produkci (Adámek a kol., 2010; Bondarenko a kol., 2013; Bondarenko, 2014). Predační tlak štiky obecné je také efektivně využíván ve vodárenských a údolních nádržích, kde štika stejným způsobem jako v rybnících eliminuje drobné kaprovitě ryby. Při tzv. biomanipulaci snižuje výskyt planktonofágních ryb, a tím

podporuje výskyt zooplanktonu, potažmo snižuje výskyt fytoplanktonu, čímž se celkově zlepšuje kvalita vody na dané lokalitě (Prejs a kol., 1994; Adámek a kol., 2010).



Obr. 1. Štika obecná – *Esox lucius* L. (Foto: T. Polícar a kresba: T. Pěnka).

Při reprodukci, chovu a komerční produkci štiky obecné existuje v současnosti několik produkčních úskalí a limitů, které je důležité postupně řešit a optimalizovat s cílem zvýšit produkci tržních ryb tohoto druhu v ČR, potažmo v Evropě. Prvním produkčním problémem je nevyrovnaná kvalita

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTIKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS* L.) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD

pohlavních produktů (jiker a spermatu), která je závislá především na průběhu počasí v daném roce, způsobu chovu, věku a velikosti generačních ryb (Billard, 1996; Bondarenko a kol., 2013). Druhým významným problémem v reprodukci štiky obecné je nedostatečná synchronizace výtěru a dlouhé přirozené období výtěru generačních ryb (Švinger a kol., 2012; Bondarenko a kol., 2013; 2015a; Bondarenko, 2014). Třetím problémem je nedostatečné množství produkovaného spermatu samců, jeho častá kontaminace močí či krví, když se sperma vytírá z těla samců při jejich umělém výtěru. Tato skutečnost často přináší nutnost využívat při reprodukci štiky tzv. testikulární sperma, které se získává z varlat vypreparovaných z těla předem zabitých samců. To způsobuje nemožnost opakovaně samce využívat k reprodukci a ke ztrátě samců v chovu (Billard, 1996; Hulák a kol., 2008a,b; Bondarenko a kol., 2013; 2018; Plaňanský, 2018). Čtvrtým problémem je technika umělého oplození jiker (Kristan a kol., 2020), vysoká náchylnost oplozených jiker a embryí štiky obecné k otřesům a nešetrnému způsobu jejich inkubace, což způsobuje nízkou líhivost larev (Policar, 2012a; Hampl, 2015; Bondarenko a kol., 2015b). Pátým problémem, je zmíněný vysoký kanibalismus vyskytující se v chovu již od larválních stadií (Policar, 2012b; Dušek, 2013). Šestým a určitě ne posledním problémem limitujícím vyrovnanou a kvalitní produkci štiky obecné je fakt, že u tohoto druhu chybí jakékoliv trvalé a ucelené aktivity týkající domestikálního procesu, a to navzdory četným pokusům o trvalý a kontrolovaný chov tohoto druhu (Billard, 1996; Bondarenko a kol., 2013; Bondarenko, 2014). Skutečnost, že je chován nedomestikovaný druh, způsobuje následně problémy související s různou rychlostí růstu ryb, kanibalismem, nízkým přizpůsobením ryb na kontrolované podmínky chovu a možným poškozením ryb při manipulaci včetně vzniku stresu (Bondarenko a kol., 2013). Tyto fyziologické reakce chovaných štik se negativně projevují ve sníženém přežívání, růstu a zhoršené reprodukci ryb či minimálně ve velké variabilitě těchto produkčních parametrů.

2. CÍL

Cílem této ověřené technologie bylo pokusit se v experimentálních podmínkách Fakulty rybářství a ochrany vod, Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích (FROV JU) a také v poloprovozních podmínkách podniku BioFish, s.r.o., optimalizovat jak reprodukci generačních ryb, tak odchov larev a juvenilních ryb štiky obecné v rybníční a také v intenzivní akvakultuře. Cílem této práce bylo též popsat metody a postupy, které mohou v budoucnosti zvýšit efektivitu produkce gamet, embryí a juvenilních ryb štiky určených k vysazení do volných vod, a to především do vodárenských a údolních nádrží České republiky.

3. MÍSTO OVĚŘENÍ TECHNOLOGIE

Experimentální aktivity a poloprovozní pokusy, které se týkaly technologické inovace řízení reprodukce, inkubace jiker a odchovu larev a juvenilních ryb štiky obecné, byly realizovány v letech 2020–2021 pracovníky FROV JU ve spolupráci s pracovníky produkčního podniku BioFish, s.r.o., který se nachází nedaleko obce Pravíkov na Vysočině.

4. POPIS TECHNOLOGIE

4.1. Použití hormonálních syntetických analogů a kapří hypofýzy k vyvolání a synchronizaci ovulace samic

4.1.1. Materiál a metodika

Použité ryby, jejich hormonální ošetření a chovatelské podmínky

V polovině března 2020 (konkrétně 11. 3. 2020) bylo celkem 49 generačních samic ve věku 3 až 4 let o průměrné kusové hmotnosti $W = 2\ 600 \pm 450$ g) a 50 samců ve věku dvou let s průměrnou $W = 870 \pm 220$ g získáno z jarních výlovů produkčních rybníků podniku BioFish, s.r.o. Zmíněné ryby byly přímo z výlovu naloženy na transport do dvou transportních beden o celkovém objemu vody 3 000 litrů při hustotě 61,3 kg na 1 000 litrů. Po převozu byly ryby vysazeny na experimentální rybochovné pracoviště a pokusnictví (ERPP) FROV JU do semiprůtočného recirkulačního akvakulturního systému (RAS) nazývaného jako „Starý model“. Před vysazením byly všechny ryby zváženy s přesností na jeden gram na vahách Mettler AE 2000 (Mettler Toledo, s.r.o, ČR) individuálně označeny PIT čipy (DATA MARS SA, USA). Samice byly vysazeny do šesti nádrží (skupin) o užitném objemu 600 litrů po sedmi kusech a samci do dvou nádrží o objemu 600 l po 20 kusech. Semirecirkulační systém se skládal: z osmi odchovných nádrží, z jednoho biologicko-mechanického filtru o objemu 1 200 litrů od firmy Alcedor, s.r.o., ČR, z jednoho ponorného HCP čerpadla od firmy Neptun, s.r.o., ČR, o výkonu $200\ \text{l}\cdot\text{min}^{-1}$, z jedné ponorné UVC lampy série AM/90W CNSDIN od firmy UV Technics z ČR, z přímotopného ohřevu (Sladký Vodňany, ČR) zajišťující stálou teplotu vody a z plastové retenční nádrže o objemu 1 000 litrů od firmy Ekory, s.r.o., ČR. Z retenční nádrže tekla voda samospádem do odchovných nádrží přes směšovač kyslíku od stejné firmy. Průtok vody nádržemi byl nastaven na 20 litrů za minutu, takže voda se v nádrži vyměnila 2x za hodinu. Do tohoto systému kontinuálně přitékala čerstvá voda z náhonu řeky Blanice s průtokem 10 litrů za minutu, tzn. voda se v celém systému teoreticky vyměnila jednou za hodinu.

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTIKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS* L.) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD

Teplota vody při nasazení ryb do systému byla nastavena na 7 °C, tzn. její teplota byla o 1,5 °C vyšší, než byla voda v rybníce, odkud byly ryby vyloveny. Obsah kyslíku ve vodě se pohyboval mezi 100 až 110 % nasycení a pH bylo udržováno dávkováním 50 gramů jedlé sody jedenkrát za den na hodnotě $7,1 \pm 0,2$. Obsah kyslíku a hodnota pH byly jedenkrát denně měřeny oxymetrem Pro ODO od firmy YSI Ltd. z USA a pHmetrem 3310 od firmy WTW, s.r.o., ČR. Fotoperioda byla 11,5 hodiny světla a 12,5 hodiny tmy, což odpovídá přirozené fotoperiodě platné pro použitou oblast a roční období. V průběhu tří dnů po vysazení ryb do nádrží došlo k postupnému zvyšování teploty vody na 10,5 °C. V okamžiku, kdy bylo dosaženo teploty vody 10,5 °C, byly samice perikardiálně (do osrdečniku – do jamky pod bázi prsní ploutve, Obr. 2) injikovány syntetickým analogem lososího GnRH_a buďto v kombinaci s dopaminerním inhibitorem (metoclopramid – MET) získaným od firmy Sigma Aldrich z Německa nebo bez něj nebo kapří hypofýzou (CP) podle níže uvedeného schématu:

- 1. skupina (sGnRH_a + MET + FIA):** v této skupině byl aplikován lososí sGnRH_a D-Arg⁶Pro⁹NEt (50 µg.kg⁻¹ živé hmotnosti) v kombinaci s dopaminerním inhibitorem metoclopramidem (10 mg.kg⁻¹ živé hmotnosti) s následným rozpuštěním ve fyziologickém roztoku (0,9% NaCl) od firmy Braun Melsungen AG, Německo a emulsifikací ve Freundově inkompletním adjuvanci (FIA) od firmy Sigma Aldrich z Německa v poměru 1 : 1, kdy 50 µg sGnRH_a a 10 mg metoclopramidu bylo rozpuštěno v 0,5 ml fyziologického roztoku a poté homogenizováno s 0,5 ml FIA. Každá samice v této skupině byla ošetřena výše uvedeným hormonálním přípravkem o objemu 1 ml na 1 kg živé hmotnosti. Stejný objem hormonálního ošetření byl aplikován i u následujících skupin ryb.
- 2. skupina (sGnRH_a + MET):** v této skupině byl aplikován lososí sGnRH_a D-Arg⁶Pro⁹NEt (50 µg.kg⁻¹ živé hmotnosti) v kombinaci s dopaminerním inhibitorem metoclopramidem (10 mg.kg⁻¹), kdy byly zmíněné látky rozpuštěny v 1 ml fyziologického roztoku.
- 3. skupina (sGnRH_a + FIA):** v této skupině byl aplikován lososí sGnRH_a D-Arg⁶Pro⁹NEt (50 µg.kg⁻¹ živé hmotnosti) s následným rozpuštěním ve fyziologickém roztoku a emulzifikací ve FIA v poměru 1 : 1 (50 µg sGnRH_a bylo rozpuštěno v 0,5 ml fyziologického roztoku a poté homogenizováno s 0,5 ml FIA).
- 4. skupina (sGnRH_a):** v této skupině byl aplikován pouze lososí sGnRH_a D-Arg⁶Pro⁹NEt (50 µg.kg⁻¹ živé hmotnosti) po rozpuštění v 1 ml fyziologickém roztoku.
- 5. skupina (CP 4 mg.kg⁻¹):** v této skupině byly aplikovány dehydrované kapří hypofýzy rozpuštěné ve fyziologickém roztoku tak, aby aplikovaná dávka 4 mg.kg⁻¹ byla podávána v objemu 1 ml.

6. skupina (CP 4 mg.kg⁻¹ + FIA): v této skupině byly aplikovány dehydrované kapří hypofýzy rozpuštěné ve fyziologickém roztoku a následně homogenizované ve FIA v poměru 1 : 1 tak, aby dávka 4 mg.kg⁻¹, byla podávána v objemu 1 ml.

7. skupina (kontrola): v této skupině byl aplikován fyziologický roztok homogenizovaný ve FIA v poměru 1 : 1 s následnou aplikací 1 ml.kg⁻¹.



Obr. 2. Hormonální ošetření generačních ryb štiky obecné (*Esox lucius* L.) (Foto: T. Policar).

Generační samci byli hormonálně ošetřeni ihned po ošetření samic jednou dávkou 4 mg.kg⁻¹ dehydrované kapří hypofýzy rozpuštěné v 1 mililitru fyziologického roztoku. Před jakoukoli manipulací byly ryby anestetizovány v lázni hřebíčkového oleje o koncentraci 0,03 ml.l⁻¹ (Zaikov a kol., 2008; Kristan a kol., 2012; Obr. 3).

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTILKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS* L.) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD



Obr. 3. Generační samci štilky obecné (*Esox lucius* L.) před hormonální stimulací v anestezii hřebíčkového oleje (Foto: T. Polícar).

Používané dehydrované kapří hypofýzy byly pořízeny z rybářského podniku Rybníkářství Pohořelice, a.s. Pro jejich aplikaci bylo požadované množství hypofýz nejprve naváženo na váhách KERN-ABT 220-SDM (KERN & SOHN GmbH, Německo) s přesností 0,1 mg. Navážené množství hypofýz bylo přesypáno do keramické třecí misky a pomocí keramického tloučku rozmělněno na co nejjemnější prášek. Poté byl do třecí misky přidán 0,9% roztok NaCl v takovém objemu, aby výsledná koncentrace hypofýz činila 4 mg v jednom ml suspenze, jak v případě emulzifikace ve FIA nebo bez ní. Všechny hormonálně ošetřené ryby tímto způsobem obdržely 1 ml suspenze hypofýz na 1 kg živé hmotnosti.

Umělý výtěr samic a hodnocení jejich reprodukce

Ovulace jiker a stav genitální papily byly u samic kontrolovány 24 hodin před předpokládaným umělým výtěrem, tzn. 3 dny po hormonální stimulaci (Švinger a kol., 2012; Kouřil a kol., 2020). Počáteční kontroly generačních samic byly prováděny ve 4hodinovém intervalu a po výtěru první samice byly ostatní ryby kontrolovány častěji, a to v intervalu dvou hodin. Samice byly kontrolovány šetrně a velmi opatrně, aby nedocházelo ke zbytečnému stresu ryb a povrchovému poranění těla generačních ryb.

Pokud kontrolovaná samice uvolňovala jikry, byla z nádrže odlovena. Před vlastním umělým výtěrem byla použita stejná anestezie v hřebíčkovém oleji jako před hormonálním ošetření ryb. Po zklidnění byla samice vždy zabalena do vlhké tkaniny (Obr. 4). Před vlastním výtěrem byly osušeny břišní partie samice a umělý výtěr byl proveden postupným masírováním břišní partie těla. Ovulované jikry byly pomalu a velmi šetrně vytírány do předem zvažných a označených suchých misek. Do jedné misky byla vždy vytřena jen jedna samice.



Obr. 4. Ovulující generační samice štiky obecné (*Esox lucius L.*) připravená na umělý výtěr (Foto: T. Polícar).



Obr. 5. Umělý výtěr generační samice štiky obecné (*Esox lucius L.*) (Foto: T. Polícar).

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTIKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS* L.) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD

Po ukončeném umělém výtěru každé samice (Obr. 5) byly z celkové snůšky jiker, která byla zvážena pomocí váhy KERN-40X s přesností na 0,1 g, odebrány tři vzorky jiker o přibližné hmotnosti kolem 1 gramu. Tyto vzorky byly následně zváženy na analytických vahách KERN-ABT 220-SDM s přesností 0,1 mg. Poté byly jikry v každém zváženém vzorku spočítány a z tohoto údaje byla výpočtem získána hmotnost jedné jikry v miligramech, potažmo počet jiker na 1 gram, kdy 1 000 mg bylo vyděleno průměrnou hmotností jikry v mg.

Absolutní plodnost (v kusech a gramech jiker) každé samice byla zjištěna zvážením celé snůšky jiker ještě před odběrem vzorků. Relativní plodnost samice (v podobě počtu jiker či hmotnosti jiker v gramech na 1 kilogram hmotnosti samice) byla zjištěna vydělením absolutní plodnosti dané samice její hmotností v kilogramech podle vzorců:

$RP_{g,kg^{-1}} = A / B$, kde RP je relativní plodnost v gramech.kg⁻¹, A je hmotnost vytřených jiker v gramech a B je hmotnost samice před výtěrem v kilogramech.

$RP_{ks,kg^{-1}} = C / B$, kde C je celkový počet vytřených jiker zjištěný z počtu jiker v jednom gramu a vynásobený hmotností celkové snůšky v gramech.

Po odběru vzorků jiker byly misky s jednotlivými snůškami jiker od každé samice přikryty vlhkým hadrem a umístěny do místnosti o teplotě 5 °C. Po provedení umělého výtěru (vytlačení jiker z těla samic) u všech ovulujících samic byla v jednotlivých miskách změřena hodnota pH ovariální tekutiny pomocí pHmetru typu InoLab pH 720 od firmy WTW ČR. Jelikož hodnota pH ovariální tekutiny byla v různých místech a vrstvách vytřených jiker odlišná, bylo v každé misce provedeno pět měření hodnot pH. Vedle údajů o plodnosti a pH ovariální tekutiny byla u každé samice z termínu a času výtěru také spočítána latence, tzn. délka období od hormonálního ošetření po vlastní výtěr v hodinách. Z celkového počtu použitých a úspěšně vytřených samic byla po výtěrovém období stanovena také efektivita (úspěšnost) výtěru a celková produkce jiker od všech vytřených samic.

Umělý výtěr samců a hodnocení jejich reprodukce

Sperma od všech generačních samců bylo po jejich anestezii a osušení (realizovaných podobně jako u samic) odebíráno do injekčních stříkaček o objemu 10 mililitrů, tzn. při tomto experimentu bylo k oplození získaných jiker používáno jen uvolněné a uměle vytřené sperma. Před vlastním odběrem spermatu byla u každého samce pečlivě provedena břišní masáž s cílem co nejvíce odstranit moč z močového měchýře a urogenitálních vývodů. Teprve po vyprázdnění moči z močového měchýře bylo sperma od jednoho samce odsáváno do jedné injekční stříkačky.

Po odběru spermatu byl u každého samce zjišťován: objem získaného spermatu v mililitrech, koncentrace spermií v miliardách na 1 mililitr spermatu a poté absolutní (na jedince) a relativní (na kilogram jeho živé hmotnosti) celkový počet získaných spermií. Celkový počet získaných spermií byl zjištěn tak, že se objem spermatu (v ml) vynásobil hustotou spermií na 1 mililitr spermatu. Objem spermatu byl zjišťován pomocí injekční stříkačky s přesností na 0,1 mililitru. Koncentrace spermií byla zjišťována mikroskopicky v Bürkerově počítací komůrce. Sperma bylo 10 000krát zředěno fyziologickým roztokem a následně bylo 10 μ l zředěného spermatu nanášeno do počítací komůrky pod mikroskop Olympus BX41 od firmy Olympus, Japonsko. Zde byl počet jednotlivých spermií počítán ve 20 čtvercích a z nich byla pak stanovena průměrná hodnota.

Za použití mikroskopu Olympus BX50 s optikou tmavého pole, s objektivem se zvětšením 20krát a se zábleskovým stroboskopickým LED osvětlením ExposureScope vyvinutým na FROV JU byla dále měřena rychlost ($\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) a procento pohyblivých spermií (%) 15 sekund po jejich aktivaci. Na podložní sklíčko bylo vždy nanášeno 0,5 μ l spermatu, které bylo aktivováno vodou z líhně o objemu 49,6 μ l s přídavkem 0,1% BSA (bovinní sérový albumin od firmy Thermo Fisher Scientific, ČR) zabráňující přilepení spermií na podložní sklíčko. Dané parametry byly zaznamenány a vyhodnoceny pomocí CCD videokamery SONY SSC-DC 50 AP (Japonsko) a DVD videorekordéru SONY SVO-9500 MDP. Průměrné hodnoty rychlosti a procenta pohybujících se spermií byly počítány u 35 spermií ve snímku a z pěti po sobě jdoucích snímků pomocí mikroobrazového analyzátoru Olympus Micro Image 4.0.1. pro Windows, Japonsko. Analýza obou parametrů motility spermií byla provedena třikrát pro každý vzorek od jednoho samce. Veškeré tyto postupy byly provedeny v souladu s podobně zaměřenými publikovanými studiemi, Hulák a kol. (2008a,b), Bondarenko a kol. (2018) a Kristan a kol. (2020).

U všech odebraných vzorků, které byly určeny ke stanovení koncentrace a pohyblivosti spermií, byla také změřena osmolalita semenné plazmy. Každý vzorek byl postupně dvakrát odstředěn v centrifuze Thermo Fresco 17 od firmy Thermo Electron LED GmbH z Německa. První odstředění probíhalo po dobu 20 minut při teplotě 4 °C s rychlostí odstředění 0,3 x g. Druhé odstředění probíhalo stejnou dobu při stejné teplotě, ovšem při rychlosti odstředění 3,0 x g. Po odstředění byl vzorek semenné plazmy přesunut do čisté Eppendorf zkumavky o objemu 2 ml. U každého takto připraveného vzorku byla měřena osmolalita pomocí přístroje VAPRO Vapor Pressure Osmometer 5600 od firmy ELITech Group Inc. z USA. Osmolalita byla měřena u každého vzorku třikrát v objemu 10 μ l semenné plazmy, která byla do přístroje odebrána pomocí mikropipety 1–10 μ l od firmy Eppendorf AG (Německo). Osmometr byl

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTIKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS* L.) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD

pokaždém vzorku kalibrován a osmolalita byla měřena v jednotkách $\text{mOsmol}\cdot\text{kg}^{-1}$. Po odběru spermatu od všech samců byla na konci výtěrového období vyhodnocena úspěšnost výtěru samců, kdy počet úspěšně vytřených samců byl vydělen celkovým počtem použitých samců a výsledek byl vynásoben 100 (%).

Postup umělého oplození získaných jiker

V průběhu výtěrového období, vždy po získání jiker a vyhodnocení jejich kvality od jedné samice bylo odebráno a vyhodnoceno sperma od tří samců způsobem popsaným výše. Následně byly jikry jedné samice oplozeny smíšeným spermatem od tří samců, který byl tvořen stejným (třetinovým) objemem spermatu od každého samce. Celkem bylo na oplození 500 gramů jiker použito 1 ml smíšeného spermatu (cca 264–328 tisíc spermií na jednu jikru). Jikry a spermie byly jemně smíchány a aktivovány pomocí oplozovacího roztoku podle Hochleithnera (2004) a Bondarenka a kol. (2013) obsahujícího $20 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ močoviny $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ od firmy Sigma Aldrich z Německa a $5 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ soli (NaCl). Oplozovací roztok byl použit v poměru 50 mililitrů roztoku na 100 gramů jiker. Gamety byly jemně promíchány s oplozovacím roztokem a tato směs byla následně ponechána 5 minut v klidu. Následně byla směs jiker, spermatu a oplozovacího roztoku promyta vodou z líhně, do které pak byly jednotlivé snůšky oplozených a odlepkovaných jiker (po odběru různých vzorků) vysazeny k masové inkubaci podle Bondarenka a kol. (2013) (viz kapitola 4.5.). Za účelem stanovení oplozenosti jiker (4 dny po oplození) a líhivosti, potažmo procentuálního podílu vylíhnutých embryí, byly ještě před vlastním odlepkováním jiker z jednotlivých snůšek odebrány tři vzorky oplozených jiker (každý po 100 ks jiker). Použitý oplozovací roztok mírně snižoval lepivost jiker a umožnil snadné a rychlé odebrání zmíněných vzorků jiker bez zdlouhavého odlepkování.

Celkem tři odebrané vzorky jiker od každé samice byly umístěny do miniaturních inkubačních plastových aparátů o rozměrech $200 \times 100 \times 150 \text{ mm}$ a objemu 3 litry, s konstantním průtokem vody $1 \text{ liter}\cdot\text{min}^{-1}$ (Obr. 6). Jikry byly na dno inkubátoru rovnoměrně rozmístěny tak, aby se navzájem nedotýkaly. Jelikož tyto jikry nebyly odlepkované, cca do jedné hodiny po jejich vysazení se na dno inkubátoru pevně přilepily, a tím byly od sebe trvale odděleny. Odtok vody z inkubátoru byl zabezpečen proti odplavení vylíhnutých embryí mřížkou o rozměrech ok $0,5 \times 0,5 \text{ mm}$ (Polícar a kol., 2021b). Inkubační aparáty byly umístěny v experimentálním inkubačním RAS umístěném v jedné experimentální místnosti na ERPP FROV JU o celkovém objemu vody 500 litrů. Tento RAS byl vybavený termostatickým chladičem, který umožňoval udržovat teplotu vody v průběhu inkubace na hodnotě $10 \text{ }^\circ\text{C}$. Obsah kyslíku při inkubaci jiker byl držen na hodnotě kolem 100 % a hodnota pH se pohybovala

okolo 7. Vysazené jikry byly po umístění do inkubačních aparátů ponechány v naprostém klidu 4 dny. Po čtyřech dnech od oplození byly všechny jikry (VJ) v jednotlivých inkubátorech hromadně vyfoceny fotoaparátem Olympus E-M5 Mark II. Z pořízených fotek byla na základě identifikace odumřelých a živých jiker (ŽJ) podle jejich zbarvení (odumřelé = bílé jikry, živé = průhledné jikry se žlutým nádechem) stanovena oplozenost jiker, jako: $\text{Opl.} = \text{ŽJ} / \text{VJ} \times 100$. Na konci inkubace (cca 13. den po oplození jiker) byly u všech inkubátorů spočítány vylíhnuté larvy (VL) a následně vypočítána líhivost larev (L), jako: $L = \text{VL} \times 100 / \text{CL}$, kde CL je celkový počet nasazených jiker do inkubátoru. Dále byl u vylíhnutých larev spočítán procentuální podíl kvalitních (nedeformovaných) a morfologicky deformovaných larev (larvy s deformací páteře či dvouhlavé larvy; Obr. 7).



Obr. 6. Inkubátory použité při inkubaci vzorků jiker štiky obecné (*Esox lucius L.*) (Foto: T. Polícar).

Umělý výtěr hormonálně různě stimulovaných samic byl charakterizován: podílem vytřených samic, délkou latence, absolutní a relativní plodností, hmotností jedné jikry, počtem jiker na jeden gram, pH ovariální tekutiny, oplozeností jiker, líhivostí a podílem kvalitních a deformovaných larev.

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTIKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS* L.) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD

Získané hodnoty byly statisticky porovnány mezi skupinami pomocí programu Statistica 12.0 CZ (StatSoft Inc., USA). Hierarchická analýza rozptylu byla využita pro zjištění rozdílů v délce latence, plodnosti, hmotnosti jiker, počtu jiker na jeden gram snůšky, hodnotě pH ovariální tekutiny, oplozenosti jiker, líhivosti a podílu kvalitních larev. Všechny testy byly provedeny na hladině významnosti $P < 0,05$. Data jsou zobrazena jako průměry \pm standardní chyba průměru.



Obr. 7. Dvouhlavá larva štiky obecné (*Esox lucius* L.) po vylíhnutí (Foto: J. Hampf).

4.1.2. Výsledky

Reprodukce samic

Úspěšnost ovulace použitých samic, které byly různým způsobem hormonálně stimulovány, včetně jejich jednotlivých reprodukčních parametrů z realizovaných umělých výtěrů, jsou sumarizovány v Tab. 1. Z výsledků vyplývá, že pouze skupiny samic, které byly stimulovány kapří hypofýzou, ať již emulzifikovanou ve Freundově inkompletním adjuvanciu nebo bez něj (CP a CP + FIA), ovulovaly. U další skupiny, kde bylo k hormonální stimulaci použito lososího GnRH analogu v kombinaci s dopaminergním inhibitorem metoclopramidem, ovulovala jen jedna samice (14,3 %). Tato ovulace byla považována za náhodnou. V ostatních skupinách včetně kontroly v průběhu 8denního období od prvního výtěru neovulovaly žádné samice. Díky těmto výsledkům je hormonální stimulace ovulace jiker u samic štiky obecné pomocí lososího GnRH a v kombinaci s metoclopramidem či Freundovým inkompletním

adjuvanciem či bez nich považovaná za neúspěšnou a neefektivní. Tyto výsledky potvrzují, že pouze hormonální ošetření pomocí kapří hypofýzy je jediným efektivním způsobem, který vedl k úspěšnému vyvolání ovulace u samic štiky obecné (Tab. 1).

Délka latence trvala u vytřených samic od 96 do 108 hodin. Nejkratší latenci měly samice stimulované jen kapří hypofýzou ($96 \pm 4,0$ hodin). Naopak nejdelší latence byla zaznamenána ve skupině hormonálně ošetřené lososím GnRHa v kombinaci s metoclopramidem (108 hodin). U samic, které byly stimulovány kapří hypofýzou s použitím FIA, byla délka latence $98,2 \pm 8,0$ hodin. Z těchto výsledků vyplývá, že se všechny samice vytřely během jednoho dne. Výsledky ukazují, že výtěr samic byl vysoce synchronizovaný, což zlepšovalo efektivitu práce na líhni v průběhu výtěrů, včetně oplozování a následné inkubace jiker (Tab. 1). Hodnoty absolutní a relativní plodnosti byly ve všech skupinách vyrovnané, bez statistických rozdílů. Od všech 15 vytřených samic bylo celkem získáno 1 200 000 neoplozených jiker. Hmotnost jedné neoplozené jikry se ve všech skupinách, kde došlo k úspěšné ovulaci jiker alespoň u jedné samice, pohybovala od 6,4 do 8,0 mg s tím, že největší jikry byly získány od samic ze skupiny CP + FIA a nejmenší ze skupiny CP. Hodnoty pH ovariální tekutiny byly velmi podobné u všech testovaných skupinách a byly vždy zásaditého charakteru od 8,11 do 8,35. To ukazuje na to, že ovulované jikry nebyly přezrálé, a že tudíž nedocházelo k jejich spontánnímu praskání v průběhu jejich vytlačování z těla samic. Přezrálé jikry po ovulaci a při umělém výtěru (vytlačování z těla samice) totiž velmi často praskají a snižují pH ovariální tekutiny pod hodnotu 7 (Švinger a kol., 2012). Při inkubaci oplozených jiker byla zjištěna vyrovnaná míra oplozenosti jiker (52,3–55,4 %) a líhivosti larev (40,4–45,1 %) v jednotlivých skupinách samic. Zjištěné hodnoty oplozenosti jiker a líhivosti larev víceméně odpovídají průměrným či nižším hodnotám, které pro umělou reprodukci štiky uvádějí následující autoři: Policar (2012a), Švinger a kol. (2012); Bondarenko (2014); Bondarenko a kol. (2013; 2015a). Snížené hodnoty oplozenosti jiker a líhivosti larev mohly souviset s použitým uměle vytřeným spermatem, které podle výsledků reprodukce samců (viz následující text) bylo pravděpodobně kontaminováno močí uvolněné z močového měchýře (Obr. 8). Použité uměle vytřené sperma totiž vykazovalo nižší osmolalitu semenné plazmy (viz následující text). Tento závěr je v souladu s výsledky Huláka a kol. (2008a,b), Bondarenka a kol. (2018) a Kristana a kol. (2020) a ukázal na nutnost otestovat použití testikulárního spermatu při umělém výtěru a oplození jiker štiky. Po vylíhnutí larev bylo zjištěno, že 81,5–89,0 % larev bylo bez jakýchkoliv morfologických deformit bez rozdílů mezi skupinami samic, což je z pohledu následujícího larválního odchovu dobrý výsledek.

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTIKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS L.*) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD

Tab. 1. Vliv různé hormonální indukce ovulace jiker samic ($n = 7$) štiky obecné (*Esox lucius L.*) na úspěšnost ovulace, délku latence, plodnost a další reprodukční parametry. Údaje jsou uvedeny jako průměr \pm standardní chyba průměru.

Skupina	Úspěšnost ovulace (%)	Délka latence (hodiny)	Plodnost		Hmotnost jedné jikry (mg)	Počet jiker na 1 gram snůšky (ks)	pH ovariální tekutiny	Oplozenost jiker (%)	Lhntvost larev (%)	Podíl kvalitních larev (%)	
			Absolutní g.ks ⁻¹	Relativní ks.kg ⁻¹							
sGnRH _a +MET+EIA	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
sGnRH _a +MET	14,3	108 \pm 0	500 \pm 110 ^a	192,3 \pm 42,3 ^a	26 000 \pm 5 720 ^a	7,4 \pm 1,5 ^{ab}	135,2 \pm 52,1 ^b	8,35 \pm 0,53 ^a	55,4 \pm 9,5 ^a	40,4 \pm 17,8 ^a	81,5 \pm 9,0 ^a
sGnRH _a + FIA	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
sGnRH _a	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CP	100	96 \pm 4,0 ^a	560 \pm 95 ^a	215,4 \pm 36,5 ^a	33 492 \pm 6 072 ^a	6,4 \pm 1,8 ^a	155,5 \pm 30,0 ^a	8,11 \pm 0,42 ^a	52,3 \pm 11,0 ^a	45,1 \pm 15,5 ^a	89,0 \pm 7,0 ^a
CP + FIA	100	98,2 \pm 8,0 ^a	599 \pm 105 ^a	230,4 \pm 40,4 ^a	28 798 \pm 5 048 ^a	8,0 \pm 2,0 ^a	125,0 \pm 28,9 ^a	8,27 \pm 0,33 ^a	53,5 \pm 8,5 ^a	40,5 \pm 18,0 ^a	85,5 \pm 6,5 ^a
Kontrola	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Vysvětlivky: indexy^{a,b} označují ve sloupci statistické rozdíly daného parametru výtěru mezi různým hormonálním ošetřením samic ($P < 0,05$).



Obr. 8. Močí naplněný močový měchýř usmrčeného samce štiky obecné (*Esox lucius L.*) (Foto: T. Polícar).

Reprodukce samců

Z padesáti hormonálně ošetřených samců bylo uměle vytřeno sperma jen od 45 samců. To znamená, že úspěšnost výtěru samců byla 90 %. Uměle vytřené sperma mělo velmi řídkou konzistenci. Od jednoho samce byl průměrně získán poměrně velký objem spermatu ($1,7 \pm 0,4$ ml), které obsahovalo $20,5 \pm 5,3$ miliard spermií na jeden mililitr. Absolutní plodnost vytřených samců byla průměrně 34,9 miliard spermií, resp. 40,1 miliard spermií vytřených z jednoho kilogramu živé hmotnosti samců. V čase 15 sekund po aktivaci spermií bylo zjištěno, že se pohybovalo jen $57 \pm 12\%$ spermií a jejich průměrná rychlost byla $155 \pm 64 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$. Lehce snížená pohyblivost spermií byla pravděpodobně způsobena zjištěnou nižší osmolalitou semenné plazmy ($255 \pm 52 \text{ mOsmol}\cdot\text{kg}^{-1}$), která odhalila kontaminaci spermatu močí při umělém výtěru (vytlačování) spermatu (Tab. 2).

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTÍKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS L.*) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD

Tab. 2. Parametry kvality spermatu získaného od generačních samců štiky obecné (*Esox lucius L.*) hormonálně ošetřených kapří hypofýzou v dávce 4 mg.kg⁻¹ živé hmotnosti.

Reprodukční ukazatel	Hodnota
Úspěšnost výtěru (%)	90
Konzistence spermatu	velmi řídká
Průměrný objem spermatu (ml)	1,4 ± 0,8
Koncentrace spermií (miliardy.ml ⁻¹)	20,5 ± 5,3
Absolutní plodnost (miliardy spermií.ks ⁻¹)	34,9 ± 2,1
Relativní plodnost (miliardy spermií.kg ⁻¹)	40,1 ± 2,4
Rychlost pohybu spermií 15 sekund po jejich aktivaci (μm.s ⁻¹)	155 ± 64
Procento pohyblivých spermií 15 sekund po jejich aktivaci (%)	57 ± 12
Osmolalita (mOsmol.kg ⁻¹)	255 ± 52

4.1.3. Závěr a doporučení

Ze zjištěných výsledků je patrné, že generační samice štiky obecné je možné efektivně hormonálně stimulovat jen kapří hypofýzou v dávce 4 mg.kg⁻¹ živé hmotnosti, kdy tato stimulace je vhodná i pro indukci výtěrů samců. Latence takto hormonálně ošetřených samic trvá cca 4 dny (96 hodin), přičemž všechny samice se vytírají během jednoho dne. U samců se za stejné období výtěru vytřelo 90 % jedinců. Tím je zajištěna vysoká efektivita výtěrů a produktivita práce na rybářských líhních. Ovšem při použití uměle vytřeného spermatu z těla samců dochází k jeho kontaminaci močí, která způsobuje sníženou osmolalitu semenné plazmy, potažmo nižší procento pohybujících se spermií v době 15 sekund po jejich aktivaci. Takto snížená kvalita spermií je pravděpodobně hlavním důvodem nižších hodnot v oplozenosti jiker (kolem 50 %) a líhivosti larev na úrovni 40–45 %. Z tohoto experimentu vyplynula nutnost nadále optimalizovat způsob indukce ovulace samic, umělé osemnění jiker získaným spermatem jak z hlediska počtu spermií na jednu oplozovanou jikru, tak i z hlediska typu používaného spermatu.

4.2. Optimalizace umělého oplození jiker

4.2.1. Materiál a metodika

Nutnost provést tento druhý poloprovozní experiment vyplynul z výsledků a závěrů, které byly patrné na konci testování různých hormonálních přípravků pro indukci ovulace samic štiky obecné (kapitola 4.1.), z kterých vyplynulo, že je nutné celý proces umělého oplození získaných ovulovaných jiker optimalizovat.

Původ a manipulace s generačními rybami

Ve třetí dekádě března roku 2020 (konkrétně 24. 3.) byly generační štiky, a to 15 samic o kusové hmotnosti $W = 4\ 000 \pm 1\ 200$ g a 20 samců o kusové hmotnosti $W = 2\ 400 \pm 600$ g získávány a převezeny z jarních výlovů produkčních rybníků s rozlohou nad 10 hektarů v rámci podniku BioFish, s.r.o. Samice a samci byli rozděleni podle pohlaví a po pěti kusech byli nasazeni do pěti experimentálních nádrží (o objemu 600 litrů) stejného RAS, který byl popsán v kapitole 4.1. Ryby byly nasazeny do vody o teplotě 7 °C, která byla stejná jako teplota vody v rybnících a při transportu ryb. Světelný režim byl přirozený. V průběhu pěti dnů byly ryby aklimatizovány a teplota vody byla pomalu zvyšována na hodnotu 10,5 °C. V tomto okamžiku bylo hormonálně ošetřeno 5 samic a 5 samců jednorázovou dávkou kapří hypofýzy 4 mg.kg⁻¹, za další dva dny bylo stejným způsobem ošetřeno další stejné množství ryb. Tato oddělená hormonální stimulace generačních ryb byla provedena z důvodu využití pěti samic a tří samců (plus dva samci byli rezervní) pro realizaci dvou dílčích experimentů spojených s optimalizací umělého oplození jiker, při kterých byl optimalizován jednak počet spermií na jednu oplozovanou jikru a jednak čas oplození jiker po jejich aktivaci. Poslední hormonální stimulace pěti samic a deseti samců byla provedena po dalších dvou dnech a sloužila k hodnocení kvality a efektivity použití uměle vytřené a testikulárního spermatu po jejich krátkodobém uchování při umělém oplození získaných ovulovaných jiker. Generační ryby byly hormonálně stimulovány podobným způsobem, jak bylo popsáno v kapitole 4.1., a stejným způsobem byla také postupně kontrolována ovulace jiker samicemi (72 hodin po hormonálním ošetření, v počátečním intervalu čtyř a v pozdějším intervalu dvou hodin). Po zjištěné ovulaci jiker byly samice přeneseny do anestetické lázně hřebíčkového oleje o dávce 0,03 ml.l⁻¹. Po jejich znehybnění byly osušeny jejich břišní partie. Následně byly jednotlivé samice vytírány do předem zvážených suchých misek. Samci byli podobně jako samice po jejich výtěru znehybnění ve stejném anestetickém roztoku a následně bylo u každého z nich odděleně odebráno sperma do injekčních stříkaček o objemu 10 ml, podobně jako v kapitole 4.1. Sperma bylo odebíráno

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTIKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS* L.) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD

tak, aby nebylo kontaminováno močí či krví. Sperma od jednotlivých samců bylo vyhodnoceno z pohledu objemu, koncentrace spermií, rychlosti pohybu spermií, procentuálního podílu pohybujících se spermií a osmolality semenné plazmy stejným způsobem jako v kapitole 4.1. Pro realizaci dvou prvních dílčích experimentů této kapitoly byly vždy vybrány tři vzorky odebraného spermatu od tří samců, které dosahovaly nejlepší kvality spermatu dle následujících parametrů: objem $\geq 1,0$ ml, koncentrace spermií $\geq 19,0$ miliard.ml⁻¹, rychlost pohybu spermií 15 s po aktivaci ≥ 160 $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$, procento pohybujících se spermií 15 s po aktivaci $\geq 65\%$ a osmolalita semenné plazmy ≥ 300 mOsmol.kg⁻¹. Cílem tohoto výběru spermatu bylo použití jen kvalitního spermatu, bez kontaminace či s minimální kontaminací spermatu močí nebo krví, což mělo zaručovat velmi dobré výsledky oplozenosti získaných ovulovaných jiker.

Stanovení optimálního poměru jiker a spermií při umělém osemenění ovulovaných jiker

K tomuto dílčímu experimentu byly použity směsné vzorky uměle vytřených jiker a spermatu od pěti samic a tří nejlepších samců. Každá samice podobně jako samec přispěla do směsného vzorku stejným objemem (poměrem). Počet jiker v 1g směsném vzorku byl zjištěn pětkrát, a to jako 140 kusů jiker obsažených v jednom gramu vzorku. Poté bylo ze směsného vzorku jiker odváženo 7 dílčích vzorků o hmotnosti 30 g (tzn. v každém dílčím vzorku bylo celkem obsaženo cca 4 200 ks jiker). U pečlivě promíchaného směsného vzorku spermatu o objemu 3 mililitrů byla stanovena finální koncentrace spermií podle již popsané metodiky. Jako finální koncentrace spermií byla zjištěna hodnota 20 miliard.ml⁻¹. Následně bylo sedm dílčích vzorků jiker obsahujících 4 200 ks jiker oploženo směsným vzorkem spermatu se sedmi různými poměry spermií na jednu jikru: $1 \times 10^3 : 1$ (použitý objem spermatu na 30 g jiker: 0,21 μl), $10 \times 10^3 : 1$ (použitý objem spermatu: 2,1 μl), $50 \times 10^3 : 1$ (použitý objem spermatu: 10,5 μl), $100 \times 10^3 : 1$ (použitý objem spermatu: 21 μl), $200 \times 10^3 : 1$ (použitý objem spermatu: 42 μl), $400 \times 10^3 : 1$ (použitý objem spermatu: 84 μl) a $800 \times 10^3 : 1$ (použitý objem spermatu: 168 μl). Zmíněné objemy směsného vzorku spermatu byly na vzorky jiker aplikovány pomocí speciálních laboratorních pístových mikropipet od firmy Eppendorf AG z Německa a Thermo Fisher Scientific z ČR. Směs smíchaných gamet byla jemně a pečlivě promíchána a následně k ní bylo přidáno 15 ml oplozovacího roztoku (viz kapitola 4.1.). Po přidání oplozovacího roztoku byla směs gamet a roztoku opětovně jemně promíchána a následně odstavena na 5 minut. Po pěti minutách byla směs gamet a oplozovacího roztoku pečlivě propláchnuta vodou z líhně (kapitola 4.1.). Z jednotlivých dílčích vzorků oplozených neodlepkaných jiker reprezentujících různé poměry použitých gamet při procesu umělého oplození

jiker byly odebrány tři vzorky jiker po 100 kusech. Oplozovací roztok použitý při umělém oplození jiker umožnil odebrat oplozené jikry, které dočasně ztratily svoji počáteční lepivost. Odebírané jikry mohly tak být bez problémů vysazeny do tří speciálních inkubátorů umístěných v experimentálním RAS, který byl používán a popsán též v kapitole 4.1. (viz Obr. 6). Čtyři dny po oplození jiker byla podobně jako v kapitole 4.1. vyhodnocena oplozenost jiker a po vylíhnutí všech životaschopných embryí i líhivost larev. Tyto parametry byly statisticky porovnány mezi jednotlivými použitými poměry gamet pomocí programu Statistica 12.0 pro Windows (StatSoft, USA). Normální rozdělení bylo testováno pomocí Kolmogorov-Smirnov testu a homogenita rozptylu pomocí Bartlettova testu. Data splňující uvedená kritéria byla analyzována pomocí jednofaktorové ANOVA s následným použitím post hoc Fisherova testu s hladinou významnosti $P < 0,05$. Data nesplňující daná kritéria byla analyzována pomocí neparametrického Kruskal-Wallis testu. Všechna data jsou uvedena jako průměr \pm standardní chyba průměru.

Oplození jiker v různých časových intervalech od jejich aktivace

Pro stanovení oplozenosti jiker v odlišném časovém odstupu od jejich aktivace bylo použito směsného vzorku jiker od pěti uměle vytřených samic. Jeden gram směsného vzorku jiker obsahoval průměrně 137 ks jiker. Celkem bylo pro účely tohoto experimentu naváženo ze směsného vzorku jiker devět dílčích vzorků jiker o hmotnosti 30 gramů (cca 4 110 ks jiker). Těchto devět vzorků jiker bylo postupně aktivováno 15 mililitry oplozovacího roztoku (stejný roztok jako v kapitole 4.1. a v předchozím experimentu) a po různém experimentálním čase od aktivace jiker (0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 240 a 480 s) byl vzorek jiker oplozen 84 μ l (tzn. poměr gamet v podobě cca 400×10^3 spermií na jednu jikru) směsného vzorku spermatu. Použitý směsný vzorek spermatu vznikl odběrem nejkvalitnějšího spermatu od tří hormonálně stimulovaných samců a obsahoval v průměru 20 miliard spermií na jeden mililitr. Každý vzniklý vzorek aktivovaných gamet (jiker a spermií) byl po jejich smíchání ponechán 5 minut bez jakékoliv manipulace. Poté byl vzorek oplozených jiker propláchnut vodou z líhně. Následně bylo z každého vzorku oplozených jiker odebráno pětkrát po sto jikrách, které byly dále odděleně inkubovány ve speciálních inkubátorech umístěných v RAS, podobně jako tomu bylo v kapitole 4.1. a v předchozím experimentu. Celkem bylo tedy ke stanovení míry oplozenosti jiker a líhivosti larev použito 45 inkubátorů, tj. pět inkubátorů pro každou z devíti experimentálních skupin. Získané hodnoty byly statisticky porovnány stejným způsobem jako v experimentu týkajícím se sledování vlivu různého poměru gamet na efektivitu umělém oplození získaných ovulovaných jiker.

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTIKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS* L.) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD

Hodnocení kvality a efektivity použití testikulárního a uměle vytřeného spermatu po jejich krátkodobém uchování

Kvalita testikulárního a uměle vytřeného spermatu byla sledována u 10 předem hormonálně ošetřených samců. Pět náhodně vybraných samců bylo rychle a humánně usmrceno a byla u nich odebrána varlata (Obr. 9) a následně testikulární sperma podle Huláka a kol. (2008a,b) a Bondarenka a kol. (2013). Po odběru testikulárního spermatu od každého samce byl pomocí injekční stříkačky stanoven jeho objem (viz kapitola 4.1.). Testikulární sperma každého samce bylo odděleně uchováváno ve speciálních plastových kontejnerech se šesti oddělenými komůrkami od firmy MatTek, USA. Dalších pět stejně hormonálně připravených samců bylo uměle vytřeno (Obr. 10) a následně byl stanoven objem spermatu (viz text výše). Po odběru spermatu byly stříkačky a kontejnery přemístěny do nízké konstantní teploty (4 °C) a uloženy do tmy. Ihned po tomto uložení byla u jednotlivých vzorků testikulárního a uměle vytřeného spermatu stanovena: koncentrace spermií, rychlost pohybu 15 sekund po jejich aktivaci, procento pohybujících se spermií 15 sekund po aktivaci a osmolalita semenné plazmy. Parametry kvality testikulárního a uměle vytřeného spermatu byly následně statisticky porovnány, podobně jako tomu bylo v předchozích částech této kapitoly. U každého samce, u kterého bylo sperma uměle vytírané, byla před odběrem vlastního spermatu odebrána moč. U odebrané moči byla stejným způsobem jako u semenné plazmy stanovena její osmolalita. Ze tří nejkvalitnějších vzorků testikulárního a uměle vytřeného spermatu byly vytvořeny směsné vzorky, které byly následně použity ihned či po 3, 6, 12, 24 nebo 48hodinovém uchování k experimentálnímu oplození směsného vzorku ovulovaných jiker. Směsný vzorek jiker byl získán stejným způsobem jako v předchozích částech této kapitoly. Celkem tedy bylo při tomto experimentu oploženo 12 dílčích vzorků jiker po 30 gramech stejným způsobem jako v předchozích části této kapitoly, kdy 6 vzorků jiker bylo oploženo uměle vytřeným spermatem a 6 vzorků jiker spermatem testikulárním. Testikulární i uměle vytřené sperma bylo použito pro oplození každého vzorku jiker ve stejném poměru gamet, a to cca 400×10^3 spermií na jednu jikru jako v předchozím experimentu. Po oplození jiker následovala stejná inkubace jako v předchozích experimentech a poté matematické zhodnocení a statistické porovnání oplozenosti jiker a líhivosti larev mezi jednotlivými experimentálními skupinami.



Obr. 9. Preparace varlat u usmrčeného samce štiky obecné (*Esox lucius* L.) za účelem získání testikulárního spermatu (Foto: T. Polícar).



Obr. 10. Umělý výtěr a odběr spermatu u samce štiky obecné (*Esox lucius* L.) (Foto: T. Polícar).

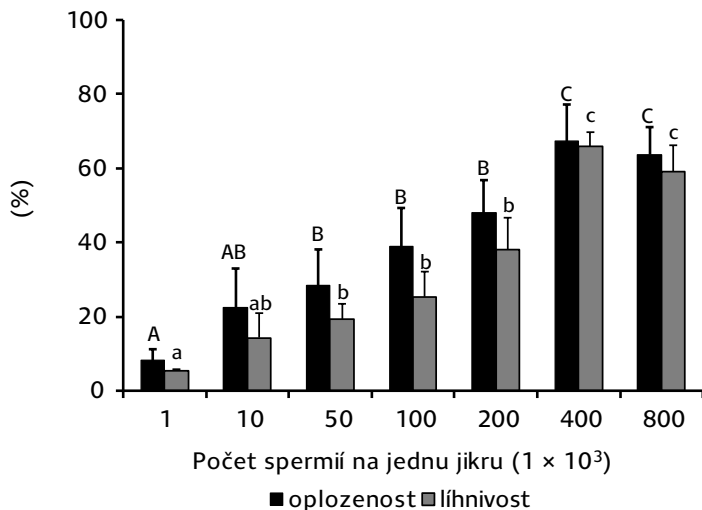
OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTIKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS* L.) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD

4.2.2. Výsledky

Stanovení optimálního poměru jiker a spermií při umělém osemenění ovulovaných jiker

Vliv různého počtu spermií na jednu oplozovanou jikru při umělém oplozování ovulovaných jiker štiky obecné na míru oplozenosti jiker a líhivosti larev je patrný z Obr. 11. Průměrná míra oplozenosti jiker se postupně zvyšovala se zvyšujícím se počtem spermií na jednu oplozovanou jikru od 8 % (u poměru gamet $1 \times 10^3 : 1$), 22 % ($1 \times 10^4 : 1$), 28 % ($5 \times 10^4 : 1$), 39 % ($1 \times 10^5 : 1$), 48 % ($2 \times 10^5 : 1$) až po 67 % ($4 \times 10^5 : 1$) a 64 % u poměru gamet $8 \times 10^5 : 1$. Poslední dva poměry gamet vykazovaly statisticky stejnou míru oplozenosti jiker, přičemž tato míra oplozenosti byla statisticky vyšší než oplozenost jiker při nižších poměrech gamet.

Stejný trend jako u míry oplozenosti jiker byl zaznamenán i u míry líhivosti larev, která byla nejnižší (5 %) u nejnižšího poměru gamet ($1 \times 10^3 : 1$) a nejvyšší (59–66 %) při nejvyšším poměru gamet $4-8 \times 10^5 : 1$. Tyto dva nejvyšší poměry gamet vykazaly při umělém oplozování jiker nejlepší výsledky a efektivitu oplození jiker. Tyto poměry je tudíž možné doporučit pro jejich využití v provozní rybářské praxi při umělém oplození získaných ovulovaných jiker štiky obecné. V praxi to znamená, že při počtu 135–140 ks jiker na jeden gram snůšky a při koncentraci spermií 20 miliard spermií na jeden mililitr spermatu je třeba při umělém oplozování ovulovaných jiker na jeden kilogram jiker použít 2,7–5,6 ml kvalitního spermatu. Tyto výsledky potvrdily, že v kapitole 4.1. bylo při umělém oplozování jiker použito nižšího počtu spermií na jednu oplozovanou jikru (264–328 tisíc). To mohlo vést v kombinaci s kontaminací spermatu močí k uvedené nižší míře oplozenosti jiker a líhivosti larev oproti vyšší hodnotám dosaženým v tomto experimentu.



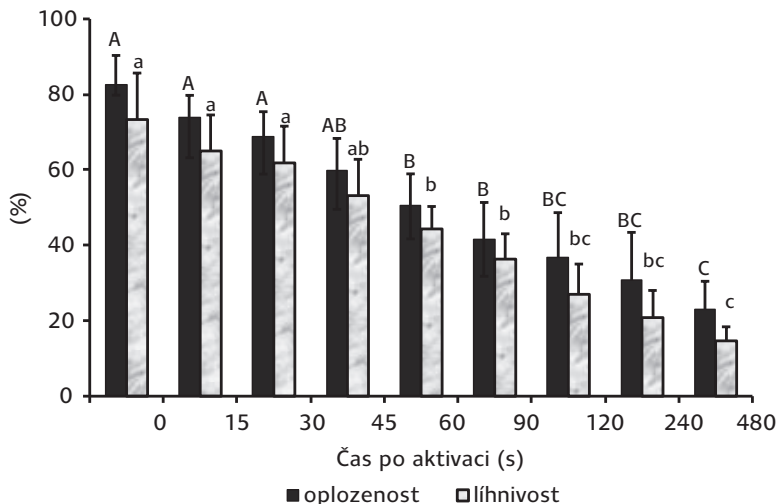
Obr. 11. Vliv počtu spermií na jednu jikru v průběhu umělého oplození ovulovaných jiker na oplozenost jiker a líhivnost larev štiky obecné (*Esox lucius* L.).

Vysvětlivky: indexy^{a,b,c} nebo A,B,C označují statistické rozdíly v oplozenosti jiker a líhivosti larev při různých poměrech počtu spermií na jednu jikru ($P < 0,05$).

Oplození jiker v různých časových intervalech od jejich aktivace

Vliv oplození jiker v různých časových intervalech od jejich aktivace na míru oplozenosti jiker a líhivosti larev je shrnut a graficky znázorněn na Obr. 12. Nejvyšší oplozenosti jiker (82,6 %) a líhivosti larev (73,3 %) bylo dosaženo, jestliže byly jikry oplozovány spermatem ihned po jejich aktivaci. Nicméně i odložení oplození jiker o 15 a 30 sekund od jejich aktivace zajistilo statisticky stejnou míru oplozenosti jiker (68,7–73,8 %) a líhivosti larev (61,8–65,0 %). Následně se s postupně prodlužujícím obdobím od aktivace jiker po jejich umělé oplození (od 45 do 480 sekund) snižovala jak míra oplozenosti jiker (59,8–23 %), tak i líhivosti larev (53,2–14,6 %). Ze zjištěných výsledků vyplývá, že není možné tuto techniku opožděného oplození jiker po jejich aktivaci plně doporučit ke komerčnímu využití v rybářské praxi. Obecně doporučujeme štíčí jikry uměle oplozovat okamžitě či maximálně 30 sekund po jejich aktivaci. Jen takovýmto způsobem můžeme dosáhnout vysoké a zároveň vyrovnané míry oplozenosti jiker a líhivosti larev dosahující úrovně nad 80 % potažmo nad 70 %.

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTIKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS L.*) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD



Obr. 12. Vliv oplození jiker v různých časových intervalech od jejich aktivace na oplozenost jiker a líhivost larev štiky obecné (*Esox lucius L.*).

Vysvětlivky: indexy ^{a,b,c} nebo ^{A,B,C} označují statistické rozdíly v oplozenosti jiker a líhivosti larev mezi jednotlivými časy po aktivaci jiker ($P < 0,05$).

Hodnocení kvality a efektivity použití testikulárního a uměle vytřeného spermatu po jejich krátkodobém uchování

V Tab. 3 jsou uvedeny souhrnné informace o zjištěných parametrech kvality čerstvého testikulárního a uměle vytřeného spermatu od všech použitých samců. Z výsledků je patrné, že od usmrčených samců byl získán až pětinasobně větší objem spermatu ($7,5 \pm 2,5$ ml) oproti samcům, od kterých se sperma získávalo umělým výtěrem ($1,5 \pm 1,1$ ml). Koncentrace spermií v testikulárním spermatu byla 1,75krát vyšší než v uměle vytřeném spermatu. Z těchto parametrů vyplývá, že od usmrčených mlíčáků bylo v absolutním (na jednoho použitého samce) a relativním vyjádření (na kilogram použitých samců) získáno 8,7krát více spermií ($243 \pm 21,3 \times 10^9$ spermií.ks⁻¹ a $101,3 \pm 7,7 \times 10^9$ spermií.kg⁻¹) než od samců, ze kterých se sperma vytlačovalo palpací břišních partií ($27,8 \times 10^9$ spermií.ks⁻¹ a $11,6 \times 10^9$ spermií.kg⁻¹). Statisticky nižší osmolalita semenné plazmy byla zjištěna u uměle vytřeného spermatu (301 mOsmol.kg⁻¹), než tomu bylo u testikulárního spermatu (475 mOsmol.kg⁻¹). Tyto výsledky potvrdily fakt, že uměle vytřené sperma a jeho plazma byly naředěny močí. U odebrané moči se hodnoty osmolality pohybovaly od 30 do 130 mOsmol.kg⁻¹, kdy průměrná osmolalita moči byla 75 ± 38 mOsmol.kg⁻¹. Spermie získané z testikulárního spermatu se 15 sekund po jejich aktivaci pohybovaly pomaleji

($105 \pm 40 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$), ale ve větším podílu ($85 \pm 7,5\%$) než spermie získané z uměle vytřeného spermatu ($175 \pm 45 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ a $65 \pm 8,0\%$).

Tab. 3. Porovnání parametrů objemu a kvality čerstvého testikulárního a uměle vytřeného spermatu odebraných od předem hormonálně ošetřených samců štiky obecné (*Esox lucius L.*) kapří hypofýzou v dávce $4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.

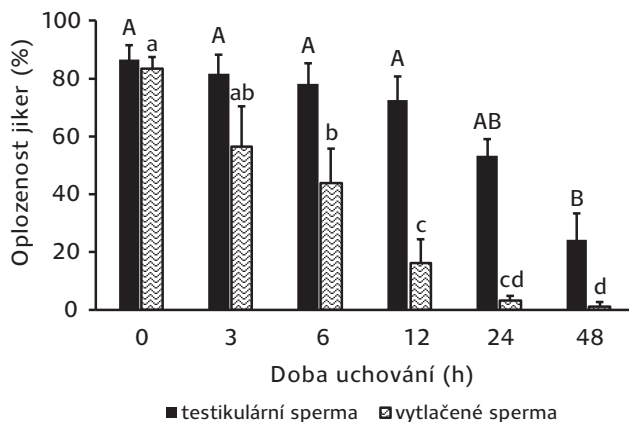
Ukazatele kvality spermatu	Testikulární sperma	Uměle vytřené sperma
Objem odebrané spermatu (ml)	$7,5 \pm 2,5^a$	$1,5 \pm 1,1^b$
Koncentrace spermií ($\text{mld}\cdot\text{ml}^{-1}$)	$32,4 \pm 8,5^a$	$18,5 \pm 7,0^b$
Absolutní množství odebraných spermií (miliardy spermií. ks^{-1})	$243,0 \pm 21,3^a$	$27,8 \pm 7,7^b$
Relativní množství odebraných spermií (miliardy spermií. kg^{-1})	$101,3 \pm 8,9^a$	$11,6 \pm 3,2^b$
Osmolalita semenné plazmy ($\text{mOsmol}\cdot\text{kg}^{-1}$)	475 ± 90^a	301 ± 35^b
Osmolalita moči ($\text{mOsmol}\cdot\text{kg}^{-1}$)	75 ± 38	-
Rychlost pohybu spermií 15 sekund po jejich aktivaci ($\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$)	105 ± 40^b	175 ± 45^a
Procento pohyblivých spermií 15 sekund po jejich aktivaci (%)	$85 \pm 7,5^a$	$65 \pm 8,0^b$

Vysvětlivky: indexy^{a,b} označují statistické rozdíly ($P < 0,05$) v jednotlivých parametrech kvality spermatu (řádcích).

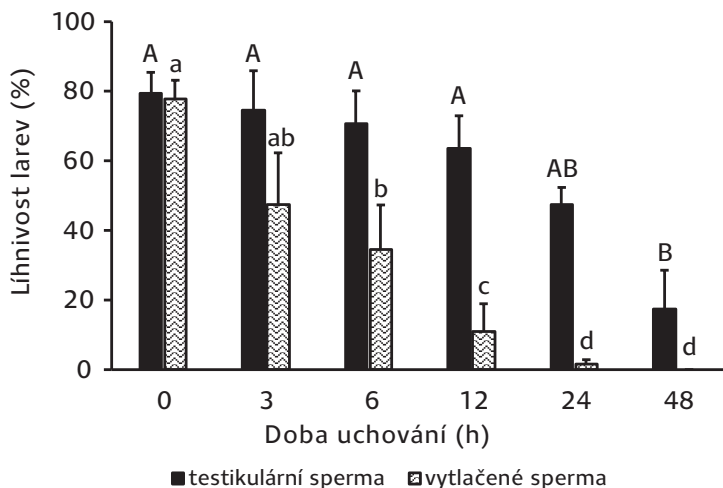
Při porovnání efektivity a úspěšnosti použití testikulárního a uměle vytřeného spermatu při umělém oplození ovulovaných jiker je možné konstatovat, že jestliže bylo sperma použito ihned po odběru, bylo u obou typů spermatu dosaženo podobných hodnot (bez statistických rozdílů) v oplozenosti jiker ($83,3\text{--}86,3\%$) a líhivosti larev ($77,6\text{--}79,3\%$). Ovšem již po 3 hodinách uchování spermatu bylo zřejmé, že míra oplozenosti jiker a líhivosti larev je nižší při umělém oplození jiker uměle vytřeným spermatem ($56,3$ a $47,3\%$) než při použití testikulárního spermatu ($81,6$ a $74,7\%$). Tyto rozdíly mezi testikulárním a uměle vytřeným spermatem se při delším uchování spermatu ještě více prohloubily. Výsledky při použití testikulárního spermatu byly vždy lepší než u spermatu získaného umělým výtěrem, a to po 6 hodinách uchování u oplozenosti o $34,3\%$ a u líhivosti o $27,4\%$, po 12 hodinách u oplozenosti o $56,0\%$ a u líhivosti o $52,7\%$, po 24 hodinách u oplozenosti o $50,0\%$ a u líhivosti o $45,8\%$ a po 48 hodinách u oplozenosti o $23,3\%$ a u líhivosti o $17,3\%$ (Obr. 13 a 14). Výsledky jasně naznačují, že jestliže bylo k umělému oplození jiker použito čerstvé, kvalitní a dobře odebrané sperma není mezi testovanými typy spermatu žádný rozdíl. Ovšem, jestliže se při umělém oplození jiker štiky

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTIKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS L.*) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD

obecné bude používat krátkodobě uchovávané sperma (3–24 hodiny po odběru) doporučujeme používat jen testikulární sperma, které zaručuje míru oplozenosti jiker na úrovni 53,3 % a líhivost larev (47,3 %). Uměle vytřené sperma uchované déle, než je 12 hodin, se podle dosažených výsledků nedoporučuje používat, jelikož použití takového spermatu 24 a 48 hodin po jeho uchování způsobilo velmi nízkou oplozenost až nulovou líhivost.



Obr. 13. Vliv použití testikulárního a uměle vytřeného spermatu po jejich různě dlouhém uchování při teplotě 4 °C na oplozenost jiker štiky obecné (*Esox lucius L.*). Vysvětlivky: indexy^{a,b,c,d} nebo ^{A,B} označují statistické rozdíly v oplozenosti mezi použitými druhy spermatu a jejich délky uchování před vlastním použitím ($P < 0,05$).



Obr. 14. Vliv použití testikulárního a uměle vytřeného spermatu po jejich různé dlouhém uchování při teplotě 4 °C na líhivost larev štiky obecné (*Esox lucius L.*). Vysvětlivky: indexy^{a,b,c,d} nebo A,B označují statistické rozdíly v líhivosti larev mezi použitým typem spermatu a jejich délkou uchování před vlastním použitím ($P < 0,05$).

4.2.3. Závěr a doporučení

Při oplozování jiker štiky obecné doporučujeme v rybářské praxi používat poměr gamet na úrovni 400–800 000 spermií na jednu jikru. Tyto dva nejvyšší poměry gamet vykázaly při umělém oplozování jiker nejlepší výsledky v podobě míry oplození jiker (64–67 %) a líhivosti larev (59–66 %). V praxi to znamená, že při počtu 135–40 ks jiker na jeden gram snůšky a při koncentraci spermií 20 miliard spermií na jeden mililitr spermatu je při umělém oplozování jednoho kilogramu ovulovaných jiker třeba použít 2,7–5,6 ml kvalitního spermatu.

Štíčí jikry doporučujeme uměle oplozovat nejlépe ihned nebo nejpozději 15–30 sekund po jejich aktivaci vodou či nějakým oplozovacím roztokem. Delší období od aktivace jiker po jejich oplození významně snižuje efektivitu umělého oplození jiker, resp. následnou oplozenost jiker a líhivost larev.

Jestliže se při umělém oplozování ovulovaných jiker použije čerstvé sperma v dostatečném počtu, tj. 400 000 ks spermií na jednu jikru, je možné bez problémů použít kvalitní uměle vytřené sperma s osmolalitou semenné plazmy na úrovni 300 mOsmol.kg⁻¹, protože jeho efektivita použití je stejná (dosahuje stejných hodnot v oplozenosti jiker a líhivosti larev) jako při použití testikulárního spermatu. Ovšem, bude-li při umělém oplozování jiker štiky

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTIKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS* L.) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD

obecné využíváno krátkodobě uchovávané sperma, doporučujeme používat jen sperma testikulární.

4.3. Masový výtěr generačních ryb pomocí kapří hypofýzy s použitím uměle vytřeného spermatu

V roce 2021 byly ověřeny výsledky získané v roce 2020. Konkrétně byl proveden poloprovozní experiment týkající se efektivity hormonální stimulace generačních ryb štiky obecné pomocí jednorázové dávky kapří hypofýzy v dávce 4 mg.kg^{-1} na úspěšnost výtěrů. Dílčím cílem tohoto experimentu bylo ověřit úspěšnost použití kvalitního uměle vytřeného spermatu s osmolalitou semenné plazmy $\geq 300 \text{ mOsmol.kg}^{-1}$ při umělém oplození ovulovaných čerstvých jiker v poměru gamet 400 000 ks spermií na jednu jikru.

4.3.1. Materiál a metodika

Generační ryby, jejich značení a hormonální ošetření

K realizaci poloprovozního experimentu bylo použito 15 samic o průměrné hmotnosti $W = 2\,852 \pm 1\,333 \text{ g}$ a 50 mlíčáků s $W = 760 \pm 180 \text{ g}$. Ryby byly převezeny z podniku BioFish, s.r.o., a nasazeny do již popsaných nádrží v rámci RAS ERPP FROV JU stejným způsobem jako v kapitolách 4.1. a 4.2. této publikace. Samice byly nasazeny do tří nádrží, kam bylo jednotně nasazeno 5 samic odděleně od samců. Samci byli nasazeni do pěti nádrží po 10 jedincích. Ryby byly vysazeny do kontrolovaných podmínek při teplotě vody $9,1 \pm 0,2 \text{ }^\circ\text{C}$. Poté následoval jeden den na aklimatizaci ryb a zvýšení teploty vody na $10,5 \pm 0,2 \text{ }^\circ\text{C}$. Potom byly všechny ryby znehybněny v anestetiku (stejně jako v předchozích kapitolách), označeny PIT podkožními čipy pro individuální identifikaci ryb při výtěru a hormonálně ošetřeny jednorázovou dávkou kapří hypofýzy (4 mg.kg^{-1}).

Kontrola generačních ryb po hormonálním ošetření, odběr gamet, hodnocení jejich kvality a realizace umělého oplození jiker

Ovulace jiker a stav genitální papily byly u samic kontrolovány 24 hodin před předpokládaným umělým výtěrem, tzn. tři dny po hormonálním ošetření podobně jako v kapitolách 4.1. a 4.2. Pokud kontrolovaná samice ovulovala jikry, byla odlovena z nádrže. Pro zklidnění samice před výtěrem bylo použito stejné anestezie jako při hormonálním ošetření v předchozích kapitolách. Po zklidnění byla každá samice vždy zabalena do vlhké tkaniny. Před vlastním výtěrem byla osušena břišní partie samice a umělý výtěr byl proveden postupným masírováním jednotlivých částí břišní strany těla. Ovulované jikry byly vytírány do předem zvážených a označených suchých misek. Do jedné

misky byla vždy vytřena odděleně jedna samice. Tato získaná snůška jiker byla krátkodobě uchována ve tmě při teplotě 8 °C, kdy byla miska s jikrami přikryta vlhkou tkaninou. Po ukončeném výtěru každé samice byly postupně zjišťovány následující parametry kvality reprodukce samic stejným způsobem jako v kapitole 4.1., a to: délka latence, hmotnost celkové snůšky jiker, počet jiker v jednom gramu snůšky, absolutní a relativní plodnost, hmotnost jedné jikry, pH ovariální tekutiny, oplozenost jiker, líhivost a podíl kvalitních larev.

Po výtěru každé samice bylo pomocí 10mililitrových stříkaček odebráno uměle vytřené sperma odděleně od tří mlíčáků (postup viz předchozí kapitoly). Kvalita spermatu od každého samce byla vyhodnocena jako v kapitole 4.1.: tj. objem získaného spermatu v mililitrech, koncentrace spermií v miliardách na 1 mililitr spermatu, absolutní (na jedince) a relativní (na kilogram jeho živé hmotnosti) celkový počet získaných spermií, rychlost pohybu spermií 15 s po aktivaci, procento pohybujících se spermií 15 s po aktivaci a osmolalita semenné plazmy. Do vlastního procesu umělého oplodňování ovulovaných jiker bylo použito jen sperma, které dosahovalo následujících parametrů: objem $\geq 1,0$ ml, koncentrace spermií $\geq 19,0$ miliard.ml⁻¹, rychlost pohybu spermií 15 s po aktivaci $\geq 160 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$, procento pohybujících se spermií 15 s po aktivaci $\geq 65 \%$ a osmolalita semenné plazmy ≥ 300 mOsmol.kg⁻¹, podobně jako tomu bylo v předchozí kapitole.

Po vyhodnocení kvality jiker a spermatu byly jikry uměle oplozeny způsobem popsáním v kapitole 4.1. této publikace. Na oplození snůšky jiker od jedné samice bylo použito kvalitní a čerstvé sperma od tří samců v poměru 400 000 spermií na jednu jikru s následným použitím stejného oplozovacího roztoku v poměru 50 ml roztoku na 100 gramů jiker. Po oplození byly jikry propláchnuty a byly odebrány tři vzorky po 100 ks jiker na kontrolní inkubaci v inkubačních aparátech s cílem zjistit míru oplozenosti jiker a líhivosti larev stejným způsobem jako v předchozích kapitolách. Všechny parametry umělého výtěru byly matematicky zpracovány a následně porovnány s výsledky získanými v předchozích kapitolách. Část zbylých oplozených jiker byla využita k experimentu optimalizující inkubaci oplozených jiker při využití různých teplotních režimů vody (viz kapitola 4.4.) nebo na poloprovozní testování masové inkubace jiker v Chasseových lahvích (viz kapitola 4.5.).

4.3.2. Výsledky

Jednotlivé parametry kvality umělého výtěru samic včetně výsledků z umělého oplození získaných ovulovaných jiker a jejich inkubace jsou uvedeny v Tab. 4. Z výsledků vyplývá, že z celkového počtu 15 hormonálně ošetřených samic bylo úspěšně uměle vytřeno 12 samic. Umělý výtěr ovulovaných jiker

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTIKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS* L.) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD

nastal za $97,5 \pm 3,5$ hodin od hormonální stimulace samic. Samice průměrně uvolnily $98\,525 \pm 24\,385$ ks jiker na jednu samici, což představuje relativní plodnost $34\,546 \pm 8\,550$ ks jiker na jeden kilogram živé hmotnosti samic. U získaných ovulovaných jiker byla zjištěna průměrná kusová hmotnost $7,6 \pm 1,8$ mg, z čehož vyplývá, že jeden gram snůšky obsahoval $131,6 \pm 53,0$ jiker. Průměrná hodnota pH ovariální tekutiny ve snůšce byla $8,27 \pm 0,6$. To znamená, že semenná plazma měla zásaditý charakter, což podpořilo dobrou míru oplozenosti jiker ($77,0 \pm 17,5$ %), líhivosti ($66,5 \pm 15,0$ %) a vysoký podíl kvalitních larev ($95,0 \pm 5,0$ %; Tab. 4).

Tab. 4. Souhrn parametrů umělého výtěru, oplození a inkubace jiker samic štiky obecné (*Esox lucius* L.) hormonálně ošetřených jednorázovou dávkou kapří hypofýzy (4 mg.kg^{-1}).

Reprodukční ukazatel samic	Hodnota
Úspěšnost výtěru (%)	80
Délka latence (h)	$97,5 \pm 3,5$
Absolutní plodnost (ks.ks ⁻¹)	$98\,525 \pm 24\,385$
Relativní plodnost (ks.kg ⁻¹)	$34\,546 \pm 8\,550$
Hmotnost jedné jikry (mg)	$7,6 \pm 1,8$
Počet jiker na 1 gram snůšky (ks)	$131,6 \pm 53,0$
pH ovariální tekutiny	$8,27 \pm 0,6$
Oplozenost jiker (%)	$77,0 \pm 17,5$
Líhivost larev (%)	$66,5 \pm 15,0$
Podíl kvalitních larev (%)	$95,0 \pm 5,0$

Při umělém výtěru a odběru spermatu samců bylo zjištěno, že $93,3$ % samců úspěšně uvolnilo sperma. Při hodnocení kvality spermatu bylo zjištěno, že $85,7$ % samců, od kterých bylo sperma uměle vytřeno a odebráno, produkovalo kvalitní sperma odpovídající stanoveným kritériím v materiálu a metodice této kapitoly. Takovéto sperma bylo následně využíváno při umělém oplozování získaných ovulovaných jiker. Sperma úspěšně odebrané od všech samců dosahovalo průměrného objemu $1,4 \pm 0,6$ mililitrů s průměrnou koncentrací spermií na úrovni $21,0 \pm 6,1$ miliard spermií v jednom mililitru spermatu. Všichni samci dosáhli v průměru absolutní plodnosti $29,4 \pm 3,7$ miliardy spermií.ks⁻¹ a relativní plodnosti $38,7 \pm 4,7$ miliardy spermií.kg⁻¹ živé hmotnosti samců. U odebraných spermií byla 15 sekund po jejich aktivaci zjištěna průměrná rychlost $168 \pm 78\text{ }\mu\text{m.s}^{-1}$ a podíl pohyblivých se spermií na úrovni 67 ± 22 %. Osmolalita semenné plazmy se pohybovala průměrně na hodnotě $321 \pm 61\text{ mOsmol.kg}^{-1}$ (Tab. 5).

Tab. 5. Souhrn parametrů umělého výtěru samců štiky obecné (*Esox lucius* L.) hormonálně ošetřených jednorázovou dávkou kapří hypofýzy (4 mg.kg⁻¹).

Reprodukční ukazatel samců	Hodnota
Úspěšnost výtěru (%)	93,3
Podíl samců s kvalitním spermatem (%)	85,7
Průměrný objem spermatu (ml)	1,4 ± 0,6
Koncentrace spermií (miliardy.ml ⁻¹)	21,0 ± 6,1
Absolutní plodnost (miliardy spermií.ks ⁻¹)	29,4 ± 3,7
Relativní plodnost (miliardy spermií.kg ⁻¹)	38,7 ± 4,7
Rychlost pohybu spermií 15 sekund po jejich aktivaci (μm.s ⁻¹)	168 ± 78
Procento pohyblivých spermií 15 sekund po jejich aktivaci (%)	67 ± 22
Osmolalita (mOsmol.kg ⁻¹)	321 ± 61

4.3.3. Závěr a doporučení

Na základě uvedených výsledků lze konstatovat, že hormonální stimulace generačních ryb štiky obecné jednorázovou aplikací kapří hypofýzy v dávce 4 mg.kg⁻¹ zajistila u samic velmi dobrou úspěšnost ovulace kvalitních jiker (80 %). Také u samců byl díky zmíněnému ošetření proveden úspěšný umělý výtěr, a to jak odběr kvalitního spermatu, tak jeho následné využití při umělém oplození ovulovaných jiker v poměru 400 000 ks spermií na jednu jikru. Takto provedené umělé oplození jiker zajistilo velmi dobrou oplozenost jiker (77,0 %), líhivost larev (66,5 %) a vysoký procentuální podíl kvalitních larev (95 %). Díky těmto závěrům je možné daný postup hormonální stimulace generačních ryb a postup umělého oplození jiker kvalitním a čerstvě vytlačeným spermatem doporučit k využívání v rybářské praxi.

4.4. Inkubace jiker štiky obecné při různé teplotě vody

Mnozí autoři uvádějí (Billard, 1996; Policar, 2012a; Bondarenko a kol., 2013), že rušivé vlivy, jako jsou časté otřesy, vysoký průtok vody v inkubačních lahvích či vytvoření suboptimálních podmínek prostředí při inkubaci jiker štiky obecné, mohou způsobovat velké ztráty na inkubovaných jikrách a embryích. Takto nevhodně provedená inkubace jiker může výrazně snížit její efektivitu. Z tohoto důvodu byla pozornost této aktivity zaměřena na optimalizaci inkubace jiker štiky obecné v kontrolovaných podmínkách s různým teplotním režimem. Cílem této práce bylo ověřit vliv teploty na míru přežívání jiker a embryí při jejich inkubaci a také na délku inkubační doby, popřípadě na možnost rozvolnění produkce larev v čase.

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTIKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS L.*) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD

4.4.1. Materiál a metodika

K tomuto pokusu bylo v roce 2021 použito celkem 2 500 ks oplozených a odlepkovaných jiker, které pocházely z aktivity uvedené v předchozí kapitole (4.3.). Oplozené jikry byly vysazeny a inkubovány při pěti různých teplotách: 3, 6, 10, 14 a 18 °C. Inkubace jiker probíhala v pěti speciálně připravených RAS, které byly umístěny ve dvou oddělených odchovných místnostech FROV JU. V jedné místnosti byly umístěné skupiny inkubované při teplotách 3, 6 a 10 °C, kde byla udržována teplota vzduchu 10 °C, přičemž dvě nižší teploty (3 a 6 °C) byly docíleny řízeným chlazením pomocí chladiče Delton H120 od firmy Sinop CB, a.s., ČR s přesností na 0,1 °C. V druhé místnosti, kde byla udržována teplota vzduchu 14 °C, byly lokalizovány skupiny s teplotou vody 14 a 18 °C. V této místnosti byl dílčí RAS určený pro inkubaci jiker v 18 °C ohříván elektrickým topítkem s příkonem 0,5 kW. Teplota byla řízena jednotkou T-Computer Set od firmy AB Aqua Medic z Německa s přesností na 0,1 °C.

Každý dílčí RAS se skládal z jedné retenční nádrže o objemu 350 litrů a jednoho akvarijního čerpadla Eheim Compact ON 300 od firmy Eheim z Německa s celkovým průtokem 150–300 litrů za hodinu. Dále byla v každém systému využita distribuce vody přivádějící přítokovou vodu k pěti inkubátorům (detailně popsaným v kapitole 4.1.). Tyto inkubátory byly využité právě k vlastní inkubaci jiker. Voda protékající inkubátory následně odtékala do kanálku, který odváděl odpadní vodu z pěti aparátů zpět do zmíněné retenční nádrže. Jednou za den byla vyměněna polovina objemu vody v každém RAS za vodu čerstvou, která byla získána z místního vodovodního řádu a jeden den před výměnou byla vytemperovaná na požadovanou teplotu. Do každého z pěti inkubátorů bylo vysazeno 100 ks jiker přibližně dvě hodiny po jejich oplození. V průběhu inkubace jiker byla v každém RAS v jednohodinových intervalech měřena teplota vody pomocí teplotního senzoru Minikin Tie od firmy EMS, s.r.o., Brno, ČR. Dále jedenkrát za den byl v každém RAS měřen procentuální obsah rozpuštěného kyslíku pomocí oxymetru Pro ODO od firmy YSI Ltd. z USA, hodnota pH pomocí přenosného pHmetru 3310 od firmy WTW, s.r.o., ČR a koncentrace celkového amoniaku (TAN) a dusitanů (NO_2^-) pomocí jednoduchých titračních a kolorimetrických příručních sad popsaných Policarem a kol. (2018; 2021b). Cílem měření kvality vody a výměny vody v každém RAS bylo udržovat při inkubaci jiker optimální kvalitu vody, kterou popsal Billard (1996) a Bondarenko a kol. (2013). Průměrné hodnoty kvality vody v průběhu inkubace jiker jsou shrnuty v Tab. 6.

Tab. 6. Průměrné hodnoty kvality vody a jejich variabilita (\pm S.D.) v průběhu inkubace jiker štiky obecné (*Esox lucius* L.) při různých teplotách.

Parametr kvality vody	Teplotní skupiny				
	3 °C	6 °C	10 °C	14 °C	18 °C
Teplota vody (°C)	3,1 \pm 0,6	6,2 \pm 0,3	10,2 \pm 0,3	14,1 \pm 0,1	17,9 \pm 0,2
Obsah rozpuštěného kyslíku O ₂ (%)	120 \pm 15	115 \pm 17	110 \pm 10	105 \pm 10	102 \pm 5
pH	7,2 \pm 0,3	7,3 \pm 0,2	7,4 \pm 0,2	7,2 \pm 0,2	7,3 \pm 0,2
Koncentrace celkového amoniaku TAN (mg NH ₄ ⁺ .l ⁻¹)	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1
Koncentrace dusitanů (mg NO ₂ ⁻ .l ⁻¹)	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05

V průběhu a na konci inkubace byly sledovány následující parametry vyhodnocující efektivitu inkubace jiker. Hodnoty oplozenosti jiker a líhnivosti larev byly zjišťovány stejným způsobem jako v předchozích kapitolách této publikace (4.1., 4.2., 4.3.). Dále byla stanovena délka inkubační doby (DID) ve dnech a denních stupních ($^{\circ}$ d reprezentující součin průměrné teploty vody a celkového počtu dnů inkubace) do okamžiku, kdy bylo vylíhnuto 5 % larev (DID_{5%}), a do okamžiku, kdy bylo vylíhnuto 95 % larev (DID_{95%}). Tyto dvě hodnoty inkubační doby také představovaly začátek a konec období líhnutí (OL). Délka období líhnutí (DOL) byla stanovena ve dnech a denních stupních podle Kamler (2002). Na konci období líhnutí, kdy bylo vylíhnuto 95 % larev, byl u 10 ks larev z každého inkubátoru (tzn. 50 ks larev z každé skupiny) zjištěn objem žloutkového váčku (YsV v μ l). Všechny sledované larvy byly vyfoceny pomocí binokulárního mikroskopu Olympus SZX 16 a fotoaparátu Olympus model Promica. Následně byla u každé larvy změřena celková délka (TL v mm), délka (YsL v μ m) a hloubka (YsD v μ m) žloutkového váčku pomocí software Quick PHOTO MICRO 3.2. s přesností na 0,1 μ m. Následně byl objem žloutkového váčku vypočítán jako: $YsV = (\pi / 6) \times YsL \times YsD^2$ podle Blaxter a Hempel (1963). U vylíhnutých larev byla dále pomocí vah KERN-ABT 220-SDM zjištěna individuální hmotnost těla (W v mg) s přesností 0,1 mg. U všech 50 použitých larev z každé skupiny byl zaznamenán procentuální podíl morfoloicky normálně vyvinutých larev (NL).

U dalších 60 ks larev z každé skupiny (kdy bylo odebráno 12 larev z každého inkubátoru dané skupiny reprezentujících danou teplotu vody) byla hodnocena odolnost (přežití) nově vylíhnutých larev vůči osmotickému šoku podle Policara a kol. (2010), který byl navozen expozicí 2% roztoku kuchyňské soli (NaCl). Tento roztok byl připraven rozpuštěním 20 gramů soli v jednom litru vody z líhně. Třikrát dvacet larev bylo vysazeno do tří jedolitrových

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTIKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS* L.) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD

laboratorních kádinek, ve kterých bylo po 90minutové expozici 2% roztoku NaCl vyhodnocováno přežití larev. Všechna získaná data jsou uvedena jako průměr \pm standardní chyba průměru. Statistické porovnání získaných dat mezi skupinami bylo provedeno v programu Statistica 12.0 (StatSoft, USA) stejným způsobem jako v kapitole 4.2. této publikace.

4.4.2. Výsledky

Z Tab. 7 vyplývá, že testované teplotní režimy při inkubaci jiker štiky obecné výrazně ovlivnily délku inkubační doby. U skupiny, kde jikry byly inkubovány při teplotě 3 °C trvala inkubační doba do vylíhnutí 95 % larev $46 \pm 0,42$ dní oproti nejkratší inkubační době $3,42 \pm 0,06$ dní při teplotě 18 °C. To znamená, že rozdílnými teplotními režimy bylo možné prodloužit či zkrátit inkubaci jiker štiky obecné o 43 dní. Nicméně u uvedených teplot se jedná o extrémní hodnoty pro inkubaci jiker štiky obecné, a proto i rozdíl v délce inkubační doby je poměrně velký. Jestliže se podíváme na délku inkubační doby pro fyziologicky optimální teploty vody (tj. 6–14 °C), zjistíme, že u těchto teplot inkubace jiker do 95 % vylíhnutí larev trvala od 6 do 23 dní, což je rozdíl pouze 17 dní.

Dále z výsledků provedené inkubace jiker štiky obecné při různých teplotách vody vyplývá, že čím vyšší byla použitá teplota vody, tím kratší byla délka období líhnutí: při 18 °C to bylo 0,92 dne, při 14 °C a 10 °C to byly dva dny, při 6 °C čtyři dny a při 3 °C osm dní. Vyšší teplota vody může být tedy použita pro vyšší synchronizaci líhnutí larev a dosažení vyšší produktivity práce na rybářských líhních při líhnutí larev (Tab. 7).

Nejvyšší oplozenosti jiker (65,6–71,3 %) a líhivosti larev (56,2–65,5 %) bylo dosaženo u inkubace jiker při teplotách 6 a 10 °C. Tyto teploty vody jsou ideální pro inkubaci oplozených jiker štiky obecné, jelikož oproti ostatním teplotám zajistily produkci nejkvalitnějších (největších) vylíhnutých larev z hlediska celkové délky (TL = 10,3–10,7 mm), hmotnosti těla ($W = 8,0$ – $8,3$ mg), přežití po osmotickém šoku (90–92 %) a nejvyššího podílu normálně vyvinutých larev (90–94 %). Zmíněné teploty vody zaručují chovatelům nejvyšší kvalitu produkce vylíhnutých larev, což je velmi důležité pro následnou efektivitu jejich odchovu (Tab. 8).

Tab. 7. Vliv teploty vody na oplozenost jiker, líhivost larev, inkubační dobu a délku období líhnutí při inkubaci jiker štiky obecné (*Esox lucius* L.).

Teplota vody	Oplozenost jiker (%)	Líhivost jiker (%)	Délka inkubační doby (DID)				Délka období líhnutí (DOL)			
			DID _{5%}		DID _{95%}		den		°d	
			den	°d	den	°d	den	°d	den	°d
3 °C	44,6 ± 3,2 ^c	18,26 ± 2,25 ^c	38,0 ± 0,33	120,0 ± 1,03	46 ± 0,42	144,0 ± 1,31	8,0 ± 0,3	25,1 ± 0,92		
6 °C	71,3 ± 4,3 ^a	56,2 ± 3,21 ^{ab}	19,0 ± 0,25	117,0 ± 1,55	23 ± 0,2	142,6 ± 1,24	4,0 ± 0,23	24,8 ± 1,42		
10 °C	65,6 ± 3,1 ^{ab}	65,5 ± 5,41 ^a	11,0 ± 0,17	115,0 ± 1,77	13 ± 0,15	136,0 ± 1,56	2,0 ± 0,15	21,0 ± 0,15		
14 °C	61,2 ± 3,3 ^b	52,3 ± 4,47 ^b	4,0 ± 0,15	56,7 ± 2,12	6 ± 0,08	85,0 ± 1,13	2,0 ± 0,13	28,3 ± 1,8		
18 °C	53,5 ± 2,7 ^b	47,4 ± 2,55 ^b	2,5 ± 0,08	44,7 ± 1,42	3,42 ± 0,06	61,1 ± 1,07	0,9 ± 0,06	16,4 ± 1,07		

Vysvětlivky: indexy^{a,b,c} označují statistické rozdíly mezi skupinami ($P < 0,05$).

Tab. 8. Kvalita vyfíhnutých larev z hlediska jejich celkové délky, hmotnosti těla, objemu žloutkového váčku, přežití po osmotickém šoku a podíl normálně vyvinutých či morfologicky deformovaných larev při různých teplotách vody při inkubaci jiker štiky obecné (*Esox lucius* L.).

Teplota vody	Celková délka (TL v mm)	Hmotnost těla (W v mg)	Objem žloutkového váčku (YsV v μ l)	Přežití po osmotickém šoku (%)		Podíl normálně vyvinutých larev (%)	Podíl morfologicky deformovaných larev (%)
				Přežití	po osmotickém šoku (%)		
3 °C	9,7 ± 0,36 ^b	7,8 ± 0,1 ^{bc}	3,41 ± 0,44 ^b	54 ± 3 ^c	23,8 ± 4,14 ^c	76,2 ± 3,18 ^a	
6 °C	10,3 ± 0,28 ^a	8,3 ± 0,2 ^a	3,30 ± 0,66 ^{bc}	92 ± 3 ^a	89,7 ± 3,62 ^a	10,3 ± 1,93 ^c	
10 °C	10,7 ± 0,37 ^a	8,1 ± 0,1 ^a	3,04 ± 0,42 ^c	90 ± 4 ^a	93,8 ± 3,17 ^a	6,2 ± 2,36 ^c	
14 °C	9,8 ± 0,86 ^b	7,9 ± 0,2 ^b	3,53 ± 0,40 ^{ab}	76 ± 3 ^b	81,8 ± 2,12 ^b	18,2 ± 3,47 ^b	
18 °C	9,2 ± 0,29 ^c	7,4 ± 0,1 ^c	3,89 ± 0,45 ^a	72 ± 3 ^b	87,1 ± 2,42 ^b	12,9 ± 1,84 ^b	

Vysvětlivky: indexy^{a,b,c} označují statistické rozdíly mezi skupinami ($P < 0,05$).

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTIKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS* L.) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD

4.4.3 Závěr a doporučení

Při inkubaci oplozených jiker je možné využít různých teplot vody od 3 do 18 °C. Jestliže je použit tento rozsah teplot může dojít k velkému rozvlečení produkce vylíhnutých larev, kdy interval mezi vylíhnutými prvními a posledními larvami může být až 43 dní bez realizace dalšího výtěru. Ovšem je nutné dodat, že extrémní tepoty pro inkubaci jiker štiky obecné, jako jsou hodnoty 3 a 18 °C, mohou způsobovat produkci vylíhnutých larev se sníženou kvalitou, a tím může být negativně ovlivněn další odchov larev. Naopak nejvyšší kvality vylíhnutých larev štiky obecné bylo dosaženo inkubací při teplotě vody 6–10 °C, kdy tyto teploty doporučujeme pro poloproduční inkubaci jiker štiky obecné.

4.5. Masová inkubace jiker při optimální teplotě vody

V letech 2020 a 2021 bylo cílem další práce provést masovou inkubaci jiker, které byly získané z pokusů v rámci kapitol 4.1. a 4.3., a technologicky otestovat tento proces při optimální teplotě vody.

4.5.1. Materiál a metodika

Každý rok se k masové inkubaci jiker na FROV JU využívalo sedm Chasseových lahví (Obr. 15), které byly jednotně nasazeny 150 000 ks oplozených jiker. Oplozené jikry byly před nasazením do lahví důkladně odlepkovány pomocí roztoku vody a kravského mléka s 3,5% tučností v poměru 6 : 1 po dobu 60 minut. Po odlepkování byly jikry pečlivě propláchnuty vodou z líhně a následně nasazeny do Chasseových lahví v celkovém počtu 1 050 000 ks oplozených jiker. Jikry byly v lahvích inkubovány při teplotě 8–10 °C podle Bondarenka a kol. (2013) a podle nejlepších výsledků získaných v předchozí části této publikace. Jikry byly inkubovány při konstantním průtoku vody inkubačními lahvemi tak, aby docházelo jen k mírnému pohybu jiker v lahvích. Pro tuto inkubaci jiker byla používána průtočná, přes mechanický filtr předem zfiltrovaná voda získaná z náhonu řeky Blanice. Podobně jako v kapitolách 4.1. a 4.2. bylo 4 dny po oplození jiker odebráno z každé lahve pět vzorků jiker po 100 ks. Jikry byly odebrány pomocí laboratorní skleněné pipety s objemem 50 ml, se speciálně upraveným spodním otvorem, která byly připojena na PVC hadičku. Na druhé straně hadičky byl při odběru jiker vytvořen sáním podtlak, kterým byly odebírané jikry nasáté do pipety. U odebraných vzorků byla stanovena oplozenost jiker a na konci inkubace také líhivost a procentuální podíl kvalitních larev (viz kapitoly 4.1. a 4.4.).



Obr. 15. Inkubace oplozených jiker štiky obecné (*Esox lucius* L.) v Chasseových lahvích (uvnitř lahví je vidět přívod vody do kuželovitého rozdělovače, který rovnoměrně proud vody usměrňuje podél stěn lahví nahoru a umožňuje tak pomalý a šetrný pohyb jiker) (Foto: T. Polícar).

4.5.2. Výsledky

Průměrná oplozenost jiker při masové inkubaci byla 48 ± 18 % v roce 2020 a $70,0 \pm 8,0$ % v roce 2021. Líhňivost larev a podíl kvalitních larev se v roce 2020 pohybovaly na hodnotě $39,5 \pm 10,5$ % a $86,0 \pm 5,0$ % a v roce 2021 na úrovni $62,0 \pm 11,0$ % a $95,0 \pm 5,0$ % (Tab. 9). Poměrně významné rozdíly ve sledovaných parametrech (oplozenosti jiker, líhňivosti larev a podílu kvalitních larev) byly způsobeny především odlišným postupem umělého oplození jiker v kapitole 4.1. a 4.3., kdy byl v kapitole 4.1. použit nižší počet

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTIKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS L.*) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD

spermii na jednu oplozenou jikru a také nižší kvalita spermatu, resp. spermatu více kontaminované močí s nižší osmolalitou semenné plazmy.

Tab. 9. *Oplozenost jiker, líhivost a produkce larev včetně procentuálního podílu kvalitních larev po masové inkubaci oplozených jiker provedené v letech 2020 a 2021.*

Ukazatel inkubace jiker/ Rok	2020	2021
Oplozenost jiker (%)	48,0 ± 18,0	70,0 ± 8,0
Líhivost larev (%)	39,5 ± 10,5	62,0 ± 11,0
Celková produkce larev (ks)	414 000	651 000
Procentuální podíl kvalitních larev (%)	86,0 ± 5,0	95,0 ± 5,0
Celková produkce kvalitních larev (ks)	356 000	618 000

4.5.3 Závěr a doporučení

Celkově lze prezentované výsledky týkající se oplozenosti jiker, líhivosti a produkce larev a procentuálního podílu kvalitních larev u štiky obecné považovat za dobré až velmi dobré, resp. akceptovatelné v rybářské praxi. Tento způsob inkubace lze tedy doporučit pro praktické využití.

4.6. Odchov larev v rybnících do stadia rychleného plůdku

4.6.1. Materiál a metodika

V rámci ověřování odchovu rychleného plůdku štiky obecné v rybnících bylo použito 356 000 kusů vylíhnutých larev, které byly získány v roce 2020 v rámci pokusů popsanych v kapitolách 4.1. a 4.5. této publikace.

Výběr a příprava rybníků, vysazení a chov larev

Pro odchov rychleného plůdku štiky obecné bylo předem vytipováno šest rybníků: dva produkční rybníky podniku BioFish, s.r.o., s výměrou 0,8 a 1,0 hektarů a čtyři experimentální rybníky s výměrou 0,08 a 0,16 ha ve vlastnictví FROV JU. Základní informace o použitých rybnících z hlediska jejich výměry, nadmořské výšky, počáteční hustoty nasazených larev, termínu jejich přípravy (hnojení a napuštění vodou), nasazení a výlovu larev jsou shrnuty v Tab. 10. U rybníků s různou výměrou byly testovány různé počáteční hustoty nasazených larev. Rybníky byly rozděleny na: velké produkční rybníky (výměra 0,8 a 1,0 ha) s počáteční hustotou nasazovaných larev 100 000 ks.ha⁻¹, větší experimentální rybníky (výměra 0,16 ha) s hustotou larev 200 000 ks.ha⁻¹ a menší experimentální rybníky (výměra 0,08 ha) s hustotou larev 300 000 ks.ha⁻¹.

Bylo tedy dodrženo doporučení, že menší rybníky s větším podílem břehové linie k celkové ploše a s více členitým břehem lze nasazovat relativně vyššími hustotami larev na jednotku výměry rybníků (Bondarenko a kol., 2013) než rybníky s větší rozlohou. Všechny používané rybníky byly 16 dní před nasazením larev hnojeny kompostem v dávce 400 kg kompostu na jeden experimentální rybník nebo 1 000 kg kompostu na jeden hektar výměry produkčních rybníků a následně napuštěny zhruba ze dvou třetin vodou. Rybníky byly v průběhu prvního týdne odchovu larev dopuštěny vodou na maximální kapacitu. Snahou bylo v rybnících podpořit vývoj hrubšího (většího) zooplanktonu, zejména perlooček a buchanek před nasazením larev či těsně po něm. Larvy štiky obecné byly po rozplavání a částečném strávení jejich žloutkového váčku (Obr. 16) nasazeny dne 6. 4. 2020 do produkčních rybníků a do všech experimentálních rybníků o dva dny později (8. 4. 2020). Při vysazování larev do daných rybníků (Obr. 17) byl vždy zafixován vzorek 100 ks larev pro pozdější stanovení jejich celkové délky (TL) a hmotnosti těla (W) a výpočtu Fultonova kondičního koeficientu (FK) podle vzorce: $FK = (W / TL^3) \times 100$, kdy W je průměrná hmotnost larev v gramech; TL je průměrná celková délka larev v centimetrech. Zmíněná celková délka nasazovaných larev byla zjišťována s přesností na 1 μ m pomocí počítačového softwaru Quick PHOTO MICRO 3.2. a pomocí váhy KERN-ABT 220-SDM byla zjištěna hmotnost (W v mg) s přesností na 0,1 mg. Odchov larev a juvenilních ryb ve všech rybnících byl realizován po jednotnou dobu, a to 21 dní. V průběhu odchovu ryb byla denně měřena teplota vody a obsah rozpuštěného kyslíku v hloubce 0,5 m pod hladinou vody cca v 8:00 h pomocí oxymetru YSI Pro ODO (YSI Ltd., USA). Průměrná teplota vody při odchovu larev a juvenilních ryb se ve všech rybnících pohybovala na úrovni $11,5 \pm 1,7$ °C a průměrný obsah rozpuštěného kyslíku na úrovni 96 ± 12 %, přičemž mezi rybníky nebyly zjištěny ve sledovaných parametrech žádné rozdíly. Dále jedenkrát za tři dny byla kontrolována hustota hrubého zooplanktonu vyskytujícího se v daném rybníku podle Policara a kol. (2021b). Pomocí planktonní sítě (\varnothing 24 cm; velikost ok 120 μ m) byl odebrán směsný vzorek ze tří pětimetrových horizontálních tahů sítě v místě výpustního zařízení rybníka. Odebrané vzorky zooplanktonu byly na místě fixovány 4% formaldehydem a následně v Laboratoři intenzivní akvakultury (LIA) FROV JU byla v Sedwick-Rafterově počítací komůrce (objem 2 ml) a mikroskopu Olympus BX51 (zvětšení 10 x 4) stanovena hustota zooplanktonu. Jestliže byla zjištěna snížená hustota hrubého zooplanktonu (pod hodnotou 50 jedinců na litr vody), bylo započato s denním přikrmováním odchovávaných ryb předem naloveným hrubým zooplanktonem z jiného rybníka. Do rybníků bylo denně vysazováno jednotné množství naloveného zooplanktonu, představující 5 kg zooplanktonu (hmotnost čerstvé biomasy odloveného zooplanktonu) na 100 000 ks vysazených larev. Do produkč-

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTIKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS L.*) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD

ních rybníků bylo takto denně vysazeno 4–5 kg a do experimentálních rybníků 1,2–1,6 kg naloveného zooplanktonu. Při sledování hustoty zooplanktonu v rybnících byly v každém rybníce prováděny také kontrolní odlovy odchovávaných ryb, při nichž byl sledován růst ryb. V průběhu každého kontrolního odlovu bylo z rybníku odloveno 10 odchovávaných ryb. Odběr odchovávaných ryb při prvních dvou odběrech byl zprvu proveden pomocí ichtyoplanktonní sítě (ø 50 cm; 100 µm). Při pozdějších odlovech byly odchovávané ryby odlovovány pomocí záťahové sítě (s délkou 10 metrů, výškou 2 metry a velikostí ok 1 mm; Obr. 18). Vzorek odlovených ryb byl následně fixován 4% formaldehydem. Na konci odchovu, při výlovu všech rybníků bylo také zafixováno, změřeno a následně zváženo 100 odchovaných ryb z každého rybníku (viz níže). U takto získaných ryb byla podobně jako u vysazovaných larev změřena celková délka ryb (TL) a zvážena hmotnost (W). U jednotlivých vzorků z každého rybníku byly poté spočítány průměrné hodnoty dosažené celkové délky a hmotnosti ryb. Následně byla u každého rybníku ze zjištěných údajů o hmotnosti ryb spočítána hodnota specifické rychlosti růstu ryb (SGR) podle vzorce $SGR = 100 / t \times \log (W2 / W1)$, kdy t je délka odchovu, W2 je konečná hmotnost ryb v daném odchovu a W1 je počáteční hmotnost ryb při daném odchovu. Vedle SGR byl také ze zjištěné biometricky odchovaných ryb spočítán Fultonův koeficient kondice (FK) podle výše uvedeného vzorce. Odchov rychleného plůdku do celkové délky (TL) kolem 40 mm byl ukončen ve všech rybnících po 21 dnech. V tomto čase byla zjištěna nízká hustota hrubého zooplanktonu (pod 10 jedinců na litr vody) a ryby dosáhly velikosti, při které mohly být bezpečně odloveny.

Tab. 10. Charakteristika rybníků použitých pro 21denní odchov rychleného plůdku štiky obecné (*Esox lucius L.*).

Rybník	Výměra (ha)	Nadmožská výška (m n.m.)	Počáteční hustota larev		Datum přípravy rybníků	Datum nasazení larev	Datum výlovu
			na rybník	na jeden hektar			
Produkční 1	1,0	520	100 000	100 000	20. 3.	6. 4.	27. 4.
Produkční 2	0,8	528	80 000				
Experimentální 3	0,16		32 000	200 000			
Experimentální 4		420			23. 3.	8. 4.	29. 4.
Experimentální 5	0,08		24 000	300 000			
Experimentální 6							



Obr. 16. Rozplavané larvy štiky obecné (*Esox lucius* L.) se zbytkem žlutkového váčku připravené k vysazení do rybníků (Foto: T. Polícar).



Obr. 17. Vlastní vysazení larev štiky obecné (*Esox lucius* L.) do předem připravených rybníků (Foto: T. Polícar).

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTIKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS L.*) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD



Obr. 18. Kontrolní odlov odchovaných juvenilních ryb štiky obecné (*Esox lucius L.*) záťahovou sítí v experimentálních rybnících FROV JU do stadia tzv. rychleného plůdku (Foto: T. Polícar).

Výlov rybníků a odlov odchovaných ryb probíhal pod hrází do předem nainstalovaných podložních sítí (Obr. 19) a celý výlov probíhal podle instrukcí publikovaných Polícarem a kol. (2011) a Polícarem (2021a). Ryby byly postupně splavovány z rybníků pod hráz, kde byly z podložní sítě pravidelně a kontinuálně odlovovány akvarijními sítěmi a tříděny pomocí ruční třídičky. Takto slovené a vytříděné ryby (Obr. 20) byly okamžitě naloženy do transportní bedny na terénní automobil a převezeny do průtočných žlabů nacházejících se v ERPP FROV JU nebo do sádek podniku BioFish, s.r.o. V průtočných žlabech byly odstraněny různé nečistoty, jako byla vodní makrovegetace, larvy vodního hmyzu, listí či štěrku. Z každého rybníku bylo v tomto okamžiku zváženo 100 ks odchovaných ryb pomocí váhy Mettler AE 2000 s přesností 0,01 gramů a u stejných ryb byla změřena celková délka pomocí rybářského biometrického pravítka s přesností 1 mm. Na základě celkové hmotnosti 100 ks ryb byla zjištěna průměrná kusová hmotnost odchovaných ryb v daném rybníku. Následně byla zvážena celková biomasa odlovených ryb z každého rybníku pomocí váhy CAS PB 100/200 od firmy CAS Corporation (Jižní Korea) s přesností na 50 g. Vydělením celkové biomasy odchovaných ryb průměrnou hmotností jedné odchované ryby bylo zjištěno přibližné množství odchovaných ryb v daném rybníku. Ze zjištěného množství odchovaných a nasazených ryb byla zjištěna míra přežití ryb v rybníku, podle vzorce: $P (\%) = OR / NR \times 100$, kde OR – je počet odchovaných ryb a NR – je počet nasazených ryb. Jednotlivé dosažené produkční parametry odchovu (TL, W, SGR a P odchovaných ryb) byly u daných

rybníků matematicky zpracovány, prezentovány jako průměr \pm standardní chyba průměru. Následně byly také (TL a W odchovaných ryb) statisticky porovnány mezi jednotlivými rybníky podobně jako parametry hodnocené v kapitole 4.2. této publikace.



Obr. 19. Výlov rychleného plůdku štiky obecné (*Esox lucius* L.) do podložní sítě pod hrází rybníku (Foto: T. Polícar).



Obr. 20. Rychlený plůdek štiky obecné (*Esox lucius* L.) odchovaný za 21 dní v rybnících (Foto: T. Polícar).

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTIKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS L.*) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD

4.6.2. Výsledky

Produkční výsledky odchovu larev a juvenilních ryb do tzv. stadia rychleného plůdku v jednotlivých rybnících jsou shrnuty v Tab.11. Jak je z tabulky patrné, do všech rybníků byly vysazovány velikostně srovnatelné larvy. Po 21denním odchovu dosáhly ryby ve větších produkčních rybnících statisticky větších velikostí TL = 45,5–45,8 mm a W = 895–901 mg s vyšší hodnotou FK (0,93–0,95) a vyšší SGR (22,4 %·d⁻¹) oproti rybám, které byly odchovávány v experimentálních rybnících: TL = 40,7–43,5 mm, W = 487–595 mg, FK = 0,63–0,78 a SGR = 19,4–20,3 %·d⁻¹. Vedle toho ryby odchováváné v experimentálních rybnících dosahovaly vyššího přežití 31,3–41,7 % oproti rybám odchováváných ve větších produkčních rybnících 11,0–22,5 % (Tab. 11). Z výsledků dále vyplývá, že rychlený plůdek štičky obecné odchováváný v rybnících s menší výměrou byl menší, ale vykazoval vyšší míru přežití než rychlený plůdek ve větších rybnících. Přežití ryb chovaných do kategorie rychleného plůdku je hlavním produkčním faktorem ovlivňujícím efektivitu a rentabilitu daného odchovu. Vyšší přežití odchováváných ryb v menších rybnících bylo pravděpodobně dáno větším poměrem břehové linie k celkové výměře rybníků, kdy delší břehová linie poskytla odchováváným rybám větší možnost úkrytů a pravděpodobně lepší potravní nabídku než rybníky, které mají větší výměru s menší břehovou linií.

Tab. 11. Počáteční a konečná produkční charakteristika plůdku štičky obecné (*Esox lucius L.*) na začátku a na konci 21denního odchovu v rybnících.

Rybník	Počáteční hodnota			Konečná hodnota			SGR (%·d ⁻¹)	Sloveno	
	TL (mm)	W (mg)	FK	TL (mm)	W (g)	FK		(ks)	P (%)
Produkční 1	10,2 ± 0,07 ^a	8,1 ± 0,2 ^a	0,76 ± 0,1 ^a	45,8 ± 27,2 ^a	901 ± 531 ^a	0,93 ± 0,2 ^a	22,4	11 000	11
Produkční 2	10,1 ± 0,08 ^a	8,1 ± 0,2 ^a	0,79 ± 0,1 ^a	45,5 ± 23,8 ^a	895 ± 348 ^a	0,95 ± 0,1 ^a	22,4	18 000	22,5
Experimentální 3	10,5 ± 0,09 ^a	8,2 ± 0,1 ^a	0,71 ± 0,1 ^a	40,7 ± 18,6 ^b	500 ± 168 ^b	0,74 ± 0,1 ^b	19,5	12 000	37,5
Experimentální 4	10,5 ± 0,09 ^a	8,3 ± 0,1 ^a	0,72 ± 0,1 ^a	42,5 ± 21,0 ^b	487 ± 155 ^b	0,63 ± 0,1 ^b	19,4	10 000	31,3
Experimentální 5	10,5 ± 0,09 ^a	8,3 ± 0,1 ^a	0,72 ± 0,1 ^a	41,5 ± 19,5 ^b	559 ± 234 ^b	0,78 ± 0,1 ^b	20,0	10 000	41,7
Experimentální 6	10,4 ± 0,08 ^a	8,3 ± 0,1 ^a	0,74 ± 0,1 ^a	43,5 ± 25,3 ^b	595 ± 421 ^b	0,72 ± 0,1 ^b	20,3	8 000	33,3

Vysvětlivky: indexy^{a,b} u TL (celková délka), W (hmotnost) a FK (Fultonův koeficient kondice) na začátku a konci odchovu rychleného plůdku znamenají v rámci daného sloupce statistický rozdíl ($P < 0,05$) mezi jednotlivými použitými rybníky (ANOVA).

4.6.3. Závěr a doporučení

Pro chov rychleného plůdku štiky obecné doporučujeme využívat spíše menší rybníky s delší břehovou linií, s více členitým břehem, což umožňuje nasazovat a chovat larvy a juvenilní ryby při relativně vyšších hustotách ryb na jednotku výměry s lepší efektivitou odchovu v podobě vyšší míry přežití odchovaných ryb na úrovni 30 %. Avšak před odchovem i při odchovu larev a juvenilních ryb je velmi důležitá podpora výskytu hrubého zooplanktonu, kdy je tato potravní složka pro larvy a juvenilní ryby do velikosti TL = 30–50 mm nejdůležitější potravou. V průběhu odchovu je tudíž důležité sledovat množství vyskytujícího se hrubého zooplanktonu v rybnících a při jeho poklesu ihned začít s jeho pravidelným doplňováním či okamžitým plánováním výlovu rychleného plůdku.

4.7. Využití rychleného plůdku při odchovu kapří násady v rybnících do konce 1. vegetačního období

4.7.1. Materiál a metodika

Předem byly vytipovány 4 produkční rybníky podniku BioFish, s.r.o., (charakteristika viz Tab. 12), kde byla odchována kapří násada z kategorie K2 do K3 o počáteční kusové hmotnosti 400 gramů do konečné hmotnosti 1 350 gramů. Tato kapří násada byla do rybníků nasazována při jarních výloveh (březen – duben 2020) o počáteční hustotě 1 000 ks.ha⁻¹. Tyto rybníky byly pro pokračující odchov štiky obecné vytipovány, protože rybníky disponují členitými břehy a současně byly tyto rybníky v předcházejících letech poměrně hodně zatíženy plevnými rybami (hlavně střevlíčkou východní – *Pseudorasbora parva*; Obr. 21), které snižovaly přírůstek kapří násady. Velikostně vyrovnaná násada štiky obecné v podobě rychleného plůdku sloveného ve dvou produkčních rybnících podniku BioFish, s.r.o., (viz kapitola 4.6.) byla nasazena do všech čtyř rybníků v hustotě 650 ks.ha⁻¹. Ryby s průměrnou hodnotou TL = 44,0–45,5 mm, W = 0,805–0,840 g a FK = 0,89–0,96 byly do litorálních částí rybníků vysazovány jednotlivě po kusech, a to kolem celého obvodu rybníku. Důvodem vysazení rychleného plůdky štiky obecné do rybníků byla eliminace plevných ryb. V průběhu odchovu byla v rybnících v měsíčních intervalech měřena teplota vody a obsah rozpuštěného kyslíku jako v kapitole 4.6. této publikace. Na konci odchovu (při výlovu rybníků) byly všechny odchované štiky obecné spočítány, zváženy na přenosných vahách KERN-40X s přesností na 0,1 g a změřeny rybářským pravítkem s přesností na 1 mm. Následně byla pro tento odchov štiky obecné spočtena specifická rychlost růstu a přežití ryb. Současně

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTIKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS L.*) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD

byl při výlovu rybníků také vyhodnocen výskyt plevelných ryb, a to zejména střevličky východní. Při výlovu rybníků byly tedy vedle odchovaných štik také evidovány odchované střevličky východní. Střevličky východní byly vybírány, tříděny a shromažďovány v kádích při výlovu rybníků. Následně bylo 100 ks střevliček zváženo a byla zjištěna jejich průměrná kusová hmotnost. Poté byl zjištěn přibližný celkový počet slovených střevliček tak, že byla zvážena celková biomasa slovených střevliček, která byla vydělena průměrnou hmotností jedné střevličky. Podle zjištěného výskytu plevelných ryb byl vyhodnocen vliv vysazeného rychleného plůdku štiky obecné na potlačení výskytu plevelných ryb v daných rybnících při odchovu kapří násady.

Tab. 12. Charakteristika produkčních rybníků využitých při 163denním odchovu rychleného plůdku štiky obecné (*Esox lucius L.*) s násadou kapra obecného (*Cyprinus carpio L.*) do konce 1. vegetačního období.

Rybník	Výměra (ha)	Počet nasazených ryb štiky obecné	Datum nasazení	Datum výlovu
Produkční 1	4	4 000	28. 4.	9. 10.
Produkční 2				
Produkční 3	3	3 000		
Produkční 4				



Obř. 21. Střevlička východní (*Pseudorasbora parva*) vyskytující se v rybnících při odchovu násadového materiálu kapra obecného (*Cyprinus carpio L.*) (Foto: T. Polícar).

4.7.2. Výsledky

Na konci odchovu rychleného plůdku štiky obecné bylo zjištěno, že štiky ve všech rybnících dosáhly srovnatelné velikosti (TL = 196–215 mm a W = 37,5–47,8 g; Obr. 22), Fultonova kondičního koeficientu (FK = 0,73–0,94) a specifické rychlosti růstu (SGR = 2,4–2,5%.d⁻¹). Přežití odchovaných štik se ve všech čtyřech rybnících pohybovalo jen od 4,2 do 10,7%. Nízké procento přežití odpovídá realitě odchovu štiky obecné od stadia rychleného plůdku do konce 1. vegetačního období (Regenda, 2016). Při výlovu odchovaných štik a kapří násady bylo zjištěno, že ve tří až čtyřhektarových rybnících se vyskytovalo cca 8 000–20 000 ks střevličky východní různých velikostí a věkových kategorií od generačních až po mladé juvenilní ryby (Tab. 13). Toto množství střevličky východní jako plevelné ryby bylo přibližně poloviční oproti předchozím rokům, kdy dané rybníky byly využívány k chovu kapří násady se stejnou hustotou, ale bez dosazovaného rychleného plůdku štiky obecné. Lze tedy konstatovat, že použité množství rychleného plůdku štiky obecné významně snížilo výskyt plevelných ryb v rybnících. Tento fakt se projevil i ve větší kusové hmotnosti odchované kapří násady v podobě 1 350 gramů oproti nižší kusové hmotnosti stejně velkých odchovaných ryb v předchozích letech na úrovni 1 030–1 200 gramů. Lze tedy konstatovat, že vysazením rychleného plůdku do rybníků byla dosažena zvýšená produkce kapří násady na úrovni 97,5–208 kg.ha⁻¹, což lze přičítat sníženému konkurenčnímu tlaku na produkci kapří násady ze strany výskytu plevelných ryb. Tímto způsobem došlo k zefektivnění produkce kapří násady v rybnících.

Tab. 13. Počáteční a konečná charakteristika, růst a přežití juvenilních ryb štiky obecné (*Esox lucius* L.) při jejich odchovu s násadou kapra obecného (*Cyprinus carpio* L.) do konce 1. vegetačního období.

Rybník	Počáteční hodnota			Konečná hodnota			SGR (%.d ⁻¹)	Přežití (P)		Výskyt plevelných ryb (ks)
	TL (mm)	W (mg)	FK	TL (mm)	W (g)	FK		(ks)	(%)	
Produkční 1	45,5 ± 15,3 ^a	840 ± 305 ^a	0,89 ± 0,2 ^a	196 ± 27,2 ^a	37,5 ± 8,3 ^a	0,94 ± 0,2 ^a	2,4	168	4,2	20 000
Produkční 2	45,5 ± 15,3 ^a	840 ± 305 ^a	0,89 ± 0,2 ^a	205 ± 29,8 ^a	45,6 ± 10,1 ^a	0,76 ± 0,1 ^a		252	6,3	15 000
Produkční 3	44,0 ± 20,0 ^a	805 ± 170 ^a	0,96 ± 0,1 ^a	215 ± 38,6 ^a	47,8 ± 12,9 ^a	0,74 ± 0,1 ^a	2,5	320	10,7	8 000
Produkční 4	44,0 ± 20,0 ^a	805 ± 170 ^a	0,96 ± 0,1 ^a	207 ± 31,0 ^a	46,5 ± 15,5 ^a	0,73 ± 0,1 ^a		230	7,7	18 000

Vysvětlivky: Rozdílná písmena u TL (celková délka), W (hmotnost) a FK (Fultonův koeficient kondice) na konci odchovu podzimního plůdku znamenají v rámci daného sloupce statistický rozdíl ($P < 0,05$) mezi jednotlivými použitými rybníky (ANOVA).

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTIKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS L.*) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD



Obr. 22. Juvenilní ryby štiky obecné (*Esox lucius L.*) odchované s kapří násadou na konci 1. vegetačního období (Foto: T. Polícar).

4.7.3. Závěr a doporučení

Odchovem rychleného plůdku štiky obecné v rybnících do konce 1. vegetačního období je možné získat vyrovnaný a kvalitní násadový materiál tohoto druhu s TL = 196–215 mm a W = 37,5–47,8 g, který může být využíván pro další rybniční chov či pro vysazení do sportovních revírů. Rychlený plůdek štiky obecné vřele doporučujeme nasazovat do produkčních rybníků, kde se chová násada kapra obecného, protože starší věkové kategorie juvenilní štiky obecné významně eliminují výskyt plevných druhů ryb v daných rybnících. Tím dochází ke zvyšování produkce a rentability odchovávaného kapra. Jestliže je vysazován rychlený plůdek do produkčních rybníků, doporučujeme plůdek vysazovat po jedincích do příbřežních částí včetně litorálních porostů daného rybníka. Štika obecná je totiž teritoriální dravou rybou, a proto je velmi důležité ji při vysazení rozptýlit po celém obvodu daného rybníka.

4.8. Intenzivní chov larev a juvenilních ryb v RAS do stadia rychleného plůdku určeného pro vysazení do volných vod

4.8.1. Materiál a metodika

Cílem této části práce bylo v roce 2021 využít část vyprodukovaných larev (z kapitoly 4.5.) k optimalizaci intenzivního chovu larev a juvenilních ryb štiky obecné v RAS. Tento experiment navázal na práce Policara (2012b), Bondarenka a kol. (2012) a Duška (2013). Tito autoři již v letech 2011–2013 zjistili, že optimální počáteční hustotou odchovávaných larev štiky obecné je hustota 20 larev na jeden litr a nejhodnější světelné režimy jsou režimy 12–24 hodin světla (L) a 0–12 hodin tmy (D) s tím, že světelné a tmavé periody jsou buď souvislé (12L : 12D; 16L : 8D a 24L : 0D) nebo přerušované s čtyřhodinovou tmavou fází (L4 : D4 : L4 : D4 : L4 : D4 a L8 : D4 : L8 : D4). Larvy a juvenilní ryby totiž při fázi tmy nepřijímají potravu a jsou tak chráněny před kanibalizmem. Snahou bylo, ověřit či vylepšit dříve získané výsledky týkající se manipulace se světelným režimem, a tím zvýšit efektivitu intenzivního odchovu larev a juvenilních ryb štiky obecné do kategorie tzv. rychleného plůdku v RAS.

Uspořádání pokusu a pokusné skupiny

Experiment probíhal od 12. 4. do 26. 4. 2021 v ERPP FROV JU „Starý model“, kde bylo využito 15 odchovných kruhových nádrží o objemu 180 litrů. Odchovné nádrže byly napojeny na dílčí experimentální RAS o celkovém objemu 5 000 litrů. RAS byl vybaven: mechanickou filtrací skládající se z filtračních bioakvacitových desek PPI 10 od výrobce Stra-Fish, s.r.o., ČR, biologickým filtrem s pohyblivým ložem, oběhovým čerpadlem (Sicce Multi s výkonem 5 400 l.h⁻¹ z Itálie), rozvodem vody a vzduchu, zdrojem vzduchu v podobě vzduchového dmychadla (typ EL-S-250 s příkonem 300 W od výrobce Secoh Ltd. z Japonska), zdrojem kyslíku ze zásobní nádrže zkapalněného kyslíku a jeho injektáží do uzavřeného potrubí transportující přefiltrovanou vodu směrem do nádrží, jednou ponornou UVC lampou série AM/90W CNSDIN (UV Technics, z ČR) a elektrickým topením s termostatem (T Computer s příkonem 0,5 kW od firmy AQUA MEDIC Ltd. z Německa).

V rámci experimentu bylo vytvořeno pět experimentálních skupin se třemi opakováními. Každá experimentální skupina měla vytvořen specifický světelný režim s jednotnou intenzitou světla dopadající na hladinu vody v intenzitě 100 luxů:

skupina L12 : D12 – skupina se souvislým světelným režimem: 12 hodin světla (7:00–19:00 h) a 12 hodin tmy (19:00–7:00 h),

skupina L4 : D4 : L4 : D4 : L4 : D4 – skupina s přerušovaným světelným režimem: 4 hodiny světla (7:00–11:00 h), 4 hodiny tmy (11:00–15:00 h), 4 hodiny světla

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTIKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS L.*) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD

(15:00–19:00 h), 4 hodiny tmy (19:00–23:00 h), 4 hodiny světla (23:00–3:00 h) a 4 hodiny tmy (3:00–7:00 h),

skupina L16 : D8 – skupina se souvislým světelným režimem: 16 hodin světla (7:00–23:00 h) a 8 hodin tmy (23:00–7:00 h),

skupina L8 : D4 : L8 : D4 – skupina s přerušovaným světelným režimem: 8 hodin světla (7:00–15:00 h), 4 hodiny tmy (15:00–19:00 h), 8 hodin světla (19:00–3:00 h) a 4 hodiny tmy (3:00–7:00 h),

skupina L24 : D0 – kontrolní skupina s kontinuálním 24hodinovým světelným režimem. Světelné režimy byly vytvořeny pomocí přenosných světel s příkonem 18 W Tommi LFL – CL 600 od firmy Tommi CZ, s.r.o., z České republiky, která byla nainstalována přibližně 10 cm nad hranou odchovných nádrží (cca 200–300 mm nad hladinou vody) a řízena automatickým časovačem podle jednoho z výše uvedeného světelného režimu. Každá odchovná nádrž byla individuálně dvoustupňově zastíněna pomocí černé geotextilie. První část zastínění tvořila plenta z černé geotextilie upevněná u stropu a dosahující až k podlaze experimentální haly. Tímto byla zastíněna a oddělena celá sekce 15 experimentálních nádrží od okolního prostředí haly (Obr. 23). Dále bylo na jednotlivých nádržích instalováno individuální zastínění překrytím černou geotextílií. Světlo používané v dané nádrži bylo vždy umístěno pod touto geotextílií a svítilo do nádrže. Když byla aplikována světelná část režimu, světlo bylo spínačem zapnuté, v opačném případě bylo světlo vypnuté.



Obr. 23. Prostorové oddělení intenzivního chovu štiky obecné (*Esox lucius L.*) v RAS od ostatních částí používané haly pomocí černé geotextilie (Foto: T. Policar).

V celém RAS, byla díky průtoku vody, který vyměnil objem nádrží dvakrát za hodinu, udržována stejná kvalita vody. Denně bylo vždy vyměněno 5 % celého objemu vody. Přítok vody do experimentálních nádrží byl zajištěn perforovanou trubičkou o délce poloměru nádrže. Tímto způsobem bylo zajištěno kruhové proudění vody, které umožňovalo usazování zbytků krmiva a exkrementů uprostřed nádrže. Takovýto přívod vody byl umístěn v každé nádrži nad hladinou vody. Průtok vody byl nastaven před nasazením ryb na $6 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$.

V průběhu odchovu byla v každé nádrži dvakrát denně (v 7:30 a 22:30 h) měřena teplota vody ($^{\circ}\text{C}$) a nasycení vody kyslíkem (%). Dále jednou denně byly měřeny hodnoty pH, koncentrace celkového amoniaku (TAN) a dusitanů NO_2^- podobným způsobem jako v kapitole 4.4. Průměrná teplota vody a obsah rozpuštěného kyslíku v průběhu odchovu byly $20,5 \pm 0,25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ a $95,5 \pm 14,0 \%$. Průměrné hodnoty pH, koncentrace celkového amoniaku a dusitanů se pohybovaly na úrovni $6,9 \pm 0,3$; $0,6 \pm 0,1 \text{ mg TNA} \cdot \text{l}^{-1}$ a $0,5 \pm 0,2 \text{ mgNO}_2^- \cdot \text{l}^{-1}$. Tímto způsobem byla udržována optimální teplota a kvalita vody potřebná pro intenzivní odchov larev a juvenilních ryb štiky obecné v kontrolovaných podmínkách RAS. Vedle parametrů kvality vody byla v každé nádrži jedenkrát denně mezi 7:00 až 9:00 h měřena intenzita světla dopadající na hladinu vody pomocí luxmetru (Unitest 93514 RS 232 od firmy BEHA-AMPROBE GmbH z Německa). Cílem tohoto měření bylo každodenní ověření nastavené světelné intenzity v jednotlivých nádržích.

Nasazení larev a jejich následný odchov v RAS

Plně rozplavané larvy s částečně stráveným žloutkovým váčkem ($W = 9,85 \pm 0,07 \text{ mg}$, $TL = 13,5 \pm 0,09 \text{ mm}$) byly získány z masové inkubace oplozených jiker dne 12. 4. 2021. Z těchto larev byl odebrán vzorek 250 ks ryb, který byl zafixován ve formalínu (viz kapitola 4.6.). Následně byla v laboratoři LIA v programu software Quick PHOTO MICRO 3.2. zjištěna celková délka jednotlivých nasazovaných larev (TL mm) s přesností na 0,1 mm. U stejných ryb byla ještě zjišťována hmotnost jednotlivých nasazovaných larev (W v mg) pomocí váhy KERN-ABT 220-SDM s přesností na 0,1 mg. Hlavní část získaných rozplavaných larev byla nasazena do odchovných nádrží, v kterých byla přechodně snížena teplota vody na $11 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Larvy byly do nádrží vysazeny v počáteční hustotě $20 \text{ ks} \cdot \text{l}^{-1}$. To odpovídalo množství 3 600 ks larev na jednu odchovnou nádrž, což představuje celkovou biomasu 35,5 gramů larev na jednu nádrž. Po vysazení larev do odchovných nádrží byla teplota vody ihned postupně zvyšována tak, aby 18 hodin po vysazení larev dosáhla konečné hodnoty $20,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Současně byl také ihned po vysazení larev do nádrží nastaven specifický světelný režim.

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTIKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS* L.) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD

Pokus trval 15 dní odchovu, a to od 12. 4. do 28. 4. 2021. V průběhu experimentu (Obr. 24) bylo ve všech odchovných nádržích aplikováno stejné startérové krmivo Otohime zakoupené od firmy Pacific Trading Aquaculture Ltd. z Irska: Otohime B1 s velikostí částic 0,25–0,36 mm od 1. do 5. dne odchovu, Otohime B2 s velikostí částic 0,36–0,65 mm od 6. do 10. dne odchovu a Otohime C1 s velikostí částí 0,58–0,84 mm od 11. do 15. dne odchovu ve stejných denních dávkách, ve výši 20 % z hmotnosti obsádky nasazovaných larev. Velikost pelet a nutriční specifikace jednotlivých použitých krmiv je uvedena v Tab. 14. Při nasazení byla z celkové hmotnosti larev v jednotlivých nádržích vypočtena denní krmná dávka (DKD) pro první den krmného experimentu, která činila 7,1 g krmiva na nádrž. Pro následující dny byla DKD snížena o úhyn ryb v dané nádrži a zvýšena o denní přírůstek biomasy ryb vycházející z vypočtené průměrné SGR (18,4 %·d⁻¹) publikované Policarem (2012b).

Jednotlivé skupiny s rozdílným světelným režimem se lišily v počtu krmných dávek v závislosti na délce světelného dne. Frekvence krmení byla každých 15 minut v průběhu světelného dne. Skupina L12 : D12 a L4 : D4 : L4 : D4 měly 48 krmných dávek a skupiny L16 : D8 a L8 : D4 : L8 : D4 měly 64 krmných dávek a skupina L24 : D0 měla 96 krmných dávek v průběhu 24 hodin. Krmivo bylo předkládáno ručně na hladinu nádrže se snahou minimalizovat jeho potápění. U jednotlivých skupin byla jednotlivá krmení aplikována přibližně ve stejném množství v průběhu celé světelné periody. V průběhu odchovu byla denně v 7:00 h zaznamenávána denní mortalita (DM) z předchozího dne (v kusech a celkové biomase). Následně po tomto zjištění byla DKD pro jednotlivé nádrže upravena a navážena na vahách Mettler – model AE 450 s přesností na 0,1 gramu.



Obr. 24. Intenzivní odchov juvenilních ryb štiky obecné (*Esox lucius* L.) v odchovné nádrži napojené na RAS (Foto: T. Polícar).

Tab. 14. Velikost pelet a nutriční složení krmiv používaných pro odchov larev a juvenilních ryb štiky obecné (*Esox lucius* L.) v kontrolovaných podmínkách RAS.

Ukazatel	Otohome		
	B1	B2	C1
Velikost částic (mm)	0,25 – 0,36	0,36 – 0,65	0,58 – 0,84
Bílkoviny (%)		56,3	58,3
Tuk (%)		15,9	12,9
Uhlohydráty (NFE* %)		6,9	7,0
Vláknina (%)		2,6	1,6
Popeloviny (%)		13,5	15,0

*Nitrogen-free extract (NFE) tj. bezdušikaté látky výťažkové (BNLV) jejich obsah se stanovuje výpočtem a jsou tvořeny převážně sacharidy, malou část mohou tvořit i organické kyseliny.

Pro zajištění a udržení dostatečné kvality prostředí v průběhu odchovu byly odchovné nádrže denně odkalovány a také bylo čištěno jejich dno. Vzhledem k velmi jemnému (300 μm) odtokovému sítku, které zabraňovalo úniku odchovávaných ryb, nedocházelo k samovolnému odplavování nečistot s odtékající vodou. Čištění tedy probíhalo formou odsávání zbytků krmiva, exkrementů a uhynulých ryb ze dna nádrže jednou denně (mezi 7:00 až 9:00 h). Nečistoty byly odsávány z jednotlivých nádrží hadičkou do věder, aby bylo možné následně spočítat uhynulé jedince pro výpočet DM, popřípadě vrátit zpět do nádrží živé ryby, které byly omylem odsáty. Tato práce byla usnadněna kónickým tvarem dna nádrže, umožňujícím alespoň částečné usazení kalu uprostřed nádrže. Po odsátí většiny kalu bylo ještě dno nádrže dočištěno gumovou stěrkou a po usazení zvršených nečistot, byly tyto sedimenty opětovně odsáty. Nutností bylo také čištění odtokového sítko, jehož otvory se zanášely výkaly ryb a zbytky krmiva. Veškeré čištění bylo prováděno se značnou opatrností.

Každý druhý den odchovu byl u larev a juvenilních ryb štiky obecné kontrolován v každé nádrži také zdravotní stav ryb odlovem a vyšetřením provedeným na jednom reprezentativním jedinci zkušeným chovatelem podle doporučeného postupu publikovaného Kolářovou a kol. (2019). V případě, že se v intenzivním chovu objevilo parazitární onemocnění, byla v celém RAS aplikována dlouhodobá léčebná koupel pomocí formaldehydu (37,5%, Penta, s.r.o., z ČR) v koncentraci 15 ml.m^{-3} s cílem předejít hromadným úhynům odchovávaných ryb. Léčebná koupel byla aplikována do celého systému včetně biologického filtru, odchovných nádrží a retenční nádrže recirkulačního systému.

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTIKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS* L.) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD

Na konci odchovu (28. 4. 2021) v ranních hodinách byly všechny ryby v jednotlivých nádržích vyloveny (Obr. 25) a byl spočítán počet přeživších ryb. U všech odchovaných ryb byla pomocí váhy Mettler AE 2000 zvážena celková biomasa přeživších ryb. U reprezentativního vzorku 33 kusů ryb z každé nádrže byla provedena detailní biometrika, při které byla změřena individuální celková délka larev (TL v mm) pomocí rybářského pravítka s přesností 1 mm a zjištěna hmotnost (W v mg) pomocí váhy KERN-ABT 220-SDM s přesností na 0,1 mg. Na základě počtu přeživších ryb (PPR) a denní zaznamenané mortality (DM v ks) byla na konci odchovu vypočítána míra kanibalizmu (K %) podle vzorce: $K = (PNL - DM - PPR) / PNL \times 100$, kde PNL – je počet nasazených larev. Z detailní biometricky byl také vypočítán Fultonův koeficient kondice (FK) a specifická rychlost růstu (SGR) stejným způsobem, který je popsán v kapitole 4.6. této publikace.



Obr. 25. Výlov a počítání odchovaných ryb štiky obecné (*Esox lucius* L.) v kategorii tzv. rychleného plůdku z intenzivní akvakultury využívající peletované krmivo a recirkulační akvakulturní systém (RAS) (Foto: T. Polícar).

Statistické vyhodnocení intenzivního chovu

Všechny biometrické a růstové parametry (TL, W a SGR), kondiční stav (FK), míra přežití a kanibalizmu (K) jsou prezentovány jako průměr \pm standardní chyba průměru. Statistické zpracování bylo provedeno v programu Statistica 12.0 pomocí jednofaktoriální analýzy variance ANOVA nebo neparametrického testu Kruskal-Wallis ($P < 0,05$). Tukeyho test vícenásobného porovnání byl použit pro porovnání odlišností mezi jednotlivými experimentálními skupinami.

4.8.2. Výsledky

Produkční výsledky z 15denního intenzivního odchovu larev a juvenilních štik při různých světelných režimech jsou uvedeny v Tab. 15. Z výsledků je patrné, že celodenní kontinuální světelný režim podpořil nejvyšší přežití odchovávaných štik (na konci odchovu 50,5 %), kdy toto přežití nebylo statisticky rozdílné od skupin se světelným režimem L8 : D4 : L8 : D4 (41,5%) a L16 : D8 (40,2%). Naopak skupiny s kratším, jen dvanáctihodinovým světelným režimem, bez ohledu na kontinuální či přerušovaný světelný režim (skupiny L12 : D12 a L4 : D4 : L4 : D4 : L4 : D4) dosáhly statisticky nižšího přežití odchovaných ryb na úrovni 22,5–35 %. Míra kanibalizmu negativně korelovala s přežitím odchovávaných ryb, tzn., že u ryb s kontinuálním 24hodinovým světelným režimem byla zaznamenána nejnižší míra kanibalizmu (15 %) oproti vyšší míře kanibalizmu u skupin L8 : D4 : L8 : D4 a L16 : D8 na úrovni 22,5–24 % a nejvyšší míře kanibalizmu (28,5–30 %), která byla zjištěna u skupin s nejnižším přežitím (skupiny L12 : D12 a L4 : D4 : L4 : D4 : L4 : D4). Z hlediska růstu, ryby nejlépe rostly ve skupinách při 24 či 16hodinovém světelném režimu bez ohledu na jeho přerušování či kontinuitu (TL = 35,0–38,8 mm, W = 165,0–248,0 mg a SGR = 24,1–25,5 %·d⁻¹) oproti skupinám s 12hodinovým režimem (TL = 30,8 mm, W = 135 mg a SGR = 21,1 %·d⁻¹).

Obecně lze konstatovat, že delší světelný režim zajišťuje při intenzivním odchovu juvenilních štik vyšší míru přežití, vyšší růst a nižší míru kanibalizmu. Nicméně takto provedený odchov je velmi náročný na obsluhu, která musí odchovávané štiky velmi často krmit (aplikace až 96 krmení v průběhu 24 hodin). Samozřejmě je možné zvážit a diskutovat použití nějakého automatizovaného podávání krmiv. Avšak při intenzivní chovu štiky v RAS bylo zjištěno, že vývoj a směr chovu se velmi rychle mění v závislosti na podmínkách chovu či zdravotního stavu ryb. Proto je velmi důležité intenzivní chov štiky nepřetržitě sledovat a v případě suboptimálních podmínek chovu či stavu ryb je nutné okamžitě odborně zakročit a vrátit podmínky chovu na optimální úroveň. Při kontrole zdravotního stavu odchovávaných ryb, byl kontinuálně pozorován výskyt běžných ektoparazitů (jako jsou kožovec rybi- *Ichthyophthirius*

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTIKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS* L.) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD

multifiliis, čepelena rybí – *Chilodonella* sp., brousilka – *Trichodina* sp. a bičivka rybí – *Ichtyobodo necator*). Ektoparazité byli většinou nacházeni v nízkých hustotách, s výjimkou 10. a 11. dne odchovu, kdy se intenzita napadení ryb ektoparazity zvyšovala a současně se zvýšila i denní mortalita odchovávaných ryb. V tomto okamžiku bylo nutné přistoupit k využití dlouhodobé léčebné koupele ve formaldehydu (37,5 %) v dávce 15 ml.m⁻³ s cílem zabránit masovému úhynu ryb. Obecně lze z těchto výsledků konstatovat, že štika obecná je velmi citlivá a náchylná na napadení zmíněnými ektoparazity.

Tab. 15. Souhrnné konečné hodnoty kumulativního přežití, míry kanibalizmu a růstu u skupin ryb s rozdílným světelným režimem na začátku a na konci odchovu v RAS.

Skupina	Přežití (%)	Míra kani-balizmu (%)	Celková délka TL		W (mg)		FK	SGR (%.d ⁻¹)
			Po-čáteční (mm)	Konečná (mm)	Po-čáteční (mg)	Konečná (mg)		
L12 : D12	35,0 ± 7,5 ^c	28,5 ± 5,5 ^a	13,5 ± 0,1 ^a	30,8 ± 0,9 ^b	9,85 ± 0,1 ^a	135,0 ± 41,0 ^b	0,80 ± 0,1 ^a	21,1 ± 0,3 ^b
L4 : D4 : L4 : D4 : L4 : D4	22,5 ± 8,5 ^d	30,0 ± 6,5 ^a	13,5 ± 0,1 ^a	29,2 ± 0,8 ^b	9,85 ± 0,1 ^a	130,0 ± 35,0 ^b	0,93 ± 0,1 ^a	21,0 ± 0,2 ^b
L16:D8	40,2 ± 7,0 ^b	24,0 ± 5,0 ^b	13,5 ± 0,1 ^a	35,0 ± 1,0 ^a	9,85 ± 0,1 ^a	165,0 ± 45,0 ^a	0,85 ± 0,1 ^a	24,1 ± 0,4 ^a
L8:D4:L8:D4	41,5 ± 7,5 ^b	22,5 ± 5,5 ^b	13,5 ± 0,1 ^a	35,5 ± 1,0 ^a	9,85 ± 0,1 ^a	172,0 ± 39,0 ^a	0,83 ± 0,1 ^a	24,2 ± 0,4 ^a
L24 : D0	50,5 ± 10,5 ^a	15,0 ± 5,0 ^c	13,5 ± 0,1 ^a	38,8 ± 1,2 ^a	9,85 ± 0,1 ^a	248,0 ± 45,0 ^a	0,77 ± 0,1 ^a	25,5 ± 0,4 ^a

Rozdílná písmena u kumulativního přežití, míry kanibalizmu, TL, W a SGR u jednotlivých skupin na konci odchovu znamenají v rámci sloupce statistický rozdíl ($P < 0,05$) v daných hodnotách mezi jednotlivými skupinami ryb (ANOVA).

4.8.3. Doporučení a závěr

Optimalizovaný intenzivní chov štiky obecné v RAS může být poměrně efektivně využit pro produkci tzv. rychleného plůdku tohoto druhu s velmi dobrou mírou přežití (40–50 %) odchovaných ryb o celkové délce TL = 29–38 mm. Tento intenzivní způsob chovu může být v budoucnosti používán jako alternativa chovu rychleného plůdku štiky obecné v rybnících, avšak chovatelé, kteří by chtěli takovou produkci realizovat, musí disponovat kvalitním RAS, odpovídajícími zkušenostmi, a především dostatečným pracovním nasazením po dobu minimálně 15 dní.

4.9. Příprava a vysazení odchovaných ryb do volných vod

Ještě před vlastní produkcí násadového materiálu štiky obecné, který je určen k vysazení do volných vod, je dobré oslovit odběratele a pečlivě odhadnout případnou potencionální poptávku po násadových rybách. Dále je také velmi důležité stanovit přibližný termín produkce násadových ryb či uskutečnění prodeje ryb odběrateli nebo vysazení ryb do volných vod. U štiky obecné navrhujeme produkovat a obchodovat ryby v podobě tzv. rychleného či podzimního plůdku (viz kapitoly 4.6. až 4.8.), jelikož produkce starších kategorií štiky obecné je velmi variabilní, nestálá a velmi těžko plánovatelná.

Při produkci rychleného či podzimního plůdku platí zásada, že vyprodukované a slovené ryby by se měly okamžitě či nejpozději do druhého dne od výlovu prodat či vysadit do vhodných revírů či lokalit. V případě delšího udržování ryb na omezeném prostoru bez prostorové izolace či oddělení nastupuje rychle silný kanibalismus mezi rybami, který může výrazným způsobem snížit efektivitu předchozího pracného odchovu.

Jak již bylo zmíněno v kapitole 4.6., před vysazováním plůdku štiky obecné je velmi důležité vybrat vhodné lokality, kam se odchovaný plůdek bude vysazovat. Jako vhodné lokality pro vysazení štiky obecné se především doporučují velké a úživné produkční rybníky či údolní nádrže, které jsou prostorově členité s rozsáhlým pobřežím porostlým bohatou vodní makrovegetací.

Odchovaný plůdek štiky obecné je možné transportovat buď na kratší vzdálenosti v polyetylenových pytlích s vodou a kyslíkovou atmosférou nebo v transportních bednách na terénních automobilech se zdrojem čistého kyslíku určeného k oxyličování vody při transportu ryb. Před vlastním prodejem, transportem a vysazením je vhodné ryby držet v přibližně podobných teplotních podmínkách, do kterých se budou vysazovat. Při dodržení těchto zásad je možné významně omezit ztráty ryb po jejich odchovu, při transportu a při vysazování či po něm, a tak efektivně uplatnit násadu štiky obecné v cílových lokalitách volných vod.

5. EKONOMICKÝ PŘÍNOS

Ověřené technologické postupy v této publikaci mohou pomoci podniku BioFish, s.r.o., zvýšit synchronizaci výtěrů generačních ryb štiky obecné, a zkrátit tak výtěrovou sezónu v tamní líhni o jeden týden, což může přinést úsporu na mzdových prostředcích a spotřebě energií na úrovni 30–50 000 Kč ročně. Dále mohou ověřené technologické postupy zmíněnému podniku pomoci zvýšit míru oplozenosti jiker a líhivosti larev přibližně o 10 %, kdy při objemu produkce 2 000 000 ks vytřených jiker se jedná o navýšení produkce larev až

OPTIMALIZACE REPRODUKCE A CHOVU PLŮDKU ŠTIKY OBECNÉ (*ESOX LUCIUS* L.) PRO VYSAZOVÁNÍ DO VOLNÝCH VOD

o 200 000 ks, což odpovídá zvýšeným ročním příjmům o 12 000 Kč bez DPH. Dále mohou tyto postupy pomoci zvýšit efektivitu odchovu rychleného plůdku štiky obecné o 10%, kdy při roční produkci 80 000 ks rychleného plůdku se jedná o zvýšenou produkci o 8 000 ks ročně, což představuje zvýšený roční příjem na úrovni 24 000 Kč bez DPH. Vysazování rychleného plůdku štiky obecné do rybníků, kde probíhá odchov kapří násady a při kterém může docházet k nižší produkci kapra vlivem negativní konkurence ze strany introdukované střevličky východní, může napomoci dosáhnout zvýšené produkce kapří násady na úrovni 100–200 kg.ha⁻¹. Toto navýšení produkce kapří násady z cca 10–20 hektarů plochy rybníků, kam může být potencionálně rychlená štika při produkci kapří násady podniku BioFish, s.r.o., vysazována, může přinést zvýšený ekonomický příjem na úrovni 50 000–200 000 Kč bez DPH.

6. UPLATNĚNÍ TECHNOLOGIE V PRAXI

Tato ověřená technologie může v budoucnosti najít široké praktické uplatnění u produkčních rybářských podniků či sportovních rybářských svazů s cílem zvýšit efektivitu reprodukce generačních ryb, odchovu larev a juvenilních ryb štiky obecné, a tak stabilizovat produkci kvalitního násadového materiálu tohoto druhu. Výsledky této publikace budou v krátké budoucnosti aplikovány především v rybářském podniku BioFish, s.r.o., s cílem diverzifikovat jeho současnou produkci a zvýšit objem produkce násadového materiálu štiky obecné určené k následnému vysazování do volných vod.

7. SEZNAM LITERATURY

- Adámek, Z., Helešic, J., Maršálek, B., Rulík, M., 2010. Aplikovaná hydrobiologie (2. vydání). FROV JU, Vodňany, 350 s.
- Blaxter, J.H.S., Hempel, G., 1963. The influence of egg size on herring larvae (*Clupea harengus* L.). ICES Journal of Marine Science 28: 211–240.
- Billard, R., 1996. Reproduction of Pike: gametogenesis, gamete biology and early development. In: Craig, J.E. (Ed.), Pike – biology and exploitation. Chapman and Hall, London, UK, pp. 13–67.
- Bondarenko, V., 2014. Reproduction and intensive juvenile culture in northern pike (*Esox lucius* L.). Ph.D. thesis, USB FFPW, RICH, Vodňany, 118 pp.
- Bondarenko, V., Hajicek, J., Stejskal, V., Drozd, B., Policar, T., 2012. Effect of different density on the growth, survival and morphological characteristics in pike (*Esox lucius*) larvae under controlled conditions during first exogenous feeding. In: New, M. (Chairman AQUA 2012): AQUA 2012 – Global Aquaculture, Securing Our Future, USB of Abstracts, Prague, Czech Republic, p. 150.
- Bondarenko, V., Kříšťan, J., Švinger, V., Policar, T., 2013. Reprodukce a odchov rychleného plůdku štiky (*Esox lucius* L.). Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 141, 54 s.
- Bondarenko, V., Podhorec, P., Svinger, V., Policar, T., 2015a. Evaluation of different treatments for induction of ovulation in Northern pike (*Esox lucius* L.). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 15: 581–587.
- Bondarenko, V., Drozd, B., Policar, T., 2015b. Effect of water temperature on egg incubation time and quality of newly hatched larvae of northern pike (*Esox lucius* L., 1758). Journal of Applied Ichthyology 31: 45–50.
- Bondarenko, V., Blecha, M., Policar, T., 2018. Changes of sperm morphology, volume, density and motility parameters in northern pike (*Esox lucius* L.) during the reproductive season. Fish Physiology and Biochemistry 44: 1591–1597.
- Craig, J.F., 1996. Population dynamics, predation and role in the community. In: Craig, J.E. (Ed.), Pike – biology and exploitation. Chapman and Hall, London, UK, pp. 201–217.

- Crossman, E.J., 1996. Taxonomy and distribution. In: Craig, J.E. (Ed.), Pike – biology and exploitation. Chapman and Hall, London, UK, pp. 1–11.
- Dušek, T., 2013. Vliv světelného režimu na úspěšnost adaptace larev štiky obecné (*Esox lucius*) na umělé krmivo v rámci RAS. Diplomová práce, FROV JU, 65 s.
- Hampel, J., 2015. Optimalizace umělé inkubace jiker a embryí u štiky obecné (*Esox lucius* L.) v kontrolovaných podmínkách. Diplomová práce, FROV JU, 64 s.
- Hochleithner, M., 2004. Hechte (Biologie und Aquakultur). Aquatech Publications, Kitzbühel, Austria, 152 pp.
- Hulák, M., Rodina, M., Linhart, O., 2008a. Characteristics of stripped and testicular Northern pike (*Esox lucius*) sperm: spermatozoa motility and velocity. Aquatic Living Resources 21: 207–212.
- Hulák, M., Rodina, M., Linhart, O., 2008b. Charakteristika vytěného a testikulárního spermatu štiky obecné (*Esox lucius* L.): motilita a rychlost spermií. Bulletin VÚRH Vodňany 44: 3–9.
- Kamler, E., 2002: Ontogeny of yolk-feeding fish: an ecological perspective. Reviews of Fish Biology and Fisheries 12: 79–103.
- Kolářová, J., Nepechalová, L., Polícar, T., 2019. Řešení zdravotní problematiky v intenzivních chovech ryb využívající RAS (Recirkulační akvakulturní systém). Edice Metodik, FROV JU Vodňany, 180, 58 s.
- Kottelat, M., Freyhof, J., 2007. Handbook of European freshwater fishes. Publications Kottelat. Cornol and Freyhof. Berlin, 646 pp.
- Kouřil, J., Polícar, T., Podhorec, P., Stejskal, V., 2020. Hormonální stimulace vybraných druhů ryb k umělému a poloumělému výtěru. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 176, 105 s.
- Kristan, J., Stara, A., Turek, J., Polícar, T., Velisek, J., 2012. Comparison of the effects of four anaesthetics on haematological and blood biochemical profiles in pikeperch (*Sander lucioperca* L.). Neuroendocrinology Letters 33: 66–71.
- Kristan, J., Samarin, A.M., Malinovský, O., Polícar, T., 2020. Gamete management for artificial reproduction of northern pike *Esox lucius* (Linnaeus, 1758). Aquaculture 528: 735575.
- Lusk, S., Krčál, J., 1982. Štika obecná. Vyd. Naše vojsko, Praha, 54 s.
- Mann, R.H.K., 1996. Fisheries and economics. In: Craig, J.E. (Ed.): Pike - biology and exploitation. Chapman and Hall, London, UK, pp. 219–241.
- Mořický, J., Mareš, L., Ženišková, H., Chalupa, P., 2020. Situační a výhledová zpráva. Ryby. Ministerstvo zemědělství, 44 s.
- Plaňanský, T., 2018. Odběr spermatu pomocí katetru a jeho využití při výtěru štiky obecné (*Esox lucius* L.). Diplomová práce, FROV JU, 90 s.
- Polícar, T., 2012a. Ověření technologie zaručující kvalitní a vyrovnanou produkci násadového materiálu štiky obecné. Technická zpráva z pilotního projektu č. CZ.1.25/3.4.00/11.00397, 37 s.
- Polícar, T., 2012b. Vývoj technologie potravní adaptace larev štiky obecné na peletované krmivo a intenzivní chov v RAS. Technická zpráva z pilotního projektu č. CZ.1.25/3.1.00/11.00271, 25 s.
- Polícar, T., Podhorec, P., Stejskal, V., Hamackova, J., Alavi, S.M.H., 2010. Fertilization and hatching rates and larval performance in captive common barbel (*Barbus barbus* L.) throughout the spawning season. Journal of Applied Ichthyology 26: 812–815.
- Polícar, T., Bláha, M., Kříšťan, J., Stejskal, V., 2011. Kvalitní a vyrovnaná produkce rychleného plůdku candáta obecného (*Sander lucioperca*) v rybnících. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 110, 33 s.
- Polícar, T., Kříšťan, J., Malinovský, O., Pěnka, T., Kolářová, J., 2021a. Optimalizovaná reprodukce a efektivní chov candáta obecného (*Sander lucioperca*) zajišťující produkci kvalitního násadového materiálu. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 187: 66 s.
- Polícar, T., Lepič, P., Pěnka, T., Hájíček, J., Šetlíková, I., 2021b. Chov a reprodukce parmy obecné (*Barbus barbus*) pro produkci násadových ryb. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, 193: 62 s.
- Prejs, A., Martyniak, A., Boroń, S., Hilwa, P., Koperski, P., 1994. Food web manipulation in a small, eutrophic Lake Wirbel, Poland: effect of stocking with juvenile pike on planktivorous fish. Hydrobiologia 275: 65–70.
- Raat, A.J. 1989. Synopsis of biological data on the Northern pike, *Esox lucius* Linnaeus, 1758. Copeia, 1099.
- Regenda, J., 2016. Chov doplňkových (vedlejších) druhů ryb. In: Hartman, P., Regenda, J. (Eds), Praktika v rybníkářství (2. vyd.). FROV JU, Vodňany, s. 181–356.
- Švinger, V.W., Bondarenko, V., Kallert, D.M., Polícar, T., 2012. Vliv dvou metod hypofyzace na kvalitu jiker u štiky obecné (*Esox lucius*). Bulletin VÚRH Vodňany 48: 21–33.
- Zaikov, A., Iliev, I., Hubenova, T., 2008. Induction and recovery from anaesthesia in pike (*Esox lucius* L.) exposed to clove oil. Bulgarian Journal of Agricultural Science 14: 165–170.

Interní odborný oponent

Ing. Pavel Lepič, Ph.D., Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický, Zátíší 728/II, 389 25 Vodňany, www.frov.jcu.cz

Externí odborný oponent

doc. RNDr. Irena Šetlíková, Ph.D., Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, Studentská 1668, 370 01 České Budějovice, www.zf.jcu.cz

Adresy autorského kolektivu

doc. Ing. Tomáš Polícar, Ph.D., Mgr. Tomáš Pěnka, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický, Zátíší 728/II, 389 25 Vodňany, www.frov.jcu.cz

Ing. Jiří Křišťan, Ph.D., Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický, Zátíší 728/II, 389 25 Vodňany, www.frov.jcu.cz;

Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra ekológie, Illkovičova ulica 6, 842 15 Bratislava, Slovenská republika, www.ekologiauk.sk

M.Sc. Volodymyr Bondarenko, Ph.D., Fish farm Juvent, Travna ul. 47, Hola Prystan, Kherson 756 000, Ukrajina

V edici Metodik (Technologická řada) vydala Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, editor: dr hab. Ing. Josef Velíšek, Ph.D., redaktorka: Zuzana Dvořáková, Náklad: 400ks, vydáno v r. 2021, grafický design a technická realizace: Jesenické nakladatelství Jena Šumperk.