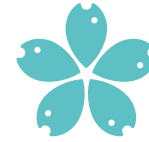




Fakulta rybnářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

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

Hormonální stimulace vybraných druhů ryb k umělému a poloumělému výtěru

Jan Kouřil, Tomáš Polícar, Peter Podhorec
a Vlastimil Stejskal



ISBN 978-80-7514-111-8





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

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

Hormonální stimulace vybraných druhů ryb k umělému a poloumělému výtěru

Jan Kouřil, Tomáš Polícar, Peter Podhorec a Vlastimil Stejskal

Vodňany



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství

**Vydání a tisk publikace byly uskutečněny v rámci Operačního programu
Rybářství 2014–2020:**

„Publikace II“ CZ.10.5.109/5.2/4.0/18_012/0000591

**Obsahová část publikace byla zpracována za finanční podpory následujících
projektů:**

*NAZV projekt QJ1510117 Optimalizace metod umělé a poloumělé reprodukce
ryb – 60 %*

*NAZV projekt QK1710310 Využití nových biotechnologických postupů
v podmínkách české akvakultury s cílem dosáhnout efektivní, kvalitní
a ekologicky šetrné produkce ryb – 35 %*

*MŠMT projekt CENAKVA (LM2018099) a Biodiverzita (Reprodukční
a genetické postupy pro uchování biodiverzity ryb a akvakulturu)
(CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_025/0007370) – 5 %*



č. 176

ISBN 978-80-7514-111-8

OBSAH

1. ÚVOD	7
2. CÍL	11
3. MÍSTO OVĚŘENÍ TECHNOLOGIE	11
4. POPIS TECHNOLOGIE	12
4.1. Původ, environmentální stimulace a výběr generačních ryb v předvýtěrovém období	12
4.2. Anestézie ryb a používaná anestetika	15
4.3. Používané hormonální přípravky	16
4.3.1 Supergestran	16
4.3.2. Ovopel	16
4.3.3. Dagin	17
4.3.4. Chorulon	18
4.3.5. Kapří hypofýza	19
4.4. Postup přípravy hormonálních přípravků pro aplikaci rybám	20
4.5. Postup při injkaci	22
4.6. Jednotlivé technologické postupy předvýtěrové přípravy, anestezie a řízené reprodukce vybraných druhů ryb	23
4.6.1. Kapr obecný (<i>Cyprinus carpio</i>)	23
4.6.2. Lín obecný (<i>Tinca tinca</i>)	30
4.6.3. Karas obecný (<i>Carassius carassius</i>)	37
4.6.4. Amur bílý (<i>Ctenopharyngodon idella</i>), tolstolobik bílý (<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>), tolstolobec pestrý (<i>Aristichthys nobilis</i>) a amur černý (<i>Mylopharyngodon piceus</i>)	38
4.6.5. Perlín ostrobřichý (<i>Scardinius erythrophthalmus</i>)	45
4.6.6. Jelec jesen (<i>Leuciscus idus</i>)	48
4.6.7. Parma obecná (<i>Barbus barbus</i>)	51
4.6.8. Bolen dravý (<i>Aspius aspius</i>)	56
4.6.9. Podoustev říční (<i>Vimba vimba</i>)	59
4.6.10. Sumec velký (<i>Silurus glanis</i>)	62
4.6.11. Keříčkovec červenolemý – sumeček africký (<i>Clarias gariepinus</i>)	66
4.6.12. Okoun říční (<i>Perca fluviatilis</i>)	70
4.6.13. Candát obecný (<i>Sander lucioperca</i>)	76
4.6.14. Mník jednovousý (<i>Lota lota</i>)	84
4.6.15. Štika obecná (<i>Esox lucius</i>)	87
4.6.16. Jeseter malý (<i>Acipenser ruthenus</i>) a jeseter sibiřský (<i>Acipenser baerii</i>)	93
5. EKONOMICKÝ PŘÍNOS	97
6. UPLATNĚNÍ TECHNOLOGIE V PRAXI	97
7. SEZNAM LITERATURY	97

1. ÚVOD

Úspěšný management chovu generačních ryb zajišťující jejich dobrou kondici, fyziologický a výživný stav, pravidelné dozrávání pohlavních produktů, vyrovnanou a úspěšnou reprodukci je základním předpokladem každé nezávislé a rentabilní tržní produkce (Peter a Yu, 1997; Zohar a Mylonas, 2001; Mañanós a kol., 2009). Jednotlivé technologické postupy managementu chovu a reprodukce se významně liší u jednotlivých hospodářsky či sportovně významných druhů ryb v závislosti na jejich reprodukční biologii, fyziologii a nárokům na prostředí (Kouřil, 2002; Mañanós a kol., 2009; Kouřil a kol., 2011; Polícar a kol., 2015).

Současná akvakultura, ať už v České republice či jinde na světě, je plně závislá na produkci nasadového materiálu, který pochází z umělého nebo poloumělého výtěru. V současné době se neustále rozšiřuje druhové spektrum uměle či polouměle rozmnožovaných ryb s cílem produkovat tržní, okrasné či ryby určené k vysazení do volných vod. Některé druhy jsou ohrožené nebo chráněné. Snahou chovatelů takovýchto druhů je zajistit jejich efektivní chov, produkovat ryby vhodné k vysazení, potažmo zvýšit a rozšířit jejich výskyt ve volných vodách (Kouřil a kol., 2011; Teletchea a Fontaine, 2014; Polícar a kol., 2015; Fontaine a kol., 2015).

Nevyhnutelnost hormonálně indukovaného výtěru pramení z neschopnosti většiny hospodářsky významných druhů ryb podstoupit finální dozrávání gamet v kontrolovaných podmínkách (Kouřil a kol., 1997; Kouřil, 2002; Podhorec a Kouřil, 2009a,b). Příčinou této reprodukční dysfunkce je absence environmentálních podnětů nebo působení vysokého stresu u generačních ryb. Jako je tomu např. u candáta obecného – *Sander lucioperca* (Zarski a kol., 2015), štiky obecné – *Esox lucius* (Bondarenko a kol., 2014, 2015) a dalších druhů, u kterých zmíněné aspekty zabraňují a blokuji pozitivní stimulaci neuroendokrinního řízení finálních stadií gametogeneze (Mañanós a kol., 2009). Na základě srovnávacích studií divokých a v zajetí chovaných populací ryb byla jako hlavní důvod reprodukční dysfunkce identifikována nedostatečná sekrece luteinizačního hormonu (LH). Prvotním řešením byla aplikace přirozených exogenních gonadotropních hormonů nahrazujících nedostatečnou produkci LH, který stimuluje finální zrání gamet. Objev gonadotropiny uvolňujícího hormonu (GnRH) umožnil komplexnější nápravu v podobě stimulace nejen LH sekrece, ale i sekrece spolupůsobících biologicky aktivních, látek jako jsou růstové hormony, inzulin, prolaktin či hormon štítné žlázy (Peter a Yu, 1997).

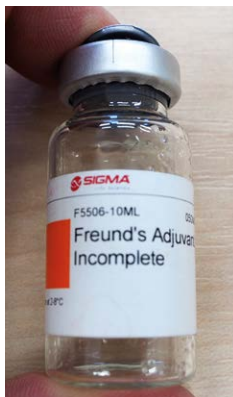
Účinnost hormonálního ošetření generačních ryb se může několikanásobně zvýšit aplikací synteticky připravených GnRH analogů (GnRH_a). Takzvané

neuropeptidy byly postupně uměle syntetizovány s cílem získat jejich vyšší rezistenci vůči štěpení endopeptidázami. Snahou je zajistit déletrvající fyziologicky potřebnou koncentraci peptidů v krevní plazmě ryb pro stimulaci ovulace či spermiace generačních ryb. Proto můžeme v současnosti pozorovat trvalý odklon od používání přirozených gonadotropinů (kapří hypofýza, GtH, FSH – folikulistimulační hormon, LH či choriogonadotropiny) s cílem postupně vyvíjet a využívat univerzální hormonální preparáty obsahující funkční peptidy GnRHa. Takovéto preparáty jsou pak využívány k indukci ovulace oocytů či zvýšené spermiace různých druhů ryb (Yaron a kol., 2002; Haffray a kol., 2005; Kouřil a kol., 2006a).

Další zefektivnění hormonálního ošetření generačních ryb přináší kombinovaná aplikace GnRHa s antagonistou dopaminu (nejčastěji je využíván metoklopramid). Tohoto ošetření se především využívá u druhů vyznačujících se výraznou dopaminergní kontrolou, syntézou a sekrecí LH, jako je třeba lín obecný – *Tinca tinca* (Podhorec a Kouřil, 2009a,b; Podhorec a kol., 2012a,b; 2016). Ovšem využití kombinace GnRHa a inhibitoru dopaminu při hormonálním ošetření generačních ryb lína obecného může mít i negativní dopad na jeho kvalitu jiker a následnou efektivitu jeho reprodukce (míru oplozenosti a úspěšnost inkubace jiker či líhivost váčkového plůdku). Toto zjištění je překvapivé a významně doplňuje znalosti o dopaminní inhibici sekrece LH u čeledi Cyprinidae. Z tohoto důvodu je důležité velmi pečlivě volit typ hormonální léčby reprodukční dysfunkce generačních ryb u celé řady druhů, jež se vyznačují žádnou, mírnou nebo výraznou dopaminní inhibicí sekrece LH (Peter a Yu, 1997; Zohar a Mylonas, 2001; Podhorec a Kouřil, 2009a,b).

Dalším významným druhovým nebo skupinovým specifkem reprodukce generačních ryb ovlivňující jejich efektivní hormonální ošetření je asynchronní dozrávání oocytů a dlouhé výtěrové období. To je typické pro lososovité ryby, u kterých většinou jednorázová aplikace GnRHa neumožňuje vyvolat ovulaci u celého generačního hejna ryb. U lososovitých ryb je tedy nutné využít kontinuálního a dlouhodobého uvolňování GnRHa s cílem dosáhnout trvalé a vysoké hladiny neuropeptidu v krvi ryb, a dosáhnout tak ovulace u většiny generačních ryb v daném hejnu. To je možné realizovat buď implantací malých tělísek či pelet přípravku Ovaplant nebo je možné využít jednoduššího způsobu, a tím je injekce GnRHa v emulzi Freundova inkompletního adjuvancia (Obr.1; Švinger a Kouřil, 2012; Švinger a kol., 2013a,b).

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU



Obr. 1. Freundovo inkompletní adjuvancium, které se používá při hormonální injekci generačních ryb v kombinaci s GnRHa (Foto: T. Polícar).

Vedle volby vhodného typu hormonálního přípravku (ošetření) generačních ryb je zásadním faktorem ovlivňujícím účinnost tohoto ošetření forma jeho podání. Hormonální přípravek může být do ryb vpraven tzv. klasickou aplikací, kdy se preparát rozpustí ve fyziologickém roztoku a injekčně se aplikuje v podobě čerstvě připraveného roztoku. Roztok se aplikuje do těla ryb intramuskulárním (do hřbetní svaloviny), intraperitoneálním (přes stěnu břišní do ovárií nebo do tělní dutiny břišní ploutve) nebo perikardiálním (do osrdečníku vpichem do jamky pod bázi prsní ploutve) způsobem. Hormonální přípravek může být do těla ryby aplikován také perorální cestou (do ústní dutiny), ovšem tato metoda se u klasické aplikace příliš nevyužívá. Perorální aplikace se využívá u velikostně malých druhů ryb (Kouřil a kol., 2011).

Všechna zmíněná klasická podání hormonálního přípravku přinášejí výraznou nevýhodu, velmi rychle totiž probíhají enzymatické degradace injekčně aplikovaných peptidů. Po podání preparátu dosáhne koncentrace peptidu v krevní plazmě poměrně rychle svého maxima a následně zase velmi rychle klesá. Tím dochází k výraznému snížení účinku aplikovaného preparátu. K udržení efektivní hladiny peptidu v krevní plazmě je při klasické aplikaci proto zapotřebí jeho opakované podávání a zapravení do těla generačních ryb. V opačném případě koncentrace peptidu v krevní plazmě klesá pod účinnou hladinu. Opakované podávání hormonálního preparátu však způsobuje technologické komplikace v organizaci práce na rybích líhních, zvýšenou manipulaci s cennými generačními rybami, jejich zvýšený stres a častou zvýšenou mortalitu (Peter a Yu, 1997; Zohar a Mylonas, 2001; Podhorec a Kouřil, 2009a,b; Svinger a kol., 2013a,b).

S rozvojem mikro- a nano- biotechnologií se otevírají nové možnosti efektivní aplikace biologicky aktivních látek (tedy také hormonálních preparátů) a jejich zapravení do rybího organismu ve formě mikročástic, respektive nanočástic. Tyto částice umožňující postupné uvolňování navázané hormonální látky v požadované dávce a po potřebnou dobu. Významnou výhodou tohoto způsobu aplikace je také ochrana účinné hormonální látky před nežádoucími vlivy okolního prostředí a možnost postupného uvolňování v těle ryb. Tímto způsobem se významně zvyšuje účinnost preparátu. Současně se při této aplikaci významně snižuje výskyt nežádoucích účinků a celková dávka podávaného preparátu, která je potřebná pro efektivní hormonální ošetření generačních ryb. Díky tomu je možné udržet účinnou koncentraci LH v krevní plazmě po potřebnou dobu. Tato doba a koncentrace LH se potom mohou blížit fyziologickým nárokům ošetřovaných generačních ryb (Matejkova a Podhorec, 2019).

V případě mikročástic se jako nosiče hormonálních preparátů s úspěchem využívají mikrosféry tvořené kopolymerem kyseliny glykolové a mléčné (PLGA) nebo kyseliny polymléčné (PLA). Mikrosféry jsou matricové systémy, u nichž je léčivo rozptýleno uvnitř polymerové matrice, které se vyznačují biokompatibilitou a biologickou odbouratelností. Mezi nejpoužívanější přirozené polymery patří například chitosan. Chitosan je kladně nabitý polysacharid extrahovaný z chitinu, považovaný za bezpečnou a účinnou látku usnadňující absorpci a bioadhezi biologicky aktivních látek. Chitosan je studován především jako nosič hormonálních účinných látek při stimulaci a indukci ovulace u ryb (Matejkova a Podhorec, 2019).

Pro další rozvoj intenzivní akvakultury v ČR a na celém světě je velmi důležité pokračovat ve výzkumu nových hormonálních preparátů a jejich účinných látek včetně optimalizace jejich aplikace a dávkování. Cílem tohoto výzkumu je zefektivnit umělou či poloumělou reprodukci ryb zahrnující vysokou pracovní plodnost, synchronizaci výtěrů, kvalitu získaných gamet a následně osemenění jiker, dále zvýšení produktivity práce při reprodukci ryb, omezení stresu, snížení rizika poranění a mortality vytíraných ryb a současně efektivně rozmnožovat větší spektrum nových rybích druhů. Dalším záměrem je vyvinout účinný hormonální preparát, který umožňuje orální aplikaci hormonálních látek u velikostně malých a současně velmi cenných tropických druhů ryb, které se chovají v produkční intenzivní akvakultuře nebo jako okrasné ryby v akvaristice (Mañanós a kol., 2009; Kouřil a kol., 2011).

Tato ověřená technologie navazuje na dříve publikovanou certifikovanou metodiku (Kouřil a kol., 2011), která je významně doplněna o nové odborné a prakticky využitelné informace a zkušenosti týkající se úspěšného poloprovozního využití komerčních hormonálních přípravků k dosažení

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

finálního dozrávání a následnému úspěšnému uvolnění gamet v rámci umělých či poloumělých výtěrů vybraných druhů ryb. Bylo testováno především využití a aplikace hormonálních přípravků na bázi syntetických analogů gonadotropiny uvolňujícího hormonu-GnRHa (přípravek Supergestran), GnRHa společně s inhibitory dopaminu (přípravek Ovopel a Dagin), choriogonadotropinu (přípravek Chorulon) či na bázi přirozených gonadotropinů v podobě tradiční dehydratované kapří hypofýzy. Současně byly ověřeny optimální postupy a podmínky vedoucí k finální přípravě generačních ryb na hormonální stimulaci, protože jen kvalitní generační ryby v dobré kondici s dostatečně dozralými pohlavními orgány mohou být hormonálně stimulovány a ošetřovány během úspěšných výtěrů. V závěru publikace je u každého druhu popsána délka intervalu latence (délku období od hormonálního ošetření ryb po jejich výtěr) a optimální ověřené postupy zajišťující vysoké procento ovulujících ryb. Jako doplňující informace byl připojen ověřený postup odběru a použití spermatu při osemenění získaných jiker s cílem dosáhnout kvalitní a vyrovnané produkce váčkového plůdku u vybraných druhů ryb.

2. CÍL

Cílem ověřené technologie bylo v letech 2012–2018 prakticky ověřit optimální technologické postupy týkající se: výběru kvalitních generačních ryb k jejich reprodukci, finálního dozrávání gamet obou pohlaví generačních ryb včetně realizace jejich úspěšné a šetrné anestezie a hormonálního ošetření. Snahou ověřené technologie bylo dosáhnout synchronizované indukce ovulace ryb s následně realizovaným umělým či poloumělým výtěrem. Tato technologie je primárně určena pro rybářské produkční podniky a rybí líhne zabývající se řízenou reprodukcí vybraných hospodářsky a sportovně významných druhů ryb s cílem zvýšit produktivitu práce na rybích líhních a celkově zefektivnit realizaci výtěrů zaručující vysokou míru oplozenosti jiker a následnou líhivost kvalitních embryí. Oplozenost jiker je hodnocena jako procentuální podíl úspěšně oplozených a životaschopných jiker hodnocených několik hodin či dnech (v závislosti na druhu ryby) po vlastním procesu oplození k celkovému počtu oplozovaných jiker. Líhivost embryí vyjadřuje procentický podíl úspěšně vylíhnutých embryí z celkového počtu oplozovaných jiker.

3. MÍSTO OVĚŘENÍ TECHNOLOGIE

Předložená technologie vychází z poloprovozních experimentů realizovaných u kapra obecného (*Cyprinus carpio*), lína obecného (*Tinca tinca*), amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*) a černého (*Mylopharyngodon*

piceus), perlína ostrobřichého (*Scardinius erythrophthalmus*), parmy obecné (*Barbus barbus*), karase obecného (*Carassius carassius*), podoustve říční (*Vimba vimba*), bolena dravého (*Aspius aspius*), sumce velkého (*Silurus glanis*), okouna říčního (*Perca fluviatilis*), candáta obecného (*Sander lucioperca*), štiky obecné (*Esox lucius*), jesetera malého (*Acipenser ruthenus*) a jesetera sibiřského (*A. baerii*) na Experimentálním rybochovném pracovišti a pokusnictví (ERPP) a Genetickém rybářském centru (GRC) Výzkumného ústavu rybářského a hydrobiologického (VÚRH) Fakulty rybářství a ochrany vod Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích (FROV JU) a také u keříčkovce červenolemého (*Clarias gariepinus*) v Ústavu akvakultury a ochrany vod (ÚAOV) FROV JU. Další poloprovozní experimenty a jejich ověřování probíhaly v provozních podmínkách: školního pokusnictví Střední rybářské školy a Vyšší odborné školy vodního hospodářství a ekologie Vodňany (SRŠ a VOŠ VHE Vodňany) u candáta obecného, rybí líhně v Borové Ladě Národního parku Šumava u mníka jednovousého (*Lota lota*), produkčních líhních: v Tisové rybářského podniku Rybářství Mariánské Lázně, s.r.o., u parmy obecné, v Mydlovarech rybářského podniku BaHa, s.r.o., u jesetera malého, jesetera sibiřského a jelce jesena (*Leuciscus idus*), ve Štiptoni u Nových Hradů rybářského podniku Rybářství Nové Hradky, s.r.o., u štiky obecné, kapra obecného, lína obecného a sumce velkého, v Písečném u Hodonína rybářského podniku Rybářství Hodonín, s.r.o., u amura bílého, tolstolobika bílého (*Hypophthalmichthys molitrix*) a tolstolobce pestrého (*Aristichthys nobilis*), v Mokřinách u Chlumu u Třeboně produkčního podniku Rybářství Třeboň, a.s., u kapra obecného a amura bílého a rybích líhních sportovních rybářských svazů v Pardubicích (ČRS MO Pardubice) u jelce jesena a v Poušově u Třebíče (MRS pobočný spolek Třebíč) u parmy obecné.

4. POPIS TECHNOLOGIE

4.1. Původ, environmentální stimulace a výběr generačních ryb v předvýtěrovém období

Každý zodpovědný chovatel si s dostatečným časovým předstihem musí zajistit adekvátní množství generačních ryb před samotnou realizací reprodukce daného druhu. Vlastní chov generačních ryb je ideální způsob, jak je možné ryby získat. Jen takovýmto způsobem, který je často nazýván jako uzavřený obrat hejna ryb, producent dokáže ovlivnit množství a kvalitu generačních ryb plně připravených k reprodukci. V tomto případě musí chovatel také znát přesný původ, stáří a historii chovu generačních ryb. Tyto informace jsou velmi důležité pro úspěšnou reprodukci a následnou kvalitní produkci remontních ryb či vlastní kvalitní produkci tržních ryb.

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

V opačném případě je chovatel závislý na dodavatelích generačních ryb, což není úplně optimální situace, která ve většině případů způsobuje nedostatečné množství ryb, jejich nedokonalou přípravu před výtěrem, neefektivní reprodukci s následnou zhoršenou produkcí váčkového plůdku takto vytíraných druhů. Tato situace může výrazným způsobem zhoršovat rentabilitu rybářských provozů, a proto se běžně nepraktikuje. Produkční podniky bez možnosti chovu a výtěru generačních ryb většinou nakupují váčkový plůdek, který následně nasazují do svých chovů. Takovýto chov je označován jako chov ryb s otevřeným obratem hejna a není ideálním produkčním způsobem chovu, jelikož je závislý na dodavatelích váčkového plůdku ryb. Při nedostatku váčkového plůdku ryb na trhu se může zhoršit produkční situace takového chovu, jelikož chovatel není schopný nakoupit plůdek v požadovaném množství a kvalitě. Tento stav se může negativně projevit v dalších fázích chovu, kdy dojde k nedostatečné produkci násadových ryb, které ovlivňují rentabilitu produkce tržních ryb. Zmíněná situace se běžně nevyskytuje u tradičních druhů ryb, jako je: kapr obecný, lín obecný, sumec velký a amur bílý, avšak u ostatních druhů ryb je produkce váčkového plůdku každoročně poměrně nestabilní, což může komplikovat následný chov těchto druhů ryb.

Ovšem vlastní chov generačních ryb je velmi náročný na kapacitu a délku chovu a také na odborné zkušenosti a dovednosti chovatele. Vždy platí zásada, že generační ryby musí být chovány v optimálních podmínkách prostředí a při optimální výživě v rámci daného druhu. Jakékoliv odchylky chovu od optimálních podmínek způsobují zhoršený fyziologický a výživný stav ryb, jejich sníženou plodnost a zhoršenou kvalitu gamet. Všechny tyto skutečnosti potom výrazně snižují efektivitu reprodukce a následnou rentabilitu produkce násadových, remontní a tržních ryb (Fontaine a kol., 2015). Vedle zmíněného také platí, že do reprodukce by mělo být zařazováno dostatečné množství generačních ryb s cílem eliminovat příbuzenskou plemenitbu a sníženou genetickou variabilitu ryb. Tyto skutečnosti totiž mohou následně významně ovlivnit užitkové vlastnosti chovaných a produkovaných ryb (Flajšhans a Ráb, 2013).

Generační ryby od výtěru k výtěru procházejí obdobím tzv. reprodukčního intervalu (u většiny ryb mírného podnebí je většinou roční cyklus). V tomto období ryby nejprve s vyprázdněnými gonádami obsahující první vývojová stadia gamet musí projít určitým obdobím se specifickými environmentálními podmínkami, které jsou druhově či skupinově specifické z hlediska průběhu teploty vody a světelného režimu. Při těchto specifických podmínkách dochází u generačních ryb k postupnému vývoji jejich gamet a gonád. Celý proces vede až k finálnímu dozrání gamet a k následné ovulaci oocytů či uvolňování spermií (tj. k výtěru). Bez environmentální stimulace (specifického průběhu teplotního a světelného režimu) některé ryby (především okounovité) nejsou schopné

výtěru, jelikož u nich nedochází k vývoji gonád a vlastních pohlavních buněk (gamet). V takových podmínkách (např. stabilní teplota vody kolem 21–23 °C a světelný režim na úrovni 12 hodin světla a 12 hodin tmy v intenzivních chovech) jsou okounovité ryby s minimálně vyvinutými gonádami (Fontaine a kol., 2015; Policar a kol., 2015).

Obecně podle nároků na environmentální stimulaci v rámci reprodukčního intervalu a vývoje gamet a gonád rozdělujeme ryby na druhy tropické (keříčkovec červenolemý a druhy tilápií rodu *Oreochromis*) a na druhy pocházející z mírného pásma (původní hospodářsky a sportovně využívané druhy v ČR) (Wang a kol., 2010; Policar a kol., 2015).

U tropických ryb dochází s optimální a konstantní teplotou vody (nad 20 °C) a světelným režimem (12 hodin světla a 12 hodin tmy) k vývoji gonád v průběhu celého roku bez výrazných potřeb na speciální simulaci teplotního a světelného režimu (Wang a kol., 2010).

U většiny ryb z mírného pásma dochází k synchronnímu dozrání gamet s jedním výtěrem v průběhu ročního cyklu. U takovýchto ryb je vývoj gamet ovlivňován průběhem teplotního či světelného režimu nebo kombinací obou režimů (Fontaine a kol., 2015; Policar a kol., 2015). Podle Wanga a kol. (2010) můžeme rozlišit ryby mírného pásma na tři skupiny, u kterých je vývoj gonád a finální dozrání gamet indukováno a synchronizováno různým průběhem teplotního a světelného režimu.

Zmínění autoři do první skupiny zahrnují lososovité ryby, u kterých dochází v přirozených podmínkách prostředí k finálnímu dozrání gamet a vlastnímu výtěru při zkracující se či zkrácené fotoperiodě (finální světelný režim kolem 8 hodin světla denně) a nízké teplotě vody 1–10 °C.

Do druhé skupiny ryb z hlediska environmentální stimulace vývoje gamet a indukce výtěru patří zmíněné okounovité ryby (např. okoun říční a candát obecný), které pro intenzivní vývoj gonád vyžadují postupné snižování teploty vody a současně zkracování světelného režimu (Jansen a Fontaine, 2008). Tyto ryby potřebují environmentální stimulaci po dobu alespoň 3–5 měsíců, po které následně dosahují finálního dozrání gamet a vlastního výtěru, když se teplota vody postupně zvýší na 12–15 °C a současně se prodlouží světelná část dne na 13–15 hodin (Zakes a Szczepkowski, 2004; Ronyai, 2007; Zakes, 2007; Müller-Belecke a Zienert, 2008).

Třetí skupina ryb, která vyžaduje další specifickou potřebu environmentální stimulace vývoje a dozrání gamet či indukce vlastního výtěru, zahrnuje kaprovité ryby (Wang a kol., 2010). K intenzivnímu zvětšování gonád, následně k finálnímu dozrání gamet a vlastnímu výtěru u těchto ryb dochází, jestliže se postupně zvyšuje teplota vody a prodlužuje se světelný režim v průběhu dne na 14–16 hodin. Dále u této skupiny ryb bylo zjištěno, že jestliže jeden faktor

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

prostředí je konstantně nastaven na optimální hodnotě (např. v podmínkách intenzivní akvakultury), potom pozvolné nastavení druhého faktoru prostředí na optimální hodnotu postačuje k dosažení finálního dozrávání a uvolňování gamet (Poncin a kol., 1987; Poncin, 1989; Philippart a kol., 1989; Policar a kol., 2010).

Na konci reprodukčního intervalu a environmentální stimulace vývoje gamet a vlastních gonád je u generačních ryb důležité ryby roztřídit a vybrat jen kvalitní a k reprodukci připravené jedince. V tomto předvýtěrovém období se většinou ryby (určené k umělému výtěru) oddělují a chovají podle pohlaví s cílem zabránit spontánnímu výtěru a ztrátě předčasně vytřených pohlavních produktů mimo vlastní finální výtěrové prostory (Kouřil a kol., 2011; Policar a kol., 2011b,c). V tomto okamžiku je také velmi účinné roztřídit generační jikrناčky podle zralosti oocytů, které se prozatím vyvíjí v gonádách daných ryb. Tímto způsobem je možné hejno ryb rozdělit na skupiny jedinců s různě vyvinutými gametami, což chovateli umožní získat několik hejn ryb s následným různým potencionálním termínem výtěru. Takovýmto způsobem se zabrání přezráním gamet u některých ryb a současně dojde k identifikaci ryb, které jsou fyziologicky připravené na hormonální ošetření s cílem realizovat jejich finální dozrání a následné synchronizované uvolnění gamet z těla ryb (Zarski a kol., 2011a,b).

4.2. Anestézie ryb a používaná anestetika

Při jakékoliv složitější a delší manipulaci s generačními rybami (značení, odběr oocytů, hormonální ošetření či vlastní umělý výtěr) se doporučuje využít anestezie při použití ověřených přípravků. Všeobecné zásady a informace o použití anestetik u ryb uvádí metodika Kolářové a kol. (2007). Při použití přípravku 2-phenoxyethanol je doporučená koncentrace $0,4 \text{ ml.l}^{-1}$ (bez rozdílu určení druhu ryby). Vzhledem k výrazně rozdílné citlivosti jednotlivých druhů ryb při použití přípravku hřebíčkový olej (obsahující účinnou látku eugenol), se doporučuje pro generační ryby kaprovitých a okounovitých druhů používat koncentrace $0,03\text{--}0,04 \text{ ml.l}^{-1}$, pro sumce velkého $0,05\text{--}0,06 \text{ ml.l}^{-1}$ a pro keříčkovce červenolemého, vzhledem k jeho vysoké toleranci, koncentraci $0,08\text{--}0,10 \text{ ml.l}^{-1}$. Na citlivost ryb k anestetikům má výrazný vliv teplota vody. Při vyšších teplotách se zkracují období, kterých je zapotřebí k dosažení jednotlivých fází anestezie. Naopak při nižších teplotách vody se tato období prodlužují a jednotlivých fází anestezie je dosahováno v pozdějším čase. Další podrobnosti k použití anestetik uvádí práce publikovaná Příborským a Velíškem (2018).

4.3. Používané hormonální přípravky

4.3.1. Supergestran

Český přípravek Supergestran (Obr. 2) je dodáván ve formě roztoku (účinná látka – Lecirelin je rozpuštěná ve fyziologickém roztoku) v zatavených skleněných ampulích o objemu 2 ml obsahujících GnRHa v koncentraci $25 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Skladuje se při teplotě do $25 \text{ }^\circ\text{C}$ a není nutné daný přípravek dlouhodobě udržovat v lednici při nižších teplotách. Jestliže se pro hormonální ošetření ryb využívají dávky od $12,5\text{--}100 \mu\text{g GnRHa}\cdot\text{kg}^{-1}$, odpadá nutnost přípravek před aplikací míchat či ředit. Většinou se přípravek využívá k indukci ovulace či spermiace ryb různých druhů v dávkách $1\text{--}100 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ účinné látky v závislosti na druhu. Jestliže se používají nižší dávky účinné látky, než je $12,5 \mu\text{g GnRHa}\cdot\text{kg}^{-1}$, často se ještě přípravek před vlastní aplikací ředí fyziologickým roztokem s cílem používat vyšší objemy přípravku při aplikaci. Naopak tento přípravek se běžně nepoužívá při vyšších dávkách účinné látky, než je $100\text{--}150 \mu\text{g GnRHa}\cdot\text{kg}^{-1}$, jelikož v tomto případě je nutné rybám aplikovat velký objem preparátu ($4\text{--}6 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$), který se velmi těžko do těla ryb vpravuje a následně vstřebává.



Obr. 2. Přípravek Supergestran společně s fyziologickým roztokem (vlevo; Foto: J. Kouřil) a detail ampule s přípravkem Supergestran těsně před použitím v originálním balení (vpravo; Foto: T. Polícar).

4.3.2. Ovopel

Ovopel (Obr. 3) je maďarský preparát, dodávaný v podobě lisovaných pelet bílé barvy, které imitují tradičně používanou dehydratovanou kapří hypofýzu. Jedna peleta obsahuje dvě účinné složky: $20 \mu\text{g}$ syntetického GnRHa a 2 mg inhibitoru dopaminu (metoklopramid; Horváth a kol., 1977; www.ovopel.hu).

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

Doporučená dávka tohoto přípravku pro všechny druhy ryb, o nichž pojednává tato technologie, je jedna peleta na 1 kg jikernaček. U mlíčáků se tato dávka většinou snižuje na 10–50% v porovnání s jikernačkami. Před použitím se příslušný počet pelet odpovídající hmotnosti injikovaných ryb opatrně rozdrtí ve třecí misce s tloučkem (podobně jako kapři hypofýza) a získaný prášek se zalije, zamíchá a rozpustí v příslušném objemu fyziologického roztoku. Většinou se u všech druhů ryb aplikuje objem roztoku od 0,5–1 ml na kilogram ošetřované ryby. Vzhledem k větší tvrdosti pelet je nutné při jejich drcení postupovat velmi opatrně. V opačném případě se může stát, že pelety při drcení vypadnou (vyskočí) a uniknou z třecí misky. V souvislosti s poměrně rychlou sedimentací suspendovaného přípravku v roztoku, který již obsahuje účinnou látku Ovopelu díky drcení a suspenzi, je potřeba roztok pravidelně promíchávat v průběhu aplikace injekční stříkačkou.



Obr. 3. Přípravek Ovopel v originálním balení a detail na jednotlivé pelety tohoto přípravku před jejich použitím (Foto: T. Polícar).

4.3.3. Dagin

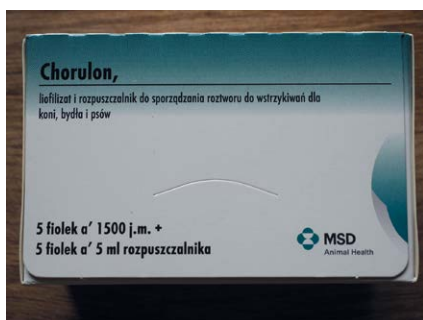
Dagin (Obr. 4) je izraelský hormonální preparát (Yaron a kol., 2002), který je dodáván v podobě lyofilizovaného prášku v ampulích uzavřených gumovou zátkou. Jednotlivé ampule obsahují dávku pro hormonální ošetření 20 nebo 50 kg generačních ryb. V dávce na 1 kg jikernaček je obsaženo 10 μg GnRH α a 20 mg inhibitoru dopaminu (metoklopramidu). Před použitím přípravku se obsah ampulky doplní příslušným objemem fyziologického roztoku podle toho, jaké množství ryb budeme injikovat a jaký objem preparátu chceme rybám aplikovat. Po zatřepání se přípravek v ampulce rychle rozpustí bez vzniku sedimentu. Následně je připraven k injekční aplikaci. Tento hormonální přípravek je vhodný pro všechny druhy ryb uvedené v této publikaci.



Obr. 4. Přípravek Dagin v originálním balení (Foto: P. Podhorec).

4.3.4. Chorulon

Jedno balení preparátu Chorulon obsahuje celkem deset ampulek (Obr. 5). Z toho pět ampulek obsahuje ředící roztok a v pěti dalších ampulkách je uchován prášek. Tento prášek obsahuje humánní choriový gonadotropin (hCG) s jednotnou dávkou 1 500 IU (mezinárodních jednotek) hCG v každé ampulce. Je však nezbytné si uvědomit, že přípravek Chorulon není v ČR povoleným hormonálním přípravkem pro využití v chovu ryb. Z výše uvedeného tak vyplývá, že je nutné na jakýkoliv dovoz a využití tohoto hormonálního přípravku v ČR v chovu ryb zažádat o výjimku Státní veterinární správy ČR (Polícar a kol., 2011b).

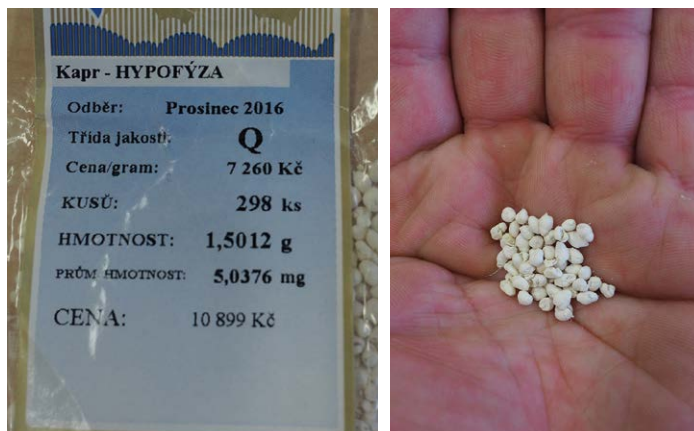


Obr. 5. Přípravek Chorulon v originálním balení (Foto: T. Polícar).

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

4.3.5. Kapří hypofýza

Kapří hypofýza (Obr. 6) se získává v zimním období na některých zpracovných ryb od větších tržních kaprů. Na těchto zpracovných je možnost si ji také přímo objednat a zakoupit. Po vypreparování z odříznutých hlav se kapří hypofýza opakovaně vysušuje v acetonu. Poté se třídí a finálně balí do skleněných lahviček nebo plastových sáčků. U každého balení výrobci uvádějí celkovou a průměrnou hmotnost a počet kusů kapří hypofýzy. Obvyklá hmotnost jedné odvodněné kapří hypofýzy je 2,5–4 mg. Účinnou látkou pro indukci ovulace a spermiace ryb je v hypofýze obsažený přirozený gonadotropin. Přípravek se přechovává v pečlivě uzavřených lahvičkách či sáčcích ve tmě se snahou ochránit hypofýzy před vlhkostí při nízké teplotě v chladničce (4–6 °C). Před vlastním použitím hypofýzy pro určitou hmotnost generačních ryb je nutné odebrat příslušný počet hypofýz nebo zvážit jejich potřebnou celkovou hmotnost. Při vážení hypofýz je nutné používat velmi přesné analytické váhy, kterými však běžné rybí lhně nejsou vybaveny. Z tohoto důvodu je praktičtější jednotlivě hypofýzy napočítat a odebrat tak potřebné množství hypofýz v případě, že známe jejich průměrnou hmotnost, pro injekci určité hmotnosti generačních ryb. Odebrané hypofýzy se opatrně rozdrtí v třecí misce s tloučkem (podobně jako pelety Ovopelu). Získaný prášek se následně zalije příslušným objemem fyziologického roztoku a směs se promíchá a poté nasává do injekčních stříkaček a aplikuje do těl generačních ryb.



Obr. 6. Originální balení vysušené kapří hypofýzy a detail struktury a velikosti jednotlivých hypofýz (Foto: T. Polícar).

4.4. Postup přípravy hormonálních přípravků pro aplikaci rybám

Doporučená dávka přípravku (účinné látky), individuální kusová hmotnost, celkový počet a celková hmotnost ošetřovaných generačních ryb určuje celkové množství použitého přípravku, jeho koncentraci ve fyziologického roztoku a objem rozpuštěného přípravku, který je finálně aplikován.

Účinná dávka, která má být injekčně aplikována, se vyjadřuje u rozpuštěných nebo suspendovaných preparátů v hmotnostních jednotkách (miligramech – mg, mikrogramech – μg) nebo mezinárodních jednotkách (MJ nebo IU) na jeden kilogram hmotnosti ošetřovaných ryb (tzn. $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ nebo $\text{IU}\cdot\text{kg}^{-1}$).

U používaných roztoků samotných přípravků se dávka přípravků udává v jednotce objemu (zpravidla v mililitrech) na jeden kilogram ryby (tzn. $\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}$). Významným faktorem, který určuje vhodné ředění přípravku ve fyziologickém roztoku, je skutečná aktuální kusová hmotnost ryb. Ta se může výrazně lišit v závislosti na ošetřovaném druhu ryby i v závislosti na velikosti a věku používaných generačních ryb. Generační ryby některých okrasných (většinou akvarijních) druhů mohou dosahovat kusové hmotnosti jen několika gramů. Naopak většina generačních ryb běžných druhů v produkční sladkovodní akvakultuře dosahuje kusové hmotnosti o desítkách gramů až obvykle několika kilogramů. Dokonce u některých druhů ryb mohou generační ryby dosahovat hmotnosti až několika desítek kilogramů. Hmotnostní rozdíly mezi jednotlivými rybími druhy jsou tedy v rozsahu několika řádů. Důležitým faktorem, který ovlivňuje vlastní hormonální ošetření ryb, je objem roztoku či suspenze injikovaného přípravku (účinné látky) na jedno místo (při jednom vpichu) do těla ryby. Takovýto aplikovaný objem přípravku se u generačních ryb běžných druhů pohybuje od několika desetin mililitrů až maximálně do 2–3 mililitrů. Injikovat větší objem roztoku do jednoho místa vpichu je velmi obtížné. Použití aplikace do více míst (tzn. použití více vpichů) se nedoporučuje z důvodů zvýšené traumatizace ošetřovaných ryb. Tato technika je úplně vyloučena u choulostivých a malých druhů ryb, které několikanásobné vpíchnutí preparátu do jejich těla nemusí vůbec přežít. Pro menší objem (méně než 0,2–0,3 ml) aplikovaného roztoku daného preparátu je zapotřebí použít úzkých injekčních stříkaček (používají je diabetici pro aplikaci inzulínu) s přesnějším dělením, které umožní exaktní dávkování malých objemů do těla ryb.

K ředění nebo k rozpouštění jednotlivých hormonálních přípravků, pokud je to nutné, se používají buď příslušný dodaný ředící roztok, který je součástí dodávaného přípravku (např. u přípravku Chorulon), nebo sterilní fyziologický roztok pro humánní a veterinární použití. Takovýto fyziologický roztok je možné zakoupit v lékárnách. Je dodáván zpravidla v uzavřených skleněných nebo plastových lahvích. Fyziologický roztok je 0,9% roztok chloridu sodného.

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

V případě, že není možné sterilní fyziologický roztok koupit, je možné ho připravit rozpuštěním 9 g NaCl v 1 litru vody.

Jestliže používáme fyziologický roztok k ředění hormonálního přípravku, postupujeme podle instrukcí výrobce přípravku, které nalezneme v příbalovém letáku daného přípravku. Pokud není návod přiložen, je možné doporučit postup ředění přípravku podle následujících příkladů:

1. příklad

Doporučená dávka přípravku pro hormonální stimulaci ovulace u daného druhu ryby je $10 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ účinné látky. Přípravek je dodáván v připraveném roztoku o koncentraci účinné látky $25 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ve 2 ml zatavených skleněných lahvičkách. Tzn., že v jedné lahvičce je obsaženo $50 \mu\text{g}$ účinné látky. Injektivováno má být 15 jedinců ryb o celkové hmotnosti 20 kg, individuální hmotnost ryb se pohybuje v rozpětí 0,5–2,0 kg.

Celkové potřebné množství účinné látky je $20 \text{ kg} \times 10 \mu\text{g} = 200 \mu\text{g}$. Celkové potřebné množství účinné látky $200 \mu\text{g}$ je obsaženo ve 4 ampulkách ($200 : 50 = 4$). Tedy v 8 ml dodaného připraveného roztoku. V tomto případě není potřeba provádět žádné ředění fyziologickým roztokem. Dodaný roztok se použije bez jakékoliv úpravy koncentrace, neboť pro hormonální ošetření ryby o hmotnosti 1 kg je třeba použít dávku $10 \mu\text{g}$. Tato dávka je obsažena v 0,4 ml objemu dodaného přípravku o koncentraci $25 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ($10 : 25 = 0,4$). Menším jedincům o hmotnosti 0,5 kg bude dávkován poloviční objem (0,2 ml). Naopak větším jedincům o hmotnosti 2,0 kg bude dávkován objem hormonálního přípravku 0,8 ml, což je optimální a dobře aplikovatelný objem.

2. příklad

Je používán stejný hormonální přípravek jako v prvním případě, ale u druhu ryby, kde je doporučená dávka účinné látky $100 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Generační ryby v počtu 10 ks mají individuální hmotnost od 1,0 do 1,5 kg. Jejich celková hmotnost je 13 kg.

Celkové potřebné množství účinné látky získáme z následujícího výpočtu: $13 \text{ (kg)} \times 100 \text{ (}\mu\text{g)} = 1\,300 \text{ (}\mu\text{g)}$. Celkové potřebné množství účinné látky $1\,300 \mu\text{g}$ je obsaženo v 26 ampulkách hormonálního přípravku ($1\,300 : 50 = 26$). V tomto případě rovněž není potřeba provádět žádné ředění fyziologickým roztokem a dodaný roztok přípravku se použije bez jakékoliv úpravy koncentrace. Pro injikaci ryby o hmotnosti 1,0 kg je třeba při použití dávky účinné látky $100 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ aplikovat 4 ml objemu dodaného přípravku o koncentraci $25 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ($100 : 25 = 4$). Větším hormonálně ošetřovaným rybám o kusové hmotnosti 1,5 kg bude aplikován hormonální přípravek v objemu 6,0 ml. Vzhledem k nízké koncentraci účinné látky ($25 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$), kdy tuto koncentraci nelze zvýšit, je tedy

nutné aplikovat rybám vyšší objem přípravku (4–6 ml na rybu), aby bylo dodané potřebné množství účinné látky. V tomto případě se větší objem přípravku generačním rybám aplikuje se zvýšenou opatrností a na několika místech těla. Proto je velmi často nutné aplikovaný objem přípravku rozdělit na 2–3 dávky, které se aplikují na různá místa těla ošetřované ryby. V tomto případě je dobré v místě jednoho vpichu aplikovat maximálně 2–3 ml. K injikaci přípravku je vhodné v tomto případě využít levou i pravou stranu těla ryby. U ryb, u kterých se aplikuje větší objem přípravku, je vhodnější používat intraperitoneální oproti intramuskulární aplikaci (injikaci).

4.5. Postup při injikaci

Organizace vlastního postupu injikace hormonálních přípravků záleží na druhu a počtu injikovaných ryb. Pro injikaci menšího počtu ryb (do 30–50 ks) o kusové hmotnosti do 5 kilogramů stačí zajistit jen 2 až 3 osoby. Jeden pracovník manipuluje s rybami, vyloví je z nádrže, kde jsou přechovávány a postupně jednotlivě nasazuje do lázně anestetika a kontroluje průběh nástupu anestezie. Po dosažení odpovídajícího stupně anestezie rybu vyloví, případně ji zváží a položí na stůl vybavený vhodnou měkkou podložkou a dostatkem navlhčených, ale dostatečně vyždímaných osušek. Používané osušky by měly být vyrobené z vhodných savých tkanin (nejlépe bavlněných). Nevhodné je použít papír nebo buničinu. Po znehybnění a položení ryby na stůl pracovník rybu zabalí do osušky. Současně další osoba rybu pevně drží a zafixuje ji zabalenou v osušce za hlavovou část a za ocasní násadec. Snahou je zabránit rybě jakýkoliv nenadálý pohyb. Třetí osoba v této fázi nasaje do stříkačky a poté rybě aplikuje potřebný objem předem připraveného hormonálního přípravku, který odpovídá hmotnosti ryby a doporučené dávce účinné látky. Následně je provedena vlastní hormonální injikace.

Hormonální injikace se původně u ryb prováděla jen do hřbetní svaloviny. I v současnosti je tento způsob stále hojně využíván. Tento způsob injikace spočívá v tom, že vpich injekční stříkačky se vede šikmo mírně shora do hřbetní svaloviny do hloubky 10–30 mm fixované ryby v poloze na boku o kusové hmotnosti nad 1 kg. U menších velikostí ryb je vpich úměrně vedený tak, aby vždy skončil v hřbetní svalovině, a nikoliv v blízkosti páteře či plynového měchýře. Nevýhodou tohoto způsobu aplikace hormonálních přípravků je potřeba přidržení místa vpichu prstem (cca na 10–20 sekund) okamžitě po aplikaci přípravku a po vytažení jehly. Současně s přidržením místa vpichu se doporučuje provést několik lehkých masážních pohybů prstem druhé ruky směrem k hlavě. Snahou této masáže je dosáhnout efektivnějšího vstřebání aplikovaného přípravku do svaloviny a zamezení jeho výtoku. Velmi často

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

i v tomto precizně provedeném případě dochází někdy u ošetřovaných ryb k mírnému výtoku aplikovaného přípravku, což negativně snižuje výši jeho dávky a následnou účinnost. Bohužel všechny tyto úkony spojené s hormonální injikací přípravků do hřbetní svaloviny jsou poměrně zdlouhavé, traumatické a často k rybám nešetrné. Následkem těchto úkonů, v závislosti na druhu ryby a intenzitě jejich provedení, mohou generační ryby potom povrchově zaplísnit, popřípadě uhynout, což je nežádoucí.

Ze zmíněného důvodu je v současnosti spíše preferováno použití jiných technik aplikace hormonálního ošetření generačních ryb. Jiné techniky potom spočívají v intraperitoneální (injikace do báze břišní ploutve či přes stěnu břišní do ovárií) a intraperikardiální injikaci (injikace do osrdečnicku, vpichem do jamky pod bází prsní ploutve). Výhodou těchto uvedených technik je zamezení vytékání injikovaného přípravku z místa vpichu a výrazně kratší a jednodušší manipulace s rybami. Avšak použití intraperikardiální metody může být pro injikované ryby rizikové při malé zkušenosti pracovníka, menší velikosti použitých ryb, při nedostatečné fixaci ryby z důvodu nevhodně provedené anestezie. Zmíněnou aplikaci hormonálního přípravku proto musí provádět jen zkušený pracovník a pouze u ryb o kusové hmotnosti nad 1 kg.

Proti zaplísnění pokožky hormonálně ošetřených ryb se doporučuje bezprostředně po aplikaci hormonálního přípravku provést dezinfekci místa vpichu roztokem manganistanu draselného (KMnO_4) v koncentraci $0,1 \text{ g.l}^{-1}$ (Bondarenko a kol., 2014). Roztok manganistanu draselného se na místo vpichu aplikuje buď lehkým potřením tamponem, který je namočený v roztoku manganistanu draselného, nebo spíše nástřikem místa pomocí ručního rozprašovače.

4.6. Jednotlivé technologické postupy předvýtěrové přípravy, anestezie a řízení reprodukce vybraných druhů ryb

4.6.1. Kapr obecný (*Cyprinus carpio*)

Kapr obecný je druh ryby, který se v největším rozsahu a rutinně uměle rozmnožuje s využitím hormonální indukce ovulace a spermiace na českých rybích líhních rybářských podniků.

K finální fázi gametogeneze a dozrávání gamet dochází v přirozených rybníčních podmínkách chovu (manipulační, předehřívání či Dubraviovy rybníky) bez jakýchkoliv problémů v průběhu května až června v závislosti na nadmořské výšce daného chovu při zvyšující se teplotě vody na úrovni $19\text{--}24 \text{ }^\circ\text{C}$ a podmínkách dlouhého světelného dne (kolem $14\text{--}16$ hodin) (Billard a kol., 1995; Gela a kol., 2009; Hartman, 2016). K výtěru je také možné použít

generační ryby, které jsou dlouhodobě chované v podmínkách intenzivní akvakultury pomocí recirkulačního akvakulturního systému (RAS). V této akvakultuře jsou generační ryby drženy v konstantních teplotních podmínkách 16–20 °C (vyšší teplota vody směřuje k termínu výtěru) s prodlužujícím se světelným režimem na finální úroveň 14–16 hodin světla za den. V intenzivní akvakultuře je možné dosahovat i tzv. mimosezónních výtěrů generačních ryb tohoto druhu mimo jeho přirozený termín. Avšak s ohledem na nízkou prodejní cenu kapra a jeho snadný chov v rybnících se tento způsob chovu a výtěru generačních ryb nepoužívá hlavně z důvodu nízké rentability chovů.

V rybniční akvakultuře se k výtěru běžně používají ryby ve věku 4–6 let s kusovou hmotností od 3–5 kg (Billard a kol., 1995). Hmotnost pohlavních gonád u dobře připravených jikernaček dosahuje 8–10–20% podílu k celkové hmotnosti těla ryb (GSI – gonadosomatický index do 20%) a u mlíčáků GSI dosahuje pouze 2–8% (Hassanin a kol., 2002; Hartman, 2016).

Veškerá manipulace s rybami se provádí pouze s použitím anesteze. Preferovanými přípravky u kapra obecného jsou 2-phenoxyethanol s dávkou 0,3 ml.l⁻¹ nebo hřebíčkový olej s dávkou 0,03 ml.l⁻¹. Anestezii i nutnou manipulaci generační ryby kapra snášejí velmi dobře bez velkých obtíží. Hlavní metodou jeho reprodukce v rámci produkčních chovů je umělý výtěr. Jen ve značně omezeném rozsahu se na produkci váčkového plůdku kapra podílí tzv. Dubraviova metoda, která je založena na poloumělém výtěru generačních ryb ve speciálních Dubraviových výtěrových rybníčcích. Tyto rybníky jsou vybudovány a používány jen k tomuto účelu.

Podrobný popis umělého výtěru kapra je popsán v metodice Gela a kol. (2009). Injikace se provádí intramuskulárně do hřbetní svaloviny nebo intraperitoneálně do báze břišní ploutve (Obr. 7), případně perikardiálně do báze prsí ploutve.



Obr. 7. Intraperitoneální injikace jikernačky kapra obecného (*Cyprinus carpio*) do báze břišní ploutve (Foto: J. Kouřil).

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

Dlouhodobě, již desítky let, je využívána metoda tzv. hypofyzace, založená na podání dvou dílčích dávek suspenze kapří hypofýzy a fyziologického roztoku v intervalu 10–12 hodin. Celková používaná dávka se u jikernaček pohybuje v rozpětí 2,5–4 mg.kg⁻¹ (většinou 3 mg.kg⁻¹), přičemž první dílčí dávka činí 10–20 % z celkové dávky (většinou 0,5 mg.kg⁻¹). Už od minulosti se u mlíčáků k hormonální stimulaci používá jen jedna dávka kapří hypofýzy (0,7–1,5 mg.kg⁻¹) nebo nověji analogy GnRHa v kombinaci s metoklopramidem (přípravek Opopel) v dávce 1 peleta na 10 kg mlíčáků, což odpovídá dávce 2 µg syntetického GnRHa a 0,2 mg metoklopramidu na 1 kg mlíčáků (Gela a kol., 2009).

Po hormonální injikaci se pro zamezení spontánního výtěru jiker z pohlavního otvoru jikernaček doporučuje zašít pohlavní papilu pomocí několika stehů chirurgickou nití (Obr. 8). Tato metoda znemožní úniku jiker z těla jikernaček po dosažení jejich ovulace před vlastním realizovaným umělým výtěrem. Tento způsob umožňuje obsluze rybích líhní kontrolovat ovulaci jikernaček v delších intervalech bez negativního vlivu na kvalitu a množství produkovaných jiker. Díky této technice u kapra obecného nedochází ke ztrátě jiker spontánním únikem z papily. Tato technika u kapra také nezpůsobuje přezrávání jiker po jejich ovulaci v těle jikernaček, jako je tomu třeba u amura bílého. Těsně před realizovaným výtěrem, kdy se kontroluje ovulace jikernaček masáží papily přes její zašití a kdy jsou zjištěny ovulované jikry, jsou jikernačky opětovně anestetizovány. Po zklidnění ryb dojde před vlastním umělým výtěrem k šetrnému odstranění stehů a následně k vlastnímu umělému výtěru (Obr. 9). U kvalitně připravených jikernaček se uměle vytře 90–100 % hormonálně ošetřených jedinců v průběhu relativně krátkého období (několika hodin). To znamená, že délka intervalu latence je málo variabilní.



Obr. 8. Zašívání pohlavního otvoru jikernačky kapra obecného (*Cyprinus carpio*)
(Foto: J. Kouřil).



Obr. 9. Umělý výtěr jikernačky kapra obecného (*Cyprinus carpio*) (Foto: J. Kouřil).

Produkční rybářská praxe v ČR, Polsku a Maďarsku v posledních letech přistupuje při hormonální stimulaci generačních jikernaček kapra obecného k náhradě kapří hypofýzy syntetickými hormonálními přípravky Ovopel či Dagin obsahující analogy GnRH a v kombinaci s inhibítorem dopaminu (metoklopramid). Tato změna je spojena s pozitivními praktickými zkušenostmi, které souvisí se snadným jednodávkovým používáním těchto synteticky připravených účinných látek, a to ve smyslu vyšší úspěšnosti výtěru jikernaček kapra obecného (vysoké % vytřených jikernaček) při dosažení vysoké míry oplozenosti jiker a líhivost embryí.

Výsledky z poprovozního experimentu porovnávající úspěšnost umělého výtěru jikernaček kapra obecného hormonálně injikovaných kapří hypofýzou s dvěma popsány dávkami a preparáty Ovopel a Dagin (s jednodávkovým použitím) jsou znázorněny v Tab. 1. Z této tabulky vyplývá, že nejvyššího počtu úspěšně vytřených jikernaček bylo dosaženo u skupiny ošetřené přípravkem Dagin (89,5%) a přípravkem Ovopel (82,4%). Naopak nejnižší úspěšnost výtěru jikernaček byla zjištěna při použití kapří hypofýzy (76,5%). Délka intervalu latence, od druhé, respektive první injekce hormonálního přípravku do provedení umělého výtěru, dosáhla při použití přípravku Ovopel $15,5 \pm 1,2$ h

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

(resp. $324 \pm 24,5$ h^o), u hypofýzy $16,4 \pm 1,0$ h (resp. 341 ± 21 h^o) a u přípravku Dagin $16,5 \pm 0,4$ h (resp. 345 ± 8 h^o).

Při hodnocení kumulovaného parametru oplozenosti jiker, vyjádřeného počtem oplozených jiker na kg injikovaných jikernaček po 24 hodinách inkubace jiker, byla zjištěna vyšší míra relativní produkce oplozených jiker na jeden kilogram injikovaných jikernaček u obou přípravků obsahující GnRHa s dopaminergním inhibitorem (Ovopel 78 tis. ks.kg⁻¹ a Dagin 77 tis. ks.kg⁻¹) oproti kapří hypofýze (66 tis. ks.kg⁻¹). U kapří hypofýzy byl dosažený výsledek o 14–15 % nižší oproti testovaným hormonálním preparátům. Tento komplexní parametr efektivity umělého výtěru zohledňoval všechny nejdůležitější parametry výtěru, jako je: % vytřených jikernaček, relativní pracovní plodnost vytřených ryb a oplozenost jiker viz Tab. 1.

Tab. 1. Výsledky umělého výtěru jikernaček kapra obecného (*Cyprinus carpio*) při použití různých hormonálních přípravků při teplotě vody $20,9 \pm 0,9$ °C (průměr \pm SD).

Parametr/Skupina	Hypofýza 0,5 mg.kg ⁻¹ + 2,5 mg.kg ⁻¹	Ovopel GnRHa (20 µg.kg ⁻¹) + metoklopramid (2 mg.kg ⁻¹)	Dagin GnRHa (10 µg.kg ⁻¹) + metoklopramid (20 mg.kg ⁻¹)
Hmotnost jikernaček (g)	4 016 \pm 853	3 648 \pm 554	3 823 \pm 743
Procento vytřených jikernaček (%)	76,5	82,4	89,5
pGSI vytřených jikernaček (%)	16,3 \pm 6,5	17,6 \pm 5,9	18,4 \pm 5,2
Absolutní pracovní plodnost vytřených jikernaček (tis. ks.kg ⁻¹)	415 \pm 131	416 \pm 132	430 \pm 134
Relativní pracovní plodnost vytřených jikernaček (tis. ks.kg ⁻¹)	115 \pm 45	117 \pm 39	116 \pm 32
Vlhká hmotnost jedné nenabobtnané jikry (mg)	1,42 \pm 0,16	1,51 \pm 0,11	1,59 \pm 0,18
Kumulovaná oplozenost jiker (tis. ks oplozených jiker.kg ⁻¹ hormonálně injikovaných jikernaček)	66 \pm 8	78 \pm 6	77 \pm 6

Vysvětlivka: pGSI – pseudogonadosomatický index (relativní podíl hmotnosti vytřených jiker z hmotnosti jikernačky před výtěrem).

Pravidelně dosahovaný výsledek umělých výtěrů jikernaček kapra obecného přináší vyšší efektivitu v produkci oplozených jiker či vylíhnutých embryí a relativně vyšší ekonomickou rentabilitu. Dochází tedy k postupné preferenci

používání hormonálních přípravků na bázi GnRHa s dopaminergním inhibitorem před kapří hypofýzou. Především přípravek Ovopel se vyznačuje snazší dostupností, nižší nebo stejnou cenou v porovnání s kapří hypofýzou a vyšším množstvím získaného váčkového plůdku od použitých jikernaček k umělému výtěru.

U obou hormonálních přípravků (Ovopel a Dagin) byla také sledována a ověřována délka intervalu latence v závislosti na teplotě vody. U obou přípravků při teplotě vody od 20 do 26 °C byla zjištěna stejná délka intervalu latence 10–21 hodin (Tab. 2).

Tab. 2. *Závislost délky intervalu latence na teplotě vody u jikernaček kapra obecného (Cyprinus carpio) při použití hormonální indukce ovulace pomocí jednorázového podání přípravku Dagin a Ovopel.*

Teplota (°C)	20	21	22	23	24	25	26
Délka intervalu latence (h)	21	20	15	14	14	14	10

Vysvětlivka: Tučně jsou vyznačeny doporučené optimální hodnoty teploty vody pro výtěr kapra obecného.

Po realizovaném umělém výtěru jikernaček a po získání kvalitních jiker se v jednom gramu jiker přibližně vyskytuje 600–800 ks čerstvě vytřených a nenabobtnaných jiker. K osemenění jednoho kilogramu jiker se používá 2–10 ml spermatu odebraného od 3–5 mlíčáků s pohyblivostí na úrovni 95–100%. Toto sperma se předem (několik hodin či dokonce den před výtěrem jikernaček) separátně odebírá od každého mlíčáka do injekčních stříkaček o objemu 20–50 ml či do speciálních kontejnerů pro tkáňové kultury o objemu 50–100 ml (Obr. 10) nebo jiných vhodných nádob a následně se míchá se získanými jikrami. Na větších produkčních líhních se sperma kapra obecného od mlíčáků odsává do zmíněných kontejnerů pomocí centrálně vytvořeného podtlaku, který vytváří nainstalovaná vývěva.

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU



Obr. 10. Odběr spermatu při umělém výtěru mlíčka kapra obecného (*Cyprinus carpio*) (Foto: T. Polícar).

Při oplození jednoho kilogramu jiker se k aktivaci gamet přilije 0,5 litru místní filtrované vody z líhně o stejné teplotě, ve které byly drženy jikernačky před výtěrem (optimálně 19–22 °C). Směs jiker, spermií a vody se krátce promíchá a následně nechá v klidu. V průběhu následující 1–1,5 minuty dochází k oplození jiker. Jikry kapra obecného jsou oplození schopné po dobu 3 minut od aktivace vodou (Gela a kol., 2009). Následuje bobtnání jiker, ke kterému dochází za stálého míchání a postupného dolévání vody, tak aby byly jikry neustále potopeny pod hladinou po dobu 1–2 minut od zahájení aktivace. V průběhu tohoto procesu se z misky s jikrami slévá voda se zbytky mlíčí (Gela a kol., 2009; Hartman, 2016).

Proces odlepkování jiker kapra obecného se zahajuje již v průběhu zmíněných 2 minut po aktivaci jiker, kdy se ke směsi gamet a vody začne postupně přilívat roztok, který se využívá k odlepkování jiker. Z celé řady používaných metod se osvědčilo (a v současnosti je převážně používáno) kravské mléko o teplotě 20–22 °C. Používá se buď plnotučné sušené mléko v poměru 1 díl mléka : 30 dílů vody (procezené přes sítko) nebo balené plnotučné čerstvé mléko, které je ředěné místní vodou z líhně v poměru 1 objemový díl mléka: 9 dílů vody. Alternativní metody odlepkování jiker kapra obecného spočívají v odlepkování jiker v suspenzi jílu (30 g kvalitního jílu na 1 litr vody) či talku (10 g talku a 15 g NaCl na 1 litr vody). K inkubaci jiker se používají nejčastěji Zugské inkubační láhve (Gela a kol., 2009; Hartman, 2016).

4.6.2. Lín obecný (*Tinca tinca*)

V rámci produkční rybníční akvakultury dochází u generačních ryb lína obecného k bezproblémové enviromentální stimulaci gametogeneze, při níž nastává finální dozrávání gamet v podmínkách stoupající teploty vody (optimum 20–23 °C) a prodlužujícího se světelného dne (14–16 hodin světla v průběhu dne). K přirozenému výtěru u lína obecného dochází na konci května, v průběhu června a na začátku července. Charakteristickou vlastností lína je porcový výtěr, kdy se generační jikernačky v průběhu jednoho výtěrového období vytírají opakovaně ve 2–4 porcích (Regenda, 2016). Z hlediska produkčního významu je nejdůležitější první dávka výtěru jiker, která většinou tvoří 60–70 % celkové absolutní pracovní plodnosti dané jikernačky.

Veškerá manipulace s generačními rybami během výtěru je prováděna v anestezii s využitím přípravků 2-phenoxyethanol nebo hřebíčkový olej podobně jako u kapra obecného. Lín anestezii snáší velmi dobře bez výrazných komplikací.

Injikace generačních ryb hormonálními přípravky se podle dřívějších zvyklostí prováděla zásadně do hřbetní svaloviny (Obr. 11) při využití kapří hypofýzy s celkovou dávkou u jikernaček (4–10 mg.kg⁻¹). Tato dávka byla rozdělena na dvě dílčí dávky v intervalu 12–14 hodin. První iniciační dávka je tvořena pouze 10–20 % z celkové dávky (0,4–2 mg.kg⁻¹). V druhé polovině výtěrového sezóny se u jikernaček s úspěchem využívá jen jedna injikace kapří hypofýzy na úrovni celkové dávky 2–10 mg.kg⁻¹. U mlíčáků se používá v průběhu celého výtěrového období pouze jen jedna dávka hypofýzy na úrovni 1–3 mg.kg⁻¹.



Obr. 11. Intramuskulární injikace hormonálního přípravku *Ovopel* u lína obecného (*Tinca tinca*) (Foto: J. Kouřil).

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

V současné době se u generačních ryb lina obecného začíná využívat hormonální injekce do jamky u báze břišní ploutve. V posledních třech desetiletích byla uskutečněna celá řada experimentů s cílem nahradit kapří hypofýzu syntetickými hormonálními přípravky obsahujícími analogy GnRHa, případně jeho kombinace s inhibítorem dopaminu – metoklopramidem (Kouřil, 1986; Kouřil a kol., 1998; Podhorec a kol., 2016, 2017). Při poloprovozních experimentech bylo zjištěno, že obě tato ošetření vyvolávají masivní sekreci LH v krevní plazmě generačních ryb. U ošetření ryb GnRHa v kombinaci s metoklopramidem dochází k rychlému nástupu maximálních koncentrací LH (již 6 hodin po ošetření ryb) s následným významným poklesem jejich koncentrace. Rychlý nástup maximálních koncentrací LH vyvolává předčasnou sekreci steroidu $17\alpha,20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one, což pravděpodobně vede k narušení endogenní hormonální kaskády a předčasné ovulaci nezralých oocytů. Tím dochází k snížení životaschopnosti vytřených jiker a vyvíjejících se embryí. Naopak ošetření jen samotným GnRHa vykazuje kontinuálně se zvyšující hodnoty LH v krevní plazmě generačních ryb, což podporuje fyziologicky optimální finální dozrávání oocytů a následnou pozvolnou ovulaci jiker. Tento jev pozitivně ovlivňuje kvalitu vytřených jiker a vyšší míru jejich oplozenosti včetně následného vyššího líhnutí embryí. Obě ošetření generačních ryb stimulují finální zrání oocytů u vysokého procenta jikernaček (80 a 90 %). Žádné významné rozdíly nejsou zjišťovány ani v délce intervalu latence, procenta ovulujících jikernaček, celkové hmotnosti získaných jiker a relativní či absolutní plodnosti mezi jikernačkami injikovanými kombinovaným ošetřením nebo ošetřením jen v podobě GnRHa. Avšak významné rozdíly mezi oběma ošetřeními jsou pozorovány právě ve zmíněné oplozenosti jiker (77 % vs. 54 %) a líhivosti jiker (40 % vs. 23 %) (Tab. 3). Uvedený výsledek naznačuje, že na rozdíl od jiných kaprovitých a dalších druhů ryb je u jikernaček lina obecného vhodnější používat hormonální přípravky na bázi samotných GnRHa neobsahující metoklopramid (např. přípravek Supergestran) oproti přípravkům Ovopel či Dagin, které metoklopramid obsahují.

Tab. 3. Vliv jednorázového hormonálního ošetření jikernaček lína obecného (*Tinca tinca*) při exkluzivním podání GnRHa a při kombinovaném podání GnRHa s metoklopramidem na efektivitu umělého výtěru v podobě délky latence, pGSI, oplozenost jiker a líhivost embryí při teplotě vody $25,0 \pm 0,9$ °C (průměr \pm SD).

Přípravek (dávka)	Hmotnost jikernaček (g)	Počet jikernaček		Délka intervalu latence (h)	pGSI (%)	Oplo- zenost (%)	Líhivost embryí (%)
		injik. (ks)	vytř. (%)				
Kontrola (fyz. roztok)	1 102 \pm 83	10	0				
GnRHa (25 μ g.kg ⁻¹)	944 \pm 85	10	80	26,2 \pm 0,6 ^a	4,47 \pm 1,11 ^a	77,2 \pm 2,5 ^a	40,0 \pm 5,0 ^a
GnRHa (25 μ g.kg ⁻¹) + MET (20 mg.kg ⁻¹)	1 165 \pm 96	10	90	25,1 \pm 0,6 ^a	4,25 \pm 0,61 ^a	53,7 \pm 6,9 ^b	23,0 \pm 6,5 ^b
MET (20 mg.kg ⁻¹)	1 000 \pm 98	10	0				

Vysvětlivka: MET – metoklopramid; písmena a, b – označují v konkrétním sloupci statistické rozdíly daného parametru výtěru mezi různými hormonálními ošetřeními ($p \leq 0,05$).

Ovšem v provozních podmínkách českých rybářských podniků při porovnání efektivity umělého výtěru generačních jikernaček lína obecného stimulovaných jednorázovým podáváním kapří hypofýzy a přípravků Supergestran, Ovopel a Dagin nebyl potvrzen negativní vliv přípravků Ovopel a Dagin na žádný z produkčních ukazatelů daného výtěru. Bylo dokonce zjištěno, že ryby stimulované přípravky Ovopel a Dagin vykazovaly nejvyšší líhivost embryí (67,4–80,4%) a vysoké procento úspěšně vytřených generačních jikernaček (69–72%) oproti rybám stimulovaných kapří hypofýzou a přípravkem Supergestran (procento vytřených ryb: 56–72% a líhivost embryí 58,9–59,3%; Tab. 4).

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

Tab. 4. Efektivita umělého výtěru jikernaček lína obecného (*Tinca tinca*) stimulovaného jednorázovou aplikací kapří hypofýzy (2 mg.kg^{-1}), Supergestranu ($20 \mu\text{g GnRHa.kg}^{-1}$), Ovopelu ($20 \mu\text{g GnRHa.kg}^{-1}$ a $2 \text{ mg metoklopromidu.kg}^{-1}$) a Dagingu ($10 \mu\text{g GnRHa.kg}^{-1}$ a $20 \text{ mg metoklopramid.kg}^{-1}$) při teplotě $21,7 \text{ }^\circ\text{C}$ (průměr \pm SD).

Přípravek	Hmotnost jikernaček (g)	Počet jikernaček		Délka intervalu latence (h)	pGSI (%)	Líhivost embryí (%)
		injik. (ks)	vytř. (%)			
Kapří hypofýza	460 \pm 96	36	72 ^a	22,5 \pm 4,6 ^b	7,4 \pm 3,6 ^b	59,3 \pm 34,0 ^c
Supergestran	429 \pm 95	36	56 ^b	35,6 \pm 2,6 ^a	7,4 \pm 5,1 ^b	58,9 \pm 29,0 ^c
Ovopel	417 \pm 86	36	72 ^a	36,7 \pm 5,2 ^a	7,3 \pm 3,2 ^b	80,4 \pm 11,5 ^a
Dagin	427 \pm 98	36	69 ^a	36,2 \pm 6,9 ^a	8,0 \pm 3,2 ^a	67,4 \pm 8,1 ^b

Vysvětlivka: písmena^{a,b,c} – označují v konkrétním sloupci statistické rozdíly daného parametru výtěru mezi různými hormonálními ošetřeními ($p \leq 0,05$).

Při experimentálním testování optimální jednorázové exkluzivní dávky GnRHa pro hormonální stimulaci umělého výtěru jikernaček lína obecného byly nalezeny nejefektivnější dávky na úrovni $10\text{--}20 \mu\text{g GnRHa.kg}^{-1}$. U těchto dávek bylo dosahováno nejvyššího procenta ovulujících jikernaček ($83\text{--}89\%$) a vysokého procenta získaných jiker vzhledem k poměru hmotnosti těla vytíraných ryb (pGSI na úrovni $7,8\text{--}9,4\%$; Tab. 5).

Tab. 5. Vliv jednorázového podání různých dávek GnRHa u generačních jikernaček lína obecného (*Tinca tinca*) při teplotě $19,9\text{--}21,7 \text{ }^\circ\text{C}$ na procento vytřených ryb, délky intervalu latence a relativní podíl vytřených jiker k hmotnosti jikernaček – pGSI (průměr \pm SD).

Hormonální ošetření	Dávka ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	Hmotnost jikernaček (g)	Počet jikernaček		Délka intervalu latence (h)	pGSI (%)
			injik. (ks)	vytř. (%)		
GnRHa	0	504 \pm 43,5	18	0		
GnRHa	1	529 \pm 32	18	61,1 ^c	33,5 \pm 0,65 ^a	6,5 \pm 1,0 ^b
GnRHa	2,5	490 \pm 23,5	18	72,2 ^b	33,2 \pm 1,3 ^a	7,5 \pm 1,5 ^b
GnRHa	5	482 \pm 46	18	72,2 ^b	33,8 \pm 0,9 ^a	8,3 \pm 0,8 ^{a,b}
GnRHa	10	489 \pm 31,5	18	83,3 ^a	31,7 \pm 0,6 ^a	9,4 \pm 1,1 ^a
GnRHa	20	496 \pm 27	18	88,9 ^a	33,3 \pm 0,8 ^a	7,8 \pm 1,5 ^b

Vysvětlivka: písmena^{a,b,c} – označují v konkrétním sloupci statistické rozdíly daného produkčního parametru výtěru mezi různými hormonálními ošetřeními ($p \leq 0,05$).

Na základě dosažených výsledků byl vypočítán níže uvedený vztah závislosti procenta úspěšně ovulujících jikernaček (y) na výši dávky GnRHa v $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (x).

$$y = -0,088x^2 + 3,2021x + 59,967 \quad (R^2 = 0,7013)$$

V zásadě se dnes vyšší hodnoty dávek GnRHa při hormonální stimulaci generačních jikernaček lína obecného v rybářské praxi používají na úrovni $20 \mu\text{g GnRHa.kg}^{-1}$, což u přípravku Ovopel odpovídá dávce jedna peleta na 1 kg hmotnosti ošetřovaných ryb. Takto ošetřené ryby dosahují délky intervalu latence na úrovni 22–36 hodin (Tab. 6) s úspěšností ovulace 70–90 % ryb (Obr. 12), s relativním podílem hmotností jiker k hmotnosti těla vytíraných ryb (pGSI) na úrovni 7–9 % a líhivostí embryí kolem 65–80 % (Rošková osobní sdělení, 2020).

Délka intervalu latence u generačních jikernaček lína obecného podobně jako u všech ostatních druhů ryb je závislá na teplotě vody a může se pohybovat od 20 do 50 hodin, jestliže se k výtěru použije teplota vody od 18 do 26 °C. Při optimální teplotě vody (20–23 °C) pro výtěr lína obecného se délka intervalu latence pohybuje od 22 do 36 hodin (Tab. 6).



Obr. 12. Umělý výtěr u lína obecného (*Tinca tinca*) (Foto: J. Kouřil).

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

Tab. 6. Závislost délky intervalu latence na teplotě vody při hormonální indukci ovulace pomocí kapří hypofýzy (2 mg.kg^{-1}) a GnRHa ($10\text{--}20 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ GnRHa) u lína obecného (*Tinca tinca*).

Teplota (°C)		18	19	20	21	22	23	24	25	26
Délka intervalu latence (h)	kapří hypofýza	50	42	35	29	24	22	20	20	20
	GnRHa	52	41	36	35	34	32	30	28	27

Vysvětlivka: **Tučně** jsou vyznačeny doporučené optimální hodnoty teploty vody pro výtěr lína obecného.

Na základě vlastního zjištění autorů této publikace je možné u lína obecného krátkodobě skladovat získané jikry při teplotě vzduchu $10\text{--}20 \text{ } ^\circ\text{C}$ po dobu 2 hodin bez negativního vlivu skladování na oplozenischnost jiker. Jikry se uchovávají v suché misce, která je přikrytá vlhkým hadrem a umístěná na stinném místě. Jestliže se skladování prodlužuje na 6 hodin, potom dochází ke snížení oplozenosti jiker na polovinu. Dále bylo zjištěno, že jestliže se jikry skladují při nižší teplotě vzduchu (při teplotě $5 \text{ } ^\circ\text{C}$), potom k výraznému poklesu oplozenischnosti jiker (cca o 50 %) dochází již po 1,5 hodině.

U generačních mlíčáků lína obecného byly podobně jako u jikernaček testovány účinky hormonálního ošetření pomocí GnRHa a jeho kombinace s metoklopramidem. U mlíčáků nebyly prokázány žádné nežádoucí dopady exkluzivního či kombinovaného ošetření GnRHa s či bez metoklopramidu na kvalitu získaného spermatu. Experimentální exkluzivní ošetření GnRHa nebo metoklopramidem nebo kombinací metoklopramidu s mGnRHa významně zvýšilo objem získaného spermatu a hustotu spermií 24 hodin po hormonální aplikaci (běžně realizovaný odběr spermatu u lína obecného v praxi) ve srovnání s kontrolou a bez rozdílů mezi experimentálními skupinami. Podle vlastních pozorování není možné u části mlíčáků (10–30 % jedinců) vůbec sperma získat.

V souvislosti s možností kontaminace získaného spermatu močí, relativně malého objemu získaného spermatu (0,5–2 ml od jednoho mlíčáka) a krátké doby pohyblivosti spermatu po aktivaci je vhodné provádět odběr spermatu do imobilizačního roztoku. Jako imobilizační roztok se u lína obecného používá roztok Kurokura 180 ve složení: 1 litr destilované vody; 10,52 g NaCl; 0,2 g KCl; 0,2 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ a 0,2 g NaHCO_3 . Imobilizační roztok je vhodné uchovávat v lednici ($4\text{--}6 \text{ } ^\circ\text{C}$) a před použitím je nutné ho vytemperovat na okolní prostředí – teplotu vody použitou pro výtěr generačních ryb lína (Linhart a kol., 2000; Regenda, 2016). Tento postup odběru spermatu umožňuje krátkodobé přechování spermií, které se při odběru od anestetizovaných a osušených mlíčáků odebírá pomocí injekčních stříkaček o menším objemu (2–5 ml). Tyto stříkačky jsou před odběrem spermatu z jedné poloviny jejich objemu naplněny

imobilizačním roztokem Kurokura 180 (Rodina a kol., 2004). Před vlastním odběrem spermatu jsou připravení mlíčáci ještě zbaveni hlavního objemu moči jemnou masáží směrem od břišních ploutví k ocasu. Poté už následuje vlastní odběr spermatu do stříkaček s imobilizačním roztokem. Odebrané sperma, které je imobilizované v imobilizačním roztoku, je možné krátkodobě uchovávat v lednici při 0 až +4 °C (Regenda, 2016).

Pro osemenění získaných jiker lína obecného se doporučuje použití minimálně 2 ml směsi odebraného spermatu a roztoku Kurokura 180 na 100 g jiker. Vždy je vhodné používat k osemenění jiker sperma odebrané od tří až pěti mlíčáků. Vlastní aktivace jiker a spermií se zahájí přilitím aktivačního roztoku (1 g NaCl rozpuštěné v 1 000 ml destilované vody) v množství 25 ml roztoku na 100 g jiker. Oplození jiker probíhá za pomalého míchání po dobu 3 minut.

Cca do 2 minut po aktivaci gamet následuje odlepkování jiker, které se v současnosti provádí především roztokem enzymu alkalázy (Alcalase, Merck EC 3.4.21.14). Roztok alkalázy se podle Linhart a kol. (2000) připraví tak, že se 5–7,5 ml čisté zakoupené alkalázy přidá a rozpustí v 995–992,5 ml vody z líhně, která je obohacena o 1 g NaCl na 1 litr vody. Na 1 kg vytřených a oplozených jiker se aplikuje 1 litr zmíněného připraveného roztoku alkalázy. Odlepkování probíhá po dobu 2 minut za šetrného míchání při teplotě 20 °C. Po dvou minutách se směs jiker a odlepkovacího roztoku 3x propláchně vodou z líhně a oplodněné a odlepkované jikry je možné nasadit na inkubační lahve, většinou se používají Zugské lahve.

Při přípravě odlepkovacího roztoku alkalázy je nutné sledovat aktuální aktivitu příslušné šarže enzymu alkalázy. Původně dodávaná alkaláza (Novo A/S Dánsko) měla aktivitu 0,6 ANS – U/g a byla doporučována k použití Linhartem a kol. (2000). V současnosti je dodávaná alkaláza (Calbiochem), která má v katalogovém listu udávanou aktivitu $\geq 0,75\text{--}3,018$ ANS – U/g. Z tohoto důvodu musejí chovatelé před použitím alkalázy porovnat zmíněnou aktivitu každé její šarže. Jestliže je zjištěna vyšší aktivita alkalázy, musí dojít ke snížení dávky alkalázy pro přípravu odlepkovacího roztoku. Např. u alkalázy s deklarovanou skutečnou aktivitou 3,018 ANS – U/g musí dojít k následujícímu snížení její dávky: $3,018:0,6= 5,03x$. V tomto případě se jedná o potřebu pětinasobného snížení koncentrace alkalázy při přípravě odlepkovacího roztoku. Tzn., že je třeba pětkrát snížit doporučovanou koncentraci alkalázy (5–7,5 ml na 995–992,5 ml vody), kterou udává Linhart a kol. (2000), na 1–1,5 ml alkalázy na 999 či 998,5 ml vody.

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

4.6.3. Karas obecný (*Carassius carassius*)

K finálnímu dozrání gamet a k přirozenému termínu výtěru u karase obecného dochází, když teplota vody dosahuje hodnoty na úrovni 18–22 °C, což v našich zeměpisných šířkách je v období května až června. Pohlavně dospívá ve věku 2–3 let. Umělý a hormonálně stimulovaný výtěr karase obecného se provádí s cílem posílit divoce žijící populace. Vzhledem k výraznému úbytku tohoto druhu v rybnících, ale také úbytku většiny přirozených biotopů či zániku těchto biotopů, je žádoucí podpořit jeho výskyt pomocí umělého rozmnožování na vhodných lokalitách. Při vlastních pokusech (Kouřil a kol., nepublikováno) bylo zjištěno, že karas obecný je poměrně citlivý k běžně používaným anestetikům (2-phenoxyethanol nebo hřebíčkový olej). Proto se většinou používají nižší dávky o 25%, než je obvyklé u ostatních druhů ryb. Do anestezie karas upadá poměrně brzy, přechody mezi jednotlivými stupni anestezie jsou nevýrazné. K hormonální indukci jikernaček lze použít buď kapří hypofýzu aplikovanou ve dvou dílčích dávkách (podobně jako u kapra: první dílčí dávka $0,5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ a za 12 hodin hlavní druhá dávka $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) nebo přípravky Dagin či Ovopel aplikované v jedné dávce na úrovni: $20 \text{ }\mu\text{g GnRHa}\cdot\text{kg}^{-1} + 2 \text{ mg metoklopramid}\cdot\text{kg}^{-1}$ u Ovopelu a $10 \text{ }\mu\text{g GnRHa}\cdot\text{kg}^{-1} + 20 \text{ mg metoklopramid}\cdot\text{kg}^{-1}$ u Dagu. Injikace generačních mlíčáků není nutná, jelikož mlíčáci uvolňují sperma v dostatečném množství spontánně. Na některých líhních je u mlíčáků doporučovaná jedna iniciační dávka ve výši u kapří hypofýzy: $0,5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ nebo nověji u analogů GnRHa v kombinaci s metoklopramidem (přípravek Ovopel) v dávce 1 peleta na 10 kg mlíčáků, což odpovídá dávce $2 \text{ }\mu\text{g}$ syntetického GnRHa a $0,2 \text{ mg}$ metoklopramidu na 1 kg mlíčáků. Injikace se provádí intramuskulárně do hřbetní svaloviny, nebo intraperitoneálně k bázi břišní ploutve. Závislost délky intervalu latence na teplotě vody je patrná z Tab. 7, kdy při teplotě vody 18–22 °C délka intervalu latence trvá 18–26 hodin (Tab. 7). Při umělém výtěru (Obr. 13) lze očekávat 70–90% úspěšnost dosažení ovulace jikernaček. Odlepkování jiker karase obecného se provádí stejně, jako bylo popsáno u kapra obecného.



Obr. 13. Umělý výtěr jikernačky karase obecného (*Carassius carassius*) (foto: J. Kouřil).

Tab. 7. Závislost délky intervalu latence na teplotě vody u jikernaček karase obecného (*Carassius carassius*) při použití hormonální indukce ovulace pomocí jednorázového podání preparátů Dagin nebo Ovopel.

Teplota °C	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Délka intervalu latence (h)	32	29	26	24	22	20	18	16	15

Vysvětlivka: Tučně jsou vyznačeny doporučené optimální hodnoty teploty vody pro výtěr karase obecného.

4.6.4. Amur bílý (*Ctenopharyngodon idella*), tolstolobik bílý (*Hypophthalmichthys molitrix*), tolstolobec pestrý (*Aristichthys nobilis*) a amur černý (*Mylopharyngodon piceus*)

Amur bílý, tolstolobik bílý, tolstolobec pestrý a amur černý nejsou původními obyvateli naší evropské ichtyofauny. Všechny tyto druhy pochází z jihovýchodní Asie. První tři druhy, tzv. býložravých ryb, k nám byly introdukovány z bývalého Sovětského svazu v průběhu 60. a 70. let minulého století (Regenda, 2016). Amur černý byl do ČR (do Vodňan a Pohořelic) introdukovan z Maďarska (z Výzkumného ústavu HAKI Szarvas) v roce 2000 v podobě rychleného plůdku s cílem využívat tento druh v budoucnosti v ČR k likvidaci vodních mlžů, kteří přenášejí různá četná rybí onemocnění (Kouřil, nepublikovaná data).

Z těchto informací vyplývá, že všechny tyto druhy tzv. skupiny „čínských kaprů“ jsou teplomilnými druhy s optimální teplotou vody pro finální dozrávání gamet a následné rozmnožování na úrovni 22–25 °C a s optimálním světelným režimem 16 hodin světla za 24 hodin. Teplota vody v ČR je limitujícím faktorem

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

pro jejich přirozený výtěr. Ovšem už byly v posledních letech sporadicky sledovány případy výskytu přirozeného výtěru amura bílého v rámci globálního oteplování našeho klimatu (Gela osobní sdělení, 2019). Naše klima obecně neposkytuje této skupině ryb dostatečnou roční sumu tepla (denních stupňů) z hlediska teploty vod, která je potřebná k dozrávání jiker a následně pro jejich ovulaci (Regenda, 2016). Hlavní oblastí výtěru této skupiny ryb v České republice jsou rybářské podniky na jižní Moravě. Ostatní rybářské podniky v ČR potřebují k finální stimulaci a indukci výtěru této skupiny ryb využívat intenzivního ohřevu vody či RAS technologie. Bez tohoto technologického vybavení není v podmínkách ČR většinou možné (zejména v případě chladného jara) tyto druhy efektivně mimo jižní Moravu uměle rozmnožovat.

U všech těchto druhů je vzhledem k jejich větší individuální hmotnosti (používají se generační ryby o kusové hmotnosti 3–6 kg), mrštnosti a divokému chování obtížná a komplikovaná manipulace, která vyžaduje přítomnost většího množství pracovníků na daných rybích líhních při přípravě a manipulaci s rybami. Generační ryby se loví z matečných rybníků na konci května či v průběhu června dva až tři týdny před plánovaným výtěrem (Obr. 14). Ryby se třídí podle zralosti. U jikernaček je posuzován stav břišních partií, které jsou klasifikovány jako měkké či tvrdé. U mlíčáků se kontroluje spontánní uvolňování spermatu. Jikernačky s měkkým břichem a mlíčáci uvolňující sperma se nasazují do velkých krytých bazénů (Obr. 15) v rámci daných líhní s měkkými boky a dnem. Teplota vody v těchto bazénech má být už předeřhřata na úroveň 22–25 °C. Tato skupina ryb se bude v následujících 3–7 dnech hormonálně stimulovat k umělému výtěru. Ryby, které nevykazují dostatečnou zralost, se vysazují do manipulačních rybníků či sádek poblíž rybích líhní s cílem využít tyto ryby k pozdějším termínům výtěrové sezóny.



Obr. 14. Odlov generačních ryb amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*) z manipulačního rybníka (Foto: J. Kouřil).



Obr. 15. Odlov generační jikernačky amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*) těsně před hormonální stimulací (Foto: J. Kouřil).

První iniciační hormonální ošetření jikernaček se realizuje 20,5–23 hodin před požadovaným termínem výtěru. Vybrané ryby je nutné zklidnit v anestetiku (hřebíčkový olej s vyšší dávkou, tzn. 0,05–0,07 ml.l⁻¹). V zahraničí se jako anestetikum u této skupiny ryb používá přípravek MS 222 v dávce 0,1g.l⁻¹ (Bozkurt a kol., 2008). Následně se vybrané generační ryby obojího pohlaví hormonálně ošetří intramuskulárně do hřbetní svaloviny, nebo intraperitoneálně k bázi břišní ploutve (Obr. 16) jednotnou iniciační dávkou kapří hypofýzy (0,5 mg.kg⁻¹ nebo 3–3,5 mg.ks⁻¹) (Bozkurt a kol., 2008). Neustále je nutné generační ryby držet ve stabilní teplotě vody 23–25 °C. V tomto období je možné ryby rozdělit podle pohlaví či je držet pohromadě. Za 12 hodin po prvním hormonálním ošetření se u generačních jikernaček používá hlavní dávka kapří hypofýzy, kdy se jikernačky ošetřují dávkou 3–3,5 mg.kg⁻¹ a mličáci se většinou již neošetřují. Z důvodu, že se obě pohlaví v této době ošetřují jiným způsobem, je vhodnější generační ryby od prvního ošetření držet odděleně s cílem minimalizovat manipulaci s rybami. U takového hormonálního ošetření dochází k ovulaci jiker za 8,5–11 hodin v závislosti na teplotě vody (24 °C, respektive 20 °C) a ovulace je dosahována u 80–100 % generačních jikernaček. Naem a kol. (2011) využívali k hormonální stimulaci generačních ryb amura bílého také přípravek Ovaprim s jednou dávkou 0,6 ml.kg⁻¹ u jikernačky a 0,2 ml.kg⁻¹ u mličáků.

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU



Obr. 16. Intraperitoneální injekce do báze břišní ploutve a realizace umělého výtěru jikernačky amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*) (Foto: J. Kouřil).

Pro zamezení úniku ovulovaných jiker před vlastním umělým výtěrem se na rybních líhních používá „zašítí“ urogenitální papily (podobně jako to bylo popsáno u jikernaček kapra obecného). Avšak při použití této techniky je zapotřebí u všech druhů ryb pečlivě kontrolovat přesný okamžik, kdy je dosažena ovulace jiker. Následně je nutné okamžitě započít s umělým výtěrem jikernaček (Obr. 16). Období mezi ovulací jiker a realizací umělého výtěru nesmí být delší než 10 minut. Nedodržení této zásady má za následek výrazné snížení kvality jiker, jelikož dochází k rychlému přezrávání jiker, a tím ke snížení míry jejich oplozenosti. Přezrálé jikry ztrácejí svoji typickou zelenošedou barvu a jsou buďto šedé či tmavě kovově šedé (Kharroubi a kol., 2002). Přezrálé jikry je možné takto identifikovat a následně zcela eliminovat a neoplodňovat, protože je to ztráta času a zbytečně vynaložené úsilí pracovníků. Oplozenost přezrálých jiker se pohybuje na úrovni 5–30 %, což je neefektivní pro další inkubaci.

Dále je na základě experimentů realizovaných u amura bílého možné použít k hormonální stimulaci umělému výtěru jednorázovou aplikaci přípravků Ovopel nebo Dagin. Při porovnání efektivity umělého výtěru u amura bílého stimulovaného kapří hypofýzou a přípravky Ovopel a Dagin nebyl prokázán žádný rozdíl mezi použitými ošetřeními v procentu úspěšně vytřených ryb a množství získaných jiker. Ovšem u stimulace umělého výtěru amura bílého přípravky Ovopel a Dagin bylo zjištěno delší období intervalu latence cca o 5–6 hodin oproti kapří hypofýze (Tab. 8; Kouřil a kol., 2006b). Závislost délky intervalu latence u umělého výtěru amura bílého stimulovaného přípravkem Dagin na různé teplotě vody je uvedena v Tab. 9. Z této tabulky vyplývá, že délka intervalu latence při optimální teplotě vody 22–25 °C trvá 13,5–20 hodin.

Tab. 8. Indukce umělého výtěru jikernaček amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*) pomocí dvoudávkové aplikace kapří hypofýzy ($0,5 \text{ mg.kg}^{-1} + 3,5 \text{ mg.kg}^{-1}$) a jednodávkové aplikace kombinovaných přípravků Ovopel ($20 \mu\text{g GnRHa.kg}^{-1}$ a $2 \text{ mg metoklopramidu.kg}^{-1}$) a Dagin ($10 \mu\text{g GnRHa.kg}^{-1}$ a $20 \text{ mg metoklopramidu.kg}^{-1}$) při teplotě vody $22,5 \text{ }^\circ\text{C}$ (průměr \pm SD) a jeho produkční parametry.

Přípravek	Jikernačky		Hmotnost jikernaček (kg)	pGSI (%)	Délka intervalu latence	
	injik. (ks)	vytř. (%)			(h)	(h°)
Ovopel	6	83,3	$6,8 \pm 0,83^a$	$4,69 \pm 2,42^a$	$16,4 \pm 0,10^a$	$372 \pm 2,00^a$
Dagin	6	83,3	$7,7 \pm 1,06^a$	$5,14 \pm 2,76^a$	$16,1 \pm 0,15^a$	$365 \pm 3,00^a$
Hypofýza	6	83,3	$7,1 \pm 1,41^a$	$6,17 \pm 3,93^a$	$10,7 \pm 0,22^b$	$243 \pm 5,00^b$

Vysvětlivka: písmena^{a,b} - označují v konkrétním sloupci statistické rozdíly daného parametru výtěru mezi různými hormonálními ošetřeními ($p \leq 0,05$).

Tab. 9. Závislost délky intervalu latence na teplotě vody při hormonální indukci ovulace generačních jikernaček amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*) pomocí jednorázového podání přípravku Dagin ($10 \mu\text{g GnRHa.kg}^{-1}$ a $20 \text{ mg metoklopramidu.kg}^{-1}$).

Teplota ($^\circ\text{C}$)	21,0	21,5	22,0	22,5	23,0	23,5	24,0	24,5	25,0
Délka intervalu latence (h)	23,5	21,5	20,0	18,5	17,5	16,5	15,5	14,5	13,5

Vysvětlivky: **Tučně** jsou vyznačeny doporučené optimální hodnoty teploty vody pro výtěr amura bílého.

U jikernačky tolstolobika bílého je možné úspěšně použít jen kapří hypofýzu. U tohoto druhu prozatím nebyla úspěšně ověřena žádná jiná hormonální stimulace umělého výtěru (Tab. 10; Kouřil a kol., 2006b).

Tab. 10. Indukce umělého výtěru jikernaček tolstolobika bílého (*Hypophthalmichthys molitrix*) pomocí dvoudávkové aplikace kapří hypofýzy ($0,5 \text{ mg.kg}^{-1} + 3,5 \text{ mg.kg}^{-1}$) a jednodávkové aplikace přípravku Supergestran (dávka $25 \mu\text{g GnRHa.kg}^{-1}$) a kombinovaného přípravku Dagin ($10 \mu\text{g GnRHa.kg}^{-1}$ a $20 \text{ mg metoklopramidu.kg}^{-1}$) při teplotě vody $22,5 \text{ }^\circ\text{C}$ (průměr \pm SD) a jeho produkční parametry.

Přípravek	Jikernačky		Hmotnost jikernaček (kg)	pGSI (%)	Délka intervalu latence	
	injik. (ks)	vytř. (%)			(h)	(h°)
Supergestran	5	0	$6,0 \pm 0,9$	0	-	-
Dagin	5	0	$6,2 \pm 1,0$	0	-	-
Hypofýza	5	100	$6,1 \pm 1,4$	$13,8 \pm 5,8$	$9,9 \pm 0,2$	$223 \pm 4,0$

Naopak u tolstolobce pestrého je možné úspěšně použít jednorázově přípravek Dagin, který má stejnou efektivitu jako kapří hypofýza (úspěšně vytřeno 100% jikernaček s podobnou pracovní plodností ryb), avšak s delším

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

obdobím intervalu latence cca o 8 hodin oproti kapří hypofýze (Tab. 11; Kouřil a kol., 2006b).

Tab. 11. Indukce umělého výtěru jikernaček tolstolobce pestrého (*Aristichthys nobilis*) pomocí dvoudávkové aplikace kapří hypofýzy ($0,5 \text{ mg.kg}^{-1} + 3,5 \text{ mg.kg}^{-1}$) a jednodávkové aplikace přípravku Supergestran (dávka $25 \mu\text{g GnRHa.kg}^{-1}$) a kombinovaného přípravku Dagin ($10 \mu\text{g GnRHa.kg}^{-1}$ a $20 \text{ mg metoklopramid.kg}^{-1}$) při teplotě vody $22,5 \text{ }^\circ\text{C}$ (průměr \pm SD) a jeho produkční parametry.

Přípravek	Jikernačky		Hmotnost jikernaček (kg)	pGSI (%)	Délka intervalu latence	
	injik. (ks)	vytř. (%)			(h)	(h ^o)
Supergestran	5	0	9,9 \pm 3,2	0	–	–
Dagin	5	100	9,8 \pm 0,8	8,2 \pm 2,1 ^a	18,7 \pm 0,2 ^a	421 \pm 4,0 ^a
Hypofýza	5	100	10,4 \pm 2,7	6,9 \pm 3,4 ^a	10,3 \pm 0,2 ^b	232 \pm 4,0 ^b

Vysvětlivka: písmena^{a,b} – označují v konkrétním sloupci statistické rozdíly daného parametru výtěru mezi různými hormonálními ošetřeními ($p \leq 0,05$).

Na základě prozatím jen počátečních zkušeností s hormonální indukcí a realizací umělého výtěru u amura černého (Obr. 17) lze doporučit identický postup jeho přípravy a realizace, který je popsán u amura bílého.



Obr. 17. Generační amur černý (*Mylopharyngodon piceus*) (vlevo) a jeho intramuskulární injekce (vpravo) (Foto: J. Kouřil).

Po hormonální iniciační stimulaci mlíčáků všech druhů ryb této skupiny dochází k odběru spermatu cca po 18–20 hodinách. Sperma je odděleně od každého mlíčáka odebíráno do injekčních stříkaček o objemu 20–50 ml či do speciálních kontejnerů pro tkáňové kultury (objem 50–100 ml) podobně jako u kapra obecného. Velmi často se sperma od mlíčáků odebere před výtěrem generačních jikernaček a uchovává se při teplotě $4 \text{ }^\circ\text{C}$ v lednici.

Jestliže se použije popsaná hormonální stimulace mlíčáků, není u nich problém získat dostatečné množství spermatu v objemu 4–23 ml na jednu použitou rybu (Bozkurt a kol., 2008; Bozkurt a Öğretmen, 2012; Regenda, 2016). Bez hormonální přípravy mlíčáků se získá pouze 0,2–1,5 ml.ks⁻¹, což je pro efektivní umělý výtěr velmi málo (Regenda, 2016). Běžně se ve spermatu pohybuje 70–95 % spermií po dobu 35–117 sekund od jejich aktivace (Bozkurt a kol., 2008; Bozkurt a Öğretmen, 2012). Bozkurt a Öğretmen (2012) doporučují k umělému osemenění jiker používat 200 000 spermií na 1 jikru, což je přibližně 0,9–1,5 ml spermatu na 100 gramů jiker. Regenda (2016) rovněž doporučuje použít 1 ml spermatu na 100 g jiker a současně dodává, že je důležité využívat na osemenění jiker sperma odděleně odebrané od několika, alespoň 3–4 mlíčáků. Směs jiker a spermií se promíchá (Obr. 18) a zalije vodou cca 1 cm nad jikry. Směs gamet a vody se promíchá a nechá 2 minuty odležet. Poté následuje promytí oplozených jiker, které se nemusí odlepkovat, a jejich nasazení na inkubační aparáty Amur o objemu 100–200 litrů (Obr. 19) s malých přítokem a krouživým pohybem vody, kvůli nízké specifické hmotnosti pelagických jiker této skupiny ryb. K inkubaci jiker je také možné použít klasické inkubační Zugske lahve o objemu 10 litrů. Avšak tyto lahve mají pro inkubaci jiker těchto druhů ryb malý objem a efektivita je poměrně nízká. Jikry začínají 10–15 minut po oplození výrazně bobtnat a zvětšovat svoji velikost. Oplozenost dosahuje hodnot na úrovni 60–95 %.



Obr. 18. Umělé osemenění jiker amura černého (*Mylopharyngodon piceus*) (Foto: J. Kouřil).

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU



Obr. 19. Velkokapacitní inkubační přístroje Amur s nasazenými jikrami amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*) (Foto: J. Kouřil).

4.6.5. Perlín ostrobřichý (*Scardinius erythrophthalmus*)

Umělý výtěr perlína ostrobřichého se běžně neprovádí. Vzhledem k zájmu o tento druh ryby pro vysazování do volných vod, i pro případnou potřebu produkce potravních (krmných) ryb pro chov dravých druhů ryb (jako je štika obecná či candát obecný) nebo pro produkci násadového materiálu okrasné formy „zlatého perlína“, lze předpokládat zájem o umělou reprodukci i u tohoto druhu.

Optimální teplota vody pro výtěr perlína ostrobřichého je 17–20 °C a k finálnímu dozrání gamet a jeho přirozenému výtěru v ČR dochází v průběhu května či na začátku června. K výtěru se používají minimálně dvouletí mlíčáci a tříleté jikernačky. Optimálním věkem generačních ryb perlína jsou 4–5leté ryby o kusové hmotnosti nad 250 gramů.

Tab. 12. Závislost délky intervalu latence na teplotě vody u jikernaček perlína ostrobřichého (*Scardinius erythrophthalmus*) při použití hormonální indukce ovulace pomocí jednorázového podání přípravku Supergestran ($GnRH\alpha$ 25 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$).

Teplota (°C)	15	16	17	18	19	20	21
Délka intervalu latence (h)	37	36	35	34	33	32	31

Vysvětlivka: **Tučně** jsou vyznačeny hodnoty doporučených teplot vody pro výtěr perlína ostrobřichého.

U jikernaček perlína lze doporučit jednorázové injekční podání analogu GnRH α (přípravek Supergestran) v dávce 25 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ při teplotách 18–20 °C. Alternativně je možné použít kapří hypofýzu v jednorázové dávce 4 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ nebo ve dvou dílčích dávkách: 0,4 + 3,6 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Rojdl a kol., 2000; Hamáčková a kol., 2001; Kouřil a kol., 2008). Injikace se provádí v anestézii s použitím hřebíčkového oleje s dávkou 0,03 $\text{ml}\cdot\text{l}^{-1}$ (Obr. 20) intramuskulárně do hřbetní svaloviny, nebo intraperitoneálně do báze břišní ploutve (Obr. 21). Závislost délky intervalu latence na teplotě vody je patrná z Tab. 12. Z této tabulky vyplývá, že při optimální teplotě vody 17–20 °C délka intervalu latence trvá 31–35 hodin. Při umělém výtěru lze očekávat 60–80% úspěšnost ovulace u jikernaček (Obr. 22). U tohoto druhu je při masáži a tlaku na břišní stěnu jikernaček při umělém výtěru nutno postupovat velmi jemně, jinak hrozí vyřeznutí celých vaječníků. Průměrná hmotnost jedné vytřené, neoplozené a nenabobtnalé jikry je 0,55 mg (tzn. že v 1 g jiker je obsaženo přibližně 1 800 ks jiker).



Obr. 20. Anestezace perlína ostrobřichého (*Scardinius erythrophthalmus*) (Foto: J. Kouřil).

Mlíčáky není nutno injikovat hormonálními přípravky. Dostatečné množství spermatu je možné od anestezovaných mlíčáků získat spontánně při mírném stisku boků. Získané sperma se aplikuje přímo na předem vytřené jikry.

Po osemenění jiker (aplikuje se 1–3 ml spermatu na 100 gramů jiker) a přidání vody (cca 1 cm nad jikry) dojde k oplození jiker. Poté se provede jejich odlepkování po dobu 30 minut pomocí suspenze talku (v koncentraci přibližně 50–100 $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) či ředěného plnotučného mléka (v poměru 1 objemový díl mléka: 9 dílů vody). Při odlepkování jiker a následně při jejich promývání vodou a vysazení do inkubačních lahví je potřebné dodržet stejnou teplotu vody, která byla použita pro osemenění jiker.

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU



Obr. 21. Intraperitoneální injekce přípravku Supergestran u jikernačky perlína ostrobřichého (*Scardinius erythrophthalmus*) zlaté formy do báze břišní ploutve (Foto: J. Kouřil).



Obr. 22. Umělý výtěr jikernačky perlína ostrobřichého (*Scardinius erythrophthalmus*) (Foto: J. Kouřil).

K inkubaci je možno použít buď standardní skleněné Zugské inkubační lahve o objemu 8–10 litrů, případně malé inkubační lahve podobného tvaru, zhotovené z upravených plastových lahví na nápoje o objemu 0,3–1 litr (Kouřil a kol., 2008).

4.6.6. Jelec jesen (*Leuciscus idus*)

O umělý výtěr jelce jesena je zájem nejen z důvodu produkce násadového materiálu pro vysazení do volných vod, ale i s cílem produkce plůdku okrasných zlatých a modrých forem.

K výtěru lze použít generační ryby odlovené z přírodních lokalit tekoucích vod. Avšak ve většině případů se v současné době používají generační ryby odchovávané v rybníčních podmínkách. K stimulaci a realizaci umělého výtěru se používají ryby finálně připravené k reprodukci o přibližně stejné velikosti a věku. Většinou se používají pohlavně dospělé ryby o stáří 3–6 let a o kusové hmotnosti 300–1 000 gramů (Obr. 23).



Obr. 23. Pohled na mlíčáka (nahore) a jikernačku (dole) jelce jesena (*Leuciscus idus*) v předvýtěrovém období (Foto: J. Kouřil).

Přirozený termín výtěru jelce jesena probíhá v podmínkách ČR od března do května při optimální teplotě vody 12–15 °C. Již při teplotě vody 8–12 °C jsou generační ryby odloveny z volných vod nebo sloveny z rybníků, následně jsou tříděny a převezeny na líheň. U mlíčáků se v této době objevuje třecí vyrážka na hlavě, po těle a na prsních ploutvích. Ryby jsou rozděleny podle pohlaví. U jikernaček se během 2 dnů zvyšuje teplota vody na 12–15 °C. Při teplotě 15 °C by jikernačky neměly být drženy déle jak 3–5 dnů, protože potom může nastoupit počátek resorpce neovulovaných jiker nebo jejich nekontrolovaný spontánní výtěr. Největší jikernačky (kusová hmotnost kolem 1 kg) produkují až přes 100 000 jiker, které jsou nažloutlé, o průměru 1,9–2,3 mm. Na 1 kg hmotnosti jikernaček připadá 60–130 000 ks jiker, v průměru je to tedy cca 85 000 ks jiker.

Během umělého výtěru se při injekci hormonálních přípravků a při manipulaci s rybami užívá anestezie, jednak z důvodu zjednodušení pracovního postupu a také kvůli omezení povrchového poškození ryb. K dosažení anestézie je nejvhodnější pro použití anestetika hřebíčkový olej (v koncentraci 0,03–0,04 ml.l⁻¹) nebo 2-phenoxyethanol (0,2 ml.l⁻¹) s délkou expozice 2–5 minut (Hamáčková a kol., 2006).

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

Podle provedených četných experimentů je možné k indukci umělého výtěru (Obr. 24) použít dehydrovanou kapří hypofýzu či přípravek obsahující syntetický analog GnRHa (preparát Supergestran) nebo přípravek Ovopel obsahující GnRHa v kombinaci s dopaminním inhibitorem (metoklopramidem).



Obr. 24. Umělý výtěr divoké formy jikernačky jelce jesena (*Leuciscus idus*) (Foto: J. Kouřil).

Při použití dehydrované kapří hypofýzy lze shodných výsledků dosáhnout v jedné (6 mg.kg^{-1}), respektive ve dvou dílčích dávkách ($1 + 5 \text{ mg.kg}^{-1}$), které jsou aplikované v intervalu 12 hodin. Při teplotě vody $14 \text{ }^\circ\text{C}$ dojde u jednorázově aplikované hypofýzy k výtěru přibližně za 35–37 hodin, při aplikaci dvou dílčích dávek za 18 hodin po druhé realizované dávce. Rozpětí teploty vody mezi $11,5\text{--}15,5 \text{ }^\circ\text{C}$ nemá při jednorázovém použití kapří hypofýzy vliv na počet ovulujících ryb (60–80 %) ani na množství jiker od nich získaných. Rozdíl je pouze v délce intervalu latence. Délka intervalu latence je také ovlivněna teplotou vody, kdy se při vyšší teplotě tento interval zkracuje (Tab. 13; Hamáčková a kol., 2008a).

Tab. 13. Závislost délky intervalu latence na teplotě vody u jikernaček jelce jesena (*Leuciscus idus*) při použití hormonální indukce ovulace pomocí jednorázového podání kapří hypofýzy v dávce 6 mg.kg^{-1} a přípravku Ovopel v dávce $20 \text{ } \mu\text{g GnRHa.kg}^{-1}$ a 2 mg metoklopromidu. kg^{-1} nebo Supergestran v dávce $25 \text{ } \mu\text{g GnRHa.kg}^{-1}$.

Teplota ($^\circ\text{C}$)		11	12	13	14	15	16
Délka intervalu latence (h)	Hypofýza	49	42	38	36	34	30
	Ovopel/ Supergestran	53	47	40	38	36	33

Vysvětlivka: **Tučně** jsou vyznačeny doporučené optimální hodnoty teploty vody pro výtěr jelce jesena.

Jestliže se k hormonální stimulaci ovulace jiker u generačních jikernaček použije přípravku Supergestran v dávce $25 \mu\text{g GnRHa.kg}^{-1}$ nebo Ovopelu v dávce 1 peleta.kg^{-1} ($20 \mu\text{g GnRHa.kg}^{-1}$ a $2 \text{ mg metoklopromidu.kg}^{-1}$), potom je dosahováno podobných výsledků, jaké byly zmíněné u kapří hypofýzy. To znamená, že je dosahováno úspěšného výtěru a ovulace jiker u 60–80 % jikernaček s pracovní relativní plodností od 60–130 000 ks jiker.kg⁻¹ a s délkou intervalu latence při teplotě vody 11–16 °C od 33–53 hodin (Tab. 13), kdy mezi jednotlivými přípravky není zjišťována odlišná délka intervalu latence.

Mlíčáky jelce jesena většinou není nutno injikovat hormonálními přípravky. Ve výtěrovém období lze od anestetizovaných mlíčáků získat sperma při masáži boků a břišní partie těla. Objem mlíčí od dospělých mlíčáků o hmotnosti 500 g je kolem $10\text{--}20 \text{ ml.ks}^{-1}$, což je dostačující. Mlíčí lze vytírat buď přímo na vytřené jikry v miskách (Obr. 25) nebo ho odsát injekční stříkačkou a následně ho použít k osemnění předem vytřených jiker. K osemnění cca 100 g jiker se používá 1–5 ml spermatu. Pro aktivaci 100 gramů jiker se přilévá cca 100 ml vody a cca do dvou minut dochází k oplození jiker. Poté se provede odlepkování oplozených jiker nejprve 1 minutu mlékem (jako u perlína ostrobráček) a dále pak pomocí suspenze talku (v koncentraci přibližně $50\text{--}100 \text{ g.l}^{-1}$) po dobu cca 30 minut. Při odlepkování jiker a následně při jejich promývání vodou a vysazení do inkubačních lahví je nutné dbát na použití vody o stejné teplotě, která byla při výtěru generačních ryb. K inkubaci jsou používány Zugské láhve o objemu cca 10 litrů. Inkubační láhve se plní nabotnalými jikrami do jedné třetiny, maximálně do jedné poloviny (Obr. 26; Hamáčková a kol., 2008a).



Obr. 25. Umělé osemnění jiker zlaté formy jelce jesena (*Leuciscus idus*) vytlačeným spermatem přímo z těla mlíčáka (Foto: J. Kouřil).

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU



Obr. 26. Inkubace jiker jelce jesena (*Leuciscus idus*) v Zugských lahvích (Foto: J. Kouřil).

4.6.7. Parma obecná (*Barbus barbus*)

V poslední době jsou divoké ryby tohoto druhu v omezeném rozsahu úspěšně vytírány na rybních líhních. Hlavním problémem je elektrolov generačních ryb na trdlištích větších řek, při kterém dochází k poškozování generačních ryb a současně i stavu místních trdlišť. Dalším problémem je, že odlovené generační ryby, které zrovna neovulují jikry, musejí být převezeny do rybních líhní a tam drženy v kontrolovaných podmínkách a hormonálně stimulovány s cílem dosáhnout jejich finálního dozrání oocytů a následného umělého výtěru. Ovšem efektivita této metody je velice nízká (procento úspěšně vytřených ryb velmi kolísá od 20 do 80 %) a může být zatížena i vyšší mortalitou generačních ryb, které po odlovu trpí vysokým stresem a dochází k jejich poškození (Polícar a kol., 2009a).

Obecně se v současné době nedoporučuje divoké generační ryby parmy obecné na trdlištích před výtěrem odlovovat, ale je doporučováno generační ryby promyšleně a dlouhodobě odchovávat do pohlavní dospělosti buďto v rybnících či v RAS nebo jejich kombinací. Často je chov generačních ryb parmy obecné (Obr. 27) problematický v zabahněných rybnících, a proto se upřednostňuje jejich chov v RAS nebo ve speciálních rybnících s písčitém nebo kamenitým dnem. Generační ryby ve volných vodách či rybnících pohlavně dospívají v 3–6 letech (dříve mlíčáci a později jikernačky) ovšem v RAS je možné dosáhnout pohlavně dospělých ryb už ve věku 18–30 měsíců. K výtěru a finálnímu dozrání gamet u parmy obecné ve volných vodách či rybnících dochází v ČR od května do června, kdy teplota vody dosahuje 16–20 °C a světelný režim je na úrovni 15–16 hodin v průběhu dne (Polícar a kol., 2009a). V případě

intenzivně chovaných generačních ryb v konstantní teplotě vody mezi 20–22 °C je dozrávání jejich gonád a gamet řízeno prodlužujícím se světelným režimem. V podmínkách prodlužujícího se světla na úroveň 9–14 hodin v rámci jednoho dne dochází ke spontánnímu finálnímu dozrávání gamet a jejich uvolňování bez jakéhokoliv hormonálního ošetření (Polícar a kol., 2010, 2011a). Ovšem problémem tohoto chovu je, že generační ryby se rozmnožují v několika dávkách výtěru (typický porcový výtěr) s malými dílčími snůškami jiker (Polícar a kol., 2009a). Z tohoto důvodu se tyto ryby také doporučuje hormonálně stimulovat podobně jako divoké či rybniční ryby s cílem dosáhnout vyšší synchronizace výtěru u většího počtu ryb v jednom okamžiku a uvolnění většího počtu jiker u jednotlivých ryb. Jako zajímavost je možné uvést, že u ryb dlouhodobě chovaných v kontrolovaných podmínkách RAS, kde jsou společně chované obě pohlaví, nedochází ke spontánnímu výtěru generačních ryb, jelikož jikernačky bez přítomnosti přirozeného výtěrového substrátu v nádržích nejsou schopné uvolňovat ovulované jikry. Ovulované jikry je nutné při teplotě vody 20–22 °C z těla jikernaček vytlačit do 2–3 dní. V pozdějším přídadě dochází k přezrání a následné resorpci jiker, kdy jikry již nejsou oplozeníschopné. U jikernaček, u kterých došlo k resorpci jiker, se v následujícím výtěrovém období výrazně snižuje plodnost.

Pro manipulaci s generačními rybami v rámci realizace hormonální stimulace či umělého výtěru je vhodné ke zklidnění ryb používat anestezii v podobě hřebíčkového oleje v dávce 0,03 ml.l⁻¹ (Obr. 28).



Obr. 27. Generační jikernačka parmy obecné (*Barbus barbus*) připravená na výtěr (Foto: T. Polícar).

Dříve se generační jikernačky parmy obecné stimulovaly intramuskulární injekcí kapří hypofýzou v jedné (6 mg.kg⁻¹) nebo více dávkách (1 + 5 mg.kg⁻¹ nebo 1 + 10 mg.kg⁻¹ s intervalem injekce 12 hodin). Ovšem toto ošetření nepřinášelo uspokojivé výsledky, jelikož k ovulaci docházelo pouze přibližně u 50–60 % injikovaných jikernaček s nízkým množstvím uvolněných jiker (pGSI na úrovni 3,5–5 %). Na základě opakovaných experimentů s hormonální

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

stimulací jikernaček parmy obecné původem jak z volných vod, tak kontinuálně chovaných v kontrolovaných podmínkách RAS, lze doporučit jednorázové použití přípravků Dagin, Ovopel nebo Supergestran. Při využití Supergestranu je však nezbytné použít zvýšenou dávku GnRHa na úrovni $125 \mu\text{g GnRHa.kg}^{-1}$ s cílem dosáhnout vyššího podílu úspěšně vytíraných generačních jikernaček v rozmezí 80–100% (Tab. 14). Pro jikernačky parmy obecné je charakteristické, že při dosažení ovulace jiker ještě před provedením umělého výtěru nedochází k samovolné ztrátě (úniku) ovulovaných jiker z pohlavního otvoru, podobně jako tomu je u chovu obojího pohlaví tohoto druhu v RAS podmínkách.



Obr. 28. Generační ryby parmy obecné (*Barbus barbus*) v anestetické lázni z hřebíčkového oleje (Foto: T. Policar).

Při použití přípravku Dagin, Ovopel a Supergestran ve vyšších dávkách GnRHa dochází ke zvýšení procenta úspěšně vytíraných ryb, ale také k uvolnění většího množství jiker, které tvoří až cca 10% podíl k celkové hmotnosti vytíraných ryb. U generačních jikernaček, které jsou stimulovány zmíněnými použitými hormonálními preparáty, je také možné sledovat prokazatelně delší interval latence (36 hodin) oproti rybám, které jsou hormonálně stimulované kapří hypofýzou (21–22 hodin) (Tab. 14; Kouřil a kol., 1988, 2006c; Vavrečka, 2008; Policar a kol., 2009a). Závislost délky intervalu latence na teplotě vody je uvedena v Tab. 15 a pohybuje se od 34–42 hodin při teplotě vody 15–20 °C.

Tab. 14. Indukovaný umělý výtěr jikernaček parmy obecné (*Barbus barbus*) pomocí jednorázového podání kapří hypofýzy, přípravku Supergestran s exkluzivním použitím GnRHa ve 3 různých dávkách a přípravků Dagin a Ovopel s kombinovaným použitím GnRHa s metoklopramidem při teplotě $19,0 \pm 1,0$ °C (průměr \pm SD) a jeho parametry.

Přípravek	Jikernačky		Hmotnost jikernaček (g)	pGSI (%)	Délka intervalu latence	
	injik. (ks)	vytř. (%)			(h)	(h ^o)
Dávka						
Kontrola	5	0	899 \pm 225	0	–	–
Hypofýza 6 mg.kg ⁻¹	5	60	1 014 \pm 265	3,47 \pm 1,90 ^b	21,8 \pm 0,2 ^b	421 \pm 4 ^b
Supergestran – GnRHa						
5 μ g.kg ⁻¹	5	40	906 \pm 101	5,71 \pm 4,00 ^{a,b}	36,1 \pm 0,1 ^a	686 \pm 2 ^a
25 μ g.kg ⁻¹	5	40	934 \pm 306	3,97 \pm 2,60 ^b	38,1 \pm 1,9 ^a	724 \pm 36 ^a
125 μ g.kg ⁻¹	5	80	868 \pm 224	10,54 \pm 4,51 ^a	35,9 \pm 0,1 ^a	683 \pm 2 ^a
Ovopel						
20 μ g GnRHa.kg ⁻¹ + 2 mg MET.kg ⁻¹	5	100	1 080 \pm 360	10,5 \pm 3,6 ^a	36,0 \pm 0,4 ^a	684 \pm 5 ^a
Dagin						
10 μ g GnRHa.kg ⁻¹ + 20 mg MET.kg ⁻¹	6	100	1 140 \pm 370	10,8 \pm 2,6 ^a	36,1 \pm 0,4 ^a	688 \pm 6 ^a

Vysvětlivka: MET – metoklopramid; písmena^{a,b} – označují v daném sloupci statistické rozdíly v daném parametru výtěru mezi různými hormonálními ošetřeními ($p \leq 0,05$).

Tab. 15. Závislost délky intervalu latence na teplotě vody u jikernaček parmy obecné (*Barbus barbus*) při použití hormonální indukce ovulace pomocí jednorázového podání přípravků Dagin, Ovopel nebo Supergestran.

Teplota (°C)	15	16	17	18	19	20
Délka intervalu latence (h)	42	40	38	37	36	34

Vysvětlivka: **Tučně** jsou vyznačeny doporučené optimální hodnoty teploty vody pro výtěr parmy obecné.

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU



Obr. 29. Umělý výtěř jikernačky parmy obecné (*Barbus barbus*) (Foto: T. Polícar).

Po získání jiker (Obr. 29) a spermií je nutné gamety smíchat a provést umělé osemenění jiker. Pro efektivní oplození jiker je doporučováno použít 0,4 ml spermatu na 1 000 ks (cca 10 gramů) jiker (Polícar a kol., 2009a). Po přidání spermatu k vytřeným jikrám je důležité jikry a sperma vzájemně promíchat a teprve potom přilít vodu o stejné teplotě, ve které byly drženy vytírané generační ryby (většinou 18 °C). Po smíchání spermií, jiker a vody je nutné směs pohlavních produktů s vodou míchat po dobu cca 1–3 minut. Po promíchání se nechávají oplodněné jikry 2–3 minuty v klidu. Následně se několikrát promyjí vodou za účelem odstranění lepkavosti jiker, přebytečného spermatu a ovariální tekutiny. Jestliže jikry po výtěru obsahují velké množství ovariální tekutiny, je doporučováno tuto tekutinu před oplozením jiker odstát injekční stříkačkou s jehlou. Tímto zásahem je možné předejít slepení oplozených jiker a vážným problémům při omývání jiker před jejich inkubací. Poté se oplozené a propláchnuté jikry nasazují k umělé inkubaci (Polícar a kol., 2009a). Oplozenost jiker od generačních ryb chovaných v intenzivní akvakultuře se pohybuje od 18,5–72,5 %. U divokých palem je zjišťována vyšší oplozenost jiker na úrovni od 75,0 % do 100 % (Polícar a kol., 2009a).

Oplodněné jikry jsou nasazovány do Zugských lahví o objemu 10 litrů (Obr. 30; Kouřil a kol., 1988; Polícar a kol., 2007). Doporučuje se nasazovat na jednu láhev 50 000–120 000 jiker, což představuje 0,4–1 litr jiker. Optimální teplota vody při inkubaci je 17–18 °C. Průtok vody v lahvích se udržuje v rozmezí 1,5–2 l.min⁻¹ (Krupka, 1987).



Obr. 30. Inkubace jiker parmy obecné v Zugské lahvi (Foto: T. Polícar).

4.6.8. Bolen dravý (*Aspius aspius*)

Generační ryby bolena dravého (Obr. 31 a 32) se v období těsně před výtěrem odlovují v řekách, obvykle blízko jejich ústí do údolních nádrží (Vostradovký a Váša, 1981) nebo přímo na trdlišťích, případně se získávají z rybníků, ve kterých jsou dlouhodobě chovány s dostatkem potravních ryb vhodné velikosti. Pohlavní zralosti dosahují jikernačky bolena dravého ve věku 4 let a mlíčáci o rok dříve. Při dosažení teploty vody 7 °C se generační ryby vyznačují reprodukčním tahem do přítoků či na trdlišťe, kdy nejprve migrují mlíčáci a později jikernačky. Generační ryby se v řece odlovují zpravidla elektrickým agregátem. V případě, že se generační ryby chovají v rybníce, načasuje se jejich výlov podle teploty vody tak, aby k němu došlo při teplotě do 6–7 °C. V případě, kdy jsou generační ryby loveny na trdlišťi v řece, někdy část jikernaček již spontánně ovuluje. Roztříděné odlovené ryby jsou potom zpravidla bez delší prodlevy uměle vytírány (v anestezii pomocí hřebíčkového oleje s dávkou 0,03 ml.l⁻¹) a vypouštěny zpět do toku či údolní nádrže. Jikernačky, které jsou připravené k výtěru, ale nebyla u nich zjištěna spontánní ovulace, se zpravidla neprodleně převážejí na rybí líheň, kde se umísťují do průtočných dobře zakrytých žlabů. Současně se na líheň do samostatných žlabů umísťují i mlíčáci pro následný umělý výtěr. Zpravidla u poloviny jikernaček, které se dopraví na rybí líheň, dojde při teplotě vody 7–10 °C během následujících 1–2 dnů k dosažení spontánní ovulace a jsou poté uměle vytírány bez nutnosti používat hormonální stimulaci. Jikernačky bolenu vylovených z rybníka zpravidla jikry spontánně neovulují. Po převezení na líheň se u nich provádí hormonální indukce ovulace. Podobně je nutné postupovat i u jikernaček

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

bolenů nalovených v řece, které nedosáhly spontánní ovulace. U mlíčáků bolena dravého jak původem z řeky, tak i z rybníků se hormonální stimulace neprovádí vzhledem k dostatku spontánně uvolňovaného spermatu odpovídající kvality.



Obr. 31. Biometrie a hormonální injekce jikernačky bolena dravého (*Aspius aspius*) (Foto: J. Kouřil).

Bolen patří mezi druhy ryb, u kterých lze k dosažení ovulace jiker u jikernaček použít několik různých hormonálních prostředků v jedné dávce, které obsahují buďto přirozené gonadotropiny (kapří hypofýza) nebo GnRHa (Supergestran) či GnRHa kombinovaný s metoklopramidem (Ovopel a Dagin). Jak je patrné z Tab. 16, nejlépe se osvědčilo použití kapří hypofýzy a přípravku Dagin, kdy ovulovalo 100% jikernaček oproti přípravkům Ovopel a Supergestran, u kterých ovulovalo pouze 60% generačních jikernaček. Druh použitého hormonálního přípravku neměl vliv na relativní hmotnost vytřených jiker. Délka intervalu latence je mírně delší v případě použití přípravků, které obsahují GnRHa s či bez metoklopramidu (41,8–43,4 h) oproti použití kapří hypofýzy (39,0 h). Generační ryby snázejí realizaci umělého výtěru (Obr. 33) velmi dobře a nevykazují v následujícím povýtěrovém období zvýšenou mortalitu (Kouřil a Podhorec, 2018).

Tab. 16. Umělý výtěr jikernaček bolena dravého (*Aspius aspius*) původem z rybníčního chovu hormonálně stimulovaného pomocí jednorázového podání kapří hypofýzy ($4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) a přípravků Ovopel ($20 \mu\text{g GnRH} \cdot \text{kg}^{-1} + 2 \text{ mg metoklopramidu} \cdot \text{kg}^{-1}$), Dagin ($10 \mu\text{g GnRH} \cdot \text{kg}^{-1} + 20 \text{ mg metoklopramidu} \cdot \text{kg}^{-1}$) a Supergestran ($25 \mu\text{g GnRH} \cdot \text{kg}^{-1}$) při teplotě $7,5\text{--}9,1 \text{ }^\circ\text{C}$ (průměr \pm SD) a jeho parametry.

Přípravek	Jikernačky		Hmotnost jikernaček (g)	pGSI (%)	Délka intervalu latence	
	injik (ks)	vytř. (%)			(h)	(h ^o)
Hypofýza	5	100	$1\,949 \pm 269$	$7,25 \pm 2,19^a$	$39,0 \pm 1,2^a$	$314 \pm 9,7^a$
Ovopel	5	60	$1\,680 \pm 304$	$5,45 \pm 1,18^a$	$42,0 \pm 0,7^b$	$340 \pm 5,7^b$
Dagin	5	100	$1\,704 \pm 173$	$5,50 \pm 1,51^a$	$43,4 \pm 1,7^b$	$352 \pm 13,8^b$
Supergestran	5	60	$1\,704 \pm 469$	$7,44 \pm 1,64^a$	$41,8 \pm 0,4^b$	$339 \pm 3,2^b$
Kontrola (bez hormonálního ošetření)	5	0	$2\,030 \pm 272$	-	-	-

Vysvětlivka: písmena^{a,b} – označují v konkrétním sloupci statistické rozdíly daného parametru výtěru mezi různými hormonálními ošetřeními ($p \leq 0,05$).



Obr. 32. Jikernačka bolena dravého (*Aspius aspius*) před umělým výtěrem (Foto: J. Kouřil).



Obr. 33. Umělý výtěr jikernačky bolena dravého (*Aspius aspius*) (Foto: J. Kouřil).

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

Absolutní plodnost jikernaček bolena dravého se pohybuje v rozpětí u mladších ryb (1,5 až 2kilových ryb) 45–70 000 ks jiker. U starších jedinců o kusové hmotnosti 3,83–5,30 kg se pak absolutní plodnost pohybuje v rozpětí až 180–440 000 ks jiker na jednu jikernačku (Vostradovský a Váša, 1981). Kouřil a Přikryl (1988) a Kouřil a kol. (1992) zjistili rozpětí absolutní plodnosti jikernaček 24 900–220 800 ks jiker. Ve všech uvedených případech se jedná o hodnoty zjištěné u různých populací uměle vytíraných ryb, původem z přítoku do údolní nádrže Švihov.

Jikry bolena dravého se vytírají obvyklým způsobem do větších misek, zpravidla několik jikernaček do jedné misky. Následně se přímo na jikry vytírají mlíčáci. Po jejich výtěru se směs pohlavních produktů zamíchá a zalije oplozovací roztokem. Jako oplozovací roztok se používá roztok 21 g NaCl a 45 g močoviny ve 3 litrech vody (modifikovaný Woynarovichův oplozovací roztok). V oplozovacím roztoku, se po zamíchání ponechají jikry po dobu 2 minut. Poté se přistupuje k jejich odlepkování.

Jikry bolena jsou po oplození a nabobtnání značně lepivé, k jejich odlepkování se musí používat odlepkovací směsi, aby mohly být jikry úspěšně inkubovány obvyklým způsobem v inkubačních Zugských lahvích. Původně byla k odlepkování používána metoda založená na ředěném kravském mléce (v poměru 1 objemový díl mléka: 3 díly vody). Avšak tato metoda vyžadovala dlouhodobé odlepkování (i několik hodin) a finálně se ukázala jako málo efektivní. Zkoušeny proto byly i jiné metody, při nichž byl vedle mléka použit i přídavek manganistanu draselného (v několika modifikacích) a suspense jílu (Pfaa a kol., 2012). Za nejjednodušší a nejhodnější metodu odlepkování jiker bolena dravého lze považovat použití suspense talku v koncentraci 100 g na 10 litrů vody (Pfaa a kol., 2012). Délka odlepkování při této metodě je cca 2 hodiny. V průběhu odlepkování je potřeba několikrát vyměnit odlepkovací suspenzi a neustálým mícháním zabezpečit, aby nedošlo k přidružení jiker vlivem husté suspence bez obsahu rozpuštěného kyslíku. Po ukončení odlepkování a umístění jiker do inkubačních lahví je potřeba určitou dobu (cca 4 hodiny) udržovat zvýšený průtok vody inkubačními lahvemi, aby došlo k odplavení nadbytečných částecek talku.

4.6.9. Podoustev říční (*Vimba vimba*)

K umělému výtěru lze použít buďto generační ryby, které se v předvýtěrovém období odlovují přímo z tekoucích vod na trdlišti nebo z menších odchovných zemních či písčitých rybníků. Generační ryby podoustve říční je možné také chovat v kontrolovaných podmínkách RAS. Avšak tato metoda se u podoustve příliš nevyužívá, jelikož rybníční podmínky tomuto druhu poměrně vyhovují,

a proto není nutné podoustev říční v RAS provozech chovat, jako je tomu třeba pamy obecné.

U podoustve říční se v období výtěru projevuje výrazný pohlavní dimorfismus. Vedle rozdílného zbarvení je u mlíčáků možné rozpoznat třecí vyrážku v podobě drobných bělavých výrůstků na hlavě, horní části žaberních víček a též na vnitřní straně paprsků párových ploutví. V našich klimatických podmínkách mlíčáci pohlavně dospívají ve věku 2–3 let a jikernačky o rok později ve věku 3–4 let. V přirozených podmínkách termín výtěru podoustve říční nastává od konce dubna do začátku června, při teplotě vody 12–13 °C. Za optimální teplotu vody pro její výtěr je považováno rozpětí 16–20 °C (Hamáčková a kol., 2008b).



Obr. 34. Umělý výtěr jikernačky podoustve říční (*Vimba vimba*) (Foto: P. Lepič).

Na základě výsledků Kouřila a Bartha (2002), Watzeka (2010) a provozně realizovaných výtěrů u podoustve říční (Obr. 34) na FROV JU je možno doporučit k hormonální indukci ovulace jikernaček u tohoto druhu čtyři způsoby injekčního intramuskulárního podání v podobě: kapří hypofýzy v jedné ($2,6 \text{ mg.kg}^{-1}$) nebo ve dvou dílčích dávkách ($0,3 + 1 \text{ mg.kg}^{-1}$) nebo přípravku obsahujícího exkluzivně GnRHa ve výši $50 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$ (Supergestran) nebo přípravku s kombinací GnRHa s metoklopramidem (Ovopel) v dávce 2 pelety na 1 kg ryb, což odpovídá dávce $40 \text{ } \mu\text{g GnRHa.kg}^{-1} + 4 \text{ mg metoklopramid.kg}^{-1}$. Při indukci ovulace jikernaček kapří hypofýzou a přípravkem Supergestran dochází k úspěšnému výtěru u 80 % jikernaček. Ovšem přípravek Ovopel vykazuje nižší účinnost výtěru pouze u 20 % injikovaných jikernaček. Úplně za nevhodný přípravek pro indukci ovulace jikernaček podoustve říční byl označen přípravek Chorulon obsahující chorionový gonadotropin. Po tomto ošetření nedošlo u žádné jikernačky podoustve říční k úspěšnému výtěru.

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

Jednotlivá hormonální ošetření indukce ovulace u podoustve říční nemají vliv na množství a hmotnost uvolněných a ovulovaných jiker, které tvoří 7–13% z celkové hmotnosti těla vytíraných ryb. Při teplotě 19 °C lze očekávat délku intervalu latence na úrovni 15–19 hodin při použití kapří hypofýzy a na úrovni 30–40 hodin při použití dalších uvedených hormonálních přípravků, jako je Ovopel a Supergestran (Tab. 17). Průměrná velikost vytřených neoplozených jiker je poměrně rozkolísaná a pohybuje od 0,6 do 2,0 mm.

Tab. 17. Umělý výtěr jikernaček podoustve říční indukovaný pomocí kapří hypofýzy podávané v jedné (2,6 mg.kg⁻¹), ve dvou dávkách (0,3 + 1,0 mg.kg⁻¹) či během jednorázového podání přípravku Ovopel (2 pelety na 1kg ryb, což odpovídá dávce 40 µg GnRHa.kg⁻¹ + 4mg metoklopramidu.kg⁻¹), Supergestran (25 µg.kg⁻¹) a Chorulon (500 IU.kg⁻¹) při teplotě 19 °C (průměr ± SD) a jeho parametry.

Přípravek	Jikernačky		Hmotnost jikernaček (g)	pGSI (%)	Délka intervalu latence	
	injik. (ks)	vytř. (%)			(h)	(h°)
Kapří hypofýza (0,3 + 1 mg.kg⁻¹)	5	80	410 ± 103	9,8 ± 2,5	15	285
Kapří hypofýza (2,6 mg.kg⁻¹)	10	80	92,7 ± 44,5	10,43 ± 2,5	19,1	315
Ovopel	5	20	300 ± 113	11,1 ± 2,3	32	608
Supergestran	5	80	438 ± 123	10,3 ± 2,0	30–40	570–760
Chorulon	5	0	–	–	–	–

Vysvětlivka: IU – mezinárodní jednotky.



Obr. 35. Vytěr mlíčáka podoustve říční (*Vimba vimba*) přímo na dřívě vytřené jikry v misce (Foto: P. Lepič).

Mlíčáky podoustve říční většinou není nutno injikovat hormonálními přípravky, jelikož u těchto ryb dochází k dostatečnému spontánním uvolňování spermatu. Ve výtěrovém období lze od anestetizovaných mlíčáků o kusové hmotnosti 500 g odebrat sperma při masáži boků a břišní partie o objemu 10–20 ml.ks⁻¹. Sperma lze vytírat buď přímo na vytěžené jikry v miskách (Obr. 35), nebo ho odsát injekční stříkačkou a následně ho použít k osemenění předem získaných jiker. Po smíchání samičích i samčích gamet a přidání vody z líhne cca 1 cm nad jikry dojde v průběhu 2–3 minut k oplození jiker. Poté se provede odlepkování oplozených jiker pomocí suspenze talku v koncentraci přibližně 50–100 g.l⁻¹. Odlepkované jikry se nasazují na inkubaci do skleněných 10litrových Zugských lahví.

4.6.10. Sumec velký (*Silurus glanis*)

Sumec velký je významný produkční druh. Chová se jako hlavní druh v intenzivní akvakultuře využívající RAS technologii nebo jako doplňkový druh ve velkých rybnících v polykulturní obsádce, kde hlavní produkovanou rybou je tržní kapr obecný. Z těchto rybníků jsou remontní či generační ryby v průběhu výlovu vybírány a nasazovány do menších rybníků (kolem 0,5 hektarů) s dostatkem potravních ryb (10–15 kg krmných ryb na jeden kus sumce). V takovýchto rybnících se generační ryby v hustotě 50–150 ks.ha⁻¹ při kusové hmotnosti 5–6 kg chovají většinou v monokultuře do vlastního předvýtěrového období (duben). V dubnu se rybníky s generačními sumci sloví a dojde k selekci vhodných ryb na výtěr a rozdělení ryb podle pohlaví. Určení pohlaví se u sumce velkého provádí podle tvaru pohlavní papily (u jikernaček je rozšířená s větším otvorem, u mlíčáků protáhlá s výrazně menším otvorem (Obr. 36). U jikernaček je vhodné posoudit naplněnost břišních partií ve svislé poloze, kdy je anestetizovaná ryba držena chovatelem a visí směrem dolů. Pokud jsou patrná plná ovaria, takové jikernačky jsou dostatečně připravené k výtěru (Kouřil a kol., 2011). Vybrané ryby jsou do výtěru chovány v menších zemních rybnících či sádkách. Opět je velmi důležité sumcům nabídnout dostatek krmných ryb (Regenda, 2016). Při jakékoliv větší manipulaci je nutné u generačních sumců provést anestezii ve velkých nádržích či kádích (Obr. 37). Nejběžnější používanými přípravky jsou 2-phenoxyethanol v dávce 0,4 ml.l⁻¹ a hřebíčkový olej v dávce 0,05–0,06 ml.l⁻¹ (Regenda, 2016).

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU



Obr. 36. Rozlišení pohlaví u sumce velkého (*Silurus glanis*) podle pohlavní papily: mlíčák nahoře a jikernačka dole (Foto: J. Kouřil).

Mlíčáci sumce velkého pohlavně dospívají ve třetím roce a jikernačky v roce čtvrtém. K reprodukci se obecně používají ryby starší ve věku 5–7 let o hmotnosti do 10 kg. Výtěr či jiná manipulace, např. vážení (Obr. 37), u větších ryb jsou poměrně komplikované z důvodu jejich agresivního chování a složité manipulace s rybami. K finálnímu dozrávání gonád a pohlavních gamet dochází v podmínkách zvyšující se teploty vody a prodlužující se délky světelného dne. Optimální teplotou pro výtěr sumce velkého je teplota 20–25 °C a k přirozenému výtěru v podmínkách ČR dochází na konci května – v průběhu června. Výtěr je jednorázový, trvá několik hodin a většinou probíhá ve večerních či nočních hodinách (Linhart a kol., 2001; Kouřil a kol., 2011; Regenda, 2016).



Obr. 37. Anestetizovaní generační sumci velcí (*Silurus glanis*) a jejich následné vážení (Foto: J. Kouřil).

U sumce velkého se ještě v 70.–80. letech minulého století praktikoval poloumělý výtěr na předem připravená hnízda, který probíhal individuálně nebo skupinově v sádkách či větších rybnících, buď bez hormonální indukce ovulace nebo později s použitím hormonálního ošetření ryb kapří hypofýzou.

V současnosti se tento způsob výtěru téměř vůbec nepoužívá a byl nahrazen umělým výtěrem ryb s použitím hormonální indukce ovulace pomocí kapří hypofýzy ve dvou dílčích dávkách (1 + 3–4 mg.kg⁻¹; Kouřil a kol., 1981; Kouřil a Hamáčková, 1982). Později bylo ověřeno, že pro stimulaci umělého výtěru tohoto druhu postačuje jen jedna dávka (5 mg.kg⁻¹; Linhart a kol., 2001). Generační ryby se v tomto případě jednotlivě nasazují do rybích líhní do samostatných nádrží o objemu minimálně 500 litrů nebo do mříží spolehlivě rozdělených betonových nádrží či žlabů (Obr. 38). Hormonální ošetření se provádí v anestézii, zpravidla intramuskulárně do hřbetní svaloviny (Obr. 38).



Obr. 38. Intramuskulární injekce anestezizované jikernačky sumce velkého (*Silurus glanis*) a její individuální umístění v mřížemi oddělených částech betonové nádrže (Foto: J. Kouřil).

Na základě výsledků četných experimentů byly pro efektivní realizaci umělého výtěru sumce velkého úspěšně otestovány přípravky obsahující GnRHa s či bez metoklopramidu, jako je: Supergestran (v dávce 25 µg GnRHa.kg⁻¹), Ovopel (v dávce jedna peleta na jeden kilogram hmotnosti, což odpovídá 20 µg GnRHa.kg⁻¹ + 2 mg metoklopramidu.kg⁻¹), Dagin v dávce (v dávce 10 µg GnRHa.kg⁻¹ + 20 mg metoklopramidu.kg⁻¹). Současně bylo zjištěno, že i snížená jednorázová aplikace kapří hypofýzy v dávce 2–3 mg.kg⁻¹ je u indukce ovulace sumce velkého efektivním ošetřením, které lze v praxi použít. Úspěšnost použití přípravků Supergestran, Ovopel, Dagin a snížené jednorázové dávky kapří hypofýzy je přibližně rovnocenná jako u dvoudávkového ošetření kapří hypofýzou. Efektivita se zde pohybuje od 70 do 90 % úspěšně ovulujících jikernaček s relativní pracovní plodností 8–25 000 ks jiker.kg⁻¹ při délce intervalu latence 28–42 hodin (Tab. 18; Kouřil a kol., 1981, 1987, 1996; Kouřil a Hamáčková, 1982; Kouřil a kol., 2011). K injekci mlíčáků se používají podobné hormonální preparáty a jejich dávky jako u jikernaček (Linhart a kol., 2001; Kouřil a kol., 2011; Regenda, 2016).

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

Ovulaci jikernaček je zapotřebí kontrolovat v kratších intervalech na konci období latence (Obr. 39), abychom tak zabránili přezrání jiker v těle jikernačky. Po identifikaci ovulace je nutné u jikernačky provést anestezii a následně realizovat jemnou a šetrnou masáž břišních partií, která pomůže uvolnit ovulované jikry. Realizace masáže je poměrně náročná a zdlouhavá práce, jelikož jikry nejsou lehce samovolně uvolňovány jako u jiných druhů ryb.

Tab. 18. Závislost délky intervalu latence na teplotě vody u jikernaček sumce velkého (*Silurus glanis*) při použití hormonální indukce ovulace pomocí jednorázového podání kapří hypofýzy a přípravků Ovopel nebo Supergestran.

Teplota (°C)	19	20	21	22	23	24	25	26
Délka intervalu latence (h)	46	42	38	35	32	30	28	26

Vysvětlivka: **Tučně** jsou vyznačeny doporučené optimální hodnoty teploty vody pro výtěr sumce velkého.



Obr. 39. Umělý výtěr jikernačky sumce velkého (*Silurus glanis*) a následná inkubace oplozených jiker v Zugské lahvi (Foto: J. Kouřil).

Několik hodin či dokonce jeden den před výtěrem jikernaček je vhodné vytírat mlíčáky, a získat tak sperma potřebné na oplození jiker. Podobně jako je tomu u jikernaček není výtěr mlíčáků úplně snadný a jedná se o poměrně fyzicky náročnou část výtěru, která trvá u jedné ryby až 10 minut. Při umělém výtěru mlíčáků se osvědčilo provádět výtěr v anestezii v poloze břichem vzhůru, přičemž ocas je stočen ke hřbetní partii ryby, která je v této poloze dostatečně fixována na navlhčených osuškách jedním až dvěma pracovníky v závislosti na velikosti ryby. Další pracovník provádí oběma rukama masáž břišních partií mlíčáka směrem od hlavy k močopohlavní papile. Zpočátku dochází k výtoku pouze moči. Později, jakmile je zjištěn výtok spermatu (opaleskující bíle zakalená tekutina), provede neprodleně další pracovník jeho odsátí pomocí odsávačky nebo větší injekční stříkačky. Vzhledem k snadné aktivaci spermatu sumce velkého kontaminací močí (podobně jako u lína obecného) je nutné při odběru

spermatu použit imobilizační roztok, který byl objeven a zaveden Linhartem a kol. (2001). Při odběru spermatu jsou injekční stříkačky nebo speciální kontejnery pro tkáňové kultury z poloviny naplněny připraveným imobilizačním roztokem. Tento roztok má následující složení: 11,7g NaCl a 3,6g Trisu (organický pufr Tris (hydromethyl) amino methan, používaný v molekulární biologii) rozpuštěné v 1 litru destilované vody, u které se pomocí HCl upravuje její reakce na pH 7,0. Po odběru spermatu a jeho smícháním s imobilizačním roztokem může dojít ke krátkodobému až jednodennímu přechování spermatu v plochých kontejnerech pro tkáňové kultury tak, aby objem vzduchu a celkové tekutiny byl minimálně 10 : 1), kvůli zabezpečení dostatečné respirace. Zmíněné kontejnery se umísťují do chladničky při teplotě + 5 °C nebo do termoboxu s odpovídající teplotou, udržovanou chladicími vložkami nebo ledem. Sperma je možno takto přechovávat jeden den i déle (Linhart a kol., 2001).

Při osemeňování jiker sumce se používá dávka 2ml směsi spermatu a imobilizačního roztoku na 100g jiker. K aktivaci 100 gramů jiker se používá 50ml aktivačního roztoku, který se připraví smícháním 1g NaCl a 0,6g Trisu v jednom litru destilované vody s upraveným pH na hodnotu 8 pomocí HCl. Případně místo aktivačního roztoku lze použít i místní vodu z líhně. Směs jiker, spermatu a aktivačního roztoku se následně mírně promíchá. Po 2 minutách se přidává na 100g jiker dalších 25ml aktivačního roztoku. Za 5 minut od zahájení aktivace se začne s odlepkováním jiker.

K odlepkování jiker se používá roztok enzymu alkaláza, který se připraví smícháním enzymu alkalázy s 980ml vody z líhně. Jako enzym alkaláza se používá stejný přípravek, jaký je popsán u lína obecného, včetně potřeby výpočtu potřebné koncentrace v závislosti na použité šarži enzymu alkalázy. Odlepkování jiker se provádí za pomalého míchání při teplotě 20 °C po dobu 2 minut tak, že na 100 gramů jiker se použije 100ml roztoku enzymu alkalázy. Po 2 minutách se odlepkovací roztok slijí, jikry se opakovaně propláchnou vodou z líhně a vysadí do Zugských inkubačních lahví (Obr. 39).

4.6.11. Keříčkovec červenolemý – sumeček africký (*Clarias gariepinus*)

Keříčkovec červenolemý se v současné době v ČR stává stále více chovaným a produkovaným druhem v rámci intenzivní akvakultury využívající RAS technologii. Současná roční produkce tržních ryb v ČR u tohoto druhu dosahuje úrovně 100–130 tun.

U tohoto nepůvodního tropického druhu není nutné používat jakýkoliv speciální teplotní či světelný režim pro stimulaci vývoje gonád a dozrávání gamet. Tomuto druhu pro přípravu na výtěr vyhovuje stabilní teplota vody mezi 23–25 °C s konstantním světelným režimem kolem 8–12 hodin světla

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

s jeho nižší intenzitou nebo šerem. V takovýchto podmínkách generační ryby tohoto druhu dosahují pohlavní dospělosti u jikernaček ve věku 6–7 měsíců a u mličáků ve věku 1–2 roky. Optimálně se k reprodukci využívají generační ryby ve věku 1–3 roků s kusovou hmotností 2–6 kilogramů.

K hormonální stimulaci se přistupuje jen u generačních jikernaček. Dosud byla k indukci ovulace jikernaček využívána kapří hypofýza podávaná v jedné dávce 2–3 mg.kg⁻¹ (Adamek, 2001; Hamáčková a kol., 2007). U mličáků se hormonální stimulace vedoucí k uvolňování spermatu neprovádí, jelikož mličáci chováni v kontrolovaných podmínkách neuvolňují sperma. Takovýto mličáci se musí usmrtit s cílem získat testikulární (vypreparované) sperma, kterým se oplodňují vytřené jikry. Podrobný popis umělé reprodukce a intenzivního chovu keříčkovce červenolemého je uveden v metodikách Adamka (2001), Hamáčkové a kol. (2007) a Kouřila a kol. (2013).

Současné inovace v řízení reprodukci sumečka afrického, které pocházejí z provozních experimentů realizovaných autory této publikace, jsou popsány níže s cílem zefektivnit reprodukci tohoto druhu a nahradit používání kapří hypofýzy. Bylo potvrzeno, že při hormonální indukci ovulace jikernaček lze efektivně nahradit kapří hypofýzu jednorázovou aplikací přípravku Ovopel v dávce jedna peleta na 1 kg hmotnosti jikernačky (20 µg GnRHa.kg⁻¹ + 2 mg metoklopramid.kg⁻¹). Hormonální ošetření se aplikuje nejlépe intraperitoneálně k bázi břišní ploutve s cílem zamezit ztrátě používaného hormonálního prostředku (Obr. 40). Hormonálně ošetřené jikernačky je nutné v průběhu období latence přechovávat separovaně v individuálních a dobře zakrytých nádržích. V opačném případě hrozí únik ryb z nádrží, pokousání, povrchové poranění či dokonce usmrcení některých jikernaček z důvodu velmi agresivního chování hormonálně ošetřených ryb. Někdy se toto agresivní chování jikernaček může objevit i po jejich výtěru. V tomto případě je nutné jikernačky také držet několik dní odděleně. Při zmíněné hormonální stimulaci umělého výtěru lze očekávat 75–100% úspěšnost ovulace u ošetřovaných jikernaček (Obr. 41). U sumečka afrického lze pozorovat vysokou synchronizaci výtěru, tzn., že variabilita délky intervalu latence je velmi nízká. V praxi tak dochází jen k nepatrnému odchýlení od hodnot, které jsou uvedené v Tab. 19.



Obr. 40. Intraperitoneální injekce k bázi břišní ploutve u keříčkovce červenolemého (*Clarias gariepinus*) (Foto: J. Matoušek).

Tab. 19. Závislost délky intervalu latence na teplotě vody u jikernaček keříčkovce červenolemého (*Clarias gariepinus*) při použití hormonální indukce ovulace pomocí jednorázového podání přípravku Ovopel v dávce jedna peleta na 1 kg hmotnosti jikernačky ($20 \mu\text{g GnRH}\cdot\text{kg}^{-1} + 2 \text{mg metoklopramidu}\cdot\text{kg}^{-1}$).

Teplota (°C)	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Délka období latence (h)	25	20	18	16	15	14	13	12	11	10	9

Vysvětlivka: **Tučně** jsou vyznačeny doporučené optimální hodnoty teploty vody pro výtěr keříčkovce červenolemého.



Obr. 41. Umělý výtěr jikernačky keříčkovce červenolemého (*Clarias gariepinus*) (Foto: J. Matoušek).

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

Jak již bylo uvedeno, pro oplození získaných jiker se používá tzv. testikulární sperma, které se odebírá ze zabitých mlíčáků (Hamáčková a kol., 2007; Kouřil a kol., 2013). Mlíčáci se odlovují a následně zabíjejí těsně před předpokládaným časem dosažení ovulace jikernaček a jejich umělým výtěrem. Poté se pomocí chirurgických nerezových nůžek vyjmou celé gonády – varlata (Obr. 42) tak, aby nedošlo k jejich kontaminaci vodou ani krví. Opatrně vyjmuté gonády (Obr. 43) se osuší na filtračním papíru a položí na čtverec o velikosti cca 25 x 25 cm suchého uhelonu o velikosti ok 0,5–1,0 mm. Následně se gonády při použití suchých nerezových nůžek rozstříhají na cca 1 cm velké kousky (Obr. 44). Tkanina je přitom držena nad skleněnou nebo plastovou miskou, do níž z rozstříhaných gonád sperma volně odkapává. Následně se tkanina s rozstříhanými gonádami stlačuje prsty a získává se další část testikulárního spermatu, která se také nechává odkapávat do misky (Obr. 44). Takto získané sperma lze krátkodobě uchovávat v ledničce při teplotě +5 °C v zakryté nádobě, aby nedošlo k jeho kontaminaci vodou. Prozatím nebyla vypracována spolehlivá metoda, která by umožnila získat spermata od živých mlíčáků.



Obr. 42. Odběr gonád (varlata označených hvězdičkou) z tělní dutiny u mlíčka keříčkovce červenolemého (*Clarias gariepinus*) (Foto: J. Matoušek).



Obr. 43. Vypreparované gonády (varlata) od zabitého mlíčka keříčkovce červenolemého (*Clarias gariepinus*) (Foto: J. Matoušek).



Obr. 44. Získávání testikulárního spermatu u vypreparovaných varlat keříčkovce červenolemého (*Clarias gariepinus*) nastříháním a stlačením přes uhelon (Foto: J. Matoušek).

U sumečka byl vyhodnocen vliv délky uchování neoplozených jiker při různých teplotách prostředí. Optimální teplotou prostředí je 15–30 °C, při které je možné uchovávat neoplozené jikry sumečka afrického 3 hodiny bez negativního vlivu na jejich oplozeníschopnost. Při uchovávání jiker při teplotě 20 °C po dobu 6 hodin dochází ke snížení oplozeníschopnosti o 25 %. Při delším uchovávání jiker se jejich schopnost oplození výrazně snižuje. Při nízkých teplotách prostředí (5 °C), při kterých se uchovávají neoplozené jikry, dochází k výraznému poklesu jejich oplozeníschopnosti již po 1,5 hodině.

Jikry sumečka lze inkubovat bez odlepkování, kdy se jikry inkubují v průtočném žlabu v RAS, do kterého je rozprostřena záclona (či hrubý uhelon) a jikry jsou na ni rovnoměrně rozprostřeny a nalepeny. Jestliže se jikry inkubují v Zugských lahvích, je nutné je odlepkovat mlékem či talkem podobně jako u kapra obecného.

4.6.12. Okoun říční (*Perca fluviatilis*)

Okoun říční se vytírá pro potřeby získání nasadového materiálu do volných vod nebo do intenzivních chovů využívající RAS. Pro dosažení finální zralosti gamet je nutné, aby generační ryby chované v kontrolovaných podmínkách byly vystaveny speciálnímu teplotně-světelnému režimu. Na začátku gametogeneze se snižuje teplota vody na 5–6 °C a světelná perioda na 8 hodin denně. V takovýchto podmínkách jsou generační ryby drženy 4–6 týdnů. Následně se teplota vody zvyšuje až na 12 °C a prodlužuje se světelná perioda na 12 hodin denně (Fontaine a kol., 2015). Generační ryby z rybníčního chovu prochází klasickým přirozeným environmentálním režimem. Mlíčáci pohlavně dospívají ve věku 1–2 roky a jikernačky ve věku 2–3 let (Dubský a kol., 2003;

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

Rougeot a kol., 2008). Takovéto ryby jsou především ve výtěrovém období poměrně náchylné na manipulaci, povrchové zaplísnění a úhyn, který může dosáhnout po výtěru až 85–98% (Polícar a kol., 2008a, 2011b). Jestliže využíváme k produkci generačních ryb intenzivní akvakulturu, lze pohlavně dospělé ryby získat již za 18–20 měsíců (Rougeot a kol., 2008). Tyto ryby se vyznačují vysokou odolností vůči manipulaci, stresu s minimální mortalitou (Polícar a kol., 2009b).

Optimální teplota vody pro výtěr okouna je od 10 do 16 °C (Kouřil a kol., 2002). K přirozenému výtěru ve střední Evropě dochází od začátku dubna (někdy na konci března) až do začátku května, kdy generační jikernačky kladou provazce jiker na různý výtěrový substrát (hlavně makrovegetaci, ponořené větve keřů a stromů), kde je mlíčáci často v hejnu oplozují (Polícar a kol., 2008a, 2009b). Relativní plodnost jikernaček se pohybuje okolo 100 000–160 000, někdy až 300 000 kusů jiker na kg hmotnosti (Kouřil a kol., 2002; Polícar a kol., 2008a, 2011b) a 1 gram vytěřených a neoplozených provazců jiker obsahuje 400–600 kusů jiker (Polícar a kol., 2009b). Pro sperma okouna je typická smetanově bílá barva a silně rozkolísaná koncentrace spermií pohybující se v rozmezí 3,5–44 miliard ks.ml⁻¹ (Polícar a kol., 2009b). Průměrně je možné od jednoho mlíčáka odebrat 0,55–6,8 ml spermatu. Rychlost aktivovaných spermií se pohybuje okolo 115–130 μm.s⁻¹ a jejich pohyblivost se výrazně snižuje již 30 sekund po aktivaci (Alavi a kol., 2007).

K hormonální stimulaci a synchronizaci výtěru generačních ryb okouna (Obr. 45) je možné použít celé řady hormonálních přípravků (Tab. 20). Většinou se stimulují jen jikernačky, jelikož mlíčáci spontánně uvolňují dostatečné množství kvalitního spermatu (Kucharczyk a kol., 1996, 1998a; Alavi a kol., 2010). Před hormonální ošetřením je vhodné u jikernaček zkontrolovat zralost oocytů ve vaječnicích pomocí katetru zavedeného přes papilu. Zarski a kol. (2011a) rozlišuje sedm stadií zralosti oocytů u okouna říčního a doporučuje hormonálně ošetřovat jikernačky, které dosáhly alespoň III. stadia. Při hormonální injekci ryb se vždy používá anestézie většinou v roztoku hřebíčkového oleje v dávce 0,03 ml.l⁻¹ (Polícar a kol., 2009b). Mezi nejpoužívanější hormonální ošetření, které se využívá u okouna říčního, patří kapří hypofýza, choriogonadotropiny (Chorulon) a syntetické analogy GnRH_a v podobě preparátů Supergestran a Dagin (Kucharczyk a kol., 1996; Kouřil a Linhart, 1997; Kouřil a kol., 1997; Kouřil a Hamáčková, 1999; Polícar a kol., 2008a,b,c, 2011b; Zarski a kol., 2011a, b). Doporučené dávky jednotlivých hormonálních přípravků jsou uvedeny v Tab. 20. Jestliže mlíčáci neprodukují dostatečné množství spermatu (většinou u ryb pocházejících z RAS), je doporučováno pro zvýšení produkce použít hormonální stimulaci v podobě menších dávek hormonů, než tomu je u jikernaček, např.: 2 mg.kg⁻¹ kapří hypofýzy nebo 0,5 pelety Ovopelu.kg⁻¹ nebo GnRH_a 25 μg.kg⁻¹, v podobě Supergestranu (Kucharczyk a kol., 2001; Polícar a kol., 2009b).



Obr. 45. Intramuskulární injekce do hřbetní svaloviny u jikernačky okouna říčního (*Perca fluviatilis*) (Foto: T. Policar).

Tab. 20. Nejčastěji používané hormonální přípravky a jejich dávky vhodné k hormonální stimulaci generačních jikernaček okouna říčního (*Perca fluviatilis*).

Přípravek (účinná látka)	Doporučená dávka	Počet dávek	Literární zdroj
Kapří hypofýza	4 mg.kg ⁻¹	1	Kucharczyk a kol. (1996)
Chorulon (hCG)	500 IU.kg ⁻¹	1	Zarski a kol. (2011a); Targońska a kol. (2014)
Supergestran (GnRH_a)	50–100 µg.kg ⁻¹	1	Policar a kol. (2008b,c; 2011b); Kouřil a Hamáčková (1999)
Dagin (GnRH_a + metoklopramid)	12 µg.kg ⁻¹ + 25 mg.kg ⁻¹	1	Policar a kol. (2008b)
Ovopel (GnRH_a + metoklopramid)	0,1+1 peleta.kg ⁻¹ nebo 2 pelety.kg ⁻¹	2 nebo 1	Kucharczyk a kol. (2001); Szczerbowski a kol. (2009)

Použitý hormonální přípravek společně v kombinaci s teplotou vody a způsobem výtěru může do značné míry ovlivnit délku intervalu latence (Policar a kol., 2009b). Obecně lze říci, že vyšší teplota vody délku intervalu latence zkracuje (Kouřil a Linhart, 1997; Kouřil a kol., 1997; Policar a kol., 2008c). Při poloumělém výtěru dochází k ovulaci jikernaček později v porovnání s výtěrem umělým, jak je patrné z Tab. 21 (Kouřil a kol., 1998; Kouřil a Hamáčková, 1999; Policar a kol., 2008c).

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

Tab. 21. Závislost délky intervalu latence na teplotě vody u polouměle a uměle vytíraných jikernaček okouna říčního (*Perca fluviatilis*) při použití hormonální indukce ovulace pomocí jednorázového podání přípravku Supergestran ($100 \mu\text{g GnRH}\cdot\text{kg}^{-1}$).

Teplota (°C)		12	13	14	15	16	17	18
Délka intervalu	poloumělý výtěr (h)	143	125	113	103	94	91	89
latence	umělý výtěr (h)	108	101	96	94	91	89	86

Vysvětlivka: **Tučně** jsou vyznačeny doporučené optimální hodnoty teploty vody pro výtěr okouna říčního.

Z vlastních zkušeností autorů (Kouřil a kol., 2002; Policar a kol., 2009b, 2011b) vyplývá, že hormonálně stimulovaný poloumělý výtěr okouna říčního je velmi efektivní a účinný způsob, jak v relativně krátkém období získat poměrně velké množství kvalitních provazců jiker a následně i embryí. Samotný poloumělý výtěr okouna představuje v podstatě jakousi částečně kontrolovanou dobu přirozeného výtěru v předem připravených a kontrolovaných podmínkách v podobě různě velkých nádrží nebo klecí se stálým průtokem vody. Velmi vhodnou stimulací pro poloumělé výtěry okouna v nádržích je instalace suchých větví z měkkých dřevin (vrba jíva – *Salix caprea* či bez černý – *Sambucus nigra*). Na tyto větve jikernačky zavěšují vytřené jikerné provazce jako na přirozený výtěrový substrát (Obr. 46; Policar a kol., 2011b). Ideální poměr pohlaví nasazených generačních ryb v nádrži je 1 : 1 a v závislosti na jejich velikosti se na 1 m³ vody nasazuje 20–30 párů (Policar a kol., 2009b). Kouřil a kol. (2002) dokonce popisuje hustotu vytíraných generačních ryb na úrovni 50 párů ryb na 1 m³. Při poloumělém výtěru je velmi důležité, většinou v ranních a večerních hodinách, sbírat jikerné provazce z nádrží, aby byly ochráněny před roztrháním a rozmělněním (např. plaváním generačních ryb v nádrži).



Obr. 46. Opložený jikerný provazec na instalovaném výtěrovém substrátu v podobě suché větve (Foto: T. Policar).

Umělý výtěr (Obr. 47) je u okouna říčního v porovnání s poloumělým pracnější a časově náročnější na obsluhu. Je ale zpravidla efektivnější, a to zejména co se týče synchronizace ovulace jiker u jikernaček a možnosti kontroly procesu oplodnění jiker (Policar a kol., 2009b). Na druhé straně je známo, že při umělém výtěru je velmi často, v porovnání s poloumělým, dosahováno nižší oplozenosti jiker (58–68 %, tedy cca o 15–25 % méně), nižší líhivosti embryí (50–55 %, cca o 13–20 % méně; Kayes, 1977; Dabrowski a kol., 1994; Policar a kol., 2008c, 2011b). Při umělém výtěru jsou hormonálně ošetřené jikernačky nasazovány do nádrží v hustotě 40 až 60 ks.m⁻³ a obě pohlaví jsou drženy odděleně od sebe, aby nedocházelo k jejich spontánnímu výtěru (Policar a kol., 2008a, 2011b). Kontrola ovulace jikernaček začíná přibližně 24 hodin po hormonálním ošetření v intervalech 2 až 6 hodin (Policar a kol., 2009b). Nejprve jsou intervaly kontroly delší a následně směrem ke konci období latence se zkracují. Jednotlivé jikry nejsou u okouna na rozdíl od ostatních ryb od sebe odděleny, jelikož jsou již od začátku pevně spojeny do provazců (Kestemont a Mélard, 2000). Z tohoto důvodu je možné jikry z těla jikernačky získat jak klasickou masáží břicha, tak také šetrným vytahováním z papily (Obr. 47, Policar a kol., 2009b).



Obr. 47. Umělý výtěr jikernačky okouna říčního (*Perca fluviatilis*) pomocí vytahování jikerného provazce z papily (Foto: T. Policar).

Sperma u pohlavně dospělých mlíčáků okouna je nejčastěji odebíráno do injekčních stříkaček o objemu 5–10 ml, ve kterých může být při teplotě 2–4 °C dle potřeby krátkodobě uchováno (Obr. 48, Policar a kol., 2011b). Jestliže sperma není kontaminováno močí a krví, může být ve zmíněné teplotě skladováno až po dobu 12 hodin (Policar a kol., 2009b). Pro dosažení optimální pohyblivosti spermií při umělém osemenění jiker je doporučováno sperma odebírat do imobilizačního roztoku obsahujícího 200 mM NaCl, 2,38 mM NaHCO₃ s osmolalitou 380 mOsmol.kg⁻¹ v objemovém poměru 1 : 50

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

(imobilizační roztok ku jikrám). Následně při osemenění jiker se používá aktivační roztok obsahující 2,5mM Ca^{2+} a 50mM K^{+} s osmolalitou 100 mOsmol.kg⁻¹ (Alavi a kol., 2007; Policar a kol., 2008a). Pro oplození 100 g jikerných provazců se doporučuje použít 2ml spermatu. Směs jiker a spermatu se promíchá a následně zalije cca 100–200ml vody z líhně. Směs gamet a vody se ještě pečlivě promíchá a následně ponechá v klidu po dobu 3 minut. Poté se oplozené jikerné provazce opatrně propláchnou vodou a nasadí k inkubaci.



Obr. 48. Odběr spermatu u generačního mlíčáka okouna říčního (*Perca fluviatilis*) (Foto: T. Policar).

Je doporučeno provazce nasazovat a inkubovat ve zvláštním RAS, kde nejsou chovány či vytírány žádné jiné ryby a kde je udržována stabilní teplota a kvalita vody. Většinou se k tomuto účelu používají žlaby s velkou plochou, vybavené speciálními košíčky (Obr. 49). K inkubaci okouních jiker se dají také použít Růckel-Vackovy aparáty, Zugské inkubační lahve či inkubační sila Amur (Kouřil a kol., 2002; Policar a kol., 2009b, 2014).



Obr. 49. Masová inkubace jikerných provazců okouna říčního (*Perca fluviatilis*) v košíčcích ponořených ve vodě v nádrži v rámci RAS (Foto: T. Policar).

4.6.13. Candát obecný (*Sander lucioperca*)

Podobně jako u okouna říčního lze pro potřeby produkce násadových či tržních ryb candáta obecného provádět hormonálně stimulovaný umělý či poloumělý výtěr u generačních ryb pocházejících z rybníčních či intenzivních chovů. Candát pohlavně dospívá v rybníční akvakultuře střední Evropy ve věku 2–3 (mlíčáci) nebo 3–4 let (jikernačky; Ruuhijarvi a Hyvarinen, 1996; Fontaine a kol., 2015). Z intenzivního chovu můžeme získat pohlavně dospělé ryby ve věku dvou let. Obecně platí, že ryby z rybníků jsou podobně jako u okouna citlivější na manipulaci, při které trpí stresem a následně vyšší povýtěrovou mortalitou ve srovnání s rybami pocházejícími z intenzivní akvakultury. Optimální teplota vody pro výtěr candáta je od 12 do 15 °C (Schlumberger a Proteau, 1996; Lappalainen a kol., 2003). Relativní plodnost jikernaček se pohybuje okolo 100 000–200 000 jiker na kilogram a 1 g čerstvě vytřených a nenabobtnalých jiker obsahuje v průměru 1 500–2 000 jiker (Schlumberger a Proteau, 1996; Ronyai, 2007; Policar a kol., 2016). Koncentrace získaných spermií se pohybuje od 15 do 20 miliard ks.ml⁻¹ a rychlost pohybu jednotlivých spermií je v rozmezí 150–220 μm.s⁻¹ (Teletchea a kol., 2009; Křišťan a kol., 2013a; Blecha a kol., 2015). Celková doba pohyblivosti spermií od jejich aktivace je 55–89 sekund (Blecha a kol., 2015).

Aby došlo k finálnímu dozrání gamet u generačních ryb candáta obecného, musí tyto ryby podobně jako u okouna říčního absolvovat speciální enviromentální stimulaci, která je spojena se snižujícím se, nízkým a zvyšujícím se teplotně-světelným režimem (Fontaine a kol., 2015). Před vlastní hormonální stimulací generačních jikernaček se musí přistoupit k ověření zralosti jejich oocytů (Zarski a kol., 2012a,b). To je velmi důležité pro zajištění vysoké kvality ovulovaných jiker a pro vlastní synchronizaci výtěru jikernaček. Tato kontrola je prováděna při celkové anestezii ryb. Následně pomocí speciálního katetru přes močopohlavní papilu ryby je odebrán vzorek neovulovaných oocytů (Obr. 50). Takto odebrané oocyty jsou následně ponořeny do Serrova roztoku (etanol : formaldehyd : kyselina octová v poměru 6 : 3 : 1) a pozorovány pod binolupou (Policar a kol., 2016). Zarski a kol. (2012a,b) uvádí, že je možné u oocytů candáta rozlišit 7 různých stadií zralosti. Na základě zjištění stadia zralosti oocytů je přistoupeno k okamžitému výtěru ryb (stadium VII), k hormonální stimulaci ryb a k následnému výtěru (stadia III–VI), nebo je nutné ještě ryby nechat déle stimulovat okolním prostředím (stadium I–II) s cílem dosáhnout minimálně III. stadia.

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU



Obr. 50. Šetrný odběr oocytů od jikernačky candáta obecného (*Sander lucioperca*) pomocí speciálního plastového katetru (Foto: M. Blecha).

Pro potřeby hormonální stimulace generačních ryb candáta (Obr. 51) je možné použít celou řadu různých účinných látek. Jedná se např. o kapří hypofýzu, lidský chorionový gonadotropin (hCG) v podobě přípravku Chorulon anebo syntetické analogy spouštěcího hormonu gonadotropinu (GnRH_a) v podobě přípravku Supergestran (Demska-Zakes a Zakes, 2002; Ronyai, 2007; Zakes a Demska-Zakes, 2005, 2009; Kříšťan a kol., 2013a; Policar a kol., 2016). V Tab. 22 jsou uvedeny hormonální přípravky s jejich účinnými látkami včetně doporučených dávek, které jsou nejčastěji využívány pro hormonální stimulaci generačních ryb candáta obecného. V současné době je v Evropě nejvíce používán přípravek Chorulon (obsahující hCG), který je podáván v jedné dávce na úrovni 500 IU.kg⁻¹ (Zarski a kol., 2012a,b; Kříšťan a kol., 2013a; Blecha a kol., 2015; Policar a kol., 2016). V případě, že je nutné rozdělit podávané hormonální ošetření do dvou po sobě jdoucích dávek, doporučuje se u přípravku Chorulon v první dávce generačním rybám podat 20–50 % a u ostatních přípravků (Supergestran či Ovopel) pouze 10–20 % z celkové dávky přípravku (Zakes a Demska-Zakes, 2005, 2009). Hormonální ošetření se provádí v anestézii intraperitoneálně do báze břišní ploutve, intramuskulárně do hřbetní svaloviny, nebo perikardiálně. Délka intervalu latence se v případě použití Chorulonu, pohybuje od 10 do 82 hodin (Zakes a Demska-Zakes, 2009; Kříšťan a kol., 2013a; Policar a kol., 2016) a u GnRH_a v podobě přípravku Supergestran od 79 do 89 hodin. Je nutné uvést, že toto období je ovlivněno teplotou vody, při které jsou drženy generační ryby po hormonálním ošetření, podanou dávkou účinné látky a zejména pak stadiem zralosti oocytů v okamžiku aplikace hormonálního přípravku (Zarski a kol., 2012a,b). Úspěšnost ovulace u ošetřovaných jikernaček se pohybuje na úrovni 75–100 % v závislosti na kvalitě používaných ryb.



Obr. 51. Intramuskulární injekce generačních ryb candáta obecného (*Sander lucioperca*) (Foto: T. Policar).

Tab. 22. Nejčastěji používané hormonální přípravky s uvedenými účinnými látkami a jejich doporučenými dávkami, které jsou vhodné k hormonální stimulaci generačních ryb candáta obecného (*Sander lucioperca*).

Hormonální přípravek (účinná látka)	Doporučená dávka	Počet dávek	Literární zdroj
Kapří hypofýza	2,4–5 mg.kg ⁻¹	2	Ronyai (2007); Zakes a Demska-Zakes (2009)
Chorulon nebo Biogonadyl (hCG)	100–700 IU.kg ⁻¹	1–2	Zakes a Demska-Zakes (2005, 2009); Zarski a kol. (2012b); Blecha a kol. (2015); Policar a kol. (2016)
Supergestran (GnRH _a)	25 µg.kg ⁻¹	1	Křišťan a kol. (2013a); Lepič a kol. (2005); Musil a Kouřil (2006)
Ovopel (GnRH _a + metoklopramid)	0,75–1,25 pelety.kg ⁻¹	2	Zakes a Demska-Zakes (2005)

Při poloumělém výtěru se injikované jikernačky umísťují do nádrže společně s mlíčáky (v poměru 1 : 1). Samotný výtěr může probíhat v celé řadě různých nádrží (gumotextilní vaky, žlaby, laminátové či plastové nádrže různých velikostí nebo i sádkách či malých zemních rybníčkách; Obr. 52). V závislosti na velikosti nádrže je do nich umísťován jeden nebo více párů. V každé z nádrží by měl počet hnízd odpovídat počtu nasazených generačních párů tak, aby nedocházelo k zbytečným soubojům mezi mlíčáky o výtěrová hnízda (Steffens a kol., 1996; Schlumberger a Proteau, 1996; Zakes a Demska-Zakes, 2009). U tohoto způsobu se osvědčil tzv. párový výtěr ryb, kdy se jeden pár vysazuje

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

do nádrže (0,5–1 m³) vybavené umělou výtěrovou podložkou (tzv. hnízdem) zhotoveným z rozličných, především umělých materiálů (rohoží, kartáčů či travních koberců; Policar a kol., 2016; Regenda, 2016; Malinovskyi a kol., 2018). U poloumělého výtěru v RAS s následnou inkubací jiker se nedoporučuje pro přípravu umělého hnízda používat dříve preferované přírodní materiály (např. kořínky ostřic, olší či vrb), jelikož tyto materiály nejsou ve vodním prostředí stabilní, mohou podléhat rozkladu. V případě inkubace v uzavřených systémech mohou následně kontaminovat vodu v RAS a celkově zhoršit hygienické podmínky inkubace.



Obr. 52. *Kontrola výtěrového hnízda (je rozeznatelné jako temně zelený čtverec položený na dně sádky) při poloumělém výtěru candáta obecného pomocí tubusu (Foto: J. Kouřil).*

Po vysazení jednotlivých párů do nádrží se ryby ponechají dva dny v daných podmínkách aklimatizovat bez jakékoliv manipulace. Následně se přistupuje k hormonálnímu ošetření ryb obojího pohlaví s cílem synchronizovat výtěr ryb. Hormonální ošetření obojího pohlaví je velmi důležité pro dosažení vyšší oplozenosti jiker a následně pak i vyšší produkce embryí oproti případu, kdy jsou ošetřovány jen jikernačky (Blecha a kol., 2016). Přibližně za dva dny po hormonálním ošetření ryb je nutné začít pravidelně v 6–12hodinových intervalech kontrolovat přítomnost oplozených jiker na umělých výtěrových podložkách. V pozitivním případě, kdy jsou v nádrži identifikovány jikry, je nutné rychle odlovit jikernačku z nádrže (v případě, že se používá k výtěru malá nádrž s jedním párem). Většinou, když jsou ryby v nádrži vytřené, mlíčák hlídá nakladené jikry na umělém hnízdě a jikernačku od něj agresivně odhání. Jikernačka v tomto případě plave velmi často těsně u hladiny a snaží se před mlíčákem uniknout. V případě, že ji z nádrže neodlovíme včas, dokáže ji mlíčák

v rozměrově menších nádržích dokonce i zabít. U poloumělého výtěru byla zjištěna nižší synchronizace termínu výtěru ryb oproti umělému výtěru, kdy se za časový úsek 72 hodin vytřelo 75–88% ryb (Polícar a kol., 2011c) s délkou intervalu latence 92–96 hodin při teplotě vody 14,8 °C (Blecha a kol., 2016). Autoři této publikace doporučují provádět inkubace oplozených a nakladených jiker na hnízdech v nádržích napojených na RAS o objemu 350–1 000 litrů (Obr. 53), kde je vysoká kvalita vody s teplotou $15,0 \pm 1,0$ °C, nasycení vody kyslíkem 100%; pH 6,5–7,0. Je doporučováno nastavit průtok vody nádržemi na úrovni 4–15 l.min⁻¹ v závislosti na velikosti použitých nádržích. Žádoucí je maximální průhlednost vody bez jakýchkoliv hrubých nerozpuštěných nečistot. Přítomnost mlíčka u hnízda není nutnou podmínkou pro úspěšnou inkubaci (Polícar a kol., 2016). V období 24 hodin po zjištěném výtěru je vhodné do celého RAS aplikovat protiplísňovou dlouhodobou koupel jiker v podobě roztoku formaldehydu (38%) v koncentraci 0,015 ml.l⁻¹. Pátý den po zjištěném výtěru ryb jsou mlíčáci z nádržích odlovováni a přemístěni do jiného RAS za účelem jejich povýtěrového ošetření. U nádrží je následně zastaven přítok vody a nádrž se zárodky před vylíhnutím je pouze provzdušňována bez průtoku vody až do vlastního vylíhnutí všech embryí. Výsledkem poloumělého výtěru candáta je velmi dobrá oplozenost jiker ($91,0 \pm 3,8$ %), líhivost embryí ($75,6 \pm 3,0$ %) a výsledná produkce 80 000–90 000 embryí na jeden kilogram generační jikernačky (Polícar a kol., 2016). Výše uvedené údaje se týkají výtěru candáta a inkubace jiker v uzavřených RAS a nádržích o objemu 380–1 000 litrů.



Obr. 53. Inkubace umělých hnízd s jikrami v kontrolovaných podmínkách RAS a detail na jikry, které jsou nalepeny na štětinách na hnízdě (Foto: T. Polícar).

Pro potřeby umělého výtěru musí být použité generační ryby candáta hormonálně stimulovány (Zakes a Szczepkowski, 2004). Snahou je dosáhnout vysoké synchronizace ovulace jiker u jikernaček a soustředit jejich výtěr do krátkého období s cílem zvýšit efektivitu práce na líhních a minimalizovat výskyt spontánních výtěrů. U mlíčků hormonální stimulace vede k vyšší produkci

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

objemu a množství spermatu, což výrazně zlepšuje efektivitu prováděných výtěrů oproti použití hormonálně neošetřených ryb. Po hormonální stimulaci jsou obě pohlaví držena odděleně. Po uplynutí 48 hodin od hormonálního ošetření je u jikernaček přibližně každé dvě hodiny prováděna kontrola ovulace (Policar a kol., 2011c) a následně umělý výtěr (Obr. 54). Tato kontrola je velmi důležitá pro eliminaci ztrát ovulovaných a spontánně uvolněných jiker do vodního prostředí jikernačkou bez možnosti je oplodnit. Pro zamezení spontánní ovulace a potřeby větší synchronizace výtěru je možné přistoupit k zažití močopohlavní papily jikernaček, které je možné potom vytírat i 12–18 hodin od ovulace bez rizika přezrání jiker či snížení jejich životaschopnosti (Samarin a kol., 2015). Ovšem tato technika výrazně zvyšuje povýtěrovou mortalitu ryb a obecně se nedoporučuje. Při použití kvalitních generačních ryb dojde k výtěru pomocí hormonální indukce ovulace u 80–100 % jedinců. Při teplotě vody 13,5 °C byla zjištěna vysoká synchronizace umělého výtěru ryb při hormonální indukci ovulace pomocí přípravku Chorulon, kdy bylo vytřeno 100 % ryb v časovém úseku 16 hodin. Při použití přípravku Supergestran byla zjištěna nižší synchronizace umělého výtěru, kdy bylo 100 % ryb vytřeno během 72 hodin (Policar a kol., 2011c). Závislost délky intervalu latence na teplotě vody a způsobu výtěru při hormonální stimulaci přípravkem Chorulon je patrná z Tab. 23. Obecně je doba intervalu latence u umělého výtěru kratší než u poloumělého podobně jako u okouna říčního. U umělého výtěru byla také stanovena délka intervalu latence v závislosti na použitých generačních jikernačkách s různým stadiem oocytů (Tab. 24; Zarski a kol., 2012a). Obsluha líhně musí u umělého výtěru velmi často kontrolovat ovulaci jiker u generačních jikernaček a manipulovat s nimi i ve večerních a nočních hodinách. Celkově tato zvýšená manipulace s rybami způsobuje vyšší poškození a následnou mortalitu po umělých výtěrech (až 50–100 %) v porovnání s výtěry poloumělými, kde mortalita 14 dní po výtěru dosahuje až 50 % (Policar a kol., 2011c). Pro výrazné snížení povýtěrové mortality na minimum doporučujeme vytřené ryby po výtěru nasazovat do nádrží napojených na RAS s dlouhodobou koupelí (až 6 dní) v soli (NaCl) v koncentraci 2,5–10 g.l⁻¹ (Policar a kol., 2019)).



Obř. 54. Umělý výtěr candáta obecného (*Sander lucioperca*) (Foto: T. Polícar).

Tab. 23. Závislost délky intervalu latence na teplotě vody a způsobu výtěru u jikernaček candáta obecného (*Sander lucioperca*) s oocyty ve III. vývojovém stadiu při použití hormonální indukce ovulace pomocí jednorázového podání přípravku Chorulon.

Teplota (°C)	10	11	12	13	14	15
Umělý výtěr (h)	120 ± 36	105 ± 24	78 ± 20	70 ± 18	68 ± 16	52 ± 8
Poloumělý výtěr (h)	148 ± 34	130 ± 28	115 ± 24	100 ± 20	92 ± 18	78 ± 18

Vysvětlivka: **Tučně** jsou vyznačeny doporučené optimální hodnoty teploty vody pro výtěr candáta (*Sander lucioperca*).

Tab. 24. Závislost délky intervalu latence na použitých jikernačkách s různými stadii oocytů u candáta obecného (*Sander lucioperca*) při teplotě vody 14–15 °C a hormonálním ošetřením přípravkem Chorulon.

Stadia oocytů	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.
Umělý výtěr (h)	115 ± 38	88 ± 20	68 ± 16	54 ± 8	40 ± 8	18 ± 4

Vysvětlivka: **Tučně** jsou vyznačena stadia, která jsou doporučována používat pro hormonální stimulaci výtěru jikernaček candáta obecného (*Sander lucioperca*).

Spermie je možné vytřířit přímo do misky na získané jikry nebo je nejprve odebrat do injekční stříkačky a následně použít na osemenění jiker (Blecha a kol., 2015). Zakes a Demska-Zakes (2005), Zarski a kol. (2015), Kristan a kol. (2018) a autoři této publikace doporučují na osemenění 100g jiker použít 2ml spermatu. Směs jiker a spermatu se následně promíchá a poté se přileje 200ml vody z líhne na 100 g jiker, čímž dojde k aktivaci gamet a oplodnění jiker. Pro zvýšení oplozenosti jiker je možné nejprve zalít vodou neoplozené jikry

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

a po 15 sekundách do směsi jiker a vody přidat spermie. Směs jiker, spermií a vody je nutné řádně promíchat po dobu 15–30 sekund a následně odstavit na 1–2 minuty (Polícar a kol., 2011c). Jikry candáta obecného se po kontaktu s vodou stávají lepivými a je nezbytně nutné do 3–5 minut po jejich oplození začít jejich lepivost eliminovat pomocí aplikace různých odlepkovacích roztoků (Tab. 25), jako je např. alkaláza, proteáza, tanin, směs plnotučného mléka (v poměru 1 dílek mléka a 6–9 dílků vody) a talku nebo suspenze jílu (Schlumberger a Schmidt, 1980; Billard a kol., 1995; Demska-Zakes a kol., 2005; Zakes a kol., 2006; Kristan a kol., 2016). Inkubace jiker probíhá nejčastěji v Zugských lahvích o objemu 10 litrů (Obr. 55) při teplotě vody 15–18 °C s průtokem 5 litrů za minutu (Polícar a kol., 2011c). Obecně je umělý výtěř zatížen nižší oplozeností jiker (72,5%) a nižší líhivostí embryí (60,5%) než u poloumělého výtěru.

Tab. 25. Nejčastěji používané odlepkovací roztoky pro odstraňování lepivosti jiker u candáta obecného (*Sander lucioperca*).

Odlepkovací roztok	Koncentrace	Délka procedury (min)	Literární zdroj
Alkaláza	1,5 ml.l ⁻¹	2	Kristan a kol. (2016)
Proteáza	0,5%	2	Zakes a kol. (2006)
Tanin	0,5–1 g.l ⁻¹	5	Demska-Zakes a kol. (2005)
Talek/chlorid sodný	100 g talku + 25 g NaCl na 10 litrů vody	45–60	Schlumberger a Schmidt (1980)
Talek/plnotučné sušené mléko	100 g talku na 10 litrů vody + 100 g sušeného mléka na 1 litr vody, poměr 1:1	60	Polícar a kol. (2011c); Kristan a kol. (2016)
Plnotučné mléko	1 díl mléka a 6–9 dílů vody	60–90	Zarski a kol. (2015); Samarin a kol. (2015)
Suspenze jílu	20 g.l ⁻¹	60	Zarski a kol. (2015)



Obr. 55. Inkubace oplozených a odlepkovaných jiker v Zugské lahvi u candáta obecného (*Sander lucioperca*) (Foto: T. Polícar).

4.6.14. Mník jednovousý (*Lota lota*)

Mník jednovousý se rozmnožuje s cílem produkovat embrya a následně larvy, které se nasazují do rybníků k dalšímu chovu. Tento chov je většinou ukončen v podobě rychleného či podzimního plůdku. Takovýto plůdek se používá na vysazení do volných vod nebo k adaptaci na peletovaná krmiva v RAS (Křišťan a kol., 2014; Profant, 2020). Největším producentem embryí mníka jednovouseho v České republice je v současnosti rybí líheň Národního parku Šumava.

Reprodukční biologii mníka jednovouseho popsali Muth a Smith (1974), Müller (1960) a Prokeš a kol. (1986). U jikernaček dochází k intenzivnímu vývoji oocytů ve vaječnících v průběhu podzimního období až do začátku zimy (od září – října do období reprodukce, která probíhá v prosinci až lednu). Na konci prosince dochází k finálnímu dozrávání gamet při teplotě vody pod 5 °C a zkráceném denním světle na 7,5–8 hodin. V tomto období gonadosomatický index dosahuje 16–26 % a vaječníky v tomto období zaplňují podstatnou část břišní dutiny jikernaček (Křišťan a kol., 2014).

Manipulace s generačními rybami, jako je třídění, selekce, individuální vážení, injekce hormonálních přípravků a zejména umělý výtěr, se provádí v anestezii

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

po 5–10minutové expozici v roztoku hřebíčkového oleje o dávce $0,03 \text{ ml.l}^{-1}$. Mník jednovousý je k anestetiku velice citlivý, proto je důležité dodržovat tuto doporučenou dávku a čas expozice (Kříšťan a kol., 2014). Generační ryby potencionálně určené k výtěru se loví před vánočními svátky z menších rybníků s dostatkem potravních ryb a nasazují se obě pohlaví společně do nádrží o objemu několika tisíc litrů či do gumotextilních vaků. Nádrže je nutné zakrýt síťovinou, aby se zabránilo vyskočení a zvýšené mortalitě ryb.

V případě umělého výtěru, který není preferovaným způsobem reprodukce tohoto druhu, se jikernačky po výlovu z rybníku oddělují od mlíčáků a v tento okamžik se provede jejich první kontrola připravenosti k výtěru. Následně se kontrola provádí v několikadenních až týdenních intervalech. Většinou poslední týden prosinci či první týden v lednu při poklesu teploty vody na $2-3 \text{ }^{\circ}\text{C}$ se u prvních jikernaček objeví ovulace, kdy při kontrole ryb při jemném tlaku na břišní partie dochází k vytlačení ovulovaných jiker. V tomto okamžiku chovatelé přistupují k hormonálnímu ošetření všech generačních jikernaček. Mlíčáci se neošetřují, jelikož většinou uvolňují spontánně dostatek kvalitního spermatu. Pokud se v tomto období teplota vody zvýší na $4-5 \text{ }^{\circ}\text{C}$, tak je dozrávání ryb přerušeno a je třeba počkat, až teplota vody poklesne znovu na $2-3 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

Jako vhodné hormonální ošetření se u mníka jednovouseho neustále používá kapří hypofýza v jedné dávce $3-4 \text{ mg.kg}^{-1}$ (Kucharczyk a kol., 1998b). Při injikaci je potřeba postupovat velmi šetrně. Po hormonální injikaci je vhodné rybu ošetřit v krátkodobé 5minutové koupeli manganistanu draselného ($0,1 \text{ g.l}^{-1}$) (Kříšťan a kol., 2014). Ovulaci jikernaček stačí následně kontrolovat v půldenních intervalech. Dochází k ní zpravidla 2. až 6. den po injikaci (Kucharczyk a kol., 1998b). Jikernačky spontánně jikry neuvolňují a ani nedochází k přezrávání jiker v těle jikernaček. Při umělém výtěru se jikernačky opětovně anestetují a šetrně se vytlačují jikry z jejich těla (Obr. 56) do předem připravených suchých misek. Následně se odebírá mlíčí od mlíčáků (Obr. 57), kteří jsou také předem znehybněni v anestezii. Mlíčí je možné odebírat do pětimililitrových injekčních stříkaček nebo přímo do misek s jikrami od jedné nebo více jikernaček. Sperma je velice koncentrované a bývá ho dostatek. Na 50 gramů jiker se používá 1–2ml spermatu. Následně se směs gamet promíchá a aktivuje vodou z líhně o objemu 100ml na 50 gramů jiker. Umělý výtěr je pracnější než poloumělý, ale zpravidla efektivnější z hlediska synchronizace ovulace jikernaček a chovatel má dobrý přehled o počtu vytřených jikernaček, množství a kvalitě jiker.



Obr. 56. Umělý výtěr generační jikernačky mníka jednovouseho (*Lota lota*) (Foto: J. Kříšťan).

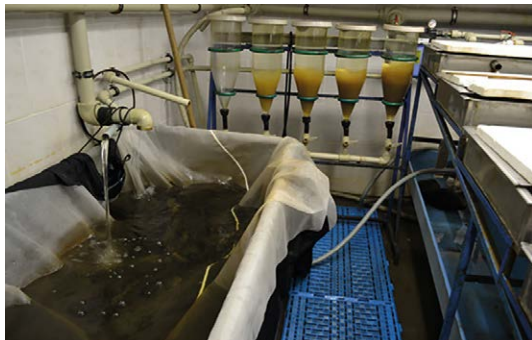


Obr. 57. Odběr spermatu od generačního mličáka mníka jednovouseho (*Lota lota*) (Foto: J. Kříšťan).

Jikry mníka jsou bělavě žluté až žluté a slabě lepkavé. I když mají jikry typickou pelagickou stavbu s tukovou kapénkou (Foltz a kol., 2012), klesají v chladné vodě (2–3 °C) ke dnu. Velikost neoplozených, nenabobtnalých jiker od různě velkých jikernaček se pohybuje v rozmezí 0,7–0,9 mm (Kříšťan a kol., 2014). Po třech hodinách po oplození jikry mníka bobtnají a dosahují velikosti kolem 0,8 mm. Těsně před vykulením byla zjištěna velikost jiker kolem 1 mm. V 1 gramu je průměrně 3 077–3 573 kusů vytřených neoplozených jiker. Podle Kouřila a kol. (1985) se počet neoplozených jiker v 1 gramu pohybuje od 1 811 do 4 446 ks jiker s průměrnou hodnotou 3 045 ks jiker. V 1 ml se počet nabobtnalých jiker pohybuje od 928 kusů do 1 468 kusů, což je v průměru 1 198 ks.

Absolutní plodnost jikernaček mníka kolísá od 60 633 jiker do 1 360 000 jiker (Krupauer a Vostradovská, 1963; Muth a Smith, 1974; Holický a Kubíček, 1980; Kříšťan a kol., 2014).

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU



Obr. 58. Pohled na nádrž s uhelonovou vložkou pro poloumělý výtěr mníka jednovousého (*Lota lota*) a vlastní inkubace jiker tohoto druhu (Foto: J. Kříšťan).

Poloumělý výtěr se provádí v plastových nádržích či gumotextilním vaku o objemu 2 000–3 000 litrů s průtokem vody (Obr. 58). Před nasazením generačních ryb se nádrž vyloží uhelonovou vložkou (velikost ok 150–200 μm), která se na jedné straně zatíží kameny, aby zde byla hloubka cca 1 m. Na tomto místě se koncentruje generační hejno v průběhu dne. Na druhé straně se vložka vyzvedne do hloubky cca 30 cm. Na tomto místě se v nočních a ranních hodinách vytírají generační ryby. Z tohoto místa se následně pomocí hadičky denně odsávají vytřené jikry a přemísťují do inkubačních lahví (Obr. 58). Pro poloumělý výtěr se jikernačky společně s mlíčáky nasazují v poměru 1 : 1,5 ve prospěch mlíčáků v celkovém počtu několik desítek jedinců.

Inkubace jiker mníka jednovousého se provádí v Zugských nebo Kannengieterových láhvích. Podmínkou je citlivě seřízený průtok vody, který zajišťuje lehký pohyb jiker. Během inkubace nesmí teplota vody přesahovat 5–6 °C.

4.6.15. Štika obecná (*Esox lucius*)

V našich klimatických podmínkách generační ryby štiky obecné většinou dospívají na konci druhého až čtvrtého roku života. V některých případech mohou být mlíčáci pohlavně dospělí dokonce již při celkové délce TL = 180 mm a jikernačky TL = 260 mm ve věku 1 roku (Kouřil a Hamáčková, 1975). Varlata mlíčáků intenzivně rostou a vyvíjejí se již na konci léta. U jikernaček dochází k intenzivnímu vývoji oocytů ve vaječnicích během zimního období od listopadu do března, respektive začátku dubna, kdy finální stadia oocytů zaujímají až 95 % objemu vaječniců. Pohlavní dimorfismus není u štiky obecné v době tření příliš výrazný. Jikernačky mají jen zvětšené břišní partie. Pohlaví

Ize rozpoznat podle tvaru močopohlavní papily. Papila u mlíčáků má tvar čáry, je úzká a nevýrazná, zatímco u jikernaček je vějířovitá, intenzivně prokrvená a zarudlá (Obr. 59; Bondarenko a kol., 2014).



Obr. 59. Rozlišení pohlaví štiky obecné (*Esox lucius* L.) pomocí tvaru a stavu močopohlavní papily v období výtěru, mlíčák (vlevo) a jikernačka (vpravo) (Foto: V. Bondarenko).

V našich klimatických podmínkách se nejčastěji štika obecná rozmnožuje od konce února až do konce března, respektive do začátku dubna (Kouřil a Hamáčková, 1975; Dubský, 1998; Bondarenko a kol., 2015). Reprodukce probíhá při teplotě vody 7–10 °C a výtěrové období je ukončeno v době, kdy teplota vody trvale dosahuje 14 °C (Lusk a Krčál, 1982; Westers a Stickney, 1993).

K reprodukci se využívají výhradně generační ryby odchované v rybniční akvakultuře získávané při jarních výlovech rybníků. Výlov generačních ryb je realizován, když teplota vody dosahuje cca 4–6 °C (Regenda, 2016). Následně je potřeba generační ryby převést do menších a mělkých zemních rybníčků (výměra kolem 100 m²) blízko rybí líhně nebo přímo ryby nasadit do odchovných žlabů líhně či objektu s řízenou teplotou vody. Tento postup umožňuje finálně stimulovat dozrávání gamet a ovlivňovat termín výtěru ryb (Polícar, 2012). Způsob finální stimulace generačních ryb před výtěrem rozhoduje o tom, kam budou generační ryby před výtěrem nasazeny.

Jestliže budou štiky vytírány bez hormonálního ošetření, vysazují se ryby odděleně podle pohlaví do zemních rybníků s hojnou makrovegetací a dostatkem potravních ryb (2–3 kg potravních ryb na 1 kg štik). Zde je důležité dvakrát denně (ráno a v odpoledních hodinách) měřit teplotu vody a sledovat chování generačních ryb, především jikernaček. V jarním období se voda postupně ohřívá, ze 4 °C (ráno) až na 8–10 °C (odpoledne) a dochází ke změně chování ryb. Při zvyšující se teplotě vody se ryby zdržují v okrajích rybníčků a intenzivně vplouvají do příbřežní makrovegetace. Z tohoto chování je možné

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

usuzovat, že některé generační jikernačky jsou připravené k výtěru. Potom je nutné příkopový rybník slovit, vybrat ovulující jikernačky a odlovit přibližně stejné množství mlíčáků, kteří spontánně uvolňují sperma, nebo se usmrcují s cílem získat testikulární sperma. Následně jsou tyto ryby převezeny do rybí líhně, kde je realizován umělý výtěr. Jikernačky stimulované pouze stoupající teplotou vody mají výtěrové období mnohem delší než ryby hormonálně ošetřené. Toto období může trvat klidně celý měsíc. Úspěšnost výtěru takto vytíraných ryb se pohybuje od 80 do 95 % (Polícar, 2012).

V návaznosti na zmíněnou metodu výtěru štiky obecné je nutné také dodat následující informaci. Ve druhé polovině minulého století byl na štičí líhni v Táboře úspěšně praktikován podobný postup přípravy generačních štik před výtěrem (Pecha senior, osobní sdělení). Ten začínal jejich podzemním nasazením do vhodných, hlubších rybníků s dostatečně velkou plochou mělkého litorálu. Před nasazením generačních ryb, získaných z podzemních výlovů, byla plocha litorálu vysečena, jelikož tato litorální část byla po delší část roku udržována nezatopená a bujně zarůstala travním porostem. Následně před nasazením štiky byly rybníky napuštěny tak, aby plocha litorálu zůstala v průběhu komorování bez vody. Ke generačním štikám obojího pohlaví se přisazovalo dostatečné množství potravních ryb vhodné velikosti. V jarním období, ihned po rozmrznutí ledové pokrývky, se do rybníků připustila voda tak, aby zvýšená hladina zatopila litorální pásmo. Následně byla v 1–3denních intervalech prováděna kontrola chování a stavu generačních ryb. Zralé jikernačky, doprovázené mlíčiky, vytahovaly do litorálních částí. Zde byly odlovovány vatkou a na místě tříděny. Ovulující jikernačky byly na místě vytřeny. Jikernačky s měkkým břichem byly převezeny na líheň, kde došlo k jejich pozdější spontánní ovulaci a výtěru zpravidla během následujícího dne. Odlovené jikernačky s tvrdším břichem byly vráceny do rybníka a čekaly na další kontrolu. Po vylovení většiny generačních ryb byl rybník kompletně sloven. Rybí líheň tímto způsobem obhospodařovala tři takovéto komorové rybníky s generačními štikami, jež byly dislokovány ve výrazně rozdílných nadmořských výškách. Tento stav měl vliv na postupný nástup vyšších teplot a připravenosti generačních ryb k výtěru. Výhodou bylo rozložení výtěrů do delšího časového úseku a dosažení vysoké úspěšnosti ovulace jikernaček a vysoké oplozenosti jiker. Nevýhodou tohoto postupu byla značná pracnost.

Jestliže se generační ryby budou nasazovat do kontrolovaných podmínek rybních líhní či jiných rybářských objektů, aplikují se u generačních ryb po počáteční teplotní stimulaci (postupné zvýšení teploty vody na 9–11 °C) hormonální přípravky (Obr. 60), které zajistí finální dozrání oocytů a jejich následnou ovulaci (Bondarenko a kol., 2015). I přestože byly u štiky obecné testovány různé analogy GnRHa s a bez kombinace s dopaminergním inhibitorem (metoklopramid) v různých dávkách, zůstává kapří hypofýza neustále jediným

osvědčeným hormonálním přípravkem zaručeně stimulující finální dozrávání oocytů u tohoto druhu. V současnosti se testuje použití mikročástic jako nosičů GnRHa s cílem prodloužit a znásobit jejich účinek a uvolňování do krevního řečiště generačních ryb štiky obecné s cílem zefektivnit celé hormonální ošetření ryb. Avšak ani tato metoda zatím nepřináší uspokojivé provozně aplikovatelné výsledky. Hormonální stimulace ovulace jiker u jikernaček štiky obecné je tedy neustále realizována pomocí dehydrované kapří hypofýzy s jednou dávkou 3–4 mg.kg⁻¹ živé hmotnosti jikernaček (Billard, 1996; Policar, 2012; Švinger a kol., 2012; Bondarenko a kol., 2015). Pro umělé výtěry se používají jikernačky o kusové hmotnosti 1 až maximálně 3 kg. Starší a větší generační ryby obecně produkují jikry o nižší kvalitě.

Při umělých výtěrech se nejčastěji používají mlíčáci menších hmotností (0,5–1 kg; Bondarenko a kol., 2014). Pokud se mlíčáci štiky obecné hormonálně stimulují, většinou se využívá také dehydrované kapří hypofýzy v dávce 2 mg.kg⁻¹ živé hmotnosti (Policar 2012; Švinger a kol., 2012). Mlíčáci jsou hormonálně injikováni v období, kdy se ošetřují jikernačky (většinou tedy 4 dny před vlastním výtěrem ryb). Rozhodnutí, zda použít hormonální ošetření mlíčáků, závisí především na způsobu odběru spermatu. Pokud je plánováno využít vytlačované sperma, je velmi vhodné mlíčáky hormonálně stimulovat (Policar, 2012; Švinger a kol., 2012). Jestliže se mlíčáci hormonálně neošetří, může se stát, že bude získán velmi malý objem spermatu kolem 0,5–2 ml spermatu na jednoho mlíčáka (Billard, 1996; Dubský, 1998; Hulák a kol., 2008a,b). Takto malý objem spermatu může způsobit velké problémy při umělém oplozování získaných jiker. V provozních podmínkách je velmi často upřednostňované využití tzv. testikulárního spermatu, protože vytlačované sperma je často kontaminované močí či krví. Pohyblivost kontaminovaného vytlačeného spermatu a jeho následné efektivní využití při umělém osemenění jiker jsou na velmi nízké úrovni. Takovéto sperma se získává ze zabitých mlíčáků vypreparováním varlat z jejich těla, s následným rozstříháním varlat a uvolněním spermatu podobně jako u keříčkovece červenolemého. Při použití testikulárního spermatu není nutné hormonální stimulaci mlíčáků používat (Billard, 1996; Lahnsteiner a kol., 1998; Hulák a kol., 2008a,b). Nicméně i u tohoto způsobu získávání spermatu je hormonální stimulace mlíčáků doporučována. Použití hormonálního zásahu totiž zvýší produkci spermií ve varlatech. Tato skutečnost usnadní práci a pozitivně se projeví při umělém oplozování jiker vyšší oplozeností (Policar, 2012). Plaňanský (2018) testoval využití katetru pro odběr vytlačovaného spermatu od mlíčáků štiky obecné s cílem získat dostatečném množství spermií bez jakékoliv kontaminace. Při tomto experimentu bylo zjištěno, že katetrem u štiky obecné je odebíráno sperma spolu s močí a tato inovace s cílem nahradit využití testikulárního sperma selhala.

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU



Obr. 60. Hormonální ošetření jikernačky štiky obecné (*Esox lucius*) (Foto: T. Polícar).

Období latence u jikernaček, které jsou ošetřovány kapří hypofýzou, se pohybuje mezi $96,0 \pm 14,4$ až $98,2 \pm 2,5$ hodin od provedené stimulace (Polícar, 2012; Švinger a kol., 2012). V některých případech bylo zjištěno, že se všechny kapří hypofýzou ošetřené jikernačky vytřely (Obr. 61) v jeden okamžik, a to 96 hodin po hormonální stimulaci (Bondarenko a kol., 2015). Délka období latence v denních stupních se pohybuje okolo $42,0 \pm 6,3$ d°, což znamená, že ryby byly drženy mezi ošetřením a výtěrem při $10,5$ °C po dobu 4 dní (Polícar, 2012). Úspěšnost výtěru jikernaček při jejich ošetření kapří hypofýzou dosahuje úrovně mezi 95 a 100 % (Polícar, 2012; Švinger a kol., 2012).



Obr. 61. Umělý výtěr generační jikernačky štiky obecné (*Esox lucius*) (Foto: T. Polícar).

Okamžitě po získání spermatu se provádí osemenění jiker v poměru 3–4 ml spermatu na 1 kg jiker. Sperma by mělo být odebráno odděleně alespoň od 3 mlíčáků (Billard, 1996; Křišťan a kol., 2013b). Křišťan a kol. (2013b)

optimalizovali poměr spermií na 1 oplozovanou jikru a stanovili nejvhodnější poměr z hlediska zajištění vysoké oplozenosti jiker (67 %) a líhivosti embryí (65 %) na úrovni 500 000 spermií na jednu jikru, což přibližně odpovídá výše zmíněnému poměru objemu spermatu a hmotnosti jiker při oplození.

Po aplikaci spermatu na jikry je vhodné směs jemně promíchat. Jikry jsou v této době velmi citlivé na nadměrnou a nešetrnou manipulaci. Následně je důležité směs jiker a spermií zalít tzv. aktivačním roztokem o objemu 0,5 litru roztoku na 1 kg jiker. Nejjednodušším aktivačním roztokem je čerstvá voda z rybí líhně. Avšak při umělém osetení jiker se doporučuje pro lepší a delší pohyblivost spermií využít roztok soli (NaCl) v koncentraci 7 g.l⁻¹ (Bondarenko a kol., 2014). Dále se ještě doporučuje používat různé aktivační roztoky, které mohou zvýšit procento oplozených jiker:

- Ringerův roztok obsahující: 6 g.l⁻¹ NaCl, 0,075 g.l⁻¹ KCl, 0,15 g.l⁻¹ CaCl₂ · 2H₂O a 0,1 g.l⁻¹ NaHCO₃ (Dyk, 1940),
- roztok připravený smícháním 15 g močoviny v 1 litru vody (Berka a Hamáčková, 1980) a
- roztok NaCl upravený 20 mM Trisem s osmolalitou 288 mOsmol.kg⁻¹ a pH 8,5 (Alavi a kol., 2009).

Průměrná oplozenost jiker u štiky obecné se v rybářských provozech po umělém výtěru a oplození jiker běžně pohybuje na úrovni 40–70%. Oplozenost jiker může být výrazně zvýšena použitím některého ze zmíněných aktivačních roztoků na úroveň až 75–80%.

Následně po aktivaci spermií se směs spermatu, jiker a aktivačního roztoku jemně promíchá a nechá na 5–10 minut odstát (Billard, 1996; Policar, 2012). Poté se směs jiker a spermií několikrát promyje vodou. U zčistěných oplozených jiker se následně provede jejich odlepkování, jelikož povrch oplozených jiker štiky obecné se stává lepivým za 4–5 minut po jejich aktivaci. Zde je důležité opět zmínit, že odstranění lepivosti jiker musí být prováděno velmi šetrně, jelikož oplozené jikry jsou velmi citlivé na manipulaci. K odlepkování štičích jiker doporučujeme použít buď plnotučné mléko s 3,5% obsahem tuku v poměru 1 díl mléka a 6 dílů vody s dobou odlepkování 60–90 minut nebo suspenzi jílu s dobou odlepkování 30–40. Zmíněné odlepkovací roztoky se používají většinou v objemovém poměru 1 : 2 (jikry : roztok).

Po odlepkování se jikry několikrát propláchnou čistou vodou z líhně a nasadí se do inkubačních lahví. K inkubaci štičích jiker se nejčastěji používají Chasseovy lahve nebo modifikované Zugské lahve. Pro inkubaci jiker štiky je možné také použít McDonalldovy či Kannengieterovy lahve, které se spíše používají v USA či západní Evropě. Během inkubace nesmějí být jikry vystaveny žádným otřesům či prudkému proudu vody. V opačném případě dochází k jejich nadměrnému úhynu.

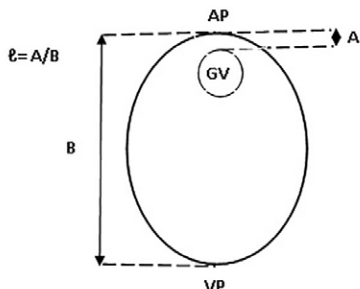
HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

4.6.16. Jeseter malý (*Acipenser ruthenus*) a jeseter sibiřský (*Acipenser baerii*)

Chrupavčité ryby v ČR v rámci akvakultury prozatím nepředstavují produkčně významnou skupinu ryb. Zcela opačná situace je v některých jiných zemích, kde je několik druhů chováno pro produkci kaviáru a masa. Výskyt přirozených populací většiny jeseterovitých ryb byl vlivem nadměrného a nelegálního lovu a dalších antropogenních činností (omezení nebo zábrana výtěrových migrací vlivem výstavby přehrad, ničením trdlišť, znečištěním vody atd.) v průběhu minulého století velmi výrazně snížen. U některých druhů byla tato činnost příčinou jejich vyhubení. Díky těmto souvislostem musela být zavedena jejich ochrana a rozvoj umělé reprodukce pro potřeby akvakulturních chovů či pro vysazování násadového materiálu do volných vod. Lokálně mají jeseterovité ryby význam i jako okrasné druhy ryb. Jeseter malý a jeseter sibiřský patří z širokého spektra chrupavčitých ryb chovaných v ČR k nejčastěji chovaným a uměle rozmnožovaným druhům.

Selekce a příprava generačních ryb k jejich řízené reprodukci je detailně popsána Gelou a kol. (2008). Mlíčáci a jikernačky jesetera malého v přirozených podmínkách dospívají ve 3–5 a 5–8 letech. Ovšem v řízených akvakulturních podmínkách dospívají nepatrně dříve při celkové délce (TL) 0,4–0,5 metru. Generační ryby jesetera sibiřského v akvakultuře dospívají u mlíčáků v 6 letech (TL= 0,8–0,9 metrů) a u jikernaček v 9–12 letech (TL kolem 1 metru) (Gela a kol., 2012).

V předvýtěrovém období se u generačních jikernaček provádí odběr vzorku oocytů biopsií pomocí speciálního trokaru s cílem určit jejich připravenosti k výtěru. Kritériem pro zařazení jikernaček do výtěrové skupiny je poloha jádra v odebraných oocytech, respektive výpočet klasifikačního indexu (I). Odebrané oocyty se 24 hodin konzervují v Serrově roztoku (složení viz část o candátovi obecném) a poté se žiletkou rozříznou na dvě poloviny. U rozříznutého oocytu se pod stereomikroskopem určuje vzdálenost mezi jádrem a membránou oocytu (A) a průměr oocytu mezi animálním a vegetačním pólem (B) (Obr. 62). Následně se vypočítá zmíněný klasifikační index $I=A/B$, který by měl být menší nebo roven 0,07. Jestliže je klasifikační index vyšší než daná hodnota, je nutné na zralost oocytů ještě čekat a odběr opakovat za měsíc. Jestliže je index nižší než 0,1–0,15, jedná se o přezrálé oocyty a jejich potencionální oplozenost je velmi nízká (Gela a kol., 2008).



Obr. 62. Schéma oocyty jeseterovitých ryb pro výpočet klasifikačního indexu při stanovení jeho zralosti (Gela a kol., 2008). Vysvětlivky: AP – animální pól, A – vzdálenost mezi jádrem a membránou oocyty, GV – jádro, B – průměr oocyty mezi animálním a vegetačním pólem, VP – vegetační pól, l – klasifikační index

Jikernačky z akvakultury dozrávají u jesetera malého v jedno až dvouletých intervalech a u jesetera sibiřského v 3–4letých cyklech. K finálnímu dozrávání oocytů dochází u jesetera malého při teplotě 10–17 °C, kdy přirozený výtěr probíhá od dubna až června (Obr. 63). U jikernaček jesetera sibiřského oocyty dozrávají při teplotě 9–18 °C a přirozený výtěr probíhá od května až června. Relativní plodnost jikernaček u jesetera malého je 20 000–30 000 jiker.kg⁻¹ a u jesetera sibiřského 13 000–20 000 jiker.kg⁻¹. Mlíčáci z akvakulturních chovů mohou být použiti k výtěru několikrát během roku u obou druhů s podmínkou, že teplota vody nepřevyšší dlouhodobě 15 °C. Vyšší teplota má totiž negativní vliv na kvalitu produkovaného spermatu (Gela a kol., 2012).



Obr. 63. Umělý výtěr jikernačky jesetera malého (*Acipenser ruthenus*) menší velikosti (Foto: J. Kouřil).

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

K hormonálně indukované umělé reprodukci jeseterovitých ryb byla na jejím počátku zásadně používána hypofýza jeseterovitých ryb. Až později, především vzhledem obtížné dostupnosti hypofýzy jeseterovitých ryb, se zjistilo, že lze bez problémů používat kapří hypofýzu. Další realizované experimenty ukázaly na možnost použití GnRH a jeho syntetických analogů (přípravků Supergestran), včetně hormonálního preparátu Ovipel, který obsahuje také inhibitor dopaminu. Na základě současných znalostí a zkušeností lze doporučit hormonální ošetření generačních ryb ve dvou po sobě jdoucích dávkách v intervalech 12 hodin, které je znázorněné v Tab. 26.

Tab. 26. Úspěšnost umělého výtěru a délka intervalu latence u jesetera malého (*Acipenser ruthenus*) a jesetera sibiřského (*Acipenser baerii*) při použití různých hormonálních přípravků podávaných vždy ve dvou dávkách v intervalu 12 hodin při teplotě 17,9 °C (Kouřil a kol., 2014).

Přípravek (dávka)	Počet jikernaček		Délka intervalu latence
	injik. (ks)	vytřených (%)	(h)
Kapří hypofýza (0,8+7,2 mg.kg⁻¹)	8	88	21,5
Ovipel (1+30 µg GnRH.kg⁻¹)	8	88	21,7
Supergestran (1+30 µg GnRH.kg⁻¹)	8	25	24,0

Po dosažení ovulace před vlastním výtěrem se provádí prořiznutí vejcovodu ("minimální chirurgická metoda") umožňující rychlý výtěr jikernačky (zpravidla 5–10 minut) a její krátký pobyt mimo vodní prostředí. Na rozdíl od tradičních postupů, spočívajících v zabítí jikernačky a vybrání jiker po rozřiznutí dutiny břišní, nebo tzv. císařského řezu, má tento způsob řadu předností. Hlavní předností tohoto způsobu výtěru je možnost opakovaně použít generační ryby k reprodukci. Současně také dochází k výraznému snížení traumatické zátěže, celkového stresu a rizika z komplikovaného hojení či totální mortality generačních ryb.

Jikernačky jeseterovitých ryb větších velikosti se vytírají položené na bok na podložce nebo fixované hřbetem dolů ve speciálním stojanu s gumotextilní vložkou, která má v příčném profilu tvar písmene U. V tomto případě se předem osuší ocasní násadec jikernačky, po kterém při klasické abdominální masáži stékají vytlačované jikry do předem připravené misky.

Mlíčáci, od kterých se odebírá sperma, se osuší na břišních partiích a v okolí pohlavního otvoru. Následně se mlíčáci zafixují v poloze hřbetem dolů a sperma je pomocí kanyly zasunuté do chámovodu odváděno do suché nádoby (např. láhve pro tkáňové kultury) nebo odsáváno do jednorázové stříkačky. Objem odběrné nádoby, délka a průměr kanyly se liší podle druhu ryby. Jako kanylu lze například použít i čistou akvarijní plastovou vzduchovací hadičku, přičemž

konec zaváděný do chámovodu je nutné šikmo seříznout. Sperma je také možno získat při poloze mlíčka na boku a jímat jej do kádinky.

Po odběru gamet dochází ke smísení spermatu s vodou z líhně a bezprostřednímu nalití této suspenze na jikry. Na každých 100 g jiker použijeme 2,5 ml spermatu rozředěného ve 400 ml vody. Oplozené jikry jeseterovitých ryb se za 2 minuty po aktivaci odlepkují zpravidla suspenzí jílu (délka odlepkování 45 minut) nebo taninu (při koncentraci 0,04 % po dobu 10–30 sekund). Nově byla ověřena možnost rychlého odlepkování pomocí přípravku Savo (běžný prostředek používaný k dezinfekci, který obsahuje účinnou látkou chlornan sodný). V tomto případě se odlepkování provádí ve vodném roztoku účinné látky o koncentraci 0,03 % po dobu 40 sekund (Pšenička a kol., 2015).

K inkubaci jiker se používají různé typy inkubačních přístrojů. V Rusku se převážně používají přístroje typu Osetra (Obr. 64). U nás a v dalších evropských zemích se obvykle používají Zugské nebo MacDonalldovy inkubační láhve.



Obr. 64. Inkubační přístroj Osetra (Foto: J. Kouřil).

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

5. EKONOMICKÝ PŘÍNOS

Předložená technologie na celé řadě provozních líhní různých produkčních podniků či jiných institucí umožnila optimalizovat a zefektivnit finální dozrávání gamet, dosáhnout vyšší úspěšnosti realizace a synchronizace umělých či poloumělých výtěrů generačních ryb u 20 hospodářsky či sportovně významných druhů ryb. Jednotlivé popisované metody reprodukce daných druhů umožňují uživatelům snížit produkční náklady provozovaných líhní, zvýšit množství a stabilitu produkce embryí neboli váčkového plůdku a snížit ztráty na generačních rybách při či po jejich výtěru.

Přesný odhad ekonomického přínosu pro dané provozní líhně je vzhledem k heterogenitě uvedených postupů i zaměření jednotlivých líhní v ČR velmi obtížný. Jeho výši lze odhadnout minimálně na několik desítek tisíc korun českých ročně na každou rybí líheň, která alespoň dílčím způsobem bude využívat některý z uvedených a testovaných postupů reprodukce daných druhů ryb.

6. UPLATNĚNÍ TECHNOLOGIE V PRAXI

Předložená ověřená technologie najde uplatnění na produkčních líhních rybářských podniků, rybích líhních sportovních rybářských svazů, ale i v obdobných zařízeních vědecko-výzkumných a pedagogických pracovišť po celé ČR.

7. SEZNAM LITERATURY

- Adamek, J., 2001. Sum afrykanski – Technologia chowu. Instytut Rybactwa Srodladowego, Olsztyn, Poland, 50 pp.
- Alavi, S.M.H., Rodina, M., Policar, T., Kozak, P., Psenicka, M., Linhart, O., 2007. Semen of *Perca fluviatilis* L.: sperm volume and density, seminal plasma indices and effects of dilution ration, ions and osmolality on sperm motility. *Theriogenology* 68: 276–283.
- Alavi, S.M.H., Rodina, M., Gela, D., Linhart, O., 2009. Morfologie spermií, složení seminální plazmy, motilita a parametry zvlnění bičíku spermie u štiky obecné (*Esox lucius*). *Bulletin VÚRH Vodňany* 45: 3–9.
- Alavi, S.M.H., Rodina, M., Hafez, A., Stejskal, V., Policar, T., Hamáčková, J., Linhart O., 2010. Sperm motility and monthly variations of semen characteristics in *Perca fluviatilis* (Teleostei: Percidae). *Czech Journal of Animal Science* 55: 174–182.
- Berka, R., Hamáčková, J., 1980. Chov štiky a candáta. Studijní zpráva, Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství. Živočišná výroba 2: 79 s.
- 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.
- Billard, R., Cosson, J., Perchet, G., Linhart, O., 1995. Biology of sperm and artificial reproduction in carp. *Aquaculture* 129: 95–112.

- Blecha, M., Kristan, J., Samarin, A.M., Rodina, M., Policar, T., 2015. Quality and quantity of pikeperch (*Sander lucioperca*) spermatozoa after varying cold water treatments. *Journal of Applied Ichthyology* 31: 75–78.
- Blecha, M., Samarin, A.M., Kříšťan, J., Policar, T., 2016. Benefits of hormonal treatment of both sexes in semi-artificial reproduction of pikeperch (*Sander lucioperca* L.). *Czech Journal of Animal Science* 61: 203–208.
- Bondarenko, V., Kříšťan, J., Švinger, V., Policar, T., 2014. Reprodukce a odchov rychleného plůdku štiky obecné (*Esox lucius*). *Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 144, 53 s.*
- Bondarenko, V., Podhorec, P., Svinger, V., Policar, T., 2015. Evaluation of different treatments for induction of ovulation in Northern pike (*Esox lucius* L.). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 15: 581–587.
- Bozkurt, Y., Ögretmen, F., 2012. Sperm quality, egg size, fecundity and their relationships with fertilization rate of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 11: 755–764.
- Bozkurt, Y., Ögretmen, F., Erçin, U., Ümmüğülsüm, Y., 2008. Seminal plasma composition and its relationship with physical spermatological parameters of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) semen: with emphasis on sperm motility. *Aquaculture Research* 39: 1666–1672.
- Dabrowski, K., Ciereszko, A., Ramseyer, L., Culver, D., Kestemont, P., 1994. Effects of hormonal treatment on induced spermiation and ovulation in the yellow perch (*Perca flavescens*). *Aquaculture* 120: 171–180.
- Demska-Zakes, K., Zakes, Z., 2002. Controlled spawning of pikeperch, *Stizostedion lucioperca* (L.), in lake cages. *Czech Journal of Animal Science* 47: 230–238.
- Demska-Zakes, K., Zakes, Z., Roszuk, J., 2005. The use of tannic acid to remove adhesiveness from pikeperch, *Sander lucioperca*, eggs. *Aquaculture Research* 36: 1458–1464.
- Dubský, K., 1998. Chov štiky. In: Dubský, K. (Ed.), *Základy chovu vedlejších druhů ryb*. Institut výchovy a vzdělávání, MZe, Praha, s. 13–15.
- Dubský, K., Kouřil, J., Šrámek, V., 2003. *Obecné rybářství*. Informatorium, Praha, 308 s.
- Dyk, V., 1940. K biologii štičího spermatu. *Sborník ČAZ* 15: 269–271.
- Flajšhans, M., Ráb, P., 2013. „Konzervační genetika“, ochrana genetických zdrojů a záchranné chovy. In: Flajšhans, M., Kocour, M., Ráb, P., Hulák, M., Petr, J., Šlechtová, V., B., Šlechta, V., Havelka, M., Kašpar, V., Linhart, O. (Eds), *Genetika a šlechtění ryb (2. vydání)*. FROV JU, Vodňany, s. 249–281.
- Foltz, J.R., Jensen, N.R., Polinski, M.P., Ireland, S.C., Cain, K.D., 2012. Characterization of oocyte development in hatchery-reared burbot. *North American Journal of Aquaculture* 74: 408–412.
- Fontaine, P., Wang, N., Hermelink, B., 2015. Chapter 3: Broodstock management and control of the reproduction cycle. In: Kestemont, P., Dabrowski, K., Summerfelt, R.C. (Eds), *Biology and Culture of Percid Fishes — Principles and Practices*. Springer, New York, USA, pp. 103–122.
- Gela, D., Rodina, M., Linhart, O., 2008. Řízená reprodukce jeseterů (*Acipenser*). *Edice Metodik, VÚRH JU, Vodňany, č. 78, 24 s.*
- Gela, D., Kocour, M., Rodina, M., Flajšhans, M., Beránková, P., Linhart, O., 2009. Technologie řízené reprodukce kapra obecného (*Cyprinus carpio* L.). *Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 99, 43 s.*
- Gela, D., Kahanec, M., Rodina, M., 2012. Metodika odchovu raných stadií jeseterovitých ryb. *Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 126, 46 s.*
- Haffray, P., Engricht, W.J., Driancourt, M.A., Mikolajczyk, T., Rault, P., Breton, B., 2005. Optimization of breeding of Salmonids: Gonazon™, the first officially approved inducer of ovulation in the EU. *World Aquaculture* 36: 52–56.
- Hamáčková, J., Kouřil, J., Barth, T., Lepičová, A., Kozák, P., Lepič, P., 2001. Induction of ovulation in rudd (*Scardinius erythrophthalmus*) using hormone preparations. *Biologically Active Peptides VI, Collections Symposium Series, Praha, 4: 87–89.*
- Hamáčková, J., Kouřil, J., Kozák, P., Stupka, Z., 2006. Clove oil as an anaesthetic for different freshwater fish species. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 12: 185–194.

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

- Hamáčková, J., Kouřil, J., Masár, J., Turanský, R., 2007. Technologie chovu keříčkovce jihoafrického – sumečka afrického (*Clarias gariepinus*). Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 79, 22 s.
- Hamáčková, J., Kouřil, J., Adámek, Z., 2008a. Řízená reprodukce a odchov plůdku jelce jesena (*Leuciscus idus*). Edice Metodik, VÚRH JU, Vodňany, č. 84, 12 s.
- Hamáčková, J., Kozák, P., Lepič, P., Kouřil, J., 2008b. Umělá reprodukce a odchov násadového materiálu podoustve říční. Edice Metodik, VÚRH JU, Vodňany, č. 82, 14 s.
- Hartman, P., 2016. Profesní rybníční akvakultura se zaměřením na chov kapra. In: Hartman, P., Regenda, J. (Eds), Praktika v rybníkářství (2. vydání). FROV JU, Vodňany, s. 99–177.
- Hassanin, A., Kuwahara Nurhidayat, S., Tsukamoto, Y., Ogawa, K., Hiramatsu, K., Sasaki, F., 2002. Gonadosomatic index and testis morphology of common carp (*Cyprinus carpio*) in rivers contaminated with estrogenic chemicals. Journal of Veterinary Medical Science 64: 921–926.
- Holický, J., Kubíček, J., 1980. Umělý výtěr a odchov mňika obecného. Československé Rybářství 12: 268.
- Horváth, L., Szabó, T., Burke, J., 1977. Hatchery testing of GnRH analogue-containing pellets on ovulation in four cyprinid species. Polish Archives of Hydrobiology 44: 221–226.
- <http://ovopel.hu/> (navštíveno 20. 7. 2020)
- 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 vytřeného a testikulárního spermatu štiky obecné (*Esox lucius* L.): motilita a rychlost spermií. Bulletin VÚRH 44: 3–9.
- Jansen, H., Fontaine, P., 2008. Recent improvements in the control of the percid reproductive cycle. In: Fontaine, P., Kestemont, P., Teletchea, F., Wang, N. (Eds), Book of abstracts from workshop “Proceeding of Percid Fish Culture From Research to Production” Universitaires de Namur, Namur, Belgium, pp. 19–22.
- Kayes, T.B., 1977. Reproductive biology and artificial propagation methods for adult perch. In: Soderberg, R.W. (Eds), Perch Fingerling Production for Aquaculture. University of Wisconsin Sea Grant Program Advisory Report, 421: 6–23.
- Kestemont, P., Mélard, C., 2000. Chapter 11 – Aquaculture. In: Craig, J.F., (Ed.), Percids Fishes – Systematics, Ecology and Exploitation Fish and Aquatic Resources Series 3, Blackwell Sciences, pp. 191–224.
- Kharroubi, M., Droussi, M., Badri, A., Bouzidi, A., Elboustani, E., 2002. Grass carp ova retention in the body cavity after ovulation: Ova composition and development capability of eggs and alevins. Bulletin Francais de la Peche et de la Pisciculture 365–366: 507–523.
- Kolářová, J., Velíšek, J., Nepejchalová, L., Svobodová, Z., Kouřil, J., Hamáčková, J., Máčková, J., Piačková, V., Hajšlová, J., Holadová, K., Kocourek, V., Klimánková, E., Modrá, H., Dobšíková, R., Groch, L., Novotný, L., 2007. Anestetika pro ryby. Edice Metodik, VURH JU, Vodňany, č. 77, 19 s.
- Kouřil, J., 2002. Metody řízené reprodukce ryb. In: Vykusová, B. (Ed), Sb. produkce násadového materiálu ryb a raků. VÚRH JU, Vodňany, s. 92–102.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., 1975. Plodnost štiky obecné (*Esox lucius*) z rybníčního chovu. Živočišná výroba 20: 841–849.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., 1982., Artificial spawning, egg incubation and forced rearing of the sheat – fish (*Silurus glanis*). Práce VÚRH JU, Vodňany, 2: 119–126.
- Kouřil, J., Příklad, I., 1988. Pracovní plodnost jikernaček bolena dravého (*Aspius aspius* L.) z údolní nádrže Želivka při umělém výtěru. Bulletin VÚRH Vodňany 24: 16–19.
- Kouřil, J., Linhart, O., 1997. Temperature effect on hormonally induced spawning in perch (*Perca fluviatilis*). Polish Archives of Hydrobiology 44: 197–202.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., 1999. Artificial propagation of European perch (*Perca fluviatilis* L.) by means of a GnRH analogue. Czech Journal of Animal Science 44: 309–316.
- Kouřil, J., Barth, T., 2002. Hormonálně indukovaný umělý výtěr podoustve říční (*Vimba vimba*). In: Spurný, P., Mareš, J., Kopp, R. (Ed.), Sb. V. Česká ichtyologická konference, MZLU, Brno, s. 151–156.

- Kouřil, J., Podhorec, P., 2018. Artificial propagation of asp (*Aspius aspius*) from Zelivka dam with using hormonal stimulation. Proc. International Conference Freshwater ecosystems – Key problems, Irkutsk, Russian, 2 pp.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., Kepř, T., 1981. Umělý výtěr sumce velkého. In: Kouřil, J. (Ed.), Reprodukce Genetika Hybridizace Ryb. VÚRH Vodňany a Slovenská zoologická společnost, Ichtyologická sekce, s. 128–134.
- Kouřil, J., Linhart O., Dubský, K., Kvasnička P., 1985. The fertility of male and female burbot (*Lota lota* L.) following stripping of ova and semen. Práce VÚRH Vodňany 14: 75–79.
- Kouřil J., Barth T., Hamáčková J., Flegel M., 1986. Induced ovulation in tench (*Tinca tinca* L.) by various LH-RH synthetic analogues: effect of site of administration and temperature. Aquaculture 54: 37–44.
- Kouřil, J., Barth, T., Hamáčková, J., 1987. Stripping the females of sheatfish (*Silurus glanis* L.) with LH-RH analog induction. Práce VÚRH Vodňany 16: 62–68.
- Kouřil, J., Fila, V., Šandera, K., Barth, T., Flegel, M., 1988. Hormonálně indukovaný umělý výtěr jikernaček parmy obecné (*Barbus barbus* L.) pomocí kapří hypofýzy a analogu LH-RH. Bulletin VÚRH Vodňany 3: 18–25.
- Kouřil, J., Benešovský, J., Svobodová, V., 1992. Induced ovulation of asp (*Aspius aspius* L.) females using carp pituitary. In: Adámek, Z., Flajšhans, M. (Eds), Proceedings of scientific conference, Fish Reproduction 92, VÚRH, Vodňany, pp. 51–52.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., Linhart, O., Barth, T., Glubokov, A.I., Haffray, P., 1996. Induced ovulation of European catfish (*Silurus glanis* L.) by carp pituitary, GnRH analogue and/or dopamine inhibitor isofloxethipin. Živočišná výroba 41: 205–207.
- Kouřil, J., Linhart, O., Relot, P., 1997. Induced spawning of perch, *Perca fluviatilis* L., by means of a GnRH analogue. Aquaculture International 5: 375–377.
- Kouřil, J., Linhart, O., Hamáčková, J., 1998. Optimalizace dávek analogu GnRH a teploty vody při hormonálně indukovaném poloumělém a umělém výtěru okouna říčního (*Perca fluviatilis* L.). Bulletin VÚRH Vodňany 34: 137–149.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., Lepič, P., Mareš, J., 2002. Poloumělý a umělý výtěr okouna říčního. Edice Metodik, VÚRH JU, Vodňany, č. 68, 12 s.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., Barth, T., 2006a. Hormonally induced of artificial propagation of fish. In: Proc. Biotechnology 2006, Scientific Pedagogical Publishing, České Budějovice, Czech Republic, pp. 251–253.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., Bekh, V., Kubryashev, S., Kubryasheva, M., Barth, T., Kozák, P., 2006b. Application of preparations containing GnRH analogues with/without dopaminergic inhibitor to ovulation in bighead carp *Aristichthys nobilis*, silver carp *Hypophthalmichthys molitrix* and grass carp *Ctenopharyngodon idella*. In: Proceedings of Conference AQUA 2006 (CD-ROM), Firenze (Italy), WAS and EAS, p. 483.
- Kouřil, J., Hájek, J., Barth, T., 2006c. Indukovaná ovulace a umělý výtěr jikernaček parmy říční (*Barbus barbus*) při použití různých dávek analogu GnRH. In: Proceedings z IX. České ichtyologické konference. VÚRH JU, Vodňany, s. 63–65.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., Lepičová, A., Adámek, Z., Lepič, P., Kozák, P., Policar, T., 2008. Řízená reprodukce a odchov plůdku perla ostrobříchého a hrouzka obecného. Edice Metodik, VÚRH JU, Vodňany, č. 69, 12 s.
- Kouřil, J., Podhorec, P., Stejskal, V., Policar, T., Křišťan, J., Drozd, B., 2011. Optimalizace metod hormonálně indukované ovulace při řízené reprodukci vybraných hospodářsky významných druhů zvířat. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 120, 34 s.
- Kouřil, J., Drozd, B., Prokešová, M., Stejskal, V., 2013. Intenzivní chov keříčkovce jihoafrického – sumečka afrického (*Clarias gariepinus*). Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 138, 60 s.
- Kouřil, J., Chepurkina, M.A., Gileva, E.A., 2014. The effect of various synthetic hormonal preparations to ovulation of sterlet females (*Acipenser ruthenus*). Sb. Konf. Aquaculture, Novosibirsk, Russian, p. 6.

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

- Krupauer, V., Vostradovská, M., 1963. Plodnost mníka jednovousého z Lipenské údolní nádrže. Československé rybářství 13: 180.
- Krupka, I., 1987. Umělý výtěr a odchov plůdku parmy. Edice Metodik, VÚRH, Vodňany, č. 23, 13 s.
- Kříšťan, J., Alavi, S.M.H., Stejskal, V., Polícar, T., 2013a. Hormonal induction of ovulation in pikeperch (*Sander lucioperca* L.) using human chorionic gonadotropin (hCG) and mammalian GnRH analogue. Aquaculture International 21: 811–818.
- Kříšťan, J., Bouchet, D., Polícar, T., 2013b. Reproductive characteristics and optimization of egg fertilization in Northern pike (*Esox lucius* L.). In: Aquaculture Europe 2013, USB of Abstracts, 10–12 August 2013, Trondheim, Norway, p. 134.
- Kříšťan, J., Polícar, T., Vaniš, J., Svačina, P., 2014. Reprodukce a chov rychleného plůdku mníka jednovousého (*Lota lota*) v rybnících. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 149: 37 s.
- Kristan, J., Blecha, M., Polícar, T., 2016. Alcalase treatment for elimination of stickiness in pikeperch (*Sander lucioperca* L.) eggs under controlled conditions. Aquaculture Research 47: 3998–4003.
- Kristan, J., Zarski, D., Blecha, M., Polícar, T., Malinovskyi, O., Samarin, A.M., Palinska-Zarska, K., Nowosad, J., Krejszef, S., Kucharczyk, D., 2018. Fertilizing ability of gametes at different post-activation times and the sperm-oocyte-ratio in the artificial reproduction of pikeperch *Sander lucioperca*. Aquaculture Research 49: 1383–1388.
- Kucharczyk, D., Kujawa, R., Mamcarz, A., Skrzypczak, A., Wyszomirska, E., 1996. Induced spawning in perch, *Perca fluviatilis* L. using carp pituitary extract and HCG. Aquaculture Research 27: 847–852.
- Kucharczyk, D., Kujawa, R., Mamcarz, A., Skrzypczak, A., Wyszomirska, E., 1998a. Induced spawning in perch, *Perca fluviatilis* L., using FSH + LH with pimozide or metoclopramide. Aquaculture Research 29: 131–136.
- Kucharczyk, D., Mamcarz, A., Skrzypczak, A., Kujawa, R., Babiak, I., 1998b. Artificial spawning of burbot (*Lota lota* L.) under controlled conditions. European Aquaculture Society, Special Publication 26: 149–150.
- Kucharczyk, D., Szczerbowski, A., Łuczynski, M.J., Kujawa, R., Mamcarz, A., Wyszomirska, E., Szabo, T., Ratajski, S., 2001. Artificial spawning of Eurasian perch, *Perca fluviatilis* L. using Ovopel. Archives of Polish Fisheries 9: 39–49.
- Lahnsteiner, F., Weismann, T., Patzner, R.A., 1998. An efficient method for cryopreservation of testicular sperm from the northern pike, *Esox lucius* L. Aquaculture Research 29: 341–347.
- Lappalainen, J., Dorner, H., Wysujack, K., 2003. Reproduction biology of pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)) – a review. Ecology of Freshwater Fish 12: 95–106.
- Lepič, P., Hamáčková, J., Kouřil, J., Lepičová, A., Barth, T., 2005. Hormonálně indukovaný umělý výtěr jikernaček candáta obecného (*Sander lucioperca*). In: Spurný, P. (Ed.), Sborník VIII. České ichtyologické konference, MZLU Brno, s. 215–219.
- Linhart, O., Gela, D., Flajšhans, M., Rodina, M., 2000. Umělý výtěr lína obecného s použitím enzymu k odlepkování jiker. Edice Metodik, VÚRH JU, Vodňany, č. 65, 14 s.
- Linhart, O., Gela, D., Rodina, M., 2001. Umělý výtěr sumce velkého s využitím enzymu při odlepkování jiker. Edice Metodik, VÚRH JU, Vodňany, č. 70, 11 s.
- Lusk, S., Krčál, J., 1982. Štika obecná. Vydavatelství Naše vojsko, Praha, 54 s.
- Malinovskyi, O., Veselý, L., Blecha M., Kříšťan, J., Polícar T., 2018. The substrate selection and spawning behavior of pikeperch *Sander lucioperca* L. broodstock under pond conditions. Aquaculture Research 49: 3541–3547.
- Mañanós, E., Duncan, N., Mylonas, C., 2009. Chapter 1: Reproduction and control of ovulation, spermiation and spawning in cultured fish. In: Cabrita, E., Robles, V., Herráez, P. (Eds), Methods in Reproductive Aquaculture: Marine and Freshwater Species. CRC Press, Boca Raton, USA, pp. 3–80.
- Matejkova, J., Podhorec, P., 2019. Sustained drug delivery system in fish and the potential for use of PLGA microparticles: a review. Veterinarni Medicina 64: 287–293.

- Müller, W., 1960. Beiträge zur Biologie der Quappe (*Lota lota* L.) nach Untersuchungen in den Gewässern zwischen Elbe und Oder. Zeitschrift für Fischerei 9: 1-72.
- Müller-Belecka, A., Zienert, S., 2008. Out-of-season spawning of pike perch (*Sander lucioperca* L.) without the need for hormonal treatments. Aquaculture Research 39: 1279-1285.
- Musil, J., Kouřil, J., 2006. Řízená reprodukce candáta obecného a odchov jeho plůdku v rybnících. Edice Metodik, VÚRH JU, Vodňany, č. 76, 16 s.
- Muth, K., Smith, L.L.J., 1974. The burbot fishery in Lake of the Woods. Technical Bulletin, Agricul. Exp. Station. Univ. of Minnesota, USA, 68 pp.
- Naeem, M., Zuberi, A., Salam, A., Ashraf, M., Elahi, N., Ali, M., Ishtiaq, A., Malik, T., Khan, M.J., Ayaz, M.M., Iqbal, M.J., Ahmad, B., 2011. Induced spawning, fecundity, fertilization rate and hatching rate of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) by using a single intramuscular injection of ovaprim-C at a fish hatchery Faisalabad, Pakistan. African Journal of Biotechnology 10: 11048-11053.
- Peter, R.E., Yu, K.L., 1997. Neuroendocrine regulation of ovulation in fishes: basic and applied aspects. Reviews in Fish Biology and Fisheries 7: 173-197.
- Pfau, R., Procházka, M., Hanousek, V., 2012. Odlepkování jiker bolena dravého (*Aspius aspius*). Ověřená technologie. Mendelova univerzita v Brně, 12 s.
- Philippart, J.C., Mélard, Ch., Poncin, P., 1989. Intensive culture of the common barbel, *Barbus barbus* (L.) for restocking. In: De Pauw, N., Jaspers, E., Ackefors, H., Wilkins, N. (Eds), Abstract book from workshop "Aquaculture - a biotechnology in progress". European Aquaculture Society, pp. 483-491.
- Plaňanský, T., 2018. Odběr spermatu pomocí katetru a jeho využití při výtěru štiky obecné (*Esox lucius* L.). Diplomová práce, FROV JU, Vodňany, 90 s.
- Podhorec, P., Kouřil, J., 2009a. Hypothalamické faktory (GnRH a DA) a jejich využití k odstranění reprodukční dysfunkce u kaprovitých ryb (přehled). Bulletin VÚRH Vodňany 45: 10-17.
- Podhorec, P., Kouřil, J., 2009b. Induction of final oocyte maturation in Cyprinidae fish by hypothalamic factors: a review. Veterinární Medicína 54: 97-110.
- Podhorec, P., Socha, M., Sokolowska-Mikolajczyk, M., Policar, T., Svinger, V.W., Drozd, B., Kouril, J., 2012a. Dopamine control of LH release in tench (*Tinca tinca*). General and Comparative Endocrinology 175: 34-38.
- Podhorec, P., Socha, M., Sokolowska-Mikolajczyk, M., Policar, T., Svinger, V. W., Gosiewski, G., Kouba, A., Kouril, J., 2012b. The effects of water temperature and hormonal treatments on circulating LH and ovulation in tench (*Tinca tinca*). Reviews in Fish Biology and Fisheries 22: 791-796.
- Podhorec, P., Socha, M., Ben Ammar, I., Sokolowska-Mikolajczyk, M., Brzuska, E., Milla, S., Gosiewski, G., Stejskal, V., Šimko, M., Kouril, J., 2016. The effects of GnRH_a with and without dopamine antagonist on reproductive hormone levels and ovum viability in tench *Tinca tinca*. Aquaculture 465: 158-163.
- Podhorec, P., Gosiewski, G., Ben Ammar, I., Sokolowska-Mikolajczyk, M., Chyb, J., Milla, S., Boryshpolets, S., Rodina, V., Linhartova, Z., Policar, T., Biro, D., Kouril, J., 2017. The effect of GnRH_a with or without dopamine inhibitor on reproductive hormone secretion and sperm quality in tench *Tinca tinca*. Aquaculture 470: 91-94.
- Policar, T., 2012. Ověření technologie zaručující kvalitní a vyrovnanou produkci násadového materiálu štiky obecné. Technická zpráva z pilotního projektu č. CZ.1.25/3.4.00/11.00397, 37 s.
- Policar, T., Kozák, P., Hamáčková, J., Lepičová, A., Musil, J., Kouřil, J., 2007. Effects of short-time *Artemia* spp. feeding in larvae and different rearing environments in juveniles of common barbel (*Barbus barbus*) on their growth and survival under intensive controlled conditions. Aquatic Living Resources 20: 175-183.
- Policar, T., Toner, D., Alavi, S. M. H., Linhart, O., 2008a. Reproduction and Spawning. In: Rougeot, C., Toner, D., (Eds), Farming of Eurasian Perch. Special publication BIM 24, Dublin, Ireland, pp. 22-29.
- Policar, T., Kouřil, J., Stejskal, V., Hamáčková, J., 2008b. Induced ovulation of perch (*Perca fluviatilis* L.) by preparations containing GnRH_a with and without metoclopramide. Cybium 32: 308.

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

- Policar, T., Kouřil, J., Hamáčková, J., 2008c. Induced artificial and semiartificial spawning by Supergestran in perch (*Perca fluviatilis* L.) under different temperature. In: Fontaine, P., Kestemont, P., Teletchea, F., Wang, N., (Eds), Percid Fish Culture – From Research to Production. Namur, Belgium, pp. 124–125.
- Policar, T., Drozd, B., Kouřil, J., Hamáčková, J., Alavi, S.M.H., Vavrečka, A., Kozák, P., 2009a. Současný stav, umělá reprodukce a odchov násadového materiálu parmy obecné (*Barbus barbus* L.). Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 95, 43 s.
- Policar, T., Stejskal, V., Bláha, M., Alavi, S. M. H., Kouřil, J., 2009b. Technologie intenzivního chovu okouna říčního (*Perca fluviatilis* L.). Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 89, 51 s.
- Policar, 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.
- Policar, T., Podhorec, P., Stejskal, V., Kozák, P., Švinger, V., Alavi, S.M.H., 2011a. Growth and survival rates, puberty and fecundity in captive common barbel (*Barbus barbus* L.) under controlled conditions. Czech Journal of Animal Science 56: 433–442.
- Policar, T., Alavi, S., Stejskal, V., Křišťan, J., Kouřil, J., 2011b. Umělý a poloumělý výtěr okouna říčního (*Perca fluviatilis* L.) používaný k masové produkci embryí. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 117, 24 s.
- Policar, T., Bláha, M., Křišťan, J., Stejskal, V., 2011c. Kvalitní a vyrovnaná produkce rychleného plůdku candáta obecného (*Sander lucioperca*) v rybnících. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 110, 33 s.
- Policar, T., Blecha, M., Křišťan, J. 2014. Optimalizace umělé inkubace jiker u okouna říčního (*Perca fluviatilis* L.) v kontrolovaných podmínkách chovu. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 159, 33 s.
- Policar, T., Blecha, M., Křišťan, J., Svačina, P., 2015. Metody a postupy využívané v intenzivní akvakultuře. In: Velíšek, J., Kouba, A., Dvořáková, Z. (Eds), Potenciál recirkulačních akvakulturních systémů (RAS) pro české produkční rybářství. Sborník příspěvků z odborného semináře, 1.–2. září 2015, FROV JU, Vodňany, s. 62–77.
- Policar, T., Blecha, M., Křišťan, J., 2016. Hromadný poloumělý výtěr candáta obecného (*Sander lucioperca* L.) v recirkulačním akvakulturním systému. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 163, 24 s.
- Policar, T., Malinovskyi, O., Kristan, J., Stejskal, V., Samarin, A.M., 2019. Post-spawning bath treatments to reduce morbidity and mortality of pond-cultured pikeperch (*Sander lucioperca* L.) broodstock. Aquaculture International 27: 1065–1078.
- Poncin, P., 1989. Effects of different photoperiods on the reproduction of the barbel, *Barbus barbus* (L.) reared at constant temperature. Journal of Fish Biology 35: 395–400.
- Poncin, P., Mélard, Ch., Philippart, J., 1987. Use of temperature and photoperiod in the control of the reproduction of three European cyprinids: *Barbus barbus* (L.) *Leuciscus cephalus* (L.) and *Tinca tinca* (L.), reared in captivity – preliminary results. Bulletin Francis de la Pêche Pisciculture 304: 1–12.
- Profant, V., 2020. Výhody a další perspektivy využití smíšené obsádky pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) a mníka jednovousého (*Lota lota*) v podmínkách intenzivní akvakultury. Diplomová práce, FROV JU, Vodňany, 93 s.
- Prokeš, M., Peňáz, M., Kouřil, J., 1986. Rozmnožování mníka jednovousého *Lota lota* L. (Přehled). Bulletin VÚRH Vodňany 22: 21–26.
- Příborský, J., Velíšek, J., 2018. A review of three commonly used fish anesthetics. Reviews in Fisheries Science & Aquaculture 26: 417–442.
- Pšenička, M., Rodina, M., Linhartová, Z., Prášková, E., Shaliutina, O., 2015. Odlepkování jiker jeseterů pomocí chlornanu sodného. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 164, 22 s.
- Regenda, J., 2016. Chov doplňkových (vedlejších) druhů ryb. In: Hartman, P., Regenda, J. (Eds), Praktika v rybníkářství (2. vydání). FROV JU, Vodňany, s. 181–356.

- Rodina, M., Cosson, J., Gela, D., Linhart, O., 2004. Kurokura solution as immobilizing medium for spermatozoa of tench (*Tinca tinca* L.) Aquaculture International 12: 119–131.
- Rojdl, M., Kouřil, J., Hamáčková, J., 2000. Indukce ovulace jikernaček perlína (*Scardinius erythrophthalmus*) pomocí kapří hypofýzy a analogu GnRH. In: Mikešová, (Ed.), Sb. referátů IV. Česká ichtyologická konference, Vodňany, s. 253–257.
- Ronyai, A., 2007. Induced out-of-season and seasonal tank spawning and stripping of pikeperch (*Sander lucioperca* L.). Aquaculture Research 38: 1144–1151.
- Rougeot, C., Fontaine, P., Mandiki, S.M.N., 2008. Perch Description and Biology, In: Rougeot, C., Torner, D. (Eds), Farming of Euroasian Perch. Special publication BIM 24, pp. 12–15.
- Ruuhijarvi, J., Hyvarinen, P., 1996. The status of pikeperch in Finland. Journal of Applied Ichthyology 12: 185–188.
- Samarin, A.M., Blecha, M., Bytutsyky, D., Policar, T., 2015. Post-ovulatory oocyte ageing in pikeperch (*Sander lucioperca* L.) and its effect on egg viability rates and the occurrence of larval malformations and ploidy anomalies. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 15: 435–441.
- Schlumberger, O., Proteau, J. P., 1996. Reproduction of pike-perch (*Stizostedion lucioperca*) in captivity. Journal of Applied Ichthyology 12: 149–152.
- Schlumberger, W., Schmid, K., 1980. Vorläufiger Stand der Technologie zur Aufzucht von vorgestreckten Zander (*Stizostedion lucioperca*). Zeitschrift für die Bienen fisherei der DDR 27: 284–286. (in German).
- Steffens, W., Geldhauser, F., Gerstner, P., Hilge, V., 1996. German experiences in the propagation and rearing of fingerling pikeperch (*Stizostedion lucioperca*). Annales Zoologici Fennici 33: 627–634.
- Svinger, V.W., Policar, T., Kallert, D.M., Kouřil, J., 2013a. Effects of salmon gonadotropin-releasing hormone analog (GnRH_a) on reproductive success and egg size in rainbow trout and brook trout. North American Journal of Aquaculture 75: 474–486.
- Svinger, V.W., Policar, T., Steinbach, Ch., Polakova, S., Jankovych, A., Kouril, J., 2013b. Synchronization of ovulation in brook charr (*Salvelinus fontinalis*, Mitchell 1814) using emulsified α -Arg₃Pro₃ NET sGnRH_a. Aquaculture International 21: 783–799.
- Szczerbowski, A., Kucharczyk, D., Mamcarz, A., Łuczyński, M., Targońska, K., Kujawa, R., 2009. Artificial off-season spawning of eurasian perch *Perca fluviatilis* L. Archives of Polish Fisheries 17: 95–98.
- Švinger, V.W., Kouřil, J., 2012. Hormonálně řízená reprodukce lososovitých ryb. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 123, 54 s.
- Švinger, V.W., Bondarenko, V., Kallert, D.M., Policar, T., 2012. Vliv dvou metod hypofyzace na kvalitu jiker u štiky obecné (*Esox lucius*). Bulletin VÚRH Vodňany 49: 21–33.
- Targońska, K., Szczerbowski, A., Zarski, D., Łuczyński, M., Szkudlarek, M., Gomułka, P., Kucharczyk, D., 2014. Comparison of different spawning agents in artificial out-of-season spawning of Eurasian perch, *Perca fluviatilis* L. Aquaculture Research 45: 765–767.
- Teletchea, F., Fontaine, P., 2014. Levels of domestication in fish: implications for the sustainable future of Aquaculture. Fish and Fisheries 15: 181–195.
- Teletchea, F., Gardeur, J. N., Psenicka, M., Kaspar, V., Le Doré, Y., Linhart, O., Fontaine, P., 2009. Effects of four factors on the quality of male reproductive cycle in pikeperch *Sander lucioperca*. Aquaculture 291: 217–223.
- Vavrečka, A., 2008. Reprodukce parmy obecné (*Barbus barbus* L.) v kontrolovaných podmínkách. Diplomová práce, ZF JU, České Budějovice, 50 s.
- Vostradovský, J., Váša, J., 1981. Bolen dravý (*Aspius aspius* L.) – nový objekt umělého chovu. Buletin VURH Vodňany 3: 10–13.
- Wang, N., Teletchea, F., Kestemont, P., Milla, S., Fontaine, P., 2010. Photothermal control of the reproductive cycle in temperate fishes. Reviews in Aquaculture 2: 209–222.
- Watzek, J., 2010. Umělý výtěr podoustve říční pomocí hormonální stimulace a manipulace s prostředím. Bakalářská práce. FROV JU, Vodňany, 46 s.

HORMONÁLNÍ STIMULACE VYBRANÝCH DRUHŮ RYB K UMĚLÉMU A POLOUMĚLÉMU VÝTĚRU

- Westers, H., Stickney, R.R., 1993. Northern pike and muskellunge. In: Stickney R.R. (Ed.), Culture of Nonsalmonid Freshwater Fishes (2. Ed.). CRC Press, Boca Raton, USA, pp. 199–213.
- Yaron, Z., Sivan, B., Drori, S., Kulikovski, Z., 2002. Spawning induction in Cyprinids: hypophyseal and hypothalamic approaches. Bulletin VÚRH Vodňany 38: 181–193.
- Zakes, Z., 2007. Out-of-season spawning of cultured pikeperch *Sander lucioperca* (L.). Aquaculture Research 38: 1419–1427.
- Zakes, Z., Szczepkowski, M., 2004. Induction of out-of-season spawning of pikeperch, *Sander lucioperca* (L.). Aquaculture International 12: 11–18.
- Zakes, Z., Demska-Zakes, K., 2005. Artificial spawning of pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)) stimulated with human chorionic gonadotropin (hCG) and mammalian GnRH analogue with a dopamine inhibitor. Archives of Polish Fisheries 13: 63–75.
- Zakes, Z., Demska-Zakes, K., 2009. Controlled reproduction of pikeperch *Sander lucioperca* (L.): a review. Archives of Polish Fisheries 17: 153–170.
- Zakes, Z., Demska-Zakes, K., Roszuk, K., Kowalska, A., 2006. Removing adhesiveness from pikeperch eggs using tannin and protease. In: Zakes, Z., Demska-Zakes, K., Wolnicki, J. (Eds), Reproduction, Rearing and Prophylactics of Cyprinid Fish and Other Species. IRS, Olsztyn, Poland, pp. 234–249. (in Polish)
- Zarski, D., Bokor, Z., Kotrik, L., Urbanyi, B., Horvath, A., Targońska, K., Krejszef, S., Palińska, K., Kucharczyk, D., 2011a. A new classification of a preovulatory oocyte maturation stage suitable for the synchronization of ovulation in controlled reproduction of Eurasian perch, *Perca fluviatilis* L. Reproductive Biology 3: 194–209.
- Zarski, D., Palińska, K., Targońska, K., Bokor, Z., Kotrik, L., Krejszef, S., Kupren, K., Horvath, A., Urbanyi, B., Kucharczyk, D., 2011b. Oocyte quality indicators in Eurasian perch, *Perca fluviatilis* L., during reproduction under controlled conditions. Aquaculture 313: 84–91.
- Zarski, D., Krejszef, S., Palińska, K., Targońska, K., Kupren, K., Fontaine, P., Kestemont, P., Kucharczyk, D., 2012a. Cortical reaction as an egg quality indicator in artificial reproduction of pikeperch, *Sander lucioperca*. Reproduction, Fertility and Development 24: 843–850.
- Zarski, D., Kucharczyk, D., Targońska, K., Palińska, K., Kupren, K., Fontaine, P., Kestemont, P., 2012b. A new classification of pre-ovulatory oocyte maturation stages in pikeperch, *Sander lucioperca* (L.), and its application during artificial reproduction. Aquaculture Research 43: 713–721.
- Zarski, D., Horváth, A., Held, J. A., Kucharczyk, D., 2015. Artificial reproduction of percid fishes. In: Kestemont, P., Dabrowski, K., Summerfelt, R.C. (Eds), Biology and Culture of Percid Fishes – Principles and Practices. Springer, New York, USA, pp. 123–161.
- Zohar, Y., Mylonas, C.C., 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. Aquaculture 197: 99–136.

Interní odborný oponent

Ing. Ján Regenda, Ph.D., Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz, Ústav akvakultury a ochrany vod, Na Sádkách 1780, České Budějovice, www.frov.jcu.cz

Externí odborný oponent

prof. Dr. Ing. Jan Mareš, Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, Zemědělská 1, Brno 613 00, www.af.mendelu.cz

Adresy autorského kolektivu

prof. Ing. Jan Kouřil, Ph.D., Ing. Vlastimil Stejskal, Ph.D., Mgr. Peter Podhorec, Ph.D., Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz, Ústav akvakultury a ochrany vod, Husova tř. 458/102, 370 05 České Budějovice, www.frov.jcu.cz

doc. Ing. Tomáš Polícar, 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

Poděkování

Autoři děkují za pomoc spolupracovníkům FROV JU Vodňany, zejména Ing. Jitce Hamáčkové, Ing. Davidu Gelovi, Ph.D., Ing. Marku Rodinovi, Ph.D., a Ing. Pavlu Lepičovi, Ph.D., dále pak Ing. Andree Lepičové a prof. Ing. Pavlu Kozákovi, Ph.D.

Dále autoři děkují za pomoc externím spolupracovníkům, především Janu Klimešovi, Ing. Richardu Vachtovi, Ing. Radku Luhanovi, Vladimíru Mrkvanovi, Vladimíru Lehečkovi, Jaromíru Kotrchovi, Václavu Horákovi a dalším.

*V edici Metodik (Technologická řada) vydala Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod,
odborný editor: prof. Ing. Martin Flajšhans, Dr.rer.agr.,
redakce: Zuzana Dvořáková, náklad: 200 ks,*

*1. vydání technologie uplatněna v roce 2018, vydána v roce 2020
Grafický design a technická realizace: Jesenické nakladatelství Jena Šumperk*