

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta

Ověření různých způsobů reprodukce laboratorní ryby *Danio rerio*

bakalářská práce

Jana Komendová

vedoucí práce

doc. RNDr. Ing. Josef Rajchard, Ph.D.

České Budějovice 2009

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

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě, fakultou elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích dne 16. 4. 2009

.....
Jana Komendová

Děkuji svému vedoucímu práce doc. RNDr. Ing. Josefu Rajchardovi Ph.D. za odborné vedení, které mně poskytl v průběhu zpracování bakalářské práce.

Dále bych chtěla poděkovat Václavu Němcovi za pomoc s péčí o ryby.

Mé poděkování patří také Bc. Šárce Svobodové za obětavou pomoc s textovými úpravami.

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

Jméno a příjmení: **Jana KOMENDO VÁ**

Studijní program: **B4103 Zootechnika**

Studijní obor: **Rybářství**

Název tématu: **Ověření různých způsobů reprodukce laboratorní ryby
Danio rerio.**

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

Zásady zpracování:

1. Sumarizace dosavadních výsledků, týkajících se podmínek a metod reprodukce Danio rerio v akvarijských chovech.
2. Experimentální porovnání efektivity párového a skupinového výtěru při zachování srovnatelných ostatních podmínek..
3. Ověření vlivu vybraných fyzikálně chemických faktorů na úspěšnost výtěru.
4. Vyhodnocení získaných výsledků a návrh metodiky efektivního výtěru Danio rerio.

Rozsah grafických prací: 10 str. příloh a tabulek
Rozsah pracovní zprávy: 30 stran textu
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná

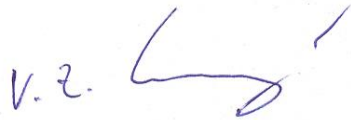
Seznam odborné literatury:

Doporučená literatura: Hofmann J., Novák, J. (1996): Akvaristika: Jak chovat tropické ryby jinak a lépe, Praha, X- EGEM , NOVA, s.r.o., 197 s.
Frank, S. (2000): Sladkovodní akvaristika, Praha, Ottovo nakladatelství, 250 s.
Hartman, P., Příkryl, I., Štědranský, E. (1998): Hydrobiologie. Praha, In-Informatorium, 335 s.

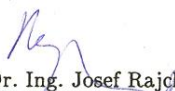
Vedoucí bakalářské práce: **doc. RNDr. Ing. Josef Rajchard, Ph.D.**
Katedra biologických disciplin

Datum zadání bakalářské práce: **15. února 2008**

Termín odevzdání bakalářské práce: **30. dubna 2009**


prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studenteká 13
370 05 České Budějovice


doc. RNDr. Ing. Josef Rajchard, Ph.D.
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 28. února 2008

Obsah:

1. Úvod	9
2. Cíl práce	10
3. Literární přehled	11
3. 1. Taxonomické zařazení <i>Danio rerio</i>	11
3. 2. Výskyt	12
3. 3. Nároky na chov	12
3. 3. 1. pH	12
3. 3. 2. Teplota	12
3. 3. 3. Tvrdost vody	12
3. 3. 4. Potrava	12
3. 4. Reprodukce	13
3. 4. 1. Oplození a embryonální vývoj	14
3. 5. Genetický plemenný program	14
3. 6. Efekty ovlivňující chování jedince a skupiny	15
4. Metodika	17
4. 1. Chov ryb určených k pokusům	17
4. 2. Vytírací nádrže	17
4. 3. Voda	17
4. 4. Výtěr a počítání jiker	18
4. 5. Zpracování výsledků	19
5. Výsledky	20
5. 1. Úspěšnost oplození	20
5. 2. Počet jiker na samici	21
5. 3. Závislost úspěšnosti oplození na poměru samců v hejně	22
5. 4. Závislost přežití jiker na počtu ryb	23
5. 5. Celková bodová úspěšnost různých poměrů pohlaví	24

5.6. Mortalita jiker v průběhu dní	25
6. Diskuze	26
7. Závěr	27
8. Seznam použité literatury	28
9. Příloha	32

Abstrakt

Danio rerio je často používané v laboratořích celého světa ve velkém množství oborů. Poptávka po této akvarijní rybě je předpokladem pro vybudování přesného systému jejího rozmnožování.

Úkolem této práce bylo zjistit nejvhodnější poměr pohlaví použitý pro rozmnožování *Danio rerio*. Pokusy byly prováděny na sedmi poměrech pohlaví, které vyjadřovali rozdíly mezi velkými a malými hejny.

Samci a samice byli chováni odděleně. Na vytření byly použity ryby v konkrétních poměrech. Jikry byly po výtěru spočítány. Velká hejna potřebovala delší čas na výtěr. Hejna s jednou samicí byla ve vytírací nádrži jeden den. Malá hejna byla ponechána na vytření dva dny, velká tři dny. Výsledky byly následně zpracovány do grafů.

V pokusech byl zjištěn největší úspěch při výtěru u poměru jeden samec na jednu samici. Velká hejna se nejevila ekonomicky. Velký počet ryb negativně ovlivňoval počet jiker na jednu samici v hejnu.

Klíčová slova: *Danio rerio*, poměr pohlaví, malá hejna, velká hejna, jikry

Abstract

Danio rerio is often used in laboratories all over the world in varieties of fields. The demand for this fish is the precondition for building up a perfect system of its reproduction.

The aim of the work was to find out the most suitable rate between the sexes of *Danio rerio* used for reproduction. The experiments were carried out on seven rates of sexes who represented the differences between big and small shoals.

Males and females were rear separately. Fish in specific rates were used to spawn. The spawn were counted. Big shoals with one female stoned in the spawn aquarium for one day. Little shoals for two days, the big ones for three days. The results were put in graphs.

The most successful spawn was considered the one with the rate of one male to one female. Big shoals didn't appear to be economic. The big number of fish had negative influence on the number of the spawn of one female of the shoal.

Keywords: *Danio rerio*, rates of sexes, little shoals, big shoals, spawn

1. Úvod

Danio rerio je jednou z nejpoužívanějších akvariálních ryb pro vědecké účely. V dnešní době je používáno v mnoha výzkumech a to v oborech jako např. genetika, medicína, biologie, ekologie, etologie, gerontologie a další. Tato ryba má pro vědce mnohé výhody nejrůznějšího rázu. Je malá, odolná a nenáročnost na chov by mohlo být její druhé jméno. Reprodukce této ryby není složitá, umění dánía vydržet i ty nejsurovější amatérské chyby chovatele je neuvěřitelné.

Souhrnné informace o rozmnožování dánía není snadné najít. Tato ryba se rozmnožuje v zajetí již několik desítek let, aniž by vznikla potřeba pro vznik přesné metodiky její reprodukce. Je to zřejmě způsobeno jejími malými nároky na chov, které dovolují velké rozpětí fyzikálně – chemických parametrů tak, že se tato ryba množí velmi dobře za různorodých podmínek.

O dánío je zájem i z hlediska jeho chování. Slouží často jako modelová ryba pro výzkum týkající se složení a fungování hejn. Přesnější informace o reprodukci této ryby by umožnily využít plně její reprodukční potenciál. Tato práce byla zaměřena na reprodukci *Danio rerio* z hlediska poměru pohlaví v hejnu určenému k výtěru a z hlediska velikosti tohoto hejna.

2. Cíl práce

Cílem práce bylo:

- Zjistit neekonomičtější způsob rozmnožování *Danio rerio*.
- Pokusy ověřit úspěšnost výtěru hejn různých velikostí, od dvou do třiceti ryb.
- Porovnat úspěšnost výtěrů různých poměrů pohlaví v hejnu.

3. Literární přehled

3. 1. Taxonomické zařazení *Danio rerio*

Nadtřída: Ryby kostnaté (*Osteichthyes*)

Třída: Paprskoploutví (*Actinopterygii*)

Nadřád: Kostnatí (*Teleostei*)

Řád: Máloostní (*Cypriniiformes*)

Čeleď: Kaprovití (*Cyprinidae*)

Danio rerio (Hamilton, Buchanan, 1822) patří do čeledi *Cyprinidae*. Znaky této čeledi jsou neozubené čelisti, požerákové zuby, dvoudílný plynový měchýř, vysouvateľná ústa bez vousků nebo maximálně s 1 – 2 páry. Šupiny jsou buď cykloidní, nebo chybí. Kaprovité ryby obývají Evropu, Afriku, Asii a Severní Ameriku. Velké množství druhů je uměle vysazováno (Hanel, 2004).

Rod: *Danio*

Danio rerio bývá v různé literatuře označováno také jako *Brachydanio*. Systematické postavení rodu *Danio* a *Brachydanio* je nejasné, někteří autoři považují rody za samostatné, jiní uznávají jen jeden, a to sice *Danio* se třemi podrody: *Danio*, *Brachydanio*, *Allodanio*. Některé druhy se navíc neshodují anatomicky ani morfologicky, s žádným z podrodů. Často se stane, že stejný druh je v každé lokalitě značně proměnlivý. To se týká hlavně některých meristických znaků (Frank, 2000).

Druh: *Danio rerio*

Standardní přírodní forma je krátkoploutvá s modrými pruhy na stříbrozlatém podkladě, ale často lze vidět dánia formy závojové a různě zbarvené. Dánio dosahuje velikosti 3 – 4 cm (Frank, 2000). Díky krátké generaci je dánio ideálním materiálem pro šlechtění a pro vědecké účely. Dánio je také schopné vysoké regenerace tělních buněk (Nechiporuk et al., 2003).

3. 2. Výskyt

Danio rerio obývá řeky a potoky jižní a jihovýchodní Asie. Pro toto území je charakteristické jasné rozdělení období dešťů a sucha. To má jednoznačný vliv na fyzikální a chemické parametry vody, ve které by měly být ryby z této části Asie chovány. Dánio se vyskytuje na široké škále lokalit např. rýžová pole, umělé rybníčky, zavodňovací kanály, horní toky řek, ale i rychle tekoucí vody (Menon, 1999, Daniels, 2000, Bhat, 2003).

3. 3. Nároky na chov

3. 3. 1. pH

Optimální hodnota pH pro dánio není příliš jednoznačná. V přírodě obývá často vody alkalické s pH 8 (Lawrence et al., 2008). Autoři nejsou v tomto ohledu zajedno. Např. pH 6 – 6, 5 (Alderton, 2006) a pH 6, 5 – 7 (Hanel, 2004), nebo pH 6 – 8 (Lawrence et al., 2008).

3. 3. 2. Teplota

Teplotní rozpětí pro přežití dánia je od 6,7 do 41 °C (Cortemeglia, Beitinger, 2005, Schaefer, Ryan, 2006). Přesto že v přírodě žijí v lokalitách teplotně velmi odlišných, standardní a doporučená teplota pro chov je 24 - 30 °C (Matthews et al., 2002).

3. 3. 3. Tvrdost vody

Voda může obsahovat až 100 mg/l CaCO₃ (Lawrence et al., 2008). Byla prokázána nepříliš velká obliba dánia k měkkým vodám. V lokalitách, které dánio obývá se nízký stav vápníku obvykle nevyskytuje (Chen et al., 2003). I alkalita vyskytující se v těchto třech člancích (Payne et al., 2003, McClure et al., 2006, Spence, Smith, 2006) naznačuje výskyt dánia ve vodách s vápenitou povahou podloží. Firma ZIRC produkující dánia pro laboratorní účely uvádí vodivost 500 µS.

3. 3. 4. Potrava

Dánio je všežravé, živí se širokou škálou bentických a planktonních korýšů včetně larev hmyzu (Dutta, 1993, Spence, Smith, 2005). Tato vlastnost vedla k tendenci použít ho k redukci dvoukřídlého hmyzu přenášejícího infekce v různých oblastech (Shrestha, 1990). Pro chov je důležitý jeho velmi dobrý návyk na umělou potravu (Hanel, 2002).

3. 4. Reprodukce

Mezi faktory ovlivňující průběh vytření patří roční doba, teplota a kvalita vody, světelné podmínky, kvalita a kvantita potravy. Spouštěcím mechanismem pro mnoho ryb tropických oblastí jsou změny vyvolané deštěm, jako např. změna chemicko-fyzikálních vlastností vody.

Pohlavní dospělost dosahují dánia v 3-4 měsících (Westerfield, 2000). Samec od samice se liší pouze tvarem těla. Samice je kulatější (obr. 1). Vytírají se volně do vodního sloupce. Pokud nejsou jikry odneseny proudem nebo nezapadnou mezi rostliny či terén, dospělé ryby je pozřou. Proto je nutné v chovu použít rošt, kterým vypuštěné jikry propadnou (Hanel, 2004).

Kaprovité ryby se v přirozených podmínkách vytírají vesměs v hejnech, případně ve skupinkách. Velmi často se stává, že jedna připravená samice je pronásledována několika samci a potomstvo této samice je pak potomstvem mnoha samců. Hromadný výtěr lze ve společenském akváriu běžně pozorovat. V racionálním chovu však nelze takto postupovat (Novák, 2008).

Pro ekonomické odchovy jsou vhodné větší vytíračky (nad 15 litrů) a nasazuje se k vytření pouze jeden pár (Novák, 2008). Velmi často je možné se setkat s nasazováním více samců na jednu samici. Důvodem může být dokonalé vyprázdnění samice a zabránění tak zatvrdnutí nevytřených jiker (Hanel, 2004).

Třetí období jsou za rok obvykle dvě a během každého z nich se samice tře několikrát s asi desetidenními přestávkami. Důležité vybavení vytíraček jsou i rostliny, nezbytný je však vytírací rošt (Novák, 2008). Výtěr je prudký a akvárium je potřeba přikrýt, z důvodu zabránění výskoku ryb (Hanel, 2004).

Množství jiker se samozřejmě mění během života ryby. Jejich počet kolísá v závislosti na růstu ryby do délky a váhovém přírůstku. Kvalita pohlavních produktů se tak mění zároveň s kvalitou prostředí, které ryba obývá (Frank, 1977).

Dánia jsou nenáročná na kvalitu vody ve vytíracích nádržích. Lze je rozmnožit i v běžné vodovodní vodě, pokud není tvrdá. Vývoj jiker a líhnutí embryí probíhá v podmínkách dGH 6-8 °N, dKH 2-4 °N a pH 6,2 - 7,0. Tyto vlastnosti má voda nezatížená odpadními látkami, ve které rostla nějakou dobu měchýřka jávská (*Vesicularia dubyana*) nebo hnědovka křídlatá (*Microsorium pteropus*). Vodu lze samozřejmě upravit na lepší parametry, smícháním s vodou měkčí, převařením, nebo přidáním stabilizátoru na bázi huminových látek (Novák, 2008).

3. 4. 1. Oplození a embryonální vývoj

Z počtu nakladených jiker se běžně v tocích dostane k dalším fázím vývoje jen jejich nepatrná část. Některé jikry mohou být vypuštěny samicí ještě před samotným vytřením. Další část může zůstat uvnitř samice, kde se resorbuje, nebo případně zatvrdne (Frank, 1977, Hanel, 2004).

Velikost jiker ve vaječníku není závislá jen na stupni jejich zralosti, ale mění se i s velikostí samice. Pro kvalitu pohlavních produktů je však velmi důležité složení potravy jejich rodičů (Frank, 1977).

Rozhodující vliv na vývoj jiker má i chemismus vody, teplota a případně světlo. Výtěrová voda pro většinu kaprovitých ryb byla popsána výše. Tato voda je vhodná i pro vývoj jiker dánia. Rychlost vývoje je vždy ovlivněna výrazně teplotou a také určitým množstvím hodinových či denních stupňů.

Po splnutí pohlavních buněk se začne jikra vyvíjet. Zárodek postupně obrůstá žloutek, z něhož jsou embryem čerpány následně živiny. Neoplozené jikry se většinou do šesti hodin po výtěru jeví jako bílé a jsou napadeny plísněmi nebo bakteriemi a následně podléhají rychlému rozkladu.

Oplozené jikry zůstávají čiré, s terčíkem zárodka na jednom z pólů. S postupujícím vývojem se zárodek prodlužuje a začínají být patrné tmavé oči, toto stádium se nazývá obdobím očních bodů. Toto období je zlomem, a pokud se embryo podaří dospět až k němu, je vysoká pravděpodobnost následného úspěšného vykulení. Pokud je vývojová voda nevhodná, zárodky odumřou ještě před touto fází (Drahotušský, Novák, 2006).

Po vytření je třeba ryby co nejdříve odlovit. To zajistí hygienu vytírací nádrže. Plůdek se vykulí při teplotě 26 °C až za tři dny. Rozplavává se po 5 - 6 dnech (Hanel, 2004).

3. 5. Genetický plemenný program

Populace dánia množená v běžných akvarijních chovech, velkých firmách, ale i drobných chovatelů neustále podléhá nepřetržité ztrátě genetické diverzity, to má nepříznivý efekt na genetický drift a následně vzniká efekt hrdla láhve. Těmto vlivům podléhají víceméně všechna laboratorní zvířata v uzavřených chovech. Dochází k ztrátě heterozygotnosti. Tyto evoluční procesy, zesílené izolací generačních ryb z jejich domoviny, vedou ke snížení produkce a životaschopnosti.

Členové společností, zabývající se dániem, si již dlouho všímají, že schopnost udržení vysoce kvalitního, geneticky jednotného, standardního typu laboratorního dánia po dlouhou dobu je důležitá pro použití zvířete jako experimentálního modelu. Zebrafish International Resource Center (ZIRC) založené v roce 1998, z části pomohla s tímto požadavkem, množí a šíří standardní typ výzkumným skupinám z celého světa, ačkoli nezveřejnili detaily jejich genetického plemenného programu. Bohužel je stále nejasné, zda další společnosti šířící laboratorní ryby, např. Tuerbingen, Londýn, používají stejný plemenný program, nebo jestli dochází ke křížení ryb z těchto tří zařízení. Dalším problémem je i to, že každá firma produkuje a následně distribuuje na trh vlastní verze "standardního" typu dánia.

Špatná koordinace šlechtění a distribuce zdůrazňuje potřebu vzniku standardu divokého typu, mutanta a transgenického dánia. Neshody mezi distributory by měly být minimalizovány a měl by být vyvinut oficiální protokol standardů pro údržbu genetické integrity laboratorních linií dánia určeného pro výzkum (Lawrence et al., 2008).

3. 6. Efekty ovlivňující chování jedince a skupiny

Danio rerio je rybou, která se běžně v přírodě vyskytuje v malých skupinách o velikosti max. 6 jedinců (McRobert, Brandner, 1998).

Volba hejna je pro život ryb důležitá. Může ovlivnit přežití a reprodukční úspěch. Faktory mající vliv na hejnové složení zahrnují zbarvení (McRobert, Brandner, 1998), kvalitu pohlavních orgánů a s tím spojenou kvalitu a velikost pohlavních produktů (Hoare et al., 2001), velikost hejna (Hager, Helfman, 1991).

Nejen početnost hejna, ale i poměr pohlaví v něm ovlivňuje chování dánia. Je dokázáno, že samec dánia dává přednost menšímu hejnu samic, popřípadě smíšenému hejnu, početné samičí hejno jej ale neláká. Samice oproti němu dává přednost hejnu velkému a to bez ohledu na jeho složení co se týče pohlaví. Samci oproti samicím nevyhledávají velká hejna (Ruhl, McRobert, 2005).

Faktory ovlivňující výběr hejna rybou jsou pouze vizuální (Ruhl, McRobert, 2005). Mohlo by se zdát potom zvláštní, že orientace pruhu není pro dánio natolik významná. Ryby reagují stejně dobře na svislý vzor jako na podélné pruhování. Důležité jsou pro ně ovšem pruhy, jiné vzory, např. tečkování, nejsou přijímány tak pozitivně. Důležitá je ovšem také barva. To souvisí s různými mutacemi dánií.

Výsledky studií ukázali preferenci pro žluté pruhování spíše než pro červené (Saverino, Gerlai, 2008).

Důležité je uvědomit si jak velký význam má i zkušenost ryby. Všechny pokusy s preferencí ryb k různým jedincům jsou totiž významně ovlivněny zkušenostmi od jejich narození. Z toho vyplývá, že pokud dáanio s jedincem, který má pro nás nestandardní vzor, vyrůstalo, nebude mít problém s jeho přijetím (Engeszer, et al., 2007). O tom svědčí v přírodě i soužití s jinými druhy ryb a vícedruhová hejna (Engeszer, et al., 2007).

I mezi dánií existuje rivalita. Samice dánia jsou vybíravé ohledně místa pro vytření, týká se to hlavně hojnosti potravy nebo oblíbenosti dánií v porostu, u kterého obvykle vytření probíhá. Někteří samci jsou proto během vytření teritoriální (Spence, Smith, 2005).

Jako u jiných druhů i u dánia byla prokázána náklonnost samic k větším samcům (Pyron, 2003), po těchto závěrech je pak ovšem zarážející skutečnost, že samice nutně nevyžaduje velkého teritoriálního samce (Spence, Smith, 2006). A tak pokud se dva velcí samci přetahují o lepší místo, často se stane, že dá samice přednost třetímu samci, který tuto dominanci neprojevuje. Některé samice jsou dokonce věrné určitým samcům a s těmi se pak následovně nejlépe třou (Hanel, 2004).

4. Metodika

4. 1. Chov ryb určených k pokusům

K pokusům byly použity ryby od tří různých chovatelů. Ryby byly nasazovány na výtěr od jednoho roku života. Byly chovány ve dvou 60 litrových nádržích opatřených běžným, vzduchem poháněným molitanovým filtrem. Chovné akvárium bylo zařízeno bez substrátu, pouze s plovoucími a přivázanými rostlinami (*Microsorium pteropus*, *Riccia fluitans*, *Ceratophyllum demersum*). V každém akváriu bylo chováno po 20 kusech, zvláště samci a zvláště samice. Jako krmení bylo použito komplexní vločkové krmivo značky Sera - Vipan a mražený plankton.

4. 2. Vytírací nádrže

Nádrže, určené pro rozmnožování, velikosti 30 x 50 x 25 cm, byly napuštěny do dvou třetin odstátou pitnou vodou a třetina vody byla použita z chovného akvária. Pro hejno v poměru 10♀+20♂ byla vytírací nádrž z důvodu množství ryb 2x větší, hloubka vody byla dodržena stejná jako u vytíracích nádrží pro menší počet ryb. Voda dosahovala hloubky 20 cm. Dno vytíracího akvária bylo podloženo dvěma papíry zelené barvy s natištěnou mřížkou (1,5 x 1,5 cm) pro usnadnění následného počítání jiker. Do nádrže bylo zavedeno běžné vzduchování. Poté byl umístěn třecí koš z umělé hmoty (obr. 2).

4. 3. Voda

Jako zdroj vody byla použita běžná pitná voda. Chovné akvárium, o objemu 60 litrů, bylo odkaleno jednou za 10 dní. Při této činnosti bylo odsáto 20 litrů vody. Ty byly nahrazeny čerstvou vodou upravenou přípravkem od firmy Rataj – Antistres. Dávkování bylo použito dle návodu a to 100 ml na 200 l. Jedná se o komplex přírodních látek snižujících stres při manipulaci s rybami. Přípravek zmírňuje nepříznivý vliv čerstvé vodovodní vody. Obsahuje výluh z kokosové rašeliny, mangrovového dřeva a dodává do vody komplex koloidů a stopových látek, které nejsou obsaženy ve vodovodní vodě. Huminové kyseliny z vláknité rašeliny upravují pH vody do optimální oblasti. Tanin tlumí škodlivé mikroorganismy v akváriu a působí tak preventivně proti případnému onemocnění ryb plísněmi a bakteriemi.

Teplota vody v chovné i ve vytíracích nádržích byla 24 °C. Kvalita vody byla zjištěna pomocí běžných akvarijních testů od firmy Sera (pH Test, gH Test, kH Test, Nitrat - NO³ Test, Phosphat PO⁴ Test). Vodivost byla měřena multiparametrickou sondou Magic XBM Meazura MEZ 1000 vyrobenou firmou Gryf. Výsledky testů byly zaznamenány do přílohy (tabulka 7).

4. 4. Výtěr a počítání jiker

Po přípravě vytírací nádrže byly umístěny do vytíracího koše ryby (jeden den hladové) v konkrétním poměru uvedeném v příloze (tabulka 8). Bylo nutno použít klasický pár, už z důvodu srovnání vůči ostatním skupinám, následně velmi často propagovaný poměr dvou samců na samici. Dvě samice na samce byly nasazeny pro zjištění efektivnosti na základě informací získaných od Zebrafish International Resource Center (ZIRC). Jako zástupce malých skupin byl použit poměr dvou samců na dvě samice a pět samců na pět samic. Tyto poměry byly ve své podstatě inspirovány přírodou. Mezi velké skupiny pak byly zařazeny poměry: pět samic na deset samců a deset samic na dvacet samců. Ryby byly nasazovány každých deset dní.

Tato činnost byla provedena v odpoledních hodinách, tzn. den před samotným výtěrem. Ryby byly v koši ponechány 1 – 3 dny, podle průběhu výtěru. Následně, 6 hodin po výtěru, byly jikry spočítány za pomoci mřížky. Pokud byly jikry umístěny pod třecím hejnem více dnů, byly mrtvé jikry počítány průběžně, a to každý den jednou. Dva dny byla ponechána ve vytírací nádrži hejna o poměrech 2♀+2♂, 2♀+1♂, 5♀+10♂, 5♀+5♂. Tři dny bylo ve vytírací nádrži ponecháno hejno 10♀+20♂. Delší dobu než jeden den musela být hejna ve vytíracím koši z důvodu porovnatelnosti získaných hodnot s hejny ostatními.

Všechny pokusy byly provedeny v průběhu měsíců října, listopadu, prosince a ledna.

4. 5. Zpracování výsledků

Zpracování výsledků do grafů a tabulek bylo provedeno v programu Microsoft Office Excel 2007. Hodnoty v kapitole výsledky byly již přepočítané tímto programem. Procenta, která jsou uvedena, byla získána z aritmetických průměrů počítání jiker. Bodové ohodnocení výtěrů bylo provedeno na základě výsledků úspěšnosti oplození (tabulka 1) a počtu jiker na samici (tabulka 2). Přičemž nejvyšší číslo získalo 10 bodů a nejhorší 0 bodů. Zbytek hodnot byl následně dopočítán v programu Excel.

Pokusy byly opakovány pětkrát.

živé jikry (%) – aritmetický průměr z pěti pokusů na jednom třecím hejnu přepočítaný na procenta přežitých jiker. U poměrů $1♀+1♂$, $1♀+2♂$ byly výsledky získány první den. U hejn $2♀+1♂$, $2♀+2♂$, $5♀+5♂$, $5♀+10♂$ byly výsledky z druhého dne a u poměru $10♀+20♂$ byly k výpočtům použity výsledky z třetího dne.

jikry/počet samic – aritmetický průměr z pěti pokusů na jednom třecím hejnu z počtu všech jiker dělený počtem samic.

poměr samců na samice – počet samců dělený počtem samic.

denní mortalita jiker (%) – aritmetický průměr počtu mrtvých jiker získaný za jeden den pokusu přepočítaný na procenta.

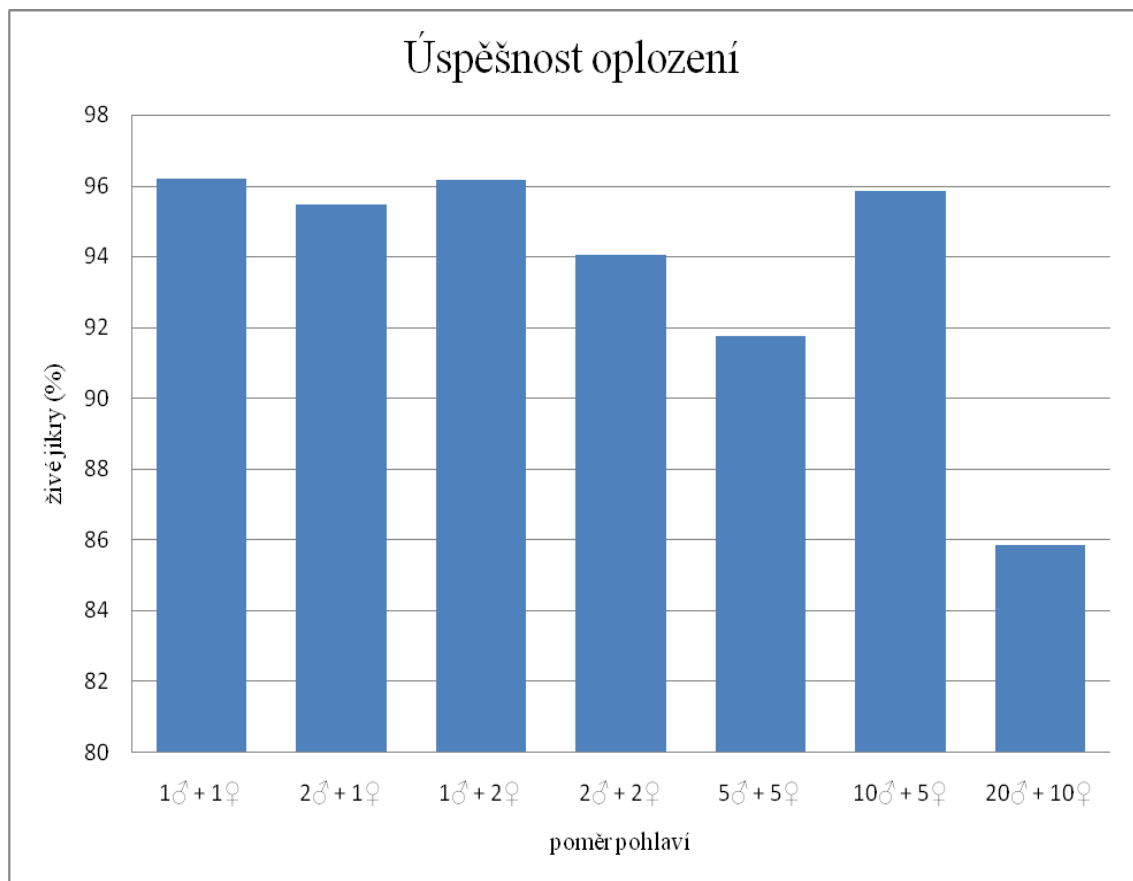
5. Výsledky

5. 1. Úspěšnost oplození

Data vynesena do grafu 1 jsou znázorněna v tabulce 1:

poměr pohlaví	1♀+1♂	1♀+2♂	2♀+1♂	2♀+2♂	5♀+5♂	5♀+10♂	10♀+20♂
živé jikry (%)	96,203	95,464	96,174	94,025	91,734	95,835	85,841

Tabulka 1



Graf 1: Úspěšnost oplození

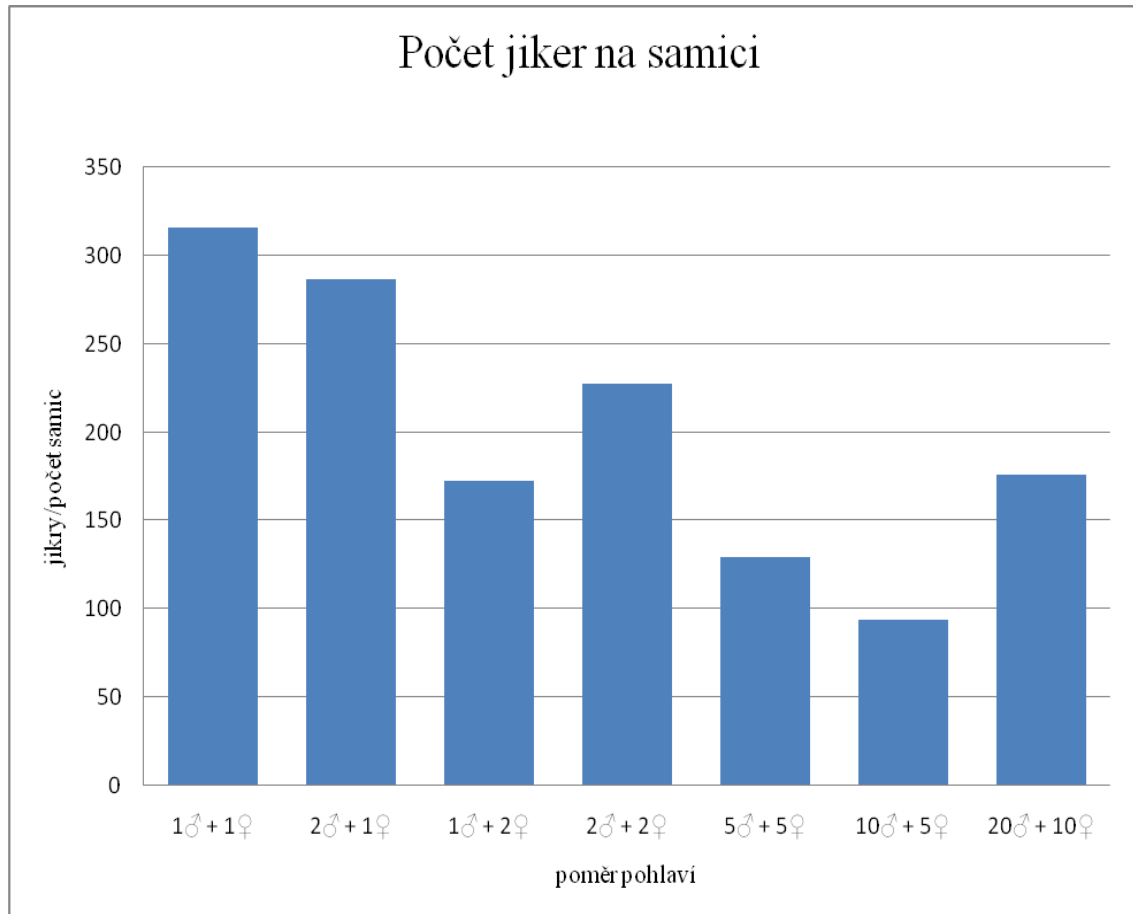
Graf 1 vznikl na předpokladu, že jikry zbělené po šesti hodinách jsou neoplozené. Údaje byly získány z celkového počtu jiker napočítaného poslední den po výtěru. Pokusy, které byly provedeny, ukazují malý úspěch výtěru ve velkém hejnu 10♀+20♂, Nejlepšího výsledku dosáhl pár 1♀+1♂ a poměr 2♀+1♂. Z grafu je také patrný vliv množství samců, který se ukazoval jako možná kompenzace oplození velikosti hejna.

5. 2. Počet jiker na samici

Data použita pro graf 2 jsou vynesena v tabulce 2:

poměr pohlaví	1♀+1♂	1♀+2♂	2♀+1♂	2♀+2♂	5♀+5♂	5♀+10♂	10♀+20♂
jikry/počet samic	316	286,6	172,5	227,6	129,2	94,12	175,86

Tabulka 2



Graf 2: Počet jiker na samici

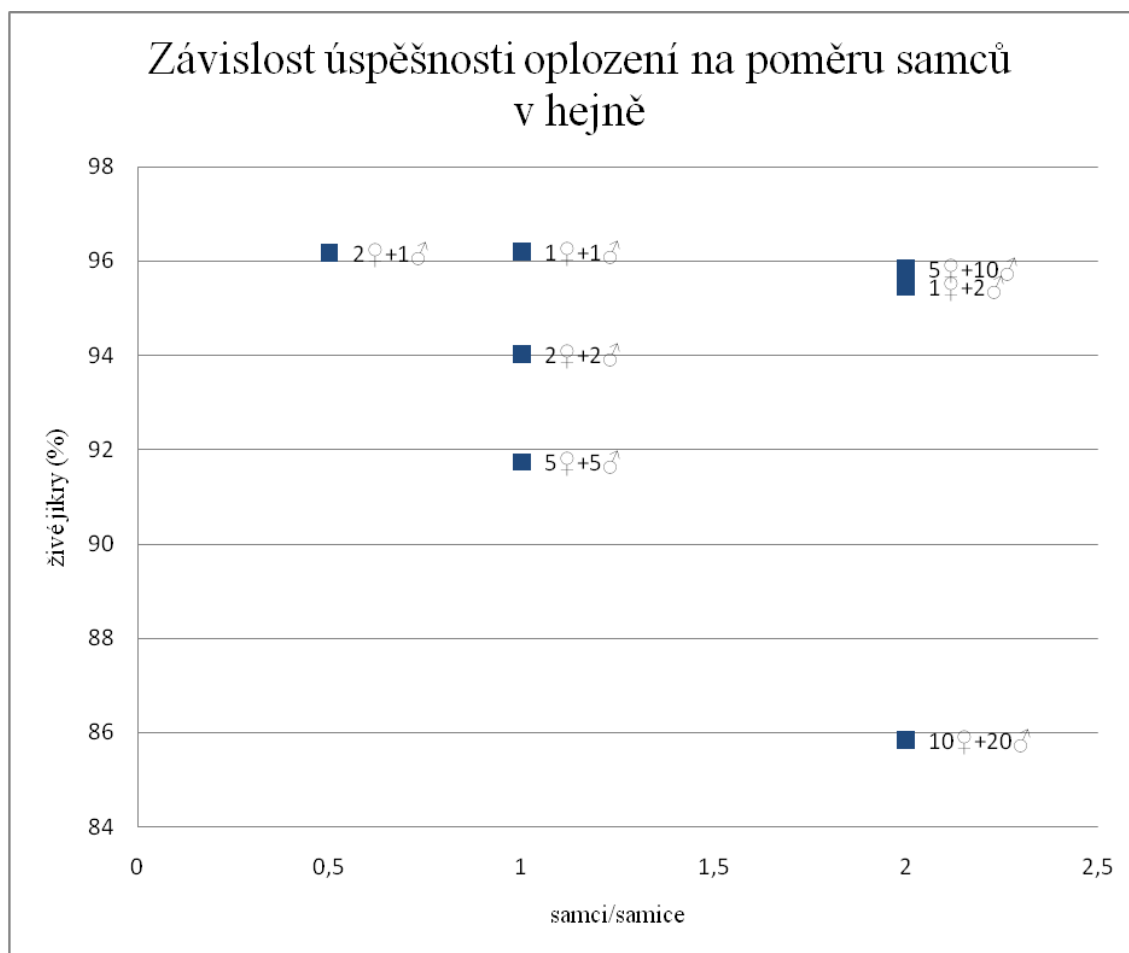
Z grafu 2 je patrný průměrný zisk živých jiker z jedné samice. Nejlepších výsledků dosáhly samice v poměru 1♀+1♂, kde byl průměrný zisk na jednu 316 jiker. Nejhorší výsledky vykazovaly samice v poměru 5♀+10♂. Při vytřeni v tomto poměru zjevně nedocházelo k naprostému vyprázdnění samic. Také je potřeba si všimnout poměru 2♀+1♂ z důvodu, že získané výsledky ukazovaly, viz graf 1, vysokou míru oplození, ale malý zisk jiker na jednu samici.

5. 3. Závislost úspěšnosti oplození na poměru samců v hejně

Data zaznamenaná do grafu 3 byla uspořádána do tabulky 3.

poměr pohlaví	1♀+1♂	1♀+2♂	2♀+1♂	2♀+2♂	5♀+5♂	5♀+10♂	10♀+20♂
Samci/samice	1	2	0,5	1	1	2	2
živé jikry (%)	96,203	95,464	96,174	94,025	91,734	95,835	85,841

Tabulka 3



Graf 3: Úspěšnost oplození na poměru samců

Z grafu 3 vyplývá, že úspěšnost oplození není závislá prokazatelně na převaze samců. Oplození jiker bylo vysoké jak u poměru 1♀+1♂, tak u 2♀+1♂, ale i u 1♀+2♂. Z poměru 5♀+10♂, který byl podobně úspěšný jako poměry 1♀+1♂, 2♀+1♂, 1♀+2♂ lze vidět nezávislost úspěšnosti oplození na počtu ryb v hejnu.

5. 4. Závislost přežití jiker na počtu ryb

Závislost přežití jiker na počtu ryb byla zaznamenána do grafu 4 za pomoci tabulky 4.

poměr pohlaví	1♀+1♂	1♀+2♂	2♀+1♂	2♀+2♂	5♀+5♂	5♀+10♂	10♀+20♂
počet ryb	2	3	3	4	10	15	20
Živé jikry (%)	96,203	95,464	96,174	94,025	91,734	95,835	85,841

Tabulka 4



Graf 4: Závislost přežití jiker na počtu ryb

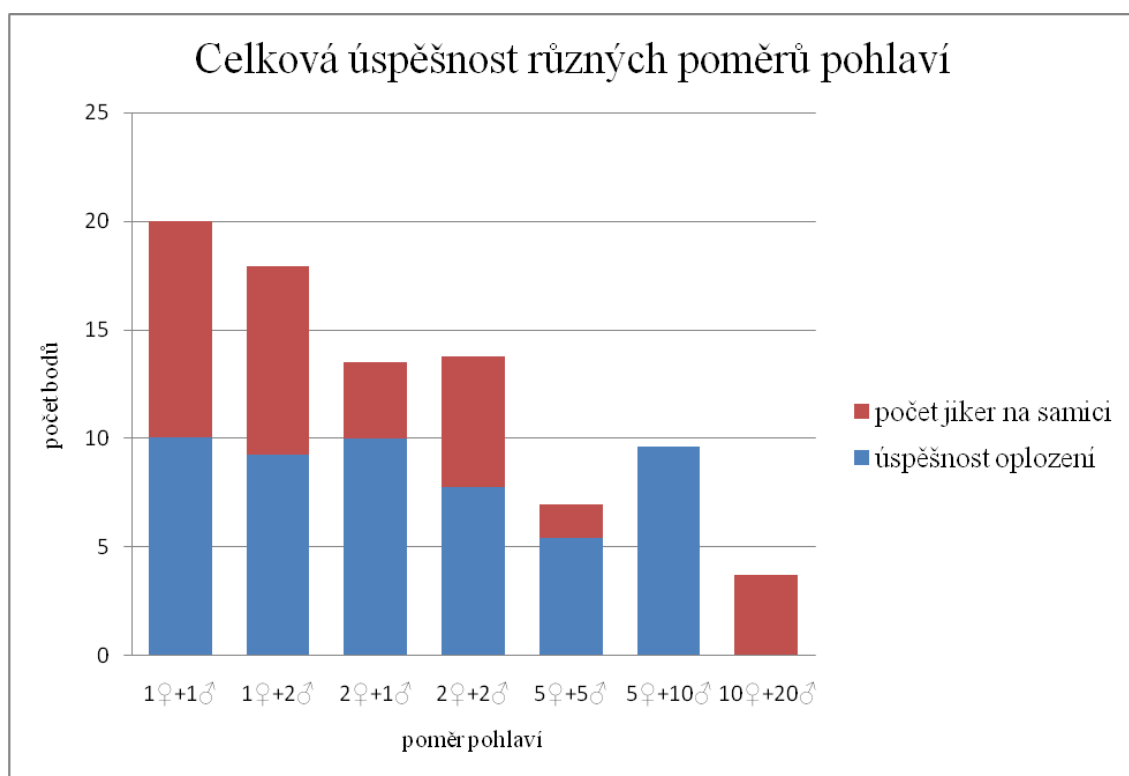
Podle grafu 4 lze předpokládat, že velikost skupiny do 15 ryb není pro úspěšnost výtěru rozhodující. Na hejnu o deseti rybách byl zjištěn propad v přežití jiker, který způsobuje výrazně menší procento oplozených jiker. Hejno o 30 kusech ryb vykazuje malé procento přežitých jiker. Přežití jiker bylo ovlivněno také počtem dní, které strávily ryby ve vytíracím koši.

5. 5. Celková bodová úspěšnost různých poměrů pohlaví

Z důvodu možnosti celkového srovnání úspěchu různých poměrů byl sestaven bodový systém, který názorně ukazuje součet dvou faktorů a to počtu jiker na samici a úspěšnost oplození. Zadané hodnoty jsou shrnuty v tabulce 5.

poměr pohlaví	1♀+1♂	1♀+2♂	2♀+1♂	2♀+2♂	5♀+5♂	5♀+10♂	10♀+20♂
úspěšnost oplození	10	9,23	9,96	7,74	5,37	9,62	0
počet jiker na samici	10	8,67	3,53	6,02	1,58	0	3,68
součet bodů	20	17,9	13,49	13,76	6,95	9,62	3,68

Tabulka 5



Graf 5. Celková úspěšnost různých poměrů pohlaví

Graf 5 srovnává použité poměry pohlaví na základě počtu jiker na samici a úspěšnosti oplození pomocí bodového systému. Názorně je zde vidět rozdíly mezi jednotlivými hejny. Z grafu lze pozorovat střet úspěšnosti oplození jiker, které bylo u hejna 5♀+10♂ velmi dobré, ale celkovou úspěšnost výtěru ovlivnil malý zisk jiker na samici. U hejna 10♀+20♂ byla úspěšnost oplození nejmenší a ani počet jiker na samici

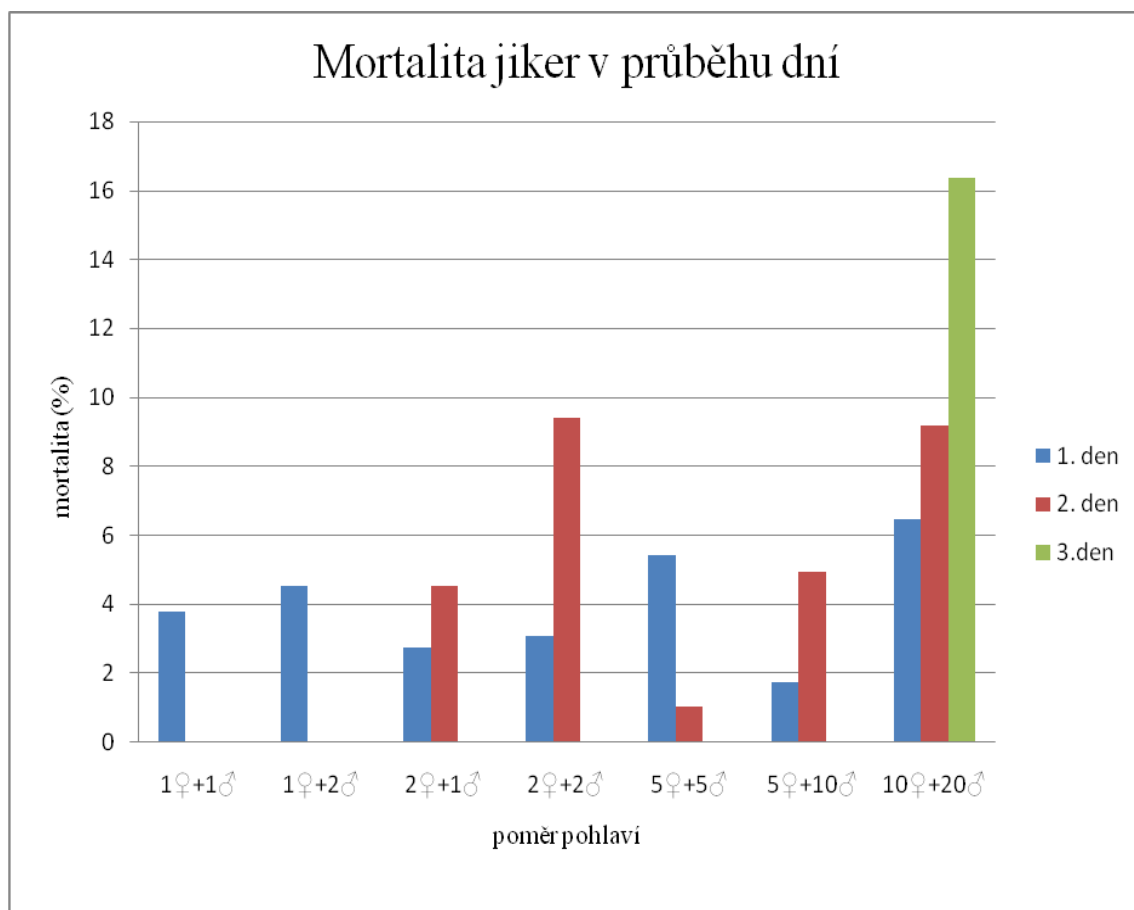
nebyl faktorem, který by tuto metodu výtěru podpořil. Dobrých výsledků dosáhl párový výtěr a výtěr 1♀+2♂.

5.6. Mortalita jiker v průběhu dní

Problematika mortality byla zaznamenána v tabulce 6.

den	1♀+1♂	1♀+2♂	2♀+1♂	2♀+2♂	5♀+5♂	5♀+10♂	10♀+20♂
1.	3,79746	4,53594	2,75362	3,07443	5,41586	1,75747	6,46154
2.	0	0	4,54106	9,42308	1,02579	4,93274	9,1989
3.	0	0	0	0	0	0	16,3746

Tabulka 6



Graf 6: Mortalita jiker v průběhu dní

Graf 6 ukazuje extrémní nárůst 3. den u třetího hejna 10♀+20♂. U tohoto hejna byla mortalita nejvyšší ze všech i první den. Vysoká mortalita 2. den byla zaznamenána u hejna 2♀+2♂.

6. Diskuze

Provedené pokusy ukázaly nevhodnost použití většího množství ryb do jednoho výtěrového koše. Ještě markantněji se projevilo zvýšení počtu samců.

Výsledky, které byly získány, se shodují se závěry Spence, Smitha a Pyrona (Spence, Smith, 2005, Pyron, 2003). Mohlo by se jednat o zvýšení agresivity a teritoriality u samců při tření jako uvádí Spence a Smith (2005). Jistá agrese se projevila i v pokusech, které prováděl Pyron (2003). I při prováděných pokusech, v této práci, bylo možné často pozorovat souboje mezi samci.

Jako alternativu tohoto efektu agresivity samců uvádí Spence a Smith (2005) konkurenci mezi samicemi a jejich vzájemné omezování v přístupu na třetí místo. Často mohlo být také při pokusech, v této práci, pozorované požívání jiker ostatními rybami přímo pod samicí, která právě uvolňovala pohlavní produkty, to se stávalo i v pokusech Spence a Smitha (2005). Ve velkém množství je takový tlak podstatně větší než u párového výtěru.

Agresivitu ryb může snížit i zkušenost s partnery (Griffiths, 2004). Griffiths (2004) zaznamenal méně agresivních útoků u ryb, které se z dřívější doby již znaly z chovných nádrží. Oproti tomu Spence a Smith (2005) zjistili ze svých experimentů nezávislost úspěšnosti výtěru na dlouhodobé známosti ryb. Je tedy pravděpodobné, že v pokusech uváděných touto prací, zkušenost s partnerem výsledky neovlivnila.

Rozdíly mezi úspěšností zisku jiker na samicí podle Spence a Smitha (2005) způsobuje ve velkých hejnech spíše zvýšení počtu soupeřů. To potvrdily i pokusy uváděné v této práci. Úspěšnost výtěru malého počtu ryb tak byla způsobena nejspíše malým počtem samců, kteří se místo soubojům aktivněji mohli věnovat samicím.

Podle Spence a Smitha (2005) se ve velkých hejnech samice lépe prezentují. V pokusech provedených v této práci nebyla lepší prezentace samic pozorována a zisk jiker na samicí to nepřineslo zřejmě z důvodu vzájemné agresivity samců.

Výsledky této práce se přiklánějí k projevení soupeřivosti samců i možné obrany místa výtěru, které si ryby mohly vybrat pouze fiktivně, protože v třecím koši nebylo v podstatě přítomno. Agresivita samic byla pozorována, ale v menší míře než agresivita samců. Pokusy, které byly provedeny, nemusí odrážet systém a úspěšnost reprodukce v přírodě. Studie Pitcharda (2001) signalizuje, že reprodukce a chování při výtěru je ale velmi podobná jako reprodukce ryb chovaných v zajetí.

7. Závěr

Ze získaných výsledků lze vyvodit tyto závěry:

1. Nejlepších výsledků při výtěru dosáhl pár 1 ♀+1 ♂ s úspěšností oplození 96,2 % a s průměrným ziskem 316 jiker na jednu samici.
2. Velká hejna (5 ♀+5 ♂, 5 ♀+10 ♂, 10 ♀+20 ♂) se při hromadném výtěru nejevila ekonomicky z důvodu malého počtu jiker získaných na jednu samici, který se pohyboval od 94,12 do 175,86 jiker.
3. Úspěšnost výtěru ovlivňoval negativně počet ryb nad deset kusů, spíše než poměr pohlaví použitý pro výtěr.

8. Seznam použité literatury

Alderton D. (2006): Akvariijní a jezírkové ryby, Praha, Euromedia Group.

Bhat, A. (2003): Diversity and composition of freshwater fishes in streams of Central Western Ghats, *Environmental biology of fishes*, 2003, (68), 25 – 38.

Cortemeglia, C., Beitinger, T.L. (2005): Temperature tolerances of wild-type and red transgenic zebra danios, *Transactions of the american fisheries society*, 2005, (134), 1431–1437.

Daniels, R. J. R.(2002): *Freshwater Fishes of Pennisula India*, Universities Press, Hyderabad. In: Lawrence, Ch.,(2007): *The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review*, *Aquaculture*, 2007, (269), 1 – 20.

Drahotušský, Z., Novák J. (2006): *Akvaristika*, Brno, Nakladatelství Jota.

Dutta, S. P. S. (1993): Food and feeding habits of *Danio rerio* inhabiting Gadigarh stream, Jammu, *Journal Freshwater Biology*, 1993, (5), 165 – 168.

Engeszer R. E., Patterson L. B., Rao A. A., Parichy D. M. (2007): Zebrafish in the Wild: a review of natural history and new notes from the field, *Zebrafish*, 2007, (4), 21 – 40.

Frank, S. (1977): *Jak žijí ryby*, Artia, Praha.

Frank, S. (2000): *Sladkovodní akvaristika*, Praha, Ottovo nakladatelství.

Griffiths, S. W., Brockmark, S., Höjesjö, J., Johnsson, J. I. (2004): Coping with divided attention: the advantage of familiarity, *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* 271,2004, 695–699. In: Spence R., Smith C. (2005): Male territoriality mediates density and sex ratio effects in the zebrafish (*Danio rerio*), *Animal Behaviour*, 2005, (69), 1317–23.

Hager, M. C., Helfman, G. S. (1991): Safety in numbers: shoal size choice by minnow under predatory threat, *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 1991, (29), 271–276.

- Hanel, L. (2002): Akvaristika, Biologie a chov vodních živočichů, I. Obecná část, Karolinum, Praha.
- Hanel, L. (2004): Akvaristika, Biologie a chov vodních živočichů, II. Speciální část, Karolinum, Praha.
- Hoare, D. J., Krause, J., Peuhkuri, N., Godin, J. - G. J. (2001): Body size and shoaling in Fish, *Journal of Fish Biology*, 2001, (57), 1351–1366.
- Chen, Y. Y., Lu, F. I., Hwang, P. P. (2003): Comparisons of calcium regulation in fish larvae, *Journal of experimental zoology part a – comparative experimental biology*, 2003, (295A), 127 – 135.
- Lawrence, C., Ebersole, J.E., Kesseli, R.V.(2008): Rapid growth and outcrossing promotes female development in zebrafish *Danio rerio*, *Environmental biology of fishes*, 2008, (81), 239-246.
- Matthews, M., Travarrow, B., Matthews, J. (2002): A virtual tour of the guide for zebrafish users, *Lab Animal*, 2002, (31), 34 – 40.
- McClure, M. M., McIntyre, P. B., McCune, A. R. (2006): Notes on the natural diet and habitat of eight danioin fishes, including the zebrafish *Danio rerio*, *Journal of Fish Biology*, 2006, (69), 553 – 570.
- McRobert, S. P., Bradner, J. (1998): The influence of body coloration on shoaling preferences in fish, *Animal Behaviour*, 1998, (56), 611–615.
- Menon, A. G. K.,(1999): A. G. K. Menon, Check list — fresh water fishes of India, *Rec. Zool. Surv. India. Misc. Publ., Occas. Pap.*, 366, (175), 234 – 259. In: Lawrence, Ch.,(2007): The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review, *Aquaculture*, 2007, (269), 1 – 20.
- Nechiporuk, A., Poss, K. D., Johnson, S. L., Keating, M. T. (2003): Positional cloning of a temperature-sensitive mutant emmental reveals a role for sly1 during cell proliferation in zebrafish fin regeneration, *Developmental biology*, 2003, (258), 291-306.

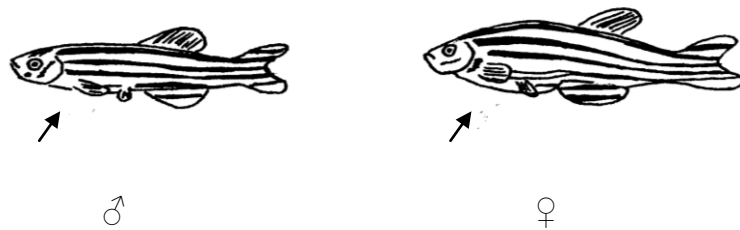
- Novák, J. (2008): Rozmnožování akvarijských ryb, 72 str., nepublikováno.
- Payne, A. I., Sinha, R., Singh, H. R., Huq, S. (2003): A review of the Ganges Basin: its fish and fisheries. In: R. L. Welcome, L. Petr, (eds.), (2004): Proceedings of the Second International Symposium on the Management of Large Rivers for Fisheries, (1), 16.
- Nechiporuk, A., Poss, K. D., Johnson, S. L., Keating, M. T. (2003): Positional cloning of a temperature-sensitive mutant emmental reveals a role for sly1 during cell proliferation in zebrafish fin regeneration, *Developmental biology*, 2003, (258), 291-306.
- Pyron, M. (2003): Female preferences and male – male interactions in zebrafish, *Canadian Journal of Zoology*, 2003, 122 – 125.
- Ruhl, N., McRobert, S. P. (2005): The effect of sex and shoal size on shoaling behaviour in *Danio rerio*, *Journal of Fish Biology*, 2005, (67), 1318 – 1326.
- Saverino, C., Gerlai, R. (2008): The social zebrafish: Behavioral responses to conspecific, heterospecific, and computer animated fish, *Behavioural Brain Research*, 2008, (191), 77 – 87.
- Shrestha, T. K. (1990): Resource ecology of the Himalayan waters. Curriculum Development Centre, Tribhuvan University, Kathmandu, Nepal. In: Lawrence, Ch., (2007): The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review, *Aquaculture*, 2007, (269), 1 – 20.
- Schaefer, J., Ryan, A. (2006): Developmental plasticity in the thermal tolerance of zebrafish *Danio rerio*, *Journal of Fish Biology*, 2006, (69), 722 – 734.
- Spence R., Smith C. (2005): Male territoriality mediates density and sex ratio effects in the zebrafish (*Danio rerio*), *Animal Behaviour*, 2005, (69), 1317–23.
- Spence, R., Smith, C. (2006): Mating preference of female zebrafish, *Danio rerio*, in relation to male dominance, *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 2006, (17), 779 – 783.
- Westerfield, M. (2000): The zebrafish book: A guide for the laboratory use of zebrafish (*Danio rerio*), Univ. of Oregon Press, Eugene. In: Pyron, M. (2003): Female

preferences and male – male interactions in zebrafish, Canadian Journal of Zoology, 2003, 122 – 125.

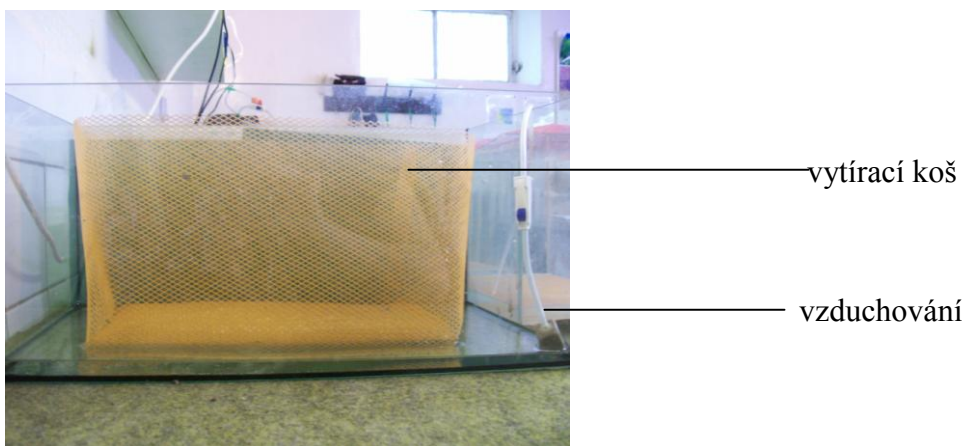
Internetové odkazy:

<http://zebrafish.org/zirc/home/guide.php>

9. Příloha



Obr. 1: *Danio rerio* – pohlavní dimorfismu



Obr. 2: Vytírací nádrž

parametry	pH	dGH (°N)	dKH (°N)	vodivost (μS)	NO ³⁻ (mg/l)	PO ⁴⁻ (mg/l)
pitná voda	7,2	6	3	268	5	0,1
chovné akvárium	7,1	6	3	264	10	0,1
vytírací nádrž	7,1	6	3	265	5	0,1

Tabulka 7 : Voda

Číslo pokusu		1.		2.		3.		4.		5.	
Poměr pohlaví	den	Počet jiker	Mrtvé jikry	Počet jiker	Mrtvé jikry	Počet jiker	Mrtvé jikry	Počet jiker	Mrtvé jikry	Počet jiker	Mrtvé jikry
1♀+1♂	1.	292	4	302	9	297	3	376	36	313	8
1♀+2♂	1.	130	11	391	7	185	0	329	20	398	27
2♀+1♂	1.	108	3	50	0	189	4	215	6	128	6
	2. celkově	324	18	254	5	405	10	380	15	362	18
2♀+2♂	1.	184	11	292	5	240	12	305	4	215	6
	2. celkově	377	20	488	40	543	28	462	35	406	13
5♀+5♂	1.	432	5	305	18	602	58	428	15	301	16
	2. celkově	600	20	515	55	725	100	684	41	706	51
5♀+10♂	1.	0	0	63	0	276	4	0	0	230	6
	2. celkově	408	16	582	45	452	12	349	12	562	13
10♀+20♂	1.	62	0	350	34	167	5	0	0	71	3
	2. celkově	465	12	642	89	604	51	400	28	349	28
	3. celkově	2400	158	1400	309	2200	500	815	89	1978	189

Tabulka 8 : Počet jiker v pokusných výtěrech

