

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
Zemědělská fakulta**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Ověření dědičnosti barev okrasného kapra koi s využitím metod
genomových manipulací**

Studijní obor: Rybářství

Autor: Luděk Štěch

Vedoucí práce: doc. Ing. Martin Flajšhans, Dr.rer.agr.

Odborný konzultant: Ing. Martin Kocour, Ph.D.

České Budějovice

2009

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
Zemědělská fakulta**

Obor: Rybářství

Katedra: Rybářství a myslivosti

DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Název: Ověření dědičnosti barev okrasného kapra koi s využitím
metod genomových manipulací**

Vedoucí práce:

doc. Ing. Martin Flajšhans, Dr.rer.agr.

Autor:

Luděk Štěch

**České Budějovice
-2009-**

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma „ověření dědičnosti barev okrasného kapra koi s využitím metod genomových manipulací“ vypracoval samostatně na základě vlastních měření a materiálů, které uvádím v seznamu literatury.

Ve Zlivi
28. dubna 2009

.....
podpis

Chtěl bych tímto poděkovat vedoucímu mé diplomové práce doc. Ing. Martinovi Flajšhansovi, Dr.rer.agr., za rozsáhlou pomoc při zpracování. V neposlední řadě děkuji pracovníkům VÚRH JU Vodňany, za cenné připomínky a pomoc vedoucí k úspěšnému dokončení této práce.

ABSTRAKT

Luděk Štěch: *Ověření dědičnosti barev okrasného kapra koi s využitím metod genomových manipulací*, České Budějovice 2009. Diplomová práce.

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, Katedra rybářství a myslivosti.

Vedoucí práce: doc. Ing. Martin Flajšhans, Dr.rer.agr.

Cílem této diplomové práce je ověření dědičnosti zbarvení u tříbarevné variety kapra koi - *Showa* (černý podklad, bílé a červené znaky). Byly prováděny vždy párové výtěry ryb stejného zbarvení. V práci byla popsána pigmentace váčkového plůdku ve stáří jeden den. Pigmentace byla sledována ve dvou formách, jako melaninově pigmentovaný a melaninově nepigmentovaný (černě pigmentovaný a zlatý váčkový plůdek). U melaninově pigmentovaného váčkového plůdku je předpoklad budoucího zbarvení typu: *Shiro utsuri*, *Hi utsuri* a *Showa*. Byla využita gynogeneze, kdy byl potomstvu předáván pouze genom matky. Experimenty byly provedeny ve VÚRH ve Vodňanech: pokusné jikry byly oplozeny ozářeným spermatem s inaktivovanou DNA. Diploidie byla znovu nastolena chladovým šokem aktivovaných jiker, po něm byly jikry inkubovány při teplotě 20°C. U gynogenetického potomstva bylo počítáno přežití během inkubace jiker i po vykulení plůdku. Gynogenetické potomstvo bylo dále fotograficky dokumentováno a byla dokumentována pigmentace váčkového plůdku a poměr mezi oběma variantami pigmentace. Plůdek získaný výtěry byl následně odchováván do velikostního stádia označovaného jako K_r (90 dní stáří, 5-6cm). V této velikosti byl plůdek odloven z odchovných rybníků a dále dokumentován a počítán se zjištěním vyštěpených fenotypových poměrů u potomstva. U tohoto pokusu byla použita dvě úspěšná opakování. Výsledné fenotypové štepné poměry: *Shiro muji* (celobílé ryby) : *Kohaku* (bílý podklad, červené znaky) : *Shiro utsuri* (černý podklad, bílé znaky) : *Hi utsuri* (černý podklad, červené znaky) : *Showa* (černý podklad, bílé a červené znaky) : *Aka muji* (celočervené zbarvení) : *Taisho sanke* (bílý podklad, černé a červené znaky) : *Jiné zbarvení* (nezařaditelné-ostatní odpadní zbarvení) = **76 : 168 : 87 : 7 : 93 : 59 : 3 : 12**. Typ *Showa* se v potomstvu (F₁) objevuje v **18,42 %**. U druhého pokusu byl fenotypový štepný poměr ve stejném pořadí variet **67 : 57 : 50 : 0 : 43 : 0 : 0 : 22**. Procentuální podíl *Showa* zbarvení u potomstva (F₁) byl : **17,99%**.

Klíčová slova: genomové manipulace, gynogeneze, kapr koi, showa, dědičnost barev

ABSTRACT

Ludek Štěch: *The assessment of colour inheritance in ornamental koi carp with the use of genome manipulation methods*, České Budějovice 2009. Diploma Thesis.

University of South Bohemia in České Budějovice, Agriculture faculty, Department of Fishery and Hunting.

Supervisor: Assoc. Prof. Dipl.-Ing. Martin Flajšhans, Dr.rer.agr.

The goal of this thesis was to assess colour inheritance in *Showa* tricolour variety of koi carp (black basis, white and red signs). Fish of the same colouration were pair-mated. Colouration of fingerlings was assessed in one day age. Colouration was observed in two forms, like melanin pigmentation and non-melanin pigmentation (black- pigmented and gold -pigmented fingerlings). Melanin- pigmented fingerlings are presumed of future colouration in types: *Shiro utsuri*, *Hi utsuri* and *Showa*. In the tests, gynogenesis was employed, transmitting only mother's genome to offspring. Gynogenesis was practiced in RIFCH USB in Vodnany: experimental eggs were fertilized with irradiated sperm with inactivated DNA. Diploidy was restored with cold shock of eggs, eggs were then incubated at 20°C. Survival during incubation of eggs and after hatching of fingerlings was assessed for the gynogenetic offspring. Gynogenetic offspring was further photographically documented to assess colouration of fingerlings and relationship between both variants of colouration. Fry from propagation was bred in ponds to the size stage of advanced fry (Kr; 90-day old, size 5-6 cm). In this size, fingerlings were caught from breeding ponds, counted and further documented to check phenotype segregation. Two successful replicates were used for this test. Resulting segregation of phenotypes was as followed: ***Shiro muji*** (white fish) : ***Kohaku*** (white basis, red signs) : ***Shiro utsuri*** (black basis, white signs) : ***Hi utsuri*** (black basis, red signs) : ***Showa*** (black basis, white and red signs) : ***Aka muji*** (red colouring on all surface): ***Taisho sanke*** (white basis, black and red signs) : ***Others colouring*** (unclassified other trash colouration) = **76 : 168 : 87 : 7 : 93 : 59 : 3 : 12**. The *Showa* occurred in 18,42 % in offspring (F₁). In the second test, phenotype segregation in the same sequence of varieties was **67 : 57 : 50 : 0 : 43 : 0 : 0 : 22**. Percentage of *Showa* colouration in F₁ was : 17,99%.

Keywords: Genome manipulations, gynogenesis, koi carp, showa, colour inheritance

OBSAH

ABSTRAKT	5
ABSTRACT	7
1. ÚVOD	11
2.LITERÁRNÍ PŘEHLED	14
2.1. Fyziologické základy zbarvení kůže ryb	14
2.2.Základy dědičnosti barev ryb.....	17
2.2.1. Mendelovy zákony, genové interakce, pleiotropie	17
2.2.2.Dědičnost zbarvení xantorického rázu u pstruha duhového	24
2.3. Dědičnost barev u Koi kapra	25
2.4.Genomové manipulace	27
2.4.1.Přirozená gynogeneze	27
2.4.2.Meiotická gynogeneze	28
2.4.3.Mitotická gynogeneze.....	29
2.5.Základy šlechtění barevných mutací ryb	29
2.5.1.Barevné mutace lína.....	29
2.5.2.Barevné mutace u karase stříbřitého	31
2.5.3. Barevné mutace u dalších chovaných druhů ryb	32
2.6.Šlechtění barevných mutací kapra	32
2.6.1.Jednobarevné typy kapra Koi	32
2.6.2.Dvoubarevné, třibarevné a vícebarevné typy kapra koi	33
2.6.3.Pigmentace larválních stádií a plůdku kapra obecného Koi a s tím spojené možnosti ranné selekce žádaných fenotypů.....	35
2.7.Historie chovu kapra Koi	36
2.8.Význam chovu kapra koi v Evropě.....	37
2.8.1.Negativní vliv	37
2.9.Základní typologie kapra koi	38
2.9.1.Hmotnost, tvar těla a ošupení u kapra koi	38
2.9.2.Klasifikace typů kapra Koi	39
3. MATERIÁL A METODIKA	43
3.1. Příprava generačních ryb	43
3.2. Výběr generačních ryb	43
3.3. Párové výtěry generačních ryb	44
3.4. Generační ryby použité k pokusům	45
3.4.1. Generační ryby k párovým výtěrům	45
3.4.2. Generační ryby ke gynogenezi 26.5.2007	49
3.4.3. Generační ryby ke gynogenezi 29.5.2008	50
3.5. Odběr gamet.....	51
3.6. Inkubace oplodněných jiker	52
3.7. Odběr pohlavních produktů ke gynogenezi	52
3.4. Gynogeneze	53
3.5. Počítání pigmentovaného a nepigmentovaného váčkového plůdku	54
3.6.Odchov ryb	55
4. VÝSLEDKY	56
4.1. První párový výtěr 19.5.2007	56
4.2. Druhý párový výtěr 17.5.2008	56
4.3. Třetí výtěr 29.5.2008	57
4.4. Čtvrtý párový výtěr přirozený 28.6.2008.....	59

4.5. Pokus gynogeneze 1; 26.5. 2007	60
4.5.1. Úmrtnost jiker během inkubace při gynogenezi	60
4.5.2. Výsledky segregace pigmentace u váčkového plůdku, množství vykuleného plůdku v kusech, líhňivost plůdku v pokusu gynogeneze	60
4.5.3. Hodnocení líhňivosti - gynogeneze 2007	63
4.5.4. Hodnocení procenta pigmentovaného potomstva - gynogeneze 2007	63
4.6. Gynogeneze 2; 29.5.2008	63
4.6.1. Úmrtnost jiker během inkubace při gynogenezi	63
4.6.2. Výsledky segregace pigmentace u váčkového plůdku, množství vykuleného plůdku v kusech, líhňivost plůdku v pokusu gynogeneze	63
4.6.1. Hodnocení líhňivosti - gynogeneze 2008	66
4.6.2. Hodnocení procenta pigmentovaného potomstva - gynogeneze 2008	67
4.7. Výsledky rybníčních odchovů plůdku, do velikosti označované jako K_r	69
4.7.1. Výsledky prvního úspěšného párového výtěru, segregace barev ve velikosti K_r	70
4.7.2. Výsledky druhého úspěšného párového výtěru, segregace barev ve velikosti K_r	72
5. DISKUSE	75
5.1. Párové výtěry	75
5.1.1. První párový výtěr 19.5.2007	75
5.1.2. Druhý párový výtěr 17.5.2008	75
5.1.3. Třetí párový výtěr 29.5.2008	75
5.1.4. Čtvrtý párový výtěr 28.6.2008	75
5.2. Gynogeneze	76
5.2.1. Gynogeneze 26.5. 2007, 29.5.2008 a hodnocení líhňivosti	76
5.2.2. Hodnocení procenta pigmentovaného potomstva.....	76
5.2.3. Úmrtnost jiker při inkubaci při gynogenezi v roce 2007 a 2008.	77
5.3. Rybníční odchovy a segregace barev.....	78
6. ZÁVĚR.....	79
7. LITERATURA	81

1. ÚVOD

V Japonsku, kde je vysoká koncentrace obyvatelstva na omezené ploše ostrovů, je pro cokoli velmi málo místa a je téměř nemožné mít zde velkou zahradu s květinami. Lidé mají malý kousek půdy, na které mají zahrádku s květinami a bazény, rybníčky s žijícími květinami - barevnými kapry. Tyto ryby jsou šlechtěny intenzivně více než sto let s důrazem na jejich krásu, která se vyjímá nejlépe napohled shora. (Axelrod, 1973) Je mnoho důvodů, proč mají lidé zahrady s rybníčky s barevnými kapry Koi, patří mezi ně ti lidé, kteří chtějí mít něco živého na své zahradě s rybníčkem, nebo ti, kteří jsou oddaní kráse kaprů Koi. (Tamadachi, 1990)

Člověk dokázal vyšlechtit mnoho typů zbarvení u několika druhů ryb jako jsou barevné formy akvariálních ryb např. u živorodek duhových (gupek) (*Poecilia reticulata*), mečovok mexických (*Xiphophorus helleri*), plat skvrnitých (*Xiphophorus maculatus*), živorodek velkoploutvých (*Poecilia velifera*), terčovců červených (*Symphysodon discus*), skalár amazonských (*Pterophyllum scalare*), vrubozubců pavých (*Astronotus ocellatus*), parmiček čtyřpruhých (*Puntius tetrazona* mechové zbarvení) a dalších jako u karasa stříbřitého (*Carassius auratus*), lína obecného (*Tinca tinca*), albinotické formy u sumce velkého (*Silurus glanis*) a u dalších známých i méně známých mnoha druhů ryb. Barevné mutace byly nalezeny u několika čeledí ryb, u některých z nich byly dále šlechtěny a jsou stále chovány. Barevné mutace se vyskytují např. u čeledí: jeseterovití (*Acipenseridae*), lososovití (*Salmonidae*), kaprovití (*Cyprinidae*), sumcovití (*Siluridae*), keříčkovcovití (*Clariidae*), vrubozobcovití (*Cichlidae*). U většiny těchto čeledí existují pouze albinotická zbarvení, nebo částečná ztráta pigmentu v kůži, ale u kaprovitých bylo zatím vyšlechtěno nejvíce barevných mutací ze všech čeledí, počínaje barevnými (zlatými, modrými, alampickými) líny, zlatými perlíny, albinotickými (zlatými) amury, zlatými a modrými jeseny a konče zlatými karasy, karasy Shubunkin, Sarasa a závojnatkami. Zlaté mutace se u kaprovitých vyskytují sporadicky v přírodě i u dalších druhů (plotice, slunka). Nejvyšší množství barevných mutací u chovaných druhů kaprovitých ryb je zřejmě z důvodu toho, že jejich chov je jednoduchý, jsou nenároční na životní prostředí a prostor a chovají se již velmi dlouho ať už pro potřeby potravní, potravinářské, nebo okrasné. Jedním z nejkrásnějších a zároveň nejdéle šlechtěných druhů ryb je kapr obecný (*Cyprinus carpio*). První zmínky o chovu barevných mutací sahají 2000 let nazpět do Číny, kde začalo šlechtění kapra Koi. Po několika stech letech tuto doménu převzali Japonci, kteří se drží této tradice dodnes. Díky dlouholetému chovu a selekci žádoucích fenotypů vznikla jedna z nejsložitějších klasifikací barevnosti

u ryb. Klasifikace jednotlivých typů zbarvení kapra Koi obsahuje 17 základních skupin od kterých se odvíjí veškeré další variety zbarvení Koi. Zájem o chov barevných kaprů ve světě stále stoupá, a to přináší chovatelům také dobrou perspektivu. Nejvyšší kvality ryby jsou samozřejmě v Japonsku v prefektuře Niigata, celosvětovém středisku chovu Koi, to je výsledkem nejdelší tradice a největší propracovanosti chovu barevných kaprů v této oblasti s důslednou znalostí barevných mutací a křížení mezi nimi tak, aby zbarvení potomstva vyhovovalo dané kategorizaci a také je to dáno velkou pečlivostí a trpělivostí práce japonských chovatelů, kteří si předávají své znalosti již po mnoho generací v rodinách rybářů. Kvalitní ryby chovají a odchovávají také v Izraeli, Singapuru, Anglii a Americe.

Cílem mé práce je ověření dědičnosti barev u kapra Koi pomocí genomových manipulací, resp. metod indukované uniparentální dědičnosti, protože znalost štěpných fenotypových poměrů zbarvení je velmi důležitým předpokladem pro rozvoj a úspěšnost chovu kapra Koi. Je též jen málo známá a údaje publikované ve vědecké či jiné literatuře jsou velmi kusé, zaměřené jen na některé typy zbarvení a bývají často neúplné. Moje diplomová práce se zaměřuje na dědičnost barev u typu *Showa*, charakteristického tříbarevným zbarvením na černém podkladu s bílými a červenými znaky. Toto zbarvení je jedno z vůbec nejoblíbenějších u japonských chovatelů i mezi spotřebiteli v Evropě či jiných částech světa, je ale také zároveň jedním z nejdražších typů vůbec. Dr. Kuroki napsal: První *Showa Sanshoku* byla odchována Jyukichi Hoshino Takezawou v roce 1927. Vznikla křížením typu *Ki Utsuri* (ryby s černým podkladem a žlutými až zlatými znaky) s typem *Kohaku*. Barva *hi* (červená) u první *Showy* měla zřetelně nažloutlý až hnědý nádech. Tomji Kobayashi byl první, kdo poprvé zkusil vylepšit červenou barvu křížením s *Yagozen Kohaku*. Pan T. Kobayashi chová excelentní linii *Showa* od roku 1964. Je to kvalita barev vylepšená v chovu pana T. Kobayashi, která způsobila extrémní popularitu této velkolepé variety Koi. (Axelrod, 1996). Ve své práci jsem sledoval fenotypové štěpné poměry v F_1 generaci po rodičích *Showa* japonského původu. Použití gynogeneze napomáhá odhalit dědičnost díky přenosu genetické informace pouze jednoho z rodičů (jen genom matky). Dále je v práci zdokumentována dvojí pigmentace váčkového plůdku, a to černé melaninové zbarvení a bílé nemelaninové zbarvení. U černého zbarvení váčkového plůdku se předpokládá že je zbarvením tmavých typů které při křížení dvou *Showa* typů vzniká. Vznikají typy *Shiro Utsuri*, *Hi Utsuri* a *Showa* brán také jako tmavý typ. Gynogeneze byla provedena na Jihočeské univerzitě v Českých Budějovicích, ve Výzkumném ústavu rybářském a

hydrobiologickém (VÚRH JU) ve Vodňanech, plůdek byl odchován v areálu líhně VÚRH JU Vodňany a na rybníčcích firmy Alcedor s.r.o.

2.LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1. Fyziologické základy zbarvení kůže ryb

Výsledné zbarvení ryb je způsobeno složitou kombinací optického působení několika kožních pigmentů. Pigmentové buňky jsou roztroušené ve škáře ryb, zejména v hraniční vrstvě škáry a pokožky, v několika vrstvách.

Černé barvivo melanin je roztroušené v podobě krystalků v kožních buňkách zvaných melanofory. Tyto buňky jsou hustě obaleny výběžky sympatického nervstva, a proto ryby mohou velmi rychle reagovat na změny prostředí výraznou změnou intenzity zbarvení (Ráb a kol., 2000). Melanin je v buňce v podobě pigmentových zrnček. Ke každé buňce vedou nervová vlákna autonomních nervů. Princip změny zbarvení spočívá v tom, že po nervovém podráždění se pigmentová zrnčka mohou v buňce pohybovat. Mohou být shloučena ve středu buňky. Takový okrsek povrchu těla je pak světlé barvy. Nebo mohou být roztažena do výběžků buněk a taková část těla má zbarvení tmavé, popř. černé (Dubský a kol., 2003).

Další chromatofory obsahují v tucích rozpustná barviva červená (karoteny) a nazývají se erytrofory nebo žlutá (xantofyly), které se nazývají xantofory. Ta přímo souvisejí s obsahovými látkami potravy, a tak je možné speciální dietou ovlivnit zbarvení ryb, jak dobře znají akvaristé nebo chovatelé lososovitých ryb. Chromatofory jsou daleko méně inervovány, rychlost změn těchto barev je tedy malá. Naproti tomu se karoteny a xantofyly velmi rychle rozkládají, což vysvětluje vyblednutí těla ryb krátce po smrti. Poslední typ buněk ovlivňující vybarvení neobsahuje pigment, ale pouze krystalky guaninu (produkt rozpadu purinových bází), které jsou ostré, velmi lesklé a odrážejí světlo. Rychlost jejich rozpadu je velmi malá, takže významně ovlivňují velmi známou stříbřitost ryb, a to i po smrti (Ráb a kol., 2000). Tyto buňky se nazývají guaniofory neboli iridocyty.

Zbarvení u ryb vyplývá ze společné interakce různých barev které se vyskytují v chromatoforech, nebo pigmentačních buňkách. Mnoho různých druhů těchto buněk se vyskytuje v kůži ryb: melanofory ovládají výraz černého zbarvení, xantofory - žlutého zbarvení, a erytrofory - červené zbarvení. Zbarvení a jeho vzor na povrchu těla závisí na typu, kvantitě, a umístění chromatoforů. Během reprodukčního období, jsou tyto buňky regulovány také hormonálně, v tomto období se zvyšuje jasnost zbarvení u ryb a jeho

kontrast.. Další druhy pigmentačních buněk jsou iridocyty lokalizované v epidermis, které obsahují guaninové krystaly a ovlivňují výskyt proměnné bílé a modré barvy.

V přírodě vzniká často mutací zbarvení kdy ryby částečně nebo zcela ztrácí kožní barvivo. Z nich se vyvinula nová zbarvení, jako je např.: částečná ztráta melanoforů (tmavého zbarvení) a nárůst počtu xantoforů, - vznik zlatého zbarvení u ryb. Ryby s takovým zbarvením nebo ty, které jsou bílé, jsou albinotické a mají červené oči, které způsobuje nedostatek melanoforů v oční duhovce. Výsledkem úbytku guaninových krystalů v kůži ryb je vznik alampie (Kirpičnikov 1981).

Vzájemné vrstvení chromatoforů má za následek vznik výsledného, strukturálního zbarvení. Toto zbarvení vzniká jako výsledek kombinací a vrstvení výše uvedených čtyř typů pigmentových buněk ve škáře.

Jednotlivé barvy vznikají takto:

- 1) stříbřitá- v místech kde jsou melanofory uloženy pod iridocyty,
- 2) šedá – melanofory jsou na povrchu, iridocyty pod nimi, melanin je částečně roztažený
- 3) černá- melanofory se široce roztaženým melaninem překrývají iridocyty
- 4) modrá- iridocyty jsou nad melanofory s roztaženým melaninem (trvale modré zbarvení vzniká pevným spojením stříbřitých a černých buněk v tzv. melaniridocyty),
- 5) zelená- vzniká kombinací třech pigmentových buněk, nahoře jsou xantofory, pod nimi iridocyty, dole melanofory,
- 6) žlutá lesklá- xantofory leží nad iridocyty,
- 7) žlutá nelesklá- tvořena pouze xantofory s roztaženým barvivem,
- 8) žlutohnědá- melanofory s částečně roztaženým melaninem leží nad xantofory s roztaženým barvivem,
- 9) červenohnědá- melanofory s částečně roztaženým melaninem leží nad erytrofory s roztaženým barvivem,
- 10) červená lesklá- erytrofory jsou nad iridocyty,
- 11) červená matná- tvořena pouze erytrofory s roztaženým barvivem,
- 12) oranžová- vzniká promícháním xantoforů s erytrofory,
- 13) bílá- je způsobena pouze iridocyty (Dubský a kol., 2003).

V přírodních podmínkách jedinci, kteří jsou zbarvení odlišně od původního divokého zbarvení, jsou okamžitě středem pozornosti dravců a mají minimální naději na přežití. Populace chované v kontrolovaných chovných podmínkách s odlišným zbarvením než je přirozené divoké zbarvení se odchovávají poměrně snadno a vývoj a vznik nových zbarvení se vyvíjí velmi rychle. Toto vyplývá z nedostatku přirozené predace a následujícího snadného přežití těchto jedinců. (Backiel a kol., 2007)

Vznik variant s atypickým zbarvením byl potvrzen u mnoha chovaných druhů ryb. Vysoký stupeň různorodosti byl potvrzený u kapra obecného, *Cyprinus carpio L.*, je to ryba, která byla domestikována již před několika tisíci lety. Byly popsány následující druhy zbarvení u kapra: zlaté (Moav a Wohlfarth 1968), modré (Wlodek 1963), červené (Steffens 1958), ocelové zbarvení (Katasonow 1978). Momentálně nejvíce různorodé zbarvení mezi barevnými rybami, sledujeme u japonských kaprů Koi. Kapr Koi zahrnuje přibližně 100 různých variet zbarvení, které byly vyšlechtěny v Japonsku pomocí křížení. Z Japonska se kapr Koi během posledního století rozšířil do mnoha zemí celého světa. Barvy, které se vyskytují u kaprů Koi jsou: červená, bílá, bledě růžová, zlatá, žlutá, oranžová, také modrá nebo zelená, a kombinace těchto barev. (Katasonow 1974, McDowall 1989, Wohlfarth a Rothbard 1991, Hilble a Langfeldt - Feldmann 2001).

Vývoj barevných forem karase, který byl kultivován v Číně více než tisíc let, je podobně zvláštní vzhledem k vzniku jeho okrasných forem – závojnky (karas stříbrný, *Carassius auratus auratus L.*). Bylo zde vyšlechtěno mnoho variant s různým zbarvením a tvarem těla (popsané v detailu Kirpičnikovem 1981). V devadesátých letech 20. století byly vyvinuty mnohé kultivační techniky (metodiky pro odchov, či šlechtění) pro mnoho nových druhů ryb, ve kterých byly uvedeny také různé barevné mutace těchto druhů. Mezi tyto popsané druhy patří mimo jiné: pstruh duhový, *Oncorhynchus mykiss* (Clark 1970, Wright 1972, Bridges a Limbach 1972, Kincaid 1975, Kohlmann a Fredrich 1986, Dobosz et al. 1999, Goryczko a Dobosz 2004, Blanc et al. 2006), jelec proudník, *Leuciscus leuciscus* (Witkowski et al. 1997), lín obecný, *Tinca tinca* (Flajshans a Kvasnicka 1997), sumeček skvrnitý, *Ictalurus punctatus* (Bondari 1984), amur bílý, *Ctenopharingodon idella* (Tay et al. 1985), síh severní, *Coregonus lavaretus* a lipan podhorní, *Thymalus thymalus* (osobní pozorování; Backiel a kol., 2007).

2.2. Základy dědičnosti barev ryb

Barva je typickým kvalitativním znakem organismů. Takové znaky obecně kóduje jeden nebo několik málo definovaných genů velkého účinku. Tyto geny jsou nazývány monogeny (jeden pár alel na jednom lokusu určuje jeden znak) či oligogeny (2 a více párů alel, zpravidla ne více než 4, umístěných na dvou a více lokusech určují jeden znak). Jejich fenotypový projev je obvykle alternativní (znak se buď projeví nebo neprojeví). U ryb se mezi kvalitativní znaky zahrnuje právě zbarvení těla nebo oka, barevné znaky na trupu, hlavě nebo ploutvích, ošupení, tvar ploutví apod. Vliv prostředí na expresi genů velkého účinku je obvykle nevýznamný nebo málo významný. (Flajšhans a kol., 2008)

2.2.1. Mendelovy zákony, genové interakce, pleiotropie

U diploidního potomka je tvořen alelický pár z jedné alely matky a jedné alely otce přenos těchto alel podléhá **Mendelovým zákonům**. Při vzájemném křížení dvou homozygotů vznikají potomci jednotného genotypu i fenotypu. O tom hovoří **první Mendelův zákon**. Při křížení heterozygotů (Aa) může být potomstvu předána dominantní alela A , nebo recesivní alela a se stejnou pravděpodobností. Dochází k segregaci (štěpení) genotypů v potomstvu (25% dominantní homozygot AA , 50% heterozygot Aa , 25% recesivní homozygot aa ; genotypový štěpný poměr je 1:2:1). Navenek se to projeví vyštěpením různých fenotypů. V tomto případě se jedná se o **druhý Mendelův zákon o náhodné segregaci genů do gamet**. Na tomto základě byla také popsána dědičnost zlatého a modrého zbarvení u lína obecného (Kvasnička a kol., 1998, viz níže). **Třetí Mendelův zákon hovoří o volné kombinovatelnosti vloh**. Při zkoumání dihybridismu (dvou alel současně) rovněž dochází k pravidelné segregaci. Například u dědičnosti barev u lína. Křížením zlatého ($BBgg$) a modrého ($bbGG$) lína získáme divoce zbarvené (zelené) potomstvo (dihybridy $BbGg$), které bude heterozygotní v obou vlohách. Každá z těchto ryb může tvořit 4 různé gamety (BG , Bg , bG , bg). Při vzájemném křížení z těchto gamet vzniká 16 různých zygotických kombinací. Některé z kombinací dostaneme opakovaně, celkem vzniká devět různých genotypů v poměru 1:2:1:2:4:2:1:2:1). Těchto 9 genotypů se projeví čtyřmi fenotypy. Fenotypový štěpný poměr je 9:3:3:1.

Existují vztahy mezi geny, nebo alelami, označované jako **genové interakce**. Rozlišují se interakce mezi alelami uvnitř alelického páru na určitém lokusu, tzv. **intraalelické interakce**, a vztahy mezi (dvěma a více) alelickým páry, tzv.

interalelické interakce. Mezi **intraalelické interakce patří dominantní dědičnost.** Je přenášena dominantním genem. Znak, který je výsledkem působení dominantního genu, má dominantní dědičnost (např. divoké zbarvení u lína, viz.níže). Dále **recesivní dědičnost**, znaky, které jsou výsledkem působení recesivních genů (např. zlaté a modré zbarvení u kapra a lína, bílé zbarvení u lína). **Úplná dominance** je stav, kdy dominantní alela (A) tvoří jiný genový produkt než recesivní alela (a). Dominantní homozygot (AA) a recesivní homozygot (aa) se manifestují odlišně. V heterozygotním genotypu (Aa) se znak projevuje stejně jako v homozygotním genotypu (AA). Částečný projev mutantní alely (a) ve fenotypu heterozygota se nazývá **neúplná dominance** (např. u zlatého karase průhlednost šupin dominantního homozygota). **Kodominance** je typem dědičnosti, při kterém se dvě různé alely téhož alelického páru plně projeví ve fenotypu heterozygota. To se děje např. u genů, které determinují vznik antigenů nebo proteinů. **Superdominance** je stav, kdy výsledný efekt působení dvou různých alel téhož alelického páru je u heterozygota vyšší než u kteréhokoliv z homozygotů. **Aditivita** je stav, kdy žádná z alel není dominantní a obě přispívají stejně k produkci fenotypu. Heterozygotní fenotyp je středem mezi oběma homozygotními fenotypy. Příkladem aditivity je např. gen G u pstruha duhového (Tab.1; Flajšhans a kol., 2008).

Tab.1: Příklad aditivity. (Flajšhans a kol., 2008)

Genotyp	Fenotyp
$G'G'$	zlatý
$G'G$	palomino
$G G$	normální pigmentace

Při interalelické interakci určitý znak vznikne nebo se projeví na základě vztahu mezi dvěma a více alelickými páry. Fenotypový projev genů, které jsou v interakci může být ovlivněn tak, že jeden gen může být funkčně nadřazen jinému genu (epistatické interakce) nebo je fenotypový projev závislý na komplementárním spolupůsobení genů (komplementární interakce), nebo geny v interakci působí protisměrně (kompenzační interakce). Jednotlivé typy interakcí se projevují charakteristickými posuny ve fenotypových štěpných poměrech v F_2 a podle těchto odchylek lze usoudit na typ interakce. U **dominantní epistáze** dominantní alela nadřazeného (epistatického) alelového páru potlačuje projev dominantní alely podřízeného (hypostatického) genu, ať již je tento gen v homozygotní nebo heterozygotní konstituci. U hospodářských druhů

ryb je nejvýznamnějším fenotypem řízeným epistází **fenotyp ošupení u kapra obecného**. Ošupení kapra je řízeno dvěma geny, (*S*, *squamatus*) a (*N*, *nudus*), přičemž *N* je epistatický. (Flajšhans a kol., 2008).

Práce Kirpičnikova a Balkashina (1935, 1936), Golovinské (1940), Kirpičnikova (1937), a Probst (1949) poukazují na dva páry autosomálních rozdílných genů, které určují typ ošupení u kapra. Následující tabulka 2 ukazuje jednotlivé typy ošupení:

Tab.2: Typy ošupení.

<i>SSnn</i>	šupinatý fenotyp
<i>Ssnn</i>	
<i>ssnn</i>	lysý fenotyp
<i>SSNn</i>	řádkový fenotyp
<i>SsNn</i>	
<i>ssNn</i>	hladký fenotyp

Kapr s genotypy *SSNN*, *SsNN*, a *ssNN* není životaschopný. Gen *N* je letální v homozygotním postavení a plůdek (embrya) odumírají již při kulení. Tento gen má redukující efekt na mnoho orgánů heterozygotních kaprů (Golovinská, 1940; Kirpičnikov, 1945; Probst, 1953). Údaje o dědičnosti základních typů ošupení byly potvrzeny nedávnými pracemi. Je zřejmé, že geny *S* a *N* vznikly u evropského kapra jako výsledek dvou nezávislých mutací. Později jejich kombinace vyprodukovala kapra bez šupin, nebo téměř bez šupin. V následující tabulce 3 jsou uvedeny křížení různých typů ošupení u kapra. Rozdělení odpovídá předpokládanému vzoru, ale počet kaprů s řádkovým a hladkým typem ošupení je malý, díky jejich snížené životaschopnosti (pleiotropní efekt genu *N*; Kirpičnikov, 1971).

Tab. 3: Dědičnost ošupení u kapra (šup.= šupinatý; lys. = lysý; řád. = řádkový; hld.= hladký).

Rodiče (bez ohledu na pohlaví)		Počet potomstva (v procentech)			
		šupinatý	lysý	řádkový	hladký
1.	šup. × šup.	100	-	-	-
		75	25	-	-
2.	šup. × lys.	100	-	-	-
		50	50		
3.	šup. × řád.	50	-	50	
		37.5	12.5	37.5	12.5
4.	šup. × hld.	50	-	50	-
		25	25	25	25
5.	lys. × lys.	-	100	-	-
6.	lys. × řád.	50	-	50	-
		25	25	25	25
7.	lys. × hld.	-	50	-	50
8.	řád. × řád.	33.3	-	66.7	-
		25	8.3	50	16.7
9.	řád. × hld.	33.3	-	66.7	-
		16.7	16.7	33.3	33.3
10.	hld. × hld.	-	33.3	-	66.7

Golovinská (1946) křížila samici kapra s řádkovým typem ošupení se dvěma samci s hladkým typem ošupení a vzniklo následující.

Tab.4: Křížení samice s řádkovým typem ošupení se dvěma samci s hladkým typem ošupení.

	šup.	lys.	řád.	hlad.
	<i>(Sn)</i>	<i>(sn)</i>	<i>(SN)</i>	<i>(sN)</i>
očekávaný	725	725	1450	1450
skutečný	758	758	1406	1426

Tab.5: Křížení dvou kaprů s řádkovým fenotypem ošupení. (Wohlfarth, Lahman and Moav, 1963)

	šup.	lys.	řád.	hlad.
	<i>(Sn)</i>	<i>(sn)</i>	<i>(SN)</i>	<i>(sN)</i>
očekávaný	301	100	602	201
skutečný	343	109	568	184

Dalším typem dominantní epistáze je **inhibice**. Dominantní alela jednoho genu (inhibitoru) inhibuje fenotypový projev dominantní i recesivní alely dalšího nebo dalších genů. Fenotypový štěpný poměr v F₂ dihybrida je 3 : 13. Pro **recesivní epistázi** platí, že recesivně homozygotní konstituce epistatického genu je nadřazena nad jakoukoliv konstitucí druhého (hypostatického) genu. Fenotypový projev hypostatického genu je závislý na funkci a produktu dominantní alely epistatického genu. Fenotypový štěpný poměr v F₂ dihybrida je 9AB : 3 Ab : 4 ab. **Dvojitá recesivní epistáze (komplementární faktory, komplementarita)**. Pro realizaci znaku je nutná přítomnost alespoň jedné z dominantních alel (A-B-) každého z komplementárních genů. Znak tedy najdeme u jedinců s genotypem AaBb, AABb, AaBB, AABB. Naopak u jedinců, kde je jedna alela v homozygotně recesivní kombinaci, znak nepozorujeme - aabb, aaBb, aaBB, Aabb, AAbb. Fenotypový štěpný poměr v F₂ dihybrida je 9 : 7. **Kompenzace** způsobuje že, účinek dvou alel na stejný znak je protisměrný. Každá alela v dominantním genotypu podmiňuje určitý fenotyp, pokud jsou však v genotypu zastoupeny oba geny alespoň jednou dominantní alelou, účinek genů se kompenzuje, a to vede ke třetímu typu fenotypu. Fenotypový štěpný poměr v F₂ dihybrida je 3 Ab : 3 aB : 10 ab. Spolupůsobení více genů se označují jako **multiplicitní faktory, multiplicitní interakce**. Tyto genové interakce se vyznačují stejnosměrným působením

dominantních alel různých genů, označovaných jako alely aktivní, zatímco recesivní alely bývají funkčně neutrální. Pro své stejnosměrné působení jsou geny obvykle označovány stejným písmenem a alelické páry se rozlišují numerickými indexy ($A_1A_1A_2A_2\dots A_nA_n$). Podle toho, kolik alelických párů působí na vznik daného znaku, hovoří se o **faktorech duplicitních, triplicitních** atd., až **multiplicitních**. Pro intenzitu fenotypového projevu je rozhodující, zda se účinek duplicitních genů kumuluje (sčítá), nebo ne. Jestliže se účinek duplicitních genů nekumuluje, stačí k vyvolání určitého fenotypového projevu přítomnost jedné dominantní alely z kteréhokoliv alelického páru, potom jde o **Duplicitní faktory nekumulativní s dominancí**. F_2 dihybrida fenotypově segreguje v poměru $15 AB : 1 ab$. **Duplicitní faktory kumulativní s dominancí** - maximální intenzita fenotypového projevu je dána součinností dominantních alel, alespoň jedné z každého alelického páru (A_1A_2-). Samy o sobě dominantní alely každého duplicitního (multiplicitního) genu ($A_1a_2a_2, a_1a_1A_2-$) zajišťují projev vlastnosti s nižší intenzitou. Homozygotně recesivní stavy v alelických párech představují třetí fenotyp. F_2 dihybrida fenotypově segreguje v poměru $9 AB : 6 Ab$ (respektive aB) : $1 ab$. **Duplicitní faktory kumulativní bez dominance** jsou příkladem genové interakce, kdy se rozšiřuje počet fenotypových tříd v segregujícím potomstvu. Intenzita fenotypového projevu závisí na počtu přítomných dominantních alel v genotypu, účinky jednotlivých dominantních alel se sčítají bez ohledu na příslušnost k jednotlivým genům. Nasčítaný výsledek působení jednotlivých genů se označuje jako aditivní účinek genů. Vzniká pět rozdílných fenotypových tříd podle klesající intenzity fenotypového projevu v poměrném zastoupení $1 : 4 : 6 : 4 : 1$. **Pleiotropie** je stav opačný k zatím popsaným případům interalelických interakcí. Jako pleiotropní působení se označuje stav, kdy jeden gen působí na projev více znaků. Jednotlivé geny mají zpravidla jeden primární účinek, na který může navazovat řada druhotných fenotypových projevů (Flajšhans a kol., 2008).

V obou uvedených případech v tabulce 4 a 5 (viz. výše, dominantní epistáze), byl počet ryb s řádkovým a hladkým typem ošupení nižší, zatímco ryb s šupinatým typem a lysým typem bylo více než se očekávalo. Nižší životaschopnost kaprů s N genem je očekávaný pleiotropní efekt tohoto genu. Alely ostatních sad S a s , mají také pleiotropní efekt: mnoho orgánů ryb je zasaženo (ovlivněno) geny ovlivňujícími ošupení a mnoho morfologických a fyziologických vlastností je změněno, jak uvádí další tabulka 6. Nejvíce překvapující je rozdíl mezi rybami s a bez genu N (jeden řádkový a hladký,

ostatní šupinátí a lysí). Mezi znaky ovlivněné genem *N*, patří zvláště počet požerákových zubů, jak je to vidět u řádkového a hladkého kapra. (Kirpičnikov, 1971).

Tab.6: Pleiotropní efekt u genů ošupení u kapra:

Znak		Typ ošupení			
		šupinatý <i>S,n</i>	lysý <i>s,n</i>	řádkový <i>S,N</i>	hladký <i>s,N</i>
1.	Hmotnost ryb, optimální podmínky	100	93–96	85–88	79–80
2.	Hmotnost ryb, zhoršené podmínky	100	83–94	42–70	37–72
3.	Hmotnost dva roky starých ryb ²	100	94–96	86–91	83.84
4.	Průměrný počet měkkých paprsků ve hřbetní ploutvi(D)	18.8 (17–22)	18.7 (17–22)	16.4 (12–19)	15.4 (5–18)
5.	Průměrný počet měkkých paprsků v řitní ploutvi(A)	4.96	5.00	3.82	3.56
6.	Průměrný počet měkkých paprsků v břišní ploutvi(V)	8.91	8.68	8.76	8.47
7.	Průměrný počet měkkých paprsků v prsní ploutvi (P)	14.7	14.3	14.3	13.1
8.	Průměrný počet žaberních tyčinek	24.6–25.1	24.3–24.8	19.4–21.6	18.5–20.5
9.	Počet žaberních lístků	88.6	83.5	82.3	83.2
10.	Poměr délky/výšky trupu	2.77–2.33	2.74–2.26	2.86–2.35	2.82 2.35
11.	Průměrný počet požerákových zubů	9.22	9.58	7.63	7.44
12.	Regenerační schopnost ploutví	100	76	39	19
13.	Poměr zadní a přední komory plynového měchýře;	>1	<1	?	?
14.	Teplotní maximum (kritická teplota, C°)	37.6	37.5	36.8	36.6
15.	Odolnost vůči deficitu kyslíku, přežití v minutách	210	210	132	132

16.	Počet erytrocytů, 10 ¹² /cm ³	1.93	1.99	1.76	1.69
17.	Hemoglobin, g/%	9.02	8.87	8.18	8.28
18.	Životaschopnost ryb, optimální podmínky ¹	100	91–98	87–93	80–92
19.	Životnost ryb, zhoršené podmínky ¹	100	93–95	36–37	28–60

¹literární zdroj: 1. Golovinská, 1940; 2. Kirpičnikov, 1945, 1948; 3. Probst, 1953; 4. Steffens, 1966; 5. Chan mai-Tchien, 1968. (Kirpičnikov, 1971).

Penetrance odpovídá procentu jedinců, kteří vykazují očekávaný fenotyp. Projeví – li se tento fenotyp vždy, penetrance je 100%. Projeví –li se tento fenotyp jen u poloviny jedinců, penetrance je 50%, atd. Fenotypy vázané na pohlaví mají penetranci 0 nebo 100%. **Expresivita** odpovídá fyzickému projevu fenotypu, tj. rozsahu fenotypové exprese. Některé fenotypy nejsou proměnlivé vůbec; jiné se u různých ryb exprimují různou měrou (Flajšhans a kol., 2008).

2.2.2. Dědičnost zbarvení xantorického rázu u pstruha duhového

První pokus o křížení dospělých jedinců uvnitř žlutě (xantoricky) zbarveného chovu (speciálně dovezeného od Maliszewského), dopadl tak, že v první F₁ generaci mělo celé potomstvo zbarvení xantorického rázu (žlutého rázu). Od ryb z Jastarnie a Olesnice s xantorickým zbarvením po dosažení pohlavní dospělosti, se pokusy dělaly v sérii křížících experimentů uvnitř tří barevných rázů. Potomstvo získané z těchto křížení bylo všechno s xantorickým zbarvením. Dále byly provedeny pokusy v křížení mezi xantorickým zbarvením a divokým zbarvením, uvnitř rázů i mezi nimi. V tabulce 7 jsou uvedeny výsledky pokusů (Backiel a kol., 2007).

Tab.7: Výsledky pokusů křížení xantorického (žlutého) a divokého zbarvení.

Křížení divokého zbarvení a zbarvení Xantorického , zbarvení potomstva		
linie/zbarvení	linie/zbarvení	zbarvení potomstva
samice	samec	
Žluté/Xantorické	Žluté/Xantorické	Xantorické
Jastarnia/Xantorické	Jastarnia/Xantorické	Xantorické
Olesnica/Xantorické	Olesnica/Xantorické	Xantorické
Jastarnia/Xantorické	Žluté//Xantorické	Xantorické
Olesnica/Xantorické	Žluté//Xantorické	Xantorické
Žluté/Xantorické	Jastarnia/Divoké	Divoké/Xantorické
Žluté/Xantorické	Olesnica/Divoké	Divoké
Jastarnia/Divoké	Žluté//Xantorické	Divoké
Jastarnia/Divoké	Olesnica/Xantorické	Divoké
Jastarnia/Divoké	Olesnica/Divoké	Divoké/Xantorické
Jastarnia/Divoké	Jastarnia/Divoké	Divoké/Xantorické
Olesnica/Divoké	Jastarnia/Divoké	Divoké

V tomto stupni experimentu nebylo množství potomstva v různě zbarvených skupinách spočteno. Podle výsledků zbarvení potomstva se předpokládá, že xantorické zbarvení je dědičná mutace genu, který ovládá divoké zbarvení u Pstruha duhového. Současně, tyto výsledky poskytují důkaz o tom, že je to změna stejného projevu genu ve všech rázech ve kterých byl výskyt xantorických ryb potvrzen. Projev genu odpovědný za divoké zbarvení je označen symbolem *A*, zatímco gen odpovědný za xantorické zbarvení, které je podloženo výsledky v tabulce, je vůči divokému zbarvení (*A*) recesivní, je označen symbolem *a* (Backiel a kol., 2007).

2.3. Dědičnost barev u Koi kapra

Barva se dědí zcela nezávisle na typu ošupení , předpokládá se dosti obtížně vzhledem k problémům v mnoha případech dědičnosti barev u Koi. Pokud vezmeme plně barevného Koi s označením alel *CC*, nezáleží na tom jakou barvu označují, jde jen o plnost sytost zbarvení-plnobarevný, celobarevný. Pokud vznikne mutace pro

nebarevný výraz bude označena *cc* (albinismus), je to recesivní gen umístěný na lokusu určujícím zbarvení. Po skřížení jedinců s dominantním znakem *CC* a recesivním znakem *cc* je jediným možným výsledkem v F_1 generaci heterozygotní potomstvo *Cc* (Tab.8). Při dalším křížení naší F_1 generace dostaneme v F_2 generaci *CC, Cc, Cc, cc* (Tab.9), to je 75% plno barevných a 25% čistých albínů (nebarevných). Albín by neměl být zaměňován s bílým zbarvením. Albín nemá žádný pigment, má růžové oči, zatímco bílý Koi budou mít tmavě zbarvené oči. U Koi s tmavýma očima se zřejmě jedná o epistázi, tj. bílá barva dominuje nad normálním zbarvením (Tamadachi, 1990).

Tab.8: Křížení homozygotů *CC* a *cc* (dle Tamadachi, 1990).

male female	<i>c</i>	<i>c</i>
<i>C</i>	<i>Cc</i>	<i>Cc</i>
<i>C</i>	<i>Cc</i>	<i>Cc</i>

Vloha pro plné zbarvení je označena *CC*, vloha pro albinismus je označena *cc*. Heterozygotní potomstvo *Cc* vypadá jako plné zbarvení, ale obsahuje alelu *c* pro albinismus. Pokud křížíme jedince *CC* a *cc* vznikají heterozygoti *Cc* barevně stejní jako jejich rodiče, ale při křížení F_1 (Tab.9), vzniku F_2 , vznikají jedinci opět albinotičtí a jedinci normálně zbarvení. (Tamadachi, 1990)

Tab.9: Křížení heterozygotů *Cc* (dle Tamadachi, 1990)

male female	<i>C</i>	<i>c</i>
<i>C</i>	<i>CC</i>	<i>Cc</i>
<i>c</i>	<i>Cc</i>	<i>cc</i>

Při křížení jedinců *Cc* vznikne jeden jedinec normálně zbarvený, dva heterozygoti s vlohou pro albinismus normálně zbarvení a jeden jedinec albinotický. Dědičnost bílých skvrn je zcela nepředvídatelná, potomstvo může být , jak barevné s malou plochou bílých skvrn, tak převážně bílé s malými barevnými skvrnami , nebo s vyváženým rozdělením obou barev. I dobře skvrnití rodiče mohou produkovat

nekvalitní potomstvo. Stejná je situace u dědičnosti skvrn jiné barvy, např. u *Ki – utsuri*. Modrá barva vzniká mutací z černé, dochází k mutaci genu řídícího plnou sytost barvy, vzniká „ředící“ gen, který v homozygotním stavu naředí tmavý pigment a vzniká modré zbarvení. „Ředící“ gen může být přenesen i na jiné barvy – čistě zlatý *Ogon* v přítomnosti ředícího genu v homozygotní konfiguraci je mnohem bledší. Řada barev je určována polygenně, z toho plynou problémy ve světlých barvách – nelze rozlišit, zda je to výsledkem selekce světlých jedinců z polygenního systému, nebo zda je přítomen „ředící“ gen. Některé barvy mohou být pohlavně vázané. Pravděpodobně se vyskytují inhibiční geny, které omezují tvorbu pigmentu na určité oblasti buňky a určitě se vyskytují geny zvyšující intenzitu červené barvy. U některých typů lze odchovat čistokrevné linie, u ostatních to nelze, protože jsou výsledkem působení směsi dominantních, recesivních a inhibičních vloh (Tamadachi, 1990).

2.4.Genomové manipulace

2.4.1.Přirozená gynogeneze

Přirozená gynogeneze je jedním ze způsobů rozmnožování ryb. Samice určitého druhu ryby se vytírá se samcem jiného druhu, ale otcovský druh se nepodílí na genotypu potomstva. Přítomnost spermií pouze spouští vývoj vajíčka. Přirozená gynogeneze u ryb zdokumentována u některých druhů (Horváth a Orbán, 1995) Řada polyploidních populací kaprovitých ryb se gynogenetickým rozmnožováním udržuje (*Carassius*, *Misgurnus*, *Cobitis*, ...) (Flajšhans a kol., 2008).

2.4.1.1.Přirozená gynogeneze u karase stříbrného, (*Carassius auratus gibelio*)

V přírodě se *C. auratus gibelio* nachází ve dvou formách, v obvyklé bisexuální formě obsahující v populaci samice i samce a v jednopohlavní gynogenetické formě sestávající se v populaci jen ze samic.

Jednopohlavnost *C. auratus gibelio* byl pozorovaný I.A. Anichenkem v roce 1939–1940 (Golovinská a Romashov, 1947); ale vysvětlení tohoto fenoménu přišlo až po objevu přírodní (přirozené) gynogeneze u tohoto druhu od autorů Romashov a Golovinská kteří získali experimentální důkaz o tomto typu reprodukce, jednotlivými genetickými rozbory samice (jikernačky) z populace jednopohlavní formy (Krushinsky, 1946; Golovinská a Romashov 1947). Při reprodukci jednopohlavní celosamičí populace dochází k oplodnění pohlavních produktů (jiker karasů) samci jiných

kaprovitých druhů, aniž by zasáhly svojí polovinou do genomu karase (Kirpičnikov, 1971).

Výzkum genomového inženýrství se podstatně vyvinul až v druhé polovině 20. století a byl založen zejména na manipulaci v průběhu dokončování meiotického dělení po oplození a prvního mitotického dělení. Meiotická a mitotická gynogeneze byly aplikovány v pokusech na určení mechanismu dědičnosti xantorického zbarvení. Tyto metody dovolily získat potomstvo s vrozeným genotypem pouze od jednoho z rodičů, nebo potomstvo dokonale homozygotní (Backiel a kol., 2007).

2.4.2.Meiotická gynogeneze

Meiotická gynogeneze je indukována oplodněním jiker spermatem, u kterého je inaktivován genetický materiál ozářením (UV, gama, X). Spermie je potom schopna aktivovat pouze první fáze vývoje vajíčka, ale genetická informace spermie (otce) se nemůže spojit s genomem vajíčka matky. Takto oplodněné jikry jsou pak vystaveny fyzikálnímu, nebo chemickému šoku (např.chladovému šoku), který zadrží druhé pólové tělísko během druhého meiotického dělení v jikře.Výsledkem je vytvoření diploidní zygoty, která obsahuje genetický materiál pouze od matky. Dojde jakoby k samooplození. U druhů ryb, které mají pohlaví určeno systémem Drosophila (samičí pohlaví homogametické XX, samčí pohlaví heterogametické XY), je veškeré gynogenetické potomstvo samičího pohlaví, vycházející právě z homogametického uspořádání pohlavních chromozomů matky (Backiel a kol., 2007).

Tyto metody umožnily tvorby triploidních linií, které mají např.u línů asi o 30% vyšší intenzitu růstu, protože triploidní linie jsou substerilní a roste jim svalovina na úkor tvorby gonád. Pro celosamičí potomstvo, byla rozpracována metoda, která umožňuje tyto geneticky samičí jedince speciálně sestavenou dietou s hormonálním přípravkem změnit ve funkční samce. V dospělosti tímto způsobem vytvořených ryb může dojít ke křížení sourozenců vzniklých klonálně. Ze šlechtitelského hlediska jde při použití těchto metod o mnohem účinnější nástroje, než je klasické nejužší příbuzenské rozmnožování. Umožňuje to obejít, nebo nahradit zdlouhavé množení po několik generací klasickým způsobem a šetří tedy čas. Z tohoto důvodu může domestikace a šlechtění ryb probíhat daleko rychleji , než při použití klasických šlechtitelských metod (Ráb a kol., 2000).

2.4.3.Mitotická gynogeneze

Touto metodou lze vytvářet inbrední linie s mírou inbredizace za generaci rovnou 3 - 4 generacím plemenitby sourozenců nebo 6 - 7 generacím plemenitby polosourozenců. U druhů s chromozómovým určením pohlaví typu *Drosophila* lze získat 100% samičího potomstva. Průkazně rozdílná růstová schopnost je projevem pohlavního dimorfismu (Flajšhans, 2008).

Mitotická gynogeneze je indukovaná aplikací šoku prostředí k zastavení jednoho z prvního mitotického dělení právě utvářené zygoty s haploidním počtem chromozomů. Haploidní počet chromozomů je výsledkem oplodnění s ozářeným mlíčkem, ve kterém byl zničen genetický materiál. Doplnění chybějící sady chromozomů proběhne spojením dvou haploidních jader z dělící se zygoty. Takto získá potomstvo pouze maternální genetický materiál. Veškeré gynogeticky získané potomstvo touto cestou, stejně jako v případě meiotické gynogeneze, je samičího pohlaví (Backiel a kol., 2007).

2.5.Základy šlechtění barevných mutací ryb

2.5.1.Barevné mutace lína

Výskyt zlatého a modrého zbarvení u lína obecného byl poprvé zmíněn Kluppem (1985) a Geldhauserem (1988) v německých chovech. Dědičnost zlatého a modrého zbarvení u lína, jejich genotypy a jejich fenotypový projev popsal Kvasnička a kol. (1996).

Na základě analýz štěpných poměrů zbarvení potomstva v F_1 , F_2 , B_1 a B_2 generacích bylo zjištěno, že modré a zlaté zbarvení jsou mutace dvou různých autozomálních genů (b a g), které nejsou ve vazbě (Flajšhans a kol., 1997).

Obě zbarvení se mohou projevit pouze v homozygotní konstituci ($bbG-$ modré zbarvení; $B-gg$ zlaté zbarvení) a jsou recesivní vůči divokému zbarvení ($B-G-$). Modely křížení, rodičovské genotypy a fenotypy, a fenotypové štěpné poměry F_1 potomstva jsou popsány v tabulce 10. Dosud ověřené štěpné poměry potomstva F_1 , F_2 , B_1 a B_2 generací (B = zpětné křížení) jsou popsány v tabulce 11 (Flajšhans a kol., 1997).

2.5.1.1.Modré zbarvení lína

Modré zbarvení je způsobeno mutací, negativně ovlivňující produkci červených a žlutých pigmentů. Křížením modrých jedinců mezi sebou dostaneme 100% modrého potomstva (Flajšhans a kol., 1997).

2.5.1.2.Zlaté zbarvení lína

Zlaté zbarvení je způsobeno mutací, ovlivňující negativně produkci melaninu a guaninu nebo koncentraci melanoforů a guanoforů. Sytost zbarvení od světle žluté po tmavě červenou je dána distribucí červených a žlutých pigmentů, ovlivnitelnou vnějšími vlivy, zatímco tmavé skvrny na hlavách, ploutvích a na hřbetní partii ryb jsou dány distribucí melaninu. Křížením zlatých jedinců mezi sebou dostaneme 100% zlatého potomstva. Není-li u potomstva žádoucí výskyt černých znaků na zlatém podkladě, vybíráme rodičovské jedince bez těchto znaků (Flajšhans a kol., 1997).

2.5.1.3.Divoké (zelené) zbarvení lína

Divoký (zelený) fenotyp odpovídá teoretickým genotypům *BBGG* (dominantní homozygot v obou vlohách); *BBGg* (homozygot ve vložce pro modré a heterozygot ve vložce pro zlaté zbarvení); *BbGG* (heterozygot ve vložce pro modré a homozygot ve vložce pro zlaté zbarvení), nebo *BbGg* (heterozygot v obou vlohách; Flajšhans a kol., 1997)

2.5.1.4.Alampie u lína

Alampí se rozumí stav, kdy jedinec postrádá všechny typy kožní pigmentace na těle i ploutvích (Fox, 1957; Crozier, 1974). Oko je však pigmentováno. Tyto jedince získáme při křížení F_2 potomstva po křížení zlatých a modrých jedinců (tab11; Flajšhans a kol., 1997).

Tab. 10: Modely křížení, rodičovské genotypy a fenotypy, a fenotypové štěpné poměry F_1 potomstva (Flajšhans a kol., 1997).

Křížení číslo	RODIČE				POTOMSTVO Fenotypový štěpný poměr
	Jíkernačka		Mlíčák		
	Fenotyp	Genotyp	Fenotyp	Genotyp	
1	zlatá	<i>BBgg</i>	zlatý	<i>BBgg</i>	100 % zlatých
2	modrá	<i>bbGG</i>	modrý	<i>bbGG</i>	100 % modrých
3	zlatá	<i>BBgg</i>	divoký	<i>BBGG</i>	100 % divokých
4	zlatá	<i>BBgg</i>	divoký	<i>BBGg</i>	50 % divokých : 50 % zlatých
5	zlatá	<i>BBgg</i>	divoký	<i>BbGG</i>	100 % divokých
6	zlatá	<i>BBgg</i>	divoký	<i>BbGg</i>	50 % divokých : 50 % zlatých
7	modrá	<i>bbGG</i>	divoký	<i>BBGG</i>	100 % divokých
8	modrá	<i>bbGG</i>	divoký	<i>BBGg</i>	100 % divokých
9	modrá	<i>bbGG</i>	divoký	<i>BbGG</i>	50 % divokých : 50% modrých
10	modrá	<i>bbGG</i>	divoký	<i>BbGg</i>	50 % divokých : 50% modrých

Tab.11: Výsledky křížení mezi zelenými, zlatými a modrými líný, fenotypy rodičů a potomstva, odhad rodičovských genotypů, štěpné poměry v F₁, F₂, B₁ a B₂ generacích (podle Kvasničky a kol., 1996) (Flajšhans a kol., 1997).

Křížení č.	Rodičovské fenotypy a genotypy		fenotypové frekvence potomstva					Očekávaný poměr	P
	Jikernačka	Mličák		zelené	zlaté	modré	alampické		
1	modrá (<i>bbG-</i>)	zelený (<i>B-G-</i>)	(F ₁)	3 100	-	-	-	-	-
2	zelená (<i>BbG-</i>)	zelený (<i>BbG-</i>)	(F ₂)	953	-	222	-	3:1	<0.05
3	modrá (<i>bbG-</i>)	zelený (<i>BbG-</i>)	(B ₁)	1 072	-	836	-	1:1	<0.05
4	zlatá (<i>B-gg</i>)	zelený (<i>B-G-</i>)	(F ₁)	2 852	-	-	-	-	-
5	zelená (<i>B-Gg</i>)	zelený (<i>B-Gg</i>)	(F ₂)	388	112	-	-	3:1	>0.05
6	zlatá (<i>B-gg</i>)	zelený (<i>B-Gg</i>)	(B ₁)	1 606	1 265	-	-	1:1	<0.05
7	zlatá (<i>B-gg</i>)	modrý (<i>bbG-</i>)	(F ₁)	4 855	-	-	-	-	-
8	zelená (<i>BbGg</i>)	zelený (<i>BbGg</i>)	(F ₂)	2 425	319	283	86	9:3:3:1	<0.05
9	zlatá (<i>BBgg</i>)	zelený (<i>BbGg</i>)	(B ₁)	1 836	1 154	-	-	1:1	<0.05
10	zelená (<i>BbGg</i>)	modrý (<i>bbGG</i>)	(B ₂)	1 235	-	1 080	-	1:1	<0.05

Tab. 12: Model křížení F₁ heterozygotů, genotypy a fenotypové poměry u potomstva v F₂ generaci při úplné dominanci pro dva geny, které nejsou ve vazbě: *b* (blue = modrá) a *g* (golden = zlatá; Flajšhans a kol., 1997).

	Gamety mlíčka				
		BG	Bg	bG	bg
Gamety jikernačky	BG	BBGG zelená	BBGg zelená	BbGG zelená	BbGg zelená
	Bg	BBGg zelená	BBgg zlatá	BbGg zelená	Bbgg zlatá
	bG	BbGG zelená	BbGg zelená	bbGG modrá	bbGg modrá
	bg	BbGg zelená	Bbgg zlatá	bbGg modrá	bbgg alampická

Fenotypový poměr: 9 zelených : 3 zlatým : 3 modrým : 1 alampické.

2.5.2. Barevné mutace u karase stříbřitého

Nejvíce základního studia genetiky u karase stříbřitého bylo uskutečněno japonskými a čínskými vědci. Chen (1928, 1934) ukázal, že modré a hnědé barvy charakteristické pro některé rázy, stejně jako průhlednost kožního krytí, jsou děděny malým počtem genů. Absolutní a mozaiková průhlednost je dána (podle Matsui 1934) kombinací dvou párů genů. Polodominantní gen *T* pro absolutní průhlednost je

epistatický v homozygotním stavu, v postavení k recesivnímu n genu (z jiného páru) působí na tvorbu umístění barevných a nebarevných sekcí. Oči karase mohou být teleskopické kvůli přítomnosti recesivního genu, zatímco dlouhé rozdvojené ploutve vznikají u karase působením interakce dvou nebo tří párů genů (Matsui, 1934a a c). Mnoho zvláštností u karase stříbřitého ještě nebylo objasněno z genetického hlediska, ačkoli některé variety karasů existují po mnoho staletí, zvláště červené formy, které byly vyšlechtěny v 10. století (Chen, 1956). Mnoho mutací ve všech rázech karase se nahromadily během posledních staletí. Z toho důvodu je jasné, že rozdíly mezi rázy musí být polygenního charakteru a je velmi obtížné je analyzovat (Kirpičnikov, 1971).

2.5.3. Barevné mutace u dalších chovaných druhů ryb

Jelec jesen (*Leuciscus idus*), šlechtěný v některých evropských zemích, je albinotickou formou běžného jelce jesena. Evidentně je albinotické zbarvení jelce jesena výsledkem recesivní mutace vybírané a dál šlechtěné člověkem. Stejně albinotické formy byly nalezeny i u sumečka skvrnitého (*Ictalurus punctatus*), který je nyní hlavním druhem chovaným v teplovodní akvakultuře v USA. Nedostatek černého barviva je u tohoto druhu způsoben přítomností recesivního genu (Nelson, 1958). Albinotické mutace byly nalezeny také i u dalších rybníčních druhů ryb (Kirpičnikov, 1971).

2.6. Šlechtění barevných mutací kapra

2.6.1. Jednobarevné typy kapra Koi.

Základní barevné mutace původního divokého (tj. šedožlutozeleného) zbarvení kapra, zahrnující bílý, modrý a zlatý fenotyp, byly již několikrát popsány (Probst, 1949; Moav a Wohlfarth, 1968; Katasonov 1973, 1974, 1976, 1978; Merla, 1982; Kirpičnikov, 1981; Linhart, 1987). Podle těchto autorů je modré zbarvení podmíněno genem BL a řízeno alelou bl v recesivní formě (Linhart, 1987).

Zlaté zbarvení je podmíněno genem G a řízeno alelou g v recesivní formě (Kirpičnikov, 1981). Z těchto údajů by bylo možno usuzovat na stejný mechanismus dědičnosti těchto barev, jak bylo dokázáno u lína obecného.

Přímo u kapra Koi byly popsány dva znaky : světlé zbarvení, podmíněné genem L a řízené alelou L v dominantní formě (Katasonov, 1973, 1974, 1976); a světle žluté obrazce na hlavě podmíněné genem D a řízené alelou D v dominantní formě (Katasonov, 1973, 1974).

Křížením kteréhokoli typu kapra Koi s divoce zbarvenými jedinci kterékoli chované populace nebo linie bylo vždy získáno 100% divoce zbarveného potomstva. Byla tedy potvrzena dominance divokého zbarvení. Jedinou výjimku tvoří pozorování Rothbarda a Wohlfartha (1995) , při kterém při křížení typu *Asagi* s kaprem divokého fenotypu vznikla forma *Shusui*. Není ale jasné zda autoři neměli výrazem *Shusui* na mysli pouze fenotyp ošupení (u typu *Asagi* je doitsu-lysá forma nazývána právě *Shusui*).

Křížením typu *Orange ogon* x *Orange ogon* bylo získáno 100% šupinatých červenožlatých homozygotů, křížením typu *Orange ogon* x *Doitsu Orange Ogon* i u potomstva reciprokého křížení bylo získáno 100% červenožlatých šupinatých heterozygotů.

Křížením *Shiro Ogon* (bílý) x *Platinum ogon* (bílý metalický) bylo získáno po 50% z obou rodičovských fenotypů. Štěpný poměr 1:1 by odpovídal křížení heterozygota s recesivním homozygotem za předpokladu, že by projev čistě bílé a bílé metalické barvy byl řízen jedním genem.

Křížením *Karasugoi* x *Platinum ogon* bylo získáno 48% černě zbarveného potomstva a 52% potomstva typu *Platinum ogon*. V obou případech se však pouze 0,8% - 1,2% potomstva blížila standardní kvalitě zbytek byl nestandardní kvality. V tomto případě se může jednat o odchylku od štěpného poměru 1:1, svědčící o křížení černého heterozygota s bílým recesivním homozygotem (Flajšhans a kol., 1997) .

2.6.2.Dvoubarevné, tříbarevné a vícebarevné typy kapra koi

Výsledky křížení dvou- a tříbarevných typů Koi s jednobarevnými typy , mezi sebou a s tříbarevnými typy potvrzují , že nelze hovořit o dědičnosti složitých barevných typů Koi v pravém slova smyslu. Není tedy možné předpovědět zbarvení potomstva na základě barev rodičů. Sled provedených křížení byl sestaven do tab. 13 a pro úplnost doplněn o literární údaje Szweigmanna a kol. (1992) a Rothbarda a Wohlfartha (1995). Tyto údaje jsou označeny hvězdičkou.

Na základě vlastních pokusů autorů a na základě literárních údajů lze vyvodit následující závěry:

1. Genotyp divokého zbarvení je dominantní
2. Genotyp modrého zbarvení je recesivní a je řízen alelou *bl* v homozygotní konstituci
3. Genotyp zlatého zbarvení je recesivní a je řízen alelou *g* v recesivní konstituci
4. V sérii barev černá-zlatá-bílá existuje vztah:

Černá (dominantní; převaha melanoforů)

Šedá (pomalejší vývoj melaninové pigmentace)

Žlutá řada (převaha xantoforů)

Bílá (recesivní; absence melanoforů a xantoforů)

5. Sytost barev červená-oranžová- zlatá- žlutá může být ovlivněna příjmem karotenoidů v potravě. Vzhledem k tomu, že ve žlutě zbarvené části potomstva jednotlivých křížení zpravidla nebyl pozorován plynulý přechod sytosti barvy, ale docházelo k vyštěpení podobných počtů červených, oranžových a žlutých jedinců, není možné předem vyloučit ani geneticky podmíněný vliv.
6. Z výše uvedeného vyplývá, že při křížení typů Koi, obsahující ve svém zbarvení černé znaky (*Taisho sanke, Showa, Bekko, Utsuri*) s jedno- nebo dvoubarevnými typy bez černých znaků, dojde v potomstvu k vyštěpení černých nebo šedých znaků. Stejně tak při křížení dvoubarevných typů s červenými, nebo oranžovými znaky (*Kohaku, Hariwake*) s jednobarevnými bílými Koi (*Platinum ogon*), dojde k vyštěpení červených, oranžových nebo žlutých znaků u potomstva.

Tab. 13: Výsledky křížení dvou- a tříbarevných typů Koi s jednobarevnými typy, mezi sebou a s tříbarevnými typy (Flajšhans a kol., 1997)

Samci Samice	Kohaku	Tancho	Taisho sanke	Showa sanshoku	Bekko shiro/ki	Asagi	Shusui	Utsuri Shiro/ki	Platinum ogon	Hajiro Karasugoi	divoké zbarvení
Kohaku	bílý, červený, Kohaku, vzácně Taisho sanke, Tancho*		Kohaku, ogon, Taisho sanke, s Bekko	Kohaku, ogon	Taisho sanke, Kohaku	Aigoromo, Koromo*, Kohaku		Showa	Ogon, Hariwake, Shusui		divoké
Tancho											
Taisho sanke	Kohaku, ogon, Taisho sanke, s Bekko					Goshiki, Koromo					divoké
Showa sanshoku	Kohaku, Ogon			Ogon*, Hariwake ne showa		Koromo		Kohaku*	Kin/Gin showa*		divoké
Bekko shiro/ki	Taisho sanke*, Kohaku	Kohaku, Taisho sanke, Bekko*									divoké
Asagi	Aigoromo, Koromo, Kohaku*		Goshiki*	Koromo							shusui
Shusui									Kohaku, Ogon, Hariwake		
Utsuri Shiro/ki	Showa*			Kohaku				Kohaku, Sh. Bekko			divoké
Platinum ogon	Ogon, Hariwake, Shusu			Showa*			Kohaku, Ogon, Hariwake	Ogon	Kabuto, Ogon, Hariwake	Karasugoi, Ogon	
Hajiro Karasugoi									Karasugoi, ogon		
divoké zbarvení	divoké		divoké*	divoké	divoké	Shusui*		divoké	Kabuto		divoké

2.6.3. Pigmentace larválních stádií a plůdku kapra obecného Koi a s tím spojené možnosti ranné selekce žádoucích fenotypů

Na rozdíl od plůdku chovných populací kapra obecného a zlaté formy karase stříbřitého, u nichž lze typické melanofory registrovat již ve stadiu rozplavání, plůdek kapra Koi po vykulení a rozplavání je většinou jednolitě jasně žlutě zbarven bez ohledu na rodičovské fenotypy zbarvení. Toto zbarvení přetrvává u všech kříženců ještě ve 12-25 dnech od vykulení. Zářivě žluté, nebo bílé zbarvení na hřbetě, bocích a horních

partii hlavy u typu *Ogon* lze pozorovat ve 30-38 dnech po vykulení, červenooranžovou pigmentaci na bílém podkladě u typu *Kohaku* a též tmavé melaninové skvrny a ostrůvky žlutooranžové pigmentace u vícebarevných typů (Flajšhans, a kol. 1997).

První přelovení kaprů Koi, odchovaných v plůdkových výtažnicích k dalšímu chovu podle zbarvení, má smysl provádět zhruba po 5-6 týdnech po vykulení, ve stádiu K_r. Tato doba pochopitelně závisí na růstu ryb, daném kromě genetické predispozice také teplotou vody, množstvím potravy atd. (Flajšhans, a kol. 1997).

Vzhledem k tomu, že žádoucích typů zbarvení nelze v požadované míře docílit křížením, nýbrž opakovaným pozitivním výběrem, je žádoucí přistoupit v tomto stádiu k první selekci (Flajšhans, a kol. 1997).

2.7.Historie chovu kapra Koi

Kořeny chovu barevného kapra sahají již do doby před 2500 lety, kdy se v Číně zabývali nejen chovem obyčejného kapra, ale také kapra barevného. Nám známý název Koi, který je pouze názvem pro kapra v Japonsku, pochází zřejmě již z této doby. Již v roce 470 před Kristem byl sepsán rukopis pod názvem „Yang Yu Jing“, který napsal „Tao Zhu Gong“, jež mimo jiné referuje o chovu kapra (Koi). Další kniha s názvem „Zhuan Gu Jin Zhu“ od autora Jin Cui Bao (316 – 265 př.n.l.) obsahuje již povídání o barevných kaprech, tedy *Irogoi*. Z Číny, která se později začala více věnovat chovu závojnatek, se dostává barevný kapr, tak jako jiné čínské produkty přes Koreu do Japonska, které se stává novým domovem kapra Koi. Relativně pozdě spatřují světlo světa další písemné zprávy o barevných kaprech tentokrát poprvé v japonském písemném projevu, v roce 713 pod názvem „Hitachi Fudoki“ (Přírodní vlivy regionu Hitachi) a v roce 720 v „Nihon – Shoki“ (Japonská kronika). V éře Heian (785 – 1192) chovali již zámožnější lidé divoké kapry ve svých rybnících. K velkému rozmachu chovu barevného kapra Koi dochází však až v době Bunka a Bunsei (1804 – 1830). V této éře se vyskytují ryby s většími skvrnami jako projev mutace z běžných tmavých konzumních kaprů. Stalo se tak téměř v centru prefektury Niigata, kde se tyto nové barevné mutace začaly chovat ve více horských vesnicích. Prvních 27 kusů Niigata Koi bylo představeno na Taisho výstavě v roce 1914. Nejlepších 7 kusů obdržel korunní princ Hirohito jako dárek. Po této době skutečně nastal velký rozmach chovu kaprů Koi. Byla to éra Taisho (1912 – 1926), ve které byly chovány již pevné variety kaprů Koi, jako je *Kohaku*, *Ki Utsuri*, a samozřejmě *Sanshoku (Taisho Sanke)*. Můžeme tedy bez

obav říci, že intenzivní a cílevědomý chov Nishikigoi trvá již téměř sto let. Odhaduje se, že každoroční produkce Koi v Japonsku převyšuje sto miliónů kusů (Štěch, 2007).

2.8. Význam chovu kapra koi v Evropě

V produkci okrasného kapra Koi má dominantní postavení Japonsko, kde má chov barevných mutací kapra několikasetletou tradici. V nedávné minulosti se chov této ryby rozšířil do Singapur, na Tchaj-wan, do dalších oblastí Dálného Východu, na Americký kontinent, do Evropy a Izraele. V současné době patrně nejvyšší úroveň dosahuje ve Velké Británii (Worthington, os. sděl., 1990) a v Německu. Přes intenzivní komerční produkci v těchto zemích, nebo snad právě proto je do současné doby známo velmi málo informací o dědičnosti jednotlivých mutací okrasného zbarvení (Katasonov, 1973, 1974, 1976, 1978; Kirpičnikov, 1981; Szweigman a kol., 1992; Wohlfarth a Rothbard, 1991; Rothbard a Wohlfarth, 1995) (Flajšhans a kol., 1997).

Do bývalého Československa byli okrasní kapři Koi dovezeni několikrát a to oficiální cestou i soukromě. Dovoz z iniciativy doc. Olivy v roce 1978 popsal Pecha (1988), o dalších dovezech se zmiňuje Kálal in Baruš a kol. (1995). Chovu kaprů Koi byla věnována však víceméně jen okrajová pozornost. Z těchto chovů však vznikly na řadě podniků i soukromých chovatelů populace ryb, jejichž komerční využití se stává předmětem stále se zvyšujícího zájmu. Podobným způsobem byla založena i populace ve VÚRH, v roce 1992 byla dovezena populace kapra Koi z Izraele, která je potomstvem původních japonských Koi (Rothbard, os. sděl., 1992). (Flajšhans a kol., 1997)

Výsledky dosud provedeného průzkumu z prodeje okrasných ryb přitom ukazuje, že okrasné ryby z českých rybníčních chovů jsou na trhu v západní Evropě preferovány před stejnými rybami z teplovodních chovů především pro dobrý zdravotní stav, kondici a odolnost vůči tvrdším klimatickým podmínkám (Flajšhans a kol., 1997).

2.8.1. Negativní vliv

Kapři Koi (plůdek, násada i generační ryby) jsou mnohem citlivější k nepříznivým faktorům prostředí než běžné obsádky kapra, a proto i vysazení ryb v dobrém výživném i zdravotním stavu a v dobré kondici do kvalitního komorového rybníka a kvalitní péče o něj není vždy zárukou, že se na jaře sloví podobné množství Koi a v podobném zdravotním stavu, jako je chovatel zvyklý při komorování kapra. I tak dosahují ztráty při komorování v průměru 60-90% podle toho, o který barevný typ se jedná. K nejodolnějším typům Koi patří jednobarevní metaličtí *Ogoni*. Je vhodné

kapra Koi v kategorii K₁ zimovat v objektech v nádržích s oteplenou vodou (Flajšhans a kol., 1997).

2.9.Základní typologie kapra koi

2.9.1.Hmotnost, tvar těla a ošupení u kapra koi

U japonských kaprů Koi není ani tak důležitá hmotnost, jako délka ryby, tvar a profil těla. Čím kruhovější průřez těla (podobný spíše divokým typům kapra jako je Amurský sazan, tím je to lepší pro další hodnocení a ocenění.. Označení stáří ryb, tedy K₁-K₄, se používá v široké rybářské veřejnosti. V Japonsku a v celé Koi brandži se používá japonské názvosloví. Roční Koi (ryby podle našeho označení K₁) nazýváme Tosai, dvouleté Koi (K₂) nazýváme Nisai a tříleté Koi nazýváme Sansai. Další stáří K₄ a více pokračujeme názvoslovím podle počtu tzn. Yonsai, Gosai...Ryby větší než 75cm jsou označovány jako Jumbo. Růst Koi v různých věkových kategoriích v japonských podmínkách uvádí tabulka 14 (podle Takeo Kuroki, 1981) (Štěch, 2007).

Tab.14: Růst Koi v různých věkových kategoriích v japonských podmínkách.

Stáří v letech	celková délka těla v cm	hmotnost v g
1	10-20	7,5-75
2	24-30	188-375
3	37-40	563-938
4	45-50	1 125-2 250
10	55-70	2 620-4 875

Tvar těla je u divokého kapra nízký, protažený a na průřezu téměř kruhovitý. Naproti tomu tělo kaprů chovaných v rybnících je ze stran zploštělé s vyklenutým hřbetem a břichem. Jeden z tvarů barevných kaprů je tvar těla *Shinshu*, který má mírně vyklenutý hřbet i břicho, ale průřez těla je téměř kruhovitý jako u divokého kapra. Má však klábonosou hlavu v čelní části a proto je nevhodný k dalšímu chovu. Další tvar těla se nazývá *Ishugrudel*, což je tvar těla u nás známého vysokého kapra chovaného pro konzumní účely. Třetí, méně výhodný tvar těla, je tvar těla divokého kapra, příliš nízký se špičatější hlavou. Ideálním tvarem těla japonských Nishikigoi je tělo s mírně, ale ladně za hlavou vyklenutým hřbetem až do úrovně začátku hřbetní ploutve a posléze s pravidelně a elegantně se snižující linií k ocasní ploutvi. Nazýváme ho japonský tvar těla. Břicho může být mírně vyklenuté. Průřez těla je však požadován co nejvíce kruhovitý. Poměr výšky těla (výška od nejspodnější části břicha po nejvyšší okraj

hřbetní svaloviny – bez hřbetní ploutve) k délce těla (délka od špičky tlamy po konec ocasního násadce – bez ocasní ploutve) by měl být v ideálním případě od 1:2,6 až do 1:3. V současné době rozeznáváme čtyři druhy ošupení u kapra: šupinatý kapr, lysý kapr, řádkový kapr a hladký kapr. Šupinatý kapr má celé tělo pokryto šupinami kromě hlavy. Lysý kapr má souvislou řadu šupin na hřbetě od hlavy až k ocasu a u bázi ploutví má také několik šupin. Dále může mít roztroušené malé šupiny po těle, zejména v ocasní části. Řádkový kapr má na postranní čáře, nebo kolem ní souvislou popř. přerušovanou řadu velkých eliptických šupin. Na hřbetě a na bázi ploutví bývají drobné šupiny. U hladkého kapra chybí souvislá řada šupin na hřbetě, šupiny bývají u základů ploutví, ale mohou zcela chybět. Někdy se u tohoto typu vyskytují drobné roztroušené šupiny po těle. Pro všechny tři typy bezšupinatých Koi používáme název Doitsu (v překladu německý) (Štěch, 2007).

2.9.2. Klasifikace typů kapra Koi

Vzhledem k zemi původu je ke klasifikaci typů kapra Koi používána japonská klasifikace. Ještě před několika lety se používala klasifikace , názvosloví (dále jen názvosloví) ve 13 barevných skupinách, postupem času a to zejména v devadesátých letech, kdy vzniklo několik nových variet, dochází k rozšíření skupin na 17, které se používají dnes (Štěch, 2007).

Tab.15: Základní typy kapra.

	Název typu	Stručný popis typu
1	Kohaku (viz. obr. 1)	<i>Ko</i> = červený; <i>Haku</i> = bílý; bílá je podkladem, 1804-1829
2	Taisho Sanke	<i>Sanke</i> = tříbarevný, <i>Taisho</i> = epocha vlády císaře Yoshihita, (1912-1926), podklad bílý
3	Showa Sanshoku	= <i>Showa Sanke</i> ; <i>Sanke</i> = tříbarevný; <i>Showa</i> = éra Showa, po skončení éry Taisho-1927-1989; podklad bílý
4	Bekko	opak <i>utsuri</i> -podklad tvoří většinová barva – bílá, žlutá, červená a druhá barva je černá
5	Utsurimono	dvoubarevné, podklad černý, stejně jako <i>showa</i> , ale jen 2 barvy. <i>Ki Utsuri</i> - žlutý; <i>Hi Utsuri</i> -červený; <i>Shiro Utsuri</i> - bílý, 1868-1912
6	Asagi	<i>Asag</i> = světle modrý; 1820 v prefekturách Aichi, Mie a Shizuoka
7	Shusui	je <i>doitsu Asagi</i> , má pouze řadu šupin podél hřbetní ploutve, 1910
8	Koromo	<i>Koromo</i> = kněžské roucho, nebo také překrytí; FE- <i>asagi</i> , ME- <i>Kohaku</i> ; dvacátá léta min., století
9	Kawarimono	= <i>Kawarigoi</i> , = podivný člověk, podivín, je to skupina typů, které se nedají nikam jinak zařadit: <i>Chagoi</i> , <i>Karashigoi</i> , <i>Soragoi</i> , <i>Benigo</i> , <i>Aka Muji</i> , <i>Shiro muji</i> , <i>Midorigoi</i> , <i>Karasugoi</i> , <i>Hagi</i> , <i>Hagejiro</i> , <i>Yotsushiro</i> , <i>Matsukawabake</i> , <i>Suminagashi</i> , <i>Aka-Ki</i> , <i>Shiro- matsuba</i> , <i>Kanoko kohaku</i> , <i>Goten Zakura Kohaku</i> , <i>Kanoko Showa</i> , <i>Kage Shiro Utsuri</i> , <i>Kage Showa</i> , <i>Koyo</i> , <i>Ochiba Shigure</i> , <i>Kikokuryu</i> , <i>Beni Kikokuryu</i> , <i>Kikokuryu</i>
10	Ogon	<i>Hikari Mujimono</i> , <i>ogon</i> je dříve používaný název a znamená v základě zlatý. <i>hikari</i> = lesklý, <i>Mujimono</i> = prostý...zlatolesklý.do této kategorie patří všichni jednobarevní kapři s metalickým leskem. Mají <i>Fukurin</i> ošupení, kdy je každá šupina lemována vyšší vrstvou pokožky, a to dává dojem vyššího lesku. Radíme sem koi jednobarevné šupinaté, jednobarevné <i>Doitsu</i> , <i>Matsuba</i> šupinaté a <i>Matsuba Doitsu</i>

11	<i>Hikari Moyomono</i>	= zářící metalické vzorkování. Zařazujeme sem : <i>Hikari Kohaku, Doitsu Platinum Kohaku-Kikusui, Sakura Ogon, Kin Zakura , Kinsui Ginsui, Shochikubai, Kin Bekko, Tora Ogon, Momiji Ogon, Hariwake, Doitsu Hariwake, Yamabuki Hariwake, Doitsu Yamabuki Hariwake, Matsuba Hariwake</i>
12	<i>Hikari Utsurimono</i>	Jsou skupiny <i>Utsurimono a Showa</i> posílené metalickým leskem ogonů. Patří sem : <i>Kin Showa, Gin Showa, Gin Shiro, Kin Ki Utsuri</i>
13	<i>Kinginrin</i>	Varieta vytvořená na základě třpytivého efektu jednotlivých šupin. V překladu znamená zlatostříbřitě lesklé. <i>Ginrin</i> mohou být všechny základní typy od <i>Kohaku</i> až po <i>Tancho</i> , pokud mají na těle alespoň 20 <i>Ginrin</i> šupin
14	<i>Tancho</i>	má kulatou červenou skvrnu na bílém temeni hlavy. Základním je <i>Tancho Kohaku</i> , dále pak <i>Tancho Sanke, Tancho Showa</i> , kromě těchto základních tří skupin <i>Tancho</i> známe ještě i další varianty , které byly ještě do nedávna zařazovány do skupiny <i>Kawarimono</i> . <i>Tancho Goshiki, Tancho Kujaku. Tancho Hariwake a Tancho Kikusui</i> ještě stále patří do skupiny <i>Hikari Moyomono</i>
15	<i>Goshiki</i>	1918- křížení <i>asagi+aka Bekko</i> ...posléze <i>Asagi +taisho sanke</i> , 5barev-bílá, červená, černá, světle modrá a tmavě modrá
16	<i>Kumonryu</i>	do roku 1994 byla tato kategorie zařazována do skupiny <i>Kawarimono, Kumonryu</i> =drak devíti podob...černá barva je velmi nestálá, černá barva po bocích těla lemující hřbetní část, bílá barva je často krémová až béžová, K. nemá přísná kritéria; původ <i>Kumonryu</i> je nejasný
17	<i>Kujaku</i>	je kombinace lesku <i>Ogona</i> , vzorů <i>Kohaku</i> přelitá <i>Asagi</i> síťováním. <i>Kujaku</i> se dříve řadil do variety <i>Hikari Moyomono</i> , ale od roku 1994 se stává samostatnou skupinou

Názvosloví barevných typů, variet je přizpůsobeno potřebám výstavy All Japan Combined Shinkokai Tokyo Koi Show . Tato výstava je vedle Z.N.A. All Japan *Nishikigoi* Show nejdůležitější výstavou, a proto je také považována za výstavu světovou.

Předchozí názvosloví se 13 skupinami zbarvení postrádá skupiny 15, 16, 17 a samostatná skupina *Asagi* byla spojena se *Shusui* (Štěch, 2007).

Označení pro lysost a hladkost (+všechny ostatní bezšupinaté typy Koi mimo *Shusui* a *Hikari*) je ve spojení s ostatním pojmenováním používáno *Doitsu*. *Doitsu-*

první lysce byl importován do Japonska v roce 1904 z Německa a šlo o dnes již vymizelé plemeno Aischgrundského lysce („*Doitsu*“ v japonštině znamená německý; Štěch, 2007).

Tento mezinárodně přijatý systém klasifikace podle japonské nomenklatury na jedné straně bezesporu usnadňuje domluvu mezi chovateli, posuzovateli a zákazníky, na druhé straně však značně komplikuje jakoukoli interpretaci dědičnosti barev a barevných znaků, právě vzhledem k tomu, že výsledný typ nebo kategorie kapra Koi je ve skutečnosti složitou umělou charakteristikou. Příkladem může být rozlišení dvou typů kapra Koi se stejnými barvami (bílou, červenou a černou), klasifikovaných podle převážného zastoupení barev (bílo-červeno-černý *Taisho Sanke* vs. Černo-červeno-bílý *Showa*) (Flajšhans a kol., 1997).

3. MATERIÁL A METODIKA

3.1. Příprava generačních ryb

Ryby byly odchovávány na odchovně s recirkulací vody přes komorové filtry, kde voda prochází několika komorami filtru, v prvních jde zejména o mechanické čištění a nečistoty zůstávají na filtračních náplních, jako jsou plastové kartáče s drátěným středem, na molitanech, které odfiltrují drobnější nečistoty, dále teče přes náplně filtru, které jsou uzpůsobeny spíše filtraci biologické, tyto materiály mají velký povrch, na kterém lpí nitrifikační a denitrifikační bakterie, které zajišťují biologickou přeměnu amoniaku na dusitany a následně na dusičnany, které jsou pro ryby toxické pouze při vyšším obsahu ve vodě. Zpět z filtru se vrací voda zpět do nádrží pomocí čerpadel přes UV lampy. V odchovných bazénech dochází k neustálé aeraci pomocí vzduchovacích pump Secooh, a v letních měsících i k oxygenaci. Během odchovu byly krmeny krmivem určeným pro kapry Koi – Koi colour 0833, v podobě plovoucích peletů, s obsahem tuku 8% a bílkovin 33% s přísadkami podporujícími sytost zbarvení ryb a vitamíny a minerální látky. V menší míře byla přidávána krmiva s vyšším obsahem tuku i bílkovin určená pro pstruhy, podávaná při teplotách překračujících 15°C, od výrobce Copens označení Repro s obsahem tuku 15% a bílkovin 48%. Hodnoty pH, koncentrace a nasycení rozpuštěného kyslíku, obsahu dusitanů ve vodě, jsou monitorovány v pravidelných intervalech a byly udržovány v mezích přípustnosti pro kaprovité ryby. Ve vodním prostředí je přísada soli jako preventivní opatření proti autointoxikaci čpavkem, kdy chloridové ionty soutěží na chloridových buňkách ryb s molekulami NH_3^+ a NO_2^- . Obsah soli ve vodě může být také prevencí proti některým onemocněním. Před výtěrem je nutné zvýšení teploty vody až na minimální hodnotu 18°C, těsně před výtěrem, při nižších teplotách dochází k častým problémům s výtěrem ryb. Je také nutná kontrola zdravotního a kondičního stavu ryb, ryby které nejsou v dobré kondici se vyřazují z výtěru. Při prohlídce jednotlivých ryb se kontroluje připravenost ryb k výtěru podle velikosti a měkkosti tělní dutiny u samic, u samců častá výtěrová vyrážka na hlavě, skřelích a bocích těla ryb. Tato výtěrová vyrážka ale není podmínkou připravenosti samců k výtěru...

3.2. Výběr generačních ryb

Generační ryby byly vybírány vždy typu zbarvení Showa, původem od japonských chovatelů. Minimální věk samic použitelných k výtěru byl 4 a více let, u samců 3 a více let stáří. Některé ryby vyskytující se v následujícím výpisu jsou i mladší,

to je způsobeno odchovem přes zimu na oteplené vodě u chovatelů v Japonsku, jako jsou například ryby od chovatele Ogata. U nich dochází k dřívější pohlavní dospělosti, než je tomu u ryb chovaných v našich podmínkách, kdy jsou přes zimu komorovány na rybnících, nebo na odchovných s recirkulačními systémy, se studenější vodou. Generační ryby použité k pokusům této práce byly vždy odchovávány po přivezení z Japonska na odchovně s recirkulací vody, kdy nejnižší teploty vody v zimě se pohybují od 7 – 10°C. Ryby k výtěrům byly vybrány vždy jen zdravé a po odborné prohlídce také připravené k výtěru (zvětšená tělní dutina u samic, apod.). V následujícím textu jsou uvedeny generační ryby, které byly použity k odběru pohlavních produktů k pokusným párovým výtěrům a ke gynogenezi.

3.3. Párové výtěry generačních ryb

Byly provedeny párové výtěry ryb, jejichž potomstvo sloužilo k pokusným účelům. Párové výtěry probíhaly podle metodiky umělého výtěru kapra, s tím rozdílem, že výtěr kapra Koi musí být šetrnější než výtěr užitkového kapra, díky své vyšší náchylnosti ke stresu a následným úhynům. K hypofyzaci byly použity injekční jehly s tenkým hrotem (0,50 x 16 mm, BD Microlance) a stříkačky o objemu 1 ml (Terumo – Syringe). Dávka hypofýzy byla ředěna takovým způsobem, aby nebyla příliš objemná při aplikaci rybě. Aplikace probíhala u samic i samců pod prsní ploutev, u samic ve dvou dávkách po 12 hodinách u samců v jedné dávce 12 hodin před výtěrem (Kouřil a kol., 1999). Ryby před výtěrem byly oddělené ve dvou bazénech. Před odběrem jiker byly samice anestetizovány 2-phenoxyethanolem (ethylen glycol monophenyl ether; Merck, ČR) v předepsané dávce 0,30ml.l⁻¹ (Kolářová a kol., 2007).

Byly provedeny tyto párové výtěry:

1. párový výtěr 19.5.2007, kde byly kříženy v rodičovské generaci tyto ryby:
P: Samice Myatora x Samec Ogata
2. párový výtěr 17.5.2008, kde byly kříženy v rodičovské generaci tyto ryby:
P: Samice Kindai Showa Ogata x Samec Issa
3. párový výtěr 29.5.2008, kde byly kříženy v rodičovské generaci tyto ryby:
P: Samice Kanoko Showa Suda x Samec Issa
P: Samice bílá hlava Suda x Samec Issa
4. přirozený párový výtěr 28.6.2008, kde byly kříženy v rodičovské generaci tyto ryby:
P: Samice Issa x Samec Ginrin Tancho Showa Shinoda

3.4. Generační ryby použité k pokusům

(Označení ryb vychází vždy ze vzhledové charakteristiky ryby a jména japonského chovatele, od kterého ryba pochází).

3.4.1. Generační ryby k párovým výtěrům

Samice Myatora (párový výtěr 19.5.2007)

Na párový výtěr 19.5.2007 byla použita samice Myatora, původem od japonského chovatele Myatora, o hmotnosti 1,90 kg při výtěru a stáří čtyři roky. Zakoupena a přivezena v roce 2005 jako dvouletá, další odchov proběhl na recirkulačním systému. Pro urychlení a synchronizaci ovulace ryb při umělém výtěru byla použita injekční aplikace suspenze odvodněné hypofýzy ve fyziologickém roztoku. Hypofyzace byla provedena podle (Kouřil a kol., 1999). Teplota vody při první dávce hypofyzace byla 18,5°C, čas aplikace 8:20 hodin., objem aplikované dávky hypofýzy 0,48 ml, o hmotnosti 0,7 mg.kg⁻¹, celkem v dávce 1,33mg hypofýzy, při druhé dávce byla teplota vody 18,8°C, čas hypofyzace 20:52 hodin, v objemu dávky 0,65 ml a hmotnosti aplikované dávky 3,3mg.kg⁻¹ živé hmotnosti, celkem v dávce 6,27 mg kapří hypofýzy. Odběr jiker v 7:40 hodin 19.5.2007, hmotnost odebraných jiker 370g, (v přepočtu na ks 370*800= 296 000ks). Použita byla anestetizace koupelí v lázni s rozpuštěným 2-phenoxyethanolem (ethylen glycol monophenyl ether; v dávce 0,30ml.l⁻¹; Kolářová a kol., 2007). Čas oplození jiker spermatem 8:00 hodin, délka oplozovací periody 2 minuty v čisté vodě. k oplození byl použit samec Ogata, viz. níže. Čas počátku odlepkování jiker 8:02 hod, odlepkování roztokem plnotučného sušeného mléka. Odlepkování 20-30 minut ručně míchání v mléce, potom 30-60 (někdy i déle) minut míchání na probublávajícím vzduchu v inkubační Zugské láhvi v mléce (tento průběh odlepkování platí i pro ostatní pokusné výtěry). Oplozenost 20.5.2007 ve 20:00 hod. 50%.

Samec Ogata (párový výtěr 19.5.2007),

Původem od japonského chovatele Ogata, o hmotnosti 1,70kg při odběru spermatu, stáří 3 roky, zakoupen v roce 2006, dále odchován v recirkulačním zařízení. Pro urychlení a synchronizaci spermiace ryb při umělém výtěru byla použita injekční aplikace suspenze odvodněné hypofýzy ve fyziologickém roztoku. Použita kapří hypofýza, v jedné dávce 12 hodin před výtěrem o objemu dávky 0,85 ml, množství 2,55mg na kg živé hmotnosti. Čas aplikace hypofýzy 20:10hodin (18.5.2007). Odběr

spermatu v 6:30 hodin (19.5.2007), odebráno 9 ml spermatu, anestezizace při odběru nebyla provedena. Sperma bylo odebráno do injekčních stříkaček o objemu 20ml (B/Braun Inject), ty byly vzápětí umístovány do chladícího polystyrénového boxu s ledem, kde byly uskladněny při teplotě 0-4°C do doby, kdy bylo použito sperma k oplození jiker.

Samice Kindai Showa Ogata (párový výtěr 17.5.2008).

Tato jikernačka je japonského původu zakoupena v roce 2007 jako dvouletá na oteplené vodě přes zimu od chovatele Ogata, hmotnost jikernačky 2,24 kg při výtěru, první dávka hypofýzy byla aplikována 16.5.2008 v 9:42 hodin, o objemu dávky 0,56 ml, množství 0,7mg/kg, v celkovém množství v dávce na rybu 1,57 mg. Druhá dávka hypofyzace byla provedena 16.5.2008 v 21:03 hod., o objemu dávky 0,67 ml, množství 3,3 mg/kg živé hmotnosti, celkovém množství 7,39mg v dávce na rybu (Kouřil a kol., 1999). Odběr jiker proběhl úspěšně druhý den ráno v 9:12 hod., hmotnost odebraných jiker byla 197 g, (přepočítáno na ks $197 \cdot 800 = 157\,600$ ks jiker), k pokusu bylo použito celé odebrané množství jiker. Použita byla anestezizace koupelí v lázni s rozpuštěným 2-phenoxyethanolem (ethylen glycol monophenyl ether; v dávce 0,30ml.l⁻¹; Kolářová a kol., 2007). Čas oplození jiker spermatem v 9:32 hodin 17.5.2008, délka oplozovací periody 2 min (aktivace gamet jen vodou z odchovny), čas počátku odlepkování 9:34 hod., odlepkováno sušeným plnotučným mlékem rozpuštěným ve vodě. Odlepkování provedeno 30 minut míchání v mléce ručně, potom 30-60 minut míchání na probublávajícím vzduchu v inkubační Zugské láhvi. Teplota vody 16.5.2008 = 20°C, 17.5.2008 = 21°C. Oplozenost jiker 18.5.2008 ráno v 8:00 hod. 13,77%.

Samec Issa (Výtěr 17.5.2008),

Původem od japonského chovatele Issa, o hmotnosti 1,80 kg při odběru spermatu, stáří 3 roky, zakoupen v roce 2008, dále odchován v recirkulačním zařízení. Pro urychlení a synchronizaci spermiace ryb při umělém výtěru byla použita injekční aplikace suspenze odvodněné hypofýzy ve fyziologickém roztoku. Použita kapří hypofýza, v jedné dávce 12 hodin před výtěrem o objemu dávky 0,90 ml, množství mg na kg živé hmotnosti 1,5mg/kg živé hmotnosti, v dávce bylo množství 2,7mg kapří hypofýzy celkem na rybu. (roztok hypofýzy byl v množství 3mg /ml = 0,5ml/kg dávka rybě). Čas aplikace hypofýzy 17:43 hodin (16.5.2008). Odběr spermatu v 7:15 hodin (17.5.2008), anestezizace při odběru spermatu nebyla provedena. Sperma bylo odebráno

do injekčních stříkaček o objemu 20ml (B/Braun Inject), ty byly v zápětí umístovány do chladicího polystyrénového boxu s ledem, kde byly uskladněny při teplotě 0-4°C, do doby, kdy bylo použito sperma k oplození jiker.

Samice Kanoko Showa Suda (Výtěr 29.5.2008),

Původ od japonského chovatele Suda, zakoupena v roce 2007, ve stáří 3 roky. Hmotnost samice při výtěru 1,70 kg. Pro urychlení a synchronizaci ovulace ryb při umělém výtěru byla použita injekční aplikace suspenze přípravku Ovopel ve fyziologickém roztoku (Horváth a kol., 1997). Dávkování Ovopelu při první dávce: použití jedné pelety na 10kg živé hmotnosti ryb, objem aplikované dávky je 0,25 ml/1kg živé hmotnosti; dávkování Ovopelu při druhé dávce: použití jedné pelety na 1kg živé hmotnosti, rozmíchání v fyziologickém roztoku, objem dávky 0,25ml/kg živé hm.. Teplota vody při první dávce hormonální stimulace byla 22°C, čas aplikace 9:45 hodin., objem aplikované dávky Ovopelu 0,42 ml. Při druhé dávce byla teplota vody 22°C, čas hypofyzace 21:14 hodin, v objemu dávky 0,43 ml. Odběr jiker v 8:46 hodin, hmotnost odebraných jiker 141g, (v přepočtu na ks $141 \cdot 800 = 112\ 800$ ks), hmotnost použitých jiker k pokusu 141 g. Použita byla anestezizace koupelí v lázni s rozpuštěným 2-phenoxyethanolem (ethylen glycol monophenyl ether; v dávce $0,30 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$; Kolářová a kol., 2007). Oplození jiker spermatem provedeno v 9:19 hodin, délka oplozovací periody 2 minuty, počátek odlepkování v 9:21 hodin, odlepkování jiker provedeno rozpuštěným plnotučným sušeným mlékem ve vodě. Jikry byly posléze umístěny na Zugskou láhev č. 8. Oplozenost druhý den ve 12:00 hodin 75%. K oplození jiker použito sperma samce Issa.

Samice bílá hlava Suda (Výtěr 29.5.2008)

Původ od japonského chovatele Suda, zakoupena v roce 2007 jako tříletá, zároveň s předchozí samicí. Hmotnost samice při výtěru 2,15 kg. Pro urychlení a synchronizaci ovulace ryb při umělém výtěru byla použita injekční aplikace přípravku Ovopel (Horváth a kol., 1997). (dávkování Ovopelu při první dávce: použití jedné pelety na 10kg živé hmotnosti ryb, objem aplikované dávky je 0,25 ml/1kg živé hmotnosti; dávkování Ovopelu při druhé dávce: použití jedné pelety na 1kg živé hmotnosti, rozmíchání v fyziologickém roztoku, objem dávky 0,25ml/kg živé hm.). Teplota vody při první dávce hormonální stimulace byla 22°C, čas aplikace 9:47 hodin., objem aplikované dávky Ovopelu 0,53 ml. Při druhé dávce byla teplota vody 22°C, čas

hypofyzace 21:10 hodin, v objemu dávky 0,54 ml. Odběr jiker v 11:18 hodin, hmotnost odebraných jiker 189g, (v přepočtu na ks $189 \cdot 800 = 151\,200$ ks), hmotnost použitých jiker k pokusu 164 g (25g jiker bylo odebráno na gynogenezi). Použita byla anestezizace koupelí v lázni s rozpuštěným 2-phenoxyethanolem (ethylen glycol monophenyl ether; v dávce $0,30 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$; Kolářová a kol., 2007). Oplození jiker spermatem provedeno v 11:20 hodin, délka oplozovací periody 2 minuty, počátek odlepkování v 11:22 hodin, odlepkování jiker provedeno rozpuštěným plnotučným sušeným mlékem ve vodě. Jikry byly posléze umístěny na Zugskou láhev č. 9. Oplozenost počítaná druhý den ve 12:00 hodin 90%. K oplození jiker použito sperma samce Issa.

Samec Issa (Výtěr 29.5.2008)

Původem od japonského chovatele Issa, o hmotnosti 1,80 kg při odběru spermatu, stáří 3 roky, zakoupen v roce 2008, dále odchován v recirkulačním zařízení. Pro urychlení a synchronizaci spermiace ryb při umělém výtěru byla použita injekční aplikace suspenze odvodněné hypofýzy ve fyziologickém roztoku. Použita kapří hypofýza, v jedné dávce 12 hodin před výtěrem o objemu dávky 0,90 ml, množství mg na kg živé hmotnosti $1,5 \text{ mg/kg}$ živé hmotnosti, v dávce bylo množství 2,7mg kapří hypofýzy celkem na rybu. (roztok hypofýzy byl v množství $3 \text{ mg/ml} = 0,5 \text{ ml/kg}$ dávka rybě). Čas aplikace hypofýzy 18:20 hodin (28.5.2008). Odběr spermatu v 7:25 hodin (29.5.2008), anestezizace při odběru spermatu nebyla provedena. Sperma bylo odebráno do injekčních stříkaček o objemu 20ml (B/Braun Inject), ty byly v zápětí umístovány do chladicího polystyrénového boxu s ledem, kde byly uskladněny při teplotě $0-4^\circ\text{C}$, do doby, kdy bylo použito sperma k oplození jiker. Objem odebraného spermatu byl 8 ml. (Tento samec byl použit i v již uvedeném výtěru výše 17.5.2008).

Po odběru spermatu byla prověřena motilita spermií pod mikroskopem (Linhart a kol., 1984). Nejlepší pohyblivost ze všech měl samec č.: 11. Ginrin Tancho Showa, který byl použit na pokusnou gynogenezi 29.5.2008 a přirozený výtěr 28.6.2008.

Samice Issa (přirozený párový výtěr 28.6.2008)

Původem od japonského chovatele Issa, zakoupená v roce 2008. Použita na přirozený výtěr v uhelonové kolíbkce se samcem Ginrin Tancho Showa od japonského chovatele Shinoda. Nebyla aplikována hypofyzace ani anestezizace při manipulaci s rybami. Do kolíbkky dány v 11:00 hodin 27.6.2008, teplota vody 24°C . 28.6.2008 výtěr

na umělohmotné kartáče, používané jako výtěrový substrát k přirozenému výtěru ryb. Po vytření byly generační ryby odloveny z kolíbků. Rozplavaný váčkový plůdek byl 4.7.2008 a byl vysazen na odchovné rybníčky v areálu soukromé odchovny pana Vaňka u Tábora. 16.9.2008 byl tento plůdek ve věkové kategorii označované jako K_r sloven a dokumentován.

Samec Ginrin Tancho Showa Shinoda (přirozený párový výtěr 28.6.2008)

Původem od japonského chovatele Shinoda, o hmotnosti 0,62 kg, stáří 3 roky, zakoupen v roce 2007, dále odchován v recirkulačním zařízení. Při výtěru nebyla použita hormonální stimulace, ani anestizace. Jednalo se o přirozený výtěr na recirkulační nádrži na substrát vytvořený z kartáčů s drátěným středem a plastovými štětiniemi v uhelové kolíbce. Do kolíbků dány v 11:00 hodin 27.6.2008, teplota vody 24°C. Po vytření byly generační ryby odloveny z kolíbků. Rozplavaný váčkový plůdek byl 4.7.2008 a byl vysazen na odchovné rybníčky v areálu pana Vaňka u Tábora. 16.9.2008 byl tento plůdek ve věkové kategorii označované jako K_r sloven a dokumentován.

3.4.2. Generační ryby ke gynogenezi 26.5.2007

Samice Showa Myatora 2, (gynogeneze 26.5.2007)

Na gynogenezi 26.5.2007 byla použita samice Myatora 2, původem od japonského chovatele Myatora, o hmotnosti 2,0 kg při výtěru a stáří čtyři roky. Zakoupena a přivezena v roce 2005, jako dvouletá, další odchov proběhl na recirkulačním systému. Pro urychlení a synchronizaci ovulace ryb při umělém výtěru byla použita injekční aplikace suspenze odvodněné hypofýzy ve fyziologickém roztoku (Kouřil a kol., 1999). Teplota vody při první dávce hypofýzace byla 21,5°C, čas aplikace 9:00 hodin., objem aplikované dávky hypofýzy 0,50 ml, o hmotnosti 0,7 mg/kg, celkem v dávce 1,4 mg hypofýzy, při druhé dávce byla teplota vody 22°C, čas hypofýzace 20:46 hodin, v objemu dávky 0,60 ml, a hmotnosti aplikované dávky 3,0mg/kg živé hmotnosti, celkem v dávce 6,0 mg kapří hypofýzy. Odběr jiker v 7:30 hodin, hmotnost odebraných jiker 362g, (v přepočtu na ks $362 \cdot 800 = 289\ 600$ ks). Použita byla anestizace koupelí v lázni s rozpuštěným 2-phenoxyethanolem (ethylen glycol monophenyl ether; v dávce 0,30ml.l⁻¹ ; Kolářová a kol., 2007). K pokusu gynogeneze bylo použito sperma od dvou samců, kteří následují v textu.

Samec Ogata V, (gynogeneze 26.5.2007)

Původem od japonského chovatele Ogata, o hmotnosti 1,60 kg při odběru spermatu, stáří 3 roky, zakoupen v roce 2006, dále odchován v recirkulačním zařízení. Pro urychlení a synchronizaci spermiace ryb při umělém výtěru byla použita injekční aplikace suspenze odvodněné hypofýzy ve fyziologickém roztoku. Použita kapří hypofýza, v jedné dávce 12 hodin před výtěrem o objemu dávky 0,80 ml, množství na kg živé hmotnosti 1,5mg/kg živé hmotnosti, v dávce bylo množství 2,4mg kapří hypofýzy celkem na rybu. (roztok hypofýzy byl v množství 3mg /ml = 0,5ml/kg dávka rybě). Čas aplikace hypofýzy 20:15 hodin (25.5.2007). Odběr spermatu v 6:30 hodin (26.5.2007), anestezizace při odběru spermatu nebyla provedena. Tento samec se ve výsledcích označuje jako č.:1.

Samec Showa Hirasawa (gynogeneze 26.5.2007)

Původem od japonského chovatele Hirasawa, o hmotnosti 1,20 kg při odběru spermatu, stáří 5 let, zakoupen v roce 2002, dále odchován v recirkulačním zařízení. Pro urychlení a synchronizaci spermiace ryb při umělém výtěru byla použita injekční aplikace suspenze odvodněné hypofýzy ve fyziologickém roztoku. Použita kapří hypofýza, v jedné dávce 12 hodin před výtěrem o objemu dávky 0,60 ml, množství mg na kg živé hmotnosti 1,5mg/kg živé hmotnosti, v dávce bylo množství 1,8 mg kapří hypofýzy celkem na rybu. (roztok hypofýzy byl v množství 3mg /ml = 0,5ml/kg dávka rybě). Čas aplikace hypofýzy 20:15 hodin (25.5.2007). Odběr spermatu v 6:30 hodin (26.5.2007), anestezizace při odběru spermatu nebyla provedena. Tento samec je ve výsledcích označen jako č.:2.

Odběr jiker a spermatu byl proveden na pracovišti firmy Alcedor s.r.o. ve Zlivi, dále byl uskutečněn převoz do líhně ve Vodňanech (VÚRH), jikry převezeny v plastové misce přikryté vlhkou textilií, sperma převezeno v chladícím boxu „na ledu“ v injekčních stříkačkách o objemu 20 ml (B/Braun Inject).

3.4.3. Generační ryby ke gynogenezi 29.5.2008

Samice bílá hlava Suda (gynogeneze 29.5.2008)

Na gynogenezi 29.5.2008 byla použita samice označená jako bílá hlava Suda, podrobnější informace o této rybě jsou již zmíněny v odstavci 3.2.1.1. Navážka na pokus gynogeneze byla 25g jiker. K pokusu gynogeneze bylo použito sperma od dvou samců, kteří následují v textu.

Samec Tancho Ginrin Showa (gynogeneze 29.5.2008)

Původem od japonského chovatele Shinoda, o hmotnosti 0,62 kg při odběru spermatu, stáří 3 roky, zakoupen v roce 2007, dále odchován v recirkulačním zařízení. Pro urychlení a synchronizaci spermiace ryb při umělém výtěru byla použita injekční aplikace suspenze odvodněné hypofýzy ve fyziologickém roztoku. Použita kapří hypofýza, v jedné dávce 12 hodin před výtěrem o objemu dávky 0,50 ml, množství mg na kg živé hmotnosti 1,5mg/kg živé hmotnosti, v dávce bylo množství 0,93 mg kapří hypofýzy celkem na rybu. (roztok hypofýzy byl v množství 3mg /ml = 0,5ml/kg dávka rybě). Čas aplikace hypofýzy 18:47 hodin (28.5.2008). Odběr spermatu v 7:30 hodin (28.5.2008), anestetizace při odběru spermatu nebyla provedena. Tento samec je ve výsledcích označen jako 3.

Samec tmavá Showa Shinoda (gynogeneze 29.5.2008)

Původem od japonského chovatele Shinoda, o hmotnosti 1,40 kg při odběru spermatu, stáří 3 roky, zakoupen v roce 2007, dále odchován v recirkulačním zařízení. Pro urychlení a synchronizaci spermiace ryb při umělém výtěru byla použita injekční aplikace suspenze odvodněné hypofýzy ve fyziologickém roztoku. Použita kapří hypofýza, v jedné dávce 12 hodin před výtěrem o objemu dávky 0,70 ml, množství mg na kg živé hmotnosti 1,5mg/kg živé hmotnosti, v dávce bylo množství 2,1 mg kapří hypofýzy celkem na rybu. (roztok hypofýzy byl v množství 3mg /ml = 0,5ml/kg dávka rybě). Čas aplikace hypofýzy 18:50 hodin (28.5.2008). Odběr spermatu v 7:30 hodin (28.5.2008), anestetizace při odběru spermatu nebyla provedena. Tento samec je ve výsledcích označen jako 4.

3.5. Odběr gamet

Nejprve bylo odebráno sperma od samců do injekčních plastových stříkaček, ve kterých bylo skladováno v chladícím boxu na ledu. Injekční stříkačky byly o objemu 20 ml (B/Braun Inject). Poté byly odebrány jikry, které byly odebírány do plastových misek, byly váženy a poté byly oplodněny spermatem. Odebrané jikry byly oplozeny

vždy jen spermatem od jednoho samce v plastové misce. U našich pokusů byly použity vždy jen ryby typu showa s japonským původem. (Ryby japonské dovezené již v dospělosti, ve velikostech od 40 cm do 60cm). Oplozovacím roztokem byla voda z odchovny, bez přísadků – pouze čistá. Po dvouminutové oplozovací periodě bylo zahájeno odlepkování jiker roztokem sušeného mléka, a to 20 – 30 minut ručně v misce, posléze na Zugských lahvích se zavřeným spodním ventilem a zavedenou vzduchovací hadičkou. Jikry byly promíchávány tímto způsobem dalších 45 – 60 minut. Následně bylo odsáno mléko z lahví a byl puštěn spodní ventil s vodou. Jikry byly odděleny vždy na samostatné láhvi od každé jedné jikernačky.

3.6. Inkubace oplodněných jiker

Oplozené jikry byly inkubovány na Zugských lahvích s dolním přítokem vody. Voda pocházela z nádrží speciálně k tomu připravených, které byly několik dní před plánovaným výtěrem vyčištěny a dezinfikovány. Dále byly napuštěny vodovodní vodou. Jikry byly inkubovány na Zugských lahvích po dobu 2-3 dní, podle teploty vody (kapr 60D°). Vykulený plůdek přeplavaný z lahví byl umístěn na jednotlivé uhelonové kolíčky (mikrosítový uhelon připevněný na dřevěném rámu, nebo sešitý do tvaru krychle s otevřenou vrchní stranou, zavěšený na dřevěných tyčích nad bazénem) odděleně. Na gumovém rámečku lahví (na odtoku z Zugských lahví), bylo připojeno vyústění hadice, kterou vykulený plůdek přeplaval do kolíček. Hadice byly jednotlivě zavedeny do jednotlivých jemnosítových kolíček. Vykulený plůdek byl po rozplavání („nadechnutí“) nasazován odděleně na jednotlivé malé rybníčky v areálu líhně VÚRH a areálu Rybářství Vaněk poblíž Tábora. Váčekový plůdek byl převážen na místo určení ve dvojitych polyetylenových vacích pod kyslíkovou atmosférou.

3.7. Odběr pohlavních produktů ke gynogenezi

Odběr spermatu samců kapra koi probíhal do plastových jednorázových injekčních stříkaček o objemu 20ml, výrobce B|Braun Inject . V injekčních stříkačkách bylo mlíčí skladováno v termo-boxu na ledu při teplotě 0 – 4°C a převezeno na líheň VÚRH JU ve Vodňanech, kde byla provedena gynogeneze. Odběr probíhal vždy ráno na pracovišti firmy Alcedor ve Zlivi, po převozu do VÚRH JU byla u každého vzorku provedena provozní kontrola pohyblivosti spermií podle (Linhart, 1984). Pouze sperma s pohyblivostí nad 80 % bylo použito ke gynogenezi. Po odběru jiker se začalo s gynogenezí. Odběr jiker probíhal po hypofyzaci ryb (která je popsána v odstavci 3.3.), do plastových misek, které se posléze zakrývaly vlhkou tkaninou, aby jikry neoschly.

Po té bylo převezeno potřebné množství jiker k pokusu na VÚRH ve Vodňanech, kde se pokračovalo v pokusu gynogeneze. V našem případě se navažovalo 20 g jiker.

3.4. Gynogeneze

Ke gynogenezi bylo použito spermatu dvou samců. Sperma bylo naředěno v poměru sperma : roztok Kurokura 1 ml : 9 ml podle Linharta a kol. (2000). Genetická informace spermií byla inaktivována UV zářením o dávce $800\,000\ \mu\text{J} \cdot \text{cm}^{-2}$ v přístroji UV Crosslinker (značka) podle metodiky Rothbarda (1994). V souladu s tímto protokolem byly do UV zářiče vloženy Petriho misky o průměru 9 cm, na něž bylo navrstveno 1 ml naředěného spermatu tak, aby vrstva byla co nejtenší. Celý UV Crosslinker byl posazen na třepacím stole s výkyvem 1 cm o 200 otáčkách/min, aby mísením spermatu v Petriho miskách během procesu ozáření došlo k homogennímu ozáření všech spermií.

Navážka jiker byla 1g na každý pokus a v 1 g bylo průměrně 800 ks jiker. Každý gram jiker byl navážen do nové 10 ml plastové epruvety, v níž bylo provedeno i oplození/aktivace jiker. K oplození bylo v kontrole použito nativního, neozářeného spermatu v dávce 10 mikrolitrů na 1 g jiker. Celkem bylo tedy k oplození 800 jiker v 1 g použito $(14-35) \cdot 10^7$ spermií.

Při gynogenezi bylo k aktivaci oocytů použito ozářeného spermatu v dávce 100 mikrolitrů na 1 g jiker. Celkem bylo tedy k aktivaci 800 jiker v 1 g použito $(14-35) \cdot 10^8$ spermií.

Aktivace pohlavních produktů proběhla čistou vodou z líhně temperovanou na 20 °C v poměru 10 ml vody na 1 g osemeněných jiker. Čas aktivace gamet byl zaznamenán jako čas 0 při teplotě inkubace 20°C. Dvě minuty po aktivaci gamet byly oplozené/aktivované jikry z každé epruvety rozlity do 3 Petriho misek (tedy 1 g jiker na 3 misky), a každá miska umístěna do samostatné inkubační vložky v experimentálním žlabu. Žlab byl 12 h předem napuštěn odchlorovanou pitnou vodou vytemperovanou na 20°C, voda ve žlabu byla recirkulována a sterilizována UV zářením.

Celkem bylo obsazeno 6 vložek s kontrolou (s neozářeným spermatem): 3 vložky po samci 1, další 3 vložky po samci 2.

U gynogeneze se postupovalo stejným způsobem. Pro meiotickou gynogenezi bylo připraveno 6 oddělení (3 po každém samci), pro mitotickou gynogenezi také 6 oddělení (3 po každém samci).

Při meiotické gynogenezi byly oplozené jikry inkubovány 5 minut při 20°C, poté byly Petriho misky s jikrami převedeny do nádoby s vodou podchlazenou šupinkovým ledem na teplotu 2°C. Byly zde ponechány 35 minut a poté převedeny zpět do experimentálního žlabu s inkubační teplotou 20°C.

Mitotická gynogeneze probíhala podobně, jen jikry po oplození byly inkubovány při 20°C po dobu 45 minut a teprve pak přemístěny do nádoby s vodou podchlazenou šupinkovým ledem na teplotu 2°C opět na dobu 35 minut.

Rovněž bylo provedeno kontrolní oplození jiker s neozářeným spermatem a takto oplozené jikry byly odděleně umístěny do dalších inkubačních vložek na líhni.

Následující inkubace jiker do vykulení probíhala při teplotě 21,3 – 21,5 °C. Během inkubace byly počítány a zaznamenávány odumřelé jikry ve všech variantách. Uhynulé kusy byly zaznamenány do tabulek každý den pro každou vložku.

Po vykulení byl spočítán i váčkový plůdek. Z dosažených údajů bylo vypočteno přežití plůdku v jednotlivých variantách gynogeneze i u kontrol. Zbarvení vykuleného plůdku bylo fotograficky zdokumentováno a další odchov gynogenetického potomstva nebyl proveden.

Vliv použité metody gynogeneze na ukazatele líhnovosti, procenta pigmentovaného a nepigmentovaného potomstva v rámci jednotlivých párových křížení byl hodnocen analýzou rozptylu v programu Statgraphics v. 4.1 a Tukeyovým testem na hladině pravděpodobnosti $P < 0.05$.

Při gynogenezi byly kříženy tyto ryby:

1. gynogeneze 26.5.2007: P: Samice Showa Myatora 2 x Samec Ogata V
x Samec Showa Hirasawa
2. gynogeneze 29.5.2008: P: Samice bílá hlava Suda x Samec Tancho Ginrin Showa
x Samec tmavá Showa Shinoda

3.5. Počítání pigmentovaného a nepigmentovaného váčkového plůdku

Po vykulení byl váčkový plůdek z jednotlivých vložek přenesen plastové světlé nebo bílé misce s vodou do provozní laboratoře na líhni, kde proběhla fotodokumentace. Zbarvení plůdku po meiotické a mitotické gynogenezi i v kontrolách bylo fotograficky zdokumentováno aparátem Olympus Camedia 2000 připojeným k binokulární lupě. Podle fotografií bylo přepočítáno množství pigmentovaného a nepigmentovaného váčkového plůdku z jednotlivých variant.

Vyštěpené potomstvo jednotlivých fenotypů pigmentace bylo uváděno v tabulkách, kde se dále propočítalo procentuální množství ryb černých a světlých. Líhnivost byla počítána z uhynulých jiker během inkubace a plůdku vykuleného.

3.6.Odchov ryb

Na rybníčcích byl dále proveden odchov do velikosti rychleného plůdku, který byl následně odloven, a zdokumentován fotograficky a bylo přepočítáno množství jednotlivých typů zbarvení, která z křížení dvou rodičů typu showa vycházeli. Procentuální zastoupení a fenotypové štěpné poměry jednotlivých typů zbarvení je zaznamenáno v tabulkách ve výsledcích, příkladem je uvedena tabulka 18. Počítání jednotlivých typů probíhalo přímo na místě i podle pořízených fotek později. Fotografické materiály poněkud zkreslují barevnost ryb, proto bylo počítáno manuálně i na místě. Dále byl proveden aritmetický průměr procentuálních zastoupení jednotlivých počítání. Tento průměr nám udává fenotypové štěpné poměry jednotlivých typů zbarvení, která se vyštěpila z našeho křížení. Ryby na rybníčcích byly kontrolovány po nasazení téměř každý den. K příkrmování bylo použito krmných směsí pro pstruhy Dana Feed 1352, o velikostech zprvu 0,4 mm, poté 0,6 mm. Na rybníčcích nebylo možné zcela zabránit predaci rybožravými ptáky a šelmami, proto výsledné fenotypové štěpné poměry a výsledky mohou být částečně ovlivněny tímto faktorem. Do vyšších věkových kategorií nebyly ryby odchovávány.

4. VÝSLEDKY

4.1. První párový výtěr 19.5.2007

Při tomto pokusu bylo odebráno 370 g jiker, v přepočtu na ks to bylo: 296 000 jiker. Jikry byly při pozorování husté, kulovitého tvaru, bez příměsí a bez výskytu mrtvých jiker. Sperma bylo odebráno v množství 9ml. Sperma bylo husté, bez příměsí krve a jiných příměsí. Oplozenost jiker ve 20:00 hodin večer po 11 hodinách inkubace na Zugské láhvi byla 50%. Po vykulení a rozplavání váčkového plůdku, byl vysazen na rybníček, o velikosti 0,4 ha. V průběhu odchovu plůdek se plůdek ztrácel a pokus byl neúspěšný, s nulovým počtem slovených ryb.

4.2. Druhý párový výtěr 17.5.2008

Při tomto pokusu bylo odebráno 197 g jiker, v přepočtu na ks to bylo: 157 600 jiker. Jikry byly při pozorování husté, kulovitého tvaru, bez příměsí a bez výskytu mrtvých jiker. Sperma bylo husté, bez příměsí krve a jiných příměsí. Oplozenost jiker počítaná 18.5.2008 ráno v 8:00 hod. viz tab. 16.

Tab.16: Oplozenost jiker.

celkem	oplozených	%oplozenosti
53	9	16,98
74	10	13,51
71	9	12,67
69	11	15,94
81	9	11,11
137	17	12,40
aritmet.průměr:		13,77

Obr.1: Ukázka inkubační Zugské láhve s jikrami z tohoto výtěru (19.5.2008), oplozenost jiker 13,77%.



Počet vykuleného váčkového plůdku byl 128 ks. Nasazen nebyl, velmi malé množství statisticky neprůkazné, při přežití 10% by zůstalo velmi malé nepoužitelné množství. Plůdek byl přimíchán k ostatnímu váčkovému plůdku firmy Alcedor. Pokus byl ukončen.

4.3. Třetí výtěr 29.5.2008

V tomto párovém výtěru byly použity dvě samice, kdy hmotnost jiker odebraných od první byla 141g, v přepočtu na ks $141 \cdot 800 = 112\,800$ ks. Od druhé samice bylo odebráno jiker 189g, v přepočtu na ks $189 \cdot 800 = 151\,200$ ks, hmotnost použitých jiker k pokusu 164 g, což je v přepočtu na ks : 131 200 jiker. Rozdíl hmotnosti jiker mezi odebranými a použitými byl způsoben odběrem 25g jiker na pokus gynogeneze. Na oplození jiker obou samic byl použit stejný samec, množství odebraného spermatu bylo: 8ml. Jikry byly inkubovány na Zugských lahvích č. 8 a 9, viz obrázek 2-5.

Tab. 17: Oplozenost jiker 30.5.2008, ve 12:00 hodin.

	láhev č.:8	láhev č.:9
oplozenost %	75	90

Vykulený, rozplavaný váčkový plůdek byl vysazen na jeden odchovný rybník v případě jiker inkubovaných na láhvi č. 8 a dva odchovné rybníky v případě jiker inkubovaných na láhvi č. 9.

Obr. 2:



Obr. 3:



Obr.4:



Obr.5:



(Vysvětlivky obrázků: Obr. 2: Jikry dokumentované ve 20:00 hodin, 29.5.2008. Obr. 3: Jikry inkubované na láhvi č.8, 12:00 hodin 30.5.2008. Obr. 4: Jikry umístěné na láhev č.9, dokumentace v 20:00 hodin, 29.5.2008. Obr.5: Jikry umístěné na láhev č.9, dokumentace v 12:00 hodin, 30.5.2008).

Obr. 6: Ukázka rozplavaného váčkového plůdku z láhve č. 8, 2.6.2008



Obr. 7: Ukázka rozplavaného váčkového plůdku z láhve č. 9, 2.6.2008



Z důvodů predace, nebo onemocnění ryb během odchovu na rybníčcích byl úspěšně odchován pouze plůdek jedné ze samic. V následujícím textu budou uvedeny tabulky segregace barev u plůdku z rybníčních odchovů.

4.4. Čtvrtý párový výtěr přirozený 28.6.2008.

Protože toto byl výtěr přirozený na kartáče, není možné uvést množství odebraných gamet obou pohlaví, ani sdělit oplozenost či líhivost. Ryby z tohoto výtěru byly sloveny v velikostním stádiu označovaném K_4 a další informace o tomto pokusu jsou níže v textu.

4.5. Pokus gynogeneze 1; 26.5. 2007

4.5.1. Úmrtnost jiker během inkubace při gynogenezi

Tab. 18: Počítání odumřelých jiker během inkubace na jednotlivých odděleních, během dní.

	označení pokusného odd., počet uhynulých jiker v jednotlivých počítáních																	
datum počítání	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.
27.5. 2007	71	69	78	25	10	23	126	112	165	176	136	166	119	129	103	162	119	232
28.5. 2007	26	7	20	9	6	9	10	7	22	20	15	18	18	14	22	35	21	64
29.5. 2007	128	56	$\frac{10}{4}$	44	13	42	17	15	54	52	46	38	43	48	38	63	70	106

V této tabulce jsou uvedeny výsledky počítání odumřelých jiker během inkubace na jednotlivých odděleních, počítané v jednotlivých dnech inkubace. Odumřelé jikry byly v průběhu inkubace při počítání odstraňovány.

4.5.2. Výsledky segregace pigmentace u váčkového plůdku, množství vykuleného plůdku v kusech, líhnivost plůdku v pokusu gynogeneze

Tab. 19: Záznam počtu vykultivovaného plůdku, líhivosti, segregace zbarvení plůdku

Číslo oddělení a druh odd.	Celkové množství plůdku (ks)	Líhivost plůdku z odd. 1 (%)	Množství tmavě pigmentovaného plůdku (ks)	Množství nepigmentovaného plůdku (ks)	Zastoupení tmavě pigmentovaného plůdku (%)	Zastoupení světlého (nepigmentovaného) plůdku (%)
1., kontrolní	191	45,913	49	142	25,654	74,345
2., kontrolní	124	48,437	33	91	26,612	73,387
3., kontrolní	98	32,666	47	51	47,959	52,040
4., kontrolní	165	67,901	68	97	41,212	58,787
5., kontrolní	62	68,131	21	41	33,870	66,129
6., kontrolní	109	59,562	40	69	36,697	63,302
7., meiotická gynogeneze	8	4,968	3	5	37,5	62,5
8., meiotická gynogeneze	8	5,633	3	5	37,5	62,5
9., meiotická gynogeneze	13	5,118	5	8	38,461	61,538
10., meiotická gynogeneze	16	6,060	7	9	43,75	56,25
11., meiotická gynogeneze	20	9,216	7	13	35	65
12., mitotická gynogeneze	14	5,932	6	8	42,857	57,142

Obr. 8: Jediný kus váčkového plůdku z mitotické gynogeneze 26.5.2007, oddělení 15. Líhivost byla 0,609 %, jedinný zástupce je melaninově pigmentovaný.



Tab. 20: Rozmístění jiker k inkubaci po aktivaci spermatem na jednotlivá pokusná oddělení, líhivost, zastoupení pigmentovaného a nepigmentovaného váčkového plůdku u jednotlivých pokusů. Hodnoty se stejným abecedním indexem se od sebe statisticky významně neliší na hladině $P < 0,05$.

číselné označení oddělení	použitý samec	druh oddělení	gynogeneze	líhivost (%)	pigmentovaný plůdek (%)	nepigmentovaný plůdek (%)
1-3	1	kontrolní, oplození normální	-----	42,33±6,92 ^b	33,67±10,30 ^a	66,33±10,30 ^a
7-9	1	pokusná (gyn.)	meiotická gynogeneze	5,33±0,28 ^a	38,00±0,45 ^a	62,67±0,45 ^a
4-6	2	kontrolní, oplození normální	-----	65,33±3,99 ^c	37,33±3,02 ^a	62,67±3,02 ^a
10-12	2	pokusná (gyn.)	meiotická gynogeneze	7,00±1,52 ^a	40,67±3,93 ^a	59,33±3,93 ^a

(K tomuto pokusu byla použita samice Showa Myatora 2).

U mitotické gynogeneze přežil pouze jeden kus plůdku v jednom oddělení č.:15, proto není zahrnuta ani v údajích v tabulce. Mitotická gynogeneze byla v odděleních 13-18, kdy v 13-15 byl použit samec č.: 1 a v odděleních 16-18 byl použit na oplození samec č.: 2.

4.5.3. Hodnocení líhnivosti - gynogeneze 2007

Gynogeneze 2007 - statistické hodnocení výsledků křížení a použité metody gynogeneze ukázalo na vliv použitého samce ke kontrolnímu křížení. S použitím samce 2 bylo dosaženo statisticky významně vyššího procenta oplození ($65,33 \pm 3,99\%$) než při použití samce 1 ($42,33 \pm 6,92\%$; viz Tab.20). S použitím metody meiotické gynogeneze bylo dosaženo statisticky významně nižšího procenta líhnivosti než u obou kontrolních oplození, a to shodně v obou variantách s použitím geneticky inaktivovaného spermatu samců 1 a 2 ($5,33 \pm 0,28$ a $7,00 \pm 1,52\%$; viz Tab. 20).

4.5.4. Hodnocení procenta pigmentovaného potomstva - gynogeneze 2007

Statistické hodnocení výsledků křížení a použité metody gynogeneze neukázalo vliv meiotické gynogeneze na procento vykuleného pigmentovaného potomstva. V obou kontrolních kříženích se samci 1 a 2 i v obou případech použití geneticky inaktivovaného spermatu obou samců nebyl prokázán statisticky významný rozdíl v procentu vykuleného pigmentovaného plůdku.

4.6. Gynogeneze 2; 29.5.2008

4.6.1. Úmrtnost jiker během inkubace při gynogenezi

Tab. 21: Počítání odumřelých jiker během inkubace na jednotlivých odděleních, během dní.

datum počítání	označení pokusného odd., počet uhynulých jiker v jednotlivých počítáních																	
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.
30.5.2008	11	3	11	9	4	9	197	112	183	221	275	164	256	198	185	90	261	272
31.5.2008	2	2	4	2	4	4	13	22	39	11	10	6	24	20	14	18	29	18

V této tabulce jsou uvedeny výsledky počítání odumřelých jiker během inkubace na jednotlivých odděleních, počítané v jednotlivých dnech inkubace. Odumřelé jikry byly v průběhu inkubace při počítání odstraňovány.

4.6.2. Výsledky segregace pigmentace u váčkového plůdku, množství vykuleného plůdku v kusech, líhnivost plůdku v pokusu gynogeneze

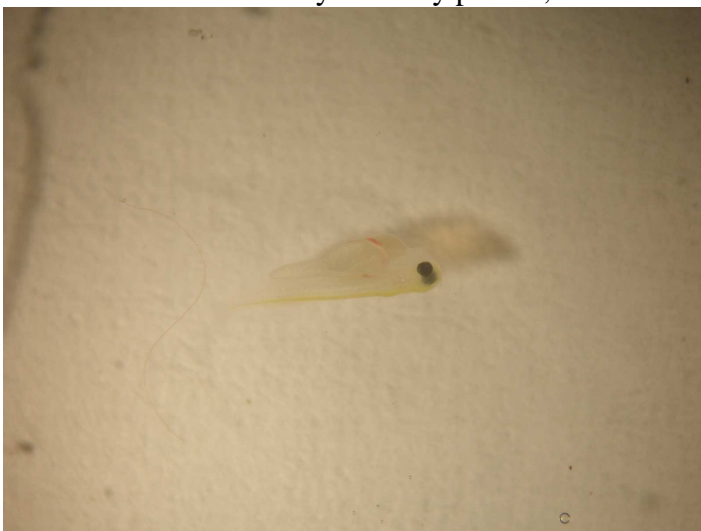
Tab. 22: Záznam počtu vykultivovaného plůdku, líhivosti, segregace zbarvení plůdku.

Číslo oddělení a druh odd.	Celkové množství plůdku (ks)	Líhivost plůdku z odd. 1 (%)	Množství tmavě pigmentovaného plůdku (ks)	Množství nepigmentovaného plůdku (ks)	Zastoupení tmavě pigmentovaného plůdku (%)	Zastoupení světlého (nepigmentovaného) plůdku (%)
1., kontrolní	156	92,31	89	67	57,05	42,95
2., kontrolní	165	97,06	99	66	60	40
3., kontrolní	193	92,79	116	77	60,10	39,90
4., kontrolní	231	95,45	105	126	45,45	54,55
5., kontrolní	154	95,06	68	86	44,15	55,85
6., kontrolní	208	94,12	102	106	49,03	50,96
7., meiotická gynogeneze	5	2,33	1	4	20	80
8., meiotická gynogeneze	3	2,19	0	3	0	100
9., meiotická gynogeneze	8	3,48	1	7	12,5	87,5
10., meiotická gynogeneze	5	2,11	2	3	40	60
11., meiotická gynogeneze	3	1,04	2	1	66,66	33,33
15., mitotická gynogeneze	2	0,99	1	1	50	50
18., mitotická gynogeneze	1	0,15	0	1	0	100

Obr. 9: Dokumentovaný váčkový plůdek, oddělení 15, zvětšení 1x10



Obr. 10: Dokumentovaný váčkový plůdek, oddělení 15, zvětšení 1x10



Obr. 11: Dokumentovaný váčkový plůdek, oddělení 18, zvětšení 2,5x10



Tab. 23: Rozmístění jiker k inkubaci po aktivaci spermatem na jednotlivá pokusná oddělení, líhivost, zastoupení pigmentovaného a nepigmentovaného váčkového plůdku u jednotlivých pokusů. Hodnoty se stejným abecedním indexem se od sebe statisticky významně neliší na hladině $P < 0,05$.

číselné označení oddělení	použitý samec	druh oddělení	gynogeneze	líhivost (%)	pigmentovaný plůdek (%)	nepigmentovaný plůdek (%)
1-3	3	kontrolní, oplození normální,	-----	94,00±2,14 ^c	59,00±1,41 ^d	41,00±1,41 ^{ab}
7-9	3	pokusná (gyn.)	meiotická gynogeneze	2,33±0,58 ^b	11,00±8,25 ^{ab}	89,34±8,24 ^b
13-15	3	pokusná (gyn.)	mitotická gynogeneze	0,33±0,47 ^{ab}	16,66±23,57 ^{abc}	16,67±23,57 ^a
4-6	4	kontrolní, oplození normální,	-----	94,67±0,56 ^c	46,00±2,06 ^{cd}	54,00±2,07 ^{ab}
10-12	4	pokusná (gyn.)	meiotická gynogeneze	1,00±0,86 ^{ab}	35,67±27,39 ^{bcd}	31,00±24,54 ^a
16-18	4	pokusná (gyn.)	mitotická gynogeneze	0,00±0,07 ^a	0,00±0,07 ^a	33,34±47,14 ^a

K tomuto pokusu v tab. 24, byla použita samice bílá hlava Suda.

4.6.1. Hodnocení líhivosti - gynogeneze 2008

Statistické hodnocení výsledků křížení a použité metody gynogeneze neukázalo na vliv použitého samce ke kontrolnímu křížení. S použitím metody meiotické i

mitotické gynogeneze bylo dosaženo statisticky významně nižšího procenta líhivosti, než u obou kontrolních oplození, a to shodně v obou variantách s použitím geneticky inaktivovaného spermatu samců 3 a 4 ($2,33 \pm 0,58$ a $1,00 \pm 0,86\%$; viz Tab. 23; $0,33 \pm 0,47$ a $0,00 \pm 0,07\%$; viz Tab. 23).

4.6.2. Hodnocení procenta pigmentovaného potomstva - gynogeneze 2008

Statistické hodnocení výsledků křížení a použité metody gynogeneze ukázalo na vliv použitého samce ke kontrolnímu křížení. S použitím samce 3 bylo dosaženo statisticky významně vyššího procenta zastoupení pigmentovaného plůdku ($59,00 \pm 1,41\%$) než při použití samce 4 ($46,00 \pm 2,06\%$; viz Tab.34). Statistické hodnocení výsledků křížení a použité metody gynogeneze neukázalo vliv gynogeneze na procento vykuleného pigmentovaného potomstva.

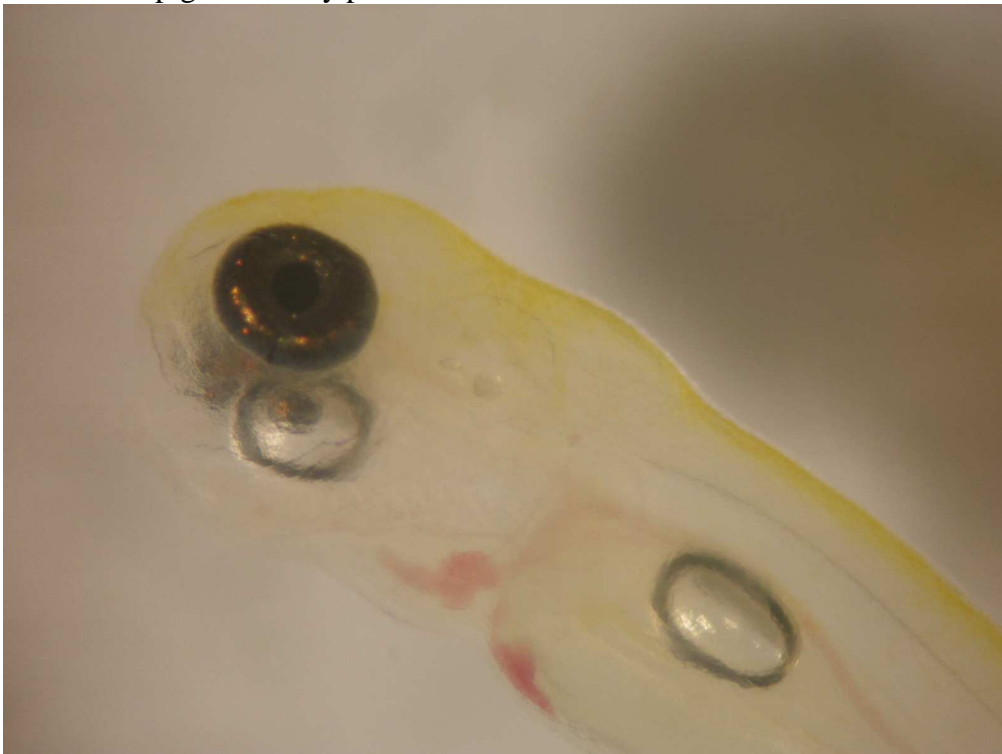
Výsledkem těchto dvou pokusů gynogeneze, je zastoupení dvojího typu pigmentace u váčkového plůdku kapra Koi, u křížení třibarevných typů *Showa*, které jsou na obrázcích pod tímto textem. Popsané Pigmentace jsou melaninová, kdy je plůdek zbarven tmavě, již v prvním dni věku má na těle melaninové pigmentové buňky a nemelaninová (nepigmentovaný plůdek), kdy je váčkový plůdek zlaté barvy, bez přítomnosti pigmentových buněk. Také bylo popsáno procentuální zastoupení obou těchto dvou zbarvení u plůdku, v případech kontrolního oplození, meiotické i mitotické gynogeneze, kdy se přenáší na potomstvo genom pouze matky. Výsledky u meiotické a zejména mitotické gynogeneze jsou velkým dílem ovlivněny velmi nízkou líhivostí plůdku, proto tyto informace mohou být poněkud zkreslené v důsledku malých počtů vykuleného plůdku, který byl dokumentován.

Na následujících obrázcích 12, 13, 14; je dokumentován dvojí typ pigmentace váčkového plůdku ve stáří jeden den.(12 – melaninová pigmentace plůdku; 13, 14 – nepigmentovaný plůdek).

Obr. 12: Melaninová pigmentace plůdku.



Obr. 13: Nepigmentovaný plůdek.



Obr. 14: Nepigmentovaný plůdek.



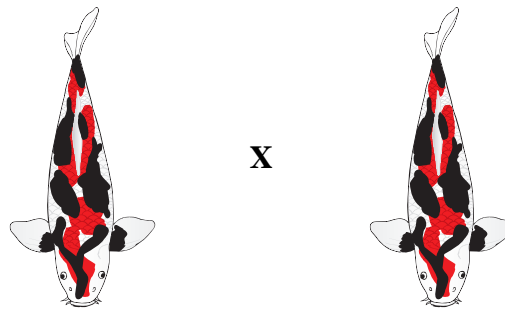
4.7. Výsledky rybníčních odchovů plůdku, do velikosti označované jako K_r

Úspěšně odchován a popsán byl pokus z párového výtěru 29.5.2008 a přirozeného párového výtěru 28.6.2008. V prvním případě byly ryby odchovány v areálu VÚRH Vodňany, kdy byl odchován plůdek K_r , ve velikosti od 3,5 do 7cm. Celkem bylo sloveno 505 ks K_r .

Segregace zbarvení u těchto ryb z prvního pokusu je popsána na schématickém obrázku 15, s barevnými obrázky typy zbarvení.

Obr. 15: Křížení typů *Showa* v parentální generaci a výsledné vyštěpení fenotypového projevu u potomstva v F₁ generaci.

P:



F₁:



Při křížení dvou ryb v parentální generaci, stejného zbarvení typu *Showa*, se vyštěpily tyto fenotypové projevy u potomstva v F₁ generaci: *Shiro Muji*, *Kohaku*, *Shiro Utsuri*, *Hi Utsuri*, *Showa*, *Aka Muji*, *Taisho Sanke* a nezařaditelné ryby do typu (odpadní zbarvení), které nejsou uvedeny na obrázku 15. Jednotlivé barevné typy jsou vykresleny na obrázku , zleva do prava. Na obrázku chybí odpadní nezařaditelné zbarvení.

4.7.1. Výsledky prvního úspěšného párového výtěru, segregace barev ve velikosti K_r.

Obr. 16: Ilustrační fotografie sloveného plůdku z prvního úspěšného pokusu odchovaného v areálu VÚRH.



Tabulka 24: Jednotlivá počítání různých typů zbarvení u plůdku K_r , z prvního pokusu odchovaného na VÚRH areálu ve Vodňanech, celkový počet kusů jednotlivých typů a procentuální zastoupení jednotlivých typů zbarvení u potomstva v F_1 generaci.

Počty ryb z plůdku z kontrolního oplození z VÚRH Vodňany (zbarvení) (3.5 - 7 cm)									
	Shiro muji	Kohaku	Shiro utsuri	Hi utsuri	Showa	Aka muji	Sanke	Obyčejný odpad	
	7	16	4	1	12	8	1	2	
	14	13	15	3	10	4	1	4	
	11	38	13	2	20	8	1	1	
	10	5	15	1	11	10		1	
	11	16	4		8	7		2	
	13	26	18		15	3		2	
	9	1	13		11	6			
	1	14	5		6	11			
		16				2			
		2							
		15							
		6							

celkem	76	168	87	7	93	59	3	12	505
Procentuální podíl %	15.05	33.27	17.23	1.39	18.41	11.68	0.59	2.38	100%

Výsledné fenotypové štepné poměry: *Shiro muji* (celobílé ryby) : *Kohaku* (bílý podklad, červené znaky) : *Shiro utsuri* (černý podklad, bílé znaky) : *Hi utsuri* (černý podklad, červené znaky) : *Showa* (černý podklad, bílé a červené znaky) : *Aka muji* (celočervené zbarvení): *Taisho sanke* (bílý podklad, černé a červené znaky) : *Jiné zbarvení* (nezařaditelné-ostatní odpadní zbarvení) = **76 : 168 : 87 : 7 : 93 : 59 : 3 : 12**.
Typ Showa se v potomstvu (F₁) objevuje v **18,42 %**.

4.7.2. Výsledky druhého úspěšného párového výtěru, segregace barev ve velikosti Kr.

V druhém pokusu byly odchovány ryby v soukromém areálu pana Vaňka z přirozeného párového výtěru 28.6.2008. Ryby byly sloveny 16.9.2008, ve velikosti od 4 do 7 cm. Celkem bylo sloveno 239 kusů ryb. Fenotypový projev potomstva v F₁ generaci byl velmi podobný, jako u předchozího pokusu, s tou výjimkou, že v tomto případě mezi potomstvem chyběli typy *Hi Utsuri*, *Aka Muji* a *Taisho Sanke*. Tento výpadek může být způsoben zvýšenou predací těchto typů v daném areálu.

Obr. 17: Ilustrační fotografie sloveného plůdku z druhého úspěšného pokusu odchovaného v soukromém areálu pana Vaňka.



Tabulka 25: Jednotlivé počítání různých typů zbarvení u plůdku Kr, z druhého pokusu odchovaného na soukromém areálu u pana Vaňka, celkový počet kusů jednotlivých typů a procentuální zastoupení jednotlivých typů zbarvení u potomstva v F1 generaci.

Počty ryb z plůdku z posledního přirozeného výtěru (zbarvení)									
	Shiro muji	Kohaku	Shiro utsuri	Hi utsuri	Showa	Aka muji	Sanke	Obyčejný odpad	
	48	33	36	0	27	0	0	18	
	19	24	14	0	16	0	0	4	
celkem	67	57	50	0	43	0	0	22	239
Procentuální podíl %	28.03	23.85	20.92	0	17.99	0	0	9.20	100%

U druhého pokusu byl fenotypový štěpný poměr ve stejném pořadí variet **67 : 57 : 50 : 0 : 43 : 0 : 0 : 22**. Procentuální podíl *Showa* zbarvení u potomstva (F₁) byl : **17,99%**.

Ostatní odchovy a pokusy v předchozím roce 2007 byly neúspěšné, pravděpodobně z důvodů zvýšené predace a zhoršeným podmínkám odchovu a také vyšší náchylnosti barevných kaprů Koi k onemocněním.

5. DISKUSE

5.1. Párové výtěry

5.1.1. První párový výtěr 19.5.2007

Při prvním párovém výtěru 19.5.2007, se práce potýkala s prvními problémy při odchovu plůdku, které mohly být způsobeny několika faktory. Jedním z nich mohla být zvýšená citlivost kapra Koi vůči nemocem a zhoršeným podmínkách přírodního prostředí. U kapra konzumního se tomu předchází různými způsoby šlechtitelské práce, kdy se zvyšuje nespecifická odolnost plemen a jsou šlechtěna plemena odolná např. vůči jarní viremii, KHV apod., jak uvádí např. Flajšhans a kol. (2008). Během odchovu na plůdkových výtažnicích bylo nutné také sledovat případný výskyt dravých stadií buchaneček a zabezpečit rybník proti predátorům, jako jsou rybožraví ptáci. V plné míře tomu však zabránit nelze. O tom pojednává také metodika šlechtitelské práce u okrasných ryb (Flajšhans a kol., 1997). V našem případě se plůdek vysazený na plůdkový výtažník ztrácel v průběhu odchovu. Je možné, že to bylo způsobeno také špatným stavem vysazeného váčkového plůdku, šokem při inkubaci jiker nebo špatným stavem nerozplavaného váčkového plůdku na bazénech v odchovně. Totéž platí také pro následující párový výtěr 17.5.2008, kdy se nepodařilo odchovat plůdek do dokumentované velikosti.

5.1.2. Druhý párový výtěr 17.5.2008

V tomto případě jsem se potýkal s velmi malou oplozeností jiker, která se pohybovala kolem 13% druhý den inkubace. Toto mohlo být zapříčiněno špatnou kvalitou spermatu, jelikož jikry použité k pokusu byly na pohled v dobrém stavu. Sperma mohlo být neschopné oplození, se špatnou motilitou spermií. Kontrola motility spermií pod mikroskopem nebyla v tomto případě provedena.

5.1.3. Třetí párový výtěr 29.5.2008

U třetího párového výtěru 29.5.2008, se podařilo odchovat plůdek do velikosti K_r , který byl následně dokumentován. Odchov plůdku a segregace zbarvení, bude zmíněna v diskusi níže.

5.1.4. Čtvrtý párový výtěr 28.6.2008

Stejně jako u předchozího výtěru byl i zde odchov úspěšný a údaje o segregaci barev a odchovu plůdku budou uvedena dále. Tento výtěr probíhal jiným způsobem, než

předchozí výtěry. Byl to výtěr přirozený, pouze na kartáče připomínající rybám výtěrový substrát. Z toho výtěru byl váčkový plůdek životaschopný, v dobrém kondičním stavu.

5.2. Gynogeneze

Podle tabulky 19 a 23 z výsledků, je patrné že aplikací pokusu gynogeneze byla statisticky významně snížena líhnivost plůdku. Nebylo prokázáno statisticky průkazné zvýšení zastoupení pigmentovaného plůdku. U hodnocených metod především meiotické gynogeneze (neboť po mitotické gynogenezi bylo dosaženo ještě výrazně nižšího přežití plůdku) lze konstatovat, že v uvedených případech přenos pouze mateřské dědičnosti (jaderné DNA) nezvýšil procento tmavě pigmentovaného plůdku. Provádění gynogeneze (metody vyvolání uniparentální dědičnosti) by se stala v praxi příliš časově náročnou metodou, bez uspokojivých výsledků zvýšení zastoupení melaninově pigmentovaného plůdku. Při odchovu kapra Koi bych upřednostňoval spíše metody třídění v průběhu odchovu přímo na rybnících, popř. jiných odchovných nádržích.

5.2.1. Gynogeneze 26.5. 2007, 29.5.2008 a hodnocení líhnivosti

U pokusu mitotické gynogeneze v prvním pokusu v roce 2007, jak je uvedeno v tabulce 19, bylo dosaženo téměř nulového výsledku líhnivosti plůdku. Výsledky z tohoto pokusu nebyly zahrnuty do statistického hodnocení. Z literatury je znám experiment Rothbarda (1994), který prováděl meiotickou gynogenezi u Koi kaprů při oplození jiker ozářeným spermatem UV – zářením a obnovení diploidie tlakovým šokem, 5 minut po oplození (7500 - 7600 liber na čtvereční palec) na 2 min a ve třech různých pokusech dosáhl přežití mezi 60% a 21%, mnohem vyšší než u mitotické gynogeneze. U pokusů meiotické gynogeneze v této práci byla líhnivost u plůdku v rozmezí 5,33 – 7% v roce 2007 a 1- 2,33% u pokusu meiotické gynogeneze v roce 2008. V tomto případě jde o ještě nižší přežití než u pokusů Rothbarda (1994).

5.2.2. Hodnocení procenta pigmentovaného potomstva

Flajšhans a kol. (1997) uvádí pigmentaci u vykuleného váčkového plůdku kapra Koi pouze ve formě nemelaninové zlaté pigmentace (nepigmentovaný plůdek), nepracovali však přímo s typem *Showa*. V této práci byly popsány dva druhy pigmentace váčkového plůdku a to zlaté, bez výskytu melaninových buněk a tmavé, melaninové s výskytem melaninových buněk na povrchu těla ryb. Štěch (2007) uvádí

výskyt obou dvou druhů pigmentace u váčkového plůdku a možnost třídění již v této velikosti ryb. U tmavě zbarveného plůdku se předpokládá výskyt jiných typů zbarvení v dospělosti, než u plůdku nepigmentovaného. Očekávají se u nich typy zbarvení *Showa*, *Shiro Utsuri*, *Hi utsuri*. Tato tmavá pigmentace váčkového plůdku se vyskytuje také u některých kaprovitých druhů ryb, jako jsou zlaté formy karase stříbřitého a u kapra obecného již po rozplavání, jak zmiňuje Flajšhans a kol. (1997). Zastoupení pigmentovaného plůdku u gynogenetického potomstva, tedy potomstva s jadernou dědičností pouze po matce se pohybovalo od 27% do 39% u meiotické gynogeneze a kolem 25% u mitotické gynogeneze. U oplození neozářeným (kontrolním) spermatem byly hodnoty zastoupení pigmentovaného plůdku nadpoloviční. Pravděpodobný přínos ve zvýšení procenta tmavě pigmentovaného plůdku tak mohl být ze strany otců. Hodnoty mohou být nepřesné v důsledku malých množství jiker použitých k pokusům a snížené líhnivosti plůdku.

Gynogenezí se nepodařilo získat vyšší procento zastoupení tmavě pigmentovaného váčkového plůdku, ve statisticky průkazném rozsahu. Proto gynogeneze není vhodným způsobem manipulace v provozních podmínkách odchovu kapra Koi, zejména také z toho důvodu, že těmito gynogenetickými pokusy významnou měrou snižujeme líhnivost plůdku až na minimální hodnoty.

5.2.3. Úmrtnost jiker při inkubaci při gynogenezi v roce 2007 a 2008.

Při počítání a odstraňování odumřelých jiker v průběhu inkubace při pokusných gynogenezích se počty mrtvých jiker odebraných z jednotlivých oddělení daly předpokládat podle typu zvolené metody (oplození neozářeným/ozářeným spermatem, resp. aplikace chladového šoku k rediploidizaci. U kontrolních oplození bylo nejméně odumřelých jiker v průběhu inkubace, bylo zde použito normální sperma neozářené. U gynogenezích se počty odumřelých jiker zvyšovaly, to bylo dáno aplikací chladového šoku na jikry aktivované ozářeným spermatem. Líhnivost (%) byla vypočtena z navážky jiker a množství jiker v 1 gramu, počtu odstraněných odumřelých jiker a počtu vykuleného plůdku. Flajšhans a kol., (2008) uvádí líhnivost u kapra při aplikaci chladového šoku 38% u meiotické gynogeneze a 1-15% líhnivosti u kapra Koi za aplikace teplého šoku při mitotické gynogenezi. V našem případě se jednalo o nižší hodnoty než je uvedeno v citované práci. Jednalo se u meiotické gynogeneze v roce 2007 o průměrnou líhnivost 5,33% a 7,00% u dvou pokusných variant. V roce 2008

byla líhivost u meiotické gynogeneze 2,33% a 1,00% a u mitotické gynogeneze byla líhivost 0,33 %, což jsou shodné výsledky v rozmezí udávaném Flajšhansem a kol. (2008) u kapra Koi při rediploidizaci teplým šokem.

5.3. Rybníční odchovy a segregace barev

Segregace barevných typů u plůdku z rybníčních odchovů poukazuje na fakt, že při křížení ryb v rodičovské generaci se stejným zbarvením typu *Showa* se u potomstva objevuje několik jiných typů, než jsou rodičovské fenotypy. *Showa* se vyskytuje v potomstvu v množství mezi 17-19%. Ostatní vyštěpená zbarvení jako jsou *Kohaku*, *Shiro Utsuri*, *Hi Utsuri* nebo *Taisho Sanke*, jsou také typy plnohodnotné a štěpí se v potomstvu v kvalitním vzhladu.

Flajšhans a kol. (1997) v rešerši shrnuli vlastní výsledky s dříve publikovanými výsledky jiných autorů v souborné matici možných křížení různých typů Koi kaprů. Uvádějí zde při křížení rodičů typu *Showa*. vznik zbarvení typu *Ogon* a *Hariwake* u potomstva. Uvádějí, že při tomto křížení nevznikají žádné ryby se zbarvením typu *Showa*. Z dvojího opakování v mém testu je zřejmý vznik zbarvení u potomstva v několika varietách, jak je již zmíněno, ale typy *Ogon* a *Hariwake*, se zde nevyskytují ani v malém množství. Rozdíly mezi těmito údaji a mými údaji mohou být způsobeny i původem generačních ryb užitých ke křížení. Ryby v parentální generaci by měly být co nejkvalitněji zbarvené. Přínosem kvality rodičů by mohlo být i zvýšení kvality zbarvení u potomstva. V potomstvu se však i přes to, že rodičovská linie je japonského původu od renomovaných chovatelů, vyskytovaly ryby v typech, které jsou nepoužitelné pro další odchov nebo prodej. Tyto ryby nepatří do standardu. Byly mezi nimi i ryby naprosto nezařaditelné, tzv. čistý odpad. U potomstva se vyskytovaly ryby dobře zařaditelné a dále chovatelné nebo prodejné v množství kolem 69%. Zbytek byly ryby méně hodnotné, nevybarvené.

U prvního úspěšného pokusu s odchovem ryb ve Vodňanech na zemním rybníčku se vyštěpily tyto typy zbarvení v potomstvu *Shiro Muji*, *Kohaku*, *Shiro Utsuri*, *Hi Utsuri*, *Showa*, *Aka Muji*, *Taisho Sanke* a ryby nezařaditelné do typu (odpadní zbarvení). V pokusu druhém chyběly ryby typu *Hi Utsuri*, *Aka Muji* a *Taisho Sanke*. To mohlo být způsobeno zvýšenou predací daných typů. Pro detailní porovnání dědičnosti barev u jednotlivých variet zbarvení by bylo potřeba mnohem více času a prostoru na odchovy z jednotlivých křížení, s ohledem i na to, že u kapra Koi je nižší úspěšnost odchovu ryb než u běžného kapra obecného v podmínkách venkovních rybníčků.

6. ZÁVĚR

V této práci jsem popsal segregaci zbarvení u váčkového plůdku kapra Koi, z křížení ryb typu zbarvení Showa. Plůdek byl popsán u normálního oplození neozářeným spermatem a u gynogenetického váčkového plůdku, kdy jikry byly oplozeny spermatem ozářeným. Uplatněním meiotické i mitotické gynogeneze bylo zjištěno, že výsledky pokusu nepřinesly statisticky průkazné zvýšení zastoupení pigmentovaného váčkového plůdku, podle které by se daly ryby dále třídit již v této velikosti, ale naproti tomu přinášejí výrazné snížení líhnivosti. Na základě srovnání kontrol a obou typů pokusů lze konstatovat, že v těchto konkrétních kříženích bylo % zvýšení pigmentace plůdku způsobeno spíše vlivem otcovských genotypů.

Popsána byla také segregace zbarvení u potomstva z párových výtěrů ryb typu *Showa*. Zde bylo hodnoceno zbarvení ve velikosti K_r . Tyto poznatky mohou napomoci při odchovu kapra Koi, znalost dědičnosti zbarvení u tohoto typu křížení není zatím příliš známa mezi chovateli Koi v ČR. Chovatelé kaprů Koi žijí spíše v nevědomosti co je čeká při křížení různých typů zbarvení u Koi, zejména z toho důvodu, že v provozních podmínkách se používá několik samců na oplození jiker a nikdy se plůdek samostatně nevysazuje jen z párových výtěrů (plůdek se často míchá s ostatními typy zbarvení, aby byla jistota, že na některém rybníce nedojde k úhynům a neztratíme celou jednu barevnou skupinu z výtěrů).

Díky této práci jsme ověřili dědičnost zbarvení u křížení ryb typu *Showa*. Zatím není příliš známo jakým způsobem se mají kapři Koi křížit, aby jsme dosáhli u potomstva kvalitního zbarvení, zařaditelného do variet a hlavně zda se mají křížit ryby stejného zbarvení, pokud chceme získat například *Showa* zbarvení u potomstva, nebo ryby zbarvení různých jako např. složeninou *Kohaku* a *Shiro Utsuri*, které kdyby se barevně překryly, tak vytvoří *Showa* zbarvení. Je důležité vybírat k výtěrům a křížení, jen ryby kvalitního původu a zbarvení, pokud chceme produkovat potomstvo kvalitního zbarvení. To že vybereme kvalitní ryby v parentální generaci, ale neznamená, že budeme mít jen kvalitní potomstvo. Důležité je také v chovu kapra Koi průběžné třídění ryb v různých velikostních kategoriích u potomstva, abychom u nich docílili kvalitního zbarvení, resp. ubereme ryby nezbarvené z odchovného prostoru a tím získají ryby dobře vybarvené více životního prostoru pro sebe a lépe prosperují. Hlavním využitím těchto znalostí je v odchovu kvalitně zbarveného potomstva kapra Koi.

Závěrem bych chtěl podotknout, že na ověření dědičnosti všech typů zbarvení u okrasného kapra, by bylo zapotřebí mnohem více času i prostoru na odchovy z párových křížení. Zatím nejdůležitějším se zdá být třídění v průběhu odchovu ryb, bez použití uniparentálních metod dědičnosti. Zvyšování kvality zbarvení u Koi je základním předpokladem k úspěšnému prodeji ryb okrasných, protože poptávka po rybách kvalitně zbarvených je stále vyšší a zákazníci jsou ochotni investovat více peněz za kvalitní ryby. Na dosažení vyšší kvality zbarvení u ryb je nutné vynaložit více nákladů, díky časově náročným tříděním. Nedostatkem kvalitních ryb, importovaných z Japonska je především jejich vyšší zdravotní náročnost a vyšší nároky na kvalitu prostředí a způsob zacházení s nimi. Ryby odchované v našich podmínkách jsou zdravotně odolnější, než ryby importované.

7. LITERATURA

Axelrod, H., R., 1973. Koi of The World Japanese Colored Carp. T.F.H. Publications, Inc. Neptune, New Jersey, 7.

Axelrod, H., R., 1996. The Completely Illustrated Guide to Koi For Your Pond. T.F.H. Publications, Inc. Neptune, 139.

Backiel, T., Dabrowski, K., Draganik, B., Epler, P., Gorelov, V. K., Kamler, E., Luczynski, M., Morand, M., Ráb, P., Steffens, W., Trzebiatowski, R., Zakes, Z. 2007. Archives of polish fisheries 15: 6-16.

Baruš, V., Oliva, O. (red.), 1995. Fauna ČR a SR. Mihulovci Petromyzontes a ryby Osteichthyes. Academia, Praha. Svazek 28/11, 698.

Blanc, M. J., Poisson, H., Quillet, E. 2006. A blue variant in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* Wallbaum – J. Hered. 97: 89-93.

Bondari, K. 1984. Comparative performance of albino and normally pigmented channel catfish in tanks, cages, and ponds – Aquaculture 37: 293-301.

Bridges, W. R., Limbach, B. 1972. Inheritance of albinism in rainbow trout – J. Hered. 63:152-153.

Crozier, G.F., 1974. Pigment of fishes. In: Chemical Zoology, 8, Academic Press, New York, 509-521.

Clark, F.H., 1970. Pleiotropic effects of the gene of the golden colour in rainbow trout – J. Hered. 61: 8-10.

Dobosz, S., Goryczko, K., Kohlmann, K., Korwin-Kossakowski, M. 1999. The yellow color onheritance in rainbow trout – J. Hered. 90: 311-315.

Dubský, K., Kouřil, J., Šrámek, V., 2003. Obecné rybářství. Informatorium Praha, 58-61.

Flajšhans, M., Kvasnička, P., 1997. Šlechtitelská práce u okrasných mutací lína a kapra koi. Edice metodik 50.

Flajšhans M., 2008. Šlechtění ryb – skriptum. (in print).

Fox, D. L., 1957. The pigments of fishes. In: Physiology of Fishes, 2, Academic Press, New York, 367-385.

Geldhauser, F., 1988. Untersuchungen zur Farbvererbung der Schleie. In: Jahresbericht 1988, Bayerische Landesanstalt für Fischerei, Starnberg: 8-10.

Golovinskaya, K.A., 1940. Pleiotropic effect of scale genes in carp. Dokl.Akad.Nauk SSSR 28(6):533-6.

- Golovinskaya, K.A., 1946. On the linear form of cultured carp. Dokl.Akad.Nauk SSSR, 54(7):637–40
- Golovinskaya, K.A. and D.D. Romashov, 1947. Investigations in gynogenesis of the Crucian carp. Trud. VNIORKh, 4: 73–113
- Goryczko, K., Dobosz, S. 2004 – Colored forms of rainbow trout – IRS Olsztyn, 34.
- Hilble, R., Langfeldt – Feldmann, G. 2001. Koi – fantastically colored pond fish – Multico Oficyna Wydawnicza Warszawa, 64.
- Horváth, L., Szabó, T., Burke, J. 1997. Hatchery testing of GnRH analogue-containing pellets on ovulation in four cyprinid species. Polish Archiv. Hydrobiol., 44: 221–226.
- Chan-Mai-Tchien, 1968. A new data for pleiotropy of scale genes in carp. Trudy Soveshch.genet., Selektiv. Gibriz.Ryb.
- Chen, S.Ts., 1928. Transparency and mottling, a case of mendelian inheritance in the goldfish, *Carassius auratus*. Genetics, Princeton, 13:434–52
- Chen, S.Ts., 1934. The inheritance of blue and brown colours in the goldfish, *Carassius auratus*. J.Genet., 29:61–74
- Chen, S.Ts., 1956. A history of the domestication and the factors of the varietal formation of the common goldfish, *Carassius auratus*. Scientia sin., 5(2):287–321
- Katasonov, V. J., 1973. Investigation of color in hybrids of common and ornamental (Japanese) carp. Communication I. Transmission of dominant color types. Soviet genetics, 9: 985-992.
- Katasonov, V. J., 1974. Investigation of color in hybrids of common and ornamental) carp II. Pleiotropic effects of dominant color genes. Soviet Genetics, 10: 1504-1512.
- Katasonov, V. J., 1976. Lethal action of the light color gene in carp (*Cyprinus carpio* L.). Soviet Genetics, 12: 514-516.
- Katasonov, V. J., 1978. Color in hybrids of common and ornamental (Japanese) carp. III. Inheritance of blue and orange color types. Soviet Genetics, 14: 1522-1528.
- Kincaid, H.L. 1975. Iridescent metallic blue color variant in rainbow trout – J.Hered. 66:100-101.
- Kirpichnikov, V.S. and E.J. Balkashina, 1935. Materials on genetics and selection of carp. 1. Zool.Zh., 14(1):45–78.
- Kirpichnikov, V.S., 1937 Principal genes of scale in carp. Biol.Zh., 6(3):601–32.

- Kirpichnikov, V.S., 1945. The influence of environmental conditions on viability, rate of growth and morphology of carp (of) different genotypes. Dokl.Akad.Nauk SSSR, 47(7): 521–5.
- Kirpichnikov, V.S., 1948. The comparative characteristic of four principal forms of cultured carp by their breeding in North USSR. Izv.vsesoiuz.nauch.-issled.Inst.ozer.rech.ryb. khoz., 26(2):145–70.
- Kirpichnikov, V. S., 1971. Genetics of the common carp (*Cyprinus carpio* L) and other edible fishes. Lectures of the seminar / study tour in the USSR on genetic selection and hybridization of cultivated fishes, 365.
- Kirpičnikov, V. S., 1979. Genetic Bases of Fish Selection. Springer Verlag, Berlin (1981), 410 pp.
- Kirpichnikov, V.S. 1981. Genetic basis of fish selection – Berlin, Heidelberg, New York: Springer – Verlag, 410.
- Klupp, R., 1985. Die Schleie – ein vielseitiger Fisch. Fischwaid 5: 36-37.
- Kohlmann, K., Fredrich, F. 1986. Albinismus bei regenbogenforellen *Salmo gairdneri* – Z. Binnenfischerei DDR 33: 270-272.
- Kolářová, J., Velíšek, J., Nepejchalová, L., Svobodová, Z., Kouřil, J., Hamáčková, J., Máchová, 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 77: 8-13.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., Hulová, I., Barthová, J., 1999. Hormonální indukce ovulace u kapra pomocí čištěného extraktu kapří hypofýzy. Edice metodik 61: 3-4.
- Krushinsky, L.V., 1946. Sixth annual conference on dynamics of organism development. Usp.Sovetsk.biol. 26(2):289–304
- Kuroki, T., 1981. Manual to nishikigoi, Shuji Fujita, Shin Nippon Kyoiku Tosho Co. Ltd. Shimonoseki – city, japan.
- Kvasnička, P., Flajšhans, M., Ráb, P., 1996. Genetic studies in tench (*Tinca tinca* L.): analysis of inheritance of blue and golden varieties. J. Hered.
- Linhart, O., 1987. Genetika barev a ošupení u kapra obecného, *Cyprinus carpio* L. (Přehled). Bull. VÚRH Vodňany, 2: 20-25.
- Linhart, O., Pokorný J., 1984. Hodnocení čerstvého spermatu ryb. Edice metodik 14, 4-8.
- Linhart, O., Rodina, M., Cosson, J. 2000. Cryopreservation of sperm in Common Carp *Cyprinus carpio*: Sperm motility and hatching success of embryos. Cryobiology, 41 (3): 241-250.

- Matsui, Y., 1934a. Genetical studies on goldfish of Japan. 2. On the Mendelian inheritance of the telescope eyes of goldfish. *J.imp.Fish.Inst.*, Tokyo, 30(1):37–46.
- Matsui, Y., 1934c. Genetical studies on goldfish of Japan. 4. On the inheritance of caudal and anal fins of goldfish. *J.imp.Fish.Inst.*, Tokyo, 30(1):67–96.
- Mc Dowell, A. 1989. *The interpet Encyclopedia of Koi* – Salamander Books Ltd. London and New York, 208.
- Merla, G., 1982. Fabvarianten und ihre Vererbung bei Wirtschaftsfischen. *Z. Binnenfisch. DDR.*, 29: 155-158.
- Moav, R., and Wohlfarth G., 1968. Genetic improvement of yield in carp. *FAO Fish Rep* 14, 4: 12-29.
- Nelson, B., 1958. Progress report on golden channel catfish. *Proc.sttheast.Ass.Game Commrs*, 12:75–7.
- Pecha, O., 1988. Zkušnosti s chovem japonského kapra nishiki-koi. *Yiva, Academia Praha*, 1: 27-28.
- Probst, E., 1949. Der blaulig Karpfen. *Allg. Fisch. Ztg.* 74: 232-238.
- Probst, E., 1949. Vererbungsuntersuchungen beim Karpfens. *Allg.Fischztg.*, 21:436–43.
- Probst, E., 1953. Die Beschuppung des Karpfens. *Münch Beitr.Abwass.-Fisch.u.Flussbiol.*, 1:150–227.
- Ráb, P., Flajšhans, M., Linhart, O., 2000. Lín obecný – jeho domestikace a barevné mutace. *Živa* 6: 272-275.
- Rothbard, S., 1994. Cloning of nishiki – goi, Japanese ornamental (Koi) carp. *Israeli journal of aquaculture – Bamidgeh*, 46: 171-181.
- Rothbard, S., Wohlfath, G., 1995. Methods for improvement of Japanese ornamental (koi) carp. *Tropical Fish Hobbyist Magazine*: 224-242.
- Steffens, W., 1966. Die Beziehungen zwischen der Beschuppung und dem Wachstum sowie einigen meristischen Merkmalen beim Karpfen. *Biol.Zbl.*, 85(3):273–88
- Steffens, W., 1958. *Der Karpfen – Wittenberg*, 90.
- Sweigman, D., Rothbard, S., and Wohlfarth, G. V., 1992. Further observations on the inheritance of color in koi. *Nichirin* 293, 5: 37-41.
- Štěch, L., 2007. Koi, Barevní Japonští Kapři. *TYP České Budějovice*, 11-36, 93-198, 277, 292-294, 311-314.
- Tamadachi, M., 1990. *The Cult of The Koi*. T.F.H. Publications, Inc. Neptune City, 148-161.

Tay, S.H., Chun, L.H., Teo, S. H. 1985. Selective breeding of *Ctenopharingodon idella* (Cuvier and Valenciennes) for 'red' colour – Singapore J. Primary Ind. 13: 64-69.

Witkowski, A., Ciesla, M., Napora, K. 1997. Ide – IRS Olsztyn, 158.

Wlodek, J.M. 1963. Der blaue Karpfen aus der Teichwirtschaft Landek – Acta Hydrobiol. Cracow5: 383-401.

Wohlfarth, G.W., M. Lahman and R. Moav, 1963. Genetic improvement of carp. IV. Leather and line carp in fish ponds of Israel. Bamidgeh, 15(1):3–8.

Wohlfath, G. V., and Rothbard, S., 1991. Preliminary investigations on color inheritance in Japanese ornamental carp (nishiki-goi). The Israeli Journal of Agriculture – Bamidgeh 43: 62-68.

Wright, J.E. 1972. The palomino rainbow trout – Penn. Angler Mag. 41:8-9.